

Mikro RNA ve Kanser

Mikro RNA and Cancer

Barbaros Şahin Karagün

Bülent Antmen

İlgen Şaşmaz

Yurdanur Kılınc

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Hematoloji AD, Adana, Türkiye

Başvuru Tarihi: 06.08.2013

Kabul Tarihi: 06.12.2013

ÖZET

MikroRNA'lar, genom üzerinde protein kodlayan intron veya ekzon bölgeleri ve protein kodlamayan bölgelerdeki RNA genlerinden transkripsiyonu sağlanan, fakat proteine translasyonu gerçekleşmeyen, fonksiyonel RNA molekülleridir. MikroRNA'lar protein translasyonunun inhibisyonuna ve/veya mRNA'nın yıkımına neden olur. Yapılan çoğu çalışmada bu küçük moleküllerin hematopoezde farklılaşma, çoğalma ve apoptoz gibi çok önemli hücrel olaylarda kritik öneme sahip olduğunu göstermiştir. Malign hastalıklardaki rolü giderek daha fazla araştırmanın konusu olmaktadır. MikroRNA'lar bir ya da birden fazla hedef geni baskılayarak hücrenin gelişim, farklılaşma, çoğalma, ölümü gibi farklı olaylarda rol oynarlar. miRNA genlerinin %50'sinden fazlası kanser ile ilişkilendirilmiş genom üzerinde bulunur. Yapılan çok sayıda deneysel çalışma; miRNA'ların yeni bir onkogen veya tümör baskılayıcı gen sınıfı oluşturabileceğini göstermiştir. Normal ve patolojik dokular arasında farklı seviyede ifade edilen miRNA'lar tespit edilerek, insan kanserlerinde tanı ve tedavide etkili olabilecek yeni miRNA'lar belirlenebilecektir.

Anahtar Sözcükler: MikroRNA; kanser; RNA interferansı; RNA tarafından uyarılmış sessizleştirme kompleksi

ABSTRACT

Mikro-RNAs are functional, non-protein coding RNA molecules and their transcriptions provided by intron or exon regions of the genome and non-protein coding regions of RNA genes. Mikro-RNAs inhibit translation of protein and / or cause destruction of mRNA. Most of studies have demonstrated that many of these small molecules have critical importance in many important cellular events such as hematopoiesis, differentiation, proliferation and apoptosis. The role of mikro-RNAs in malign diseases have become the subject of research increasingly. Mikro-RNAs play a role in different events such as cell growth, differentiation, proliferation and death by suppressing one or more target gene. More than 50% of miRNA genes are located on the genome which has associated with cancer. A large number of experimental studies show that miRNAs may have generate a new class of oncogenes or tumor suppressor gene. MiRNAs are thought to be identified at a different level of expression in normal and pathological tissues can be determined between the miRNAs that are effective diagnosis and treatment of human cancers.

Key Words: MikroRNA; cancer; RNA interference; RNA-induced silencing complex

Wingard ilk defa 1928 yılında bitkinin üst yapraklarında gözlenen infeksiyonun alt yapraklara direnç kazandırdığını ve bu durumun ancak bu infekte yapraklardan aşağıya bilgi aktaran bir madde sayesinde olabileceği düşünülmüştü. Bu olay transpozon adı verilen bazı hareketli genetik elemanların hem kendilerini hem de homolog kromozom odağını susturmaları olarak bilinir. Özellikle mantarlarda da gözlenen bu durum kalıp DNA'dan üretilen mRNA ürününün baskılanması şeklinde olmaktadır (1,2).

Posttranskripsiyonel gen susturumu olan bu olay mRNA molekülünün diziye özgü yıkıma uğraması ya da translasyona girememesiyle oluşur. Olay sırasında mRNA'nın köken aldığı genin transkripsiyon hızı veya şeklinde bir değişiklik olmamakta, sentezlenmiş olan mRNA'ya küçük ve kodlamayan bir RNA zincirinin bağlanması sonucu protein ifadesi baskılanmaktadır. *RNA interferansı (RNAi)* olarak adlandırılan bu olay mayalardan memelilere kadar tüm ökaryotlarda bulunmaktadır (1-4).

Oligonükleotid kullanımı ile gen ürünlerinin düzenlenmesi fikri ilk olarak antisens/sens yaklaşımı ile başlamıştır. Antisens oligonükleotidler 15-25 baz uzunluğunda yapay DNA zincirleri olup hedef DNA veya RNA'ya Watson-Crick baz eşleşmesi kurallarına göre bağlanmak üzere tasarlanmışlardır. Canlıya geçişlerinde etkilerini kalıcı olarak gösteren bu oligonükleotidlerin uygulanmasıyla bugüne kadar birçok genin işlevi çözülmüştür. RNAi ise, yapay antisens oligonükleotid uygulamalarına zıt olarak doğada var olan bir durumdur ve adından da anlaşılabilirliği gibi susturumda görev yapan molekül DNA değil RNA'dır (5).

RNAi'nin doğal işlevinin, genomu belirli RNA veya çift zincirli RNA'yı oluşturan hareketli genetik bileşenlerden korumak olduğu düşünülmektedir. Bugünkü bilgilerimizin ışığında, yıllar önce Wingard'ın gözlemlerinden elde ettiği çıkarımların ne kadar öncü ve gerçekçi olduğunu kavrayabilecek durumdayız. Onun bu gözlemlerinden sonra, Andrew Fire ve Craig Mello RNAi konusunda yaptıkları çalışmalar ile Nobel ödülü almışlardır (1,3-5).

RNA interferansı (RNAi) olayında rol alan küçük RNA'lar (sRNAs), çift sarmal RNA'lardan (dsRNA) oluşan 19-28 nükleotid uzunluğunda, kodlama yapmayan ve henüz fonksiyonları net olarak bilinmeyen RNA'lardır. Bazılarının, mRNA'ların bir parçası ya da genomun intergenik alanlarından olduğu düşünülmektedir. Küçük RNA'ların ortaya çıkması, RNA interferansı (RNAi), co-supresyon, post-transkripsiyonel düzenlenme gibi kavramların ortaya çıkmasını sağlamıştır. Sonuç olarak RNAi, küçük RNA molekülleri kullanılarak bir hücrede örneğin zararlı bir proteini kodlayan, bir genin susturulmasını ya da tetiklenmesi esasına dayanır (6,7). RNAi'sin dsRNA'yı kullanarak gen ekspresyonunu susturması ilk olarak daha koyu renkte petunya çiçeği elde etmek isterken beyaz-mor alacalı ve beyaz renkte çiçeklerin elde edilmesiyle fark edilmiştir (6,8-15).

Genel olarak RNAi mekanizmasının sitoplazmaya sınırlı bir yolak olduğu tespit edilse de gen ekspresyonunun susturulması olayının kurtların nükleusunda da fonksiyon görebileceği düşünülmektedir. Son çalışmalar memelilerde de gen susturulması olayında RNAi'nin rol oynadığını göstermektedir (6,16-19).

Mikro RNA'ların Yapısı ve Keşfi

İyi tanımlanmış iki tane küçük RNA tipi bulunmaktadır; *MikroRNA (miRNA)*'lar ve *short interfering RNA (siRNA)*'lar. miRNA ve siRNA'lar biyokimyasal ve fonksiyonel olarak ayırt edilemediklerinden orijinlerine göre ayrılırlar. miRNA'lar dsRNA'ların hairpin (saç tokası) şekilli prekürsörlerinden elde edilirken, siRNA'lar uzun dsRNA'lardan oluşur. İlk keşfedilen küçük RNA miRNA'dır (20).

MikroRNA'lar genom üzerinde protein kodlayan intron veya ekzon bölgeleri ve protein kodlamayan bölgelerdeki RNA genlerinden transkripsiyonu sağlanan, fakat proteine translasyonu gerçekleştirmeyen, fonksiyonel RNA molekülleridir. İnsan genomunda miRNA'ları kodlayan yüksek seviyede korunmuş yüzlerce gen bölgesi keşfedilmiştir. Şu an itibarıyla, insan genomunda 1000'in üzerinde mikroRNA tanımlanmıştır (20-22).

İlk mikroRNA, Lee ve çalışma arkadaşları tarafından 1993 yılında Victor Ambros labora-

tuarında yuvarlak solucan olan *Caenorhabditis elegans*'ta lin-4 olarak adlandırdıkları genin hiçbir protein kodlamamasına karşın 22 nükleotid uzunluğunda küçük bir RNA transkribe etmesiyle rapor edildi (21-23). Ancak bulunan bu genetik materyal için mikroRNA terimi ilk defa 2001 yılından itibaren kullanılmaya başlanmıştır (23,24).

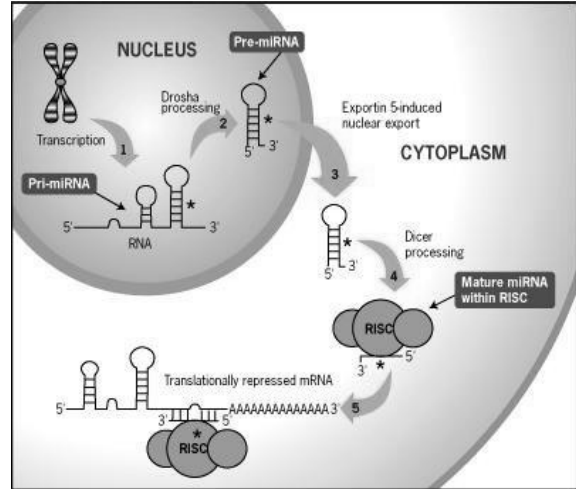
2000 yılında *Reinhart* ve arkadaşları tarafından yine *C.elegans*'da 22 nükleotid uzunluğunda, let-7 olarak adlandırılan, canlının gelişim zamanlamasını düzenleyen farklı bir mikroRNA keşfedildi (25,26). Daha sonraki yıllarda let-4 ve let-7'ye benzeyen birçok küçük RNA molekülü, hemen hemen bütün çok hücreli organizmalarda keşfedilip miRNA olarak isimlendirilmiştir (21,27).

MikroRNA'ların Oluşumu

MikroRNA'lar birbirini izleyen üç basamaklı işlem sonucunda meydana gelir. İlk basamakta miRNA genlerinden primer miRNA (pri-miRNA)'ların transkripsiyonu gerçekleşir. İkinci basamakta primRNA'lar prekürsör miRNA (pre-miRNA)'lara nükleus içinde dönüştürülür. Üçüncü ve son basamakta olgun miRNA'ların sitoplazma içinde oluşumu gerçekleşir (21,28).

MikroRNA'lar, primer transkript (pri-miRNA) olarak RNA polimeraz II enzimi tarafından genomik DNA'dan sentezlenir. *Pri-miRNA* (500-3000 baz), "cap" ve "poli A" kuyruğuna sahip sap-ilmik yapısındadır (Şekil-1). Çekirdek içinde pri-miRNA, *RNAaz III* enzim ailesinin bir endonükleazı olan *Drosha* ve kofaktörü *Pasha* (veya *DGCR8*), tarafından yaklaşık olarak 70 nükleotid uzunluğunda olan *pre-miRNA*'ya dönüştürülür (29). Bir nükleaz olan *Drosha* ile çift iplikli RNA bağlayıcı bir protein olan *Pasha*'nın oluşturduğu bu komplekse mikro işlemci kompleks (*Mikroprocessor complex*) adı verilir (21,30).

Pre-miRNA molekülü bir nükleer taşıma reseptörü olan *Exportin 5* ve nükleer bir protein olan *RAN-GTP*'ye bağımlı şekilde sitoplazmaya taşınır. Sonrasında, pre-miRNA'lar sitoplazmada *RNAaz III* enzim ailesinden *Dicer* adlı endonükleaz ile kesilerek 18-24 nükleotid uzunluğunda çift zincirli miRNA (*miRNA dupleksine*) çevrilir (21,31,32).



Şekil 1. miRNA Oluşum Basamakları (30).

Dicer, aynı zamanda RNA ile tetiklenmiş susturma kompleksi (*RNA-induced silencing complex; RISC*) oluşumunu başlatır (Şekil 2). *Dicer*, *pre-miRNA*'nın sap-ilmliğini kestikten sonra miRNA dupleksinden, RISC kompleksinin içinde yer alan bir RNAz olan *argonaute*'un etkisiyle 5'ucu daha kararlı olanı seçilip sadece biri miRNA RISC kompleksine katılır. Bu iplik, kılavuz iplik (*guide strand*) olarak adlandırılırken diğer iplik anti-kılavuz veya yolcu iplik olarak adlandırılır. Yolcu iplik RISC kompleksinin substratı olarak sindirilir. MikroRNA'lar, RISC kompleksine entegre olduktan sonra, ya *argonaute* proteinleri yardımıyla mRNA'nın yıkımına ya da protein translasyonunun baskılanmasına neden olarak fonksiyon görürler (21,31-34).

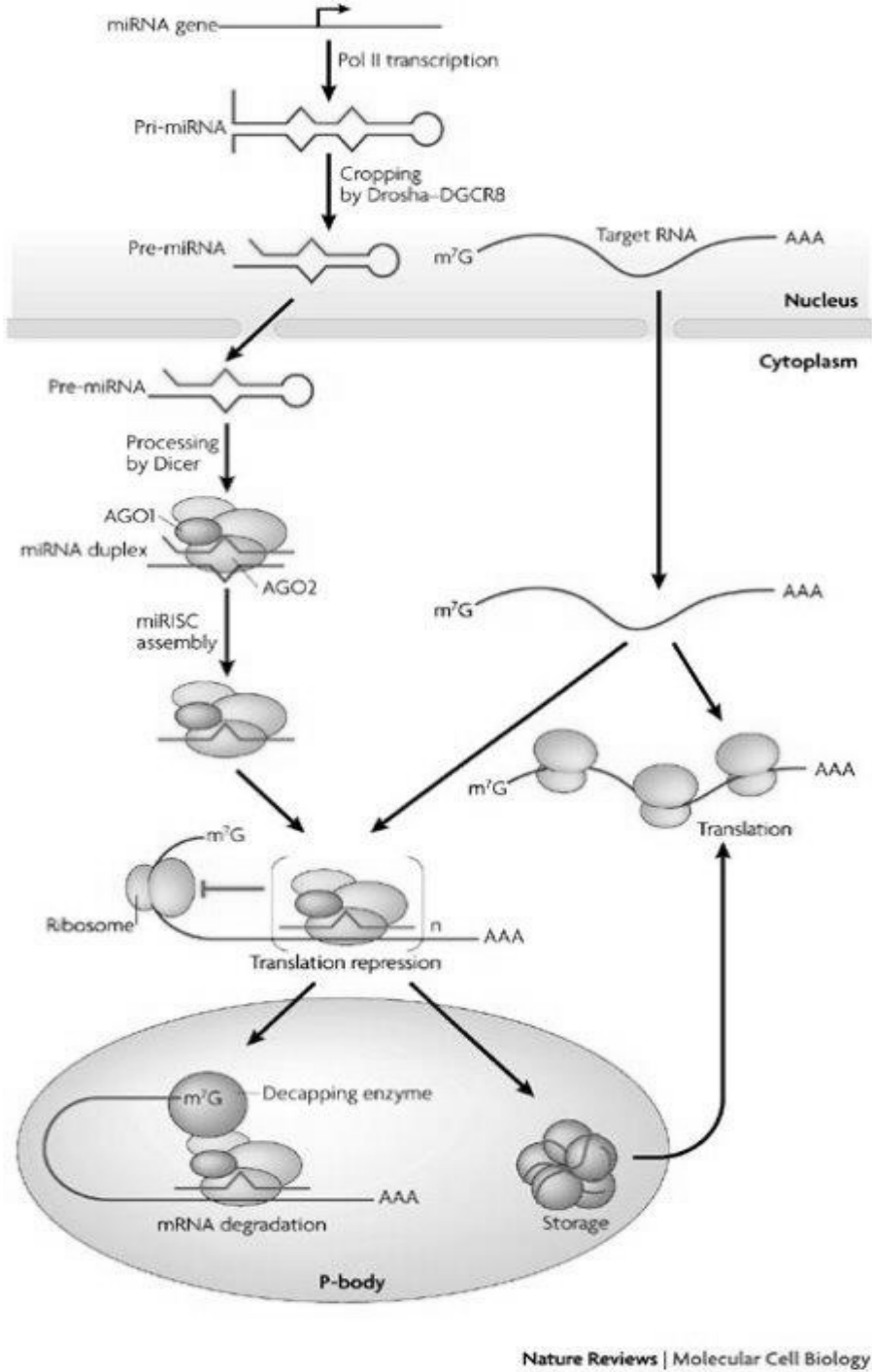
MikroRNA'ların Fonksiyonu

MikroRNA'lar fonksiyonlarını kendi nükleotid dizilerine komplementer hedef genleri tanıma özelliğine sayesinde gerçekleştirirler. MikroRNA'nın yapıya eklenmesi ile oluşan RISC kompleksi baz eşleşme özelliği ile mRNA'ya bağlanarak ilgili genin protein translasyonunun inhibisyonuna ve/veya mRNA'nın yıkılmasına sebep olur (21,22).

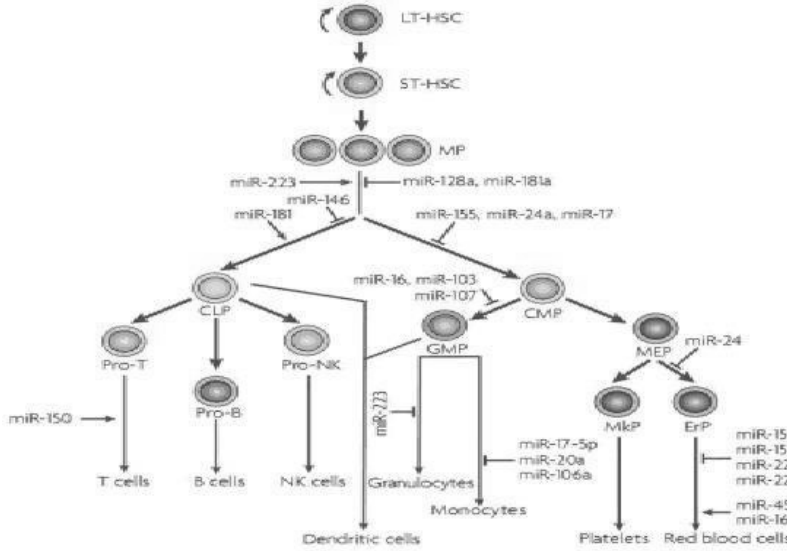
MikroRNA, hedef mRNA'nın 3'ucundaki translasyona uğramayan bölgesi (*untranslated region-UTR*) ya da hedef mRNA'nın *ORF* (*open reading frame*) bölgesine bağlanır. Bu bağlanma pozisyonu mikroRNA kompleksinin mRNA'ya nasıl komplementer olduğuna bağlıdır. 3'UTR bölgesine bağlanma kusurlu,

tam olmayan, eksik komplementerliği ihtiva eder ve translasyonun baskılanması ile sonuçlanır. *ORF* bölgesi içine bağlanma ise kusursuz, tam komplementerliği gösterir ve *Argonaute2* (*Ago2*) tarafından mRNA'nın

yıkımı ile sonuçlanır. Ayrıca, mikroRNA'ların her birinin birden fazla mRNA'nın ekspresyonunu düzenleyebildiği ve mRNA'ların her birinin de birden fazla mikroRNA tarafından hedeflenebildiği bilinmektedir (21,35,36).



Sekil 2. RiSC kompleksi oluşumu (34).



Şekil 3. Hematopoezin Farklı Evrelerinde MicroRNA Oluşumu (77).

MikroRNA ve Kanser

Hücreler anormal olarak çoğaldıklarında ve apoptoz fonksiyonlarını kaybettiklerinde genellikle kanserleşme özelliği gösterirler. MikroRNA'ların hücre proliferasyonu ve apoptoz gibi birçok biyolojik süreçte etkili anahtar moleküller oldukları bugün artık açık bir şekilde bilinmektedir. Kanser gelişim sürecine mikroRNA'ların katkıda bulunduğu ilk kanıtı, *Calin* ve arkadaşlarının 2001 yılında Kronik Lenfositik Lösemili (KLL) hastalarda yaptıkları moleküler çalışmayla ortaya konulmuştur. Gelişmiş ülkelerde en sık görülen yetişkin lösemi formu olan KLL hastalarının yaklaşık % 50'sinde 13q14 bölgesi delesyona uğradığı bilinmektedir. Yapılan detaylı delesyon analizleri sonucunda bu bölgede yalnızca mir-15-a ve mir-16-1 genlerinin bulunduğu saptanmış ve *Calin* ve arkadaşları tarafından da 245 insan ve fare miRNA probu içeren miRNA mikroarray çalışmasıyla mir-15a ve mir-16-1'in ekspresyon düzeylerinin B hücreli KLL hastalarının % 68'inde bu miRNA'ların ekspresyonlarının azaldığı ya da hiç yapılmadığı bulunmuştur. Ayrıca miRNA ekspresyon profilinin, KLL hastalarının klinik ve biyolojik davranışıyla yakın ilişkili olduğu raporlanmıştır. Kanserli ve normal dokular arasındaki bu ekspresyon farklılıklarının belirlenmesi, miRNA'ların kanser patogenezindeki rollerini daha da güçlendirmiştir (21,37).

Calin ve arkadaşlarının, 2004 yılında yaptıkları diğer bir çalışmada, insan miRNA genlerinin kanser ile ilişkisini araştırmak için, 186 adet miRNA geninin DNA üzerindeki pozisyonunu haritalandırarak ilgili genlerin daha önceden bilinen belirli kanser türlerinin ilişkili olduğu genetik değişiklikler ile karşılaştırılmıştır. Bu miRNA genlerinin çoğunlukla, heterozigozitenin kaybolduğu bölgeler olan kırılğan kısımlara yerleşik olduğu saptanmıştır. Bu kırılğan kısımlar amplifikasyonun minimal olduğu bölgeler veya genel kromozomal kırılmanın olduğu bölgeleridir. Bu bölgelerde moleküler lezyon sonucu oluşan genetik hasar spesifik kanserlere neden olmaktadır (21,38,39).

2003 yılında *Michael* ve arkadaşları, insanlardaki solid organ tümörlerini (kolonik ve rektal adeno karsinomlar) normal dokular ile karşılaştırdıklarında ekspresyon seviyeleri değişmiş olan miRNA'ları rapor ettiler (40). Daha sonraki yıllarda solid organ tümörlerine bağlı değişikliğe uğramış miRNA seviyeleri farklı kanser türlerinde (meme, lenfoma, beyin, tiroid, akciğer, prostat ve hepatoselüler karsinoma) bulunmuştur (41,47).

MikroRNA'lar, hedefledikleri mRNA'nın moleküler düzeydeki özelliklerine göre onkogenik veya tümör süpresör özellik kazanabilirler. Normal dokularda miRNA'lardan bazılarının protoonkogenlerin translasyonunu inhibe

ettiği rapor edilmiştir. Fonksiyonları bir onkogenin ekspresyonunu kontrol etmek olan bu miRNA'lar "tümör süpresör miRNA'lar" (TS-mir) olarak bilinmektedir. Dolayısıyla tümör baskılayıcı miRNA'ların ekspresyonunun azalması onkogenin ekspresyonunun artmasına ve tümör oluşumuna sebep olacaktır. Bunun tersi olarak, "onko-mir" olarak ifade edilen bazı miRNA'ların kanser gelişimini arttırdığı görülmektedir. Sonuç olarak mikroRNA'lar, onkogen ve tümör süpresör mRNA'ların her ikisini de potansiyel hedef olarak görüp, fonksiyonlarını bu mRNA'lar üzerinden gösterirler (21,47,48).

Tümör Süpresör mikroRNA'lar

MikroRNA'ların kanserleşme sürecine etkisi olduğu ilk olarak 2001 yılında miR-15a ve miR16-1'in keşfedilmesi ile rapor edildi ancak bu mikroRNA'ların kanserleşme sürecine etki mekanizmaları 2005 yılında Cimmino ve arkadaşlarının KLL (Kronik Lenfositik Lösemi) bireylerde yaptıkları çalışma ile ortaya konuldu. Çalışma sonucunda adı geçen iki miRNA'nın ekspresyon seviyelerinin KLL hücrelerinde, anti-apoptotik B hücreli lenfoma proteini olan Bcl-2'nin üretimi ile ters ilişkili olduğu tespit edildi (21,37,48,49).

Böylelikle Cimmino ve arkadaşları tarafından miR-15a ve miR16-1'in düşük seviyelerinin (tümör süpresör fonksiyon kaybı) yüksek seviyede Bcl-2 proteini ile ilişkili olduğu, dolayısıyla anormal hücre büyümesini gerçekleştirdiği, bu iki miRNA'nın yüksek seviyelerinin (normal tümör süpresör aktivite) ise apoptoz ile ilişkili olduğu ortaya konularak normal seviyelerinin kontrolsüz hücre büyümesini engellediği rapor edilen miR-15a ve miR16-1'in böylelikle tümör süpresör aktiviteleri belirlenmiş oldu (21,49).

Tümör süpresör özellik gösteren bir diğer miRNA, let-7 ailesinin üyeleridir (let-7b, let-7c, let-7d, let-7f ve let-7g). Kanserli hastaların akciğer dokusu ile normal akciğer dokusu karşılaştırıldığında kanserli dokuda çoğunlukla düşük let-7 seviyeleri gözlenmiştir. Bir akciğer kanseri hücre kültürü modelindeki let-7 seviyeleri, normal hastaların akciğer dokusundaki let-7 seviyelerinden daha yukarılara çıkarıldığı zaman, kanser hücrelerinin büyümesinin önemli derece de azaldığı saptanmıştır (45).

Johnson ve arkadaşları da 2005 yılında let-7'nin insanlarda bulunan önemli bir onkogen olan RAS'ın aktivitesini kontrol ettiğini buldular. Bu çalışma ile düşük seviyelerde let-7 ihtiva eden akciğer tümör dokularının, önemli derecede artmış RAS protein seviyelerine sahip olduğu saptandı. Ayrıca RAS onkogeninin mRNA dizisinin, let-7'nin bu mRNA'ya bağlanmasını ve dolayısıyla proteine translasyonunun engellemesini sağlayan let-7'ye komplementer bağlanma bölgeleri içerdiği görüldü. Bunun sonucunda kanserli dokuda ki let-7'nin düşük seviyeleri, RAS onkogeninin kontrolsüz bir şekilde fonksiyon göstermesine imkan tanımaktaydı (45-50).

Sonuç olarak let-7 ailesinin üyelerinin, RAS onkogenin mRNA'sını hedefleyen bir tümör süpresör fonksiyona sahip olduğu tespit edilmiş oldu. Bunun yanı sıra son yapılan çalışmalarda, let-7 mikroRNA ailesinin üyelerinin çok iyi tanımlanmış onkogenler olan HMGA230 ve c-Myc31'nin mRNA'larını da inhibe ettikleri rapor edilmiştir (50).

Üç adet izoformu bulunan miR-29 (miR-29a, miR-29b, miR-29c), tümör süpresör karakter sergileyen diğer mikroRNA'lar arasındadır. Mir-29 ailesinin üyelerinin kronik lenfositik lösemi (KLL), akciğer kanseri, invaziv meme kanseri, akut miyelooid lösemi (AML) ve kolanjiyokarsinom hücrelerini baskılayıcı olarak aktivite gösterdiği yapılan çalışmalar ile ortaya konulmuştur (50-57).

MikroRNA-143'ünde birçok histolojik tümör türlerinde, anormal büyümeyi baskıladığı görülmüştür. B-hücreli kanserler, meme, serviks, kolorektal, mesane ve hipofiz tümörlerinde, miR-143'ün tümör süpresör olarak görev yaptığı rapor edilmiştir. Serviks kanserinde miR-143'ün hücre proliferasyonunu baskıladığı, kolorektal kanser hücrelerinde ise KRAS (viral onkogen) ve KRAS'ın sinyal yolunu doğrudan inhibe ettiği gösterilmiştir (57-62).

Onkogenik miRNA'lar

Tümör süpresör miRNA'ların tersine, onkogenik miRNA'lar çoğunlukla kanser türlerinde kontrolsüz büyümeyi artırıcı ve/veya anti-apoptotik yönde fonksiyon gösterirler. İlk olarak keşfedilen onkogenik miRNA'lardan bir

tanesi, protein kodlamayan gen olan *BIC* (*B cell Integration Cluster*) ile beraber ekspres edilen miR-155'tir. Mir-155'in hedef mRNA'sı tam olarak belirlenememiş olmakla birlikte, ekspresyonunun tavukta lösemi ve lenfoma oluşumunu artırdığı gösterilmiştir. Yakın zamanda yapılan çalışmalarda, miR-155'in B hücreli lenfoma, meme, pankreas, akciğer ve Hodgkin lenfoma gibi kanserlerde yüksek ekspresyon sergilediği gösterilmiştir (21,54, 55,63-66).

Bir onkogen gibi fonksiyon gösterdiği tespit edilen diğer bir mikroRNA, miR-21'dir. Mir-21'in AML, KLL gibi hematolojik malignitelere ve solid tümörler (pankreas, prostat, mide, kolon, akciğer, meme ve karaciğer kanseri) gibi farklı kanser türlerinde yüksek seviyede ekspresyonu saptanmıştır (53,56, 67-69). Mir-21, transkripsiyonel olarak Stat3 tarafından IL-6 sinyal yolağında aktif duruma geçmektedir. Mir-21, invazyon ve metastaz olaylarında önemli rolü saptanmıştır. Mir-21, hücre hareketi ve invazyonu, konusunda ki rolünü tümör süpresör bir protein olan PTEN'in mRNA'sını hedefleyerek göstermektedir. PTEN, birkaç MMP (*Matriks Metalloproteaz*) proteininin ekspresyonunu engelleyerek dolayısıyla hücre invazyonunu azaltarak tümör süpresör bir etki göstermektedir. Ayrıca son zamanlarda, kolorektal kanserlerde mir-21'in, PDCD4'ü baskıladığı, bunun da kanser invazyonu ve metastazı ile sonuçlandığı belirlenmiştir (70-72).

Mir-17-92 gen kümesi, insan genomunda kromozom 13q31.3 bölgesine yerleşik olup altı adet miRNA (miR-17, miR-18a, miR-19a, miR-20a, miR-19b-1, miR-92-1) kodlamaktadır. Mir-17-92 kümesi, onkogenik olduğu gösterilen ilk miRNA'yi kodlayan bir bölgedir. Transgenik farelerde miR-17-92 gen kümesinin yüksek seviyede c-Myc onkogeninin ekspresyonuna neden olarak B hücreli lenfomanın gelişimini artırdığı belirlenmiştir. Ayrıca bu gen kümesinin, akciğer gelişiminde, bağışıklık ve hematopoetik sistemlerin düzenlenmesinde anahtar rol oynayan bir bölge olmasına sebebiyle, miR-17-92 gen kümesi üyelerinin çok çeşitli solid organ tümörlerinde, hematolojik malignensilerde, meme, kolon, akciğer, pankreas, prostat, mide ve lenfomaları da içine alan kanser türlerinde yüksek

seviyede ekspresyonu gerçekleşmektedir. Ekspresyon sonucu oluşan miRNA'lar, proliferasyonu artırıp, apoptoz inhibisyonunu sağlayarak ve tümör anjiyogenezini tetikleyerek kanser gelişimine katkıda bulunmaktadır (73,74).

Sonuç olarak Mir-17-92 gen kümesinin kanser gelişimine katkısının iki mekanizma ile gerçekleştiği düşünülmektedir. Bunlardan bir tanesi birkaç lenfoma ve kanser türünde görülen 13q31 lokusunun amplifikasyonu, diğeri mekanizma ise miR-17-92 gen kümesinden kodlanan pri-miRNA'nın transkripsiyonel aktivasyonudur. Onkogenik transkripsiyon faktörü olan c-Myc, miR-17-92 gen kümesinin upstream bölgesine bağlanarak bu genin ekspresyonunu aktive etmektedir. Ayrıca E2F ailesinin üyelerinin (E2F1,2 ve 3)'de miR-17-92 gen kümesini aktive ettiği gösterilmiştir (75-77).

MikroRNA'ların Normal ve Malign Hematopoezdeki Roller

MikroRNA terimi ilk kullanıldığı günden beri normal ve malign hematopoezde mikroRNA'ların rolünü anlamak için büyük çapta çalışmalar yapılmış ve sonucunda önemli gelişme kaydedilmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda bu küçük moleküllerin hematopoezde farklılaşma, çoğalma ve apoptoz (programlı hücre ölümü) gibi çok önemli hücrel olaylarda kritik öneme sahip olduğu gösterilmiştir (Şekil 3) (77,78).

Normal hematopoezde mikroRNA'lar hemen her basamakta hematopoetik farklılaşmayı düzenleyerek son derece önemli rol oynarlar. Bu nedenle mikroRNA'ların anormal ekspresyonu hematolojik malignensiler dahil pek çok hastalıkla yakından ilişkilidir. MikroRNA'ların tümör oluşumundaki rollerini anlayabilmek için önemli ipuçları mevcuttur. Daha önce belirtildiği gibi mikroRNA'lar hedef transkriptin ekspresyonunu down-regüle ederek veya degradasyonunu artırarak hedef mRNA tarafından kodlanan protein miktarını azaltırlar.

Onkogenik mikroRNA'lar, tümör süpresör proteinleri hedefler, bu proteinleri elimine ederek, hücre proliferasyonunu artırır, böylelikle hücre ölümü inhibe olur. Tümör sup-

resör mikroRNA'lar ise onkoprotein kodlayan mRNA'ları hedefleyerek etki gösterir ve mikroRNA'ların düzeyi düşünce, hücre yaşam süresini uzatan ve proliferasyonu arttıran onkoproteinlerin artmasına neden olurlar (77,79).

Ayrıca mikroRNA'ların tümör oluşumuna direk olarak da katkıda bulunduğuna dair önemli kanıtlar vardır. Örneğin, mir-155 genini fazla eksprese eden transgenik farelerde, B hücreli malignensi gelişmiştir, daha öncede bahsedilen bu mikroRNA'nın fazla eksprese edilmesi tümör oluşumu için farelerde yeterlidir. Bu veriler göstermektedir ki bulunan yeni mikroRNA'lar onkogeneizde önemli rolü olan karmaşık yolların aydınlatılarak bilgi sahibi olmamıza olanak sağlayacaktır (80).

Normal Hematopoezde mikroRNA

Normal hematopoezde mikroRNA ekspresyonu, pek çok araştırmacı grup tarafından kemirgen ve insan hematopoetik dokularında çalışılmış ve kodlama yapmayan bu RNA'ların hematopoezin hemen her basamağında önemli rollere sahip olduğu saptanmıştır (Şekil 2). Ancak insan ve fare hematopoetik hücrelerinde mikroRNA ekspresyonunda pek çok farklılıklar vardır. Sonuçlar değerlendirilirken bu durum göz önüne alınmalıdır (Şekil 3) (77-80).

Normal Hematopoezden Malign Hematopoeze Geçiş

Normal ve malign hematopoesizdeki mikroRNA ekspresyonları arasındaki ilişkiyi saptamak için giderek artan sayıda çalışma yapılmaktadır. Ancak elde edilen verilerle şu anda hematolojik malignensilerde mikroRNA'nın direkt rolünü gösteren çok az sayıda veri vardır. Bunu birinci nedeni mikroRNA'ların çok sayıda farklı hedeflerinin olmasının yanı sıra mikroRNA'ların eşlik ettiği çok fazla sayıda karmaşık ve biri biri ile örtüşen yolların olmasıdır. Çalışmaların çoğunda hematolojik malignensilerde onkogeneize eşlik eden tek mikroRNA saptanma girişimi, çok sayıda ve anormal mikroRNA'ların varlığı nedeniyle karmaşık hale gelmektedir.

Ancak normal ve malign hematopoezsizdeki mikroRNA rolü hakkında fikir yürütmemiz

sağlayan bazı kuvvetli veriler bulunmaktadır (133). Örneğin mir-155 GC (germinal center) reaksiyonunu düzenler ve transgenik farelerde B hücreli malignensilere eşlik eder. Gerçekten de Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL), KLL, Hodgkin lenfoma ve Primer Mediasteneal B Hücreli lenfomada mir-155 artışı, bu mikroRNA'nın lenfomagenesiz de anahtar rol oynadığını göstermektedir. Ayrıca mir-155 miyelopoesizde önemli bir düzenleyicisidir. Çünkü mir-155 miyeloid ve eritroid farklılaşmayı bloke eder. Transgenik farelerde mir-155'in anormal ekspresyonu miyeloproliferatif hastalık ile sonuçlanıp, eritroid/megakaryositik seride azalmaya neden olur. Sonuç olarak mir-155'in anormal ekspresyonu, çeşitli yollarda rol oynayarak hem miyeloid hemde lenfoid malignensi oluşumuna eşlik eder (77,81,82,83).

Mir-15a/16-1 tümör supresör ajan olarak kabul edilir. KLL vakalarının büyük çoğunluğunda azalır veya yok olur. Mir-181 sıçan B-lenfoid hücrelerinde fazlaca eksprese olur. Mir-181'in progenitor hücrelerde ektopik ekspresyonu B hücre oranında artışa neden olup hematopetik serilerde farklılaşmayı inhibe ettiği düşünülmektedir. Gerçekten de mir-181 ailesi üyeleri AML ile yakın ilişkilidir. Çünkü mir-181 AML-M1, AML-M2 normal karyotiplerde artış gösterirken, yüksek riskli AML'de azalmıştır. Mir-181 ailesinin diğer üyesi mir-181b kötü prognozlu KLL de azalmıştır.

Çok ilginç ekspresyon paterni olan diğer bir mikroRNA'da mir-223'dir. Miyeloid farklılaşmaya karıştığı gerçeğine rağmen erişkin T hücreli lösemi hastalarında artış gösterdiği bulunmuştur. Ancak aynı mikroRNA insan T hücre lösemi virus tip-1 (HTLV-1) hücre serilerinde azalmış durumdadır (77,80,84-86).

Kanser progresyonu ve metaztazında Epitel-Mezenkimal Transition (EMT) önemli bir gelişimsel süreçtir. EMT'nin kendisi post transkripsiyonel modülatörler ve kompleks transkripsiyon ağları ile düzenlenir. MikroRNA'lar burada da son derece önemli kritik role sahiptir (87). Kanser oluşumunda kök hücre veya kök hücre özelliklerine sahip kanser hücrelerinin tümör oluşumu ve metastazından sorumlu olduğu düşünülmektedir. Ancak

bu hücrelerin hangi mekanizmalarla kanser kök hücrelerine dönüştürüldüğü hangi hücrel mekanizma ve olaylarla düzenlendiği moleküler seviyelerde tam olarak anlaşılamamıştır. Bu süreçteki son gelişmeler kanser oluşumu ve progresyonu konusunda mikro-RNA'lar önemini ön plana çıkarmıştır (87,88).

Malign hastalıklar dışında çeşitli hastalıklarda da mikroRNA'ların önemli rolü olduğu saptanmıştır. Örneğin, Alzheimer hastalarının plazma ve beyin omurilik sıvılarında (BOS) yapılan çalışmalarda, plazma miR-34a ve miR-146a seviyeleri ile BOS'da miR-34a, miR-125b ve miR-146a seviyelerinin kontrol grubuna göre önemli derecede düşük olduğu saptanırken; hastaların BOS'larında miR-29a ve miR-29b düzeyleri kontrol grubundan anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (89). Öte yandan deneysel olarak oluşturulan safra yolları atrezisi çalışmalarında da, miR-30b, miR-30c, mir-133a, mir-133b, mir-195, mir-200a, mir-320 ve mir-365'in yakın ilgisi olduğunu bulunmuş ve renal iskemi oluşturulan farelerde reperfüzyon sonrası ortaya çıkan zedelenmede mir-21'in koruyucu yönde etkili olduğu yapılan çalışma ile gösterilmiştir (90).

Sonuç olarak 1953'te James D. Watson ve Francis Crick tarafından DNA'nın bugün kabul görmüş yapısının saptanması ile başlayan genetik yapı artık bir bilim haline gelmiş ve çok hızlı bir şekilde ilerlemektedir. Günümüzde çoğu hastalığın artık genetik yapısı saptanmış insanoğlunun gen haritası tanımlanmıştır. Giderek gelişen bilim dünyası, ilgili genlerin veya bu gen yapı ürünlerinin tespiti ile hastalıkların erken tanısı ve tedavisinde anahtar rol oynadığını gösterir hale gelmiş ve bazı hastalıkların gen tedavisi yoluyla tedavi edilebilir olduğu gösterilmiştir.

Genetik gelişim sürecindeki bu hızlı ilerlemeye 1993 yılında miRNA'ların keşfi önemli katkı sağlamıştır. Ayrıca bu konudaki gelişim sürecinde *Andrew Fire* ve *Craig Mello* tarafından yapılan çalışma ile *RNA interferansı (RNAi)* olarak adlandırılan, tüm ökaryotlarda gözlenen posttranskripsiyonel gen susturumu olarak bilinen mRNA'nın köken aldığı genin transkripsiyon hızı veya şeklinde bir değişiklik olmadan, sentezlenmiş olan mRNA'ya

küçük ve kodlamayan bir RNA (mikroRNA) zincirinin bağlanması sonucu protein ifadesinin baskılandığının saptanması ile Nobel ödülü almalarını sağlamıştır

MikroRNA'ların keşfedilmesi ile başlayan çok sayıda çalışmayla mikroRNA'ların biyosentezi ve fonksiyonları hakkında bilgilerimiz hızla artış gösterdi. Bugün artık mikroRNA'ların protein ekspresyonunu düzenleyerek başta hücrel gelişim, apoptoz ve metabolizma gibi önemli biyolojik fonksiyonların düzenleyicisi oldukları saptanmış oldu. Böylelikle başta kanser gelişimi olmak üzere mikro-RNA'ların birçok hastalık gelişiminde anahtar rol oynadıkları saptanmış oldu.

Kanser gelişiminde mikroRNA'lar hedefledikleri mRNA'lara bağlı olarak tümör süpresör ve onkogen olarak fonksiyon gösterebilirler. Bulundukları şartlara bağlı olarak bazı mikroRNA'lar ise hem tümör süpresör hemde onkogen karakter gösterebilirler. Mikro-RNA'ların özellikle kanserin erken tanı, tedavi ve prognozunu belirlemede, kanserli dokulardaki varlığı, ekspresyon paternindeki değişiklikleri ve hedefledikleri mRNA'ların saptanması ile önemli sonuçlar sağlayacağı gerçeğini ortaya çıkarmıştır. Bu konuda yapılan çok sayıda çalışma ile bazı mikro-RNA'ların doku ve hastalık türü için spesifik sayılabilecek özellikte olduğunu göstermiştir. Bu genetik hızlı gelişim sürecinde gen tedavisi başta olmak üzere yeni tedaviler önemli değişiklikleri beraberinde getirecektir.

Normal ve patolojik dokular arasında farklı seviyede ifade edilen miRNA'lar tespit edilerek, insan kanserlerinde tanı, tedavi ve prognozunu belirlenebilmesinde de yararlı olacağı kesindir.

KAYNAKLAR

1. Wingard SA. Hosts and symptoms of ring spot, a virus disease of plants. *J Agric Res* 1928; 37: 127.
2. Bodur E, Demirpençe E. Kodlanmayan RNA'lar ve gen susturulması. *Hacettepe Tıp Dergisi* 2010; 41(2): 82-9.
3. Tuschl T. RNA interference and small interfering RNAs. *Chembiochem* 2001;2(1):239-45.
4. Dykxhoorn DM, Novina CD, Sharp PA. Killing the messenger: short RNAs that silence gene expression. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2003; 4(1): 457-67.

5. Achenbach TV, Brunner B, Heermeier K. Oligonucleotide-based knockdown technologies: antisense versus RNA interference. *Chembiochem* 2003; 4(10): 928-35.
6. Pehlivan S, Durmaz B, Aykut A. Küçük RNA'ların etki mekanizması ve önemi. *Arşiv* 2006; 15:30.
7. Fire A, Xu S, Montgomery MK, Kostas SA, Driver SE, Mello CC. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 1998; 391(6699): 806-11.
8. Napoli C, Lemieux C, Jorgensen R. Introduction of a chimeric chalcone synthase gene into petunia results in reversible cosuppression of homologous genes in trans. *Plant Cell* 1990; 2(4): 279-89.
9. van der Krol AR, Mur LA, Beld M, Mol JN, Stuitje AR. Flavonoid genes in petunia: addition of a limited number of gene copies may lead to a suppression of gene expression. *Plant Cell* 1990;2(4):291-9.
10. Dalmay T, Horsefield R, Braunstein TH, Baulcombe DC. SDE3 encodes an RNA helicase required for post-transcriptional gene silencing in *Arabidopsis*. *Embo J*. 2001; 20(8):2069-78.
11. Mourrain P, Béclin C, Elmayan T, Feuerbach F, Godon C, Morel JB, et al. *Arabidopsis* SGS2 and SGS3 genes are required for posttranscriptional gene silencing and natural virus resistance. *Cell* 2000; 101(5): 533-42.
12. Waterhouse PM, Wang MB, Lough T. Gene silencing as an adaptive defence against viruses. *Nature* 2001; 411(6839): 834-42.
13. Tabara H, Sarkissian M, Kelly WG, Fleenor J, Grishok A, Timmons, et al. The rde-1 gene, RNA interference, and transposon silencing in *C. elegans*. *Cell* 1999; 99(2):123-32.
14. Ketting RF, Haverkamp TH, van Luenen HG, Plasterk RH. Mut-7 of *C. elegans*, required for transposon silencing and RNA interference, is a homolog of Werner syndrome helicase and RNaseD. *Cell* 1999; 99(2): 133-41.
15. Sijen T, Plasterk RH. Transposon silencing in the *Caenorhabditis elegans* germ line by natural RNAi. *Nature* 2003; 426(6964):310-4.
16. Zeng Y, Cullen BR. RNA interference in human cells is restricted to the cytoplasm. *RNA* 2002; 8(7):855-60.
17. Hammond SM, Boettcher S, Caudy AA, Kobayashi R, Hannon GJ. Argonaute2, a link between genetic and biochemical analyses of RNAi. *Science* 2001; 293 (5532): 1146-50.
18. Kawasaki H, Taira K. Induction of DNA methylation and gene silencing by short interfering RNAs in human cells. *Nature* 2004; 431(7005): 211-7.
19. Morris KV, Chan SW, Jacobsen SE, Looney DJ. Small interfering RNA-induced transcriptional gene silencing in human cells. *Science* 2004; 305(5688): 1289-92.
20. Narry KV. Small RNAs: Classification, Biogenesis, and Function. *Mol Cells* 2005; 19(1):1-15.
21. Saydam F, Değirmenci İ, Güneş HV. Mikro RNA'lar ve kanser. *Dicle Medical Journal* 2011; 38(1):113-20.
22. Shenouda SK, Alahari SK. MikroRNA function in cancer: oncogene or a tumor suppressor. *Cancer Metastasis Rev*. 2009; 28(3-4):369-78.
23. Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell* 1993; 75(5): 843-54.
24. Ruvkun G. Molecular biology. Glimpses of a tiny RNA world. *Science* 2001; 294(5543): 797-9.
25. Reinhart BJ, Slack FJ, Basson M, Pasquinelli AE, Bettinger JC, Rougvie AE, et al. The 21-nucleotide *let-7* RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 2000; 403(6772): 901-6.
26. Pasquinelli AE, Reinhart BJ, Slack F, Martindale MQ, Kuroda MI, Maller B et al. Conservation of the sequence and temporal expression of *let-7* heterochronic regulatory RNA. *Nature* 2000; 408(6808): 86-9.
27. Lagos-Quintana M, Rauhut R, Lendeckel W, Tuschl T. Identification of novel genes coding for small expressed RNAs. *Science* 2001;294(5543):853-8.
28. Kwak PB, Iwasaki S, Tomari Y. The microRNA pathway and cancer. *Cancer Sci* 2010; 101(11): 2309-15.
29. Lee Y, Ahn C, Han J, Choi H, Kim J, Yim J, et al. The nuclear RNase III Drosha initiates microRNA processing. *Nature* 2003; 425 (6956):415-9.
30. Esquela-Kerscher A, Slack FJ. Oncomirs - microRNAs with a role in cancer. *Nat Rev Cancer* 2006; 6(4): 259-69.
31. Lund E, Guttinger S, Calado A, Dahlberg JE, Kutay U. Nuclear export of microRNA precursors. *Science* 2004; 303(5654): 95-8.
32. Zhang H, Kolb FA, Brondani V, Billy E, Filipowicz W. Human Dicer preferentially cleaves dsRNAs at their termini without a requirement for ATP. *Embo J*. 2002(21); 21: 5875-85.
33. Bernstein E, Caudy AA, Hammond SM, Hannon GJ. Role for a bidentate ribonuclease in the initiation step of RNA interference. *Nature* 2001; 409(6818): 363-6.
34. Gregory RI, Chendrimada TP, Cooch N, Shiekhattar R. Human RISC couples microRNA biogenesis and posttranscriptional gene silencing. *Cell* 2005; 123(4): 631-40.
35. Sun W, Li YSJ, Huang HD, Shyy JYJ, Chien S. MicroRNA: A Master Regulator of Cellular Processes for Bioengineering Systems. *Annu Rev Biomed Eng* 2010; 12: 1-27
36. Pillai RS. MicroRNA function: multiple mechanisms for a tiny RNA. *RNA* 2005;11(12):1753-61.
37. Calin GA, Dumitru CD, Shimizu M, Bichi R, Zupo S, Noch E, et al. Frequent deletions and down-regulation of micro- RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99(24):15524-29.
38. Wijnhoven BP, Michael MZ, Watson DI. MicroRNAs and cancer. *Br J Surg* 2007; 94(1): 23-30.

39. Calin GA, Sevignani C, Dumitru CD, Hyslop T, Noch E, Yendamuri S, et al. Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101(9): 2999-3004.
40. Michael MZ, O'Connor SM, van Holst Pellekaan NG, Young GP, James RJ. Reduced accumulation of specific microRNAs in colorectal neoplasia. *Mol Cancer Res* 2003; 1(12): 882-91.
41. Le Quesne J, Caldas C. Micro-RNAs and breast cancer. *Molecular Oncology* 2010; 4(3): 230-41.
42. Metzler M, Wilda M, Busch K, Viehmann S, Borkhardt A. High expression of precursor microRNA-155/BIC RNA in children with Burkitt lymphoma. *Genes Chromosomes Cancer* 2004; 39(2): 167-9.
43. Chan JA, Krichevsky AM, Kosik KS. MicroRNA-21 is an antiapoptotic factor in human glioblastoma cells. *Cancer Res* 2005; 65(14): 6029-33.
44. He H, Jazdzewski K, Li W, Liyanarachchi S, Nagy R, Volinia S. The role of microRNA genes in papillary thyroid carcinoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102(52): 19075-80.
45. Sevil S, Uzumcu A, Solak M, Ittmann M, Ozen M. The function microRNAs, small potent molecules in human prostate cancer. *Prostate Cancer Prostatic Dis* 2010; 13(3): 208-17.
46. Hayashita Y, Osada H, Tatematsu Y, Yamada H, Yanagisawa K, Tomida S, et al. A polycistronic microRNA cluster, miR-17-92, is overexpressed in human lung cancers and enhances cell proliferation. *Cancer Res* 2005; 65(21): 9628-32.
47. Murakami Y, Yasuda T, Saigo K, Urashima T, Toyoda H, Okanoue T, Shimotohno K. Comprehensive analysis of microRNA expression patterns in hepatocellular carcinoma and non-tumorous tissues. *Oncogene* 2006; 25(17): 2537-45.
48. Cowland JB, Hother C, Gronbaek K. MicroRNAs and cancer. *APMIS* 2007; 115(10):1090 -106.
49. Cimmino A, Calin GA, Fabbri M, Iorio MV, Ferracin M, Shimizu M, et al. miR-15 and miR-16 induce apoptosis by targeting BCL2. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102(39):13944-9.
50. Johnson SM, Grosshans H, Shingara J, Byrom M, Jarvis R, Cheng A, et al. RAS is regulated by the let-7 microRNA family. *Cell* 2005;120(5): 635-47.
51. Lee YS, Dutta A. The tumor suppressor microRNA let-7 represses the HMGA2 oncogene. *Genes Dev* 2007; 21(9):1025-30.
52. Sampson VB, Rong NH, Han J, Yang Q, Aris V, Soteropoulos P, et al. MicroRNA let-7a down-regulates MYC and reverts MYC induced growth in Burkitt lymphoma cells. *Cancer Res* 2007; 67(20): 9762-70.
53. Calin GA, Ferracin M, Cimmino A, Di Leva G, Shimizu M, Wojcik SE, et al. A microRNA signature associated with prognosis and progression in chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 2005; 353(17): 1793-801.
54. Lin PY, Yu SL, Yang PC. MicroRNA in lung cancer. *Brit J Cancer* 2010; 103(8): 1144-8.
55. Iorio MV, Ferracin M, Liu CG, Veronese A, Spizzo R, Sabbioni S, et al. MicroRNA gene expression deregulation in human breast cancer. *Cancer Res* 2005; 65(16): 7065-70.
56. Garzon R, Volinia S, Liu CG, Fernandez-Cymering C, Palumbo T, Pichiorri F, et al. MicroRNA signatures associated with cytogenetics and prognosis in acute myeloid leukemia. *Blood* 2008;111(6):3183-89.
57. Mott JL, Kobayashi S, Bronk SF, Gores GJ. Mir-29 regulates Mcl-1 protein expression and apoptosis. *Oncogene* 2007; 26(42):6133-140.
58. Bruchova H, Merkerova M, Prchal JT. Aberrant expression of microRNA in polycythemia vera. *Haematologica* 2008; 93(7):1009-16.
59. Lui WO, Pourmand N, Patterson BK, Fire A. Patterns of known and novel small RNAs in human cervical cancer. *Cancer Res* 2007;67(13):6031-43.
60. Slaby O, Svoboda M, Fabian P, Smerdova T, Knoflickova D, Bednarikova M, et al. Altered expression of miR-21, miR-31, miR-143 and miR-145 is related to clinicopathologic features of colorectal cancer. *Oncology* 2008; 72(5-6):397-402.
61. Lin T, Dong W, Huang J, Pan Q, Fan X, Zhang C, Huang L. MicroRNA-143 as a tumor suppressor for bladder cancer. *J Urol* 2009;181(3):1372-80.
62. Amaral FC, Torres N, Saggioro F, Neder L, Machado HR, Silva WA Jr, et al. MicroRNAs differentially expressed in ACTH-secreting pituitary tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94(1):320-3.
63. Tam W, Ben-Yehuda D, Hayward WS. BIC, a novel gene activated by proviral insertions in avian leukosis virus-induced lymphomas, is likely to function through its noncoding RNA. *Mol Cell Biol* 1997;17(3):1490-502.
64. Eis PS, Tam W, Sun L, Chadburn A, Li Z, Gomez MF, Lund E, Dahlberg JE. Accumulation of miR-155 and BIC RNA in human B cell lymphomas. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102(10): 3627-32.
65. Kluiver J, Poppema S, de Jong D, Blokzijl T, Harms G, Jacobs S, Kroesen BJ, et al. BIC and miR-155 are highly expressed in Hodgkin, primary mediastinal and diffuse large B cell lymphomas. *J Pathol* 2005; 207(2):243-49.
66. Gironella M, Seux M, Xie MJ, Cano C, Tomasini R, Gommeaux J, et al. Tumor protein 53-induced nuclear protein 1 expression is repressed by miR-155, and its restoration inhibits pancreatic tumor development. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104(41): 16170-5.
67. Ciafrè SA, Galardi S, Mangiola A, Ferracin M, Liu CG, Sabatino G, et al. Extensive modulation of a set of microRNAs in primary glioblastoma. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 334(4):1351-8.
68. Volinia S, Calin GA, Liu CG, Ambs S, Cimmino A, Petrocca F, et al. A microRNA expression signature in human solid tumors defines cancer targets. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006;103(7):2257-61.
69. Meng F, Henson R, Wehbe-Janek H, Ghoshal K, Jacob ST, Patel T. MicroRNA-21 regulates expression of the PTEN tumor suppressor gene in human hepatocellular cancer. *Gastroenterology* 2007; 133(2): 647-58.

70. Löffler D, Brocke-Heidrich K, Pfeifer G, Stocsits C, Hackermüller J, Kretzschmar AK, et al. Interleukin-6 dependent survival of multiple myeloma cells involves the Stat3-mediated induction of microRNA-21 through a highly conserved enhancer. *Blood* 2007; 110(4): 1330-3.
71. Meng F, Henson R, Wehbe-Janek H, Ghoshal K, Jacob ST, Patel T. MicroRNA-21 regulates expression of the PTEN tumor suppressor gene in human hepatocellular cancer. *Gastroenterology* 2007; 133(2): 647-58.
72. Frankel LB, Christoffersen NR, Jacobsen A, Lindow M, Krogh A, Lund AH. Programmed cell death 4 (PDCD4) is an important functional target of the microRNA miR-21 in breast cancer cells. *J Biol Chem* 2008; 283(2):1026-33.
73. He L, Thomson JM, Hemann MT, Hernando-Monge E, Mu D, Goodson S, et al. A microRNA polycistron as a potential human oncogene. *Nature* 2005; 435(7043): 828-33.
74. Mendell JT. miRiad roles for the miR-17-92 cluster in development and disease. *Cell* 2008;133(2):217-22.
75. O'Donnell KA, Wentzel EA, Zeller KI, Dang CV, Mendell JT. c-Myc-regulated microRNAs modulate E2F1 expression. *Nature* 2005; 435(7043):839-43.
76. Lee YS, Dutta A. MicroRNAs in cancer. *Annu Rev Pathol* 2009; 4:199-227.
77. Vasilatou D, Papageorgiou S, Pappa V, Papageorgiou E, Dervenoulas J. The role of microRNAs in normal and malignant hematopoiesis. *European journal of haematology* 2009; 84(1):1-16.
78. Lee RC, Ambros V. An extensive class of small RNAs in *Caenorhabditis elegans*. *Science* 2001; 294 (5543): 862-4.
79. Waldman SA, Terzic A. A study of microRNAs in silico and in vivo: diagnostic and therapeutic applications in cancer. *FEBS J* 2009; 276(8):2157-64.
80. Costinean S, Zanasi N, Pekarsky Y, Tili E, Volinia S, Heerema N, Croce CM. Pre-B cell proliferation and lymphoblastic leukemia / high-grade lymphoma in E(mu)-miR155 transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103(18):7024-9.
81. Georgantas RW III, Hildreth R, Morisot S, Alder J, Liu CG, Heimfeld S, Calin GA, Croce CM, Civin CI. CD34+ hematopoietic stem-progenitor cell microRNA expression and function: a circuit diagram of differentiation control. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007;104:2750-5.
82. Fontana L, Pelosi E, Greco P, Racanicchi S, Testa U, Liuzzi F, et al. MicroRNAs 17-5p-20a-106a control monocytopenia through AML1 targeting and M-CSF receptor upregulation. *Nat Cell Biol* 2007; 9(7):775-87.
83. O'Connell RM, Rao DS, Chaudhuri AA, Boldin MP, Taganov KD, Nicoll J, et al. Sustained expression of microRNA-155 in hematopoietic stem cells causes a myeloproliferative disorder. *J Exp Med* 2008; 205(3): 585-94.
84. Bellon M, Lepelletier Y, Hermine O, Nicot C. Deregulation of microRNA involved in hematopoiesis and the immune response in HTLV-I adult T-cell leukemia. *Blood* 2009; 113(20): 4914-7.
85. Fazi F, Racanicchi S, Zardo G, Starnes LM, Mancini M, Travaglini L, et al. Epigenetic silencing of the myelopoiesis regulator microRNA-223 by the AML1/ ETO oncoprotein. *Cancer Cell* 2007; 12(5): 457-66.
86. Ventura A, Young AG, Winslow MM, Lintault L, Meissner A, Erkland SJ, et al. Targeted deletion reveals essential and overlapping functions of the miR-17 through 92 family of miRNA clusters. *Cell* 2008; 132(5): 875-86.
87. Yan J, Gumireddy K, Li A, Huang Q. Regulation of Mesenchymal Phenotype by MicroRNAs in Cancer. *Curr Cancer Drug Targets* 2013; 13(9):930-4.
88. Hao J, Zhao S, Zhang Y, Zhao Z, Ye R, Wen J, Li J. Emerging Role of MicroRNAs in Cancer and Cancer Stem Cells. *J Cell Biochem* 2013;115(4):605-10.
89. Kiko T, Nakagawa K, Tsuduki T, Furukawa K, Arai H, Miyazawa T. MicroRNAs in Plasma and Cerebrospinal Fluid as Potential Markers for Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis* 2013;39(2):253-9.
90. Jia P, Teng J, Zou J, Fang Y, Zhang X, Bosnjak ZJ, et al. miR-21 contributes to xenon-conferred amelioration of renal ischemia-reperfusion injury in mice. *Anesthesiology* 2013; 119(3):621-30.

Yazışma adresi:

Dr. Barbaros Şahin Karagün
Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi
Çocuk Hematoloji AD, Adana, Türkiye
Tel: 0322 338 60 60
Faks: 0322 338 60 60
E-mail: drbkaragun@yahoo.com.tr
