

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

**SOLİD ORGAN NAKİLLERİNDE miRNA PROFİLİNİN
META-ANALİZ YÖNTEMİ İLE DEĞERLENDİRİLMESİ**

Erman GÜMÜŞLÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

2019-ANTALYA
T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

**SOLİD ORGAN NAKİLLERİNDE miRNA PROFİLİNİN
META-ANALİZ YÖNTEMİ İLE DEĞERLENDİRİLMESİ**

Erman GÜMÜŞLÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Doç. Dr. Şükran Burçak YOLDAŞ

“Kaynakça gösterilerek tezinden yararlanılabilir”

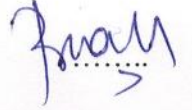
2019-ANTALYA

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne;

Bu çalışma jürimiz tarafından Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Tıbbi Biyoloji Programında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir. 19.06.2019

İmza

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Şükran Burçak YOLDAŞ
Akdeniz Üniversitesi



Üye : Prof. Dr. Fahri UÇAR
Akdeniz Üniversitesi



Üye : Doç. Dr. Bala GÜR DEDEOĞLU
Ankara Üniversitesi



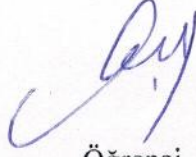
Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun/...../..... tarih ve/..... sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Narin DERİN

Enstitü Müdürü

ETİK BEYAN

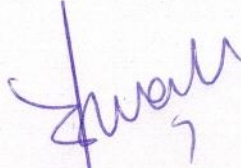
Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı beyan ederim.



Öğrenci

Erman GÜMÜŞLÜ

İmza



Tez Danışmanı

Doç. Dr. Şükran Burçak YOLDAŞ

İmza

TEŞEKKÜR

Öğrencisi olduğum günden beri bilime dair bana yeni bakış açıları kazandıran, tez çalışmamda gece gündüz demeden her türlü desteği tüm içtenliğiyle gösteren, yüzündeki gülümsemenin hiçbir zaman eksilmesini istemediğim kıymetli hocam sayın Doç. Dr. Şükran Burçak YOLDAŞ'a

Çalışmamız boyunca desteklerini esirgemeyen saygıdeğer hocam Doç. Dr. Bala GÜR DEDEOĞLU'na

Tez savunmamda jüri olmayı kabul eden değerli hocalarım, Prof. Dr. Fahri UÇAR, Prof. Dr. Özgöl ALPER ve Dr. Öğr. Üy. Çiğdem AYDIN ACAR'a

Yüksek lisans eğitimimde katkıları olan Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı başkanı Prof. Dr. İbrahim KESER ve diğer anabilim dalı öğretim üyelerine,

Öğrencilik hayatım boyunca binbir türlü sorunumuzda imdadımıza yetişen Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü çalışanlarına,

Bugünlere gelmemi sağlayan, maddi ve manevi desteklerinden beni hiçbir zaman mahrum bırakmayan sevgi ve saygı duyduğum aileme,

Ve tez çalışmam boyunca tezimle uyuyup tezimle uyanan, motivasyon ve moral kaynağım, tezimde yer alan her harfi uğruna adadığım pek kıymetli eşim Aslıhan GÜMÜŞLÜ'ye

Sonsuz teşekkür ederim.

ÖZET

Amaç: Solid organ transplantasyonu, uygulama sonrası hassas bir monitörizasyon gerektiren bir tedavi yöntemidir. Bugüne kadar transplantasyon sonrası gelişen olaylardan sorumlu olan hedef moleküllerin ve yolakların araştırılması amacıyla birçok miRNA ekspresyon çalışması yapılmıştır. Fakat bu çalışmaların verilerini bir araya getiren ve potansiyel hedef ve yolakları tanımlayan bir integratif meta-analiz çalışması yoktur. Bu çalışmanın amacı transplantasyon hastalarında yapılmış olan benzer araştırma sonuçlarının bir araya getirilmesiyle transplantasyonda biyobelirteç adayları miRNA'ları belirlemek ve bu miRNA'ların hedeflediği genleri ve bu genlerin ilişkili olduğu yolakları biyoinformatik analizlerle ortaya koymaktır.

Yöntem: Solid organ transplantasyonunda miRNA ekspresyon çalışmalarına ait literatür taraması yapılmıştır. Doku, kan, idrar örneklerinde yapılan çalışmalar, vaka-kontrol grupları kullanılmış çalışmalar dahil edilmiştir. Çalışmaya dahil edilen yayınlardan tespit edilen anlamlı disregüle miRNA'lara özgü hedef gen ve yolakların belirlenmesi amacıyla KEGG, WebGestalt, miRWalk araçları kullanılarak biyoinformatik analizler yapılmıştır.

Bulgular: Literatür taraması sonucunda farklı organ tiplerini içeren 56 adet yayın çalışmaya dahil edilmiştir. Toplamda 3757 denek sayısını içeren 182'si up regüle 164'ü down regüle olmak üzere organ nakli sonrası olaylarla ilişkili 346 adet disregüle ve 3 adet değişmeyen miRNA profili belirlenmiştir.

Sonuç: Disregüle miRNA'lar arasından biyobelirteç adayları olarak tespit edilen mir-486-5p ve miR-155'in organ nakli sonrası rejeksiyona dair immün sistemle olan ilişkisi ortaya konmuştur.

Anahtar Kelimeler: miRNA, organ nakli, meta-analiz

ABSTRACT

Objective: Solid organ transplantation is a treatment that requires precise monitoring after administration. To date, many miRNA expression studies have been performed to investigate the target molecules and pathways responsible for post-transplantation events. However, there is no integrative meta-analysis study that brings together the data of these studies and identifies potential targets and pathways. The aim of this study is to determine the biomarker candidate miRNAs in transplantation by combining similar research results in transplant patients and to identify the genes that these miRNAs target and the pathways associated with these genes by bioinformatics analysis.

Method: A literature review of miRNA expression studies was performed in solid organ transplantation. Studies in tissue, blood, urine samples and case-control groups were included. Bioinformatics analyzes were performed using the KEGG, WebGestalt, miRWalk tools to determine the target genes and pathways specific to the miRNAs identified from the publications included in the study.

Results: As a result of literature review, 56 publications including different organ types were included in the study. In total, 346 dysregulated and 3 unchanged miRNA profiles related to post-transplantation events were determined, including 182 up-regulation and 164 down-regulated subjects.

Conclusion: Dysregulated miRNAs miR been identified as a candidate biomarker of miR-486-5p and miR-155 after organ transplants have been revealed about the relationship with the immune system rejection.

Key words: microRNA, Solid organ transplantation, meta-analysis

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
TABLolar DİZİNİ	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
SİMGELER ve KISALTMALAR	viii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Solid Organ Transplantasyonu	2
2.1.1. Allogreft Rejeksiyonu	2
2.1.2. Antikor Aracılı Rejeksiyon	3
2.1.3. Hücre Aracılı Rejeksiyon	3
2.2. Transplantasyon İmmünolojisi	3
2.3. Transplantasyonda İmmünsüpresan Kullanımı	5
2.3.1. Kortikosteroidler	5
2.3.2. T Hücre Proliferasyon İnhibitörleri	5
2.3.3. Kalsinörin İnhibitörleri	5
2.3.4. mTOR İnhibitörleri	6
2.3.5. IL-2 Reseptör Antagonistleri	6
2.3.6. Poliklonal Antikorlar	6
2.3.7. Monoklonal Antikorlar	7
2.3.8. Diğer Ajanlar	7
2.4. Greft Hasarının Saptanmasında Biyobelirteçlerin Güncel Durumu	7
2.5. miRNA ve Biyogenezi	8
2.5.1. miRNA Adlandırılması	9
2.5.2. miRNA Biyogenezi ve İşlevi	10
2.5.3. İnsanda miRNA Lokalizasyonları	11
2.6. Transplantasyonda miRNA'ların Önemi	12
2.7. miRNA Profilinin Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler	12
2.7.1. Kantitatif Ters Transkripsiyon PZR Temelli Yöntemler	13

2.7.2. Mikrodizin Tabanlı Yöntemler	13
2.7.2. Yeni Nesil Dizileme Teknolojileri	14
2.8. MiRBase Veritabanı	15
2.9. miRNA Verilerini de İçeren Biyoinformatik Araçları	15
2.10. İntegratif Meta-Analizi	18
3. GEREÇ ve YÖNTEM	20
3.1. Literatür Taraması	20
3.2. Çalışmaya Katılma Kriterlerine Göre Verilerin Seçilmesi	21
3.3. Çalışmaya Katılan Verilerin Sınıflandırılması ve Depolanması	21
3.4. Biyoinformatik Analizlerin Yapılması	21
4. BULGULAR	23
4.1. Literatür Arama Sonuçları	23
4.2. Araştırmaya Dahil Edilen alışmalar	23
4.3. Araştırmadan Dışlanan alışmalar	24
4.4. Dahil Edilen alışmalara Ait Verilerin Düzenlenmesi	25
4.5. Organ Tipine Göre Sınıflandırılan Disregüle miRNA'lar	50
4.6. Rejeksiyon İlişkili Disregüle miRNA'lar	54
4.7. VENNY Diyagramı Kullanılarak Tespit Edilen Ortak miRNA'lar	55
4.8. Disregüle miRNA'ların miRWALK ile Belirlenen Hedef Genleri	57
4.9. WebGEstalt ve KEGG ile Yapılan Yolak Analiz Sonuçları	64
5. TARTIşMA	67
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	70
KAYNAKLAR	71
ÖZGEçMİş	83

TABLULAR DİZİNİ

Tablo 2.1.	2008-2019 yılları arası Türkiye’de yapılan organ nakil sayıları	2
Tablo 4.1.	Çalışmadan dışlanan hepatoselüler karsinom ilişkili yayınlar	24
Tablo 4.2.	Böbrek transplant alıcılarında yapılmış miRNA profillemeye çalışmaları	26
Tablo 4.3.	Karaciğer transplant alıcılarında yapılmış miRNA profillemeye çalışmaları	35
Tablo 4.4.	Kalp transplant alıcılarında yapılmış miRNA profillemeye çalışmaları	43
Tablo 4.5.	Akciğer transpant alıcılarında yapılmış miRNA profillemeye çalışmaları	45
Tablo 4.6.	Karaciğer&Böbrek ikili transplant alıcılarında miRNA profillemeye çalışmaları	48
Tablo 4.7.	Pankreas&Böbrek ikili transplant alıcılarında miRNA profillemeye çalışmaları	49
Tablo 4.8.	Böbrek transplant alıcılarına ait çalışmalarda tespit edilen disregüle miRNA’lar	50
Tablo 4.9.	Karaciğer transplant alıcılarına ait çalışmalarda tespit edilen disregüle miRNA’lar	51
Tablo 4.10.	Kalp transplant alıcılarına ait çalışmalarda tespit edilen disregüle miRNA’lar	52
Tablo 4.11.	Akciğer transplant alıcılarına ait çalışmalarda tespit edilen miRNA’lar	52

Tablo 4.12. Karaciğer&Böbrek transplant alıcılarına ait çalışmalarda tespit edilen disregüle miRNA'lar	53
Tablo 4.13. Pankreas&Böbrek transplant alıcılarına ait çalışmalarda tespit edilen disregüle miRNA'lar	53
Tablo 4.14. Klinik durumları rejeksiyon olan disregüle miRNA listesi	54
Tablo 4.15. miRWALK ile belirlenen miR-486-5p'nin hedef genleri	58
Tablo 4.16. miRWALK ile belirlenen miR-155'in hedef genleri	60
Tablo 4.17. miR-486-5p WebGestalt yolak analizi	64
Tablo 4.18. miR-155 WebGestalt yolak analizi	64
Tablo 4.19. Rejeksiyon ilişkili up regüle miRNA'ların WebGestalt yolak analizi	64
Tablo 4.20. Rejeksiyon ilişkili down regüle miRNA'ların WebGestalt yolak analizi	65

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1.	Antijen sunan hücrelerin tanınması	4
Şekil 2.2.	miRNA biyogenezi	11
Şekil 2.3.	miRBase veri tabanına ait ekran görüntüsü	15
Şekil 2.4.	miRWalk 3. sürüm arayüzüne ait ekran görüntüsü	16
Şekil 2.5.	WebGestalt web sayfasına ait ekran görüntüsü	17
Şekil 2.6.	KEGG yolak veri tabanına ait web sayfası görüntüsü	17
Şekil 4.1.	Pubmed arama sonuçlarına ait ekran görüntüsü	23
Şekil 4.2.	Karaciğer, böbrek ve karaciğer&böbrek ve pankreas&böbrek ikili transplantasyonlarında up regüle miRNA'ları içeren VENNY diyagramı	55
Şekil 4.3.	Karaciğer, böbrek ve karaciğer&böbrek ve pankreas&böbrek ikili nakillerinde down regüle miRNA'ları içeren VENNY diyagramı	56
Şekil 4.4.	Karaciğer, böbrek, akciğer ve kalp nakillerinde up regüle miRNA'ları içeren VENNY diyagramı	56
Şekil 4.5.	Karaciğer, böbrek, akciğer ve kalp nakillerinde down regüle miRNA'ları içeren VENNY diyagramı	57
Şekil 4.6.	Rejeksiyon ilişkili miRNA'ların KEGG analizi ile sitokin-sitokin reseptör interaksiyon yolağının gösterilmesi	66

SİMGELER ve KISALTMALAR

Ago2	: Argonot Proteini
cDNA	: Komplementer DNA
dNTP	: Deoksinükleosit trifosfat
FKBP-12	: FK bağlayıcı protein 12
HDL	: Yüksek yoğunluklu lipoprotein
HLA	: İnsan lökosit antijeni
IFN-γ	: İnterferon gama
IgG1	: İnsan immünoglobülinin 1
IL-2	: İnterlökin 2
IL-5	: İnterlökin 5
IMPDH	: İnosin monofosfat dehidrogenaz
MHC	: Majör doku uyum kompleksi
miRNA	: MikroRNA
MPA	: Mikofenolik asit
mRNA	: Mesajcı RNA
NGS	: Yeni nesil dizileme (next generation sequencing)
Pre-miRNA	: Prekürsör miRNA
Pri-miRNA	: Primer-miRNA
PZR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
RISC	: RNA indüklü susturma kompleksi

RNA : Ribonükleik asit

RT-PZR : Gerçek zamanlı PZR (real time pcr)

TNF : Tümör nekroz faktör

TRBP : Transaktivasyon sorumlu RNA bağlayıcı protein



1. GİRİŞ

Hücrel mekanizmaları regüle eden mikroRNA'ların, birçok hastalıkta olduğu gibi solid organ transplantasyonunda da immün yanıtın oluşmasında olduğu gibi önemli rollere sahip olduğu bilinmektedir. Gelişen teknoloji sayesinde gerek mikrodizin tabanlı gerekse yeni nesil dizileme yöntemleri ile miRNA profillerinin gösterildiği çalışmalar günden güne artmaktadır. Doku ve organ spesifik olmak üzere farklı profillere sahip olan miRNA'ların böbrek, karaciğer, kalp, akciğer, pankreas gibi çeşitli solid organ tiplerinde greft hasarı, disfonksiyonu hatta rejeksiyona kadar uzanan süreçler ile bağlantısı oldukları yapılan araştırmalarla gösterilmiştir.

Çalışmamızda Şubat 2019'a kadar Pubmed veri tabanında yayınlanmış olan solid organ transplantasyonlarında miRNA profillerinin belirlendiği çalışmalar bir araya getirilerek biyoinformatik yöntemlerin kullanılmasıyla organ tiplerine göre biyobelirteç adayları miRNA'lar tespit edilmiştir.

Günümüze kadar solid organ transplantasyonlarında miRNA profillerini ele alan bir meta-analizi çalışması yapılmamıştır. Bu çalışma, transplantasyon sonrası monitörizasyona yönelik yapılan miRNA profilleme çalışmalarını bir araya getiren ve biyoinformatik analizlerle hedef genleri belirleyen ilk çalışmadır.

miRNA'ların transplantasyon sonrası yaşanan süreçlerin erken dönemde belirlenmesinde önemli katkısının olabileceği düşünülmektedir. Bu alanda yapılan bireysel çalışmaların bir araya getirilmesi ve tespit edilen miRNA'ların hedef genlerinin analiz edilmesi, aralarındaki ortak ilişkinin belirlenmesi, solid organ transplantasyonu sonrasında klinik durumun gözetilmesi noktasında erken tanı ve tedaviye yönelik etkin stratejilerin kurulmasında katkı sağlayacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Solid Organ Transplantasyonu

Transplantasyon, tedavisi mümkün olmayan, ileri derecede hasar görmüş organların yerine kadavra veya canlıdan alınan fonksiyonel organın konulmasıdır. Geç dönem böbrek, karaciğer, kalp, akciğer ve pankreas hastalıkları için tercih edilen bir tedavi yöntemidir (Scheuher, 2016).

Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı Organ, Doku Nakli ve Diyaliz Hizmetleri Daire Başkanlığı verilerine göre 2019 yılı itibarı ile 22 bini böbrek olmak üzere yaklaşık 25 bin hasta organ nakli olmayı beklemektedir. 2008 yılından günümüze kadar organ nakil sayıları günden güne artmaktadır (Tablo 2.1).

Tablo 2.1. 2008-2019 yılları arası Türkiye’de yapılan organ nakil sayıları
(https://organ.saglik.gov.tr/0TR/70Istatistik/ORGAN_010103.aspx, Erişim tarihi 19 Nisan 2019)

Nakil Yılı	Böbrek	Karaciğer	Kalp	Akciğer	Pankreas
2008	206	0	0	0	0
2009	413	4	0	0	0
2010	471	17	0	0	0
2011	2.952	908	95	5	25
2012	2.909	1.002	61	25	6
2013	2.946	1.249	63	32	4
2014	2.925	1.212	78	33	9
2015	3.204	1.218	89	30	7
2016	3.422	1.397	70	22	6
2017	3.342	1.446	76	42	0
2018	3.874	1.588	91	43	4
2019	1.181	528	16	8	0
Toplam	27.845	10.569	639	240	61

2.1.1. Allogreft Rejeksiyonu

Rejeksiyon, transplantasyon sonrasında organın reddedilmesidir. Rejeksiyon, gerçekleşme zamanına göre hiperakut, akut veya kronik olarak sınıflandırılır. Hiperakut rejeksiyon, transplantasyonun hemen sonrasında, donör dokuya olan duyarlılığa bağlı olarak alloantikör ve kompleman fiksasyonu sonucu gelişir. Akut rejeksiyon, greft spesifik alloreaktif antikörlerin veya antijen spesifik T hücrelerinin yanıt göstermesi sonucu birkaç gün içinde hızlı bir şekilde gelişmektedir. Kronik rejeksiyon ise, aylar veya yıllar gibi daha uzun süreye yayılmış olan T hücre ve antikör

aracılı alloimmün süreçlerden kaynaklanmaktadır. Transplante edilen organlar ayrıca, iskemi, enfeksiyon, yaşlanma, ilaçların neden olduğu immün yanıt dışı mekanizmalar ile de hasara uğrayabilir. Ayrıca yakın zamanda tanımlanmış olan subklinik rejeksiyon, patolojik hasar olmasına rağmen henüz greft fonksiyon bozukluğunun oluşmadığı durumu ifade etmektedir (Colvin ve Smith, 2005).

2.1.2. Antikor Aracılı Rejeksiyon

Antikor aracılı rejeksiyon, herhangi bir zamanda ortaya çıkabilen ve daha çok böbrek nakillerinde görülen bir rejeksiyon tipidir. Spesifik donör antijenlerine karşı yönlendirilen antikorlar vasıtasıyla gerçekleşmektedir (Montgomery ve ark., 2018). Donör antijenleriyle karşılaşan B lenfositleri aktive oldukları zaman T yardımcı hücrelerinin aracılığıyla proliferer olur ve daha sonra hedef antijene özgü antikor salgılayan plazma hücrelerine farklılaşır. Bu antikorlar ve ilişkili T yardımcı hücreler, interlökin 2 (IL-2) ve interferon gama (IFN- γ) salgısını uyarır ve hedef hücrelerin tahrip olmasına neden olur (Petty, 2016).

2.1.3. Hücre Aracılı Rejeksiyon

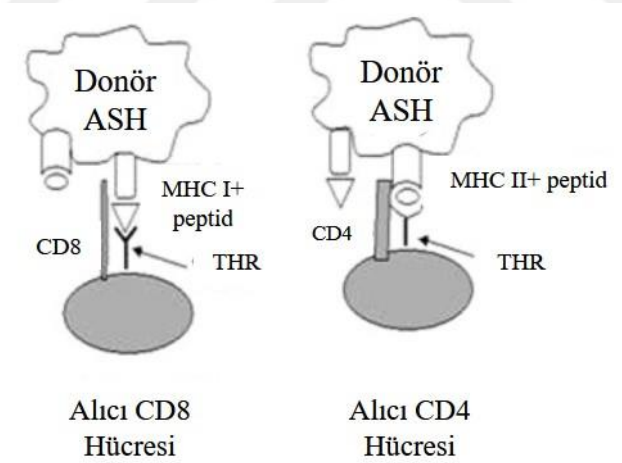
Hücrel rejeksiyon, alıcı T hücrelerinin allotanım mekanizmaları aracılığıyla gerçekleşen donör antijenlerine yönelik başlatılan immün yanıt ile allogreft reddinin oluşmasıdır. Alıcıya ait T hücreleri aktive olduklarında ilk olarak klonal genişleme gerçekleşir. T hücreleri farklılaşarak efektör hücrelerine dönüşür ve karşı atak geliştirmek üzere hedef dokuya göç ederler. Hedef bölgede konumlanmalarıyla T hücre aracılı lizis görülür ve dokuda yıkım başlar. Ayrıca T hücrelerinin tek başına aktivasyonları yeterli olmayıp yardımcı sinyallere kositimüle edilmeleri gereklidir (Ingulli, 2010).

2.2. Transplantasyon İmmünolojisi

Transplantasyon başarısının sağlanmasında hastanın immün sistemi önemli rol oynamaktadır. Bu noktada donör ile alıcı arasındaki genetik uyum, nakil edilen organ veya dokuya karşı immün yanıtın oluşup oluşmayacağını belirlemektedir. Uyumsuzluğun olduğu durumda alıcının immün sistemi yanıt oluşturarak transplantın antijenlerine karşı antikor üreterek hasara yol açmaktadır. Hasar sonucunda ise fonksiyon bozukluğu ve rejeksiyon durumu ortaya çıkmaktadır (Turnquist ve ark., 2014).

Transplantasyonda primer immünitteye dair genetik uyum, Majör Doku Uyumu Kompleksi (MHC) adı verilen molekül ile belirlenmektedir. Hücre membranında eksprese edilen MHC molekülleri, T hücre antijen reseptörleri tarafından taranır ve yabancı olarak tespit edilmesi durumunda T hücre aktivasyonu karşı atağa maruz kalır. İnsanda, insan lökosit antijeni (Human Leukocyte Antigen HLA) olarak adlandırılan bu molekül, 6. kromozomun kısa kolunda lokalize olup birbirinden farklı alleller içeren yüksek polimorfik karaktere sahiptir (Choo, 2007).

MHC molekülleri, MHC Sınıf I, MHC Sınıf II ve MHC Sınıf III olmak üzere üç sınıfa ayrılmıştır. CD8+ hücreleri ile etkileşimi olan Sınıf I molekülleri (HLA-A, HLA-B, HLA-C), çekirdekli hücre membranlarında sunulurken, CD4+ hücreleri ile etkileşime giren Sınıf II (HLA-DR, -DQ, -DP) molekülleri B lenfosit hücrelerine özgü olarak bulunmaktadır (Şekil 2.1). MHC Sınıf III bölgesinde ise HLA yerine Tümör Nekroz Faktör (TNF), ısı şok proteini-70, kompleman 2 ve 4 kodlanmaktadır (A. Morris ve ark., 1994).



Şekil 2.1. Antijen sunan hücreler (ASH) ile CD8 ve CD4 hücreleri T hücre reseptörü (THR) aracılığıyla tanınır (Heeger ve Dinavahi, 2012).

Transplantasyon başarısında doku uyumunun sağlanması için alıcı ve donör arasında olabildiğince aynı allellerin taşınması gereklidir. Transplantasyonda donör ve hastanın arasında HLA uyumu olmaması durumunda organ rejeksiyonu ve fonksiyon kaybı gibi durumlar gözlenmektedir. Bunun önlenmesi ve greft sağkalımının sağlanması için

transplantasyon öncesinde doku tipleme laboratuvarlarında HLA tiplemesi yapılmaktadır (Edgerly ve Weimer, 2018).

2.3. Transplantasyonda İmmünsüpresan Kullanımı

Transplantasyon sonrasında hasta ve allogreft sağkalımı, immün sistemin modülasyonuna dayanır. Transplante edilen organın alıcı tarafından maruz kalacağı immün yanıtı baskılamak amacıyla immünsüpresan kullanımı gereklidir. Reddi önlemek için perioperatif dönemde immünsüpresan ajanlar uygulanır.

İlk immünosüpresif indüksiyon tedavisi perioperatif ve postoperatif dönemlerde kısa süreli immünosüpresyon sağlar. İndüksiyon tedavisi için seçilen bir grup ajan kullanılır. Genel olarak bu ajanlar T hücrelerinin tükenmesiyle etki eder ve bu sayede akut rejeksiyonun önlenmesini sağlayarak greft sağkalımını artırır (Holt, 2017).

2.3.1. Kortikosteroidler

Kortikosteroid tedavisi son yıllarda transplantasyon sonrası kullanılan immünsüpresanların başında gelmektedir. Birçok immünosüpresif mekanizması olan kortikostereoidler, makrofajlarda ve monositlerde interlökin (IL) sentezini inhibe etmektedir. Ayrıca birçok sitokin geninin ekspresyonunu inhibe eder ve olgunlaşmamış T hücrelerinde programlanmış hücre ölümünü indükler (Vacca ve ark., 1990; Vacca ve ark., 1992).

2.3.2. T hücre Proliferasyon İnhibitörleri

Mikofenolik asitlerin (MPA) etki mekanizması pürin sentezi ile ilgilidir. Normal hücrelerde, guanin ve adenin nükleotitleri pürin enzimini ve inosin monofosfat dehidrogenaz (IMPDH) içeren bir dizi reaksiyon ile sentezlenir. IMPDH, guanozin ve nükleosidlerin tükenmesine yol açan MPA'lar tarafından inhibe edilir. Bu olay, T lenfosit ve B lenfosit proliferasyonunun selektif inhibisyonuna neden olur (Sollinger, 1992; Fulton ve Markham, 1996).

2.3.3. Kalsinörin İnhibitörleri

Siklosporin, 1980 yılından bu yana halen yaygın olarak kullanımı devam eden etkili kalsinörin inhibitör sınıfı bir ajandır. Hücre içi kalsinörini ve sitokin transkripsiyonunu baskılayarak IL-2 ve diğer sitokinlerin sentezini inhibe eder. T lenfositlerinin fonksiyonunu tam anlamıyla bozmaması siklosporini önemli kılmaktadır. Fakat merkezi sinir sistemini olumsuz etkilemesi, karaciğer fonksiyon bozukluğu,

nefrotoksisite ve ileri yaş hastalarının kullandığı önemli ilaçlarla etkileşime girmesi gibi yan etkileri bulunmaktadır (Schreiber ve Crabtree, 1992).

Takrolimus, *Streptomyces tsukubaensis*'den üretilen bir ajandır. Karaciğer ve böbrek allogreft rejeksiyonunun önlenmesinde kullanılmaktadır. Siklosporine benzer olarak etki etmekle beraber IL-2 ve T hücre aktivasyonunu inhibe etmektedir. Bilinen yan etkilerinden bazıları nefrotoksisite, nörotoksisite ve enfeksiyon riskini arttırmaktadır (Plosker ve Foster, 2000).

2.3.4. mTOR İnhibitörleri

Rapamisin, everolimus, sirolimus ajanları mTOR inhibitörü olarak işlev görürler. Rapamisin, IL-2 aracılı hücre döngüsünü G0-G1 fazında engelleyerek T hücre proliferasyonunu inhibe eder (Fine ve Kushwaha, 2016).

Sirolimus, takrolimus ilişkili bir makrolid antibiyotiktir. FK bağlayıcı protein 12 (FKBP-12) etkileşime girerek T hücrelerinin siklin-CDK kompleksinin aktivasyonunu önleyerek bölünme siklusuna girmelerini engeller (Ingle ve ark., 2000).

Everolimus, T hücre siklusunda G1 fazından S fazına geçişi engellemektedir. Hücre içine girdiğinde FKBP-12'ye bağlanır. Bu bileşen daha sonra mTOR'u kendine bağlayarak T ve B lenfositlerinin proliferasyonunu arttıran IL-2 ve IL-5'i bloke eder (Pascual, 2006).

2.3.5. IL-2 Reseptör Antagonistleri

Basiliximab, insan antikor dizileri içeren kimerik bir monoklonal antikordur. IL-2 reseptörünün alfa alt ünitesini tanıyarak inhibe eder. Bu reseptör, allogreft reddi ile ilişkili immün yanıtta aktif olan T lenfositlerinde seçici olarak eksprese edilmektedir. İnhibe edilmesiyle de kolonizasyonun bozulması sağlanarak immün yanıtın devamı engellenmektedir (Berard ve ark., 1999).

2.3.6. Poliklonal Antikorlar

Antitimosit globülin (Timoglobulin), tavşanların insan timositleriyle immünize edilmesi sonrası üretilen bir poliklonal antikordur. Timoglobulin, T hücresi epitoplarna özgü antikorlardan oluşmaktadır. Periferik lenfositlerin lizise edilmesinde, retiküloendotelial sistem tarafından lenfositlerin alınmasında ve lenfosit

reseptörlerinin maskelenmesi rollerine sahiptir. Ateş, titreme, lökopeni, malignite ve enfeksiyon gibi yan etkileri bulunmaktadır (Mohty ve ark., 2014).

2.3.7. Monoklonal Antikorlar

Monoklonal antikorlar, poliklonal antikorlara kıyasla oldukça spesifik olduklarından daha az etkili olsalar dahi toksisiteyi daha düşüktür. Allogreft tanıma ve rejeksiyon ilişkili immün sistem hücrelerini hedefler ve sinyal mekanizmaları, hücre-hücre etkileşimleri, T hücre proliferasyonunda etki gösterir (Holt, 2017).

Alemtzumab, T ve B lenfositlerinin yanı sıra Doğal öldürücü hücreler, (Natural Killer NK) makrofajlar ve monositleri hedef alır. Kaspaz bağımsız apoptotik yolağı indükleyerek lenfositlerin yok olmasını sağlamaktadır. Titreme, ateş, hipotansiyon, enfeksiyon gibi yan etkileri bulunmaktadır (P. J. Morris ve Russell, 2006).

Rituximab, transplantasyon sonrası lenfoproliferatif olaylara karşı duyarsızlaştırma amacıyla kullanılır. B hücrelerinde CD20 yüzey reseptörüne özgüdür. İlacın uygulama sonrasında enfeksiyon, mukokutanöz reaksiyonların oluşma riski bulunmaktadır (Macklin ve ark., 2014).

2.3.8. Diğer Ajanlar

Ecilizumab, terminal membran atak kompleksinin oluşmasını engelleyen monoklonal anti-C5 inhibitörüdür. Transplantasyon alıcı vaka raporlarında, sınırlı etkinlik, gram-negatif bakteri enfeksiyon riskinde artış ve yüksek maliyetli olduğu bildirilmiştir (Tran ve ark., 2016).

Belatacept, CTLA-4'ü taklit eden bir ajan olup T hücrelerinde kostimülasyonunun düzenlenmesinde rolü vardır. CTLA-4'ün hücre dışı bölgesine bağlı insan immünoglobülinin (IgG1) Fc fragmanından oluşan füzyon proteindir. T hücre aktivasyonunu seçici olarak bloke etmektedir. Kalsinörin gibi inhibitörlerin gösterdiği toksisitenin sınırlandırılmasını ve uzun greft ömrü ve sağkalımını sağlamaktadır (Martin ve ark., 2011).

2.4. Greft Hasarının Saptanmasında Biyobelirteçlerin Güncel Durumu

Fonksiyon görmeyen bir organı yenisiyle değiştirmek, terminal organ yetmezliğini tedavi etmede ve hastaların yaşamlarını sürdürmelerinde en etkili stratejidir. Fakat başta immün rejeksiyon olmak üzere çoklu moleküler mekanizmalar hala nakledilen

organların uzun süreli hayatta kalmaları için önemli bir engel olmaya devam etmektedir (Cooper ve ark., 2015). Transplantasyon öncesi ve sonrası prognozun gerçek zamanlı izlenmesi transplantasyon için kritik bir öneme sahiptir fakat başta immün yanıt olmak üzere hücresel ve moleküler mekanizmaların aktivitesinin invaziv olmayan şekilde takibi mevcut yöntemlerle sınırlıdır. Günümüzde rejeksiyonun saptanması, hastanın semptomları ve fiziksel belirtileri gibi klinik bulgularının yanı sıra biyokimyasal ve immünolojik testler ile doku biyopsileri gibi laboratuvar verilerine dayanmaktadır (Williams ve ark., 2012). Hastanın semptomları ve fiziksel belirtileri, genellikle rejeksiyonun geç safhasında ortaya çıkmaktadır. Altın standart olarak kabul edilen, invaziv ve pahalı bir yöntem olan doku biyopsileri, tanı koyma doğruluğunda bazı kısıtlamalara sahiptir. Biyokimyasal ve immünolojik analizler düşük duyarlılık ve düşük spesifiteye sahiptirler (Sood ve Testro, 2014; Townamchai ve Eiam-Ong, 2015). Örneğin serum kreatinin ve idrar albümin biyobelirteçleri böbrek nakli sonrası klasik böbrek hasarı göstergesidir ancak nispeten düşük bir duyarlılığa sahiptir (Ronco, 2016). İmmün rejeksiyonu veya rejeksiyon ilişkili komplikasyonları spesifik olarak ortaya çıkaracak yeni invaziv olmayan biyobelirteçlere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu doğrultuda dolaşımdaki miRNA'lar transplantasyonda invaziv olmayan, spesifik, duyarlı ve düşük maliyetli biyobelirteçler olarak düşünülmektedir (Snyder ve ark., 2011).

Günümüzde böbrek hasarının tespitinde biyopsi materyeli dışında serum kreatinin, proteinüri, glomerüler filtrasyon hızı testleri yapılmaktadır. Fakat serum kreatinin ölçümleri 6 ve 12. aylarda greft hasarı hakkında bilgi verebilmektedir. Özellikle tübüler sekresyon ve kreatinin üretim farklılıklarından kaynaklı doğal kısıtlamalar yapılan ölçümlerin böbrek fonksiyonlarını belirleme noktasında yetersiz olduğunu göstermektedir (Mas ve ark., 2014).

Karaciğer naklinde greft durumunun belirlenmesinde total bilirubin, alkalın fosfataz, g-glutamil transpeptidaz gibi kan testleri kullanılmaktadır. Bunun yanında immünosüpresif ilaçların kandaki düzeyleri gözlenebilir ve rejeksiyon riski tahmin edilebilir. Yine diğer organlarda olduğu gibi karaciğer naklinde de değerlendirmeye alınan standart testler spesifik olmamakla beraber rejeksiyonun erken tanısında yeterli değildir. Greft durumunun kesin tanısının sağlanması ancak karaciğer biyopsisi ile mümkündür (Krenzien ve ark., 2019).

Akciğer nakillerinde akut hücresel rejeksiyonun tanısı, akciğer allogreft biyopsi ve histolojik derecelendirmeler ile sağlanabilmektedir. Fakat antikor aracılı rejeksiyonun tanısında immünolojik bulgular, seroloji, histopatoloji ve hastanın klinik durumu gibi tanı kriterleri birlikte değerlendirilmektedir. Ayrıca donör spesifik antikorların titre edilerek seviyeleri belirlenmekte olup gerekli durumlarda histolojik açıdan C4d pozitifliği incelenmektedir (Roden ve ark., 2017).

2.5. miRNA ve Biyogenezi

mikroRNA (miRNA) 20-22 nükleotidden oluşan ve protein kodlayan genlerin düzenlenmesinde önemli rol oynayan kodlayıcı olmayan bir ribonükleik asit (RNA) molekülüdür (Ha ve Kim, 2014). DNA onarımı, farklılaşma, apoptoz gibi birçok olayı etkilemek üzere gen ifadesinin posttranskripsiyonel regülasyonunda işlev görür (Bartel, 2004). Farklı hücre, doku ve organlar farklı miRNA profillerine sahiptir (Landgraf ve ark., 2007). Dolaşımdaki miRNA veya cell-free miRNA olarak da adlandırılan vücut sıvılarındaki miRNA'ların profilleri, kanser (Croce ve Calin, 2005), diyabet (X. Chen ve ark., 2008) ve organ hasarı (Farid ve ark., 2012) gibi fizyolojik ve patolojik değişiklikler için invaziv olmayan biyobelirteçler olarak düşünülmektedir.

Apoptoz veya nekroz gibi hücre ölümü, immün rejeksiyonun bir sonucudur. Hücre içi miRNA'lar, immün saldırıya maruz kalarak rejeksiyona uğrayan hücrelerden pasif olarak ortama salınır ve dolaşımdaki miRNA'lara karışır (Schwarzenbach, 2017). Oldukça stabil olan dolaşımdaki miRNA'ların saptanması hassas ve ölçülebilirdir. Bu da miRNA'ların organ sağkalımı ve immün reddin teşhisi ile prognozun belirlenmesinde güçlü olabileceğini göstermektedir (X. Chen ve ark., 2008).

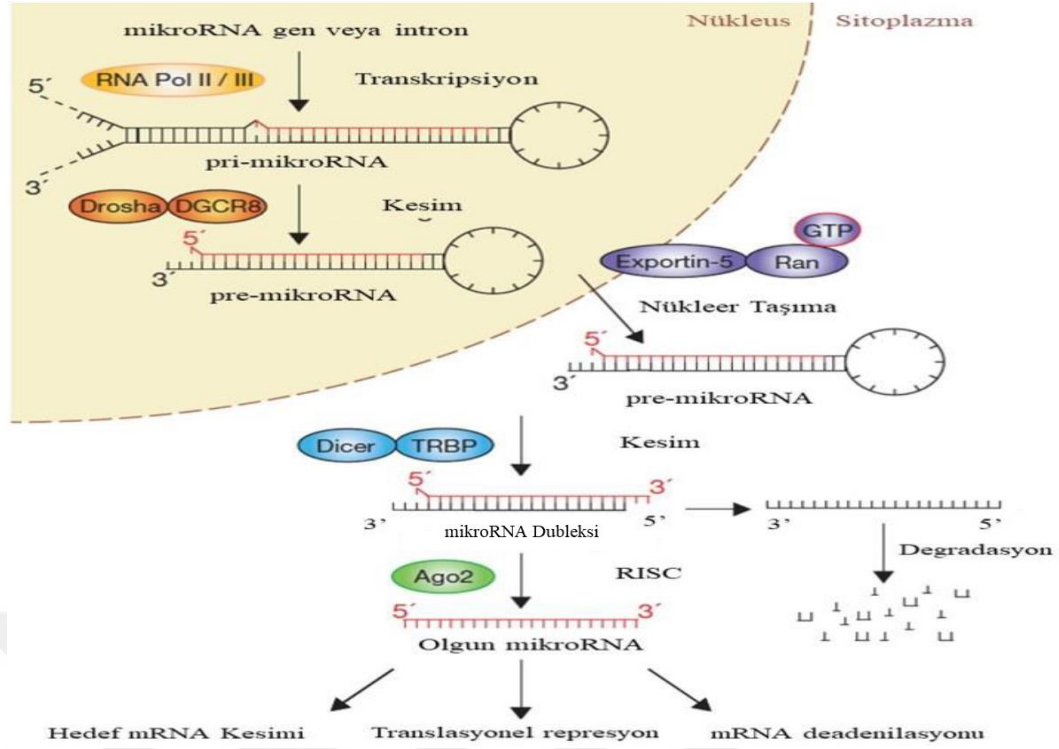
2.5.1. miRNA Adlandırılması

İnsan miRNA'ları "hsa" eki ile belirtilmektedir. Olgun miRNA "miR" olarak tanımlanırken olgunlaşmamış hali için ise "mir" kullanılır. Gen numaralandırılması yayınlanış sırasına göre yapılmakta olup ardışık sayılardan oluşmaktadır (örn. hsa-miR-22, hsa-miR-21'den sonra yayınlanmıştır). Birbiriyle özdeş fakat farklı öncü dizi ve genomik lokuslardan köken alan olgun miRNA'ların sonuna numaralardan oluşan bir ek konmaktadır (örn. hsa-miR-121-1 ve hsa-miR-121-2). Bir veya iki nükleotit hariç hemen hemen birbiriyle aynı olan olgun diziler ise harf son ekleri ile belirtilir (örn. hsa-miR-121a ve hsa-miR-121b). Aynı öncül miRNA'dan kökenlenen iki farklı miRNA tanımlanırken daha az predominant olan miRNA'lar sonlarına bir yıldız

sembolü konmaktadır (örn. hsa-miR-21*). Kol orjinine göre zincirin 3' ucuna ait olan miRNA'lar, -3p eki alırken 5' ucuna ait olanlar -5p eki almaktadır (örn. hsa-miR-142-3p ve hsa-miR-142-5p). Ayrıca insanlarda keşfedilen ilk miRNA olan let-7 için tarihsel nedenlerden dolayı adlandırma kuralları uygulanmamaktadır (Ambros ve ark., 2003).

2.5.2. miRNA Biyogenezi ve İşlevi

miRNA'lar genomik DNA'da kodlanmakta olup RNA polimeraz II tarafından transkripte edilir (Lee ve ark., 2004). Transkripsiyon sonrası, primer-miRNA (pri-miRNA)'dan olgun miRNA'ya kadar uzanan bir dizi olgunlaşma aşamalarından geçer (Şekil 2.2). 1 kilobaza kadar uzayabilen pri-miRNA'lar, yaklaşık 70 nükleotitlik çift iplik yapısındaki prekürsör mikroRNA'ları (pre-miR) oluşturmak üzere, Drosha-DGCR8 (DiGeorge Syndrome Critical Region 8) adlı mikroşlemci kompleksi tarafından tanınır ve kesilir (Ballarino ve ark., 2009). Bu işlemin ardından Exportin 5 taşıyıcı proteini aracılığı (Yi ve ark., 2003) ve Ran-GTP'den aldığı enerji ile nükleustan sitoplazmaya taşınır (Bohnsack ve ark., 2004). Sitoplazmaya taşınır taşınmaz RNAaz III ailesine mensup endonükleazlardan biri olan Dicer tarafından kesime uğratılarak yaklaşık 22 nükleotitlik miR dubleksini meydana getirir (Ketting ve ark., 2001). Oluşan kılavuz zincire TRBP (transaktivasyon sorumlu RNA bağlayıcı protein) ve argonot proteini (Ago2) içeren RNA indüklü susturma kompleksi (RISC) katılır ve olgun miR oluşumunu sağlar. Her bir olgun miR, RISC'in yönlendirmesiyle hedef mRNA'nın 3'UTR bölgesindeki tamamlayıcı diziler arasında baz eşleşmesi yoluyla spesifik olarak etkileşime girer (Lingel ve ark., 2003; J. Liu ve ark., 2004). Hedef mRNA'ları degrade ederek, baskılayarak veya deadenilasyona neden olarak gen ekspresyonunu düzenler. Bu durum miR ile hedef mRNA arasındaki tamamlayıcılık seviyesine bağlı olup tam sıra eşleşme olduğunda mRNA degradasyonuna, kısmi tamamlayıcılık durumunda ise baskılanmasına neden olmaktadır (Bartel, 2004; Engels ve Hutvagner, 2006).



Şekil 2.2. miRNA biyogenezi (Winter ve ark., 2009).

2.5.3. İnsanda miRNA Lokalizasyonları

Dokularda bulunmasının yanı sıra intraselüler miRNA'lar, plazma, serum, idrar, gözyaşı, anne sütü, amniyotik sıvı, bronş lavajı, plevral sıvı, beyin-omurilik sıvısı ve tükürük gibi vücut sıvılarında bulunabilir (Weber ve ark., 2010). Dolaşımdaki miRNA, yaşayan hücrelerden aktif olarak salınabildiği gibi ölmekte olan hücreler tarafından da pasif olarak serbest bırakılabilir. Dolaşımdaki miRNA, mikroveziküller, yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) ve apoptotik cisimcik içinde veya AGO proteinlerine bağlı olarak bulunabilir (Turchinovich ve ark., 2012). Mikroveziküller içerisinde karşılaşılan miRNA'lar immün regülasyonu da (De Candia ve ark., 2016) kapsayan hücre-hücre ve organ-organ iletişimde önemli rol oynar (Valadi ve ark., 2007). Bazı HDL partikülleri ile paketlenen ve apoptotik cisimciklere hapsedilen miRNA'ların ekspresyon düzeyleri fizyolojik değişiklikler, inflamasyon ve hücre ölümü gibi belirli koşullar altında değişiklik gösterir (Zernecke ve ark., 2009; Vickers ve ark., 2011). Bu nedenle dolaşımdaki miRNA'lar spesifik hastalıklar için umut veren biyobelirteçlerdir (X. Chen ve ark., 2008).

2.6. Transplantasyonda miRNA'ların Önemi

miRNA'lar immün sistemi oluşturan hücrelerin gelişim ve fonksiyonlarının düzenlenmesinde rol oynamaktadır. Organ transplantasyonu sonrasında greftler immün sistem tarafından zarar görebilmektedir. Bu olayda hem nakledilen organ greftinden hem de alıcının bağışıklık sistemi hücrelerinden dolaşıma katılan miRNA'ların seviyeleri önemli ölçüde değişmektedir. Bu noktada organ rejeksiyonu ilişkili miRNA'ya dikkat çeken raporlar mevcuttur (Shan ve ark., 2011). Örneğin karaciğer hasarına bağlı transplantasyon işlemi gerçekleştirilmiş hastalarda hepatosit kökenli miRNA'ların (miR-122, miR-148a, miR-194) serum seviyeleri yükselmiş olup aynı zamanda aminotransferaz düzeyleri ile pozitif korelasyon göstermiştir (Farid ve ark., 2012). Kalp nakli olmuş hastalarda miR-10a aşağı regüle olurken, miR-31, miR-92a ve miR-155 yukarı regüle olmuştur ve rejeksiyon görülenlerle görülmeyenler arasında kuvvetli ayrımın yapılmasına olanak sağlamıştır (Duong Van Huyen ve ark., 2014). Akut T hücre aracılı renal allogreft rejeksiyonuyla karşılaşmış ve idrarında miR-210 seviyeleri düşük olduğu belirlenmiş hastalarda ise kortikosteroid tedavisine yanıt olarak miR-210 seviyelerinin arttığı gösterilmiştir (Lorenzen ve ark., 2011). Tübüler atrofi ve interstisyel fibroz ile karakterize kronik böbrek rejeksiyon tanısı almış hastalarda, üriner hücre pelletlerinde miRNA ekspresyon değerlendirilmesi sonucu normal renal fonksiyona sahip olanlara kıyasla inflamasyonla ilişkili 22 farklı miRNA rapor edilmiştir. Ayrıca bu çalışmada greft fonksiyonunu izlemek ve kronik rejeksiyonu tahmin etmek için transplantasyon sonrası histolojik hasarın ortaya çıkmasından önce biyobelirteç olan miRNA'ları (miR-200b, miR-375, miR-423-5p, miR-193b miR-345) tanımlamışlardır (Maluf ve ark., 2014).

2.7. miRNA Profilinin Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler

miRNA'ların doğru tespiti ve kantifikasyonunda, sahip oldukları birçok özelliğinden dolayı birçok zorluk bulunmaktadır (Wark ve ark., 2008). Örneğin, ters transkripsiyon (reverse transcription) ve polimeraz zincir reaksiyonu için tasarlanmış geleneksel primerler, 22 nükleotit uzunluğundaki miRNA'lara bağlanmada (annealing) yetersiz kalabilmektedir. Ayrıca miRNA'lar mRNA'lardan farklı olarak ters transkripsiyon için evrensel bir primer bağlanma bölgesi olarak kullanılabilen bir poli (A) kuyruğu gibi ortak bir sekansa sahip değildir (Bartel, 2004). Yüzlerce miRNA'yı paralel olarak profillemek için karşılaşılan başka bir zorluk, kısa uzunluklarının yanında guanin sitozin içeriklerindeki varyans, primer bağlanma reaksiyonları için erime

sıcaklıklarında (melting temperature) oldukça farklılık göstermesine neden olmaktadır. Bu zorluklara rağmen bugüne kadar tanımlanmış üç ana yaklaşım bulunmaktadır. Bunlar; gerçek zamanlı ters transkripsiyon-PZR (RT-PCR), hibridizasyona dayalı yöntemler ve yüksek verimli dizileme (RNAseq) olarak sıralanabilir (Pritchard ve ark., 2012).

2.7.1. Kantitatif Ters Transkripsiyon PZR Temelli Yöntemler

Olgun miRNA'lar çok küçük olduklarından dolayı kantifikasyonları için küçük boyutlu primerlere gerek duyulmaktadır. Bu açıdan bakıldığında RT-PCR teknolojileri, hem pre-miRNA'ların hem de olgun miRNA'ların amplifikasyonu ve kantifikasyonu için geliştirilmiştir. Bu yaklaşım, miRNA'nın ters transkripsiyon yoluyla cDNA'ya çevrilmesi sonrasında amplifiye edilerek gerçek zamanlı olarak izlenmesi esasına dayanır. Temel olarak miRNA'lar için tasarlanmış qRT-PZR yöntemi olarak daha çok TaqMan-prob yöntemi tercih edilmektedir. TaqMan-prob yöntemi, gerçek zamanlı PZR sistemi kullanılarak olgun miRNA'ları tespit etmek ve doğru bir şekilde ölçmek için tasarlanmıştır. TaqMan miRNA testlerinde Taqman yönteminden farklı olarak RT reaksiyonu sırasında olgunlaşmış miRNA'nın kısa oluşu göz önüne alınmıştır. Bu doğrultuda hedef spesifik "stem-loop" RT primerleri geliştirilmiştir. Stem loop primeri TaqMan Assay temelli PZR kullanılabilecek bir şablon üretmek amacıyla hedefin 3' ucunun uzamasını sağlamaktadır. Aynı zamanda primer kuyruğundaki kök ilmek yapısı, olgun miRNA'ların spesifik olarak tespitinde büyük bir avantaj sağlar. TaqMan teknolojisi ile tek bir nükleotitlik farklılıklarda dahi olgun miRNA'lar tespit edilebilmektedir. Ayrıca "minor Groove binding (MGB) problemleri, farklı izoformların bir ailesini tespit etmek için kullanılmaktadır. (C. Chen ve ark., 2005).

2.7.2. Mikrodizin Tabanlı Yöntemler

Mikrodizin (microarray) yöntemi çok sayıda miRNA'nın profilini oluşturmada yaygın olarak kullanılmakta olup gün geçtikçe popülerliğini arttırmaktadır. Bu yöntem, cDNA sentezi sonrası oluşan ürünün florofor ile işaretlenmesi ve ardından tamamlayıcı problemlerle ayrışma ve hibridasyon esasına dayanır (C. G. Liu ve ark., 2008). PZR temelli yöntemlere kıyasla, bir defada çok sayıda miRNA profilinin belirlenmesi tek bir çip vasıtasıyla sağlanabilmektedir. "Southern Blot" yönteminden esinlenerek keşfedilen bu yöntemin farkı, membran yerine cam gibi materyallerden oluşan çipler

kullanılmaktadır. Çiplerin yüzeyinde hazır bulundurulan DNA segmentleri, hedef dizilerin kantifikasyonunu sağlamaktadır. Araştırmacı sağlığı açısından ise radyoaktif işaretlemeye gerek kalmadan floresan işaretlemenin kullanılması yöntemi avantajlı kılmaktadır (Gershon, 2002). Ayrıca ticari olarak Affymetrix, Agilent, Exiqon, Illumina Bead Chip gibi farklı platformlar geliştirilmiştir.

2.7.3. Yeni Nesil Dizileme Teknolojileri

miRNA profillemesinde yeni nesil dizileme teknolojileri de (Next generation sequencing NGS) kullanılmaktadır. Bu doğrultuda maliyet uygunluğu sağlayan ILLUMİNA Genome Analyzer, SOLiD (Life Technologies Corporation) gibi NGS platformları bulunmaktadır. Bu teknoloji sayesinde hem bilinmeyen miRNA'lar keşfedilmekte hem de ekspresyon düzeyleri hakkında bilgi edinmemizi sağlamaktadır. Diğer yöntemlere kıyasla yüksek verim, kolay uygulanabilirlik, geniş ekspresyon aralığı gibi avantajları bulunmaktadır. Mikrodizin tabanlı yöntemler bilinen sekansları referans problemler dahilinde tespit edebilirken, NGS ile tüm fragmanların taranmasında referansa ihtiyaç duymamaktadır. Fakat güvenilirlik ve hassaslık noktasında NGS çalışmaları sonrasında mikrodizin teknikleriyle validasyonlarının yapılması gerekmektedir (Gao ve Jiang, 2016).

SOLiD dizileme teknolojisi, oligonükleotid ligasyonu prensibine dayalı olup her biri dört dinükleotid için dört farklı floresan boya ile işaretlenmesini içerir. Floresan problemler, DNA ligaz enzimi vasıtasıyla DNA'ya hibridize olur ve ligasyona uğrar. İşaretli floresan hibritlerinin tespiti sonrasında problemler 5' fosfat uçlarından kesime uğrar ve ikinci bir ligasyon siklusu başlatılır. Bu şekilde ligasyon ve ayrılma döngülerinin tekrarlanması ile dizileme işlemi gerçekleştirilir. Bu yöntemle 25-35 bazlık 3-4 gigabazlık veriler üretilebilmektedir(Gao ve Jiang, 2016).

Illumina dizileme teknolojisi, tersinir terminasyon temelli klonal dizi oluşumu yoluyla genomik ve transkriptomik analizlerin yapılmasını sağlamaktadır. Floresan işaretli dört farklı nükleotidin kullanıldığı bu yöntemde on milyonlarca kümenin sentezleme esnasında dizilenmesi sağlanmaktadır. Her sekans döngüsünde, DNA polimeraz varlığında işaretli deoksiniükleosit trifosfat (dNTP) nükleik asit zincirine bağlanır. Bu işaretleme terminasyon görevi görerek her dNTP bağlanmasından sonra floresan boya bir sinyal gönderir ve bazlar lazer ışın yardımıyla tanımlanır. Daha sonra yeni bir nükleotidin reaksiyona katılmasını sağlamak amacıyla enzimatik olarak ayrılır 32-40

bazlık okuma kapasitesiyle yaklaşık 40-50 milyon bazlık veri üretimi sağlanır (Mardis, 2008).

2.8. miRBase Veri Tabanı

miRBase veri tabanı, günümüze kadar yayınlanmış miRNA dizilerinin ve ek açıklamalarının bulunduğu bir veri tabanıdır. miRBase veri tabanındaki her girdi olgun miRNA dizisinin lokasyonu ve dizisi hakkında bilgiler içermekte olup bütün bu veriler <http://mirbase.org> sitesinden indirilebilmektedir. Ekim 2018’de yayınlanan son sürümü 22.1’e göre 38589 adet girdi bulunmaktadır (Şekil 2.3). Bu sürümde yer alan verilere göre 271 farklı organizmada araştırılmış 38589 prekürsör ve 48860 adet olgun miRNA verisi bulunmaktadır (Kozomara ve ark., 2018).

miRBase

Home Search Browse Help Download Blog Submit

Latest miRBase blog posts

MicroRNA Gene Ontology annotations By sam (June 7, 2018)
You might have noticed some additional information on the mature miRNA pages in the last few weeks. See for example: http://mirbase.org/cgi-bin/mature.pl?mature_acc=MIMAT0000123 http://mirbase.org/cgi-bin/mature.pl?mature_acc=MIMAT0000069 The new section "QuickGO function" contains a set of high quality manual annotations of Gene Ontology terms for mature miRNAs, the vast majority of which come from the work of Rachael Huntley et al. [...]

miRBase 22 release By sam (March 12, 2018)
After repeated and unreasonable delay, miRBase 22 is finally released. As you might expect with such a long gap, the number of sequences in the database has jumped significantly — by over a third. The vast majority of the increase comes from new microRNA annotations in species not previously represented in the database. Indeed, there [...]

miRNA count: 38589 entries
Release 22.1: October 2018

Search by miRNA name or keyword
Go Example

Download published miRNA data
Download page | FTP site

miRBase: the microRNA database

miRBase provides the following services:

- The [miRBase database](#) is a searchable database of published miRNA sequences and annotation. Each entry in the miRBase Sequence database represents a predicted hairpin portion of a miRNA transcript (termed *mir* in the database), with information on the location and sequence of the mature miRNA sequence (termed *miR*). Both hairpin and mature sequences are available for [searching](#) and [browsing](#), and entries can also be retrieved by name, keyword, references and annotation. All sequence and annotation data are also [available for download](#).
- The [miRBase Registry](#) provides miRNA gene hunters with unique names for novel miRNA genes prior to publication of results. Visit the [help pages](#) for more information about the naming service.

To receive email notification of data updates and feature changes please subscribe to the [miRBase announcements mailing list](#). Any queries about the website or naming

Şekil 2.3. miRBase veri tabanına ait ekran görüntüsü (<http://zmf.umm.uni-heidelberg.de/apps/zmf/mirwalk/>, Erişim Tarihi 9 Nisan 2019).

2.9. miRNA Verilerini de İçeren Biyoinformatik Araçları

Öngörülen ve valide edilmiş miRNA hedef etkileşimlerinin kapsamlı bir atlası olarak tanımlanan miRWalk veri tabanı, miRNA'lara özgü hedef genlerin tespit edilebilmesi için geliştirilmiş bir biyoinformatik araçtır. Ekim 2018’de 3. sürümü araştırmacıların kullanımına sunulmuştur (şekil 2.4) . miRWalk, insan, fare, sıçan ve ineklerin bilinen genlerinin tahmin edilen ve valide edilmiş miRNA bağlanma bölgelerini açık kaynaklı bir arayüzle sunmaktadır (Sticht ve ark., 2018).

miRWalk

HOME FAQ RESOURCES ABOUT

News and Updates:

- Nov/2018 - **transcript_link** - Changed the transcript link in the interaction-table changed from ensemble to the (correct) refseqid-link.
- Nov/2018 - **miRWalk_paper** - The new publication was accepted: miRWalk: An online resource for prediction of microRNA binding sites. PLoS One. 2018 Oct 18
- Nov/2018 - **geneset_analysis** - We included a new search module for pathway genesets (from KEGG or Reactome database).
- Nov/2018 - **second_annual_update** - complete database update finished.
- Apr/2018 - **mirbase_updated** - updated to current version 7.0.
[read more...](#)

New version of miRWalk

miRWalk is an improved version of the previous database (i.e. miRWalk). The new version of miRWalk stores predicted data obtained with a machine learning algorithm including experimentally verified miRNA-target interactions. The focus lies on accuracy, simplicity, user-friendly design and mostly up to date informations. More information can be obtained under [Frequently Asked Questions](#).

Search for a single gene or miRNA

miRNAs: miRNA names (e.g. hsa-miR-214-3p) or Accession numbers (e.g. MIMAT0000271) based on current miRBase. While searching single miRNAs, also short names or family miRNA (e.g. let-7) belongs to several miRNAs are also acceptable. A list of miRNAs will be shown. mRNAs: Official Genesymbols (e.g. GAS2), EntrezIDs (e.g. 10608), Ensembl-IDs (e.g. ENSG00000148935 or ENST00000454584) and RefseqIDs (e.g. NM_001143830) were accepted.

species | human | Gene | miRNA | search

Target Mining

The Target Mining page provides an advanced search option for several miRNAs or gene targets. You may provide your own miRNA or gene list. Alternatively, you may choose the pre-compiled pathway gene list from the page [not implemented yet]. When searching for miRNA gene targets, full mature miRNA names are required. For the search of miRNA regulators, you may provide either NCBI gene IDs or official gene symbols.

miRNAs Genes Pathways

Help to improve miRWalk

miRWalk ist still in development. We try to implement more functions and new species. Ideas or wishes of new functions are welcome. Please write an email to [miwalkteam\[at\]medma.uni-heidelberg.de](mailto:miwalkteam[at]medma.uni-heidelberg.de).
A new publication is online. Please cite to support miRWalk: Sticht C, De La Torre C, Parveen A, Gretz N.: miRWalk: An online resource for prediction of microRNA binding sites. PLoS One. 2018 Oct 18;13(10)

Şekil 2.4. miRWalk 3. sürümü arayüzüne ait ekran görüntüsü. (<http://zmf.umm.uni-heidelberg.de/apps/zmf/mirwalk/>, Erişim Tarihi 19 Nisan 2019).

WebGesalt (WEB-based Gene Set Analysis Toolkit), çok sayıda gen listesinin sürekli olarak yenilendiği fonksiyonel genomik, proteomik ve büyük ölçekli genetik çalışmalar için oluşturulmuş bir veri tabanıdır (Şekil 2.5). Benzer veri madenciliği araçlarının işlevselliğini tamamlayan ve genişleten WebGestalt, gen kümelerinin yönetimi, bilgi alımı, organizasyonu ve görselleştirilmesi için istatistiksel analizi çevrimiçi kaynak olarak sunmaktadır. Bir gen setindeki tüm genler için daha fazla bilgi alma yeteneği, bir gen setini organize etmenin daha fazla yolu, görselleştirme, uygun istatistiksel testleri seçme olanağı sağlamaktadır. Araştırılmak istenen miRNA'ların ilişkili olduğu ortak hedeflere ait yolak analizlerini yaparak biyolojik fonksiyonu hakkında bilgi vermektedir. (B. Zhang ve ark., 2005).



WEB-based GENE SeT Analysis Toolkit

Translating gene lists into biological insights...

ORA Sample Run | GSEA Sample Run | NTA Sample Run | Phosphosite Sample Run (New in 2019) | External Examples

Manual | Citation | User Forum | GOView | WebGestaltR | WebGestalt 2017

Basic Parameters

Select Organism of Interest

Select Method of Interest

Select Functional Database

Gene List

Select Gene ID Type

Introduction

WebGestalt 2019 has been officially released with updated data. The 2017 version can be accessed through the link.

WebGestalt (WEB-based Gene Set Analysis Toolkit) is a functional enrichment analysis web tool, which has on average 26,000 unique users from 144 countries and territories per year according to Google Analytics. The WebGestalt 2005, WebGestalt 2013 and WebGestalt 2017 papers have been cited in more than 2,500 scientific papers according to Google Scholar.

WebGestalt 2019 significantly improved the output report with emphasis on providing user-friendly interfaces which could directly translate into publication-ready figures. The R package WebGestaltR has been updated to work with the new version, which provides an interface to integrate into other pipelines or run batch jobs locally. We also support loading data from third-

Şekil 2.5. WebGestalt web sayfasına ait ekran görüntüsü. (<http://www.webgestalt.org>, Erişim Tarihi 19 Nisan 2019).

KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes), genomik bilgiyi daha yüksek dereceli fonksiyonel bilgi ile bağdaştırarak gen fonksiyonlarının sistematik analizi için oluşturulmuş bilgi kaynağıdır (Şekil 2.6). KEGG'in bir alt birimi olan "PATHWAY" veri tabanı ise gen fonksiyonlarına ait bilgiler, metabolizma, membran taşınması, sinyal iletimi ve hücre döngüsü gibi hücresel olaylara ilişkin grafikleri içermektedir. Bu grafikler, genellikle kromozom üzerindeki konumsal olarak eşleşmiş genler tarafından kodlanan ve özellikle gen fonksiyonlarını tahmin etmede yararlı olan alt yollarla ilgili bilgi için ortolog grup tablolarıyla desteklenmektedir. (Kanehisa, 2000).

KEGG

Search Help

» Japanese

KEGG Home
Release notes
Current statistics
Plea from KEGG

KEGG Database
KEGG overview
Searching KEGG
KEGG mapping
Color codes

KEGG Objects
Pathway maps
Brite hierarchies
KEGG DB links

KEGG Software
KEGG API
KGML

KEGG FTP
Subscription

GenomeNet
DBGET/LinkDB

KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes

KEGG is a database resource for understanding high-level functions and utilities of the biological system, such as the cell, the organism and the ecosystem, from molecular-level information, especially large-scale molecular datasets generated by genome sequencing and other high-throughput experimental technologies. See Release notes (April 1, 2019) for new and updated features.

Main entry point to the KEGG web service
KEGG2 KEGG Table of Contents [Update notes | Release history]

Data-oriented entry points
KEGG PATHWAY KEGG pathway maps
KEGG BRITE BRITE hierarchies and tables
KEGG MODULE KEGG modules
KEGG ORTHOLOGY KO functional orthologs [Annotation]
KEGG GENOME Genomes [Pathogen | Virus | Plant]
KEGG GENES Genes and proteins [SeqData]
KEGG COMPOUND Small molecules
KEGG GLYCAN Glycans
KEGG REACTION Biochemical reactions [RModule]
KEGG ENZYME Enzyme nomenclature
KEGG NETWORK Disease-related network elements

Classification
Pathway
Brite table
Module
KO (Function)
Organism
Compound
Network
Disease (ICD)
Drug (ATC)
Drug (Target)

Şekil 2.6. KEGG Yolak veri tabanına ait web sayfası görüntüsü. (<https://www.genome.jp/kegg/pathway.html>, Erişim Tarihi 19 Nisan 2019).

2.10. İntegratif Meta-analizi

Olkin, meta-analizini birçok küçük bireysel çalışma sonuçlarının bir ya da birden fazla istatistiksel yöntem kullanılarak birleştiren ve daha fazla bilgi veren bir analiz tekniği olarak tanımlamıştır (Hedges ve Olkin, 1985). Bir araştırmanın istatistiksel gücünün belirlenmesinde örneklem büyüklüğü etkili olmaktadır. Her ne kadar bazı çalışmalar küçük örneklemlelere sahip olsalar da meta-analizi, benzer çalışmalara ait verileri bir araya getirerek bu eksikliği giderebilmektedir. Benzer klinik ve tıbbi araştırmalara ait verilerin bir araya getirilmesiyle aralarındaki ortaklık ve anlamlılık ilişkisi ortaya konmaktadır. Meta-analizi, tıp alanındaki kohort, vaka-kontrol, kontrollü deneylere ait çalışmalara uygulanabilmektedir.

Meta-analizi uygulanırken, ilk olarak bir problem saptanır. Belirlenen probleme ilişkin hangi çalışmaların nasıl dahil edileceğine dair kriterler belirlenir. Belirlenen bu kriterlere göre detaylı bir literatür taraması yapılır. Elde edilen literatür bilgileri çalışma yöntemine uygun olarak sınıflandırılır ve varsa alt tipler yapılar. Birbirinden farklı çalışmaya ait bulgular birleştirilir ve aralarındaki ilişki belirlenerek çeşitli meta-analizi yöntemleriyle rapor edilir (Normand, 1999).

Si-si Wang ve arkadaşları, 2018 yılındaki çalışmalarında koroner kalp hastalığıyla (KKH) ilişkili disregüle miRNA'lara ait istatistiksel sonuçları yaptıkları meta-analiz çalışması ile rapor etmişlerdir. Rapora göre, literatürde tespit ettikleri 604 çalışmayı belirledikleri katılma kriterlerini uyguladıktan sonra 25'e indirgeyerek 289 adet disregüle miRNA tespit etmişlerdir. Ayrıca yapılan biyoinformatik analiz sonucunda ise bu miRNA'lardan 48'nin KKH ile ilişkili olduğu bulunmuştur. 48 disregüle miRNA arasından yukarı regülasyonda en yaygın olanının miR-122-5p olduğu belirlenmiştir. Ayrıca karaciğerde en bol bulunan ve lipid metabolizmasıyla ilişkili miRNA olmasının altı çizilerek bu hastalarda biyobelirteç ve terapötik hedef olarak değerlendirilebileceği vurgulanmıştır (S. S. Wang ve ark., 2018).

Sağlık alanındaki giderek artan ve karmakşıklaşan bilgi yığınlarını, bütünleştiriciliği ön planda tutarak özet bilginin sunulmasını sağlayan meta-analiz yöntemlerinden biri integratif meta analiz yaklaşımıdır. İntegratif analiz yöntemiyle biyomoleküller arası interaksiyonun aydınlatılması ve kliniğe yansıyan durumlarını gözeterak irdelenmesini sağlamaktadır. Özellikle miRNA'lar açısından düşünüldüğünde çeşitli biyoinformatik araçların geliştirilmesi sayesinde çalışmaların sayısı günden güne artmaktadır.

Örneğin, hepatoselüler karsinom vakalarında incelenmiş miRNA'ları *in silico* biyoinformatik analiz açısından değerlendirilen bir çalışmada, hastalıkla ilişkili 26 disregüle miRNA TargetScan, PicTar, miRanda gibi patformlarda analiz edilmiş olup bu miRNA'ların hedefleri, yolak analizleri ve gen ontolojisi gibi genel görünümelerini ortaya koyan sonuçlar bildirmiştir (ElHefnawi ve ark., 2013).



3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Literatür Taraması

İlk aşamada araştırmaya dahil edilecek olan solid organ (böbrek, karaciğer, akciğer, kalp, pankreas) transplantasyonlarında miRNA profillemesi yapılan çalışmalara yönelik literatür taraması yapıldı. Şubat 2019 tarihine kadar yapılmış olan çalışmalara, Pubmed (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>) veri tabanı kullanılarak erişildi. Taramada kullanılacak anahtar kelimeler; miRNA, microRNA, miR- ve solid organ transplantation, organ transplantation, transplantation, heart transplantation, lung transplantation, liver transplantation, pancreas transplantation, kidney transplantation ve renal transplantation ve bunların kombinasyonları olarak olarak belirlendi. Bu amaçla PubMed gelişmiş arama oluşturucusunun da desteklediği 'and'(ve) ve 'or' (veya) algoritması oluşturuldu. Bu arama şeklinin prensibini bir örnekle açıklayacak olursak; amaca göre genişletebilmekle beraber (a OR b) AND (d OR e)'nin anlamı (a veya b) ve (d veya e) şeklindedir. Bu sayede aranan metinde aynı anda geçen (a,d), (a,e), (b,d) ve (b,e) kelime kombinasyonlarının tek bir satırla ifade edilmesi sağlanmaktadır. Her bir kelime için ayrı ayrı arama yapılmasına gerek kalmamaktadır.

(mirRNA[Title/Abstract] OR microRNA[Title/Abstract] OR microRNA[Title/Abstract] OR miR-[Title/Abstract]) AND ((solid organ transplantation[Title/Abstract] OR solid organ transplant[Title/Abstract]) OR (organ transplantation[Title/Abstract] OR organ transplant[Title/Abstract]) OR (heart transplantation[Title/Abstract] OR heart transplant[Title/Abstract]) OR (lung transplantation[Title/Abstract] OR lung transplant[Title/Abstract]) OR (liver transplantation[Title/Abstract] OR liver transplant[Title/Abstract]) OR (pancreas transplantation[Title/Abstract] OR pancreas transplant[Title/Abstract]) OR (kidney transplantation[Title/Abstract] OR kidney transplant[Title/Abstract]) OR (renal transplantation[Title/Abstract] OR renal transplant[Title/Abstract]) OR ((transplantation[Title/Abstract] OR transplant[Title/Abstract])) AND (English[lang]) şeklinde oluşturulan arama algoritması ile kullanılan anahtar kelimeleri içeren ve dili İngilizce (English [lang]) olan yayınlara ait başlık (title) ve özetlere (abstract) erişim sağlandı.

3.2. Çalışmaya Katılma Kriterlerine Göre Verilerin Seçilmesi

Literatür taraması sırasında çalışmaya dahil edilme kriterleri;

- 1- Solid organ nakillerinde miRNA ekspresyon çalışmaları
- 2- Doku, kan, idrar örneklerinde yapılan çalışmalar
- 3- Vaka-kontrol grupları kullanılmış çalışmalar

Literatür taraması sırasında çalışmadan dışlama kriterleri;

- 1- Derlemeler, toplantı özetleri, olgu raporları, uzman görüşleri, orjinal veri içermeyen gözden geçirmeler ve editöre mektuplar
- 2- Deneysel çalışmalar
- 3- İnsan dışı çalışmalar olarak belirlenmiştir.

3.3. Çalışmaya Katılan Verilerin Sınıflandırılması ve Depolanması

Literatür arama sonucunda tam metin ve detaylarına ulaşılan yayınlarda başta yayın yılı, yazarlar, çalışmanın yapıldığı merkez, örnek sayısı, vakaların klinik durumları, transplantasyon türleri olmak üzere miRNA ekspresyon profili yüksek regüle, düşük regüle ve değişmeyen şeklinde p değerleri (<0.05) dikkate alınacak şekilde sınıflandırılarak düzenlendi. Bu bilgiler “.xlsx” uzantılı Microsoft Excel dosyaları haline getirildi. Verilerin alt tiplerine göre yapılarak hastaların klinik durumları göz önüne alındı.

3.4. Biyoinformatik Analizlerin Yapılması

İlk olarak oluşturulan miRNA listelerinde ortak olanların bulunması amacıyla çevrim içi bir araç olan VENNY (<http://bioinfo.gp.cnb.csic.es/tools/venny/index.html>) kullanıldı. Tespit edilen disregüle miRNA’lardan farklı organ tiplerinde ortak olanların belirlenmesi sağlandı. Up regüle ve down regüle şeklinde sınıflandırılan miRNA’lar VENNY aracında listelenerek analiz edildi.

VENNY aracı ile ortak olan miRNA’ların tespiti yapıldıktan sonra bu miRNA’lar excel formatında yeniden listelendi ve bu listeler hedef genlerin belirlenmesi amacıyla miRWALK aracına (<http://zmf.umm.uni-heidelberg.de/apps/zmf/mirwalk/>) çevrim içi olarak yüklendi. miRNA isimleri sisteme yüklenirken insan dışı organizmalara ait verilerin filtrelenmesi amacıyla her bir miRNA’da bulunan miR- önüne *homo*

sapiens'in kısaltması olan hsa- ön eki getirildi. Analiz sonucunda elde edilen ortak miRNA'lara spesifik hedef gen listeleri Excel de dizayn edildi.

miRWALK aracı ile belirlenen hedef gen listeleri yine çevrim içi bir biyoinformatik aracı olan WebGestalt sistemine (<https://www.genome.jp/kegg/pathway.html>) yüklendi ve KEGG yolak analizine tabi tutuldu. Bu analiz sonucunda up ve down regüle miRNA'lar ayrı ayrı miRNA hedef genleri ilişkili yolaklar görünür hale getirildi.

Transplantasyon için klinik prognoz açısından önemli olan allogreft red mekanizması üzerinden oluşturulan miRNA listesi organ tipinden bağımsız olarak kendi içinde analiz edildi. Tüm rejeksiyon çeşitleri ayırt edilmeksizin ana başlık olarak allogreft rejeksiyonu altında toplandı. Organ spesifitesi gözetilmeksizin çalışmaya dahil edilen bulguların içinde rejeksiyonla ilişkisi gözlenen disregüle miRNA'lar kendi içinde up ve down regüle şeklinde listelendi. Bu listeler yine çalışmada kullanılan biyoinformatik araçlarıyla hedef genler ve bu genlerle ilişkili yolakların ortaya çıkarılması sağlandı.

4. BULGULAR

4.1 Literatür Arama Sonuçları

Yapılan literatür araması sonucunda 380 adet yayın tespit edilmiştir. Her bir yayına ait başlık ve özetler, yayınlanma sırasına göre incelenmiştir.

17.03.2019 (mirRNA[Title/Abstract] OR microRNA[Title/Abstract] OR micro RNA[Title - PubMed - NCBI)

PubMed (mirRNA[Title/Abstract] OR microRNA[Title/Abstract] OR micro RNA[

Format: Summary Sort by: Publication Date Per page: 20

Search results

Items: 1 to 20 of 380

- [Cell-free microRNA-148a is associated with renal allograft dysfunction: Implication for biomarker discovery.](#)
1. Nariman-Saleh-Fam Z, Bastami M, Ardalani M, Sharifi S, Hosseinian Khatib SM, Zununi Vahed S.
J Cell Biochem. 2019 Apr;120(4):5737-5746. doi: 10.1002/jcb.27860. Epub 2018 Oct 15.
PMID: 30320905
- [MicroRNAs in AKI and Kidney Transplantation.](#)
2. Ledeganck KJ, Gielis EM, Abramowicz D, Stenvinkel P, Shiels PG, Van Craenenbroeck AH.
Clin J Am Soc Nephrol. 2019 Mar 7;14(3):454-468. doi: 10.2215/CJN.08020718. Epub 2019 Jan 2. Review.
PMID: 30602462
- [Ischemia Reperfusion Injury in Liver Transplantation: Cellular and Molecular mechanisms.](#)
3. Dar WA, Sullivan E, Bynon JS, Eltzschig H, Ju C.
Liver Int. 2019 Mar 6. doi: 10.1111/liv.14091. [Epub ahead of print]
PMID: 30843314

Şekil. 4.1. Pubmed arama sonuçlarına ait ekran görüntüsü.

4.2 Araştırmaya Dahil Edilen Çalışmalar

Belirlenen dahil etme kriterleri göz önüne alındığında, 380 adet yayının arasından araştırmaya 56 adet çalışma dahil edilmiştir. Solid organ transplantasyonunda miRNA profillemesi yapılan bu çalışmaların 31'i böbrek, 9'u karaciğer, 7'si akciğer, 8'i kalp, 1'i pankreas&böbrek ve 1'i böbrek&karaciğer organlarında yapılmıştır.

4.3 Araştırmadan Dışlanan Çalışmalar

Araştırmadan dışlama kriterleri göze alındığında, literatür araması sonucunda tespit edilen 380 adet yayın arasından 324'ü araştırmadan dışlanmıştır. Bu çalışmaların 75'i hayvan deneyi, 19'u hücre kültürü, 23'ü kök hücre nakli, 20'si miRNA profillemesi olmayan, 37'si derleme, 103'ü konu dışı (organ nakli çalışması olmayan), 13'ü viral miRNA ve 18'i diğer (uzman görüşü, editöre mektup) şeklindedir. Ayrıca her ne kadar organ nakli çalışması olsalar da dışlanmış olan 16 adet yayın, hepatoselüler karsinom tanısı almış ve karaciğer nakli sonrası tümör nüksün incelendiği çalışmalardır (Tablo 4.1). Bir başka miRNA profillemesinde ise böbrek donörüne ait örnekten yapıldığı için araştırmaya dahil edilmemiştir.

Tablo 4.1. Çalışmadan dışlanan hepatoselüler karsinom ilişkili yayınlar.

Yazar/Yıl	Ülke	Yayınlandığı Dergi
(Wu ve ark., 2018)	Çin	Oncol Lett
(Xie ve ark., 2016)	ABD	BMC Med Genomics
(Morita ve ark., 2016)	Japonya	Liver Transpl
(Man ve ark., 2016)	Japonya	Oncotarget
(Liese ve ark., 2016)	Almanya	Transpl Int
(Tan ve ark., 2015)	Çin	Clin Res Hepa Gastro
(Sugimachi ve ark., 2015)	Japonya	Br J Cancer
(Feng ve ark., 2015)	Çin	Oncol Rep
(Gelley ve ark., 2014)	İtalya	J Gastroenterol Hepatol
(Fan ve ark., 2013)	Çin	J Exper Clin Can Res
(H. Chen ve ark., 2013)	Çin	Clin Exp Metastasis
(Han, Zhong, ve ark., 2012)	Çin	Mol Oncol
(Han, Chen, ve ark., 2012)	Çin	J Cancer Res Clin Oncol
(H. Y. Chen ve ark., 2012)	Çin	Med Oncol
(Barry ve ark., 2012)	ABD	Am J Transplant
(Sato ve ark., 2011)	Japonya	Plos One

4.4 Dahil Edilen Çalışmalara Ait Verilerin Düzenlenmesi

Çalışmaya dahil edilen 55 çalışma; böbrek (tablo 4.2), karaciğer (tablo 4.3), kalp (tablo 4.4), akciğer (tablo 4.5) ve ikili nakilleri içeren; karaciğer&böbrek (tablo 4.6), pankreas&böbrek (tablo 4.7) olacak şekilde organ tipine göre sınıflandırılmıştır. Her bir çalışma yazar adı/yıl, yayımlandığı dergi, organ tipi, klinik durum, örnek tipi, yöntem, platform, up regüle, down regüle, değişmeyen miRNA, deney grubu ve kontrol grubu bilgilerini içeren bir tablo haline getirilmiştir. Oluşturulan tabloda sıralama yayın yılına göre yapılmıştır.

Organ tipine göre yapılan sınıflandırma sonrasında her bir organ için tespit edilen miRNA'lar arasından tekrarlı olanlar filtrelenmiş olup up regüle, down regüle ve değişmeyen miRNA sınıflarına ayrılarak tablo biçiminde sunulmuştur. Disregüle miRNA'ları içeren tablolar, böbrek (tablo 4.8), karaciğer (tablo 4.9), kalp (tablo 4.10), akciğer (tablo 4.11), karaciğer&böbrek (tablo 4.12), pankreas&böbrek (tablo 4.13) nakil sınıflandırmasını içermekte olup miRNA'ların isim listesi şeklinde oluşturulmuştur.

Yapılan disregüle miRNA sınıflandırması sonucunda böbrek için 93'ü up regüle, 56'sı down regüle olmak üzere toplam 149 adet disregüle miRNA tespit edilmiştir. Karaciğer için 70'i up regüle, 70'i down regüle olmak üzere toplam 140 adet disregüle miRNA tespit edilmiştir. Kalp için 22'si up regüle 4'ü down regüle ve 3'ü değişmeyen miRNA olmak üzere toplam 29 adet disregüle miRNA tespit edilmiştir. Akciğer için 16'sı up regüle 35'i down regüle olmak üzere toplam 51 adet disregüle miRNA tespit edilmiştir. Yine ikili nakillerin gerçekleştirildiği çalışmalarda ise karaciğer&böbrek için 2'si up regüle 4'ü down regüle, pankreas&böbrek için ise 1'i up regüle 9'u down regüle miRNA'lar tespit edilmiştir. Bütün organlar tekrarlı olanların elenmesi sonrasında birlikte incelendiğinde 182'si up regüle, 164'ü down regüle, 3'ü değişmeyen olmak üzere toplam 349 adet disregüle miRNA belirlenmiştir.

Tablo 4.2. Böbrek transplant alıcılarında yapılmış miRNA profillemeye çalışmaları.

Yazar/Yıl	Dergi	Organ	Klinik Durum	Örnek Tipi	Yöntem	Platform	Up regüle miRNA	Down regüle miRNA	Deney Grubu	Kontrol Grubu
(Nariman-Saleh-Fam ve ark., 2019)	J Cell Biochem	Böbrek	Kronik allogreft fonksiyon bozukluğu	Plazma	qRT-PCR	cDNA, 204306		miR-148a-3p	26	27
								miR-148a-3p		
(Z. W. Zhang ve ark., 2018)	Tohoku J Exp Med	Böbrek	Antikor Aracılı Allogreft Reddi (ABMR)	PKMH	qRT-PCR	cDNA 000439	miR-142-3p	miR-107	19	20
							miR-140-3p	miR-338-5p		
							miR-486-5p	miR-204		
(Nafar ve ark., 2018)	Iranian J of Kidney Diseases	Böbrek	Kronik allogreft nefropati	PKMH	qRT-PCR	cDNA 002438	miR-21		0	26
(Milhoransa ve ark., 2018)	J Bras Nefrol	Böbrek	Gecikmiş Graft Fonksiyonu	Biyopsi	qRT-PCR	cDNA 000468	miR-146a-5p		33	13
(Matz ve ark., 2018)	PLoS One	Böbrek	İnterstisyel Fibroz Tübüler Atrofi IFTA + ABMR	PKMH	qRT-PCR	cDNA 477916		miR-145-5p	30	53
			T hücre aracılı rejeksiyon (TCMR)					miR-424-3p		
(Sepideh Zununi Vahed, Zonouzi, ve ark., 2017)	Iranian J of Kidney Diseases	Böbrek	İnterstisyel Fibroz Tübüler Atrofi	Plazma	qRT-PCR	cDNA 204230	miR-21		53	27
						cDNA 204291	miR-142-3p			
						cDNA204308	miR-155			
(S. Zununi Vahed, Poursadegh)	Arch Med Res	Böbrek	Kronik allogreft fonksiyon bozukluğu IFTA	Plazma	qRT-PCR	cDNA 204660	miR-150-5p		53	27
						cDNA 204099	miR-423-3p	miR-192-5p		

Zonouzi, ve ark., 2017)						cDNA 206071		miR-200b-3p		
(S. Zununi Vahed, Omidi, ve ark., 2017)	Clin Biochem	Böbrek	İnterstisyel Fibroz Tübüler Atrofi	İdrar	qRT-PCR	cDNA Primer cDNA Primer cDNA Primer	miR-21 miR-142-3p	miR-200b	47	15
(Ulbing ve ark., 2017)	Bone	Böbrek	Kronik böbrek hastalığı	Serum	qRT-PCR	cDNA 477983 cDNA 478210		miR-223-3p miR-93-5p	67	36
(Millan ve ark., 2017)	Br J Clin Pharmacol	Böbrek	Akut rejeksiyon	İdrar	qRT-PCR	MIMAT0000646 MIMAT0000267 MIMAT0000433	miR-155-5p miR-142-3p		8	72
(Jin ve ark., 2017)	Int J Mol Med	Böbrek	Akut rejeksiyon	Serum	qRT-PCR	MIMAT0003320	miR-650		19	10
(Iwasaki ve ark., 2017)	Biomarkers	Böbrek	Kronik antikor aracılı rejeksiyon	PKMH	qRT-PCR	cDNA 477911 cDNA 002248 cDNA 478128	miR-182-5p miR-142-5p miR-486-5p		28	5
(Domenico ve ark., 2017)	Braz J Med Biol Res	Böbrek	Akut tübüler nekroz	İdrar	qRT-PCR	MIMAT0000434	miR-142-3p		18	8
(Brigant ve ark., 2017)	Clin Kidney J	Böbrek	Kronik böbrek hastalığı	Serum	qRT-PCR	cDNA 000451 cDNA 002146 cDNA 002149 cDNA 002287 cDNA 002098		miR-126 miR-143 miR-145 miR-155 miR-223	38	40

(Bijkerk ve ark., 2017)	Transplant Direct	Böbrek	Akut Rejeksiyon	Periferik kan	qRT-PCR	cDNA 002308	miR-17	13	25
						cDNA 002234	miR-140-3p		
						cDNA 000456	miR-130b		
						cDNA 002245	miR-122		
						cDNA 000491	miR-192		
						cDNA 000460	miR-135a		
						cDNA 002304	miR-199a-3p		
						cDNA 000389	miR-15a		
(Amrouche ve ark., 2017)	J Am Soc Nephrol	Böbrek	Akut tübüler nekroz	Biyopsi	qRT-PCR	cDNA 002163	miR-146a	19	14
			Deceased Donor	İdrar	qRT-PCR		miR-146a	35	16
(Matz ve ark., 2016)	Transpl Immunol	Böbrek	T hücre aracılı rejeksiyon	Plazma	qRT-PCR	cDNA 000390	miR-15b	109	40
						cDNA 000439	miR-103a		
						cDNA 002170	miR-106a		
(H. Xu, Ma, ve ark., 2015)	Transplant Proc	Böbrek	Antikor aracılı rejeksiyon	Serum	qRT-PCR	MIMAT0004701	miR-338-5p	49	20
(Tao ve ark., 2015)	Transplant Proc	Böbrek	Akut rejeksiyon	Serum	qRT-PCR	cDNA 000435	miR-99a	12	11
			Gecikmiş Greft Fonksiyonu				miR-100	15	
(Ehsan Soltaninejad, Nicknam, Nafar, Sharbafi, ve ark., 2015)	Iran J Allergy Asthma Immunol	Böbrek	Kronik allogreft fonksiyon bozukluğu	Periferik kan	qRT-PCR	cDNA 002248	miR-142-5p	16	17
						cDNA 000464	miR-142-3p		
						cDNA 000514	miR-211		
		Böbrek			qRT-PCR	cDNA 002248	miR-142-5p	17	18

(E. Soltaninejad, Nicknam, Nafar, Ahmadpoor, ve ark., 2015)	Transpl Immunol		Akut T hücre aracılı rejeksiyon	PKMH/b iyopsi		cDNA 002287	miR-155		29	29
						cDNA 000464	miR-142-3p			
						cDNA 002295	miR-223			
(Rascio ve ark., 2015)	J Pathol	Böbrek	Kronik antikor aracılı rejeksiyon	PKMH	qRT-PCR	cDNA 000413		miR-10a-5p	29	29
						cDNA 000471		miR-148b-3p		
						cDNA 000391		miR-16-5p		
						cDNA 000480		miR-181a-5p		
						cDNA 002285		miR-186-5p		
						cDNA 002107		miR-195-3p		
						cDNA 000512		miR-210		
						cDNA 002096		miR-221-5p		
						cDNA 000413		miR-29b-3p		
						cDNA 002435		miR-501-3p		
						cDNA 005723		miR-7-5p		
						cDNA 001998		miR-769-5p		
(Wilflingseder ve ark., 2014)	PLoS One	Böbrek	Akut Böbrek hasarı	Plazma, İdrar	qRT-PCR	MIMAT0004494	miR-21-3p		16	20
						MIMAT0018115	miR-3687			
						MIMAT0000269	miR-212-3p			
						MIMAT0018949	miR-4433-3p			

					MIMAT0000426	miR-132-3p			
					MIMAT0019069	miR-4530			
					MIMAT0005458	miR-1224-5p			
					MIMAT0019058	miR-4521			
					MIMAT0004948	miR-885-3p			
					MIMAT0018068	miR-3648			
					MIMAT0019043	miR-2392			
					MIMAT0018987	miR-4463			
					MIMAT0019077	miR-1587			
					MIMAT0019044	miR-4507			
					MIMAT0000459	miR-193a-3p			
					MIMAT0019027	miR-4492			
					MIMAT0004501	miR-27a-5p			
					MIMAT0018925	miR-1268b			
					MIMAT0019771	miR-4685-5p			
					MIMAT0019041	miR-4505			
					MIMAT0018945	miR-4430			
					MIMAT0004609	miR-149-3p			
					MIMAT0016851	miR-4299			
					MIMAT0018104	miR-3679-5p			

					MIMAT0004672	miR-106b-3p			
					MIMAT0004982	miR-939-5p			
					MIMAT0019885	miR-4749-5p			
					MIMAT0005582	miR-1228-5p			
					MIMAT0005922	miR-1268a			
					MIMAT0019045	miR-4508			
					MIMAT0019021	miR-4487			
					MIMAT0010313	miR-762			
					MIMAT0015036	miR-3162-5p			
					MIMAT0019711	miR-4649-5p			
					MIMAT0000259	miR-182-5p			
					MIMAT0000089	miR-31-5p			
					MIMAT0019913	miR-4763-3p			
					MIMAT0019887	miR-4750-5p			
					MIMAT0019779	miR-4690-5p			
					MIMAT0019053	miR-4516			
					MIMAT0004496	miR-23a-5p			
					MIMAT0018076	miR-3656			
					MIMAT0004792	miR-92b-5p			
					MIMAT0019071	miR-4532			

						MIMAT0018352	miR-3937			
						MIMAT0015010	miR-3141			
						MIMAT0018986	miR-4462			
						MIMAT0019743	miR-4667-5p			
						MIMAT0015080	miR-3196			
(Sui ve ark., 2014)	Transplant Proc	Böbrek	Pre-rejeksiyon	Serum	qRT-PCR	MIMAT0000256	miR-181a		15	16
						MIMAT0004761	miR-483-5p			
						MIMAT0003221	miR-557			
(Maluf ve ark., 2014)	Kidney Int	Böbrek	Kronik allogreft fonksiyon bozukluğu	İdrar	qRT-PCR	cDNA 000464	miR-142-3p		66	66
						cDNA 002380	miR-106b			
						cDNA 001278	miR-486-5p			
						cDNA 000598	miR-185			
						cDNA 001516	miR-425			
						cDNA 000431	miR-92a			
						cDNA 002340	miR-423-5p			
						cDNA 001141	miR-451			
						cDNA 464813	miR-let7f-2			
						cDNA 002186	miR-345			
						cDNA 002234	miR-140-3p			
						cDNA 000449		miR-125b		

						cDNA 002251		miR-200b		
						cDNA 002141		miR-99a		
						cDNA 002090		miR-513a-5p		
						cDNA 002126		miR-23b		
						cDNA 000417		miR-30a		
						cDNA 002367		miR-193b		
						cDNA 000485		miR-184		
						cDNA 001617		miR-575		
						cDNA 000564		miR-375		
						cDNA 000507		miR-203		
						cDNA 000514		miR-211		
(Ramachandran ve ark., 2013)	Clin Chem	Böbrek	Akut böbrek hasarı	İdrar	qRT-PCR	MI0000077	miR-21		6	6
						MI0000650	miR-200c			
						MI0001445	miR-423			
						MI0017267		miR-4640		
(Danger ve ark., 2013)	Plos One	Böbrek	Kronik antikor aracılı rejeksiyon	PKMH	qRT-PCR	cDNA 002248	miR-142-5p	miR-576-5p	112	11
							miR-301a	miR-125b		
							miR-590-5p	miR-578b-5p		
							miR-32	miR-888		
							miR-503	miR-194		

(Danger ve ark., 2012)	J Am Soc Nephrol	Böbrek	Operasyonel tolerans	PKMH	qRT-PCR	cDNA 000464	miR-142-3p	miR-508-5p	6	10
							miR-450b-5p	miR-148b-3p		
							miR-876-3p	miR-324-5p		
							miR-106b	miR-98		
(Scian ve ark., 2011)	Am J Transplant	Böbrek	Kronik allogreft fonksiyon bozukluğu	İdrar	qRT-PCR	cDNA 000464	miR-142-3p	19	8	
						cDNA 000508	miR-204			
						cDNA 000514	miR-211			
(Lorenzen ve ark., 2011)	Am J Transplant	Böbrek	Akut T hücre aracılı rejeksiyon	İdrar	qRT-PCR	cDNA 000512	miR-10a	miR-210	62	32
							miR-412	miR-10b		
							miR-610	miR-9		
							miR-373			
							miR649			

Tablo 4.3 Karaciğer transplant alıcılarında yapılmış miRNA profillemeye çalışmaları.

Yazar/Yıl	Dergi	Organ	Klinik Durum	Örnek Tipi	Yöntem	Platform	Up regüle miRNA	Down regüle miRNA	Deney Grubu	Kontrol Grubu
(Schmuck ve ark., 2017).	Biomarkers	Karaciğer	Akut hücresel rejeksiyon	Safra	qRT-PCR	cDNA 002245	miR-122		45	20
						cDNA 002246	miR-133a			
						cDNA 000470	miR-148a			
						cDNA 000493	miR-194			
(P. Zhang ve ark., 2015)	Transplant Proc	Karaciğer	Stabil transplantasyon	PKMH	qRT-PCR	MI0000802	miR-340		53	15
						MI0000734	miR-106b			
						MI0001518	miR-18b			
(Khorsandi ve ark., 2015)	PLoS One	Karaciğer	Graft Disfonksiyonu	Biyopsi	qRT-PCR	MIMAT0000077	miR-155		7	16
						MIMAT0004983	miR-940			
						MIMAT0000077		miR-22		
						MIMAT0000104		miR-107		
						MIMAT0000731		miR-378		
						MIMAT0004587		miR-23b		
						MIMAT0000421		miR-122		
						MIMAT0000101		miR-103		
						MIMAT0004592		miR-125b		
						MIMAT0000080		miR-24		

						MIMAT0000465		miR-191		
						MIMAT0000460		miR-194		
						MIMAT0000690		miR-296-5p		
						MIMAT0004784		miR-455-3p		
						MIMAT0000062		miR-let-7a		
(Asaoka ve ark., 2015)	Hepatol Res	Karaciğer	Akut rejeksiyon	Biyopsi	qRT-PCR	cDNA 002245	miR-122		12	17
						cDNA 002287		miR-155		
(Lankisch ve ark., 2014)	Liver Transpl	Karaciğer	İskemik tip biliyer lezyonlar	Safra	qRT-PCR	Array RA660-1 V 14	miR-106a		37	39
							miR-892a			
							miR-497			
							miR-1289			
							miR-487a			
							miR-184			
							miR-875-5p			
							miR-486-3p			
							miR-495			
							miR-411			
							miR-606			
							miR-588			
miR-380										

							miR-519b-3p			
							miR-2116			
							miR-1178			
							miR-548b-3p			
							miR-549			
							miR-27b			
							miR-493			
							miR-26b			
							miR-616			
							miR-299-3p			
							miR-505			
							miR-518e			
							miR-548a-5p			
							miR-377			
							miR-583			
							miR-411			
							miR-541			
							miR-550			
							miR-425			
							miR-525-3p			

							miR-200a			
							miR-944			
							miR-374b			
							miR-105			
							miR-889			
							miR-617			
							miR-125b-1			
							miR-1237			
							miR-542-5p			
							miR-29b-1			
							miR-520e			
							miR-526b			
							miR-633			
							miR-320c			
							miR-611			
							miR-2116			
							miR-1228			
							miR-658			
							miR-501-3p			
							miR-639			

							miR-31			
							miR-1244			
							miR-96			
								miR-577		
								miR-199b-5p		
								miR-519d		
								miR-363		
								miR-452		
								miR-656		
								miR-513b		
								miR-520a-5p		
								miR-325		
								miR-147b		
								miR-625		
								miR-122		
								miR-520g		
								miR-499-5p		
								miR-190b		
								miR-145		
								miR-609		

											miR-521	
											miR-573	
											miR-520h	
											miR-340	
											miR-199b-3p	
											miR-644	
											miR-548c-3p	
											miR-556-3p	
											miR-544	
											miR-33a	
											miR-220a	
											miR--379	
											miR-514	
											miR-142-5p	
											miR-199a-3p	
											miR-624	
											miR-409-5p	
											miR-491-5p	
											miR-891b	
											miR-18b	

								miR-492		
								miR-18a		
								miR-873		
								miR-516b		
								miR-379		
								miR-1294		
								miR-146a		
								miR-30c-2		
								miR-570		
								miR-1979		
								miR-605		
								miR-16-2		
(Verhoeven ve ark., 2013)	J Hepatol	Karaciğer	İskemik tip Biliyer Lezyonlar	Perfüzate	qRT-PCR	cDNA 002245	miR-122		20	37
						cDNA 02223		miR-30e		
						cDNA 002276		miR-222		
						cDNA 000527		miR-296		
(Joshi ve ark., 2013)	Liver Transpl	Karaciğer	Akut hücreselele rejeksiyon	Serum	qRT-PCR	MI0000073	miR-19a		11	9
						MI0004493	miR-20a			
						MI0004485	miR-let-7e			

						MI0004608	miR-146a			
(Gehrau ve ark., 2013)	Transplantasyon	Karaciğer	İskemi Reperfüzyon Hasarı	Biyopsi	qRT-PCR	cDNA 001278	miR-486-5p	34	0	
						cDNA 001141	miR-451			
						cDNA 002272	miR-192			
						cDNA 002174	miR-27b			
						cDNA 002295	miR-223			
						cDNA 000545	miR-331-3p			
						cDNA 000435	miR-99a			
cDNA 002296	miR-885-5p									
(Farid ve ark., 2012)	Liver Transpl	Karaciğer	Akut rejeksiyon	Serum	qRT-PCR	cDNA 002245	miR-122	33	12	
						cDNA 000470	miR-148a			
						cDNA 000493	miR-194			
						cDNA 002245	miR-122	62	12	

Tablo 4.4 Kalp transplant alıcılarında yapılmış miRNA profillemeye çalışmaları.

Yazar/Yıl	Dergi	Organ	Klinik Durum	Örnek Tipi	Yöntem	Platform	Up regüle miRNA	Down regüle miRNA	Değişmeyen miRNA	Deney Grubu	Kontrol Grubu
(L. Wang ve ark., 2017)	Oncotarget	Kalp	İmmün tolerans	PKMH	qRT-PCR	cDNA Primer	miR-98			20	20
(Sukma Dewi ve ark., 2017)	PLoS One	Kalp	Akut hücreyel rejeksiyon	Serum	qRT-PCR	cDNA 000464	miR-142-3p			26	37
						cDNA 002253	miR-101-3p				
						cDNA 000604	miR-424-5p				
						cDNA 000408	miR-27a-3p				
						cDNA 002676	miR-144-3p				
						cDNA 002184	miR-339-3p				
cDNA 000542	miR-326										
(Neumann ve ark., 2017)	Transplantation	Kalp	Kardiyak Allogreft Vaskülopati	Plazma	qRT-PCR	cDNA 479112	miR-628-5p			40	20
						cDNA 002287	miR-155				
						cDNA 478047			miR-34a		
						cDNA 478590			miR-98		
cDNA 478491			miR-204								
(Guo ve ark., 2017)	Br J Biomed Sci	Kalp	Akut rejeksiyon	Serum	qRT-PCR	MIMAT0000087	miR-29			506	50
(Singh ve ark., 2015)	J Heart&Lung Transplantation	Kalp	Kardiyak Allogreft Vaskülopati	Periferik kan	qRT-PCR	MIMAT0000076	miR-21-5p			22	30
						MIMAT0004507	miR-92a-5p				

						MIMAT0000445	miR-126-3p				
						MIMAT0000444	miR-126-5p				
(Miyamoto ve ark., 2015)	J Heart&Lung Transplantation	Kalp	Kardiyomiyopati	Serum	qRT-PCR	cDNA 002287	miR-155			55	0
						cDNA 002088	miR-636				
						cDNA 001599		miR-646			
						cDNA 001583		miR-639			
(Duong Van Huyen ve ark., 2014)	Eur Heart J	Kalp	Antikor aracılı rejeksiyon	Serum	qRT-PCR	cDNA 000387		miR-10a		19	30
						cDNA 000397	miR-21				
						cDNA 002279	miR-31				
						cDNA 000431	miR-92a				
						cDNA 000464	miR-142-3p				
						cDNA 002287	miR-155				
cDNA 001141		miR-451									
(E. Wang ve ark., 2013)	Journal of Cardiothoracic Surgery	Kalp	Miyokard hasarı	Plazma	qRT-PCR	cDNA 002246	miR-133a			7	14
						cDNA 000511	miR-208a				
						cDNA 002247	miR-133b				

Tablo 4.5 Akciğer transplant alıcılarında yapılmış miRNA profillemeye çalışmaları.

Yazar/Yıl	Dergi	Organ	Klinik Durum	Örnek Tipi	Yöntem	Platform	Up regüle miRNA	Down regüle miRNA	Deney Grubu	Kontrol Grubu
(Z. Xu, Yang, ve ark., 2017)	Transplantation	Akciğer	Akut rejeksiyon	Serum	qRT-PCR	cDNA 000387		miR-10a	14	13
						cDNA 000494		miR-195		
						cDNA 002247		miR-133b		
						cDNA 002676	miR-144			
						cDNA 002248	miR-142-5p			
						cDNA 002287	miR-155			
			cDNA 001186				miR-134a	7	13	
			cDNA 000387				miR-10a			
			cDNA 000494				miR-195			
			cDNA 002247				miR-133b			
			cDNA 002676			miR-144				
			cDNA 002287			miR-155				
cDNA 002248	miR-142-5p									
(Z. Xu, Sharma, ve ark., 2017)	J Heart&Lung Transplantation	Akciğer	Primer Greft Disfonksiyonu	Bronkoalveoler lavaj	qRT-PCR	cDNA 477975		miR-21	14	25
(Budding ve ark., 2017)	Transpl Immunol	Akciğer	Bronşiolit Obliterans Sendromu	Serum	qRT-PCR	cDNA 000397	miR-21		10	10
						cDNA 002112	miR-29a			
						cDNA 121218	miR-103			

						cDNA 002299	miR-191			
						cDNA 002287	miR-155			
(Ge ve ark., 2016)	JCI Insight	Akciğer	Bronşiolit Obliterans Sendromu	Biyopsi	Mikroarray	MIMAT0000755		miR-323a-3p	7	3
						MIMAT0003261		miR-593-5p		
						MIMAT0004913		miR-891b		
						MIMAT0002820		miR-497		
						MIMAT0007889		miR-1914-5p		
						MIMAT0022946		miR-1237		
						MIMAT0004284		miR-675b		
						MI0005527		miR-886-3p		
						MIMAT0005900		miR-1248		
						MIMAT0007890		miR-1914-3p		
						MIMAT0026615		miR-552		
						MIMAT0009447		miR-1972		
						MIMAT0005905		miR-1254		
						MIMAT0000244		miR-30c-1-3p		
						MIMAT0003732		miR-668		
						MIMAT0004700		miR-331-5p		
MIMAT0004952		miR-665								
MIMAT0022929		miR-758								

						MIMAT0004979		miR-936		
						MIMAT0004698		miR-135b-3p		
(Z. Xu, Ramachandran, ve ark., 2015)	J Heart&Lung Transplantation	Akciğer	Bronşiolit Obliterans Sendromu	Bronkoalveoler lavaj	qRT-PCR	cDNA 002676	miR-144		20	19
(Z. Xu, Nayak, ve ark., 2015)	Am J Transplant	Akciğer	Bronşiolit Obliterans Sendromu	Bronkoalveoler lavaj	qRT-PCR	cDNA 001021		miR-369-5p	20	10
						cDNA 000387	miR-10a	miR-548d		
						cDNA 002388	miR-518f	miR-133b		
						cDNA 002247	miR-98	miR-628-5p		
						cDNA 001186		miR-134		
(W. Zhang ve ark., 2013)	Translational Respiratory Med	Akciğer	Kronik rejeksiyon	PKMH	Microarray	Affymetrix GPL5175		miR-299-3p	18	35
								miR-29b-1		
								miR-34a		
								miR-451		
								miR-519e		
								miR-629		
							miR-590-5p			
							miR-381			
							miR-374a			
							miR-28-5p			
							miR-126			
miR-27b										

Tablo 4.6 Karaciğer&Böbrek ikili transplant alıcılarında yapılmış miRNA profillemeye çalışmaları.

Yazar/Yıl	Dergi	Organ	Klinik Durum	Örnek Tipi	Yöntem	Platform	Up regüle miRNA	Down regüle miRNA	Deney Grubu	Kontrol Grubu
(Dumontet ve ark., 2016)	Liver Int	Karaciğer&Böbrek	Tolerans	Periferik kan	qRT-PCR	cDNA 000464		miR-142-3p	56	179
						cDNA 002248		miR-142-5p		
						cDNA 000413		miR-29b-3p		
						cDNA 001141	miR-451a	miR-545		
						cDNA 001278	miR-486-5p			

Tablo 4.7 Pankreas&Böbrek ikili transplant alıcılarında yapılmış miRNA profillemeye çalışmaları.

Yazar/Yıl	Dergi	Organ	Klinik Durum	Örnek Tipi	Yöntem	Platform	Up regüle miRNA	Down regüle miRNA	Deney Grubu	Kontrol Grubu
(Bijkerk ve ark., 2015)	Am J Transplant	Pankreas&Böbrek	Diyabetik nefropati	Serum	qRT-PCR	cDNA 002349	miR-574-3p		37	19
						cDNA 000542		miR-25		
						cDNA 000456		miR-27a		
						cDNA 002114		miR-130b		
						cDNA 000457		miR-132		
						cDNA 000475		miR-152		
						cDNA 002277		miR-320		
						cDNA 000542		miR-326		
						cDNA 002258		miR-340		
						cDNA 001515		miR-660		

4.5. Organ tipine göre sınıflandırılan disregüle miRNA'lar

Organ spesifik sınıflandırma baz alınarak disregüle miRNA'lar up regüle, down regüle değişmeyen şekilde listelendi.

Tablo 4.8 Böbrek transplant alıcılarına ait çalışmalarda tespit edilen disregüle miRNA'lar.

Up regüle	miR-142-3p	miR-650	miR-100	miR-4521	miR-27a-5p	miR-939-5p	miR-31-5p	miR-3937	miR-185	miR-301a	miR-373
	miR-140-3p	miR-182-5p	miR-223	miR-885-3p	miR-1268b	miR-4749-5p	miR-4763-3p	miR-3141	miR-425	miR-590-5p	miR649
	miR-486-5p	miR-142-5p	miR-21-3p	miR-3648	miR-4685-5p	miR-1228-5p	miR-4750-5p	miR-4462	miR-92a	miR-32	
	miR-21	miR-17	miR-3687	miR-2392	miR-4505	miR-1268a	miR-4690-5p	miR-4667-5p	miR-423-5p	miR-503	
	miR-146a-5p	miR-130b	miR-212-3p	miR-4463	miR-4430	miR-4508	miR-4516	miR-3196	miR-451	miR-450b-5p	
	miR-155	miR-122	miR-4433-3p	miR-1587	miR-149-3p	miR-4487	miR-23a-5p	miR-181a	miR-let7f-2	miR-876-3p	
	miR-150-5p	miR-192	miR-132-3p	miR-4507	miR-4299	miR-762	miR-3656	miR-483-5p	miR-345	miR-10a	
	miR-423-3p	miR-146a	miR-4530	miR-193a-3p	miR-3679-5p	miR-3162-5p	miR-92b-5p	miR-557	miR-200c	miR-412	
	miR-155-5p	miR-99a	miR-1224-5p	miR-4492	miR-106b-3p	miR-4649-5p	miR-4532	miR-106b	miR-423	miR-610	
Down Regüle	miR-148a-3p	miR-223-3p	miR-199a-3p	miR-181a-5p	miR-125b	miR-203	miR-10b	miR-155	miR-10a-5p	miR-501-3p	
	miR-107	miR-93-5p	miR-15a	miR-186-5p	miR-99a	miR-4640	miR-9	miR-223	miR-148b-3p	miR-7-5p	
	miR-338-5p	miR-210-3p	miR-15b	miR-195-3p	miR-513a-5p	miR-576-5p	miR-192-5p	miR-135a	miR-16-5p		
	miR-204	miR-126	miR-103a	miR-210	miR-23b	miR-578b-5p	miR-200b-3p	miR-184	miR-508-5p		
	miR-145-5p	miR-143	miR-106a	miR-221-5p	miR-30a	miR-888	miR-200b	miR-575	miR-324-5p		
	miR-424-3p	miR-145	miR-211	miR-29b-3p	miR-193b	miR-194	miR-769-5p	miR-375	miR-98		

Tablo 4.9 Karaciğer transplant alıcılarına ait çalışmalarda tespit edilen disregüle miRNA'lar.

Up Regüle	miR-122	miR-155	miR-184	miR-380	miR-493	miR-377	miR-944	miR-542-5p	miR-1228	miR-19a
	miR-133a	miR-940	miR-875-5p	miR-519b-3p	miR-26b	miR-583	miR-374b	miR-29b-1	miR-658	miR-20a
	miR-148a	miR-106a	miR-486-3p	miR-2116	miR-616	miR-541	miR-105	miR-520e	miR-501-3p	miR-let-7e
	miR-194	miR-892a	miR-495	miR-1178	miR-299-3p	miR-550	miR-889	miR-526b	miR-639	miR-146a
	miR-340	miR-497	miR-411	miR-548b-3p	miR-505	miR-425	miR-617	miR-633	miR-31	miR-486-5p
	miR-106b	miR-1289	miR-606	miR-549	miR-518e	miR-525-3p	miR-125b-1	miR-320c	miR-1244	miR-451
	miR-18b	miR-487a	miR-588	miR-27b	miR-548a-5p	miR-200a	miR-1237	miR-611	miR-96	miR-223
Down Regüle	miR-22	miR-24	miR-577	miR-520a-5p	miR-145	miR-644	miR-514	miR-18b	miR-146a	miR-222
	miR-107	miR-191	miR-199b-5p	miR-325	miR-609	miR-548c-3p	miR-142-5p	miR-492	miR-30c-2	miR-296
	miR-378	miR-194	miR-519d	miR-147b	miR-521	miR-556-3p	miR-199a-3p	miR-18a	miR-570	miR-192
	miR-23b	miR-296-5p	miR-363	miR-625	miR-573	miR-544	miR-624	miR-873	miR-1979	miR-27b
	miR-122	miR-455-3p	miR-452	miR-520g	miR-520h	miR-33a	miR-409-5p	miR-516b	miR-605	miR-331-3p
	miR-103	miR-let-7a	miR-656	miR-499-5p	miR-340	miR-220a	miR-491-5p	miR-379	miR-16-2	miR-99a
	miR-125b	miR-155	miR-513b	miR-190b	miR-199b-3p	miR--379	miR-891b	miR-1294	miR-30e	miR-885-5p

Tablo 4.10 Kalp transplant alıcılarına ait çalışmalarda tespit edilen disregüle miRNA'lar.

Up Regüle	miR-98	miR-424-5p	miR-339-3p	miR-155	miR-92a-5p	miR-636	miR-92a	miR-133b
	miR-142-3p	miR-27a-3p	miR-326	miR-29	miR-126-3p	miR-21	miR-133a	
	miR-101-3p	miR-144-3p	miR-628-5p	miR-21-5p	miR-126-5p	miR-31	miR-208a	
Down Regüle	miR-646	miR-451	miR-639	miR-10a				
Değişmeyen	miR-34a	miR-98	miR-204					

Tablo 4.11 Akciğer transplant alıcılarına ait çalışmalarda tespit edilen disregüle miRNA'lar.

Up Regüle	miR-144	miR-21	miR-191	miR-98	miR-374a	miR-27b	miR-103	miR-381
	miR-142-5p	miR-29a	miR-10a	miR-590-5p	miR-28-5p	miR-155	miR-518f	miR-126
Down Regüle	miR-10a	miR-21	miR-497	miR-886-3p	miR-1972	miR-331-5p	miR-135b-3p	miR-134
	miR-195	miR-323a-3p	miR-1914-5p	miR-1248	miR-1254	miR-665	miR-369-5p	miR-299-3p
	miR-133b	miR-593-5p	miR-1237	miR-1914-3p	miR-30c-1-3p	miR-758	miR-548d	miR-29b-1
	miR-134a	miR-891b	miR-675b	miR-552	miR-668	miR-936	miR-628-5p	miR-34a
	miR-451	miR-519e	miR-629					

Tablo 4.12. Karaciğer&Böbrek transplant alıcılarına ait çalışmalarda tespit edilen disregüle miRNA'lar.

Up Regüle	miR-451a	miR-486-5p		
Down Regüle	miR-142-3p	miR-142-5p	miR-29b-3p	miR-545

Tablo 4.13. Pankreas&Böbrek transplant alıcılarına ait çalışmalarda tespit edilen disregüle miRNA'lar.

Up Regüle	miR-574-3p								
Down Regüle	miR-25	miR-27a	miR-130b	miR-132	miR-152	miR-320	miR-326	miR-340	miR-660

4.6. Rejeksiyon İlişkili Disregüle miRNA'lar

Çalışmaya dahil edilen yayınlarda yer alan Antikor aracılı allogreft reddi, T hücre aracılı rejeksiyon, akut rejeksiyon, akut hücrel rejeksiyon, kronik antikor aracılı rejeksiyon, kronik antikor aracılı rejeksiyon tipleri rejeksiyon olarak tek bir başlık altında toplanmış olup up regüle ve down regüle olarak sınıflandırılarak tablo 4.14'te listelenmiştir.

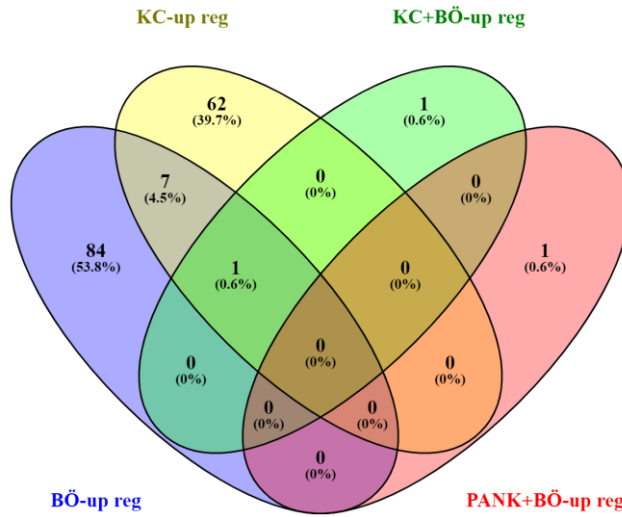
Tablo 4.14. Klinik durumları rejeksiyon olan disregüle miRNA listesi.

Up regüle miRNA	miR-142-3p	miR-144-3p	miR-182-5p	miR-142-5p	miR-92a	miR-20a	miR-194
	miR-140-3p	miR-339-3p	miR-142-5p	miR-155	miR-142-3p	miR-let-7e	miR-122
	miR-486-5p	miR-326	miR-486-5p	miR-142-3p	miR-155	miR-146a	miR-10a
	miR-144	miR-122	miR-29	miR-223	miR-590-5p	miR-142-5p	miR-412
	miR-142-5p	miR-133a	miR-17	miR-122	miR-381	miR-301a	miR-610
	miR-155	miR-148a	miR-140-3p	miR-181a	miR-374a	miR-590-5p	miR-373
	miR-142-3p	miR-194	miR-130b	miR-483-5p	miR-28-5p	miR-32	miR-649
	miR-101-3p	miR-155-5p	miR-122	miR-557	miR-126	miR-503	
	miR-424-5p	miR-142-3p	miR-192	miR-21	miR-27b	miR-122	
	miR-27a-3p	miR-650	miR-99a	miR-31	miR-19a	miR-148a	
Down regüle miRNA	miR-338-5p	miR-15b	miR-210	miR-29b-1	miR-210	miR-578b-5p	
	miR-204	miR-103a	miR-221-5p	miR-34a	miR-10b	miR-888	
	miR-424-3p	miR-106a	miR-29b-3p	miR-451	miR-9	miR-10a	
	miR-10a	miR-338-5p	miR-501-3p	miR-519e	miR-135a	miR-451	
	miR-195	miR-10a-5p	miR-7-5p	miR-629	miR-199a-3p		
	miR-133b	miR-148b-3p	miR-769-5p	miR-576-5p	miR-181a-5p		
	miR-210-3p	miR-16-5p	miR-155	miR-125b	miR-186-5p		

4.7. VENNY diyagramı kullanılarak tespit edilen ortak miRNA'lar

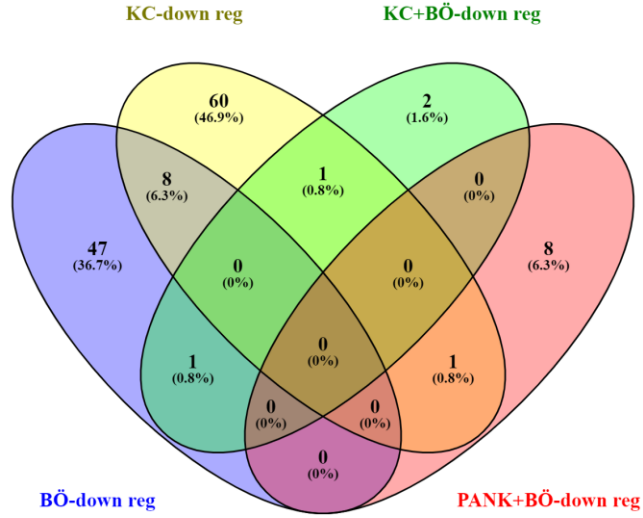
Organ tipine göre sınıflandırılmış miRNA'lardan ortak olanların tespiti için bir çevrim içi kaynak olan VENNY aracı (<http://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/index.html>) kullanıldı. Up regüle ve down regüle şeklinde sınıflandırılan miRNA'lar VENNY aracında listelenerek analiz edildi.

Karaciğer, böbrek ve karaciğer&böbrek ve pankreas&böbrek ikili nakillerini içeren VENNY analizinde "miR-486-5p" karaciğer, böbrek ve karaciğer&böbrek nakillerinde ortak up regüle miRNA olarak bulundu. 4 farklı nakil için ise ortak up regüle miRNA bulunmamıştır (şekil 4.2).



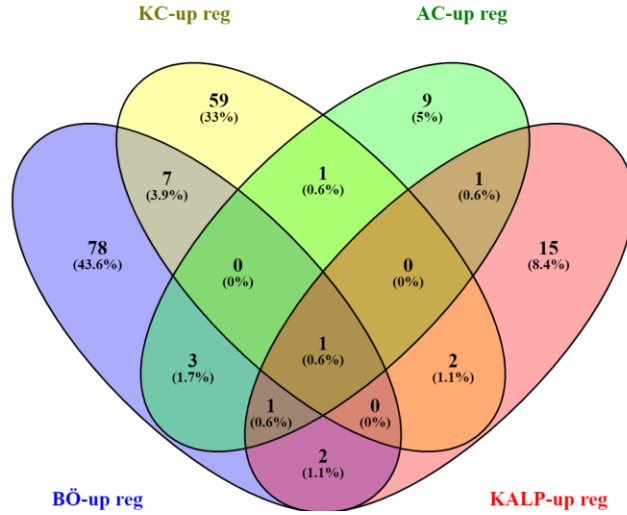
Şekil 4.2. Karaciğer (KC), böbrek (BÖ) ve karaciğer&böbrek (KC+BÖ) ve pankreas&böbrek (PANK+BÖ) ikili transplantasyonlarında up regüle miRNA'ları içeren VENNY diyagramı.

Karaciğer, böbrek ve karaciğer&böbrek ve pankreas&böbrek ikili nakillerinde ortak down regüle miRNA tespiti için yapılan VENNY analizinde ortak down regüle miRNA bulunmamıştır (şekil 4.3).



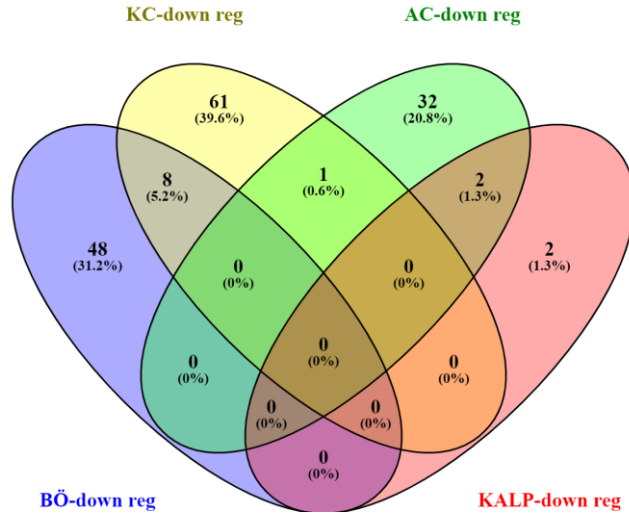
Şekil 4.3. Karaciğer (KC), böbrek (BÖ) ve karaciğer&böbrek (KC+BÖ) ve pankreas&böbrek (PANK+BÖ) ikili nakillerinde down regüle miRNA'ları içeren VENNY diyagramı.

Karaciğer, böbrek, akciğer ve kalp nakillerini içeren VENNY analizinde “mir-155” ortak up regüle miRNA olarak bulundu. (şekil 4.4).



Şekil 4.4. Karaciğer (KC), böbrek (BÖ), akciğer (AC) ve kalp nakillerinde up regüle miRNA'ları içeren VENNY diyagramı.

Karaciğer, böbrek, akciğer ve kalp nakillerini içeren VENNY analizinde ortak down regüle miRNA olarak bulunmamıştır (şekil 4.5).



Şekil 4.5. Karaciğer (KC), böbrek (BÖ), akciğer (AC) ve kalp nakillerinde down regüle miRNA'ları içeren VENNY diyagramı.

4.8. Disregüle miRNA'ların miRWALK ile Belirlenen Hedef Genleri

Karaciğer, böbrek ve karaciğer&böbrek ve pankreas&böbrek ikili nakillerini içeren VENNY analizinde ortak up regüle olarak belirlenen miR486-5p'nin hedef genleri tablo 4.15'te listelenmiştir.

Karaciğer, böbrek, akciğer ve kalp nakillerini içeren VENNY analizinde ortak up regüle olarak belirlenen mir-155'in hedef genleri tablo 4.16'da listelenmiştir.

Tablo 4.15. miRWALK ile belirlenen miR-486-5p'nin hedef genleri.

ABTB2	C16orf93	CRB1	FAM156A	HTR1A	LRRC25	NLRC3	PSG8	SLC10A7	TMEM115	ZFP30
ACCS	C17orf80	CRLS1	FAM156B	ICA1	LSM11	NLRP1	PTEN	SLC12A5	TMEM241	ZFP82
ACSBG1	C19orf73	CSNK1D	FAM161B	ID3	LTBP2	NME1	PTGDR	SLC22A10	TMEM67	ZFR2
ACTB	C21orf59	CSPG5	FAM172A	IGSF3	LUZP2	NMNAT3	PTGER3	SLC22A11	TMX2	ZNF181
ACTRT1	C3orf62	CSTF1	FAM195B	IL17RA	LYPD1	NOL10	PTOV1	SLC26A11	TNFSF4	ZNF257
ADAMTS19	C4orf50	CTDP1	FAM222A	IRAK3	MAFA	NOP2	PYCR2	SLC2A13	TNIP1	ZNF304
ADAMTSL1	C5orf64	CTDSPL2	FAM71C	ISCA1	MAGEE2	NOS2	R3HCC1L	SLC35A4	TNIP3	ZNF331
ADCK2	C6	CTNS	FAN1	ITGB5	MAML3	NOTCH4	RAD51AP1	SLC6A6	TOB1	ZNF37A
ADNP	C6orf195	CXCL10	FBLIM1	ITGBL1	MAP3K7	NPEPL1	RAD51B	SLITRK3	TPM1	ZNF414
ADRA1A	C6orf226	CXCL13	FBXO44	ITPKB	MAP3K7CL	NR2F1	RASSF3	SLMO1	TPPP	ZNF418
AFG3L2	C8A	CXCL2	FBXO47	JDP2	MAPKAP1	NR4A1	RASSF5	SMARCAD1	TRAPPC6B	ZNF510
AGAP1	C9orf37	CXorf61	FERMT3	KAZALD1	MATN2	NUDCD1	RBAK	SMG8	TRAPPC8	ZNF714
AK2	CACNA1H	CYB5R4	FGF7	KCNK6	MCMD2	NUDT16	RBM12	SNRPD3	TRHDE	ZNF728
AKAP14	CAMK2N1	DAAM1	FUNDC2	KDM5D	METTL10	NUDT22	RBM41	SNX15	TRIM10	ZNF740
AKR1B10	CAPN7	DBF4	GBA3	KIAA0100	METTL6	OLFM4	RBM46	SNX22	TRIM35	ZNF808
ANKRD22	CBL	DCAF10	GCNT2	KIAA0141	MKI67	OTOF	RBPJ	SOAT2	TRIM36	ZNF816
ANXA13	CCDC102A	DDX49	GCOM1	KIAA1199	MKLN1	PACSIN1	RBPMS	SOWAHD	TRIM49	ZNF888
AQP11	CCDC175	DEFA4	GGCT	KIAA1467	MLKL	PCCA	RCOR1	SP5	TRIM49C	ZNRF2
AREG	CCDC36	DENND5B	GLIPR1	KIAA1614	MRAS	PDE4DIP	RCOR3	SPAM1	TRNT1	ZW10
AREGB	CCDC90B	DHFR	GNRHR	KIF2B	MRE11A	PDGFC	RDH13	SPATA8	TRPM2	
ARID4B	CCDC91	DHFRL1	GOLGA8J	KLK11	MRM1	PDGFRB	RELT	SPATS2L	TTC14	
ARMC8	CCRL2	DMPK	GOLIM4	KLK6	MROH1	PDK3	RFC2	SPRED1	TTC23L	
ASZ1	CCSER1	DNAH14	GPBP1	KRT28	MRPL13	PDLIM3	RFFL	SRRM5	TTC31	
ATAT1	CD247	DNAH17	GPR110	KRTAP4-4	MRPL2	PDZD2	RGS17	SRSF3	TTC8	
ATF7	CD53	DNAJB3	GPR153	KRTAP4-9	MRPL47	PDZRN3	RGS4	ST5	TLL6	
ATG2B	CDH18	DNAJB6	GPR78	KRTAP7-1	MST4	PEX11B	RHBDF1	ST6GALNAC6	TWF1	

ATP10A	CDK4	DNTTIP2	GPRC5D	LCE3E	MTCH1	PGAP1	RHBDL2	STAMBPL1	TXLNG
ATP13A3	CDKN3	DOCK3	GPT2	LDB2	MTFR1	PGRMC1	RHOQ	STX18	TXNL4A
ATP6V1G3	CDRT1	DOCK7	GPX8	LDHAL6B	MTMR11	PHLDA1	RIPPLY1	SURF4	UBE2N
AWAT1	CELF2	DOT1L	GRHL2	LENG1	MUC17	PIGT	RND2	SUSD1	UBE3B
B9D2	CENPF	DPH2	GSAP	LGALS12	MX11	PIK3AP1	RNF135	SYNM	UBXN10
BAALC	CENPJ	DVL2	GUK1	LILRB4	MYOT	PINK1	RNMTL1	TANC1	UCHL5
BACE2	CEP85L	EFNA1	GZMB	LINGO4	MYZAP	PIWIL1	RPS6KA1	TAP2	UQCRC2
BCAS2	CHRM2	EHHADH	HAT1	LNPEP	NAPB	PLAT	RUNX2	TAS2R3	UROS
BCL2A1	CHST3	EIF3B	HERPUD1	LOC100289097	NCKAP5	PLXNA4	S1PR4	TBX22	VANGL1
BCL2L14	CHST9	EIF4ENIF1	HHAT	LOC100505549	NDUFB9	PMFBP1	SAMD5	TDP2	VASH2
BEST1	CLEC7A	EMP1	HLA-DPA1	LOC100996637	NEK2	PNMA5	SAMM50	TENM2	VHLL
BIRC6	CLIC2	EPHA3	HLA-DQA1	LOC101927707	NF1	POLR1C	SAPCD2	TESPA1	VPS37B
BOLL	CNKS2	EVI5	HLA-DQA2	LOC101928058	NFE2L1	POLR2B	SCNN1B	TGFBI	VTCN1
BTAF1	CNNM4	EXOC8	HLA-DRA	LOC101928291	NFE4	POLR2M	SEC22C	TGM3	VT11A
BTBD11	CNTN4	F2R	HMGA1	LOC101928485	NID1	PPM1B	SERPINE1	TGS1	WDFY3
C11orf49	COL4A3BP	F9	HMHA1	LOC101929740	NKTR	PPP1R16A	SFRP1	TINF2	WDR66
C11orf63	COL6A6	FAHD1	HORMAD1	LOC101930295	NKX2-3	PPP2R2B	SFTPFB	TM4SF20	WSCD1
C14orf2	CPN2	FAM132B	HSD3B7	LRFN5	NLGN1	PRELP	SIMC1	TMCO4	ZC3H10
C16orf90	CRADD	FAM150B	HSPA4L	LRP5L	NLGN3	PSEN1	SIRT1	TMEFF2	ZC3HAV1

Tablo 4.16. miRWALK ile belirlenen miR-155'in hedef genleri.

ABCA1	DHRS12	LOC100996761	POLM	UBQLN3	C1QL2	EN2	IL6R	NABP1	RCBTB2	TMEM229B
ABCF2	DHRS13	LOC101060376	POLR2E	UIMC1	C2orf26	ENY2	INCA1	NARS	RCHY1	TMEM66
ABHD13	DHX34	LOC101060389	POMT1	UNC119	C2orf80	EOMES	ING3	NAV3	RELA	TNFAIP8
ACBD3	DLEU7	LOC101060421	POU2AF1	UQCC2	C3orf18	EPCAM	INHBC	NDFIP1	RELL1	TOMM20
ACO1	DMRT2	LOC101927594	POU2F1	URGCP	C3orf58	EPHA3	INPP5B	NDUFV3	RGP1	TOMM7
ACSBG1	DNAH11	LOC101928291	PPAP2B	USP38	C5orf64	EPM2A	INPP5D	NFATC2IP	RHBDL2	TP53INP1
ADAM12	DNAJA1	LOC101929097	PPHLN1	VAC14	C6orf120	EPS15L1	INPP5F	NFYC	RMDN1	TPGS2
ADCYAP1	DNAJC30	LOC101929568	PRAME	VDR	C8orf22	EPSTI1	INSIG2	NGEF	RNASE4	TPRKB
ADORA1	DOCK8	LOC101929792	PRAMEF12	VGLL3	C8orf44-SGK3	EXOSC2	INTS6	NKX3-1	RNF123	TRAPPC13
ADTRP	DPYSL3	LOC101930072	PRKD3	VPS18	C9orf116	EYA2	IP6K2	NLRP1	RNF149	TRIM23
AIG1	DRAM1	LOC643355	PRR14L	VTN	CA13	FAM105B	IPCEF1	NLRP8	RNF26	TRIM32
ALDOB	DUXA	LRP6	PRR23B	WDR6	CAB39	FAM122C	IRF2BP2	NME4	RPAP1	TRIM36
ALS2	EBAG9	LRRC20	PRTG	WNT9B	CARD10	FAM133A	IRF6	NMT2	RPL17	TRIM44
ANAPC7	EFHB	LRRC23	PSMG3	ZBTB22	CARD11	FAM135A	ITGB3BP	NPHS1	RPRD2	TRIP11
ANKRD18A	EFNB2	LRRC45	PTPLAD2	ZBTB49	CARHSP1	FAM150A	JARID2	NPPA	RPS3	TRIP13
ANKRD18B	EIF2S1	LSM14A	PVRL3	ZDHHC24	CARS2	FAM168A	KALRN	NR1H3	RPS6KA5	TRMT6
ANKRD20A3	EIF3L	LSM2	QSER1	ZFHX4	CASP9	FAM177A1	KANSL1L	NR1I3	RPS6KB1	TRMT61A
ANXA7	EIF5	LTB	RALYL	ZFP2	CBR4	FAM46A	KAT2A	NRCAM	RRAGB	TRPM8
AP4E1	ELAVL3	LTN1	RBFOX1	ZFYVE16	CCDC126	FAM69A	KAT6A	NRG1	RSRC2	TRPS1
AQP3	ENTPD1	LUC7L3	RBMXL3	ZKSCAN7	CCDC140	FAM91A1	KCNIP4	NTN4	RUFY2	TSHZ3
ARFGAP3	ERLIN2	MACROD2	RC3H2	ZNF114	CCDC170	FAR1	KDM2A	NUDT12	S100BPB	TSPAN14
ARHGAP11B	ESRP2	MAFB	RFX4	ZNF140	CCDC41	FBXL17	KDM3A	OAS2	SATB2	TSPAN32
ARID3B	ESRRA	MAGEB18	RGL1	ZNF219	CCDC67	FBXL2	KDM5B	ODF3	SCN2A	TSPAN5
ARPP21	FABP4	MAK	RHPN2	ZNF229	CCNJL	FBXO22	KIAA0430	OLFML3	SCUBE2	TSSK1B
ART1	FAM120C	MAP3K14	RIPPLY1	ZNF365	CCR9	FBXO30	KIAA1210	OOEP	SDCBP	TTF1
ASCL5	FAM219B	MAPK11	RNF114	ZNF394	CCT2	FBXO33	KIF25	ORAOV1	SDCCAG8	TLL13

ATG9A	FAM43B	MBOAT2	RNF217	ZNF410	CD33	FBXO48	KIFC2	OSR1	SEC24A	TWF1
ATP6V0E1	FAM47E	MED23	RPL36A-HNRNPH2	ZNF471	CD36	FGF14	KRT222	OTUB2	SECISBP2	TWSG1
ATPAF2	FAM71F1	MED27	RRP36	ZNF526	CD84	FGF7	KRT37	PAK2	SERINC1	TXNDC12
AVPR2	FAM9C	MEF2B	RUNDC3B	ZNF691	CDC40	FGF9	KRT83	PAK7	SERINC3	TXNDC2
AZI2	FANCD2	MEN1	S100B	ZNF713	CDC42EP4	FGGY	KSR1	PALD1	SERPINA10	TYRP1
B3GNT1	FARP1	MERTK	S1PR4	ZNF77	CDH22	FGL2	L3MBTL4	PANK2	SESTD1	UBQLN1
B4GALT3	FBXL16	MESP2	SASH3	ZNF862	CDKL2	FHL5	LCA5	PAQR3	SF3B1	UBR4
BCAP29	FDX1L	METRN	SCAMP5	ABAT	CDO1	FMNL2	LCORL	PAX3	SFMBT1	UBTD2
BCL11A	FGD1	MGST1	SCARA5	ABCA10	CDX1	FMO5	LDLRAD3	PAXBP1	SGK3	UBXN2B
BCLAF1	FHL1	MICALCL	SEC14L1	ABCD2	CEBPB	FOS	LDLRAP1	PBRM1	SH3GL2	UBXN8
BMP5	FKBP7	MMP20	SEC14L4	ACOT12	CETP	FOXD4	LECT1	PCDH1	SHOX	UGT3A1
BRF2	FUT8	MNX1	SEC16A	ACSM5	CHD8	FOXE1	LHX9	PCDH10	SLC11A2	UPF2
BTD	FUZ	MOB3C	SEMA4D	ACTA1	CHD9	FREM1	LIG4	PCDH9	SLC12A6	UPP2
BTNL9	GABARAP	MOBP	SEMA6C	ACTL7A	CHRNA3	FREM2	LILRA1	PCDHA1	SLC22A10	USH2A
C11orf1	GAS2L2	MPZL3	SENP6	ACTR2	CHST9	FSCN2	LILRB1	PCDHA10	SLC24A3	USP43
C11orf44	GCDH	MRPL16	SHOX2	ACTR8	CIAPIN1	FTH1	LNK2	PCDHA11	SLC25A48	USP44
C12orf52	GCM2	MRPS18A	SIK3	ADAM22	CLCN3	FXR1	LOC101060405	PCDHA12	SLC33A1	USP45
C14orf37	GDNF	MRPS18B	SLAMF7	ADAMTSL3	CLPTM1L	G2E3	LOC101927515	PCDHA13	SLC35A1	USP48
C16orf46	GFER	MSANTD2	SLC16A5	ADRA1A	CLUAP1	GAB3	LOC101928218	PCDHA2	SLC35F2	UTP23
C17orf77	GJB7	MSN	SLC17A1	AGTRAP	CNNM1	GABARAPL1	LOC101928793	PCDHA3	SLC39A10	VCPIP1
C19orf67	GLCC11	MTHFD1	SLC25A6	AHRR	CNOT7	GABRA1	LOC728819	PCDHA4	SLC41A2	VMA21
C19orf68	GLDC	MTHFSD	SLC36A1	AICDA	CNPPD1	GALC	LOC730268	PCDHA5	SLC52A2	VPS36
C1orf105	GLYATL3	MYBL1	SLC38A9	ALDH9A1	CNST	GALT	LPAR3	PCDHA6	SLC5A7	VSIG1
C1orf216	GPR62	MYD88	SLC39A5	ALKBH8	COL19A1	GAR1	LPAR6	PCDHA7	SLCO5A1	WBP1L
C20orf27	GPSM1	MYO15A	SLC4A9	AMBN	COL21A1	GATM	LPHN2	PCDHA8	SLFN11	WDR45
C21orf58	GPX1	MYO1F	SLC6A13	AMELX	COL7A1	GATS	LRAT	PCDHA9	SMAD1	WDR72
C2orf66	GRB10	MYO6	SLX4IP	AMIGO1	COL8A1	GBA	LRIF1	PCDHAC1	SMAD2	WEE1
C5orf30	GREB1	MYOD1	SMAGP	AMT	COLGALT1	GCFC2	LRIT3	PCDHB10	SMARCA4	WHSC1L1

C5orf42	GRID2IP	MYPN	SNAI3	ANAPC16	COPS3	GCNT1	LRP1B	PCSK6	SMKR1	WWC1
C7orf25	GRSF1	NADSYN1	SNX3	ANKRD32	CPLX4	GCSAML	LRP8	PDCD4	SMTNL1	XAF1
C9orf43	GSAP	NARFL	SOD2	ANKRD6	CREM	GDF6	LRRC59	PDE12	SMUG1	XIAP
CA14	GSS	NCAPH2	SORBS1	ANTXR2	CRHBP	GDPD1	LRRTM2	PKD1	SNRPG	YOD1
CALML4	GTDC1	NCOA4	SPAG16	AP1S2	CSE1L	GHITM	LRRTM4	PKD4	SNRPN	YWHAZ
CAMKK1	HDAC2	NDRG3	SPATA18	APAF1	CSF1R	GJA5	LY6K	PDS5A	SOCS1	ZAK
CAPN11	HDX	NDUFA5	SRA1	ARAP3	CSNK1A1	GLDN	LYRM5	PDZD7	SOCS5	ZBTB38
CARF	HEY2	NDUFAF5	SRSF6	ARG1	CSNK1G2	GLRA3	LZTFL1	PEA15	SORCS1	ZBTB41
CCDC117	HGSNAT	NECAB2	STIM1	ARHGAP20	CSRNP2	GLUL	MAGEB3	PEBP1	SOX1	ZC2HC1B
CCDC65	HHATL	NEK11	STK33	ARHGEF28	CSRP2	GMNN	MAGED2	PET112	SPEF2	ZDHHC20
CCDC82	HLA-DOA	NEUROD4	SUPT4H1	ARID2	CSTF1	GNAS	MAP3K10	PGRMC2	SPI1	ZFAND6
CCDC96	HMCES	NFATC1	SYPL2	ARL5A	CTNNA1	GNE	MAP3K5	PHC2	SPIN2A	ZFP36
CCR1	HNF1A	NLGN4X	TAF1D	ARL6IP5	CWC15	GOLGA3	MAP3K7	PHF17	SPIN2B	ZIC3
CDH23	HNRNPH2	NLRP3	TBC1D28	ARMC2	CYFIP1	GOT1	MAPK10	PIWIL3	SPIN3	ZIC5
CENPF	HSBP1	NLRP9	TBC1D3H	ARMS2	CYP2U1	GPD1L	MARVELD3	PJA1	SPIRE1	ZKSCAN5
CEP120	HTT	NMRK2	TBC1D4	ARNTL	CYP7B1	GPM6B	MASTL	PKN2	SPOCK1	ZNF160
CES3	IER3	NOTCH1	TECPR1	ARPC3	CYR61	GPR126	MBNL3	PLEKHA1	SPRTN	ZNF236
CFL2	IGF1R	NR1I2	TEP1	ARRB2	CYYR1	GPR65	MBTD1	PLEKHB2	SSPN	ZNF248
CGN	IL24	NSUN7	TEX9	ARVCF	DAP3	GPSM2	MCM8	PMCH	STARD5	ZNF253
CHRNB4	IMPDH1	NUB1	TGFBR1	ASAP2	DCAF16	GRPEL1	MCTP1	POLE3	STON1	ZNF254
CHST15	INO80	NUDT16	THOC2	ASB10	DCUN1D2	GTF2H5	MED13L	POTEC	SYTL2	ZNF260
CHURC1	INTS10	NUP210	TIMM23B	ASTN2	DDO	GYG1	MED21	PPM1D	TAB2	ZNF28
CLDN19	IRF4	NXPH1	TLK1	ATG3	DDX3Y	H3F3A	MEIG1	PPP1R12B	TADA2B	ZNF33A
CLDND1	ISLR2	OPRM1	TM2D3	ATP2C1	DENND1B	HAPLN2	MEIS1	PPP3R2	TAF5L	ZNF385D
CLIP4	KCNAB2	OR10H1	TMEM167B	ATRN1L	DET1	HARBI1	MIDN	PRDM15	TAPT1	ZNF431
CLNS1A	KCNE4	ORMDL2	TMEM191B	AUH	DHH	HAUS6	MIER1	PRKAR1A	TAS2R7	ZNF468
CNBP	KCNJ12	ORMDL3	TMEM230	AVL9	DHX40	HAVCR1	MITF	PRKAR1B	TBC1D14	ZNF470
CNOT6L	KCNK15	OSBPL10	TMEM241	B3GAT1	DIS3L	HBP1	MLLT4	PRKD1	TBC1D16	ZNF492

CNTLN	KCNMA1	OSBPL7	TMEM38B	B3GNT5	DMTF1	HCN3	MMP16	PRMT2	TBC1D23	ZNF507
COMMD2	KCTD16	OXNAD1	TMEM52	BACH1	DNAJB1	HECW1	MOB4	PRPF39	TBCA	ZNF528
COQ10A	KIAA0100	P2RY2	TMEM86B	BAG5	DNTTIP1	HERC3	MON1A	PRR15	TBCB	ZNF561
CRB2	KIAA0141	P4HA3	TMIGD1	BCL10	DOCK1	HERC4	MORC3	PRR16	TBK1	ZNF562
CREG2	KIAA1199	PBOV1	TMOD3	BEST2	DOK2	HHIP	MPEG1	PRSS12	TBR1	ZNF611
CSRNP1	KIAA1430	PCDH15	TMPPE	BIN2	DOPEY2	HIVEP2	MPP5	PSIP1	TBRG1	ZNF618
CTDSP1	KIAA1919	PCK1	TMPRSS5	BMP2K	DPH6	HMGB3	MPPED2	PSKH1	TCF12	ZNF652
CUX2	KIAA2013	PDCD7	TMX1	BNC2	DPY19L1	HMGC51	MRPL18	PSTK	TCF7L2	ZNF658
CXCL17	KLHDC3	PDE4C	TNF	BOC	DRD1	HMP19	MRPS27	PTGER3	TDO2	ZNF665
CXCL9	KLHL33	PDE4DIP	TNFAIP2	BPIFB2	DRD5	HNRNPA3	MSL3	PTN	TDRD9	ZNF703
CYB561D2	KRTAP11-1	PDPK1	TOR3A	BSDC1	DSCR4	HOGA1	MTRNR2L1	PTPN11	TENM3	ZNF704
DAD1	KRTAP4-11	PGBD2	TPCN1	BTN2A2	DTNB	HOPX	MTRNR2L10	PTPN2	THSD7B	ZNF761
DAPK1	KRTAP4-8	PHF6	TRAK1	C10orf12	DYNC111	HSPE1-MOB4	MTRNR2L3	PTPRG	TIA1	ZNF765
DBF4	LANCL3	PI4K2A	TRAPPC8	C10orf35	DYRK2	HYDIN	MTRNR2L4	PTPRQ	TINAG	ZNF808
DCAF10	LDB2	PIEZO1	TRAPPC9	C11orf71	E2F2	HYI	MTRNR2L5	PYGO1	TIPARP	ZNF812
DCAF11	LHFP	PITPNA	TRIM68	C12orf40	EBPL	IAPP	MTRNR2L6	QKI	TLE4	ZNF829
DCTN5	LIMCH1	PLA2R1	TUBA4A	C14orf119	ECSCR	IFNLR1	MTRNR2L7	RAB1A	TLR6	ZNF83
DDC	LIMK2	PLCG2	TUBA8	C14orf142	ECT2L	IGFBP7	MTRNR2L9	RAB34	TM6SF1	ZNF845
DDX18	LINC00843	PLIN4	TUSC5	C16orf62	EEF2	IGJ	MUC20	RAB39B	TMED3	ZNF860
DENND1A	LIPC	PLXNA4	TXLNA	C17orf80	EEPD1	IKBIP	MYLK	RAD51C	TMEM123	ZNF880
DENND5B	LMX1A	PNLIPRP3	TXNIP	C18orf8	EGFR	IKBKG	MYO10	RAPGEF2	TMEM178A	ZNF98
DESI2	LOC100129083	POGLUT1	UBA6	C19orf77	ELK3	IL17RB	MYO1D	RBAK	TMEM200C	ZPLD1
DGKH	LOC100130357	POLL	UBE2B	C1orf86	ELMOD1	IL36G	MYOZ2	RBP2	TMEM202	ZSCAN12
										ZSWIM6

4.9. WebGestalt ve KEGG ile yapılan yolak analiz sonuçları

Karaciğer, böbrek ve karaciğer&böbrek ve pankreas&böbrek ikili nakillerini içeren VENNY analizinde ortak up regüle olarak belirlenen miR-486-5p'nin WebGestalt yolak analiz sonuçları tablo 4.17'de listelenmiştir.

Tablo 4.17. miR-486-5p'ye ait WebGestalt yolak analizi.

Yolak Adı	
Tip 1 diyabet	Graft-versus-host hastalığı
Fagazom	Notch sinyal yolağı
Kompleman ve pıhtılaşma kaskadları	Metabolik yolaklar
Leishmaniasis	Otoimmün tiroid hastalığı
Allogreft rejeksiyonu	Astım

Karaciğer, böbrek, akciğer ve kalp nakillerini içeren VENNY analizinde ortak up regüle olarak belirlenen mir-155'in WebGestalt yolak analiz sonuçları tablo 4.18'de listelenmiştir.

Tablo 4.18. miR-155'e ait WebGestalt yolak analizi.

Yolak Adı	
Ostekoklast farklılaşma	Metabolik yolaklar
Kanser yolakları	Apoptoz
T hücre reseptör sinyal yolağı	Toll-benzer reseptör sinyal yolağı
NOD-benzer reseptör sinyal yolağı	Adherens junction
Mapkinaz sinyal yolağı	Toksoplazmozis

Klinik durumları rejeksiyon olan miRNA'lara ait WebGestalt yolak analiz sonuçları up regüle miRNA'lar tablo 4.19'da, down regüle miRNA'ise tablo 4.20'de verilmiştir.

Tablo 4.19. Rejeksiyon ilişkili up regüle miRNA'ların WebGestalt yolak analizi.

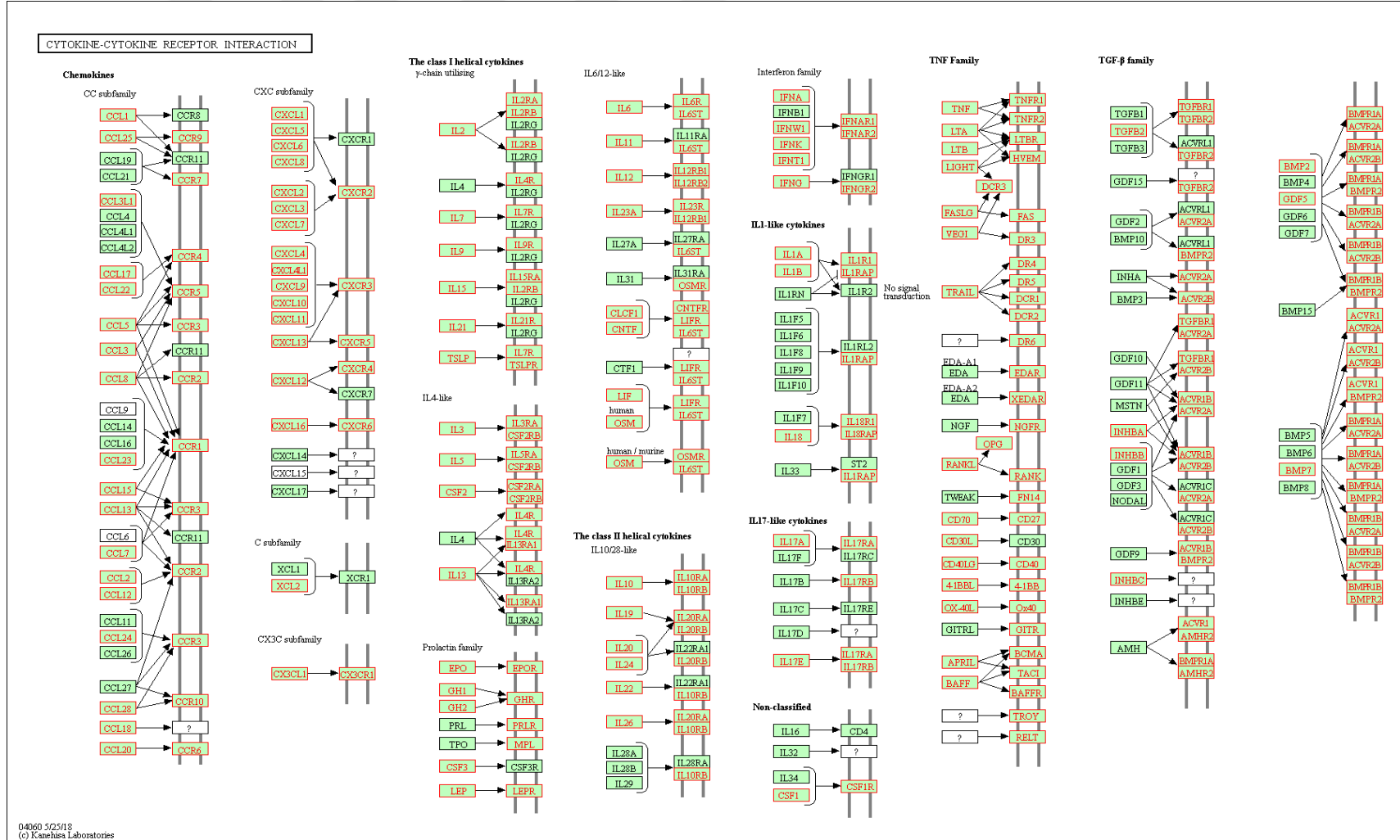
Yolak Adı	
Metabolik yolaklar	Fokal adezyon
Kanser yolakları	Endositozis
Mapkinaz sinyal yolağı	Sitokin-sitokin reseptör interaksyonu
WNT sinyal yolağı	Endoplazmik retikulumda protein işlenmesi
Aktin hücre iskeletinin regülasyonu	İnsülin sinyal yolağı

Tablo 4.20. Rejeksiyon ilişkili down regüle miRNA'ların WebGestalt yolak analizi.

Yolak Adı	
Metabolik yollar	Sitokin-sitokin reseptör interaksyonu
Kanser yolları	Nöroaktif ligand reseptör interaksyonu
Endositozis	Sitokin-sitokin reseptör interaksyonu
Kalsiyum sinyal yolağı	Fokal adezyon
Mapkinaz sinyal yolağı	Kemokin sinyal yolağı
Hücre adezyon molekülleri	

Rejeksiyon ilişkili down regüle miRNA'ların Webgestalt yolak analizinde belirtilen ve immün yanıtın oluşmasında önemli rolü olan sitokin-sitokin reseptör interaksyon yolağını özetleyen KEGG yolak analizi şekil 4.6'da gösterilmiştir.





Şekil 4.6. Rejeksiyon ilişkili miRNA'ların KEGG analizi ile sitokin-sitokin reseptör interaksiyon yolunun gösterilmesi.

5. TARTIŞMA

İntegratif analiz, aynı konuda benzer olan farklı çalışmalara ait verileri bir araya getirerek biyoinformatik yöntemler aracılığıyla kapsamlı ve genellenmiş bir sonuca ulaşılmasını sağlamaktadır. Kısıtlı veya geniş çaptaki hasta grubuna sahip çalışmaların bir araya getirilmesi sayesinde örneklem büyüklüğünün artması, yöntemi güçlü kılmaktadır.

miRNA'ların ekspresyon seviyelerindeki artış hedef genleri inhibe ederek posttranskripsiyonel regülasyonu etkilediğinden, bu moleküller, hücresel fonksiyonların anlaşılmasında biyobelirteç adayları olarak görülmektedir. Hücre ve doku spesifik miRNA'ların, farklı ekspresyon profiline sahip olmalarından dolayı biyobelirteç adayları olarak önemi vurgulanmaktadır (Panwar ve ark., 2017; Alberti ve ark., 2018).

Solid organ nakillerinde geliştirilmiş cerrahi teknikler ve kombine immünesupresif ilaçlar sayesinde günümüzde başarı ve sağ kalım oranı oldukça yükselmiştir. Ancak hücresel ve moleküler açıdan yüksek immunojenite ve çoklu değişken içeren solid organ nakillerinde uzun vadedeki başarının artırılması için pre-op ve post-op monitorizasyon, immünesupresan seçimi ve uygulanması gibi değerlendirme parametrelerinde invaziv olmayan prognostik biyobelirteçler üzerinde çalışmalar gündemdedir. Bu biyobelirteçlerin arasında en güncel olanlardan biri de yüksek oranda korunmuş DNA bölgelerinden kodlanan ve translasyonu gerçekleşmeyen küçük regülatör RNA molekülleri olan mikroRNA (miRNA) 'lardır. Solid organ nakillerinde hastalardan elde edilen kan, idrar, doku gibi örneklerde miRNA spesifik ekspresyon seviyelerini gösteren pek çok çalışma mevcuttur.

Transplantasyon sonrası takipte organ hasarı ve reddi ile ilişkili biyobelirteç adayları miRNA'larla ilgili çalışmaların sayısı günden güne artmaktadır. Fakat günümüze kadar bu çalışmaları bir araya getiren ve hedef gen ve yolak analizlerini ortaya koyan bir integratif meta-analizi çalışması bulunmamaktadır. Çalışmamız, farklı solid organ transplantasyonlarında miRNA profillerini bu yöntem değerlendiren ilk çalışma olması sebebiyle özgün bir değere sahiptir.

Araştırmaya dahil edilen çalışmaların her birinde organ transplantasyonu ile ilişkili yüzlerce miRNA ekspresyon profilleri incelenmiş ve bunların arasından anlamlı ($p < 0.05$) disregüle miRNA'lar tespit edilmiştir. Şubat 2019'a kadar Pubmed veri tabanında yayınlanmış çalışmalar incelendiğinde 2315'i deney 1442'si kontrol grubu olmak üzere toplam 3757 denek sayısı ile 182'si up regüle, 164'ü down regüle ve 3'ü değişmeyen olmak üzere toplam 346 adet disregüle miRNA belirlenmiştir.

346 disregüle miRNA arasında böbrek, karaciğer nakillerinde ön plana çıkan up regüle miR-486-5p'nin immün yanıtın oluşmasında etkili olan özellikle Notch sinyal yolağı, T hücre reseptör sinyal yolağı ve allogreft rejeksiyon yolları ile ilişkisi ortaya konulmuştur. Yine yapılan WebgeStalt analizi sonucunda metabolik yollar, kompleman ve pıhtılaşma kaskadları ve fagazom yollarında etkili oldukları da görülmüştür.

Böbrek naklinde kronik antikor aracılı rejeksiyonda aşırı eksprese oldukları gösterilen miR-486-5p'nin çeşitli hücre tiplerinde foxO1, foxO3 ve PTEN ekspresyonlarını regüle ettiği bildirilmiştir (Iwasaki ve ark., 2017). Foxo1 transkripsiyon faktörü, CD4 ve regülatör T hücrelerinin homeostazisini etkilediği bilindiğinden (Newton ve ark., 2018), bu noktada miR-486-5p'nin immüniteye dair öngörülse bir biyobelirteç olma potansiyeli karşımıza çıkmaktadır.

Karaciğer, böbrek, akciğer ve kalp nakillerinde ortak up regüle mir-155 immünite ilişkili Mapkinaz sinyal yolağı, T hücre reseptör sinyal yolağı, Toll-benzer reseptör sinyal yolağının yanı sıra apoptoz, metabolik yollar, adherens junction sinyal yollarında düzenleyici rol aldığı ortaya konmuştur.

Up regüle miR-155'in nakil sonrası rejeksiyonla bağlantısını ortaya koyan çalışmalarda T ve B hücrelerinde sitokin sentezinin regülasyonunda etkili olduğu ve nakil sonrasında humoral ve hücrel reddin sorumlu olduğu rapor edilmiştir (Paladini ve ark., 2019). miR-155, CD4+ T hücrelerinin gelişiminde ve T yardımcı hücrelerine farklılaşmasını sağlayan mekanizmalarda rol aldığı bilinmektedir. Ayrıca miR-155'in T ve doğal öldürücü hücrelerde IFN γ sentezinin regülasyonunda görev aldığı gösterilmiştir (Banerjee ve ark., 2010). Yine yapılan çalışmalarda periferik kanda ve intraselüler CD4+ ve CD8+ T hücrelerinde IFN γ sentezinin böbrek greft reddi ile ilişkili olduğu ve böbrek, karaciğer nakillerinde prognostik faktör olabileceği

düşünülmektedir (Millán ve ark., 2014). Ayrıca immün sistem hücrelerinin merkezi regülasyonunda rol alan sitokin sinyal 1 supresör 1 (SOCS1), miR-155'in hedeflediği önemli genlerden birisidir. Allogreft rejeksiyonla ilişkisi olan ve adaptif immüniteyi yakından etkilediği bilinen miR-155 nakil sonrası immün yanıtın erken teşhisinde potansiyel biyobelirteç olarak öngörülmektedir.



6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Çalışmada, solid organ nakli sonrası immün yanıtın belirlenmesinde, up regüle miRNA'lar olarak ön plana çıkan miR-486-5p ve miR-155 biyobelirteç adayları olarak düşünülebilir. Bu amaçla her iki miRNA'nın organ nakli alıcılarından invaziv olmayan yöntemlerle elde edilmesiyle yapılacak validasyonları ile genişletilmiş çalışmalar yapılabilir.

Organ tipi ayırt edilmeksizin Tablo 4.14'te sunulan rejeksiyon ilişkili disregüle miRNA'lar ile mikrodizin tabanlı yöntemler kullanılarak hastalarda nakil öncesi ve sonrası ekspresyon profillerinin değerlendirilmesi, greft durumunun anlaşılmasında etkili olabilecek miRNA'ların keşfinde katkı sağlayabilir.

Literatüre bakıldığında organ naklinde miRNA ekspresyon profillerinin ortaya konulduğu birbirinden bağımsız olan çalışmalarda, deney tasarımları transplantasyon sonrasında alınan örnekler üzerinden oluşturulmuştur. Bu kapsam üzerinden değerlendirildiğinde greft hasarı ve rejeksiyonun oluşumu noktasında hedef miRNA'ların ekspresyon seviyelerinin, nakil öncesinde mi yoksa sonrasında mı değişiklik gösterdiği sorusunun aydınlatılması, biyobelirteç adayları miRNA'ların eğer var ise aralarındaki farkları ortaya çıkarabilir. Bu nedenle solid organ nakillerinde yapılacak miRNA profillemeye çalışmalarda deney tasarımı oluşturulurken, nakil öncesi-sonrası şeklinde ve eğer uygulanıyorsa immünsüpresan kullanımının da değerlendirilmeye alınması önerilmektedir.

KAYNAKLAR

Alberti, C., Manzenreither, R. A., Sowemimo, I., Burkard, T. R., Wang, J., Mahofsky, K., Cochella, L. Cell-type specific sequencing of micrnas from complex animal tissues. *Nat Methods*. 2018; 15 (4): 283-289.

Ambros, V., Bartel, B., Bartel, D. P., Burge, C. B., Carrington, J. C., Chen, X., Tuschl, T. A uniform system for micrna annotation. *RNA*. 2003; 9 (3): 277-279.

Amrouche, L., Desbuissons, G., Rabant, M., Sauvaget, V., Nguyen, C., Benon, A., Anglicheau, D. Micrna-146a in human and experimental ischemic aki: Cxcl8-dependent mechanism of action. *J Am Soc Nephrol*. 2017; 28 (2): 479-493.

Asaoka, T., Hernandez, D., Tryphonopoulos, P., Tekin, A., Garcia, J., Nishida, S., Ruiz, P. Clinical significance of intragraft mir-122 and -155 expression after liver transplantation. *Hepato Res*. 2015; 45 (8): 898-905.

Ballarino, M., Pagano, F., Girardi, E., Morlando, M., Cacchiarelli, D., Marchioni, M., Bozzoni, I. Coupled rna processing and transcription of intergenic primary micrnas. *Mol Cell Biol*. 2009; 29 (20): 5632-5638.

Banerjee, A., Schambach, F., DeJong, C. S., Hammond, S. M., & Reiner, S. L. J. E. j. o. i. Micro-rna-155 inhibits ifn- γ signaling in cd4+ t cells. 2010; 40 (1): 225-231.

Barry, C. T., D'Souza, M., McCall, M., Safadjou, S., Ryan, C., Kashyap, R., . Godfrey, T. E. Micro rna expression profiles as adjunctive data to assess the risk of hepatocellular carcinoma recurrence after liver transplantation. *Am J Transplant*. 2012; 12 (2): 428-437.

Bartel, D. P. Micrnas: Genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*. 2004; 116 (2): 281-297.

Berard, J. L., Velez, R. L., Freeman, R. B., & Tsunoda, S. M. A review of interleukin-2 receptor antagonists in solid organ transplantation. *Pharmacotherapy*. 1999; 19 (10): 1127-1137.

Bijkerk, R., Duijs, J. M., Khairoun, M., Ter Horst, C. J., van der Pol, P., Mallat, M. J., Reinders, M. E. Circulating micrnas associate with diabetic nephropathy and systemic microvascular damage and normalize after simultaneous pancreas-kidney transplantation. *Am J Transplant*. 2015; 15 (4): 1081-1090.

Bijkerk, R., Florijn, B. W., Khairoun, M., Duijs, J., Ocak, G., de Vries, A. P. J., Reinders, M. E. J. Acute rejection after kidney transplantation associates with circulating micrnas and vascular injury. *Transplant Direct*. 2017; 3 (7): e174.

Bohnsack, M. T., Czaplinski, K., & Gorlich, D. Exportin 5 is a rangtp-dependent dsrna-binding protein that mediates nuclear export of pre-mirnas. *RNA*. 2004; 10 (2): 185-191.

Brigant, B., Metzinger-Le Meuth, V., Massy, Z. A., McKay, N., Liabeuf, S., Pelletier, M., Metzinger, L. Serum micrnas are altered in various stages of chronic kidney disease: A preliminary study. *Clin Kidney J.* 2017; 10 (1): 30-37.

Budding, K., Rossato, M., van de Graaf, E. A., Kwakkel-van Erp, J. M., Radstake, T., & Otten, H. G. Serum mirnas as potential biomarkers for the bronchiolitis obliterans syndrome after lung transplantation. *Transpl Immunol.* 2017; 42: 1-4.

Chen, C., Ridzon, D. A., Broomer, A. J., Zhou, Z., Lee, D. H., Nguyen, J. T., Guegler, K. J. Real-time quantification of micrnas by stem-loop rt-pcr. *Nucleic acids research.* 2005; 33 (20): e179.

Chen, H., Miao, R., Fan, J., Han, Z., Wu, J., Qiu, G., Peng, Z. Decreased expression of mir-126 correlates with metastatic recurrence of hepatocellular carcinoma. *Clin Exp Metastasis.* 2013; 30 (5): 651-658.

Chen, H. Y., Han, Z. B., Fan, J. W., Xia, J., Wu, J. Y., Qiu, G. Q., Peng, Z. H. Mir-203 expression predicts outcome after liver transplantation for hepatocellular carcinoma in cirrhotic liver. *Med Oncol.* 2012; 29 (3): 1859-1865.

Chen, X., Ba, Y., Ma, L., Cai, X., Yin, Y., Wang, K., Zhang, C. Y. Characterization of micrnas in serum: A novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases. *Cell research.* 2008; 18 (10): 997-1006.

Choo, S. Y. The hla system: Genetics, immunology, clinical testing, and clinical implications. *J Yonsei medical journal.* 2007; 48 (1): 11-23.

Colvin, R. B., & Smith, R. N. Antibody-mediated organ-allograft rejection. *Nat Rev Immunol.* 2005; 5 (10): 807-817.

Cooper, D. K., Ekser, B., & Tector, A. J. J. I. j. o. s. Immunobiological barriers to xenotransplantation. 2015; 23: 211-216.

Croce, C. M., & Calin, G. A. Mirnas, cancer, and stem cell division. *Cell.* 2005; 122 (1): 6-7.

Danger, R., Pallier, A., Giral, M., Martinez-Llordella, M., Lozano, J. J., Degauque, N., Brouard, S. Upregulation of mir-142-3p in peripheral blood mononuclear cells of operationally tolerant patients with a renal transplant. *J Am Soc Nephrol.* 2012; 23 (4): 597-606.

Danger, R., Paul, C., Giral, M., Lavault, A., Foucher, Y., Degauque, N., Brouard, S. Expression of mir-142-5p in peripheral blood mononuclear cells from renal transplant patients with chronic antibody-mediated rejection. *PLoS One.* 2013; 8 (4): e60702.

De Candia, P., De Rosa, V., Casiraghi, M., & Matarese, G. J. J. o. B. C. Extracellular rnas: A secret arm of immune system regulation. 2016; 291 (14): 7221-7228.

Domenico, T. D., Joelsons, G., Montenegro, R. M., & Manfro, R. C. Upregulation of micrna 142-3p in the peripheral blood and urinary cells of kidney transplant

recipients with post-transplant graft dysfunction. *Braz J Med Biol Res.* 2017; 50 (4): e5533.

Dumontet, E., Danger, R., Vagefi, P. A., Londono, M. C., Pallier, A., Lozano, J. J., Conchon, S. Peripheral phenotype and gene expression profiles of combined liver-kidney transplant patients. *Liver Int.* 2016; 36 (3): 401-409.

Duong Van Huyen, J. P., Tible, M., Gay, A., Guillemain, R., Aubert, O., Varnous, S., Jouven, X. Micrnas as non-invasive biomarkers of heart transplant rejection. *European heart journal.* 2014; 35 (45): 3194-3202.

Edgerly, C. H., & Weimer, E. T. The past, present, and future of hla typing in transplantation. *Methods Mol Biol.* 2018; 1802: 1-10.

ElHefnawi, M., Soliman, B., Abu-Shahba, N., & Amer, M. An integrative meta-analysis of micrnas in hepatocellular carcinoma. *Genomics Proteomics Bioinformatics.* 2013; 11 (6): 354-367.

Engels, B. M., & Hutvagner, G. J. O. Principles and effects of microrna-mediated post-transcriptional gene regulation. 2006; 25 (46): 6163.

Fan, M. Q., Huang, C. B., Gu, Y., Xiao, Y., Sheng, J. X., & Zhong, L. Decrease expression of microrna-20a promotes cancer cell proliferation and predicts poor survival of hepatocellular carcinoma. *Journal of Experimental and Clinical Cancer Research.* 2013; 32 (1): 1.

Farid, W. R., Pan, Q., van der Meer, A. J., de Ruiter, P. E., Ramakrishnaiah, V., de Jonge, J., van der Laan, L. J. Hepatocyte-derived micrnas as serum biomarkers of hepatic injury and rejection after liver transplantation. *Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society.* 2012; 18 (3): 290-297.

Feng, J., Wang, J., Chen, M., Chen, G., Wu, Z., Ying, L., Wang, W. Mir-200a suppresses cell growth and migration by targeting *maccl1* and predicts prognosis in hepatocellular carcinoma. *Oncol Rep.* 2015; 33 (2): 713-720.

Fine, N. M., & Kushwaha, S. S. J. T. Recent advances in mammalian target of rapamycin inhibitor use in heart and lung transplantation. 2016; 100 (12): 2558-2568.

Fulton, B., & Markham, A. J. D. Mycophenolate mofetil. 1996; 51 (2): 278-298.

Gao, L., & Jiang, F. Microrna (mirna) profiling. *Methods Mol Biol.* 2016; 1381: 151-161.

Ge, L., Habel, D. M., Hansbro, P. M., Kim, R. Y., Gharib, S. A., Edelman, J. D., Chen, P. Mir-323a-3p regulates lung fibrosis by targeting multiple profibrotic pathways. *JCI Insight.* 2016; 1 (20): e90301.

Gehrau, R. C., Mas, V. R., Dumur, C. I., Ladie, D. E., Suh, J. L., Luebbert, S., & Maluf, D. G. Regulation of molecular pathways in ischemia-reperfusion injury after liver transplantation. *Transplantation.* 2013; 96 (10): 926-934.

Gelley, F., Zadori, G., Nemes, B., Fassan, M., Lendvai, G., Sarvary, E., Kiss, A. MicroRNA profile before and after antiviral therapy in liver transplant recipients for hepatitis c virus cirrhosis. *J Gastroenterol Hepatol.* 2014; 29 (1): 121-127.

Gershon, D. Microarray technology: An array of opportunities. 2002; 416 (6883): 885.
Guo, S., Guo, X., Wang, S., Nie, Q., Ni, G., & Wang, C. Role of mir-29 as marker of risk of acute rejection after heart transplant. *Br J Biomed Sci.* 2017; 74 (4): 187-192.

Ha, M., & Kim, V. N. Regulation of microRNA biogenesis. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2014; 15 (8): 509-524.

Han, Z. B., Chen, H. Y., Fan, J. W., Wu, J. Y., Tang, H. M., & Peng, Z. H. Up-regulation of microRNA-155 promotes cancer cell invasion and predicts poor survival of hepatocellular carcinoma following liver transplantation. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2012; 138 (1): 153-161.

Han, Z. B., Zhong, L., Teng, M. J., Fan, J. W., Tang, H. M., Wu, J. Y., Peng, Z. H. Identification of recurrence-related microRNAs in hepatocellular carcinoma following liver transplantation. *Mol Oncol.* 2012; 6 (4): 445-457.

Hedges, L. V., & Olkin, I. (1985). *Statistical methods for meta analysis.* In: Academic Press.

Heeger, P. S., & Dinavahi, R. Transplant immunology for non-immunologist. *Mt Sinai J Med.* 2012; 79 (3): 376-387.

Holt, C. D. Overview of immunosuppressive therapy in solid organ transplantation. *Anesthesiol Clin.* 2017; 35 (3): 365-380.

Ingle, G. R., Sievers, T. M., & Holt, C. D. Sirolimus: Continuing the evolution of transplant immunosuppression. 2000; 34 (9): 1044-1055.

Ingulli, E. Mechanism of cellular rejection in transplantation. *Pediatr Nephrol.* 2010; 25 (1): 61-74.

Iwasaki, K., Yamamoto, T., Inanaga, Y., Hiramitsu, T., Miwa, Y., Murotani, K., Kobayashi, T. Mir-142-5p and mir-486-5p as biomarkers for early detection of chronic antibody-mediated rejection in kidney transplantation. *Biomarkers.* 2017; 22 (1): 45-54.

Jin, P., Chen, H., Xie, J., Zhou, C., & Zhu, X. Essential role of microRNA-650 in the regulation of b-cell cll/lymphoma 11b gene expression following transplantation: A novel mechanism behind the acute rejection of renal allografts. *Int J Mol Med.* 2017; 40 (6): 1840-1850.

Joshi, D., Salehi, S., Brereton, H., Arno, M., Quaglia, A., Heaton, N., Aluvihare, V. Distinct microRNA profiles are associated with the severity of hepatitis c virus recurrence and acute cellular rejection after liver transplantation. *Liver Transpl.* 2013; 19 (4): 383-394.

Kanehisa, M. Kegg: Kyoto encyclopedia of genes and genomes. *Nucleic acids research*. 2000; 28 (1): 27-30.

Ketting, R. F., Fischer, S. E., Bernstein, E., Sijen, T., Hannon, G. J., & Plasterk, R. H. Dicer functions in rna interference and in synthesis of small rna involved in developmental timing in *c. Elegans*. *Genes Dev*. 2001; 15 (20): 2654-2659.

Khorsandi, S. E., Quaglia, A., Salehi, S., Jassem, W., Vilca-Melendez, H., Prachalias, A., Heaton, N. The microrna expression profile in donation after cardiac death (dcd) livers and its ability to identify primary non function. *PLoS One*. 2015; 10 (5): e0127073.

Kozomara, A., Birgaoanu, M., & Griffiths-Jones, S. J. N. a. r. Mirbase: From microrna sequences to function. 2018; 47 (D1): D155-D162.

Krenzien, F., Keshi, E., Splith, K., Griesel, S., Kamali, K., Sauer, I. M., Schmelzle, M. Diagnostic biomarkers to diagnose acute allograft rejection after liver transplantation: Systematic review and meta-analysis of diagnostic accuracy studies. *Front Immunol*. 2019; 10: 758.

Landgraf, P., Rusu, M., Sheridan, R., Sewer, A., Iovino, N., Aravin, A., Tuschl, T. A mammalian microrna expression atlas based on small rna library sequencing. *Cell*. 2007; 129 (7): 1401-1414.

Lankisch, T. O., Voigtlander, T., Manns, M. P., Holzmann, A., Dangwal, S., & Thum, T. Micrnas in the bile of patients with biliary strictures after liver transplantation. *Liver Transpl*. 2014; 20 (6): 673-678.

Lee, Y., Kim, M., Han, J., Yeom, K. H., Lee, S., Baek, S. H., & Kim, V. N. Microrna genes are transcribed by rna polymerase ii. *EMBO J*. 2004; 23 (20): 4051-4060.

Liese, J., Peveling-Oberhag, J., Doering, C., Schnitzbauer, A. A., Herrmann, E., Zangos, S., Ulrich, F. A possible role of micrnas as predictive markers for the recurrence of hepatocellular carcinoma after liver transplantation. *Transpl Int*. 2016; 29 (3): 369-380.

Lingel, A., Simon, B., Izaurralde, E., & Sattler, M. J. N. Structure and nucleic-acid binding of the drosophila argonaute 2 paz domain. 2003; 426 (6965): 465.

Liu, C. G., Calin, G. A., Volinia, S., & Croce, C. M. Microrna expression profiling using microarrays. *Nature protocols*. 2008; 3 (4): 563-578.

Liu, J., Carmell, M. A., Rivas, F. V., Marsden, C. G., Thomson, J. M., Song, J.-J., Hannon, G. J. J. S. Argonaute2 is the catalytic engine of mammalian rna. 2004; 305 (5689): 1437-1441.

Lorenzen, J. M., Volkmann, I., Fiedler, J., Schmidt, M., Scheffner, I., Haller, H., Thum, T. Urinary mir-210 as a mediator of acute t-cell mediated rejection in renal allograft recipients. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons*. 2011; 11 (10): 2221-2227.

- Macklin, P. S., Morris, P. J., & Knight, S. R. A systematic review of the use of rituximab for desensitization in renal transplantation. *Transplantation*. 2014; 98 (8): 794-805.
- Maluf, D. G., Dumur, C. I., Suh, J. L., Scian, M. J., King, A. L., Cathro, H., Mas, V. R. The urine microrna profile may help monitor post-transplant renal graft function. *Kidney international*. 2014; 85 (2): 439-449.
- Man, K., Ma, Y. Y., Geng, W., Yeung, O. W.-H., Liu, X. B., Li, C. X., Lo, C. M. Early-phase circulating mirnas predict tumor recurrence and survival of hepatocellular carcinoma patients after liver transplantation. *Oncotarget*. 2016; 7 (15).
- Mardis, E. R. The impact of next-generation sequencing technology on genetics. *Trends in Genetics*. 2008; 24 (3): 133-141.
- Martin, S. T., Tichy, E. M., & Gabardi, S. Belatacept: A novel biologic for maintenance immunosuppression after renal transplantation. *Pharmacotherapy*. 2011; 31 (4): 394-407.
- Mas, V. R., Mueller, T. F., Archer, K. J., & Maluf, D. G. Identifying biomarkers as diagnostic tools in kidney transplantation. *Expert Review of Molecular Diagnostics*. 2014; 11 (2): 183-196.
- Matz, M., Heinrich, F., Lorkowski, C., Wu, K., Klotsche, J., Zhang, Q., Mashreghi, M. F. Microrna regulation in blood cells of renal transplanted patients with interstitial fibrosis/tubular atrophy and antibody-mediated rejection. *PLoS One*. 2018; 13 (8): e0201925.
- Matz, M., Lorkowski, C., Fabritius, K., Durek, P., Wu, K., Rudolph, B., Budde, K. Free microrna levels in plasma distinguish t-cell mediated rejection from stable graft function after kidney transplantation. *Transpl Immunol*. 2016; 39: 52-59.
- Milhoransa, P., Montanari, C. C., Montenegro, R., & Manfro, R. C. Micro rna 146a-5p expression in kidney transplant recipients with delayed graft function. *J Bras Nefrol*. 2018.
- Millan, O., Budde, K., Sommerer, C., Aliart, I., Rissling, O., Bardaji, B., Brunet, M. Urinary mir-155-5p and cxcl10 as prognostic and predictive biomarkers of rejection, graft outcome and treatment response in kidney transplantation. *Br J Clin Pharmacol*. 2017; 83 (12): 2636-2650.
- Millán, O., Rafael-Valdivia, L., San Segundo, D., Boix, F., Castro-Panete, M., López-Hoyos, M., Navasa, M. J. C. i. Should ifn- γ , il-17 and il-2 be considered predictive biomarkers of acute rejection in liver and kidney transplant? Results of a multicentric study. 2014; 154 (2): 141-154.
- Miyamoto, S. D., Karimpour-Fard, A., Peterson, V., Auerbach, S. R., Stenmark, K. R., Stauffer, B. L., & Sucharov, C. C. Circulating microrna as a biomarker for recovery in pediatric dilated cardiomyopathy. *J Heart Lung Transplant*. 2015; 34 (5): 724-733.

- Mohty, M., Bacigalupo, A., Saliba, F., Zuckermann, A., Morelon, E., & Lebranchu, Y. New directions for rabbit antithymocyte globulin (thymoglobulin((r))) in solid organ transplants, stem cell transplants and autoimmunity. *Drugs*. 2014; 74 (14): 1605-1634.
- Montgomery, R., Loupy, A., & Segev, D. J. A. J. o. T. Antibody-mediated rejection: New approaches in prevention and management. 2018; 18: 3-17.
- Morita, K., Shirabe, K., Taketomi, A., Soejima, Y., Yoshizumi, T., Uchiyama, H., Maehara, Y. Relevance of microrna-18a and microrna-199a-5p to hepatocellular carcinoma recurrence after living donor liver transplantation. *Liver Transpl*. 2016; 22 (5): 665-676.
- Morris, A., Hewitt, C., & Young, S. J. M. a. o. m. The major histocompatibility complex: Its genes and their roles in antigen presentation. 1994; 15 (5): 377-503.
- Morris, P. J., & Russell, N. K. Alemtuzumab (campath-1h): A systematic review in organ transplantation. *Transplantation*. 2006; 81 (10): 1361-1367.
- Nafar, M., Samavat, S., & Shahraki, E. Downregulation of profibrotic gene expression by angiotensin receptor blockers. *Iranian Journal of Kidney Diseases*. 2018; 12 (6): 369-375.
- Nariman-Saleh-Fam, Z., Bastami, M., Ardalan, M., Sharifi, S., Hosseinian Khatib, S. M., & Zununi Vahed, S. Cell-free microrna-148a is associated with renal allograft dysfunction: Implication for biomarker discovery. *J Cell Biochem*. 2019; 120 (4): 5737-5746.
- Neumann, A., Napp, L. C., Kleeberger, J. A., Benecke, N., Pfanne, A., Haverich, A., Bara, C. Microrna 628-5p as a novel biomarker for cardiac allograft vasculopathy. *Transplantation*. 2017; 101 (1): e26-e33.
- Newton, R. H., Shrestha, S., Sullivan, J. M., Yates, K. B., Compeer, E. B., Ron-Harel, N., Turka, L. A. Maintenance of cd4 t cell fitness through regulation of foxo1. *Nat Immunol*. 2018; 19 (8): 838-848.
- Normand, S. L. T. Meta-analysis: Formulating, evaluating, combining, and reporting. *J Statistics in medicine* 1999; 18 (3): 321-359.
- Paladini, S. V., Pinto, G. H., Bueno, R. H., Calloni, R., & Recamonde-Mendoza, M. Identification of candidate biomarkers for transplant rejection from transcriptome data: A systematic review. *Mol Diagn Ther*. 2019.
- Panwar, B., Omenn, G. S., & Guan, Y. Mirmine: A database of human mirna expression profiles. *Bioinformatics*. 2017; 33 (10): 1554-1560.
- Pascual, J. Everolimus in clinical practice--renal transplantation. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. 2006; 21 Suppl 3: iii18-23.
- Petty, M. Antibody-mediated rejection in solid organ transplant. *AACN Adv Crit Care*. 2016; 27 (3): 316-323.

- Plosker, G. L., & Foster, R. H. J. D. Tacrolimus. 2000; 59 (2): 323-389.
- Pritchard, C. C., Cheng, H. H., & Tewari, M. MicroRNA profiling: Approaches and considerations. *Nat Rev Genet.* 2012; 13 (5): 358-369.
- Ramachandran, K., Saikumar, J., Bijol, V., Koyner, J. L., Qian, J., Betensky, R. A., Vaidya, V. S. Human mirnome profiling identifies microRNAs differentially present in the urine after kidney injury. *Clin Chem.* 2013; 59 (12): 1742-1752.
- Rascio, F., Pontrelli, P., Accetturo, M., Oranger, A., Gigante, M., Castellano, G., Grandaliano, G. A type I interferon signature characterizes chronic antibody-mediated rejection in kidney transplantation. *J Pathol.* 2015; 237 (1): 72-84.
- Roden, A. C., Aisner, D. L., Allen, T. C., Aubry, M. C., Barrios, R. J., Beasley, M. B., Yi, E. S. Diagnosis of acute cellular rejection and antibody-mediated rejection on lung transplant biopsies: A perspective from members of the pulmonary pathology society. *Arch Pathol Lab Med.* 2017; 141 (3): 437-444.
- Ronco, C. Acute kidney injury: From clinical to molecular diagnosis. *J Critical Care.* 2016; 20 (1): 201.
- Sato, F., Hatano, E., Kitamura, K., Myomoto, A., Fujiwara, T., Takizawa, S., Shimizu, K. MicroRNA profile predicts recurrence after resection in patients with hepatocellular carcinoma within the milan criteria. *PLoS One.* 2011; 6 (1): e16435.
- Scheuher, C. A review of organ transplantation: Heart, lung, kidney, liver, and simultaneous liver-kidney. *Crit Care Nurs Q.* 2016; 39 (3): 199-206.
- Schmuck, R. B., Reutzel-Selke, A., Raschzok, N., Morgul, H. M., Struecker, B., Lippert, S., Sauer, I. M. Bile: Mirna pattern and protein-based biomarkers may predict acute cellular rejection after liver transplantation. *Biomarkers.* 2017; 22 (1): 19-27.
- Schreiber, S. L., & Crabtree, G. R. J. I. t. The mechanism of action of cyclosporin a and fk506. 1992; 13 (4): 136-142.
- Schwarzenbach, H. Clinical relevance of circulating, cell-free and exosomal microRNAs in plasma and serum of breast cancer patients. *Oncology research and treatment.* 2017; 40 (7-8): 423-429.
- Scian, M. J., Maluf, D. G., David, K. G., Archer, K. J., Suh, J. L., Wolan, A. R., Mas, V. MicroRNA profiles in allograft tissues and paired urines associate with chronic allograft dysfunction with if/ta. *Am J Transplant.* 2011; 11 (10): 2110-2122.
- Shan, J., Feng, L., Luo, L., Wu, W., Li, C., Li, S., & Li, Y. MicroRNAs: Potential biomarker in organ transplantation. *Transpl Immunol.* 2011; 24 (4): 210-215.
- Singh, N., Heggermont, W., Fieuws, S., Vanhaecke, J., Van Cleemput, J., & De Geest, B. Endothelium-enriched microRNAs as diagnostic biomarkers for cardiac allograft vasculopathy. *J Heart Lung Transplant.* 2015; 34 (11): 1376-1384.

Snyder, T. M., Khush, K. K., Valantine, H. A., & Quake, S. R. J. P. o. t. N. A. o. S. Universal noninvasive detection of solid organ transplant rejection. 2011; 108 (15): 6229-6234.

Sollinger, H. Rs-61443: Mechanisms of action, experimental and early clinical results. J Clin Transplant. 1992; 5: 523-526.

Soltaninejad, E., Nicknam, M. H., Nafar, M., Ahmadpoor, P., Pourrezaghali, F., Sharbafi, M. H., Amirzargar, A. Differential expression of micrnas in renal transplant patients with acute t-cell mediated rejection. Transpl Immunol. 2015; 33 (1): 1-6.

Soltaninejad, E., Nicknam, M. H., Nafar, M., Sharbafi, M. H., Shahbaz, S. K., Barabadi, M., Amirzargar, A. Altered expression of micrnas following chronic allograft dysfunction with interstitial fibrosis and tubular atrophy. Iranian Journal of Allergy, Asthma and Immunology. 2015; 14 (6): 615-623.

Sood, S., & Testro, A. G. J. W. j. o. t. Immune monitoring post liver transplant. 2014; 4 (1): 30.

Sticht, C., De La Torre, C., Parveen, A., & Gretz, N. Mirwalk: An online resource for prediction of microrna binding sites. PLoS One. 2018; 13 (10): e0206239.

Sugimachi, K., Matsumura, T., Hirata, H., Uchi, R., Ueda, M., Ueo, H., Mimori, K. Identification of a bona fide microrna biomarker in serum exosomes that predicts hepatocellular carcinoma recurrence after liver transplantation. Br J Cancer. 2015; 112 (3): 532-538.

Sui, W., Yang, M., Li, F., Chen, H., Chen, J., Ou, M., Dai, Y. Serum micrnas as new diagnostic biomarkers for pre- and post-kidney transplantation. Transplant Proc. 2014; 46 (10): 3358-3362.

Sukma Dewi, I., Hollander, Z., Lam, K. K., McManus, J. W., Tebbutt, S. J., Ng, R. T., Ohman, J. Association of serum mir-142-3p and mir-101-3p levels with acute cellular rejection after heart transplantation. PLoS One. 2017; 12 (1): e0170842.

Tan, Y. L., Bai, Z. G., Zou, W. L., Ma, X. M., Wang, T. T., Guo, W., Zhang, Z. T. Mir-744 is a potential prognostic marker in patients with hepatocellular carcinoma. Clin Res Hepatol Gastroenterol. 2015; 39 (3): 359-365.

Tao, J., Yang, X., Han, Z., Lu, P., Wang, J., Liu, X., Gu, M. Serum microrna-99a helps detect acute rejection in renal transplantation. Transplant Proc. 2015; 47 (6): 1683-1687.

Townamchai, N., & Eiam-Ong, S. J. W. j. o. n. Biomarkers in kidney transplantation: From bench to bedside. 2015; 4 (5): 487.

Tran, D., Boucher, A., Collette, S., Payette, A., Royal, V., & Sénécal, L. Eculizumab for the treatment of severe antibody-mediated rejection: A case report and review of the literature. Case reports in transplantation. 2016; 2016: 9874261.

Turchinovich, A., Weiz, L., & Burwinkel, B. J. T. i. b. s. Extracellular mirnas: The mystery of their origin and function. 2012; 37 (11): 460-465.

Turnquist, H. R., Raimondi, G., Metes, D., & Thomson, A. W. J. T. o. O. T. An overview of physiologic immunity. 2014: 13-29.

Ulbing, M., Kirsch, A. H., Leber, B., Lemesch, S., Munzker, J., Schweighofer, N., Obermayer-Pietsch, B. Micrnas 223-3p and 93-5p in patients with chronic kidney disease before and after renal transplantation. Bone. 2017; 95: 115-123.

Vacca, A., Felli, M. P., Farina, A. R., Martinotti, S., Maroder, M., Screpanti, I., Gulino, A. Glucocorticoid receptor-mediated suppression of the interleukin 2 gene expression through impairment of the cooperativity between nuclear factor of activated t cells and ap-1 enhancer elements. The Journal of experimental medicine. 1992; 175 (3): 637-646.

Vacca, A., Martinotti, S., Screpanti, I., Maroder, M., Felli, M. P., Farina, A. R., Gulino, A. Transcriptional regulation of the interleukin 2 gene by glucocorticoid hormones. Role of steroid receptor and antigen-responsive 5'-flanking sequences. J Biol Chem. 1990; 265 (14): 8075-8080.

Valadi, H., Ekström, K., Bossios, A., Sjöstrand, M., Lee, J. J., & Lötvall, J. O. J. N. c. b. Exosome-mediated transfer of mrnas and micrnas is a novel mechanism of genetic exchange between cells. 2007; 9 (6): 654.

Verhoeven, C. J., Farid, W. R., de Ruiter, P. E., Hansen, B. E., Roest, H. P., de Jonge, J., van der Laan, L. J. Micrna profiles in graft preservation solution are predictive of ischemic-type biliary lesions after liver transplantation. J Hepatol. 2013; 59 (6): 1231-1238.

Vickers, K. C., Palmisano, B. T., Shoucri, B. M., Shamburek, R. D., & Remaley, A. T. J. N. c. b. Micrnas are transported in plasma and delivered to recipient cells by high-density lipoproteins. 2011; 13 (4): 423.

Wang, E., Nie, Y., Zhao, Q., Wang, W., Huang, J., Liao, Z., Zheng, Z. Circulating mirnas reflect early myocardial injury and recovery after heart transplantation. Journal of Cardiothoracic Surgery. 2013; 8 (1): 1.

Wang, L., Yang, P.-C., Su, W., Li, M.-G., Chen, X., Zhang, N., Song, J. Micro rna-98 suppresses interleukin-10 in peripheral b cells in patient post-cardio transplantation. Oncotarget. 2017; 8 (17): 28237-28246.

Wang, S. S., Wu, L. J., Li, J. J., Xiao, H. B., He, Y., & Yan, Y. X. A meta-analysis of dysregulated mirnas in coronary heart disease. Life Sci. 2018; 215: 170-181.

Wark, A. W., Lee, H. J., & Corn, R. M. Multiplexed detection methods for profiling micrna expression in biological samples. Angewandte Chemie (International ed. in English). 2008; 47 (4): 644-652.

Weber, J. A., Baxter, D. H., Zhang, S., Huang, D. Y., Huang, K. H., Lee, M. J., Wang, K. J. C. c. The miRNA spectrum in 12 body fluids. 2010; 56 (11): 1733-1741.

Wilflingseder, J., Sunzenauer, J., Toronyi, E., Heinzl, A., Kainz, A., Mayer, B., Oberbauer, R. Molecular pathogenesis of post-transplant acute kidney injury: Assessment of whole-genome mRNA and miRNA profiles. PLoS One. 2014; 9 (8): e104164.

Williams, W. W., Taheri, D., Tolokoff-Rubin, N., & Colvin, R. B. J. N. R. N. Clinical role of the renal transplant biopsy. 2012; 8 (2): 110.

Winter, J., Jung, S., Keller, S., Gregory, R. I., & Diederichs, S. J. N. c. b. Many roads to maturity: miRNA biogenesis pathways and their regulation. 2009; 11 (3): 228.

Wu, L., Yang, F., Lin, B., Chen, X., Yin, S., Zhang, F., Zheng, S. miRNA-424 expression predicts tumor recurrence in patients with hepatocellular carcinoma following liver transplantation. Oncol Lett. 2018; 15 (6): 9126-9132.

Xie, Q. Y., Almudevar, A., Whitney-Miller, C. L., Barry, C. T., & McCall, M. N. A miRNA biomarker of hepatocellular carcinoma recurrence following liver transplantation accounting for within-patient heterogeneity. BMC Med Genomics. 2016; 9: 18.

Xu, H., Ma, X., He, X., Dong, P., Xue, D., Zhang, Y., & Zhang, X. Serum mir-338-5p, soluble b-cell-activating factor, allo-antibodies, and renal transplantation. Transplant Proc. 2015; 47 (2): 337-342.

Xu, Z., Nayak, D., Yang, W., Baskaran, G., Ramachandran, S., Sarma, N., Mohanakumar, T. Dysregulated miRNA expression and chronic lung allograft rejection in recipients with antibodies to donor HLA. Am J Transplant. 2015; 15 (7): 1933-1947.

Xu, Z., Ramachandran, S., Gunasekaran, M., Zhou, F., Trulock, E., Kreisel, D., Mohanakumar, T. miRNA-144 dysregulates the transforming growth factor-beta signaling cascade and contributes to the development of bronchiolitis obliterans syndrome after human lung transplantation. J Heart Lung Transplant. 2015; 34 (9): 1154-1162.

Xu, Z., Sharma, M., Gelman, A., Hachem, R., & Mohanakumar, T. Significant role for miRNA-21 affecting toll-like receptor pathway in primary graft dysfunction after human lung transplantation. J Heart Lung Transplant. 2017; 36 (3): 331-339.

Xu, Z., Yang, W., Steward, N., Sweet, S. C., Danziger-Isakov, L., Heeger, P. S., & Mohanakumar, T. Role of circulating miRNAs in the immunopathogenesis of rejection after pediatric lung transplantation. Transplantation. 2017; 101 (10): 2461-2468.

Yi, R., Qin, Y., Macara, I. G., & Cullen, B. R. Exportin-5 mediates the nuclear export of pre-miRNAs and short hairpin RNAs. Genes Dev. 2003; 17 (24): 3011-3016.

Zernecke, A., Bidzhekov, K., Noels, H., Shagdarsuren, E., Gan, L., Denecke, B., Weber, C. Delivery of microRNA-126 by apoptotic bodies induces cxcl12-dependent vascular protection. *Sci Signal*. 2009; 2 (100): ra81.

Zhang, B., Kirov, S., & Snoddy, J. Webgestalt: An integrated system for exploring gene sets in various biological contexts. *Nucleic acids research*. 2005; 33 (Web Server issue): W741-748.

Zhang, P., Guo, Z., Zhong, K., Li, Q., Ouyang, J., Chen, M., He, X. Evaluation of immune profiles and microRNA expression profiles in peripheral blood mononuclear cells of long-term stable liver transplant recipients and recipients with acute rejection episodes. *Transplant Proc*. 2015; 47 (10): 2907-2915.

Zhang, W., Bhorade, S. M., Zhou, T., Garcia, J. G., Machado, R. F., & Ma, S.-F. MicroRNAs implicated in dysregulation of gene expression following human lung transplantation. *Translational Respiratory Medicine*. 2013; 1 (1): 12.

Zhang, Z. W., Wang, M., Hu, J. J., Xu, G., Zhang, Y., & Zhang, N. Decreased expression of microRNA-107 in B lymphocytes of patients with antibody-mediated renal allograft rejection. *Tohoku J Exp Med*. 2018; 246 (2): 87-96.

Zununi Vahed, S., Omid, Y., Ardalan, M., & Samadi, N. Dysregulation of urinary mir-21 and mir-200b associated with interstitial fibrosis and tubular atrophy (ifta) in renal transplant recipients. *Clin Biochem*. 2017; 50 (1-2): 32-39.

Zununi Vahed, S., Poursadegh Zonouzi, A., Mahmoodpoor, F., Samadi, N., Ardalan, M., & Omid, Y. Circulating mir-150, mir-192, mir-200b, and mir-423-3p as non-invasive biomarkers of chronic allograft dysfunction. *Arch Med Res*. 2017; 48 (1): 96-104.

Zununi Vahed, S., Zonouzi, A. P., Ghanbarian, H., Ghojzadeh, M., Samadi, N., & Ardalan, M. Upregulated expression of circulating microRNAs in kidney transplant recipients with interstitial fibrosis and tubular atrophy. *Iranian Journal of Kidney Diseases*. 2017; 11: 309-318.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	ERMAN	Uyruğu	T.C.
Soyadı	GÜMÜŞLÜ	Tel no	05545998279
Doğum tarihi	09.06.1988	e-posta	ermangumuslu@gmail.com

Eğitim Bilgileri

	Mezun olduğu kurum	Mezuniyet yılı
Lise	ANTALYA AKEV LİSESİ	2005
Lisans	İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ	2011

İş Deneyimi

Görevi	Kurum	Süre (yıl-yıl)
Stajyer	Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı	Haziran 2008- Temmuz 2008
Stajyer	İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Genetik Anabilim Dalı	Ocak 2007-Mart 2007

Yabancı Dilleri	Sınav türü	Puanı
İNGİLİZCE	YÖKDİL	75

Yayınlar ve Bildiriler:

Gümüşlü E., Balci M.K., Şanlıoğlu S., "İndüklenmiş pluripotent kök hücrelerden insülin sentezini sağlayan gen tedavi vektörünün geliştirilmesi." 15. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi, MUĞLA, TÜRKİYE, 26-29 Ekim 2017, pp.PS-219-PS-219. **(Poster)**

Gümüşlü E., Balci M.K., Şanlıoğlu S., "Development of a gene therapy vector to provide insülin expression from induced pluripotent stem ", ESGCT XXV Anniversary Congress, Berlin, ALMANYA, 17-20 Ekim 2017, pp.P357-P357. **(Poster)**

Gümüşlü E., Taşyürek M.H., Şanlıoğlu S., "Kök hücre kaynaklı pankreatik beta hücrelerinde uzun süreli insülin gen ekspresyonu yapabilen lentiviral gen tedavi vektörlerinin geliştirilmesi", 53. Ulusal Diyabet Kongresi, KKTC / Girne, TÜRKİYE, 19-23 Nisan 2017, ss.12-12. **(Sözlü Sunum)**