

Üroonkolojide MikroRNA (miRNA)'ların yeri ve önemi

Dr. Ece Konaç¹, Dr. H. İlke Önen¹, Dr. Sinan Sözen²

¹Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Ankara

²Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Üroloji Anabilim Dalı, Ankara

ABSTRACT

Human tumors are re-regulated by expression levels of microRNAs (miRNAs) which have been suggested to be novel oncogenes and/or tumor suppressors. miRNAs, one of the major regulators of coded genes in genome, emerge as promising elements in molecular medicine for the identification of new diagnostic, prognostic and targeting therapeutic biomarkers. This being the case, we aimed to draw attention to the repercussions on clinical practice stemming from identification of expression profiles and target-gene-mediated functional roles of miRNAs, which have been correlated to urological cancers, in cancer development and progression.

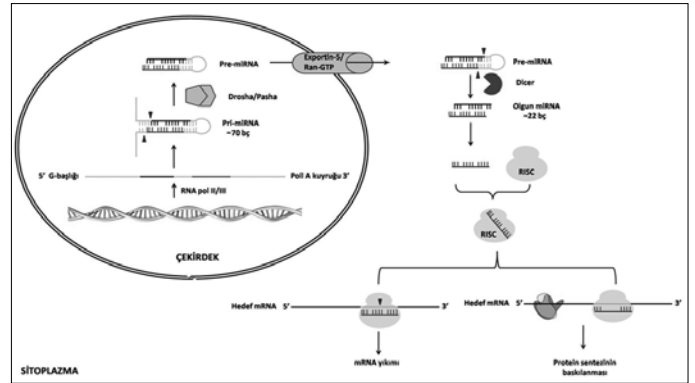
ÖZET

İnsan tümörleri yeni onkogen ve/veya tümör baskılayıcı olduğu önerilen mikroRNA (miRNA)'ların ifade edilme düzeyleri ile yeniden düzenlenmektedir. Genomun kodlanan genlerinin majör düzenleyicilerinden biri olarak tanımlanan miRNA'lar, moleküler tıpta yeni diyagnostik, prognostik ve hedefe yönelik terapötik biyomarkerların belirlenmesinde umut verici unsurlar olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu fikirden yola çıkarak, günümüze kadar ürolojik kanserlerle ilişkili olduğu tanımlanmış miRNA'ların kanser gelişimindeki ve ilerleyişindeki hedef genler aracılı işlevsel rollerinin ve ifadenme profillerinin belirlenmesinin kliniğe yansımalarına dikkat çekmeyi amaçladık.

Giriş

İnsanlarda sayıları bini geçen, protein kodlamayan mikroRNA (miRNA)'lar yaklaşık 20-23 nükleotid uzunluğunda tek iplikçikli RNA molekülüdür. Hücre çekirdeği içinde RNA Polimeraz II (Pol II) veya III ile oluşturulan pri-miRNA'lar Rnaz III endonükleaz "Drosha" enzimi ve çift iplikçikli RNA bağlayıcı protein "Pasha" kompleksi tarafından işlenerek pre-miRNA'ya dönüştürülür (1). Çekirdek zar proteini "exportin-5" aracılığıyla sitozole aktarılan pre-miRNA'lar doğrudan Rnaz III endonükleaz "Dicer"a bağlanır. Dicer, pre-miRNA sap-ilmliğini kestikten sonra, iki tamamlayıcı kısa RNA molekülü meydana gelir, ama bunlardan sadece biri RNA-uyartılı susturma kompleksine (RISC) dahil olur (2). RISC kompleksinin içinde yer alan bir RNAz olan argonaute'in etkisiyle bu ikisinden 5' ucu daha kararlı olanı (kılavuz iplikçik) seçilip bu komplekse dahil olur. Öbür iplikçik, anti-kılavuz veya yolcu iplikçik olarak adlandırılır ve RISC kompleksinin substratı olarak sindirilir. Şekil 1'de miRNA moleküllerinin biyogenez ve işlevleri şematik olarak gösterilmektedir.

DNA'dan transkripsiyonu yapılan ancak protein çevirisi yapmayan genler tarafından kodlanan miRNA'lar, hedef genin mesajcı RNA (mRNA)'lara düşük özgüllükte bağlanmasına, mRNA yıkımına ve translasyonel inhibisyona neden olabileceği için gen ifade edilmesinin kontrolünde önemli rollere sahiptir (3, 4). Bazı miRNA'ların (aşırı ifadenmiş ve/veya amplifiye olmuş) onkogen, bazılarının (az ifadenmiş ve/veya delesyona uğramış) ise tümör baskılayıcı gen gibi işlev görmesi, tümör progresyonu, metastazı ve invazyonunda miRNA'ların modülatör (düzenleyici) olduğunu göstermektedir (5). miRNA'lar gelişme, farklılaşma, sağkalım, apoptozis, senesens ve metabolizma gibi çeşitli biyolojik olayların kontrolünde de görev



Şekil 1. miRNA Moleküllerinin Biyogenez ve İşlevleri

alır. miRNA'lar, ökaryotik hücrelerin normal birçok işlevinde yer aldığı için, miRNA'lardaki kusurlar başta kanser olmak üzere çeşitli hastalıklara neden olabilmektedir (3, 6).

Çoğu miRNA'ların lokalizasyon ve ifadenme profilleri göz önüne alındığında karsinogenezde anahtar rollere sahip olabileceği öngörülmüştür (7, 8). Belirli bir tümörde birçok genin ifadenme profili robotik teknolojiler (mikroarray (mikrodizilim)), miRNome üyelerinin öngörüsü ile çıkarılabilmekte ve adeta araştırılan tümörün imzası (parmak izi) belirlenebilmektedir (9). Tümörün protein kalıbını çıkararak, çoklu-biyomarkerların panel şeklinde çalışabilmesi temeline dayanan genomik ve proteomik teknolojileri, kanser gibi birçok genin ve faktörün etkilendiği hastalık tablolarında, özgün ve duyarlı diyagnostik, prognostik ve terapötik hedefli moleküler klinik çalışmalarına önemli ipuçları verebilen yeni bir çalışma alanıdır.

“miRNA’lar dokuya-özgü ifadelenir ve doku tipindeki ifadelenme değişiklikleri hastalığın prognozu ile ilişkilidir (10). Bir diğer deyişle, miRNA’ların prognostik biyomarker olması için, miRNA ile tümör evresi ve derecesi arasındaki ilişkiyi ilgili dokuda analiz etmek gereklidir.”

Ürolojik kanserlerde potansiyel miR’lerin tanımlanması

miRNA genlerindeki değişim, prostat, böbrek ve mesane başta olmak üzere ürolojik kanserlerin patofizyolojisinde önemli rol oynar. Yapılan çalışmalarda, malign hücrelerde miRNA ifade edilme spektrumunun sağlıklı eş hücrelere göre anlamlı olarak farklı olduğu gösterilmiştir. Öncelikle, miR’lerde olan bu deregülasyonlar mutasyonlardan, heterozigotluk kaybından (LOH), epigenetik düzenlemelerden, miRNA biyogenez işlemlerindeki kusurlardan ileri gelebilir. Ayrıca, miRNA’lar dokuya-özgü ifadelenir ve doku tipindeki ifadelenme değişiklikleri hastalığın prognozu ile ilişkilidir (10). Bir diğer deyişle, miRNA’ların prognostik biyomarker olması için, miRNA ile tümör evresi ve derecesi arasındaki ilişkiyi ilgili dokuda analiz etmek gereklidir. Tablo 1’de ürolojik kanserlerde günümüze kadar çalışmış miRNA’lardan sadece mikrodizilim sonuçları doğrulanmış (validasyonu yapılmış) miRNA’ların ifadelenme değişimleri, genomdaki yerleşim yerleri ve hedef genleri verilmiştir. Tablo 1’den görüldüğü üzere, literatürde

“miR-15a ve miR-16-1’in tümör hücrelerinde delesyona uğradığından ve/veya ifadelenme düzeyindeki azalışından (down-regüle) dolayı, bu iki miRNA geninin kanser transformasyonunda hot-spot (sıcak bölge) bölgeler oluşturduğu önerilmiştir (11).”

bulunan miRNA ifade değişimindeki farklı sonuçlar, öncelikle mi-RNA’ların dokuya özgün ifade edilme düzeyinden, çalışma protokolü, prob dizaynı, çalışma grubuna dahil edilen hastaların dikkate alınmayan ikincil tedavileri, örnek toplama yöntemleri, kontamine hücrelerin varlığı, kullanılan yöntemin özgünlüğü ve duyarlılığı gibi çok sayıda sebeplerden kaynaklanabilmektedir. Bu tarz çoklu biyolojik sistemleri içine alan araştırma-geliştirme çalışmaları multidisipliner (cerrahi bilim dalları ile moleküler biyolog, moleküler genetik ve biyoinformatik uzmanlarının dahil olduğu, araştırmalar arasındaki farklılıklar en aza indirilecek ve ilgili kanser için miRNA profili çıkarılabilecektir. Böylece yapılan araştırmaların kliniğe yansımaya olanak sağlanacaktır.

Prostat kanserinde miRNA

miR-15a ve miR-16-1’in tümör hücrelerinde delesyona uğradığından ve/veya ifadelenme düzeyindeki azalışından (down-regüle) dolayı, bu iki miRNA geninin kanser transformasyonunda hot-spot (sıcak bölge) bölgeler oluşturduğu önerilmiştir (11). Bonci ve ark. (12), bu iki miR geninin prostat kanserli dokuda sağlıklı dokuya göre yaklaşık %80 ifade edilme düzeyinin azaldığını belirlemişlerdir. Bu genlerin yakınında yerleşim gösteren Retinoblastom (RB) gen kaybı ile ilişki bulunmaması, miR-15a ve miR-16-1’in prostat tümörlerindeki azalmış ifadelenmesinin RB geninden bağımsız olduğunu göstermektedir. Üstelik, miR-15a ve miR-16-1 genlerinin, sadece anti-apoptotik genlerden BCL2 değil, CCND1 (siklin D1’i kodlayan gen) ve WNT3A mRNA genlerini de hedef aldığı gösterilmiştir. Ayrıca, miR-15a ve miR-16-1 genlerindeki delesyon ileri evre prostat tümörleri ile klinik olarak anlamlı bulunmuştur (12). Son yapılan bir çalışmada, miR-15a/16’nın Vasküler Epidermal Büyüme Faktörü (VEGF) düzeyini düzenleyerek anjiyogenez üzerinde de etkin rol oynadığı gösterilmiştir (13). Yüksek dereceli prostat tümörlerinde miR-17-3p’nin azalmış ifadesine rastlanılmıştır (14). Bu çalışmalar, bahsedilen miR genlerinin prostat kanserinde tümör baskılayıcı işlevinde olabileceğini düşündürmektedir. Yapılan diğer bir çalışmada, prostat kanserinde miRNA ifade edilme düzeyinin hastalığın prognozu ile uyumlu olduğu ve ifade edilme düzeyi azalmış olan miR-125b, miR-145 ve let-7c’ler için RAS, E2F3, BCL2 ve MCL1 mRNA’larının hedef olduğu bulunmuştur (15). Porkka ve ark. (16), miRNA kodlayan 319 genden 51 tanesinin prostat kanserli dokularda sağlıklı dokulara göre artmış veya azalmış olduğunu ifade eden profillerinden tanımlamışlardır. Bunlardan 22 adet miRNA tüm prostat kan-

serlerinde, 15 tanesi ise sadece hormona dirençli prostat kanserinde azalmış ifadelenme göstermiştir. Aynı şekilde, tüm prostat kanserlerinde 8 adet miRNA’nın, hormona dirençli prostat kanserinde ise 6 adet miRNA’nın aşırı ifade edildiğini belirlemişlerdir. Üstelik, prostat kanserindeki miR-23 ifade düzeyindeki azalmaya MYC ve glutaminaz genlerindeki artışın eşlik ettiğini göstererek, miR-23 kaybının kanser hücrelerindeki metabolik anomalilerin genetik değişimlerle ilişkili olduğunu saptamışlardır. Çalışmalarında, klinik prostat doku örneklerinin doğru bir biçimde gruplandırılmasında, benign prostat hiperplazi (BPH)’den karsinomların ayrılmasında ve bu karsinomların klinik androjen bağımlılığına göre sınıflandırılmasında, miRNA’ların yeni diyagnostik ve prognostik biyomarkerlar olabileceğine dikkat çekmişlerdir (16). Tong ve ark. (17), 40 adet evre T2a/b parafine gömülü prostatektomi spesmenlerini analiz ettikleri çalışmasında, miR-23b, -100, -145, -221 ve -222 genlerinin ifade edilme düzeyinde azalma bulmuşlardır. Sonuçları Porkka ve ark. (16) ve Ozen ve ark. (15) ile uyumludur. Ayrıca, miR-135b ve -194 genlerinin ifade edilme düzeyindeki artışın ise, tümörün erken nüks etmesinde önemli farklılık yarattığını (miR imzası) göstermişlerdir (17). miR-101-1 ve miR-101-2 gen lokuslarının, klinik lokalize prostat kanserlerin %37.5’inde, metastatiklerin ise %66.7’sinde somatik olarak delesyona uğradığı görülmüştür (18). Prostat kanser progresyonunda miR-101 ifade edilme düzeyinin azalması, hücresel işlemlerin en önemli düzenleyicilerinden olan Enhancer Zeste Homolog 2 (EZH2) geninde artmaya neden olur (19). EZH2 genindeki bu değişim, genetik olayların hücre epigenetiği üzerindeki moleküler etkisini göstermektedir. Aynı şekilde, miR-449 ifadelenme düzeyinin prostat tümörlerinde kontrol dokularına göre azaldığı ve hedef geni olan histonlardan asetil gruplarını çıkararak transkripsiyonu engelleyen HDAC1 geninin ise ifadelenme düzeyinde artış olduğu belirlenmiştir (20). Prostat tümörlerinin yaklaşık %70’inde HDAC1 geni aşırı ifadelenir (20). Bu genin inhibitörleri prostat kanser hayvan model çalışmalarıyla doğrulanmıştır (21). Prostat kanser hücre dizisi olan PC-3’e miR-449 geninin yeniden verilmesi, büyümeyi durdurma, apoptozis ve sessizleştirme-fenotipi ile sonuçlanmıştır (20, 22). Prostat kanserine duyarlı 5q12 lokus bölgesindeki bu kayıpların, HDAC1 genindeki ifadelenme artışının ve genin 3’ ucu epigenetik sessizliğinin nedeni olabilir. Hormona dirençli grupta, p53-kusurlu prostat kanserli hücre dizilerinde (PC3 ve DU145) miRNA’ların büyük bir ailesi olan

Tablo 1. Ürolojik kanserlerdeki mikrodizilim sonuçları doğrulanmış miRNA'lar

	<i>miRNA ifade değişimi</i>	<i>Genomdaki yerleşimi</i>	<i>Hedef Gen</i>	<i>Hedef Gen ifade değişimi</i>	<i>Kaynaklar</i>			
Prostat Kanseri								
Lokalize								
miR-15a, miR-16-1	↓	13q14.3	BCL2, CCND1, WNT3A VEGF	↑ ↑	11, 12 13			
miR-125b	↓	19q13.33	RAS, E2F3, BCL2, MCL1	↑	15			
miR-145	↓	5q33.1						
let-7c	↓	21q21.1						
miR-23	↓	9q22.32	MYC, Glutaminaz	↑	16 17			
miR-23b	↓							
miR-100	↓	11q24.1						
miR-145	↓							
miR-221, miR-222	↓	Xp11.3						
miR-135b	↑	1q32.1						
miR-194	↑							
miR-101-1	↓	1p31.3	EZH2	↑	18 19			
miR-101-2	↓	9p24.1						
miR-449	↓	5q12	HDAC1	↑	20 21 22			
miR-218	↓	5q34			26			
miR-128		2q21.3			27			
miR-32	↑	9q31.3	E2F1, BCL2L11, CDKN1A, Bim, ERF1, p21/WAF1	↓	26 27			
miR -26a	↑	3p22.3/12q14.1						
miR -196a	↑	17q21.32/12q13.13						
miR -181a	↑	1q31.3/9q33.3						
miR -25	↑	7q22.1						
miR -93	↑	7q21.11						
let-7i	↑	12q14.1						
miR-106b-25-93	↑	7q21.11						
miR-17-5p, miR-20a	↑	13q31.3						
miR-184	↑	15q25.1						28
miR-146a	↓	5q33.3						28
hsa-miR-16	↓				29			
hsa-miR-31	↓	9p21.3						
hsa-miR-125b	↓	19q13.33						
hsa-miR-145	↓	5q33.1						
hsa-miR-149	↓							
hsa-miR-181b	↓	2q37.3						
hsamiR-184	↓							
hsa-miR-205	↓	1q32.2						
hsa-miR-221, hsa-miR-222	↓	Xp11.3						
hsa-miR-96, hsa-miR-182, hsa-miR-183 hsa-miR375	↑ ↑	7q32.2 2q35			29			
miR-200 gen aile üyeleri	↓	12p13.31	ZEB1, ZEB2	↑	30			
miR-205	↓	1q32.2	PRKCE (PKCε), ZEB2	↑	31			
miR-330	↓	19q13.32	E2F1	↑	32			
miR-331-3p	↓	12q22	ERBB2	↑	33			
miR-126	↓	9q34.3	PSA	↑	34			

Tablo 1. Devam

miR-21	↑	17q23.1	MARCKS	↓	26
miR-221/miR-222	↑	Xp11.3	p27Kip1		36
					37
					38
					39
					40
miR-let7c	↑	21q21.1	RAS, LAMP3		44
miR-100	↑	11q24.1			
miR-218	↑				
Metastatik					
miR-17-3p	↓	13q31.3	VIM (Vimentin), ZNF200 (Rho A GTPaz), FAM125B, CYPB/PPIA, MFN1, GEFH1	↑	14
miR-101-1	↓	1p31.3	EZH2	↑	18
miR-101-2		9p24.1			19
miR-221	↓	Xp11.3	bilinmiyor	-	25
miR-100	↑	11q24.1			45
miR-125b	↑	19q13.33			
miR-141	↑	12p13.31			
miR-143	↑	5q33.1			
miR-296	↑	20q13.32			
Hormona Dirençli					
miR-34	↓	1p36.23	CDK4, CDK6, Siklin D1, Siklin E2, E2F3, BCL2 ve SIRT1	↑	23
					24
miR-146	↓	Kromozom 10	ROCK1, CXCR4	↑	28
miR-221/miR-222	↑	Xp11.3	p27Kip1	↓	41
miR-125b	↑	19q13.33	Bak1, EIF4EBP1	↓	42
Mesane Kanseri					
İnvaziv/Yüzeysel mesane kanseri					
miR-21	↑	17q23.1			51
miR-205	↓	1q32.2			
Normal mesane dokusu/ Değişici Epitel Hücreli Mesane Kanseri (DEHK)					
miR-126	↓	9q34.3			52, 58
miR-145	↓	5q33.1			57, 58
miR-30a-3p	↓	6q13	KRT7	↑	57
miR-133a	↓	18			
miR-195	↓	17p13.1			
miR-125	↓				
miR-199a	↓	1p36.33			
miR-21	↑	17q23.1	P53	↓	58, 61
miR-649	↑	22q11.211q32.1			61
miR-135b	↑	19q13.41			
miR-520b	↑	9q33.2			
miR-601	↑	20q13.33			
miR-646	↑	19p13.12			
miR-639	↑	20q11.22			
miR-644	↑	7q22.1			
miR-93	↑	13q14.3			
miR-15a	↑	19q13.41			
miR-520d	↑	5q11.2			
miR-449b	↑				
miR-133b	↓	6p12.2			61
miR-204	↓	9q21.11			
miR-380-5p	↓	14q32.31			
miR-193a-3p	↑	17q23.3			58
miR-29a	↓	7q21.3			58
miR-29c	↓	1q32.2			

Tablo 1 Devam

miR-1	↓				54, 55
miR-101	↓		EZH2		
miR-143, miR-145	↓	5q33.1	RAS		
miR-29c	↓	1q32.2			
miR-127	↓	14q32.31			
miR-224	↑	Xq28			55
miR-182, miR-183	↑	7q32.2			
miR-125b	↓	21			54
miR-199b	↓	9q34.11			
Sadece malign dokuda ifade					
miR-549		15q25.1			61
Lokalize/Metastatik mesane kanseri					
miR-145, miR-143	↓	5q33.1			59
miR-320	↓	8p21.3			
miR-142 5p	↑	17q22			59
miR-29b	↑	1q32.2			
		7q32.3			
miR-10b	↑	2q31.1	HOXD10	↓	
Ta/T2-4					
miR-141, miR-200c	↓	12p13.31			58
miR-129-5p	↑	7q31/11p11.2	GALNT1, SOX4	↓	58
Böbrek Kanseri					
Renal Hücreli Karsinom (RHK)					
miR-122	↑	18q21.31			69
miR-200c	↓	12p13.31	ZFHX1B, vimentin e-kaderin	↑ ↓	69
Şeffaf hücreli					
miR-141, miR-200c	↓	12p13.31	ZFHX1B, vimentin e-kaderin	↑ ↓	64 66 70
hsa-miR-16	↑	13q14.3			66, 70
hsa-miR-452, hsa-miR-224	↑				
hsa-miR-155	↑	21q21.3			
hsa-miR-210	↑	11p15.5			
hsa-miR-200b	↓	1p36.33			66
hsa-miR-363	↓	Xq26.2			
hsa-miR-429	↓	1			
hsa-miR-514	↓	X			
Kromofob RHK/Şeffaf RHK					
miR-222	↑	Xp11.3	p27Kip	↓	64
Kromofob RHK/Onkositom					
miR-203	↑	14q32.33			68
Şeffaf RHK/Papiller RHK					
miR-203	↑	14q32.33			68
miR-424	↑	Xq26.3			
Testis Kanseri					
miR-371-373, miR-302a-d	↑				72
miR-17-5p ve miR-20a	↑	13q31.3	E2F1	↓	73

↑= artan ifade düzeyi

↓= azalan ifade düzeyi

miR-34 gen lokuslarında kayıp gözlemlenmiştir (23). Bu kaybın, CDK4, CDK6, Siklin D1, Siklin E2, E2F3, BCL2 ve SIRT1 gibi apoptozis yolağında görev alan genlerde ifadenin değişimine sebep olduğu bulunmuştur (24). Agresif seyir gösteren prostat kanserinde miR-221'in ifadenin düzeyinde dereceli olarak gözlemlenen azalış, Gleason Skoru (GS) gibi klinikopatolojik parametrelerle ilişkili bulunmuştur. Böylelikle, metastaz ve klinik rekürrens tahmininde miR-221'in potansiyel tanı ve tedavi biyomarkeri olabileceği önerilmiştir (25). Volinia ve ark. (26), prostat kanserinde yaptıkları çalışmalarında, 30 adet miRNA'nın ifade edilme düzeyinde artış ve 6 adet miRNA'nın ifade edilme düzeyinde azalış olduğunu bulmuşlardır. Bu çalışma, Ambros ve ark. (27)'lerinin 60 prostat kanserli ve tümör dokusu olmadığı doğrulanmış 16 çevre dokudan yaptığı çalışma ile kısmen örtüşmektedir. Her iki çalışmada miR-32, -26a, -196a, -181a, -25, -93 ve let-7i genlerinde artmış ifadenin, miR-218 ve -128 genlerinde ise azalmış ifadenin bulunmuştur (26, 27). Ambros ve ark. (27) miRNA'lar ile GS arasında anlamlı bir ilişki bulamamalarına rağmen, Lin ve ark. (28) GS >7 olduğu durumlarda miR-184'ün artan ifadesi ve miR-146a'nın azalan ifadesi eşlik etmekte olduğunu belirlemişlerdir. Androjen-bağımsız prostat kanser hücre dizileri (LNCaP-C81, LNCaP-C4-2B ve PC3) androjen duyarlı hücre dizileri (LNCaP ve PC3-AR9) ile karşılaştırıldığında, androjen-bağımsız prostat kanser hücre dizilerinde miR-146 geni ifadenin düzeyinde azalma görülmüştür (28). Üstelik, miR-146 kaybının çoklu pro-metastatik protein (ROCK1 ve CXCR4) artışıyla birlikte prostat kanserinin agresif seyrine neden olduğu da saptanmıştır (28). Radikal prostatektomi spesimenlerinden malign ve benign oldukları doğrulanmış tümör ve komşu normal doku örnekleri ile yapılan çalışmada miRNA'ların 10 tanesinde ifade düzeyinde (hsa-miR-16, hsa-miR-31, hsa-miR-125b, hsa-miR-145, hsa-miR-149, hsa-miR-181b, hsa-miR-184, hsa-miR-205, hsa-miR-221, hsa-miR-222) azalış; 5 tanesinde ise (hsa-miR-96, hsa-miR-182, hsa-miR-182*, hsa-miR-183, hsa-375) artış gösterilmiştir (29). Aynı çalışmada, 5 adet miRNA'nın ifadenin düzeyindeki değişimleri ile GS ve tümörün patolojik derecesi arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur (29). ZEB1 ve ZEB2 hedef genleri olan miR-200 gen ailesinin, trombosit kaynaklı büyüme faktörü-D (PDGF-D)-uyartılı epitelyal-mezenkiyal dönüşüm fenotipini düzenlediği gösterilmiştir (30). miR-200b'nin yeniden ifadenin düzeyinin sağlanması, invaziv ve metastatik prostat kanserinde tedavi stratejilerine yardımcı olabileceği önerilmiştir (30).

miR-205 ise PRKCE (PKCε) ve ZEB2 mRNA genlerinin ifadenin düzeyini hedef alarak tümörün göç kontrolünü düzenler. Prostat kanserli hücreler/ hücre dizilerinde, transforme olmayan hücre dizisi RWPE-1 ve normal prostat hücrelerine göre, miR-205 geni ifadenin düzeyinde azalma, hedef genlerin ifade edilme düzeylerinde ise artma belirlenmiştir (31). Prostat kanserli hücrelerde, miR-330'un ifade edilme düzeyi dikkate değer bir biçimde azalma göstermiştir (32). Bu hücrelerdeki miR-330'un ifadenin düzeyinde artışının sağlanması E2F1-yönetili Akt fosforilasyonu ile apoptozisin uyarılmasına, sonucunda da tümör hücresinin büyümesinin baskılanmasına neden olmuştur (32). Epis ve ark. (33), miR-331-3p'nin prostat kanserli dokularda normal komşu prostat dokularına göre az ifadelendiğini bulmuşlardır. Bu az ifadelenen miR-331-3p'nin hedef geni olan tirozin kinaz reseptörlerinden ERBB2 geninin prostat kanserinde aşırı ifadeninmesine sebep olduğunu belirlemişler ve prostat kanseri gelişiminden ve progresyonundan sorumlu olabileceğini önermişlerdir. Üstelik, transfeksiyon (gen transferi) çalışmalarıyla, miR-331-3p'nin prostat kanser hücrelerinin androjen reseptör sinyal yolağını durdurduğunu, androjen-duyarlı prostata spesifik antijen (PSA) geninin promotör aktivitesini azaltarak, PSA ifadenin düzeyini azalttığını göstermişlerdir (33). Diğer bir taraftan ise, miR-126'nın prostat kanser hücrelerinde az ifadesine, hedef proteini olan PSA'nın yüksek düzeyde ifadesi eşlik ettiği bulunmuştur (34).

Sun ve ark. (35) ise prostat kanserinde miRNA'ların genel olarak ifade edilme düzeyinde artışa eğilimli olduğunu önermişlerdir. miR-21'in prostat kanseri başta olmak üzere tüm tümör dokularındaki ifade edilme düzeyinde anlamlı bir artış saptanmıştır (26, 36). Prostat kanser dokularında yapılan son çalışmada, miR-21'in hedef geninin, aktin hücre iskelet proteinlerini düzenleyerek hücre adezyonu, zar trafiği ve hücre hareketinden sorumlu miristollenmiş alanin-zengin protein kinaz C substratı (MARCKS) olduğu belirlenmiştir (37). Galardi ve ark. (38) miR-21'e benzer şekilde, prostat kanserinde miR-221/-222'nin ifadenin düzeyinde de artış bulmuşlardır. Prostat kanser hücre dizileri ve primer tümör hücrelerinde, miR-221/-222 ifadenin düzeyi ile hücre döngü baskılayıcısı olan p27^{Kip1} ifadenin düzeyi arasında ters orantı saptanmıştır (38-40). miR-221/-222'nin ifadenin düzeyindeki artışının, hormon-bağımsız büyüme ve kastrasyona dirençli fenotipin prognozunda rol aldığı tahmin edilmektedir (41). Benzer bir şekilde, sentetik miR-125b transfeksiyonu androjen

yokluğunda LNCaP hücrelerinin büyümesini uyarırken, anti-miR-125 ise androjen-bağımsız hücrelerin büyümesini baskıladığı gösterilmiştir. Aynı çalışmada, pro-apoptotik genlerden olan Bak1'in ifadenin düzeyi ile prostat kanseri progresyonu arasında ilişki bulunmuş ve miR-125 için hedef gen olduğu belirlenmiştir (42). miR-125b'nin, prostat kanser hücre dizilerinde yapılan bir çalışmada hormona direnç gelişmesinde rol aldığı bulunmuştur (43). Bir diğer çalışmada ise, prostat kanserli dokularda miR-32, miR-106b-25-93 genlerinin ifade edilme düzeylerinde artış bulunmuştur (27). miR-32'nin pro-apoptotik aile üyelerinden biri olan Bim ifadenin düzeyini baskıladığı belirlenmiştir (27). Aynı çalışmada, miR-106b gen demetinin E2F1 ve p21/WAF1 ifadenin düzeyini baskılayarak miR'lerin anti-apoptotik işlevlerde de rol aldığını gösterilmiştir (27). E2F1 mRNA'sı, miR-17-92 gen demetinin de hedef geni olup bu gen demetinin iki üyesi olan miR-17-5p ve miR-20a'nın prostat kanserinde ifadenin düzeyinde artış belirlenmiştir (26). Diğer bir çalışmada, yüksek dereceli lokalize prostat kanserli hastalarda (ort. GS=8.6, pT3) androjen bağımsız ve ileri derecede metastatik olan hastalara göre miR-let7c, miR-100 ve miR-218'in ifade edilme düzeylerinde anlamlı bir artış bulunmuştur (44).

Ayrıca, 25 metastatik prostat kanser hastasının serum örnekleri ile yapılan bir çalışmada, miR-100, miR-125b, miR-141, miR-143 ve miR-296'nın ifadenin düzeylerinde artış belirlenmiştir (45). Özellikle, miR-141'in sağlıklı serumlara göre yaklaşık 46 kez daha fazla ifadenin düzeyi, prostat kanseri için uygun bir biyomarker olduğunu göstermiştir. İnvaziv olmayan yöntemlerle kolayca saptanabilen biyomarkerlerin belirlenmesinde serum miRNA'larının güçlü ve duyarlı olabileceği görüşü umut verici bir çalışma sahası yaratmaktadır. Ancak, miRNA biyomarkerlerinin duyarlılığını ve özgünlüğünü arttırmak için, tümör dokusu ve serumunun birlikte çalışılmasının önemine dikkat çekmek gereklidir. Radikal prostatektomi öncesinde ve sonrasında hastadan alınan kanlardaki miRNA düzeyleri, tümör spesimenleri ile mutlaka karşılaştırılmalıdır. Aynı şekilde, metastatik durumlarda da tedavi öncesi ve sonrası hastadan alınan kanlardaki miRNA ifade edilme düzeyleri karşılaştırılmalıdır.

Prostat kanserinde çok sayıda onkogen ve tümör baskılayıcı genlerinin ifade edilme düzeyindeki artış ve/veya azalış, epigenetik düzenlemelerle de kontrol edilmektedir (46). Prostat kanserli malign ve benign dokularla yapılan bir çalışmada, histon 3 lizin 4 üçlü metilasyonu/ lizin 27 (H3K4me3/H3K27me3) genlerinin promotör bölgeleri ile miRNA

genlerinin ifadeninme değişimleri arasında bulunan bağlantı, bu genlerin prostat kar-sinogenezinde epigenetik imza oluşturma olasılığına işaret etmiştir (46).

Pre-miR-146a genindeki G>C (rs2910164) tek nükleotit polimorfizmi (SNP) ile prostat kanser riski arasında ilişki saptanmıştır (47). Bu polimorfizmin olgun miR-146a miktarını etkilediğini ve prostat kanserine genetik yat-kınlığın sorumlularından biri olabileceğini bulmuşlardır. CC homozigot genotipli bireyler CG ve GG genotipli bireylere göre prostat kanserine eğilimlerinin anlamlı olarak az ol-duğu analiz edilmiştir. Bu sonuç, C allelinin prostat kanserinde prevalansının G alleleline göre daha az olduğunu göstermektedir.

Mesane kanserinde miRNA

Lamy ve ark. (48) 283 miRNA'nın insan ge-nomundaki yerleşimi ile mesane, prostat ve kolon kanserlerinde genomik DNA'daki kop-ya sayısı değişimi arasındaki ilişkiyi araştı-rmıştır. Prostat ve kolon kanserlerinde kopya sayısının arttığı bölgelerde miRNA'ların yük-sek oranda bulunduğu, kopya sayısının azal-dığı bölgelerde ise az olduğu gözlenmişken, mesane kanserinde ise bu örüntünün (pat-tern) ters olduğu belirlenmiştir (48). Gattar-do ve ark. (49) mikrodizilim analizleri ile 248 miRNA demetinin (161 insan, 84 fare, 3 *Ara-bidopsis*) ifade düzeyini 25 mesane tümörü ve 2 normal mesane doku örneğinde araştı-rmıştır. Sonuç olarak, miR-223, miR-26b, miR-221, miR-103-1, miR-185, miR-23b, miR-203, miR-17-5p, miR-23a ve miR-205 ifade düzey-lerinin normal mesane dokusu ile karşılaştı-rıldığında tümör dokusunda önemli ölçüde arttığını göstermişlerdir. Ancak, bu sonuçlar kantitatif analiz ile doğrulanmamış ve ifade düzeyinin azaldığı bir miRNA belirlenmemiş-tir (49). Ektopik miR-34a hücre döngüsünün G1'de durdurulmasını, senesensi ve apopto-zu uyarmaktadır. Bu miRNA p53 gen ürünü-nün hedefidir. 110 kanser hücre serisi araştı-rılmış, çalışılan 6 mesane kanserinin üçünde miR-34a kontrol bölgesinin metilasyonu be-lirlenmiştir (50). Neely ve ark. (51), miRNA ifade düzeylerinin yüzeyel (Ta, T1, Tis) ve in-vaziv (T2-T4) mesane kanserinin ayırımında kullanılabileceğini göstermişlerdir. Yüzeyel ve invaziv hücre serilerinde 343 miRNA çalış-ılmış, 9 miRNA ifadesinde fark olduğu belirlenmiştir. miR-21/miR205 oranında referans değer olarak 1.79 alındığında %100 duyarlı-lık ve %78 özgüllükte invaziv kanseri belirle-diği gösterilmiştir (51). Invaziv mesane hücre serileri ile invaziv olmayan mesane hücre se-rileri karşılaştırıldığında miR-21/miR205 ora-nının 10 kat fazla olduğu gösterilmiş ve bu bulgu 28'i yüzeyel, 25'i invaziv olmak üzere 53 mesane tümöründe doğrulamıştır. Aynı

zamanda miR-21 ifadesindeki değişikliklerin invaziv potansiyele geçişte etkili olabileceği gösterilmiştir (51). miR-126'nın mesane ve prostat tümörlerinde ifadesi azdır (52). miR-126, epidermal büyüme faktörü-domain (bölge) geninin (EGFL7) 7. intronunda yer alır. Epigenetik tedavi sonucu EGFL7'nin ifa-desindeki artışa bağlı olarak miR-126'nın da ifadesi artar. Bu nedenle miR-126'nın kanser-in epigenetik tedavisinde hedef olabileceği önerilmiştir. miR-126 ifade düzeyi primer mesane ve prostat tümörlerinde bu tümör-lerin çevresindeki normal doku örnekleri ile karşılaştırıldığında daha azdır (52). Bu miR-NA, T24 mesane hücre serisinde ise ifade edilmemektedir. Olgun miR-126, EGFL7'nin 3 farklı transkriptinden oluşabilir. Bu transk-riptlerin her birinin kendi kontrol bölgesi vardır. miR-126 ve EGFL7'nin bir transkripti-nin kontrol bölgesinde CpG adaları vardır. Hücre serilerinde DNA metilasyonu ve his-ton deasetilasyonu inhibitörü ile düzenlene-bildiği gösterilmiştir. Tümör baskılayıcı intro-nik miRNA'ların ifadeleri buldukları genin kontrol edilmesiyle de düzenlenebilir. Epige-netik tedavi miRNA'ları kendi kontrol bölge-lerinden uyarmakla birlikte, miRNA'ların yer-leştiği genler ve intronik miRNA'ları da aktive eder (52). Yapılan bir çalışmada, 34 tümör ör-neği (Ta, T1, ve T2-4 olmak üzere) gruplandı-rılarak, 300 miRNA'nın ifade profili analiz edilmiştir (53). Bu çalışmada, 3 patolojik alt tipin ayırımında kullanılabilecek 51 miRNA tanımlanmıştır. Ayrıca, miR-22 ve miR-125b kasa invaziv tümörlerde, miR-10a ise Ta tü-mörlerde yüksek oranda ifade edilir. FGFR3 mutasyonu taşıyan hastalarda tanımlanan miRNA'lar arasında miR-7 önem taşımakta-dır. miR-452 lenf nodu pozitif (N+) örnekler-de yüksek oranda ifade edilir. T2/T3 tümör-lerinde hsa-miR-100, hsa-miR-125b, hsa-miR-199b, hsa-miR-222; Ta tümörlerinde hsa-miR-10a, hsa-miR-542-5p ifadesi artmışken, Ta tümörlerinde hsa-miR-7, hsa-miR-146a, hsa-miR-188 ifade miktarı düşmüştür. Bu ça-lışmada patolojik alt tiplerde farklı miRNA gen ifadeleri tanımlanarak, miRNA'ların prognostik marker olarak kullanılabileceği önerilmiştir (53). Bir başka çalışmada, 26 me-sane tümör dokusu ile normal ürotelyuma ait sonuçlar karşılaştırıldığında, tümörde 37 miRNA'nın ifadesinin arttığı, 38 miRNA'nın ise ifadesinin azaldığı belirlenmiştir (54). miRNA-143 ifadesi tümör dokusunda 13.7 kat daha az ifade edilmektedir. EJ ve T24 me-sane hücre serilerinde, miRNA-143'ün ifade edilmediği gözlenmiştir. miRNA-143 geni bu hücre serilerine aktarıldığında hücre çoğal-ması baskılanmaktadır. Ayrıca, bu hücreler-de Ras'ın protein düzeyinde ifadesi de azal-mıştır (54). Değişici epitel hücreli mesane

kanserinde (DEHK) ise miRNA-101 ifade mik-tarının azaldığı belirlenmiştir (55). miRNA-101, mesane kanseri hücre serilerinin koloni oluşumunu ve hücre çoğalmasını baskıla-maktadır (55). Sağlıklı, üriner enfeksiyonu olan ve G1-3 mesane kanserli kişilerden olu-şan gruplara ait idrar örnekleri toplanmış, RNA eldesi sonrası miRNA ifade profilleri be-lirlenmiştir (56). Elde edilen sonuçlar, 47 has-tadan oluşan bağımsız bir grupta doğrulan-mıştır. Mesane kanseri hastalarına ait sonuçlar ile sağlıklı kişiler ve üriner enfeksi-yonları olan kişilerden elde edilen sonuçlar karşılaştırıldığında, miR-126/miR-152 ve miR182/miR-152 oranının kanser hastaların-da arttığı gözlenmiştir. miR-126/miR-152 oranı hastalar ve (sağlıklı+enfeksiyonu olan kişiler) ile karşılaştırıldığında 9.9 kat, miR-182/miR-152 oranının ise 3.9 kat arttığı belir-lenmiştir. miR-21/miR-205 oranının yüksek dereceli mesane kanseri hastalarına ait so-nuçlar düşük dereceli mesane kanseri hasta-ları ile karşılaştırıldığında oranın 6 kat fazla olduğu bulunmuştur. Ancak düşük dereceli mesane kanseri hastaları, sağlıklı kontrol ve üriner enfeksiyonlu kişilerde bu ayırımın uy-gun olmadığı düşünölmüştür. Ancak, miR-NA-126/miRNA-152 oranı mesane kanseri tanısını %82 özgüllükte ve %72 duyarlılıkta belirlemektedir (56). Başka bir çalışmada ise mesane kanserine özgü miRNA ifade profili-nin belirlenmesinde 156 miRNA, 14 mesane tümörü, 5 normal mesane epiteli ve 3 mesa-ne hücre serisinde çalışılmıştır (57). 7 miRNA (miR-145, miR-30a-3p, miR-133a, miR-133b, miR-195, miR-125b ve miR-199a) düzeyinin azaldığı belirlenmiştir. 100 klinik örnekte bu miRNA'ların ifade düzeylerindeki düşüş doğ-rulanmıştır. İfade düzeyi azalan miRNA'ların tümör dokusundan normal mesane epiteli-nin ayırımını %72-94 duyarlılıkta, %77-90 öz-güllükte belirleyebilmektedir. Bu miRNA'ların tahmini hedef genleri belirlenmiş ve 39 he-deften 12'sinin 6 miRNA için ortak olduğu görölmüştür. Hedef genin birden fazla miR-NA ile ilişkili olabileceği ya da bir miRNA'nın birkaç hedef üzerinde etkili olabileceği öne-rilmiştir. Mesane kanserinde miR-30-3p, mi-R133a, miR-199a'nın tümör baskılayıcı işlevi ilk kez bu çalışmada gösterilmiştir (57). Diğer bir çalışmada ise, 290 miRNA (30 Ta tümörü, 49 T1 tümörü, 27 T2-4 tümörü olmak üzere) toplam 106 mesane tümörü ve 11 normal doku örneğinde çalışılmıştır (58). Hem has-talığın farklı evrelerinde hem de kanser ile normal doku örnekleri arasında farklı ifade edilen miRNA'lar tanımlanmıştır. Ancak nor-mal doku örneğine, Ta tümörüne ve T2-4 tü-mörüne özgü ifade edildiği belirlenen miR-NA olsa da, T1 tümörlerindeki ifade profilleri Ta ve T2-4 tümörlerinde benzerdir. Normal

doku ile karşılaştırıldığında miR-145 ifade miktarı kanser dokusunda azalırken, miR-21 ise artış göstermektedir. Ayrıca miR-129, miR-133b ve miR-518c'nin prognostik potansiyeli olabileceği önerilmiştir. miR-129 geni mesane kanser hücre serilerine (T24, SW780) aktarıldığında hedef genlerinin ifadesinin azaldığı belirlenmiştir. miR-129 ile hedef genleri GALNT1 ve SOX4 arasındaki doğrusal bağlantı gösterilmiştir. miRNA ifadesinin klinik parametrelerle ilişkisini ve mesane kanserindeki sonuçları ilk kez bu çalışmada araştırılmıştır (58). Baffa ve ark. (59) 10 primer DEHK'de ve bu tümörlerin lenf nodu metastazından elde edilen örneklerdeki miRNA ifade profillerini belirlemiştir. Primer ve metastatik mesane tümörlerinden elde edilen sonuçlar karşılaştırıldığında, miR-145, miR-143 ve miR-320 ifadesinin azaldığı, bununla birlikte miR-142-5p, miR-29b, miR-10b ifade düzeyinde ise artış olduğu belirlenmiştir. miRNA-10b'nin hedefi HOXD10'dur. HOXD10'un protein ifade düzeyi ilk kez bu çalışmada immünohistokimyasal yöntemle belirlenmiştir. Beklendiği gibi, primer tümör ile karşılaştırıldığında miRNA-10b ifade düzeyi artışı sonucu metastatik örneklerde HOXD10 ifade düzeyi azalmıştır (59). Lu ve ark. (60), miRNA-221'in sessizleştirilmesinin insan mesane kanseri hücre serisinde (T24) TNF-ilişkili apoptoz-tetikleyici ligand (TRAIL) ile apoptozun uyarıldığını gösteren kanıtlar elde etmişlerdir. T24 mesane kanseri hücre serisi TRAIL dirençlidir ve miRNA antisense nükleotidi kullanılması ile duyarlı hale geçtiği gösterilmiştir. miRNA-221 antisense oligonükleotidinin kullanılması p27^{Kip} ve kaspaz3 aktivitesinin artışıyla sonuçlanır. İnsan mesane kanser terapisinde miRNA-221'in baskılanmasının potansiyel rolü olduğu önerilmiştir. TRAIL duyarlı mesane hücre serisi olan RT4'ün miRNA ifade düzeyi T24 hücre serisiyle karşılaştırıldığında daha düşük olarak bulunmuştur. miRNA-221, SV-HUC-1 normal ürotelyal hücre serisinde ise ifade edilmemektedir (60). 78 normal ve malign ürotelyal örnekte 322 miRNA'nın ifadesi ve bu miRNA'ların hedef genleri çalışılmıştır (61). Erken tümör gelişimi sırasında miRNA ifadesinin değiştiği bulunmuştur. Mesane kanseri hastalarından alınan normal doku örnekleri ile sağlıklı kişilere ait örneklerden elde edilen sonuçlar karşılaştırıldığında, %11 oranında miRNA ifade farkının olduğu belirlenmiştir. Yüksek dereceli tümör örneklerinde p53 işlevini baskılayan miRNA-21 ifade artışı gözlenirken, düşük dereceli tümör örneklerinde miRNA-99a/100 ifade yokluğu FGFR3 geninin mutasyona uğramadan önce ifadesinin artışına neden olmaktadır (61). Adam ve ark. (62)'nin yaptığı çalışmada, epitelyal/mezen-

“miR-371-373 ve miR-302a-d demetleri en fazla farklılaşmış miRNA'lardır. Klasik seminomalar ile spermatositik seminomalar karşılaştırıldığında, bu miRNA'ların seminomalarda aşırı ifade edildiği bulunmuştur (72).”

kimal geçiş (EMT)'de kodlanmayan RNA'ların rolü olduğu gösterilmiştir. EMT, EGFR yöneltli terapiye direnç oluşumuna neden olabilir. miR-200 ailesinin ifade düzeyi ile epitelyal fenotip ve EGFR inhibitörlerine duyarlılık arasında ilişki olduğu belirlenmiştir (62). 746 mesane kanseri hastası ve aynı sayıdaki kontrolü içeren çalışmada 24 miRNA ilişkili gen tanımlanan 41 SNP çalışılmıştır. GEMIN3 geninde tanımlanan rs197414 SNP ve GEMIN4 genindeki yaygın gözlenen haplotip ile polimorfizmlerin kümülatif etkisi ve artmış mesane kanseri geliştirme riski arasında ilişki gözlenmiştir (63).

Böbrek Kanserinde miRNA

Renal Hücreli Karsinoma (RHK) ve normal böbrek dokusundaki miRNA ifade profilleri 27 böbrek spesimeninde (20 malign, 4 benign, 3 normal parankim) karşılaştırılmış, 4 miRNA'nın (miR-28, miR-185, miR-7-2, and let-7f-2) ifadesinin RHK'da anlamlı düzeyde arttığı belirlenmiştir (49). 4 benign böbrek tümörü ifade örüntüsünün (2 onkositom, 2 angiomyolipom) normal parankime benzer olduğu gösterilmiştir. Tümör dokuları, evreleri, grade ve histotipe göre gruplandırılmış ancak miRNA ifade farklılıkları gözlenmemiştir. Bu çalışmada, böbrek tümöründe ifade miktarı azalmış miRNA belirlenmemiştir (49). Mikrodizilim analizinin kullanıldığı başka bir çalışmada ise şeffaf hücreli böbrek kanseri, kromofob hücreli böbrek kanseri ve normal böbrek hücrelerinde 470 miRNA'nın ifade düzeyi araştırılmıştır (64). Şeffaf hücreli böbrek kanseri ve kromofob hücreli böbrek kanserinde farklı miRNA ifade profilleri gözlenmiştir. Normal böbrek hücreleriyle karşılaştırıldığında, şeffaf hücreli böbrek kanserinde 43 miRNA ifade düzeyinde fark belirlenmiş, bunlardan 37 tanesinin ifadesinde azalış, 6 tanesinde ise artış gösterilmiştir. Ayrıca, normal böbrek hücreleriyle karşılaştırıldığında, kromofob hücreli böbrek kanserinde 57

miRNA'nın ifade düzeyinde fark gösterilmiş, bunlardan 51 tanesinin ifadesinde azalış, 6 tanesinde ise artış belirlenmiştir. Bu çalışmada, şeffaf hücreli böbrek tümör dokusundaki miR-141 ve miR-200c gen ifade düzeyi normal böbrek dokusuyla karşılaştırıldığında anlamlı derecede azalmıştır. ZFHX1B (ZEB2 olarak da bilinmektedir) ve Smad ilişkili protein 1 (SIP1) miR-141 ve miR-200c'nin hedeflediği genlerdir. Nakada ve ark. (64) miR-141 ve miR-200c'nin gen ifade düzeyinin azalmasıyla, ZFHX1B'nin gen ifadesinin arttığını, bunun sonucunda e-kaderin ifadesinin azalması, vimentin ifadesinin ise arttığını göstermişlerdir. ZFHX1B ve vimentin ifade artışı ile e-kaderin'in ifade düzeyinde ki azalışı mRNA düzeyinde qPCR ile, protein düzeyinde ise immünohistokimyasal yöntemle doğrulanmıştır. Bu bulgulara ek olarak, miR-221 ve miR-222 ifade düzeylerinin şeffaf hücreli böbrek karsinomu ve kromofob hücreli böbrek karsinomunda farklılıklar gösterdiği gözlenmiştir (64). P53 proteininin hedefi olan miR-34a'nın kontrol bölgesinin metilasyonu 110 farklı hücre serisinde çalışılmış, 14 böbrek kanseri hücre serisinden 3'ünde metilasyon artışı belirlenerek, epigenetik olarak sessizleştirildiği belirlenmiştir (65). Jung ve ark. (66) ise malign örneklerde ifade düzeyi artan 13, azalan 20 miRNA tanımlamışlardır. Aynı böbrek hücreli kanser hastasına ait malign ve benign örneklerin miRNA ifade sonuçları karşılaştırıldığında, hsa-miR-16, -452, -224, -155 ve -210 ifadesi malign dokuda artarken, hsa-miR-200b, -363, -429, -200c, -514 ve -141 ifade düzeyleri azaldığı bulunmuştur. Ancak, ifade farklılığı belirlenen miRNA'lar ile tümör evresi, derecesi ve sağkalım oranı arasında anlamlı bir ilişki belirlenmemiştir. Aynı çalışmada, malign ve benign doku ayırımının miRNA profillerine göre yapılabileceği önerilmiş ve miR-141 ile miR-155 kombinasyonunun örnekleri %97 oranında doğru sınıflandırdığı belirlenmiştir (66). Bir başka çalışmada, 11 şeffaf hücreli böbrek kanseri hastasına ait tümör ve normal doku örneklerinde 81 miRNA'nın ifade düzeyi araştırılmıştır (67). Normal doku örnekleri ile karşılaştırıldığında, 48 miRNA'nın ifadesinin tümör örneklerine özgül olduğu gösterilmiş, 17'sinin ifadesinin tümör dokusunda azaldığı, 2 tanesinin arttığı ve 14 tanesinin ise değişmediği gözlenmiştir. 9 miRNA'nın ifadesi ise sadece normal doku örneğinde belirlenmiştir. miRNA'ların hedefi olduğu bilinen genlerin (PARP-8 ya da Poli (ADP-riboz) polimeraz 8; hsa-miR-145'in, KIT; hsa-miR-221'in, E2F1 ise hsa-miR-17-5p'nin hedef genleridir) böbrek hücreli kanser progresyonu ve regülasyonu ile ilişki olması nedeniyle, miRNA'ların böbrek hücreli kanser patogeneğinde etkili ola-

bileceği önerilmiştir (67). Başka bir çalışmada, şeffaf hücreli, papiller, kromofob böbrek hücreli karsinom ve onkositom olmak üzere insan böbrek neoplazmalarının 4 alt tipindeki miRNA ifade düzeyi taranmıştır (68). Böbrek tümörünün her bir alt tipine özgü miRNA imzası olduğu bulunmuştur (68). Normal böbrek dokusuyla karşılaştırıldığında, şeffaf hücreli böbrek kanserinde 80 miRNA'nın farklı ifade edildiği gösterilmiştir (69). Şeffaf hücreli böbrek tümörünün miRNA ifade sonuçları, normal böbrek dokusuyla karşılaştırıldığında 33 miRNA'nın ifadesinde değişim olduğu bunlardan 21 tanesinin ifadesinde artış olduğu belirlenmiştir. Kanserli ve normal dokular karşılaştırıldığında ise kanserli dokuda en yüksek ifade artışı miR-122, miR-210 (hipoksiyle indüklendiği bilinen) ve miR-101'de, en düşük ifade düzeyi ise miR-200c, miR-720 ve miR-150'de gösterilmiştir. Ayrıca bu çalışmada, birçok kanser dokusunda ifade düzeyinin arttığı belirlenen miR-21'in artışı da gözlenmiştir (69). Bir diğer çalışmada, 21'i erkek, 9'u kadın toplam 30 şeffaf hücreli böbrek kanseri hastasının malign ve benign doku örneklerinde 847 miRNA ifade sonuçları karşılaştırılmıştır (70). Tüm hastaların evre II (T₂N₀M₀) olduğu, Fuhrman derecelerinin ise G1-G2 olduğu belirtilmiştir. 86 miRNA'nın ifadesinde değişiklik belirlenmiş, normal doku örneğiyle karşılaştırıldığında, tümör dokusunda 38 miRNA'nın ifadesini arttığı, 48 miRNA'nın ise ifadesinin azaldığı saptanmıştır. Nakada ve ark. (64)'nin sonuçlarına paralel olarak, normal doku sonuçları

ile karşılaştırıldığında, hsa-miR-141 ve hsa-miR-200c ifade düzeylerinin kanser dokusunda azaldığı belirlenmiştir (70). Jung ve ark. (66)'nin sonuçlarına paralel olarak da, hsa-miR-16 miRNA'nın kanser dokusunda ifadesinin arttığı gösterilmiştir (70). Bugüne dek yapılan çalışmalarda (67-70) bazı ortak miRNA'ların (hsa-miR-126, hsa-miR424, hsa-miR200c ve hsa-miR-145) ifade değişimleri gözlenmesine karşın, miRNA ifadeleri çalışmalar arasında farklılık göstermektedir.

miRNA'ların biyogenezinde görevli olan genler ile miRNA genlerinde belirlenen polimorfizmlerinde kanser gelişiminde önemli olabileceği gündeme gelmiştir. Buna göre yapılan bir çalışmada, miRNA biyogenezinde görevli olan 11 gen (DROSHA, DGCR8, XPO5, RAN, DICER1, TARBP2, AGO1, AGO2, GEMIN3, GEMIN4, HIWI) ve 15 miRNA geninde tanımlanan toplam 40 polimorfizm ile RHK geliştirme riski arasında ilişki araştırılmıştır. Çalışmaya 279 RHK hastası ile 278 kontrol alınmıştır. GEMIN4'de tanımlanan 2 polimorfizmde (Asn929Asp, rs2740348 ve Cys1033Arg, rs7813) varyant genotipe sahip kişilerin RHK geliştirme riskinin azaldığı belirlenmiştir. Haplotip analiz sonucunda da yaygın gözlenen haplotipde yatkınlığın düşüğü gösterilmiştir (71).

Diğer ürolojik kanserlerde (testis ve penis) miRNA

miR-371-373 ve miR-302a-d demetleri en fazla farklılaşmış miRNA'lardır. Klasik seminomalar ile spermatositik seminomalar kar-

şılaştırıldığında, bu miRNA'ların seminomalarda aşırı ifade edildiği bulunmuştur (72). miR-17-5p ve miR-20a'nın ifade düzeylerindeki değişimler, testis karsinom hücrelerinin proliferasyonu ve apoptozisi ile ilişkili E2F1 transkripsiyon faktörünün eksikliği ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (73). Penis kanseri ve miRNA'lar hakkında herhangi bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır (74).

Sonuç

Günümüze kadar çok sayıda miRNA'lar tanımlanmış olmasına rağmen, ürolojik kanserlerin patogenezinde önemli olabilecek çok sayıda miRNA'lar halen tanımlanmayı beklemektedir. Ancak, bu biyomarkerleri klinikte uygulama sahasına sokmak için cevap bekleyen bazı sorular vardır. Öncelikle, herhangi bir hastada birincil veya metastatik tümörlerde miRNA genlerinin ifadenme düzeyleri nasıldır? Farklı tümör tipleri için benzer miRNA'lar çok veya az ifade ediliyorsa (up-veya-down regüle), bu miRNA'ların downstream hedefleri neler olabilir? Bu hedefler farklı tümör tipleri için aynı mı yoksa farklı mıdır? Cevap bekleyen bu ve benzeri soruları aydınlatarak potansiyelli miRNA ve bu miRNA'ların hedef gen mRNA'sıyla ilişkisini açığa çıkarmayı amaçlayan çalışmaların ürolojik kanserlerdeki sayılarının artmasıyla bu kanserlerin sınıflandırılmasında, tanımlanmasında, gelecekteki tedavi olanaklarının seçiminde, küçük ama işlevi büyük olan miRNA'ların ışık tutacağı inancındayız.

Kaynaklar

- Gregory RI, Yan KP, Amuthan G, Chendrimada T, Doratotaj B, Cooch N, Shiekhattar R. The Microprocessor complex mediates the genesis of microRNAs. *Nature* 2004; 432 (7014): 235-40.
- Lund E, Güttinger S, Calado A, Dahlberg JE, Kutay U. Nuclear export of microRNA precursors. *Science* 2004; 303 (5654): 95-8.
- Ambros V. The functions of animal microRNAs. *Nature* 2004; 431 (7006): 350-55.
- Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell* 2004; 116 (2): 281-97.
- Nicoloso MS, Spizzo R, Shimizu M, Rossi S, Calin GA. MicroRNAs--the micro steering wheel of tumour metastases. *Nat Rev Cancer* 2009; 9 (4): 293-302.
- He L, Hannon GJ. MicroRNAs: small RNAs with a big role in gene regulation. *Nat Rev Genet* 2004; 5 (7): 522-31.
- Sevignani C, Calin GA, Siracusa LD, Croce CM. Mammalian microRNAs: a small world for fine-tuning gene expression. *Mamm Genome* 2006; 17 (3): 189-202.
- Calin GA. MicroRNAs and cancer: what we know and what we still have to learn. *Genome Med* 2009; 1 (8): 78.
- Aqeilan RI, Calin GA, Croce CM. miR-15a and miR-16-1 in cancer: discovery, function and future perspectives. *Cell Death Differ* 2009 (Basımda).
- Rosenfeld N, Aharonov R, Meiri E, Rosenwald S, Spector Y, Zepeniuk M, Benjamin H, Shabes N, Tabak S, Levy A, Lebanony D, Goren Y, Silberschein E, Targan N, Ben-Ari A, Gilad S, Sion-Vardy N, Tobar A, Feinmesser M, Kharenko O, Nativ O, Nass D, Perelman M, Yosepovich A, Shalmon B, Polak-Charcon S, Fridman E, Avniel A, Bentwich I, Bentwich Z, Cohen D, Chajut A, Barshack I. MicroRNAs accurately identify cancer tissue origin. *Nat Biotechnol* 2008; 26 (4): 462-9.
- Calin GA, Croce CM. Genomics of chronic lymphocytic leukemia microRNAs as new players with clinical significance. *Semin Oncol* 2006; 33 (2): 167-73.
- Bonci D, Coppola V, Musumeci M, Addario A, Giuffrida R, Memeo L, D'Urso L, Pagliuca A, Biffoni M, Labbaye C, Bartucci M, Muto G, Peschle C, De Maria R. The miR-15a-miR-16-1 cluster controls prostate cancer by targeting multiple oncogenic activities. *Nat Med* 2008; 14 (11): 1271-7.
- Karaa ZS, Iacovoni JS, Bastide A, Lacazette E, Touriol C, Prats H. The VEGF IRESes are differentially susceptible to translation inhibition by miR-16. *RNA* 2009; 15 (2): 249-54.
- Zhang X, Ladd A, Dragoescu E, Budd WT, Ware JL, Zehner ZE. MicroRNA-17-3p is a prostate tumor suppressor in vitro and in vivo, and is decreased in high grade prostate tumors analyzed by laser capture microdissection. *Clin Exp Metastasis* 2009 (Basımda).
- Ozen M, Creighton CJ, Ozdemir M, Ittmann M. Widespread deregulation of microRNA expression in human prostate cancer. *Oncogene* 2008; 27 (12): 1788-93.
- Porkka KP, Pfeiffer MJ, Waltering KK, Vessella RL, Tammela TL, Visakorpi T. MicroRNA expression profiling in prostate cancer. *Cancer Res* 2007; 67 (13): 6130-5.

17. Tong AW, Fulgham P, Jay C, Chen P, Khalil I, Liu S, Senzer N, Eklund AC, Han J, Nemunaitis J. MicroRNA profile analysis of human prostate cancers. *Cancer Gene Ther* 2009; 16 (3): 206-16.
18. Coppola V, de Maria R, Bonci D. MicroRNAs and prostate cancer. *Endocr Relat Cancer* 2009 (Basimda).
19. Varambally S, Cao Q, Mani RS, Shankar S, Wang X, Ateeq B, Laxman B, Cao X, Jing X, Ramnarayanan K, Brenner JC, Yu J, Kim JH, Han B, Tan P, Kumar-Sinha C, Lonigro RJ, Palanisamy N, Maher CA, Chinnaiyan AM. Genomic loss of microRNA-101 leads to overexpression of histone methyltransferase EZH2 in cancer. *Science* 2008; 322 (5908): 1695-9.
20. Weichert W, Röske A, Gekeler V, Beckers T, Stephan C, Jung K, Fritzsche FR, Niesporek S, Denkert C, Dietel M, Kristiansen G. Histone deacetylases 1, 2 and 3 are highly expressed in prostate cancer and HDAC2 expression is associated with shorter PSA relapse time after radical prostatectomy. *Br J Cancer* 2008; 98 (3): 604-10.
21. Wedel SA, Sparatore A, Soldato PD, Al-Batran SE, Atmaca A, Juengel E, Hudak L, Jonas D, Blaheta RA. New histone deacetylase inhibitors as potential therapeutic tools for advanced prostate carcinoma. *J Cell Mol Med* 2008; 12 (6A): 2457-66.
22. Noonan EJ, Place RF, Pookot D, Basak S, Whitson JM, Hirata H, Giardina C, Dahiya R. miR-449a targets HDAC-1 and induces growth arrest in prostate cancer. *Oncogene* 2009; 28 (14): 1714-24.
23. Fujita Y, Kojima K, Hamada N, Ohhashi R, Akao Y, Nozawa Y, Deguchi T, Ito M. Effects of miR-34a on cell growth and chemoresistance in prostate cancer PC3 cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2008; 377 (1): 114-9.
24. Yamakuchi M, Lowenstein CJ. MiR-34, SIRT1 and p53: the feedback loop. *Cell Cycle* 2009; 8 (5): 712-5.
25. Spahn M, Kneitz S, Scholz CJ, Nico S, Rüdiger T, Ströbel P, Riedmiller H, Kneitz B. Expression of microRNA-221 is progressively reduced in aggressive prostate cancer and metastasis and predicts clinical recurrence. *Int J Cancer* 2009 (Basimda).
26. Volinia S, Calin GA, Liu CG, Ambs S, Cimmino A, Petrocca F, Visone R, Iorio M, Roldo C, Ferracin M, Prueitt RL, Yanaihara N, Lanza G, Scarpa A, Vecchione A, Negrini M, Harris CC, Croce CM. A microRNA expression signature of human solid tumors defines cancer gene targets. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103 (7): 2257-61.
27. Ambs S, Prueitt RL, Yi M, Hudson RS, Howe TM, Petrocca F, Wallace TA, Liu CG, Volinia S, Calin GA, Yfantis HG, Stephens RM, Croce CM. Genomic profiling of microRNA and messenger RNA reveals deregulated microRNA expression in prostate cancer. *Cancer Res* 2008; 68 (15): 6162-70.
28. Lin SL, Chiang A, Chang D, Ying SY. Loss of miR-146a function in hormone-refractory prostate cancer. *RNA* 2008; 14 (3): 417-24.
29. Schaefer A, Jung M, Mollenkopf HJ, Wagner I, Stephan C, Jentzmik F, Miller K, Lein M, Kristiansen G, Jung K. Diagnostic and prognostic implications of microRNA profiling in prostate carcinoma. *Int J Cancer* 2009 (Basimda).
30. Kong D, Li Y, Wang Z, Banerjee S, Ahmad A, Kim HR, Sarkar FH. miR-200 regulates PDGF-D-mediated epithelial-mesenchymal transition, adhesion, and invasion of prostate cancer cells. *Stem Cells* 2009; 27 (8): 1712-21.
31. Gandellini P, Folini M, Longoni N, Pennati M, Binda M, Colecchia M, Salvioni R, Supino R, Moretti R, Limonta P, Valdagni R, Daidone MG, Zaffaroni N. miR-205 Exerts tumor-suppressive functions in human prostate through down-regulation of protein kinase Cepsilon. *Cancer Res* 2009; 69 (6): 2287-95.
32. Lee KH, Chen YL, Yeh SD, Hsiao M, Lin JT, Goan YG, Lu PJ. MicroRNA-330 acts as tumor suppressor and induces apoptosis of prostate cancer cells through E2F1-mediated suppression of Akt phosphorylation. *Oncogene* 2009; 28 (38): 3360-70.
33. Epis MR, Giles KM, Barker A, Kendrick TS, Leedman PJ. miR-331-3p regulates ERBB-2 expression and androgen receptor signaling in prostate cancer. *J Biol Chem* 2009; 284 (37): 24696-704.
34. Musiyenko A, Bitko V, Barik S. Ectopic expression of miR-126*, an intronic product of the vascular endothelial EGF-like 7 gene, regulates protein translation and invasiveness of prostate cancer LNCaP cells. *J Mol Med* 2008; 86 (3): 313-22.
35. Sun R, Fu X, Li Y, Xie Y, Mao Y. Global gene expression analysis reveals reduced abundance of putative microRNA targets in human prostate tumours. *BMC Genomics* 2009a; 10: 93.
36. Ribas J, Ni X, Haffner M, Wentzel EA, Salmasi AH, Chowdhury WH, Kudrolli TA, Yegnasubramanian S, Luo J, Rodriguez R, Mendell JT, Lupold SE. miR-21: an androgen receptor-regulated microRNA that promotes hormone-dependent and hormone-independent prostate cancer growth. *Cancer Res* 2009; 69 (18): 7165-9.
37. Li T, Li D, Sha J, Sun P, Huang Y. MicroRNA-21 directly targets MARCKS and promotes apoptosis resistance and invasion in prostate cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2009; 383 (3): 280-5.
38. Galardi S, Mercatelli N, Giorda E, Massalini S, Frajese GV, Ciafrè SA, Farace MG. miR-221 and miR-222 expression affects the proliferation potential of human prostate carcinoma cell lines by targeting p27Kip1. *J Biol Chem* 2007; 282 (32): 23716-24.
39. Mercatelli N, Coppola V, Bonci D, Miele F, Costantini A, Guadagnoli M, Bonanno E, Musto G, Frajese GV, De Maria R, Spagnoli LG, Farace MG, Ciafrè SA. The inhibition of the highly expressed miR-221 and miR-222 impairs the growth of prostate carcinoma xenografts in mice. *PLoS One* 2008; 3 (12): e4029.
40. Hu L, Ibrahim S, Liu C, Skaar J, Pagano M, Karpatsin S. Thrombin induces tumor cell cycle activation and spontaneous growth by down-regulation of p27Kip1, in association with the up-regulation of Skp2 and MiR-222. *Cancer Res* 2009; 69 (8): 3374-81.
41. Sun T, Wang Q, Balk S, Brown M, Lee GS, Kantoff P. The role of microRNA-221 and microRNA-222 in androgen-independent prostate cancer cell lines. *Cancer Res* 2009b; 69 (8): 3356-63.
42. Yoshino T, Shiina H, Urakami S, Kikuno N, Yoneda T, Shigeno K, Igawa M. Bcl-2 expression as a predictive marker of hormone-refractory prostate cancer treated with taxane-based chemotherapy. *Clin Cancer Res* 2006; 12 (20 Pt 1): 6116-24.
43. DeVere White RW, Vinnal RL, Tepper CG, Shi XB. MicroRNAs and their potential for translation in prostate cancer. *Urol Oncol* 2009; 27 (3): 307-11.
44. Leite KR, Sousa-Canavez JM, Reis ST, Tomiyama AH, Camara-Lopes LH, Sañudo A, Antunes AA, Srougi M. Change in expression of miR-let7c, miR-100, and miR-218 from high grade localized prostate cancer to metastasis. *Urol Oncol* 2009 (Basimda).
45. Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, Fritz BR, Wyman SK, Pogosova-Agadjanyan EL, Peterson A, Noteboom J, O'Briant KC, Allen A, Lin DW, Urban N, Drescher CW, Knudsen BS, Stirewalt DL, Gentleman R, Vessella RL, Nelson PS, Martin DB, Tewari M. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105 (30): 10513-8.
46. Ke XS, Qu Y, Rostad K, Li WC, Lin B, Halvorsen OJ, Haukaas SA, Jonassen I, Petersen K, Goldfinger N, Røtter V, Akslen LA, Oyan AM, Kalland KH. Genome-wide profiling of histone h3 lysine 4 and lysine 27 trimethylation reveals an epigenetic signature in prostate carcinogenesis. *PLoS One* 2009; 4 (3): e4687.
47. Xu B, Feng NH, Li PC, Tao J, Wu D, Zhang ZD, Tong N, Wang JF, Song NH, Zhang W, Hua LX, Wu HF. A functional polymorphism in Pre-miR-146a gene is associated with prostate cancer risk and mature miR-146a expression in vivo. *Prostate* 2009 (Basimda).
48. Lamy P, Andersen CL, Dyrskjot L, Tørring N, Ørntoft T, Wiuf C. Are microRNAs located in genomic regions associated with cancer? *Br J Cancer* 2006; 95 (10): 1415-8.
49. Gottardo F, Liu CG, Ferracin M, Calin GA, Fassin M, Bassi P, Sevignani C, Byrne D, Negrini M, Pagano F, Gomella LG, Croce CM, Baffa R. Micro-RNA profiling in kidney and bladder cancers. *Urol Oncol* 2007; 25 (5): 387-92.
50. Lodygin D, Tarasov V, Epanchintsev A, Berking C, Knyazeva T, Körner H, Knyazev P, Diebold J, Hermeking H. Inactivation of miR-34a by aberrant CpG methylation in multiple types of cancer. *Cell Cycle* 2008; 7 (16): 2591-600.
51. Neely LA, Rieger-Christ KM, Neto BS, Eroshkin A, Garver J, Patel S, Phung N, McLaughlin S, Libertino JA, Whitney D, Summerhayes IC. A microRNA expression ratio defining the invasive phenotype in bladder tumors. *Urol Oncol* 2008 (Basimda).
52. Saito Y, Friedman JM, Chihara Y, Egger G, Chuang JC, Liang G. Epigenetic therapy upregulates the tumor suppressor microRNA-126 and its host gene EGFL7 in human cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2009; 379 (3): 726-31.
53. Veerla S, Lindgren D, Kvist A, Frigyesi A, Staaf J, Persson H, Liedberg F, Chebil G, Gudjonsson S, Borg A, Månsson W, Rovira C, Höglund M. MiRNA expression in urothelial carcinomas: important roles of miR-10a, miR-222, miR-125b, miR-7 and miR-452 for tumor stage and metastasis, and frequent homozygous losses of miR-31. *Int J Cancer* 2009; 124 (9): 2236-42.
54. Lin T, Dong W, Huang J, Pan Q, Fan X, Zhang C, Huang L. MicroRNA-143 as a tumor suppressor for bladder cancer. *J Urol* 2009; 181 (3): 1372-80.
55. Friedman JM, Liang G, Liu CC, Wolff EM, Tsai YC, Ye W, Zhou X, Jones PA. The putative tumor suppressor microRNA-101 modulates the cancer epigenome by repressing the polycomb group protein EZH2. *Cancer Res* 2009; 69 (6): 2623-9.
56. Hanke M, Hoefig K, Merz H, Feller AC, Kausch I, Jocham D, Warnecke JM, Sczakiel G. A robust methodology to study urine microRNA as tumor marker: microRNA-126 and microRNA-182 are related to urinary bladder cancer. *Urol Oncol* 2009 (Basimda).

57. Ichimi T, Enokida H, Okuno Y, Kunimoto R, Chiyomaru T, Kawamoto K, Kawahara K, Toki K, Kawakami K, Nishiyama K, Tsujimoto G, Nakagawa M, Seki N. Identification of novel microRNA targets based on microRNA signatures in bladder cancer. *Int J Cancer* 2009; 125 (2): 345-52.
58. Dyrskjot L, Ostensfeld MS, Bramsen JB, Silahatoglu AN, Lamy P, Ramanathan R, Fristrup N, Jensen JL, Andersen CL, Zieger K, Kauppinen S, Ullhøi BP, Kjems J, Borre M, Orntoft TF. Genomic profiling of microRNAs in bladder cancer: miR-129 is associated with poor outcome and promotes cell death in vitro. *Cancer Res* 2009; 69 (11): 4851-60.
59. Baffa R, Fassan M, Volinia S, O'Hara B, Liu CG, Palazzo JP, Gardiman M, Ruggie M, Gomella LG, Croce CM, Rosenberg A. MicroRNA expression profiling of human metastatic cancers identifies cancer gene targets. *J Pathol* 2009; 219 (2): 214-21.
60. Lu Q, Lu C, Zhou GP, Zhang W, Xiao H, Wang XR. MicroRNA-221 silencing predisposed human bladder cancer cells to undergo apoptosis induced by TRAIL. *Urol Oncol* 2009 (Basimda)
61. Catto JW, Miah S, Owen HC, Bryant H, Myers K, Dudzic E, Larré S, Milo M, Rehman I, Rosario DJ, Di Martino E, Knowles MA, Meuth M, Harris AL, Hamdy FC. Distinct microRNA alterations characterize high- and low-grade bladder cancer. *Cancer Res.* 2009; 69 (21): 8472-81.
62. Adam L, Zhong M, Choi W, Qi W, Nicoloso M, Arora A, Calin G, Wang H, Siefker-Radtke A, McConkey D, Bar-Eli M, Dinney C. miR-200 expression regulates epithelial-to-mesenchymal transition in bladder cancer cells and reverses resistance to epidermal growth factor receptor therapy. *Clin Cancer Res* 2009; 15 (16): 5060-72.
63. Yang H, Dinney CP, Ye Y, Zhu Y, Grossman HB, Wu X. Evaluation of genetic variants in microRNA-related genes and risk of bladder cancer. *Cancer Res* 2008; 68 (7): 2530-7.
64. Nakada C, Matsuura K, Tsukamoto Y, Tanigawa M, Yoshimoto T, Narimatsu T, Nguyen LT, Hijiya N, Uchida T, Sato F, Mimata H, Seto M, Moriyama M. Genome-wide microRNA expression profiling in renal cell carcinoma: significant down-regulation of miR-141 and miR-200c. *J Pathol* 2008; 216 (4): 418-27.
65. Lodygin D, Tarasov V, Epanchintsev A, Berking C, Knyazeva T, Körner H, Knyazev P, Diebold J, Hermeking H. Inactivation of miR-34a by aberrant CpG methylation in multiple types of cancer. *Cell Cycle* 2008; 7 (16): 2591-600.
66. Jung M, Mollenkopf HJ, Grimm C, Wagner I, Albrecht M, Waller T, Pilarsky C, Johannsen M, Stephan C, Lehrach H, Nietfeld W, Rudel T, Jung K, Kristiansen G. MicroRNA profiling of clear cell renal cell cancer identifies a robust signature to define renal malignancy. *J Cell Mol Med* 2009 (Basimda).
67. Huang Y, Dai Y, Yang J, Chen T, Yin Y, Tang M, Hu C, Zhang L. Microarray analysis of microRNA expression in renal clear cell carcinoma. *Eur J Surg Oncol* 2009; 35 (10): 1119-23.
68. Petillo D, Kort EJ, Anema J, Furge KA, Yang XJ, Teh BT. MicroRNA profiling of human kidney cancer subtypes. *Int J Oncol* 2009; 35 (1): 109-14.
69. Chow TF, Youssef YM, Lianidou E, Romaschin AD, Honey RJ, Stewart R, Pace KT, Youssef GM. Differential expression profiling of microRNAs and their potential involvement in renal cell carcinoma pathogenesis. *Clin Biochem* 2009 (Basimda).
70. Yi Z, Fu Y, Zhao S, Zhang X, Ma C. Differential expression of miRNA patterns in renal cell carcinoma and nontumorous tissues. *J Cancer Res Clin Oncol* 2009 (Basimda).
71. Horikawa Y, Wood CG, Yang H, Zhao H, Ye Y, Gu J, Lin J, Habuchi T, Wu X. Single nucleotide polymorphisms of microRNA machinery genes modify the risk of renal cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 2008; 14 (23): 7956-62.
72. Gillis AJ, Stoop HJ, Hersmus R, Oosterhuis JW, Sun Y, Chen C, Guenther S, Sherlock J, Veltman I, Baeten J, van der Spek PJ, de Alarcon P, Looijenga LH. High-throughput microRNAome analysis in human germ cell tumours. *J Pathol* 2007; 213 (3): 319-28.
73. Novotny GW, Nielsen JE, Sonne SB, Skakkebaek NE, Rajpert-De Meyts E, Leffers H. Analysis of gene expression in normal and neoplastic human testis: new roles of RNA. *Int J Androl* 2007; 30 (4): 316-27.
74. Schaefer A, Jung M, Kristiansen G, Lein M, Schrader M, Miller K, Stephan C, Jung K. MicroRNAs and cancer: Current state and future perspectives in urologic oncology. *Urol Oncol* 2008 (Basimda).