T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

MENENJİYOM TÜMÖRLERİNDE BAZI SPESİFİK MİKRORNA'LARIN TANISAL VE PROGNOSTİK DEĞERLERİNİN ARAŞTIRILMASI

HASAN DAĞLI

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

ARALIK 2021


GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Gazi
1926

MENENJİYOM TÜMÖRLERİNDE BAZI SPESİFİK MİKRORNA'LARIN TANISAL VE PROGNOSTİK DEĞERLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Hasan DAĞLI

DOKTORA TEZİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ARALIK 2021

Hasan DAĞLI tarafından hazırlanan "MENENJİYOM TÜMÖRLERİNDE BAZI SPESİFİK MİKRORNA'LARIN TANISAL VE PROGNOSTİK DEĞERLERİNİN ARAŞTIRILMASI" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ / OY ÇOKLUĞU ile Gazi Üniversitesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalında DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Özlem GÜLBAHAR

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

.....

Başkan: Prof. Dr. Neslihan BUKAN

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum. .....

Üye: Prof. Dr. Nilüfer BAYRAKTAR

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Başkent Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum. .....

Üye: Prof. Dr. Taner ÖZGÜRTAŞ

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Sağlık Bilimler Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum. .....

Üye: Doç. Dr. Cengiz KARAKAYA

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum. .....

Üye: Prof. Dr. Mustafa KAVUTÇU

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum. .....

Tez Savunma Tarihi: 10/12/2021

Jüri üyeleri tarafından DOKTORA tezi olarak uygun görülmüş olan bu tez Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararı ile onaylanmıştır.

.....

Prof. Dr. Adviye Gülçin SAĞDIÇOĞLU CELEP

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Hasan DAĞLI

10/12/2021

MENENJİYOM TÜMÖRLERİNDE BAZI SPESİFİK MİKRORNA'LARIN TANISAL VE PROGNOSTİK DEĞERLERİNİN ARAŞTIRILMASI

(Doktora Tezi)

Hasan DAĞLI

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Aralık 2021

ÖZET

Primer beyin tümörleri glial veya non-glial olarak ve benign veya malign olarak sınıflandırılır. Menenjiomlar en yaygın görülen benign intrakranial tümörlerdir. Menenjiom ismi 'Meninks' denilen beyin zarının tümörü anlamına gelse de aslında örümcek ağı şeklindeki 'araknoid' zarından (araknoid şapka hücrelerden) kaynaklandığı gösterilmiştir. Menenjiomların büyük çoğunluğu iyi huylu, iyi sınırlı, yavaş büyüyen ve cerrahi ile tedavi edilebilir tümörlerdir. Menenjiom hastalarında prognozu, en çok etkileyen faktör rezeksiyonun derecesi ile histolojik derecedir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) sınıflamasına göre menenjiomların büyük çoğunluğu grade I (tipik/benign), %10'dan az bir kısmı grade II (atipik/intermediate) ve III (anaplastic/malign) tümörlerdir. Menenjiom tümörleri doku biyopsisi alınarak patolojik inceleme ile değerlendirilmektedir. Henüz tanısal ve prognostik amaçlı kullanılabilecek, non-invaziv olarak elde edilen kan örneklerinde çalışılabilecek bir biyobelirteç bulunmamaktadır. Girişimsel bir tanı yöntemi olan biyopsinin riskli olabilmesi ve değerlendirmenin subjektif olması gibi sebeplerle serum gibi non-invaziv örneklerde bakılabilecek biyobelirteçlere ihtiyaç vardır. MikroRNA'lar gen ekspresyonunu post-transkripsiyonel seviyede düzenleyen, 18-22 nükleotit uzunluğunda, endojen, protein kodlamayan RNA molekülleridir. Çalışmamızda; *miR-145, miR-34a-3p, miR-200a, miR-335, miR-106a-5p, miR-219-5p, miR-375, miR-409-3p miR-197 ve miR-224'ün* menenjiom tümörü tanısında ve/veya prognozu hakkında bir biyobelirteç olarak kullanılıp kullanılamayacağını araştırmayı amaçladık. Çalışmamızda menenjiomlarda potansiyel biyobelirteç hedef olarak düşündüğümüz miRNA'lar çalışıldı. Menenjiom grubu ve sağlıklı kontrol grupların total RNA izolasyonları yapıldı. Bu örneklerden cDNA elde edildi. Elde edilen cDNA'lardan ön çoğaltma işlemi preamplifikasyon işlemi yapıldı. Daha sonra ekzonükleaz aşamasına geçip örnekler ve primerler chipe yüklenip biomark cihazı yardımıyla miRNA ifade düzeyine bakıldı. Çalışmamızda miR-197 diğer miRNA'lara oranla menenjiomlara en fazla ifade olan miRNA olarak bulunmuştur. miR-197, miR-34a, miR-375, miR-219a ve miR-224 insan serum örneklerinde menenjiomlarda potansiyel biyobelirteç hedef olarak öne çıkmaktadır. Ayrıca DSÖ sınıflandırmasına göre, miR-197, miR-34a miR-375 grade I'lerde miR-375 grade II de potansiyel bir biyobelirteç kullanılabileceğini düşünmekteyiz.

Bilim Kodu : 1010
Anahtar Kelimeler : Menenjiom, Biyobelirteç, miRNA, miR-197, miR-34a
Sayfa Adedi : 97
Danışman : Prof. Dr. Özlem GÜLBAHAR

INVESTIGATION OF THE DIAGNOSTIC AND PROGNOSTIC VALUES OF SOME SPECIFIC MICRORNAS IN MENINGIOM TUMORS

(Ph. D. Thesis)

Hasan DAĞLI

GAZI UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF HEALTH SCIENCES

December 2021

ABSTRACT

Primary brain tumors are classified as glial or non-glial and benign or malignant. Menenjiomas are common benign intracranial tumors. Although the name meningioma refers to a tumor of the lining of the brain called the 'Meninx', it has actually been shown to originate from the spider web-shaped 'arachnoid' membrane (arachnoid cover cells). The vast majority of meningiomas are benign, well circumscribed, slow growing and surgically treatable tumors. The degree of resection and histological degree are the most influential factors in the prognosis of meningioma patients. According to the World Health Organization (WHO) classification, the vast majority of menenjiomas are grade 1 (typical / benign), less than 10% grade II (atypical / moderate) and III (anaplastic / malignant) tumors. Menenjioma tumors are pathologically evaluated by taking tissue biopsy. There is no biomarker that can be used for diagnostic and prognostic purposes in blood samples obtained non-invasively. Biomarkers that can be evaluated in non-invasive samples such as serum are needed because biopsy, which is an interventional diagnostic method, can be risky and evaluation is subjective. MicroRNAs are 18-22 nucleotide-long, endogenous, non-protein-coding RNA molecules that negatively regulate gene expression at the post-transcriptional level. In our study, miRNAs that we think are associated with meningioma were studied. In our study; Meningioma tumor of miR-145, miR-34a-3p, miR-200a, miR-335, miR-106a-5p, miR-219-5p, miR-375, miR-409-3p miR-197 and miR-224 we aimed to investigate whether it can be used as a biomarker for diagnosis and/or prognosis. Total RNA isolation was performed in meningioma group and healthy control group. cDNA was obtained from these samples. The pre-amplification process was performed from the obtained cDNAs. Afterwards, samples and primers were loaded onto the chip and the miRNA expression level was checked with the help of the biomark device. In our study, miR-197 was found to be the most expressed miRNA in meningiomas compared to other miRNAs. miR-197, miR-34a, miR-375, miR-219 a and miR-224 stand out as potential biomarkers in meningiomas in human serum samples. In addition, according to the WHO classification, we think that a potential biomarker can be used in miR-197, miR-34a, miR-375 grade I and miR-375 grade II.

Science Code : 1010
Key Words : Meningioma, Biomarker, miRNA, miR-197, miR-34a
Page Number : 97
Supervisor : Prof. Dr. Özlem GÜLBAHAR

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca her türlü bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen tez danışmanı hocam Prof. Dr. Özlem GÜLBAHAR'a, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı başkanımız Prof. Dr. Neslihan BUKAN'a, çalışmayı birlikte yürüttüğümüz Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Ömer Hakan EMMEZ'e eğitimimde emeği geçen Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilimdalı'ndaki değerli hocalarımın her birine, çalışmamız sırasında her türlü yardımda bulunan Arş. Gör. Dr. Tuba Saadet DEVECİ BULUT'a ve Arş. Gör. Dr. Mustafa Çağlar ŞAHİN'e, tez çalışmam sırasında desteklerini esirgemeyen tüm arkadaşlarıma, tez sürecim ve hayatım boyunca her türlü yardım ve desteklerini esirgemeyen değerli eşim Büşra DAĞLI'ya ve bugünlere gelmeme vesile olan, beni yetiştirip büyüten değerli aileme, sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez, Gazi Üniversitesi **Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi Komisyonu Başkanlığı** tarafından **TDK-2021-6994** numaralı proje ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET iv

ABSTRACT v

TEŞEKKÜR vi

İÇİNDEKİLER vii

ÇİZELGELERİN LİSTESİ xi

ŞEKİLLERİN LİSTESİ xii

SİMGELER VE KISALTMALAR xv

1. GİRİŞ 1

2. GENEL BİLGİLER 3

2.1. Epidemolojisi 3

2.2. Histopatoloji, Moleküler Genetik 4

2.3. Prognozu 6

2.4. Tanı ve Teşhis 6

2.4.1. Görüntülenme 6

2.5. Biyobelirteç 9

2.5.1. Beyin ile ilişkili biyobelirteçler 13

2.6. Kodlamayan RNA'lar 20

2.6.1. Uzun kodlamayan RNA'lar 22

2.6.2. Kısa kodlamayan RNA'lar 24

2.7. Çalışmamızda Kullanılan miRNA'lar 29

2.7.1. miR-145-5p 29

2.7.2. miR-34a-3p 30

2.7.3. miR-200a-5p 30

2.7.4. miR-335-5p 31

Sayfa

2.7.5. miR-106a-5p 32

2.7.6. miR-219a-5p 33

2.7.7. miR-375-5p 34

2.7.8. miR-409-3p 34

2.7.9. miR-197-5p 35

2.7.10. miR-224-5p 36

3. GEREÇ VE YÖNTEM 37

3.1. Hasta Seçimi 37

3.2. Örneklerden RNA Eldesi 37

3.3. cDNA Eldesi 38

3.4. PreAmplifikasyon Hazırlanması 40

3.5. Ekzonükleaz Adımı 41

3.6. Dynamic Array Hazırlanması 42

3.7. İstatistiksel Analiz 44

4. BULGULAR 45

4.1. Menenjiom Hasta ve Sağlıklı Kontrol Gen İfade Analiz Sonuçları 45

4.1.1. hsa-miR-197-5p'nin menenjiom hasta ve sağlıklı kontrol ifade değişim sonuçları 45

4.1.2. hsa-miR-34a-3p'nin menenjiom hasta ve sağlıklı kontrol ifade değişim sonuçları 46

4.1.3. hsa-miR-200a-5p'nin menenjiom hasta ve sağlıklı kontrol ifade değişim sonuçları 47

4.1.4. hsa-miR-375'in menenjiom hasta ve sağlıklı kontrol ifade değişim sonuçları 47

4.1.5. hsa-miR-335-5p'nin menenjiom hasta ve sağlıklı kontrol ifade değişim sonuçları 48

4.1.6. hsa-miR-219a-5p'nin menenjiom hasta ve sağlıklı kontrol ifade değişim sonuçları 49

Sayfa

4.1.7. hsa-miR-224-5p'nin menenjiom hasta ve sağlıklı kontrol ifade değişim sonuçları 49

4.1.8. hsa-miR-409-3p'nin menenjiom hasta ve sağlıklı kontrol ifade değişim sonuçları 50

4.1.9. hsa-miR-106a-5p'nin menenjiom hasta ve sağlıklı kontrol ifade değişim sonuçları 51

4.1.10. hsa-miR-145-5p'nin menenjiom hasta ve sağlıklı kontrol ifade değişim sonuçları 51

4.2. Gradelere Göre İfade Değişim Sonuçları 52

4.2.1. hsa-miR-197-5p'nin gradelere göre ifade değişim sonuçları 52

4.2.2. hsa-miR-34a-3p'nin gradelere göre ifade değişim sonuçları 53

4.2.3. hsa-miR-200a-5p'nin gradelere göre ifade değişim sonuçları 53

4.2.4. hsa-miR-375' in gradelere göre ifade değişim sonuçları 54

4.2.5. hsa-miR-335-5p'nin gradelere göre ifade değişim sonuçları 55

4.2.6. hsa-miR-219a-5p'nin gradelere göre ifade değişim sonuçları 55

4.2.7. hsa-miR-224-5p'nin gradelere göre ifade değişim sonuçları 56

4.2.8. hsa-miR-409-3p'nin gradelere göre ifade değişim sonuçları 57

4.2.9. hsa-miR-106a-5p'nin gradelere göre ifade değişim sonuçları 57

4.2.10. hsa-miR-145-5p'nin gradelere göre ifade değişim sonuçları 58

4.3. Çalışmada Kullanılan MiRNA'ların Menenjiomlarda Katlamalı Oran Değişim Sonuçları 58

4.4. Çalışmada Kullanılan MiRNA'ların ROC Eğrileri 60

4.4.1. hsa-miR-197-5p'nin ROC eğrisi 60

4.4.2. hsa-miR-34a-5p'nin ROC eğrisi 60

4.4.3. hsa-miR-200a-5p'nin ROK eğrisi 61

4.4.4. hsa-miR-375 'in ROC eğrisi 61

4.4.5. hsa-miR-335-5p'nin ROC eğrisi 62

4.4.6. hsa-miR-219-5p'nin ROC eğrisi 62

Sayfa

4.4.7. hsa-miR-224-5p'nin ROC eğrisi 63
4.4.8. hsa-miR-409-5p'nin ROC eğrisi 63
4.4.9. hsa-miR-106a-5p'nin ROC eğrisi 64
4.4.10. hsa-miR-145-5p'nin ROC eğrisi 64
5. TARTIŞMA 65
6. SONUÇ 71
KAYNAKLAR 73
EKLER 89
EK-1. Gazi Üniversitesi Klinik Araştımalar Etik Kurulu Değerlendirme Formu 90
ÖZGEÇMİŞ 92

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge **Sayfa**

Çizelge 2.1. Menenjiomların histolojik alttipleri 5

Çizelge 2.2. Biyobelirteçler grupların klasik açıklayıcı örnekler 11

Çizelge 3.1. cDNA sentezinde kullanılan bileşenlerin oranları 38

Çizelge 3.2. cDNA sentezi reaksiyon koşulları 40

Çizelge 3.3. Preamplifikasyonda kullanılan bileşenlerin oranları 41

Çizelge 3.4. Preamplifikasyon reaksiyon koşulları 41

Çizelge 3.5. Ekzonukleaz reaksiyon koşulları 41

Çizelge 3.6. Ekzonükleaz reaksiyon koşulları 42

Çizelge 3.7. Örneklerin hazırlanma koşulları 43

Çizelge 4.1. Grupların yaş ve cinsiyet verileri 45

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil **Sayfa**

Şekil 2.1. Meninges olarak bilinen üç katman zar, beyni ve omuriliği korur. 4

Şekil 2.2. Grade I menenjiomlu 33 yaşındaki bir erkeğin beyninin BT görüntüsü. 9

Şekil 2.3. Biyobelirteç tipleri 10

Şekil 2.4. Dolaşımdaki beyin biyobelirteçlerin bir bölümü 13

Şekil 2.5. Kodlamayan RNA'lar, çeşitli mekanizmalar yoluyla gen düzenlemesini etkiler: mikroRNA'lar [yeşil] ve lncRNA'lar [kırmızı], mRNA'ya [mikroRNA'lar], gen/yeni oluşan transkripte [lncRNA'lar] veya histon değiştiricilere bağlanarak gen ekspresyonunu doğrudan düzenleyebilir. 21

Şekil 2.6. Uzun kodlamayan RNA (lncRNA) kategorileri 22

Şekil 2.7. Lnc-RNA klavuz modeli 23

Şekil 2.8. Lnc-RNA yapı modeli 24

Şekil 2.9. Lnc-RNA moleküller tuzak modeli 24

Şekil 2.10. miRNA biyogenezi 26

Şekil 2.11. Pıwı RNA yapısı 27

Şekil 2.12. miR-145 dizisi 29

Şekil 2.13. miR-34a dizisi 30

Şekil 2.14. miR-200a dizisi 30

Şekil 2.15. miR-335 dizisi 31

Şekil 2.16. miR-106a dizisi 32

Şekil 2.17. miR-219a dizisi 33

Şekil 2.18. miR-375 dizisi 34

Şekil 2.19. miR-409 dizisi 34

Şekil 2.20. miR-197 dizisi 35

Şekil 2.21. miR-224 dizisi 36

Şekil 3.1. $2^{-\Delta Ct}$ göre hesaplama formülü 44

Şekil 3.2. $2^{-\Delta\Delta Ct}$ göre hesaplama formülü 44

Şekil **Sayfa**

Şekil 4.1. Grupların hsa-miR-197-5p'nin ifade düzeyleri 46
Şekil 4.2. Grupların hsa-miR-34a-3p'nin ifade düzeyleri 46
Şekil 4.3. Grupların hsa-miR-200a-3p'nin ifade düzeyleri 47
Şekil 4.4. Grupların hsa-miR-375'in ifade düzeyleri..... 48
Şekil 4.5. Grupların hsa-miR-335-5p'nin ifade düzeyleri 48
Şekil 4.6. Grupların hsa-miR-219a-5p'nin ifade düzeyleri 49
Şekil 4.7. Grupların hsa-miR-224-5p'nin ifade düzeyleri 50
Şekil 4.8. Grupların hsa-miR-49-3p'nin ifade düzeyleri 50
Şekil 4.9. Grupların hsa-miR-106a-5p'nin ifade düzeyleri 51
Şekil 4.10. Grupların hsa-miR-145-5p'nin ifade düzeyleri 52
Şekil 4.11. hsa-miR-197-5p'nin gradelere göre ifade değişim sonuçları 52
Şekil 4.12. hsa-miR-34a-3p'nin gradelere göre ifade değişim sonuçları..... 53
Şekil 4.13. hsa-miR-200a-5p'nin gradelere göre ifade değişim sonuçları..... 54
Şekil 4.14. hsa-miR-375'in gradelere göre ifade değişim sonuçlar..... 54
Şekil 4.15. hsa-miR-335-5p'nin gradelere göre ifade değişim sonuçları 55
Şekil 4.16. hsa-miR-219a-5p'nin gradelere göre ifade değişim sonuçları..... 56
Şekil 4.17. hsa-miR-224-5p'nin gradelere göre ifade değişim sonuçları 56
Şekil 4.18. hsa-miR-409-5p'nin gradelere göre ifade değişim sonuçları 57
Şekil 4.19. hsa-miR-106a-5p'nin gradelere göre ifade değişim sonuçları..... 58
Şekil 4.20. hsa-miR-145-5p'nin gradelere göre ifade değişim sonuçları 58
Şekil 4.21. miRNA'ların menenjiomlarda katlamalı oran değişim sonuçları..... 59
Şekil 4.22. hsa-miR-197-5p'nin ROC eğrisi..... 60
Şekil 4.23. hsa-miR-34a-5p'nin ROK eğrisi..... 60
Şekil 4.24. hsa-miR-200a-5p'nin ROC eğrisi..... 61
Şekil 4.25. hsa-miR-375'in ROC eğrisi..... 61
Şekil 4.26. hsa-miR-335-5p'nin ROC eğrisi..... 62

Şekil **Sayfa**

Şekil 4.27. hsa-miR-219-5p'nin ROC eğrisi..... 62

Şekil 4.28. hsa-miR-224-5p'nin ROC eğrisi..... 63

Şekil 4.29. hsa-miR-409-5p'nin ROC eğrisi..... 63

Şekil 4.30. hsa-miR-106a-5p'nin ROC eğrisi..... 64

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	**Açıklamalar**
%	Yüzde
°C	Santigrat derece
L	Litre
mL	Mililitre
mm	Milimetre
mM	Milimolar
ng	Nanogram
µL	Mikrolitre
µM	Mikromolar

Kısaltmalar	**Açıklamalar**
ADC	Görünür difüzyon katsayısı
a-KG	Alfa-ketoglutarat
BT	Bilgiseyarlı Tomografi
CHI3L1	Kitinaz-3-benzeri protein 1
circRNA	Halkasal intronik RNA
CTC	Dolaşımda bulunan tümör hücreleri
CtDNA	Dolaşımdaki tümör DNA
D-2HG	D-2-hidroksi-glutarat
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
dsRNA	Double-stranded RNA
ECM	Extracellular Matrix
EGFR	Epidermal büyüme faktörü reseptörü
EMT	Epitelyal mezenkimal geçiş
ENCODE	The Encyclopedia of DNA Elements
eRNAs	Enhancer-like lncRNAs
EV	Hücre dışı veziküller

Kısaltmalar	Açıklamalar
GFAP	Glial fibril asidik protein
H_2O	Su
HIF1α	Hypoxia-inducible factor 1-alpha
IDH	İzositrat dehidrojenaz
IL-2	interlökin 2
lincRNAs	long intergenic non-coding RNAs
lncRNA	Uzun kodlanmayan RNA, long non-coding RNA
MGMT	O-6 metilguanin-DNA metiltransferazı
miRNA	Mikro RNA
MMP	Metalloproteinazlar
MRG	Manyetik ezonans görüntüleme
MVA	Mevalonat
NCAM	Nöral hücre adezyon molekülü
ncRNA	Kodlanmayan RNA
NF2	Nörofibromatozis tip 2
NPY	Nöropeptid Y
PAI-1	Plazminojen aktivatör inhibitörü-1'in
PCR	Polimeraz zincir tepkimesi
PI3K	Fosfatidilinositol-3-kinaz
piRNAs	PIWI-interacting RNAs
qPCR	Real-Time PCR
qPCR	Real-Time PCR
RISC	RNA-Induced Silencing Complex
RISC	RNA-Induced Silencing Complex
RNAi	RNA Interference
RNAi	RNA müdahelesi, RNA interference
ROS	Reactive oxygen species
rRNA	Ribosomal RNA
RT-PCR	Reverse Transcriptase PCR
siRNA	Small interfering RNA
snoRNAs	Small nucleolar RNAs
snRNAs	Small nuclear RNAs

Kısaltmalar	Açıklamalar
SPSS	Statistical Package for Social Sciences
ssRNAs	Single-stranded RNAs
STD. SS.	Standart Sapma
TERRAs	Telomere-associated ncRNAs
TERT	Telomeraz ters transkriptaz
TGF-α	Transforme Edici Büyüme Faktörü-α
TGF-β	Transforme Edici Büyüme Faktörü-β
TNF	Tümör Nekrozis Faktör
TSH	Tiroid Uyarıcı Hormon
T-UCRs	Transcribed ultraconserved regions
UTR	Untranslated region
VEGF	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktör
ΔC	Delta Cycle
ΔΔC	Delta delta Cycle

1. GİRİŞ

Primer beyin tümörleri glial veya non-glial olarak ve benign veya malign olarak sınıflandırılır. Menenjiomlar en yaygın görülen benign intrakranial tümörlerdir. Tüm beyin tümörlerinin yaklaşık üçte birini oluşturan tümörlerdir[1, 2]. Bu tümörlerde tümör supresör genlerin inaktivasyonu veya onkojenlerin aşırı ekspresyonu sonucu spesifik gen işlev bozuklukları ortaya çıkmaktadır. Menenjiom, araknoidin dış tabakasından kaynaklanan en genel primer intrakraniyal tümörlerden biridir[3].

Menenjiomların %90'nından daha fazlası asemptomatiktir. Semptom gösterenler ise tümörün büyüklüğüne ve lokalizasyonuna bağlıdır. Baş ağrısı, hipoksi, konfüzyon, nöbetler ve nörolojik bozukluklar en sık görülen semptomlardır[4]. Menenjiomun neden olduğu bu semptomlar genellikle spesifik değildir. Tümörün yeri ve büyüklüğüne ve çevredeki yapılarla birlikte tümör tutulumuna bağlıdır. Son yıllarda menenjiom vakaları önemli ölçüde artmıştır. ABD'de, yaygınlık istatistikleri 1988–2002 döneminde 100.000 kişide 4, 52'den 2010–2014 döneminde 8, 3'e yükseldiği raporlanmıştır. Veriler aynı zamanda insidans ve kadın baskınlığını ortaya koymaktadır[5]. Pediatrik insidansı erişkin insidansından daha düşüktür ve menenjiomların sadece % 1'ine ve çocukluk çağında ise merkezi sinir sistemi tümörlerinin % 2'sine tekabül eder. Yaşla birlikte prevelansı artar. Menenjiomlar en çok orta ve ileri yaş yetişkinlerde görülmekle birlikte, çocuklarda da rastlanabilmektedir[6]. Orta yaş hastalar arasında belirgin olarak kadın cinsiyet daha ağır basmaktadır; kadın/erkek [K/E] oranı yaklaşık 3/2 veya 2/1 kadardır[7].

Otopsi ve görüntüleme çalışmaları sonucunda elde edilen bulgular, subklinik menenjiomların prevalansının kabaca nüfusun % 3'nü oluşturduğunu göstermektedir [8]. Menenjiomlar yaygın olarak 60 yaş üstü hastalarda CNS (santral sinir sistemi) içinde herhangi bir yerde ortaya çıkar, Uzak metastaz çok nadirdir. Tümör büyümesinin spontan hızı değişir[9].

Günümüzde doku örneklerine ait genetik ve/veya immünohistokimyasal biyobelirteçlerin önemi iyi bilinmekle birlikte, biyopsi gibi girişimlerin doğasından kaynaklanan riskler nedeniyle dolaşımdaki biyobelirteçlere özellikle ihtiyaç olduğu açıktır[10]. Erken tanı konulmasında veya prognostik açıdan değerlendirmede kullanılabilecek non-invaziv (veya minimal invaziv) biyobelirteçlerin tanımlanması son derece önemlidir. Beyin tümörleri için

dolaşımdaki biyobelirteçler, özellikle cerrahinin kontrendike olduğu durumlarda veya biyopsi sonuçlarının kesin olmadığı durumlarda, teşhis amaçlı kullanılabilen yararlı ve kolay erişilebilir moleküller olarak tanımlanabilir[11].

Menenjiom hastalığının tanısı ve prognozunun değerledirmesinde henüz bilinen bir biyobelirteç bulunmamaktadır. Son on yılda epigenetik faktörlerin tümör patogenezinde önemli roller oynadığı gösterilmiştir. Özellikle mikroRNA'lar (miRNA) gibi kodlamayan RNA molekülleri menenjiomlarda potansiyel yeni terapötik hedefler olabilir. Bu amaçla çalışmamızda potansiyel bir biyobelirteç olarak kullanılabilecek miRNA'lar çalışıldı. Böylece, hem non-invaziv olarak erken dönemde kolaylıkla tümör tanısı konulabilecek, hem de prognostik açıdan cerrahi öncesi planlamalar yapılabilecek ve intraoperatif olarak yaşanan zorlukların bir kısmı (biyopsi sonucunu bekleme vb) ortadan kaldırılabilecektir.

2. GENEL BİLGİLER

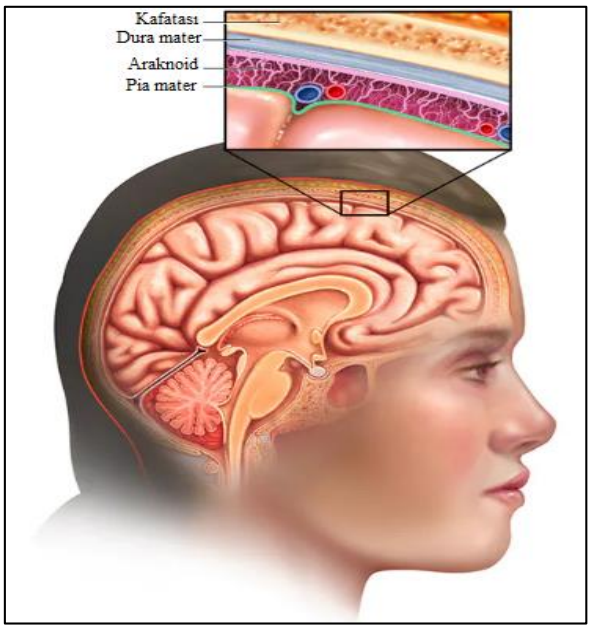
2.1. Epidemolojisi

Menenjiom, araknoidin dış tabakasından kaynaklanan en yaygın primer intrakraniyal tümörlerdir. Menenjiomlar neden olan olan sebebler yaygın olarak bilinmemekle beraber, menenjiomda tanımlanan en önemli çevresel risk faktörü iyonlaştırıcı radyasyona maruz kalınması olarak raporlanmıştır[12]. Genç nüfuzda menenjioma yakalanan kişilerin iyonlaştırıcı radyasona maruz kalınması arasında pozitif korolasyon vardır. IR maruz kalınan bu gruplar yüksek gradeli menenjiomlara raslanmaktadır. Radyasyonla indüklenen menenjiomlarda kromozom 22'deki delesyonlar NF2 mutasyonlarının daha sıklıkla görülmesine ve 1p 18q veya 10q'daki yapısal anormalliklerin artması sonucu sporatik menenjiomlardan daha yaygın olmasına neden olmaktadır[13]. Bir diğer risk faktörü de hormonlar, elde edilen yeni bulgular hormonlar ve menenjiom arasındaki ilişkiyi ortaya koymaktadır. Kadınlarda puberte sonrası hastalık insidansında artış erkeklere karşı (2:1), özellikle doğurganlığın olduğu dönemlerde bu oran (3, 15:1) daha da artmaktadır[12]. Sentetik bir steroidal antiandrojen olan siproteron asetat gibi hormonlar, menenjiomların gelişme ve büyüme riskini 11 kata kadar artığına dair kanıtlara raslanmaktadır[14-16]. Her ne kadar Kafa tramvası bir risk faktörü olarak öne sürülse de literatürde sonuçlar birbiriyle çelişmektedir. Cep telefonu kullanımı menenjiom için bir risk olup olmadığı sorusu, kamuoyunun yakından takip ettiği merak konusudur. Yapılan birkaç çalışmada cep telefonu kullanımı ve beyin tümörleri arasındaki ilişki olduğuna dair kanıtlara raslanmaktadır[17]. Yine mesleki ya da endüstiryel olarak çalışan kişilerin belirli kimyasallara maruz kalınması menengiom riskini tetiklemektedir[18]. Diyet öncesi ve sonrası hastalıkla ilişkisi olmadığına dair çalışmalar raporlanmıştır[19]. Son olarak Menenjiom riski ve aile menenjiom öyküsü, beyin tümörü hastaların eşlerinde ve birinci derece akrabalarda menenjiom riskinin iki kat daha fazla olduğu tespit edilmiştir[20]. Malign glial tümörlerle karşılaştırıldığında menenjiomlar etiyolojik risk faktörleri açısından nispeten daha az çalışılmaktadır.

Menenjiom nispeten nadir bir hastalık olması, yeterli sayıda büyük veya çok merkezli çalışmalar gerektirmesi gibi nedenlerle, araştırılması daha zor bir hastalıktır. Bir diğer neden de bilinen dozlarda iyonlaştırıcı radyasyonla yapılan çalışmalarda, 20-30 yıl veya daha uzun menenjiom takibinin gerekmesidir[21].

2.2. Histopatoloji, Moleküler Genetik

Menenjiom hücreleri, araknoid hücrelerinden kaynaklanır. araknoid materyalin dış tabakasını oluşturur[22]. Menenjiom hastalarında prognozu, rezeksiyonun derecesi ile histolojik derece en çok etkileyen faktördür. Cerrahi rezeksiyon sonrası grade I tümörlerin rekürrens oranı %7-20, yüksek grade'li tümörlerin rekürrens oranı %21-49 olarak bildirilmiştir[23, 24]. Yüksek dereceli menenjiom hastalarına genellikle gross-total rezeksiyon yapılamamaktadır. Bu olgularda total rezeksiyon yapılsa bile rekürrens oranı yüksektir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) sınıflamasına göre, mitotik aktivite, hücresellik, nekroz ve beyin istilası iyi huylu menenjiomların büyük çoğunluğu grade I (tipik/benign) olarak sınıflandırırken, meningotelyal, fibröz (fibroblastik), transizyonel (karışık), psammomatöz, anjiyomatöz, mikrokistik, salgılayıcı, lenfoplazmasitten zengin, metaplastik menenjiom içermeyen ve menenjiomun yaklaşık %90'nını oluştururlar. Şeffaf hücre veya koroid varyantları içeren yaklaşık %10'dan az bir kısmı grade II (atipik/intermediate) ve III (anaplastic/malign) olarak sınıflandırılır[25] (Çizelge 2.1). Menejiyumların %90 tipik olarak yavaş büyüyen iyi huylu tümörler olmasına rağmen Grade 2 tümörlerin lokal nüks riski oransal olarak daha yüksektir. Grade 3 tümörlerse anaplastik özellikte olup lokal nüks riski en yüksek olan grup olup, ölümcül seyir gösterebilirler[26, 27]. Tüm menenjiomların yaklaşık %3'ünü oluştururlar. papiller ve rabdoid varyantlarını içerir. Mikroskobide karsinom, sarkom veya melanomaya benzeyebilirler[28].



Şekil 2.1. Meninges olarak bilinen üç katman zar, beyni ve omuriliği korur. Hassas iç katman pia mater'dir. Orta tabaka, beyni çevreleyen sıvı ile dolu ağ benzeri bir yapı olan araknoiddir. Sert dış tabakaya dura mater[29]

Benign sporadik menenjiomlar moleküler profillemesi, moleküller ve klinik olarak; nörofibromatozis tip 2 (NF2), geninin mutasyonları ve/veya kromozom 22'nin kaybı ve NF2 olmayan menenjiomlar olmak üzere iki farklı grup altında toplanmıştır. NF2 olmayan menenjiomlar Sonic hedgehog (SHH) yolağı fosfatidilinositol-3-kinaz (PI3K) sinyal yolağı, TRAF7, KLF4 veya POLR2A genleri klinik olarak iyi huyludur ve sıklıkla kafa tabanında meydana gelir[30, 31].

Çizelge 2.1. Menenjiomların histolojik alttipleri [32]

Histolojik Alttipleri	
Tipik/Benign [Grade I]	Meningotelyal, Fibröz veya Fibroblastik, Geçişli veya Karışık, Psammomatöz, Anjiyomatöz, Mikrokistik, Salgı, Lenfoplazmasit Açısından Zengin ve Metaplastik Menenjiom
Atipik/Intermediate [Grade II]	Kordoid, Açik Hücre, Atipik ve Beyin Invaziv Menenjiom
Anaplastic/Malign [Grade III]	Papiller, Rabdoid ve Anaplastik veya Malignant Menenjiom

Menenjiomlar kendiliğinden veya nörofibromatozis tip 2(NF2), Li-Fraumeni, Turcot, Gardener, von Hippel-Lindau, Cowden, Gorlin ve çoklu endokrin neoplazi tip I gibi kalıtsal sendromların bir parçası olarak ortaya çıkabilir[33]. Bu sendromların çoğu için menenjiomlarla olan kesin genetik ilişki henüz çözülmemiştir. Menenjiomlarda en sık görülen genetik anormallik 22.q12.2 kromozomunun genetik kaybıdır[27, 34]. Bu kromozom bandı, NF2 genini barındırır. Merlin proteini insanlarda, nörofibromatozis tip II'de yer alan bir tümör baskılayıcı proteindir. Merlin proteini ürünü, hücreden hücreye temas ve hareketliliğin düzenlenmesine katıldığı kabul edilir[20, 22, 35, 36]. NF2 ile ilişkili menenjiomların çoğunluğu ve sporadik menenjiomların yaklaşık yarısının NF2 geninin mutasyonlarından kaynaklandığını gösterilmiştir. Grade I-III menenjiomlarda NF2 mutasyonlarının sıklığının benzer olması, NF2 mutasyonlarının ilerlemeden ziyade menengiomların başlamasında rol oynadığını göstermektedir[37]. Menenjiom ilerlemesi, çok sayıda moleküler ve genetik değişiklik (tümör baskılayıcı genlerin kaybı, CpG adasının hipermetilasyonu gibi) ve sinyal iletimindeki değişiklikler ile ilişkilidir[38].

Menenjiomlarda progesteron, östrojen ve androjen reseptörlerinin ekspresyonu, ekzojen hormon uygulamasının tümör büyümesi üzerindeki etkileri ve emzirmenin koruyucu etkileri dahil olmak üzere çeşitli kanıtlar menenjiom biyolojisinde seks hormonlarının rolü olduğunu düşündürmektedir[39, 40]. Örneğin, progestinlere uzun süreli maruziyet

bağlamında ortaya çıkan menenjiomlar klinik ve moleküler olarak farklıdır. Özellikle PIK3CA mutasyonlarını daha sık barındırırlar ve NF2 mutasyonları ile daha az ilişkilidirler[41].

2.3. Prognozu

Menenjiomun histopatolojik sınıflandırması, doğal seyri için güçlü bir işarettir. Menenjiomun genomik temellerinin daha iyi anlaşılması, moleküler sınıflandırılması ve rasyonel olarak yönlendirilen tedaviler için yeni stratejiler sunar[42].

Görüntülemede menenjiom ile uyumlu bir ekstra aksiyal kitle lezyonunun ilk tespitinde, tümör derecesini ve durumunu öngörmek için bugüne kadarki süreçte güvenilir parametreler ihtiyacı karşılamamaktaydı[43, 44]. Tümör-beyin arayüzünün doğası, tümör içi heterojenite, lezyon düzensizliği, intrinsik tümör difüzyonu ve perfüzyon özellikleri ve peritümöral ödem dahil olmak üzere bir dizi radyografik ölçüm araştırılmaktadır, ancak tüm bunlar daha fazla doğrulamaya ihtiyaç duymaktadır. Ayrıca, parasagital ve falsin gibi tümör lokalisazyonu, menenjiom için daha agresif bir yapıya işaret edebilir[45-47].

Ameliyat tekniği ve radyaterapi ve zamanlaması kliniğe etki eder. Genel olarak, nörolojik fonksiyondan ödün vermeden maksimum cerrahi rezeksiyon, hasta için en uygun prognozu verir. Malign menenjiomlar için standart olarak adjuvan radyasyon tedavisi gerekir. Atipik menenjiomlar için radyasyonun uygulanması ve zamanlaması daha fazla değişkenlik gösterir. Orta dereceli menenjiomlar için yönetim stratejisindeki bu değişkenlik, zaman içinde tanı kriterlerindeki değişimler nedeniyle daha da karmaşık hale gelir[48-50].

2.4. Tanı ve Teşhis

2.4.1. Görüntülenme

BT ve MR görüntülerinde saptanabilen karakteristik dural kuyruk, peritümöral ödem ve kalsifikasyon önemli özelliklerdir. Tümör boyutu (>50 mm), şekli (mantar), lokalizasyonu (kafatasının tabanı), beyin invazyonu varlığı ve peritümöral ödemin şiddeti arasında anlamlı korelasyon bulunmuştur. Nüksde önemlidir çünkü ödem, nüksde anahtar faktör olan tümörün beyne invazyon olasılığını artırır. Büyük boyut, bazal lokalizasyon ve malign histolojik özellikler, peritümöral ödemin artan şiddeti ile ilişkilidir[51, 52].

Manyetik rezonans (MR)

Manyetik rezonans görüntüleme (MRG) preoperatif tanıda hastalığın teşhisinde önemli bir rol oynayabilir[53]. MRG, menenjiomu teşhis etmek için en yaygın görüntüleme yöntemi olan radyoaktif ve invaziv olmayan bir tekniktir, preoperatif MRG beyninin görünür difüzyon katsayısı (ADC) değerleri ve ADC oranları, tipik atipik / anaplastik menenjiomdan ayırt edilmesinde önemli bir role sahiptir. Menenjiom tanısı esas olarak patolojik sonuçlarla doğrulanır. Cerrahi patoloji altın standarttır ve Menenjiomu kesin olarak teşhis etmek için postoperatif bir histopatolojik analiz yoluyla biyopsi veya lezyon dokuları gözlemlenebilir[54].

Diğer intrakraniyal patolojilerin çoğunda olduğu gibi, MR menenjiomların teşhisi ve karakterizasyonu için tercih edilen yöntemdir[55]. Görünüm ve konum tipik olduğunda, teşhis çok yüksek doğrulukla yapılabilir. Bununla birlikte, bazı durumlarda, görünümler atipik olabilir ve doğru bir preoperatif tanı koymak için dikkatli yorum yapılması gerekir.

Menenjiomlar tipik olarak geniş dural tabanlı ekstra aksiyal kitleler olarak görülür. Birçok varyantla karşılaşılsa da, genellikle homojen ve iyi sınırlıdırlar. T2 ağırlıklı görüntülerde menenjiomların sinyal yoğunluğunun histolojik alt tiplerle ilişkili olduğu görülmektedir[56].

Sinyal özellikleri

Tipik menenjiomların sinyal özellikleri şunları içerir:

T1

- genellikle grey matter izointens (%60-90)
- grey matter karşı hipointens (%10-40): özellikle fibröz, psammomatöz varyantlar
- T1 C+ (Gd): genellikle yoğun ve homojen geliştirme

T2

- genellikle grey matter izointens (~%50)
- grey matter hiperyoğunluk (%35-40)
- genellikle yumuşak doku ve hipervasküler tümörlerle ilişkilidir

Mikrokistik, sekretuar, kıkırdaklı [metaplastik] kordoid ve anjiyomatöz varyantlarda görülür. Grey matter karşı hipointens (%10-15): gri madde ile karşılaştırıldığında ve genellikle daha sert doku ve daha lifli ve kalsifiye içerik ile ilişkilidir.

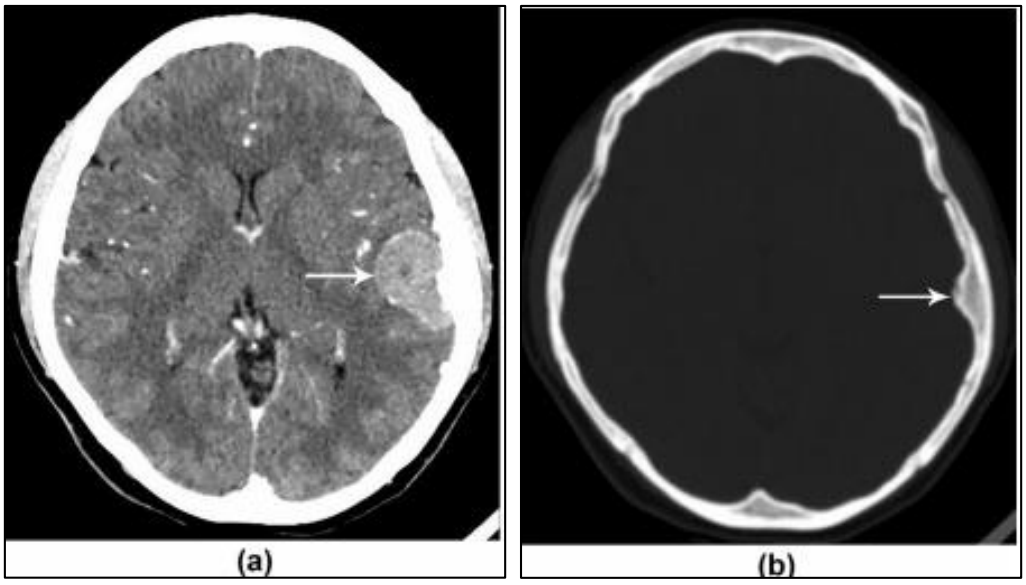
DWI/ADC: Atipik ve malign alt tipler beklenenden daha fazla kısıtlanmış difüzyon gösterebilir, ancak son çalışmalar bunun histolojik dereceyi prospektif olarak tahmin etmede yararlı olmadığını düşündürmektedir.

MR spektroskopisi: genellikle tanıda önemli bir rol oynamaz ancak menenjiomları mimiklerden ayırt etmeye yardımcı olabilir[57].

BT

Menenjiomların değerlendirilmesinde MR çok tercih edilir. Menenjiomların çekilemediği durumlarda BT'den yararlanılır. Özellikle BT'nin hızlı görüntüleme yöntemi olması gibi pek çok nedenden dolayı yaygın kullanılmaktadır. Menenjiomun komşu kemiğe etkisini göstermede BT üstündür. Benign menenjiomda komşu kemikteki hiperostozisin saptanmasında, özellikle malign ve atipik menenjiomda osseöz destrüksiyonun tespitinde, tümördeki psammomatöz kalsifikasyonun gösterilmesinde BT'nin duyarlılığı daha yüksektir[58, 59].

Menenjiom BT'de genellikle beyin parankimine göre izodens olmasına rağmen bazen hafif hipordens veya hiperdens olabilir. Menenjiom BT'de genellikle beyin parankimine göre izodenstir ancak bazen hiperdens veya hafif hipodens olabilir. Ekstraaksiyel doğası gereği beyin parankimi ile arasında keskin sınır ve BOS yarığı izlenir. Homojendir ve kontrast sonrası homojen kontrastlanma gösterir. Ancak kalsifikasyon, yağ, nekroz gibi durumlarda heterojen izlenebilir. Komşu kemikte hiperostozis olması büyük oranda benign menenjiomu akla getirir ve en iyi BT ile gösterilir. Özellikle kafa tabanı ve anterior kraniyel fossadan gelişen menenjiomlarda izlenir ve tümör boyutu ile orantılı değildir[60]. Kemik pencerede kortikal kalınlaşma ve hiperdansite şeklinde izlenir[61]. Hiperostozis kemiğin menenjiom tarafından infiltrasyonuna ve periosttaki reaktif hipervaskülariteye bağlıdır. Anterior kafa tabanı menenjiomlarında paranazal sinüslerde anormal genişleme izlenebilir ki, pnömosinüs dilatans olarak adlandırılır[62].



Şekil 2.2. Grade I menenjiomlu 33 yaşındaki bir erkeğin beyninin BT görüntüsü. [a] Eksenel geliştirilmiş BT (yumuşak doku penceresi) görüntüsü solda gösteriliyor önden ekstra eksenel kütle kuvvetle güçleniyor. [b] Altta yatan kemik hiperostozu gösteren aynı seviyedeki kemik penceresi görüntüsü ve kafatasının iç tablosunun kalınlaşması[63]

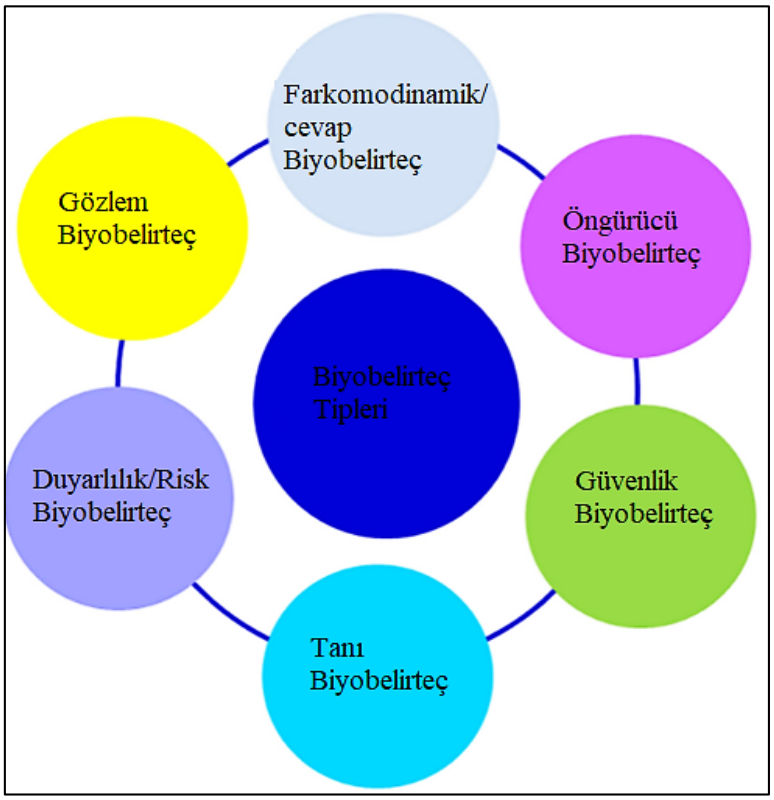
2.5. Biyobelirteç

Biyobelirteçler hastalıkların taramasında, tanı konulmasında, evrelemede ve tedavi yanıtlarının izlenmesinde kullanılabilen testlerdir. Özellikle tümörlerde bu amaçlarla kullanılabilecek biyobelirteçlere ihtiyaç vardır. Günümüzde doku örneklerine ait genetik ve/veya immünohistokimyasal biyobelirteçlerin önemi iyi bilinmekle birlikte, biyopsi gibi girişimlerin doğasından kaynaklanan riskler nedeniyle dolaşımdaki biyobelirteçlere özellikle ihtiyaç olduğu açıktır[64]. Erken tanı konulmasında veya prognostik açıdan değerlendirmede kullanılabilecek ve noninvaziv (veya minimal invaziv) şekilde elde edilebilecek bir belirtecin olması tümör hastaları için hayati öneme sahip olabilmektedir. Beyin tümörleri için dolaşımdaki biyobelirteçler, özellikle cerrahinin kontrendike olduğu durumlarda veya biyopsi sonuçlarının kesin olmadığı durumlarda, teşhis amaçlı kullanılabilen yararlı ve kolay erişilebilir moleküller olarak tanımlanabilir[65].

Son bilimsel ve teknolojik yenilikler, çok sayıda potansiyel tarama ve tanısal biyobelirteçlerin keşfedilmesine katkı sağladı[66]. Çeşitli kanserler ve kardiyovasküler hastalıklar gibi birçok hastalıkta tarama belirteçleri, tedavinin sıklıkla gerekli olduğu durumlarda hastalığı erken bir aşamada daha efektif tespit etmek amacıyla araştırılmaktadır. Hastalığın doğru teşhisi, semptomatik hastaların tedavisinde temel ilk

adımdır[67]. Son zamanlarda birçok kanser ve kronik hastalıklarda, daha hızlı, güvenilir ve doğru testler geliştirme çabaları devam etmektedir[68].

Tarama veya teşhis için biyokimyasal veya başka bir şekilde jenerik bir tıbbi teste atıfta bulunmak için "biyobelirteç" terimini kullanılır. Geliştirilen testlerin yeterince doğru ve hasta için faydalı olduğunu garanti etmek için biyobelirteçlerin titiz bir şekilde değerlendirilmesi esastır. Biyobelirteç tanımlanmasında Vaka-kontrol çalışması yaygın olarak kullanılmaktadır. Biyobelirtecin bu iki grubu ne kadar iyi ayırt ettiğini belirlemek için sabit sayıda vaka ve kontrol örneklenir. Vakaları ve kontrolleri örneklemek için uygun oran hiçbir zaman belirlenmemiştir. Basitçe eşit sayıda vaka ve kontrol numunesi almak veya kontrolleri elde etmek daha kolay olduğunda vakalardan daha fazla kontrol numunesi almak yaygın olarak kullanılır[65]. Biyobelirteçler biyolojik bir durumun moleküler göstergeleridir ve biyokimyasal türler olarak hastalık durumunu ve terapötik müdahaleleri değerlendirmek için kullanılır. Biyobelirteçler kanda, diğer vücut sıvılarında veya dokularda kolaylıkla saptanabilir. Bir biyobelirteçten aranan en önemli kriter, biyobelirteç seviyesinin vücutta mevcut olan spesifik hastalık tipiyle ilgili spesifik olmasıdır. Bu nedenle, hastalıkla ilgili biyobelirteçler, hastalığın varlığını, ilerlemesini veya şiddeti ölçmek için kullanılabilir.



Şekil 2.3. Biyobelirteç tipleri[69]

Biyobelirteçler, normal veya patolojik süreçleri değerlendirmek, tıbbi müdahalelere verilen yanıtları değerlendirmek ve sonuçları tahmin etmek için kullanılan nesnel göstergelerdir. Vücut sıvılarında (kan, beyin omurilik sıvıları, idrar) bulunan moleküllere atıfta bulunabilirler, aynı zamanda dokulardaki duruma atıfta bulunabilirler. Moleküler biyobelirteçler arasında proteinler, metabolitler, lipidler ve ribonükleik asitler bulunur[69].

Çizelge 2.2. Biyobelirteçler grupların klasik açıklayıcı örnekler[70]

Doğal	Orjin	Alt Gruplar	Klasik açıklayıcı örnekler
Proteinler	Beyin spesifik biyobelirteçleri	Glial aktivasyonla ilgili	Serum kalsiyum bağlayıcı protein [S100B]
			Glial fibriler asit proteini [GFAP]
			Miyelin bazik proteini [MBP]
		Nöronal yaralanma ile ilgili	Nörona spesifik enolaz [71]
			Kalp yağ asidi bağlayıcı protein [HFABP]
			Anti-N-metil-D-aspartat [anti-NMDA] reseptör antikorları
	Merkezi sinir sistemine özgü olmayan biyobelirteçler	Hemostaz ve endotel disfonksiyonu ile ilgili	Von Willebrand Faktörü [vWF] ve onun parçalayıcı proteini ADAMTS13 [bir trombospondin tip 1 motifli bir parçalayıcı ve metalloproteinaz, üye 13]
			D-Dimer
			Fibrinojen
			Plazminojen Aktivatör İnhibitörü [PAI]
			TROMBOMODULİN
			Fibronektin
			Trombin İle Aktive Edilebilen Fibrinoliz İnhibitörü
			Yapışma Molekülleri: Çözünür Hücreler Arası Yapışma Molekülü [ICAM], Vasküler Hücre Yapışma Molekülü [VCAM]
		Enflamasyon ile ilgili	C-REAKTİF PROTEİN [CRP]
			MATRİKS METALLOPROTEİNAZ 9 [MMP-9]
			Lipoprotein-associated phospholipase A2
			Sitokinler: İnterlökinler [Il-6, Il-10] Ve Tümör Nekroz Faktörü Alfa [Tnf-A]
			Plazma Ferritini
		Apoptoz ile ilgili	Kaspaz-3
		nöroendokrin belirteçler	Kopeptin
			Natriüretik Peptitler Ve Öncülleri: Atriyal Natriüretik Peptit [ANP], Orta Bölge Proatriyal Natriüretik Peptit [Mr-Proanp], B Tipi Natriüretik Peptit [Bnp], N-Terminal Pro-B Tipi Natriüretik Peptit [Nt-Probnp]

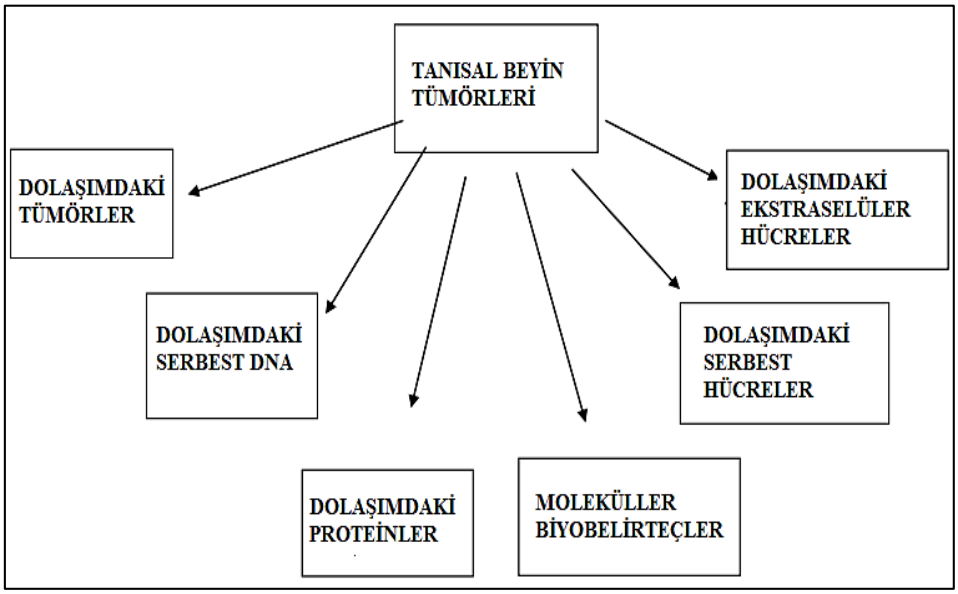
Çizelge 2.2 (devam). Biyobelirteçler grupların klasik açıklayıcı örnekler

Doğal	Orjin	Alt Gruplar	Klasik açıklayıcı örnekler
RNA'lar	Mesajcı RNA'nın [mRNA] diferansiyel ifadesi	40 gen panel	ADAMTSL4, AP3S2, ARHGEF12, ARHGEF5, BANK1, C16orf68, C19orf28, CD46, CHURC1, CLEC18A, COL13A1, EBF1, ENPP2, EXT2, FCRL1, FLJ40125, GRM5, GSTK1, HLA-DOA, IRF6, LHFP, LHFP, LOC284751, LRRC37A3, OOEP, P2RX5, PIK3C2B, PTPN20A, TFDP1, TMEM19, TSKS, ZNF185, ZNF254
		41 gen panel	ALS2CR11, C18orf49, CALM1, CCDC114, CCDC78, CCL2, CCL3, CHML, FAM179A, FAM70B, FLJ13773, GBP4, GTF2H2, HLA-DQA1, HLADRB4, IL8, LAG3, LAIR2, LGR6, LRRC8B, MPZL3, OASL, PDXDC1, PROCR, PRSS23, QKI, RASEF, RUNX3, SCAND2, STK4, STX7, TGFBR3, TSEN54, TTC12, UBA7, UGCG. UTS2, VAPA
	Kodlamayan RNA'nın diferansiyel ifadesi	MikroRNA'lar [miRNA]	Mir-200c, vs.
		Uzun kodlamayan RNA'lar [lncRNA]	Çinko Parmak Antisens 1 [Zfas1] v.s
Lipidler			Oksitlenmiş Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
			Serbest Yağ Asidi
			Lizofosfatidilkolin
Metabolitler			Plazma Glutamat
			Nitrik Oksit

Tanısal doğruluklarını veya hastalık riskini veya klinik sonuçları tahmin etme kapasitelerini geliştirmek için tek başlarına veya kombinasyon halinde (paneller, puanlar veya endeksler) kullanılabilirler. Klinik kararlara yardımcı olmak için çeşitli kan biyobelirteçleri kullanılır. Örneğin, yüksek duyarlılığa sahip kardiyak troponin T, miyokard enfarktüsünün teşhisine rehberlik eder[72]. D-dimerler pulmoner emboli teşhisi için bilgilendiricidir[72, 73], plazma kreatinin değerlendirmek ve izlemek için kullanılır. Böbrek fonksiyonu, asetilkolin reseptörlerini hedef alan antikorlar, miyastenia gravis teşhisine yardımcı olur[73]. Kalp yetmezliğini değerlendirmek için B tipi natriüretik peptit (BNP) kullanılır ve C-reaktif protein seviyeleri bakteriyel enfeksiyonda antibiyotik tedavisine yanıtı yansıtır[74].

2.5.1. Beyin ile ilişkili biyobelirteçler

Tümör belirteçleri birkaç grup altında toplanabilir: moleküler biyobelirteçler, dolaşımdaki tümör hücreleri (CTC'ler), dolaşımdaki serbest DNA (cfDNA), dolaşımdaki hücresiz mikroRNA'lar (cfmiRNA'lar) ve dolaşımdaki hücre dışı kesecikler (EV'ler)[75].



Şekil 2.4. Dolaşımdaki beyin biyobelirteçlerin bir bölümü[75]

Moleküller biyobelirteçler

Moleküler belirteçler belirli kanser türlerini ayırt etmek için yaygın olarak kullanılsa da, çok azı güvenilir ve tekrarlanabilir öngörücü belirteçler sağlar[76]. Biz sadece beyin tümörlerinin daha iyi bilinen moleküler belirteçlerinden bazılarına değineceğiz.

O-6 metilguanin-DNA metiltransferazı (MGMT) kodlayan gen, kromozom üzerinde 10q26 konumunda bulunur. O-6 metilguanin-DNA metiltransferaz DNA tamirinde, DNA alkilasyonunu tersine çevirerek ve guanin-alkil grubunu çıkararak, apoptozu önleyen mekanizmalara katılır. Bu protein molekülerin ifadesi, spesifik protein 1 veya nükleer faktor kappa gibi transkripsiyon faktörleri tarafından indüklenerek güçlü bir şekilde modüle edilir. MGMT'nin promotör metilasyonu, glioblastomun (GBM) yaklaşık %40'ında meydana gelir[77]. MGMT promotör metilasyonu ikincil olarak daha sık (yaklaşık %75) bulunur. Çünkü, ikincil GBM'deki TP53 mutasyonu (%92) ile güçlü bir şekilde koreledir ve primer tümörlerin sadece %40'sındadır. Glioblastomada MGMT metilasyonunun

belirlenmesinde polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemi yaygın olarak kullanılır[77, 78].

TP53 geni, iyi bilinen tümör baskılayıcı gendir, p53 proteinini kodlar[79]. Genomun mutasyonlara karşı stabil kalmasını sağlar ve p53, tümör oluşumunu inhibe etmede çeşitli rollere sahiptir. TP53 nokta mutasyonları, ikincil beyin tümörlerinde (%90) birincil beyin tümörlerine kıyasla (%30), çok daha sık bulunur ve bazı durumlarda birincil lezyonlarda hiç bulunmayabilir[80]. TP53 mutasyonunun beyin tümörlerinin ilerlemesini desteklemede önerilen mekanizmalarından biri mevalonat (MVA) yolu düzenlemesidir. QRT-PCR yöntemlerine dayanarak, TP53 mutasyonunun up regüle olarak düzenlendiği ve tümör oluşumunu desteklediği bilinen enzimlerin, yani MVA kinazlar ve 3'-hidroksi-3'-metilglutaril-koenzimin up regüle düzenlenmesi nedeniyle MVA yolunun aktivasyonu ile ilişkili olduğu doğrulanmıştır[81, 82].

Glial fibril asidik protein (GFAP), astrositler ve merkezi sinir sisteminin diğer hücreleri tarafından üretilen bir ara filament proteinidir[83]. Normal beyin hücrelerine göre tümör dokusunda çok daha yüksek düzeyde saptanır. Bununla birlikte, kandaki GFAP, bazı tümörlerde GFAP'nin heterojen/düşük ekspresyonu nedeniyle "duyarlılık boşluğu" olarak adlandırılan bir beyin tümörü için spesifik bir teşhis belirteci olarak kullanılamaz ve bu da kan dolaşımında saptanamayan miktarlarda salınan GFAP'ye yol açar. Kandaki yüksek GFAP konsantrasyonları, tümör hacmi, intratümörGFAP ekspresyonu ve nekroz derecesi ile ilişkilidir. Glial fibriler asidik protein şu anda dolaşımdaki tümör hücrelerinin tanımlanması için en yaygın belirteçtir ve heterojenliğine rağmen beyin tümörlerinde ekspresyon sıklıkla korunur[84, 85].

Telomeraz ters transkriptaz (TERT), tekrarlayan DNA dizileri içeren kromozomların ucundaki replikasyon telomerlerinde yer alan ribonükleoproteinaz ailesinin bir enzimidir. Talomerazlar ardışık hücre bölünmeleri sırasında yavaş yavaş kısalır ve sonuçta kalıcı bir proliferatif durmaya yol açar[85]. Telomeraz, hücre bölünmesi yoluyla telomer kısalmasını önleyen ve sadece kök hücrelerde eksprese edilen birincil enzimdir. Kanser gelişimi sırasında hücre transformasyonu ve ölümsüzleştirme için de çok önemlidir. Telomeraz promotöründe (pTERT), C228T ve C250T'deki iki spesifik nokta mutasyonunun kanser hücrelerinde rapor edildiği ve telomerazı aktive ettiği öne sürülmektedir[86]. Normal hücrelerde bulunmasalar da, beyin tümörleri de dahil olmak üzere çeşitli kanserlerde

pTERT mutasyonları bulunmuştur[87]. Beyin tümörü örneklerinin yüksek bir yüzdesi, artan TERT gen proteini seviyeleri ile ilişkili pTERT mutasyonlarına sahiptir. Sıvı biyopside saptanan pTERT mutasyonları görülme sıklığının yüksek olması nedeniyle beyin tümörleri için prognostik faktör olabilir. pTERT mutasyonların tespiti, gelecekteki teşhis testlerine katkıda bulunabilir[88].

Epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR), göç, çoğalma, hayatta kalma ve tümör oluşumu dahil olmak üzere çeşitli sinyal yollarının ve fizyolojik tepkilerin ana aktivatörüdür[89]. EGFR, potansiyel bir glioblastoma biyobelirteçtir. Sağlıklı hücrelerde görev alır. Büyüme faktörü sinyalleşmesinde kansere bağlı onkojenik değişiklikler (varyant ekspresyonu, mutasyonlar) sıklıkla liganddan bağımsız onkojenik aktivite sağlar. EGFR, glioblastoma hastalarının yaklaşık %40'ında amplifiye olur ve sıklıkla yüksek gradeli tümörlerle ilişkilendirilmiştir[90]. Tümörlerde birkaç düzine ek EGFR kopyası olabilir. EGFR mutasyonu ve amplifikasyonu, glioblastoma hücrelerinde bol oldukları için prognostik biyobelirteçler olarak sınıflandırıldı[90]. Başlıca büyüme faktörleri ve reseptörleri tarafından kontrol edilen tümörün proliferatif doğası nedeniyle EGFR, GBM kanser hücrelerinin gelişimi için gerekli yolları aktive edebilir[91].

İzositrat dehidrojenaz (IDH), ana işlevi Krebs döngüsünde oksidatif dekarboksilasyonu katalize etmek olan kromozom 2 üzerindeki genler tarafından kodlanan bir protein enzimidir. IDH iki sınıfa ayrılmıştır IDH 1 ve IDH 2. Bu izoenzimler katalizler. En yaygın IDH 1 veya 2 mutasyonu, arginin yerine histidinin yerini alan ve böylece normal bir ürün olan alfa-ketoglutarat'ı (a-KG) D-2-hidroksi-glutarata (D-2HG) dönüştüren tek kalıntılı bir değişikliktir. Bir oncometabolit olan bu ürünün tümör oluşumunu nasıl desteklediği şu anda bilinmemektedir, ancak muhtemelen D-2-hidroksi-glutaratın DNA ve histon metilasyonunu destekleyen DNA demetilazları üzerindeki etkileri ile ilgilidir. D-2HG ayrıca tedaviye yanıtın bir biyolojik belirteci olarak kullanılmıştır. Bu biyolojik belirtecin tespitinin, immünohistokimya veya spektroskopi kullanılarak yapılması mümkündür[92-94].

Dolaşımdaki tümör hücreleri

Dolaşımda bulunan tümör hücreleri (CTC), birincil veya metastatik tümörlerde, beyin omurilik sıvısı ve idrar dahil olmak üzere vücut sıvılarına dökülen hücrelerdir. CTC,

epitelyal tümör hücrelerinin metastaz yapma yeteneğini belirler[95]. CTC'lerin sadece merkezi tümör alt popülasyonları mı yoksa tüm primer tümörüden mi kaynaklı, rastgele seçilmiş mi olduğuna karar verilmemiştir. CTC'lerin metastaz gelişiminde önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir; bununla birlikte, CTC'lerin tümörü terk etme, kan dolaşımına girme ve metastatik kolonizasyon için hedef organlara saldırma süreçleri çok karmaşıktır[96]. ve tam olarak aydınlatılamamıştır[96]. Melanom, akciğer kanseri ve feokromositoma gibi çeşitli kanserlerde prognozu tahmin etmek için CTC'lerin etkili bir biyobelirteç olduğu ifade edilmektedir[97, 98]. Buna ek olarak, glioblastomlu hastalarda dolaşımdaki tümör hücreler benzer şekilde tespit edilir, bu da hastalığın yayılmasına ve metastaza yol açabilir. CTC'ler ayrıca glioblastoma hastalarının izlenmesinde de yardımcı olabilir. Kemoterapiden sonra tespit edilen seviyeleri, tedaviden önceki seviyelere kıyasla önemli ölçüde daha düşüktür, bu da tümör progresyonunu radyasyon nekrozundan ayırt etmede paha biçilmez bir fikir sağlayabilir[99].

CTC, tümör tespiti için iyi ve minimal invaziv örnekler sağlar. Spesifik CTC genotipleri, primer tümörün ilerlemesini ve nüks süreci sırasında spesifik genetik bilgideki değişikliği yansıtabilir. Dolaşımdaki tümör hücrelerinin glioblastomada yaklaşık %75'e kadar yaygın olduğu bildirilmiştir. En yaygın olarak kullanılan CTC izleme yöntemleri, çoğu kanser hücresinin yüzeyinde ifade edilen ancak glioblastoma hücrelerinin yüzeyinde ifade edilmeyen epitelyal hücre yapışma moleküllerinin (EpCAM'ler) varlığına dayanır[100].

Dolaşımdaki ekstrasellüler veziküller

Hücre dışı veziküller (EV'ler), hem kanser hem de kanser dışı hücreler tarafından hücre dışı boşluğa salınan küçük (genellikle 40-100 nm çapındal) lipid-çift katmanlı kapalı veziküllerdir. Proteinler, lipidler ve nükleik asitler (DNA, mRNA, kodlamayan RNA) gibi çeşitli hücre bileşenlerini taşırlar. EV'ler "eksozomlar" olarakda adlandırılırlar. Hücreler arası iletişime aracılık ederler ve çeşitli biyolojik faktörlerin salınımı yoluyla alıcı hücrelerin moleküler aktivitesini değiştirirler[101]. Bu nedenle, kanser hücreleri, tümöre özgü biyobelirteçler içeren ve birincil tümör özelliklerini tespit edebilen eksozomlar salgılarlar. Neoplastik hücreler tarafından salgılanan hücre dışı veziküller, komşu stromal hücreler tarafından alınabilir ve bu da hücre programında bir değişikliğe yol açar[102].

Glioblastomaların EV'leri serbest bıraktığı ve anjiyogenezi teşvik etmek için endotelyal hücrelerle etkileşime girdiği ve tümör hücresi büyümesini uyarmak için otokrin bir şekilde hareket ettiği gösterilmiştir. Beyin tümörlü hastaların serumunda EV'lerin izole edilebileceğini ve bu hastaların serumlarından elde edilen EV'lerde EGFR genindeki spesifik genetik değişikliklerin tespit edilebilir. EV'ler glioblastomalı hastaları ayırt etmek için potansiyel bir biyobelirteç olabilir. Diğer beyin yaralanmaları ve hastalığın erken teşhisinde de yardımcı olabilir[103].

Hücre dışı veziküllerin en yaygın olarak incelenen kategorileri, 30 ila 100 nm arasında değişen eksozomlar ve 100 ila 1000 nm arasında değişen mikro veziküllerdir. EV'ler, santrifüjleme ve saflaştırma veya çökeltme yoluyla serumdan izole edilir. EV'ler, nanoparçacık izleme analizi [104], transmisyon elektron mikroskobu [105] ve ICAM-1 veya akış sitometrisi veya Western blot ile tanımlanan integrinler gibi zarla ilgili birçok proteinin varlığı kullanılarak tespit edilebilir.

Dolaşımdaki serbest DNA’lar

Dolaşımdaki tümör DNA'sı (cfDNA), kanser dokusunun parçalanmasıyla kan dolaşımına salınan DNA parçalarıdır. Kanser olmayan hastalarda, kan cfDNA'sı, esas olarak, inflamasyon süreci veya hücre apoptozu sırasında salınan genomik DNA'dan gelir[106]. Genomik cfDNA'lar uzun DNA parçalarıdır (>500 bp). Fizyolojik koşullarda, fagositler tarafından uzaklaştırılması nedeniyle kandaki cfDNA konsantrasyonu düşüktür. Gelişmiş katı tümörlerde, kanda daha yüksek cfDNA seviyeleri bulunur ve bu, kapsamlı bir şekilde incelenmiştir[107]. Birkaç çalışma, astrositom ve oligoastrositom dahil olmak üzere primer CNS tümörleri olan bazı hastalarda cfDNA'nın tespit edildiğini göstermiştir. Glioblastoma, hastaların serumunda ctDNA'nın konsantrasyonu ve pozitif indeksinin düşük olmasıyla diğer neoplazmalardan farklıdır[108]. Çıkarıldıktan sonra, ctDNA üzerindeki somatik değişikliklerin tespiti, cfDNA miktarına ve sıralama yönteminin duyarlılığına bağlıdır. Tüm cfDNA içindeki ctDNA oranı, ilerlemiş katı tümörlerde tümör yükü ile ilişkilidir. ctDNA, tümör ilerlemesini dinamik olarak yansıtır ve birincil tümör gen mutasyonunun ve ilaç direncinin spesifik mekanizmasını sağlar. Ek olarak, cfDNA'lar moleküler bileşimi gösterir. CfDNA analizi, tümör ilerlemesini ve ilaç direnci mutasyonlarını erken bir aşamada tespit edebilir. Bu bilgi, erken bir aşamada daha etkili veriler sağlayabilir ve tedavi etkinliğini iyileştirebilir[109].

Dolaşımdaki proteinler

Beyin tümörlü hastalarda, proteinlerin salgılanması kan ve idrarda ve/veya BOS'ta dolaşan proteinlerin (CP'ler) seviyesinde artışa neden olabilir. İmmünosupresif asidik protein, alfa-1 asidik glikoprotein ve alfa-1 antitripsin, glikoprotein fibronektin ve endotelyal hücre kaynaklı trombomodulin-1 gibi plazma kaynaklı protein belirteçleri beyin tümörü olan hastaların kanında yüksek bulunan proteinlerdir. Tümörlerde anjiyogenez ile ilgili protein belirteçleri tespit edilmiştir. Beyin tümörü olan hastalarda vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) düzeyinin sağlıklı kişilere göre anlamlı derecede yüksek olduğu ve hatta beyin metastazı olan hastalarda daha yüksek olduğu bulunmuştur[110]. Matris metalloproteinazlar (MMP'ler) ve metaloproteinazların doku inhibitörleri (TIMP'ler]) gibi hücre dışı matrisin tümör hücresi yeniden modellenmesinde yer alan proteinler, potansiyel tanısal CP biyobelirteçleri olarak tanımlanmıştır. Bu belirteçler tümörün evresine göre ayırt edilmesine yardımcı olur. Ancak sağlıklı insanların dolaşımında beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF) ve kalsiyum bağlayıcı protein B S100 (S100B) gibi belirteçlerin saptanabilmesi, bu tür protein belirteçlerinin hastalık saptama özgüllüğünü olumsuz yönde etkiler. Ayrıca interlökin 2 (IL-2) ve reseptörü, tümör nekroz faktörü alfa (TNFa), dönüştürücü büyüme faktörü beta (TGFb), kitinaz-3-benzeri protein 1 (CHI3L1) YKL-40 gibi, nöral hücre adezyon molekülü (NCAM) ve nöropeptid Y (NPY) plazma seviyeleri için potansiyel tanı değeri bildirilmiştir[75].

Prognostik CP belirteçleri iki alt gruba ayrılabilir: tümörle ilgili belirteçler ve endojen sistemik stres yanıtlarıyla ilgili belirteçler. Tümörle ilişkili plazma belirteçleri YKL-40 ve EGFR ve osteopontinin hücre dışı alanı, genel sağkalım ile ters orantılı olarak bulunmuştur. Ek olarak, tümör anjiyogenezinde rol oynayan birçok CP belirteci, gliomalı hastaların sağkalımı ile ilişkilidir. Plazminojen aktivatör inhibitörü-1'in (PAI-1) serum seviyesi ve hepatosit büyüme faktörünün (HGF) BOS protein seviyeleri, progresyonsuz sağkalım (PFS) ile ters orantılıydı. Beyin tümörlü hastalarda dolaşan protein belirteçleri, tedavinin etkinliğini izlemek için potansiyel olarak kullanılabilir[111]

Dolaşımdaki serbest miRNA’lar

MiRNA, hedef mRNA'yı bozarak veya inhibe ederek gen ekspresyonunun transkripsiyon sonrası seviye düzenlemesini tamamlayan kısa kodlayıcı olmayan RNA

moleküllerdir[112]. MikroRNA'lar hem sağlıklı hem de kötü huylu dokuların homeostazında ve hücreler arası iletişiminde kilit rol oynar. MiRNA'nın tümör hücrelerinin gelişimi ve ilerlemesindeki rolü, özellikle glioblastoma, menenjiomlarda büyüme, apoptoz ve farklılaşma süreçlerini modüle etmeye dayanır. MiRNA analizi, çeşitli kanserlerde kanser dokusunun kökenini doğru bir şekilde tanımlamıştır. Son yıllarda, birçok çalışmada serum analizi yapılmıştır[113]. Tanısal veya prognostik belirteçler olarak insan menenjiomalarda miRNA Panelleri araştırılmıştır. Örneğin, miR-21, kanserde çalışılan önemli bir miRNA'dır ve menenjiomlarda hastalarının plazma ve dokusunda up regülasyonu rapor edilmiştir ve daha düşük genel sağkalım ve tümör derecelendirmesi ile ilişkilendirilmiştir[114].

MiRNA'lar vücut sıvılarında stabildir ve PCR ile tespit edilebilir. MiRNA örnekleri genellikle menenjiom profili oluşturmak için vücut sıvılarından (örn. kan ve BOS) alınır. MiRNA'ların biyobelirteç olarak kullanılması, menenjiomların saptanmasında yüksek oranda özgüllük sağlar[115].

miRNA ifadesinde görülen anormalliklerin kanser başlangıcı ve ilerlemesi ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Nitekim miRNA'ların tümör supresör ya da onkojenik özellikler sergileyebildiği düşünülmektedir. Bu nedenle, miRNA'ların tek veya küçük bir alt kümesindeki değişikliklerin birçok mRNA'nın ekspresyon paterni üzerinde dramatik etkileri olduğu ve bunun da hücreleri dönüşüme ve değişime yönlendirdiği ifade edilmektedir.

Menenjiom ve miRNA ilişkisi konusunda yapılmış az sayıda çalışma mevcuttur. Çalışmalarda, menenjiyom için tanısal veya prognostik biyobelirteçler olarak dolaşımdaki miRNA'ların kullanılması araştırılmıştır. Menenjiomlarda hücre migrasyonu ve invazyonunu düzenleyen mikroRNA’ların belirlenmesi hastalığın prognozu açısından önemlidir. Saydam O ve ark. miR200a'nın menenjiyom hücrelerinde göç etme yeteneğini düzenlediğini saptamışlardır. Araştırıcılar tarafından miR200a, bir miRNA profilleme çalışmasının ardından, menenjiyom patojenisitesine dahil edilmiştir. miRNA’ların β-katenin proteinine ait mRNA'yı doğrudan hedeflediği ve Wnt sinyal yoluna müdahale ederek bu tümör tipinin büyümesini etkilediği gösterilmiştir. miRNA-21 ekspresyonu, grade 1 lezyonlara kıyasla grade 2 ve 3 lezyonlarda anlamlı bir artış gösterirken, miRNA-107 ekspresyonu, grade 2 ve grade 3 lezyonlarda grade 1 lezyonlara göre anlamlı olarak

daha düşük bulunmuştur. miRNA-137 ve miRNA-29b ekspresyonu, grade 1 tümörlere kıyasla grade 2 ve grade 3 lezyonlarda istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir azalma göstermiştir[116].

Temel olarak vücut sıvılarından elde edilen minimal invaziv yaklaşımı nedeniyle kanser tespiti için yararlı bir biyobelirteç ve ayrıca moleküler biyobelirteçlerin öngörücü ve prognostik kapasitesi açısından hastaların sınıflandırılmasına olanak sağlar[117].

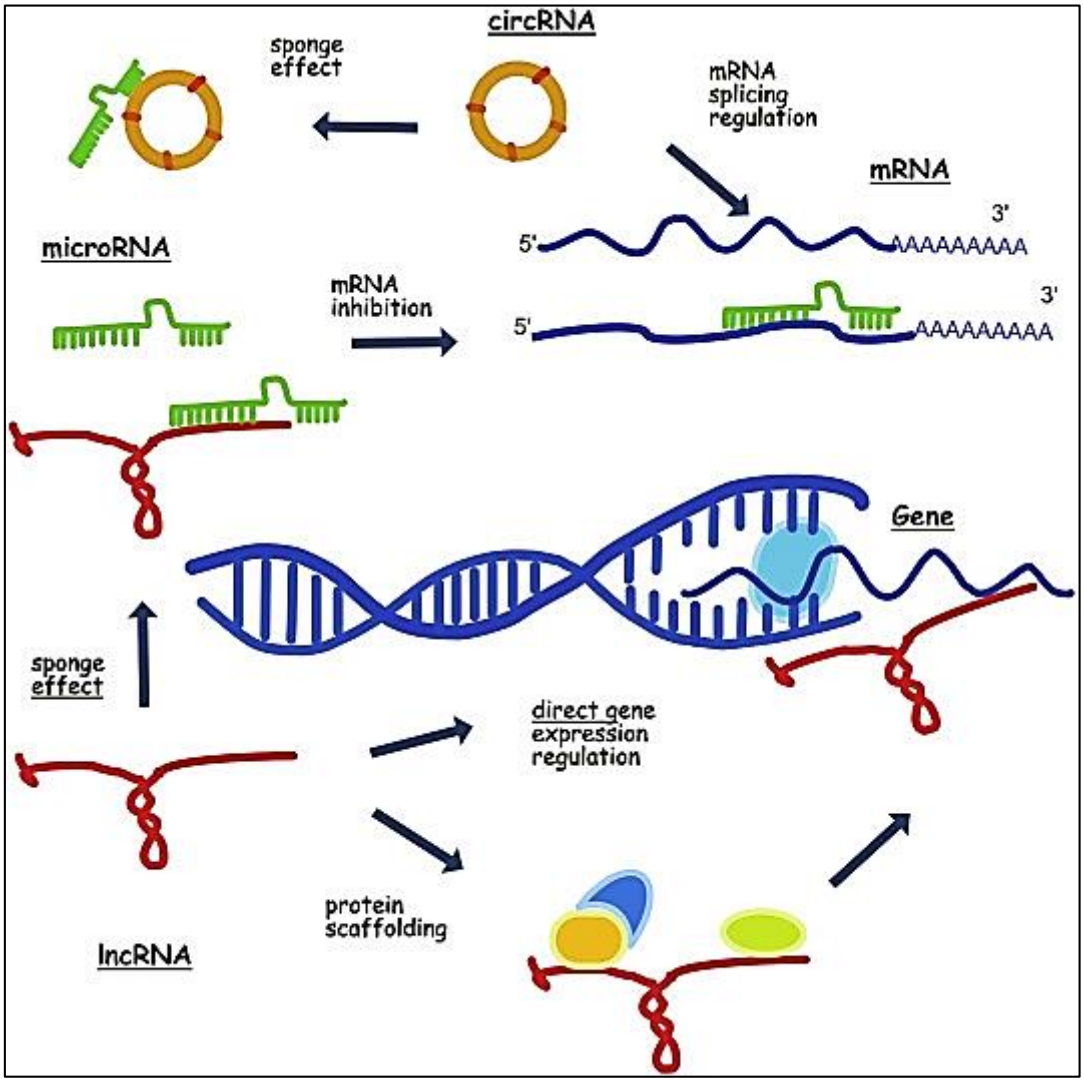
2.6. Kodlamayan RNA'lar

İnsan DNA'sının %98'i protein kodlamaz. Uzun yıllar boyunca, bilim adamları insan genomunun bu kısmını 'junk' DNA olarak değerlendirirken; aslında 'junk' olarak atılmadığı, daha sonra potansiyel kullanım için saklandığı' yaygın bir düşüncedir. Bununla birlikte, o zamana kadar 'junk DNA' olarak adlandırılan DNA'ların daha derinlemesine araştırıldığı ENCODE projesiyle, insan genomunun en az %80'inin biyolojik olarak aktif olduğunu kanıtlayan çalışmalar ancak 2012'de ortaya çıkarıldı[118, 119]. Cis/trans-düzenleyici elementler, intronlar, psödojenler, tekrar dizileri ve telomerlerin tümü junk DNA'nın bir parçasıdır[120]. Bu RNA transkriptleri sınıfı, oldukça fazladır. Ribozomal RNA'lardan (rRNA'lar), transfer RNA'larından (tRNA'lar) ve ayrıca küçük nükleolar RNA (snoRNA'lar) gibi diğer RNA türlerinin küçük ama temel bir bölümünden oluşur[121].

Kodlamayan RNA, DNA'dan kopyalanır, ancak protein kodlamaz, tRNA, mikroRNA (miRNA), uzun kodlamayan RNA (lncRNA), dairesel RNA (circRNA), intronik RNA, tekrarlayan RNA, PIWI-etkileşimli RNA, küçük nükleolar RNA, büyük intergenik kodlamayan RNA ve bilinmeyen kalan diğer olası RNA türlerinden oluşur[122, 123].

IncRNA'lar proteinleri kodlama potansiyeline sahip olmasa da, çeşitli mekanizmalar yoluyla diğer genlerin ekspresyonunu etkileyebilirler. Bazı durumlarda, etki mekanizmaları iyi bilinmektedir ve aktiviteyi kontrol etmek için stratejiler iyi yapılandırılmıştır. Ancak diğer durumlarda, mekanizmalar belirsiz veya tartışmalıdır[124]. Örneğin, eylemlerini bloke etmek ve gen ekspresyonunu inhibe etmek için miRNA'lara bağlanan oligonükleotitlerin mekanizması kanıtlanırken, ifadeyi manipüle etmek için lncRNA'ların kullanılmasına yönelik birçok olası mekanizma henüz anlaşılmaya başlanmıştır[125].

Son yıllarda, kapsamlı araştırmalar, bazı kodlamayan RNA türlerinin, mRNA fonksiyonunu, DNA metilasyonunu veya histon modifikasyonunu etkileyerek protein ekspresyonunu düzenlediğini ortaya koymuştur Son on yılda, lncRNA'ların çeşitli fizyolojik süreçlere dahil olduğu konusunda artan sayıda çalışma rapor edilmiştir ve biyoinformatik analizlerle birlikte yeni nesil dizileme teknolojileri, beklenmedik çeşitli RNA moleküllerinin yaygın transkripsiyonunu ortaya çıkarmıştır[124]. Bunlar arasında, miRNA'lar, lncRNA'lar ve circRNA'lar transkripsiyonel düzenlemeye dahil olduğu gösterilmiştir[126].

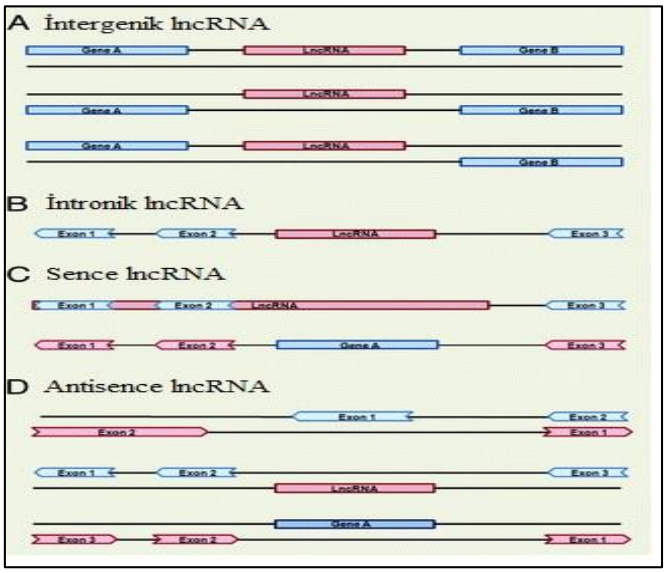


Şekil 2.5. Kodlamayan RNA'lar, çeşitli mekanizmalar yoluyla gen düzenlemesini etkiler: mikroRNA'lar [yeşil] ve lncRNA'lar [kırmızı], mRNA'ya [mikroRNA'lar], gen/yeni oluşan transkripte [lncRNA'lar] veya histon değiştiricilere bağlanarak gen ekspresyonunu doğrudan düzenleyebilir. Ancak lncRNA'lar ve mikroRNA'lar da "sünger" etkisiyle birbirlerini düzenleyebilirler. CircRNA'lar [turuncu daire], sünger etkisi yoluyla mikroRNA'ları ve mRNA ekleme yoluyla gen ekspresyonunu düzenler[126]

2.6.1. Uzun kodlamayan RNA’lar

İnsan genom projesinin bulguları sonucunda, insan genomunun sadece %1, 5'i protein kodlar. Geri kalan genler çöp yani işe yaramayan DNA’lar olarak kabul edilirdi. Yeni kanıtların ortaya çıkmasıyla, protein kodlamayan RNA’ların çeşitli hücresel fonksiyonlarda rol aldıkları tespit edilmiştir[127]. Kodlamayan RNA’lar iki ana sınıfta toplanır. 200 nükleotidten küçük kodlamayan RNA’lar; miRNA, siRNA, piRNA vs. ve 200 nükleotidten büyük kodlamayan RNA’lar. Uzun kodlamayan RNA 200 nükleotidten büyük kodlamayan RNA olarak tanımlanır. Uzun kodlamayan RNA’lar insan transkripsiyonun yarısını oluşturur[128].

LncRNA’lar okuma çerçevesine sahip değiller, 200 nükleotidten başlayıp 100 kilobaza kadar uzunluğa sahiptirler. Lnc-RNA beş ana gruba katagorize edilebilir. 1. sence veya 2. antisence, başka bir transkriptin bir veya daha fazla eksonu ile örtüştüğünde sırasıyla aynı veya zıt iplik; 3. çift yönlü, dizi, transkripsiyonu 1000 baz çiftinden daha az başlatılan bir komşu kodlama transkriptinden karşıt zincirde yer aldığında, 4. intronik, tamamen ikinci bir transkriptin intronundan türetildiğinde veya 5. intergenik, iki gen arasındaki genomik aralık içinde olduğunda[129].



Şekil 2.6. Uzun kodlamayan RNA (lncRNA) kategorileri[129]

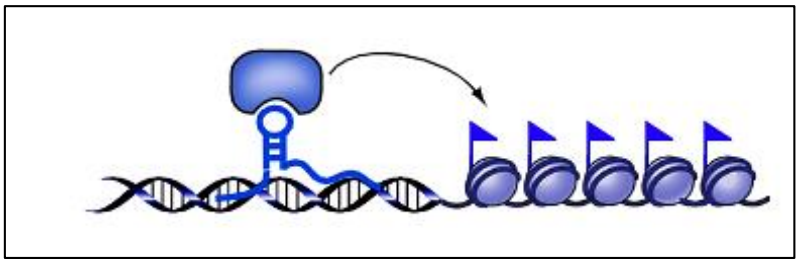
LncRNA’ların çoğu RNA polimeraz II tarafından sentezlenirken, bazı lncRNA’lar ise RNA polimeraz III tarafından sentezlenir. LncRNA'ların çoğu sitoplazmada bulunur, ancak bazıları hem sitoplazmada hem de çekirdekte bulunur.

LncRNA'lar, genlerin yaşam döngüsünün neredeyse her adımında yer alır ve çeşitli işlevleri düzenler. Birkaç lncRNA, kromatin modifikasyonu, transkripsiyon ve transkripsiyon sonrası işleme dahil olmak üzere çeşitli seviyelerde gen ekspresyonunu düzenleyebilir[130].

lncRNA dahil oldukları biyolojik süreçler birlikte çok sayıda tanımlanmış transkript nedeniyle lncRNA işlevini açıkça tanımlamak ve kategorize etmek karmaşık hale gelmiştir. Bununla birlikte, lncRNA işlevini geniş ölçüde sınıflandırmak için üç genel paradigma ortaya çıkmıştır: guide (kılavuzlar), dinamik yapı iskeleleri ve moleküler decoy(moleküler tuzaklar).

Guide (kılavuzlar)

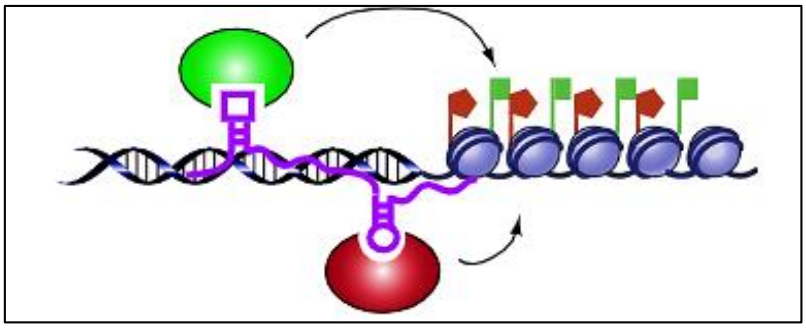
LncRNA kılavuzları, genomun düzenlenmesi için spesifik genomik lokuslarda faktörlerin uygun lokalizasyonu/organizasyonu için gereklidir. Bu transkriptler, transkripsiyon lokuslarından ya cis (bitişik) veya trans (uzak) bölgelerdeki genomdaki kesin konumlara yönlendirmek için transkripsiyon faktörleri ve kromatin değiştiriciler gibi düzenleyici veya enzimatik olarak aktif proteinlere bağlanır[131].



Şekil 2.7. Lnc-RNA klavuz modeli[131]

Dinamik yapı iskeleleri

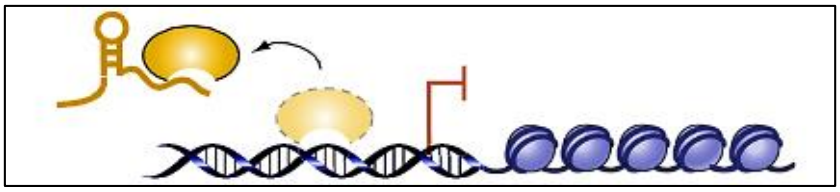
Dinamik moleküler yapı iskeleleri olarak hareket eden lncRNA'lar, çoklu enzimatik komplekslerin ve diğer düzenleyici ortak faktörlerin geçici montajı için merkezi bir platform sağlayarak yapısal bir rol oynar. Bu genellikle kısa ömürlü ribonükleoprotein (RNP) kompleksleri, gen ekspresyonunun düzenlenmesi için spesifik genomik yerleri hedefleyebilir. RNP içindeki çeşitli komplekslerin katalitik aktivitesi genellikle fonksiyon için önemlidir[131].



Şekil 2.8. Lnc-RNA yapı modeli[131]

Moleküler decoy (Moleküler tuzaklar)

Tuzak lncRNA'ların ana işlevi, moleküler bir havuz görevi görerek belirli düzenleyici faktörlerin kullanılabilirliğini sınırlamaktır. Bu RNA sınıfı, RNA bağlayıcı proteinleri, transkripsiyon faktörlerini, mikroRNA'ları, katalitik proteinleri ve daha büyük modifiye edici kompleksin alt birimlerini ayırarak gen ekspresyonunu modüle eder[131].



Şekil 2.9. Lnc-RNA moleküller tuzak modeli[131]

2.6.2. Kısa kodlamayan RNA’lar

İnsan genomunun %80'den fazlası, homeostatik veya hastalık kaynaklı hücresel tepkiler sırasında RNA'ya kopyalanabilir. Bununla birlikte, insan transkriptomunun %2'sinden daha azı proteinlere çevrilir. Kodlamayan RNA’ların 200 nükleotiden daha küçük olan RNA ‘lara "kısa kodlamayan RNA'lar" (sncRNA'lar) olarak adlandırılır[132]. Şimdiye kadar memelilerde dört ana fonksiyonel sncRNA grubu tanımlanmıştır: mikro- [miRNA'lar], PIWI-etkileşimli (piRNA'lar), küçük nükleolar (snoRNA'lar) ve endojen küçük enterferans yapan- (endo-siRNA'lar) RNA'lar. sncRNA'lar, gen ekspresyonunu, protein translasyonunu ve genomik organizasyonu düzenleyerek hücresel süreçler üzerinde çeşitli etkiler gösterebilir. Şimdiye kadarki en iyi karakterize edilen sncRNA'lar, mRNA bozulmasını veya translasyon inhibisyonunu indükleyerek transkripsiyon sonrası gen ekspresyonu düzenlemesinde yer aldığı bilinen RNA'lardır (19–25 nt)[129]. Bugüne kadar, kodlama genlerinin %60'ından fazlasını düzenlediği tahmin edilen 2000'den fazla insan miRNA'sı tanımlanmıştır[133].

MikroRNA’lar

miRNA'lar, yaklaşık 22 nükleotit uzunluğunda olan küçük kodlamayan RNA'lardır[134]. Transkripsiyon sonrası seviyede gen ekspresyonunu düzenlerler; özellikle, hedef genlerin 3′ UTR'sindeki spesifik dizileri bağlayarak, hedef mRNA'ların translasyonel baskılanmasını ve/veya bozulmasını indükler. miRNA'lar aynı anda birden fazla hedefi düzenleyebilir ve protein ekspresyonunu değiştiren tüm gen ağlarında işlev görebilir[135].

İlk defa C.elegans’ın gelişimini çalışan Lee ve arkadaşları tarafından 1993 yılında tanımlanmıştır. 2000 yılında, let-7 adı verilen ilk memeli miRNA'sının tanımlanmasıyla değişti. Let-7'nin keşfi, yeni miRNA'ların tanımlanmasına, memeli gelişiminde miRNA biyolojisinin anlaşılmasına ve yaygın insan hastalıklarının patogenezinde miRNA'ların rolünün araştırılmasına büyük ilgi uyandırdı[136, 137]. Yaklaşık on beş yıl sonra, evrimsel olarak korunan binlerce miRNA'nın insan genomu tarafından kodlandığını ve miRNA'ların, embriyogenezden yaşlanma metabolizmasına ve bağışıklığa kadar memeli biyolojisinin neredeyse tüm yönleriyle ilişkili olduğu görülmüştür. Daha da önemlisi, miRNA'lar kanser, diyabet, obezite, bulaşıcı hastalıklar ve hatta genetik gibi sayısız insan hastalığının patogenezinde kilit rol oynayan moluküller olarak ortaya çıkmıştır[138, 139]. MiRNA işlevini manipüle edebilen antimirler ve miRNA-mimikleri adı verilen yeni bir ilaç sınıfı, şu anda klinik öncesi ve klinik testlerin çeşitli aşamalarındadır ve bir gün yaygın insan hastalıklarını tedavi etmek için miRNA tabanlı bir terapötik yaklaşımın kullanılabileceği umudunu artırmaktadır[140].

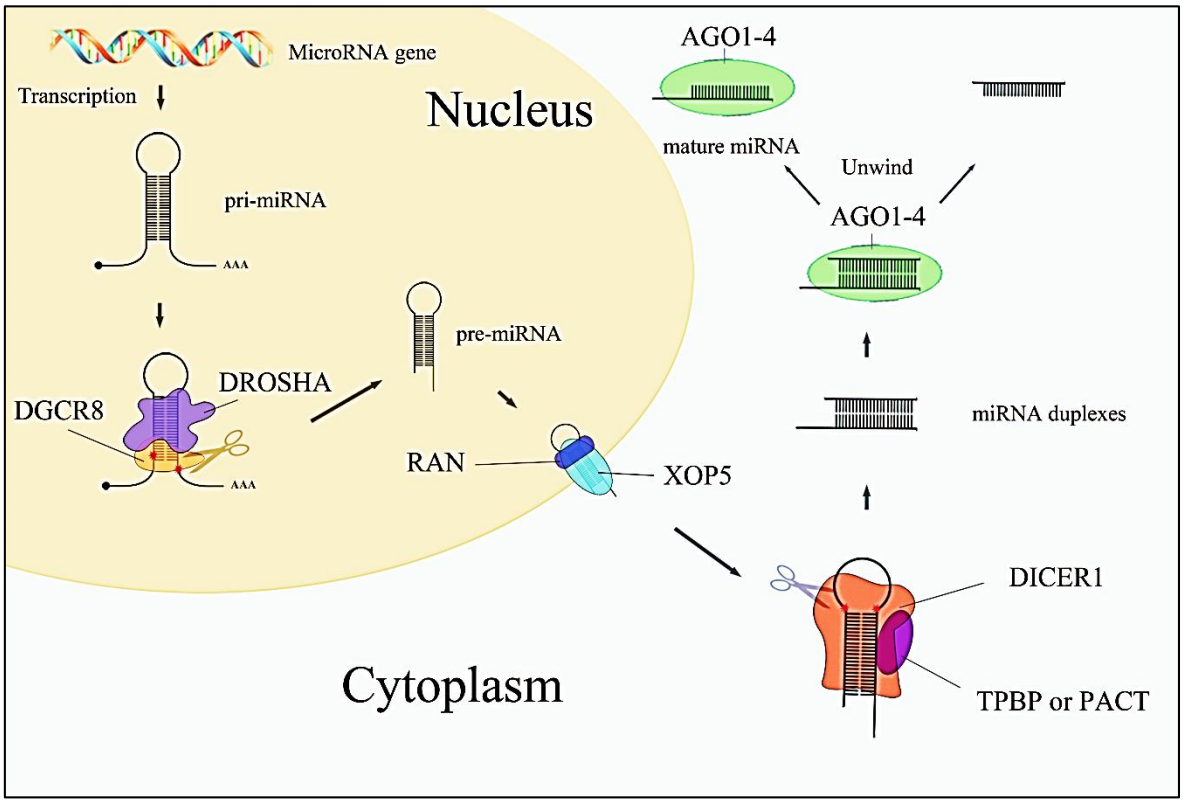
MikroRNA’ların biyogenezi

Olgun miRNA'lar monosistronik, bisistronik veya polisistronik miRNA transkriptlerinden ortaya çıkabilir. Bu transkriptler, öncü miRNA'yı [pre-miRNA] serbest bırakan bir RNase III enzimi tarafından çekirdekte işlenen birincil miRNA [pri-miRNA] olarak bilinen hair loop yapılarına katlanır. Bu pre-miRNA, miRNA premiRNA dupleksini oluşturmak üzere başka bir RNaseIII enzimi tarafından işlendiği sitoplazmaya aktarılır[141, 142].

Başlangıçta RNA polimeraz III'ün [RNApol III] çoğu miRNA lokusunun transkripsiyonuna aracılık ettiğine inanılıyordu, çünkü tRNA'lar ve U6 snRNA'lar gibi daha kısa kodlamayan RNA'ların çoğunu kopyaladığı biliniyor. Bununla birlikte, miRNA gen yapısı ve doğrudan

deneysel kanıtlar, miRNA lokuslarının, hayvanlarda miRNA lokus transkripsiyonuna aracılık eden birincil RNA polimerazın RNApol II olduğu göstermektedir. MiRNA'ların çoğu intergenik bölgelerden türetilirken ve bağımsız transkripsiyon birimleri olarak bulunurken, bazı miRNA genleri intronik bölgelerde bulunur ve RNApol I tarafından konakçı transkriptlerine paralel olarak kopyalandıkları gösterilmiştir[142, 143].

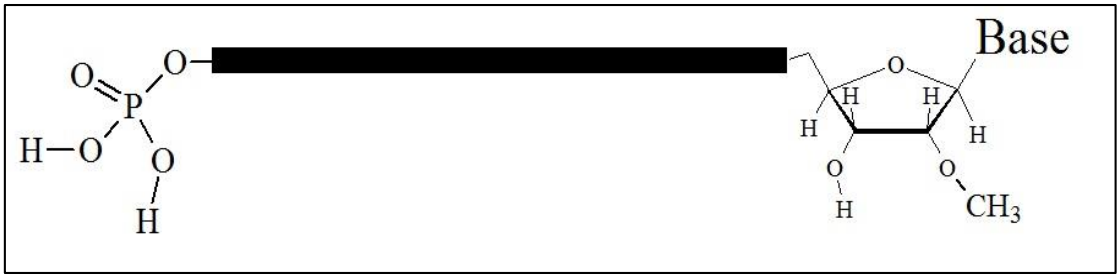
MiRNA biyogenez yolunun çoğunluğu Şekil 2.10'da gösterilmiştir. Çekirdekte, mikroRNA genleri, RNA polimeraz II [Pol II] tarafından birincil miRNA'lar [pri-miRNA'lar] olarak kopyalanır. Bu uzun pri-miRNA'lar daha sonra çift sarmallı RNaseIII enzimi Drosha ve onun temel kofaktörü DGCR8 tarafından parçalanır[144]. pre-miRNA'lar [~65 nt] üretir. Pre-miRNA'lar daha sonra Exportin-5 [XOP5] ve onun kofaktörü Ran tarafından çekirdekten sitoplazmaya aktarılır. Nükleerden transferin ardından miRNA öncesi döngü, miRNA dupleksleri oluşturmak için RNaseIII enzimi Dicer tarafından bölünür. Dicer, TRBP veya PACT ve Argonaute proteinleri Ago1-4, pre-miRNA'nın işlenmesini ve RNA kaynaklı susturma kompleksinin [RISC] montajını düzenler[145]. GW182 protein ailesinin üyeleriyle birlikte, RNA dupleksinin bir ipliği, olgun miRNA olarak Ago proteinine bağlı kalırken, diğeri bozulur[146, 147].



Şekil 2.10. miRNA biyogenezi[147]

PIWI etkileşimli RNA'lar (piRNA'lar)

PIWI etkileşimli RNA'lar [piRNA'lar], 26-31 nükleotitten oluşan tek sarmallı ncRNA'lardır[148]. Bu, germ hattına özgü bir Argonaute ailesi olan P-elementinin neden olduğu wimpy testis [PIWI] proteinleri ile etkileşime girer. 2006 yılında fare testislerinde dört grup tarafından bağımsız olarak keşfedildi. piRNA'ların, hem transkripsiyon sonrası epigenetik seviyelerde retrotranspozonların susturulmasında hem de germ hatlarındaki, özellikle spermatogenez sırasındaki diğer genetik elementlerin susturulmasında rol oynar[149]. PiRNA'ların net bir sekonder yapısı yoktur, 26 ila 31 nükleotid uzunlukladır ve 5' uridin hem omurgasızlarda hem de omurgalılarda görülür. Caenorhabditis elegans'daki piRNA'lar 2' ve 3' oksijeni bloke eden 5' monofosfat ve 3' modifikasyonuna sahiptir[150].



Şekil 2.11. Pıwı RNA yapısı[151]

Küçük nükleolar RNA'lar (SnoRNA'lar)

SnoRNA'lar 60-300 nükleotit uzunluğunda olup kodlamayan RNA'ların bir sınıfıdır. rRNA'nın kimyasal modifikasyonunda rol oynar. rRNA'nın transkripsiyon sonrası modifikasyonu için bir rehber görevi görürler ancak son yıllarda diğer hücresel yolların düzenlenmesinde yeni bir rol ortaya çıkmıştır[152]. Dizi/yapı/işlev temelinde tanımlanan iki ana snoRNA sınıfı vardır: kutu C/D snoRNA ve kutu H/ACA snoRNA. Daha az bülümünü oluşturan üçüncü bir sınıf, çekirdeğin küçük zarsız alt bölümleri olan Cajal cisimleriyle ilişkili olan ve esas olarak transkripsiyon sonrası küçük RNA modifikasyonunda yer alan küçük Cajal gövdesine özgü RNA'lardır [scaRNA'lar][153, 154].

Tüm snoRNA'lar, küçük nükleolar ribonükleoprotein [snoRNP'ler] kompleksleri oluşturmak için spesifik protein ortaklarıyla kompleks halinde çalışır. snoRNA'lar hedef rRNA'lar üzerindeki tamamlayıcı dizileri tanır, bağlanır ve ortak proteinlere değiştirilecek bazı sinyaller verir. Kodlayan ve kodlamayan transkriptlerin intronlarında bulunurlar[121, 155].

rRNA biyogenezinde snoRNA'ların rolü iyi belgelenmiştir ancak son birkaç yılda bazı çalışmalar, bu sncRNA'nın hücresel düzenlemedeki diğer olası rollerinin yanı sıra kanser gelişimi ve ilerlemesindeki rollleri tespit edilmiştir. snoRNA'ların miRNA benzeri transkripsiyon sonrası gen susturmada hareket edebileceğine dair bazı bulgulara raslanmıştır[156].

siRNA'lar

Bazen kısa enterferans yapan RNA veya susturucu RNA olarak da bilinen küçük enterferans yapan RNA (siRNA), tipik olarak 20-27 baz çifti uzunluğunda, miRNA'ya benzer ve RNA enterferansı içinde çalışan, kodlama yapmayan RNA moleküllerinin bir sınıfıdır. Transkripsiyondan sonra mRNA'yı parçalayarak, translasyonu önleyerek tamamlayıcı nükleotid dizileri ile spesifik genlerin ekspresyonuna müdahale eder[157].

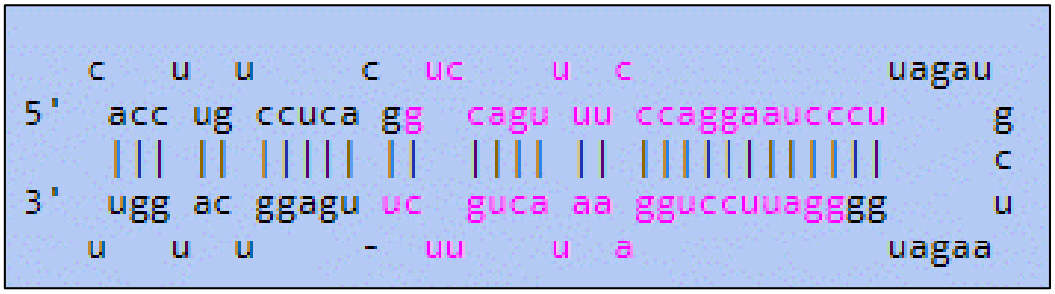
SiRNA, RNAi yolağında anahtar bir moleküldür. SiRNA'lar, 3′-uçlarında 2 nt çıkıntılı kısa (genellikle 21-25-nt uzunluğunda) dsRNA zincirleridir. SiRNA'lar, sitoplazmada, RNA kaynaklı susturma kompleksi (RISC) adı verilen bir protein kompleksine yüklenir[157].

Yüklenen RISC kompleksi daha sonra tüm hücre içi mRNA'yı, yüklenen siRNA'ya tamamlayıcı bir dizi ile bir hedef mRNA için tarar. Yüklenen RISC tarafından bir hedef mRNA bulunursa, hedef mRNA bölünür ve bozulur, hedef genin translasyonunu başarılı bir şekilde inhibe eder[158].

SiRNA'lar birkaç yolla üretilebilir. Bazı durumlarda, uzun dsRNA bir hücreye ya bir virüs, endojen RNA ekspresyonu (yani mikroRNA) ya da eksojen olarak iletilen dsRNA tarafından verilir. Dicer enzimi, uzun dupleks RNA'ları siRNA'lara ayırır. siRNA'yı hücrelere sokmanın başka bir yolu, plazmit vektörlerinden kısa hairpin RNA'ları (shRNA) ifade edilmesinden yararlanılır. ShRNA, RNA Pol-II veya Pol-III promotörlerinin kontrolü altında kopyalanır ve bir siRNA dupleksine benzeyen bir yapıya katlanır[159]. ShRNA'lar daha sonra Dicer tarafından siRNA'lara işlenir. Alternatif olarak, Dicer ile işlenmiş ürünlerin yapısını taklit eden kimyasal olarak sentezlenmiş siRNA dupleksleri, gen susturma araştırmalarında yaygın olarak kullanılır. Kimyasal olarak sentezlenmiş siRNA'lar, Dicer bölünme adımını basitçe atlar. siRNA aracılı RNAi mekanizmasının sitoplazmada yer alması, çekirdeğe nüfuz etmeyi gerektiren diğer gen düzenleme mekanizmalarına göre potansiyel bir avantaj sağlar[158, 160].

2.7. Çalışmamızda Kullanılan miRNA’lar

2.7.1. miR-145-5p



Şekil 2.12. miR-145 dizisi[161]

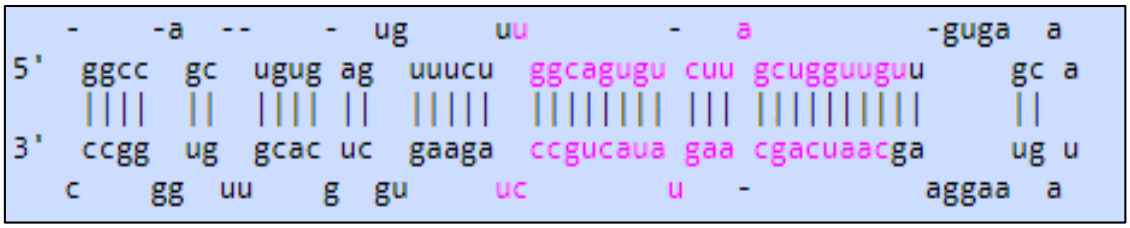
Bu miRNA dizisi 23 nükleotit uzunluğundadır ve Homo sapiens'te bulunur. 9 veritabanı [GeneCards, IntAct, TarBase, RefSeq, LncBase, ENA, miRBase, MalaCards, MirGeneDB] tarafından 88 makalede açıklanmıştır. Homo sapiens (insan) hsa-miR-145-5p dizisi, MIR145, miR-145-5p, hsa-miR-145-5p, miR-145, hsa-miR-145 genlerinin bir ürünüdür. İnsan referans genomunda bulunur. lncRNA'larla etkileşime girer. 16.3A5, 182-FIP, 3G2, 5-HT2A, 53BP1, 82-FIP, A20, A3b, AADACL1, AAK1 dahil olmak üzere protein kodlayan genlerle etkileşime girer[161].

miR-145-5p, esas olarak tümör baskılayıcı miRNA'lar olarak hareket etse de, bazen onkojenik roller sergilerler[162]. Circ_0001955'in miR-145−5p ile bağlandığı ve bu, miRNA'nın hedefleri olan TRAF6 ve MAPK11 genlerinin aşırı ekspresyonu ile sonuçlandığı gösterilmiştir[163].

hsa_circ_0001955'in onkojenik aktivitesi, bu circRNA'nın sitoplazmik konumunu ve miR-145−5p ile bağlanmasını gösteren başka bir grup tarafından da doğrulanmıştır. hsa_circ_0001955'in aşırı ifadesi, miR-145−5p'nin azalmasına ve NRAS'ın up regüle olmasına neden oldu[164].

Menenjiom tümörlerinde miRNA-145'in atipik ve anaplastik tümörlerde benign menenjiomlara kıyasla ekspresyonu azalmıştır. Aynı zamanda miR-145'in aşırı ekspresyonunun, proliferasyonu azaltığı, apoptoza duyarlılığı artırdığı tespit edilmiştir. MiR145'i aşırı eksprese eden hücrelerin PCR dizisi çalışmaları, kolajen tip V alfa (COL5A1) ekspresyonunun miR-145 aşırı ekspresyonu tarafından down regüle edildiği ileri sürüldü. Buna göre, COL5A1 ekspresyonu, atipik ve anaplastik menenjiomlarda önemli ölçüde artmıştır[165].

2.7.2. miR-34a-3p

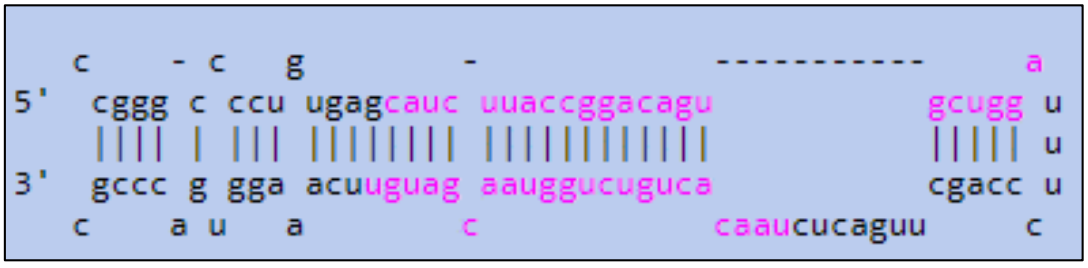


Şekil 2.13. miR-34a dizisi[166]

Bu miRNA dizisi 22 nükleotit uzunluğundadır ve homo sapiens'te bulunur. 8 veritabanında (ENA, MalaCards, RefSeq, IntAct, GeneCards, LncBase, miRBase, TarBase) yer almaktadır. 60 yayında açıklanmıştır. Homo sapiens hsa-miR-34a-3p dizisi, MIR34A, hsa-miR-34a-3p, miR-34a-3p, miR-34, miR-34a, hsa-miR-34a genlerinin bir ürünüdür. İnsan referans genomunda bulunur. lncRNA'larla etkileşime girer. 14-3-3, 182-FIP, 4832404P21Rik, 82-FIP, 9G8, A2D, A2lp, ABCC12, ABHD17C, ACPL2 dahil olmak üzere protein kodlayan genlerle etkileşime girer[166].

Birçok çalışmada yüksek gradeli menenjiomlarda miR-34a-3p ekspresyonu düşük bulunmuştur. miR-34a-3p Bcl-2 genini hedefler. HBL-52 hücrelerinde miR-34a-3p'nin down regülasyonu Bcl-2 ‘nin yüksek ekspresyonu hücre proliferasyonunun artmasına ve tümör hücrelerinin apoptozunun azalmasına katkıda bulunabileceği dair görüşü ortaya koydu. Menenjiomda miR-34a-3p'nin aşırı ekspresyonu, hücre proliferasyonunu inhibe eder ve apoptozu indükler. Bu nedenle miR-34a-3p’nın menenjiomlarda antikanser ilacı oalrak kullanılabilleceği düşünülmektedir[167].

2.7.3. miR-200a-5p

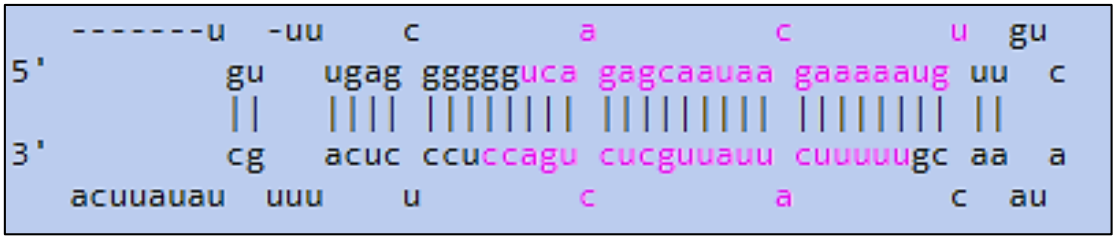


Şekil 2.14. miR-200a dizisi[168]

Bu miRNA dizisi 22 nükleotit uzunluğundadır ve homo sapiens'te bulunur. 8 veritabanı tarafından (MirGeneDB, GeneCards, LncBase, miRBase, MalaCards, TarBase, RefSeq, ENA) 51 yayında açıklanmıştır. hsa-miR-200a-5p dizisi miR-200a, MIR200A, hsa-miR-200a, miR-200a-5p, miR-200, hsa-miR-200a-5p genlerinin bir ürünüdür. İnsan referans genomunda bulunur. lncRNA'larla etkileşime girer. 182-FIP, 2H9, 82-FIP, AASD-PPT, AASDHPPT, ABCD3, ABL2, ABLL, ACPS, ACTR dahil olmak üzere protein kodlayan genlerle etkileşime girer[168].

miR-200a aşırı ifadesinin kültür ortamında in vivo tümör modelinde menenjiom hücre büyümesini inhibe ettiği; MiR-200a'nın up regülasyonunun, ZEB1 ve SIP1 transkripsiyon faktörlerinin ekspresyonunu azalttığı ve bunun sonucunda hücre farklılaşması ile bağlantılı bir yapışma proteini olan E-cadherin ekspresyonunun arttığı bulundu[169]. Menenjiomlarda ve araknoid hücrelerde miR-200a'nın down regülasyonu, hücre proliferasyonunda yer alan beta-katenin ve siklin D1 ekspresyonunun artmasına neden olmaktadır. miR-200a'nın doğrudan beta-katenin mRNA'yı hedeflediği, böylece translasyonunu inhibe ettiği ve kanserde sıklıkla yer alan Wnt/beta-katenin sinyalini bloke ettiği bulundu. İnsan menenjiom örneklerinde miR-200a'nın down regülasyonu ile beta-katenin up regülasyonu arasında doğrudan bir korelasyon vardır. Bu nedenle miR-200a, menenjiomlarda E-cadherin ve Wnt/beta-katenin sinyal yolakları üzerinde çok fonksiyonlu bir tümör baskılayıcı miRNA görevi görüyor gibi görünmektedir. Bu, menenjiom tümörü gelişiminde yer alan önceden tanınmayan bir sinyal kaskadı ortaya çıkarır ve miR-200a ile Wnt sinyali arasındaki yeni bir moleküler etkileşimi vurgular, böylece menenjiomlar için yeni tedaviler hakkında bilgi sağlar[105, 170].

2.7.4. miR-335-5p



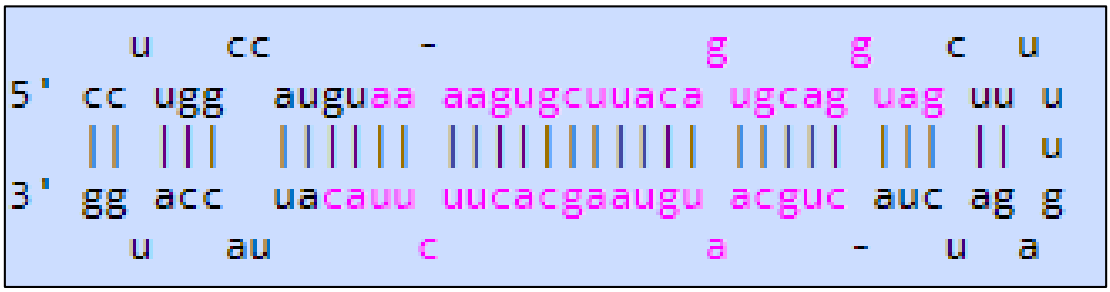
Şekil 2.15. miR-335 dizisi[171]

Bu miRNA dizisi 23 nükleotit uzunluğundadır ve homo sapiens'te bulunur. 7 veritabanı (miRBase, RefSeq, GeneCards, MalaCards, TarBase, ENA, LncBase) tarafından 55 makakede

açıklanmıştır. Homo sapiens hsa-miR-335-5p dizisi miR-335-5p, MIR335, hsa-miR-335, miR-335, hsa-miR-335-5p genlerinin bir ürünüdür. İnsan referans genomunda bulunur. lncRNA'larla etkileşime girer. 1-8D, 11B6, 12CC4, 14-3-3-zeta, 1A1-3B, 1D, 2-21, 239FB, 2610509L04Rik, 2OST dahil olmak üzere protein kodlayan genlerle etkileşime girer[171].

Kolorektal kanser dokularında bir miRNA mikroarray tahlili, hsa-miR-335-5p'nin rektal kanser ile önemli ölçüde ilişkili olduğunu gösterdi[172]. Litetatürde miR-335'in insanlarda menenjiomlarda aşırı eksprese edilen tipik bir mikroRNA olduğunu ortaya çıkardı(164). Menenjiomlarda miR-335 aşırı ekspresyonunun etkilerinin karakterizasyonu, yüksek miR-335 seviyelerinin hücre büyümesini arttırdığını ve in vitro G0/G1 fazında hücre döngüsü durmasını inhibe ettiğini göstermiştir; ek olarak, miR-335 seviyelerinin azaltılması, tümör büyümesi ve ilerlemesi üzerinde zıt bir etkiye sahipti. miR-335'in menenjiom hücrelerinin proliferasyonu üzerindeki etki mekanizmasının, insan retinoblastom 1 (Rb1) ekspresyonundaki değişikliklerle ilişkili olduğunu göstermiştir. miR-335'in doğrudan Rb1 sinyal yolunu hedefleyerek menenjioma hücrelerinin proliferasyonunda önemli bir rol oynadığını göstermektedi[173].

2.7.5. miR-106a-5p

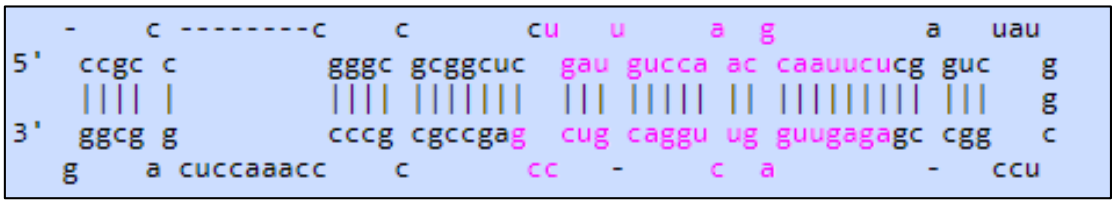


Şekil 2.16. miR-106a dizisi[174]

Bu miRNA dizisi 23 nükleotit uzunluğundadır ve Homo sapiens'te bulunur. 9 veritabanı tarafından (LncBase, TarBase, MirGeneDB, GeneCards, MalaCards, RefSeq, ENA, miRBase, IntAct) 67 makalede açıklanmıştır. Homo sapiens hsa-miR-106a-5p dizisi, hsa-miR-106a, miR-106a-5p, miR-106a, miR-106, hsa-miR-106a-5p, MIR106A genlerinin bir ürünüdür. İnsan referans genomunda bulunur. lncRNA'larla etkileşime girer. 182-FIP, 2PP2A, 3-10C, 3G2, 3H11Ag, 3pK, 4833431A01Rik, 721P, 82-FIP, A-LAP dahil olmak üzere protein kodlayan genlerle etkileşime girer[174].

miR-106a-5p menenjiomlarda pre ve post operatif dönemler için önemli bir biyobelirreç olabileceği düşünülmektedir[116].

2.7.6. miR-219a-5p



Şekil 2.17. miR-219a dizisi[175]

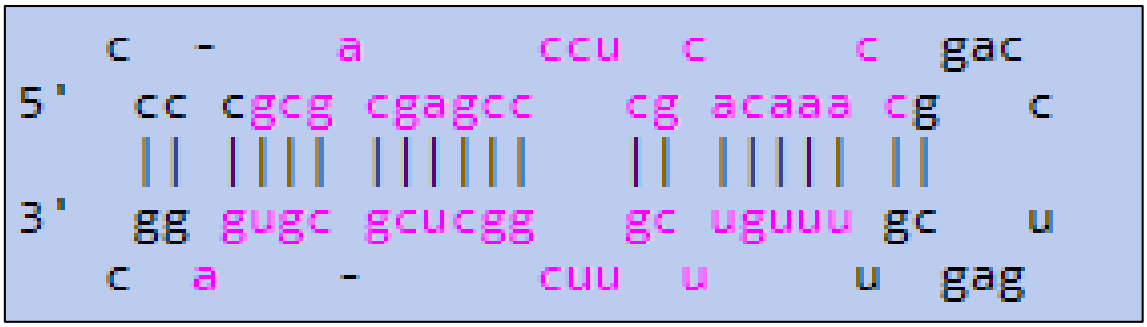
Bu miRNA dizisi 21 nükleotit uzunluğundadır ve Homo sapiens'te bulunur. 7 veritabanı [miRBase, ENA, GeneCards, IntAct, TarBase, RefSeq, MalaCards] tarafından 57 yayında açıklanmıştır. Homo sapiens [insan] hsa-miR-219a-5p dizisi, MIR219A1, miR-219a-5p, MIR219A2, 219, miR-219, hsa-miR-219a-5p, miR-219a, hsa-miR-219a'nın bir ürünüdür. mir-219 genleri. İnsan referans genomunda bulunur. 11B6, 2C4D, 39K2, A2BP1, AASS, AAVR, ABHD2, ACSF3, AD-015, AD035 dahil olmak üzere protein kodlayan genlerle etkileşime girer[175].

Akciğer kanseri hastalarının serum ve akciğer dokusunda miR-219a-5p ekspresyonu daha düşük bulunmuştur[176].

miR-219a-5p'nin düşük invaziv meme kanseri MCF-7 hücrelerinde yüksek oranda eksprese edildiği, ancak yüksek invaziv meme kanseri MDA-MB-231 hücrelerinde düşük düzeyde eksprese edildiği bulundu. miR-219a-5p ayrıca, mezenkimal belirteçler vimentin ve N-kadherin ekspresyonunu baskılayarak ve epitelyal belirteç E-kadherin ekspresyonunu artırarak hücresel EMT'yi de bastırdı[177].

MiR-219a-5p aşırı ekspresyonunun, TP53'ün hedef genleri olan apoptozla ilişkili iki anahtar protein Bax ve P21'i azalttığı, ayrıca, TP53BP2, p53 ailesi üyeleri ile etkileşime girdiği ve pro-apoptozis genlerine yönelik transkripsiyonel aktivitelerini desteklediği bulunmuştur[178].

2.7.7. miR-375-5p

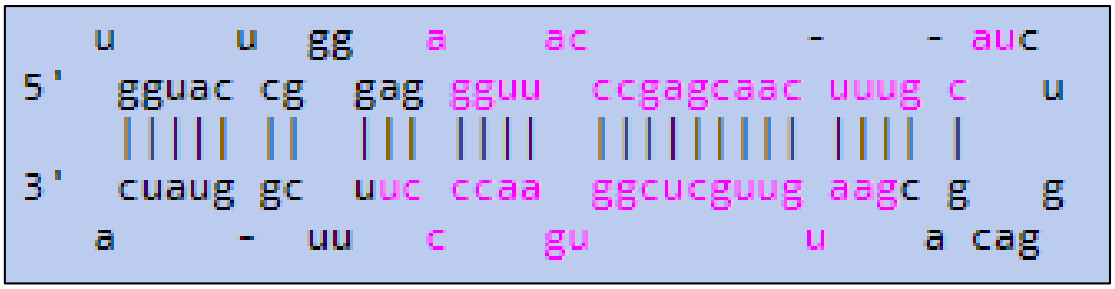


Şekil 2.18. miR-375 dizisi[179]

Bu miRNA dizisi 23 nükleotit uzunluğundadır ve Homo sapiens'te bulunur. 5 veritabanı tarafından (RefSeq, MirGeneDB, MalaCards, GeneCards, miRBase) 26 yayında açıklanmıştır. Homo sapiens hsa-miR-375-5p dizisi, hsa-miR-375-5p, MIR375, miR-375, miR-375-5p, hsa-miR-375 genlerinin bir ürünüdür. İnsan referans genomunda bulunur[179].

miR-375-5p menenjiomlarda yüksek oranda ifade edilmektedir. Aynı zamanda miR-375-5p'nin menenjiom hastalarında pre ve post operatiflerde önemli bir biyobelireç olabileceği düşünülmektedir[116].

2.7.8. miR-409-3p



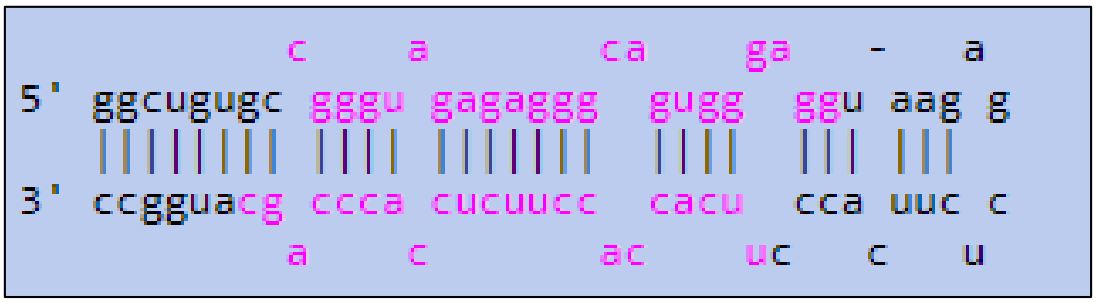
Şekil 2.19. miR-409 dizisi[180]

Bu miRNA dizisi 22 nükleotit uzunluğundadır ve Homo sapiens'te bulunur. 8 veritabanı (LncBase, GeneCards, MalaCards, TarBase, RefSeq, MirGeneDB, miRBase, ENA) tarafından 36 yayında açıklanmıştır. Homo sapiens hsa-miR-409-3p dizisi miR-409, miR-409-3p, MIR409, hsa-miR-409-3p, hsa-miR-409 genlerinin bir ürünüdür. İnsan referans genomunda bulunur. lncRNA'larla etkileşime girer. 12CC4, ABL2, ABLL, ACF1, ACO1,

ACTR, AIB1, ARA267, ARG, ASF dahil olmak üzere protein kodlayan genlerle etkileşime girer[180].

miR-409-3p' birkaç kanser tipinde önemli rol oynar. miR-409-3p, özellikle meme kanseri hücre hatlarında önemli ölçüde down regüle edildiği görülmüştür. MiR-409-3p'nin aşırı ekspresyonu, meme kanserinde hücre proliferasyonunu, göçünü ve istilasını in vitro inhibe eder ve in vivo olarak tümör büyümesini baskılar. Özellikle miR-409-3p, 3' çevrilmemiş bölgesine [UTR] bağlanma yoluyla Akt1 proteininin down regülasyonunu indükler[181]. Menenjiomlarda yüksek ifadesi, rekürens oranları ile önemli ölçüde ilişkilendirildi[116].

2.7.9. miR-197-5p



Şekil 2.20. miR-197 dizisi[182]

Bu miRNA dizisi 23 nükleotit uzunluğundadır ve Homo sapiens'te bulunur. 8 veritabanı tarafından [ENA, RefSeq, TarBase, MirGeneDB, MalaCards, LncBase, GeneCards, miRBase] 39 makalede açıklanmıştır. Homo sapiens [insan] hsa-miR-197-5p dizisi, hsa-miR-197, miR-197, MIR197, hsa-miR-197-5p, miR-197-5p genlerinin bir ürünüdür. İnsan referans genomunda bulunur. lncRNA'larla etkileşime girer. ALL-1, ALS20, BAT2, BFZB, C12orf35, C20orf44, C9orf97, CBP3, CD46, CNIH dahil olmak üzere protein kodlayan genlerle etkileşime girer[182].

Menenjiom hastalarında serum miR-197 ekspresyon seviyeleri düşük bulunmuştur. miR-197'nin insülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein-5'i doğrudan hedefleyerek insan uterin leiomyom hücrelerinde proliferasyonu engellediğine dair kanıtlar artmaktadır[183].

2.7.10. miR-224-5p



Şekil 2.21. miR-224 dizisi[184]

Bu miRNA dizisi 25 nükleotit uzunluğundadır ve Homo sapiens'te bulunur. 4 veritabanı tarafından (GeneCards, RefSeq, miRBase, MalaCards) 23 yayında açıklanmıştır. Homo sapiens hsa-miR-224-5p dizisi, hsa-miR-224-5p, MIR224, miR-224, hsa-miR-224, miR-224-5p genlerinin bir ürünüdür. İnsan referans genomunda bulunur[184].

miR-224'ün anormal aşırı ekspresyonu, karaciğer, kolon, mide, prostat ve yumurtalık kanserleri gibi çeşitli malign kanserlerde gösterilmiştir. MiR-224'ün hücre proliferasyonu, anjiyogenez ve apoptozda çok önemli bir rol oynadığı ve kemoterapi de dirence neden olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, insan tümör hücre dizilerinde miR-224'ün up regülasyonu, malign fenotipin tersine çevrilmesine neden olabilir. Ancak miR-224'ün menenjiomdaki ekspresyonu ve biyolojik fonksiyonları bildirilmemiştir[139, 185].

Menenjiomlu hastalarda miR-224 ekspresyonunu ve histolojik derecelendirme ve postoperatif nüks ile ilişkisini araştıran bir çalışmada menenjioma hücrelerinde miR-224 ekspresyonunu inhibe ettiği, miR-224 inhibisyonunun sonucu apoptozu arttırdığı ve hücre proliferasyonunu baskıladığı bulunmuştur. Ayrıca, bu çalışmada ERG2 yeni bir miR-224 hedefi olarak tanımlanmış ve miR-224-ERG2 ekseninin menenjiom hücrelerinin proliferasyonunu ve apoptozunu düzenlemede kritik bir rol oynadığını belirtilmiştir[186].

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hasta Seçimi

Bu çalışmanın etik kurul onayı Gazi Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 21.09.2020 toplantı tarihli kararı (Karar No: 610) ile alınmıştır.

Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalına başvurmuş ve beyin tümörlerinden menenjiom tanısı konulmuş toplam 40 hasta ve 30 sağlıklı gönüllü çalışmaya dahil edildi. Sağlıklı grup; hastanemiz check-up merkezine başvuran ve kanları merkez laboratuvara gelen kişilerden, bizim kabul kriterleri ve dışlama kriterlerine uyanlardan seçildi. Bu kişilerin rutin kanlarından oluşturulan serumların bir kısmı çalışma için ayrıldı**.** Aynı şekilde, menenjiom hastalarından tanı konulduğu anda alınan kan örneklerinden elde edilen serumların bir kısmı ayrıldı. Ayrılan serumların hepsi analiz yapılıncaya kadar -80 derecede saklandı.

Hastalarda bakılan parametreler

miR-145, miR-34a-3p, miR-200a, miR-335, miR-106a-5p, miR-219-5p, miR-375, miR-409-3p miR-197 ve miR-224

3.2. Örneklerden RNA Eldesi

Örneklerden RNA eldesi QİAGEN miRNeasy Serum/Plazma Advanced (Cat.no:217204) kiti kullanılarak yapılmıştır.

RNA izolasyon protokolü şu şekildedir.

RWT ve RPE tamponları kullanımdan önce, şişe üzerinde yazan hacimde %96-100 ethanol eklendi.

1. Serum örneklerimiz çözdürüldü.
2. Mikrosantrifüj tüpüne 200 ul örnek eklendi.
3. Örneklerin üzerine 60 ul tampon RPL ekleyip >5 saniye vorteks edip karıştırıldı, örnekler oda sıcaklığında 3 dakika inkübe edildi.
4. Tüplere 20 ul tampon RPP eklendi ve 20 saniye vorteks edip iyice karıştırılması sağlandı ve oda sıcaklığında 3 dakika inkübe edildi.

5. Tüplere süre bitiminde 12.000 x g'de 3 dakika santrifüf edip pelleti çökmesi sağlandı.
6. Süpernatantı, yaklaşık 230 ul alıp yeni bir tüpe transfer edildi ve üzerine 1/1 hacimde isopropanol ekleyip ve vorteks ile iyice karıştırıldı.
7. Kolonlara, tüpün tüm içeriği aktarılıp ve ≥8.000 x g'de 15 saniye santrifüj edildi. Tüplerdeki süzüntü atıldı.
8. Kolonlara 700 ul tampon RWT ekleyip ve ≥8.000 x g'de 15 saniye santrifüj edildi. Tüplerdeki süzüntü atıldı.
9. Kolona 500 ul tampon RPE ekleyip ve ≥8.000 x g'de 15 saniye santrifüj edildi. Tüplerdeki süzüntü atıldı.
10. Kolona 500 ul %80'lik alkol ekleyip ≥8.000 x g'de 2 dakika santrifüj edildi. Tüplerdeki süzüntü atıldı.
11. Kolonlar paket içerisinde olan yeni bir 2 ml'lik toplama tüpüne alındı, tüpü ağzı açık şekilde 5 dakika maksimum hızda santrifüj edildi.
12. Kolonu paket içerisinde olan yeni bir 1.5 ml tüp içerisine alınıp, membranın tam ortasına gelecek şekilde 20 ul RNase free sudan pipetlendi, tüpü kapağı açık halde 1 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi.
13. Süre bitiminde, tüpü maksimum hızda 1 dakika santrifüj edip ve RNA'yı membrandan süzüldü. Filtreli tüpler atıldı.
14. RNA'lar çalışma sürecine kadar -80 ºC'de saklandı.

3.3. cDNA Eldesi

RNA eldesi yapılan örneklerden (Cat.No:339340, miRCURY LNA RT Kit, Qiagen) kiti kulanılarak cDNA sentezi yapılmıştır. Kitin protokülü şu şekildedir:

1. Aşağıdaki karışım hazırlandı. Bu karışım 72 örneğin cDNA reaksiyonu için yeterlidir (ekstra hacimler hesaplamaya dahil edildi).

Çizelge 3.1. cDNA sentezinde kullanılan bileşenlerin oranları

Reaksiyon hazırlanması	
5x Reaction Buffer	85.0 µl
Enzyme mix	42.5.0 µl
Spike in Kontrol Karışımı RT*****	21.25 µl
TOPLAM	148.75 µl

cDNA aşamasında kullanılacak olan Spike in Kontrol Karışımının hazırlanması

Spike in Karışımı Hazırlanması (cDNA aşaması için):

cel-miR-39-3p, RNA Spike-in template (RNA Spike-in Kit, Exiqon, 203203)

UniSp6, RNA Spike-in template (Universal cDNA Synthesis Kit II, 8-64 rxns, Exiqon, 203301)

Bu iki Spike-in kontrol dried-down (kuru) olarak gelmektedir. Aşağıdaki adımlar takip edilerek sulandırıldı ve karıştırılırdı.

Sulandırma;

- Tüpler mikro santrifüjde maksimum hızda 2 dakika santrifüj edildi.
- UniSp6 tüpüne 80 µl DNase, RNase Free su pipetlendi.
- Vorteks ile 15 saniye karıştırıldı ve mikro santrifüjde 10 saniye 10000 rpm de santrifüj edildi.
- Buz içerisinde 30 dakika bekletildi.
- UniSp6 tüpünün tüm içeriği cel-miR-39-3p tüpüne aktarıldı.
- Vorteks ile 15 saniye karıştırıldı ve mikro santrifüjde 10 saniye 10000 rpm de santrifüj edildi.
- Buz içerisinde 30 dakika bekletildi.
- Hazırlanan bu tüp “Spike in Kontrol Karışımı RT” şeklinde etiketlenip cDNA hazırlanması adımındaki şekilde cDNA reaksiyonlarına eklendi.

2. Bu karışım bir 8 li strip tüpün tüm kuyularına 18 er µl olarak transfer edildi. Buradan 8 kanallı pipet yardımı ile 1.75 er µl alınarak temiz bir 96 lık Plate’in tüm kuyularına pipetlendi.
3. RNA örnekleri de her kuyuya, yukarıda transferi yapılan karışımların üzerine 3.25 er µl olmak üzere pipetlendi. Plate film ile kaplanıp, plate karıştırıcıda elle bastırılarak 10 saniye karıştırılırdı. Plate santrifüj de 1 dakika santrifüj edildi ve Piko Thermal Cycler da aşağıdaki program çalıştırıldı.

Çizelge 3.2. cDNA sentezi reaksiyon koşulları

Reaksiyon koşulları	
42°C	60 dakika
95°C	5 dakika
4°C	∞

4. Thermal programın sonunda plate'in oda sıcaklığına gelmesi beklenildi. Plate santrifüj de 1 dakika santrifüj edilip, Preamplifikasyon aşamasına geçildi.

3.4. PreAmplifikasyon Hazırlanması

1. Preamplifikasyon primer karışımı (Pool Primer Mix) tüm assayler için bir kez aşağıdaki şekilde hazırlandı.
2. Primer tüpleri mikro santrifüjde maksimum hızda 2 dakika santrifüj edildi. Tüpler açılıp ve her tüpe 55µ DNase, RNase Free su eklendi. Tüpler kapatılıp ve sallanarak karıştırılırdı.
3. Tüpler 4°C de 30 dakika bekletildi ve mikro santrifüj de maksimum hızda 2 dakika santrifüj edildi.

Temiz bir tüp içerisine her bir primerden 4.5 er µl primer konularak hepsi birbirine karıştırıldı. Primer sayısı ile 4.5 çarpılınca elde edilen rakam 450 den çıkarılır. Elde edilen rakam kadar DNase, RNase Free su bu karışıma eklendi. İyice karıştırılıp ve 150 şer µl olacak şekilde 3 ayrı SafeLock Eppendorf tüpüne konularak uygun şekilde etiketlendi. Bu tüplerin her biri 1 adet 96 lık örneğin preamplifikasyonu için yeterlidir.

4. Primer tüpleri Dynamic Array hazırlanması kısmına skadar -20°C de saklandı.

cDNA plate'i bir plate taşıyıcı üzerine konulup (plate'in kaymaması ve kıpırdamaması için gereklidir). Film açıldı. Piko plate in tüm kuyularından 1 er µl yeni temiz bir Piko plate'e cDNA konuldu. Bir reservuara 5 mL kadar DNase, RNase-free su konulup. Bu yeni Piko Plate'in her kuyusuna 9 ar µl bu sudan eklendi. Yeni bir film ile plate kaplanıp, plate karıştırıcıda 2000 rpm de 3 dakika karıştırıldı. Plate santrifüj de 1 dakika santrifüj edildi.

5. Preamplifikasyon deneyi için aşağıdaki karışım hazırlandı.

Çizelge 3.3. Preamplifikasyonda kullanılan bileşenlerin oranları

Reaksiyon hazırlanması	
Pre Amp Master Mix Reagent Kit [Fluidigm, 100-5580 veya 100-5581]	85.0 µl
Pool Primer Mix	106.25 µl
DNase, RNase Free su	127.50 µl

6. Bu karışım bir 8 li strip tüpün tüm kuyularına 39 ar µl olarak transfer edildi. Buradan 8 kanallı pipet yardımı ile 3.75 er µl alınarak temiz bir Piko plate'in tüm kuyularına pipetlendi.
7. Sulandırılmış olan cDNA örneklerinden her kuyuya 1.25 er µl olmak üzere pipetlendi. Plate, film ile kaplanıp, plate karıştırıcıda 3000 rpm de 3 dakika karıştırılırdı. Plate santrifüj de 1 dakika santrifüj edildi ve Plate 384 lük Thermal Cycler da eğer aşağıdaki PreAmp Protokolü çalıştırıldı.

Çizelge 3.4. Preamplifikasyon reaksiyon koşulları

PreAmp Protokolü	
95°C	10 dakika [Başlangıç Dentürasyonu]
95°C	15 saniye
60°C	4 dakika 15 döngü
4°C	∞

8. Thermal programın sonunda plate'in oda sıcaklığına gelmesi beklenildi. Plate santrifüj de 1 dakika santrifüj edilip, ekzoonükleaz adımına geçildi.

3.5. Ekzonükleaz Adımı (Cat.No:M0293S, New England Biolabs):

1. Aşağıdaki karışım hazırlandı. Bu karışım 72 örneğin ekzonükleaz reaksiyonu için yeterlidir.

Çizelge 3.5. Ekzonukleaz reaksiyon koşulları

Exonukleaz Reaksiyon hazırlanması	
Exonuclease I Reaction Buffer	17 µl
Exonuclease I	34 µl
Nucleaz Free Su	119 µl
TOPLAM	170 µl

2. Bu karışım bir 8 li strip tüpün tüm kuyularına 20 şer µl olarak transfer edildi. Buradan 8 kanallı pipet yardımı ile 2.0 şer µl alınarak preamplifiye örnek plate in tümüne pipetlendi. Plate, film ile kaplanıp, plate karıştırıcıda 3000 rpm de 3 dakika karıştırıldı. Plate santrifüj de 1 dakika santrifüj edilip ve Plate 384 lük Thermal Cycler da eğer aşağıdaki Exonucleaz Protokolü çalıştırıldı.

Çizelge 3.6. Ekzonükleaz reaksiyon koşulları

Ekzonücleaz Protokolü	
37 ° C	30 dakika
80 ° C	15 dakika
4°C	∞

3. Thermal programın sonunda plate'in oda sıcaklığına gelmesi beklenildi. Plate santrifüj de 1 dakika santrifüj edildi. Her kuyuya 18 er µl µl DNase, RNase free su eklendi. Yeni bir film ile plate kaplanıp, plate karıştırıcıda 3000 rpm de 3 dakika karıştırılırdı. Plate santrifüj de 1 dakika santrifüj edildi.

3.6. Dynamic Array Hazırlanması

1. Dynamic Array'in PRIME edilmesi:

Bir adet Dynamic Array'e control fluidlar enjekte edildi ve Dynamic Array IFC Controller da PRIME edildi. PRIME işlemi devam ederken aşağıdaki aşamaya geçildi.

2. Assay Plate'inin Hazırlanması:

Her bir primerden boş bir Piko plate in kuyularına 1.75 µl pipetlendi. Üzerine 3.50 µl Assay Loading Reagent ve 1.75 µl DNase, RNase Free su eklendi.

Plate film ile kaplanıp Plate karıştırıcıda 2000 rpm de 3 dakika karıştırıldı. Plate santrifüj de 1 dakika santrifüj edildi.

3. Örneklerin Hazırlanması:

- Aşağıdaki karışım hazırlandı. Bu karışım bir set (72 örnek) için yeterlidir [ekstra hacimler hesaplamaya dahil edilmiştir (85 örnek).

Çizelge 3.7. Örneklerin hazırlanma koşulları

Örneklerin Hazırlanması	
2x TaqMan Gene Expression Master Mix [Cat.No:4369016, Thermo Fisher]	255 µl
20x DNA Binding Dye Sample Loading Reagent [Cat.No:100-7609, Fluidigm]	25.5 µl
20x EvaGreen [Cat.No: 31005, Biotium]	25.5 µl
RNase-free water	76.5µl
Toplam	382.5 µl

- Bu karışım bir 8 li strip tüpün tüm kuyularına 47 şer µl olarak transfer edildi. Bu karışımdan 4.5 er µl temiz bir Piko plate in tüm kuyularına pipetlendi. Sulandırılmış olan preamplifiye ürünlerin üzerindeki film açılıp, Her bir preamplifiye örnek den 1.5 er µl bu plate' e transfer edildi. Plate yeni bir film ile kaplanıp Plate, plate karıştırıcıda 2000 rpm de 3 dakika karıştırıldı. Plate santrifüjde 30 saniye santrifüj edildi.

4. Dynamic Array'e Pipetlemelerin Yapılması:

- Assay pipetlemeleri için Viaflo Voyager [12.5 µl] de şu program yapıldı. Aspirate 4.75 µl, Dispense 4.50 µl. Tüm kuyulardaki Assayler bu şekilde Dynamic Array e transfer edildi.
- Örnek pipetlemeleri için Viaflo Voyager [12.5 µl] de Assay için yapılan program kullanıldı.
- Tüm kuyulardaki Örnekler bu şekilde Dynamic Array e transfer edildi.

5. IFC Controller da Dynamic Array'in Load edilmesi:

- Dynamic Array IFC Controller'a yerleştirilip, LOAD Seçeneği seçilerek LOAD işlemi başlatıldı. Bu işlemi başlattıktan sonra BioMark Data Collection yazılımı başlatılıp ve "Double Click to Turn Lamp On" kısmına çift tıklanarak BioMark'ın lambası çalıştırıldı.

6. Dynamic Array'in BioMark da çalışılması:

- Dynamic Array IFC kontrollerdan alınıp, Dynamic Array BioMark'a barcode kısmı dışarı bakacak şekilde yerleştirildi.
- BioMark Data Collection yazılımı yardımı ile Dynamic Array çalıştırıldı.
- Protokoller arasından "Exiqon miRNA Protokol" seçilip ve Program başlatıldı.

3.7. İstatistiksel Analiz

qRT-PCR sonuçlarında ilgili genin referans gene göre kıyaslaması için $2^{-\Delta Ct}$ formulü kullanılmıştır(Şekil 3.1). Bu değer bize o genin referans gene göre hangi oranda ifade düzeyinin değiştiğini gösterir; yani, göreceli ifade bilgisi edinilir.

$$2^{-\Delta Ct} = 2^{-\,\Delta(\text{Gen Ct-Referans Ct})}$$

Şekil 3.1. $2^{-\Delta Ct}$ göre hesaplama formülü

qRT-PCR yönteminde Cp [Crossing points] değerleri elde edildi. qRT-PCR sonuçlarında, arası istatistiksel analiz yapılırken $2^{-\Delta\Delta Ct}$ formülü kullanılmıştır (Şekil 3.2). Bu değer bize ilgili miRNA'nın menenjiomadaki ifade düzeyinin, kontrol grubu baz alınarak kıyaslanmasını sağlar; yani, katsayı bilgisi edinilir.

$$2^{-\Delta\Delta Ct} = 2^{-[\text{Örnek } \Delta Ct\,(\text{Gen-Referans}) - \text{Kontrol } \Delta Ct\,(\text{Gen-Referans})]}$$

Şekil 3.2. $2^{-\Delta\Delta Ct}$ göre hesaplama formülü

Verilerin istatistiksel değerlendirmesinde değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk testi ile incelenmiştir. Grupların karşılaştırılmasında Normal dağılım gösterenler t testi uygulanmıştır. Normal dağılıma uymayan verilerde, iki bağımsız grup arasındaki karşılaştırma analizleri için Mann-Whitney U testi, üç grup arasındaki karşılaştırma analizlerinde Kruskal Wallis testi [post hoc test: Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi tanımlayıcı istatistikler Mean±SE ve Mean±SD olarak ifade edilmiştir. miRNA'ların ifade düzeylerinin kıyaslanmasında One-Way Anova:Post-hoc:Tukey HSD Test, tamhane t2 test;Dunnett test, Kruskal Wallis H test;Post hoc:Dunn Sidak testleri kullanılmıştır. İstatistiksel anlamlılık $p<0,\ 05$ olarak kabul edilmiştir. Verilerin değerlendirmesinde IBM SPSS paket programı versiyon 22 kullanılmıştır.

4. BULGULAR

Menenjiom hasta grubu, Sağlıklı kontrol grubuna göre yaş düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir (p >0,05), (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. Grupların yaş ve cinsiyet verileri

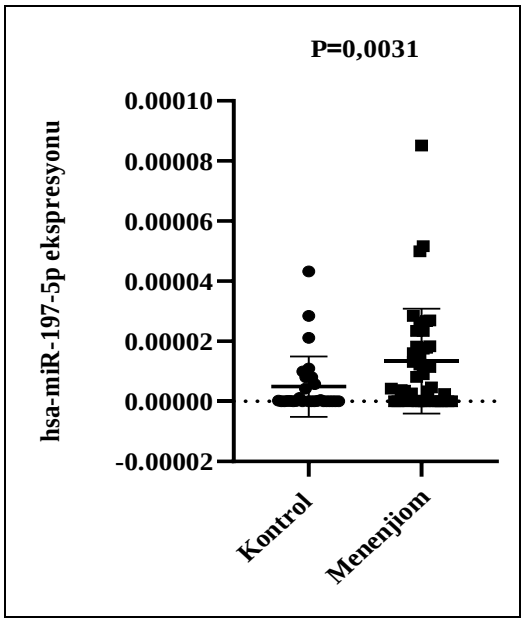
	YAŞ (Mean ± SD)	CİNSİYET	
		ERKEK YAŞ (Mean ± SD)	KADIN YAŞ (Mean ± SD)
Menenjiom	48,77±13, 9	46,92 ± 10, 9 (n:13)	49, 81 ± 11, 4 (n:27)
Kontrol	44,34±15, 4	47,72 ± 12, 7 (n:12)	40, 16 ± 16, 7 (n:18)
P değeri	p >0,05	p >0,05	p >0,05

4.1. Menenjiom Hasta ve Sağlıklı Kontrol Gen İfade Analiz Sonuçları

Menenjiom hasta ve sağlıklı kontrollerde ifade sonuçları gerçek zamanlı PCR yöntemiyle ölçülmüştür. Bu miRNA'ların ifadelerinin normalizasyonu yapılırken hamarat gen olarak hsa-miR-16-5P kullanılmıştır.

4.1.1. hsa-miR-197-5p'nin menenjiom hasta ve sağlıklı kontrol ifade değişim sonuçları

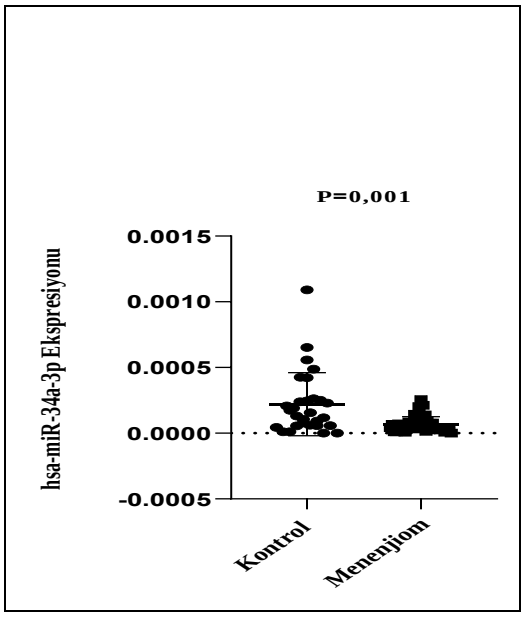
Şekil 4.1'de hsa-miR-197-5p'nin menenjiom hasta ve sağlıklı kontrollerde katlı değişim ifade sonuçları birbirine göre kıyaslanması gösterilmiştir. Grafikte $2^{-\Delta Ct}$ formülüne göre hesaplanan hsa-miR-197-5p'nin ifade düzeyi menenjiomlarda 0, 00002 iken, sağlıklı kontrollerde 0, 00001 olarak bulunmuştur. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur, (P=0, 0031).



Şekil 4.1. Grupların hsa-miR-197-5p'nin ifade düzeyleri

4.1.2. hsa-miR-34a-3p'nin menenjiom hasta ve sağlıklı kontrol ifade değişim sonuçları

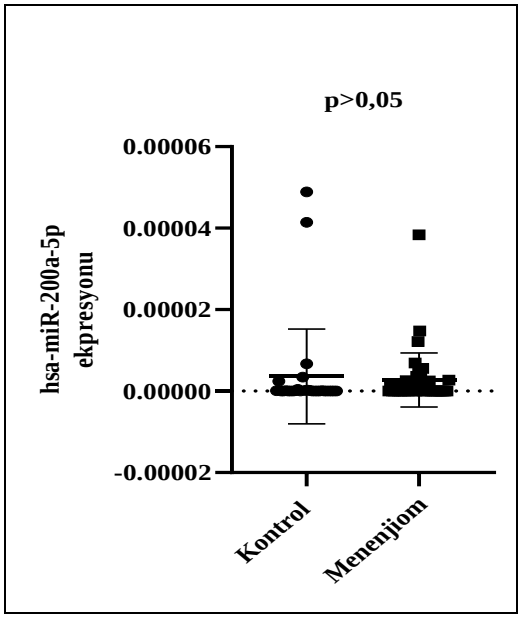
Şekil 4.2'de hsa-miR-34a-3p'nin menenjiom hasta ve sağlıklı kontrollerde katlı değişim ifade sonuçları birbirine göre kıyaslanması gösterilmiştir. Grafikte $2^{-\Delta Ct}$ formülüne göre hesaplanan hsa-miR-34a-3p'nin ifade düzeyi menenjiomlarda 0, 000042 iken, sağlıklı kontrollerde 0, 000092 olarak bulunmuştur. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur, (P=0, 001).



Şekil 4.2. Grupların hsa-miR-34a-3p'nin ifade düzeyleri

4.1.3. hsa-miR-200a-5p'nin menenjiom hasta ve sağlıklı kontrol ifade değişim sonuçları

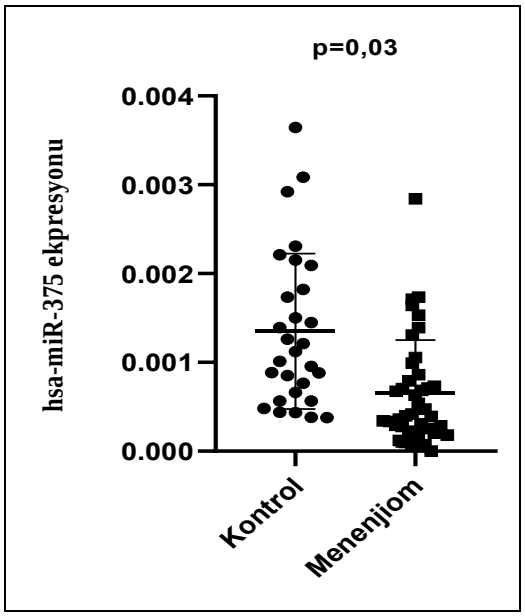
Şekil 4.3'te hsa-miR-200a-5p'nin menenjiom hasta ve sağlıklı kontrollerde katlı değişim ifade sonuçları birbirine göre kıyaslanması gösterilmiştir. Grafikte $2^{-\Delta Ct}$ formülüne göre hesaplanan hsa-miR-200a-5p'nin ifade düzeyi menenjiomlarda 0, 0000 iken, sağlıklı kontrollerde 0, 0000 olarak bulunmuştur. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır, (P>0, 05).



Şekil 4.3. Grupların hsa-miR-200a-3p'nin ifade düzeyleri

4.1.4. hsa- miR-375'in menenjiom hasta ve sağlıklı kontrol ifade değişim sonuçları

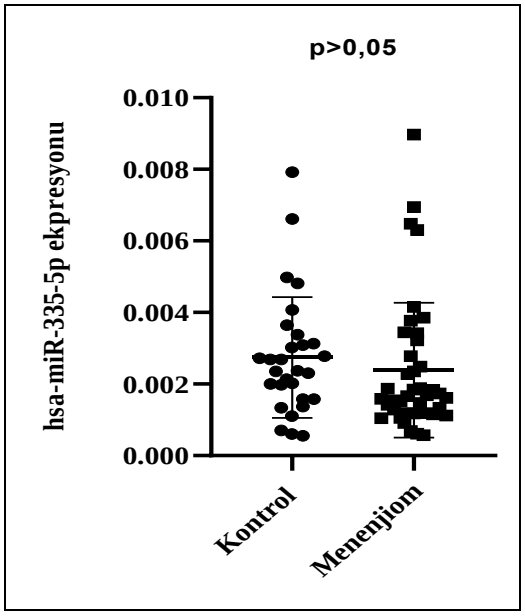
Şekil 4.4'te hsa-miR-375'in menenjiom hasta ve sağlıklı kontrollerde katlı değişim ifade sonuçları birbirine göre kıyaslanması gösterilmiştir. Grafikte $2^{-\Delta Ct}$ formülüne göre hesaplanan hsa-miR-375'in ifade düzeyi menenjiomlarda 0, 000366 iken, sağlıklı kontrollerde 0, 001103 olarak bulunmuştur. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur, (P=0, 03).



Şekil 4.4. Grupların hsa-miR-375'in ifade düzeyleri

4.1.5. hsa-miR-335-5p'nin menenjiom hasta ve sağlıklı kontrol ifade değişim sonuçları

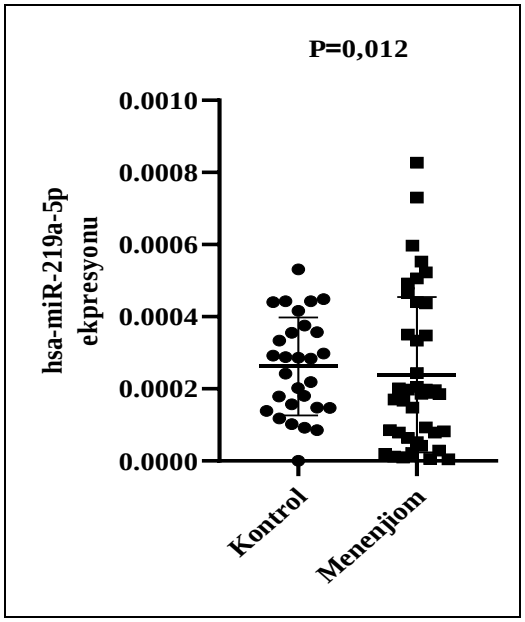
Şekil 4.5'de hsa-miR-335-5p'nin menenjiom hasta ve sağlıklı kontrollerde katlı değişim ifade sonuçları birbirine göre kıyaslanması gösterilmiştir. Grafikte $2^{-\Delta Ct}$ formülüne göre hesaplanan hsa-miR-335-5p'nin ifade düzeyi menenjiomlarda 0, 002099 iken, sağlıklı kontrollerde 0, 002286 olarak bulunmuştur. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır, (P>0, 05).



Şekil 4.5. Grupların hsa-miR-335-5p'nin ifade düzeyleri

4.1.6. hsa-miR-219a-5p'nin menenjiom hasta ve sağlıklı kontrol ifade değişim sonuçları

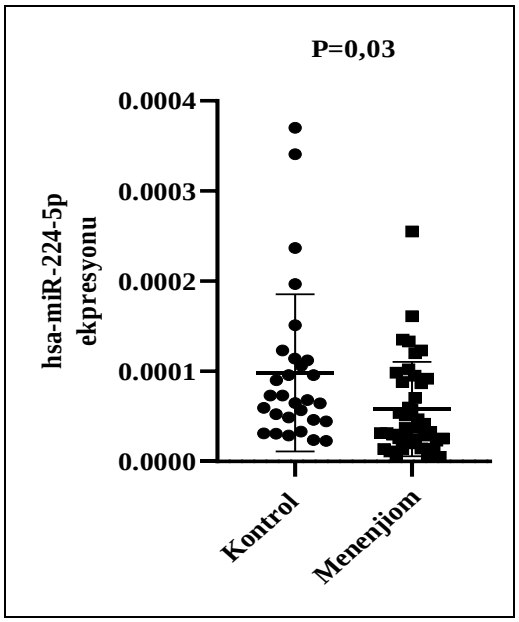
Şekil 4.6'da hsa-miR-219a-5p'nin menenjiom hasta ve sağlıklı kontrollerde katlı değişim ifade sonuçları birbirine göre kıyaslanması gösterilmiştir. Grafikte $2^{-\Delta Ct}$ formülüne göre hesaplanan hsa-miR-219a-5p'nin ifade düzeyi menenjiomlarda 0, 000130 iken, sağlıklı kontrollerde 0, 000193 olarak bulunmuştur. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur, (P=0, 012).



Şekil 4.6. Grupların hsa-miR-219a-5p'nin ifade düzeyleri

4.1.7. hsa-miR-224-5p'nin menenjiom hasta ve sağlıklı kontrol ifade değişim sonuçları

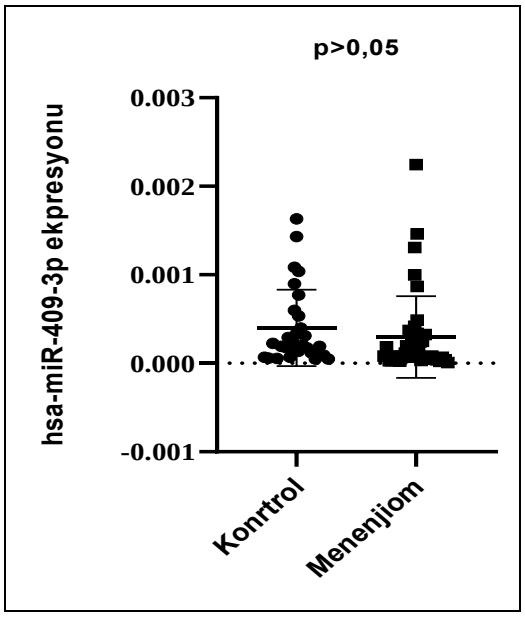
Şekil 4.7'de hsa-miR-219a-5p'nin menenjiom hasta ve sağlıklı kontrollerde katlı değişim ifade sonuçları birbirine göre kıyaslanması gösterilmiştir. Grafikte $2^{-\Delta Ct}$ formülüne göre hesaplanan hsa-miR-224-5p'nin ifade düzeyi menenjiomlarda 0, 000040 iken, sağlıklı kontrollerde 0, 000074 olarak bulunmuştur. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur, (P=0, 03).



Şekil 4.7. Grupların hsa-miR-224-5p'nin ifade düzeyleri

4.1.8. hsa-miR-409-3p'nin menenjiom hasta ve sağlıklı kontrol ifade değişim sonuçları

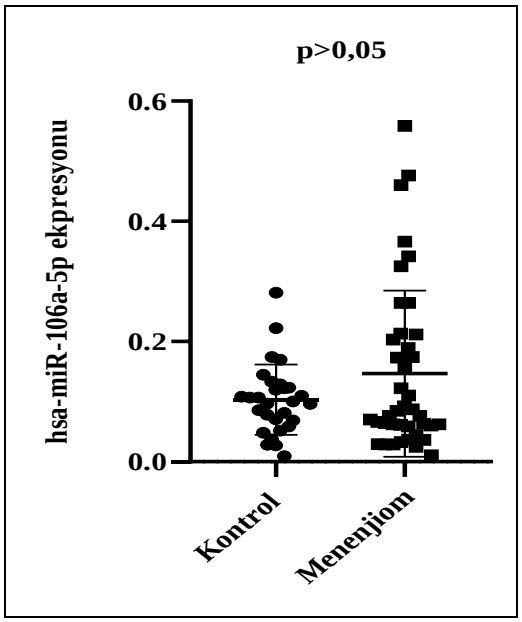
Şekil 4.8'de hsa-miR-409-3p'nin menenjiom hasta ve sağlıklı kontrollerde katlı değişim ifade sonuçları birbirine göre kıyaslanması gösterilmiştir. Grafikte $2^{-\Delta Ct}$ formülüne göre hesaplanan hsa-miR-409-3p'nin ifade düzeyi menenjiomlarda 0, 000132 iken, sağlıklı kontrollerde 0, 000238 olarak bulunmuştur. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır, (P>0, 05).



Şekil 4.8. Grupların hsa-miR-49-3p'nin ifade düzeyleri

4.1.9. hsa-miR-106a-5p'nin menenjiom hasta ve sağlıklı kontrol ifade değişim sonuçları

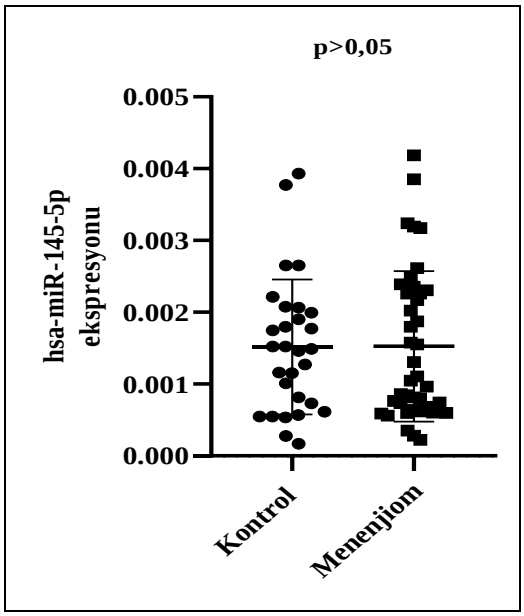
Şekil 4.9'da hsa-miR-106a-5p'nin menenjiom hasta ve sağlıklı kontrollerde katlı değişim ifade sonuçları birbirine göre kıyaslanması gösterilmiştir. Grafikte $2^{-\Delta Ct}$ formülüne göre hesaplanan hsa-miR-106-5p'nin ifade düzeyi menenjiomlarda 0, 146728 iken, sağlıklı kontrollerde 0, 103059 olarak bulunmuştur. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır, (P>0, 1).



Şekil 4.9. Grupların hsa-miR-106a-5p'nin ifade düzeyleri

4.1.10. hsa-miR-145-5p'nin menenjiom hasta ve sağlıklı kontrol ifade değişim sonuçları

Şekil 4.10'da hsa-miR-145-5p'nin menenjiom hasta ve sağlıklı kontrollerde katlı değişim ifade sonuçları birbirine göre kıyaslanması gösterilmiştir. Grafikte $2^{-\Delta Ct}$ formülüne göre hesaplanan hsa-miR-145-3p'nin ifade düzeyi menenjiomlarda 0, 001526 iken, sağlıklı kontrollerde 0, 001516 olarak bulunmuştur. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır, (P>0, 9).

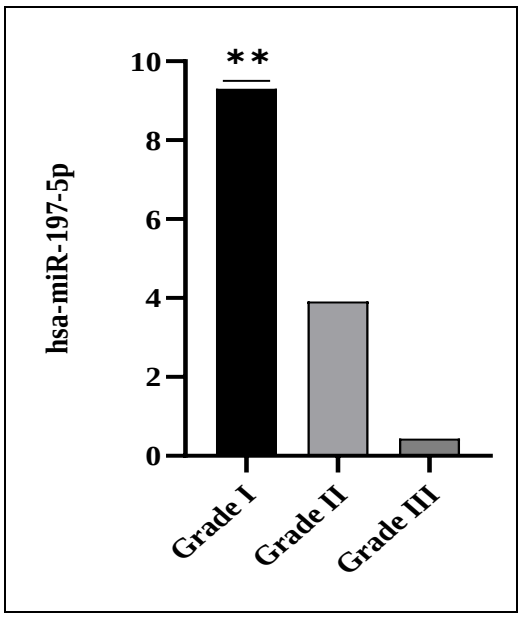


Şekil 4.10. Grupların hsa-miR-145-5p'nin ifade düzeyleri

4.2. Gradelere Göre İfade Değişim Sonuçları

4.2.1. hsa-miR-197-5p'nin gradelere göre ifade değişim sonuçları

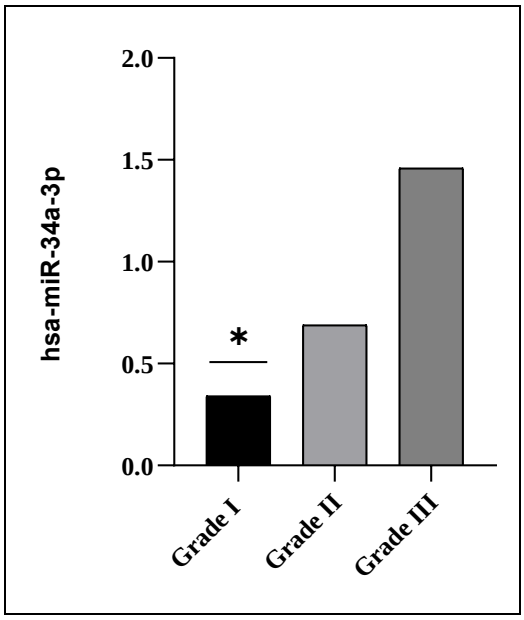
Şekil 4.11'de hsa-miR-197-5p'nin menenjiomlarda gradelere göre sınıflandırılması ve $2^{-\Delta\Delta Ct}$ formülüne göre hesaplanan katlı değişim miktarları grafikte gösterilmiştir. hsa-miR-197-5p grade I daha yüksek oranda ekprese olmuştur, (p<0, 05).



Şekil 4.11. hsa-miR-197-5p'nin gradelere göre ifade değişim sonuçları

4.2.2. hsa-miR-34a-3p'nin gradelere göre ifade değişim sonuçları

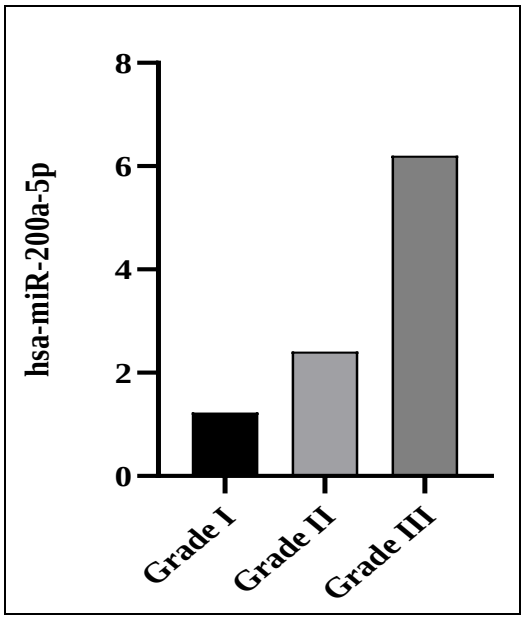
Şekil 4.12'de hsa-miR-34a-5p'nin menenjiomlarda gradelere göre sınıflandırılması ve $2^{-\Delta\Delta Ct}$ formülüne göre hesaplanan katlı değişim miktarları grafikte gösterilmiştir. hsa-miR-34a-5p grade I gruplarında daha az ekprese olmuştur, (p<0, 05).



Şekil 4.12. hsa-miR-34a-3p'nin gradelere göre ifade değişim sonuçları

4.2.3. hsa-miR-200a-5p'nin gradelere göre ifade değişim sonuçları

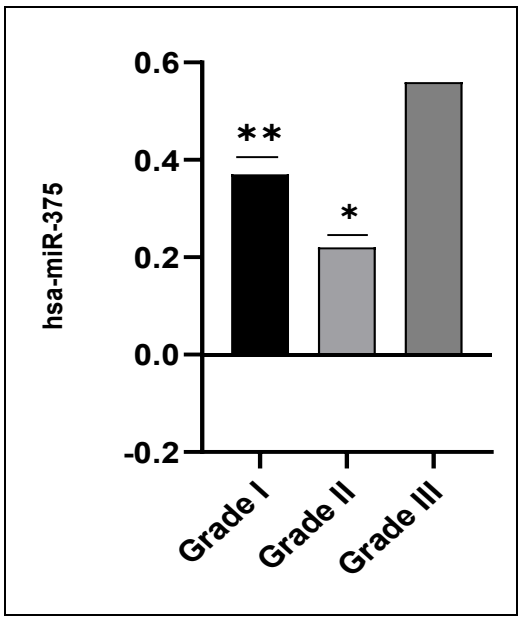
Şekil 4.13'te hsa-miR-200a-5p'nin menenjiomlarda gradelere göre sınıflandırılması ve $2^{\Delta\Delta Ct}$ formülüne göre hesaplanan katlı değişim miktarları grafikte gösterilmiştir. hsa-miR-200a-5p grade'ler arasında istatiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır, (p>0, 05).



Şekil 4.13. hsa-miR-200a-5p'nin gradelere göre ifade değişim sonuçları

4.2.4. hsa-miR-375' in gradelere göre ifade değişim sonuçları

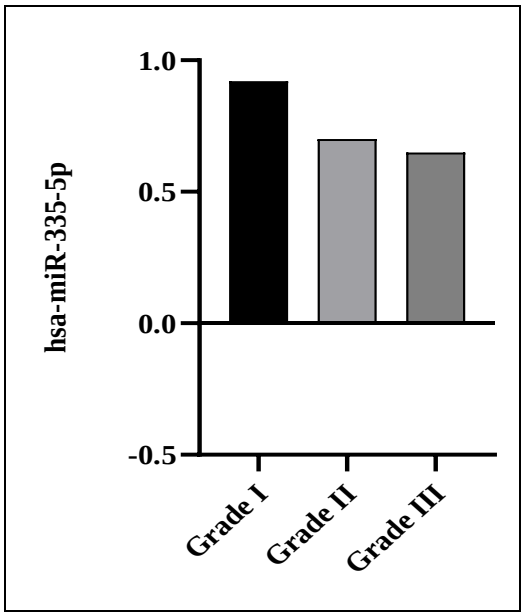
Şekil 4.14'te hsa-miR-375'nin menenjiomlarda gradelere göre sınıflandırılması ve $2^{-\Delta\Delta Ct}$ formülüne göre hesaplanan katlı değişim miktarları grafikte gösterilmiştir. hsa-miR-200a-5p gradeI ve grade II'de istatiksel olarak olarak anlamlı bir şekilde azaldığı bulunmuştur, ($p<0, 05$).



Şekil 4.14. hsa-miR-375'in gradelere göre ifade değişim sonuçlar

4.2.5. hsa-miR-335-5p'nin gradelere göre ifade değişim sonuçları

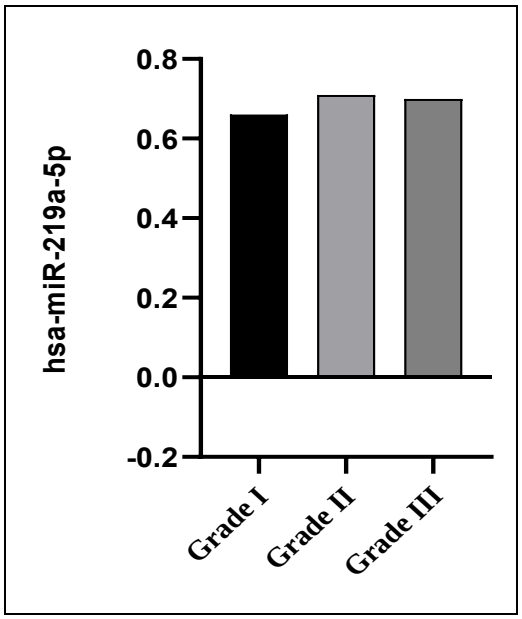
Şekil 4.15'de hsa-miR-335-5p'nin menenjiomlarda gradelere göre sınıflandırılması ve $2^{-\Delta\Delta Ct}$ formülüne göre hesaplanan katlı değişim miktarları grafikte gösterilmiştir. hsa-miR-335-5p'nin grade'ler arasında istatiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır, (p>0, 05).



Şekil 4.15. hsa-miR-335-5p'nin gradelere göre ifade değişim sonuçları

4.2.6. hsa-miR-219a-5p'nin gradelere göre ifade değişim sonuçları

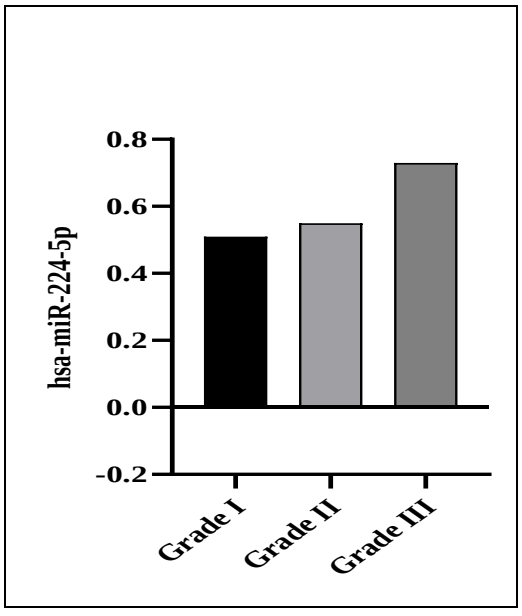
Şekil 4.16'da hsa-miR-219a-5p'nin menenjiomlarda gradelere göre sınıflandırılması ve $2^{\Delta\Delta Ct}$ formülüne göre hesaplanan katlı değişim miktarları grafikte gösterilmiştir. hsa-miR-219a-5p'nin grade'ler arasında istatiksel olarak anla**m**lı fark bulunamamıştır, (p>0, 05).



Şekil 4.16. hsa-miR-219a-5p'nin gradelere göre ifade değişim sonuçları

4.2.7. hsa-miR-224-5p'nin gradelere göre ifade değişim sonuçları

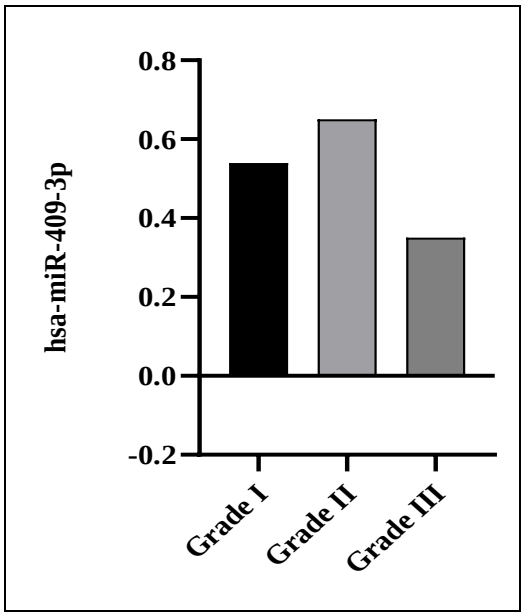
Şekil 4.17'de hsa-miR-224-5p'nin menenjiomlarda gradelere göre sınıflandırılması ve $2^{-\Delta\Delta Ct}$ formülüne göre hesaplanan katlı değişim miktarları grafikte gösterilmiştir. hsa-miR-224-5p'nin grade'ler arasında istatiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır, (p>0, 05).



Şekil 4.17. hsa-miR-224-5p'nin gradelere göre ifade değişim sonuçları

4.2.8. hsa-miR-409-3p'nin gradelere göre ifade değişim sonuçları

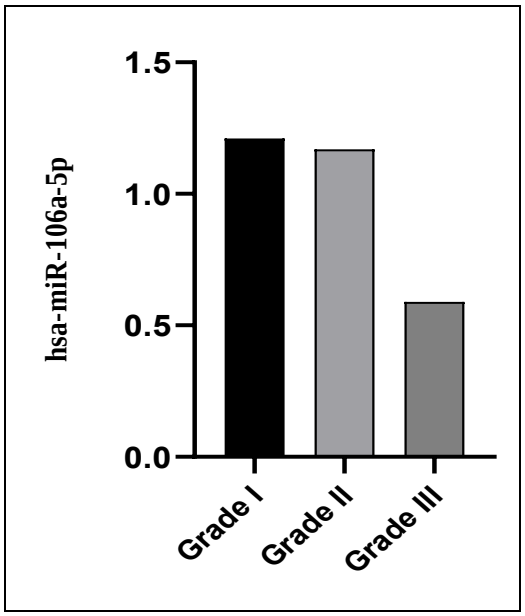
Şekil 4.18'de hsa-miR-409-5p'nin menenjiomlarda gradelere göre sınıflandırılması ve $2^{-\Delta\Delta Ct}$ formülüne göre hesaplanan katlı değişim miktarları grafikte gösterilmiştir. hsa-miR-409-5p'nin grade'ler arasında istatiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır, (p>0, 05).



Şekil 4.18. hsa-miR-409-5p'nin gradelere göre ifade değişim sonuçları

4.2.9. hsa-miR-106a-5p'nin gradelere göre ifade değişim sonuçları

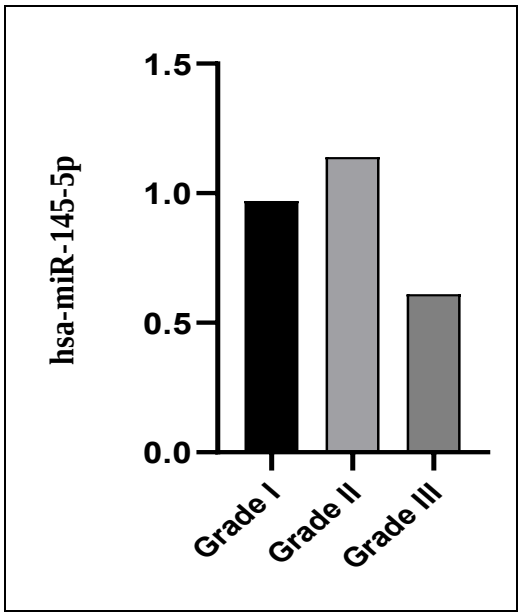
Şekil 4.19'da hsa-miR-106a-5p'nin menenjiomlarda gradelere göre sınıflandırılması ve $2^{\Delta\Delta Ct}$ formülüne göre hesaplanan katlı değişim miktarları grafikte gösterilmiştir. hsa-miR-106a-5p'nin grade'ler arasında istatiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır, (p>0, 05).



Şekil 4.19. hsa-miR-106a-5p'nin gradelere göre ifade değişim sonuçları

4.2.10. hsa-miR-145-5p'nin gradelere göre ifade değişim sonuçları

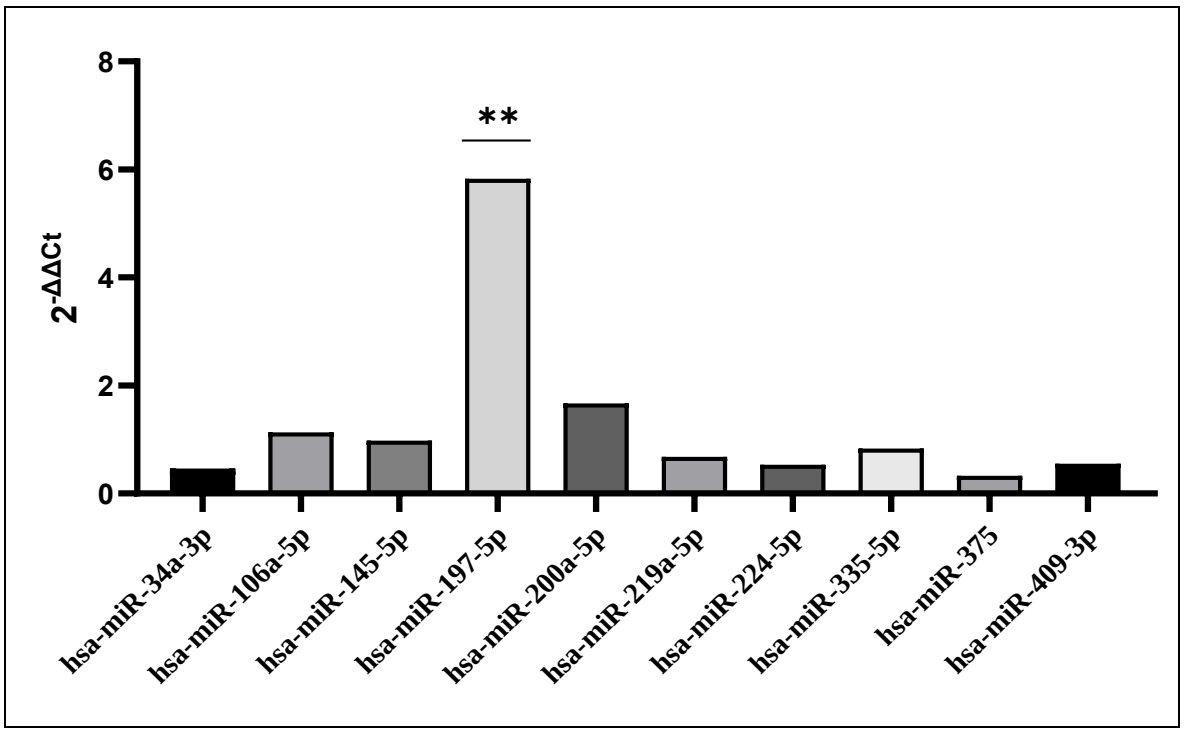
Şekil 4.20'de hsa-miR-145-5p'nin menenjiomlarda gradelere göre sınıflandırılması ve $2^{\Delta\Delta Ct}$ formülüne göre hesaplanan katlı değişim miktarları grafikte gösterilmiştir. hsa-miR-145-5p'nin grade'ler arasında istatiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır, (p>0, 05).



Şekil 4.20. hsa-miR-145-5p'nin gradelere göre ifade değişim sonuçları

4.3. Çalışmada Kullanılan MiRNA'ların Menenjiomlarda Katlamalı Oran Değişim Sonuçları

Şekil 4.21'de çalışılan miRNA'ların menenjiomlarda $2^{-\Delta\Delta Ct}$ formülüne göre hesaplanan katlı değişim miktarları grafikte gösterilmiştir. hsa-miR-197-5p diğer miRNA'lara göre daha yüksek fazla ekprese olmuştur.

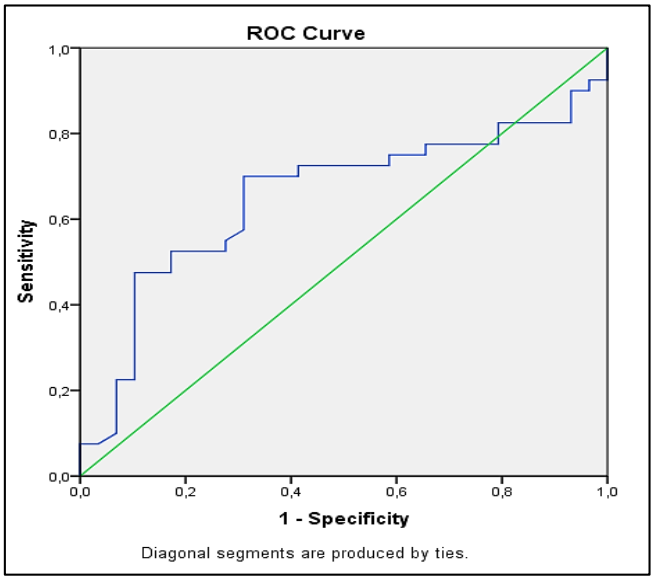


Şekil 4.21. miRNA'ların menenjiomlarda katlamalı oran değişim sonuçları

4.4. Çalışmada Kullanılan MiRNA'ların ROC Eğrileri

4.4.1. hsa-miR-197-5p'nin ROC eğrisi

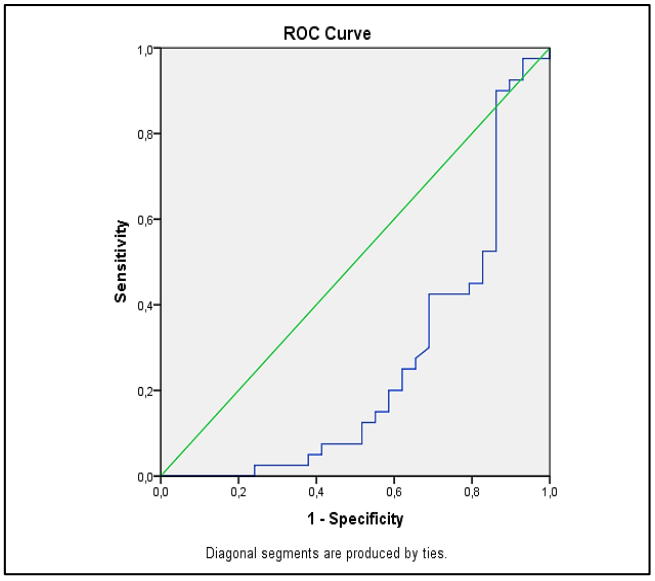
AUG: 0, 654



Şekil 4.22. hsa-miR-197-5p'nin ROC eğrisi

4.4.2. hsa-miR-34a-5p'nin ROC eğrisi

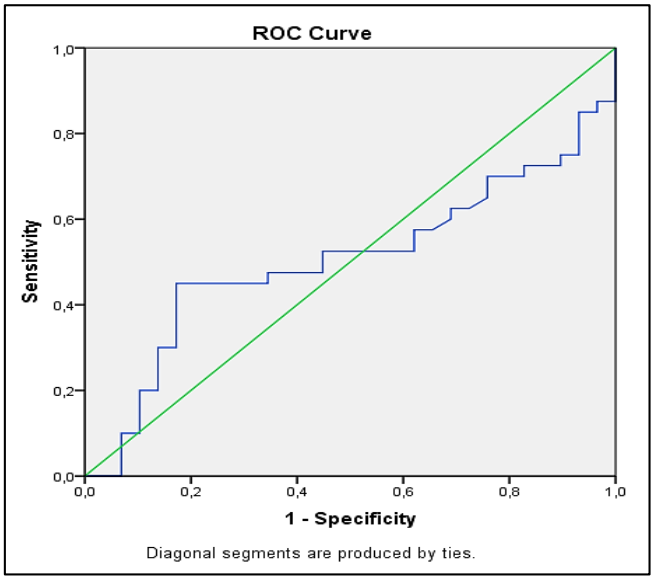
AUG: 0, 256



Şekil 4.23. hsa-miR-34a-5p'nin ROK eğrisi

4.4.3. hsa-miR-200a-5p'nin ROK eğrisi

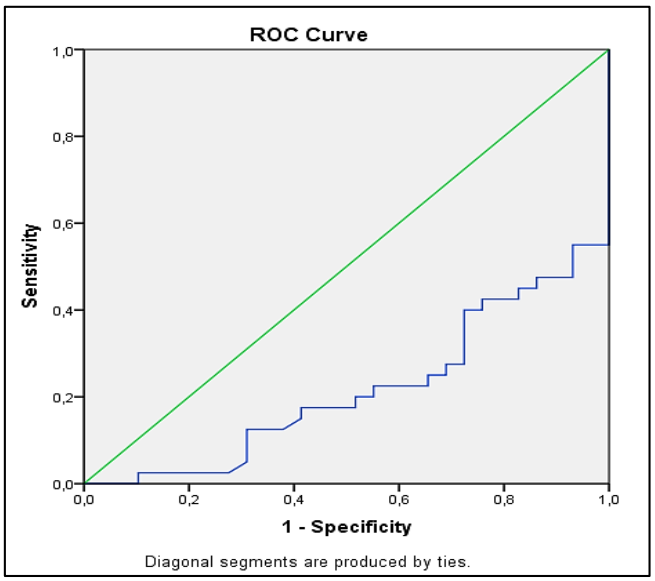
AUG: 0, 505



Şekil 4.24. hsa-miR-200a-5p'nin ROC eğrisi

4.4.4. hsa-miR-375 'in ROC eğrisi

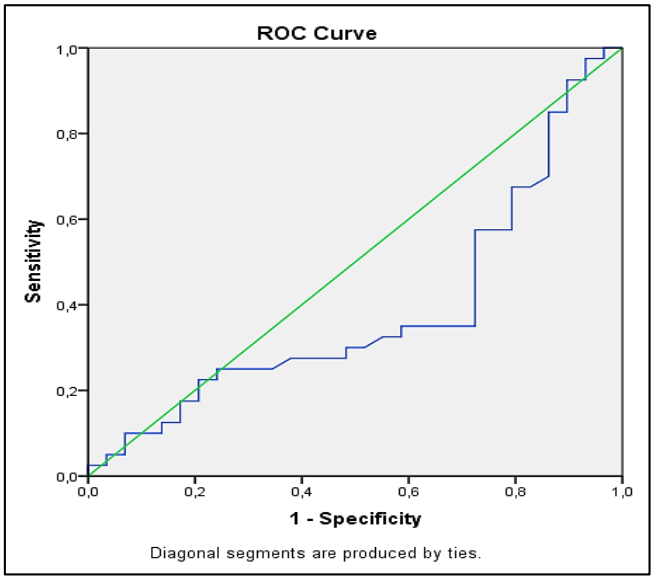
AUG: 0, 215



Şekil 4.25. hsa-miR-375'in ROC eğrisi

4.4.5. hsa-miR-335-5p'nin ROC eğrisi

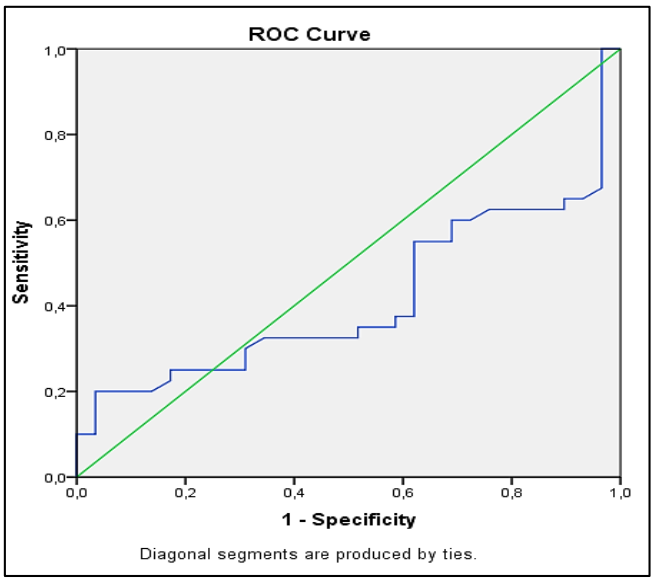
AUG: 0, 388



Şekil 4.26. hsa-miR-335-5p'nin ROC eğrisi

4.4.6. hsa-miR-219-5p'nin ROC eğrisi

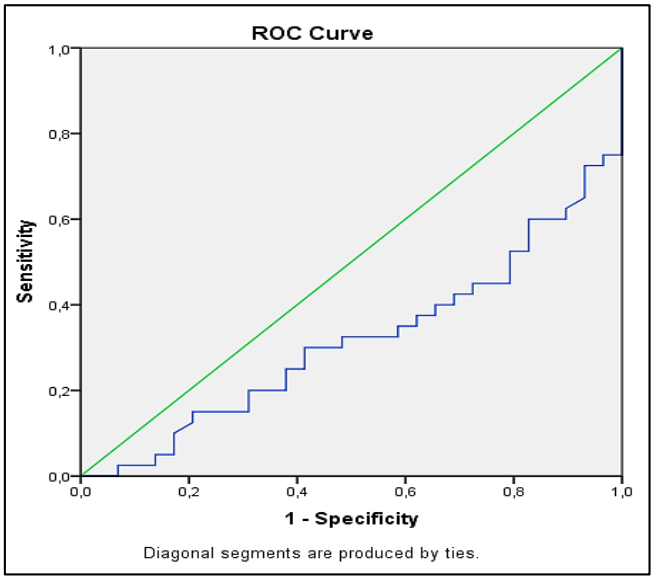
AUG: 0, 416



Şekil 4.27. hsa-miR-219-5p'nin ROC eğrisi

4.4.7. hsa-miR-224-5p'nin ROC eğrisi

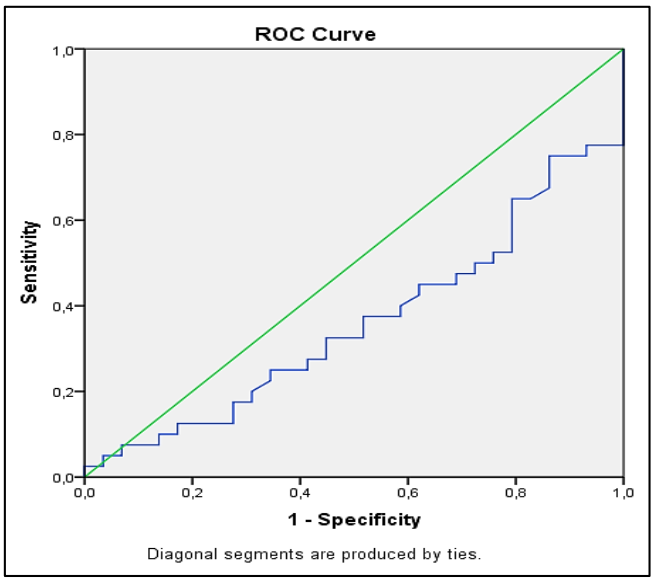
AUG: 0, 316



Şekil 4.28. hsa-miR-224-5p'nin ROC eğrisi

4.4.8. hsa-miR-409-5p'nin ROC eğrisi

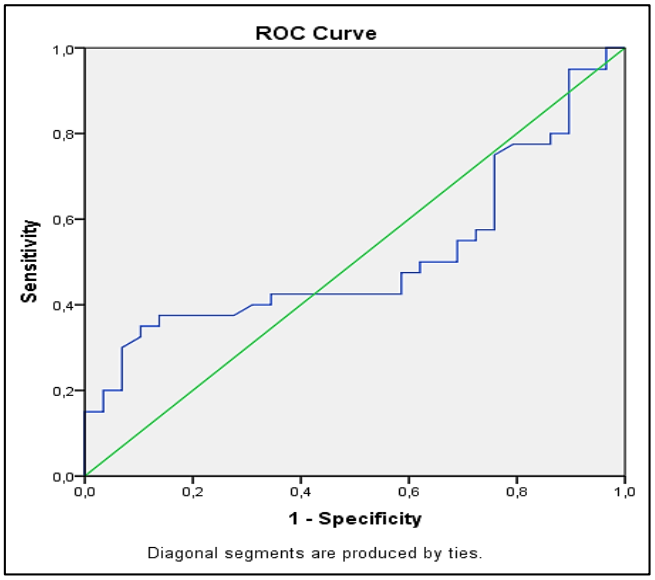
AUG: 0, 360



Şekil 4.29. hsa-miR-409-5p'nin ROC eğrisi

4.4.9. hsa-miR-106a-5p'nin ROC eğrisi

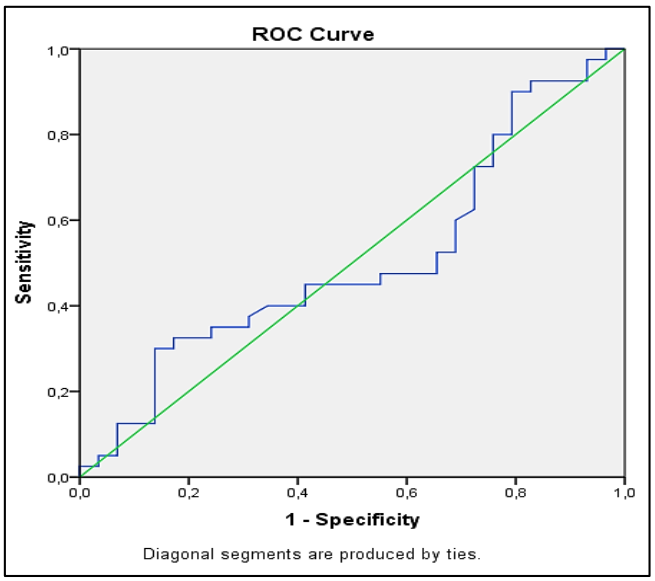
AUG: 0, 513



Şekil 4.30. hsa-miR-106a-5p'nin ROC eğrisi

4.4.10. hsa-miR-145-5p'nin ROC eğrisi

AUG: 0, 507



Şekil 4.31. hsa-miR-145-5p'nin ROC eğrisi

5. TARTIŞMA

Menenjiomlar, genellikle benign davranan en sık görülen (merkezi sinir sistemin yaklaşık %30) beyin tümörleridir. Beyin ve omurilik, üç koruyucu katmanla ile çevrilidir. Dura mater, Araknoid, Pia mater olup üçüne de 'Meninks' adı verilir. Menenjiom ismi 'Meninks' denilen beyin zarının tümörü anlamına gelse de 'araknoid' zarından [araknoid şapka hücrelerden] kaynaklandığı gösterilmektedir[171]. Menenjiomların büyük çoğunluğu iyi huylu, iyi sınırlı, yavaş büyüyen ve genelikle cerrahi ile tedavi edilebilen tümör türündendir. Ancak bazı menenjiomlar, yerleşim yerleri, tanı konduğundaki tümör boyutu ve patolojik tipine bağlı olarak hayatı tehdit edici olabilir [20, 23, 187].

Biyobelirteçler hastalıkların taramasında, tanı konulmasında, evrelemede ve tedavi yanıtlarının izlenmesinde kullanılabilen testlerdir. Özellikle tümörlerde bu amaçlarla kullanılabilecek biyobelirteçlere ihtiyaç vardır. Erken tanı konulmasında veya prognostik açıdan değerlendirmede kullanılabilecek ve noninvaziv [veya minimal invaziv] şekilde elde edilebilecek bir belirtecin olması tümör hastaları için hayati öneme sahip olabilmektedir. Beyin tümörleri için dolaşımdaki biyobelirteçler, özellikle cerrahinin kontrendike olduğu durumlarda veya biyopsi sonuçlarının kesin olmadığı durumlarda, teşhis amaçlı kullanılabilen yararlı ve kolay erişilebilir moleküller olarak tanımlanabilir[65].

miRNA'lar, transkripsiyon sonrası düzeyde gen ekspresyonunu modüle edebilen, 18-22 nükleotit uzunluğunda, endojen, kodlamayan RNA moleküleridir[188]. Normal fizyolojik koşullar altında, miRNA'lar hücre proliferasyonu, farklılaşması, metabolizması ve hücre ölümü dahil olmak üzere bilinen tüm biyolojik süreçlerin düzenlenmesine rol oynayabilen moleküllerdir[188, 189]. miRNA ifadesinde görülen anormalliklerin kanser başlangıcı ve ilerlemesi ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir[190]. Nitekim miRNA'ların tümör baskılayıcı ya da onkojenik özellikler sergileyebildiği yapılan birçok çalışmada açıkça ortaya konulmuştur[189]. Bu nedenle, miRNA'ların tek veya küçük bir alt kümesindeki değişikliklerin birçok mRNA'nın ekspresyon paterni üzerinde dramatik etkileri olduğu ve bunun da hücreleri dönüşüme ve değişime yönlendirdiği ifade edilmektedir[190, 191].

MiR-197-5p dizisi 23 nükleotit uzunluğundadır ve homo sapiens'te bulunur miR-197'nin, anahtar tümörijenik veya tümör baskılayıcı genleri hedefleyerek farklı kanserlerde

onkogen veya anti-onkogenin hayati bir rolünü oynadığı doğrulanmıştır[192-194]. miR-197, apoptoz, proliferasyon, anjiyogenez, metastaz, ilaç direnci ve tümör baskılayıcı dahil olmak üzere çeşitli mekanizmalar yoluyla kanserlerin karsinogenez ilerlemesinde kapsamlı bir şekilde çalışılmış ve ayrıca kanserlerin prognozunda rol oynamıştır[192, 195, 196]. Menenjiom hastalarında serum miR-197 ekspresyon sevileri düşük bulunmuştur. miR-197'nin insülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein-5'i doğrudan hedefleyerek insan uterin leiomyom hücrelerinde proliferasyonu engellediği dair kanıtlar artmaktadır[183]. Zhi ve ark. Menenjiomlarda yaptıkları bir çalışmada miR-197 ifadesini sağlıklı kontrollere oranla daha düşük bulmuşlardır[116]. Bizim çalışmamızda menenjiom hastaların, kontrollere oranla miR-197 ifadesi daha yüksek oranda bulunmuştur, ($p=0.003$). Çalışmamızda örnek büyüklüğü, çalışma yöntemi, cinsiyet, ırk ve çevresel faktörler gibi sebeplerle miR-197 ifadesini önceki çalışmalardan farklı olabilir.

hsa-miR-34a dizisi 22 nükleotit uzunluğundadır ve homo sapiens'te bulunur. miRNA-34a, tümör baskılanmasının anahtar düzenleyicidir. Hücre döngüsü, farklılaşma ve apoptozda yer alan çok sayıda hedef proteinin ekspresyonunu kontrol eder[197]. Kanser, metastaz ve kemorezistansın yanı sıra temel kanser hücresi canlılığı için gerekli süreçleri antagonize eder[197, 198]. Birçok çalışmada yüksek gradeli menenjiomlarda miR-34a-3p ekspresyonu düşük bulunmuştur[199, 200]. miR-34a-3p Bcl-2 genini hedefler. HBL-52 hücrelerinde miR-34a-3p'nin down regülasyonu Bcl-2‘nin yüksek ekspresyonu hücre proliferasyonunun artmasına ve tümör hücrelerinin apoptozunun azalmasına katkıda bulunabileceği dair görüşü ortaya konulmuştur. Önceki çalışmalarda mir34a-5p menenjiomlarda ifadesi düşük bunmuştur[201]. Menenjiomda miR-34a-3p'nin aşırı ekspresyonu, hücre proliferasyonunu inhibe eder ve apoptozu indükler. Bu nedenle miR-34a-3p menenjiomlarda antikanser ilacı olarak kullanılabilleceği düşünülmektedir[167]. Çalışmamızda, miR-34a-3p ifadesinde daha önce yapılmış çalışmalarla benzer sonuçlar elde edilmiştir. Menenjiom hasta grubu, sağlıklı kontrol grubuna göre miR-34a-3p ekpresyonları daha düşük bulunmuştur, ($p<0.001$).

hsa-miR-200a aşırı ifadesi kültür ortamında in vivo tümör modelinde menenjioma hücre büyümesini inhibe ettiği, MiR-200a'nın up regülasyonu, ZEB1 ve SIP1 transkripsiyon faktörlerinin ekspresyonunu azalttığı ve bunun sonucunda hücre farklılaşması ile bağlantılı bir yapışma proteini olan E-cadherin ekspresyonu arttığı bulunmuştur[169]. Menenjiomlarda ve araknoid hücrelerde miR-200a'nın down regülasyonu, hücre

proliferasyonunda yer alan beta-katenin ve siklin D1 ekspresyonunun artmasına sebeb olmaktadır. miR-200a'nın doğrudan beta-katenin mRNA'yı hedeflediği, böylece translasyonunu inhibe ettiği ve kanserde sıklıkla yer alan Wnt/beta-katenin sinyalini bloke ettiği düşünülmektedir. İnsan menenjiom örneklerinde miR-200a'nın down regülasyonu ile beta-katenin up regülasyonu arasında doğrudan bir korelasyon vardır. Bu nedenle miR-200a, menenjiomlarda E-cadherin ve Wnt/beta-katenin sinyal yolakları üzerinde çok işlevli bir tümör baskılayıcı miRNA gibi görünmektedir. Bu, menenjiom tümörü gelişiminde yer alan önceden tanınmayan bir sinyal kaskadı ortaya çıkartılmasına dair kanıtlalara raslanmaktadır [26, 105, 170]. Önceki çalışmalarda miR-200a menenjiomlar için önemli bir molekül olduğuna dair kanıtlar olsa da bizim çalışmamıza göre sonuçlarımız istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır, (p>0, 05).

miR-375-5p menenjiomlarda yüksek oranda ifade edilmektedir[116]. Aynı zamanda miR-375-5p'nin menenjiom hastalarında pre ve post operatiflerde önemli bir biyobelirteç olabileceği düşünülmektedir[116]. Bizim çalışmamızda menenjiom hastalarında, kontrollere oranla miR-375 ifadesi daha düşük tespit edildmiştir, (p=0.003). Literatürde menenjiomla ilgili miR-375'ün çalışmalara raslanmadığından sonuçlarımız ileriye dönük çalışmalar için önemli kilometre taşı olacağını düşünüyoruz.

hsa-miR-335-5p birkaç çalışmada, kanserlerde miR-335'in işlevleri ve mekanizmalarına odaklanmıştır[202, 203]. Dokularda ve hücrelerde miR-335'in ekspresyon seviyesi kanser türlerine göre değişir ve miR-335, kanserin prognozu için potansiyel bir biyobelirteç olarak önerilmiştir. Ayrıca miR-335, tümör başlangıcı, gelişimi ve metastazında farklı hedefleri veya yolları düzenleyerek bir onkogen veya tümör baskılayıcı görevi görebilir. miR-335, tümör mikro ortamını ve ilaç duyarlılığını da etkiler[204]. miR-335'in insanlarda menenjiomlarda aşırı eksprese edilen tipik bir mikroRNA olduğunu ortaya çıkardı[169]. Menenjiomlarda miR-335 aşırı ekspresyonunun etkilerinin karakterizasyonu, yüksek miR-335 seviyelerinin hücre büyümesini arttırdığını ve in vitro G0/G1 fazında hücre döngüsü durmasını inhibe ettiğini göstermiştir; ek olarak, miR-335 seviyelerinin azaltılması, tümör büyümesi ve ilerlemesi üzerinde zıt bir etkiye sahipti. miR-335'in menenjiom hücrelerinin proliferasyonu üzerindeki etki mekanizmasının, insan retinoblastom 1 [Rb1] ekspresyonundaki değişikliklerle ilişkili olduğunu göstermiştir. miR-335'in doğrudan Rb1 sinyal yolunu hedefleyerek menenjioma hücrelerinin proliferasyonunda önemli bir rol oynadığını göstermektedir[173]. Çalışmamızda miR-335-5p'in ifadesi menenjiomlarda

istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunamamıştır, (p>0, 05). Çalışmamızda örnek büyüklüğü, çalışma yöntemi, cinsiyet ve farklı ırk türü gibi sebeplerle miR-335'in ifadesinin daha önce yapılmış çalışmalara göre farklılık gösterebilir.

hsa-miR-219a-5p Menenjiom hastalarını sağlıklı kontrollerden yüksek duyarlılıkla ayırt edebilen miR-219-5p, klinik pratikte cerrahi rezeksiyon etkisinin izlenmesine yardımcı olabilecek menenjiyom hastalarını ameliyat öncesi ve sonrası ayırt edebileceğine dair kanıtlar vardır. Bu miRNA panelinin kullanımının menenjiyom için yardımcı bir teşhis ve izleme biyobelirteç olarak önemli bir potansiyele sahip olduğunu göstermektedir[116, 205]. Çalışmamızda kullandığımız miR-219a-5p literatürle benzer sonuçlar elde edilmiştir. Menenjiom hasta grubu, sağlıklı kontrol grubuna göre miR-219a-5p daha fazla ekprese edildiği görülmüştür, (p=0.0012).

hsa-miR-224-5p Menenjiomlu hastalarda miR-224 ekspresyonunu ve histolojik derecelendirme ve postoperatif nüks ile ilişkisini araştırılan bir çalışmada IOMM-Lee ve CH157 menenjioma hücrelerinde miR-224 ekspresyonunu inhibe ettiği ve miR-224 inhibisyonunun apoptozu arttırdığını ve hücre proliferasyonunu baskıladığı bulunmuştur. Ayrıca, bu çalışmada ERG2'yi yeni bir miR-224 hedefi olarak tanımlanmış ve miR-224-ERG2 ekseninin menenjiom hücrelerinin proliferasyonunu ve apoptozunu düzenlemede kritik bir rol oynadığını belirtilmiştir[186]. Gradelere göre bakıldığında miR-224 grade I daha düşük bulundu. Ve gradelere göre ayrıldığında önemli bir biyobelirteç olabileceği düşünülmektedir[116]. Bizim sonuçlarımıza bakıldığında menenjiom grubu, sağlıklı kontrollere göre ifadeleri daha düşük bulundu(p=0, 03). Sonuçlarımız liretatürle uyumlu idi ve miR-224'ün ifadesi grade I'lerde daha düşük bulundu.

hsa-miR-409-3p Menenjiomlarda yüksek ifadesi, rekürens oranları ile önemli ölçüde ilişkilendirildi[116]. Özellikle menenjiomlarda pre ve post operatiflerde önemli bir biyobelirteç olabileceği ifade edilmektedir[116]. Bizim sonuçlarımıza bakıldığında menenjiom grubu, sağlıklı kontrollere göre karşılaştırıldığında istatiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır (p>0, 05). Bizim bulgulara göre gradelere bakıldığında potansiyel bir biyobelirteç olarak kullanılabileceğini söyleyemeyiz.

hsa-miR-106a-5p menenjiomlarda pre ve post operatiflerde dönemlerde takip için önemli bir biyobelirteç olabileceği düşünülmektedir[116]. Çalışmamızda menenjiom ile sağlıklı

grup arasında istatiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır, (p>0, 05). Çalışmamızda örnek büyüklüğü, çalışma yöntemi, cinsiyet ve farklı ırk türü gibi sebeplerle miR-106a'in ifadesi farklılık gösterebilir.

hsa-miR-145-5p esas olarak tümör baskılayıcı miRNA'lar olarak hareket etse de, bazen onkojenik roller sergilerler[162]. Circ_0001955'in miR-145−5p ile bağlandığı ve bu, miRNA'nın hedefleri olan TRAF6 ve MAPK11 genlerinin aşırı ekspresyonu ile sonuçlandığı gösterilmiştir[163]. Menenjiomlarda miRNA-145'in atipik ve anaplastik tümörlerde benign menenjiomlara kıyasla miR-145 ekspresyonu azalır. Aynı zamanda miR-145'in aşırı ekspresyonu, proliferasyonun azaltığı, apoptoza duyarlılığın artırdığı tespit edilmiştir. MiR145'i aşırı eksprese eden hücrelerin PCR dizisi çalışmaları, kolajen tip V alfa (COL5A1) ekspresyonunun miR-145 aşırı ekspresyonu tarafından down regüle edildiği ileri sürüldü. Buna göre, COL5A1 ekspresyonu, atipik ve anaplastik menenjiomlarda önemli ölçüde artmıştır[165]. Daha önce yapılmış çalışmalarda miR-145 farklı kanser türlerinde düşük bulunmuştur ve anti kanser olarak ilişkilendirilmiştir. Çalışmamızda miR-145-5p'in ifadesi menenjiomlarda istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunamamıştır, (p>0, 05).

Çalışmamızda hem kontrol, hemde menenjiomların DSÖ'ya göre sınıflandırmasını yaparak miRNA'ların hangi durumdalarda daha etkili bir potansiyel biyobelirteç olduğunu saptamaya çalıştık. Özetle miRNA'ların menenjiomlar için önemli birer potansiyel biyobelirteç hedef olabileceğini çalışmamızda göstermeye çalıştık. Özellikle miR-197 bu hasta grubunda diğer miRNA'lara oranla daha fazla ekprese edildi. Dolayısyla preoperatif süreçte potansiyel bir biyobelirteç hedef olabilir. MiR-197, miR-34a, miR-375, miR-219a ve miR-224 insan serum örneklerinde menenjiomlarda potansiyel biyobelirteç olarak öne çıkmaktadır. Ayrıca çalışmamızda DSÖ sınıflandırmasına göre, miR-197, miR-34a miR-375 grade I'lerde miR-375 grade II de potansiyel bir biyobelirteç olarak kullanılabileceği düşünülmektedir.

6. SONUÇ

Menenjiom hastalığının tanısı ve prognozunun değerledirmesinde henüz bilinen bir biyobelirteç bulunmamaktadır. Son on yılda epigenetik faktörlerin tümör patogenezinde önemli roller oynadığı gösterilmiştir. Özellikle miRNA'lar gibi kodlamayan RNA molekülleri menenjiomlarda potansiyel yeni terapötik hedefler olabilir. Ayrıca miRNA'ların potansiyel kullanımı sayesinde hem non-invaziv olarak erken dönemde kolaylıkla tümör tanısı konulabilecek, hem de prognostik açıdan cerrahi öncesi planlamalar yapılabilecek ve intraoperatif olarak yaşanan zorlukların bir kısmı (biyopsi sonucunu bekleme vb) ortadan kaldırılabilecektir.

Çalışmamızda menenjiom hastalarının, kontrollere miR-197, miR-219a ekpresyonları kontrollere göre yüksek, miR-34a, miR-224 ve miR-375 ekpresyonları düşük tespit edilmiştir. miR-335, miR-409, miR-106 ve miR-145'in ifadelerininde değişmediği gözlemlemiştir.

miR-197 diğer miRNA'lara oranla menenjiomlarda en fazla ifade olan miRNA olarak bulunmuştur. miR-197, miR-34a, miR-375, miR-219a ve miR-224 insan serum örneklerinde menenjiomlarda potansiyel biyobelirteç hedefi olarak öne çıkmaktadır. Ayrıca DSÖ sınıflandırmasına göre, miR-197, miR-34a miR-375 grade I'lerde miR-375 grade II de potansiyel bir biyobelirteç olarak kullanılabileceği ihtimalleri güçlendirmektedir.

Çalışmamızın konusu, yani menenjiomlarda miRNA'ların rolü giderek daha fazla önem kazanmaktadır. Bu nedenle miRNA'ların rolünü inceleyen çalışmalar bu konuya daha fazla ışık tutacaktır. Bu konuda daha geniş kapsamlı daha fazla hastalarda yapılmış ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Dolecek, T. A., Propp, J. M., Stroup, N. E., and Kruchko, C. (2012). CBTRUS statistical report: primary brain and central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2005–2009. *Neuro-Oncology*, *14*(5), 1-49.

2. Yuniarti, H., Subagio, H. W., Puruhita, N., Murbawani, E. A., Nugrohowati, A. K., Priambada, D., and Risdianto, A. (2021). Body mass index and waist hip ratio as a risk factor for meningioma incidence. *Current Nutrition & Food Science*, *17*(7), 782-788.

3. Marosi, C., Hassler, M., Roessler, K., Reni, M., Sant, M., Mazza, E., and Vecht, C. (2008). Meningioma. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, *67*(2), 153-171.

4. Gyawali, S., Sharma, P., and Mahapatra, A. (2019). Meningioma and psychiatric symptoms: an individual patient data analysis. *Asian Journal of Psychiatry*, 42, 94-103.

5. Buerki, R. A., Horbinski, C. M., Kruser, T., Horowitz, P. M., James, C. D., and Lukas, R. V. (2018). An overview of meningiomas. *Future Oncology*, *14*(21), 2161-2177.

6. Evran, S., Baran, O., Kayhan, A., Katar, S., Akkaya, E., Cevik, S., and Kaya, M., Sonmez, D., Serin, H., and Kaynar, M. Y. (2020). The expression of MIR17HG protein as a potential therapeutic target in meningioma. *World Neurosurgery*, 137, 554-563.

7. Sanverdi, S. E., Ozgen, B., Oguz, K. K., Mut, M., Dolgun, A., Soylemezoglu, F., and Cila, A. (2012). Is diffusion-weighted imaging useful in grading and differentiating histopathological subtypes of meningiomas? *European Journal of Radiology*, *81*(9), 2389-2395.

8. Murnyák, B., Bognár, L., Klekner, Á., and Hortobágyi, T. (2015). Epigenetics of meningiomas. *BioMed Research International*, 2015, 532451.

9. Zeidman, L. A., Ankenbrandt, W. J., Du, H., Paleologos, N., and Vick, N. A. (2008). Growth rate of non-operated meningiomas. *Journal of Neurology*, *255*(6), 891-895.

10. Timbrell, J. A. (1998). Biomarkers in toxicology. *Toxicology*, 129(1), 1-12.

11. Schonberg, D. L., Lubelski, D., Miller, T. E., and Rich, J. N. (2014). Brain tumor stem cells: Molecular characteristics and their impact on therapy. *Molecular Aspects of Medicin*e, 39, 82-101.

12. Bondy, M., and Ligon, B. L. (1996). Epidemiology and etiology of intracranial meningiomas: a review. *Journal of Neuro-Oncology*, *29*(3), 197-205.

13. Goutagny, S., and Kalamarides, M. (2010). Meningiomas and neurofibromatosis. *Journal of Neuro-Oncology*, *99*(3), 341-347.

14. Gazzeri, R., Galarza, M., and Gazzeri, G. (2007). Growth of a meningioma in a transsexual patient after estrogen–progestin therapy. *New England Journal of Medicine*, *357*(23), 2411-2412.

15. Claus, E. B., Black, P. M., Bondy, M. L., Calvocoressi, L., Schildkraut, J. M., Wiemels, J. L., and Wrensch, M. (2007). Exogenous hormone use and meningioma risk: what do we tell our patients?. *Cancer: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society*, *110*(3), 471-476.

16. Gil, M., Oliva, B., Timoner, J., Maciá, M. A., Bryant, V., and de Abajo, F. J. (2011). Risk of meningioma among users of high doses of cyproterone acetate as compared with the general population: evidence from a population-based cohort study. *British Journal of Clinical Pharmacology*, *72*(6), 965-968.

17. Nyholm, T., Jonsson, J., Söderström, K., Bergström, P., Carlberg, A., Frykholm, G., Behrens, C. F., Geertsen, P. F., Trepiakas, R., Hanvey, S., Sadozye, A., Ansari, J., McCallum, H., Frew, J., McMenemin, R., and Zackrisson, B. (2013). Variability in prostate and seminal vesicle delineations defined on magnetic resonance images, a multi-observer,-center and-sequence study. *Radiation Oncology*, *8*(1), 1-12.

18. Nordenskjöld, A. C., Bujila, R., Aspelin, P., Flodmark, O., and Kaijser, M. (2017). Risk of meningioma after CT of the head. *Radiology*, *285*(2), 568-575.

19. Sayegh, E. T., Burch, E. A., Henderson, G. A., Oh, T., Bloch, O., and Parsa, A. T. (2015). Tumor-to-tumor metastasis: breast carcinoma to meningioma. *Journal of Clinical Neuroscience*, *22*(2), 268-274.

20. Wiemels, J., Wrensch, M., and Claus, E. B. (2010). Epidemiology and etiology of meningioma. *Journal of Neuro-Oncology*, *99*(3), 307-314.

21. Goldbrunner, R., Minniti, G., Preusser, M., Jenkinson, M. D., Sallabanda, K., Houdart, E., von Deimling, A., Stavrinou, P., Lefranc, F., Lund-Johanse, M., Moyal, E. C. J., Brandsma, D., Henriksson, R., Soffietti, R., and Weller, M. (2016). EANO guidelines for the diagnosis and treatment of meningiomas. *The Lancet Oncology*, *17*(9), 383-91.

22. Campbell, B. A., Jhamb, A., Maguire, J. A., Toyota, B., and Ma, R. (2009). Meningiomas in 2009: controversies and future challenges. *American Journal of Clinical Oncology*, *32*(1), 73-85.

23. Hortobágyi, T., Bencze, J., Varkoly, G., Kouhsari, M. C., and Klekner, Á. (2016). Meningioma recurrence. *Open Medicine*, *11*(1), 168-173.

24. Cheung, V. L. S., Kim, A., Sahgal, A., and Das, S. (2018). Meningioma recurrence rates following treatment: a systematic analysis. *Journal of Neuro-Oncology*, *136*(2), 351-361.

25. Rousseau, A., Mokhtari, K., and Duyckaerts, C. (2008). The 2007 WHO classification of tumors of the central nervous system–what has changed?. *Current Opinion in Neurology*, *21*(6), 720-727.

26. Galani, V., Lampri, E., Varouktsi, A., Alexiou, G., Mitselou, A., and Kyritsis, A. P. (2017). Genetic and epigenetic alterations in meningiomas. *Clinical Neurology and Neurosurgery*, 158, 119-125.

27. Civit, T., Colnat-Coulbois, S., and Freppel, S. (2010). Orbital metastasis. *Neuro-Chirurgie*, *56*(2-3), 148-151.

28. Roelcke, U., Boxheimer, L., Fathi, A. R., Schwyzer, L., Ortega, M., Berberat, J., and Remonda, L. (2013). Cortical hemosiderin is associated with seizures in patients with newly diagnosed malignant brain tumors. *Journal of Neuro-Oncology*, *115*(3), 463-468.

29. Hasan, H. F., Nat, M., and Vanduhe, V. Z. (2019). Gamified collaborative environment in moodle. *IEEE Access*, 7, 89833-89844.

30. Euskirchen, P., and Peyre, M. (2018). Management of meningioma. *La Presse Médicale*, *47*(11-12), 245-252.

31. Mei, Y., Bi, W. L., Greenwald, N. F., Agar, N. Y., Beroukhim, R., Dunn, G. P., and Dunn, I. F. (2017). Genomic profile of human meningioma cell lines. *PLoS One*, *12*(5), e0178322.

32. Kunimatsu, A., Kunimatsu, N., Kamiya, K., Katsura, M., Mori, H., and Ohtomo, K. (2016). Variants of meningiomas: a review of imaging findings and clinical features. *Japanese Journal of Radiology*, *34*(7), 459-469.

33. Hottinger, A. F., and Khakoo, Y. (2009). Neurooncology of familial cancer syndromes. *Journal of Child Neurology*, *24*(12), 1526-1535.

34. Lamszus, K. (2004). Meningioma pathology, genetics, and biology. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, *63*(4), 275-286.

35. Evans, J. J., Jeun, S.-S., Lee, J. H., Harwalkar, J. A., Shoshan, Y., Cowell, J. K., and Golubic, M. (2001). Molecular alterations in the neurofibromatosis type 2 gene and its protein rarely occurring in meningothelial meningiomas. *Journal of Neurosurgery*, *94*(1), 111-117.

36. Hansson, C. M., Buckley, P. G., Grigelioniene, G., Piotrowski, A., Hellström, A. R., Mantripragada, K., Jarbo, C., Mathiesen, T., and Dumanski, J. P. (2007). Comprehensive genetic and epigenetic analysis of sporadic meningioma for macro-mutations on 22q and micro-mutations within the NF2 locus. *BMC Genomics*, *8*(1), 1-16.

37. Zhang, T., Yu, J.-M., Wang, Y.-Q., Yin, D.-D., and Fang, L.-J. (2018). WHO grade I meningioma subtypes: MRI features and pathological analysis. *Life Sciences*, 213, 50-56.

38. Wang, M., Hu, Y., Amatangelo, M. D., and Stearns, M. E. (2001). Role of ribosomal protein RPS2 in controlling let-7a expression in human prostate cancer. *Molecular Cancer Research*, *9*(1), 36-50.

39. Agnihotri, S., Suppiah, S., Tonge, P. D., Jalali, S., Danesh, A., Bruce, J. P., and Mamatjan, Y., Klironomos, G., Gonen, L., Au, K., Mansouri, S., Karimi, S., Sahm, F., von Deimling, A., Taylor, M. D., Laperriere, N. J., Pugh, T. J., Aldape, K. D., and Zadeh, G. (2017). Therapeutic radiation for childhood cancer drives structural aberrations of NF2 in meningiomas. *Nature Communications*, *8*(1), 1-7.

40. Claus, E. B., Calvocoressi, L., Bondy, M. L., Wrensch, M., Wiemels, J. L., and Schildkraut, J. M. (2013). Exogenous hormone use, reproductive factors, and risk of intracranial meningioma in females. *Journal of Neurosurgery*, *118*(3), 649-656.

41. Peyre, M., and Kalamarides, M. (2018). Molecular genetics of meningiomas: building the roadmap towards personalized therapy. *Neurochirurgie*, *64*(1), 22-28.

42. Delgado-López, P. D., Cubo-Delgado, E., González-Bernal, J. J., and Martín-Alonso, J. (2020). A practical overview on the molecular biology of meningioma. *Current Neurology and Neuroscience Reports*, *20*(12), 1-12.

43. Caranci, F., Leone, G., Ponsiglione, A., Muto, M., Tortora, F., Muto, M., Cirillo, S., Brunese, L., and Cerase, A. (2020). Imaging findings in hypophysitis: a review. *La Radiologia Medica*, *125*(3), 319-328.

44. Zakhari, N., Torres, C., Castillo, M., and Nguyen, T. B. (2017). Uncommon cranial meningioma: key imaging features on conventional and advanced imaging. *Clinical Neuroradiology*, *27*(2), 135-144.

45. Huang, R. Y., Bi, W. L., Griffith, B., Kaufmann, T. J., la Fougère, C., Schmidt, N. O., Tonn, J. C., Vogelbaum, M. A., Wen, P. Y., Aldape, K., Nassiri, F., Zadeh, G., Dunn, I. F., and International Consortium on Meningiomas. (2019). Imaging and diagnostic advances for intracranial meningiomas. *Neuro-Oncology*, *21*(Suppl 1), 44-61.

46. Lang, F. F., Macdonald, O. K., Fuller, G. N., and DeMonte, F. (2000). Primary extradural meningiomas*:* A report on nine cases and review of the CT-era literature. *Journal of Neurosurgery*, *93*(6), 940-950.

47. Chen, T. C. (2016). Primary intraosseous meningioma. *Neurosurgery Clinics of North America*, *27*(2), 189-193.

48. Huntoon, K., Toland, A. M. S., and Dahiya, S. (2020). Meningioma: A review of clinicopathological and molecular aspects. *Frontiers in Oncology*, 10, 2245.

49. Gardner, P. A., Kassam, A. B., Thomas, A., Snyderman, C. H., Carrau, R. L., Mintz, A. H., and Prevedello, D. M. (2008). Endoscopic endonasal resection of anterior cranial base meningiomas. *Neurosurgery*, *63*(1), 36-54.

50. Rogers, L., Mehta, M. (2007). Role of radiation therapy in treating intracranial meningiomas. *Neurosurgical Focus*, *23*(4), 4.

51. Leguevaque, P., Motton, S., Decharme, A., Soulé-Tholy, M., Escourrou, G., and Hoff, J. (2010). Predictors of recurrence in high-grade cervical lesions and a plan of management. *European Journal of Surgical Oncology*, *36*(11), 1073-1079.

52. Chapman, P. R., Singhal, A., Gaddamanugu, S., and Prattipati, V. (2020). Neuroimaging of the pituitary gland: practical anatomy and pathology. *Radiologic Clinics, 58*(6), 1115-1133.

53. Perkins, A., and Liu, G. (2016). Primary brain tumors in adults: diagnosis and treatment. *American Family Physician, 93*(3), 211-217.

54. Prager, B., Vasudevan, H., Dixit, D., Bernatchez, J. A., Wu, Q., Wallace, L. C., Bhargava, S., Lee, D., King, B. H., Morton, A. R., Gimple, R. C., Pekmezci, M., Zhu, Z., Siqueira-Neto, J. L., Wan, X., Xie, Q., Chen, C., Barnett, G. H., Vogelbaum, M. A., Mack, S. C., Chavez, L., Perry, A., Raleigh, D. R., and Rich, J. N. (2020). The meningioma enhancer landscape delineates novel subgroups and drives druggable dependencies. *Cancer Discovery, 10*(11), 1722-1741.

55. Neromyliotis, E., Kalamatianos, T., Paschalis, A., Komaitis, S., Fountas, K.N., Kapsalaki, E.Z., Stranjalis, G., and Tsougos, I. (2020). Machine learning in meningioma MRI: Past to present. A narrative review. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, Preprint.

56. Motta, L., Mandara, M. T., and Skerritt, G. C. (2012). Canine and feline intracranial meningiomas: an updated review. *The Veterinary Journal, 192*(2), 153-165.

57. Shen, L., Lin, D., Cheng, L., Tu, S., Wu, H., Xu, W., Pan, Y., Wang, X., Zhang, J., and Shap, A. (2020). Is DNA methylation a ray of sunshine in predicting meningioma prognosis?. *Frontiers in Oncology*, 10, 1323.

58. Çakır, B. T. ve Tekşam, M. (2016). Ekstraaksiyel beyin tümörleri. *Türk Radyoloji Seminerleri*, 4, 82-120.

59. Tokgoz, N., Oner, Y. A., Kaymaz, M., Ucar, M., Yilmaz, G., and Tali, T. E. (2005). Primary intraosseous meningioma: CT and MRI appearance. *American Journal of Neuroradiology*, *26*(8), 2053-2056.

60. Watts, J., Box, G., Galvin, A., Brotchie, P., Trost, N., and Sutherland, T. (2014). Magnetic resonance imaging of meningiomas: a pictorial review. *Insights Into Imaging*, *5*(1), 113-122.

61. Saloner, D., Uzelac, A., Hetts, S., Martin, A., and Dillon, W. (2010). Modern meningioma imaging techniques. *Journal of Neuro-Oncology*, *99*(3), 333-340.

62. Pieper, D. R., Al-Mefty, O., Hanada, Y., and Buechner, D. (1999). Hyperostosis associated with meningioma of the cranial base: secondary changes or tumor invasion. *Neurosurgery*, *44*(4), 742-746.

63. Salah, F., Tabbarah, A., Asmar, K., Tamim, H., Makki, M., Sibahi, A., and Hourani, R. (2019). Can CT and MRI features differentiate benign from malignant meningiomas?. *Clinical Radiology, 74*(11), 898.e15-.e23.

64. Westphal, M., and Lamszus, K. (2015). Circulating biomarkers for gliomas. *Nature Reviews Neurology, 11*(10), 556-566.

65. Lin, D.-C., Mayakonda, A., Dinh, H.Q., Huang, P., Lin, L., Liu, X., Ding, L.-W., Wang, J., Berman, B. P., Song, E.-W., Yin, D., and Koeffler, H. P. (2017). Genomic and epigenomic heterogeneity of hepatocellular carcinoma. *Cancer Research, 77*(9), 2255-2265.

66. Sobsey, C. A., Ibrahim, S., Richard, V. R., Gaspar, V., Mitsa, G., Lacasse. V., Zahedi, R. P., Batist, G., and Borchers, C. H. (2020). Targeted and untargeted proteomics approaches in biomarker development. *Proteomics, 20*(9), 1900029.

67. Ananthan, K., and Lyon, A. R. (2020). The role of biomarkers in cardio-oncology. *Journal of Cardiovascular Translational Research, 13*(3), 431-450.

68. Aronson, J. K., and Ferner, R. E. (2017). Biomarkers-a general review. *Current protocols in pharmacology, 76*(1), 9.23.1-9.23.17.

69. García-Gutiérrez, M. S., Navarrete, F., Sala, F., Gasparyan, A., Austrich-Olivares, A., and Manzanares, J. (2020). Biomarkers in psychiatry: concept, definition, types and relevance to the clinical reality. *Frontiers in Psychiatry*, 11, 432.

70. Peters, K. E., Walters, C. C., and Moldowan, J. (2005). *The biomarker guide*. New York: Cambridge University Press.

71. Ragel, B. T., and Jensen, R. L. (2010). Aberrant signaling pathways in meningiomas. *Journal of Neuro-Oncology, 99*(3), 315-324.

72. Twerenbold, R., Boeddinghaus, J., Nestelberger, T., Wildi, K., Rubini Gimenez, M., Badertscher, P., and Mueller, C. (2017). Clinical use of high-sensitivity cardiac troponin in patients with suspected myocardial infarction. *Journal of the American College of Cardiology, 70*(8), 996-1012.

73. Crawford, M. H. (2016). The fortieth anniversary of the founding of the laboratory of biological anthropology. *Human Biology, 88*(2), 93-94.

74. Miller, W. G., Bruns, D. E., Hortin, G. L., Sandberg, S., Aakre, K. M., McQueen, M. J., Itoh, Y., Lieske, J. C., Seccombe, D. W., Jones, G., Bunk, D. M., Curhan, G. C., Narva, A. S., and National Kidney Disease Education Program-IFCC Working Group on Standardization of Albumin in Urine. (2009). Current issues in measurement and reporting of urinary albumin excretion. *Clinical Chemistry, 55*(1), 24-38.

75. Jelski, W., and Mroczko, B. (2021). Molecular and circulating biomarkers of brain tumors. *International Journal of Molecular Sciences, 22*(13), 7039.

76. Sawyers, C. L. (2008). The cancer biomarker problem. *Nature, 452*(7187), 548-552.

77. Hegi, M.E., Diserens, A.-C., Gorlia, T., Hamou, M.-F., De Tribolet, N., Weller, M., Kros, J. M., Hainfellner, J. A., Mason, W., Mariani, L., Bromberg, J. E. C., Hau, P., Mirimanoff, R. O., Cairncross, J. G., Janzer, R. C., and Stupp, R. (2005). MGMT gene silencing and benefit from temozolomide in glioblastoma. *New England Journal of Medicine, 352*(10), 997-1003.

78. Butler, M., Pongor, L., Su, Y.-T., Xi, L., Raffeld, M., Quezado, M., Trepel, J., Aldape, K., Pommier, Y., and Wu, J. (2020). MGMT status as a clinical biomarker in glioblastoma. *Trends in Cancer, 6*(5), 380-391.

79. Eeles, R. (1995). Germline mutations in the TP53 gene. *Cancer Surveys,* 25, 101-124.

80. Børresen-Dale, A. L. (2003). TP53 and breast cancer. *Human Mutation, 21*(3), 292-300.

81. Laezza, C., D'Alessandro, A., Di Croce, L., Picardi, P., Ciaglia, E., Pisanti, S., et al. (2015). p53 regulates the mevalonate pathway in human glioblastoma multiforme. *Cell Death & Disease,6*(10),e1909-e.

82. Mullen, P.J., Yu, R., Longo, J., Archer, M.C., Penn, L.Z. (2016). The interplay between cell signalling and the mevalonate pathway in cancer. *Nature Reviews Cancer, 16*(11),718-31.

83. Eng, L.F., Ghirnikar, R.S., Lee, Y.L. (2000). Glial fibrillary acidic protein: GFAP-thirty-one years (1969–2000). *Neurochemical Research, 25*(9),1439-51.

84. Lumpkins, K.M., Bochicchio, G.V., Keledjian, K., Simard, J.M., McCunn, M., Scalea, T. (2008). Glial fibrillary acidic protein is highly correlated with brain injury. *Journal of Trauma and Acute Care Surgery*, *65*(4),778-84.

85. Mayer, C.A., Brunkhorst, R., Niessner, M., Pfeilschifter, W., Steinmetz, H., Foerch, C. (2013). Blood levels of glial fibrillary acidic protein (GFAP) in patients with neurological diseases. *PloS One, 8*(4),e62101.

86. Akincilar, S.C., Unal, B., Tergaonkar, V. (2016). Reactivation of telomerase in cancer. *Cellular and Molecular Life Sciences, 73*(8),1659-70.

87. Vinagre, J., Almeida, A., Pópulo, H., Batista, R., Lyra, J., Pinto, V., Coelho, R., Celestino, R., Prazeres, H., Lima, L., Melo, M., da Rocha, A. G., Preto, A., Castro, P., Castro, L., Pardal, F., Lopes, J. M., Santos, L. L., Reis, R. M., Cameselle-Teijeiro, J., Sobrinho-Simões, M., Lima, J., Máximo, V., and Soares, P. (2013). Frequency of TERT promoter mutations in human cancers. *Nature Communications,* 4, 2185.

88. Borah, S., Xi, L., Zaug, A. J., Powell, N. M., Dancik, G. M., Cohen, S. B., Costello, J. C., Theodorescu, D., and Cech, T. R. (2015). TERT promoter mutations and telomerase reactivation in urothelial cancer. *Science, 347*(6225), 1006-1010.

89. Mitsudomi, T., and Yatabe, Y. (2010). Epidermal growth factor receptor in relation to tumor development: EGFR gene and cancer. *The FEBS Journal, 277*(2), 301-308.

90. Xu, H., Zong, H., Ma, C., Ming, X., Shang, M., Li, K., He, X., Du, H., and Cao, L. (2017). Epidermal growth factor receptor in glioblastoma. *Oncology Letters, 14*(1), 512-516.

91. Thorne, A. H., Zanca, C., and Furnari, F. (2016). Epidermal growth factor receptor targeting and challenges in glioblastoma. *Neuro-Oncology,18*(7), 914-918.

92. Fujii, T., Khawaja, M. R., DiNardo, C. D., Atkins, J. T., and Janku, F. (2016). Targeting isocitrate dehydrogenase (IDH) in cancer. *Discovery Medicine, 21*(117), 373-380.

93. Chen, J.-R., Yao, Y., Xu, H.-Z., and Qin, Z.-Y. (2016). Isocitrate dehydrogenase (IDH) 1/2 mutations as prognostic markers in patients with glioblastomas. *Medicine, 95*(9), e2583.

94. Clark, O., Yen, K., and Mellinghoff, I.K. (2016). Molecular pathways: isocitrate dehydrogenase mutations in cancer. *Clinical Cancer Research, 22*(8), 1837-1842.

95. Paterlini-Brechot, P., and Benali, N. L. (2007). Circulating tumor cells (CTC) detection: clinical impact and future directions. *Cancer Letters, 253*(2), 180-204.

96. Kapeleris, J., Kulasinghe, A., Warkiani, M. E., Vela, I., Kenny, L., O'Byrne, K., and Punyadeera, C. (2018). The prognostic role of circulating tumor cells (CTCs) in lung cancer. *Frontiers in Oncology*, 8, 311.

97. Tanaka, F., Yoneda, K., Kondo, N., Hashimoto, M., Takuwa, T., Matsumoto, S., Okumura, Y., Rahman, S., Tsubota, N., Tsujimura, T., Kuribayashi, K., Fukuoka, K., Nakano, T., and Hasegawa, S. (2009). Circulating tumor cell as a diagnostic marker in primary lung cancer. *Clinical Cancer Research, 15*(22), 6980-6986.

98. Lu, Y.-T., Zhao, L., Shen, Q., Garcia, M.A., Wu, D., Hou, S., Song, M., Xu, X., Ouyang, W.-H., Ouyang, W. W.-L., Lichterman, J., Luo, Z., Xuan, X., Huang, J., Chung, L. W. K., Rettig, M., Tseng, H.-R., Shao, C., and Posadas, E. M. (2013). NanoVelcro Chip for CTC enumeration in prostate cancer patients. *Methods, 64*(2), 144-152.

99. Niewald, M., Berdel, C., Fleckenstein, J., Licht, N., Ketter, R., and Rübe, C. (2011). Toxicity after radiochemotherapy for glioblastoma using temozolomide-a retrospective evaluation. *Radiation Oncology, 6*(1), 1-7.

100. Tabouret, E., Bauchet, L., and Carpentier, A. F. (2013). Brain metastases epidemiology and biology. *Bulletin du Cancer, 100*(1), 57-62.

101. Robbins, P. D., and Morelli, A. E. (2014). Regulation of immune responses by extracellular vesicles. *Nature Reviews Immunology, 14*(3), 195-208.

102. Qiu, G., Zheng, G., Ge, M., Wang, J., Huang, R., Shu, Q., and Xu, J. (2019). Functional proteins of mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles. *Stem Cell Research and Therapy, 10*(1), 1-11.

103. D'Asti, E., Chennakrishnaiah, S., Lee, T. H., and Rak, J. (2016). Extracellular vesicles in brain tumor progression. *Cellular and Molecular Neurobiology, 36*(3), 383-407.

104. Katar, S., Baran, O., Evran, S., Cevik, S., Akkaya, E., Baran, G., Antar, V., Hanimoglu, H., and Kaynar, M. Y. (2017). Expression of miRNA-21, miRNA-107, miRNA-137 and miRNA-29b in meningioma. *Clinical Neurology and Neurosurgery,* 156, 66-70.

105. Saydam, O., Shen, Y., Würdinger, T., Senol, O., Boke, E., James, M. F., Tannous, B. A., Stemmer-Rachamimov, A. O., Yi, M., Stephens, R. M., Fraefel, C., Gusella, J. F., Krichevsky, A. M., and Breakefield, X. O. (2009). Downregulated microRNA-200a in meningiomas promotes tumor growth by reducing E-cadherin and activating the Wnt/β-catenin signaling pathway. *Molecular and Cellular Biology, 29*(21), 5923-5940.

106. Corcoran, R. B., and Chabner, B. A. (2018). Application of cell-free DNA analysis to cancer treatment. *New England Journal of Medicine, 379*(18), 1754-1765.

107. Breitbach, S., Tug, S., and Simon, P. (2012). Circulating cell-free DNA. *Sports Medicine, 42*(7), 565-586.

108. Ponti, G., Manfredini, M., and Tomasi, A. (2019). Non-blood sources of cell-free DNA for cancer molecular profiling in clinical pathology and oncology. *Critical Reviews in Oncology/Hematology,* 141, 36-42.

109. Elshimali, Y. I., Khaddour, H., Sarkissyan, M., Wu, Y., and Vadgama, J. V. (2013). The clinical utilization of circulating cell free DNA (CCFDNA) in blood of cancer patients. *International Journal of Molecular Sciences, 14*(9), 18925-18958.

110. Bark, J. M., Kulasinghe, A., Chua, B., Day, B. W., and Punyadeera, C. (2020). Circulating biomarkers in patients with glioblastoma. *British Journal of Cancer, 122*(3), 295-305.

111. Tanwar, M.K., Gilbert, M.R., Holland, E.C. (2002). Gene expression microarray analysis reveals YKL-40 to be a potential serum marker for malignant character in human glioma. *Cancer Research, 62*(15), 4364-4368.

112. Smirnova, L., Gräfe, A., Seiler, A., Schumacher, S., Nitsch, R., and Wulczyn, F. G. (2005). Regulation of miRNA expression during neural cell specification. *European Journal of Neuroscience, 21*(6), 1469-1477.

113. Bookland, M., Gillan, E., Song, X., and Kolmakova, A. (2020). Peripheral circulation miRNA expression of pediatric brain tumors and its relation to tumor miRNA expression levels. *Journal of Neurosurgery: Pediatrics, 26*(2), 136-44.

114. Mo, M.-H., Chen, L., Fu, Y., Wang, W., and Fu, S.W. (2012). Cell-free circulating miRNA biomarkers in cancer. *Journal of Cancer,* 3, 432.

115. Kuhn, D. E., Martin, M. M., Feldman, D. S., Terry Jr, A. V., Nuovo, G. J., and Elton, T. S. (2008). Experimental validation of miRNA targets. *Methods, 44*(1), 47-54.

116. Zhi, F., Shao, N., Li, B., Xue, L., Deng, D., Xu, Y., Lan, Q., Peng, Y., and Yang, Y. (2016). A serum 6-miRNA panel as a novel non-invasive biomarker for meningioma. *Scientific Reports, 6*(1), 1-10.

117. Kosaka, N., Iguchi, H., and Ochiya, T. (2010). Circulating microRNA in body fluid: a new potential biomarker for cancer diagnosis and prognosis. *Cancer Science, 101*(10), 2087-92.

118. Djebali, S., Davis, C. A., Merkel, A., Dobin, A., Lassmann, T., Mortazavi, A., Tanzer, A., Lagarde, J., Lin, W., Schlesinger, F., Xue, C., Marinov, G. K., Khatun, J., Williams, B. A., Zaleski, C., Rozowsky, J., Röder, M., Kokocinski, F., Abdelhamid, R. F., and Alioto, T. (2012). Landscape of transcription in human cells. *Nature*, *489*(7414), 101-108.

119. Elgar, G., and Vavouri, T. (2008). Tuning in to the signals: noncoding sequence conservation in vertebrate genomes. *Trends in Genetics*, *24*(7), 344-352.

120. Mattick, J. S., and Makunin, I. V. (2006). Non-coding RNA. *Human Molecular Genetics*, 15(Suppl 1), 17-29.

121. Romano, G., Veneziano, D., Acunzo, M., and Croce, C. M. (2017). Small non-coding RNA and cancer. *Carcinogenesis*, *38*(5), 485-491.

122. Liu, N., Wang, Z.-Z., Zhao, M., Zhang, Y., and Chen, N.-H. (2020). Role of non-coding RNA in the pathogenesis of depression. *Gene*, 735, 144276.

123. Lei, B., Tian, Z., Fan, W., and Ni, B. (2019). Circular RNA: a novel biomarker and therapeutic target for human cancers. *International Journal of Medical Sciences*, *16*(2), 292.

124. Anastasiadou, E., Jacob, L. S., and Slack, F. J. (2018). Non-coding RNA networks in cancer. *Nature Reviews Cancer*, *18*(1), 5-18.

125. Matsui, M., and Corey, D.R. (2017). Non-coding RNAs as drug targets. *Nature Reviews Drug Discovery*, *16*(3), 167-179.

126. Panni, S., Lovering, R. C., Porras, P., and Orchard, S. (2020). Non-coding RNA regulatory networks. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Regulatory Mechanisms*, *1863*(6), 194417.

127. Klingenberg, M., Matsuda, A., Diederichs, S., and Patel, T. (2017). Non-coding RNA in hepatocellular carcinoma: Mechanisms, biomarkers and therapeutic targets. *Journal of Hepatology*, *67*(3), 603-618.

128. Quinn, J. J., and Chang, H. Y. (2016). Unique features of long non-coding RNA biogenesis and function. *Nature Reviews Genetics*, *17*(1), 47-62.

129. Ma, L., Bajic, V. B., and Zhang, Z. (2013). On the classification of long non-coding RNAs. *RNA Biology*, *10*(6), 924-933.

130. Khorkova, O., Hsiao, J., and Wahlestedt, C. (2015). Basic biology and therapeutic implications of lncRNA. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 87, 15-24.

131. Wang, K. C., and Chang, H. Y. (2011). Molecular mechanisms of long noncoding RNAs. *Molecular Cell*, *43*(6), 904-914.

132. Hombach, S., and Kretz, M. (2016). Non-coding RNAs: classification, biology and functioning. *Non-coding RNAs in Colorectal Cancer*, 937, 3-17.

133. Ravo, M., Cordella, A., Rinaldi, A., Bruno, G., Alexandrova, E., Saggese, P., Nassa, G., Giurato, G., Tarallo, R., Marchese, G., Rizzo, F., Stellato, C., Biancardi, R., Troisi, J., Sardo, A. D. S., Zullo, F., Weisz, A., and Guida, M. (2015). Small non-coding RNA deregulation in endometrial carcinogenesis. *Oncotarget, 6*(7), 4677-4691.

134. McManus, M. T., Petersen, C. P., Haines, B. B., Chen, J., and Sharp, P. A. (2002). Gene silencing using micro-RNA designed hairpins. *RNA, 8*(6), 842-850.

135. Vishnoi, A., and Rani, S. (2017). MiRNA biogenesis and regulation of diseases: an overview. *MicroRNA Profiling*, 1-10.

136. Lai, E. C. (2005). miRNAs: whys and wherefores of miRNA-mediated regulation. *Current Biology, 15*(12), 458-460.

137. Li, S.-C., Tang, P., and Lin, W.-C. (2007). Intronic microRNA: discovery and biological implications. *DNA and Cell Biology, 26*(4), 195-207.

138. Leidinger, P., Keller, A., Borries, A., Reichrath, J., Rass, K., Jager, S. U., Lenhof, H.-P., and Meese, E. (2010). High-throughput miRNA profiling of human melanoma blood samples. *BMC Cancer, 10*(1), 1-11.

139. Ruvkun, G. (2006). Clarifications on miRNA and cancer. *Science, 311*(5757), 36-37.

140. Yheskel, M., and Patel, V. (2017). Therapeutic microRNAs in polycystic kidney disease. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension*, *26*(4), 282.

141. Ha, M., and Kim, V.N. (2014). Regulation of microRNA biogenesis. *Nature Reviews Molecular Cell Biology, 15*(8), 509-524.

142. Treiber, T,, Treiber, N., and Meister, G. (2012). Regulation of microRNA biogenesis and function. *Thrombosis and Haemostasis, 107*(4), 605-610.

143. Krol, J., Loedige, I., and Filipowicz, W. (2010). The widespread regulation of microRNA biogenesis, function and decay. *Nature Reviews Genetics, 11*(9), 597-610.

144. Denli, A. M., Tops, B. B., Plasterk, R. H., Ketting, R. F., and Hannon, G. J. (2004). Processing of primary microRNAs by the Microprocessor complex. *Nature, 432*(7014), 231-235.

145. Chendrimada, T. P., Finn, K. J., Ji, X., Baillat, D., Gregory, R. I., Liebhaber, S. A., Pasquinelli, A. E., and Shiekhattar, R. (2007). MicroRNA silencing through RISC recruitment of eIF6. *Nature, 447*(7146), 823-828.

146. Kim, V. N., and Nam, J.-W. (2006). Genomics of microRNA. *TRENDS in Genetics, 22*(3), 165-173.

147. He, J., Zhao, J., Zhu, W., Qi, D., Wang, L., Sun, J., Wang, B., Ma, X., Dai, Q., and Yu, X. (2016). MicroRNA biogenesis pathway genes polymorphisms and cancer risk: a systematic review and meta-analysis. *PeerJ,* 4, e2706.

148. Grivna, S. T., Beyret, E., Wang, Z., and Lin, H. (2006). A novel class of small RNAs in mouse spermatogenic cells. *Genes and Development, 20*(13), 1709-1714.

149. Girard, A., Sachidanandam, R., Hannon, G. J., and Carmell, M. A. (2006). A germline-specific class of small RNAs binds mammalian Piwi proteins. *Nature, 442*(7099), 199-202.

150. Siomi, M. C., Sato, K., Pezic, D., and Aravin, A. A. (2011). PIWI-interacting small RNAs: the vanguard of genome defence. *Nature Reviews Molecular Cell Biology, 12*(4), 246-258.

151. İnternet: Wikipedia. (2009). Önerilen piRNA yapısı. Web: https://tr.wikipedia.org/wiki/PiRNA#/media/Dosya:PiRNA.jpg adresinden 12 Aralık 2021'de alınmıştır.

152. Scott, M. S., and Ono, M. (2011). From snoRNA to miRNA: dual function regulatory non-coding RNAs. *Biochimie, 93*(11), 1987-1992.

153. Kiss, T. (2001). Small nucleolar RNA-guided post-transcriptional modification of cellular RNAs. *The EMBO Journal, 20*(14), 3617-3622.

154. Reichow, S. L., Hamma, T., Ferré-D'Amaré, A. R., and Varani, G. (2007). The structure and function of small nucleolar ribonucleoproteins. *Nucleic Acids Research, 35*(5), 1452-1464.

155. Martens-Uzunova, E., Jalava, S., Dits, N., Van Leenders, G., Møller, S., Trapman, J., Bangma, C. H., Litman, T., Visakorpi, T., and Jenster, G. (2012). Diagnostic and prognostic signatures from the small non-coding RNA transcriptome in prostate cancer. *Oncogene, 31*(8), 978-991.

156. Ender, C., Krek, A., Friedländer, M. R., Beitzinger, M., Weinmann, L., Chen, W., Pfeffer, S., Rajewsky, N., and Meister, G. (2008). A human snoRNA with microRNA-like functions. *Molecular Cell, 32*(4), 519-528.

157. Carthew, R. W., and Sontheimer, E. J. (2009). Origins and mechanisms of miRNAs and siRNAs. *Cell, 136*(4), 642-655.

158. Qureshi, A., Tantray, V. G., Kirmani, A. R., and Ahangar, A. G. (2018). A review on current status of antiviral siRNA. *Reviews in Medical Virology, 28*(4), e1976.

159. Agrawal, N., Dasaradhi, P., Mohmmed, A., Malhotra, P., Bhatnagar, R. K., and Mukherjee, S. K. (2003). RNA interference: biology, mechanism, and applications. *Microbiology and Molecular Biology Reviews, 67*(4), 657-685.

160. Guo, P., Coban, O., Snead, N. M., Trebley, J., Hoeprich, S., Guo, S., and Shu, Y. (2010). Engineering RNA for targeted siRNA delivery and medical application. *Advanced Drug Delivery Reviews, 62*(6), 650-666.

161. İnternet: Mirbase. (2008). Stem-loop sequence ptc-MIR1450. Web: https://www.mirbase.org/cgi-bin/mirna_entry.pl?acc=MI0007050 adresinden 22 Kasım 2021'de alınmıştır.

162. Záveský, L., Jandáková, E., Weinberger, V., Hanzíková, V., Slanař, O., and Kohoutová, M. (2021). Ascites in ovarian cancer: MicroRNA deregulations and their potential roles in ovarian carcinogenesis. *Cancer Biomarkers*, (Preprint), 1-16.

163. Yao, Z., Luo, J., Hu, K., Lin, J., Huang, H., Wang, Q., Zhang, P., Xiong, Z., He, C., Huang, Z., Liu, B., and Yang, Y. (2017). ZKSCAN1 gene and its related circular RNA (circZKSCAN1) both inhibit hepatocellular carcinoma cell growth, migration, and invasion but through different signaling pathways. *Molecular Oncology, 11*(4), 422-437.

164. Hussen, B. M., Tamizkar, K. H., Hidayat, H. J., Taheri, M., and Ghafouri-Fard, S. 2021). The role of circular RNAs in the development of hepatocellular carcinoma. *Pathology-Research and Practice*, 223, 153495.

165. Kliese, N., Gobrecht, P., Pachow, D., Andrae, N., Wilisch-Neumann, A., Kirches, E., Riek-Burchardt, M., Angenstein, F., Reifenberger, G., Riemenschneider, M. J., Meese, E., Panayotova-Dimitrova, D., Gutmann, D. H., and Mawrin, C. (2013). miRNA-145 is downregulated in atypical and anaplastic meningiomas and negatively regulates motility and proliferation of meningioma cells. *Oncogene*, *32*(39), 4712-4720.

166. İnternet: Mirbase. (2008). Stem-loop sequence mmu-mir-34a. Web: https://www.mirbase.org/cgi-bin/mirna_entry.pl?acc=MI0000584 adresinden 22 Kasım 2021'de alınmıştır.

167. Hu, S.-A., Wei, W., Yuan, J., and Cheng, J. (2019). Resveratrol inhibits proliferation in HBL-52 meningioma cells. *OncoTargets and Therapy*, 12, 11579-11586.

168. İnternet: Mirbase. (2008). Stem-loop sequence hsa-mir-220a. Web: https://www.mirbase.org/cgi-bin/mirna_entry.pl?acc=MI0000297 adresinden 22 Kasım 2021'de alınmıştır.

169. Luo, L.-J., Wang, D.-D., Wang, J., Yang, F., and Tang, J.-H. (2016). Diverse roles of miR-335 in development and progression of cancers. *Tumor Biology*, *37*(12), 15399-15410.

170. Feng, X., Wang, Z., Fillmore, R., and Xi, Y. (2014). MiR-200, a new star miRNA in human cancer. *Cancer Letters*, *344*(2), 166-173.

171. İnternet: Mirbase. (2008). Stem-loop sequence hsa-mir-335. Web: https://www.mirbase.org/cgi-bin/mirna_entry.pl?acc=MIMAT0000765 adresinden 22 Kasım 2021'de alınmıştır.

172. Wang, L., Zhao, Y., Xu, M., Zhou, F., and Yan, J. (2019). Serum miR-1301-3p, miR-335-5p, miR-28-5p, and their target B7-H3 may serve as novel biomarkers for colorectal cancer. *journal of the Balkan Union of Oncology, 24*(3), 1120-1127.

173. Shi, L., Jiang, D., Sun, G., Wan, Y., Zhang, S., Zeng, Y., Pan, T., and Wang, Z. (2012). miR-335 promotes cell proliferation by directly targeting Rb1 in meningiomas. *Journal of Neuro-Oncology, 110*(2), 155-162.

174. İnternet: Mirbase. (2008). Stem-loop sequence hsa-mir-106a. Web: https://www.mirbase.org/cgi-bin/mirna_entry.pl?acc=MIMAT0000103 adresinden 22 Kasım 2021'de alınmıştır.

175. İnternet: Mirbase. (2008). Stem-loop sequence hsa-mir-219a-1. Web: https://www.mirbase.org/cgi-bin/mirna_entry.pl?acc=MIMAT0000276 adresinden 22 Kasım 2021'de alınmıştır.

176. Wei, T., Cheng, S., Fu, X. N., and Feng, L. J. (2020). miR-219a-5p enhances the radiosensitivity of non-small cell lung cancer cells through targeting CD164. *Bioscience Reports*, *40*(7), BSR20192795.

177. Zhuang, C., Yuan, Y., Song, T., Wang, H., Huang, L., Luo, X., He, H., Huo, L., Zhou, H., Wang, N., and Zhang, T. (2017). miR-219a-5p inhibits breast cancer cell migration and epithelial-mesenchymal transition by targeting myocardin-related transcription factor A. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, *49*(12), 1112-1121.

178. Xiao, Y., Zhang, S., Li, Q., Liu, Z., Mai, W., Chen, W., Lei, J., and Hu, H. (2019). miR-219a-5p ameliorates hepatic ischemia/reperfusion injury via impairing TP53BP2. *Digestive Diseases and Sciences*, *64*(8), 2177-2186.

179. İnternet: Mirbase. (2008). Stem-loop sequence hsa-mir-375. Web: https://www.mirbase.org/cgi-bin/mirna_entry.pl?acc=MIMAT0037313 adresinden 22 Kasım 2021'de alınmıştır.

180. İnternet: Mirbase. (2008). Stem-loop sequence hsa-mir-409. Web: https://www.mirbase.org/cgi-bin/mirna_entry.pl?acc=MIMAT0001639 adresinden 22 Kasım 2021'de alınmıştır.

181. Zhang, G., Liu, Z., Xu, H., and Yang, Q. (2016). miR-409-3p suppresses breast cancer cell growth and invasion by targeting Akt1. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *469*(2), 189-195.

182. İnternet: Mirbase. (2008). Stem-loop sequence hsa-mir-197. Web: https://www.mirbase.org/cgi-bin/mirna_entry.pl?acc=MIMAT0022691 adresinden 22 Kasım 2021'de alınmıştır.

183. Hu, S.-A., Cheng, J., Zhao, W.-H., and Zhao, H.-Y. (2020). Quercetin induces apoptosis in meningioma cells through the miR-197/IGFBP5 cascade. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 80, 103439.

184. İnternet: Mirbase. (2008). Stem-loop sequence hsa-mir-224. Web: https://www.mirbase.org/cgi-bin/mirna_entry.pl?acc=MIMAT0000281 adresinden 22 Kasım 2021'de alınmıştır.

185. Wang, Y., and Lee, C. G. (2011). Role of miR-224 in hepatocellular carcinoma: a tool for possible therapeutic intervention?. *Epigenomics*, *3*(2), 235-243.

186. Wang, M., Deng, X., Ying, Q., Jin, T., Li, M., and Liang, C. (2015). MicroRNA-224 targets ERG2 and contributes to malignant progressions of meningioma. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *460*(2), 354-361.

187. Champeaux, C., Houston, D., and Dunn, L. (2017). Atypical meningioma. A study on recurrence and disease-specific survival. *Neurochirurgie*, *63*(4), 273-281.

188. Ergun, S., Tayeb, T. S., Arslan, A., Temiz, E., Arman, K., Safdar, M., Dagli, H., Korkmaz, M., Nacarkahya, G., Kırkbes, S., and Oztuzcu, S. (2015). The investigation of miR-221-3p and PAK1 gene expressions in breast cancer cell lines. *Gene*, *555*(2), 377-381.

189. Lotterman, C. D., Kent, O. A., and Mendell, J. T. (2008). Functional integration of microRNAs into oncogenic and tumor suppressor pathways. *Cell Cycle*, *7*(16), 2493-2499.

190. Reddy, K. B. (2015). MicroRNA (miRNA) in cancer. *Cancer Cell International*, *15*(1), 1-6.

191. Ergun, S., Arman, K., Temiz, E., Bozgeyik, I., Yumrutaş, Ö., Safdar, M., Dagli, H., Aslan, A., and Oztuzcu, S. (2014). Expression patterns of miR-221 and its target Caspase-3 In different cancer cell lines. *Molecular Biology Reports*, *41*(9), 5877-5881.

192. Wang, D.-D., Chen, X., Yu, D.-D., Yang, S.-J., Shen, H.-Y., Zhong, S.-L., Zhao, J.-H., and Tang, J.-H. (2016). miR-197: a novel biomarker for cancers. *Gene*, *591*(2), 313-319.

193. Celikbilek, M., Baskol, M., Taheri, S., Deniz, K., Dogan, S., Zararsiz, G., Gursoy, S., Guven, K., Ozbakır, O., Dundar, M., and Yucesoy, M. (2014). Circulating microRNAs in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *World Journal of Hepatology*, *6*(8), 613.

194. Choi, S.-Y., Yun, J., Lee, O.-J., Han, H.-S., Yeo, M.-K., Lee, M.-A., and Suh, K.-S. (2013). MicroRNA expression profiles in placenta with severe preeclampsia using a PNA-based microarray. *Placenta*, *34*(9), 799-804.

195. Dai, W., Wang, C., Wang, F., Wang, Y., Shen, M., Chen, K., Cheng, P., Zhang, Y., Yang, J., Zhu, R., Zhang, H., Li, J., Zheng, Y., Lu, J., Zhou, Y., Xu, L., and Guo, C. (2014). Anti-miR-197 inhibits migration in HCC cells by targeting KAI 1/CD82. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *446*(2), 541-548.

196. Ghafouri-Fard, S., Khoshbakht, T., Taheri, M., and Jamali, E. (2021). CircITCH: a circular RNA with eminent roles in the carcinogenesis. *Frontiers in Oncology*, 11.

197. Misso, G., Di Martino, M.T., De Rosa, G., Farooqi, A.A., Lombardi, A., Campani, V., Zarone, M. R., Gullà, A., Tagliaferri, P., Tassone, P., and Caraglia, M. (2014). Mir-34: a new weapon against cancer?. *Molecular Therapy-Nucleic Acids*, 3, e195.

198. Ling, H., Fabbri, M., and Calin, G. A. (2013). MicroRNAs and other non-coding RNAs as targets for anticancer drug development. *Nature Reviews Drug Discovery*, *12*(11), 847-865.

199. Werner, T. V., Hart, M., Nickels, R., Kim, Y.-J., Menger, M. D., Bohle, R. M., Keller, A., Ludwig, N., and Meese, E. (2017). MiR-34a-3p alters proliferation and apoptosis of meningioma cells in vitro and is directly targeting SMAD4, FRAT1 and BCL2. *Aging* (Albany NY), *9*(3), 932-954.

200. El-Gewely, M. R., Andreassen, M., Walquist, M., Ursvik, A., Knutsen, E., Nystad, M., Coucheron, D. H., Myrmel, K. S., Hennig, R., and Johansen,, S. D. (2016). Differentially expressed microRNAs in meningiomas grades I and II suggest shared biomarkers with malignant tumors. *Cancers*, *8*(3), 31.

201. Ludwig, N., Kim, Y.-J., Mueller, S. C., Backes, C., Werner, T. V., Galata, V., Sartorius, E., Bohle, R.M., Keller, A., and Meese, E. (2015). Posttranscriptional deregulation of signaling pathways in meningioma subtypes by differential expression of miRNAs. *Neuro-Oncology*, *17*(9), 1250-1260.

202. Liu, J., Bian, T., Feng, J., Qian, L., Zhang, J., Jiang, D., Zhang, Q., Li, X., Liu, Y., and Shi, J. (2018). miR-335 inhibited cell proliferation of lung cancer cells by target Tra2β. *Cancer Science*, *109*(2), 289-296.

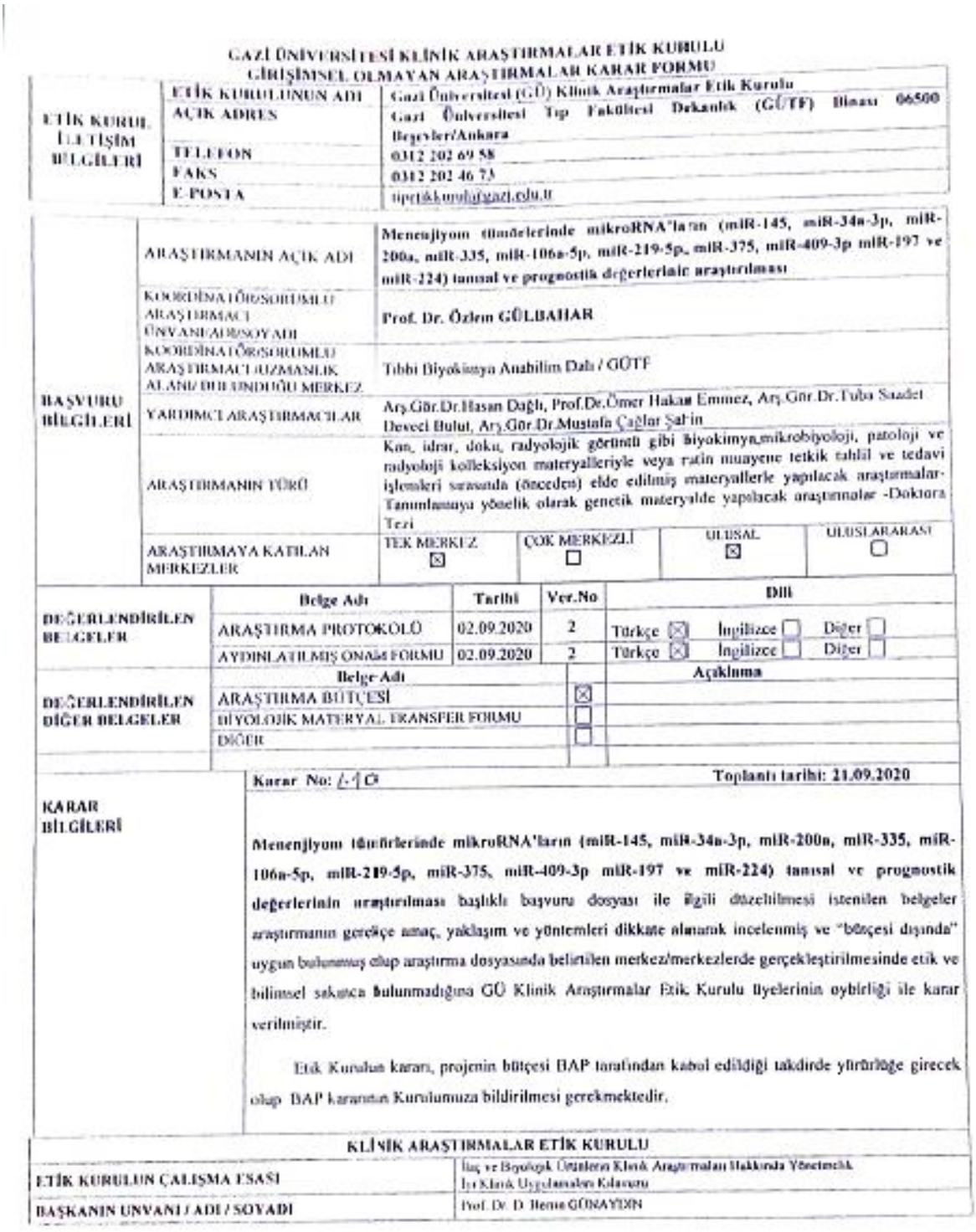
203. Wang, H., Li, M., Zhang, R., Wang, Y., Zang, W., Ma, Y., Zhao, G., and Zhang, G. (2013). Effect of miR-335 upregulation on the apoptosis and invasion of lung cancer cell A549 and H1299. *Tumor Biology*, *34*(5), 3101-3109.

204. Ye, L., Wang, F., Wu, H., Yang, H., Yang, Y., Ma, Y., Xue, A., Zhu, J., Chen, M., Wang, J., and Zhang, Q. A. (2021). Functions and targets of miR-335 in cancer. *OncoTargets and Therapy*, 14, 3335-3349.

205. Zhi, F., Zhou, G., Wang, S., Shi, Y., Peng, Y., Shao, N., Guan, W., Qu, H., Zhang, Y., Wang, Q., Yang, C., Wang, R., Wu, S., Xia, X., and Yang, Y. (2013). A microRNA expression signature predicts meningioma recurrence. *International Journal of Cancer*, *132*(1), 128-136.

EKLER

Ek-1. Gazi Üniversitesi Klinik Araştımalar Etik Kurulu Değerlendirme Formu



GAZİ ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
GİRİŞİMSEL OLMAYAN ARAŞTIRMALAR KARAR FORMU

ETİK KURUL İLETİŞİM BİLGİLERİ	ETİK KURULUNUN ADI	Gazi Üniversitesi (GÜ) Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRES	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlık (GÜTF) Binası 06500 Beşevler/Ankara
	TELEFON	0312 202 69 58
	FAKS	0312 202 46 73
	E-POSTA	iiptikkurulu@gazi.edu.tr

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Menenjiyom tümörlerinde mikroRNA'ların (miR-145, miR-34a-3p, miR-200a, miR-335, miR-106a-5p, miR-219-5p, miR-375, miR-409-3p miR-197 ve miR-224) tanısal ve prognostik değerlerinin araştırılması
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVANI/ADI/SOYADI	Prof. Dr. Özlem GÜLBAHAR
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UZMANLIK ALANI/ BULUNDUĞU MERKEZ	Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı / GÜTF
	YARDIMCI ARAŞTIRMACILAR	Arş.Gör.Dr.Hasan Dağlı, Prof.Dr.Ömer Hakan Emmez, Arş.Gör.Dr.Tuba Saadet Deveci Bulut, Arş.Gör.Dr.Mustafa Çağlar Şahin
	ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	Kan, idrar, doku, radyolojik görüntü gibi biyokimya,mikrobiyoloji, patoloji ve radyoloji koleksiyon materyalleriyle veya rutin muayene tetkik tahlil ve tedavi işlemleri sırasında (önceden) elde edilmiş materyallerle yapılacak araştırmalar-Tanımlanmaya yönelik olarak genetik materyalde yapılacak araştırmalar -Doktora Tezi
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☒ / ÇOK MERKEZLİ ☐ / ULUSAL ☒ / ULUSLARARASI ☐

	Belge Adı	Tarihi	Ver.No	Dili
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	02.09.2020	2	Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	AYDINLATILMIŞ ONAM FORMU	02.09.2020	2	Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐

	Belge Adı		Açıklama
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☒	
	BİYOLOJİK MATERYAL TRANSFER FORMU	☐	
	DİĞER	☐	

KARAR BİLGİLERİ

Karar No: 4-16 Toplantı tarihi: 21.09.2020

Menenjiyom tümörlerinde mikroRNA'ların (miR-145, miR-34a-3p, miR-200a, miR-335, miR-106a-5p, miR-219-5p, miR-375, miR-409-3p miR-197 ve miR-224) tanısal ve prognostik değerlerinin araştırılması başlıklı başvuru dosyası ile ilgili düzeltilmesi istenilen belgeler araştırmanın gerekçe amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve "bütçesi dışında" uygun bulunmuş olup araştırma dosyasında belirtilen merkez/merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına GÜ Klinik Araştırmalar Etik Kurulu üyelerinin oybirliği ile karar verilmiştir.

Etik Kurulun kararı, projenin bütçesi BAP tarafından kabul edildiği takdirde yürürlüğe girecek olup BAP kararının Kurulumuza bildirilmesi gerekmektedir.

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI	Prof. Dr. D. Berna GÜNAYDIN

EK-1. (devamı) Gazi Üniversitesi Klinik Araştımalar Etik Kurulu Değerlendirme Formu

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırmayla ilişkisi		Katılım		İmza
Prof. Dr. D. Berrin GÜNAYDIN BAŞKAN	Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı Farmakoloji Bilim Dr.	GÜTF	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Gülten TAÇOY BAŞKAN YARD.	Kardiyoloji Anabilim Dalı	GÜTF	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Doç. Dr. Murat UÇAR BİLDİRİMDEN SORUMLU ÜYE	Radyoloji Anabilim Dalı	GÜTF	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Doç. Dr. Gökçe S. ÖZTÜRK FİNCAN BİLDİRİMDEN SORUMLU ÜYE	Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı	GÜTF	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Nevzat YÜKSEL ÜYE	Psikiyatri Anabilim Dalı	GÜTF	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Nesrin ÇOBANOĞLU ÜYE	Tıp Tarihi ve Etik Anabilim Dalı	GÜTF	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Mehmet Ali ERGÜN ÜYE	Tıbbi Genetik Anabilim Dalı	GÜTF	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof.Dr.Ö.Sezai LEVENTOĞLU ÜYE	Genel Cerrahi Anabilim Dalı	GÜTF	E ☒	K ☐	E ☒	H ☐	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Nuriye ÖZDEMİR ÜYE	İç Hastalıkları Anabilim Dalı Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı	GÜTF	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☒	
Prof. Dr.Aylin SEPİCİ DİNÇEL ÜYE	Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı	GÜTF	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Ebru ARHAN	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Nöroloji Bilim Dalı	GÜTF	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Doç.Dr.Elçin ÖZGÜR BÜYÜKATALAY ÜYE	Biyofizik Anabilim Dalı	GÜTF	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Uzm. Dr. Emine AVCI ÜYE	Halk Sağlığı	Halk Sağlığı Genel Müd.	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Araş. Gör. Dr. Fahri Erdem KAŞAK ÜYE	Hukukçu	Hacı Bayram Veli Üniv.	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
İ. Nükhet EKŞİ ÜYE	Sivil Temsilci	-	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : Hasan DAĞLI

Uyruğu : T.C.

Doğum tarihi ve yeri :

e-posta :

Eğitim

Derecesi	**Okul/Program**	**Mezuniyet Yılı**
Doktora	Gazi Üniversitesi/Tıbbi Biyokima	Devam ediyor
Yüksek Lisans	Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıbbi Biyokimya ABD	2018
Yüksek Lisans	Gaziantep Üniversitesi Tıbbi Biyoloji ABD	2015
Lisans	Dicle Üniversitesi/Kimya Bölümü	2012

İş Deneyimi

Yıl	**Çalıştığı Yer**	**İş Deneyimi**
2021-devam ediyor	Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi	Araştırıma Görevlisi
2018-2021	Gazi Üniversitesi	Araştırıma Görevlisi
2015-2018	Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi	Araştırma Görevlisi

Yabancı Dil

İngilizce

Projelerde Yaptığı Görevler

1. Kanser hücre hatları üzerinde bazı Lamiaceae türlerininantiproliferasyon apoptoz indükleme hücresel antioksidan ve bunlarla iliskili gen ekspresyonları üzerine etkilerinin belirlenmesi, TÜBITAK PROJESI, Bursiyer, 15/11/2013 - 15/11/2014 (ULUSAL)

2. Küçük Hücreli Olmayan Akciger Kanserinde Hücre Proliferasyonuna MALAT1 in Uzun Kodlamayan RNA Etkisinin Arastırılması, Yükseköğretim Kurumları tarafından destekli bilimsel arastırma projesi, Arastırmacı,, 15/05/2015 - 15/05/2016 (ULUSAL)

Eserler

Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler:

1. Resım Sefa, Kolus Eyup, Barut Osman, Kucukdurmaz Faruk, Bahar Abdulkadır Yasır, **Daglı Hasan** title iZiziphus jujube/i ameliorated cavernosal oxidative stress and fibrotic processes in cavernous nerve injury induced erectile dysfunction in a rat model/title. ANDROLOGIA (Yayın No: 6291422)

2. Kıvanç Seref, Sönmez Kaan, Altın Gülburun Merve, Ekıncı Özgür, Bılkan Oge Ceren, Gülbahar Özlem, Arslan Burak, **Daglı Hasan,** Karabulut Ramazan, Türkyılmaz Zafer (2020). Protective Effects of Contractubex® on Stricture Formation after Experimental Corrosive Esophageal Burns in Rats. ARCHIVES OF MEDICAL RESEARCH, 51(7), 664-669.

3. Resım Sefa, Kolus Eyüp, Barut Osman, Küçükdurmaz Faruk, Bahar Abdulkadır, **Daglı Hasan** (2020). Ziziphus jujube ameliorated cavernosal oxidative stress and fibrotic processes in cavernous nerve injury-induced erectile dysfunction in a rat model. ANDROLOGIA, 52(7), 1-9.

4. Ganidaglı Berivan, Nacar Hüseyin, Yıldız Yusuf Selçuk, **Daglı Hasan,** Erken Ertugrul, Altunören Orçun, Güngör Özkan (2019). The relationship between serum osteopontin and FGF 23 levels with valvular calcification in hemodialysis patients? CLINICAL NEPHROLOGY, 91(1), 9-16.

5. Sertkaya Mehmet, Yazar Fatıh Mehmet, Boran Ömer Faruk, Urfalıoglu Aykut, Bahar Abdulkadır Yasır, **Daglı Hasan**, Ikıkardes Seda, Kılınç Metın (2018). Research into the protective effect of syringic acid in rats with induced experimental pancreatitis. Journal of Clinical and Analytical Medicine, 9(6), 483-487.

6. Koca Tuba Tülay, Seyıthanoglu Muhammed, Sagıroglu Saıme, Berk Ejder, **Daglı Hasan** (2018). Frequency of audiological complaints in patients with fibromyalgia syndrome and its relationship with oxidative stress. NIGERIAN JOURNAL OF CLINICAL PRACTICE, 21(8), 1271-1277.

7. Akkafa Ferıdun, Koyuncu Ismaıl, Temız Ebru, **Daglı Hasan,** Dılmeç Fuat, Akbas Halıt (2018). miRNA-mediated apoptosis activation through TMEM 48 inhibition in A549 cell line. BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS, 503(1), 323-329.

8. Küçükdurmaz Faruk, Efe Erkan, Çelık Ahmet, **Daglı Hasan**, Kılınç Metın, Resım Sefa (2017). Evaluation of serum prolidase activity and oxidative stress markers in men with BPH and prostate cancer. BMC Urology, 17(1),.

9. Geyık Sırma, Ergun Sercan, Kuzudıslı Samıye, Sensoy Fıgen, Temız Ebru, Altunısık Erman, Korkmaz Murat, **Daglı Hasan,** Kul Seval, Akcalı Aylın, Neyal Ayse Munıfe (2016). Plasma urotensin 2 level and Thr21Met butnot Ser89Asn polymorphisms of theurotensin 2 gene are associated withmigraines. The Journal of Headache and Pain (Yayın No: 3073690)

10. Tabur Suzan, Oztuzcu Serdar, Oguz Elıf, Demıryürek Senız, **Daglı Hasan**, Alasehırlı Belgın, Ozkaya Mesut, Demıryurek Abdullah Tuncay (2016). CYP gene expressions in obesity associated metabolic syndrome. Obesity Research Clinical Practice, 10(6), 719-723.

11. Tabur Suzan, Oztuzcu Serdar, Oguz Elıf, Demıryurek Senız, **Daglı Hasan,** Alasehırlı Belgın, Ozkaya Mesut, Demıryurek Abdullah Tuncay (2016). Evidence For Elevated Lımk2 And Cfl1 And Suppressed Icam1 Ezr Map2k2 and NOS3 gene expressions in metabolic syndrome. Endocrine. (Yayın No: 3074443)

12. Arman Kaıfee, Bozgeyık Ibrahım, **Daglı Hasan,** Igcı Yusuf Zıya (2016). UTS2 (urotensin 2). Atlas of Genetics and Cytogeneticsin Oncology and Haematology, Doi: https://doi.org/10.4267/2042/62517 (Yayın No: 6668563)

13. Sercan Ergun, Tayeb Tayeb Sadiq, Aslan Ahmet, Temız Ebru, Kaıfee Arman, Muhammad Safdar, **Hasan Daglı**, Korkmaz Murat, Gulper Nacarkaya, Sevıl Kırkbes, Serdar Oztuzcu, Daglı Hasan (2015). The investigation of miR 221 3p and PAK1 gene expressions in breast cancer cell lines. Gene, 555(2), 377-381.

14. Ergun Sercan, Arman Kaıfee, Temız Ebru, Bozgeyık Ibrahım, Yumrutas Onder, Safdar Muhammad, **Daglı Hasan**, Arslan Ahmet, Oztuzcu Serdar (2014). Expression patterns of miR 221 and its target Caspase 3 in different cancer cell lines. Mol Biol Rep. (Yayın No: 3075267)

Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında (proceedings) basılan bildiriler:

1. Resım Sefa, Kolus Eyup, Kucukdurmaz Faruk, Bahar Abdulkadır Yasır, **Daglı Hasan** Evaluation of the Antioxidant and Antifibrotic Effects of Ziziphus Fruit on Cavernosal Tissues of Rats in Bilateral Cavernous Nerve Injury-induced Erectile Dysfunction Model. The Journal of Sexual Medicine, 16(4), 93.

2. Resım Sefa, Kolus Eyüp, Küçükdurmaz Faruk, Bahar Abdulkadır Yasır, **Daglı Hasan** (2018). Resim S, Kolus E, Kucukdurmaz F, Bahar AY, Dagli H. Evaluation of the antioxidant and antifibrotic effects of Ziziphus fruit on cavernosal tissues of rats in bilateral cavernous nerve injury-induced erectile dysfunction model.. 19th Annual fall scientific meeting of SMSNA (Tam Metin Bildiri/Poster)(Yayın No:4740219)

3. Duyuran Rumeyza, Kılınç Metın, Tanrıverdı Burak, **Daglı Hasan**, Duyuran Ömer (2018). The Report Of Some Element (Na, Cl-, K, Fe2, Mg2, Ca2, Cu2, Zn2) Levels Of Vernix Caseosa. 5th EFLM-UEMS European Joint Congressin Laboratory MedicineLaboratory Medicine at the Clinical Interface, 56(11), 203-359.

4. Resım Sefa, Kolus Eyüp, Küçükdurmaz Faruk, Bahar Abdulkadır Yasır, **Daglı Hasan** (2017). Evaluation of the antioxidant and antifibrotic effects of Ziziphus fruit on cavernosal tissues of rats in bilateral cavernous nerve injury-induced erectile dysfunction model. 10. Avrupa Üroloji Dernegi Androlojik Üroloji Toplantısı, Doi: 10.1016/S1569-9056(17)32152-8 (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:3949254)

5. Kucukdurmaz Faruk, Ölmez Caner, Sahınkanat Tayfun, **Daglı Hasan**, Kılınc Metın, Resım Sefa (2017). Evaluaton of serum proldase actvty and oxdatve stressmarkers n men wth bengn prostatc hyperplasa and prostate cancer. 26. ULUSAL ÜROLOJI KONGRESI (Özet Bildiri/Sözlü Sunum)(Yayın No:3944380)

6. **Daglı Hasan**, Öngel Kara Seher, Temız Ebru, Kılınç Metın (2017). Investigation of NO Levels in A549 and Beas-2b Cell Lines. 15 th International Congress of Histochemistry and Cytochemistry(10.5505), 128-128. (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:3612105)

7. Akkafa Ferıdun, **Daglı Hasan**, Temız Ebru, Arman Kaıfee, Kılınç Metın (2017). Theinvestigation of B-MYB and MALAT1 Gene Expression in Breast Cancer. 15 th International Congress of Histochemistry and Cytochemistry(10.5505), 135-135. (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:3612094)

8. **Daglı Hasan,** Kılınç Metın, Temız Ebru, Arman Kaıfee (2017). Role of miR-503, mir-150 and miR-15a in Apoptosis and Cell Cycle in A549 and BEAS-2B Cell Lines. 15 th International Congress of Histochemistry and Cytochemistry(10.5505), 35 (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:3612063)

9. **Daglı Hasan,** Arman Kaıfee, Bozgeyık Esra, Kılınç Metın (2017). Role of miR-503, mir-150 and miR-15a inOsteosarcoma (U20S) affecting Cell Cycle and Apoptosis. 15 th International Congress of Histochemistry and Cytochemistry(10.5505), 36-36. (Özet Bildiri/Poster)(Yaın No:3612072)

10. **Daglı Hasan,** Kara Ongel Seher, Arman KAIFEE (2017). Prominent Roles of miR-503 and miR- 15a in Breast Cancer (MCF-7) affecting Cell Cycle but not Apoptosis. Proceedings of the 15th International Congress of Histochemistry and Cytochemistry, Doi: 10.5505/2017ichc.PP-38 (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:3842408)

11. **Daglı Hasan,** Kılınc Metın, Temız Ebru, Arman Kaıfee, Aslanyureklı Ugur (2017). Serum Prolidase Activity And Oxidative Status In Lung Cancer Cell Line (A549). Proceedings of the 15th International Congress of Histochemistry and Cytochemistry, Doi: 10.5505/2017ichc.PP-69 (Özet Bildiri/Poster) (Yayın No:3842191)

12. Sertkaya Mehmet, Yazar Mehmet Fatıh, Boran Omer Faruk, Urfalıoglu Aykut, Bahar Abdulkadır Yasır, **Daglı Hasan**, Ikıkardes Seda, Kılınc Metın (2017). Resarch into the protective effect of syringic acid in rats with induced expermental pancreatits. ABNORMAL ANESTHESIA AND INTENSIVE CARE (Tam Metin Bildiri/Sözlü Sunum)(Yayın No:3861758)

13. Sertkaya Mehmet, Yazar Fatıh Mehmet, Boran Ömer Faruk, Urfalıoglu Aykut, Bahar Abdulkadır Yasır, **Daglı Hasan,** Ikıkardes Seda, Kılıç Metın (2017). Research into the protective effect of syringic acid in rats with induced experimental pancrease/OP-033. ARUD BALKAN STATES ANESTHESIA DAYS-IV (Özet Bildiri/Sözlü Sunum)(Yayın No:3602994)

14. Sertkaya Mehmet, Yazar Fatıh Mehmet, Boran Ömer Faruk, Urfalıoglu Aykut, Bahar Abdulkadır Yasır, **Daglı Hasan,** Ikıkardes Seda, Kılınç Metın (2017). Research into the 15.3 protective effect of syringic acid in rats with induced experimental pancreatitis. ARUD 2017 BALKAN STATE ANESTHESIA DAYS-4 (Özet Bildiri/Sözlü Sunum)(Yayın No:3868974)

15. Guzel Fatma Betul, Gorgel Ahmet Fazıl, **Daglı Hasan**, Ikıkardes Seda, Sarıca Mehmet Akıf, Celık Ahmet, Erken Ertugrul, Altunoren Orcun, Gungor Ozcan (2017). böbrek naklı hastalarınada ultra sanografik elastografı skorları ve prolıdaz aktıvıte ılıskısı. 19.ulusal hıpertansıyon ve böbrek hastalıkları kongresı (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:3861834)

16. Hedef Ayse, Kılınç Metın, Ganıyusufoglu Eda, **Daglı Hasan** (2017). Ailevi Akdeniz Atesi Hastalıgında Mutasyon Tiplerine göre Hematolojik Parametreler ve Akut faz reaktanları Düzeyleri. XVII.Klinik Biyokimya Kongresi, 30-30. (Özet Bildiri/Sözlü Sunum)(Yayın No:3612116)

17. Temız Ebru, Khandakar Sammem Sadat, **Daglı Hasan,** Yılmaz Mehmet (2017). Kekik (Thymus Vulgaris) Bitkisinin Insan Promiyelositik Lösemi Hücre Hattında (HL-60) Antiproliferatif Etkilerinin Arastırılması. IV. Uluslararası Katılımlı Deneysel Hematolojı Kongresı (Özet Bildiri/Sözlü Sunum)(YayınNo:3861929)

18. Korkmaz Omer Celıl, Kılınc Metın, Ganıyusufoglu Eda, **Daglı Hasan** (2016). Erıtropoıtın epo kullanan ve kullanmayan dıyalız hastalarında hematolojık parametrelerın ıncelenmesı. scıence and engıneerrıng congress (/)(yayın no:3082879)

19. Kılınc Metın, Ganıyusufoglu Eda, Sager Hatıce, Dobooglu Yelız, **Daglı Hasan** (2016). Do we benefit from sun rays ın water enough. scıence and engıneerıng congress (/)(Yayın No:3081822)

20. Celık Ahmet, **Daglı Hasan,** Erdogan Omer, Sarıcıcek Edıbe, Kılınc Metın (2016). Relation Between Serum lipo a Plasma Fibrinogen Red cell Distribution Width RDW and Mean platelet volume MPV in Healthy Adult Men. FEBS Congress (/)(Yayın No:3080670)

21. **Hasan Daglı,** Oztuzcu Serdar, Sercan Ergun, Mustafa Ulaslı, Temız Ebru, Kaıfee Arman, Bulent Gogebakan, Akkafa Ferıdun, Onder Yumrutas, Celaledın Camcı, Aslan Ahmet, (2015). Investigation of Cell Proliferation of MALAT1 Long Non Coding RNA in Lung Cancer. Conference: BMB2015; Biochemistry and Molecular Biology (/)(Yayın

<u>Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler:</u>

1. Türk Özterlemez Nacıye, Inan Nurten, Arslan Mustafa, Gülbahar Özlem, **Daglı Hasan,** Memıs Leyla, Sadıoglu Aysu (2020). Gebe ratlarda gebelik esnasında tekrarlaya dozlarda parasetamol uygulamasının dogacak ratların akciger, böbrek ve karaciger dokuları üzerine etkileri. https://ekongre.tark2020.org/https://www.tard.org.tr/tark2020/tark2020.html, TARK 2020 (Tam Metin Bildiri/Sözlü Sunum)(Yayın

2. Hedef Ayse, Alkan Baylan Fılız, Sagıroglu Saıme, **Daglı Hasan,** Inanç Tolun Fatma (2018). Pediatrik Akut ve Kronik Efüzyonlu Otitis Medialı Olgularda Hematolojik Inflamasyon Parametrelerinin Karsılastırılması. KBUD Uluslararası Katılımlı Kongre ve Lab Expo 2018 ve 1. Metabolizma Hastalıkları Sempozyumu, 144-145. (Özet Bildiri/Sözlü Sunum)(Yayın No:4411700)

3. Ganidaglı Berivan, Senel Mahmut Egemen, Nacar Hüseyin, Yıldız Yusuf Selçuk, **Daglı Hasan,** Erken Ertugrul, Altunören Orçun, Güngör Özkan (2017). SS-030 Hemodiyaliz Hastalarında Serum Osteopontin ve FGF-23 Düzeylerinin Kalp Kapak Kalsifikasyonu ile Iliskisi. 34. Ulusal Nefroloji Hipertansiyon Diyaliz ve Transplantasyon Kongresi, 26(3), 47-47. (Özet Bildiri/Sözlü Sunum)(Yayın No:4229333)

4. Resım Sefa, Kolus Eyup, Bahar Abdulkadır Yasır, **Daglı Hasan,** Kılınc Metın, Ölmez Caner, Kucukdurmaz Faruk (2017). Hünnap meyvesının bîlateral kavernöz sınır hasarı yapılmıs ratlarda olusturulan veno-okluzıf erektıl dısfonksıyonda kavernöz doku üzerındekı antıoksıdanve antıfıbrotık etkılerının degerlendırılmesı. 26. ulusal ürolojı kongresı (özet bildiri/sözlü sunum)(yayın no:3944152)

5. Güzel Fatma Betül, Görgel Ahmet Fazıl, **Daglı Hasan**, Ikikardes Seda, Sarıca Mehmet Akıf, Çelik Ahmet, Erken Ertugrul, Altunören Orçun, Güngör Özkan (2017). PS-015 Böbrek Nakli Hastalarında Ultrasonografik Elastografi Skorları ve Prolidaz Aktivite Iliskisi. 19. Ulusal Hipertansiyon ve Böbrek Hastalıkları Kongresi, 38-38. (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:4367439)

6. **Daglı Hasan,** Serdar Oztuzcu, Sercan Ergun, Ulasli Mustafa, Temiz Ebru, Kaifee Arman, Bulent Gogebakan, Onder Yumrutas, Akkafa Feridun, Celaleddin Camci, Aslan Ahmet (2015). Comparative study of three different miRNAs on MALAT1 and B MYB gene expression in A549 cell line. tıbbi biyoloji ve genetik kongresi (/)(Yayın No:2540651)

Sertifikalar

1. Agılent Gc Ms Yazılım, Donanım Ve Kullanıcı Egıtımı, Agılent Gc Ms Yazılım, Donanım Ve Kullanıcı Egıtımı Ve Cıhaz Kullanım Eıgtımı, Ksü Tıp Fakultesı, Sertifika, 07.03.2016 -08.03.2016 (Ulusal) 95702

2. İs Saglıgı Ve Güvenligi, C Sınıf İs Saglıgı Ve Güvenligi Sertifikası, Diyarbakır, Sertifika, 10.07.2012 - 10.08.2012 (Ulusal) 192007

Kurs

Hayvan Deneyleri Kullanım Sertıfıkası, Hayvan Deneyleri Kullanım Hakkında Düzenlenmıs Kurs, Ksü Tıp Fakültesı, Kurs, 22.08.2016 -30.08.2016 (Ulusal) 956985



GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR…

