

T.C
EGE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BEYİN TÜMÖRLERİNDE
UZUN KODLAMAYAN RNA' LARIN FONKSİYONLARININ
ARAŞTIRILMASI**

Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

Doktora Tezi
Tuğçe BALCI

DANIŞMAN: Prof. Dr. Cumhuri GÜNDÜZ
Bornova/İZMİR
2015

T.C
EGE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BEYİN TÜMÖRLERİNDE
UZUN KODLAMAYAN RNA' LARIN FONKSİYONLARININ
ARAŞTIRILMASI**

Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

Doktora Tezi
Tuğçe BALCI

DANIŞMAN: Prof. Dr. Cumhuri GÜNDÜZ
Bornova/İZMİR
2015

TEZ ONAY SAYFASI

Kurum Adı : Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi
Anabilim Dalı : Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı
Program : Tıbbi Biyoloji
Tez Konusu : Beyin Tümörlerinde Uzun Kodlamayan RNA'ların Fonksiyonlarının Araştırılması
Danışman : Prof.Dr.Cumhur GÜNDÜZ
Tezi Hazırlayan : Tuğçe BALCI

Değerlendirme Kurulu Üyeleri :

Adı Soyadı :

Başkan (Danışman)

: Prof.Dr.Cumhur GÜNDÜZ

Üye / İmza

: Prof.Dr.Özgür ÇOĞULU

Üye / İmza

: Prof.Dr.Selim UZUNOĞLU

Üye / İmza

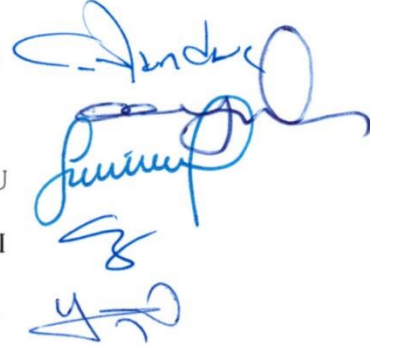
: Doç.Dr.Çığır BİRAY AVCI

Üye / İmza

: Doç.Dr.Yavuz DODURGA

Tezin Kabul Edildiği Tarih

: 08 / 12 / 2015



ÖNSÖZ

İnsanın; öncelikle kendi özgüvenini geliştirerek, topluma faydalı birey olabilmesi için üretken olması vazgeçilemez unsurdur. Bu çerçevede üretken olabilmenin temel beslenme kaynaklarından en önemlisi de iyi bir bilimsel eğitim almaktır. Kendimce bu bilince erişen bireylerden olduğum düşüncesindeyim.

Bu anlamda kaliteli Yüksek Lisans Eğitimi alma sürecinden sonra akademik eğitimin ikinci aşaması olan doktora eğitimimin gerek bilimsel çalışmalarında, gerekse sivil yaşamımda büyük özveri ile yol gösteren, sorunlarımı sabırla ve hoşgörüyle dinleyen, örneklerle çözüm yöntemlerini gösteren, her koşulda yanımda hissettiğim ve tezimin her aşamasına bir fiil katkı koyan bilim adamı, saygı değer danışman hocam ve Anabilim Dalı Başkanımız Sn.**Prof. Dr. Cumhur Gündüz'** e,

Tez çalışmamda ihtiyaç duyduğum konularda bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan ve tez savunmamda jüri üyesi olan Tıp Fakültesi Dahili Tıp Bilimleri Bölümü Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Ana Bilim Dalı öğretim üyesi Sn. **Prof. Dr. MUHSİN ÖZGÜR ÇOĞULU** ' ya

Doktora Eğitimin sürecinde destek ve yol gösterme fedakarlığını esirgemeyen Anabilim Dalımızın saygı değer hocaları, Sn. **Doç. Dr. Zuhale EROĞLU** ve Sn. **Doç. Dr. Buket KOSOVA'** ya

Yüksek Lisans eğitimime başladığım andan itibaren, doktora çalışmalarımda da bilgi ve becerisiyle zor anlarımda sorunları çözmemde yüreklendirip, destek olan Sn. **Doç. Dr. Çığır BİRAY AVCI'** ya,

Gerek akademik çalışma ortamında bilgi ve becerisinden faydalandığım, gerekse arkadaşlık ortamında birlikte olmaktan keyif aldığım Sn. **Yrd. Doç. Dr. Nur SELVİ'** ye,

Eğitimimde bilgilerini esirgemeyerek benimle paylaşan, Araş. Gör. **Vildan BOZOK ÇETİNTAŞ'** a, Araş. Gör. **Burçin TEZCANLI'** ya, Araş. Gör. **Aslı TETİK'** e ve Araş. Gör. **Duygu AYGÜNEŞ'** e,

Çalışma ortamında takım ruhu ile birçok şeyi birlikte paylaştığımız ve ihtiyaç duyduğumda; hep yanımda olan çalışma arkadaşlarım Araş. Gör. **Sunde YILMAZ SUSLÜER'** e, Doktora Öğrencileri **Çağla KAYABASI** ve **Besra ÖZMEN YELKEN'** e,

Tez çalışmalarımı yürütürken bilgi paylaşımında bulunduğumuz çalışma arkadaşlarım Doktora Öğrencileri **Zekeriya DÜZGÜN, Zeynep MUTLU, Bakiye GÖKER, Cansu ÇALIŞKAN, Sezgi KIPÇAK'** a, Yüksek Lisans Öğrencileri; **Buket ÖZEL, Özgün ÖZALP'** e, **Sevil GONCA'** ya

Tez çalışmalarımı yürütürken bilgi paylaşımında bulunduğum aynı zamanda teknik desteğini esirgemeyen kök hücre anabilim doktora öğrencilerinden **Hasan Onur ÇAĞLAR'** a,

Anabilim dalımızın laboratuvar teknikeri Sn. **Hale GÜNDÜZ'** e,

Doktora sürecimin tez aşamasında tanışarak hayatımızı birleştirmeye karar verdiğimiz aşamadan itibaren doktoramı hızla ve başarılı bir şekilde tamamlayabilmem için manevi desteğinden dolayı nişanım **Taner OKCANOĞLU'** na

Aile içi demokrasinin tüm kurallarıyla işletildiği ortamda yaptığımız fikir alışverişleri sonucunda, doğruyu bulmam için ailemce sunulan alternatifli seçeneklerden yaptığım tercih ve aldığım kararlardan bu güne kadar pişman olmadığım gibi ailemin güvenini de asla sarsmadım. Bu nedenle bulunduğum topluma layık kişi olarak bu günlere gelmemi sağlayan, bana benliğimi kazandıran, geleceğim için maddi ve manevi desteğini büyük özveri ile veren, özlemlerini hep içimde taşıdığım, çocukları olmaktan onur ve gurur duyduğum **Anneme ve Babam'a**

TEŞEKKÜR EDERİM

İZMİR, 08/10/ 2015

Biyolog Tuğçe BALCI

ÖZET

Beyin tümörlerinde uzun kodlamayan RNA' ların fonksiyonlarının araştırılması

Primer beyin tümörleri, çocukluk çağında görülme sıklığı yüksek olup kansere bağlı ölümler arasında yer almaktadır. Uzun kodlamayan RNA' lar (lncRNA), ncRNA' ların yeni bir sınıfıdır. lncRNA' lar, imprinting, epigenetik regülasyon, apoptoz, hücre döngüsü kontrolü, transkripsiyonel ve translasyonel regülasyon, splicing, hücre gelişimi, farklılaşması ve yaşlanması gibi çeşitli biyolojik rollerle ilişkilendirilmiştir. lncRNA' ların hatalı ifade edilenlerinin kanseri de içeren çeşitli hastalıkların progresyonu ve gelişiminde kritik rol oynadığı düşünülmektedir.

Bu çalışmada; uzun kodlamayan RNA ekspresyon değişimlerine bağlı olarak farklı beyin tümörü hücre hatlarının moleküler patogenezindeki rolünün belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu kapsamda, beyin tümörü hücreleri ve beyin tümörü kök hücre hatlarının; insan lncRNA ve hastalıkla ilişkilendirilmiş insan lncRNA array plakları ile ekspresyon profilleri belirlenmiştir.

Bu amaçla hücre hatlarından U118MG-U87MG; glioblastoma; astrositoma (grade IV), LN18; glioblastoma; glioma (grade IV), Daoy; medullablastom, SW 1088; astrositoma ve insan parental beyin kanseri kök hücresi kullanılmıştır. Kontrol grubu olarak da insan nöronal kök hücre (korteks) ve Normal İnsan Astrosit hücre hatları kullanılmıştır.

Total RNA izolasyonu RNeasy Plus Mini Kit ile izole edilmiştir. Reverz transkriptaz prosüdüğü LncProfiler cDNA sentez kit kullanılarak cDNA sentezi yapılmıştır. Hastalıkla ilişkilendirilmiş lncRNA ve insan lncRNA ekspresyonları lncRNA ekspresyonları LightCycler® 480 real-time PCR ile çalışılmıştır. lncRNA genlerinin ekspresyon profilleri kontrol hücreleri ile karşılaştırıldığında anlamlı azalış ya da artış göstermişlerdir.

Sonuç olarak; insan lncRNA profilleri ve hastalıkla ilişkilendirilmiş lncRNA array plakları ile anti-kanser gen ekspresyon değişimleri belirlendi. Bu

bulguların tümörögenez sürecinde etkili olabileceği ve beyin tümörü tedavisi için ek bir tedavi protokolü gerçekleştirilebileceğini düşündürmektedir.

Anahtar kelimeler: Uzun kodlamayan RNA; Beyin tümörü; Beyin tümörü kök hücre



ABSTRACT (İNGİLİZCE ÖZET)

Investigation of long non-coding RNAs functions in brain tumours

Primary brain tumors are the leading cause of cancer-related deaths with the high incidence rate in childhood. Long noncoding RNAs (lncRNA) are being described as a new class for ncRNA. lncRNAs are associated with various biological roles such as imprinting, epigenetic regulation, apoptosis, cell cycle control, transcriptional and translational regulation, splicing, cell growth, differentiation, and aging. Aberrant expression of lncRNAs are thought to play a critical role in progression of various diseases and development including cancer.

In this study; due to the long non-coding RNA expression changes, difference of brain tumor cell lines was aim to determine the role of the molecular pathogenesis. In this context, the expression profiles with human lncRNA and disease related human lncRNA array plate was determined in brain cancer cells and brain cancer stem cell line.

U118MG-U87MG; glioblastoma; astrositoma (grade IV), LN18; glioblastoma; glioma (grade IV), Daoy; medullablastoma, SW 1088; astrositoma and human parental brain cancer stem were used. As a control group; human neural stem cells (cortex) and normal human astrocyte cell lines were used.

Total RNA was isolated from the cells RNeasy Plus Mini Kit. Reverse transcription procedure was performed for cDNA synthesis by using LncProfiler cDNA synthesis kit. the expressions of disease related human lncRNA and human lncRNA profiles were studied by LightCycler® 480 real-time PCR. expression profiles of lncRNA genes showed a significant decrease or increase, compared to the control Cells.

As a result, fold changes for anti-cancer gene expressions were detected with human lncRNA and disease-related human lncRNA array plates. Data from our experiments indicate that expression profiles of lncRNA

may influence tumorigenesis process and that may be useful for additional treatment protocols of human brain tumors.

Keywords: Long non-coding RNA; Brain tumors; Brain tumour stem cell



İÇİNDEKİLER

BÖLÜM I	1
1.1. GİRİŞ	1
1.2. GENEL BİLGİLER	2
1.2.1. Kanser	2
1.2.1.1. Beyin Kanserleri	2
1.2.1.1.1. Gliomalar	10
1.2.1.1.1.1. Düşük Dereceli Gliomalar	10
1.2.1.1.1.1.1. Astrositoma	11
1.2.1.1.1.1.2. Piloitik Astrositoma (PA)	12
1.2.1.1.1.1.3. Pleomorfik Ksantoastrositom	13
1.2.1.1.1.1.4. Diffüz Astrositoma	13
1.2.1.1.1.1.5. Anaplastik Astrositomalar / Oligodendrogliomalar (AA/AO)	14
1.2.1.1.1.1.6. Subependimal Dev Hücreli Astrositom	15
1.2.1.1.1.1.7. Oligoastrositoma	16
1.2.1.1.2. Glioblastoma (GBM)	16
1.2.1.1.2.1. Biyolojik Davranış	16
1.2.1.1.2.2. Epidemiyoloji	17
1.2.1.1.2.3. Etiyolojisi	18
1.2.1.1.2.4. Primer ve Sekonder GBM' ler	19
1.2.1.1.2.5. Glioblastoma ve Malign Tümörler	22
1.2.1.1.2.6. GBM ilişkili Kanser Kök Hücreleri	23
1.3. Kanser Kök Hücrelerinin Terapötik Etkileri	27
1.4. GBM ve LncRNA ilişkisi	29
1.5. GBM' in Tedavisinde İmmüterapi	30
1.2.1.1.3. Medulloblastoma	31
1.2.1.1.3.1. Epidemiyolojisi	31
1.2.1.1.3.2. Genetik ve Biyolojik Görünümü	31
1.2.1.1.3.3. Wnt Medulloblastomalar	31
1.2.1.1.3.4. Shh Medulloblastomalar	34
1.2.1.1.3.5. Grup 3 Medulloblastomalar	35

1.2.1.1.3.6. Grup 4 Medulloblastomalar.....	35
1.6. Uzun kodlamayan RNA' lar (LncRNA).....	36
1.6.1. LncRNA' ların Kansere İlişkisi.....	38
1.6.2. Glioma Gelişiminde Uzun Kodlamayan RNA' lar.....	40
1.6.3. Pluripotent Kök Hücre İle LncRNA İlişkisi.....	40
1.6.4. Glioma Gelişimi ve Tümörögenez Üzerine LncRNA' ların Rolü	41
1.6.4.1. LncRNA: Sinyal Yolakları Üzerine Aracı.....	41
1.6.4.2. LncRNA: Moleküler Yıkımlar	41
1.6.4.3. LncRNA: Moleküler Klavuz Olarak Çalışırlar	42
1.6.4.4. LncRNA: Scaffold Fonksiyonu.....	42
1.6.5. Uzun İntergenik Kodlamayan RNA.....	43
1.6.5.1. Metastaz İlişkili Akciğer Adenokarsinomu Transkript 1 (MALAT1)	43
1.6.5.2. H19	44
1.6.5.2. HOTAIR	45
1.6.5.3. XIST	46
1.6.5.4. MEG3 (Maternal Expressed Only Gene 3)	47
BÖLÜM II.....	55
2.1. GEREÇ ve YÖNTEM.....	55
2.1.1. Beyin Tümörü Hücre Kültürü	55
2.1.2. Hücre Kültürü Aşamasında Kullanılan Cihazlar ve Kimyasallar	56
2.1.3. Beyin Kanseri Hücre Hatları	57
2.1.4. Hücre Canlılık Testi	57
2.1.5. LncRNA Ekspresyon Profillemesi:.....	58
2.1.5.1.Total RNA İzolasyonu	58
2.1.5.1.1.Total RNA Miktarlarının Ölçümü ve Kalite Kontrolü: ..	59
2.1.5.2. Revers Transkriptaz RT-PCR Analizi	60
2.1.5.2.1. cDNA sentezi	60
2.1.5.2.2. RT-PCR Analizi	61
2.1.5.2.3. LightCycler 480 Gerçek Zamanlı PCR	62
2.1.6. İnsan LncProfileri	62

2.6.2. Hastalıkla İlişkilendirilmiş İnsan LncRNA Profilleri	65
2.6.2.1. LightCycler 480 Gerçek Zamanlı RT-PCR Protokolü.....	67
2.6.2.1.1. İnsan LncRNA Profil Karışımı	67
2.6.2.1.2. Hastalıkla İlişkilendirilmiş İnsan LncRNA Profil Master Karışımı.....	67
2.7. İstatistiksel Analizler	70
BÖLÜM III.....	71
3.1. BULGULAR	71
3.1.1. İnsan LncRNA Profilleri	71
3.1.2. Hastalıkla İlişkilendirilmiş İnsan LncRNA Profilleri	86
BÖLÜM IV	102
4.1. TARTIŞMA	102
BÖLÜM V	121
5.1. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	121
BÖLÜM VI	123
6.1. KAYNAKLAR.....	123
ÖZGEÇMİŞ	141

TABLO DİZİNİ

Tablo 1: ABD-2015 verilerine göre tüm kanser olguları.....	5
Tablo 2: WHO sınıflaması (2007)	6
Tablo 3: Glioma Sınıflaması	12
Tablo 4: Glioblastoma Gelişiminde risk faktörleri	18
Tablo 5: GBM' lerde Kök Hücre Belirteçleri.....	25
Tablo 6: Kullanılan Cihazlar	56
Tablo 7: Kullanılan Kimyasallar ve Flasklar.....	56
Tablo 8: cDNA reaksiyon basamakları	60
Tablo 9: Plate'teki Gen Düzenlenmesi	63
Tablo 10: İnsan LncRNA Genleri ve Sembolleri.....	63
Tablo 11: Plate'teki Gen Düzenlenmesi	65
Tablo 12: Hastalıkla İlişkilendirilmiş İnsan LncRNA Genleri ve Sembolleri.....	65
Tablo 13: İnsan LncRNA Real- Time PCR reaksiyonu	67
Tablo 14: Hastalıkla İlişkilendirilmiş İnsan LncRNA Real- Time PCR reaksiyonu	68

ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 1: a) 2008-2012 kadın ve erkeklerde beyin ve sinir sistemi kanser görülme sıklığı b) Yaşlara göre ölüm oranları	3
Şekil 2: 2013- 2015 yılları arasında farklı yaş gruplarında görülme yüzdeleri (GBM)	17
Şekil 3: Primer ve Sekonder Glioblastomadaki Genetik Yolaklar	21
Şekil 4: Primer ve Sekonder Glioblastoma Yolundaki Genetik Değişiklikler	21
Şekil 5: GBM' lerde PI3K/AKT/mTOR yolakları	27
Şekil 6: Kök Hücre Populasyonunu içeren tümör tedavileri	28
Şekil 7: Wnt Sinyal Yolağı	33
Şekil 8: Medullablastomlardaki farklı altgruplarına göre yaş dağılımı	33
Şekil 9: Shh Yolağı	35
Şekil 10: LncRNA' ların fonksiyonel mekanizması	38
Şekil 11: LncRNA Etki mekanizmasının Sistemik Diagramı	42
Şekil 12: LightCycler 480 Gerçek Zamanlı PCR.....	62
Şekil 13: SW1088 beyin tümörü hücre modelinin insan LncRNA gen ekspresyonlarına (BKKH) olan etkisi.....	72
Şekil 14: SW1088 beyin tümörü hücre modelinin insan LncRNA gen ekspresyonlarına (NHA) olan etkisi.....	73
Şekil 15: SW1088 beyin tümörü hücre modelinin insan LncRNA gen ekspresyonlarına (BNKH) olan etkisi	74
Şekil 16: Beyin Kanser Kök Hücre modelinin insan LncRNA gen ekspresyonlarına (NHA) olan etkisi.....	75
Şekil 17: Beyin Kanser Kök Hücre modelinin insan LncRNA gen ekspresyonlarına (BNKH) olan etkisi	76
Şekil 18: Beyin Nöronal Kök Hücre Modelinin İnsan LncRNA gen ekspresyonlarına (NHA) olan etkisi.....	77

Şekil 19: Daoy hücre modelinin insan LncRNA gen ekspresyonlarına (BNKH) olan etkisi.	78
Şekil 20: Daoy hücre modelinin insan LncRNA gen ekspresyonlarına (NHA) olan etkisi.	79
Şekil 21: Daoy medullablastom hücre modelinin insan LncRNA gen ekspresyonlarına (BNKH) olan etkisi	80
Şekil 22: GBM (U87,U118,LN18) hücre modellerinin insan LncRNA gen ekspresyonlarına (BKKH) olan etkisi.....	81
Şekil 23: GBM (U87,U118,LN18) hücre modellerinin insan LncRNA gen ekspresyonlarına (NHA) olan etkisi.....	82
Şekil 24: GBM (U87,U118,LN18) hücre modellerinin insan LncRNA gen ekspresyonlarına (BNKH) olan etkisi	83
Şekil 25: LN18 glioblastoma hücre modelinin insan LncRNA gen ekspresyonlarına (NHA) olan etkisi.....	84
Şekil 26: U87 MG glioblastoma hücre modelinin insan LncRNA gen ekspresyonlarına (NHA) olan etkisi.....	85
Şekil 27: U118MG glioblastoma hücre modelinin insan LncRNA gen ekspresyonlarına (NHA) olan etkisi.....	86
Şekil 28: SW1088 beyin tümörü hücre modelinin hastalıkla ilişkilendirilmiş insan LncRNA gen ekspresyonlarına (BKKH) olan etkisi.....	87
Şekil 29: SW1088 beyin tümörü hücre modelinin hastalıkla ilişkilendirilmiş insan LncRNA gen ekspresyonlarına (NHA) olan etkisi	88
Şekil 30: SW1088 astrositoma hücre modelinin hastalıkla ilişkilendirilmiş insan LncRNA gen ekspresyonlarına (BNKH) olan etkisi.....	89
Şekil 31: Beyin Kanser Kök Hücre hücre modelinin Hastalıkla ilişkilendirilmiş insan LncRNA gen ekspresyonlarına (NHA) olan etkisi	90
Şekil 32: Beyin kanser Kök Hücre hücre modelinin Hastalıkla ilişkilendirilmiş insan LncRNA gen ekspresyonlarına (BNKH) olan etkisi	91

Şekil 33: Beyin Nöronal Kök Hücre hücre modelinin Hastalıkla ilişkilendirilmiş insan LncRNA gen ekspresyonlarına (NHA) olan etkisi	92
Şekil 34: Daoy hücre modelinin Hastalıkla ilişkilendirilmiş insan LncRNA gen ekspresyonlarına (BKHH) olan etkisi	93
Şekil 35: Daoy hücre modelinin Hastalıkla ilişkilendirilmiş insan LncRNA gen ekspresyonlarına (NHA) olan etkisi	94
Şekil 36: Daoy medullablastoma hücre modellerinin Hastalıkla ilişkilendirilmiş insan LncRNA gen ekspresyonlarına (BNKH) olan etkisi	95
Şekil 37: GBM (U87,U118,LN18) hücre modellerinin Hastalıkla ilişkilendirilmiş insan LncRNA gen ekspresyonlarına (BKHH) olan etkisi	96
Şekil 38: GBM (U87,U118,LN18) hücre modellerinin Hastalıkla ilişkilendirilmiş insan LncRNA gen ekspresyonlarına (NHA) olan etkisi	97
Şekil 39: GBM (U87,U118,LN18) glioblastoma hücre modellerinin Hastalıkla ilişkilendirilmiş insan LncRNA gen ekspresyonlarına (BNKH) olan etkisi	98
Şekil 40: LN18 glioblastoma hücre modelinin Hastalıkla ilişkilendirilmiş insan LncRNA gen ekspresyonlarına (NHA) olan etkisi	99
Şekil 41: U87 MG hücre modelinin Hastalıkla ilişkilendirilmiş insan LncRNA gen ekspresyonlarına (NHA) olan etkisi	100
Şekil 42: U118MG hücre modelinin Hastalıkla ilişkilendirilmiş insan LncRNA gen ekspresyonlarına (NHA) olan etkisi	101

Kısaltmalar Listesi

µl	:	Mikrolitre
18S rRNA	:	18S Ribozomal RNA
AA	:	Anaplastik Astrositomalar
ACTB	:	Aktin Beta
AO	:	Oligodendrogliomalar
ATRA	:	All-trans retinoic acid
B2M	:	Beta- 2- Mikroglobulin
BMP	:	Kemik morfogenezik proteinler
bp	:	Baz çifti
cDNA	:	Komplementer deoksiribonukleik asit
CFO	:	Klasik Oligodendroglioma
CGH	:	Komperatif genomik hibridizasyon
CMV	:	Viral sitomegalovirus antijenleri
CRNDE	:	Kolorektal Neoplazi Differentially Expressed
DMSO	:	Dimetil sülfoksit
DNA	:	Deoksiribonukleik asit
DNAse	:	Deoksiribonukleaz
ECS	:	Embriyonal kök hücre
EGFR	:	Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü
FBS	:	Fötal sığır serum
GAPDH	:	Gliseralaldahit 3 Fosfat-Dehidrogenaz
GAPDH	:	Gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaz
GBM	:	Glioblastoma
GBMO	:	Oligodendrogliomlu Glioblastoma
G-CIMP	:	Glioma-CpG island methylator phenotype
GDC	:	Genomik DNA Kontrol
GFAP	:	Glial Fibriler Asit Protein
HOTAIR	:	Hox transkript antisense intergenik RNA
HPRT1	:	Hipoksantin Fosforibozil Transferaz 1
IDH1	:	İzositrat dehidrogenaz 1 geni
IPSC	:	İndüklenmiş pluripotent kök hücre

Kbp	:	Kilobaz çifti
KKH	:	Kanser kök hücreleri
LGA	:	Düşük dereceli astrositoma
lincRNA	:	Uzun intergenik kodlamayan RNA
LKHK	:	Laringeal küçük hücreli karsinom
lncRNA	:	Uzun kodlamayan RNA
LOH	:	Heterozigozite Kaybı
MALAT1	:	Metastaz ilişkili Akciğer Adenokarsinomu Transkript 1
MEG3	:	Maternal ekspresyon olmuş gen 3
mRNA	:	Mesajcı ribonukleik asit
MSS	:	Merkezi sinir sistemi
NAT	:	Doğal antisens transkript
NFCO	:	Klasik olmayan Oligodendroglioma
PBS	:	Fosfat tampon tuzu
PCR	:	Polimeraz zincir reaksiyonu
PDGF	:	Platelet-derived growth factor receptor
PGK1	:	Fosfoglisarat Kinaz 1
PKA	:	Pleomorfik ksantoastrositom
PMA	:	Pilomyxoid astrositoma
PNET	:	Primitif nöroektodermal tümörlerin
PTEN	:	Fosfataz ve tensin homologu (MMAC-1)
RB2	:	Retinoblastoma
RNU43	:	Küçük Nükleer RNA, C/D Box 43
RPL1A	:	Ribozomal 60S Alt bölüm Protein L1A
RT-PCR	:	Revers transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu
SEGA	:	Subependimal dev hücre astrositoma
Shh	:	SonicHedgehog
TCGA	:	Kanser Genom Atlası
TGF-β	:	Transforme edici büyüme faktörü beta
TSK	:	Tüberoskleroz kompleksleri
U6 snRNA	:	U6 Küçük Nükleer RNA
WHO	:	Dünya Sağlık Örgütü
XIST	:	X-inaktif spesifik transkript

BÖLÜM I

1.1. GİRİŞ

Primer beyin tümörleri, kansere bağlı ölümler arasında çocukluk çağında görülme sıklığı yüksek olup, lösemnin ardından ikinci sırayı almaktadır. Erişkinlerde ise en sık rastlanılan altıncı malignitedir. Genetik ve çevresel faktörler primer beyin tümörlerinin gelişimine katkıda bulunmaktadır.

Uzun kodlamayan RNA' lar (lncRNA), kodlamayan RNA' ların yeni tanımlanan bir sınıfıdır. lncRNA' lar, imprinting, epigenetik regülasyon, apoptoz, hücre döngüsü kontrolü, transkripsiyonel ve translasyonel regülasyon, splicing, hücre gelişimi, farklılaşması ve yaşlanması gibi çeşitli biyolojik rollerle ilişkilendirilmiştir. lncRNA' ların hatalı ifade edilenlerinin kanseri de içeren çeşitli hastalıkların progresyonu ve gelişiminde kritik rol oynadığı düşünülmektedir.

lncRNA' ların embriyogenezde, kök hücre biyolojisinde ve hücrel gelişimde önemli biyolojik rolleri olduğu saptanmış ve gelişimsel, spesifik doku ekspresyon profilleri gösterilmiştir. İnsan lncRNA' larının geniş çeşitliliği, gen ifadesindeki çeşitli rolleri ile tutarlıdır. İnsan lncRNA' ları epigenetik, nükleer import, alternatif splicing, RNA yıkımı ve translasyon gibi biyolojik süreçlerde görev almaktadır.

Ayrıca küçük RNA' lar için prekürsör olarak görev yapabilir. Bu nedenle, anormal lncRNA ekspresyonu çeşitli insan hastalıklarına ve bozukluklara neden olabilir. Ayrıca çeşitli kanser tiplerindeki düzensiz ekspresyonları göz önüne alınırsa, potansiyel onko- veya tümör süpresör RNA' lar olarak görev yapabilirler.

Çalışmamızda; hücre hattı modellerinde uzun kodlamayan RNA ekspresyon değişimlerinin beyin tümörlerinin moleküler patogenezindeki rolünün belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu kapsamda, beyin tümörü hücreleri ve

beyin tümörü kök hücre hatlarının; insan lncRNA ve hastalıkla ilişkilendirilmiş insan lncRNA aray plakları ile ekspresyon profillerinin belirlenmesi projenin konusunu oluşturmaktadır.

1.2. GENEL BİLGİLER

1.2.1. Kanser

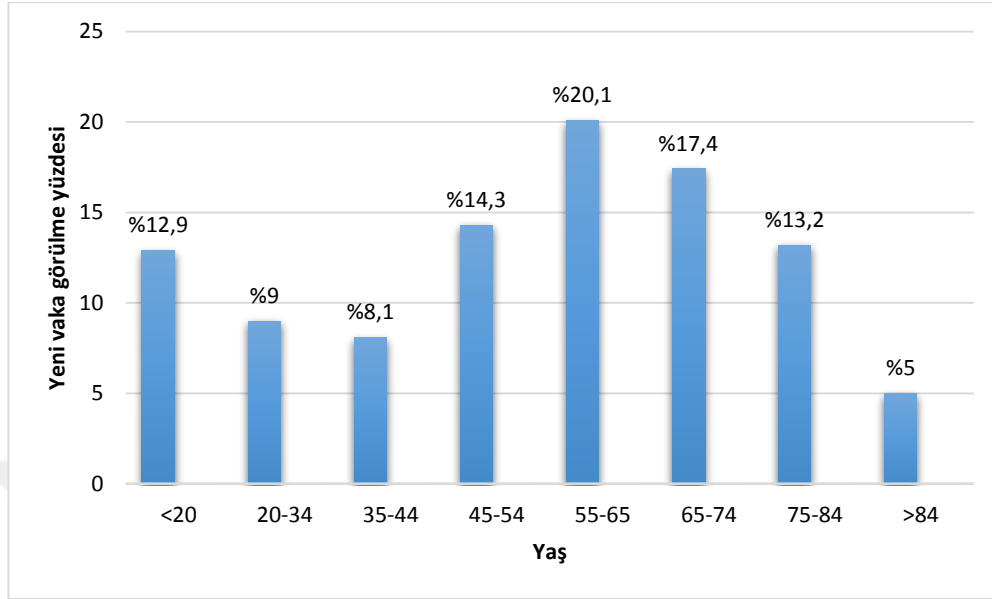
Kanser, anormal hücrelerin kontrolsüzce çoğalması ile karakterize olan hastalıkların bir grubudur. Eğer çoğalma hızı kontrol edilmezse ölüme sonuçlanabilir. Kansere hem eksternal (kimyasallar, radyasyon, tütün, bulaşıcı organizmalar) hem de internal faktörler (metabolizmadan meydana gelen kalıtsal mutasyonlar, hormonlar, immün durumlar ve mutasyonlar) neden olur.

Kanser, radyasyon, cerrahi, kemoterapi, hormonlar ve immünoterapi ile tedavi edilmektedir. Dünyada sekiz ölümden biri kansere bağlıdır. Kanser, AIDS, tüberküloz ve sıtmadan daha fazla ölüme neden olmaktadır. 2010 yılındaki Dünya Sağlık Örgütü (WHO) verilerine göre; kanserin, iskemik kalp hastalığının yerini alacağını göstermektedir (1).

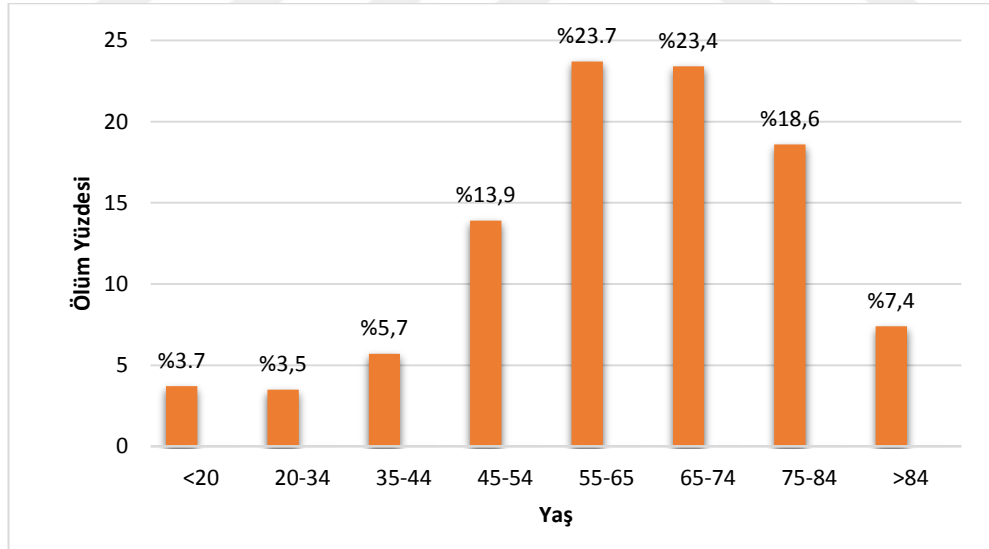
1.2.1.1. Beyin Kanseri

Amerika da her yıl her 100.000 insandan yaklaşık 15-20 olgu beyin kanserine yakalanmakta olup; ortalama 55-64 yaşları arasında tanı konmaktadır. Son zamanlarda yaklaşık %75'inin sağ kalımı 5 yıldır [Şekil:1A, (2, 3)] Beyin ve sinir sistemi hastalıklarında ortalama ölüm 64 yaş olarak belirlenmiştir [Şekil:1B, (3)].

a)



b)



Şekil 1: a) 2008-2012 kadın ve erkeklerde beyin ve sinir sistemi kanser görölme sıklığı b) Yaşlara göre ölüm oranları (Amerika) (6).

Beyin tümöründe erken tanı ve doğru tedavi hastalığın seyri için önemlidir. Beyin tümörleri genellikle baş ağrısı, bulantı, kişilik değişiklikleri, nöbet, ya da görünen fokal nörolojik bozuklukları gibi belirtiler ile teşhis edilir (4).

Merkezi sinir sistemi (MSS) beyin ve omurilikten oluşmaktadır. Beyin ve omurilik tümörleri beyin ve omurilik dokusundaki anormal hücrelerin çoğalmasdır. Beyinden başlayan tümörlere primer beyin tümörleri adı verilmektedir. Vücudun diğer bölümünden başlayan ve beyne yayılan tümörlere metastatik beyin tümörleri adı verilir.

Beyin ve omurilik tümörleri benign ya da malign olabilir. Hem benign hem de malign tümörler tedavi gerektirir. Benign beyin ve omurilik tümörleri çoğalır ve beynin yakın çevresindeki bölgeyi baskılar. Fakat nadiren beynin diğer bölümüne yayılır. Malign beyin ve omurilik tümörleri hızlıca çoğalır ve beynin diğer bölümüne yayılır.

Beyin ve omurilik tümörlerinin birkaç çeşidi hem çocuklarda hem de erişkinlerde görülür. Tümör çeşitleri ve tedavileri genç ve erişkinlerde farklıdır. Erişkinlerde; anaplastik astrositomalar ve glioblastomalar beyin tümörlerinin üçte birini oluşturur. Çocuklarda; astrositomalar beyin tümörlerinin en yaygın görülenleridir.

Prognozu yaş, tümör çapı, tümör tipi ve MSS' de nerede olduğu gibi bazı faktörlere bağlıdır (5). Amerika Birleşik Devletlerinin 2015 verilerine göre tüm kanser olguları arasında % 1.46' yı oluşturmaktadır [Tablo: 1, (6)].

Tablo 1: ABD-2015 verilerine göre tüm kanser olguları (6).

Yaygın Kanser Tipleri	2015 Yeni Olgu Sayıları	2015 Ölüm Sayıları
Meme Kanseri (Kadın)	231,840	40,290
Akciğer ve Bronş Kanseri	221,200	158,040
Prostat Kanseri	220,800	27,540
Kolon ve Rektum Kanseri	132,700	49,700
Mesane Kanseri	74,000	16,000
Cilt Melanoma	73,870	9,940
Non-Hodgkin Lenfoma	71,850	19,790
Tiroid Kanseri	62,450	1,950
Böbrek ve Renal Pelvis Kanseri	61,560	14,080
Endometrial Kanseri	54,870	10,170
Beyin ve Diğer Sinir Sistemi Kanseri	22,850	15,320

WHO Derecelendirmesi

MSS tümörlerinin derecelendirilmesi mitotik aktivite, pleomorfizm, nekroz, endotel proliferasyon ve hücresellik gibi histolojik özelliklere dayandırılmakta olup; bu özelliğe sahip tümörlerin malignansi ölçütüdür.

Sınıflandırma

WHO derece I: Düşük proliferatif potansiyelli lezyonlar bulunmakta ve sadece cerrahi parça alımını takiben iyileşme olasılığı görülmektedir.

WHO derece II: Düşük mitotik aktiviteye rağmen, lezyonlar infiltratif olan atipik hücreleri göstermektedir. Lokal tedaviden sonra derece I malignant tümörlerden daha sık tekrarlamaktadırlar. Bazı tümör çeşitleri malignitelerin yüksek derecelerine ilerleme eğilimindedirler.

WHO derece III: Malignitelerin histolojik bulgulu lezyonlar, nükleer atipik/anaplazi içeren ve artmış mitotik aktivite gösterirler. Genellikle agresif adjuvant radyoterapi ve/yada kemoterapi ile tedavi edilirler.

WHO derece IV: Mitotik aktivite, nekroza yatkınlığı bulunmakta ve genellikle neovaskülarizasyon ile ilişkilendirilmektedir. Dokuları çevreleyen infiltrasyon ve kraniospinal yayılım için eğilimli ve ameliyat sonrası ilerleme, ölümcül sonuçları olan lezyonlardır. Bu lezyonlar genellikle agresif adjuvant tedavi ile tedavi edilir [Tablo:2, (7)].

Tablo 2: WHO sınıflaması (2007)

Nöroepitelyal Doku Tümörleri

ICD-0/Davranış derece	Astrositik Tümörler	WHO
1 9421/1(*)	Pilositik Astrositom	derece I
9425/3(**)	Pilomiksoid Astrositom	derece II
2 9384/1	Subependimal Dev Hücreli Astrositom	derece I
3 9424/3	Pleomorfik Ksantoastrositom	derece II
4 9400/3	Diffüz Astrositom	derece II
9420/3	Fibriller Astrositom	
9411/3	Gemistositik Astrositom	
9410/3	Protoplazmik Astrositom	
5 9401/3	Anaplastik Astrositom	derece III
6 9440/3	Glioblastom	derece IV
9441/3	Dev Hücreli Glioblastom	derece IV
9442/3	Gliosarkom	derece IV
7 9381/3	Gliomatozis Serebri	

Oligodendrogliyal Tümörler

8 9450/3	Oligodendrogliom	derece II
9 9451/3	Anaplastik Oligodendrogliom	derece III

Oligoastrositik Tümörler

10 9382/3	Oligoastrositom	derece II
11 9382/3	Anaplastik Oligoastrositom	derece III

Ependimal Tümörler

12	9383/1	Subependimom	derece I
13	9394/1	Miksopapiller Ependimom	derece I
14	9391/3	Ependimom	derece II
	9391/3	Sellüler	
	9393/3	Papiller	
	9391/3	Berrak Hücreli	
	9391/3	Tanisitik	
15	9392/3	Anaplastik Ependimom	derece III

Koroid Pleksus Tümörleri

16	9390/0	Koroid Pleksus Papillomu	derece I
17	9390/1	Atipik Koroid Pleksus Papillomu	derece II
18	9390/3	Koroid Pleksus Karsinomu	derece III

Diğer Nöroepitelyal Tümörler

19	9430/3	Astroblastom	derece I
20	9444/1	Üçüncü Ventrikülün Kordoid Gliomu	derece II
21	9431/1	Angiosentrik Gliom	derece I

Nöronal ve Mikst Nöronal-Glial Tümörler

22	9493/0	Serebellumun Displastik Gangliositomu (Lhermitte-Duclos)	
23	9412/1	Desmoplastik İnfantil Astrositom / Gangliogliom	derece I
24	9413/0	Disembryoplastik Neuroepitelyal Tümör	derece I
25	9492/0	Gangliositom	derece I
26	9505/1	Gangliogliom	derece I
27	9505/3	Anaplastik Gangliogliom	derece III
28	9506/1	Santral Nörositom	derece II
29	9506/1	Ekstraventriküler Nörositom	derece II
30	9506/1	Serebellar Liponörositom	derece II
31	9509/1	Papiller Glionöronal Tümör	derece I
32	9509/1	V. Ventrikülün Rozet Oluşturmuş Glionöronal Tümörü	derece I
33	8680/1	Paragangliom	derece I

Pineal Bölge Tümörleri

34	9361/1	Pineositom	derece I
35	9362/3	İntermediyer Diferansiyasyon Gösteren Pineal Parankimal Tümör	derece II, III
36	9362/3	Pineoblastom	derece IV
37	9395/3	Pineal Bölgenin Papiller Tümörü	derece II, III

Embriyonal Tümörler

38	9470/3	Medulloblastom	derece IV
	9471/3	Desmoplastik/Nodüler Medulloblastoma	
	9471/3	Şiddetli Nodülerite Yapan Medulloblastom	derece IV
	9474/3	Anaplastik Medulloblastom	derece IV
	9474/3	Büyük Hücreli Medulloblastom	
39	9473/3	SSS Primitif Nöroektodermal Tümör	derece IV
	9500/3	SSS Nöroblastom	

	9490/3	SSS Ganglionöroblastom	
	9501/3	Medulloepitelyom	
	9392/3	Ependimoblastom	
40	9508/3	Atipik Teratoid/Rabdoid Tümör	derece IV

Kranyal ve Paraspinal Sinirlerin Tümörleri

41	9560/0	Schwannom (Nörilemmom, Nörinom)	derece I
	9560/0	Sellüler	
	9560/0	Pleksiform	
	9560/0	Melanotik	
42	9540/0	Nörofibrom	derece I
	9550/0	Pleksiform	
43		Perinörioma	derece I, II, III
	9571/0	Perinöriom, NOS	
	9571/3	Malin Perinöriom	
44		Malin Periferik Sinir Kılıfı Tümörleri (MPNST)	derece II, III, IV
	9540/3	Epitelioid MPNST	
	9540/3	Mezenkimal Diferansiyasyon Gösteren MPNST	
	9540/3	Melanotik MPNST	
	9540/3	Glandüler Diferansiyasyon Gösteren MPNST	

Meninkslerin Tümörleri

Meningotelyal Hücrelerin Tümörleri

45	9530/0	Meningioma	derece I
	9531/0	Meningotelyal	
	9532/0	Fibröz (Fibroblastik)	
	9537/0	Transisyonel (Mikst)	
	9533/0	Psammomatöz	
	9534/0	Angiomatöz	
	9530/0	Mikrokistik	
	9530/0	Sekretuar	
	9530/0	Lemfoplasmositten zengin	
	9530/0	Metaplastik	
	9538/1	Kordoid	
	9538/1	Berrak Hücreli	
	9539/1	Atipik	derece II
	9538/3	Papiller	
	9538/3	Rabdoid	
	9530/3	Anaplastik (Malin)	derece III

Mezenkimal Tümörler

46	8850/0	Lipom	
47	8861/0	Angiolipom	
48	8880/0	Hibernom	
49	8850/3	Liposarcom	
50	8815/0	Soliter Fibröz Tümör	
51	8810/3	Fibrosarkom	
52	8830/3	Malin Fibröz Histiositom	
53	8890/0	Leiomyom	

54	8890/3	Leiomyosarkom	
55	8900/0	Rabdomyom	
56	8900/3	Rhabdomyosarkom	
57	9220/0	Kondrom	
58	9220/3	Kondrosarkom	
59	9180/0	Osteom	
60	9180/3	Osteosarkom	
61	9210/0	Osteokondrom	
62	9120/0	Hemangiom	
63	9133/1	Epithelioid Hemangioendotelyom	
64	9150/1	Hemangioperisyitom	derece II
65	9150/3	Anaplastik Hemangioperisyitom	derece III
66	9120/3	Angiosarkom	
67	9140/3	Kaposi Sarkomu	
68	9364/3	Ewing Sarkom - PNET	

Primer Melanositik Lezyonlar

69	8728/0	Diffüz Melanositozis
70	8728/1	Melanositom
71	8720/3	Malin Melanom
72	8728/3	Meningeal Melanomatosis

Meninkslerle İlişkili Diğer Tümörler

73	9161/1	Haemangioblastom	derece I
----	--------	------------------	----------

Lenfomalar ve Hemapoietik Tümörler

74	9590/3	Malin Lenfomalar
75	9731/3	Plazmositom
76	9930/3	Granülositik Sarkom

Germ Hücre Tümörleri

77	9064/3	Germinom
78	9070/3	Embriyonal Karsinom
79	9071/3	Yolk Sak Tümörü
80	9100/3	Koriokarsinom
81	9080/1	Teratom
	9080/0	Matür
	9080/3	İmmatür
	9084/3	Malin Transformasyon Gösteren Teratom
82	085/3	Mikst Germ Hücre Tümörleri

Sellar Bölge Tümörleri

83	9350/1	Kraniofaringiom	derece I
	9351/1	Adamantinomatöz	
	9352/1	Papiller	
84	9582/0	Granüler Hücreli Tümör	derece I
85	9432/1	Pituisitom	derece I
86	8991/0	Adenohipofizin İğsi Hücreli Onkositomu	derece I

1.2.1.1.1. Gliomalar

Gliomalar, glial hücrelerden köken alıp; astrositomalar, glioblastoma, oligodendroglioma, ependimom, karışık glioma ve aksi belirtilmedikçe malign gliomalar ve nadir histolojik varyantlar olarak alt sınıflara ayrılmaktadır. Malign gliomalar en sık görülmekte ve MSS' inden kaynaklanan ölümcül kanserler arasında yer almaktadır. Dünya sağlık örgütü astrositomaları 4 sınıfa ayırmaktadır: derece I yada pilositik astrositoma, derece II yada düşük dereceli astrositoma, derece III yada anaplastik astrositoma ve derece IV yada glioblastoma (GBM)' dir (8).

1.2.1.1.1.1. Düşük Dereceli Gliomalar

Düşük dereceli gliomalar, derece I tümörleri içermektedir. Derece II tümörler ise yalnız sitolojik atipik varlığıyla karakterize edilirler (7). Düşük dereceli astrositik tümörler; subependimal dev hücre astrositoma (SEGA) ve pilositik astrositoma (WHO derece I) olduğu kadar; diffüz astrositoma, pilomyxoid astrositoma (PMA), pleomorfik ksantoastrositom (PKA) (WHO grade II)' ları içerir. Düşük dereceli oligodendriglial tümörler; oligodendriogliomalar, oligoastrositomalar (WHO derece II)' ları içerir (7). Derece I tümörleri takiben düşük dereceli glioneuronal tümörler: gangliogliomalar, dezmoplastik infantil astrositoma, ganglioglioma, disembriyoplastik nöroepitelyal tümörleri içerir (7).

Risk Faktörleri

Çeşitli çevresel risk faktörleri çevresel mazuriyet ve artan beyin tümörü oluşumları arasındaki bağlantının gerçekliği incelenmiştir. MSS' nin törepatik yada yüksek doz radyasyona mazuriyeti artan sekonder beyin tümörlerinin riski ile korelasyon gösterdiği gösterilmiştir (9). Mutasyonlar; artan glioma riski ile ilişkili çeşitli genetik mutasyonlar tanımlanmıştır. Nörofibromatozis tip 1 ve 2 de NF1, NF2 mutasyonları; tüberöz skleroz da TSC1 ve TSC2 mutasyonları; Li-Fraumeni sendromunda TP53 mutasyonları; APC, hMLH1,

hMLH2, PMS2 ve (Fosfataz ve tensin homologu (MMAC-1)) PTEN mutasyonlarını içeren Turcot's sendromu ve multiple hamartomas' tır (9).

Gliomalarda Epigenetik Disregülasyonlar

Anormal epigenetik değişimlerin yanı sıra, glioblastomlarında içeren bazı kanserlerin yaygın niteliği olarak meydana gelmektedir (10). Son transkriptom analizi insan genomunun %90' ından fazlasında transkribe olduğunu ve transkripsiyonun protein kodlama bölgeleri için sınırsız olmadığını göstermiştir (11).

İnsan genomunu transkribe eden kodlamayan RNA ların büyük kısmı olan bir grup lncRNA son genomik çalışmalarda gösterilmiştir (11).

lncRNA' ların metilaz, demetilaz, deasetilaz gibi kromatin modifiye edici proteinler için scaffold aracılığıyla gen ifadesini düzenlediği ve cis-trans regülasyonunda birbirine yakın olabilen hedef bölgedeki bu proteinlerin alımını sağladığı bilinmektedir (12-14). Fakat scaffold fonksiyonu sadece birkaç lncRNA' yı tanımlamıştır. Daha fazla araştırmalarla lncRNA' ların gliomagenezde gen düzenleyici mekanizmada önemli olduğunun aydınlatılması gerekmektedir. Yapılacak çalışmalar GBM' lar da epigenom hedefli tedaviler için yol gösterici olabilir (15).

1.2.1.1.1.1. Astrositoma

Astrositler, eozinofilik sitoplazma ve süreçler ile MSS' nin multipolar, yıldız benzeri hücreleridir. Astrositomalar infiltratif malign anaplastik astrositomalar gibi düşük dereceli astrositomalar ve astrositik farklılaşma sergileyen oldukça geniş tümörlerdir. 2007 yılında; MSS tümörlerindeki WHO sınıflama sisteminde histopatolojik kriterlere dayalı belirli tipler içerisinde kanserlerin heterojen bir grubu olarak kategorize edilmiştir (7). Sınırlandırılmış astrositomalar; Piloitik Astrositoma (PA), PKA, SEGA' ları içerirken infiltratif astrositomalar; Diffüz Astrositoma derece III, Anaplastik Astrositoma derece III ve Glioblastoma derece IV' tür [Tablo:3, (16)].

Tablo 3: Glioma Sınıflaması

	WHO Derece	Astrositoma	Oligodendroglioma		Ependimoma
Sınırlı	I	PA PXA SEGA DİFFÜZ			Subependimoma Myxopapillar Ependimoma
Diffüz	II	ASTROSİTOMA	NFCO	CFO	Ependimoma
	III	Anaplastik Astrositoma	Oligoastrositoma Anaplastik	Oligodendroglioma Anaplastik	Anaplastik Ependimoma
	IV	Primer GBM Sekonder GBM	Oligoastrositoma GBMO	Oligodendroglioma	

CFO: Klasik Oligodendroglioma GBMO: Oligodendrogliomlu Glioblastoma

NFCO: Klasik olmayan Oligodendroglioma (17).

1.2.1.1.1.2. Pilositik Astrositoma (PA)

PA, WHO sınıflamasına göre derece I de yer almaktadır. Tüm gliomaların %5-6' sını temsil eden sistik tümörlerdir (9). Pilositik astrositoma oluşumunu temsil eden genetik anomalilikler, BRAF nokta mutasyonunu aktive etmesi ve BRAF V600E mutasyonlarını içermesi kadar 7q34 teki BRAF proto-onkogen bölgesinin tandem duplikasyonunu içerir (18). PAS çocuklarda çok yaygın olan glioma alt tipidir. Yaygın olarak çocuk pilositik astrositoma olarak belirtilmekte olup genelde serebellum da oluşmaktadır. PAS çocuklarda sıklıkla infratentöriyal bölgede bulunmasına rağmen, ya çocuklarda yada erişkinlerde optik sinir ve kiazmada, hipotalamusta, talamus/bazal sinir düğümleri yada serebral sinir kürede tümör lokasyonuna bağlı belirtiler ve semptomlar ile gözlemlenmektedir (7). PAS, subaraknoid boşluk içerisinde ve/yada periventiküler boşlukta meydana gelir ve yalnız

kraniospinal ekseninde yayılmaktadır (7). Toplam total parça alınımından sonra uzun dönem hayatta kalma ile cerrahi çıkarımları içeren tedavisi; ameliyat sonrası tümör kalıntıları durumunda, kemoterapi ve / yada radyoterapi destekleyici tedavi olarak kullanılmaktadır (19).

1.2.1.1.1.3. Pleomorfik Ksantoastrositom

PKA; çocuk, genç erişkinlerde ve 18 yaşının altındaki hastaların üçte ikisinde gözlenmekte olup tüm astrositomaların % 1' den daha azını kapsamaktadır (7). Bu tümörler genellikle beyin ve omurilik zarlarına yapışık ve müral nodüller ile sistik olabilirler. Mikroskopik özellikleri nükleer ve sitoplazmik pleomorfizm ve lipit damlacıklarını içeren büyük ksantomatoz hücreleri içerir (7). BRAF V600E mutasyonları düşük dereceli gliomaların bu tipinde tanımlanmıştır (20). % 22' ü supratentoriyalden meydana gelen PKA' lar serebral sinir kürede lokalize olurlar ve meningioserabral neoplazmalar olarak tanımlanması nedeniyle sıklıkla beyin ve omurilik zarını da içine alırlar (7). Tahmin edilen % 81' i 5 yıl ve % 70' i 10 yıl hayatta kalma süresi ile tanı oldukça olumludur (7). Bu tümörün yüzeysel bölgede olmasından dolayı genellikle mümkün olan cerrahi parça alımına maruz kalan hastaların çoğunluğudur ve alınan parçanın büyük boyutu ile gelişmiş sonuca doğru bir eğilim vardır (21).

1.2.1.1.1.4. Diffüz Astrositoma

Diffüz astrositoma (derece II) infiltratif astrositik tümörlerin erken evresidir. Bu tümörün premalign evresinin olmadığı kabul edilmiştir. Tanı konduğunda; bu tümörlerin çoğu, “platelet-derived growth factor receptor” (PDGF)-alpha' nın aşırı ekspresyonunu, IDH1 gen mutasyonunu ve yaklaşık yarısında TP53 gen ekspresyonunun deregülasyonu ya da gen mutasyonunu ortaya koyabilmektedir (22).

1.2.1.1.1.5. Anaplastik Astrositomalar / Oligodendrogliomalar (AA/AO)

Anaplastik malignant gliomalar (WHO derece III) nükleer polimorfizm sergilemekte ve önemli derecede mitotik aktivite artmaktadır (7). Heterojenik grup olarak sınıflandırılmış anaplastik astrositomalar, anaplastik oligodendriogliomalar ve anaplastik oligoastrositomalar. Bu tümörler gliomaların % 6- 7' sini içermekte ve derece IV GBM' li hastaların çoğunluğu ile yaklaşık % 30' nun hayatta kalma süresi 5 yıldır (23).

Genetik ve Moleküler Belirteçler

AA' lar anaplastik oligodendrogliomlardan daha kötü prognoz taşırlar. AA' lar WHO II astrositomlardan gelişir ve IDH1/2, TP53 ve ATRX' in aynı genetik prekürsör mutasyonlarını içerir. Erken birbirine bağlı genlerdeki mutasyonlar daha yüksek derecedeki anaplastik lezyonlardan gelişen düşük dereceli gliomaların oluşumuna yol açar. IDH konumuna göre sınıflandırma anahtarıdır. IDH wild-type gliomalar IDH mutant gliomalardan daha yüksek derecede eğilim gösterirler. Özellikle yüksek derecede (WHO derece III ve IV) olduğunda, wild-type gliomalar sıklıkla (Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü) EGFR' nin amplifikasyonları ve PTEN delesyonu adı verilen belirli sitogenetik anomalilikler elde edilir (24, 25).

Malign ilerlemeler hem genetik anomalilikler hem de olağan dışı sayıların artması ile ilişkilendirilmiştir; aslında; IDH wild-type anaplastik astrositomalar glioblastomlarınkine benzer sitogenetik anomalilikler gösterirler (26). Yaygın olarak copy number değişimleri GBM' lerde EGFR ve PTEN bölgesinde yer alan kromozom 10 ve 7 üzerinde tanımlanmıştır. EGFR mutasyonları GBM' lerin %30-40' ında görülmektedir. Yüksek dereceli gliomalardaki IDH mutasyonları ise oldukça ayrı görülmektedir. PTEN mutasyonları GBM lerin %80' inde görülmektedir. Bu anomaliliklerin bulgusu IDH wild-tip tümörler olarak tanı, sınıflandırma ve tümör derecelendirmesini desteklemektedir. Copy number değişimlerine ve kromozom 7, 9, 10 da

mutasyonların oluşumuna dayanan astrositomaların sınıflandırılması prodüktörlerin sonlanımında işlev görmektedir (27).

WHO derece II oligodendrogliomlarda tartışıldığı gibi; 1p/19q delesyonlu anaplastik oligodendriogliomalar kemoterapi duyarlılığının artması ve uzun progresyonsuz sağkalım ile ilişkilendirilmektedir (28).

AO' lardaki komperatif genomik hibridizasyon (KGH) çalışmaları kromozom 7' de kazanç ve 4, 9p, 10 kayıpların ilave sapmaları ile iyi diferansiye olmuş oligodendriogliomalar yaygın ortak özellik göstermektedir. WHO derece III' e ilerlemiş, kromozom 7 de benzer kazanç ve 10' da kayıplar olan tekrarlanmış oligodendrogliomalardır. Kromozom 7' nin kaybı ve 10' daki kazanç EGFR amplifikasyonu ile ilişkilendirilmiştir ve GBM' lerde de benzer PTEN kayıpları görülmekte olup zayıf prognoz ile ilişkilendirilmektedir (29-31).

1p/19q kayıp ya da 7q kazanımlı bu tümörler IDH mutasyonları ile yakın ilişki göstermektedir. Oligodendrogliomaların gelişmiş prognoza sahip oldukları bilinmesine rağmen, IDH mutasyonları IDH wild type olguları ile karşılaştırıldığında ilerleyen gelişmiş sağkalıma sahiptirler (32, 33).

1.2.1.1.1.6. Subependimal Dev Hücreli Astrositom

İyi huylu, ağrısız, sınırları çizilmiş ve sıklıkla kireçlenmiş tümörler olup genellikle lateral ventriküler duvarlardan meydana gelirler (7). Bu tümörlerin karakteristik özellikleri deri anjiyofibromları, kalp rabdomyomu ve böbrek anjiyomiyolipomaları içeren otozomal dominant nörokutanöz sendrom olan tüberoskleroz kompleksleri (TSK) ile ilişkilendirilmektedir (7).Tedavi cerrahi yada gözlem altında tutmaktır. mTOR kompleks inhibitörü everolimus, SEGA' lu randomize edilmemiş örnek tüberoskleroz kompleksli hastalarda çalışılmıştır. TSC' li hastalarda; anormal hücre çoğalması ve proliferasyonuna teşvik eden ya TSC1 yada TSC2 genindeki mutasyonlar mTOR kompleks 1' nin yukarı regülasyonunun oluşumuna yol açar (34).

1.2.1.1.1.7. Oligoastrositoma

WHO sınıflamasında derece II ve III karışımı olarak tanımlanmaktadır. Bununla birlikte; hem astrositik hem de oligodendroglial tümör hücrelerin farklılaşması olarak da tanımlanmaktadır (35). Derece II ve III diffüz gliomaların Kanseri Genom Atlası (TCGA) analizinde, bir kısmı 1p/19q delesyona uğramış yada IDH wild-tipken; oligoastrositomalar olarak karakterize edilmiş tümörlerin çoğunluğu, IDH mutant ve TP53 mutasyonlarına sahiptir (36). Benzer olarak; “glioblastoma with oligodendroglioma component” (GBM-0) çalışmalarında bu tümörlerin, ya 1p/19q delesyonlu kombinasyonu ile birlikte IDH mutant yada TP53 mutasyonuna ve sahip sonucuna varılmıştır. EGFR amplifikasyonu ve PTEN kaybı gibi klasik GBM’lerin alternatif değişimlerini içermiş ve wild-tip sonucunada varılmaktadır (37-39).

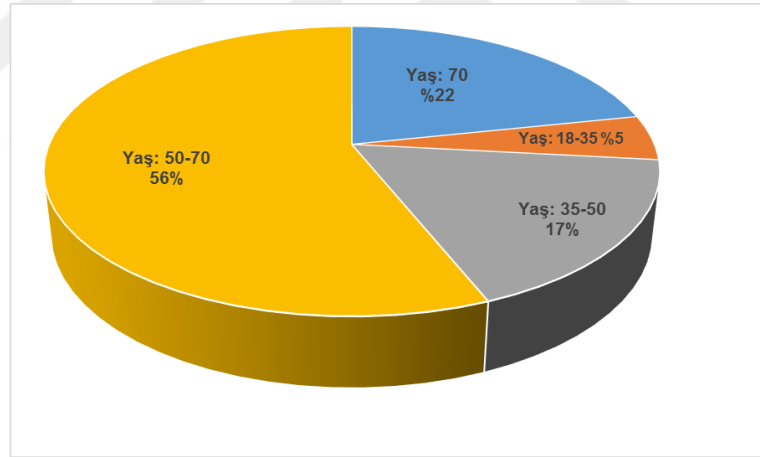
1.2.1.1.2. Glioblastoma (GBM)

1.2.1.1.2.1. Biyolojik Davranış

GBM’ler daha çok beyinde gelişmektedir. Bu neoplazm sinir kürede yada beyin kökünde pons ve serebellumda lokalize olmuştur (40-42). İnfiltratif çoğalmasıyla karakterize olmuştur; bu yüzden; tümör kitlesi normal dokulardan açıkça ayırt edilemez (43, 44). Tümörün çoğalması intrakraniyal basıncın artmasına neden olur; bazen de hidrosetaliye yol açar (45, 46). Serebrospinal sıvı ya da kan ile bu neoplazmaların metastazı nadirdir ve hedefi dalak, göğüs zarı, akciğer, lenf nodülü, karaciğer, kemikler, pankreas ve küçük bağırsaktır (47-54), GBM’lerin küçük metastatik potansiyeli serebellum beyin ve omirilik zarından oluşan bariyerle sonuçlanır (55). Beyin lenfatik damarlardan yoksundur bu yüzden; bu yol boyunca metastaz olanaksızdır (56).

1.2.1.1.2.2. Epidemiyoloji

GBM' ler gliomaların %65' ini oluşturmakta olup en sık rastlanan malign histolojik tipidir (8). Çoğunlukla 40 yaşın üstündeki erkeklerde rastlanmakta olup farklı yaş gruplarındada gözlenebilmektedir (Şekil:2). GBM hastaların sağkalım süresi 12-15 ay olup; % 5' inden daha azında sağkalım 5 yıldır (57, 58). İnvazyon ve hızlı çoğalma yetersiz tedavinin sonuçlarıdır. Çocuk ve erişkinlerde meydana gelen GBM arasında morfolojik farklılık olmamaktadır. Çocuklarda glioma hücrelerinin proliferatif aktivitenin daha yüksek olduğu rapor edilmektedir (59).



Şekil 2: 2013- 2015 yılları arasında farklı yaş gruplarında görülme yüzdeleri (GBM)(60).

1.2.1.1.2.3. Etiyolojisi

GBM' lerin etiyolojisi tam olarak açığa kavuşmamıştır. Glioblastomaların kendiliğinden oluşan tümör olduğuna inanılmaktadır; buna rağmen tıbbi geçmişi ilgili kişilerde gliomanın gelişimi tanımlar (61). Bu tümörün ailesel formu olguların %1' inde görülmektedir (62). Fakat glioblastomaların bu tipinin gelişimi için genetik arka plan spontane oluşandan farklıdır (63).

Glioblastoma bazı genetik hastalıkların seyrinde oluşabilir: Tuberoskleroz (64), Turcot sendromu,(65) Multipl Endokrin Neoplazi tip IIA, (66) Nörofibromatozis tip I, NF1 [Tablo:4, (67)]. Beyin yaralanmaları sonucu oluşan belirli baş yaralanmaları glioblastomaların başlangıcı için yatkınlık kazanır (68, 69).

Tablo 4: Glioblastoma Gelişiminde risk faktörleri (70).

Risk Sınıflaması	Karakteristikler
İrk	Yaygın Olarak Beyaz İrk
Cinsiyet	Yaygın Olarak Erkekler
Yaş	> 45 yaş
Genetik Hastalıklar	Tüberöz skleroz; Nörofibromatozis tip 1 ve 2; Turcot Sendrom; Li-Fraumeni Sendrom
İyonize Radyasyon	İyonize Radyasyona Maruz Kalma
Düşük Dereceli Glioma	Derece II Astrositoma; Derece III Anaplastik Astrositoma

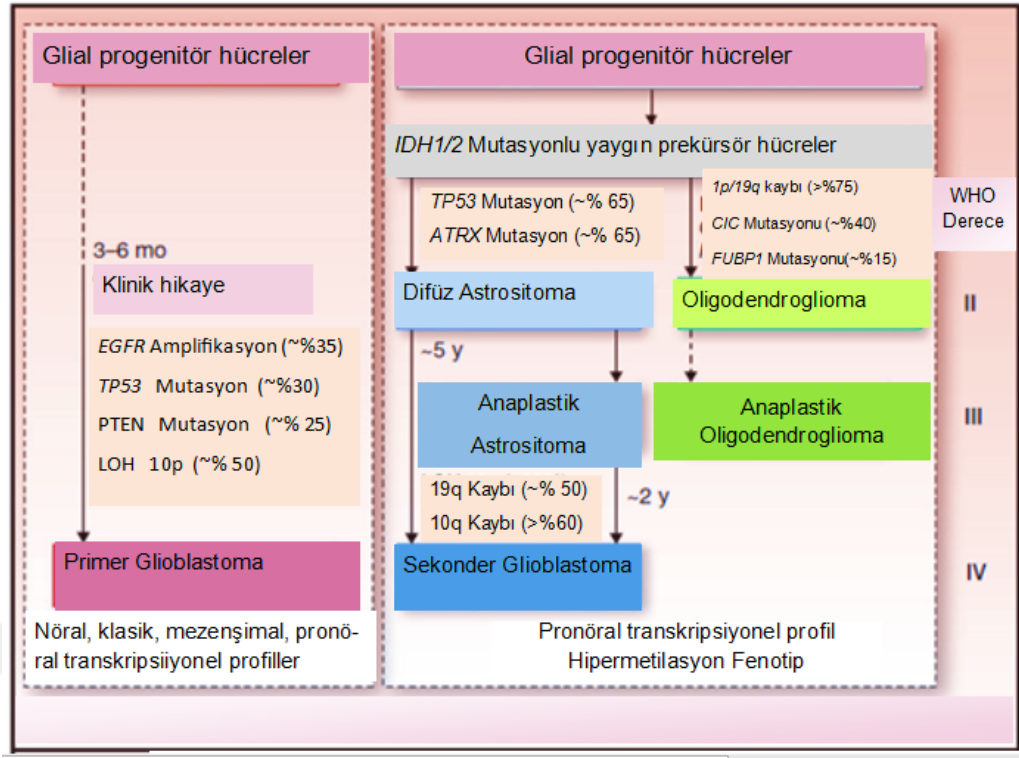
1.2.1.1.2.4. Primer ve Sekonder GBM' ler

Primer ve sekonder glioblastomlar belirgin genetik değişimler taşımaktadırlar (71). Konvasiyonel GBM' ler bütün GBM' lerin %93' ünü oluşturmakta, primer ve sekonder tümörler olarak 2' ye ayrılmıştır: primerler % 90' ını oluşturmakta iken; sekonderler %5- % 10' unu oluşturmakta ve derece II/III astrositomlardan meydana gelmektedir. Primer glioblastomalar *de novo* olarak bilinen glial öncü hücrelerden gelişmektedirler. Primer GBM' ler yaşlı bireyleri etkilemekte ve EGFR amplifikasyonu, PTEN mutasyonu, p16INK4a delesyonu ile karakterize olmaktadır [Şekil:3, (71)].

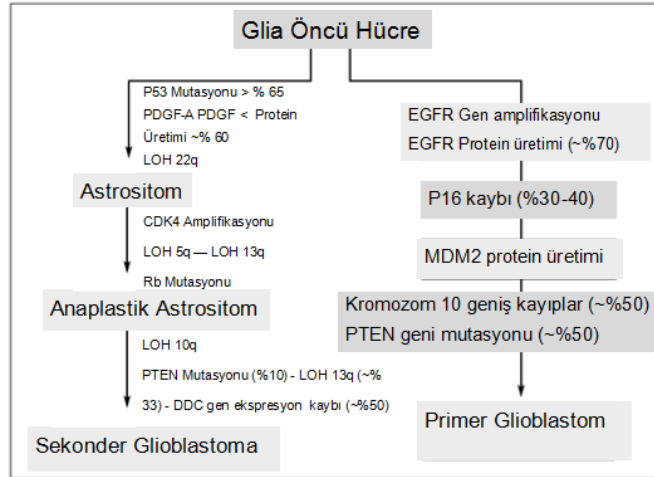
Sekonder GBM' ler ise TP53 ve (Retinoblastoma-2) RB2 gen mutasyonlarına sahip olup; ortalama 45 yaş üstü hastalarda gelişmektedir. 10q kromozom kaybı heriki GBM' de yaygındır [Şekil:3, (72)]. Sekonder GBM lerde son zamanlarda yaygın olarak izositrat dehidrogenaz 1 geni (IDH1) mutasyona uğramaktadır (22). Düşük dereceli tümörlerden gelişen GBM' lerde olduğu kadar; IDH1 genindeki selektif mutasyonlar derece II/III oligodendrogliomalar ve astrositomların %70 inden fazlasında bulunmuştur (26). Buna ek olarak; çoğu kez IDH1 mutasyonları dışındaki tümörler benzer aminoasit bölgelerindeki IDH2 mutasyonları gösterir. IDH1 mutasyonları sağkalımla daha yakından ilişkilidir (26). IDH1 mutasyonu olmayan sekonder GBM' ler nadir TP53 mutasyonlarına sahiptir (73). Önemli tümör süpressör ve onkogenleri taşıyan çeşitli kromozomların kazanımı ya da kaybı sırasıyla; PIK3C2B, MDM4, KIT, PDGFRA, EGFR, GLI1, CDK4 ve (Transforme olmuş 3T3 hücre double minute 2, p53 bağlayıcı protein) MDM2 genlerin artışı ve p16INK4a/p14ARF, PTEN ve RB1in kaybını içeren Komperatif genomik analizlerdir (Şekil:4). 14q32.33 ün artışı içeren spesifik değişimler olurken AKT1 in lokalize olduğu yer analiz edilmiş bütün GBM tümörlerinde yaygındır (74). Çeşitli alt tipler içerisindeki katagorize olmuş GBM genomik analizleri: klasik, mezeşimal, proneural, neural tip (75-77).

Yeni tanımlanmış altbirimler tümör baskılayıcı yada onkogenlerin farklı mutasyonlarını, kromozomun bir bölümünün kaybı yada tümünde kayıp yada kazancı içeren spesifik genetik anomalileri taşır. Klasik alt tipler GBM %21'

inde görülmektedir. EGFR' nin amplifikasyonu tümörlerin %97' sinde görüldüğü gibi bu alt tiptin özelliği olabilmektedir. Bu alt tipin yaygın özelliği; 10q23' ün heterozigite kaybı (LOH), PTEN lokusunda yer alma, kromozom 7 amplifikasyonu, kromozom 10 un kaybı, kromozom 9p21.3' teki homozigot delesyonu, encoding p16INK4A ve p14' tür (Şekil:3). Ek olarak; Notch ve Sonic hedgehog sinyal yolağının yüksek ekspresyonu görülmektedir. İlginçtirki; GBM' lerin klasik alt tipinde TP53 mutasyonu yoktur. Mezenşimal alt tipi CHI3L1/YKL40, VEGF ve CD44 içeren mezenşimal histolojik marker ekspresyonları görüntülenir (78-80). Mezenşimal alt tipte, 17q11.2' nin fokal hemizigot delesyonu, NF1 (nörofibromatizis ile ilişkilendirilmiş protein NF-1 ya da nörofibromin 1 için kodlayıcı), tümör baskılayıcı genin bulunması baskın olarak ortaya çıkmaktadır. Dahası; NF-1 mutasyonu, çekirdek örneklerin %32' si sayılan GBM lerin büyük bir bölümünde bulunmaktadır. Pronöral alt tip GBM lerin % 31' inde oluşturmakta ve oligodendrositik genlerin yüksek ekspresyonuna sahiptir. Pronöral örneklerde TP53 mutasyonları ve TP53 LOH' un çoğunluğu bulunmuştur. 4q12 bölgesinin fokal amplifikasyonu PDGF reseptör A (PDGFRA) geninin bulunması bütün GBM örneklerinde olmakla beraber; pronöral örneklerde %35 daha fazladır. IDH1' deki mutasyon bu sınıfta yaygın olarak bulunmaktadır [Şekil:4, (79)]. Pronöral alt tiplerle birlikte tümörlerin diğer gruplarında "glioma-CpG island methylator phenotype" (G-CIMP) bulunmaktadır. G-CIMP' nin ifade edildiği pronöral tümörlerin %30' unda genç hastalarla ilişkilendirilen olumlu sonuçlar bulunmuştur (73). Nöron belirteçlerinin ekspresyonu ile karakterize edilen nöral alt tipler GBM' lerin %16' sını oluşturmaktadır. Kromozom 10 kaybı ile ilişkilendirilen kromozom 7 amplifikasyonu nöral alt tiplerde yaygındır (79).



Şekil 3: Primer ve Sekonder Glioblastomalardaki Genetik Yolaklar (73).



Şekil 4: Primer ve Sekonder Glioblastoma Yolundaki Genetik Değişiklikler (76).

1.2.1.1.2.5. Glioblastoma ve Malign Tümörler

Glioblastomalar malign tümörlerin %82' sini oluşturmak olup; (81) önemli hücreselilik, mitotik aktivite, vasküler proliferasyon ve nekroz ile histolojik karakterize edilmektedir. Şekil ve büyüklüklerine göre değişen bu tümörlerdeki hücrelerden dolayı, örneğin; onlar plemorfik, glioblastomalar, glioblastoma olarak adlandırılmaktadır. Glioblastoma ve diğer malignant gliomlar oldukça invaziv, beyin parenkimasını infiltre çevreleyendirler; onlar MSS' de sınırlıdır; daha metastaz yapmamışlardır.

Çok basamaklı süreçlerde ortaya çıkan malign gliomlar, intrinsik ve çevresel faktörlerden dolayı sıralı ve kümülatif genetik değişimleri kapsar. Gliomlar kadınlara oranla erkeklerde ve siyah toplumlarda daha yaygındır. Nadir görülen kalıtsal sendromların bazıları (Cowden, Turcot, Li-Fraumeni, nörofibromatozis tip 1 and tip 2, tüberöz skleroz ve ailesel schwannomatosis) gliomların artan riski ile ilişkilendirilmektedir (82, 83).

Gliomların ailesel hikâyesi nadir gözlemlenmektedir fakat görüldüğünde gliom gelişme riskinde 2 kat artış ile ilişkilendirilmektedir. Genom çapı ile ilişkili çalışmalarda 20q13.33 (RTEL), 5p15.33 (TERT), 9p21.3 (CDKN2BAS), 7p11.2 (EGFR), 8q24.21 (CCDC26), ve 11q23.3 (PHLDB1) gibi bazı duyarlılık varyantları tanımlanmıştır (Şekil:4). Fakat bu genler gliomlar ile oldukça zayıf ilişkilendirilmektedir (84, 85). Gliomlar astım, egzema ve saman nezlesi gibi Atopik hastalıkların varlığı ile ters ilişkilendirilmektedir (86). Yaşam sitilindeki değişimler gibi koruyucu önlemler bertaraf edici gliomlarda etkisizdir.

İyonize radyasyon, gliom gelişiminde çevresel risk faktörleri arasında yer almaktadır. Glioma riski, cep telefonları, elektromanyetik alanların diğer türleri, kafa travması, N-nitroz bileşikler, aspartam, mesleki risk faktörleri, pestisitleri içeren gıdalara maruz kalanlarda artmamıştır (87). Cep telefonlarının riski halkın dikkatini çekmektedir; fakat cep telefonu kullanımı ile gliomlar arasındaki ilişki tutarlı değildir (88, 89). Beyin üzerinde radyofrekansın biyolojik etkileri, cep telefonuna maruz kalanlarda serabral

kan akışı ve glikoz metabolizmasında ipsilateral artışları içermektedir; fakat çoğu olgu kontrol çalışmalarında beyin tümörlerinin gelişimi ile ilişki saptanamamıştır (90, 91).

Moleküler bakış açısından; malign gliomlar oldukça heterojenik tümörlerdir (92). Glioblastomlardaki genom çapında çalışmalarda; 4 transkripsiyonel alt ünite açığa kavuşmuştur. Farklı hücre tiplerini anımsatan görüntü özellikleri: klasik, mezenşimal, proneural, neural (75, 80). Genellikle klasik glioblastom alt sınıfında kromozom 7 amplifikasyonları, kromozom 10 delesyonu, EGFR amplifikasyonu, EGFR mutasyonları (nokta ve VIII mutasyonları) ve Ink4a/ARF bölge delesyonu görüntülenir.

Tümör nekroz faktör ve nükleer faktör –kB yolaklarında NF1 mutasyon/delesyon, CHL3L1, MET ve genlerin yüksek frekans görüntüleyen mezenşimal alt sınıfıyla ilişkilendirilmiştir. Proneuronal glioblastomalar, düşük dereceli ve sekonder glioblastomlu gen ekspresyonlarının katılıymıyla, IDH1 ve TP53 deki mutasyonlar ve PDGFRA'nın değişimleri ile karakterize edilmektedir (Şekil:4). Nöral alt sınıf, nöronal markerlerin ekspresyonları ile karakterize edilmektedir. Bazı moleküler anomalilikler ve mutasyonlar transkripsiyonel alt sınıflar karşısında örtüşmektedir. Örneğin; Gliomlarda hastalar arası heterojeniteye ilaveten; PTEN kaybı ve nadiren karşılaşılan mutasyonlar tanımlanmıştır [Şekil:3, (93, 94)].

1.2.1.1.2.6. GBM ilişkili Kanser Kök Hücreleri

Kök hücre gibi özellikler sergileyen hücrelerin alt popülasyonu, GBM'lerde oldukça başarılı tanımlanmış ve glioblastoma kök hücreler olarak refere edilmektedir (95-97).

Kanser kök hücreleri (KKH); birçok nesil ve yaygın çoğalma potansiyeli içerisinde farklılaşma yeteneği, kendi kendini yenileyebilme gibi farklı özelliklere sahiptir. Kanser kök hücrelerinin varlığı spesifik antijenik belirteçlerin tanımlanması ve normal nöral kök hücreler için gelişmiş kültür ortamlarının kullanımı boyunca GBM'lerde saptanmıştır (98-100). Merkezi sinir sistemi hücreleri, in vitroda hücre agregatı oluşturarak yada farklı beyin hücresine (astrosit, oligodendrosit, vs.) farklılaşma yeteneğinde olan serbest nörofer olarak büyürler. CD133 için spesifik antikor ile saptanabilen kanser

kök hücrelerinin alt tipleri hematopoietik marker ve endotelial progenitörü olan CD133 hücre yüzey proteinini ifade ettiği bulunmuştur. GBM hücrelerinden CD133+ hücrelerin pürifikasyonu tümör kök hücre popülasyonunun ayrılmasına ve çoğalmasına izin vermiş ve bu özgülük saptanmıştır. Bu tümör hücreleri kök hücre özellikleri olan sinir küre oluşumu, kendi kendini yenileyebilme, yüksek proliferatif özellik ve multipotensiyi içerir (96). CD133+ hücreleri CD133- hücreleriyle karşılaştırıldığında proliferatif belirteçleri için geniş boyama ile sinir küre oluşumu açıkça gösterilmiştir (101). Ayrıca klinik prognostik faktörlerin CD133+ hücre popülasyonu ile ilişkilendirildiği gösterilmiştir (102). Çalışmalarda CD133- hücrelerin insan GBM hücrelerinden izole edildiği ve sonra stereotaksi fare beynine implante edilmiş; hem CD133+ hemde CD133- hücreleri ile tümör oluşumu ile sonuçlandığı gösterilmiştir. Bu bulgular CD133-hücrelerinin tümör oluşumunu başlatma potansiyeline sahip olduğunu öne sürmüştür (103). Dahası; ekzojen büyüme faktörlerinin etkisi olmadan ve kendi kendini yenileme potansiyeline sahip olan hem CD133+ ve CD133- tümör kök hücrelerin popülasyonları sinir küre oluşumuna sahiptir (104). Araştırmacılar CD133+ hücrelerin GBM tümörlerini oluşturma yeteneğine sahip olduğunu yayınlamışlardır. Başka bir çalışmada da CD133- hücrelerin sadece belirli alt tiplerinin tümörü başlatan özelliklere sahip olduğu önerilmiştir (105). CD133+’ e ek olarak; oldukça agresif kanser kök hücreleri ile ilişkili olduğu bulunan diğer moleküler yüzey belirteci L1CAM’ dır. L1CAM, Özellikle tümörün ön invaziv alanlarında yüksek miktarda eksprese olmuştur (96). L1CAM ve CD133+ hücreleri eş zamanlı dağılım eğilimine girerler; fakat L1CAM, kanser kök hücrelerin izole metodu olarak kullanılmamaktadır (106). CD44 çeşitli malignansilerde eksprese olan yaygın glikoproteindir. GBM xenograft modelde; CD44’ ün knockdownu hücre çoğalmasını inhibe eder ve kemoterapi için yanıt geliştirilmiştir (107-109). Dahası; glioma kök hücrelerinde yüksek eksprese olmaktadır (110). CD44 glioma kök hücre belirtecidir. GBM etki alanında CD133 ile CD44 ün ekspresyonu destek görmektedir (111). Diğer kök hücre belirteçleri glioblastom tümörlerin artan agresifliğini kapsamaktadır (112). Serum biyomarkırları olarak kullanılan bu kök hücre belirteçleri hala tartışmalı ve kabul edilmemiştir. (Table 5)’ de GBM’ le ilişkilendirilmiş kök hücre belirteçleri gösterilmiştir (113, 114).

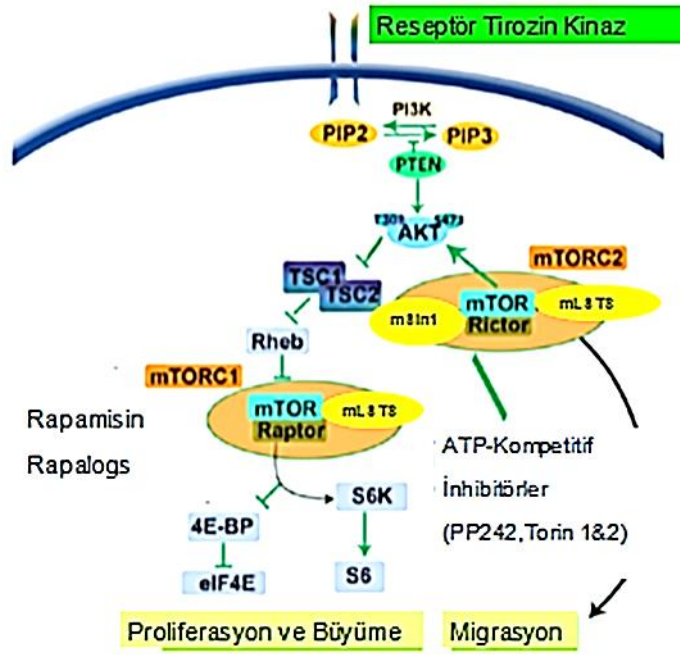
Tablo 5: GBM' lerde Kök Hücre Belirteçleri (114).

Kök Hücre Belirteçleri	Tip	Kök Hücre Regülasyonu
CD133	Yüzey Glikoproteini	Daha çok agresif tümörlerle pozitif ilişkili
L1CAM	Adhezyon Molekülü	Nöronal hücre adhezyon molekülü kök hücre özellikli CD-133 pozitif glioma hücrelerinin çoğalma ve sağkalımında gereklidir.
CD44	Hücre Yüzey Belirteci	Daha çok agresif tümörlerle pozitif ilişkili; endotel kök hücre nişinde Id1 ile lokalize olmaktadır.
A2B5	Yüzey Glikozidi	Daha çok agresif tümörle ilişkili karma
ID1	Transkripsiyonel Düzenleyici	Kendini yenileme
CD15	Hücre Yüzey Proteini	CD15, CD133 negatif tümörlerdeki kök hücre belirteçlerini kuvvetlendirir.
Integrin $\alpha 6$	Transmembran Reseptör	Ekstrasellüler matriks ile etkileşimle tümör oluşumu, proliferasyon ve kendini yenilemeyi düzenler

Çeşitli yollar kanser kök hücrelerinin onarımında ve oluşumunda ilişkilidir. Beyin fonksiyonlarının regülasyonunu kapsayan PI3K, lipid/Akt/mTOR sinyal kaskadının bir ailesidir (115). PI3K/Akt/mTOR sinyal yolağının disregülasyonu kanserin birkaçında belirgin olup hem

tümörögenizde hem de tedaviye dirençte etkilidir. Hedef mTOR' un downstreami protein sentezinin düzenlenmesinde, anjiyogenezde ve metabolizmada rol oynar. mTOR un disregölasyonu GBM' lerin gelişimi ile bağlantılıdır (116). Son zamanlarda GBM kanser kök hücrelerinin onarımında mTOR sinyalinin rolü ele alınmaktadır. İki ana multiprotein kompleksi mTOR (mTORC1 ve mTORC2) ve rapamisin ve kimyasallarla ilişkilendirilmiş bileşimleri GBM tedavisi için klinik muayenelerde kullanılmaktadır. Şekil: 5' de gösterilen; rapamisin, mTORC1' i inhibe ederken mTORC2' yi inhibe etmez. Fakat son yıllarda ATP bağlayıcı bölgeler ile mTOR' u direk inhibe eden küçük moleküller (PP242, P30 ve NVP-BEZ235) tanımlanmıştır. PP242 ve P30, mTOR' un rekabetçi ATP inhibitörleridir (şekil: 5). Rapamisinden farklı olarak bu moleküller mTORC1 ve mTORC2' yi inhibe eder (117).

Embriyonik ve yetişkin kök hücrelerin mTOR hiperaktivasyonu kök hücre popölasyonunun azalmasına ve farklılaşmasına yol açar. Dahası; normal epitel kök hücrelerindeki mTOR' un sürekli aktivasyonu bu kök hücrelerin tükenmişliği ile sonuçlanır (118). mTOR yolağı çeşitli fare ve insan hücre tiplerinin yaşlanmasında rol aldığı bulunmuştur (119, 120). İnsan glioma hücrelerinde, HIF-1 α ' nın aktivasyonu, mTOR' un hedef pozitif aşağı akışı, glioma CD133+ kanser kök hücrelerinden ayrılarak gelişen ve giderek artan kendi kendini yenileme aktivitesi ve hücre proliferasyonunu inhibe etmesi ile genişlemektedir (121, 122).

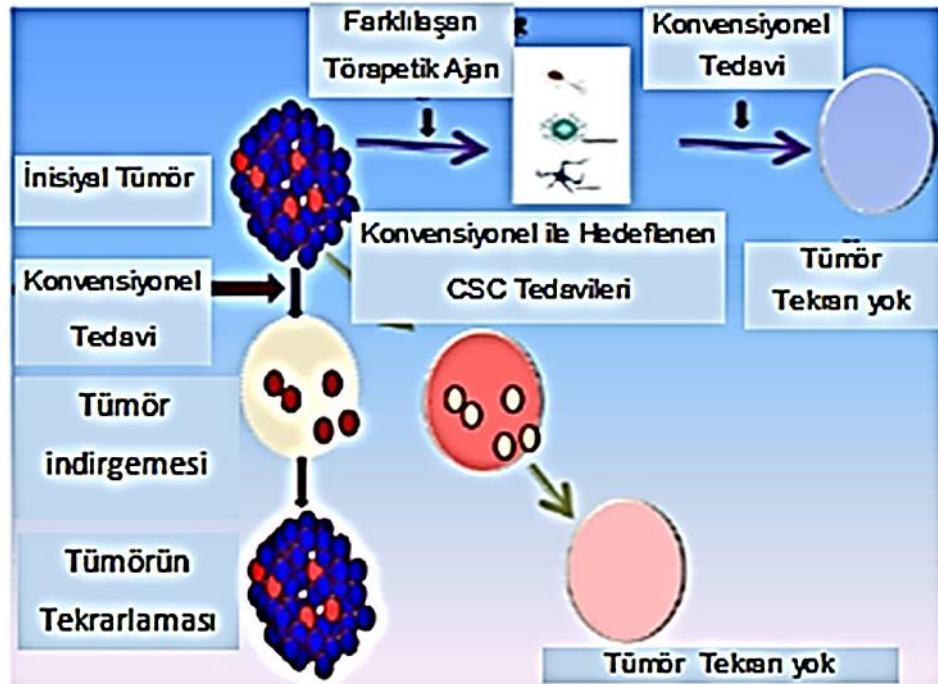


Şekil 5: GBM' lerde PI3K/AKT/mTOR yolları (114).

1.3. Kanser Kök Hücrelerinin Terapötik Etkileri

Hücre popülasyonu ve migrasyonu gibi KKH' lerin fonksiyonel bakış açısının dikkate alınması önemlidir. Çünkü onlar GBM' lerin invaziv yapısıyla yakından ilişkilidir. Friedman ve arkadaşları sadece mTOR inhibisyonu, farklılaşan etken maddeler, "all-trans retinoic acid" (ATRA) ile farklı kombinasyonlarla olan gösterimlerle kanser kök hücrelerini hedefleyebileceğini saptamışlardır (123). Şekil 6' da bazı stratejiler tanımlanmış; kök hücre belirteci nestin ekspresyonunun kaybı ile kanıtlandığı gibi ATRA' nın da KKH' nin farklılaşmasına neden olduğu saptanmıştır. mTORC1 inhibitörü rapamisin ile GBM hücrelerinin tedavisi nestinin nükleer lokalizasyonuna yol açar. ATRA tedavisini takiben nestin ekspresyonunda zaman bağlı azalma saptanmış olan bu gözlemler western blot ile konfirme edilmiştir. KKH' nin proliferasyonu yalnız ATRA ve rapamisin ile kombinasyonları ile tedaviye takiben takiben azalmıştır. ATRA, KKH migrasyonu üzerine sinerjik negatif etkiye sahiptir (123). Bu sinerjizm, ATRA

ile hücrelerin tedavisi düşünüldüğünde MEK/ERK yolağı ile ilişkilendirilebilir. MEK1/2 inhibitörleri az miktarda hücre göçüne yola açar (123). GBM' ler için kemoterapetik ajan olan temozolomidin MEK-ERK' e bağlı (O-6-metilguanin-DNA metiltransferaz) MGMT ile ilişkili olduğu bulunmuştur (124). Temozolomide karşı direnç mekanizmalarından biri temozolamide ile bağlanmış metil grubunu kaldırmış olan gen kodlayan MGMT' nin yüksek ekspresyonudur. MEK inhibisyonunun p53 aktivasyonu ile sonuçlandığı ve KKH' de p53 bağlı MGMT' nin aşağı regülasyonuna yol açtığı, MDM2 ekspresyonunu azalttığı çalışmalarda saptanmış olup dolayısıyla; temozolamide direncin üstesinden gelinir. Temozolamid tedavisi ile MEK inhibitörünün kaynaşması GBM-KKH' nin temozolamide duyarlı direnç gösterebildiğini ileri sürülmektedir (124).



Şekil 6: Kök Hücre Popülasyonunu içeren tümör tedavileri (123, 125).

Hem ERK1/2 hem de mTOR inhibisyonunun etkisi diğer kanser türlerinde de saptanmıştır. Bir PI3K inhibitörü, MAPK inhibitörü bir ya da iki kombinasyonu ile tedavi edilen ileri kolorektal kanserli hasta faz I denemesinde çift inhibisyonu tek başınaya göre daha etkili olduğunu göstermiştir (126, 127). mTOR inhibitörü (temsirolimus)' nün erken faz denemesi tekrarlayan GBM için tek bir tedavi yöntemi olarak fayda sağlayabilir (128). Diğer farklılaşan etken maddeler transforme edici büyüme faktörü (TGF- β) ile ilişkili olan kemik morfogenezik proteinler (BMP)' dir. BMP reseptörü 2 – 4, nöroepitelyal proliferasyon da, nöron ve astrositlerin farklılaşmasını indüklemesinde rol oynar. Fakat GBM' lerin % 20' sinde aktif BMP hedefinin (BMPRII) susturulduğu tanımlanır (129-132).

1.4. GBM ve LncRNA İlişkisi

Glioblastoma kök hücrelerin kendini yenileme, uzun dönem proliferasyon, sinir küre oluşumu ve birden fazla sinir sistemi nesilleri içinde farklılaştırma yeteneği vardır (96, 133). Glioblastoma kök hücreler, GBM gelişimi, progresyonu, terapötik direnci ve tekrarlamasından sorumlu olduğuna inanılmaktadır (134-136). Bu nedenle, GSC' nin altında yatan moleküler mekanizmaların aydınlatılması GBM tedavilerin geliştirilmesi yönünde yeni bir ufuk olur. Transkribe edilmiş RNA' ların çoğunluğu, insanlardaki karmaşık gen ekspresyonlarının anlaşılır olmasını sağlayan kodlamayan RNA' lar olarak sınıflandırılmıştır (137, 138).

Son çalışmalarda; gen ekspresyonun düzenlenmesinde rol oynayan, uzunluğu 200 nükleotidden fazla olan kodlamayan RNA' lar, uzun kodlamayan RNA' lar olarak tanımlanmıştır (139). LncRNA' lar, kök hücre biyolojisinde ve tümörögenizde gen ekspresyonunun düzenlenmesinde düzenleyici rol alırlar (140). LncRNA' ların anormal ekspresyonları, gliomayı da içeren birkaç kanser türlerinde fonksiyonel olarak ilişkilendirilmiştir (141, 142). Ayrıca; glioma kök hücrelerinin biyolojik davranışlarını etkileyen miRNA' lar ve kısa kodlamayan RNA lar rapor edilmiştir (143, 144). LncRNA' ların fonksiyonu, moleküler parazit olarak miRNA' ları inhibe etmek için yarışırırlar. Çalışmalarda; H19, let-7 ailesi için moleküler parazit olarak davranır (145).

LncRNA XIST (X-inaktif spesifik transkript), memelilerde X inaktivasyonunun düzenleyicisi, XIST geninin ürünü ve XIST geni sadece inaktif X kromozomu transkripsiyonudur (146). XIST, insan hücrelerinin genom tamirinde, farklılaşmasında, proliferasyonunda önemli rol oynar. Özellikle; XIST' in disfonksiyonel ekspresyonunun kanserde patolojik role sahip olduğu gösterilmektedir (147). XIST' in insan kanserlerinin çeşitlerinde disregüle olduğu bulunmuştur (147). Son zamanlardaki çalışmalarda; XIST' in hematopoietik kök hücrelerin uzun dönem hayatta kalabilmeleri için gerekli olduğu gösterilmiştir (148).

1.5. GBM' in Tedavisinde İmmünterapi

Multiple faz I, II, III klinik çalışmalarında, mevcut süregelen GBM' li hastalar için kanser immün aşı tedavisinin kullanımı araştırılmaktadır. Kanser aşı hipotezi, önceki tedaviye rağmen ileri sürülen geriye kalan kanser hücrelerine karşı bağışıklık sağlayabilen, kendi tümör ya da allerjenik kanser kök hücrelerine karşı programlanmış olan, kendi dendritik hücreleri ile aşıl原因 GBM hastalarının altyapısına dayandırılmaktadır. Aşı çalışmaları gibi en yüksek hedef hastaların kendi kanser hücrelerine karşı immün sistemin yanıt oluşturmalarıdır. GBM hastalarının kendi immün uyarıcı dendritik hücreleri lökoferez yoluyla izole edilmektedir. Dahası; dendritik hücreler, tümör antijeni yada kanser kök hücrelerine karşı meydana gelen immün yanıt özelleştirilmiştir. Karakterize edilmiş epidermal büyüme faktörü reseptör varyant 3 (EGFR vIII) gibi GBM spesifik antijenlerin tanımlanması, bu antijenlere özgü aşıl原因 geliştirilmesine teşvik etmiştir. Buna rağmen GBM lerde birden çok hedef antijen stratejileri vardır. Bu genellikle; çıkarılan tümörler yada sentetik peptid kokteyllerden elde edilen lizatların kullanımı boyunca elde edilir. GBM le bağlantılı olan diğer stratejiler; hedeflenen kanser kök hücre antijenleri, yada viral sitomegalovirus antijenleri (CMV)' ni içerirler (149).

Malign gliomalı hastalar için tarihsel süreçlerle karşılaştırıldığında tekrarlayan derece IV gliomalı hastalarda olduğu kadar dendritik hücre aşıları yeni tanı konmuşlarda 5 yıllık hayatta kalış ve ortalama yaşam süresinde

gelişme saptanmıştır (150). DCVavr-L olarak bilinen araştırma tedavisi ameliyat geçirmiş yeni tanı konmuş GBM' li hastalarda mevcut durumda gözlemlenmektedir (151).

1.2.1.1.3. Medullablastoma

1.2.1.1.3.1. Epidemiyolojisi

Medullablastomlar dördüncü ventrikül yada serebellum da infratentöriyal olarak meydana gelen MSS' nin primer malign embriyonal tümörleridir. MSS primitif nöroektodermal tümörlerin (PNET) bir grubudur. Bütün çocukluk çağı MSS tümörlerinin % 12- 25' ini oluşturmakta olup; çocukluk çağı MSS tümörleridir. Tüm erişkin tümörlerinin ise sadece % 0.4- 1' ini kapsamaktadır. Ortalama olarak 5-7 yaşlarda görülmekte olup erkeklerde bayanlara oranla daha fazladır (152, 153).

1.2.1.1.3.2. Genetik ve Biyolojik Görünümü

Çeşitli kalıtsal sendromlar beyin tümörleri ile ilişkilendirilmektedirler. Medullablastomada mutant genler SonicHedgehog, Wnt, Notch ve Myc gibi hücre sinyal yolları ile ilişkilidirler. Gorilin ve Turcot's sendromu, medullablastom ile ilişkili hastalıklar arasındadır. Örneğin; Gorilin sendromu, gelişimsel defekt ve rabdomiyosarkom, medullablastom ve bazal hücre karsinomuna yatkınlık ile karakterize olan otozomal dominanttır (154).

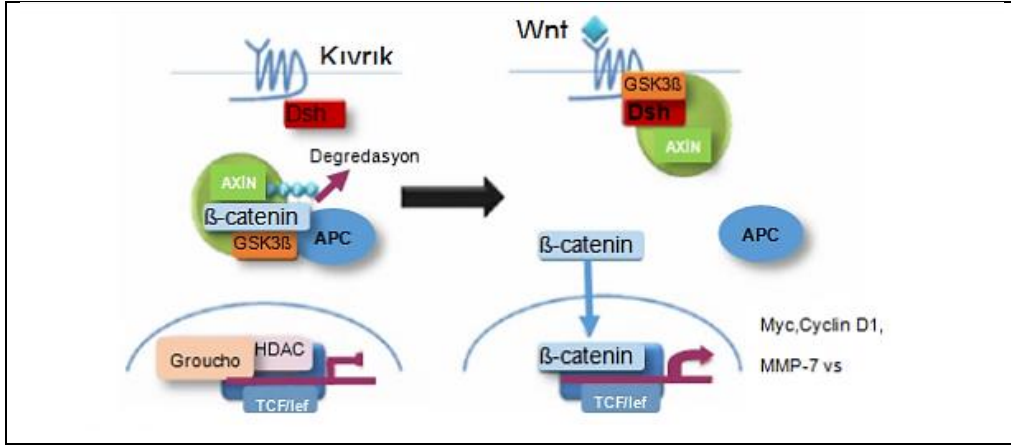
Medullablastom dört farklı alt gruba ayrılmaktadır: 1) Wingless (WNT), 2) SonicHedgehog (SHH), 3) Grup 3, 4) Grup 4 (155).

1.2.1.1.3.3. Wnt Medulloblastomalar

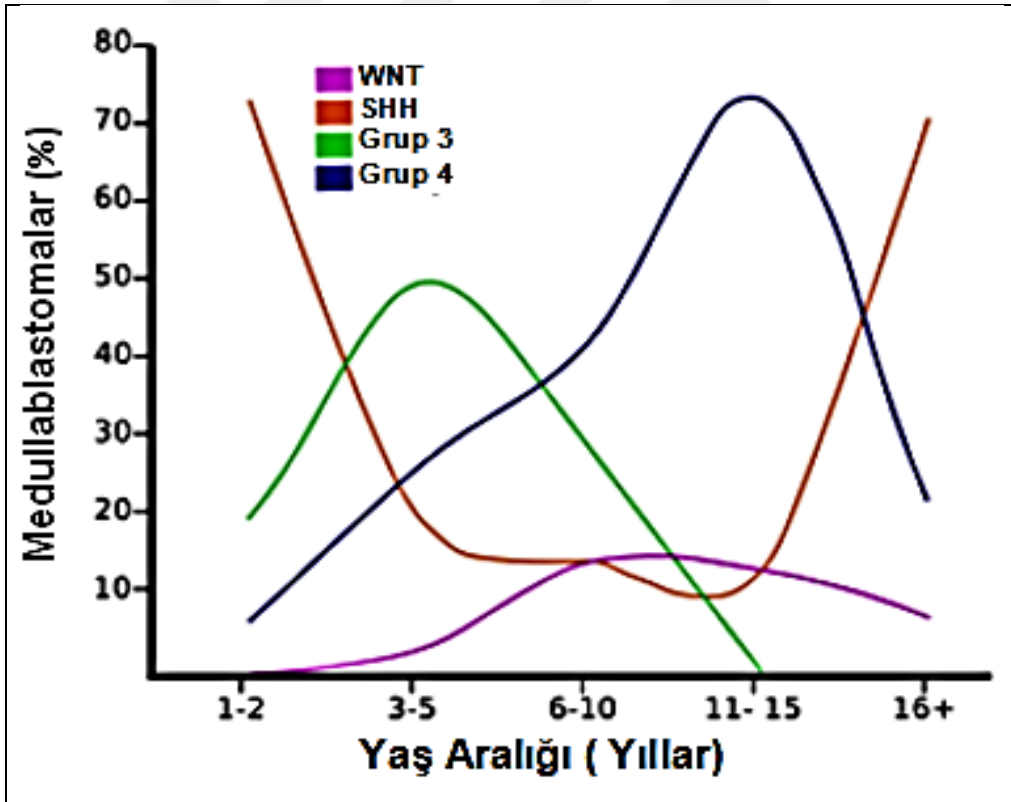
Wnt Medullablastomlar nadir olarak görülmektedir. Medullablastomaların % 11' ini oluşturmakta olup uzun süre hayatta kalım %95' lere ulaştığı çalışmalarla saptanmıştır [Şekil:7, (156)]. Wnt tümörlerin bebeklerde neredeyse yok olup (yaş<4), ancak ağırlıklı olarak 10-12 arasındaki çocuklarda görülmektedir [Şekil:8, (157)]. Wnt hücre-hücre kontrol

mekanizması ve embriyogenezi kapsayan büyüme faktör reseptörlerinin bir ailesidir (157). Wnt blastomaların çoğunluğu klasik histoloji gösterir. Fakat nadiren; fenotipik olarak büyük hücre görünümlü/ anaplastik ve bu fenotip ile iyi prognozu onlara oranla büyük ölçüde alıkonabilir (7, 158). Sporadik Wnt Medullablastomaların moleküler analizi, yaygın olarak β -katenini kodlayan CTNNB1 mutasyonunu göstermektedir [Şekil:7, (158)]. Dahası; Wnt yolağı inhibitör APC' nin germline mutasyonu medullablastomalardan meydana gelen Turcot's sendromuna yatkınlığı vardır (159).

Bu yolağa anahtar olan daha az yaygın mutasyonlar, APC, AXIN1 ve AXIN2 Sporadik Medullablastomlar içerisinde bulunmaktadır (156). Son zamanlarda RNA helikaz DDX3X' de mutasyonlar tanımlanmaktadır (160). Nöropatolojistler tarafından kısmen tanımlanabilen çoğu mutasyon, β -katenin için artmış nükleer immünohistokimyasal boyama ile Wnt sinyal yolağının aşırı aktivasyonu sonuçlanmaktadır (160). Wnt sinyalinin uyarılması, hücre-hücre adezyonunun yanı sıra; ekstrasellüler matriksin bozulması, hücre bölünmesi ve proliferasyonda (transkribe olan c-Myc ve siklin D1) fonksiyonlar ve TCF-4/lef-1kompleksleri oluşturan nüklear β -katenin birikimi ile sonuçlanır (161). PI3K/Akt ve Wnt yolağı arasındaki etkileşim Medullablastomalardan meydana gelir. Bu olay tümör sağkalım için oldukça önemlidir (161). Wnt Medullablastomlar kromozom 6' nın kaybı ve nadiren kromozom 17' de sapma ile de ilişkilendirilmektedir. Diğer medullablastom gruplarında (grup 3-4) çok yaygın kromozomal değişimler saptanmaktadır (161). Ayrıca; Wnt Medullablastomlar MYC' nin oldukça yüksek ekspresyon seviyesine sahiptir. (162).



Şekil 7: Wnt Sinyal Yolağı (125).

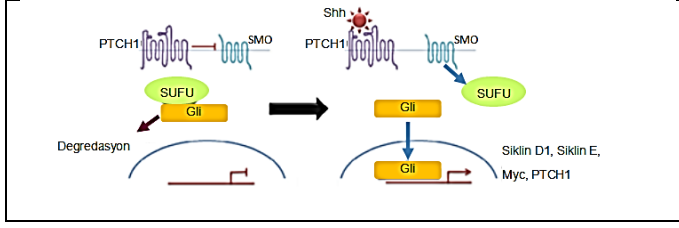


Şekil 8: Medullablastomlardaki farklı altgruplarına göre yaş dağılımı (155).

1.2.1.1.3.4. Shh Medulloblastomalar

Bütün medullablastomaların %28' ini oluşturmaktadırlar [Şekil: 9, (159)]. İyi prognoz Wnt tümörleri ile zayıf prognoz grup 3 tümörleri arasında orta düzeyli prognozdur ve grup 4 ile benzer özellik gösterir (161, 162). Hem bebeklerde (< 4 yaş) hem de erişkinlerde (>16 yaş) yaygın olarak görülebilmektedir [Şekil:8, (161)]. Sağlıklı insan gelişiminde anormal Shh sinyali, yüz orta hattını ve sinir sistemini etkileyen bir hastalık olan holoprosensefaliye neden olabilmekte ve Shh reseptörü olan PTCH' de germline mutasyon bulunduran Gorlin sendromunda infant medullablastom riskini arttırmaktadır (163). SonicHedgehog (Shh) yolağı gelişen serebellum ve diğer dokularda nöronal prekürsör hücrelerin proliferasyonunun indüklendiği yer olan normal sereballar gelişiminde anahtar rol oynar (164). Shh ligandı, rombik kenarın üstünden eksternal germinal tabakanın oluşumuna teşvik edilmesi ile purkinje nöronları tarafından salgılanır (164). Shh tümörler granül nöron prekürsör hücrelerinden meydana gelir (165). Dezmozplastik/nodüller ve MBEN, özellikle Shh yolağı aktivasyonu ile ilişkili olup; yolak aktivasyonuna rağmen klasik ve büyük hücre/ anaplastik tümörlerde gözlemlenmektedir (166, 167). Smoothened proteinindeki (SMO) mutasyonlara rağmen; sporadik medullablastomaların moleküler analizi yaygın olarak Patched-1 (PTCH1) mutasyonu gösterir (165, 168, 169). Bütün mutasyonlar, Shh sinyal yolağının aşırı aktivasyonu ile sonuçlanır. Shh' nin kendi reseptörü PTCH1' e bağlanması Shh' nin tonik inhibisyonunu azaltır ve SUFU gibi; inhibitör protein kompleksinden oluşan Gli ailesinin transkripsiyon faktörlerinin salınımına izin verir (169). Hedgehog yolağının aktivasyonu snail protein ekspresyonunda artışa yol açar ve hücre-hücre adezyonun azalması ile sonuçlanır (169). Hedgehog sinyali, anjiyogenezin önemli düzenleyici olarak görülmektedir ve böylece metastaz olur (170). Shh, MYCN' nin yüksek ekspresyon seviyesine sahiptir (162). Benzer şekilde bu alt tiplerin her ikisinde Notch ve Platelet-derived Growth Factor (PDGF) sinyallerini kapsayan genlerin aşırı - ekspresyonlarını gösterir (159).

Shh medullablastom, PTCH1 gen (9q22) bölgesinde olan kromozom 9q' nun delesyonu ile ilişkilendirilmektedir (155).



Şekil 9: Shh Yolağı (125).

1.2.1.1.3.5. Grup 3 Medulloblastomalar

Tüm medullablastomaların %28' ini içermekte olup MYC amplifikasyonu ile ilişkilendirilmektedir. NPR3 için immünohistokimyasal önerilmesine rağmen onlar, transkripsiyonel profillemeye saptanmaktadır (159, 171, 172). Onlar bütün alt grupların en kötü prognozu ile ilişkilendirilmektedir ve sıklıkla metastatiktirler (171). Genellikle bebeklerde ve çocuklarda görülür nadiren, erişkinlerde görülmektedir [Şekil:8, (162)]. Grup 3 Medullablastomlar oldukça klasik ya da büyük hücre anaplastik morfoloji özelliği gösterirler (162). MYC amplifikasyonu grup 3 tümörlerle oldukça fazla ilişkilidir ve kötü prognoz ile ilişkilendirilmektedir (158). Grup3 medullablastomaların MYC amplifikasyonuna sahip 3 α tümörler ile MYC ekspresyonuna dayanarak 3β 3α olarak kategorize edildiği ve dolayısıyla kötü prognoz taşıdığı ileri sürülmüştür (162). Grup3 ve 4 medullablastomaların gelişiminde gelişimsel olarak düzenlenmiş OTX2 transkripsiyon faktörünün rolü vardır (172). İlginçtir ki; OTX2' nin MYC onkogenini transkripsiyonel olarak arttırdığı gösterilmiştir. Grup3 tümörlerin %26' sı izokromozom 17q' ya sahiptir (172).

1.2.1.1.3.6. Grup 4 Medulloblastomalar

Grup 4' ün medullablastomaların çok yaygın alt grubu olduğu ve %34' ünü oluşturduğu düşünülmektedir. Ayrıca izokromozom 17q ile ilişkilendirilebilir (162). Nadiren bebekleri (0-3 yaş), esasen çocukları en fazla ise 10 yaş grubunu etkilemektedir (Şekil:8).

Sıklıkla metastaz yapmalarına rağmen; grup 3' ün zayıf prognozuyla karşılaştırıldığında hala ortada prognoza sahiptirler (158, 173-175). Onlarda büyük hücre/ anaplastik morfolojiye sahiptir (165). Grup 4 medullablastomaların üçte ikisi izokromozom 17q' ya sahiptir. Fakat nadiren izole edilmiş 17p delesyonu görülmektedir (102, 157). İzokromozom 17q ve 17p mutasyonları grup3' ün bazı gruplarında görülmektedir. Fakat daha az sıklıkla rastlanmaktadır (162). Grup 4, CDK6 ve *MYCN* amplifikasyonu ile ilişkilendirilmektedir ancak; MYC, minimal aşırı eksprese olmaktadır (155). İlginçtir ki; kromozom kaybı grup 4' lü dişillerin %80' inde görülmektedir (155).

Histon metilasyonunu kapsayan Grup 3 ve 4 Medullablastomlar son zamanlarda EZH2 ve KDM6A değişimlerine sahiptirler (175, 176).

Grup 4 tümörlerde yaygın olarak amplifiye olan HDAC5 gen lokusu kromozom 17q üzerine lokalize olmaktadır (175, 177).

1.6. Uzun kodlamayan RNA' lar (LncRNA)

LncRNA' lar, ortalama 200 bp ile 100 Kbp uzunluğundadır. En son GENCODE projesinde 9277 bölgeyi istinaden 14.880 lncRNA açıklanmış fakat bunların sadece birkaçı karakterize edilmiştir (178). lncRNA' ların embriyogenezde (179), kök hücre biyolojisinde ve hücre gelişiminde (180) önemli biyolojik rolleri olduğu saptanmış ve gelişimsel, spesifik doku ekspresyon profilleri gösterilmiştir (181, 182). LncRNA' ların çoğunluğu, kanser progresyonu ve gelişiminde kritik rol oynadığı tanımlanmış, bundan dolayı kanserin terapötik hedeflerinin belirlenmesinde yeni ufuklar açabilir (183, 184).

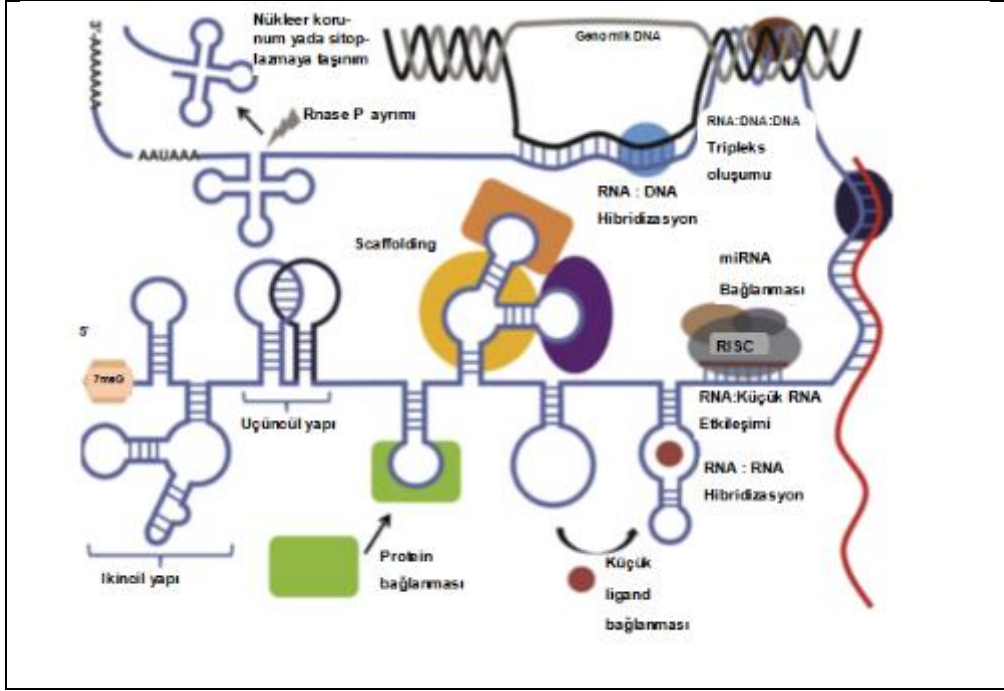
LncRNA' ları 4 kategoride toplamışlar: 1) uzun intergenik kodlamayan RNA lar (lincRNA), 2) doğal antisens transkript (NAT), 3) transkribe edilmiş ultra korunmuş bölgeler (T-UCR), 4) kodlamayan pseudogenlerdir.

LncRNA' lar, imprinting epigenetik regülasyon, apoptoz, hücre döngüsü kontrolü, transkripsiyonel ve translasyonel regülasyon, splicing, hücre gelişimi, farklılaşması ve yaşlanması gibi çeşitli biyolojik rollerle ilişkilendirilmiştir (185-190). Genellikle genomik imprinting ile yakın ilişkide

olan DNA metilasyonunu modüle eder (ör: lncRNA XIST tarafından X kromozom inaktivasyonu) (191). LncRNA' lar protein kodlayan gene benzer; ekzon-intron-ekzon yapısına sahiptirler. Fakat; açık okuma çerçevesini kapsamazlar. LncRNA' lar, insanlardaki kodlamayan transkriptomlardan kaynaklanan RNA' ların oldukça büyük alt sınıfı olduğu düşünülür (192). LncRNA' lar, DNA hasarına (ör: lncRNA-p21) yanıtta tümör süpresör p53 ile indüklenmiş intergenik (genler arası) bölgelerdir (193). "Ultra-conserved region" (UCR) bölgesi, 200 nt den daha uzun olan türler arasında DNA dizilerini aşırı derecede korur (193, 194). Bu lncRNA bölgesinden T-UCR aktif transkribe olmaktadır. T-UCR fizyolojik rolü henüz bilinmemektedir. Fakat; araştırmacılar, T-UCR' nin erken evrimsel süreçten beri var olduğunu ve dokulardaki miRNA yada farklı dağılımlar ile etkileşim için özel rollere sahip olduğunu varsaymaktadırlar. Çoğu lncRNA' ların transkripsiyonel regülasyonu ile ilişkisi vardır (195). LncRNA' lar kendi mekanizmaları ile sınıflandırılırlar. 1) cis deki rol; lncRNA transkripsiyonu çevresindeki gen ekspresyonu kodlanmasını etkiler, 2) Histon modifikasyonunu modüle eder, 3) trans daki rol; XIST, dişinin X kromozom inaktivasyonunu indükler (196, 197).

LncRNA' lar çoğunlukla polimeraz II tarafından transkribe olmaktadır ve sonrasında ko-transkripsiyonel modifikasyonları içeren 5' cap ucu, pre-lncRNA splicing ve poliadenilasyona uğrar (181). lncRNA' lar zayıf başlangıç kodonlarına ve ORF içeriklerine sahiptirler (178, 198). Protein gibi, RNA yapısı primer, sekonder ve tersiyer yapıları içerir. Primer yapı, RNA molekülleri içerisinde nükleik asit bileşenleridir. Fonksiyonel lncRNA motiflerinin temel bileşenleri olduğuna inanılan sekonder yapı, Watson–Crick baz çiftlerini ve eşleşmemiş bölgeleri kapsamaktadır. Sekonder yapılar saç tokası şeklinde, esnek, internal döngü ve bağlantıları içermektedir. Çeşitli proteinler için bağlanma bölgeleri sağlayabilirler (198, 199). Az çalışılmış olmasına rağmen farklı sekonder yapı elemanları arasındaki etkileşimi içeren lncRNA' ların tersiyer yapılarının, moleküler düzenlemede önemli rolleri olduğuna inanılmaktadır (200). Çeşitli protein molekülleri için bağlanma bölgeleri sağlarlar ve kompleks formasyonlar için iskelet gibi işlev görebilirler. Gerek formasyon gerekse lncRNA yapılarının konformasyonel değişimine

yol açan küçük moleküllerin bağlanma bölgesi için RNA cepleri olabilir. LncRNA' ların eşleşmemiş dizileri intraselüler RNA ve DNA ile etkileşimleri boyunca fonksiyonel elementler gibi işlev görebilirler. Dizi komplementlerine dayalı lncRNA' ların küçük RNA' lar ile etkileşimi küçük RNA' nın aktivitesini düzenler. LncRNA' lar hücrede dubleks hatta tripleks formları ile DNA ve (mesajcı ribonukleik asit) mRNA ile etkileşimde olurlar. RNA ya da DNA ile lncRNA arasında hibridleşme oluşumu protein tanımlaması için yapısal motif sağlarken; hibridizasyon RNA ve DNA molekülleri içerisindeki önemli elementleri kamufle eder [Şekil: 10, (201)].



Şekil 10: LncRNA' ların fonksiyonel mekanizması (202).

1.6.1. LncRNA' ların Kanser ile İlişkisi

İnsan lncRNA' larının geniş çeşitliliği, gen ifadesindeki çeşitli rolleri ile tutarlıdır. İnsan lncRNA' ları epigenetik, nükleer import, alternatif splicing, RNA yıkımı ve translasyon gibi biyolojik süreçte görev almaktadır (183, 187).

Ayrıca küçük RNA' lar için prekürsör olarak görev yapabilir. Bu nedenle, anormal lncRNA ekspresyonu çeşitli insan hastalıklarına ve bozukluklara neden olabilir (203). Ayrıca çeşitli kanser tiplerindeki düzensiz ekspresyonları göz önüne alınırsa, potansiyel onko- veya tümör süpresör RNA' lar olarak görev yapabilirler (183). lncRNA' ların kromatin modifiye edici kompleksleri spesifik genomik lokuslara veya tümör hücre-spesifik promotör bölgelere yönlendirdiği rapor edilmiştir, bu da hücre döngüsünü, farklılaşmayı, apoptozu, DNA tamirini ve hücre adezyonunu etkilemektedir (116). HOX transkript antisens intergenik RNA (HOTAIR), genom modifikasyonunda yer alan en çok çalışılan lncRNA' lardandır. Kromozom 12q13.13' te HOXC lokusunda bulunan HOXC geninin ters yönünde transkribe edilir. HOTAIR, meme kanseri, hepatoselüler kanser, kolorektal kanser ve laringeal skuamöz hücreli karsinom gibi birçok kanserde önemli derecede aşırı- ekspresedir (204). 1990' larda DNA kütüphaneleri aranarak keşfedilen XIST (X inaktif özel transkript), X kromozomu inaktivasyonu (XKI)' de önemli rol oynayan iyi bilinen bir lncRNA' dır (118). XIST ekspresyon seviyesinin meme kanseri, lenfoma ve erkek testis germ hücreli tümör de dahil olmak üzere, bazı kanser gelişimi ile ilişkili olduğu gösterilmektedir (205, 206).

Metastaz ilişkili Akciğer Adenokarsinomu Transkript 1 (MALAT1), gen ekspresyonunu düzenler ve aynı zamanda post-transkripsiyonel olarak primer transkriptleri düzenler (207).

lncRNA' lardan "Hepatocellular carcinoma up-regulated EZH2-associated long non-coding RNA" (HEIH), hepatoselüler karsinomalarda aşırı - eksprese bulunmuş ve bu hastalarda sağkalım, hastalığın nüksetmesi ile ilişkilendirilmiştir (208). lncRNA' lar nöro-onkolojik hastalıklar ile ilişkilendirilmektedir (209-211). Fakat lncRNA' ların gliomların gelişiminde ve biyogenezdaki rolleri tam açıklanamamıştır. Malignitelerin gradeleri ve değişen gliomların histolojik alt tipi, histopatolojik özelliklere göre genel olarak tanısı olmaktadır (212).

Son zamanlarda lncRNA ların disfonksiyonu tümör oluşumu, proliferasyonu, invazyonu ve metastaz ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (195, 210, 213-215).

LncRNA' ların çoğunluğu, kanser progresyonu ve gelişiminde kritik rol oynadığı tanımlanmış, bundan dolayı kanserin terapötik hedeflerinin belirlenmesinde yeni ufuklar açabilir (183, 184).

1.6.2. Glioma Gelişiminde Uzun Kodlamayan RNA' lar

Glioma hastalarında lncRNA' ların bulunması biyolojik ve terapötik hedeflerin bir dizi gelişmesine yol açmıştır (216). LncRNA' lar GBM' lerin patogenezinde önemli rol oynayabilmektedir. Tümörle ilişkilendirilmiş lncRNA' lar ve glioma alt üniteleri arasında ilişki gözlenmekte, gelecek çalışmalar için gliomların farklılaşması ve gelişimi ve biyogenezinde lncRNA ların önemi vurgulanmaktadır. Gliomalardaki oldukça yüksek upregule olmuş lncRNA lar eksprese olur ve ekspresyonun doku spesifik yapıları görüntülenir. "Colorectal Neoplasia Differentially Expressed (non-protein-coding)" için gene sembolü CRNDE' dir (142, 217).

Beyin fonksiyonları gibi özelleşmiş süreçlerdeki CRNDE' nin önemi ve rolü farelerde susturulmuş CRNDE geni kullanılarak ele alınmıştır. Tümörögenез ile ilişkilendirilmiş lncRNA olan MEG3, komşu normal dokular ile karşılaştırıldığında glioma dokularında azaldığı bulunmuştur. Ayrıca; insan glioma hücre hatlarında aşırı eksprese olan lncRNA MEG3, hücre proliferasyonunu inhibe eder ve apoptoza teşvik eder. MEG3 gliomların moleküler etiyojijisinde önemli rol oynayabilir ve anti-glioma tedavisinde olası aplikasyona sahiptir (141).

LincRNA H19 ve onun miR-675 türevi glioma gradeleri ile ilişkilendirilmiştir. Dahası; H19' dan türemiş miR-675, böylece modüle glioma hücre invazyonu ve mir-675' in direk hedefi olan cadherin 13' ü regüle etmiştir (218).

1.6.3. Pluripotent Kök Hücre İle LncRNA İlişkisi

LncRNA' lar hücre tipine spesifik ekspresyon profiline sahiptir (180). Bu seçici ekspresyon, protein kodlama transkriptine benzer DNA metilasyonu, histon modifikasyonu ve kromatin yeniden oluşumu gibi epigenetik modifikasyonları belirlemektedir (219). Hücre tiplerindeki lncRNA promoterleri

için histon modifikasyonlarındaki dinamik değişimler Zhang ve arkadaşlarının çalışmasında; fare embriyonik kök hücreleri, nöronal progenitör hücrelerde ve son olarak farklılaşmış fibroblastlardaki, lncRNA metilasyon durumu ve ekspresyon profili açığa kavuşmuştur. Dahası; fare embriyonik kök hücrelerinde EzH2 aracılı histon modifikasyonu H3K27, lncRNA ları susturmada anahtar rol oynar (220). Son zamanlarda çoğu lncRNA transkriptleri, fibroblastlarla ya da nöronal progenitörlerle karşılaştırıldığında; pluripotent hücrelerde hem de embriyonal kök hücre (ECS) ve indüklenmiş pluripotent kök hücre (IPSCs) lerde farklı şekillerde eksprese olabilmektedir (180, 221, 222).

1.6.4. Glioma Gelişimi ve Tümörögenез Üzerine lncRNA' ların Rolü

lncRNA' lar etki ve işlevlerine göre sınıflandırılırlar: 1) sinyal yolları üzerine aracı, 2) moleküler tuzaklara hizmet, 3) spesifik kromatin bölgesine ribonükleoprotein kompleksi için moleküler kılavuz olarak çalışmak 4) uygun kompleks oluşumu için scaffold işlevi [Şekil:11, (218)].

1.6.4.1. lncRNA: Sinyal Yolları Üzerine Aracı

lncRNA' ların transkripsiyonu geçici olarak regüle olur ve ekspresyonu dokuya spesifiktir. Dahası; ekspresyonları internal ve eksternal uyarıcıya yanıtta modüle olur (223). Bu yüzden; geçici birtakım gen ekspresyonlarını modüle eden lncRNA' lar moleküler sinyal aracı olarak hizmet edebilirler (Şekil: 11 A).

1.6.4.2. lncRNA: Moleküler Yıkımlar

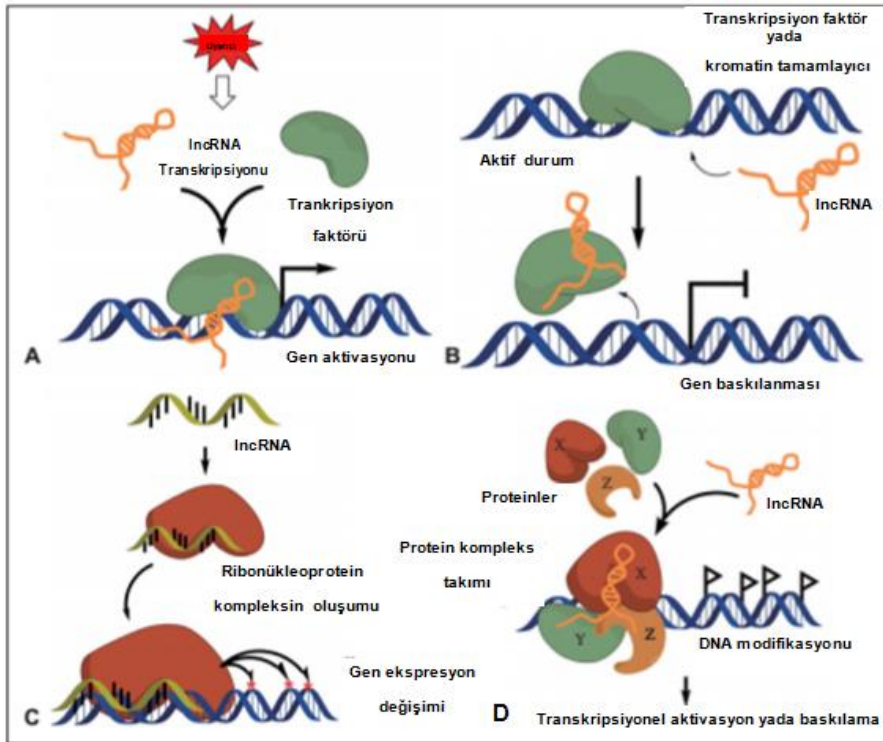
Spesifik bölgeden proteinleri veya RNA ları ayıran lncRNA' lar moleküler yıkım olarak işlev görebilirler. Bazen; lncRNA yıkımı proteinlere ve küçük ncRNA' lara parazit olarak (Örn. Transkripsiyon faktörleri ve kromatin modifikatörleri) işlev görebilirler [Şekil: 11B, (145)].

1.6.4.3. LncRNA: Moleküler Klavuz Olarak Çalışmalar

LncRNA' lar kromatin üzerindeki spesifik hedef bölgeye ribonükleoprotein komplekslerin lokalize olması ile moleküler klavuz olarak işlev görebilir [Şekil: 11C, (224, 225)]. Uzak (trans) ya da komşu genlerin (cis) gen ekspresyonları değişime uğrayabilir.

1.6.4.4. LncRNA: Scaffold Fonksiyonu

LncRNA' lar yeni fonksiyonlar oluşturmak için biraraya gelen bağlantı faktörlerinin protein kompleks oluşumlarını destekleyebilir (Şekil: 11D). Bazı LncRNA' lar birlikte her bir moleküle kombine olan farklı protein bağlayıcı etkiye sahiptir. Bu olayın transkripsiyon yada baskılamaya etkisi olabilir (226).



Şekil 11: LncRNA Etki Mekanizmasının Sistemik Diagramı (226).

1.6.5. Uzun İntergenik Kodlamayan RNA

1.6.5.1. Metastaz İlişkili Akciğer Adenokarisonomu Transkript 1 (MALAT1)

Nükleer zenginleştirilmiş transkript 2 olarak da adlandırılan, MALAT1, kromozom 11q13' den eksprese edilen 8000 nt' ten büyük bir nükleer lincRNA' dır. MALAT1, gen ekspresyonunu düzenler ve aynı zamanda post-transkripsiyonel olarak primer transkriptleri düzenler (207). MALAT1 akciğer, pankreas ve diğer sağlıklı organların yanı sıra, küçük olmayan akciğer karsinom hücreleri içine alan çoklu kanser tiplerinde de yüksek derecede ifade edilir (196). MALAT1, MALAT1 inhibisyonu üzerine ters çevrilebilen kanser hücrelerinin çeşitli malign özelliklerini düzenler.

shRNA ile MALAT1' in yıkılması, kaspaz-3, -8, Bax, Bcl-2 ve Bcl-XL' i içeren çoklu genlerin ekspresyonunun düzenlenmesi yoluyla, servikal kanser hücrelerinde, hücre büyümesi, hücre döngüsü ilerlemesi ve invazyonu inhibe eder (227). Akciğer adenokarsinomunda, MALAT1' in siRNA aracılıkla susturulması, hücre hareketliliğinin azalmasına neden olan, CTHRC1, CCT4, HMMR veya ROD1' in aşağı regülasyonuna neden olmaktadır (228). MALAT1 azalması, hepatoselüler karsinoma ve mesane kanserinde hücre proliferasyonunu inhibe eder, apoptozu artırır aynı zamanda; migrasyonu ve hareketliliği azaltmaktadır (229, 230). MALAT1 epitelyal-mezenkimal dönüşüm (EMT) ile ilişkilidir ve bu, malign hücrelerin invazivlik kazanmasını sağlar. MALAT1 aşağı regülasyonuna, ZEB1, ZEB2 ve Slug seviyesinin azalmasına ve E-kaderin artmasına neden olan EMT ilişkili genlerin ekspresyonun da etkilidir (231). Buna ek olarak, hedef MALAT1 in vivo' da çok büyük anti kanser etkiler göstermiştir. Çıplak farelerde MALAT1 seviyesi azalan NSCLC hücrelerde tümör oluşumu ve büyüme yeteneği bozulmuştur (232). MALAT1'in stabil yıkılmasının olduğu fare modeli akciğer kanser hücreleri metastazını ve tümör nodül numaralarının azalmasını inhibe etmektedir (233). Subkutanöz tümörde MALAT1'i hedef alan antisens oligonükleotidlerin serbest alımı çıplak farelerde akciğer metastazını engellediğinden MALAT1'in hedef alınmasının terapötik potansiyeli

kanıtlanmıştır (233). Birlikte ele alındığında, metastaz önlenmesi için terapötik yaklaşımlar, MALAT1' in inhibisyonuna dayalı olabilmektedir. Fonksiyonel etki çalışmalarında, MALAT1'in 3' ucunun, hücre proliferasyonu, migrasyonu ve invazyonunda önemli bir biyolojik rol oynadığı gösterilmiştir (234).

1.6.5.2. H19

H19 kromozom 11p15.5' da bulunan, kodlamayan transkriptleri kodlayan paternal imprint gendir. H19, embriyogenez sırasında yüksek derecede eksprese edilir (235). Fakat dokuların çoğunda doğum sonrası inaktif dir. H19, Tümörögenез sırasında tekrar eksprese edilir ve meme, akciğer, yemek borusu, mesane ve rahim ağzını içeren geniş doku tiplerinde tümörjenik özellikleri arttırmaktadır (236-239). H19 aşırı ekspresyonu, sigara, karsinogen nitrozamin ve dietilnitrozamine maruz kalma ve hipoksiyayı içeren çeşitli risk faktörleriyle ilişkilidir (240). Çalışmalar, H19 ekspresyonunun, gen düzenleyici bölgelerine doğrudan bağlanma yoluyla c-Myc ile aktive edildiğini göstermektedir (126). Aynı zamanda H19, p53-bağımlı bir şekilde tümör oksijen konsantrasyonu ile ilişkilidir. H19 seviyesi, mutant p53 geni bulunduran hücre hatlarında hipoksik durumlar sırasında artmaktadır. Fakat in vivo ve in vitroda wild-type p53' de artmamaktadır (126). Meme kanser hücrelerinde H19 RNA kaybı, hücre döngüsünün S fazında ilerlemeyi engellemektedir (241). H19, meme kanserinde hücre döngüsü ilerlemesini arttırmak için E2F1' e bağlanır ve p53 ile güçlü bir ilişkisi vardır (241). Çünkü mide kanseri hücrelerinde H19 aşırı ekspresyonuyla, p53 aktivasyonu kısmen baskılanmaktadır. H19 inhibisyonuna dayanan tedaviler, H19' un hedef alınması hipoksiya etkili kanser hücrelerini inhibe ettiğinden dolayı büyük oksijen yüküne sahip tümör hücrelerinin hedef alınması için spesifik bir yaklaşım olabilmektedir (242). Çalışmalar, H19 susturulmasının hipoksik hücre klonalitesini ve canlılığını azalttığını göstermektedir (243). Hepatoselüler karsinoma (HCC) ve mide kanseri hücrelerinde H19 yıkılması, hipoksiya iyileşmesi sonrasında, ankoraj-bağımsız olarak büyümelerini önemli derecede durdurmuştur (240). H19 ikincil (sekonder) yapısı, H19 transkripti boyunca yaygındır ve bu RNA yapıları RNA-tanıma motifleriyle protein faktörlerinin bağlanmasına izin vermektedir (244).

1.6.5.2. HOTAIR

HOTAIR, kromatin yapılarının modülasyonlarına aracılık ederek gen ekspresyonunu düzenler (245). Histon düzenleyici “Polycomb Repressive Complex” (PRC2) kompleks ve LSD1 ile koordineli etkileşim için histon modifikasyon kompleksinin iskeleti gibi davranır (245). Buna karşılık, HOTAIR, spesifik genomik bölgelere protein yönlendirir ve histon kuyruğu metilasyonu ile gen ekspresyonunu düzenler. Çalışmalar, HOTAIR’ in PRC2 ile ortak olduğunu ve kanserlerdeki gen susturumunu indüklediğini göstermektedir (246). HOTAIR seviyesi, meme kanseri, birincil kolorektal karsinoma (CRC), HCCv, gastrointestinal stromal kanser, pankreatik kanser, küçük hücreli gırtlak karsinom ve nazofarenks karsinoma, gibi çoklu kanser türlerinin, primer ve metastatik tümörlerde yükselirken, çoğu durumda, yüksek HOTAIR seviyesi, kötü hasta sağkalımı ve tümör nüksüyle ilişkilidir (245-251). Tüm bunlar birlikte ele alındığında, HOTAIR’ in kanser biyolojisinde kritik role sahip olduğu ve klinik öneminin büyük olduğu görülmektedir. HOTAIR çeşitli biyolojik fonksiyonlarda rol alır ve malign özelliklere sebep olur. Bu malign özellikler HOTAIR uzaklaştırıldıktan sonra azalır. HOTAIR yıkımı, hücre proliferasyonunu inhibe eder ve in vitro CRC ve meme kanserinde matriks invazivliği azaltır (246, 248). Kanser hücrelerinde HOTAIR kaybı, hücre hareketliliği ve metastazında önemli olan, matriks metalloproteinaz-9 ve vasküler endotelyal büyüme faktörü proteinin azalmasıyla sonuçlanmaktadır (252). Pankreatik kanser ve laringeal küçük hücreli karsinom (LCHK)’ de HOTAIR yıkımı, kanser hücre apoptozunu indükler ve farklı içerikteki kanser hücrelerine bağlı olarak farklı fazlarda, hücre döngüsü arestine neden olur (204, 251). En önemlisi, HOTAIR’ in hedef alınması, in vivo da önemli anti kanser etki göstermiştir. HOTAIR’ in azalması, invivoda indüklenmiş apoptoz ve proliferasyon belirteç seviyesini azaltarak in vivo tümör büyümesini inhibe etmektedir (253). Kanser hücrelerinde HOTAIR düzenleyici yolağının tarif edilmesi, HOTAIR’ in, PTEN gibi tümör süpresörleri PTEN promotorundaki DNA metilasyonunu artırarak inaktive ettiğini göstermiştir (204). HOTAIR aynı zamanda, antiproliferatif ve pro-apoptotik GDF15’ in ekspresyonunu baskılamaktadır. HOTAIR’ in

yıkılmasından sonra, GDF15 promotör bölgesinde EZH2 ve H3K27me3' in eş zamanlı kaybıyla sonuçlanmaktadır (251). Çeşitli kanser türleri ile sık ve anlamlı bir ilişki göze alındığında, baskılanan hücresel HOTAIR seviyesi kanser terapötikleri için güçlü bir yaklaşım olabilmektedir. Ayrıca, HOTAIR ve PRC2 kompleksleri arasındaki yakın ilişki, potansiyel ilaç bölgeleri sağlar.

1.6.5.3. XIST

İfade olduğu cis bölgesinden X kromozomunu kaplayan XIST, 17.000 nükleotid büyüklüğünde, kesilmiş, çevrilmeyen düzenleyici bir transkripttir (247, 254). lncRNA XIST (X-inaktif spesifik transkript), memelilerde X inaktivasyonunu düzenleyen, XIST geninin ürünüdür. XIST geni memelilerde X inaktivasyonundan transkribe olmaktadır (146). XIST, insan hücrelerinin farklılaşmasında, proliferasyonunda, genom korunumunda rol oynar. Özellikle XIST' in disfonksiyonel ekspresyonunun kanserde patolojik role sahip olduğu ileri sürülmektedir. Ayrıca; XIST' in çeşitli insan kanserlerinde disregüle olabildiği görülmüştür (147). Son zamanlarda, lncRNA XIST' in hematopoietik hücrelerin uzun dönem hayatta kalabilmeleri için gerekli olduğu gösterilmiştir (148). XIST RNA, bayanların gelişimi boyunca X kromozomundaki oldukça geniş gen ekspresyonlarının susturulmasına yol açan, transkripsiyon bölgesi için kromatin modifiye kompleksi PRC2' ye aracılık eder. Bu yüzden PRC2' ye bağlanabilme önemlidir (255). Thomas Amort ve arkadaşları, in vitro koşullarda; XIST deki sitozin metilasyonunun PRC2' ye bağlanan güçlü etki olabileceğini bulmuşlar (256). Üst üste binen antisens lncRNA' lara TSIX adı verilir. İnaktif X kromozomu üzerindeki kromatin modifikasyonunu baskılamak için gerekli olan TSIX ve XIST' in RNA dubleksini oluşturduğunu bulmuşlar (257). XIST ekspresyon seviyesinin meme kanseri, lenfoma ve erkek testis germ hücreli tümörleri içeren bazı kanserlerle korelasyon gösterdiğine dair artan kanıtlar vardır (205, 206, 258). Son zamanlarda Yıldırım ve arkadaşları; farelerin kanında XIST delesyonunun, % 100 penetrans mutant dişiler ile miyelodisplastik sendrom ve oldukça agresif miyeloproliferatif neoplazmaların gelişimine neden olduğunu göstermişler. Böylece onlar, XIST kaybının kansere neden olan

genom değişikliğini takiben X in reaktivasyonu ile sonuçlanabileceğini önermişlerdir (148).

1.6.5.4. MEG3 (Maternal Exprese Olmuş Gen 3)

MEG3 geni yaklaşık 1.6 kb nükleotid uzunluğunda olup; kromozomun 14q32 bölgesine lokalize olmuştur. MEG3 geni 10 ekzon içermektedir (259). Transkripsiyonu, alternatif splicinge bağlı MEG3 transkript izoformuna uyum sağlar. On iki MEG3 izoformu MEG3, MEG3a-k tanımlanmıştır (260). MEG3 RNA, kendi normal doku kısımları ile karşılaştırıldığında gliomaların yanı sıra; klinik olarak fonksiyonu olmayan insan hipofiz tümörlerin çoğunda aşağı-regüle olmuştur (141, 254). Başka bir deyişle; MEG3' ler bütün hipofiz adrenokortikotrofik, çoğalma, prolaktin ve tiroit uyarıcı hormon salgılayan tümörlerde eksprese olurlar (261). Fare MSS' nin gelişimi boyunca ve erişkin insan ve fare beyinlerinin çeşitli bölgelerinde eksprese olurlar (262-264). MEG3 ekspresyon kaybı primer beyin tümörlerinde bulunmuştur. MEG3 ekspresyonu nöroblastomların %25' inde, hepatoselüler kanserinde %81' inde ve gliomların % 82' sinde azalmaktadır (141, 265, 266). Yukarı regüle olmuş MEG3 glioma hücrelerinin proliferasyonunda ve p53 aktivasyonunun düzenlenmesi ile apoptoza teşvik etmesinde önemli rol oynar (141). MEG3 epigenetik gen regülatörü' dür. PRC2 kompleksi ile ilişkilendirilmiş ve hücrenin kromatin bölgesinde bulunmuştur (267, 268).

Ayrıca; nöroblastom hücre hatlarındaki Promotörlerin hipermetilasyonu DKL1 ekspresyonunun yukarı-regülasyonu ile ilişkilendirilmiştir (265).

Beyin Tümörü Modeli Hücre Hatları

İnsan Nöronal Kök Hücre (Cell progen: 36119-46)

Katalog numarası:

Tanım: İnsan nöronal dokudan elde edilen insan nöronal kök hücrelerin klonal seleksiyonudur. Hücreler, cell progen' in Human Neuronal Stem Cell Complete Growth un-differentiating Mediumda farklılaşmamış durumda

muhafaza edilir ve insan nöranal kök hücre ekstra-sellüler matrikste 24 ile 48 arasında T25 ya da T75 doku kültürü flasklarında alt-kültürü yapılır.

Yaş: İnsan nöronal doku

Pozitif belirteçleri: Nestin, Tübulin, Nöro epitel (NEP), O-2A, O4, 5% GFAP, MAP2, NF-L

Morfoloji–proliferasyon: %10 süspanse ve %90 yapışık hücrelerin miks popülasyonunun ilk hücre kültüründen 48 saat sonra ya da sarı renk değişimi olduğunda hergün mediumlarının değiştirilmesi gerekir. Farklılaşma, farklılaşmamış durumda kök hücrenin korunması, büyümesi için uygun insan nöranal kök hücre ekstra-sellüler matriks ve doku kültür ortamı ile Celprogen's Human Neuronal Stem Cell Complete Growth Media ile medium değişikliği yapılır. 37 °c ve % 5 CO₂ ortamda inkübe edilir.

İnsan Beyin Kanser Kök Hücre (Cellprogen numarası: 36110-37-T75)

Tanım: İnsan beyin kanser kök hücrelerinden elde edilen insan beyin kanser kök hücrelerin klonal seleksiyonudur. Hücreler, cell progen' in Human Brain Cancer Stem Cell Complete Growth Medyumda muhafaza edilir ve insan nöronal kök hücre ekstra-sellüler matrikste 24 ile 48 arasında T25, T150, T225, T75 doku kültürü flasklarında alt-kültürü yapılır.

Kaynak: İnsan beyin kanser doku

Donör: Hücrelerin türetildiği tüm vericiler ön taranmış; vericiler, klasik kan bağıışı bulaşıcı hastalık paneli için negatif test edilmiş. (ABO/RH, Hepatit B yüzey antijeni, HIV1 ve 2, Sifilis, hepatit B çekirdeği, İnsan T Lenfosit Virus 1 ve 2, Hepatit C Virüs, Antibody Screen, HIV 1 HCV için Nükleik Amplifikasyon Test, West Nile Virüs ve Trypanosoma cruzi için Antibadiler)

Mikoplazma test: Negatif PCR, Mikoplazma agar metodları

Pozitif belirteçleri: CD133, CD44, CD34, SSEA 3/4, Oct4, Tümör oluşturma (<1000 hücreler), Alkalın Fosfataz, Aldehit Dehidrogenaz, Telomeraz

Morfoloji–proliferasyon: % 5 süspanse ve % 95 yapışık hücrelerin karışımları popülasyonunun ilk hücre kültüründen 48 saat sonra yada sarı renk değişimi olduğunda her gün medyumlarının değiştirilmesi gerekir. Kültür ortamının hızlı çoğalmasında, uygun insan beyin kanser kök hücre ekstra-sellüler matriks’ de Celprogen’ nin Human Brain Cancer Stem Cell Complete Growth Medyum ile ortam değişikliği yapılır. 37 °c ve % 5 CO₂ ortamda inkübe edilir.

Normal İnsan Astrosit Hücreleri (LONZA No:CC-2565)

Karakterizasyon: Normal insan astrosit hücrelerinin karakterizasyonu immüno Floresans işaretlemeleri ve bir seri pasajlamadan sonra morfolojik gözlemleri yapılır. GFAP (Glial Fibriler Asit Protein) için NHA pozitif işaret.

Performans: Alt kültür için önerilen yoğunluk 5,000 hücre/cm²’ dir. Hücrelerin yüzeyi kaplaması 6-8 gündür. Hücrelerin kültürleri T-25 yada T-75 lik flasklar kullanılarak yapılır. Üremleri için ise One Astrocyte Medium BulletKit kullanılır.

Kalite kontrol: Hücrelerin performans analizi yapılır ve HIV-1, mikoplazma, Hepatit-B, Hepatit-C, bakteri, maya ve fungi için test negatiftir. Çözdükten sonra hücre canlılığı, morfolojisi ve çoğalma kapasitesi ölçümleri yapılır (269).

SW 1088 (ATTC Numarası: HTB-12)

Organizma:	Homo sapiens (insan)
Yaş:	72
Cinsiyet:	Erkek
Etnik köken:	Beyaz Irk
Organ:	Beyin
Büyüme Özelliği:	Adheren
Hastalık:	Astrositom
Tümör derecesi:	III
Morfoloji:	Fibroblast
Tumorigenik:	Evet

Antijen ekspresyonu Kan tipi A, Rh+

STR Profil (dna profili): Amelogenin: X,Y
CSF1PO: 10,12
D13S317: 12
D16S539: 12,13
D5S818: 11
D7S820: 9
THO1: 7,9.3
TPOX: 8
vWA: 16,17

İzoenzimleri: AK-1, 1
ES-D, 1
G6PD, B
GLO-I, 1
Me-2, 1-2
PGM1, 1-2
PGM3, 1

U-87 MG Hücre Hattı (ATCC number: HTB-14™)

Organizma: Homo sapiens (insan)

Yaş: 44

Cinsiyet: Bayan

Etnik köken: Beyaz Irk

Organ: Beyin

Büyüme Özelliği: Adheren

Morfoloji: Epiteliyal

Hastalık: Glioblastom, astrositom

Tümör derecesi: 2007'de derece IV olarak sınıflandırıldı

Morfoloji: Epitelyal

Tumorigenik: Evet

**Antijen
ekspresyonu**

Kan tipi A, Rh+

Hücrelerin % 48' inde rastlanan 44 kromozoma sahip hipodiploid insan hücre hattıdır. Yüksek kromozom düzenlenme derecesi % 5,9' dur. 12 belirteç der(1)t(1;3) (p22;q21), der(16)t(1;16) (p22;p12), del(9)

Sitogenetik Analiz:

(p13) ve başka 9 tane dahil olmak üzere tüm hücreler için ortaktır. Birçok hücrede der(1) belirteci 2 kopyaya sahiptir. Normal X' ten sadece 1 kopya vardır. N1,N6 ve N9 bulunamadı.

İzoenzimleri:

AK-1, 1
ES-D, 1
G6PD, B
GLO-I, 1
Me-2, 1
PGM1, 2
PGM3, 1

**U-118 MG Hücre
hattı**

(ATCC number: HTB-15™)

Organizma:

Homo sapiens (insan)

Yaş:

50

Cinsiyet:

Erkek

Etnik köken:

Beyaz Irk

Organ:

Beyin

Büyüme Özelliği:

Adheren

Morfoloji:

Karışık

Hastalık:

Glioblastom, astrositom

Tümör derecesi:

2007'de derece IV olarak sınıflandırıldı

Tumorigenik:

Evet

Antijen

Kan tipi A, Rh+; HLA Aw24, A28, B12, Bw47

ekspresyonu

**DNA Profili
(STR):**

Amelogenin: X,Y
CSF1PO: 11,12
D13S317: 9
D16S539: 12,13
D5S818: 11
D7S820: 9
THO1: 6
TPOX: 8
vWA: 18
AK-1, 1-2
ES-D, 1
G6PD, B
GLO-I, 1-2
Me-2, 1
PGM1, 2
PGM3, 2

İzoenzimleri:

LN-18 Hücre Hattı (ATTC Number: CRL-2610)

Organizma: Homo sapiens (insan)
Doku: serebrum; sağ temporal lob
İzolasyon Tarihi: 1976
Tümör derecesi: Derece IV
Hastalık: Glioblastoma; glioma
Hücresel Ürünler: Fibronektin
Yaş: 65
Cinsiyet: Erkek
Etnik köken: Beyaz
Organ: Beyin
Büyüme Özelliği: Adheren

Morfoloji:	Epitelyal
Tumorigenik:	Evet
Antijen ekspresyonu	HLA A2, A9, B5, BW35, DRW3
DNA Profili (STR):	Amelogenin: X,Y CSF1PO: 12 D13S317: 12,13 D16S539: 11,13 D5S818: 11,13 D7S820: 8,10 THO1: 9 TPOX: 8 vWA: 17,18
Onkogen:	p53 + (mutasyona uğramış, TGT (Cys) --> TCT (Ser) kodon 238'de mutasyon), PTEN + (yabanıl tip), p16 - (silinmiş), p14ARF - (silinmiş)

DAOY Hücre Hattı: (ATCC number: HTB-186™)

Organizma:	Homo sapiens (insan)
Organ:	Beyin
Doku:	Serebellum
İzolasyon Tarihi:	1985
Hastalık:	Desmoplastik serebellar medulloblastoma
Hücresel Ürünler:	Fibronektin
Yaş:	4
Cinsiyet:	Erkek
Etnik köken:	Beyaz Irk
Büyüme Özelliği:	Adheren
Morfoloji:	Poligonal
Tumorigenik:	Evet
Uygulamalar:	transfeksiyon konağı

DNA Profili (STR):
Amelogenin: X
CSF1PO: 11
D13S317: 13,14
D16S539: 10
D5S818: 11,13
D7S820: 8,10
THO1: 9
TPOX: 8,10
vWA: 14,20

Sitogenetik Analiz: Hipertetraploid bir insan hücre hattıdır. Yüksek kromozom dizilim frekansına sahip hücreler %2'dir. Kök hücre hattı kromozom sayısı yüksek olduğundan beri poliploidi için değerlendirme değişebilir. Tüm hücrelerde 13 veya daha fazla marker kromozomu ortaktır. Bazıları hücre başına 2' den 4' e kadar kopya içerir. t(1q5q), t(13q;?), 15p+, 7q+, der(9)t(3;9)(p21;q34) and 8 tane daha markerlar arasındadır. Birçok hücrede 15p+ 3 kopya ve der(9) 4 kopya içermektedir. Bazı hücreler del(1)(p11) e sahiptirler. Normal N12,N14,N15 ve N19 hücre başına 4 veya daha fazla kopya içerir. Çoğu hücrede 2 normal X kromozomu yer alır, fakat keşfedilebilir normal Y yoktur.

İzoenzimler:
AK-1, 1
ES-D, 1-2
G6PD, B
GLO-I, 1
Me-2, 1
PGM1, 2
PGM3, 1-2
İkilenme Zamanı: 34 saat

BÖLÜM II

2.1. GEREÇ ve YÖNTEM

Hücre hatları, laboratuvar çalışmalarında ve *in vitro* kanser araştırmalarında model olarak sıklıkla kullanılmaktadır. Hücre hattı kullanımının bir takım avantajları ve dezavantajları bulunmaktadır. Avantajlarına baktığımızda; muamele edilmeleri kolay ve sınırlı koşullarda limitsiz üreyebilme yeteneğini gösterirler. Ayrıca, yüksek derecede homojenite gösterirler ve donmuş stoklardan kolaylıkla kullanılabilir hale getirilebilirler. Dezavantajları ise; hücre hatları sürekli kültürde genotipik ve fenotipik sapmalara eğilimlidirler. Ayrıca, alt kültürler oluşabilir ve zaman içerisinde popülasyon da bulunan daha hızlı büyüyen ve özellikli klonların seçimiyle fenotipik değişikliklere neden olabilirler.

Çalışmamızda farklı beyin tümörü hücre hatlarında ve beyin tümörü kök hücre hatlarında uzun kodlamayan RNA (lncRNA) dizilerinin rölatif kantitasyonunu tanımlandı. Bu kapsamda; ekspresyon değişimlerinin farklı beyin tümörü hücre hatlarının moleküler patogeneziindeki rolü belirlendi

2.1.1. Beyin Tümörü Hücre Kültürü

In vitro koşullarda gerçekleştirilen hücre kültürü çalışmalarında kullanılan besiyeri, hücrelerin *in vitro* koşullar altında yaşayabilmeleri, büyüebilmeleri ve proliferasyonu için uygun olmalı ve gerekli maddeleri içermelidir. Çalışmamızda kullandığımız beyin tümörü hücre hatları, insan parental beyin kanseri kök hücresi ve kontrol hücre hatlarının (insan nöronal kök hücre (korteks) ve Normal İnsan Astrosit) uygulanacak işlemlere hazırlamak için 25 ve 75 cm²' lik flasklar içerisine ekildiler. Kültür ortamı olarak BIOAMF-1 (Biological Industries), BIOAMF-1 supplement, 2mM L-glutamin, %1 Penisilin-Streptomisin, İnsan parental beyin kanseri kök hücresi- Human Brain Cancer Stem Cell Complete Growth Media with Serum (CELPROGEN), İnsan nöronal kök hücre (korteks)- Human Neuronal Stem

Cell (Ventricles) Complete Media with Serum (CELPROGEN), Normal insan Astrositleri- AGM Astrocyte Growth Medium kullanıldı. Hücrelerden yeterli üreme elde edilen kadar 37°C’ de %95 nem ve %5 CO₂’ li etüvde inkübe edildi. Hücrelerin proliferasyonu, pasajları ve takip işlemleri inverted mikroskop kullanılarak düzenli olarak takip edildi. Kullanılan ekipman ve kimyasallar **tablo 6 ve 7’** te verildi.

2.1.2. Hücre Kültürü Aşamasında Kullanılan Cihazlar ve Kimyasallar

Tablo 6: Kullanılan Cihazlar

CİHAZLAR	MARKA
CO ₂ ’ li inkübatör	Thermo Electron Corporation Hepa Class 100
Laminar Air Flow	Hera Safe Heraeus
Inverted mikroskop	Olympus
Fluoresan, Işık mikroskobu	Olympus
Real-Time Online PCR LightCycler 480, 2.0	Roche
Pipetman seti(0,1–1000µl)	Eppendorf
Derin dondurucu	Revco Ultima II
Soğutmalı Santrifüj	Hettich Zentrifugen
Thermal Cycler	Techne Genius
Santrifüj	Eppendorf
96-Real Time Ready Custom Panel	Roche -applied science, Almaya

Tablo 7: Kullanılan Kimyasallar ve Flasklar

Madde	Marka
Extra-cellular Matrix pre-coated T75 flasks	CELPROGEN
Extra-cellular Matrix pre-coated T25 flasks	CELPROGEN
Cell freezing media	CELPROGEN
Disease-related LncRNA Profiler pre-printed 96-well primer sets	System Biosciences
LncProfiler cDNA synthesis kit	System Biosciences
Human LncRNA Profiler qPCR	System Biosciences

Array Kit (qPCR array)	
SYBR Green qPCR Mastermix	Fermentas
RNeasy Plus Mini Kit	Qiagen
AGM Astrocyte Growth Medium	Lonza
BIOAMF-1 Medyum	Biological Industries, Israel
Human Brain Cancer Stem Cell Complete Growth Media with Serum	CELLPROGEN
Human Neuronal Stem Cell (Ventricles) Complete Media with Serum	CELLPROGEN
Fötal Sığır Serumu	Biological Industries, Israel
Trypan Blue	Sigma Chemical Co., St Louis Missouri
DMSO (cell culture grade)	Sigma Chemical Co., St Louis
Normal İnsan Astrosit Hücre Hattı	Lonza
U118MG Hücre Hattı	ATCC
U87MG Hücre Hattı	ATCC
LN18 Hücre Hattı	ATCC
Daoy Hücre Hattı	ATCC
SW 1088 Hücre Hattı	ATCC
İnsan Parental Beyin Kanseri Kök Hücre Hattı	CELLPROGEN
İnsan Nöronal Kök Hücre Hattı	CELLPROGEN

2.1.3. Beyin Kanseri Hücre Hatları

Çalışmamız beyin tümörlerini içerdiğinden, farklı beyin tümörü hücre hatları ve kontrol hücre hatları çalışmaya dahil edildi. Hücre hatlarından U118MG-U87MG; glioblastoma; astrositoma (grade IV), LN18; glioblastoma; glioma (grade IV), Daoy; medullablastom, SW 1088; astrositoma ve insan parental beyin kanseri kök hücresi kullanıldı. Kontrol grubu olarak da insan nöronal kök hücre (korteks) ve Normal İnsan Astrosit hücre hatları kullanıldı.

2.1.4. Hücre Canlılık Testi

Kültüre edilen beyin tümörü hücre hatları (U87MG, LN18, U118MG, Daoy, SW 1088 ve insan parental beyin kanseri kök hücresi) ve kontrol hücre hatlarının (insan nöronal kök hücre (korteks) ve Normal İnsan Astrosit) hücre sayılarının validasyonu Innovatis tip Cedex XS adlı cihaz ile gerçekleştirildi.

1. Eşit hacimde hücre ile tripan mavi boyası karıştırıldı (Örneğin 10µl hücre 10 µl Tripan mavisi).
2. Cedex ölçüm lamına 10 µl karışım eklendi.
3. Slide cihazın içerisine yerleştirildi.
4. Cedex yazılımında gerekli isim, dilüsyon, tekrar sayısı girilerek, ölçüm başlatıldı.
5. Sonuçlar, toplam hücre sayısı, ölü ve canlı hücre sayıları, canlılık yüzdesi, agregat oranı, ortalama hücre çapı olarak verildi.

2.1.5. LncRNA Ekspresyon Profillemesi:

Çalışmamızda kullanacağımız beyin tümörü hücre hatları (U87MG, LN18, U118MG, Daoy, SW 1088 ve insan parental beyin kanseri kök hücresi) ve kontrol hücre hatları (insan nöronal kök hücre (korteks), Normal İnsan Astrosit)' nın lncRNA ekspresyon profillerinin belirlenmesi aşağıdaki basamakları içermektedir.

- Total RNA izolasyonu
- cDNA sentezi
- qRT-PCR analizi

2.1.5.1.Total RNA İzolasyonu

Tüm hücre gruplarından RNA izolasyonu, RNeasy Plus Mini Kit (Qiagen, Kat. No: 74134) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Hücrelerden lncRNA' ları da kapsayan tüm RNA' ların elde edilmesini sağlar. Kit, hücrelerin RNAaz' ları hızlı bir şekilde inaktif hale getirerek RNA'nın bozulmadan izolasyonunu gerçekleştiren yüksek guanidin-izotiyosiyanat içeren tampon içinde lizise ve homojenize edilmesinin ardından, lizatın önce DNA' yı seçici bir şekilde uzaklaştıran yüksek tuz içeriğine sahip dönüş kolonundan, ardından etanol uygulanmasıyla birlikte RNA' yı bağlayan membrandan oluşan dönüş kolonundan geçirilmesi temeline dayanmaktadır.

RNeasy Plus Mini Kit Reaktiflerinin Hazırlanması

1. 1ml RLT Plus tamponuna 10µl β-merkaptoetanol eklendi.
2. RPE Buffer absolü etanol ile 1:4 hacim oranında dilüe edilerek çalışma solüsyonu hazırlandı.

Protokol

1. Hücre hatları tripsin ile kaldırılıp, santrifüj edilerek 2×10^6 hücre / ml elde edildi.
2. Hücreler 5dk 300 g' de santrifüj edildi.
3. Santrifüjlenen hücrelerden süpernatant kısmı uzaklaştırıldı.
4. Her gruba 350µl RLT Plus Tamponu eklenerek vortekslendi.
5. Homojenize lizatlar 2ml tüp içine yerleştirilen gDNA ayrıştırıcı dönüş kolonuna aktararak 30 s 8000 g' de santrifüj edildi.
6. gDNA ayrıştırıcı dönüş kolonu uzaklaştırılarak tüpe 350µl %70' lik etanol eklenip, pipetlendi.
7. 700µl örnek 2ml tüp içine yerleştirilen RNeasy dönüş kolonuna aktararak 15s 8000 g' de santrifüj edildi.
8. Tüp içindeki kısım uzaklaştırılarak 500 µl RPE tamponu kolona eklenerek 15 s 8000g' de santrifüj edildi.
9. Tüp içindeki kısım uzaklaştırılarak 500 µl RPE tamponu kolona eklenerek 2 dk 8000 g' de santrifüj edildi.
10. Kolonun altına yeni bir tüp koyularak 1 dk 8000 g' de santrifüjlenip, kolonun kuruması sağlandı.
11. Kolonun altına 1.5 ml ependorf tüp koyularak 50 µl RNase içermeyen H₂O eklendi, 1 dakika 8000 g' de santrifüjlenerek RNA izolasyonu gerçekleştirildi.

2.1.5.1.1.Total RNA Miktarlarının Ölçümü ve Kalite Kontrolü:

Elde edilen RNA örneklerinin konsantrasyonu ve saflıkları 260/280 nm dalga boylarında absorbanslarının ölçülmesiyle belirlendi. Ölçümler her bir örnekten 1-1,5 µl kullanılarak Nanodrop, Thermo Scientific aletinde gerçekleştirildi. İzole edilen RNA'ların saflığı 260 nm ve 280 nm' deki absorbanslarının oranı ile kontrol edilerek, ideal saflıkta kaliteli RNA' nın 10 mM Tris·Cl (pH 7,5) içindeki A260/ A280 absorbans oranının > 2,0 olması

beklenir. Çok küçük miktarlardaki RNA'ların miktar tayini için fotometrik ölçümler mümkün olmayabilir, böyle RNA'ların ölçümü için kantitatif RT-PCR, florometrik kantitasyon yapılabilir.

2.1.5.2. Revers Transkriptaz RT-PCR Analizi

2.1.5.2.1. cDNA sentezi

Total RNA' ları elde edilen beyin hücre modelindeki 6 beyin hücre hattı ve 2 kontrol hücre hattından 1-2 µg olacak şekilde LncProfiler cDNA sentez kit (System Biosciences) kullanılarak cDNA sentezleri 3 aşamada gerçekleştirildi (Tablo 8). RNA miktarları 200-400 ng/µl arasında dilüe edildi.

RNaz ve DNaz içermeyen PCR tüplerindeki total reverz transkriptaz reaksiyon hacmi 20,5 µl olacak şekilde işleme başlandı.

Tablo 8: cDNA reaksiyon basamakları

Adım 1 (PolyA Kuyruğu)	5 µl	Total RNA (~1-2 µg)
	2 µl	5X PolyA Buffer
	1 µl	25 mM MnCl ₂
	1.5 µl	5mM ATP
	+ 0.5 µl	<u>PolyA Polymerase</u>
10 µl (37°C' de 30 dak. inkübasyona bırakıldı)		
↓		
Adım 2 (dT Adaptör Takılması)		
	+ 0.5 µl	Oligo dT Adaptör
	↓	
	60°C' de 5 dakika bekletildi	
	2 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı	

Adım 3 (cDNA sentezi)

4 µl	5X RT Buffer
2 µl	dNTP miks
1.5 µl	0.1M DTT
1.5 µl	Random Primer miks
+ 1 µl	<u>Reverz Transkriptaz</u>

20.5 µl Total



42°C' de 60 dakika inkübasyona bırakıldı

95°C' de 10 dakika bekletildi

İnkübasyondan sonrasında elde edilen cDNA' lar uzun dönem saklanabilmek için (-20°C)' ye kaldırıldı.

2.1.5.2.2. RT-PCR Analizi

Gerçek zamanlı reverz transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu, LncRNA amplifikasyonu ile eş zamanlı olarak artış gösteren floresans sinyalin ölçülmesi ile kantitatif sonuç verebilen bir RT-PCR yöntemidir. PCR reaksiyonlarında sıcaklık döngüleri sağlamak için kullanılan cihazların (thermocycler) hassas ölçüm aletleriyle birleştirilmesi sonucu gerçek zamanlı PCR yöntemi geliştirildi. Ürünler kalitatif ve kantitatif olarak kısa sürede analiz edilebilmekte ve oldukça düşük kontaminasyon riskiyle güvenle çalışılabilmektedir. Ürünlerin analizi reaksiyon sırasında yapılmaktadır. Bu nedenle, agaroz jel elektroforezi, PCR ürününün mor ötesi ışık altında görüntülenmesi gibi işlemlerin uygulanmasına gerek kalmamaktadır. Real-time RT-PCR ürünlerinin kantitatif analizlerinde, diziye özgün olmayan floresan boyalardan ya da diziye özgün problardan yararlanılmaktadır.

Bu aşamada elde edilen cDNA örneklerinden, SYBR Green qPCR Mastermix (Fermantas) kullanılarak İnsan LncRNA Profilleri ve Hastalıkla ilişkilendirilmiş insan LncRNA Profillerinin ekspresyon seviyeleri saptandı.

LightCycler 480 Gerçek Zamanlı PCR

LightCycler 480 gerçek zamanlı PCR cihazı, kapiller tüp sistemlerinden geliştirilmiş olup mikropipet kullanılarak çalışan bir sistemdir. Bu sistem 96 kuyucuklu ve 384 kuyucuklu plate sistemine sahip olup, bu tez çalışmasında 96 kuyucuklu olan plate sistemi kullanıldı (Şekil 12).



Şekil 12: LightCycler 480 Gerçek Zamanlı PCR

2.1.6. İnsan LncProfileri

Çalışmamız için kullandığımız array plakları 90 lncRNA, 5 endojen gen (18S rRNA, RNU43 (snRNA), GAPDH, LAMIN A/C, U6 snRNA) ve 1 kontrol grubundan oluşmaktadır. Böylelikle tek bir plate' te aynı anda sağlıklı insan lncRNA profillerinin gen ekspresyonlarına bakıldı (Tablo: 9,10).

Tablo 9: Plate'teki Gen Düzenlenmesi

	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12
A	Z1A	7SK	7SL	Air	AK023948	Alpha 280	Alpha 250	ANRIL	Anti-NOS2A	antiPeg11	BACE1AS	BC200
B	CAR Intergenic	DHFR upstream	Dio3os	DISC2	DLG2AS	E2F4 Antisense	EgoA	EGOB	Emx2os	EVF1 ve EVF2	GAS5	Gomafu
C	H19	H19 antisense	H19 upstream	HAR1A	HAR1B	HOTAIR	HOTAIRM1	HOTTIP	Hoxa11as	HOXA3as	HOXA6as	HULC
D	IGF2AS	IPW	Jpx	Kcnq1ot1	KRAS P1	L1PA16	lincRNA-p21	lincRNA-RoR	lincRNA-SFMBT2	lincRNA-VLDLR	LOC285194	LUST
E	Malat1	masRNA	MEG3 (family)	MEG9	MER11C	ncR-uPAR	NDM29	NEAT1 (family)	Nespas	NTT	p53 mRNA	PCGEM1
F	PR antisense transcripts	PSF inhibiting RNA	RNCR3	SAF	PTENP1	RNCR3	SAF	SCA8	snaR	SNHG1	SNHG3	SNHG4
G	SNHG5	SNHG6	Sox2ot	SRA	ST7OT	TEA ncRNAs (family)	Tmevpg1	TncRNA	Tsix	TUG1 (family)	UCA1	UM9-5
H	WT1-AS	Xist	YRNA-1	Zeb2NAT	Zfas1	Zfx2as	18S rRNA	RNU43 (snoRNA)	GAPDH	LAMINA/C	U6 snRNA	Negative Control

Tablo 10: İnsan LncRNA Genleri ve Sembolleri

SEMBOL	TANIMLAMA
21A	Kodlamayan RNA 21A
7SK	7SK, Küçük Nüklear RNA
7SL	7SL, Sitoplazmik RNA
Air	Antisens Igf2r RNA
AK023948	-
Alpha 280	-
Alpha 250	-
ANRIL	INK4 Lokusundaki Antisens Kodlamayan RNA
anti-NOS2A	Anti Nitrit Oksit Sentaz 2
antiPeg11	Antisens Peg11
BACE1AS	BACE1 Antisens RNA
BC200	BCYRN1, Beyin Sitoplazmik RNA 1
CAR Intergenic 10	Kromatin ilişkili RNA 10
DHFR upstream transcripts	Dihidrofolat Redüktaz
Dio3os	DIO3'ün Karşısında İplikli / Antisens RNA
DISC2	Bozulmuş İç Şizofreni 2
DLG2AS	DLG2 Antisens RNA
E2F4 antisense	ANTISENS E2F Transkripsiyon Faktörü 4
EgoA	Eozinofil Granül Ontogenez (EGO) RNA A
EGO B	Eozinofil Granül Ontogenez (EGO) RNA B
Emx2os	Emx2 Karşısında İplik Transkript
Evf1 ve EVF2	Embriyonik Ventral Önbeyin-1
GAS5-family	Büyümeyi Engelleyici Spesifik Transkript 5
Gomafu (RNCR2/MIAT)	Retinal Kodlamayan RNA / Miyokardiyal Enfaktüs ilişkili Transkript
H19	Maternal Kökenli İmprintlenmiş Ekspres Transkript
H19 antisense	Antisens Maternal Kökenli İmprintlenmiş Ekspres Transkript
H19 upstream conserved 1 & 2	H19 Yönüne Doğru Korunmuş 1&2
HAR1A	Protein Kodlamayan Büyük Ölçüde Hızlandırılmış Bölge 1A
HAR1B	Protein Kodlamayan Büyük Ölçüde Hızlandırılmış Bölge 1B
HOTAIR	HOX Transkript Antisens İntergenik RNA
HOTAIRM1	HOX Transkript Antisens İntergenik RNA Myeloid 1
HOTTIP	HOXA Transkript Distal Tip
Hoxa11as	Homeobox 11

HOXA3 as	İnsan Uzun Kodlamayan Antisens RNA (homeobox A3)
HOXA6as	İnsan Uzun Kodlamayan Antisens RNA (homeobox A6)
HULC	Aşırı Yukarı Regüle Olmuş Karaciğer Kanseri RNA
IGF2AS (family)	İnsulin Benzeri Büyüme Faktör 2 Antisens
IPW	Prader-Willi Sendrom Bölgesindeki İmprint Edilmiş Gen
Jpx	Xist Aktivatörü
Kcnq1ot1	Kcnq1 Ters Transkript 1
KRAS1	KRAS Pseudogen 1
L1PA16	İnsan Retroelement RNA 16
lincRNA-p21	Tümör protein p53 yolağı koreseptör 1
lincRNA-RoR	İntergenik Kodlamayan RNA -Retinoid İlişkili Orphan Reseptörü
lincRNA-SFMBT2	İntergenik Kodlamayan RNA- Dört mbt Domainli Scm Benzeri
lincRNA-VLDLR	İntergenik Kodlamayan RNA- Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein Reseptör
LOC285194	Tümör Baskılayıcı Aday 7 (protein kodlamayan)
LUST	Luka 15- Spesifik Transkript
Malat1	Metastaz İlişkili Akciğer Adenokarsinomuna Transkript 1
masRNA	Malat1 ile ilişkilendirilmiş Küçük Sitoplazmik RNA
MEG3 (family)	Maternal Olarak Ekspres Edilmiş 3
MEG9	Maternal Olarak Ekspres Edilmiş 9
MER11C	non-LTR Retroelement Gen
ncR-uPAR	Protein Kodlamayan RNA, F2R/PAR1' in Upstreami
NDM29	Nöroblastoma Farklılaşma Markırı 29
NEAT1 (family)	Nükleer Paraspeckle Bütün Transkript 1
Nespa	Nöroendokrin Salgı Protein Antisensi
NRON	Protein Kodlamayan NFAT' in Represörü
NTT	T Hücrelerinde Kodlamayan Transkript
p53 mRNA	Tümör Protein p53
PCGEM1	Prostat Spesifik Transkript (Protein Kodlamayan)
PR antisense transcripts	Progesteron Reseptör Promoter Antisens Transkriptleri
PSF inhibiting RNA	-
RNCR3	Retinal Kodlamayan RNA 3
SAF	Serum Amiloid A- Aktive Edici Faktör
PTENP1	Fosfat ve Tensin Homolog Pseudogen 1
SCA8	ATXN8 Karşı Zinciri (protein kodlamayan)
snaR	NF90-İlişkili Küçük RNAlar
SNHG1	Küçük Nükleolar RNA Konak Gen 1
SNHG3	Küçük Nükleolar RNA Konak Gen 3
SNHG4	Küçük Nükleolar RNA Konak Gen 4
SNHG5	Küçük Nükleolar RNA Konak Gen 5
SNHG6	Küçük Nükleolar RNA Konak Gen 6
Sox2ot	SOX2 Çakışma Transkripti
SRA	Steroid Reseptör RNA Aktivatör 1
ST7OT	-
TEA ncRNAs (family)	T Erken Alfa Ailesi Kodlamayan RNA'ları
TncRNA	Çok Küçük Kodlamayan RNA
Tsix	XIST Antisens RNA
TUG1 (family)	Taurine Yukarı düzenlenmiş RNA 1
UCA1	Üretral Kanseri İlişkili 1
UM9-5	İnsan ve Domuz RNA' ları
WT1-AS	Wilms Tümör Antisens RNA
Xist	X- İnaktif Spesifik Transkript
Y RNA-1	Küçük Sitoplazmik RNA 1
Zeb2NAT	Zeb2 Doğal Antisens RNA
Zfas1	ZNF1 Antisens RNA1
Zfx2as	Zinc Finger Homeobox 2, Antisens
18S rRNA	18S Ribozomal RNA
RNU43 (snoRNA)	Küçük Nükleolar RNA, C/D Box 43
GAPDH	Gliseraldehid 3 Fosfat-Dehidrogenaz
LAMIN A/C	Lamin A/C
U6 snRNA	U6 Küçük Nükleolar RNA
Empty	Negative Kontrol

2.6.2. Hastalıkla İlişkilendirilmiş İnsan LncRNA Profilleri

Çalışmamız için, nörodejenarasyondan kansere kadar ilişkilendirilen önemli genlerin bulunduğu, array plakları kullanıldı (Tablo 11). Doksan altı kuyucuklu olan array plakta 83 lncRNA, 7 endojen genler (ACTB, B2M, PGK1, GAPDH, HPRT1, RPL1A, RPL13A) ve 4 küçük RNA transkriptleri (7SL scRNA, 5.8S Rna, U87 scaRNAU6, smRNA) içermektedir. Ayrıca; genomik DNA kontaminasyonu için genomik DNA kontrolü içermektedir. Böylelikle tek bir plate' te aynı anda hastalıkla ilişkilendirilmiş insan LncRNA profillerinin gen ekspresyonlarına bakıldı (Tablo 11,12).

Tablo 11: Plate'teki Gen Düzenlenmesi

	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12
A	21A	AAA1	aHIF	AK023948	ANRIL	anti-NOS2A	BACE1AS	BC017743	BC043430	BC200	BCMS	BIC
B	CCND1 ANCR	CMPD	DD3	DGCR5	DISC2	DLG2AS	EGO	GAS5	GOMAFU	H19	H19-AS	HAR1A
C	HAR1B	HOTAIR	HOTAIRM1	HOTTIP	HOXA1AS AA489505	HOXA3AS B1823151	HOXA3AS BE873349	HOXA6AS AK092154	HOXA11AS	HULC	IPW	IGF2AS
D	KRAS P1	L1PA16	LIT	LOC285194	LLUST	LincRNA-VLDLR	LincRNA-SFMBT2	MALAT1	MEG3	MER11C	NEAT1	NCRMS
E	NDM29	PANDA	PAR5	PCAT-1	PCAT-14	PCAT-29	PCAT-32	PCAT-43	PCGEM1	PRAT2	PRINS	PSF inhibiting RNA
F	PTENP1	RMIRP	ROR	SAF	SCA8	Sox2OT	SRA	ST7OT1	ST7OT2	ST7OT3	ST7OT4	Telomerase RNA
G	TMEVPG1	TU_0017629	TUG1	UCA1	WT1-AS	Y1	Y3	Y4	Y5	ZEB2NAT	7SK	Negative control
H	7SL scRNA	5.8S rRNA	U87 scaRNA	U6 smRNA	ACTB	B2M	PGK1	GAPDH	HPRT1	RPL1A	RPL13A	GDC

Tablo 12: Hastalıkla İlişkilendirilmiş İnsan LncRNA Genleri ve

Sembolleri

SEMBOL	TANIMLAMA
21A	Kodlamayan RNA 21A
AAA1	Abdominal Aortik Anevrizma
aHIF	Hipoksi İndüklenebilir Faktör
AK023948	-
ANRIL	INK4 Lokusundaki Antisens Kodlamayan RNA
anti-NOS2A	Anti Nitrit Oksit Sentaz 2
BACE1AS	BACE1 Antisens RNA
BC017743	İnsan, Klon Görüntü:4391558, mRNA
BC043430	-
BC200	BCYRN1, Beyin Sitoplazmik RNA 1
BCMS	Çoklu splicingli B-hücreli neoplazi ile ilişkilendirilmiş gen
BIC	İnsan BIC Transkript
CCND1 ANCR	SiklinD1- Anti Farklılaşmamış Kodlamayan RNA
CMPD	Kanser mutant proteom Database
DD3	Yeni prostat spesifik gen
DGCR5	DiGeorge sendrom Kritikale gene bölgesi 5
DISC2	Bozulmuş İç Şizofreni 2

DLG2AS	DLG2 Antisens RNA
EGO	Eozinofil Granül Ontogenez RNA
GAS5	Büyümeyi Engelleyici Spesifik Transkript 5
Gomafu (RNCR2/MIAT)	Retinal Kodlamayan RNA / Miyokardiyal Enfaktüs İlişkili Transkript
H19	Maternal Kökenli İmprintlenmiş Ekspres Transkript
H19-AS	Antisens Maternal Kökenli İmprintlenmiş Ekspres Transkript
HAR1A	Protein Kodlamayan Büyük Ölçüde Hızlandırılmış Bölge 1A
HAR1B	Protein Kodlamayan Büyük Ölçüde Hızlandırılmış Bölge 1B
HOTAIR	HOX Transkript Antisens İntergenik RNA
HOTAIRM1	HOX Transkript Antisens İntergenik RNA Myeloid 1
HOTTIP	HOXA Transkript Distal Tip
HOXA3 as B1823151	İnsan Uzun Kodlamayan Antisens RNA (homeobox A3)
HOXA3 as BE873349	İnsan Uzun Kodlamayan Antisens RNA (homeobox A3)
HOXA6as	İnsan Uzun Kodlamayan Antisens RNA (homeobox A6)
Hoxa11as	Homeobox 11
HULC	Aşırı Yukarı Regüle Olmuş Karaciğer Kanseri RNA
IPW	Prader-Willi Sendrom Bölgesindeki İmprint Edilmiş Gen
IGF2AS	İnsulin Benzeri Büyüme Faktör 2 Antisens
KRAS1	KRAS Pseudogen 1
L1PA16	İnsan Retroelement RNA 16
LIT	T4' ün geç inhibitörü
LOC285194	Tümör Baskılayıcı Aday 7 (protein kodlamayan)
LUST	Luka 15- Spesifik Transkript
lincRNA-VLDLR	İntergenik Kodlamayan RNA- Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein Reseptör
lincRNA-SFMBT2	İntergenik Kodlamayan RNA- Dört mbt Domainli Scm Benzeri
Malat1	Metastaz İlişkili Akciğer Adenokarsinomu Transkript 1
MEG3	Maternal Olarak Ekspres Edilmiş 3
MER11C	non-LTR Retroelement Gen
NEAT1 (family)	Nükleer Paraspeckle Bütün Transkript 1
NCRMS	Rabdomiyosarkomda Kodlamayan RNA
NDM29	Nöroblastoma Farklılaşma Markırı 29
PANDA	-
PAR5	Prader Willi/Angelman RNA Bölgesi 5
PCAT14	Prostat Kanseri İlişkilendirilmiş Transkript 14
PCAT29	Prostat Kanseri İlişkilendirilmiş Transkript 29
PCAT32	Prostat Kanseri İlişkilendirilmiş Transkript 32
PCAT43	Prostat Kanseri İlişkilendirilmiş Transkript 43
PCGEM1	Prostat Spesifik Transkript (Protein Kodlamayan)
PRAT2	Fosforibozilomidtransfraz
PRINS	Stres ile indüklenmiş sedef ilişkili RNA
PSF inhibiting RNA	-
PTENP1	Fosfat ve Tensin Homolog Pseudogen 1
RMRP	Mitokondriyal RNA işleyen endoribonükleazın RNA Bileşeni
RoR	Retinoid ilişkili Orphan Reseptörü
SAF	Serum Amiloid A- Aktive Edici Faktör
SCA8	ATXN8 Karşı Zinciri (protein kodlamayan)
Sox2ot	SOX2 Çakışma Transkripti
SRA	Steroid Reseptör RNA Aktivatör 1
ST7OT1	ST7 antisense RNA 1
ST7OT2	ST7 antisense RNA 2
ST7OT3	ST7 antisense RNA 3
ST7OT4	ST7 antisense RNA 4
Telomerase RNA	Telomerez RNA
Tmevpg1:	Theiler'in fare ensefalomyelit virüs sürdürme aday geni 1
TU_0017629	-
TUG1 (family)	Taurine Yukarı düzenlenmiş RNA 1
UCA1	Üretral Kanseri ilişkili 1
WT1-AS	Wilms Tümör Antisens RNA
Y RNA-1	Küçük Sitoplazmik RNA 1
Y RNA-3	Küçük Sitoplazmik RNA 3
Y RNA-4	Küçük Sitoplazmik RNA 4
Y RNA-5	Küçük Sitoplazmik RNA 5
Zeb2NAT	Zeb2 Doğal Antisens RNA
7SK	7SK, Küçük Nükleer RNA
Negative control	Negatif kontrol
RN7SL1	RNA, 7SL, Sitoplazmik 1
5.8S rRNA	5.8S Ribozomal RNA
U87 scaRNA (SCARNA5)	Küçük Cajal Badi – Spesifik RNA 5
U6 snRNA	U6 Küçük Nükleer RNA
ACTB	Aktin Beta
B2M	Beta- 2- Mikroglobulin
PGK1	Fosfoglisarat Kinaz 1

GAPDH	Gliseralaldahit 3 Fosfat-Dehidrogenaz
HPRT1	Hipoksantin Fosforibozil Transferaz 1
RPL1A	Ribozomal 60S Altbölüm Protein L1A
RPL13A	Ribozomal 60S Altbölüm Protein L3A
GDC	Genomik DNA Kontrol

2.6.2.1. LightCycler 480 Gerçek Zamanlı RT-PCR Protokolü

Hazırlanan cDNA' larla birlikte cihaza ekspresyon analizleri için aşağıdaki protokol ile yeni bir karışım hazırlandı (Tablo 13,14).

2.6.2.1.1. İnsan LncRNA Profil Karışımı

Tablo 13: İnsan LncRNA Real- Time PCR reaksiyonu

Reaktif	Hacim (µl)
SYBR green qpcr master mix buffer	1.750
LncRNA cDNA	20
RNase-free su	1.730
Son hacim	3500

Reaksiyon karışımından her bir kuyucuğa 29 (µl) konularak termal döngü programında RT-PCR cihazına konuldu

2.6.2.1.2. Hastalıkla İlişkilendirilmiş İnsan LncRNA Profil Master Karışımı

- cDNA örnekleri 6x kere dilüe edildi.

Tablo 14: Hastalıkla İlişkilendirilmiş İnsan LncRNA Real- Time PCR reaksiyonu

Reaktif	Hacim (µl)
2x SYBR green qpcr master mix buffer	1.100
LncRNA cDNA	100
RNase-free su	1.000
Son hacim	2.200

Reaksiyon karışımından her bir kuyucuğa 20 (µl) konularak (H12 Hariç) termal döngü programında LightCycler 480 gerçek zamanlı PCR' a konuldu. Genomik DNA kontaminasyonunu saptamak için ise; H12 kuyucuğuna 1µl RNA, 10 µl 2x SYBR Green qPCR Mastermiks buffer, 9 µl nukleaz free water konuldu.

PCR, Denatürasyon, Amplifikasyon, Erime Eğrileri ve Soğutma aşamalarını içermektedir.

1. Pre-inkübasyon

Döngü Programı Verileri	Değer	
Döngü	1	
Analiz Modu	None	
Hedef Dereceleri	Segment 1	Segment 2
Hedef Derece (°C)	50	95
İnkübasyon zamanı (sn)	120	600
Sıcaklık Transisyon Oranı (°C/san)	4,4	4,4
İkinci Hedef Derecesi (°C)	0	0
Basamak derecesi (°C)	0,0	0,0
Döngüler	0	0
Kazanç modu	Yok	Yok

2. Amplifikasyon

Döngü Programı Verileri	Değer	
Döngü	40	
Analiz Modu	Kantitasyon	
Hedef Dereceleri	Segment 1	Segment 2
Hedef Derece (°C)	95	60

İnkübasyon zamanı (sn)	15	60
Sıcaklık Transisyon Oranı (°C/san)	4,4	2,2
İkinci Hedef Derecesi (°C)	0	0
Basamak derecesi (°C)	0,0	0,0
Döngüler	0	0
Kazanç modu	Yok	Tek

3. Erime Eğrileri

Döngü Programı Verileri	Değer		
Döngü	1		
Analiz Modu	Erime Eğrileri		
Hedef Dereceleri	Segment 1	Segment 2	Segment 3
Hedef Derece (°C)	95	60	95
İnkübasyon zamanı (sn)	5	60	
Sıcaklık Transisyon Oranı (°C/san)	4,4	2,2	0,57
İkinci Hedef Derecesi (°C)	0	0,0	
Basamak derecesi (°C)	0,0	0,0	0,0
Döngüler	0	00	
Kazanç modu	Yok	Yok	Devamlı

4. Soğutma

Program Verileri	Değer
Döngü sayısı	1
Analiz Modu	None
Hedef Dereceleri	Segment 1
Hedef Derece (°C)	40
İnkübasyon Zamanı	30
Sıcaklık Transisyon Oranı (°C/san)	2,2

2.7. İstatistiksel Analizler

Gen ekspresyonlarının veri analizi $\Delta\Delta C_T$ metodu ile “RT² Profiler PCR Array Data Analysis v3.5” olarak isimlendirilen bir web tabanlı analiz programında (<http://pcrdataanalysis.sabiosciences.com/pcr/arrayanalysis.php>) yapıldı. Metodun amacı, iki ekspresyon sonucunun karşılaştırılması esasına dayanmaktadır. Böylelikle gen ekspresyonunun karşılaştırılması yapılan her bir gruptaki ilgili genlerin ekspresyon değişimleri belirlendi. Gen ekspresyonları endojen genlere göre normalize edildi. Log 2 transformasyonu uygulandı ve ekspresyonun kat değişimleri ± 2 ve daha fazla olanlar değerlendirmeye alındı ve artış veya azalış olarak tanımlandı.

Ayrıca hücre hatlarından ve kontrollerden elde ettiğimiz sonuçların istatistiksel olarak karşılaştırılması deskriptif, parametrik ve non-parametrik testler ile SPSS v 15.0 istatistik paket programında analiz edildi. Anlamlılık değeri $p < 0,05$ olarak alındı.

BÖLÜM III

3.1. BULGULAR

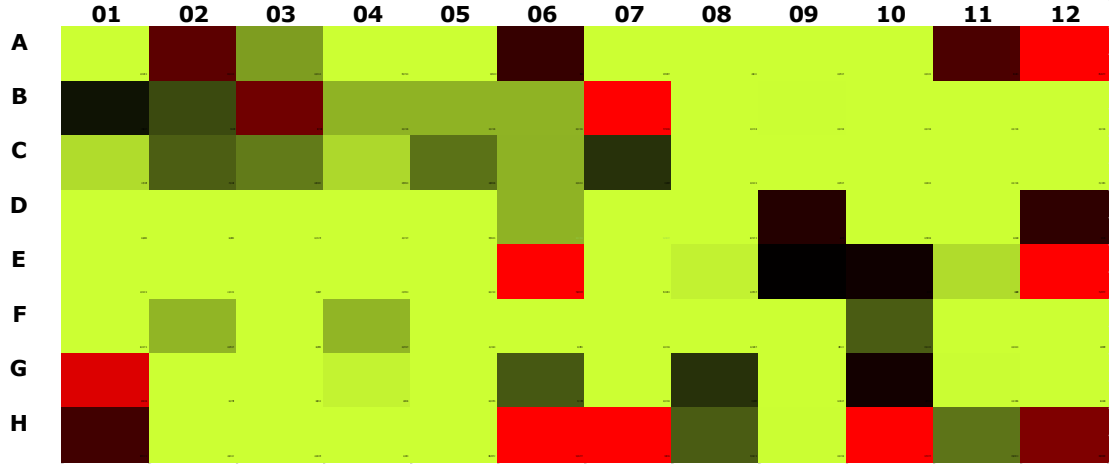
Çalışmamızda; beyin tümörü hücre hatlarında uzun kodlamayan RNA ekspresyon değişimlerinin moleküler patogeneziindeki rolünü belirlemek amacıyla beyin tümörü hücreleri ve beyin tümörü kök hücre hatları kullanıldı. Kontrol grubu olarak da insan nöronal kök hücre (korteks) ve Normal İnsan Astrosit hücre hatları kullanıldı. İnsan lncRNA ve hastalıkla ilişkilendirilmiş insan lncRNA aray plakları ile gen ekspresyon değişimleri belirlendi. Endojen gen olarak insan lncRNA profilleri için 5 endojen gen (18S rRNA, RNU43 (snoRNA), GAPDH, LAMIN A/C, U6 snRNA), hastalıkla ilişkilendirilmiş insan lncRNA Profilleri için ise, 7 endojen genler (ACTB, B2M, PGK1, GAPDH, HPRT1, RPL1A, RPL13A) kullanıldı. Ekspresyon analizi $\Delta\Delta C_T$ ile hesaplandı ve Log 2 transformasyonu uygulandı.

3.1.1. İnsan lncRNA Profilleri

İnsan lncRNA gen ekspresyon değişimini saptamak amacıyla; SW 1088 astrositoma beyin tümörü hücre modeli, beyin kanser kök hücre (BKKH) ile karşılaştırıldığında, 74 lncRNA genin (2-11) kat ekspresyonlarının azaldığı ve 5 lncRNA genin ise (2-12) kat ekspresyonlarının arttığı saptandı (Şekil:13).

	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12
A	21A	7SK	7SL	Alr	AK023948	Alpha280	Alpha250	ANRIL	anti-NOS2A	antiPeg11	BACE1AS	BC200
	-4,5804	-0,5444	-3,3884	-9,8283	-5,0831	-1,1510	-5,93016	-4,184425	-3,594225	-3,583809	-0,814514	12,462222
B	CARIntergenic	DHFRupstream	Dlo3os	DISC2	DLG2AS	E2F4antisense	EgoA	EGOB	Emx2os	Evf1 and EVF2	GASS	Gornafu
	-2,1642	-2,6511	-0,2411	-3,5786	-3,5786	-3,5786	2,2856	-3,5786	-3,5786	-3,5786	-3,5786	-3,5786
C	H19	H19 antisense	H19upstream	HAR1A	HAR1B	HOTAIR	HOTAIRM1	HOTTIP	Hoxa11as	HOXA3as	Hoxa6as	HULC
	-3,9412	-2,8314	-3,0807	-3,9083	-3,0046	-3,5683	-2,3012	-3,5838	-3,5942	-3,5683	-3,5786	-2,7408
D	IGF2AS	IPW	JPX	Kcnq1ot1	KRAS P1	L1PA16	p21	RoR	SFMBT2	VLDLR	LOC 285194	LUST
	-6,6153	-6,3104	-5,7879	-4,8242	-9,9658	-3,5786	-8,7642	-6,2324	-1,4313	-5,2056	-3,3614	-1,2413
E	Malat1	mascrRNA	MEG3	MEG9	MERT11C	ncR-uPAR	NDM29	NEAT1	Nespas	NRON	NTT	p53mRNA
	-4,5838	-7,4548	-5,3162	-7,8954	-6,8783	2,6089	-9,4804	-3,4982	-1,9579	-1,7612	-3,1610	2,4922
F	PCGEM1	PR antisense	PRINS	PSF inhibiting	PTENP1	RNCR3	SAF	SCA8	snaR	SNHG1	SNHG3	SHNG4
	-6,5328	-3,5942	-6,5195	-3,5942	-4,7563	-5,5195	-3,5786	-3,7602	-11,2877	-2,3445	-3,5683	-3,0012
G	SHNG5	SHNG6	Sox2ot	SRA	ST70T	TEA ncRNAs	Tmevpg1	TncRNA	Tsix	TUG1	UCA1	UM9-5
	1,4656	-6,3219	-6,1584	-4,1456	-6,5598	-2,7710	-3,5786	-2,3012	-8,7642	-1,6976	-3,3306	-6,8614
H	WT1-AS	Xist	Y RNA-1	Zeb2NAT	Zfas1	Zfhx2as	18S rRNA	RNU43	GAPDH	LAMNA/C	U6	No assay contr
	-0,9745	-4,6547	-4,3659	-4,4173	-10,7027	8,3622	5,1756	-2,5675	-3,5786	3,2522	-2,6074	0,0000

A)



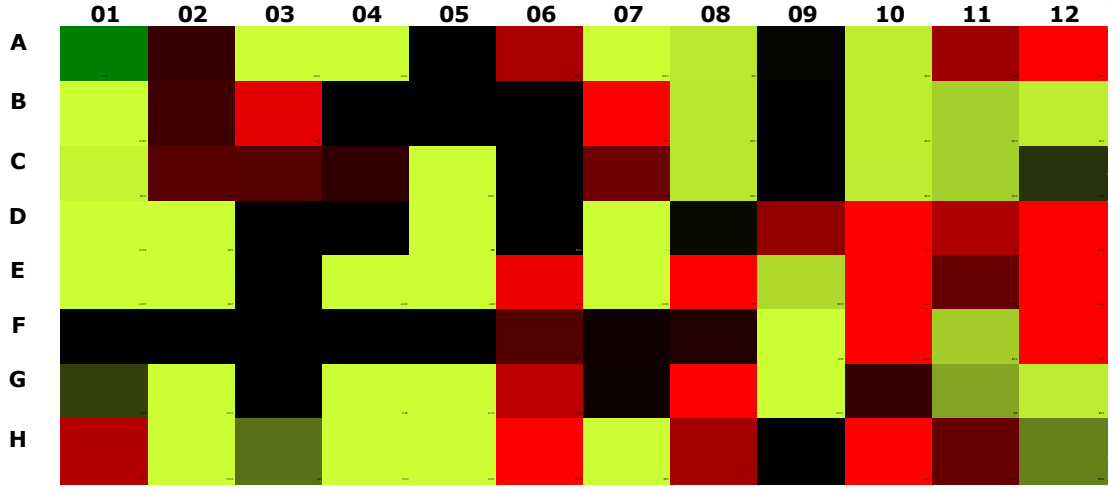
B)

Şekil 13: SW1088 beyin tümörü hücre modelinin insan LncRNA gen ekspresyonlarına (BKKH) olan etkisi. (A) Gen ekspresyon kat değişimleri, (B) Gen ekspresyonunun “heat map” analizi

İnsan LncRNA gen ekspresyon değişimini saptamak amacıyla; SW1088 astrositoma beyin tümörü hücre modeli, kontrol grubu olarak Normal İnsan Astrosit Hücre Hattı (NHA) ile karşılaştırıldığında, 23 lncRNA genin (2-8) kat ekspresyonlarının azaldığı ve 10 lncRNA genin ise (2-7) kat ekspresyonlarının arttığı saptandı (Şekil:14).

	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12
A	21A	7SK	7SL	Alr	AK023948	Alpha280	Alpha250	ANRIL	anti-NOS2A	antiPeg11	BACE1AS	BC200
B	CARIntergenic	DHFRupstream	Dlo3os	DISC2	DLG2AS	E2F4antisense	EgoA	EGOB	Emx2os	Evf1 and EVF2	GASS	Gornafu
C	H19	H19 antisense	H19upstream	HAR1A	HAR1B	HOTAIR	HOTAIRM1	HOTTIP	Hoxa11as	HOXA3as	Hoxa6as	HULC
D	IGF2A5	IPW	JPK	Kcnq1ot1	KRAS1	LIPA16	p21	RoR	SFMBT2	VLDLR	LOC 285194	LUST
E	Malat1	malacRNA	MEG3	MEG9	MERT11C	ncR-uPAR	NDM29	NEAT1	Nespas	NRON	NTT	p53mRNA
F	PCGEM1	PR antisense	PRINS	PSF inhibiting	PTENP1	RNCR3	SAF	SCA8	snaR	SNHG1	SNHG3	SHNG4
G	SHNG5	SHNG6	Sox2ot	SRA	ST70T	TEA ncRNAs	Tmevpg1	TncRNA	Tsix	TUG1	UCA1	UM9-5
H	WT1-AS	Xist	Y RNA-1	Zeb2NAT	Zfas1	Zfhx2as	18S rRNA	RNU43	GAPDH	LAMNA/C	U6	No assay control
	0,8856	-2,2345	-1,8411	-2,2481	-5,4422	2,0989	-2,1976	1,6522	-1,7079	5,1389	0,5456	0,0000

A)



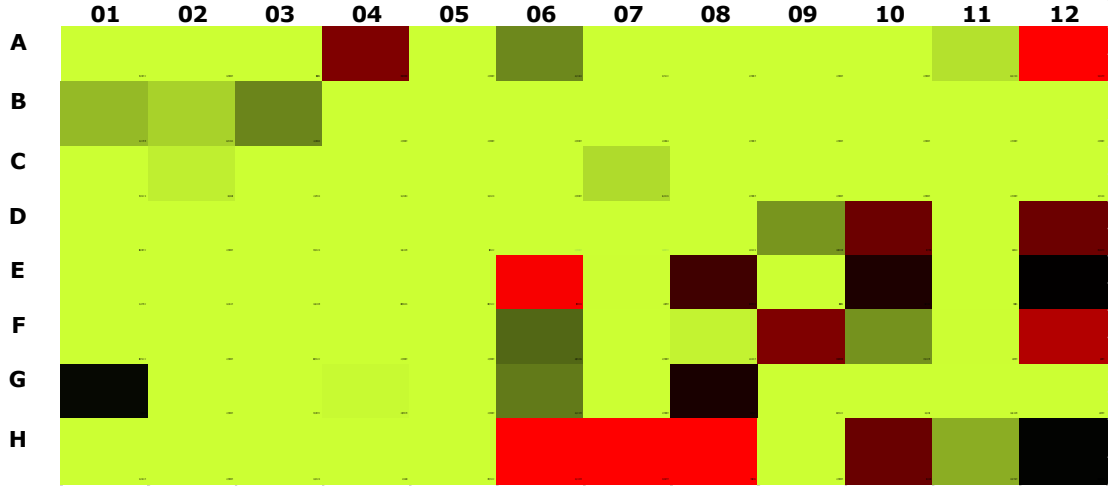
B)

Şekil 14: SW1088 beyin tümörü hücre modelinin insan LncRNA gen ekspresyonlarına (NHA) olan etkisi. (A) Gen ekspresyon kat değişimleri, (B) Gen ekspresyonunun “heat map” analizi

İnsan LncRNA gen ekspresyon değişimini saptamak amacıyla; SW1088 astrositoma beyin tümörü hücre modeli, kontrol grubu olarak Beyin Nöronal Kök Hücre (BNKH) ile karşılaştırıldığında, 78 lncRNA genin (2-13) kat ekspresyonlarının azaldığı ve 1 lncRNA geninin ise (8) kat ekspresyonlarının arttığı saptandı (Şekil 15).

	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12
A	21A	7SK	7SL	Alr	AK023948	Alpha280	Alpha250	ANRIL	anti-NOS2A	antiPeg11	BACE1AS	BC200
	-9,7027	-8,2002	-10,1178	0,0000	-7,2002	-4,7563	-8,287712	-7,20025	-7,20025	-7,20025	-6,573467	8,8322223
B	CARIntergenic	DHFRupstream	Dio3os	DISC2	DLG2AS	E2F4antisense	EgoA	EGOB	Emx2os	Evf1 and EVF2	GAS5	Gornafu
	-5,7799	-6,2765	-4,7065	-7,2002	-7,2002	-7,2002	-7,5064	-7,2002	-7,2002	-7,2002	-7,2002	-7,2002
C	H19	H19 antisense	H19upstream	HAR1A	HAR1B	HOTAIR	HOTAIRM1	HOTTIP	Hoxa11as	HOXA3as	Hoxa6as	HULC
	-9,5873	-6,8614	-7,8954	-8,4804	-8,5873	-7,2002	-6,4548	-7,2002	-7,2002	-7,2002	-7,2002	-4,2543
D	IGF2A5	IPW	JPX	Kcnq1ot1	KRAS P1	L1PA16	p21	RoR	SFMBT2	VLDLR	LOC 285194	LUST
	-10,2877	-7,2002	-9,5873	-8,6439	-11,2877	-7,2002	-8,0023	-4,5838	-5,0350	-0,2911	-8,1584	0,8622
E	Malat1	mascrRNA	MEG3	MEG9	MERT11C	ncR-uPAR	NDM29	NEAT1	Nespas	NRON	NTT	p53mRNA
	-8,4297	-8,7642	-8,6439	-10,9658	-10,2877	1,9055	-7,1792	-0,9945	-10,1178	-1,5446	-9,1178	0,0389
F	PCGEM1	PR antisense	PRINS	PSF inhibiting	PTENP1	RNCR3	SAF	SCA8	snaR	SNHG1	SNHG3	SHNG4
	-10,2877	-7,2002	-10,2877	-7,2002	-7,2002	-4,0856	-7,2002	-4,3452	0,0000	-2,5479	-7,1792	1,4122
G	SHNG5	SHNG6	Sox2ot	SRA	ST70T	TEA ncRNAs	Tmevpg1	TncRNA	Tsix	TUG1	UCA1	UM9-5
	-2,1475	-7,2002	-9,7027	-7,0979	-7,2002	-4,4739	-7,2002	-1,5947	-13,2877	-3,3718	-8,6439	-7,1792
H	WT1-AS	Xist	Y RNA-1	Zeb2NAT	Zfas1	Zfhx2as	18S rRNA	RNU43	GAPDH	LAMNA/C	U6	No assay control
	-8,7642	-7,2002	-8,5873	-7,8614	-12,2877	4,7489	3,3622	2,1656	-7,2002	-0,3511	-5,5262	0,0000

A)



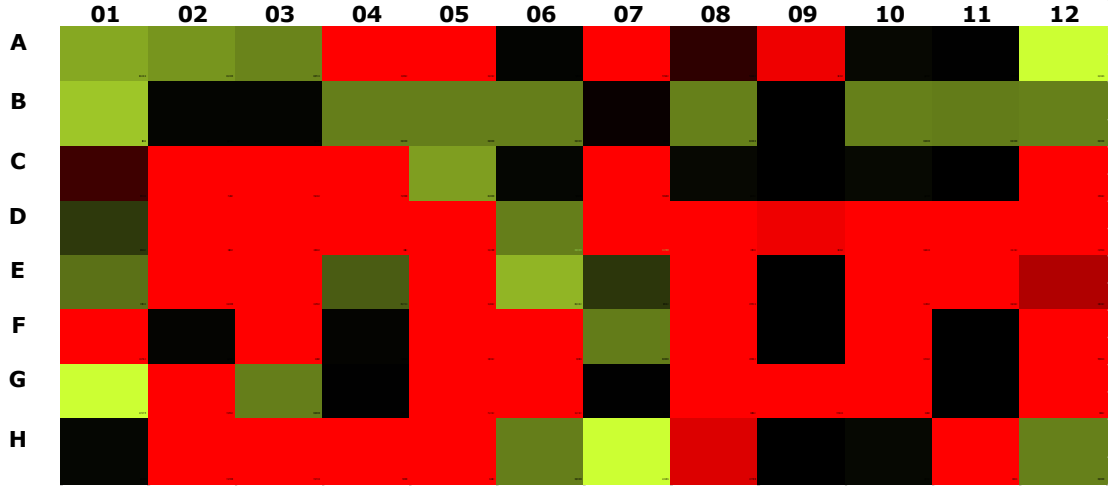
B)

Şekil 15: SW1088 beyin tümörü hücre modelinin insan LncRNA gen ekspresyonlarına (BNKH) olan etkisi. (A) Gen ekspresyon kat değişimleri, (B) Gen ekspresyonunun “heat map” analizi

İnsan LncRNA gen ekspresyon değişimini saptamak amacıyla; Beyin Kanser Kök Hücreleri, kontrol grubu olarak normal İnsan Astrosit Hücre Hattı ile karşılaştırıldığında, 2 lncRNA genin (3-5) kat azaldığı ve 43 lncRNA genin ise (2-9) kat arttığı saptandı (Şekil:16).

	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12
A	21A	7SK	7SL	Alr	AK023948	Alpha280	Alpha250	ANRIL	anti-NOS2A	antiPeg11	BACE1AS	BC200
	-0,6466	-0,3500	-0,0933	4,5067	3,3767	1,8867	2,2666666	2,4666793	1,8766839	1,8766839	1,8600093	-5,386846
B	CARIntergenic	DHFRupstream	Dlo3os	DISC2	DLG2AS	E2F4antisense	EgoA	EGOB	Emx2os	Evf1 and EVF2	GASS	Gornafu
	-1,1066	1,8700	1,8700	0,0000	0,0000	0,0000	1,8700	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
C	H19	H19 antisense	H19upstream	HAR1A	HAR1B	HOTAIR	HOTAIRM1	HOTTIP	Hoxa11as	HOXA3as	Hoxa6as	HULC
	1,9533	2,4167	2,6367	2,8900	-0,5000	1,8600	2,0600	1,8767	0,0000	1,8700	1,8700	3,9667
D	IGF2A5	IPW	JPX	Kcnq1ot1	KRASPI	LIPA16	p21	RoR	SFMBT2	VLDLR	LOC 285194	LUST
	1,0667	3,1667	4,0667	3,1167	5,8700	0,0000	5,5200	7,1233	1,8767	8,6633	4,5767	7,5933
E	Malat1	mascrRNA	MEG3	MEG9	MERT11C	ncR-uPAR	NDM29	NEAT1	Nespas	NRON	NTT	p53mRNA
	0,1933	5,3300	3,5967	0,5234	3,4667	-0,8567	1,0467	7,9933	0,0000	5,7067	3,6667	3,0367
F	PCGEM1	PR antisense	PRINS	PSF inhibiting	PTENP1	RNCR3	SAF	SCA8	snaR	SNHG1	SNHG3	SHNG4
	4,8267	1,8767	4,8167	1,8767	3,0367	5,0133	0,0000	4,9067	0,0000	5,2867	1,8700	9,9033
G	SHNG5	SHNG6	Sox2ot	SRA	ST70T	TEA ncRNAs	Tmevpg1	TncRNA	Tsix	TUG1	UCA1	UM9-5
	-3,2529	2,5967	0,0000	1,9233	2,7767	3,7767	1,8600	6,1967	2,2633	3,8167	1,8700	5,1667
H	WT1-AS	Xist	Y RNA-1	Zeb2NAT	Zfas1	Zfhx2as	18S rRNA	RNU43	GAPDH	LAMNA/C	U6	No assay control
	1,8600	2,4200	2,5233	2,1700	5,3167	0,0000	-7,3808	4,2200	0,0000	1,8867	3,1533	0,0000

A)



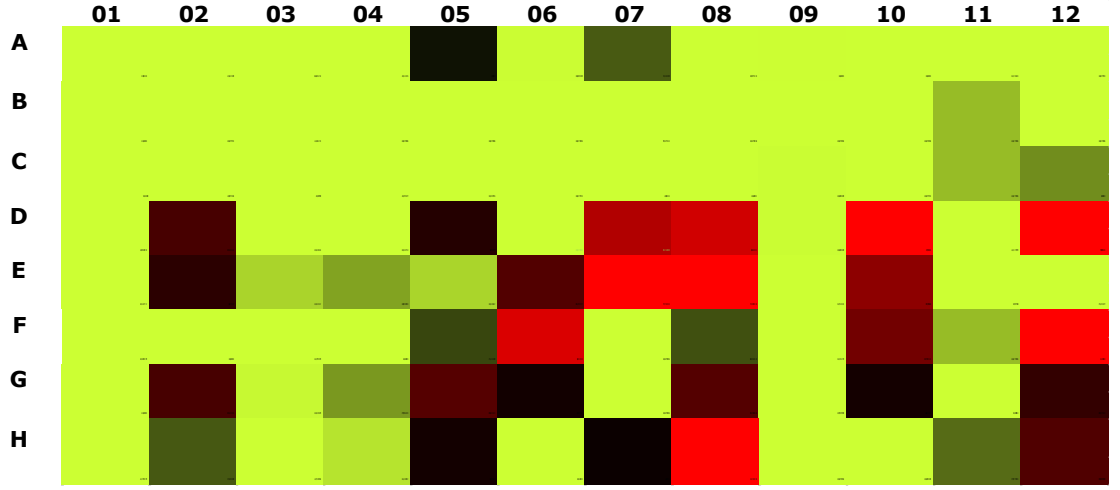
B)

Şekil 16: Beyin Kanseri Kök Hücre modelinin insan lncRNA gen ekspresyonlarına (NHA) olan etkisi. (A) Gen ekspresyon kat değişimleri, (B) Gen ekspresyonunun “heat map” analizi

İnsan lncRNA gen ekspresyon değişimini saptamak amacıyla; Beyin Kanseri Kök Hücreleri, kontrol grubu olarak Beyin Nöronal Kök Hücre ile karşılaştırıldığında, 67 lncRNA genin (2-9) kat ekspresyonlarının azaldığı ve 5 lncRNA genin ise (2-4) kat ekspresyonlarının arttığı saptandı (Şekil 17).

	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12
A	21A	7SK	7SL	Alr	AK023948	Alpha280	Alpha250	ANRIL	anti-NOS2A	antiPeg11	BACE1AS	BC200
	-5,1533	-7,6730	-6,6878	-4,8448	-2,1134	-3,6030	-2,343	-3,02327	-3,61352	-3,61352	-5,756331	-3,629501
B	CARIntergenic	DHFRupstream	Dio3os	DISC2	DLG2AS	E2F4antisense	EgoA	EGOB	Emx2os	Evf1 and EVF2	GAS5	Gornafu
	-3,6135	-3,6295	-4,4675	-3,6206	-3,6206	-3,6206	-9,8283	-3,6206	-3,6206	-3,6206	-3,6206	-3,6206
C	H19	H19 antisense	H19upstream	HAR1A	HAR1B	HOTAIR	HOTAIRM1	HOTTIP	Hoxa11as	HOXA3as	Hoxa6as	HULC
	-5,6511	-4,0256	-4,8120	-4,5942	-5,5598	-3,6295	-4,1533	-3,6135	-3,6030	-3,6295	-3,6206	-1,5133
D	IGF2A5	IPW	JPX	Kcnq1ot1	KRASPI	LIPA16	p21	RoR	SFMBT2	VLDLR	LOC 285194	LUST
	-4,0303	-0,8834	-3,8468	-3,8324	-1,4332	-3,6206	0,7800	1,6433	-3,6030	4,9133	-4,7799	2,1033
E	Malat1	malacRNA	MEG3	MEG9	MERT11C	ncR-uPAR	NDM29	NEAT1	Nespas	NRON	NTT	p53mRNA
	-3,8427	-1,3234	-3,3437	-3,0303	-3,3467	-0,7032	2,2433	2,5033	-8,2433	0,2166	-5,9214	-2,4532
F	PCGEM1	PR antisense	PRINS	PSF inhibiting	PTENP1	RNCR3	SAF	SCA8	snaR	SNHG1	SNHG3	SHNG4
	-3,8059	-3,6135	-3,7959	-3,6135	-2,4430	1,4333	-3,6206	-0,5834	-5,7879	-0,2034	-3,6206	4,4133
G	SHNG5	SHNG6	Sox2ot	SRA	ST70T	TEA ncRNAs	Tmevpg1	TncRNA	Tsiox	TUG1	UCA1	UM9-5
	-3,6135	-0,8733	-3,5769	-2,9635	-0,6534	-1,7032	-3,6206	0,7066	-3,9590	-1,6735	-5,3104	-0,3234
H	WT1-AS	Xist	Y RNA-1	Zeb2NAT	Zfas1	Zfhx2as	18S rRNA	RNU43	GAPDH	LAMNA/C	U6	No assay control
	-7,7959	-2,5530	-4,2406	-3,4407	-1,6967	-3,6135	-1,8135	4,7333	-3,6206	-3,6030	-2,9203	0,0000

A)



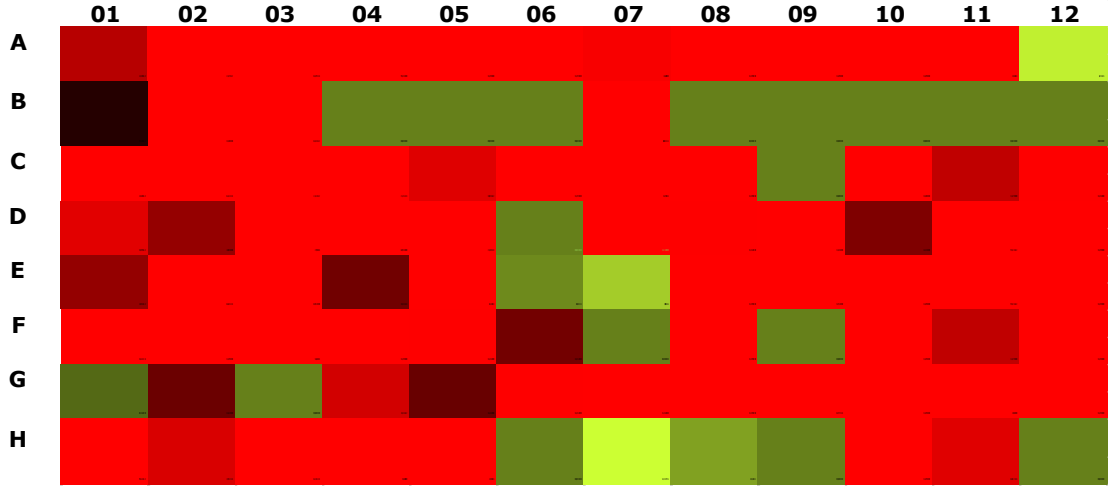
B)

Şekil 17: Beyin Kanseri Kök Hücre modelinin insan lncRNA gen ekspresyonlarına (BNKH) olan etkisi. (A) Gen ekspresyon kat değişimleri, (B) Gen ekspresyonunun “heat map” analizi

İnsan lncRNA gen ekspresyon değişimini saptamak amacıyla; Beyin Nöronal Kök Hücreleri, kontrol grubu olarak Normal İnsan Astrosit Hücreleri ile karşılaştırıldığında, 85 lncRNA genin ise (2-11) kat ekspresyonlarının arttığı saptandı (Şekil 18).

	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12
A	21A	7SK	7SL	Alr	AK023948	Alpha280	Alpha250	ANRIL	anti-NOS2A	antiPeg11	BACE1AS	BC200
	4,5067	7,3267	6,5933	9,3500	5,4900	5,4900	4,6099972	5,4899988	5,4899988	5,4899988	7,6133335	-1,756818
B	CARIntergenic	DHFRupstream	Dlo3os	DISC2	DIG2AS	E2F4antisense	EgoA	EGOB	Emx2os	Evf1 and EVF2	GAS5	Gornafu
	2,5067	5,5000	6,3367	0,0000	0,0000	0,0000	11,6533	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
C	H19	H19 antisense	H19upstream	HAR1A	HAR1B	HOTAIR	HOTAIRM1	HOTTIP	Hoxa11as	HOXA3as	Hoxa6as	HULC
	7,6067	6,4433	7,4467	7,4833	5,0567	5,4900	6,2133	5,4900	0,0000	5,5000	5,4900	5,4800
D	IGF2A5	IPW	JPX	Kcnq1ot1	KRAS P1	LIPA16	p21	RoR	SFRBT2	VLDLR	LOC 285194	LUST
	5,0967	4,0500	7,9133	6,9500	7,3033	0,0000	4,7400	5,4800	5,4800	3,7500	9,3567	5,4900
E	Malat1	mascrRNA	MEG3	MEG9	MERT11C	ncR-uPAR	NDM29	NEAT1	Nespas	NRON	NTT	p53mRNA
	4,0367	6,6533	6,9400	3,5533	6,8133	-0,1533	-1,1966	5,4900	8,2400	5,4900	9,5867	5,4900
F	PCGEM1	PR antisense	PRINS	PSF inhibiting	PTENP1	RNCR3	SAF	SCA8	snaR	SNHG1	SNHG3	SHNG4
	8,6333	5,4900	8,6133	5,4900	5,4800	3,5800	0,0000	5,4900	0,0000	5,4900	5,4900	5,4900
G	SHNG5	SHNG6	Sox2ot	SRA	ST70T	TEA ncRNAs	Tmevpg1	TncRNA	Tsix	TUG1	UCA1	UM9-5
	0,3600	3,4700	0,0000	4,8867	3,4300	5,4800	5,4800	5,4900	6,2233	5,4900	7,1800	5,4900
H	WT1-AS	Xist	Y RNA-1	Zeb2NAT	Zfas1	Zfhx2as	18S rRNA	RNU43	GAPDH	LAMNA/C	U6	No assay control
	9,6467	4,9733	6,7633	5,6100	7,0133	0,0000	-5,5598	-0,5133	0,0000	5,4900	6,0733	0,0000

A)



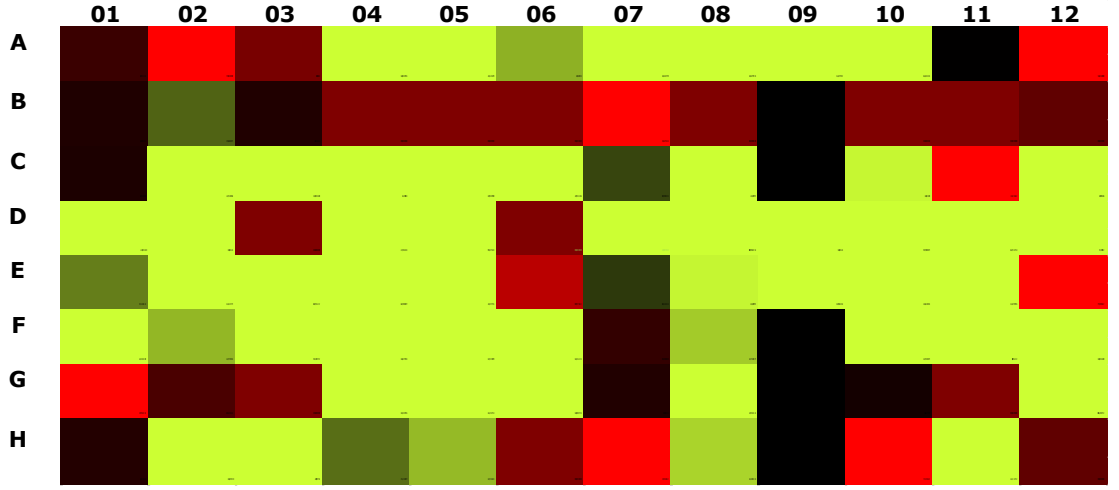
B)

Şekil 18: Beyin Nöronal Kök Hücre Modelinin İnsan LncRNA gen ekspresyonlarına (NHA) olan etkisi. (A) Gen ekspresyon kat değişimleri, (B) Gen ekspresyonunun “heat map” analizi

İnsan LncRNA gen ekspresyon değişimini saptamak amacıyla Daoy medullablastom hücre modelinin, Beyin kanser Kök Hücre ile karşılaştırıldığında, 54 lncRNA genin (2-13) kat ekspresyonlarının azaldığı ve 6 lncRNA genin ise (2-8) kat ekspresyonlarının arttığı saptandı (Şekil:19).

	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12
A	21A	7SK	7SL	Alr	AK023948	Alpha280	Alpha250	ANRIL	anti-NOS2A	antiPeg11	BACE1AS	BC200
B	CARIntergenic	DHFRupstream	Dlo3os	DISC2	DLG2AS	E2F4antisense	EgoA	EGOB	Emx2os	Evf1 and EVF2	GASS	Gornafu
C	H19	H19 antisense	H19upstream	HAR1A	HAR1B	HOTAIR	HOTAIRM1	HOTTIP	Hoxa11as	HOXA3as	Hoxa6as	HULC
D	IGF2A5	IPW	JPX	Kcnq1ot1	KRASPI	LIPA16	p21	RoR	SFMBT2	VLDLR	LOC 285194	LUST
E	Malat1	mascrRNA	MEG3	MEG9	MERT11C	ncR-uPAR	NDM29	NEAT1	Nespas	NRON	NTT	p53mRNA
F	PCGEM1	PR antisense	PRINS	PSF inhibiting	PTENP1	RNCR3	SAF	SCA8	snaR	SNHG1	SNHG3	SHNG4
G	SHNG5	SHNG6	Sox2ot	SRA	ST70T	TEA ncRNAs	Tmevpg1	TncRNA	Tsix	TUG1	UCA1	UM9-5
H	WT1-AS	Xist	Y RNA-1	Zeb2NAT	Zfas1	Zfhx2as	18S rRNA	RNU43	GAPDH	LAMNA/C	U6	No assay control
	-1,0834	2,0300	-0,1134	-8,0398	-4,8489	-3,1805	-3,652901	-3,629501	-8,429731	-6,333516	-1,979942	8,6800001
	-1,5035	-2,6602	-1,4868	0,0000	0,0000	0,0000	3,6233	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
	-1,5500	-4,2406	-5,0880	-3,7103	-3,9390	-4,9346	-0,9035	-4,5129	0,0000	-3,1740	4,3567	-3,1936
	-4,0541	-5,1584	0,0000	-7,2653	-9,8283	0,0000	-7,0783	-10,9658	-8,1584	-9,2002	-6,2324	-2,4197
	-2,8365	-5,4422	-13,2877	-6,2002	-4,5228	0,9267	-0,8334	-3,5129	-8,9658	-3,6403	-5,4998	2,2067
	-4,5530	-3,2203	-9,7027	-5,6295	-5,2709	-8,5873	0,0000	-3,2502	0,0000	-3,2502	-11,2877	-5,0880
	4,9833	-0,8368	0,0000	-5,5598	-3,7524	-8,0023	-0,1733	-4,9434	0,0000	-1,6799	0,0000	-10,7027
	-1,4465	-3,6971	-4,1923	-2,7302	-3,2365	0,0000	7,0467	-3,3033	0,0000	2,7567	-3,7427	0,0000

A)



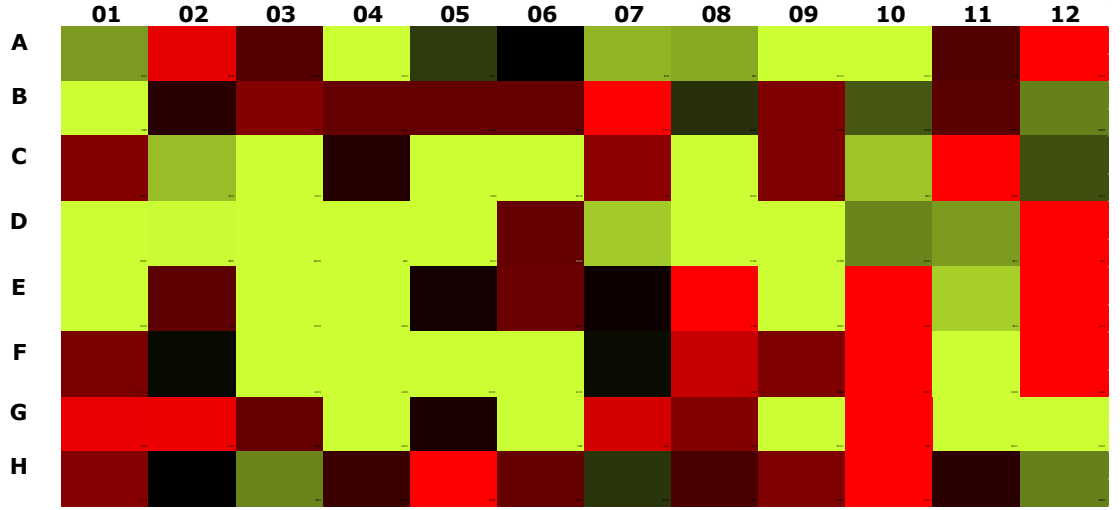
B)

Şekil 19: Daoy hücre modelinin insan lncRNA gen ekspresyonlarına (BNSC) olan etkisi. (A) Gen ekspresyon kat değişimleri, (B) Gen ekspresyonunun “heat map” analizi

İnsan lncRNA gen ekspresyon değişimini saptamak amacıyla Daoy medullablastom hücre modelinin, kontrol grubu olarak Normal İnsan Astrosit Hücre Hattı ile karşılaştırıldığında, 28 lncRNA genin (2-13) kat ekspresyonlarının azaldığı ve 12 lncRNA genin ise (2-6) kat ekspresyonlarının arttığı saptandı (Şekil 20).

	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12
A	21A	7SK	7SL	Alr	AK023948	Alpha280	Alpha250	ANRIL	anti-NOS2A	antiPeg11	BACE1AS	BC200
	-1,7298	1,6800	-0,2067	-3,5328	-1,4735	-1,2934	-1,386846	-1,163268	-6,573467	-4,454822	-0,119981	3,2933263
B	CARIntergenic	DHFRupstream	Dlo3os	DISC2	DLG2AS	E2F4antisense	EgoA	EGOB	Emx2os	Evf1 and EVF2	GAS5	Gornafu
	-2,6100	-0,7901	0,3834	0,0000	0,0000	0,0000	5,4933	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
C	H19	H19 antisense	H19upstream	HAR1A	HAR1B	HOTAIR	HOTAIRM1	HOTTIP	Hoxa11as	HOXA3as	Hoxa6as	HULC
	0,4034	-1,8232	-2,4532	-0,8201	-4,4391	-3,0770	1,1567	-2,6367	0,0000	-1,3033	6,2267	0,7733
D	IGF2A5	IPW	JPX	Kcnq1ot1	KRAS P1	LIPA16	p21	RoR	SFMBT2	VLDLR	LOC 285194	LUST
	-2,9862	-1,9902	-10,4804	-4,1507	-3,9771	0,0000	-1,5568	-3,7505	-6,2990	-0,5467	-1,6534	5,1733
E	Malat1	mascRNA	MEG3	MEG9	MERT11C	ncR-uPAR	NDM29	NEAT1	Nespas	NRON	NTT	p53mRNA
	-2,6430	-0,1134	-9,8283	-5,6804	-1,0568	0,0700	0,2134	4,4800	-8,9658	2,0667	-1,8334	5,2433
F	PCGEM1	PR antisense	PRINS	PSF inhibiting	PTENP1	RNCR3	SAF	SCA8	snaR	SNHG1	SNHG3	SHNG4
	0,2733	-1,3434	-4,8448	-3,7505	-2,2365	-3,5735	0,0000	1,6567	0,0000	2,0367	-9,3808	4,8133
G	SHNG5	SHNG6	Sox2ot	SRA	ST70T	TEA ncRNAs	Tmevpg1	TncRNA	Tsix	TUG1	UCA1	UM9-5
	1,7300	1,7600	0,0000	-3,6367	-0,9765	-4,2189	1,6867	1,2533	-13,2877	2,1367	-13,2877	-5,5462
H	WT1-AS	Xist	Y RNA-1	Zeb2NAT	Zfas1	Zfhx2as	18S rRNA	RNU43	GAPDH	LAMNA/C	U6	No assay control
	0,4134	-1,2768	-1,6698	-0,5600	2,0800	0,0000	-0,3266	0,9166	0,0000	4,6433	-0,5901	0,0000

A)



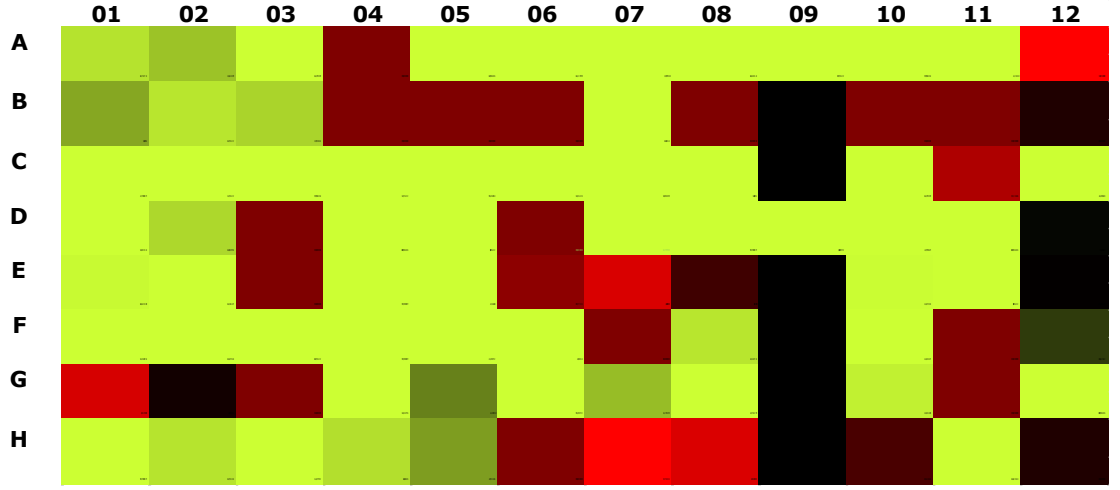
B)

Şekil 20: Daoy hücre modelinin insan LncRNA gen ekspresyonlarına (NHA) olan etkisi. (A) Gen ekspresyon kat değişimleri, (B) Gen ekspresyonunun “heat map” analizi

İnsan LncRNA gen ekspresyon değişimini saptamak amacıyla Daoy medullablastom hücre modelinin, kontrol grubu olarak Beyin Nöronal Kök Hücre ile karşılaştırıldığında, 60 lncRNA genin (3-13) kat ekspresyonlarının azaldığı ve 1 lncRNA genin ise 5 kat ekspresyonlarının arttığı saptandı (Şekil 21).

	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12
A	21A	7SK	7SL	Alr	AK023948	Alpha280	Alpha250	ANRIL	anti-NOS2A	antiPeg11	BACE1AS	BC200
	-6,2324	-5,6439	-6,7959	0,0000	-6,9658	-6,7799	-5,993092	-6,658356	-12,28771	-9,965784	-7,733124	5,050001
B	CARIntergenic	DHFRupstream	Dlo3os	DISC2	DLG2AS	E2F4antisense	EgoA	EGOB	Emx2os	Evf1 and EVF2	GASS	Gornafu
	-5,1178	-6,2877	-5,9568	0,0000	0,0000	0,0000	-6,1584	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
C	H19	H19 antisense	H19upstream	HAR1A	HAR1B	HOTAIR	HOTAIRM1	HOTTIP	Hoxa11as	HOXA3as	Hoxa6as	HULC
	-7,2002	-8,2877	-9,9658	-8,2877	-9,4804	-8,5873	-5,0589	-8,1178	0,0000	-6,7959	0,7366	-4,7065
D	IGF2A5	IPW	JPX	Kcnq1ot1	KRASPI	L1PA16	p21	RoR	SFMBT2	VLDLR	LOC 285194	LUST
	-8,0783	-6,0398	0,0000	-10,9658	-11,2877	0,0000	-6,2990	-9,2002	-11,7027	-4,2962	-10,9658	-0,3167
E	Malat1	mascrRNA	MEG3	MEG9	MERT11C	ncR-uPAR	NDM29	NEAT1	Nespas	NRON	NTT	p53mRNA
	-6,6730	-6,7642	0,0000	-9,2002	-7,8614	0,2233	1,4100	-1,0101	0,0000	-3,4235	-11,2877	-0,2467
F	PCGEM1	PR antisense	PRINS	PSF inhibiting	PTENP1	RNCR3	SAF	SCA8	snaR	SNHG1	SNHG3	SHNG4
	-8,3808	-6,8283	-13,2877	-9,2002	-7,7027	-7,1584	0,0000	-3,8324	0,0000	-3,4532	0,0000	-0,6767
G	SHNG5	SHNG6	Sox2ot	SRA	ST70T	TEA ncRNAs	Tmevpg1	TncRNA	Tsix	TUG1	UCA1	UM9-5
	1,3700	-1,7098	0,0000	-8,5328	-4,4081	-9,7027	-3,7939	-4,2379	0,0000	-3,3540	0,0000	-10,9658
H	WT1-AS	Xist	Y RNA-1	Zeb2NAT	Zfas1	Zfhx2as	18S rRNA	RNU43	GAPDH	LAMNA/C	U6	No assay control
	-9,2002	-6,2543	-8,4297	-6,1688	-4,9346	0,0000	5,2333	1,4300	0,0000	-0,8466	-6,6584	0,0000

A)

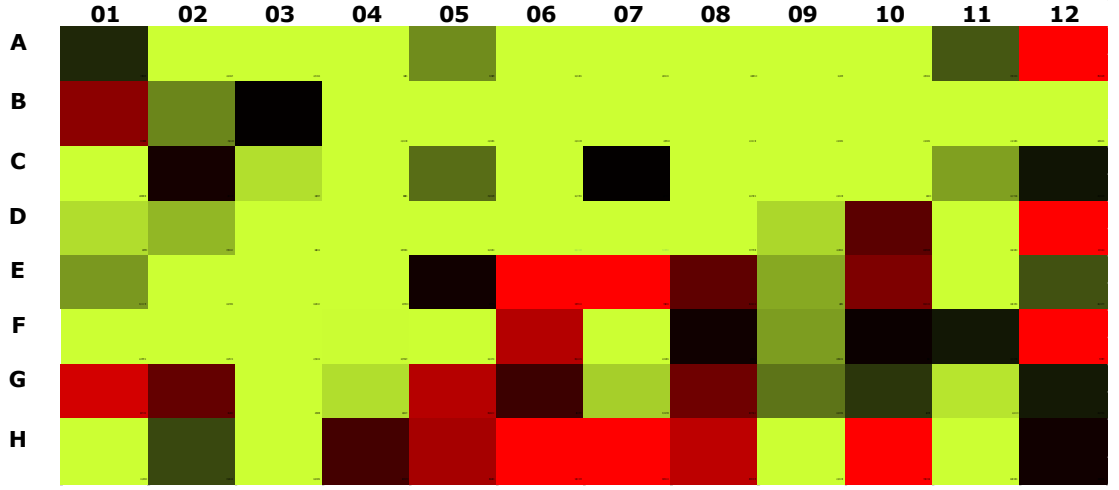


B)

Şekil 21: Daoy medullablastom hücre modelinin insan LncRNA gen ekspresyonlarına (BNSC) olan etkisi. (A) Gen ekspresyon kat değişimleri, (B) Gen ekspresyonunun “heat map” analizi

İnsan LncRNA gen ekspresyon değişimini saptamak amacıyla GBM (U87,U118,LN18) hücre modelleri, Beyin Kanseri Kök Hücre ile karşılaştırıldığında, 25 lncRNA genin (2-5) kat ekspresyonlarının azaldığı ve 19 lncRNA genin (2-16) kat ekspresyonlarının arttığı saptandı (Şekil 22).

	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12
A	21A	7SK	7SL	Alr	AK023948	Alpha280	Alpha250	ANRIL	anti-NOS2A	antiPeg11	BACE1AS	BC200
	-2,1969	-4,5362	-4,2765	-8,1178	-2,7169	-5,3808	-4,044538	-3,008102	-5,717857	-4,956796	-2,933463	12,588889
B	CARIntergenic	DHFRupstream	Dio3os	DISC2	DLG2AS	E2F4antisense	EgoA	EGOB	Emx2os	Evf1 and EVF2	GAS5	Gornafu
	0,2100	-2,6841	-1,9512	-7,3570	-7,3808	-7,3570	-4,9931	-7,3570	-7,3808	-7,3808	-7,3808	-6,9658
C	H19	H19 antisense	H19upstream	HAR1A	HAR1B	HOTAIR	HOTAIRM1	HOTTIP	Hoxa11as	HOXA3as	Hoxa6as	HULC
	-4,0000	-1,6579	-3,1392	-10,1178	-2,5589	-3,7293	-1,9390	-3,3205	-7,3570	-3,1571	-3,7236	-0,2889
D	IGF2AS	IPW	JPX	Kcnq1ot1	KRAS1	L1PA16	p21	RoR	SFMBT2	VLDLR	LOC 285194	LUST
	-3,1291	-2,9357	-6,1688	-3,9908	-5,4804	-6,6730	-2,7093	-2,2290	-4,7065	-0,0900	-5,6804	4,2344
E	Malat1	mascRNA	MEG3	MEG9	MERT11C	ncR-uPAR	NDM29	NEAT1	Nespas	NRON	NTT	p53mRNA
	-2,7779	-3,3205	-5,3047	-3,9931	-1,7245	5,9944	2,1455	-0,4844	-4,1178	0,3545	-5,0493	-0,7322
F	PCGEM1	PR antisense	PRINS	PSF inhibiting	PTENP1	RNCR3	SAF	SCAB	snaR	SNHG1	SNHG3	SHNG4
	-4,4998	-3,8975	-7,2653	-3,2962	-3,3423	0,8378	-7,3808	-1,7065	-3,9658	-1,1165	-2,2420	2,2122
G	SHNG5	SHNG6	Sox2ot	SRA	ST70T	TEA ncRNAs	Tmevpg1	TncRNA	Tsix	TUG1	UCA1	UM9-5
	1,3245	-0,4177	-4,9170	-3,1342	0,8677	-1,0499	-2,4820	-0,2267	-3,4596	-1,4212	-4,4771	-0,3245
H	WT1-AS	Xist	Y RNA-1	Zeb2NAT	Zfas1	Zfx2as	18S rRNA	RNU43	GAPDH	LAMNA/C	U6	No assay control
	-5,4051	-2,3644	-8,3808	-0,9321	0,6145	8,0789	5,0544	0,9789	-7,3570	2,0756	-6,0303	0,0000



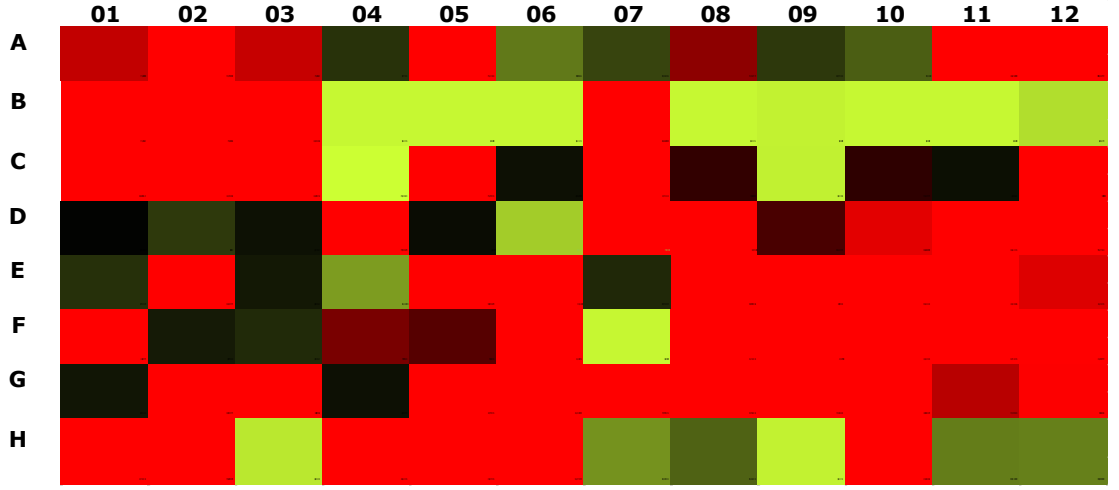
B)

Şekil 22: GBM (U87,U118,LN18) hücre modellerinin insan LncRNA gen ekspresyonlarına (BNKH) olan etkisi. (A) Gen ekspresyon kat değişimleri, (A) Gen ekspresyon kat değişimleri, (B) Gen ekspresyonunun “heat map” analizi

İnsan LncRNA gen ekspresyon değişimini saptamak amacıyla GBM (U87,U118,LN18) hücre modelleri, kontrol grubu olarak Normal İnsan Astrosit Hücre Hattı ile karşılaştırıldığında, 1 lncRNA genin 2 kat ekspresyonlarının azaldığı ve 59 lncRNA genin (2-10) kat ekspresyonlarının arttığı saptandı (Şekil 23).

	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12
A	21A	7SK	7SL	Alr	AK023948	Alpha280	Alpha250	ANRIL	anti-NOS2A	antiPeg11	BACE1AS	BC200
B	CARIntergenic	DHFRupstream	Dio3os	DISC2	DLG2AS	E2F4antisense	EgoA	EGOB	Emx2os	Evf1 and EVF2	GAS5	Gornafu
C	H19	H19 antisense	H19upstream	HAR1A	HAR1B	HOTAIR	HOTAIRM1	HOTTIP	Hoxa11as	HOXA3as	Hoxa6as	HULC
D	IGF2A5	IPW	JPX	Kcnq1ot1	KRAS P1	LIPA16	p21	RoR	SFMBT2	VLDLR	LOC 285194	LUST
E	Malat1	mascrRNA	MEG3	MEG9	MERT11C	ncR-uPAR	NDM29	NEAT1	Nespas	NRON	NTT	p53mRNA
F	PCGEM1	PR antisense	PRINS	PSF inhibiting	PTENP1	RNCR3	SAF	SCA8	snaR	SNHG1	SNHG3	SHNG4
G	SHNG5	SHNG6	Sox2ot	SRA	ST70T	TEA ncRNAs	Tmevpg1	TncRNA	Tsix	TUG1	UCA1	UM9-5
H	WT1-AS	Xist	Y RNA-1	Zeb2NAT	Zfas1	Zfhx2as	18S rRNA	RNU43	GAPDH	LAMNA/C	U6	No assay control
	2,3100	2,7900	2,3167	1,2245	2,7733	0,1066	0,5655972	2,4822287	-0,224486	0,5310695	4,679998	10,832222
	2,7167	2,8156	4,3856	-1,8778	-1,8810	-1,8778	6,6600	-1,8778	-1,8810	-1,8810	-1,8810	-1,4679
	3,6067	4,7856	4,3078	-2,6565	2,4978	1,7600	4,2744	2,1700	-1,8746	2,3422	1,7667	5,1911
	1,9678	1,1144	1,7467	2,9589	1,8211	-1,1877	2,0311	3,2511	0,7722	3,6600	3,6778	9,7244
	1,2589	3,3322	1,6367	-0,4401	5,0889	5,8411	0,9489	5,0056	4,1233	5,8444	4,5356	4,7578
	4,1322	1,5934	1,3567	2,1933	2,1378	4,4178	-1,8810	3,7833	7,8911	4,3733	3,2478	7,7022
	1,6845	3,0522	3,1056	1,7522	4,2978	4,4300	2,9978	5,2633	2,7633	4,0689	2,7045	5,1656
	4,2433	2,6089	-1,6335	4,6778	7,6278	5,4289	-0,5055	0,4655	-1,8778	7,5656	0,0400	0,0000

A)



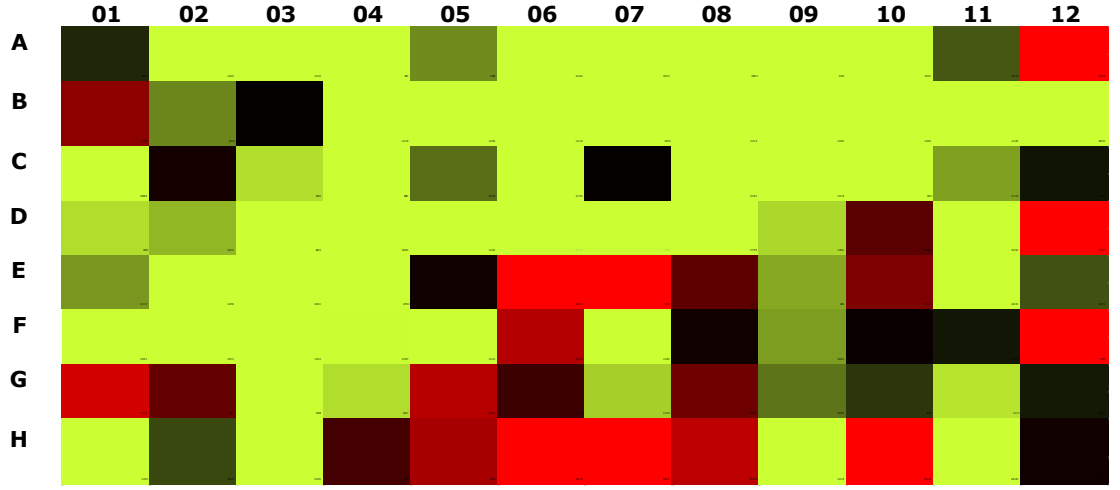
B)

Şekil 23: GBM (U87,U118,LN18) hücre modellerinin insan LncRNA gen ekspresyonlarına (NHA) olan etkisi. (A) Gen ekspresyon kat değişimleri, (B) Gen ekspresyonunun “heat map” analizi

İnsan LncRNA gen ekspresyon değişimini saptamak amacıyla GBM (U87,U118,LN18) hücre modelleri, kontrol grubu olarak Beyin Nöronal Kök Hücre ile karşılaştırıldığında, 62 lncRNA genin (2-10) kat ekspresyonlarının azaldığı ve 6 lncRNA genin (2-12) kat ekspresyonlarının arttığı saptandı (Şekil 24).

	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12
A	21A	7SK	7SL	Alr	AK023948	Alpha280	Alpha250	ANRIL	anti-NOS2A	antiPeg11	BACE1AS	BC200
	-2,1969	-4,5362	-4,2765	-8,1178	-2,7169	-5,3808	-4,044538	-3,008102	-5,717857	-4,956796	-2,933463	12,588889
B	CARIntergenic	DHFRupstream	Dio3os	DISC2	DLG2AS	E2F4antisense	EgoA	EGOB	Emx2os	Evf1 and EVF2	GAS5	Gornafu
	0,2100	-2,6841	-1,9512	-7,3570	-7,3808	-7,3570	-4,9931	-7,3570	-7,3808	-7,3808	-7,3808	-6,9658
C	H19	H19 antisense	H19upstream	HAR1A	HAR1B	HOTAIR	HOTAIRM1	HOTTIP	Hoxa11as	HOXA3as	Hoxa6as	HULC
	-4,0000	-1,6579	-3,1392	-10,1178	-2,5589	-3,7293	-1,9390	-3,3205	-7,3570	-3,1571	-7,7236	-0,2889
D	IGF2AS	IPW	JPX	Kcnq1ot1	KRASPI	LIPA16	p21	RoR	SFMBT2	VLDLR	LOC 285194	LUST
	-3,1291	-2,9357	-6,1688	-3,9908	-5,4804	-6,6730	-2,7093	-2,2290	-4,7065	-0,0900	-5,6804	4,2344
E	Malat1	malat1	MEG3	MEG9	MERT11C	ncR-uPAR	NDM29	NEAT1	Nespas	NRON	NTT	p53mRNA
	-2,7779	-3,3205	-5,3047	-3,9931	-1,7245	5,9944	2,1455	-0,4844	-4,1178	0,3545	-5,0493	-0,7322
F	PCGEM1	PR antisense	PRINS	PSF inhibiting	PTENP1	RNCR3	SAF	SCA8	snaR	SNHG1	SNHG3	SHNG4
	-4,4998	-3,8975	-7,2653	-3,2962	-3,3423	0,8378	-7,3808	-1,7065	-3,9658	-1,1165	-2,2420	2,2122
G	SHNG5	SHNG6	Sox2ot	SRA	ST70T	TEA ncRNAs	Tmevpg1	TncRNA	Tsix	TUG1	UCA1	UM9-5
	1,3245	-0,4177	-4,9170	-3,1342	0,8677	-1,0499	-2,4820	-0,2267	-3,4596	-1,4212	-4,4771	-0,3245
H	WT1-AS	Xist	Y RNA-1	Zeb2NAT	Zfas1	Zfx2as	18S rRNA	RNU43	GAPDH	LAMNA/C	U6	No assay control
	-5,4051	-2,3644	-8,3808	-0,9321	0,6145	8,0789	5,0544	0,9789	-7,3570	2,0756	-6,0303	0,0000

A)



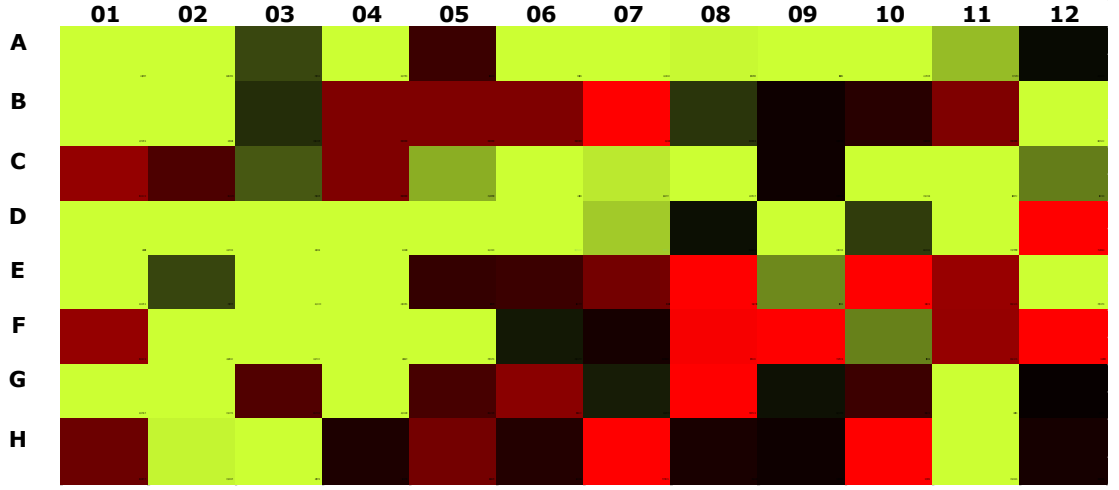
B)

Şekil 24: GBM (U87,U118,LN18) hücre modellerinin insan LncRNA gen ekspresyonlarına (BNSC) olan etkisi. (A) Gen ekspresyon kat değişimleri, (B) Gen ekspresyonunun “heat map” analizi

İnsan LncRNA gen ekspresyon değişimini saptamak amacıyla LN18 glioblastoma hücre modeli, kontrol grubu olarak Normal İnsan Astrosit Hücre Hattı ile karşılaştırıldığında, 43 lncRNA genin (2-13) kat ekspresyonlarının azaldığı ve 7 lncRNA genin (2-5) kat ekspresyonlarının arttığı saptandı (Şekil 25).

	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12
A	21A	7SK	7SL	Alr	AK023948	Alpha280	Alpha250	ANRIL	anti-NOS2A	antiPeg11	BACE1AS	BC200
B	CARIntergenic	DHFRupstream	Dio3os	DISC2	DLG2AS	E2F4antisense	EgoA	EGOB	Emx2os	Evf1 and EVF2	GAS5	Gornafu
C	H19	H19 antisense	H19upstream	HAR1A	HAR1B	HOTAIR	HOTAIRM1	HOTTIP	Hoxa11as	HOXA3as	Hoxa6as	HULC
D	IGF2A5	IPW	JPX	Kcnq1ot1	KRAS P1	LIPA16	p21	RoR	SFMBT2	VLDLR	LOC 285194	LUST
E	Malat1	mascRNA	MEG3	MEG9	MERT11C	ncR-uPAR	NDM29	NEAT1	Nespas	NRON	NTT	p53mRNA
F	PCGEM1	PR antisense	PRINS	PSF inhibiting	PTENP1	RNCR3	SAF	SCA8	snaR	SNHG1	SNHG3	SHNG4
G	SHNG5	SHNG6	Sox2ot	SRA	ST70T	TEA ncRNAs	Tmevpg1	TncRNA	Tsix	TUG1	UCA1	UM9-5
H	WT1-AS	Xist	Y RNA-1	Zeb2NAT	Zfas1	Zfhx2as	18S rRNA	RNU43	GAPDH	LAMNA/C	U6	No assay control
	-0,3022	-2,4352	-4,1923	-1,5420	-0,1689	-1,4356	2,2078	0,6611	0,0000	3,2178	-2,8688	0,0000

A)



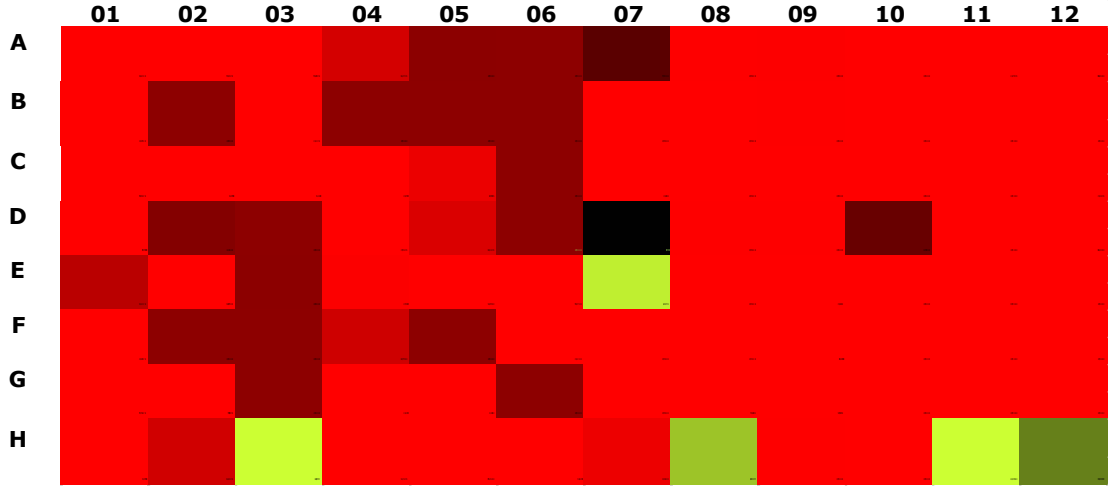
B)

Şekil 25: LN18 glioblastoma hücre modelinin insan LncRNA gen ekspresyonlarına (NHA) olan etkisi. (A) Gen ekspresyon kat değişimleri, (B) Gen ekspresyonunun “heat map” analizi

İnsan LncRNA gen ekspresyon değişimini saptamak amacıyla U87 MG glioblastoma hücre modeli, kontrol grubu olarak Normal İnsan Astrosit Hücre Hattı ile karşılaştırıldığında, 1 lncRNA genin 6 kat ekspresyonlarının azaldığı ve 88 lncRNA genin (2-15) kat ekspresyonlarının arttığı saptandı (Şekil 26).

	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12
A	21A	7SK	7SL	Alr	AK023948	Alpha280	Alpha250	ANRIL	anti-NOS2A	antiPeg11	BACE1AS	BC200
	8,6744	9,5578	9,8078	6,4278	4,9344	4,9544	2,9744375	4,9344457	4,9344457	4,9444462	7,4977776	15,684444
B	CARIntergenic	DHFRupstream	Dlo3os	DISC2	DIG2AS	E2F4antisense	EgoA	EGOB	Emx2os	Evf1 and EVF2	GASS	Gornafu
	7,6944	4,9544	7,3778	4,9444	4,9444	4,9444	4,9544	4,9444	4,9444	4,9444	4,9444	4,9444
C	H19	H19 antisense	H19upstream	HAR1A	HAR1B	HOTAIR	HOTAIRM1	HOTTIP	Hoxa11as	HOXA3as	Hoxa6as	HULC
	9,0478	8,3911	8,4411	7,5211	6,9178	4,9444	7,5144	4,9444	4,9544	4,9444	4,9444	7,8378
D	IGF2A5	IPW	JPX	Kcnq1ot1	KRASPI	LIPA16	p21	RoR	SFMBT2	VLDLR	LOC 285194	LUST
	12,2011	4,7644	4,9444	7,9878	6,5478	4,9444	1,9911	4,9344	4,9444	3,2044	4,9444	13,3344
E	Malat1	mascrRNA	MEG3	MEG9	MERT11C	ncR-uPAR	NDM29	NEAT1	Nespas	NRON	NTT	p53mRNA
	5,8778	8,0944	4,9344	7,2511	8,3944	9,5244	-1,7423	4,9444	7,8144	4,9444	5,9544	4,9444
F	PCGEM1	PR antisense	PRINS	PSF inhibiting	PTENP1	RNCR3	SAF	SCA8	snaR	SNHG1	SNHG3	SHNG4
	7,6078	4,9444	4,9444	6,2944	4,9444	7,3744	4,9444	4,9444	15,3011	4,9444	4,9444	4,9444
G	SHNG5	SHNG6	Sox2ot	SRA	ST70T	TEA ncRNAs	Tmevpg1	TncRNA	Tsix	TUG1	UCA1	UM9-5
	9,2678	9,1978	4,9444	7,4711	7,4144	4,9444	4,9344	9,3144	8,9178	4,9444	4,9544	4,9444
H	WT1-AS	Xist	Y RNA-1	Zeb2NAT	Zfas1	Zfhx2as	18S rRNA	RNU43	GAPDH	LAMNA/C	U6	No assay control
	8,5911	6,3378	-6,1897	8,7878	12,4844	8,6711	4,5644	-1,0589	4,9444	4,9444	-3,5064	0,0000

A)



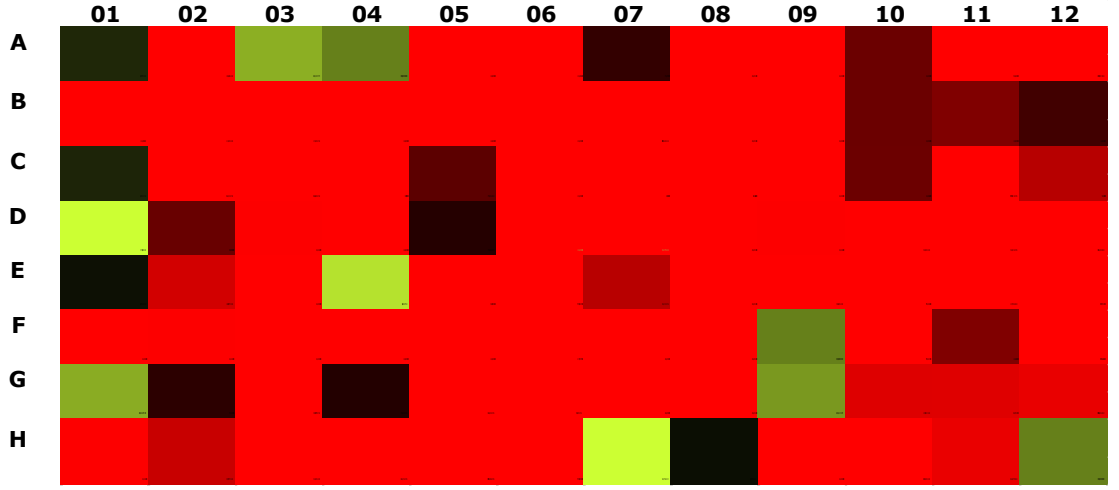
B)

Şekil 26: U87 MG glioblastoma hücre modelinin insan LncRNA gen ekspresyonlarına (NHA) olan etkisi. (A) Gen ekspresyon kat değişimleri, (B) Gen ekspresyonunun “heat map” analizi

İnsan LncRNA gen ekspresyon değişimini saptamak amacıyla U118MG glioblastoma hücre modeli, kontrol grubu olarak Normal İnsan Astrosit Hücre Hattı ile karşılaştırıldığında, 1 lncRNA genin 2 kat ekspresyonlarının azaldığı ve 81 lncRNA genin (2-17) kat ekspresyonlarının arttığı saptandı (Şekil 27).

	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12
A	21A	7SK	7SL	Alr	AK023948	Alpha280	Alpha250	ANRIL	anti-NOS2A	antiPeg11	BACE1AS	BC200
	1,3945	4,8644	-0,7322	0,0000	4,4511	4,4611	2,4911091	4,4511122	4,4511122	4,4511122	8,8311112	17,074444
B	CARIntergenic	DHFRupstream	Dlo3os	DISC2	DLG2AS	E2F4antisense	EgoA	EGOB	Emx2os	Evf1 and EVF2	GAS5	Gornafu
	4,7144	7,4544	7,8578	4,4511	4,4511	4,4511	10,6444	4,4511	4,4511	4,4511	4,4511	4,4511
C	H19	H19 antisense	H19upstream	HAR1A	HAR1B	HOTAIR	HOTAIRM1	HOTTIP	Hoxa11as	HOXA3as	Hoxa6as	HULC
	1,4378	6,7478	6,6378	5,1911	2,8844	4,4511	7,1511	6,1611	4,4511	4,4611	12,0478	8,8111
D	IGF2A5	IPW	JPX	Kcnq1ot1	KRAS P1	L1PA16	p21	RoR	SFMBT2	VLDLR	LOC 285194	LUST
	-2,1354	3,0011	4,4411	4,4511	2,3644	4,4511	5,7244	4,4511	4,4411	8,5344	8,5878	13,4344
E	Malat1	mascrRNA	MEG3	MEG9	MERT11C	ncR-uPAR	NDM29	NEAT1	Nespas	NRON	NTT	p53mRNA
	1,7578	4,0244	4,4511	-1,5324	8,0511	9,0711	3,7778	4,4511	5,6844	9,4311	7,2644	12,2711
F	PCGEM1	PR antisense	PRINS	PSF inhibiting	PTENP1	RNCR3	SAF	SCA8	snaR	SNHG1	SNHG3	SHNG4
	4,4511	4,4411	4,4511	4,4511	4,4511	7,9211	4,4511	4,4511	0,0000	9,3711	4,4611	12,8611
G	SHNG5	SHNG6	Sox2ot	SRA	ST70T	TEA ncRNAs	Tmevpg1	TncRNA	Tsix	TUG1	UCA1	UM9-5
	-0,6890	2,4311	5,0978	2,3378	6,3578	8,1778	4,4511	4,4511	-0,3789	7,0744	6,2711	10,6844
H	WT1-AS	Xist	Y RNA-1	Zeb2NAT	Zfas1	Zfhx2as	18S rRNA	RNU43	GAPDH	LAMNA/C	U6	No assay control
	4,4411	3,9244	5,4844	6,7878	10,5678	9,0511	-8,2877	1,7944	4,4511	14,5344	6,4944	0,0000

A)



B)

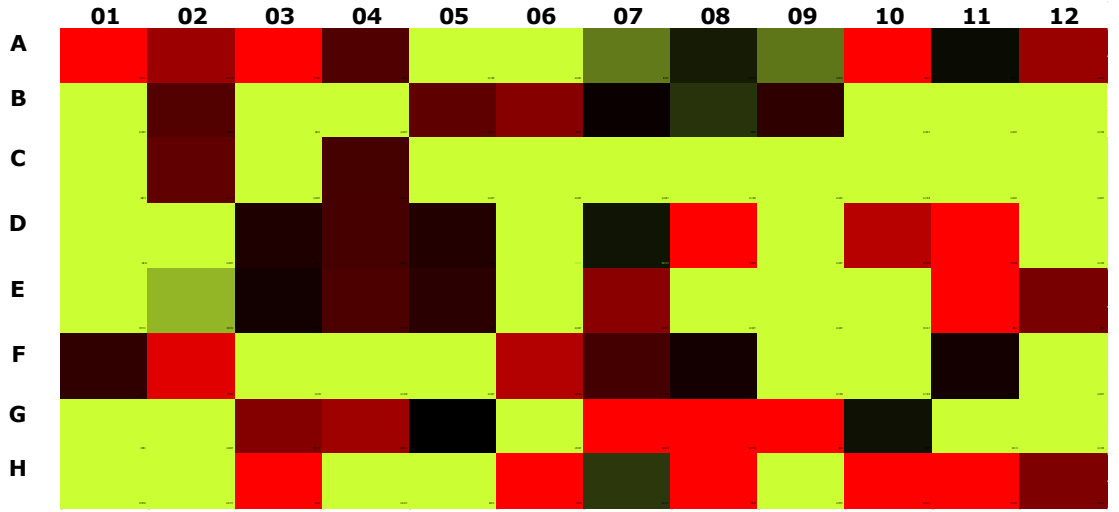
Şekil 27: U118MG glioblastoma hücre modelinin insan LncRNA gen ekspresyonlarına (NHA) olan etkisi. (A) Gen ekspresyon kat değişimleri, (B) Gen ekspresyonunun “heat map” analizi

3.1.2. Hastalıkla İlişkilendirilmiş İnsan LncRNA Profilleri

SW1088 astrositoma beyin tümörü hücre modeli, hastalıkla ilişkilendirilmiş insan lncRNA gen ekspresyon değişimini saptamak amacıyla; BKKH ile karşılaştırıldığında, 37 lncRNA geninin (2-7) kat ekspresyonunun azaldığı ve 9 lncRNA genin ise (2-11) kat ekspresyonunun arttığı saptandı (Şekil 28).

	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12
A	21A	AAA1	aHIF	AK23948	ANRIL	anti-NOS2A	BACE1AS	BC017743	BC043430	BC200	BCMS	BIC
B	CCND1ANCR	CCPD	DD3	DGCR5	DISC2	DLG2AS	EGO	GAS5	GOMAFU	H19	H19-AS	HAR1A
C	HAR1B	HOTAIR	HOTAIRM1	HOTTIP	HOXA1AS	HOXA3AS	HOXA6AS	HOXA11AS	HULC	IPW	IGF2AS	
D	KRASPI	LIPA16	LIT	LOC285194	LUST	LincRNA-VLDLR	LincRNA-SFMBT2	MALAT1	MEG3	MER11C	NEAT1	NCRMS
E	NDM29	PANDA	PAR5	PCAT-1	PCAT-14	PCAT-29	PCAT-32	PCAT-43	PCGEM1	PR-AT2	PRINS	PSFinhibitingRNA
F	PTENP1	RMRP	ROR	SAF	SCA8	Sox2OT	SRA	ST70T1	ST70T2	ST70T3	ST70T4	Telomerase RNA
G	TMEVPG1	TU_0017629	TUG1	UCA1	WT1-AS	Y1	Y3	Y4	Y5	ZEB2NAT	7SK	nc
H	7SL scRNA	5.8S rRNA	U87 scaRNA	U6 smRNA	ACTB	B2M	PGK1	GAPDH	HPRT1	RPL1A	RPL13A	GDC
	-5,2056	-6,4422	5,1440	-5,5462	-6,1278	5,1840	-0,8794	2,1740	-4,4998	9,3307	8,6507	0,0000

A)



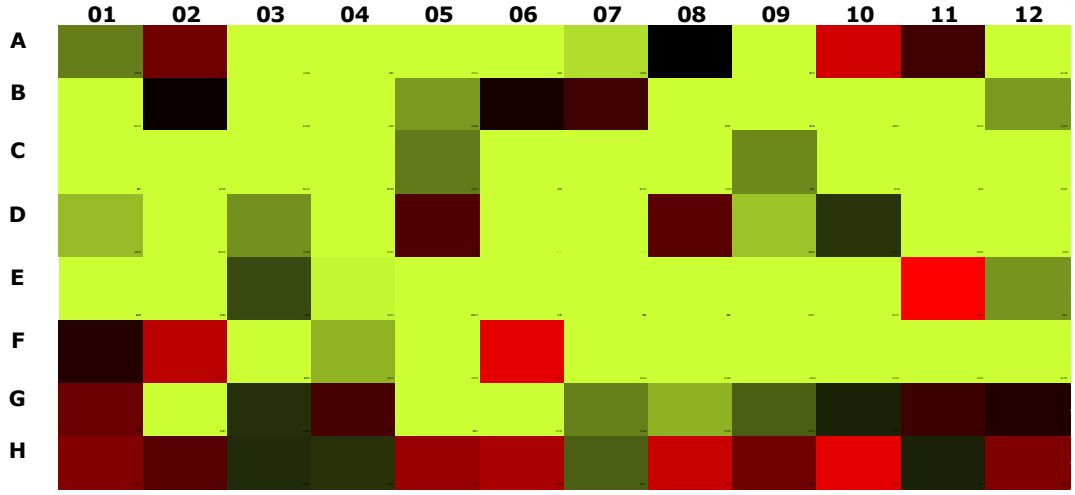
B)

Şekil 28: SW1088 beyin tümörü hücre modelinin hastalıkla ilişkilendirilmiş insan lncRNA gen ekspresyonlarına (BKKH) olan etkisi. (A) Gen ekspresyon kat değişimleri, (B) Gen ekspresyonunun “heat map” analizi

SW1088 astrositoma beyin tümörü hücre modeli, hastalıkla ilişkilendirilmiş insan lncRNA gen ekspresyon değişimini saptamak amacıyla; kontrol grubu olarak Normal İnsan Astrosit Hücre Hattı (NHA) ile karşılaştırıldığında, 65 lncRNA geninin (2-19) kat ekspresyonunun azaldığı ve 1 lncRNA genin ise 27 kat ekspresyonunun arttığı saptandı (Şekil 29).

	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12
A	21A	AAA1	aHIF	AK23948	ANRIL	anti-NOS2A	BACE1AS	BC017743	BC043430	BC200	BCMS	BIC
	-3,3660	-0,2160	-4,8860	-7,3193	-7,6428	-7,1426	-4,206012	-1,979325	-11,24594	1,3239999	-0,979329	-6,375997
B	CCND1ANCR	CMPD	DD3	DGCR5	DISC2	DLG2AS	EGO	GASS	GOMAFU	H19	H19-AS	HAR1A
	-13,4559	-1,8327	-18,5360	-7,5126	-3,6660	-1,6393	-1,0060	-10,2127	-11,4560	-6,0992	-5,6859	-3,2294
C	HAR1B	HOTAIR	HOTAIRM1	HOTTIP	HOXA1AS	HOXA3AS	HOXA3AS	HOXA6AS	HOXA11AS	HULC	IPW	IGF2AS
	-11,1226	-8,6860	-15,6726	-10,8960	-3,3292	-5,1259	-14,3892	-5,2861	-3,4192	-8,8561	-5,1559	-9,3992
D	KRASPI	LIPA16	LIT	LOC285194	LUST	LincRNA-VLDLR	LincRNA-SFMBT2	MALAT1	MEG3	MER11C	NEAT1	NCRMS
	-4,0360	-10,4626	-3,5760	-8,2593	-0,7360	-11,2760	-6,8360	-0,5860	-4,0326	-2,4627	-8,4993	-4,8861
E	NDM29	PANDA	PAR5	PCAT-1	PCAT-14	PCAT-29	PCAT-32	PCAT-43	PCGEM1	PR-AT2	PRINS	PSFinhibitingRNA
	-10,8160	-6,9160	-2,7860	-4,6793	-10,0093	-5,7159	-12,1160	-19,1126	-6,8492	-13,7327	27,1073	-3,1927
F	PTENP1	RMRP	ROR	SAF	SCAB	Sox2OT	SRA	ST7OT1	ST7OT2	ST7OT3	ST7OT4	Telomerase RNA
	-1,4093	0,9473	-11,8260	-3,9528	-8,9259	1,5907	-4,8893	-8,2860	-5,2861	-9,7795	-5,3893	-6,5492
G	TMEVPG1	TU_0017629	TUG1	UCA1	WT1-AS	Y1	Y3	Y4	Y5	ZEB2NAT	7SK	nc
	-0,3193	-6,4192	-2,5027	-0,8393	-15,1993	-5,2793	-3,2860	-3,7560	-2,9727	-2,2926	-1,0493	-1,4594
H	7SL.scrRNA	5.8S.rRNA	U87.scrRNA	U6.scrRNA	ACTB	B2M	PGK1	GAPDH	HPRT1	RPL1A	RPL13A	GDC
	0,0373	-0,6493	-2,4627	-2,5327	0,4140	0,6673	-2,9327	1,1473	-0,2360	1,6073	-2,2193	0,0000

A)



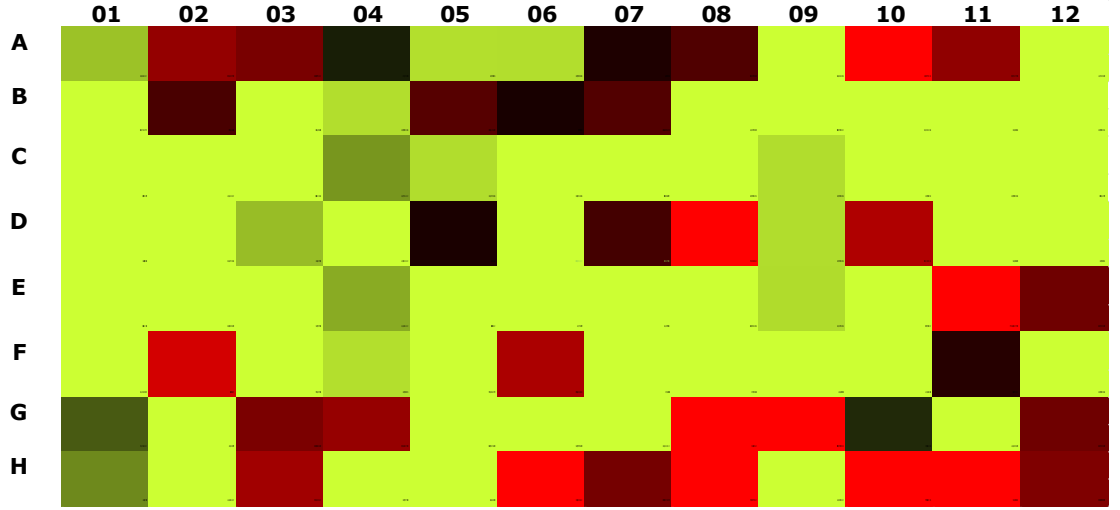
B)

Şekil 29: SW1088 beyin tümörü hücre modelinin hastalıkla ilişkilendirilmiş insan lncRNA gen ekspresyonlarına (NHA) olan etkisi. (A) Gen ekspresyon kat değişimleri, (B) Gen ekspresyonunun “heat map” analizi

SW1088 astrositoma beyin tümörü hücre modeli, hastalıkla ilişkilendirilmiş insan lncRNA gen ekspresyon değişimini saptamak amacıyla; kontrol grubu olarak Beyin Nöronal Kök Hücre (BNKH) ile karşılaştırıldığında, 60 lncRNA geninin (2-17) kat ekspresyonunun azaldığı ve 5 lncRNA geninin ise (2-26) kat ekspresyonunun arttığı saptandı (Şekil:30).

	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12
A	21A	AAA1	ahIF	AK23948	ANRIL	anti-NOS2A	BACE1AS	BC017743	BC043430	BC200	BCMS	BIC
B	CCND1ANCN	CCND1	CCND1	CCND1	CCND1	CCND1	CCND1	CCND1	CCND1	CCND1	CCND1	CCND1
C	HAR1B	HOTAIR	HOTAIR	HOTAIR	HOTAIR	HOTAIR	HOTAIR	HOTAIR	HOTAIR	HOTAIR	HOTAIR	HOTAIR
D	KRAS	LIPA16	LIT	LOC285194	LUST	LincRNA-VLDLR	LincRNA-SFMBT2	MALAT1	MEG3	MER11C	NEAT1	NCRMS
E	NDM29	PANDA	PAR5	PCAT-1	PCAT-14	PCAT-29	PCAT-32	PCAT-43	PCGEM1	PR-AT2	PRINS	PSFinhibitingRNA
F	PTENP1	RMRP	ROR	SAF	SCA8	Sox2OT	SRA	ST7OT1	ST7OT2	ST7OT3	ST7OT4	Telomerase RNA
G	TMEVPG1	TU_0017629	TUG1	UCA1	WT1-AS	Y1	Y3	Y4	Y5	ZEB2NAT	7SK	nc
H	7SL scRNA	5.8S rRNA	U87 scRNA	U6 smRNA	ACTB	B2M	PGK1	GAPDH	HPRT1	RPL1A	RPL13A	GDC
	-3,6647	0,3320	-0,0947	-2,2513	-3,9148	-3,9046	-1,401342	-0,597989	-6,684606	4,0253334	0,2720027	-4,237997
	-13,2479	-0,8413	-13,7613	-3,9046	-0,6480	-1,6180	-0,6080	-4,5980	-10,2047	-5,5546	-5,5146	-3,9048
	-11,2812	-4,8447	-11,8746	-3,2847	-3,8946	-5,0546	-10,5612	-3,9048	-3,9046	-3,9148	-3,9046	-10,8712
	-6,1014	-8,8246	-3,6213	-7,0447	-1,5913	-10,0647	-0,8213	2,3587	-3,9046	0,7453	-8,8180	-3,9148
	-11,8714	-5,0380	-8,9213	-3,4647	-11,1347	-7,2512	-3,4913	-17,0346	-3,8946	-12,2147	26,0720	-0,2580
	-5,4880	1,3187	-9,3214	-3,9148	-9,5679	0,6853	-2,3113	-2,9813	-4,8015	-7,5615	-1,3947	-3,9046
	-2,7647	-4,8312	-0,0680	0,3620	-15,9780	-8,9980	-3,8347	5,1487	10,2053	-2,1646	-4,3380	-0,2580
	-3,1713	-4,4647	0,5387	-5,9213	-6,6313	5,0387	-0,0780	2,0287	-4,5047	9,1853	8,5153	0,0000

A)



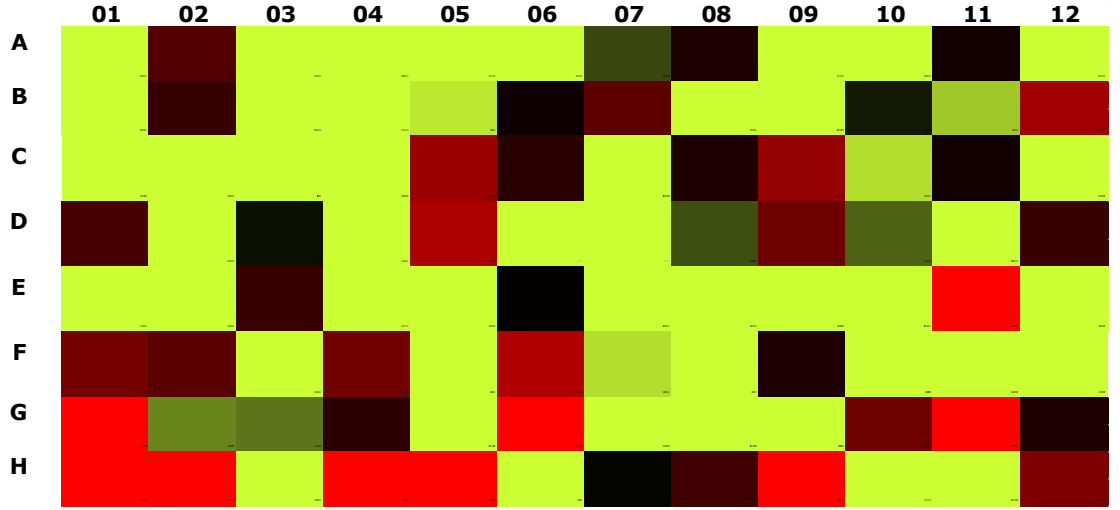
B)

Şekil 30: SW1088 astrositoma hücre modelinin hastalıkla ilişkilendirilmiş insan LncRNA gen ekspresyonlarına (BNKH) olan etkisi. (A) Gen ekspresyon kat değişimleri, (B) Gen ekspresyonunun “heat map” analizi

Beyin Kanseri Kök Hücreleri, hastalıkla ilişkilendirilmiş insan LncRNA gen ekspresyon değişimini saptamak amacıyla; kontrol grubu olarak normal İnsan Astrosit Hücre Hattı ile karşılaştırıldığında, 53 LncRNA geninin (2-15) kat ekspresyonunun azaldığı ve 4 LncRNA geninin ise (2-15) kat ekspresyonunun arttığı saptandı (Şekil:31).

	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12
A	21A	AAA1	aHIF	AK23948	ANRIL	anti-NOS2A	BACE1AS	BC017743	BC043430	BC200	BCMS	BIC
	-6,8633	-0,6933	-9,3267	-6,6033	-3,8733	-3,3833	-2,949991	-1,526657	-8,443324	-6,803324	-1,386655	-6,783324
B	CCND1ANCR	CMPD	DD3	DGCR5	DISC2	DLG2AS	EGO	GAS5	GOMAFU	H19	H19-AS	HAR1A
	-9,6967	-1,1267	-14,3833	-3,7533	-3,1633	-1,7667	-0,5433	-9,5967	-10,2000	-2,3400	-1,9267	0,5400
C	HAR1B	HOTAIR	HOTAIRM1	HOTTIP	HOXA1AS	HOXA3AS	HOXA3AS	HOXA6AS	HOXA11AS	HULC	IPW	IGF2AS
	-7,0200	-8,2033	-11,9133	-9,9900	0,4300	-1,3667	-10,6300	-1,5167	0,3400	-5,0867	-1,3967	-5,6400
D	KRAS P1	LIPA16	LIT	LOC285194	LUST	LincRNA-VLDLR	LincRNA-SFMBT2	MALAT1	MEG3	MER11C	NEAT1	NCRMS
	-0,8533	-6,7033	-2,0700	-7,3633	0,7100	-9,1867	-6,1500	-3,0900	-0,2733	-3,3433	-10,9533	-1,1167
E	NDM29	PANDA	PAR5	PCAT-1	PCAT-14	PCAT-29	PCAT-32	PCAT-43	PCGEM1	PR-AT2	PRINS	PSFinhibitingRNA
	-7,8933	-4,8667	-1,0967	-3,8733	-8,6933	-1,9567	-12,9367	-15,3533	-3,0900	-10,8567	15,8900	-3,0800
F	PTENP1	RMRP	ROR	SAF	SCA8	Sox20T	SRA	ST70T1	ST70T2	ST70T3	ST70T4	Telomerase RNA
	-0,1767	-0,5733	-9,4367	-0,1833	-5,1667	0,7700	-5,0067	-8,1933	-1,5167	-6,0100	-6,0300	-2,7900
G	TMEVPG1	TU_0017629	TUG1	UCA1	WT1-AS	Y1	Y3	Y4	Y5	ZEB2NAT	7SK	nc
	2,3001	-2,6600	-2,5800	-1,3367	-13,2200	2,6500	-5,8900	-10,7500	-14,1900	-0,2633	2,9267	-1,5167
H	7SL scRNA	5.8S rRNA	U87 scaRNA	U6 smRNA	ACTB	B2M	PGK1	GAPDH	HPRT1	RPL1A	RPL13A	GDC
	5,2433	5,7867	-7,6067	3,0167	6,5400	-4,5167	-2,0533	-1,0267	4,2633	-7,7233	-10,8700	0,0000

A)



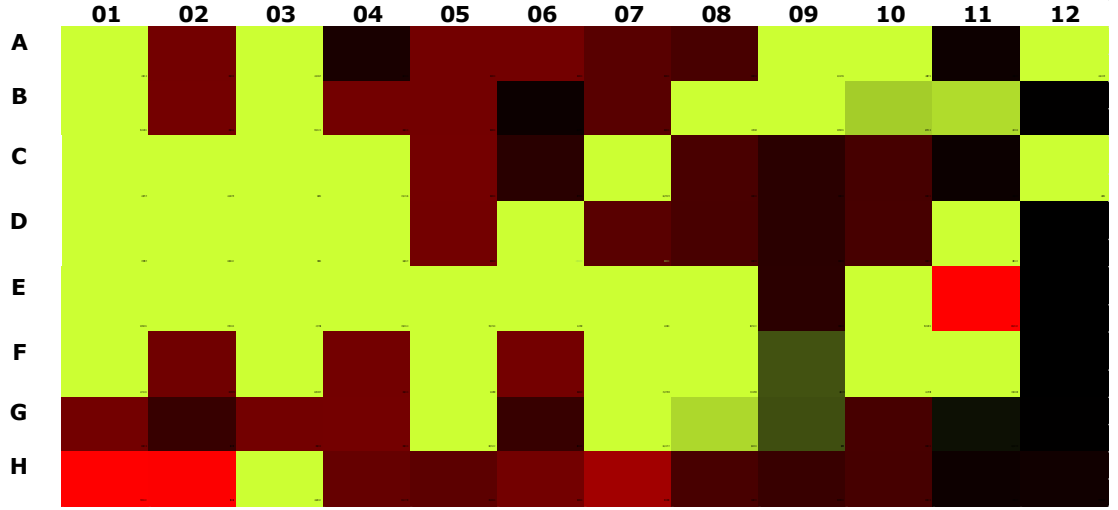
B)

Şekil 31: Beyin Kanseri Kök Hücre hücre modelinin Hastalıkla ilişkilendirilmiş insan lncRNA gen ekspresyonlarına (NHA) olan etkisi. (A) Gen ekspresyon kat değişimleri, (B) Gen ekspresyonunun “heat map” analizi

Beyin kanser Kök Hücreleri, hastalıkla ilişkilendirilmiş insan lncRNA gen ekspresyon değişimini saptamak amacıyla; kontrol grubu olarak Beyin Nöronal Kök Hücre ile karşılaştırıldığında, 39 lncRNA geninin (2-13) kat ekspresyonunun azaldığı ve 1 lncRNA geninin ise 14 kat ekspresyonunun arttığı saptandı (Şekil 32).

	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12
A	21A	AAA1	aHIF	AK23948	ANRIL	anti-NOS2A	BACE1AS	BC017743	BC043430	BC200	BCMS	BIC
B	CCND1ANCR	CMPD	DD3	DGCR5	DISC2	DLG2AS	EGO	GAS5	GOMAFU	H19	H19-AS	HAR1A
C	HAR1B	HOTAIR	HOTAIRM1	HOTTIP	HOXA1AS	HOXA3AS	HOXA3AS	HOXA6AS	HOXA11AS	HULC	IPW	IGF2AS
D	KRASPI	LIPA16	LIT	LOC285194	LUST	LincRNA-VLDLR	LincRNA-SFMBT2	MALAT1	MEG3	MER11C	NEAT1	NCRMS
E	NDM29	PANDA	PAR5	PCAT-1	PCAT-14	PCAT-29	PCAT-32	PCAT-43	PCGEM1	PR-AT2	PRINS	PSFinhibitingRNA
F	PTENP1	RMRP	ROR	SAF	SCA8	Sox2OT	SRA	ST7OT1	ST7OT2	ST7OT3	ST7OT4	Telomerase RNA
G	TMEVPG1	TU_0017629	TUG1	UCA1	WT1-AS	Y1	Y3	Y4	Y5	ZEB2NAT	7SK	nc
H	7SL scRNA	5.8S rRNA	U87 scRNA	U6 smRNA	ACTB	B2M	PGK1	GAPDH	HPRT1	RPL1A	RPL13A	GDC
	-7,1584	-0,1453	-4,5362	-1,5353	-0,1453	-0,1453	-0,145286	-0,145286	-3,882571	-4,102837	-0,135269	-4,643856
	-9,4804	-0,1353	-9,5873	-0,1453	-0,1453	-1,7452	-0,1453	-3,9817	-8,9658	-1,7954	-1,7554	-0,1353
	-7,1792	-4,3629	-8,1178	-2,3786	-0,1353	-1,2955	-6,7959	-0,1353	-0,1453	-0,1453	-0,1453	-7,1178
	-2,9192	-5,0637	-2,1153	-6,1482	-0,1453	-7,9658	-0,1353	-0,1453	-0,1453	-0,1353	-11,2877	-0,1453
	-8,9658	-2,9885	-7,2216	-2,6584	-9,8283	-3,4917	-4,3133	-13,2877	-0,1353	-9,3808	14,8547	-0,1453
	-4,2543	-0,2021	-6,9302	-0,1453	-5,8120	-0,1353	-2,4290	-2,8890	-1,0321	-3,7919	-2,0350	-0,1453
	-0,1453	-1,0719	-0,1453	-0,1353	-13,2877	-1,0685	-6,4422	-1,8453	-1,0119	-0,1353	-0,3620	-0,1353
	2,0347	1,9713	-4,6047	-0,3720	-0,5053	-0,1453	0,8013	-0,1453	-0,0053	-0,1453	-0,1353	0,0000

A)



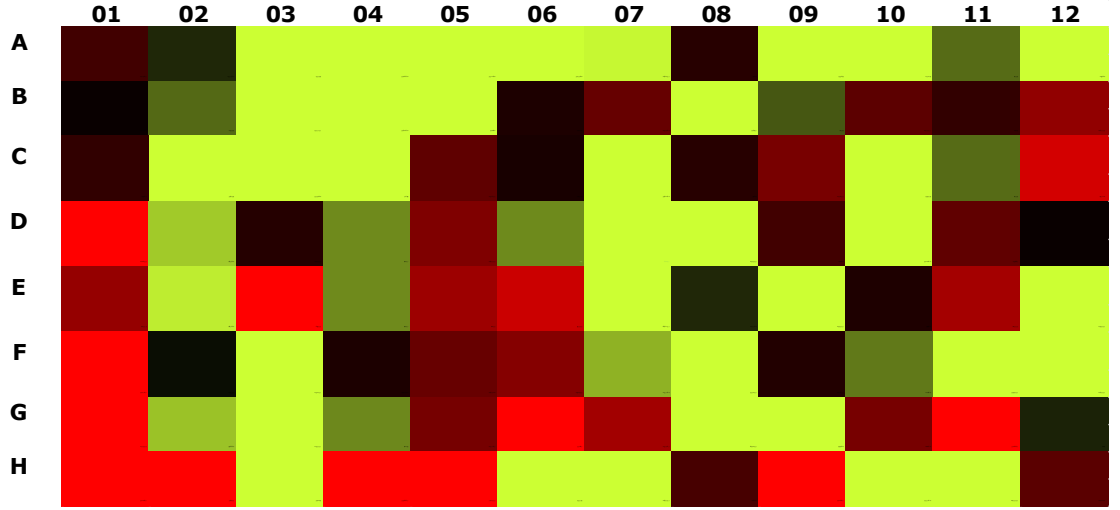
B)

Şekil 32: Beyin kanser Kök Hücre hücre modelinin Hastalıkla ilişkilendirilmiş insan LncRNA gen ekspresyonlarına (BNKH) olan etkisi. (A) Gen ekspresyon kat değişimleri, (B) Gen ekspresyonunun “heat map” analizi

Beyin Nöronal Kök Hücre, , hastalıkla ilişkilendirilmiş insan lncRNA gen ekspresyon değişimini saptamak amacıyla; kontrol grubu olarak Normal İnsan Astrosit Hücre Hattı ile karşılaştırıldığında, 33 lncRNA geninin (2-13) kat ekspresyonunun azaldığı ve 4 lncRNA geninin ise (2-5) kat ekspresyonunun arttığı saptandı (Şekil: 33).

	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12
A	21A	AAA1	aHIF	AK23948	ANRIL	anti-NOS2A	BACE1AS	BC017743	BC043430	BC200	BCMS	BIC
	0,2987	-0,5480	-4,7913	-5,0680	-3,7280	-3,2380	-2,80467	-1,381336	-4,561333	-2,701333	-1,251331	-2,138
B	CCND1ANCR	CMRD	DD3	DGCR5	DISC2	DLG2AS	EGO	GAS5	GOMAFU	H19	H19-AS	HAR1A
	-0,2080	-0,9913	-4,7747	-3,6080	-3,0180	-0,0213	-0,3980	-5,6147	-1,2513	-0,5447	-0,1713	0,6753
C	HAR1B	HOTAIR	HOTAIRM1	HOTTIP	HOXA1AS	HOXA3AS	HOXA3AS	HOXA6AS	HOXA11AS	HULC	IPW	IGF2AS
	0,1587	-3,8413	-3,7980	-7,6113	0,5653	-0,0713	-3,8280	-1,3813	0,4853	-4,9413	-1,2513	1,4720
D	KRAS P1	LIPA16	LIT	LOC285194	LUST	LincRNA-VLDLR	LincRNA-SFMBT2	MALAT1	MEG3	MER11C	NEAT1	NCRMS
	2,0653	-1,6380	0,0453	-1,2147	0,8553	-1,2113	-6,0147	-2,9447	-0,1280	-3,2080	0,3187	-0,9713
E	NDM29	PANDA	PAR5	PCAT-1	PCAT-14	PCAT-29	PCAT-32	PCAT-43	PCGEM1	PR-AT2	PRINS	PSFinhibitingRNA
	1,0553	-1,8780	6,1353	-1,2147	1,1253	1,5353	-8,6247	-2,0780	-2,9547	-1,5180	1,0353	-2,9347
F	PTENP1	RMRP	ROR	SAF	SCA8	Sox2OT	SRA	ST70T1	ST70T2	ST70T3	ST70T4	Telomerase RNA
	4,0787	-0,3713	-2,5047	-0,0380	0,6420	0,9053	-2,5780	-5,3047	-0,4847	-2,2180	-3,9947	-2,6447
G	TMEVPG1	TU_0017629	TUG1	UCA1	WT1-AS	Y1	Y3	Y4	Y5	ZEB2NAT	7SK	nc
	2,4454	-1,5880	-2,4347	-1,2013	0,7787	3,7187	0,5487	-8,9047	-13,1780	-0,1280	3,2887	-1,2113
H	7SL scRNA	5.8S rRNA	U87 scaRNA	U6 smRNA	ACTB	B2M	PGK1	GAPDH	HPRT1	RPL1A	RPL13A	GDC
	3,2087	3,8153	-3,0013	3,3887	7,0453	-4,3713	-2,8547	-0,8813	4,2687	-7,5780	-10,7347	0,0000

A)



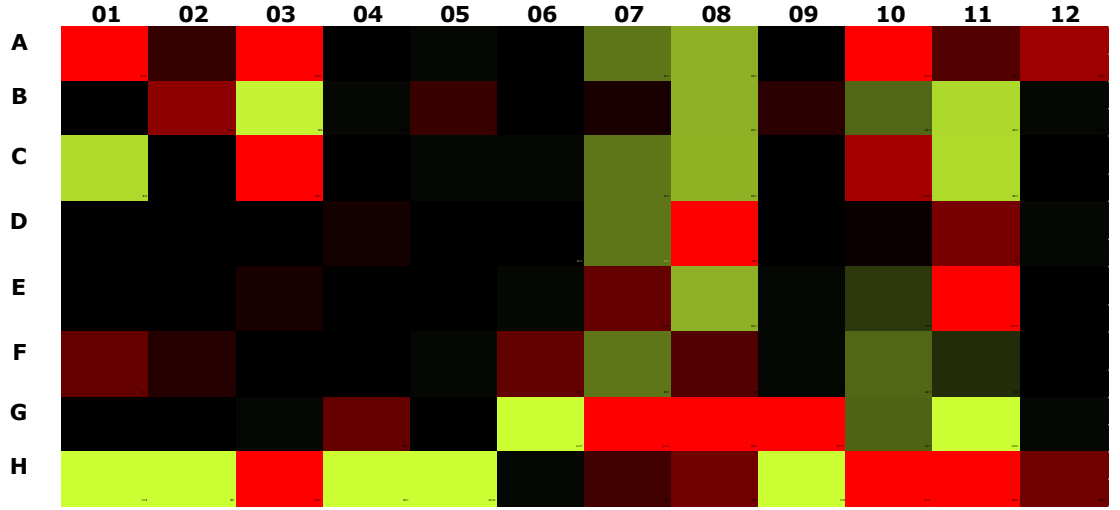
B)

Şekil 33: Beyin Nöronal Kök Hücre hücre modelinin Hastalıkla ilişkilendirilmiş insan LncRNA gen ekspresyonlarına (NHA) olan etkisi. (A) Gen ekspresyon kat değişimleri, (B) Gen ekspresyonunun “heat map” analizi

Daoy medullablastom hücre modelinin, hastalıkla ilişkilendirilmiş insan lncRNA gen ekspresyon değişimini saptamak amacıyla; Beyin kanser Kök Hücre ile karşılaştırıldığında, 2 lncRNA geninin 4 kat ekspresyonunun azaldığı ve 7 lncRNA geninin ise (2-13) kat ekspresyonunun arttığı saptandı (Şekil:34).

	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12
A	21A	AAA1	aHIF	AK23948	ANRIL	anti-NOS2A	BACE1AS	BC017743	BC043430	BC200	BCMS	BIC
B	CCND1ANCR	CMPD	DD3	DGCR5	DISC2	DLG2AS	EGO	GAS5	GOMAFU	H19	H19-AS	HAR1A
C	HAR1B	HOTAIR	HOTAIRM1	HOTTIP	HOXA1AS	HOXA3AS	HOXA3AS	HOXA6AS	HOXA11AS	HULC	IPW	IGF2AS
D	KRASP1	LIPA16	LIT	LOC285194	LUST	LincRNA-VLDLR	LincRNA-SFMBT2	MALAT1	MEG3	MER11C	NEAT1	NCRMS
E	NDM29	PANDA	PAR5	PCAT-1	PCAT-14	PCAT-29	PCAT-32	PCAT-43	PCGEM1	PR-AT2	PRINS	PSFInhibitingR
F	PTENP1	RMRP	ROR	SAF	SCA8	Sox2OT	SRA	ST7OT1	ST7OT2	ST7OT3	ST7OT4	Telomerase RNA
G	TMEVPG1	TU_0017629	TUG1	UCA1	WT1-AS	Y1	Y3	Y4	Y5	ZEB2NAT	7SK	nc
H	7SL scRNA	5.8S rRNA	U87 scaRNA	U6 smRNA	ACTB	B2M	PGK1	GAPDH	HPRT1	RPL1A	RPL13A	GDC
	-7,2216	-8,1178	5,0387	-4,1792	-6,6439	-1,6078	-0,4214	0,5153	-3,2311	9,7787	11,9353	0,0000

A)



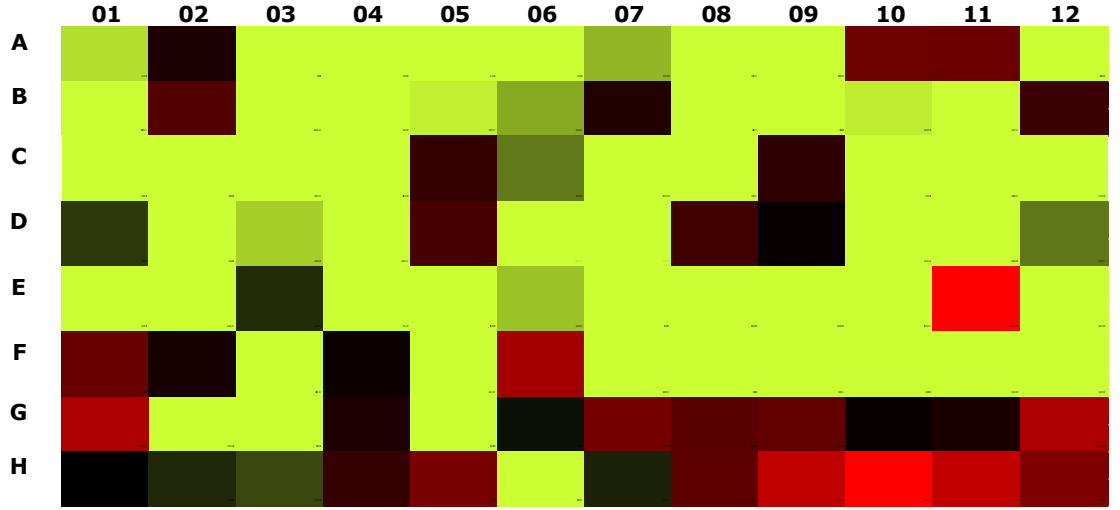
B)

Şekil 34: Daoy hücre modelinin Hastalıkla ilişkilendirilmiş insan LncRNA gen ekspresyonlarına (BKKH) olan etkisi. (A) Gen ekspresyon kat değişimleri, (B) Gen ekspresyonunun “heat map” analizi

Daoy medullablastom hücre modelinin, hastalıkla ilişkilendirilmiş insan lncRNA gen ekspresyon değişimini saptamak amacıyla; kontrol grubu olarak Normal İnsan Astrosit Hücre Hattı ile karşılaştırıldığında, 60 lncRNA geninin (2-16) kat ekspresyonunun azaldığı ve 1 lncRNA geninin ise 29 kat ekspresyonunun arttığı saptandı (Şekil: 35).

	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12
A	21A	AAA1	aHIF	AK23948	ANRIL	anti-NOS2A	BACE1AS	BC017743	BC043430	BC200	BCMS	BIC
	-3,7913	-1,5347	-5,1213	-8,2014	-5,4813	-4,9814	-4,548029	-3,124695	-10,04136	-0,251333	-0,301329	-6,147997
B	CCND1ANCR	CCPD	DD3	DGCR5	DISC2	DLG2AS	EGO	GAS5	GOMAFU	H19	H19-AS	HAR1A
	-11,2947	-0,6947	-16,3647	-5,3613	-3,9347	-3,3647	-1,4547	-11,1947	-11,2013	-3,9480	-3,5247	-1,0680
C	HAR1B	HOTAIR	HOTAIRM1	HOTTIP	HOXA1AS	HOXA3AS	HOXA3AS	HOXA6AS	HOXA11AS	HULC	IPW	IGF2AS
	-8,9614	-9,8014	-9,9247	-11,5880	-1,1780	-2,9747	-12,2280	-3,1247	-1,2580	-4,2513	-3,0047	-7,2380
D	KRAS P1	LIPA16	LIT	LOC285194	LUST	LincRNA-VLDLR	LincRNA-SFMBT2	MALAT1	MEG3	MER11C	NEAT1	NCRMS
	-2,4514	-8,3014	-3,6680	-8,6547	-0,8880	-10,7847	-7,7480	-0,9813	-1,8714	-4,5446	-9,6680	-2,7247
E	NDM29	PANDA	PAR5	PCAT-1	PCAT-14	PCAT-29	PCAT-32	PCAT-43	PCGEM1	PR-AT2	PRINS	PSFinhibitingRNA
	-9,4914	-6,4647	-2,3480	-5,4714	-10,2914	-3,5647	-12,9147	-16,9514	-4,6980	-12,3447	29,2687	-4,6780
F	PTENP1	RMRP	ROR	SAF	SCA8	Sox2OT	SRA	ST7OT1	ST7OT2	ST7OT3	ST7OT4	Telomerase RNA
	-0,3413	-1,6447	-11,0347	-1,7814	-6,7747	0,5820	-6,6047	-8,0113	-3,1247	-7,6180	-5,8380	-4,3880
G	TMEVPG1	TU_0017629	TUG1	UCA1	WT1-AS	Y1	Y3	Y4	Y5	ZEB2NAT	7SK	nc
	0,7020	-4,2580	-4,1880	-1,5147	-14,8180	-2,1147	-0,1513	-0,6013	-0,4613	-1,8614	-1,5747	0,7020
H	7SL scRNA	5.8S rRNA	U87 scRNA	U6 smRNA	ACTB	B2M	PGK1	GAPDH	HPRT1	RPL1A	RPL13A	GDC
	-1,9847	-2,3147	-2,5680	-1,1613	-0,1013	-6,1247	-2,4747	-0,5113	1,0320	2,0553	1,0653	0,0000

A)



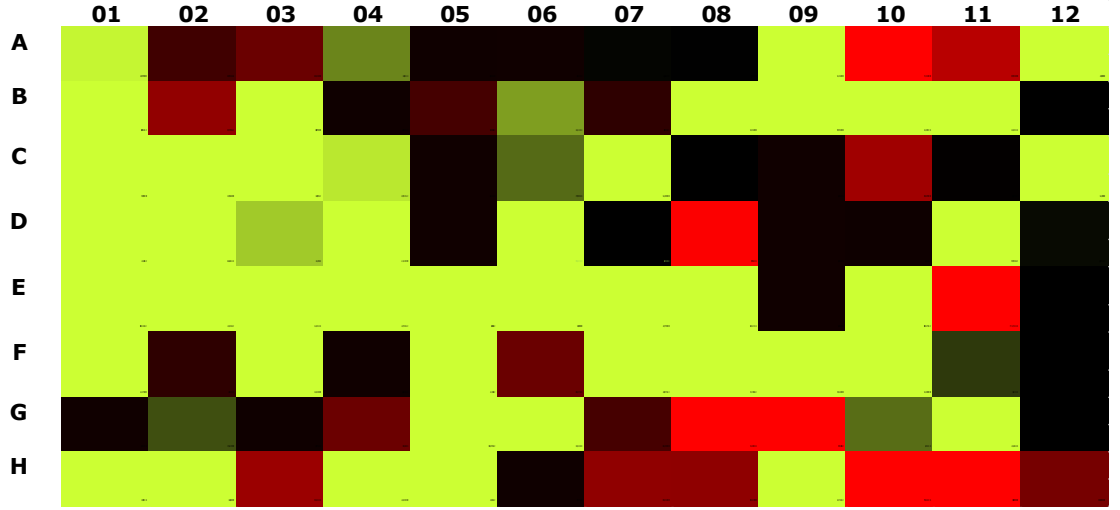
B)

Şekil 35: Daoy hücre modelinin Hastalıkla ilişkilendirilmiş insan lncRNA gen ekspresyonlarına (NHA) olan etkisi. (A) Gen ekspresyon kat değişimleri, (B) Gen ekspresyonunun “heat map” analizi

Daoy medullablastoma hücre modelinin, hastalıkla ilişkilendirilmiş insan lncRNA gen ekspresyon değişimini saptamak amacıyla; kontrol grubu olarak Beyin Nöronal Kök Hücre ile karşılaştırıldığında, 43 lncRNA geninin (2-15) kat ekspresyonunun azaldığı ve 4 lncRNA geninin ise (2-28) kat ekspresyonunun arttığı saptandı (Şekil 36).

	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12
A	21A	AAA1	aHIF	AK23948	ANRIL	anti-NOS2A	BACE1AS	BC017743	BC043430	BC200	BCMS	BIC
	-4,0900	-0,9866	-0,3300	-3,1334	-1,7533	-1,7434	-1,743359	-1,743359	-5,480029	2,4500001	0,9500019	-4,009997
B	CCND1ANCR	CMPD	DD3	DGCR5	DISC2	DLG2AS	EGO	GAS5	GOMAFU	H19	H19-AS	HAR1A
	-11,0867	0,2967	-11,5900	-1,7533	-0,9167	-3,3434	-1,0567	-5,5800	-9,9500	-3,4033	-3,3534	-1,7433
C	HAR1B	HOTAIR	HOTAIRM1	HOTTIP	HOXA1AS	HOXA3AS	HOXA3AS	HOXA6AS	HOXA11AS	HULC	IPW	IGF2AS
	-9,1200	-5,9600	-6,1267	-3,9767	-1,7433	-2,9033	-8,4000	-1,7433	-1,7434	0,6900	-1,7533	-8,7100
D	KRAS P1	LIPA16	LIT	LOC285194	LUST	LincRNA-VLDLR	LincRNA-SFMBT2	MALAT1	MEG3	MER11C	NEAT1	NCRMS
	-4,5167	-6,6634	-3,7134	-7,4400	-1,7434	-9,5734	-1,7334	1,9633	-1,7434	-1,3366	-9,9867	-1,7533
E	NDM29	PANDA	PAR5	PCAT-1	PCAT-14	PCAT-29	PCAT-32	PCAT-43	PCGEM1	PR-AT2	PRINS	PSFinhibitingRNA
	-10,5467	-4,5867	-8,4833	-4,2567	-11,4167	-5,1000	-4,2900	-14,8734	-1,7433	-10,8267	28,2333	-1,7434
F	PTENP1	RMRP	ROR	SAF	SCA8	Sox2OT	SRA	ST7OT1	ST7OT2	ST7OT3	ST7OT4	Telomerase RNA
	-4,4200	-1,2733	-8,5300	-1,7434	-7,4167	-0,3233	-4,0267	-2,7067	-2,6400	-5,4000	-1,8433	-1,7434
G	TMEVPG1	TU_0017629	TUG1	UCA1	WT1-AS	Y1	Y3	Y4	Y5	ZEB2NAT	7SK	nc
	-1,7434	-2,6700	-1,7533	-0,3133	-15,5967	-5,8333	-0,7000	8,3033	12,7167	-1,7334	-4,8633	-1,7433
H	7SL scRNA	5.8S rRNA	U87 scaRNA	U6 smRNA	ACTB	B2M	PGK1	GAPDH	HPRT1	RPL1A	RPL13A	GDC
	-5,1933	-6,1300	0,4333	-4,5500	-7,1467	-1,7533	0,3800	0,3700	-3,2367	9,6333	11,8000	0,0000

A)



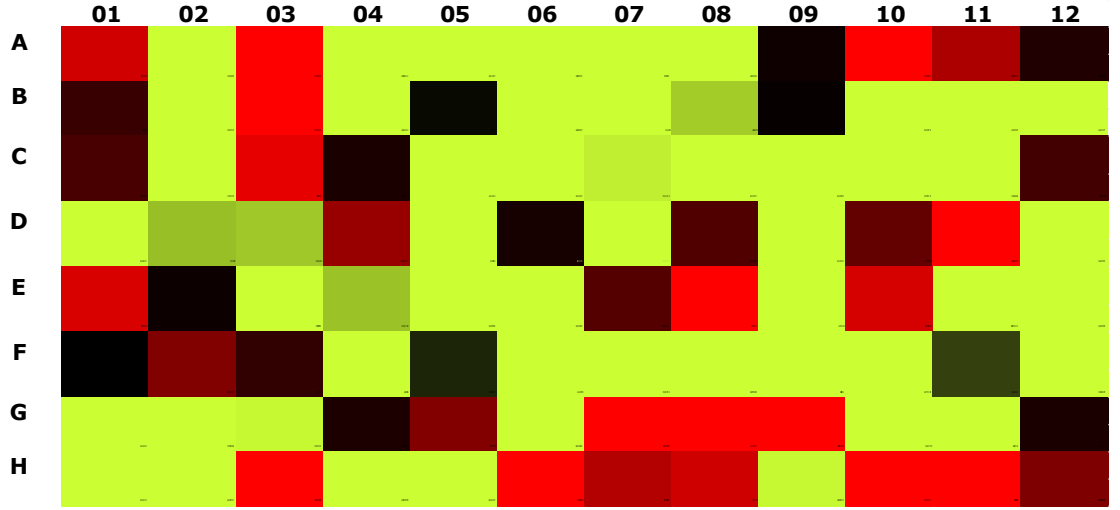
B)

Şekil 36: Daoy medullablastoma hücre modellerinin Hastalıkla ilişkilendirilmiş insan lncRNA gen ekspresyonlarına (BNKH) olan etkisi. (A) Gen ekspresyon kat değişimleri, (B) Gen ekspresyonunun “heat map” analizi

GBM (U87,U118,LN18) hücre modelleri, hastalıkla ilişkilendirilmiş insan lncRNA gen ekspresyon değişimini saptamak amacıyla; Beyin Kanseri Kök Hücre ile karşılaştırıldığında, 46 lncRNA geninin (2-10) kat ekspresyonunun azaldığı ve 8 lncRNA geninin ise (2-11) kat ekspresyonunun arttığı saptandı (Şekil: 37).

	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12
A	21A 1,2753	AAA1 -2,8303	aHIF 4,7564	AK23948 -5,0637	ANRIL -5,3452	anti-NOS2A -5,0023	BACE1AS -3,912673	BC017743 -4,085589	BC043430 -1,759258	BC200 7,2697775	BCMS 0,698663	BIC -1,496957
B	CCND1ANCR -1,1203	CCMPD -3,2584	DD3 2,3853	DGCR5 -4,6767	DISC2 -2,0180	DLG2AS -3,6082	EGO -3,7141	GAS5 -1,7691	GOMAFU -1,8868	H19 -5,3393	H19-AS -5,3393	HAR1A -5,3452
C	HAR1B -0,8424	HOTAIR -2,4828	HOTAIRM1 1,6165	HOTTIP -1,5645	HOXA1AS -4,4454	HOXA3AS -5,3452	HOXA3AS -2,7544	HOXA6AS -5,3452	HOXA11AS -5,3393	HULC -4,2934	IPW -4,5666	IGF2AS -0,9401
D	KRAS P1 -3,5632	LIPA16 -2,3511	LIT -2,3681	LOC285194 0,3987	LUST -4,3133	LincRNA-VLDLR -1,6349	LincRNA-SFMBT2 -4,8448	MALAT1 0,0520	MEG3 -5,3452	MER11C -0,2891	NEAT1 4,0642	NCRMS -5,3393
E	NDM29 1,4053	PANDA -1,7859	PAR5 -2,9105	PCAT-1 -2,3570	PCAT-14 -3,4998	PCAT-29 -5,3393	PCAT-32 -0,6647	PCAT-43 3,1342	PCGEM1 -4,2351	PR-AT2 1,3909	PRINS -10,2877	PSFinhibitingRNA -3,3899
F	PTENP1 -1,9714	RMRP 0,0287	ROR -1,2213	SAF -3,1418	SCA8 -2,0667	Sox2OT -4,4391	SRA -2,8594	ST7OT1 -3,0930	ST7OT2 -4,1153	ST7OT3 -3,2270	ST7OT4 -2,3047	Telomerase RNA -2,8089
G	TMEVPG1 -4,3335	TU_0017629 -5,2056	TUG1 -2,4588	UCA1 -1,5602	WT1-AS 0,0431	Y1 -6,3808	Y3 4,0409	Y4 8,7842	Y5 11,8798	ZEB2NAT -3,8221	7SK -4,1278	nc -1,5645
H	7SL scrNA -5,5873	5.8S rRNA -6,7027	U87 scaRNA 4,0820	U6 smRNA -5,0209	ACTB -6,7642	B2M 4,8031	PGK1 0,8165	GAPDH 1,4731	HPRT1 -4,0023	RPL1A 8,4787	RPL13A 9,1120	GDC 0,0000

A)



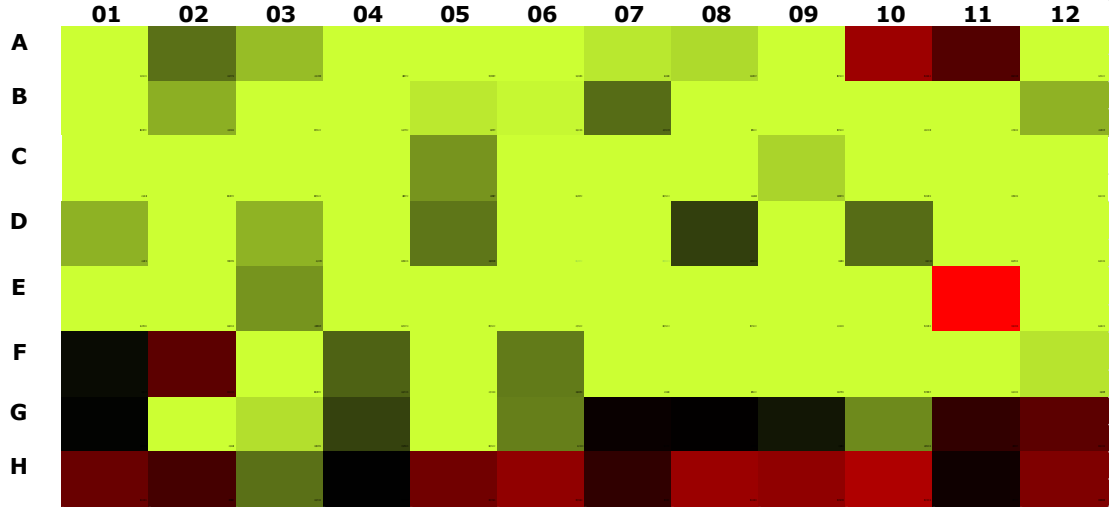
B)

Şekil 37: GBM (U87,U118,LN18) hücre modellerinin Hastalıkla ilişkilendirilmiş insan lncRNA gen ekspresyonlarına (BKHH) olan etkisi. (A) Gen ekspresyon kat değişimleri, (B) Gen ekspresyonunun “heat map” analizi

GBM (U87,U118,LN18) hücre modelleri, hastalıkla ilişkilendirilmiş insan lncRNA gen ekspresyon değişimini saptamak amacıyla; kontrol grubu olarak Normal İnsan Astrosit Hücre Hattı ile karşılaştırıldığında, 73 lncRNA geninin (2-13) kat ekspresyonunun azaldığı ve 1 lncRNA geninin ise 5 kat ekspresyonunun arttığı saptandı (Şekil 38).

	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12
A	21A	AAA1	aHIF	AK23948	ANRIL	anti-NOS2A	BACE1AS	BC017743	BC043430	BC200	BCMS	BIC
B	CCND1ANCR	CMPD	DD3	DGCR5	DISC2	DLG2AS	EGO	GAS5	GOMAFU	H19	H19-AS	HAR1A
C	HAR1B	HOTAIR	HOTAIRM1	HOTTIP	HOXA1AS	HOXA3AS	HOXA3AS	HOXA6AS	HOXA11AS	HULC	IPW	IGF2AS
D	KRASPI	LIPA16	LIT	LOC285194	LUST	LincRNA-VLDLR	LincRNA-SFMBT2	MALAT1	MEG3	MER11C	NEAT1	NCRMS
E	NDM29	PANDA	PAR5	PCAT-1	PCAT-14	PCAT-29	PCAT-32	PCAT-43	PCGEM1	PR-AT2	PRINS	PSFinhibitingRNA
F	PTENP1	RMRP	ROR	SAF	SCA8	Sox2OT	SRA	ST7OT1	ST7OT2	ST7OT3	ST7OT4	Telomerase RNA
G	TMEVPG1	TU_0017629	TUG1	UCA1	WT1-AS	Y1	Y3	Y4	Y5	ZEB2NAT	7SK	nc
H	7SL scRNA	5.8S rRNA	U87 scaRNA	U6 smRNA	ACTB	B2M	PGK1	GAPDH	HPRT1	RPL1A	RPL13A	GDC
	-5,5873	-3,5228	-4,5700	-11,7027	-9,2002	-8,3808	-6,861448	-5,608232	-10,28771	0,4664444	-0,688032	-8,287712
	-10,7027	-4,3868	-12,2877	-8,4297	-5,1792	-5,3748	-4,2570	-11,2877	-12,2877	-7,6730	-7,2653	-4,8039
	-7,8614	-10,7027	-10,2877	-11,7027	-4,0162	-6,7027	-13,2877	-6,8614	-5,0023	-9,3808	-5,9658	-6,5735
	-4,4173	-9,0398	-4,4391	-6,9658	-3,6030	-10,7027	-10,9658	-3,0374	-5,6153	-3,6331	-6,8954	-6,4548
	-6,4933	-6,6584	-4,0069	-6,2324	-12,2877	-7,2877	-13,2877	-12,2877	-7,3335	-9,4804	5,5453	-6,4675
	-2,1482	-0,5448	-10,7027	-3,3248	-7,2433	-3,6693	-7,8614	-11,2877	-5,6295	-9,2002	-8,3335	-5,6012
	-2,0333	-7,8614	-5,0398	-2,8965	-13,2877	-3,7331	-1,8489	-1,9658	-2,3104	-4,0856	-1,2002	-0,5448
	-0,3468	-0,9102	-3,5245	-2,0023	-0,2268	0,2864	-1,2368	0,4465	0,2620	0,7553	-1,7578	0,0000

A)



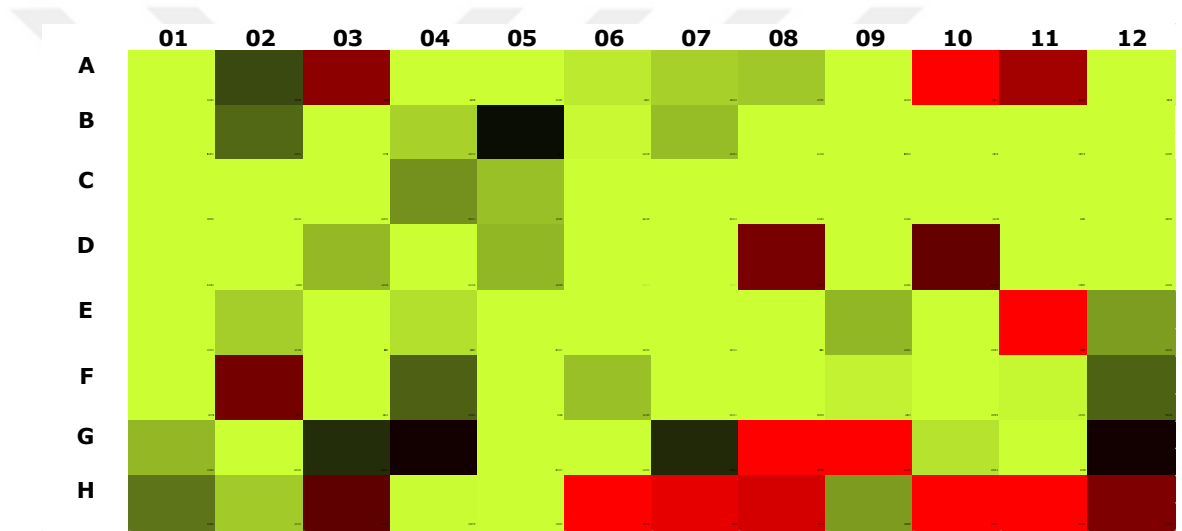
B)

Şekil 38: GBM (U87,U118,LN18) hücre modellerinin Hastalıkla ilişkilendirilmiş İnsan LncRNA gen ekspresyonlarına (NHA) olan etkisi. (A) Gen ekspresyon kat değişimleri, (B) Gen ekspresyonunun “heat map” analizi

Hastalıkla ilişkilendirilmiş İnsan LncRNA gen ekspresyon değişimini saptamak amacıyla GBM (U87,U118,LN18) hücre modelleri, kontrol grubu olarak Beyin Nöronal Kök Hücre ile karşılaştırıldığında, 68 lncRNA geninin (2-13) kat azaldığı ve 2 lncRNA geninin ise (3-4) kat arttığı saptandı (Şekil:39).

	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12
A	21A	AAA1	aHIF	AK23948	ANRIL	anti-NOS2A	BACE1AS	BC017743	BC043430	BC200	BCMS	BIC
	-5,8868	-2,9760	0,2211	-6,6012	-5,4868	-5,1482	-4,058894	-4,229721	-5,643856	3,1677754	0,5633534	-6,137965
B	CCND1ANCR	CMPD	DD3	DGCR5	DISC2	DLG2AS	EGO	GAS5	GOMAFU	H19	H19-AS	HAR1A
	-10,7027	-3,3944	-7,2216	-4,8242	-2,1636	-5,3570	-3,8594	-5,7486	-10,9658	-7,1380	-7,0979	-5,4804
C	HAR1B	HOTAIR	HOTAIRM1	HOTTIP	HOXA1AS AA489505	HOXA3AS BI823151	HOXA3AS BE873349	HOXA6AS AK09154	HOXA11AS	HULC	IPW	IGF2AS
	-8,0398	-6,8448	-6,4933	-3,9434	-4,5804	-6,6439	-9,5873	-5,4804	-5,4868	-4,4391	-4,7103	-8,0398
D	KRAS P1	L1PA16	LIT	LOC285194	LUST	LincRNA- VLDLR	LincRNA- SFMBT2	MALAT1	MEG3	MER11C	NEAT1	NCRMS
	-6,4804	-7,4051	-4,4836	-5,7486	-4,4580	-9,5873	-4,9794	-0,0933	-5,4868	-0,4245	-7,2002	-5,4868
E	NDM29	PANDA	PAR5	PCAT-1	PCAT-14	PCAT-29	PCAT-32	PCAT-43	PCGEM1	PR-AT2	PRINS	PSFinhibitingR NA
	-7,5328	-4,7760	-10,1178	-5,0162	-13,2877	-8,8283	-4,9748	-10,1178	-4,3688	-7,9302	4,5100	-3,5345
F	PTENP1	RMRP	ROR	SAF	SCA8	Sox2OT	SRA	ST7OT1	ST7OT2	ST7OT3	ST7OT4	Telomerase RNA
	-6,2216	-0,1733	-8,1584	-3,2863	-7,8614	-4,5769	-5,2877	-5,9839	-5,1482	-7,0209	-4,3393	-2,9546
G	TMEVPG1	TU_0017629	TUG1	UCA1	WT1-AS	Y1	Y3	Y4	Y5	ZEB2NAT	7SK	nc
	-4,4804	-6,2765	-2,6047	-1,6957	-13,2877	-7,4548	-2,3974	6,9389	10,8678	-3,9568	-4,4901	-1,6957
H	7SL scRNA	5.8S rRNA	U87 scaRNA	U6 smRNA	ACTB	B2M	PGK1	GAPDH	HPRT1	RPL1A	RPL13A	GDC
	-3,5564	-4,7255	-0,5233	-5,3929	-7,2653	4,6578	1,6178	1,3278	-4,0069	8,3333	8,9767	0,0000

A)



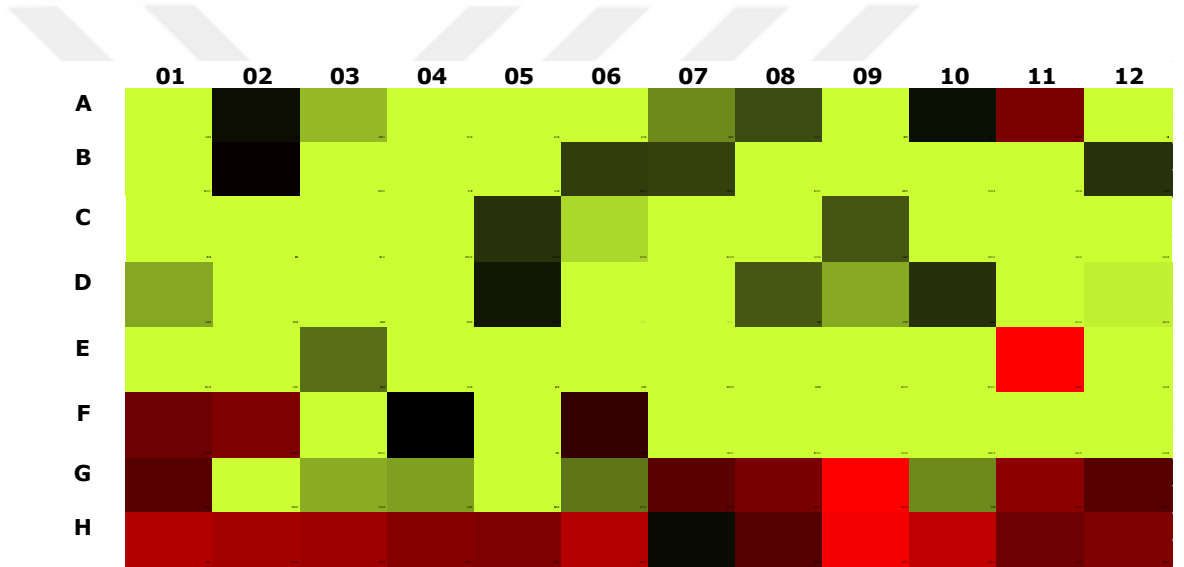
B)

Şekil 39: GBM (U87,U118,LN18) glioblastoma hücre modellerinin Hastalıkla ilişkilendirilmiş insan LncRNA gen ekspresyonlarına (BNKH) olan etkisi. (A) Gen ekspresyon kat değişimleri, (B) Gen ekspresyonunun “heat map” analizi

Hastalıkla ilişkilendirilmiş İnsan LncRNA gen ekspresyon değişimini saptamak amacıyla LN18 glioblastoma hücre modeli, kontrol grubu olarak Normal İnsan Astrosit Hücre Hattı ile karşılaştırıldığında, 72 lncRNA genin (2-18) kat ekspresyonunun azaldığı ve 2 lncRNA genin ise (2-27) kat ekspresyonunun arttığı saptandı (Şekil:40).

	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12
A	21A -4,8013	AAA1 -2,1513	aHIF -4,0047	AK23948 -9,5513	ANRIL -6,8313	anti-NOS2A -6,3313	BACE1AS -4,198002	BC017743 -2,444664	BC043430 -11,39132	BC200 -2,124667	BCMS -0,047998	BIC -8,111318
B	CCND1ANCR -12,6447	CMPTD -1,8613	DD3 -17,5947	DGCR5 -6,7113	DISC2 -4,7614	DLG2AS -2,6547	EGO -3,0347	GASS -12,5447	GOMAFU -13,1480	H19 -5,2880	H19-AS -4,8846	HAR1A -2,4179
C	HAR1B -10,3113	HOTAIR -11,1513	HOTAIRM1 -11,5547	HOTTIP -12,9380	HOXA1AS -2,5280	HOXA3AS -4,3246	HOXA3AS -13,5780	HOXA6AS -4,4746	HOXA11AS -2,6179	HULC -8,0446	IPW -4,3447	IGF2AS -8,5880
D	KRAS P1 -3,8013	LIPA16 -9,6613	LIT -5,0180	LOC285194 -9,2014	LUST -2,2380	LincRNA- -12,1347	LincRNA- -9,0980	MALAT1 -2,5113	MEG3 -3,2313	MER11C -2,4147	NEAT1 -6,7247	NCRMS -4,0746
E	NDM29 -10,8413	PANDA -7,8147	PAR5 -3,1980	PCAT-1 -4,7613	PCAT-14 -11,6413	PCAT-29 -4,9146	PCAT-32 -14,9980	PCAT-43 -18,3013	PCGEM1 -6,0479	PR-AT2 -13,8347	PRINS 27,9187	PSFinhibitingR -4,3380
F	PTENP1 -0,2780	RMRP 0,0020	ROR -12,3847	SAF -1,9913	SCA8 -8,1147	Sox2OT -1,1780	SRA -7,9547	ST7OT1 -10,2447	ST7OT2 -4,4746	ST7OT3 -8,9679	ST7OT4 -6,4747	Telomerase -5,7380
G	TMEVPG1 -0,6479	TU_0017629 -5,6080	TUG1 -3,8580	UCA1 -3,7180	WT1-AS -16,1680	Y1 -3,2747	Y3 -0,5880	Y4 -0,0847	Y5 2,0720	ZEB2NAT -3,2113	7SK 0,2253	nc -0,6479
H	7SL scrRNA 0,8187	5.8S rRNA 0,5920	U87 scaRNA 0,4920	U6 smRNA 0,0953	ACTB -0,0147	B2M 0,8453	PGK1 -2,1813	GAPDH -0,6580	HPRT1 1,8287	RPL1A 1,0253	RPL13A -0,2747	GDC 0,0000

A)



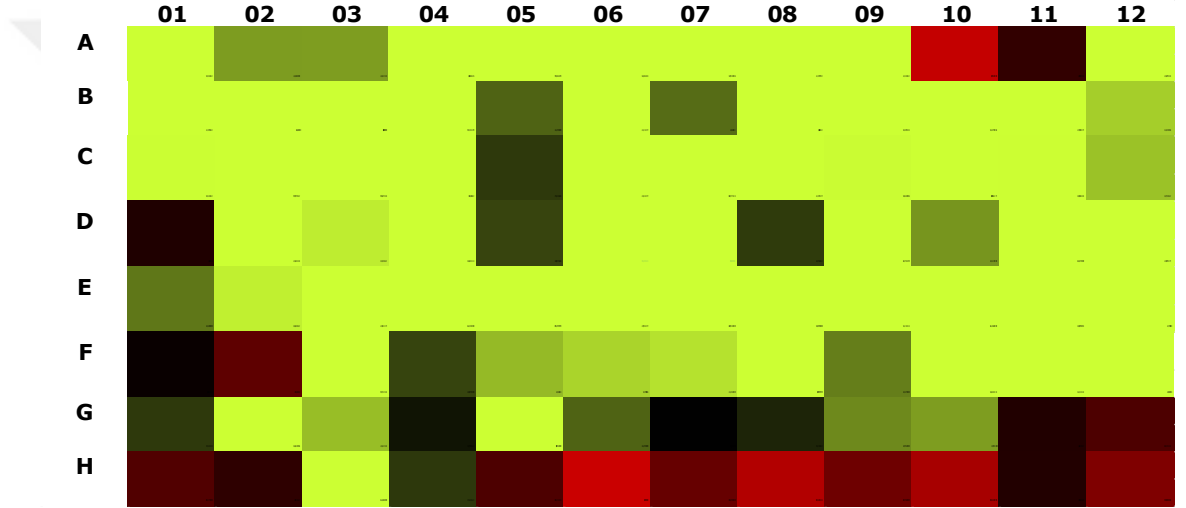
B)

Şekil 40: LN18 glioblastoma hücre modelinin Hastalıkla ilişkilendirilmiş insan LncRNA gen ekspresyonlarına (NHA) olan etkisi. (A) Gen ekspresyon kat değişimleri, (B) Gen ekspresyonunun “heat map” analizi

U87 MG glioblastoma hücre modeli, hastalıkla ilişkilendirilmiş insan lncRNA gen ekspresyon değişimini saptamak amacıyla; kontrol grubu olarak Normal İnsan Astrosit Hücre Hattı ile karşılaştırıldığında, 76 lncRNA genin (2-14) kat ekspresyonunun azaldığı saptandı (Şekil: 41).

	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12
A	21A	AAA1	aHIF	AK23948	ANRIL	anti-NQ52A	BACE1AS	BC017743	BC043430	BC200	BCMS	BIC
	-5,8867	-4,3600	-4,3733	-11,7668	-9,8639	-8,3633	-8,940586	-7,49975	-7,346669	1,0799999	-1,20333	-7,693316
B	CCND1ANCR	CMPD	DD3	DGCR5	DISC2	DLG2AS	EGO	GAS5	GOMAFU	H19	H19-AS	HAR1A
	-7,4967	-6,1401	-11,0100	-9,7339	-3,4900	-7,7472	-4,6134	-11,1767	-8,8933	-8,3206	-7,9072	-5,4506
C	HAR1B	HOTAIR	HOTAIRM1	HOTTIP	HOXA1AS AA489505	HOXA3AS BI823151	HOXA3AS BE873349	HOXA6AS AK09154	HOXA11AS	HULC	IPW	IGF2AS
	-5,8467	-9,9267	-9,6233	-13,8167	-2,8566	-7,3472	-13,2233	-7,4972	-5,6406	-11,0672	-5,0633	-5,2367
D	KRAS P1	L1PA16	LIT	LOC285194	LUST	LincRNA- VLDLR	LincRNA- SFMBT2	MALAT1	MEG3	MER11C	NEAT1	NCRMS
	-1,5133	-7,6333	-5,5867	-8,6334	-3,0266	-9,7033	-12,1306	-3,2667	-6,2539	-3,8700	-6,5200	-7,0972
E	NDM29	PANDA	PAR5	PCAT-1	PCAT-14	PCAT-29	PCAT-32	PCAT-43	PCGEM1	PR-AT2	PRINS	PSFinhibitingR NA
	-3,8000	-5,6367	-7,0772	-6,7500	-12,4999	-7,9372	-14,9400	-8,0900	-5,7434	-6,4600	-5,0905	-7,2101
F	PTENP1	RMRP	ROR	SAF	SCA8	Sox2OT	SRA	ST7OT1	ST7OT2	ST7OT3	ST7OT4	Telomerase RNA
	-1,8433	-0,5133	-9,2733	-3,0200	-4,8133	-5,2106	-7,4800	-11,2999	-3,8200	-8,6533	-8,7434	-7,1301
G	TMEVPG1	TU_0017629	TUG1	UCA1	WT1-AS	Y1	Y3	Y4	Y5	ZEB2NAT	7SK	nc
	-2,8535	-8,6406	-4,8733	-2,2967	-11,2800	-3,4900	-2,0133	-2,7567	-3,9800	-3,9801	-1,4767	-0,7833
H	7SL scRNA	5.8S rRNA	U87 scaRNA	U6 smRNA	ACTB	B2M	PGK1	GAPDH	HPRT1	RPL1A	RPL13A	GDC
	-0,7200	-1,2767	-6,4600	-2,8367	-0,7833	1,1700	-0,3900	0,8033	-0,2600	0,6300	-1,4633	0,0000

A)



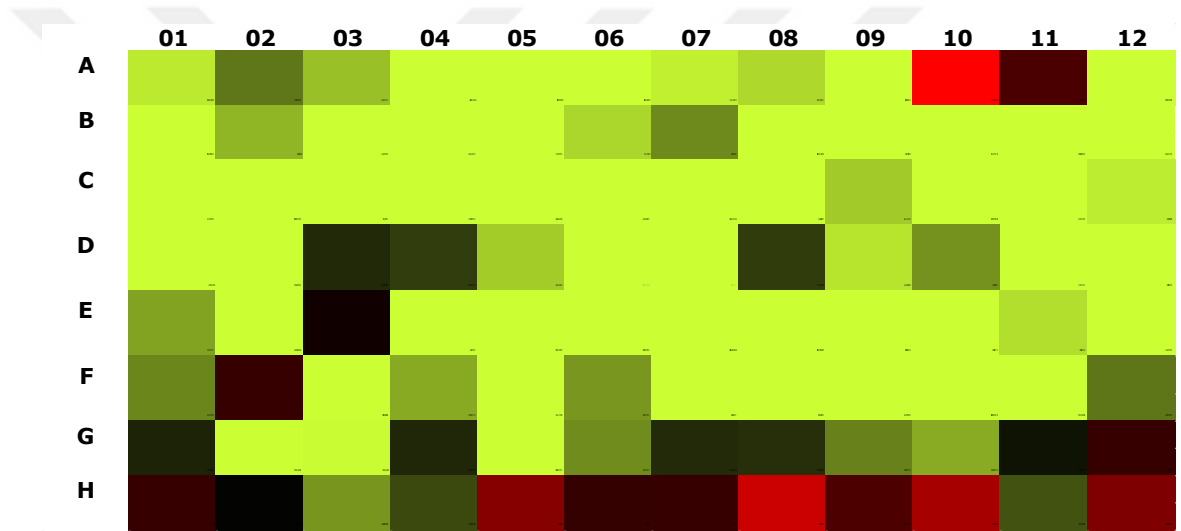
B)

Şekil 41: U87 MG hücre modelinin Hastalıkla ilişkilendirilmiş insan LncRNA gen ekspresyonlarına (NHA) olan etkisi. (A) Gen ekspresyon kat değişimleri, (B) Gen ekspresyonunun “heat map” analizi

U118MG glioblastoma hücre modeli, hastalıkla ilişkilendirilmiş insan lncRNA gen ekspresyon değişimini saptamak amacıyla; kontrol grubu olarak Normal İnsan Astrosit Hücre Hattı ile karşılaştırıldığında, 74 lncRNA geninin (2-14) kat ekspresyonunun azaldığı ve 1 lncRNA geninin ise 2 kat ekspresyonunun arttığı saptandı. (Şekil: 42).

	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12
A	21A	AAA1	aHIF	AK23948	ANRIL	anti-NOS2A	BACE1AS	BC017743	BC043430	BC200	BCMS	BIC
	-6,0760	-4,0593	-5,3327	-13,6861	-10,9561	-10,4661	-7,449152	-6,889739	-11,86944	2,4439999	-0,812661	-9,036042
B	CCND1ANCR	CMPD	DD3	DGCR5	DISC2	DLG2AS	EGO	GAS5	GOMAFU	H19	H19-AS	HAR1A
	-12,3093	-5,1561	-7,3893	-8,8462	-7,2928	-5,7261	-5,1225	-10,3760	-14,2195	-9,4228	-9,0094	-6,5428
C	HAR1B	HOTAIR	HOTAIRM1	HOTTIP	HOXA1AS AA489505	HOXA3AS BI823151	HOXA3AS BE873349	HOXA6AS AK09154	HOXA11AS	HULC	IPW	IGF2AS
	-7,4293	-10,9793	-9,7127	-7,9093	-6,6636	-8,4602	-13,3526	-8,6102	-6,7428	-9,0260	-8,4794	-5,9160
D	KRAS P1	L1PA16	LIT	LOC285194	LUST	LincRNA- VLDLR	LincRNA- SFMBT2	MALAT1	MEG3	MER11C	NEAT1	NCRMS
	-7,9361	-9,8694	-2,7093	-3,0593	-5,5464	-10,6260	-11,7525	-3,3360	-7,3669	-4,6127	-7,4227	-8,1994
E	NDM29	PANDA	PAR5	PCAT-1	PCAT-14	PCAT-29	PCAT-32	PCAT-43	PCGEM1	PR-AT2	PRINS	PSFinhibitingR NA
	-4,8227	-6,5060	-1,7460	-7,1793	-12,4392	-9,0394	-10,8660	-10,2660	-10,1835	-8,1027	-6,1928	-7,8592
F	PTENP1	RMRP	ROR	SAF	SCA8	Sox2OT	SRA	ST7OT1	ST7OT2	ST7OT3	ST7OT4	Telomerase RNA
	-4,3226	-1,1227	-10,3160	-4,9625	-8,7726	-4,6227	-8,1627	-12,3128	-8,5994	-10,0894	-9,7860	-3,9293
G	TMEVPG1	TU_0017629	TUG1	UCA1	WT1-AS	Y1	Y3	Y4	Y5	ZEB2NAT	7SK	nc
	-2,5992	-9,3466	-6,3861	-2,6760	-12,0827	-4,4327	-2,9460	-3,0560	-5,0227	-5,0628	-2,3493	-1,1227
H	7SL scRNA	5.8S rRNA	U87 scaRNA	U6 smRNA	ACTB	B2M	PGK1	GAPDH	HPRT1	RPL1A	RPL13A	GDC
	-1,1393	-2,0460	-4,6060	-3,2660	0,1173	-1,1560	-1,1393	1,1940	-0,7827	0,6107	-3,5360	0,0000

A)



B)

Şekil 42: U118MG hücre modelinin Hastalıkla ilişkilendirilmiş insan LncRNA gen ekspresyonlarına (NHA) olan etkisi. (A) Gen ekspresyon kat değişimleri, (B) Gen ekspresyonunun “heat map” analizi

Ekspresyon değişimleri anlamlı olan genler verildi ($p < 0,05$).

BÖLÜM IV

4.1. TARTIŞMA

LncRNA' lar, ortalama 200 bp ile 100 kbp uzunluğundadır. En son GENCODE projesinde 9277 bölge' yi istinaden 14.880 lncRNA açıklanmış (178). LncRNA' ların embriyogenezde, kök hücre biyolojisinde ve hücrel gelişimde önemli biyolojik rolleri olduğu saptanmış ve gelişimsel, spesifik doku ekspresyon profilleri gösterilmiştir [(179),(180),(181),(182)]. LncRNA' ların çoğunluğu, kanser progresyonu ve gelişiminde kritik rol oynadığı tanımlanmış.

Bu çalışmada; uzun kodlamayan RNA ekspresyon değişimlerine bağlı olarak farklı beyin tümörü hücre hatlarının moleküler patogenezindeki rolünün belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu kapsamda, beyin tümörü hücreleri ve beyin tümörü kök hücre hatlarının; insan lncRNA ve hastalıkla ilişkilendirilmiş insan lncRNA array plakları ile ekspresyon profilleri belirlenmiştir.

ALR kodlamayan RNA normalde beyin dokusunda ifade edilmektedir (270). ALR' nin ifadesine gözlenen anormallikler beyin dokusu içerisinde farklı patolojik durumlar oluşturabilir. Beyin dokusu içerisinde ALR kodlamayan RNA ifadesindeki artış Alzheimer ve Parkinson hastalıkları ile ilişkilendirilmiştir (271, 272). Bu bakımdan ALR' nin çeşitli moleküler hatalar nedeni ile ifadesel değişimi bu doku içerisinde patogeneze sürecini meydana getirebilir. Parkinson ve Alzheimer hastalarında tanımlanan aksine, çalışmamızda, nöronal kök hücrelere göre karşılaştırıldığında, ALR ifadesi beyin kanser kök hücrelerinde -4,84 kat azalma göstermiştir. ALR' nin artış veya azalış şeklindeki ifadesel değişimi beyin dokusu içerisinde patolojik bir etken olarak değerlendirilebilir. Fakat ifadenin şekli patolojik durumdaki farklılığın etkeni olabilir. Tümör dokusunda genomik kararsızlık yüksek seviyededir ve bu kararsızlık aynı anda farklı anomalilerin (örneğin,

mutasyonlar, anormal kromozomal yeniden düzenlenmeler) bir arada meydana gelmesi ile oluşur. Tümör dokusu içerisinde gözlenebilecek translokasyon, kromozom seti sayısı artışı veya azalışı, delesyon gibi anomaliler gen ifadesini direk olarak etkilemektedir. Bir beyin tümörü olan malignant astrositomlarda 16 numaralı kromozomun p kolunda delesyon gözlenmiştir (7). Delesyonu gösterilen bölge ALR gen lokusunu da taşımaktadır. Warr ve ark.'larının çalışması, tanımlanan malignant astrositomların gelişimindeki potansiyel aday genler olan yeni kromozomal dengesizliğin kanıtını oluşturmuştur (273). Bu çalışmadaki ALR gen ifadesindeki azalışın etkeni beyin tümörlerindeki kopya sayısı değişimi ile ilişkili olabilir.

ANRIL transkriptleri, baskılayıcı Histon hedefi H3K27me3 olarak kabul edilebilen ve susturulmuş hedef gen grubunu tutan ANRIL' in "polycomb baskılayıcı kompleks 1" (PRC1) bileşeni olan CBX7 ile ilişkilendirilmektedir. ANRIL ekspresyonu tümör metastaz derecesi ve tümör büyüklüğü ile yakın ilişki gösterdiğinden dolayı ANRIL, non-small akciğer kanser hücrelerinde önemli rol oynadığı rapor edilmiştir. ANRIL ekspresyon kaybı in vivo ve in vitro koşullarda apoptozu indükler (274). Çalışmamızda lncRNA' lar içerisinde yer alan ANRIL, beyin kanser kök hücresinde nöronal kök hücresine göre -3,02 kat azalma saptadık. Bu sonuçlarla birlikte ilgili literatürdeki araştırmalar (274) beyin tümörlerinde apoptozun ilgili uzun kodlamayan RNA ifade paternine bağlı olarak indükleyebileceğini gösterebilir.

Joo ve arkadaşları granüler hücre glioblastoma olgusunu ve bunun genetik ve moleküler özelliklerini rapor etmişler. Histolojik olarak, tümör sadece granüler hücreli astrositom tipik özelliklerini gösterdiği ama aynı zamanda glioblastoma ile uyumlu sık mitoz, nekroz çevresinde yalancı dizilimi (pseudopalisading) ve vasküler endotelial hiperplazi saptanmıştır. Komperatif genomik hibridizasyon areylerinde ve moleküler genetik analizlerinde kromozom 7' nin kazanımı, kromozom 1p, 8p, 9p, 10, 13q' nün kaybı saptanmışlardır (275). Joo ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada glioblastomalar ile ilişkilendirilen kromozomdaki 9p kaybı aynı kromozom kolu üzerinde yer alan yer alan ANRIL, VLDR, PTENP1 genlerinin de

glioblastomalarla ilişkilendirilebileceğini göstermektedir. LncRNA PTENP1 geninde BNSC' ye göre BCSC' de -3,34 kat azalış saptanmıştır. PTENP1 geninde azalma saptanması literatürde glioblastomlar için saptanan lokus kayıpları ile uyumludur.

PCAT-1 geni ile ilgili olarak; Ge ve arkadaşları, kolorektal kanserli hastalardan topladıkları doku örneklerinden PCAT-1 ekspresyon değişimini ve kopya sayısı değişimini incelemişler. LncRNA PCAT-1 in normal komşu dokulardan daha çok kolorektal kanser dokularında sıklıkla yukarı regüle olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, sonuçlar uzak metastazın CRC deki PCAT-1 aşırı ekspresyonu ile ilişkili bir klinik faktör olduğunu göstermektedir. PCAT-1' in yüksek ekspresyon gösterdiği hastalarda daha kısa süreli hayatta kalmaları ile ilişkilendirmişlerdir. Bu sonuçlar göstermektedir ki PCAT-1, CRC' nin ilerlemesinde CRC' nin invazyon-metastaz kaskadını teşvik ederek rol oynayabilir (276). Kitange ve ark' larının oligodendrogliomalarla yaptığı tek analiz çalışmasında 1p ve 19q kombine delesyonunun sağkalımla daha iyi ilişkilendirildiği ileri sürülmüştür ($p = 0.03$). Ayrıca; Oligodendrogliomalardaki 8q kazanımı oldukça kötü sonuçla ilişkili bulunmuştur ($p = 0.002$) (277). Bizim beyin tümörleri üzerine yaptığımız çalışmada kromozomun 8 q kolunda yer alan lncRNA PCAT-1, nöronal kök hücrelere göre BCSC' lerde -2,66 kat azalma göstermiştir. Aynı zamanda GBM' lerde BCSC' lere göre -2,36, NHA ' ya göre -6,23, NSC' lere göre -5,02 kat azalma göstermiştir. Bulgularımız PCAT-1' in düşük ekspresyon göstermesi proliferasyonu inhibe edebileceğini düşündürmektedir.

İnsan anti-NOS2A RNA, meningiomlar ve glioblastomaları da içeren farklı beyin tümörlerinde eksprese olmaktadır. Sergei ve arkadaşları; anti-NOS2A RNA' nın ve NOS2A mRNA' nın ekspresyon profillerinin farklılaşmamış insan embriyonik kök hücrelerinde ve nörogenik prekürsörler içerisinde farklılaşmayı indükleyen insan embriyonik kök hücrelerinde eşzamanlı resiprokal değişimleri ortaya koyduklarını saptamışlardır. İnsan anti-NOS2A RNA, NOS gen ekspresyonunun regülasyonunda rol oynar. En önemli göstergesi; burada onların hem anti-NOS2A RNA hemde NOS2A mRNA farklılaşmamış insan embriyonik kök hücrelerinde ve nörosfer gibi

nörogenik prekürsörler içerisinde farklılaşmayı indükleyen insan embriyonik kök hücrelerinde ekspresyonlarının kantitatif deneylerle belirlenmesidir (211). Genellikle; memeli beynindeki nörogenezde NOS2A gen ekspresyonun yukarı regülasyonu ile ilişkilendirilmektedir (278). Çalışmamızda yer alan anti-NOS2A ve CMPD (syn: LINC01152) lncRNA' ları kromozomun 17q kolu üzerinde bulunmaktadır. Anti-NOS2A lncRNA, U87, LN18, U118MG, SW1088, Daoy, BCSC, BNSC hücreleri NHA' ya göre karşılaştırıldığında sırasıyla -8,36, -6,33, -10,47, -7,14, -4,98, -3,38, -3,24 kat azalma görülmüştür. GBM' ler ise BCSC' ye göre -5 kat, NHA' ya göre -8.38 ve BNSC' ye göre -5,15 kat azalma saptanmıştır. GBM' lerde CMPD lncRNA' ları BCSC' ye göre 3.26, NHA' ya göre -4,39, BNSC' ye göre -3,39 kat azalma görülmüştür. Sergei ve arkadaşlarının sonuçlarıyla bizim bulgularımız farklı yönlerde ekspresyon göstermektedir. Fakat Deimling ve arkadaşlarının yaptığı çalışma bizim bulgularımızla aynı yöndedir. Deimling ve arkadaşları; moleküler bazdaki gliomaları karakterize etmek için çalışmalar yapmıştır. Neoplazmaların genomik karakteristik değişimleri için değerlendirilen veriler astrositik, oligodendrogial ve karma gliomalardan oluşmuştur. Örneğin; kromozom 1p, 9p, 10, 17p, 17q ve 19q da kayıp, p53 tümör baskılayıcı genlerin mutasyonları ve EGF reseptör geninin amplifikasyonudur. Farklı malignansi derecelerinin astrositik ve oligodendrogial neoplazma oluşumunun farklı genetik yollar ile sonuçlanması onların hipotezini desteklemektedir (279).

LncRNA' ların (ör; HOTAIR, MALAT1, HULC, T-UCR) çeşitli kanser tiplerine karşı; lncRNA' ların anormal ekspresyonlarının tümör oluşumuna önemli katkısı olduğu ileri sürülmektedir. Hanahan ve arkadaşları; anjiyogenez, replikatif ölümsüzlük, yaşamsal proliferatif sinyal, çoğalmayı baskılama, invazyon ve metastazın aktive edilmesi ve dirençli hücre ölümü gibi kanserin karakterize edilmesinde lncRNA' ların ilişkisine ilişkin rapor etmişlerdir (280). LncRNA HULC ekspresyonuna ait bulgumuzda, U87, LN18, U118MG, SW1088, Daoy, BCSC, BNSC hücreleri NHA' ya göre karşılaştırıldığında sırasıyla -11,07, -8,04, -9,03, -8,86, -4,25, -5,09, -4,94 kat azalma görülmüştür. GBM' ler ise BCSC' ye göre -4,29 kat, NHA' ya göre -

9,38 ve BNSC' ye göre -4,44 kat azalma saptanmıştır. Beyin tümörlerindeki aşırı ekspresyonun proliferasyonu etkileyebileceğini düşündürmektedir.

RN7SK (RNA, 7SK small nuclear)' lar hücre proliferasyonunu etkilemektedir. Kim ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada hücre proliferasyonunda ve kanser sürecinde lncRNA' ların rolünün tanımlanması ve analiz edilmesi amaçlanmıştır (281). Kim ve arkadaşları tarafından; komperatif genomik hibridizasyonu sadece kromozom 7 de kazanımlar ve 9p, 10, 13, Y kromozomlarındaki kayıplar değil aynı zamanda tekrarlayan gliomlardaki kromozom 6 ve 14 teki kayıplar olduğu gösterilmiştir (282). lncRNA 7SK ve PANDA (syn: PANDAR) 6p kromozom kolu üzerinde yer almaktadır. 7SK' nin ekspresyon değişimi BNSC' ye göre BCSC' de -7,67; GBM' lerde ise BCSC' ye göre -3,14 kat, NHA' ya göre -2,79 ve BNSC' ye göre -4,54 kat azalma saptanmıştır. PANDA geninde ise BNSC' ye göre BCSC' de -2,99 kat azalma saptanmıştır. Kim ve arkadaşlarının saptadığı 6p kolundaki kayıp bizdeki lncRNA' lar ile aynı kromozom kolu üzerinde yer aldığından kromozom kolundaki delesyonu beyin tümörleri ile ilişkilendirebilir.

Kromozom 14' deki allelik delesyon, GBM' in patogenezinde önemli rol oynar ve GBM' le ilişkilendirilmiş çoklu tümör süpresör genlerin olduğunu düşündürmektedir. Hu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada; tümörlerin %40' ından fazlasında kayıp görülürken başka çalışmada gliomların %20' sinde kromozom 14 kaybı gözlenmiştir (283, 284). Çalışmamızda yer alan lncRNA 7SL ve MEG9, genleri 14q kromozom kolu üzerinde yer almakta olup buda bizlere sonuçlarımızın gliomalar üzerinde tümör süpresör olarak fonksiyon görebileceklerini göstermiştir. 7SL' nin ekspresyon değişimi BNSC' ye göre BCSC' de -6,69; GBM' lerde ise BCSC' ye göre -2,41 kat, NHA' ya göre -2,32 ve BNSC' ye göre -4,28 kat azalma saptanmıştır. MEG9 geninde ise BCSC' ye göre SW-1088 (-7,9) ve Daoy (-6,2), NHA' ya göre sırasıyla -7,36 ve -5,68, BNSC' ye göre -10,97 ve -9,20 kat azalma saptanmıştır.

Alentorn ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada karşılıklı olarak p53 aşırı ekspresyonu dışında, 1p/19q kodelesyonunun, iyi prognoz, oligodendrogial fenotip, MGMT promoter metilasyon ve IDH mutasyonu ile ilişkili olduğu

konfirme edilmiştir. İlginçtir ki; kodelesyona uğramış 1p/19q tümörler tanıdaki eski hastalarda oluşmaktadır. Çalışmalarında, ko delesyona uğramamış 1p/19q düşük dereceli diffüz gliomalar 5 ana genomik alt gruba ayırmışlardır 1) 11p kaybı 2) 19q kaybı 3) 7 kazanımı 4) 19 kazanımı ve 5) sınıflandırılmamış. Ko delesyona uğramamış 1p/19q düşük dereceli diffüz gliomalarda; 11p kaybının astrositoma fenotip ile ilişkilendirildiğini ve bağımsız negatif prognostik değerine sahip olduğunu ve 19q kaybının IDH mutasyonunun çeşitli prognostik değerini azalttığı saptanmıştır (285). Çalışmamızda yer alan 21A, IGF2-AS lncRNA' ları 11p kromozomu üzerinde yer almaktadır. lncRNA 21A geninde BNSC' ye göre BCSC' de -6,15 kat azalma saptanmıştır. IGF2AS lncRNA grubunda ise BNSC' ye göre BCSC' de -7,12 kat azalma saptanmıştır. Kromozom kolundaki kaybın hastalığın seyri konusunda negatif etkiye sahip olduğu rapor edildiğinden bizim sonuçlarımızda seyri olumsuz etkileştireceğini düşünebiliriz.

Onkogenik fonksiyonları belirtilen H19 ekspresyonu hepatosellüler, mesane kanseri ve meme karsinomaları içeren çeşitli kanser tiplerinde görülmektedir (240). Shinji ve arkadaşları insan gliomalarında IGF2 ve H19 genlerinin imprinting kayıplarını (LOI) incelemişler. İki gen normal beyin subkorteks dokularında imprint edilmiştir. Gliomaların bir kısmında (%57) IGF2' deki LOI açığa kavuşmuştur. Sıklıkları tümör derecelerine bağlı değildir. H19 için; aksine 13 olguda imprinting korunmuştur. Bu sonuçlar, IGF2' nin LOI' inin değil H19 ' un insan glioma gelişiminde rol oynadığını göstermektedir (286). Çalışmamızdaki lncRNA H19 grubunda GBM' lerde BCSC' ye göre -5,34 kat, NHA' ya göre -7,67, BNSC' ye göre -7,14 kat azalma saptanmıştır. Beyin tümörlerindeki ekspresyon azalışları imprinting kayıpları ile ilişkilendirilebilir.

Anti kanser ilaç tedavisinde; 5-FU, lncRNA profil değişimleri ile ilişkilendirilebilir. Bu yüzden; Lee ve arkadaşları iki 5-FU dirençli insan kolon kanser hücre hatlarında lncRNA' ların farklı eksprese olduğunu gözlemlemişler. SnR ve BACE1AS, heriki dirençli hücre hattında önemli derecede aşağı regüle olmuşlardır (287). Çalışmamızda yer alan BACE1AS grubunda BNSC' ye göre BCSC' de -4,83 kat azalma saptanmış olup kolon

kanseri ile yapılan dirençli hücrelere göre ters korelasyon göstermektedir. LncRNA gen ekspresyonunda azalma olması proliferasyonun inhibe olduğunu düşündürmektedir.

Kromozomun 11q kolu üzerinde yer alan DLG2AS geni GBM' lerde ise BCSC' ye göre -3,61 kat, NHA' ya göre -5,37 kat artış, BNSC' ye göre -5,36 kat azalma saptanmıştır. 11q' daki heterozigote kaybı nöroblastomalarla, çocuklarda sıklıkla ekstra kraniyal kanserlerle ilişkilendirilmektedir. Nöroblastomlarda nadirde olsa 11q germline delesyonu yüksek riskli hastalığı olan hastaların tümöründe en sık gözlenen sitogenetik anomaliliklerin birini temsil eder (288). Çalışmamızdaki sonucu değerlendirdiğimizde DLG2AS geninin beyin tümörlerinde onkogen gibi davrandığını düşündürmektedir.

Takafumi ve arkadaşları tarafından GBM, anaplastik astrositomaları ve düşük dereceli astrositomaları içeren primer astrositomalarda komperatif genomik hibridizasyon kullanılarak genetik değişimler çalışılmış. GBM, AA, düşük dereceli astrositoma (LGA)' larda sırasıyla total anomaliliklerin ortalama sayıları (9,7), (5,4), ve 4,0' dır. GBM' lerdeki ortalama DNA sekans kayıpları AA ya da LGA' lardan daha fazladır. Astrositomaların bütün derecelerinde gözlemlenmiş sık değişen bölgeler 7p13-p12, 7q31, 8q24.1-q24.2 ve 20q13.1-q13.2 kazanımı, 9p21, 10p12-p11, 10q22-qter, 13q21-q22 kaybıdır. GBM' lerde 9p,10p ya da 10q' nun kaybı ve 7p nin amplifikasyonu ve kazanımı sık gözlemlenmiştir. AA' larda sık görülen anomalilikler 9p, 10q ve 13q kaybı ve 1q kazanımı, kromozom 7, 11q ve Xq' dur. 7p13-p11 amplifikasyonu sadece Kromozom 10' nun bir kısmının ya da tamamının kaybı olan olgularda olurken bu değişim 8q kopya sayısında artışa sahip olan olgularda meydana gelmemiştir. Çok sık olarak LGA' larda gözlenmektedir. Bu sonuçlar; 7p amplifikasyonlu GBM den farklı olan genetik yolak ile 8q kopya sayısındaki artışın GBM' lerde önemli bir olay olduğunu göstermiştir (289). Çalışmamızda NEAT1, Y3 (SYN:RNY3) genleri 7q kromozom kolu üzerinde yer almaktadır. LncRNA NEAT1 geni BNSC' ye göre BCSC' de -11,29 kat azalma göstermektedir. Y3 geninde ise BNSC' ye göre BCSC' de -6,44 kat azalma görülmüştür. Kromozomun 7p bölgesinde bulunan lncRNA

HOTTIP, BNSC' de BCSC' ye göre -2,99 kat azalış görülmüştür. Bulduğumuz sonuçlar beyin tümörlerinde onkogen gibi davranıp gelişimlerini pozitif etki yaratabileceğini düşündürmektedir.

BC200 RNA, primat MSS' nin nöronlarındaki RNA polimeraz III tarafından transkribe olan küçük sitoplazmik non-mesenger RNA' dır (290). Wei ve arkadaşları nöronal BC200 RNA' nın ekspresyonunun insan tümörlerinin birkaçında deregüle olduğunu saptamışlar. Veriler nöronal BC200 RNA' nın ekspresyonunun çeşitli insan tümörlerinde yukarı regüle olduğunu göstermiştir. Wei ve arkadaşları, BC200 RNA' nın çeşitli non-nöronal orjinli tümörlerin bazısında anlamlı seviyelerde artış olduğunu göstermişlerdir. BC200 ekspresyonunun nöron spesifik regülasyonu bu nedenle bu gibi hücrelerde kaybolur. BC200 RNA gen promotörlerinin disinhibisyonu yada aktivasyonu ile sonuçlanan tümöröenez boyunca bazı noktalarda, spesifik transkripsiyonel aktivatörler kanser hücrelerinde aşırı eksprese olabilirler yada transkripsiyonel baskılayıcılar undereksprese olabilir (291). Çalışmamızda yer alan BC200 geni BNSC' ye göre BCSC' de -4,10 kat azalma Wei ve arkadaşlarının yaptığı çalışma ile uyumlu olduğunu göstermektedir.

Abelson ve arkadaşları 10 beyin tümörü panelinde dihidrofolat redüktaz (DHFR) aktivitesini rapor etmişlerdir. Onlar, DHFR içeren tüm tümörleri bulmuşlar ve bu gözlemler; MTX tarafından beyin tümörlerinin antifolat terapisi için temel biyokimyayı öngördüğünü ifade etmektedir (292). Duch ve arkadaşları; DHFR' nin artan aktivasyonunun primer beyin tümör çoğalmasını ile korelasyon gösterdiği saptanmıştır. Bu enzimin aktif seviyesinin lezyondaki hücresel proliferasyonu ile ilişkili olabileceğini göstermektedir (293).

Çalışmamızda lncRNA DHFR, proliferasyonu inhibe edici ajan verilmediğinden BNSC' ye göre BCSC' de -3,63 kat azalma görülmüştür. Bulgularımızın Abelson ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalarla uyumlu olduğunu görmekteyiz.

Motomura ve arkadaşları, IDH1 mutasyonlarının sekonder (IDH1 mutasyonları ile) ve primer (IDH1 mutasyonları hariç) glioblastomalar arasında güvenilir bir şekilde ayırt edilebildiğini göstermişlerdir. Primer ve sekonder glioblastomalar tarafından paylaşılan en sık genetik değişiklik 10q'daki heterozigote kaybıdır (294). Glioblastoma tümörlerinin hücreleri büyük çoğunluğu kanser kök hücrelerinden meydana gelmektedir. Bu nedenle glioblastoma için tanımlanmış bu kayıp kanser kök hücrelerinde genel olarak gözlenebilir. Çalışmamızda bu düşüncüyü destekler nitelikte veri saptanmıştır. 10q'da yerleşim gösteren lncRNA Emx2os, BNSC'lere göre karşılaştırıldığında BCSC hücrelerinde -3,62 kat azalış göstermiştir. lncRNA SAF ise, GBM'de BNSC'ye göre -3,29 kat ve BCSC'ye göre -3,14, NHA'ya göre -3,32 kat azalış göstermiştir. Bu azalışın nedeni tümörün büyük bir kısmını oluşturan kanser kök hücrelerinde 10q delesyonunun yaygın olarak gözlenmesi olabilir. Gen kopya sayısı ile ekspresyon arasında olası bir birliktelik tümörögenезis sürecinde olabilir.

Nöronal gelişim ile ilişkili olan DISC2 kromozomun 1q kolunda delesyon olmaktadır (295). Nishizaki ve arkadaşları, GBM, AA, LGA'ları içeren primer astrositomalarda meydana gelen genetik değişimleri çalışmak için komperatif genomik hibridizasyon (CGH)'yi kullanmışlar. GBM'lerdeki DNA sekans kaybı AA yada LGA'dan daha yüksek olduğunu gözlemlemişler. AA'larda bulunan yaygın değişimler; 9p, 10q kaybı, 1q, kromozom 7, 11q ve Xq'nun kazanımı olduğunu saptamışlar (289). Çalışmamızda bu düşüncüyü destekler nitelikte olup lncRNA DISC2 (Hastalıklı) NHA'ya göre karşılaştırdığımızda U87 (-3,49), LN18 (-4,76), U118 MG (-7,29), SW1088 (-3,67), Daoy (-3,93), BCSC (-3,16), BNSC (-3,02) kat azalma; GBM'de ise BNSC'ye göre -2,16 kat ve BCSC'ye göre -2,02, NHA'ya göre -5,18 kat azalış saptadık. Bu çalışmada DISC2 gen ifadesinde gözlenen azalışın nedeni beyin tümörleri ve beyin kök hücreleri kopya sayısı değişimi ile ilişkili olabilir.

Genotoksik strese bazı lncRNA'ların yanıtı spesifik ajan DNA hasarı olmaktadır. Qian ve arkadaşları tarafından GAS5'in yukarı regülasyonu DOX ile tedavi edilmiş hücre hatlarında (U251 ve U87) saptanmıştır (296).

Çalışmamızda Qian ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmayı destekleyici özelliğe sahiptir. lncRNA GAS5, NHA' ya göre karşılaştırdığımızda U87 (-11,18), LN18 (-12,54), U118 MG(-10,38), SW1088 (-10,21), Daoy (-11,19), BCSC (-9,60), BNSC (-5,61) kat azalma; BNSC' ye göre BCSC de -3,98 kat azalış saptadık. Çalışmamızda gen ekspresyonundaki düşüşün nedeni etken madde uygulamasının olmaması diyebiliriz.

İnsan glial tümörlerinde LOH çalışmalarla, gliomaların patogenezi ile ilgili olan kromozom 17p üzerindeki tümör süpresör genlerin varlığı, kromozom 9p,10 ve 22q üzerindeki sık allelik kayıplar açığa kavuşmuştur (297, 298). Çalışmamızda; 22 nolu kromozomun q kolunda yer alan lncRNA Gomafu BNSC' ye göre BCSC' de -6,29 kat azalma görülmüştür. Yine aynı kromozom kolu üzerinde yer alan DGCR5 ve PCAT-14 bulunmaktadır. lncRNA DGCR5 NHA' ya göre karşılaştırdığımızda U87 (-9,73), LN18 (-6,71), U118 MG (-8,85), SW1088 (-7,51), Daoy (-5,36), BCSC (-3,75), BNSC (-3,61) kat azalma GBM' de ise BNSC' ye göre -4,82 kat ve BCSC' ye göre -4,68, NHA' ya göre -8,43 kat azalış saptadık. lncRNA PCAT-14' de ise; GBM' de BNSC' ye göre -13,29 kat ve BCSC' ye göre -3,50, NHA' ya göre -12,29 kat azalış; BNSC' lere göre karşılaştırıldığında ise BCSC hücrelerinde -9,83 kat azalış göstermiştir. Tümörün büyük bir kısmını oluşturan kanser kök hücrelerinde 22q delesyonunun gözlenmesi gen kopya sayısı ile ekspresyon arasında olası korelasyon tümör oluşum sürecinde beklenebilir.

Qian ve arkadaşları, DOX ve RES' i kullanarak U251 ve U87 hücrelerinde apoptoz indükleyici tedaviyi takiben 9 aday lncRNA ekspresyonu saptamışlar. Apoptotik durumlar altında; MEG3 ve ST7OT1 zamana bağlı olarak hem DNA yıkımını etkenine yanıtta hemde heriki hücre hattında yukarı regüle olmuşlardır. Apoptozu indükleyen genotoksik stres boyunca bu lncRNA' ların ekspresyon modeli DNA yıkımına spesifik etken modelidir. Apoptotik durumlar altında, onlar bazı lncRNA' ların (MEG3, ST7OT1, GAS5, neat1 ve MIR155HG) yukarı regüle olduğunu bazılarının ise (TUG1, BC200, MALAT1, and PAR5) etkilenmediğini bulmuşlar (296). Çalışmamızdaki bulgular Qian ve arkadaşlarının çalışmalarını destekler niteliktedir. lncRNA TUG1, NHA' ya göre karşılaştırdığımızda U87 (-4,87),

LN18 (-3,86), U118 MG(-6,39), SW1088 (-2,50), Daoy (-4,19), BCSC (-2,58), BNSC (-2,43) kat azalma GBM' de ise BNSC' ye göre -2,60 kat ve BCSC' ye göre -2,46, NHA' ya göre -5,04 kat azalış saptadık. MEG3' de ise GBM' de BNSC' ye göre -5,49 kat ve BCSC' ye göre -5,35, NHA' ya göre -5,62 kat azalış saptadık. Bulgularımızda aşağı regüle olmuş lncRNA' ların apoptozla ilişkilendirilmiş biyolojik süreçleri ile ilişkisi olabilir.

Actor ve arkadaşları, glioblastomalar da yaygın olarak görülen tümör baskılayıcı gen ve protoonkogenlerin anomalilikleri için 38 gliosarkomu incelemişler. Gen amplifikasyonları ve mutasyonlar tanımlamışlar. Yirmi gliosarkomayı CGH ile analiz edilmiştir. Kromozomal dengesizlikler, kromozom 7, X, 9q ve 20q' nun kazanımı ve kromozom 10, 9 ve 13q' nun kaybı saptanmıştır (299). Çalışmamızda 20 nolu kromozomun q kolunda yer alan lncRNA HAR1A' nın GBM' de BNSC' ye göre -7,8 kat ve BCSC' ye göre -5,45, NHA' ya göre -3,73 kat azalış; BNSC' lere göre karşılaştırıldığında BCSC hücrelerinde -4,59 kat azalış saptadık. Bu veriler sonucunda; beyin tümörlerinde ve beyin kök hücrelerinde kromozomal dengesizliklerin gen ekspresyon değişimi ile ilişkisi olabilir sonucunu düşünebiliriz.

HOTAIR ekspresyonu özellikle meme ve kolon kanserinde geliştirilmiş kanser metastazı ile korelasyon göstermektedir (246). HOTAIR, kromozom 2 üzerindeki HOXD lokusundaki 40 Kb' lık alana yayılır ve HOXD8, HOXD9, HOXD10, HOXD11 ile etkileşerek ve PRC2' yi dahil ederek HOXD lokusunun transkripsiyonel susturulmasını indükler (245, 300). Chakravadhanula ve arkadaşlarının çalışmalarında, atipik teratoid rabdoid tümörlerde (ATRT), HOXC geninin oldukça fazla eksprese olduğunu düşük seviyede eksprese olan ise HOXC12' i kabul edilmektedir. HOTAIR, HOXC lokusunda transkribe olduğundan ATRT örneklerinde HOTAIR' in yüksek ekspresyonu HOXC ekspresyon seviyelerine uyum sağlar. Fakat ATRT' de HOXD8, HOXD9, HOXD10 ve HOXD11 ekspresyonu önemli derecede yüksektir.

Düşük dereceli tümör tiplerinden dolayı; HOTAIR' ın agresif ve malignant tümör tiplerinde kanser progresyonunun modülasyonunda direk rol oynadığı gösterildiğinden Juvenil pilositik astrositomalarda HOTAIR' ın yüksek ekspresyonu şaşırtıcıdır. Medullablastomalarda ependimomlarda

görülene benzer HOTAIR' ın düşük ekspresyonu görülür (301). Bulgularımız Chakravadhanula ve arkadaşlarını destekler niteliktedir. LncRNA HOTAIR grubu BNSC' lere göre karşılaştırıldığında BCSC hücrelerinde -3,99 kat azalış göstermiştir. Histon modifikasyonları ile gen ekspresyonları arasında ilişki tümörögenesis sürecinde olabilir düşüncesini ortaya çıkarabiliriz.

Arslantaş ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada LGA, AA, GBM' lerde genomik dengesizlikler ve tümör progresyonunun altlarında yatan genetik değişimler üzerine çalışmışlar. Sonucunda; kromozom 7 anomalilerinin sıklığı derece IV, derece II ve III' ten daha yüksek olduğunu ve diğer karakteristik özellik olan 7p kazancı/ amplifikasyonu sıklıkla derece III ve IV ' te artışı saptanırken 7q' nun kısmi kazancı düşük dereceli tümörlerde sıklıkla görülmesidir (302). Çalışmamızda yer alan Hoxa11as ve HOXA3as (syn: HOXA-AS2) lncRNA' ları 7' inci kromozomun p kolunda yer almaktadır. HOXA11AS GBM' lerde BCSC' ye göre -5,34 kat, NHA' ya göre -5,00 kat artış, BNSC' ye göre -5,49 kat azalma saptanmıştır. HOXA3AS, BNSC' ye göre BCSC' de -5,21 kat azalma görülmüştür. Beyin tümörleri ve kök hücreleri arasında yaptığımız çalışmada genomik dengesizler ve gen ekspresyonları arasında nitelikli bir ilişki olabileceği, tümörögenesis sürecinde de etkili olabileceğini düşündürmektedir.

Lee ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada hastaların (Beckwith–Wiedemann sendromu) % 50' sinin KCNQ1OT1 adı verilen transkribinin imprinting kaybı ile sonuçlanan epigenetik mutasyona sahip olduğu görülmüştür. Paternal allel non-metile olmuştur. LIT1 olarak bilinen, KCNQ1OT1 adı verilen uzun transkriptin paternal ekspresyonuna izin verir (303). Çalışmamızda kullanılan lncRNA Kcnq1ot1' de BNSC' ye göre BCSC' de -3,83 kat azalma saptanmıştır. Lee ve arkadaşlarının yaptığı çalışmayı destekler niteliktedir. Beyin kanseri kök hücrelerindeki gen ekspresyonu ile imprinting kaybı arasındaki korelasyon proliferasyon sürecinde etkili olabilir.

Von Hippel-Lindau tümör süpresör gen (VHL gen)' nin moleküler genetik analizi insan glial tümör türlerinden çıkarılan somatik DNA' lar tek zincirli konformasyonel polimorfizm analizi ve direk dizileme ile incelenmiştir. VHL genin exon 3 te ve 15 olgunun 6' sında kromozom 3p' nin LOH' u

gösterilmiştir. Bu sonuçlar; VHL genide dahil olmak üzere 3p somatik mutasyonlar, bazı düşük dereceli glial tümörlerin tümörögenezinde yer alabileceğini düşündürmektedir (303). Yukarıdaki veriler çalışmamızı destekler niteliktedir. 3 nolu kromozomun q kolunda yer alan lncRNA LUST grubu GBM' de BNSC' ye göre -4,34 kat ve BCSC' ye göre -3,22, NHA' ya göre -6,41 kat azalış saptadık. Glial tümörün 3p kolundaki heterozigozisite kaybı ile gen ekspresyon arasındaki ilişki tümörögenezde etkili olabilir. Ekspresyon kaybının meydana gelmesi çalışmamızın literatürler ile uyumlu olduğunu göstermektedir.

Tripathi ve arkadaşları glioma hastalarında lncRNA MALAT1' in ekspresyon ilişkisini analiz etmişler. Sonuçlar, lncRNA MALAT1 ekspresyonu komşu dokularla ele alınarak karşılaştırıldığında glioma dokularında artış göstermiştir. lncRNA MALAT1' glioma patogenezinde ve tanısında rol aldığı ve glioma hastaları için konvaktif prognostik belirteci olarak hizmet edebilir (304). Çalışmamızda yeralan lncRNA Malat1, BCSC' ye göre SW-1088 (-4,58) ve Daoy (-2,84), NHA' ya göre sırasıyla -4,39 ve -2,64, BNSC' ye göre -8,43 ve -6,67 kat azalma; BNSC' ye göre BCSC' de -3,84 kat azalma saptanmıştır. Tripathi ve arkadaşlarının metastaz yapmamış dokularla karşılaştırdıklarında gen ekspresyonunun artması bizim bulgularımızla benzerdir. Gliomalarda gen ekspresyonunun artışı tümörögenez süreci ile ilişkili olabilir.

Castelnuovo ve arkadaşlarının çalışmasında; Alu benzeri kodlamayan RNA' nın (NDM29) ekspresyonu yukarı stream tip 3 Pol III promotörleri ile kararlı bulunmuştur. NDM29 transkriptleri defektif internal promotör ile başlangıç AluJb dizisini içerirler. İlginçtirki; bu Alu benzeri kodlamayan RNA hücre farklılaşmasına teşvik etmekte ve nöroblastomaların malignansilerinde azalış olmaktadır (305). Çalışmamızda yeralan lncRNA NDM29 BNSC' ye göre BCSC' de -8,97 kat azalma göstermiştir. Bu lncRNA genindeki ekspresyon azalışı proliferasyon sürecinde etkili olabilir.

Sung-suk ve arkadaşları iki transkripsiyon faktörü E2F1 ve MYC' nin transkripsiyonel baskılanması boyunca p53 tarafından baskılanan miRNA' ları tanımlamışlar ve onlar hücre döngüsü arestini ve hücre sel

proliferasyonun inhibisyonunu ve tümör çoğalmasını indükleyen miRNA' ların anti-onkogenik potansiyelini göstermişler (306). Çalışmamızda yeralan lncRNA p53 mRNA BNSC' ye göre BCSC' de -2,45 kat azalış saptanmıştır. Beyin kanser kök hücrelerinde transkripsiyonel baskılanma ve gen ekspresyonu arasındaki ilişki hücre döngüsü arestinde etkili olabilir.

Prostat kanserinde sıklıkla mutasyona uğrayan kromozom 10p lokusunda yer alan KLF6' nın gliomalardaki genetik değişimlerinin rolünü değerlendirmek için Yung-Ming ve arkadaşları; 155 gliomada direk DNA sekanslama ile genin 4 ekzonunu analiz etmişler. KLF6 mutasyonları, GBM (%11.8), AA (%7.1), düşük dereceli difüz astrositoma (%5.5) ve oligodendrogliomalarda bulunmuştur. Bu mutasyonlar transaktivasyon domaininde yer almıştır. KLF6 mutasyonlu 13 olguda, KLF6 lokusundaki heterozigosite kaybı 11 olguda komşu mikrosatellit belirteçleri ile gösterilen LOH sonucuna varılmıştır. KLF6' nın mutasyonları astrositik gliomaların patogenezinde rol oynadığı sonucuna varmışlardır (307). On nolu kromozomun p kolunda lncRNA DD3 ekspresyonunda; NHA' ya göre karşılaştırdığımızda U87 (-11,01), LN18 (-17,59), U118 MG(-7,39), SW1088 (-18,54), Daoy (-16,36), BCSC (-14,38), BNSC (-4,77) kat azalış; BNSC' ye göre BCSC' de -9,59 kat azalış saptanmıştır. Gliomaların 10p kolundaki heterozigosite kaybı ile gen ekspresyon arasındaki ilişki tümörögenizde etkili olabilir.

SRA (Steroid reseptör RNA aktivatörü) geni, koaktivatör ve korespresör olarak hareket eden proteini kodlayabilir (308). SRA seviyeleri meme tümörlerinde yukarı regüle olduğu bulunmuştur. Artan SRA seviyeleri steroid reseptör hareketi değişen meme tümörögenezine sebep olmuştur. Normal dokulardaki SRA ekspresyonları düşükken, insan meme, uterus, overin çeşitli tümörlerinde oldukça yüksek yukarı regüle olmaktadır (309). Çalışmamızda lncRNA SRA; NHA' ya göre karşılaştırdığımızda SW1088 (-3,55), Daoy (-5,12) kat azalış ve BNSC' ye göre BCSC' de -2,69 kat azalış saptanmıştır. Beyin tümörlerinde ve beyin kanser kök hücrelerinde steroid reseptörleri ile gen ekspresyonu arasındaki ilişki SRA' nın steroid bağımlı tümörlerde potansiyel biyobelirteci olabileceğini gösterebilir.

Hsuan Huang ve arkadaşları in vivo ve in vitro şartlarda (butyridenephthalide) BP ile muamele edilen hücrelerde hücre yaşlanmasının hızlandığını saptamışlar. “S-phase kinase-associated protein 2” (Skp2) kanserde yukarı regüle olan proto-onkogen olup BP ile muamele edilen GBM hücrelerinde aşağı regüle olmuştur. Skp2’ nin aşağı regülasyonu G₀/G₁ arestine ve tümör hücre yaşlanmasına neden olan p16 ve lincRNA p21 ekspresyonunun artması ile paralel bulunmuştur (310). Çalışmamızı kök hücre açısından destekler niteliktedir. lincRNA p21’ in GBM’ de BNSC’ ye göre -2,71 ve BCSC’ ye göre -3,49 kat azalışı, NHA’ ya göre 2,03 kat artışı görülmüştür. Gen ekspresyonlarındaki değişimler hücreleri G₀/G₁ arestinden ve apoptozdan kaçmasında etkili olabileceğini düşünmekteyiz.

TSIX adı verilen overlap antisens lincRNA sadece bir X kromozomunun inaktive olmasını garantilemek için XIST ekspresyonunu yöndeş olarak baskılar. Ayrıca, XIST ve TSIX ‘in RNA dubleks oluşturabildikleri bulunmuştur. İnaktif X kromozomu üzerindeki baskılayıcı kromatin modifikasyonu için gerekli olan siRNA prosesine Dicer bağımlı olarak katılır (257). Son zamanlarda; Yıldırım ve arkadaşları tarafından; fare kan hücrelerindeki XIST delesyonunun oldukça yüksek agresif miyoproleratif neoplazmlarının ve mutatt dişilerde %100 penetranslı miyodisplastik sendromun gelişimine yol açtığı kanıtlanmıştır. Böylece; XIST kaybının kansere yol açan geniş genom değişikliğini takiben X reaktivasyonu ile sonuçlandığı önerilmiştir (148). Çalışmamızda yer alan lincRNA TSIX ve XIST genleri sırasıyla; BNSC’ ye göre BCSC’ de -3,96 ve -2,55 kat azalış göstermiştir. Bu bulgular ışığında; beyin kök hücrelerinde kromatin modifikasyonu ile gen ekspresyonu arasında korelasyon, kanserin gelişiminde etkili olabilir.

UCA1 lincRNA, kolorektal kanser, dil skuamöz hücre karsinomunu, meme ve mesane kanserini içeren çoğu tümörde ve kanser hücrelerinde önemli derece yukarı regüle olmaktadır. Mesane karsinomunda miR-1 aşağı regüle olmaktadır. UCA1 bu miRNA’ lar için öngörülebilir olup; bağlanma bölgesini koruduğu bilinir. Bu şekilde, miR-1, bir Ago2-slicer-bağımlı bir şekilde UCA1’ in ekspresyonunu azaltır (311-315). UCA1 ile ilgili ifadeler çalışmamızı desteklemektedir. Çalışmamızda UCA1, BNSC’ ye göre BCSC’

de -5,31 kat azalış göstermiştir. Beyin tümör dokularına göre farklı eksprese olan beyin kanser kök hücrelerinde miRNA ile gen ekspresyonu ilişkisi tümöröenez sürecinde etkili olduğunu düşünebiliriz.

Alentorn ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada difüz düşük dereceli gliomalarda delesyona uğramış non 1p/19q içerisinde 5 genomik grup dizayn etmişler. Genellikle 11p kaybı ve 19q kaybıdır. Son olarak onlar yaygın olan genomik değişikliğin LGG' nin patogenezi ile ilişkilendirildiğini bu tümörlerin tanısına yardım edebileceğini saptamışlar (285). LncRNA WT1-AS 11 nolu kromozomun p kolunda yer almaktadır. Alentorn ve arkadaşlarının gliomalarda saptadıkları kromozom kayıpları çalışmamızı destekler niteliktedir. LncRNA WT1-AS, BNSC' ye göre BCSC' de -10,54 kat azalış göstermiştir. Tümör dokusu içerisinde gözlenebilecek, kromozom sayısı artışı veya azalışı, delesyon gibi anomaliler gen ifadesini direk olarak etkilemektedir. Bu çalışmada ALR gen ifadesinde gözlenen azalışın etkeni beyin tümörlerindeki ve kök hücrelerindeki kopya sayısı değişimi ile ilişkili olabilir.

Rinn ve arkadaşları; linc-ROR (lincRNA-ST8SIA3)' un p53 yolakları, DNA yıkımı ve oksidatif strese yanıt gibi proapoptotik yolakların negatif regülasyonu ile IPSC koloni oluşumunda fonksiyonel role sahip olduğunu bulmuşlar. Azalan IPSC koloni oluşumu ile sonuçlanan IPSC hücrelerinde lincRNA-ST8SIA3' ün knockdown' una bağlı proapoptotik yolaklarda ilişkili olan genlerin yukarı regülasyonunu göstermişler (222). linc-ROR' u NHA' ya göre karşılaştırdığımızda U87 (-9,27), LN18 (-12,38), U118 MG(-10,32), SW1088 (-11,83), Daoy (-11,03), BCSC (-9,44), BNSC (-2,50) kat azalış; BNSC' ye göre BCSC' de -6,93 kat azalış saptanmıştır. Bu sonuçlar beyin tümörlerinde ve kök hücrelerinde lincRNA-ST8SIA3 gen ekspresyon azalışları DNA hasarı ile ilişkili olarak düşünülebilir.

NCRMS' nin ekspresyonu ekzon 6' ya komşu primerler kullanılarak çeşitli tümör tiplerinde değerlendirilmiştir. Hem splicing formları hemde C23up ve C-con tümör tipleri arasında farklı ekspresyon olduğunu göstermiştir. Rabdomyosarkom (RMS) gibi tümör tiplerinde NCRMS' nin ekspresyon seviyeleri karşılaştırıldığında; RMS dışında sinoviyal sarkoma ve

nöroblastomada daha düşük seviyede ekspresyon göstermektedir. Agnes ve arkadaşlarının verilerinde kromozomal 12q21 bölgesinin miyogenezde ve RMS' nin gelişiminde önemli olabileceğini göstermişlerdir. Onlar ncRNA olarak hareket eden bu bölgede yeni gen NCRMS' yi tanımlamışlar. RMS tümörögenezinde alternatif yol NCRMS gen düzenlemesi içerebilir. Sinoviyal sarkoma ve nöroblastomada NCRMS' nin ekspresyon seviyeleri karşılaştırıldığında bu tümörler ile yaygın yol belirlenebilir (316). Sonuçlarımız Agnes ve arkadaşlarının çalışmasını destekler niteliktedir. Çalışmamızda yeralan lncRNA NCRMS, GBM' de BNSC' ye göre -5,49 ve BCSC' ye göre -5,34 kat, NHA' ya göre -6,45 kat azalış göstermiştir. Beyin tümörlerinde genlerin alternatif splicing formları ile gen ekspresyonları arasında meydana gelebilecek birliktelik tümörögenez sürecinde etkili olabilir.

Malik ve arkadaşları PCAT29' un hücre proliferasyonunun inhibisyonu, migrasyonu, tümör çoğalması ve metastazı içeren kanser baskılayıcı fenotipleri sergilediğini bulmuşlar. Çalışmalarında, PCAT29, PCAT29' un promotörüne bağlanan ve bunun transkripsiyonunu baskılayan androjen reseptörü tarafından regüle edildiğini saptamışlar in vitro çalışmalarda; PCAT29' un prostat kanser proliferasyonu ve migrasyonunu negatif regüle ettiği gösterilmiştir (317). Çalışmamızdaki lncRNA PCAT29; GBM' de BNSC' ye göre -8,83 ve BCSC' ye göre -5,34 kat, NHA' ya göre -7,29 kat azalış göstermiştir. Malik ve arkadaşlarının çalışmasıyla uyumlu bulunmaktadır. Beyin tümörleri ve kök hücrelerinde transkripsiyon baskılayıcı reseptörler ile gen ekspresyonları arasındaki ilişki proliferasyonun inhibe edilmesinde etkili olabilir.

Spinocerebellar ataksi (SCA) RNA ile ilişkilendirilmiş belirgin patolojik süreçlerden meydana gelebilmektedir. SCA8, Kelch-like 1 (KLHL1) geni ile örtüşmesi ile çevrilmemiş antisens RNA' nın 3'UTR sinde CTG (sitozin-timin-guanin) büyümesine neden olur (318, 319). Gen mutasyonu, KLHL1 aktin bağlayıcı proteinin yanlış regülasyonu yada genişletilmiş RNA' nın toksik sonuçları ile nörodejeneratif hastalıkların klinikopatolojik bulgularına neden olur (320, 321). İlginçtir ki; SCA8 kullanılarak predominant nöronal ekspresyon ile dört yeni lncRNA tanımlanmıştır (321). Çalışmamızdaki

lncRNA SCA8 GBM' de BNSC' ye göre -7,86 ve BCSC' ye göre -2,07 kat, NHA' ya göre -7,24 kat azalış saptanmış olup; BNSC' ye göre BCSC' de ise -5,81 kat azalış göstermiştir. SCA8' in azalış şeklindeki ifadesel değişimi beyin dokusu içerisinde patolojik bir etken olarak değerlendirilebilir.

Daniela ve arkadaşları TCGA datalarından IDH1 mutasyonlu (sekonder glioblastomanın özelliği) ve mutasyonsuz (primer glioblastoma için) glioblastomalarda yaygın olarak amplifiye olmuş genler için araştırma yapmışlar. Toplamda 21 tanesi 7q31-34 bölgesinde yer alan 25 gen tanımlanmış. Log2 kriterine göre (>0.5); olguların %35' inde (IDH1/2 mutasyonu glioblastoma, IDH1/2 mutasyon olmayan) kazanım göstermişlerdir. CFHR3 (1q31.3), LCE3B (1q21.3), LCE3C (1q21.3), TARP (7p14.1) hariç diğerleri (ANKRD7, ASZ1, C7ORF58, CAPZA2, CFTR, CTTNBP2, ING3, KCND2, NAA38, MET, MGAM, PRSS2, PTPRZ1, ST7, ST7-AS1, ST7-AS2, ST7- OT3, ST7-OT4, TSPAN12, WNT16, WNT2) 7q31-34 bölgesinde yer almaktadır. cBio kanser genomik Portalında; Glioblastomaların % 68' inde bütün 21 genin kazanımı ve glioblastomların %71-%74' ünde 21 genin en az birinde kazanım gösterilmiştir (322). Çalışmamızda 7 nolu kromozomun 7q bölgesindeki lncRNA ST7OT3 ve ST7OT4 genleri U87, LN18, U118MG, SW1088, Daoy, BCSC, BNSC hücreleri NHA' ya göre karşılaştırıldığında sırasıyla (-8,65, -8,74), (-8,97, -6,47), (-10,09, -9,79), (-9,78, -5,39) , (-7,62, -5,84), (-6,01, -6,03), (-2,22, -3,99) kat azalış ve BNSC' de BCSC' ye göre (-3,79, -2,04) kat azalış görülmüştür. GBM' de BNSC' ye göre (-7,02, -4,34) ve BCSC' ye göre (-3,23, -2,30) NHA' ya göre (-9,20, -8,33) kat azalış saptanmıştır. Çalışmamız Daniela ve arkadaşlarının çalışması ile uyumlu görülmektedir. Beyin tümörleri ve kök hücreleri arasında yaptığımız çalışmada genomik dengesizlik ve gen ekspresyonları arasında nitelikli bir ilişki olabileceği, tümöröenez sürecinde de etkili olabileceğini düşündürmektedir.

Sonuç olarak; insan lncRNA ve hastalıkla ilişkilendirilmiş lncRNA aray plakları ile anti-kanser gen ekspresyon değişimleri belirlendi. Bu bulguların ışığında tümöröenez sürecinde etkili olabileceği gösterilen lncRNA' ların

beyin tümörü tedavisinde yeni hedef moleküller olabileceđi ve bu lncRNA' ları hedefleyen ek bir tedavi protokolü gerçekleřtirilebileceđini dűřündürmektedir.



BÖLÜM V

5.1. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda uzun kodlamayan RNA ekspresyon değişimlerine bağlı olarak farklı beyin tümörü hücre hatlarının moleküler patogenezindeki rolünün belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu kapsamda, beyin tümörü hücreleri ve beyin tümörü kök hücre hatlarının; insan lncRNA ve hastalıkla ilişkilendirilmiş insan lncRNA array plakları ile ekspresyon profilleri belirlenmiştir.

Çalışmamızda yeralan lncRNA genleri farklı oranlarda ekspresyon değişimi göstermiştir. Bunlar içerisinde yer alan lncRNA ANRIL geni, beyin kanser kök hücresinde nöronal kanser hücresine göre azalma saptanması; beyin tümörlerinde apoptozun ilgili uzun kodlamayan RNA ifade paternine bağlı olarak indükleyebileceğini gösterebilir.

Kromozomun 9p lokusunda yeralan lncRNA PTENP1 geni BNSC' ye göre BCSC' de azalma saptanması literatürde glioblastomlar için saptanan lokus kayıpları ile uyumludur.

Kromozomun 8 q kolunda yer alan lncRNA PCAT-1, nöronal kök hücrelere göre BCSC' ler de azalma göstermiş olup; aynı zamanda GBM' ler de BCSC' lere, NHA ' ya ve NSC' lere göre azalma göstermiştir. PCAT-1' in düşük ekspresyon göstermesi proliferasyonu inhibe edebileceğini düşündürmektedir.

GBM' in patogenezinde kromozom 14' deki allelik delesyon önemli rol oynar ve GBM' le ilişkilendirilmiş çoklu tümör süpresör genlerin olduğunu düşündürmektedir. Çalışmamızda yer alan lncRNA 7SL ve MEG9, genleri 14q kromozom kolu üzerinde yer almakta olup sonuçlarımızda da ekspresyon değişimlerindeki azalma, gliomalar üzerinde tümör süpresör olarak fonksiyon görebileceklerini göstermiştir.

11q' daki heterozigote kaybı nöroblastomalarla, çocuklarda sıklıkla ekstra kraniyal kanserlerle ilişkilendirilmektedir. Çalışmamızdaki DLG2AS genindeki ekspresyon değişimi beyin tümörlerinde onkogen gibi davrandığını düşündürmektedir.

Çalışmamızda NEAT1, Y3 (SYN:RNY3) genleri 7q kromozom kolu üzerinde yer almaktadır. LncRNA NEAT1 ve Y3 genlerinde BNSC' ye göre BCSC' de azalma görülmüştür. Kromozomun 7p bölgesinde bulunan lncRNA HOTTIP, BNSC' de BCSC' ye göre azalış görülmüştür. sonuçlar beyin tümörlerinde onkogen gibi davranıp gelişimlerinde pozitif etki yaratabileceğini düşündürmektedir.

LncRNA TUG1, NHA' ya göre karşılaştırdığımızda U87, LN18, U118 MG, SW1088, Daoy, BCSC, BNSC kat azalma GBM' de ise BNSC' ye, BCSC' ye ve NHA' ya göre azalış saptadık. MEG3' de ise GBM' de BNSC' ye, BCSC' ye ve NHA' ya göre azalış saptadık. Bulgularımızda aşağı regüle olmuş lncRNA' ların apoptozla ilişkilendirilmiş biyolojik süreçleri ile ilişkisi olabilir.

Sonuç olarak; insan lncRNA ve hastalıkla ilişkilendirilmiş insan lncRNA aray plakları ile anti-kanser gen ekspresyon değişimleri belirlendi. Bu bulguların tümörögenez sürecinde etkili olabileceği aynı zamanda preklinik gelişim için hayvan modellerinde de araştırılmalı ve sonuçlar olumlu olduğu takdirde ve beyin tümörü tedavisi için ek bir tedavi protokolü gerçekleştirilebileceğini düşündürmektedir.

Literatürdeki bilgilere dayandırıldığında, azalış gösteren uzun kodlamayan RNA genleri beyin tümörlerinde rekuran olarak gözlenen delesyon bölgelerinde yerleşim göstermektedir. Bu nedenle, uzun kodlamayan RNA genlerine ait ifade paternlerinin kromozomda yerleşim gösterdikleri lokuslara ait olası delesyonların saptanması veya metilasyon patterin ile meydana gelebilecek olası azalış nedenin araştırılması, uzun kodlamayan RNA'ların beyin tümörlerindeki fonksiyonunu ortaya koyabilir.

BÖLÜM VI

6.1. KAYNAKLAR

1. Organization WH. Ten statistical highlights in global public health. World health statistics. 2007;9420.
2. Siegel R, Ward E, Brawley O, Jemal A. Cancer statistics, 2011: the impact of eliminating socioeconomic and racial disparities on premature cancer deaths. CA: a cancer journal for clinicians. 2011;61(4):212-36. doi:10.3322/caac.20121
3. Nissen MJ, Genevay S. [Greater trochanteric pain syndrome]. Revue medicale suisse. 2015;11(465):585-8, 90.
4. Benard F, Romsa J, Hustinx R. Imaging gliomas with positron emission tomography and single-photon emission computed tomography. Seminars in nuclear medicine. 2003;33(2):148-62. doi:10.1053/snuc.2003.127304
5. Geneva AJ, Muirhead CA, Kingan SB, Garrigan D. A new method to scan genomes for introgression in a secondary contact model. PloS one. 2015;10(4):e0118621. doi:10.1371/journal.pone.0118621
6. Geneva AJ, Hilton J, Noll S, Glor RE. Multilocus phylogenetic analyses of Hispaniolan and Bahamian trunk anoles (distichus species group). Molecular phylogenetics and evolution. 2015;87:105-17. doi:10.1016/j.ympev.2015.02.011
7. Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, et al. The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system. Acta neuropathologica. 2007;114(2):97-109. doi:10.1007/s00401-007-0243-4
8. Lawrence YR, Mishra MV, Werner-Wasik M, et al. Improving prognosis of glioblastoma in the 21st century: Who has benefited most? Cancer-Am Cancer Soc. 2012;118(17):4228-34. doi:Doi 10.1002/Cncr.26685
9. Schwartzbaum JA, Fisher JL, Aldape KD, Wrensch M. Epidemiology and molecular pathology of glioma. Nat Clin Pract Neuro. 2006;2(9):494-503. doi:Doi 10.1038/Ncpneuro0289
10. Jones PA, Baylin SB. The epigenomics of cancer. Cell. 2007;128(4):683-92. doi:DOI 10.1016/j.cell.2007.01.029
11. Birney E, Stamatoyannopoulos JA, Dutta A, et al. Identification and analysis of functional elements in 1% of the human genome by the ENCODE pilot project. Nature. 2007;447(7146):799-816. doi:Doi 10.1038/Nature05874
12. !!! INVALID CITATION !!!
13. Prensner JR, Chinnaiyan AM. The emergence of lncRNAs in cancer biology. Cancer discovery. 2011;1(5):391-407.
14. Hu W, Alvarez-Dominguez JR, Lodish HF. Regulation of mammalian cell differentiation by long non-coding RNAs. EMBO reports. 2012;13(11):971-83.
15. Kondo Y, Katsushima K, Ohka F, Natsume A, Shinjo K. Epigenetic dysregulation in glioma. Cancer science. 2014;105(4):363-9.
16. Ohgaki H, Kleihues P. Genetic pathways to primary and secondary glioblastoma. The American journal of pathology. 2007;170(5):1445-53. doi:10.2353/ajpath.2007.070011
17. Komori T. Pathology and genetics of diffuse gliomas in adults. Neurologia medico-chirurgica. 2015;55(1):28-37. doi:10.2176/nmc.ra.2014-0229
18. Sadighi Z, Slopis J. Pilocytic astrocytoma: a disease with evolving molecular heterogeneity. Journal of child neurology. 2013;28(5):625-32. doi:10.1177/0883073813476141
19. Aryan HE, Meltzer HS, Lu DC, Ozgur BM, Levy ML, Bruce DA. Management of pilocytic astrocytoma with diffuse leptomeningeal spread: two cases and review of the literature. Child's nervous system : ChNS : official journal of the International Society for Pediatric Neurosurgery. 2005;21(6):477-81. doi:10.1007/s00381-004-1002-7

20. Dias-Santagata D, Lam Q, Vernovsky K, et al. BRAF V600E mutations are common in pleomorphic xanthoastrocytoma: diagnostic and therapeutic implications. *PloS one*. 2011;6(3):e17948. doi:10.1371/journal.pone.0017948
21. Perkins SM, Mitra N, Fei W, Shinohara ET. Patterns of care and outcomes of patients with pleomorphic xanthoastrocytoma: a SEER analysis. *Journal of neuro-oncology*. 2012;110(1):99-104. doi:10.1007/s11060-012-0939-8
22. Parsons DW, Jones S, Zhang X, et al. An integrated genomic analysis of human glioblastoma multiforme. *Science*. 2008;321(5897):1807-12. doi:10.1126/science.1164382
23. Ostrom QT, Gittleman H, Farah P, et al. CBTRUS statistical report: Primary brain and central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2006-2010. *Neuro-oncology*. 2013;15 Suppl 2:ii1-56. doi:10.1093/neuonc/not151
24. Guan X, Vengoechea J, Zheng S, et al. Molecular subtypes of glioblastoma are relevant to lower grade glioma. *PloS one*. 2014;9(3):e91216. doi:10.1371/journal.pone.0091216
25. Neill SG, Fisher KE. Section III: Molecular diagnostics in neuro-oncology. *Current problems in cancer*. 2014;38(5):175-9.
26. Yan H, Parsons DW, Jin G, et al. IDH1 and IDH2 mutations in gliomas. *The New England journal of medicine*. 2009;360(8):765-73. doi:10.1056/NEJMoa0808710
27. Hirose Y, Sasaki H, Abe M, et al. Subgrouping of gliomas on the basis of genetic profiles. *Brain tumor pathology*. 2013;30(4):203-8. doi:10.1007/s10014-013-0148-y
28. Jiang H RX, Cui X, Wang J, Jia W, Zhou Z, Lin S. 1p/19q codeletion and IDH1/2 mutation identified a subtype of anaplastic oligoastrocytomas with prognosis as favorable as anaplastic oligodendrogliomas. *Neuro-oncology*. 2013 15(6):775–782. doi:10.1093/neuonc/not027
29. Suzuki A NS, Natsume A, Suzuki H, Kim YH, Yokoo H, et.al. Olig2 labeling index is correlated with histological and molecular classifications in low-grade diffuse gliomas. *J Neurooncol*. 2014 120(2):283-91. doi:10.1007/s11060-014-1568-1.
30. Boots-Sprenger SH, Sijben A, Rijntjes J, et al. Significance of complete 1p/19q co-deletion, IDH1 mutation and MGMT promoter methylation in gliomas: use with caution. *Modern Pathology*. 2013;26(7):922-9.
31. Gupta K, Salunke P. Molecular markers of glioma: an update on recent progress and perspectives. *Journal of cancer research and clinical oncology*. 2012;138(12):1971-81.
32. Sulman EP, Guerrero M, Aldape K. Beyond grade: molecular pathology of malignant gliomas. *Seminars in radiation oncology*. 2009;19(3):142-9. doi:10.1016/j.semradonc.2009.02.001
33. Zhang C, Bao Z, Zhang W, Jiang T. Progress on molecular biomarkers and classification of malignant gliomas. *Frontiers of medicine*. 2013;7(2):150-6.
34. Krueger DA, Care MM, Holland K, et al. Everolimus for subependymal giant-cell astrocytomas in tuberous sclerosis. *The New England journal of medicine*. 2010;363(19):1801-11. doi:10.1056/NEJMoa1001671
35. Coons SW, Johnson PC, Scheithauer BW, Yates AJ, Pearl DK. Improving diagnostic accuracy and interobserver concordance in the classification and grading of primary gliomas. *Cancer-Am Cancer Soc*. 1997;79(7):1381-93.
36. Cancer Genome Atlas Research N, Brat DJ, Verhaak RG, et al. Comprehensive, Integrative Genomic Analysis of Diffuse Lower-Grade Gliomas. *The New England journal of medicine*. 2015;372(26):2481-98. doi:10.1056/NEJMoa1402121
37. Appin CL, Gao J, Chisolm C, et al. Glioblastoma with oligodendroglioma component (GBM-O): molecular genetic and clinical characteristics. *Brain pathology*. 2013;23(4):454-61. doi:10.1111/bpa.12018

38. Hegi ME, Janzer R-C, Lambiv WL, et al. Presence of an oligodendroglioma-like component in newly diagnosed glioblastoma identifies a pathogenetically heterogeneous subgroup and lacks prognostic value: central pathology review of the EORTC_26981/NCIC_CE. 3 trial. *Acta neuropathologica*. 2012;123(6):841-52.
39. Laxton RC, Popov S, Doey L, et al. Primary glioblastoma with oligodendroglial differentiation has better clinical outcome but no difference in common biological markers compared with other types of glioblastoma. *Neuro-oncology*. 2013;15(12):1635-43.
40. Krex D, Klink B, Hartmann C, et al. Long-term survival with glioblastoma multiforme. *Brain : a journal of neurology*. 2007;130(Pt 10):2596-606. doi:10.1093/brain/awm204
41. Lakhan SE, Harle L. Difficult diagnosis of brainstem glioblastoma multiforme in a woman: a case report and review of the literature. *Journal of medical case reports*. 2009;3(1):87.
42. Hur H, Jung S, Jung T-Y, Kim I-Y. Cerebellar glioblastoma multiforme in an adult. *Journal of Korean Neurosurgical Society*. 2008;43(4):194-7.
43. Karcher S, Steiner HH, Ahmadi R, et al. Different angiogenic phenotypes in primary and secondary glioblastomas. *International journal of cancer. Journal international du cancer*. 2006;118(9):2182-9. doi:10.1002/ijc.21648
44. Zhen L, Yufeng C, Zhenyu S, Lei X. Multiple extracranial metastases from secondary glioblastoma multiforme: a case report and review of the literature. *Journal of neuro-oncology*. 2010;97(3):451-7.
45. de Castro-Costa CM, de Araujo RW, de Arruda MA, de Araujo PM, de Figueiredo EG. Increased intracranial pressure in a case of spinal cervical glioblastoma multiforme. Analysis of these two rare conditions. *Arquivos de neuro-psiquiatria*. 1994;52(1):64-8.
46. Jung WH, Choi S, Oh KK, Chi JG. Congenital Glioblastoma Multiforme: report of an autopsy case. *Journal of Korean medical science*. 1990;5(4):225-31.
47. Birbilis TA, Matis GK, Eleftheriadis SG, Theodoropoulou EN, Sivridis E. Spinal metastasis of glioblastoma multiforme: an uncommon suspect? *Spine*. 2010;35(7):E264-9. doi:10.1097/BRS.0b013e3181c11748
48. Lun M, Lok E, Gautam S, Wu E, Wong ET. The natural history of extracranial metastasis from glioblastoma multiforme. *Journal of neuro-oncology*. 2011;105(2):261-73.
49. Robert M, Wastie M. Glioblastoma multiforme: a rare manifestation of extensive liver and bone metastases. *Biomedical imaging and intervention journal*. 2008;4(1).
50. Mujic A, Hunn A, Taylor A, Lowenthal R. Extracranial metastases of a glioblastoma multiforme to the pleura, small bowel and pancreas. *Journal of clinical neuroscience*. 2006;13(6):677-81.
51. Widjaja A, Mix H, Gölkel C, et al. Uncommon metastasis of a glioblastoma multiforme in liver and spleen. *Digestion*. 2000;61(3):219-22.
52. AL-RIKABI A, AL-SOHAIBANI M, Jamjoom A, AL-RAYESS M. Metastatic deposits of a high-grade malignant glioma in cervical lymph nodes diagnosed by fine needle aspiration (FNA) cytology—case report and literature review. *Cytopathology : official journal of the British Society for Clinical Cytology*. 1997;8(6):421-7.
53. Jamjoom AB, Jamjoom Z, Ur-Rahman N, Al-Rikabi A. Cervical lymph node metastasis from a glioblastoma multiforme in a child: report of a case and a review of the literature. *Ann Saudi Med*. 1997;17:340-3.
54. Wallace CJ, Forsyth PA, Edwards DR. Lymph node metastases from glioblastoma multiforme. *American journal of neuroradiology*. 1996;17(10):1929-31.
55. Tysnes BB, Mahesparan R. Biological mechanisms of glioma invasion and potential therapeutic targets. *Journal of neuro-oncology*. 2001;53(2):129-47.

56. Robert M, Wastie M. Glioblastoma multiforme: a rare manifestation of extensive liver and bone metastases. *Biomedical imaging and intervention journal*. 2008;4(1):e3. doi:10.2349/bijj.4.1.e3
57. Wen PY, Kesari S. Malignant gliomas in adults. *New Engl J Med*. 2008;359(5):492-507. doi:10.1056/Nejmra0708126
58. Mahvash M, Hugo H-H, Maslehaty H, Mehdorn HM, Stark AM. Glioblastoma multiforme in children: report of 13 cases and review of the literature. *Pediatric neurology*. 2011;45(3):178-80.
59. Mahvash M, Hugo HH, Maslehaty H, Mehdorn HM, Stark AM. Glioblastoma multiforme in children: report of 13 cases and review of the literature. *Pediatric neurology*. 2011;45(3):178-80. doi:10.1016/j.pediatrneurol.2011.05.004
60. Colvin GL. Cervix Cancer: Ten-Year Statistical Analysis. *The Journal of the American Osteopathic Association*. 1965;64:1227-37.
61. Houben MP, van Duijn CM, Coebergh JW, Tijssen CC. [Gliomas: the role of environmental risk factors and genetic predisposition]. *Nederlands tijdschrift voor geneeskunde*. 2005;149(41):2268-72.
62. Schwartzbaum JA, Fisher JL, Aldape KD, Wrensch M. Epidemiology and molecular pathology of glioma. *Nature clinical practice. Neurology*. 2006;2(9):494-503; quiz 1 p following 16. doi:10.1038/ncpneuro0289
63. Daniels LB, Shaya M, Nordberg ML, Shorter CD, Fowler M, Nanda A. Glioblastoma multiforme in two non-nuclear family members. *The Journal of the Louisiana State Medical Society : official organ of the Louisiana State Medical Society*. 2007;159(4):215-22.
64. Padmalatha C, Harruff RC, Ganick D, Hafez GB. Glioblastoma multiforme with tuberous sclerosis. Report of a case. *Archives of pathology & laboratory medicine*. 1980;104(12):649-50.
65. Grips E, Wentzensen N, Sutter C, et al. Glioblastoma multiforme as a manifestation of Turcot's syndrome. *Nervenarzt*. 2002;73(2):177-82. doi:10.1007/s00115-001-1233-8
66. Sanchez-Ortiga R, Carreno EB, Moreno-Perez O, Alfonso AP. Glioblastoma multiforme and multiple endocrine neoplastic type 2 A. *Med Clin-Barcelona*. 2009;133(5):196-7. doi:10.1016/j.medcli.2008.06.021
67. Broekman ML, Risselada R, Engelen-Lee J, Spliet WG, Verweij BH. Glioblastoma multiforme in the posterior cranial fossa in a patient with neurofibromatosis type I. *Case reports in medicine*. 2009;2009:757898. doi:10.1155/2009/757898
68. Zhen L, Yufeng C, Zhenyu S, Lei X. Multiple extracranial metastases from secondary glioblastoma multiforme: a case report and review of the literature. *Journal of neuro-oncology*. 2010;97(3):451-7. doi:10.1007/s11060-009-0044-9
69. Watanabe K, Tachibana O, Sato K, Yonekawa Y, Kleihues P, Ohgaki H. Overexpression of the EGF receptor and p53 mutations are mutually exclusive in the evolution of primary and secondary glioblastomas. *Brain pathology*. 1996;6(3):217-23.
70. Chandana SR, Movva S, Arora M, Singh T. Primary brain tumors in adults. *American family physician*. 2008;77(10):1423-30.
71. Watanabe K, Tachibana O, Sata K, Yonekawa Y, Kleihues P, Ohgaki H. Overexpression of the EGF receptor and p53 mutations are mutually exclusive in the evolution of primary and secondary glioblastomas. *Brain pathology*. 1996;6(3):217-23; discussion 23-4.
72. Arjona D, Rey JA, Taylor SM. Early genetic changes involved in low-grade astrocytic tumor development. *Current molecular medicine*. 2006;6(6):645-50.
73. Ohgaki H, Kleihues P. The definition of primary and secondary glioblastoma. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2013;19(4):764-72. doi:10.1158/1078-0432.CCR-12-3002

74. Nobusawa S, Lachuer J, Wierinckx A, et al. Intratumoral patterns of genomic imbalance in glioblastomas. *Brain pathology*. 2010;20(5):936-44. doi:10.1111/j.1750-3639.2010.00395.x
75. Phillips HS, Kharbanda S, Chen R, et al. Molecular subclasses of high-grade glioma predict prognosis, delineate a pattern of disease progression, and resemble stages in neurogenesis. *Cancer cell*. 2006;9(3):157-73. doi:10.1016/j.ccr.2006.02.019
76. Durmaz R, Vural M. Primer ve sekonder glioblastoma multiforme genetiği. *Türk Nöroşirürji Dergisi*. 2007;17(2):80-90.
77. Dolecek TA, Propp JM, Stroup NE, Kruchko C. CBTRUS statistical report: primary brain and central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2005–2009. *Neuro-oncology*. 2012;14(suppl 5):v1-v49.
78. Cancer Genome Atlas Research N. Comprehensive genomic characterization defines human glioblastoma genes and core pathways. *Nature*. 2008;455(7216):1061-8. doi:10.1038/nature07385
79. Verhaak RG, Hoadley KA, Purdom E, et al. Integrated genomic analysis identifies clinically relevant subtypes of glioblastoma characterized by abnormalities in PDGFRA, IDH1, EGFR, and NF1. *Cancer cell*. 2010;17(1):98-110. doi:10.1016/j.ccr.2009.12.020
80. Verhaak RG, Hoadley KA, Purdom E, et al. Integrated genomic analysis identifies clinically relevant subtypes of glioblastoma characterized by abnormalities in PDGFRA, IDH1, EGFR, and NF1. *Cancer cell*. 2010;17(1):98-110.
81. Dolecek TA, Propp JM, Stroup NE, Kruchko C. CBTRUS statistical report: primary brain and central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2005-2009. *Neuro-oncology*. 2012;14 Suppl 5:v1-49. doi:10.1093/neuonc/nos218
82. Hottinger AF, Khakoo Y. Update on the management of familial central nervous system tumor syndromes. *Current neurology and neuroscience reports*. 2007;7(3):200-7.
83. Gu J, Liu Y, Kyritsis AP, Bondy ML. Molecular epidemiology of primary brain tumors. *Neurotherapeutics*. 2009;6(3):427-35.
84. Shete S, Hosking FJ, Robertson LB, et al. Genome-wide association study identifies five susceptibility loci for glioma. *Nature genetics*. 2009;41(8):899-904. doi:10.1038/ng.407
85. Rajaraman P, Melin BS, Wang Z, et al. Genome-wide association study of glioma and meta-analysis. *Human genetics*. 2012;131(12):1877-88.
86. Linos E, Raine T, Alonso A, Michaud D. Atopy and risk of brain tumors: a meta-analysis. *Journal of the National Cancer Institute*. 2007;99(20):1544-50. doi:10.1093/jnci/djm170
87. Bondy ML, Scheurer ME, Malmer B, et al. Brain tumor epidemiology: consensus from the Brain Tumor Epidemiology Consortium. *Cancer-Am Cancer Soc*. 2008;113(7 Suppl):1953-68. doi:10.1002/cncr.23741
88. Hardell L, Carlberg M, Mild KH. Use of mobile phones and cordless phones is associated with increased risk for glioma and acoustic neuroma. *Pathophysiology*. 2013;20(2):85-110.
89. Corle C, Makale M, Kesari S. Cell phones and glioma risk: a review of the evidence. *Journal of neuro-oncology*. 2012;106(1):1-13.
90. Huber R, Treyer V, Schuderer J, et al. Exposure to pulse-modulated radio frequency electromagnetic fields affects regional cerebral blood flow. *The European journal of neuroscience*. 2005;21(4):1000-6. doi:10.1111/j.1460-9568.2005.03929.x
91. Volkow ND, Tomasi D, Wang G-J, et al. Effects of cell phone radiofrequency signal exposure on brain glucose metabolism. *Jama*. 2011;305(8):808-13.
92. Theeler BJ, Yung WK, Fuller GN, De Groot JF. Moving toward molecular classification of diffuse gliomas in adults. *Neurology*. 2012;79(18):1917-26. doi:10.1212/WNL.0b013e318271f7cb

93. Bredel M, Scholtens DM, Harsh GR, et al. A network model of a cooperative genetic landscape in brain tumors. *Jama*. 2009;302(3):261-75. doi:10.1001/jama.2009.997
94. Yadav AK, Renfrow JJ, Scholtens DM, et al. Monosomy of chromosome 10 associated with dysregulation of epidermal growth factor signaling in glioblastomas. *Jama*. 2009;302(3):276-89.
95. Galli R, Binda E, Orfanelli U, et al. Isolation and characterization of tumorigenic, stem-like neural precursors from human glioblastoma. *Cancer research*. 2004;64(19):7011-21. doi:10.1158/0008-5472.CAN-04-1364
96. Singh SK, Hawkins C, Clarke ID, et al. Identification of human brain tumour initiating cells. *Nature*. 2004;432(7015):396-401. doi:10.1038/nature03128
97. Mazzoleni S, Politi LS, Pala M, et al. Epidermal growth factor receptor expression identifies functionally and molecularly distinct tumor-initiating cells in human glioblastoma multiforme and is required for gliomagenesis. *Cancer research*. 2010;70(19):7500-13.
98. Zeppernick F, Ahmadi R, Campos B, et al. Stem cell marker CD133 affects clinical outcome in glioma patients. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2008;14(1):123-9. doi:10.1158/1078-0432.CCR-07-0932
99. Piccirillo S, Combi R, Cajola L, et al. Distinct pools of cancer stem-like cells coexist within human glioblastomas and display different tumorigenicity and independent genomic evolution. *Oncogene*. 2009;28(15):1807-11.
100. Calabrese C, Poppleton H, Kocak M, et al. A perivascular niche for brain tumor stem cells. *Cancer cell*. 2007;11(1):69-82.
101. Calabrese C, Poppleton H, Kocak M, et al. A perivascular niche for brain tumor stem cells. *Cancer cell*. 2007;11(1):69-82. doi:10.1016/j.ccr.2006.11.020
102. Ding BS, James D, Iyer R, et al. Prominin 1/CD133 endothelium sustains growth of proneural glioma. *PloS one*. 2013;8(4):e62150. doi:10.1371/journal.pone.0062150
103. Wang J, Sakariassen PO, Tsinkalovsky O, et al. CD133 negative glioma cells form tumors in nude rats and give rise to CD133 positive cells. *International journal of cancer. Journal international du cancer*. 2008;122(4):761-8. doi:10.1002/ijc.23130
104. Kelly JJ, Stechishin O, Chojnacki A, et al. Proliferation of human glioblastoma stem cells occurs independently of exogenous mitogens. *Stem cells*. 2009;27(8):1722-33. doi:10.1002/stem.98
105. Prestegarden L, Svendsen A, Wang J, et al. Glioma cell populations grouped by different cell type markers drive brain tumor growth. *Cancer research*. 2010;70(11):4274-9. doi:10.1158/0008-5472.CAN-09-3904
106. Zhao W. Comparison of L1 expression and secretion in glioblastoma and neuroblastoma cells. *Oncology letters*. 2012;4(4):812-6. doi:10.3892/ol.2012.787
107. Al-Hajj M, Wicha MS, Benito-Hernandez A, Morrison SJ, Clarke MF. Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2003;100(7):3983-8. doi:10.1073/pnas.0530291100
108. Xu Y, Stamenkovic I, Yu Q. CD44 attenuates activation of the hippo signaling pathway and is a prime therapeutic target for glioblastoma. *Cancer research*. 2010;70(6):2455-64.
109. Mao P, Joshi K, Li J, et al. Mesenchymal glioma stem cells are maintained by activated glycolytic metabolism involving aldehyde dehydrogenase 1A3. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2013;110(21):8644-9.
110. Mao P, Joshi K, Li J, et al. Mesenchymal glioma stem cells are maintained by activated glycolytic metabolism involving aldehyde dehydrogenase 1A3. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2013;110(21):8644-9. doi:10.1073/pnas.1221478110

111. Liu Q, Nguyen DH, Dong Q, et al. Molecular properties of CD133+ glioblastoma stem cells derived from treatment-refractory recurrent brain tumors. *Journal of neuro-oncology*. 2009;94(1):1-19. doi:10.1007/s11060-009-9919-z
112. Brescia P, Richichi C, Pelicci G. Current strategies for identification of glioma stem cells: adequate or unsatisfactory? *Journal of oncology*. 2012;2012:376894. doi:10.1155/2012/376894
113. Pietras A, Katz AM, Ekstrom EJ, et al. Osteopontin-CD44 signaling in the glioma perivascular niche enhances cancer stem cell phenotypes and promotes aggressive tumor growth. *Cell stem cell*. 2014;14(3):357-69. doi:10.1016/j.stem.2014.01.005
114. Jhanwar-Uniyal M, Labagnara M, Friedman M, Kwasnicki A, Murali R. Glioblastoma: Molecular Pathways, Stem Cells and Therapeutic Targets. *Cancers*. 2015;7(2):538-55.
115. Jacinto E, Hall MN. Tor signalling in bugs, brain and brawn. *Nature reviews Molecular cell biology*. 2003;4(2):117-26.
116. Jhanwar-Uniyal M, Albert L, McKenna E, et al. Deciphering the signaling pathways of cancer stem cells of glioblastoma multiforme: role of Akt/mTOR and MAPK pathways. *Advances in enzyme regulation*. 2011;51(1):164-70. doi:10.1016/j.advenzreg.2010.09.017
117. Jhanwar-Uniyal M, Jeevan D, Neil J, Shannon C, Albert L, Murali R. Deconstructing mTOR complexes in regulation of Glioblastoma Multiforme and its stem cells. *Advances in biological regulation*. 2013;53(2):202-10. doi:10.1016/j.jbior.2012.10.001
118. Castilho RM, Squarize CH, Chodosh LA, Williams BO, Gutkind JS. mTOR mediates Wnt-induced epidermal stem cell exhaustion and aging. *Cell stem cell*. 2009;5(3):279-89. doi:10.1016/j.stem.2009.06.017
119. Demidenko ZN, Shtutman M, Blagosklonny MV. Pharmacologic inhibition of MEK and PI-3K converges on the mTOR/S6 pathway to decelerate cellular senescence. *Cell cycle*. 2009;8(12):1896-900.
120. Korotchikina LG, Leontieva OV, Bukreeva EI, Demidenko ZN, Gudkov AV, Blagosklonny MV. The choice between p53-induced senescence and quiescence is determined in part by the mTOR pathway. *Aging (Albany NY)*. 2010;2(6):344.
121. Hudson CC, Liu M, Chiang GG, et al. Regulation of hypoxia-inducible factor 1 α expression and function by the mammalian target of rapamycin. *Molecular and cellular biology*. 2002;22(20):7004-14.
122. Soeda A, Park M, Lee D, et al. Hypoxia promotes expansion of the CD133-positive glioma stem cells through activation of HIF-1 α . *Oncogene*. 2009;28(45):3949-59.
123. Friedman MD, Jeevan DS, Tobias M, Murali R, Jhanwar-Uniyal M. Targeting cancer stem cells in glioblastoma multiforme using mTOR inhibitors and the differentiating agent all-trans retinoic acid. *Oncology reports*. 2013;30(4):1645-50.
124. Sato A, Sunayama J, Matsuda K, et al. MEK-ERK signaling dictates DNA-repair gene MGMT expression and temozolomide resistance of stem-like glioblastoma cells via the MDM2-p53 axis. *Stem cells*. 2011;29(12):1942-51. doi:10.1002/stem.753
125. DeSouza R-M, Jones BR, Lowis SP, Kurian KM. Pediatric medulloblastoma—update on molecular classification driving targeted therapies. *Frontiers in oncology*. 2014;4.
126. Barsyte-Lovejoy D, Lau SK, Boutros PC, et al. The c-Myc oncogene directly induces the H19 noncoding RNA by allele-specific binding to potentiate tumorigenesis. *Cancer Res*. 2006;66(10):5330-7. doi:10.1158/0008-5472.CAN-06-0037
127. Shimizu T, Tolcher AW, Papadopoulos KP, et al. The clinical effect of the dual-targeting strategy involving PI3K/AKT/mTOR and RAS/MEK/ERK pathways in patients with advanced cancer. *Clinical Cancer Research*. 2012;18(8):2316-25.

128. Galanis E, Buckner JC, Maurer MJ, et al. Phase II trial of temsirolimus (CCI-779) in recurrent glioblastoma multiforme: a North Central Cancer Treatment Group Study. *J Clin Oncol*. 2005;23(23):5294-304. doi:10.1200/JCO.2005.23.622
129. Piccirillo SG, Reynolds BA, Zanetti N, et al. Bone morphogenetic proteins inhibit the tumorigenic potential of human brain tumour-initiating cells. *Nature*. 2006;444(7120):761-5. doi:10.1038/nature05349
130. Anido J, Sáez-Borderías A, González-Juncà A, et al. TGF- β receptor inhibitors target the CD44 high/Id1 high glioma-initiating cell population in human glioblastoma. *Cancer cell*. 2010;18(6):655-68.
131. Peñuelas S, Anido J, Prieto-Sánchez RM, et al. TGF- β increases glioma-initiating cell self-renewal through the induction of LIF in human glioblastoma. *Cancer cell*. 2009;15(4):315-27.
132. Seoane J, Le H-V, Shen L, Anderson SA, Massagué J. Integration of Smad and forkhead pathways in the control of neuroepithelial and glioblastoma cell proliferation. *Cell*. 2004;117(2):211-23.
133. Singh SK, Clarke ID, Terasaki M, et al. Identification of a cancer stem cell in human brain tumors. *Cancer research*. 2003;63(18):5821-8.
134. Rich JN. Cancer stem cells in radiation resistance. *Cancer research*. 2007;67(19):8980-4. doi:10.1158/0008-5472.CAN-07-0895
135. Sing S, Clarke I, Terasaki M. Identification of a cancer stem cell in human brain tumours. *Cancer Res*. 2003;63(18):5821-8.
136. Cheng L, Bao S, Rich JN. Potential therapeutic implications of cancer stem cells in glioblastoma. *Biochemical pharmacology*. 2010;80(5):654-65.
137. Kapranov P, Cheng J, Dike S, et al. RNA maps reveal new RNA classes and a possible function for pervasive transcription. *Science*. 2007;316(5830):1484-8. doi:10.1126/science.1138341
138. Kapranov P, Willingham AT, Gingeras TR. Genome-wide transcription and the implications for genomic organization. *Nature Reviews Genetics*. 2007;8(6):413-23.
139. Lipovich L, Johnson R, Lin CY. MacroRNA underdogs in a microRNA world: evolutionary, regulatory, and biomedical significance of mammalian long non-protein-coding RNA. *Biochimica et biophysica acta*. 2010;1799(9):597-615. doi:10.1016/j.bbagr.2010.10.001
140. Eades G, Zhang YS, Li QL, Xia JX, Yao Y, Zhou Q. Long non-coding RNAs in stem cells and cancer. *World journal of clinical oncology*. 2014;5(2):134-41. doi:10.5306/wjco.v5.i2.134
141. Wang P, Ren Z, Sun P. Overexpression of the long non-coding RNA MEG3 impairs in vitro glioma cell proliferation. *Journal of cellular biochemistry*. 2012;113(6):1868-74.
142. Ellis BC, Molloy PL, Graham LD. CRNDE: a long non-coding RNA involved in cancer, neurobiology, and development. *Frontiers in genetics*. 2012;3.
143. Yao Y, Xue Y, Ma J, et al. MiR-330-mediated regulation of SH3GL2 expression enhances malignant behaviors of glioblastoma stem cells by activating ERK and PI3K/AKT signaling pathways. *PloS one*. 2014;9(4):e95060. doi:10.1371/journal.pone.0095060
144. Yao YL, Ma J, Wang P, et al. miR-101 Acts as a Tumor Suppressor by Targeting Kruppel-like Factor 6 in Glioblastoma Stem Cells. *CNS neuroscience & therapeutics*. 2015;21(1):40-51.
145. Kallen AN, Zhou X-B, Xu J, et al. The imprinted H19 lncRNA antagonizes let-7 microRNAs. *Molecular cell*. 2013;52(1):101-12.
146. Brown CJ, Ballabio A, Rupert JL, et al. A gene from the region of the human X inactivation centre is expressed exclusively from the inactive X chromosome. *Nature*. 1991;349(6304):38-44.

147. Weakley SM, Wang H, Yao Q, Chen C. Expression and function of a large non-coding RNA gene XIST in human cancer. *World journal of surgery*. 2011;35(8):1751-6.
148. Yildirim E, Kirby JE, Brown DE, et al. Xist RNA is a potent suppressor of hematologic cancer in mice. *Cell*. 2013;152(4):727-42.
149. Xu LW, Chow KK, Lim M, Li G. Current vaccine trials in glioblastoma: a review. *Journal of immunology research*. 2014;2014:796856. doi:10.1155/2014/796856
150. Chang CN, Huang YC, Yang DM, et al. A phase I/II clinical trial investigating the adverse and therapeutic effects of a postoperative autologous dendritic cell tumor vaccine in patients with malignant glioma. *Journal of clinical neuroscience : official journal of the Neurosurgical Society of Australasia*. 2011;18(8):1048-54. doi:10.1016/j.jocn.2010.11.034
151. Ardon H, Van Gool SW, Verschuere T, et al. Integration of autologous dendritic cell-based immunotherapy in the standard of care treatment for patients with newly diagnosed glioblastoma: results of the HGG-2006 phase I/II trial. *Cancer immunology, immunotherapy : CII*. 2012;61(11):2033-44. doi:10.1007/s00262-012-1261-1
152. Farwell JR DG, Flannery JT. . MB in childhood: an epidemiological study. *Journal of neurosurgical sciences*. 1984;61((4)):657-64.
153. Roberts RO, Lynch CF, Jones MP, Hart MN. Medulloblastoma: a population-based study of 532 cases. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*. 1991;50(2):134-44.
154. Cowan R, Hoban P, Kelsey A, Birch JM, Gattamaneni R, Evans DGR. The gene for the naevoid basal cell carcinoma syndrome acts as a tumour-suppressor gene in medulloblastoma. *British journal of cancer*. 1997;76(2):141-5.
155. Northcott PA, Korshunov A, Witt H, et al. Medulloblastoma comprises four distinct molecular variants. *J Clin Oncol*. 2011;29(11):1408-14. doi:10.1200/JCO.2009.27.4324
156. Ellison DW, Dalton J, Kocak M, et al. Medulloblastoma: clinicopathological correlates of SHH, WNT, and non-SHH/WNT molecular subgroups. *Acta neuropathologica*. 2011;121(3):381-96.
157. Kool M, Koster J, Bunt J, et al. Integrated genomics identifies five medulloblastoma subtypes with distinct genetic profiles, pathway signatures and clinicopathological features. *PLoS one*. 2008;3(8):e3088.
158. Ellison DW, Kocak M, Dalton J, et al. Definition of disease-risk stratification groups in childhood medulloblastoma using combined clinical, pathologic, and molecular variables. *Journal of Clinical Oncology*. 2010;JCO. 2010.30. 810.
159. Kool M, Korshunov A, Remke M, et al. Molecular subgroups of medulloblastoma: an international meta-analysis of transcriptome, genetic aberrations, and clinical data of WNT, SHH, Group 3, and Group 4 medulloblastomas. *Acta neuropathologica*. 2012;123(4):473-84.
160. Pugh TJ, Weeraratne SD, Archer TC, et al. Medulloblastoma exome sequencing uncovers subtype-specific somatic mutations. *Nature*. 2012;488(7409):106-10.
161. Baryawno N, Sveinbjornsson B, Eksborg S, Chen CS, Kogner P, Johnsen JI. Small-molecule inhibitors of phosphatidylinositol 3-kinase/Akt signaling inhibit Wnt/beta-catenin pathway cross-talk and suppress medulloblastoma growth. *Cancer research*. 2010;70(1):266-76. doi:10.1158/0008-5472.CAN-09-0578
162. Taylor MD, Northcott PA, Korshunov A, et al. Molecular subgroups of medulloblastoma: the current consensus. *Acta neuropathologica*. 2012;123(4):465-72.
163. Chiang C, Litingtung Y, Lee E, et al. Cyclopia and defective axial patterning in mice lacking Sonic hedgehog gene function. 1996.

164. Mimeault M, Batra SK. Frequent deregulations in the hedgehog signaling network and cross-talks with the epidermal growth factor receptor pathway involved in cancer progression and targeted therapies. *Pharmacological reviews*. 2010;62(3):497-524. doi:10.1124/pr.109.002329
165. Von Hoff DD, LoRusso PM, Rudin CM, et al. Inhibition of the hedgehog pathway in advanced basal-cell carcinoma. *The New England journal of medicine*. 2009;361(12):1164-72. doi:10.1056/NEJMoa0905360
166. Rudin CM, Hann CL, Laterra J, et al. Treatment of medulloblastoma with hedgehog pathway inhibitor GDC-0449. *The New England journal of medicine*. 2009;361(12):1173-8. doi:10.1056/NEJMoa0902903
167. Yauch RL, Dijkgraaf GJ, Alicke B, et al. Smoothed mutation confers resistance to a Hedgehog pathway inhibitor in medulloblastoma. *Science*. 2009;326(5952):572-4.
168. Rudin CM, Hann CL, Laterra J, et al. Treatment of medulloblastoma with hedgehog pathway inhibitor GDC-0449. *New England Journal of Medicine*. 2009;361(12):1173-8.
169. Li X, Deng W, Lobo-Ruppert S, Ruppert J. Gli1 acts through Snail and E-cadherin to promote nuclear signaling by β -catenin. *Oncogene*. 2007;26(31):4489-98.
170. Katoh Y, Katoh M. Hedgehog target genes: mechanisms of carcinogenesis induced by aberrant hedgehog signaling activation. *Current molecular medicine*. 2009;9(7):873-86.
171. Eberhart CG, Kratz J, Wang Y, et al. Histopathological and Molecular Prognostic Markers in Medulloblastoma: c-myc, N-myc, TrkC, and Anaplasia. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*. 2004;63(5):441-9.
172. Adamson DC, Shi Q, Wortham M, et al. OTX2 is critical for the maintenance and progression of Shh-independent medulloblastomas. *Cancer research*. 2010;70(1):181-91.
173. Alentorn A, van Thuijl HF, Marie Y, et al. Clinical value of chromosome arms 19q and 11p losses in low-grade gliomas. *Neuro-oncology*. 2014;16(3):400-8. doi:10.1093/neuonc/not227
174. Robinson G, Parker M, Kranenburg TA, et al. Novel mutations target distinct subgroups of medulloblastoma. *Nature*. 2012;488(7409):43-8.
175. Milde T, Oehme I, Korshunov A, et al. HDAC5 and HDAC9 in medulloblastoma: novel markers for risk stratification and role in tumor cell growth. *Clinical Cancer Research*. 2010;16(12):3240-52.
176. Parsons DW, Li M, Zhang X, et al. The genetic landscape of the childhood cancer medulloblastoma. *Science*. 2011;331(6016):435-9.
177. Furchert SE, Lanvers-Kaminsky C, Juürgens H, Jung M, Loidl A, Frühwald MC. Inhibitors of histone deacetylases as potential therapeutic tools for high-risk embryonal tumors of the nervous system of childhood. *International journal of cancer*. 2007;120(8):1787-94.
178. Derrien T, Johnson R, Bussotti G, et al. The GENCODE v7 catalog of human long noncoding RNAs: analysis of their gene structure, evolution, and expression. *Genome research*. 2012;22(9):1775-89.
179. Pauli A, Rinn JL, Schier AF. Non-coding RNAs as regulators of embryogenesis. *Nature Reviews Genetics*. 2011;12(2):136-49.
180. Guttman M, Donaghey J, Carey BW, et al. lincRNAs act in the circuitry controlling pluripotency and differentiation. *Nature*. 2011;477(7364):295-300.
181. Mercer TR, Dinger ME, Mattick JS. Long non-coding RNAs: insights into functions. *Nature Reviews Genetics*. 2009;10(3):155-9.
182. Ponting CP, Oliver PL, Reik W. Evolution and functions of long noncoding RNAs. *Cell*. 2009;136(4):629-41.
183. Gibb EA, Brown CJ, Lam WL. The functional role of long non-coding RNA in human carcinomas. *Mol Cancer*. 2011;10(1):38-55.

184. Huarte M, Rinn JL. Large non-coding RNAs: missing links in cancer? *Human molecular genetics*. 2010;19(R2):R152-R61.
185. Wapinski O, Chang HY. Long noncoding RNAs and human disease. *Trends in cell biology*. 2011;21(6):354-61.
186. Jeon Y, Sarma K, Lee JT. New and Xisting regulatory mechanisms of X chromosome inactivation. *Current opinion in genetics & development*. 2012;22(2):62-71.
187. Mattick JS, Amaral PP, Dinger ME, Mercer TR, Mehler MF. RNA regulation of epigenetic processes. *Bioessays*. 2009;31(1):51-9.
188. Ørom UA, Derrien T, Beringer M, et al. Long noncoding RNAs with enhancer-like function in human cells. *Cell*. 2010;143(1):46-58.
189. Clark MB, Mattick JS, editors. *Long noncoding RNAs in cell biology. Seminars in cell & developmental biology*; 2011: Elsevier.
190. Rando TA, Chang HY. Aging, rejuvenation, and epigenetic reprogramming: resetting the aging clock. *Cell*. 2012;148(1):46-57.
191. Huarte M, Guttman M, Feldser D, et al. A large intergenic noncoding RNA induced by p53 mediates global gene repression in the p53 response. *Cell*. 2010;142(3):409-19.
192. <http://www.biosyn.com/tew/what-are-lncrnas-and-lincrnas.aspx>
193. Lujambio A, Portela A, Liz J, et al. CpG island hypermethylation-associated silencing of non-coding RNAs transcribed from ultraconserved regions in human cancer. *Oncogene*. 2010;29(48):6390-401.
194. Rinn JL, Chang HY. Genome regulation by long noncoding RNAs. *Annual review of biochemistry*. 2012;81.
195. Esteller M. Non-coding RNAs in human disease. *Nature Reviews Genetics*. 2011;12(12):861-74.
196. JiP D, Wang W. mALAT1, anovelnoncoding RnA, andthymosinbeta4predictmetastasisandsurvivalinearly stage non smallcelllungcancer. *Oncogene*. 2003;22(39):8031.
197. Bejerano G, Pheasant M, Makunin I, et al. Ultraconserved elements in the human genome. *Science*. 2004;304(5675):1321-5.
198. Wan Y, Kertesz M, Spitale RC, Segal E, Chang HY. Understanding the transcriptome through RNA structure. *Nature Reviews Genetics*. 2011;12(9):641-55.
199. Niazi F, Valadkhan S. Computational analysis of functional long noncoding RNAs reveals lack of peptide-coding capacity and parallels with 3' UTRs. *Rna*. 2012;18(4):825-43.
200. Novikova IV, Hennelly SP, Sanbonmatsu KY. Sizing up long non-coding RNAs: do lncRNAs have secondary and tertiary structure? *Bioarchitecture*. 2012;2(6):189-99.
201. Wilusz JE, JnBaptiste CK, Lu LY, Kuhn C-D, Joshua-Tor L, Sharp PA. A triple helix stabilizes the 3' ends of long noncoding RNAs that lack poly (A) tails. *Genes & development*. 2012;26(21):2392-407.
202. Li CH, Chen Y. Targeting long non-coding RNAs in cancers: progress and prospects. *The international journal of biochemistry & cell biology*. 2013;45(8):1895-910.
203. Moran VA, Perera RJ, Khalil AM. Emerging functional and mechanistic paradigms of mammalian long non-coding RNAs. *Nucleic acids research*. 2012;40(14):6391-400.
204. Li D, Feng J, Wu T, et al. Long intergenic noncoding RNA HOTAIR is overexpressed and regulates PTEN methylation in laryngeal squamous cell carcinoma. *The American journal of pathology*. 2013;182(1):64-70.
205. Ganesan S, Silver DP, Greenberg RA, et al. BRCA1 supports XIST RNA concentration on the inactive X chromosome. *Cell*. 2002;111(3):393-405.

206. Richardson AL, Wang ZC, De Nicolo A, et al. X chromosomal abnormalities in basal-like human breast cancer. *Cancer cell*. 2006;9(2):121-32.
207. Lin R, Roychowdhury-Saha M, Black C, et al. Control of RNA processing by a large non-coding RNA over-expressed in carcinomas. *FEBS letters*. 2011;585(4):671-6.
208. Jenkins RB, Wrensch MR, Johnson D, et al. Distinct germ line polymorphisms underlie glioma morphologic heterogeneity. *Cancer genetics*. 2011;204(1):13-8. doi:10.1016/j.cancergencyto.2010.10.002
209. Beier D, Hau P, Proescholdt M, et al. CD133+ and CD133- glioblastoma-derived cancer stem cells show differential growth characteristics and molecular profiles. *Cancer research*. 2007;67(9):4010-5.
210. Gibb EA, Vucic EA, Enfield K, et al. Human cancer long non-coding RNA transcriptomes. *PloS one*. 2011;6(10):e25915.
211. Korneev SA, Korneeva EI, Lagarkova MA, Kiselev SL, Critchley G, O'Shea M. Novel noncoding antisense RNA transcribed from human anti-NOS2A locus is differentially regulated during neuronal differentiation of embryonic stem cells. *Rna*. 2008;14(10):2030-7.
212. Fuller GN. The WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System, 4th edition. *Archives of pathology & laboratory medicine*. 2008;132(6):906. doi:10.1043/1543-2165(2008)132[906:TWCOTO]2.0.CO;2
213. Qiu M-T, Hu J-W, Yin R, Xu L. Long noncoding RNA: an emerging paradigm of cancer research. *Tumor Biology*. 2013;34(2):613-20.
214. Hung T, Chang HY. Long noncoding RNA in genome regulation: prospects and mechanisms. *RNA biology*. 2010;7(5):582-5.
215. Shi X, Sun M, Liu H, Yao Y, Song Y. Long non-coding RNAs: a new frontier in the study of human diseases. *Cancer letters*. 2013;339(2):159-66.
216. Han L, Zhang K, Shi Z, et al. LncRNA profile of glioblastoma reveals the potential role of lncRNAs in contributing to glioblastoma pathogenesis. *International journal of oncology*. 2012;40(6):2004-12.
217. Zhang X, Sun S, Pu JKS, et al. Long non-coding RNA expression profiles predict clinical phenotypes in glioma. *Neurobiology of disease*. 2012;48(1):1-8.
218. Shi Y, Wang Y, Luan W, et al. Long non-coding RNA H19 promotes glioma cell invasion by deriving miR-675. 2014.
219. Sati S, Ghosh S, Jain V, Scaria V, Sengupta S. Genome-wide analysis reveals distinct patterns of epigenetic features in long non-coding RNA loci. *Nucleic acids research*. 2012;40(20):10018-31.
220. Wu SC, Kallin EM, Zhang Y. Role of H3K27 methylation in the regulation of lncRNA expression. *Cell research*. 2010;20(10):1109-16.
221. Ng SY, Johnson R, Stanton LW. Human long non-coding RNAs promote pluripotency and neuronal differentiation by association with chromatin modifiers and transcription factors. *The EMBO journal*. 2012;31(3):522-33.
222. Loewer S, Cabili MN, Guttman M, et al. Large intergenic non-coding RNA-RoR modulates reprogramming of human induced pluripotent stem cells. *Nature genetics*. 2010;42(12):1113-7.
223. Wang KC, Chang HY. Molecular mechanisms of long noncoding RNAs. *Molecular cell*. 2011;43(6):904-14.
224. Wang KC, Yang YW, Liu B, et al. A long noncoding RNA maintains active chromatin to coordinate homeotic gene expression. *Nature*. 2011;472(7341):120-U58. doi:Doi 10.1038/Nature09819
225. Yang L, Lin C, Jin C, et al. lncRNA-dependent mechanisms of androgen-receptor-regulated gene activation programs. *Nature*. 2013;500(7464):598-602.
226. Park JY, Lee JE, Park JB, Yoo H, Lee S-H, Kim JH. Roles of long non-coding RNAs on tumorigenesis and glioma development. *Brain tumor research and treatment*. 2014;2(1):1-6.

227. Guo F, Li Y, Liu Y, Wang J, Li Y, Li G. Inhibition of metastasis-associated lung adenocarcinoma transcript 1 in CaSki human cervical cancer cells suppresses cell proliferation and invasion. *Acta biochimica et biophysica Sinica*. 2010;42(3):224-9.
228. Tano K, Mizuno R, Okada T, et al. MALAT-1 enhances cell motility of lung adenocarcinoma cells by influencing the expression of motility-related genes. *FEBS letters*. 2010;584(22):4575-80.
229. Han Y, Liu Y, Nie L, Gui Y, Cai Z. Inducing cell proliferation inhibition, apoptosis, and motility reduction by silencing long noncoding ribonucleic acid metastasis-associated lung adenocarcinoma transcript 1 in urothelial carcinoma of the bladder. *Urology*. 2013;81(1):209. e1-. e7.
230. Lai M-c, Yang Z, Zhou L, et al. Long non-coding RNA MALAT-1 overexpression predicts tumor recurrence of hepatocellular carcinoma after liver transplantation. *Medical oncology*. 2012;29(3):1810-6.
231. Ying L, Chen Q, Wang Y, Zhou Z, Huang Y, Qiu F. Upregulated MALAT-1 contributes to bladder cancer cell migration by inducing epithelial-to-mesenchymal transition. *Molecular BioSystems*. 2012;8(9):2289-94.
232. Schmidt LH, Spieker T, Koschmieder S, et al. The long noncoding MALAT-1 RNA indicates a poor prognosis in non-small cell lung cancer and induces migration and tumor growth. *Journal of Thoracic Oncology*. 2011;6(12):1984-92.
233. Gutschner T, Hämmerle M, Eißmann M, et al. The noncoding RNA MALAT1 is a critical regulator of the metastasis phenotype of lung cancer cells. *Cancer research*. 2013;73(3):1180-9.
234. Xu C, Yang M, Tian J, Wang X, Li Z. MALAT-1: a long non-coding RNA and its important 3'end functional motif in colorectal cancer metastasis. *International journal of oncology*. 2011;39(1):169-75.
235. Pachnis V, Belayew A, Tilghman SM. Locus unlinked to alpha-fetoprotein under the control of the murine raf and Rif genes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1984;81(17):5523-7.
236. Kondo M, Suzuki H, Ueda R, Osada H, Takagi K, Takahashi T. Frequent loss of imprinting of the H19 gene is often associated with its overexpression in human lung cancers. *Oncogene*. 1995;10(6):1193-8.
237. Hibi K, Nakamura H, Hirai A, et al. Loss of H19 imprinting in esophageal cancer. *Cancer research*. 1996;56(3):480-2.
238. Ariel I, Sughayer M, Fellig Y, et al. The imprinted H19 gene is a marker of early recurrence in human bladder carcinoma. *Molecular Pathology*. 2000;53(6):320.
239. Douc-Rasy S, Barrois M, Fogel S, et al. High incidence of loss of heterozygosity and abnormal imprinting of H19 and IGF2 genes in invasive cervical carcinomas. Uncoupling of H19 and IGF2 expression and biallelic hypomethylation of H19. *Oncogene*. 1996;12(2):423-30.
240. Matouk IJ, DeGroot N, Mezan S, et al. The H19 non-coding RNA is essential for human tumor growth. *PloS one*. 2007;2(9):e845.
241. Berteaux N, Lottin S, Monté D, et al. H19 mRNA-like noncoding RNA promotes breast cancer cell proliferation through positive control by E2F1. *Journal of Biological Chemistry*. 2005;280(33):29625-36.
242. Yang F, Bi J, Xue X, et al. Up-regulated long non-coding RNA H19 contributes to proliferation of gastric cancer cells. *FEBS Journal*. 2012;279(17):3159-65.
243. Matouk IJ, Mezan S, Mizrahi A, et al. The oncofetal H19 RNA connection: hypoxia, p53 and cancer. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*. 2010;1803(4):443-51.
244. Runge S, Nielsen FC, Nielsen J, Lykke-Andersen J, Wewer UM, Christiansen J. H19 RNA binds four molecules of insulin-like growth factor II mRNA-binding protein. *Journal of Biological Chemistry*. 2000;275(38):29562-9.

245. Rinn JL, Kertesz M, Wang JK, et al. Functional demarcation of active and silent chromatin domains in human HOX loci by noncoding RNAs. *Cell*. 2007;129(7):1311-23.
246. Gupta RA, Shah N, Wang KC, et al. Long non-coding RNA HOTAIR reprograms chromatin state to promote cancer metastasis. *Nature*. 2010;464(7291):1071-6.
247. Brown CJ, Hendrich BD, Rupert JL, et al. The human XIST gene: analysis of a 17 kb inactive X-specific RNA that contains conserved repeats and is highly localized within the nucleus. *Cell*. 1992;71(3):527-42.
248. Kogo R, Shimamura T, Mimori K, et al. Long noncoding RNA HOTAIR regulates polycomb-dependent chromatin modification and is associated with poor prognosis in colorectal cancers. *Cancer research*. 2011;71(20):6320-6.
249. Niinuma T, Suzuki H, Nojima M, et al. Upregulation of miR-196a and HOTAIR drive malignant character in gastrointestinal stromal tumors. *Cancer research*. 2012;72(5):1126-36.
250. Yang Z, Zhou L, Wu L-M, et al. Overexpression of long non-coding RNA HOTAIR predicts tumor recurrence in hepatocellular carcinoma patients following liver transplantation. *Annals of surgical oncology*. 2011;18(5):1243-50.
251. Kim K, Jutooru I, Chadalapaka G, et al. HOTAIR is a negative prognostic factor and exhibits pro-oncogenic activity in pancreatic cancer. *Oncogene*. 2013;32(13):1616-25.
252. Geng YJ, Xie SL, Li Q, Ma J, Wang GY. Large intervening non-coding RNA HOTAIR is associated with hepatocellular carcinoma progression. *The Journal of international medical research*. 2011;39(6):2119-28.
253. Nie Y, Liu X, Qu S, Song E, Zou H, Gong C. Long non-coding RNA HOTAIR is an independent prognostic marker for nasopharyngeal carcinoma progression and survival. *Cancer science*. 2013;104(4):458-64.
254. Zhang X, Zhou Y, Mehta KR, et al. A pituitary-derived MEG3 isoform functions as a growth suppressor in tumor cells. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2003;88(11):5119-26.
255. Zhao J, Sun BK, Erwin JA, Song J-J, Lee JT. Polycomb proteins targeted by a short repeat RNA to the mouse X chromosome. *Science*. 2008;322(5902):750-6.
256. Amort T, Soulière MF, Wille A, et al. Long non-coding RNAs as targets for cytosine methylation. *RNA biology*. 2013;10(6):1002-8.
257. Ogawa Y, Sun BK, Lee JT. Intersection of the RNA interference and X-inactivation pathways. *Science*. 2008;320(5881):1336-41.
258. Kawakami T, Okamoto K, Ogawa O, Okada Y. XIST unmethylated DNA fragments in male-derived plasma as a tumour marker for testicular cancer. *The Lancet*. 2004;363(9402):40-2.
259. Miyoshi N, Wagatsuma H, Wakana S, et al. Identification of an imprinted gene, Meg3/Gtl2 and its human homologue MEG3, first mapped on mouse distal chromosome 12 and human chromosome 14q. *Genes to Cells*. 2000;5(3):211-20.
260. Zhang X, Rice K, Wang Y, et al. Maternally expressed gene 3 (MEG3) noncoding ribonucleic acid: isoform structure, expression, and functions. *Endocrinology*. 2010;151(3):939-47.
261. Gejman R, Batista DL, Zhong Y, et al. Selective loss of MEG3 expression and intergenic differentially methylated region hypermethylation in the MEG3/DLK1 locus in human clinically nonfunctioning pituitary adenomas. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2008;93(10):4119-25.
262. McLaughlin D, Vidaki M, Renieri E, Karagogeos D. Expression pattern of the maternally imprinted gene Gtl2 in the forebrain during embryonic development and adulthood. *Gene expression patterns*. 2006;6(4):394-9.
263. Zhou Y, Zhong Y, Wang Y, et al. Activation of p53 by MEG3 non-coding RNA. *Journal of Biological Chemistry*. 2007;282(34):24731-42.

264. Mercer TR, Qureshi IA, Gokhan S, et al. Long noncoding RNAs in neuronal-glial fate specification and oligodendrocyte lineage maturation. *BMC neuroscience*. 2010;11(1):14.
265. Astuti D, Latif F, Wagner K, et al. Epigenetic alteration at the DLK1-GTL2 imprinted domain in human neoplasia: analysis of neuroblastoma, pheochromocytoma and Wilms' tumour. *British journal of cancer*. 2005;92(8):1574-80.
266. Braconi C, Kogure T, Valeri N, et al. microRNA-29 can regulate expression of the long non-coding RNA gene MEG3 in hepatocellular cancer. *Oncogene*. 2011;30(47):4750-6.
267. Mondal T, Rasmussen M, Pandey GK, Isaksson A, Kanduri C. Characterization of the RNA content of chromatin. *Genome research*. 2010;20(7):899-907.
268. Zhao J, Ohsumi TK, Kung JT, et al. Genome-wide identification of polycomb-associated RNAs by RIP-seq. *Molecular cell*. 2010;40(6):939-53.
269. http://bio.lonzacell.com/uploads/tx_mwaxmarketingmaterial/Lonza_ManualsProductionInstructions_TechSheet_-_Human_Astrocyte_Cell_System_NHA.pdf.
270. Tury A, Mairet-Coello G, Lisowsky T, Griffond B, Fellmann D. Expression of the sulfhydryl oxidase ALR (Augmenter of Liver Regeneration) in adult rat brain. *Brain research*. 2005;1048(1):87-97.
271. Smith MA, Nunomura A, Zhu X, Takeda A, Perry G. Metabolic, metallic, and mitotic sources of oxidative stress in Alzheimer disease. *Antioxidants and Redox Signaling*. 2000;2(3):413-20.
272. Zecca L, Youdim MB, Riederer P, Connor JR, Crichton RR. Iron, brain ageing and neurodegenerative disorders. *Nature Reviews Neuroscience*. 2004;5(11):863-73.
273. Warr T, Ward S, Burrows J, et al. Identification of extensive genomic loss and gain by comparative genomic hybridisation in malignant astrocytoma in children and young adults. *Genes, Chromosomes and Cancer*. 2001;31(1):15-22.
274. Nie F-q, Sun M, Yang J-s, et al. Long Noncoding RNA ANRIL Promotes Non-Small Cell Lung Cancer Cell Proliferation and Inhibits Apoptosis by Silencing KLF2 and P21 Expression. *Molecular cancer therapeutics*. 2015;14(1):268-77.
275. Joo M, Park S-H, Chang SH, et al. Cytogenetic and molecular genetic study on granular cell glioblastoma: a case report. *Human pathology*. 2013;44(2):282-8.
276. Ge X, Chen Y, Liao X, et al. Overexpression of long noncoding RNA PCAT-1 is a novel biomarker of poor prognosis in patients with colorectal cancer. *Medical oncology*. 2013;30(2):1-6.
277. Kitange G, Misra A, Law M, et al. Chromosomal imbalances detected by array comparative genomic hybridization in human oligodendrogliomas and mixed oligoastrocytomas. *Genes, Chromosomes and Cancer*. 2005;42(1):68-77.
278. Zhu DY, Liu SH, Sun HS, Lu YM. Expression of inducible nitric oxide synthase after focal cerebral ischemia stimulates neurogenesis in the adult rodent dentate gyrus. *The Journal of neuroscience*. 2003;23(1):223-9.
279. von Deimling A, Louis DN, Wiestler OD. Molecular pathways in the formation of gliomas. *Glia*. 1995;15(3):328-38.
280. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*. 2011;144(5):646-74.
281. Eilebrecht S, Brysbaert G, Wegert T, Urlaub H, Benecke B-J, Benecke A. 7SK small nuclear RNA directly affects HMGA1 function in transcription regulation. *Nucleic acids research*. 2011;39(6):2057-72.
282. Kim DH, Mohapatra G, Bollen A, Waldman FM, Feuerstein BG. Chromosomal abnormalities in glioblastoma multiforme tumors and glioma cell lines detected by comparative genomic hybridization. *International journal of cancer*. 1995;60(6):812-9.

283. Dichamp C, Taillibert S, Aguirre-Cruz L, et al. Loss of 14q chromosome in oligodendroglial and astrocytic tumors. *Journal of neuro-oncology*. 2004;67(3):281-5.
284. Hu J, Jiang C, Ng H, Pang J, Tong C, Chen S. Genome-wide allelotyping study of primary glioblastoma multiforme. *Chinese medical journal*. 2003;116(4):577-83.
285. Alentorn A, van Thuijl HF, Marie Y, et al. Clinical value of chromosome arms 19q and 11p losses in low-grade gliomas. *Neuro-oncology*. 2013;not227.
286. Uyeno S, Aoki Y, Nata M, et al. IGF2 but not H19 shows loss of imprinting in human glioma. *Cancer research*. 1996;56(23):5356-9.
287. Lee H, Kim C, Ku J-L, et al. A long non-coding RNA snR contributes to 5-fluorouracil resistance in human colon cancer cells. *Molecules and cells*. 2014;37(7):540.
288. Passariello A, De Brasi D, Defferrari R, et al. Constitutional 11q14-q22 chromosome deletion syndrome in a child with neuroblastoma MYCN single copy. *European journal of medical genetics*. 2013;56(11):626-34.
289. Nishizaki T, Ozaki S, Harada K, et al. Investigation of genetic alterations associated with the grade of astrocytic tumor by comparative genomic hybridization. *Genes, Chromosomes and Cancer*. 1998;21(4):340-6.
290. Watson JB, Sutcliffe JG. Primate brain-specific cytoplasmic transcript of the Alu repeat family. *Molecular and cellular biology*. 1987;7(9):3324-7.
291. Chen W, Böcker W, Brosius J, Tiedge H. Expression of neural BC200 RNA in human tumours. *The Journal of pathology*. 1997;183(3):345-51.
292. Abelson H, Gorka C, Fosburg M, Kornblith P. Identification of dihydrofolate reductase in human central-nervous-system tumours. *The Lancet*. 1978;311(8057):184-5.
293. Duch DS, Bigner DD, Bowers SW, Nichol CA. Dihydrofolate reductase in primary brain tumors, cell cultures of central nervous system origin, and normal brain during fetal and neonatal growth. *Cancer research*. 1979;39(2 Part 1):487-91.
294. Motomura K, Mittelbronn M, Paulus W, et al. DMBT1 homozygous deletion in diffuse astrocytomas is associated with unfavorable clinical outcome. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*. 2012;71(8):702-7.
295. Ozeki Y, Tomoda T, Kleiderlein J, et al. Disrupted-in-Schizophrenia-1 (DISC-1): mutant truncation prevents binding to NudE-like (NUDEL) and inhibits neurite outgrowth. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2003;100(1):289-94.
296. Liu Q, Sun S, Yu W, et al. Altered expression of long non-coding RNAs during genotoxic stress-induced cell death in human glioma cells. *Journal of neuro-oncology*. 2015;122(2):283-92.
297. James CD, He J, Carlom E, Nordenskjöld M, Cavenee WK, Collins VP. Chromosome 9 deletion mapping reveals interferon α and interferon β -1 gene deletions in human glial tumors. *Cancer research*. 1991;51(6):1684-8.
298. James CD, Carlom E, Dumanski JP, et al. Clonal genomic alterations in glioma malignancy stages. *Cancer research*. 1988;48(19):5546-51.
299. Actor B, Cobbers J, Büschges R, et al. Comprehensive analysis of genomic alterations in gliosarcoma and its two tissue components. *Genes, Chromosomes and Cancer*. 2002;34(4):416-27.
300. Chisholm KM, Wan Y, Li R, Montgomery KD, Chang HY, West RB. Detection of long non-coding RNA in archival tissue: correlation with polycomb protein expression in primary and metastatic breast carcinoma. 2012.
301. Chakravadhanula M, Ozols VV, Hampton CN, Zhou L, Catchpoole D, Bhardwaj RD. Expression of the HOX genes and HOTAIR in atypical teratoid rhabdoid tumors and other pediatric brain tumors. *Cancer genetics*. 2014;207(9):425-8.

302. Arslantas A, Artan S, Öner Ü, et al. Genomic alterations in low-grade, anaplastic astrocytomas and glioblastomas. *Pathology & Oncology Research*. 2007;13(1):39-46.
303. Lee MP, DeBaun MR, Mitsuya K, et al. Loss of imprinting of a paternally expressed transcript, with antisense orientation to KVLQT1, occurs frequently in Beckwith–Wiedemann syndrome and is independent of insulin-like growth factor II imprinting. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1999;96(9):5203-8.
304. Ma K-x, Wang H-j, Li X-r, et al. Long noncoding RNA MALAT1 associates with the malignant status and poor prognosis in glioma. *Tumor Biology*. 2015;36(5):3355-9.
305. Koshimizu T-a, Fujiwara Y, Sakai N, Shibata K, Tsuchiya H. Oxytocin stimulates expression of a noncoding RNA tumor marker in a human neuroblastoma cell line. *Life sciences*. 2010;86(11):455-60.
306. Suh S-S, Yoo JY, Nuovo GJ, et al. MicroRNAs/TP53 feedback circuitry in glioblastoma multiforme. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2012;109(14):5316-21.
307. Jeng YM, Hsu HC. KLF6, a putative tumor suppressor gene, is mutated in astrocytic gliomas. *International journal of cancer*. 2003;105(5):625-9.
308. Chooniedass-Kothari S, Vincett D, Yan Y, et al. The protein encoded by the functional steroid receptor RNA activator is a new modulator of ER alpha transcriptional activity. *FEBS letters*. 2010;584(6):1174-80.
309. Lanz RB, Chua SS, Barron N, Söder BM, DeMayo F, O'Malley BW. Steroid receptor RNA activator stimulates proliferation as well as apoptosis in vivo. *Molecular and cellular biology*. 2003;23(20):7163-76.
310. Huang M-H, Lin S-Z, Lin P-C, et al. Brain tumor senescence might be mediated by downregulation of S-phase kinase-associated protein 2 via butyridenephthalide leading to decreased cell viability. *Tumor Biology*. 2014;35(5):4875-84.
311. Han Y, Yang Y-n, Yuan H-h, et al. UCA1, a long non-coding RNA up-regulated in colorectal cancer influences cell proliferation, apoptosis and cell cycle distribution. *Pathology-Journal of the RCPA*. 2014;46(5):396-401.
312. Fang Z, Wu L, Wang L, Yang Y, Meng Y, Yang H. Increased expression of the long non-coding RNA UCA1 in tongue squamous cell carcinomas: a possible correlation with cancer metastasis. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology and oral radiology*. 2014;117(1):89-95.
313. Huang J, Zhou N, Watabe K, et al. Long non-coding RNA UCA1 promotes breast tumor growth by suppression of p27 (Kip1). *Cell death & disease*. 2014;5(1):e1008.
314. Fan Y, Shen B, Tan M, et al. Long non-coding RNA UCA1 increases chemoresistance of bladder cancer cells by regulating Wnt signaling. *FEBS Journal*. 2014;281(7):1750-8.
315. Wang T, Yuan J, Feng N, et al. Hsa-miR-1 downregulates long non-coding RNA urothelial cancer associated 1 in bladder cancer. *Tumor Biology*. 2014;35(10):10075-84.
316. Chan AS, Thorner PS, Squire JA, Zielenska M. Identification of a novel gene NCRMS on chromosome 12q21 with differential expression between rhabdomyosarcoma subtypes. *Oncogene*. 2002;21(19):3029-37.
317. Malik R, Patel L, Prensner JR. The lncRNA PCAT29 Inhibits Oncogenic Phenotypes in Prostate. *Ann Arbor*. 1001:48109-5940.
318. Koob MD, Moseley ML, Schut LJ, et al. An untranslated CTG expansion causes a novel form of spinocerebellar ataxia (SCA8). *Nature genetics*. 1999;21(4):379-84.
319. Nemes JP, Benzow KA, Koob MD. The SCA8 transcript is an antisense RNA to a brain-specific transcript encoding a novel actin-binding protein (KLHL1). *Human molecular genetics*. 2000;9(10):1543-51.

320. Gatchel JR, Zoghbi HY. Diseases of unstable repeat expansion: mechanisms and common principles. *Nature Reviews Genetics*. 2005;6(10):743-55.
321. Mutsuddi M, Marshall CM, Benzow KA, Koob MD, Rebay I. The spinocerebellar ataxia 8 noncoding RNA causes neurodegeneration and associates with staufer in *Drosophila*. *Current Biology*. 2004;14(4):302-8.
322. Pierscianek D, Kim YH, Motomura K, et al. MET gain in diffuse astrocytomas is associated with poorer outcome. *Brain pathology*. 2013;23(1):13-8.



ÖZGEÇMİŞ

1984 yılında Bursa’ da doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Bursa’ tamamladım. 2003 yılında Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji bölümünde lisans eğitimime başladım ve 2008 yılında mezun oldum. 2009 yılında Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı’nda yüksek lisans eğitimimi tamamladım. Aynı Anabilim Dalı’nda doktora eğitimime başladım. Yabancı dil olarak İngilizce bilmekteyim.

