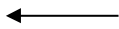


Adınızı soyadınızı giriniz

Tez kabul edildikten sonra yapılan **sabit ciltte sırt yazısı** bu şablona göre yazılacak. Yazılar tek satır olacak Cilt sırtı yazıların yönü yukarıdan aşağıya (sol yandaki gibi) olacak .



Tez, Yüksek Lisans'sa, YÜKSEK LİSANS TEZİ;



Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**EPİTELYAL OVER KANSERİNDE MİR-451A İFADE
DÜZEYİNİN ARAŞTIRILMASI**

KHARİGA JABBARLI

**DANIŞMAN
PROF. DR. HÜLYA YAZICI**

**TEMEL ONKOLOJİ ANABİLİM DALI
KANSER GENETİĞİ PROGRAMI**

İSTANBUL-2020

TEZ ONAYI

(Bu sayfa yerine, başarılı geçen Tez Sınavı sonrası sınav tutanağı ekinde yer alan Tez Onay sayfası gelecektir.)



BEYAN**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, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Khariga JABBARLI



İTHAF

Annem Semaye Jabbarlı'ya ve Babam Mutallib Jabbarlı'ya ithaf ediyorum

TEŞEKKÜR

İ.Ü. Onkoloji Enstitüsü Müdürü Prof. Dr. Ahmet Kızır'e, Temel Onkoloji Anabilim Dalı Başkanı, Prof. Dr. Hatice Bilge Becerir'e

Ders ve tez aşamasında yardım eden, çalışmalarımda bana tavsiyelerde bulunan, her zaman desteğini esirgemeyen tez danışmanım, değerli hocam Prof. Dr. Hülya Yazıcı'ya,

Yüksek lisans programı süresince ders aldığım tüm hocalarıma,

İstatistiksel analizler konusunda yardımlarını esirgemeyen Dr. Demet Akdeniz Ödemiş'e

Temel Onkoloji Anabilim Dalı Kanser Genetiği Bilim dalında görev yapan tüm çalışma ekibine ve İstanbul'un bana kazandırdığı değerli arkadaşlarım Yasemin Gider ve Gamze Uyaroglu'ya,

Her zaman yanımda olan, sonsuz destekleri ve sevgileri için canım ailem Mutallib Cabbarlı, Semaye Cabbarlı, Senan Cabbarlı ve Sema Cabbarlı'ya teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No:34830



İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI.....	2
BEYAN	3
İTHAF	4
TEŞEKKÜR	5
İÇİNDEKİLER.....	7
TABLolar LİSTESİ	9
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	10
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	11
ÖZET	13
ABSTRACT	14
1. GİRİŞ VE AMAÇ	15
2. GENEL BİLGİLER.....	15
2.1. Kadın Üreme Organları	17
2.2. Yumurtalık Kanseri	18
2.2.1. Over kanserinin Alt tipleri.....	18
2.2.2. Epitelyal over kanseri.....	18
2.3. Over kanserinde genetik değişiklikler.....	20
2.4. Evreleme.....	22
2.5. Risk Faktörleri.....	23
2.6. Tanı ve Tedavi.....	24
2.7. MikroRNA.....	25
2.7.1. miRNA'ların Biyolojik Özellikleri	25
2.7.2. miRNA'ların Moleküler Yapısı	26
2.7.3. miRNA'ların biyosentezi	26
2.7.4. Yumurtalık Kanserinde miRNA İfade Profilleri	27
2.7.4.1. Tümör Baskılayıcı olarak miRNA	28
2.7.4.2. Onkogen olarak miRNA.....	28
2.7.5. Yumurtalık Kanseri İnvazyonu ve Metastazında miRNAların rolü	29
2.7.6. miRNA ve Epitelyal-mezenkimal geçiş	29
2.7.7. miRNA'lar Ekstraselüler Matriksin İfadesini ve İşlevini Düzenler	30

	8
2.7.8. Anjiyogeneze de miRNA	30
2.7.9. miR-451a	30
3. GEREÇ VE YÖNTEM	32
3.1. Kullanılan Tampon ve Çözeltiler	37
4. BULGULAR	40
4.1. MiR-451a Ekspresyon Düzeylerinin Hastaların Klinik ve Patolojik Özellikleri İle Karşılaştırılması	47
4.2. MiR-451a Ekspresyon Düzeylerinin Hastaların Aile Hikayeleri ile Karşılaştırılması	50
4.3. MiR-451a Ekspresyon Düzeylerinin Hastaların Hamilelik ve Infertilite Durumuna Göre Değerlendirilmesi	50
4.4. MiR-451a Ekspresyon Düzeylerinin Menopoz Durumu ve OKS Kullanımına Göre Değerlendirilmesi	51
4.5. ROC Analizi	55
4.6. Sağkalım analizi	53
4.7. String Analizi	56
5. TARTIŞMA	51
KAYNAKLAR	61
HAM VERİLER	62
FORMLAR	63
ETİK KURUL KARARI	64
PATENT HAKKI İZNİ	68
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI	69
ÖZGEÇMİŞ	70

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 2.7.4.1.1: Over Kanserinin FIGO evreleme sistemi.....	22
Tablo 2.7.4.2.1: cDNA sentez protokolü.....	34
Tablo 2.7.4.2.2: MIC-qPCR protokolü.....	35



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1.1: Kadın üreme organları	20
Şekil 2.1.2: Over kanserinin tipleri	22
Şekil 2.1.3: Over kanserinin alt tiplerinde görülen genetik değişiklikler.....	24
Şekil 2.1.4: Tip II over kanserlerinde görülen genetik değişiklikler ve görülme sıklıkları	25
Şekil 2.1.5: miRNA'ların biosentezi	31
Şekil 2.1.6: mic-PCR cihaz görünümü	39
Şekil 2.1.7: mic-PCR tüpleri.....	40
Şekil 2.1.1: Epitelyal Over kanserli hastalarda ve sağlıklı kontrollerde incelenen miR-451a' ın gerçek-zamanlı PZR eğrileri	43
Şekil 2.1.2 Epitelyal Over kanserli hastalarda ve sağlıklı kontrollerde incelenen miR-451a' ın erime eğrileri (MELT) görüntüsü	44
Şekil 2.1.3: Over kanserli hasta ve sağlıklı grubun ayrılmasında miR-451a'in etkinliğini gösteren ROC eğrisi	59
Şekil 2.1.4: Over kanseri hastalarında miR-451a gen ifade düzeyinin sağkalım süresi arasındaki korelasyon istatistiği	60
Şekil 2.1.5: miR-451a'nın Gen/Protein Etkileşimini Gösteren String Analiz Sonuçları	61

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

Ark.: Arkadaşları

ARID1A: AT-rich interactive domain-containing protein 1A

ATM: ATM (ataxia telangiectasia mutated)

Bcl-2: B hücreli lenfoma 2 geni

BRAF: v-Raf murine sarcoma viral oncogene homolog B geni

BRCA1: Breast Cancer 1 geni

BRCA2: Breast Cancer 2 geni

BRIP1: BRCA1 Interacting Protein C-Terminal Helicase 1 geni

BT: Bilgisayarlı Tomografi

CA-125: Kanser Antijeni-125

CA19-9: Kanser Antijeni-19-9

CDKN2A: cyclin-dependent kinase Inhibitor 2A geni

cDNA: Tamamlayıcı DNA

CTNNB1: Catenin beta-1 geni

ct: Eşik döngüsü

CHEK2: Checkpoint kinase 2 geni

CXCL-1: C-X-C motif chemokine ligand geni

DGCR8: DiGeorge Syndrome Critical Region 8 Protein

DNA: Deoksiribonükleik Asit

DDSK: Düşük Dereceli Seröz Karsinom

dsRNA: Double-stranded RNA

EGF: Epidermal growth factor

EGFR: Epidermal Growth Factor Receptor

EXP5: Exportin 5

EOK: Epitelyal Over Kanseri

EMT: Epitelyal-Mezenkimal Geçiş

ESM: Hücre dışı matriks

EtBr: Etidyum Bromür

FIGO: International Federation of Gynecology and Obstetrics

HRT: Hormon replasman tedavisi

YDSK: Yüksek Dereceli Seröz Karsinom

KRAS: Kirsten-rous avian sarcoma

KLL: Kronik Lenfositik Lösemi

LH: Luteinize edici hormon

MAPK: Mitojenle aktifleştirilen protein kinaz

miRNA: mikroRNA

mRNA: Mesajcı RNA

MYC: onkogen

MMP: Matris metaloproteinazlar

MRG: Manyetik rezonans görüntüleme

μL: mikrolitre

ng: nanogram

PCR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

pre-miRNA: Prekürsör miRNA

pri-miRNA: Primer miRNA

PTEN: Fosfataz ve Tensin Homoloğu

PIK3CA: Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit alpha

PKOS: polikistik over sendromu ve

PID: Pelvik enflamatuvar hastalık

RanGTP: GTP bağlayıcı protein

RISC: RNA indüklenmiş susturma kompleksi

RNA: Ribonükleik Asit

ROC: Receiver Operator Characteristic

ROC-AUC: ROC Eğrisi Altında Kalan Alan

RCC: Renal Cell Carcinoma

TEB: Tris EDTA Borik Asit Tamponu

TP53: Tumor Protein 53

ÖZET

Jabbarlı K. Epitelyal over kanserinde miR-451a ifade düzeyinin araştırılması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Temel onkoloji ABD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.2020

Epitelyal over kanseri, yumurta hücrelerin kontrolsüz bölünmesi ve çoğalması sonucunda oluşur. Epitelyal over kanseri (EOC), son 30 yılda yapılan teşhis ve tedavilerdeki kazanımlara rağmen, dünya genelinde kadınlar arasında kansere bağlı ölümlerin önde gelen nedenlerinden biri olmaya devam etmektedir. Over kanserinde sınırlı tarama yöntemleri ve gecikmiş tanı sebebi ile, hastaların çoğunluğu tanı sırasında ileri evre hastalıkla kliniğe başvurmaktadır ve bu hastalarda 5 yıllık sağkalım oranı yaklaşık %20'lerde seyretmektedir. Yumurtalık kanserinin kötü prognozu temel olarak kemoterapi direncinin ortaya çıkması, tümör metastazı veya hastalığın yeniden nüks etmesinden kaynaklanmaktadır. Bu nedenle, tedavilerin daha fazla kişiselleştirilmesinde, tedavi seçimi, takibi ve erken tanıda prognostik belirteçlere ihtiyaç duyulmaktadır. Son yapılan çalışmalar ve bunlardan edinilen bilgiler, yumurtalık kanserinin gelişiminde, çeşitli miRNA'ların etkili olduğunu göstermektedir. Bu nedenle miRNA'ların gerek tanı ve gerekse tedavide biyobelirteç olarak kullanılabilecekleri düşünülmektedir. 150 over kanserli hasta ve 100 sağlıklı kontrolden oluşan çalışma grubunda miR-451a gen ekspresyonu araştırıldı ve iki grup arasında karşılaştırıldı. Bu iki grup arasında ekspresyon düzeyinin 12.5 kat arttığı ve istatistiksel açıdan anlamlı ($p<0,05$) olduğu görüldü. miR-451a ekspresyon düzeyi ile metastaz varlığı ($p=0,948$), evreleme ($p=0,499$), tümör çapı ($p=0,716$), tanı yaşı ($p=0,081$), oral kontraseptif kullanımı ($p=0,429$), menopoz durumu ($p=0,923$), ailede görülen toplam kanser sayısı ($p=0,473$), infertilite ($p=0,627$), hamilelik ($p=0,699$) olmak üzere farklı parametreler arasında her hangi bir istatistiksel anlamlılık görülmezken ($p>0,05$), ailede var olan over kanseri ve meme kanser vaka sayıları ile miR-451a ekspresyonu arasında istatistiksel anlamlılık saptandı ($p=0,018$). Bundan başka yapılan ROC analizine göre miR-451a molekülünün yumurtalık kanseri için biyolojik belirteç niteliği taşıdığı belirlendi.

Anahtar Kelimeler: mir-451a, BRCA, epitelyal over kanseri, biyobelirteç

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No:34830

ABSTRACT

Epithelial ovarian cancer occurs as a result of uncontrolled division and proliferation of ovarian cells. Epithelial ovarian cancer (EOC) remains one of the leading causes of cancer-related deaths among women worldwide, despite gains in diagnosis and treatments over the past 30 years. Due to the limited screening methods and delayed diagnosis in ovarian cancer, the majority of patients apply to the clinic with advanced disease during diagnosis, and the 5-year survival rate in these patients remains at ~ 20%. The poor prognosis of ovarian cancer is mainly due to the emergence of chemotherapy resistance, tumor metastasis or relapse of the disease. For this reason, prognostic markers are needed for treatment personalization follow-up and early diagnosis. Recent studies and information from them show that various miRNAs are effective in the development of ovarian cancer. For this reason, it is thought that miRNAs can be used as biomarkers in both diagnosis and treatment. In the study group consisting of 150 patients with ovarian cancer and 100 healthy controls, miR-451a gene expression was investigated and compared between the two groups. It was observed that the expression level increased by 12.5 times and statistically significant ($p < 0.05$) between these two groups. Oral contraceptive use with miR-451a expression level ($p = 0.429$), presence of metastasis ($p = 0.948$), tumor diameter ($p = 0.716$), age at diagnosis ($p = 0.081$), menopausal status ($p = 0.923$), total in the family ovarian cancer in the family, while the number of cancer ($p = 0.447$), infertility ($p = 0.627$), pregnancy ($p = 0.699$), the relationship between staging ($p = 0.499$) and no statistical significance ($p > 0.05$) and statistical significance was found between breast cancer case numbers and miR-451a expression ($p = 0.018$). In addition, according to ROC analysis, miR-451a molecule was found to be a biological marker for ovarian cancer.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

GLOBOCAN 2018 verilerine göre dünya üzerinde genel olarak 18.1 milyon yeni kanser vakası görülmüş, bu hastalardan 9.6 milyonunun hayatını kanser nedeni ile kaybettiği bildirilmiştir. 2018 verilerine göre dünyada over kanseri tanısı alan kişi sayısı ise 295,414 olmuş, buna bağlı 184,799 ölümün gerçekleştiği saptanmıştır. Ülkemizde Sağlık Bakanlığı Kanser Savaş Dairesi 2018 yılındaki verilerine göre 210.537 kişiye kanser tanısı konulduğu ve bunların 118.882'nin erkek ve 91.655'inin kadın olduğu, 116.710 kişinin ise kanserden dolayı hayatını kaybettiği bildirilmiştir. Bu kişilerden over kanser tanısı alan hasta sayısı 3729, over kanserinden hayatını kaybeden kadın sayısının ise 2191 olarak verilmiştir.

Yumurtalık kanseri en sık görülen jinekolojik malignitelerden biridir ve yumurtalık kanserlerinin %90'ından fazlasını epitelyal yumurtalık kanseri oluşturmaktadır. Tedavi stratejileri gelişmeye devam etse de, epitelyal over kanseri için beş yıllık sağkalım oranı sadece %30'dur. Ek olarak, over kanseri erken evrede belirgin bir semptom göstermemekte ve over kanseri tanısı konan hastaların %60'ından fazlasında karın veya uzak metastaz görülmektedir [1]. Over kanseri tedavisinde sağlanan gelişmelere rağmen over kanseri tanısı alan ve tedaviden sonra hayatta kalan kadın sayısında istatistik olarak anlamlı bir artış görülmemektedir. Bunun nedenleri ise over kanserinin gelişmesinde farklı hipotezlerin olmasına rağmen tam olarak belirlenmemesi, tanının erken evrede saptanamaması ve tedaviye rağmen kanserin yeniden nüks etmesidir bu yüzden de yeni belirteçlerin belirlenmesi sağkalımı arttırmak için önemlidir. Kansere ilişkin biyolojik belirteçlerin saptanması için kanser hastalarında ve sağlıklı kişiler arasında miRNA'ların ekspresyon düzeylerinin karşılaştırılması çok önemlidir.

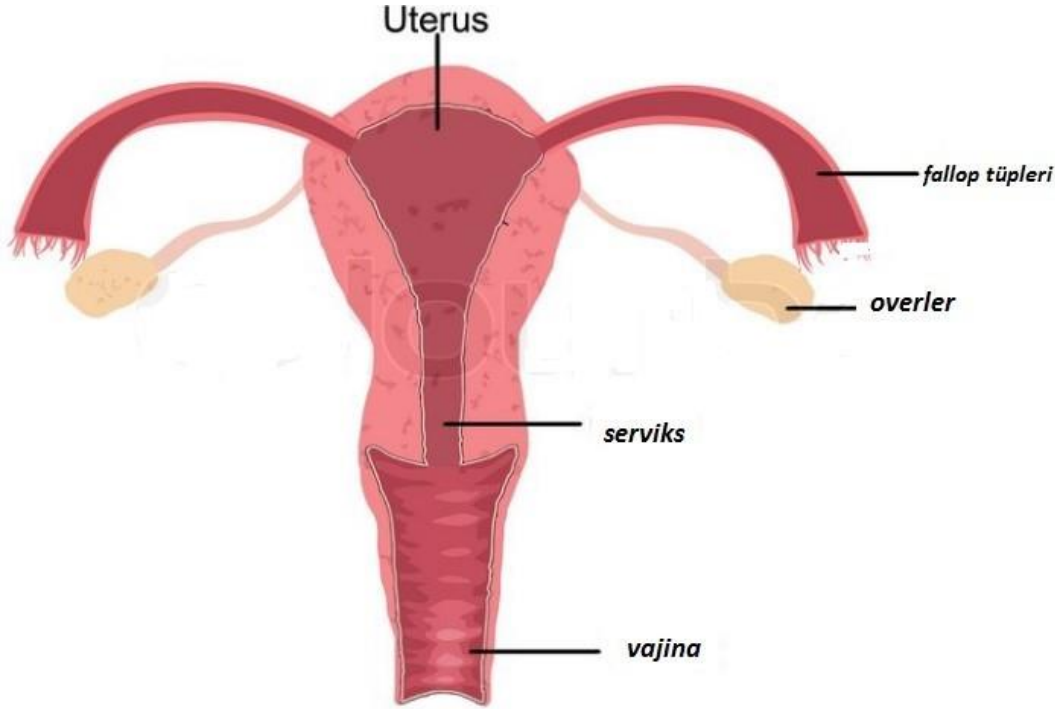
MikroRNA'lar (miR/miRNA'lar), hedef genlerinin 3'-UTR bölgelerine bağlanarak gen ekspresyonunu kontrol eden 21-23 baz uzunluğunda kodlanmayan nükleotitlerden oluşan moleküllerdir. Bu bağlanma, miRNA translasyonunun baskılanması veya ortadan kaldırılmasına neden olur. Son yapılan çalışmalar ve bunlardan edinilen bilgiler, yumurtalık kanserinin gelişiminde, çeşitli miRNA'ların etkili olduğunu göstermektedir [2]. Bu nedenle miRNA'ların gerek tanı ve gerekse tedavide biyobelirteç olarak kullanılabileceklerini düşünülmektedir. Özellikle yüksek kanser riski taşıyan ailelerde kanser olan ve olmayan kişiler arasındaki biyolojik farklılık hastalığın oluşum mekanizması hakkında daha aydınlatıcı ve anlamlı bilgi verebilir. miRNA mikroarray teknolojisi kullanılarak, primer tümörlerde, tümörden çoğaltılmış hücre hatlarında ve normal dokularda miRNA gen ekspresyon profilleri araştırılmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar miRNA'ların normal dokulara göre kanserde farklı profillere sahip olduğunu, bu

profillerin de farklı kanserlerde değişiklik gösterdiğini göstermiştir. Tümörün farklılaşma durumu ve gelişim evrelerini aydınlatmada ve tümörün sınıflandırılmasında da miRNA profillerinin bilgi verebileceği düşünülmektedir. Tüm bu bilgiler miRNA'ların kanser tanısında kullanılabileceğini ve miRNA'ların kanser patogeneğinde önemli rol oynayabileceğini göstermektedir. Planlanan tez çalışmasında, daha önceki çalışmamızda monozygotik over kanser tanısı alan diskordant ikizler ve onların sağlıklı aile üyelerinden elde edilen periferik kanda araştırılan ve istatistiksel olarak anlamlı bulunan miR-451a'nın daha geniş şekilde epitelyal over kanserli ve sağlıklı kontrol grubunda validasyonlarının yapılması amaçlanmıştır. 150 over kanseri teşhisi alan hasta ve hasta popülasyonu ile yaş ve cinsiyet olarak eşleştirilmiş 100 sağlıklı kontrole ait periferik kan lenfositlerinden oluşturulan deney grubunda miR-451a'nın araştırılması planlanmıştır. Çalışmanın sonunda miR-451a'nın yüksek riskli over kanserli hastaların erken tanısında ve hastalığın prognozunda kullanılabilecek biyobelirteçler olup olmadığı araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kadın Üreme Organları

Kadın üreme organı iç ve dış organlar olmak üzere iki bölümden oluşmaktadır. İç genital organlara over, rahim, vajina ve fallop tüpleri dahildir. Dış genital organlara ise, vulva, büyük dudaklar, küçük dudaklar, klitoris, vajina girişi ve vulvada bulunan salgı bezleri dahildir.



Şekil 2.1.1: Kadın üreme organları

Overler; oval bir yapıda olup, yaklaşık 3,5-4 cm uzunluğunda, 2 cm genişliğinde ve 1 cm kalınlığındadır. Sağ ve sol olmakla bir çift organ olan overler, küçük pelviste fossa ovarica bölgesinde yerleşmektedir. Temel kadın üreme organı olan overler olgun bir kadında dişi üreme hücreleri olan yumurtaları, östrojen ve progesteron hormonlarını üretirler. Overin yerinde durmasını sağlayan 4 bağ vardır. Overin dış yüzü germinal tabakası ile sarılmıştır. Bu dokunun altında ise bağ dokusu yer almaktadır. Bağ dokusunun alt tabakasında ise, foliküller bulunmaktadır [3].

Yumurtalıklar gametleri (yumurta hücresi, oosit) üretir. Gelişen yumurta hücresi (veya oosit), yumurtalık foliküllerinin içinde büyür. Oosit olgunlaşması tamamlandığında, hipofiz bezinin salgıladığı Luteinize edici Hormon (LH) oosit salınımını uyarır. Bu oosit geliştirme ve salınımı yumurtlama olarak adlandırılır. Genellikle, her yumurtalık her ay yumurta salınımını gerçekleştirir. Ancak, yumurtalıklardan biri olmadığında veya işlevsiz olduğunda, diğer yumurtalık her ay yumurta oluşturmaya devam

eder.

Yumurtalıkların diğer fonksiyonu östrojen, progesteron ve testosteron salgılamaktır. Ergenlik döneminde kadınların sekonder cinsiyet özelliklerinden östrojen sorumludur. Progesteron, uterusu gebelik için, meme bezlerini ise emzirme için hazırlar. Progesteron ve östrojenin ortak hareket etmesi ile de endometriyumda adet döngüsü değişiklikleri düzenlenir [3].

2.2. Yumurtalık Kanseri

Yumurtalık kanseri, kadın üreme organı olan yumurta hücrelerinin kontrolsüz bölünme ve çoğalma sonucunda oluşan kanser türüdür. Menopoz sonrası görülen yumurtalık kanserlerinin %90'ı epitelyum dokusundan oluşur. 20 yaşın altında görülen yumurtalık kanserlerinin %60'ını ise embriyonik tümörler oluşturmaktadır. Yumurtalık kanserinin tipik bir belirtisi yoktur. Ancak kanserin ilk evresinde bir çok hastalıkta da görülen şişkinlik, karın ağrısı ve mide rahatsızlıkları gibi belirtiler görülmektedir. İleri evre yumurtalık kanserinde ise adet düzensizlikleri, karında sıvı birikmesi, ele gelen kitle, aşağı doğru basınç hissi ve bu basınca bağlı olarak idrar ve bağırsak şikayetleri görülmektedir [4].

2.2.1. Over kanserinin alt tipleri

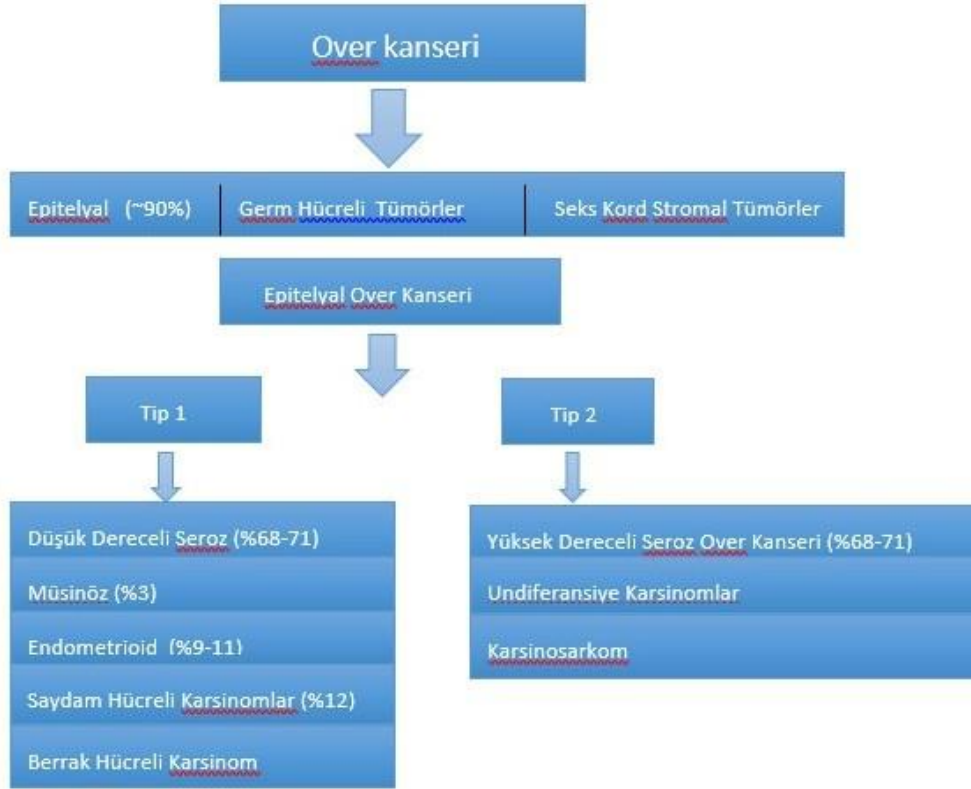
Moleküler ve histopatolojik olarak incelendiğinde, over kanserinin heterojen bir hastalık olduğu anlaşılmaktadır [5]. Yumurtalık kanserleri, üç ana gruba ayrılmaktadır: epitelyal yumurtalık kanserleri, germ hücresi ve özel stromal hücre kanserleri.

2.2.2. Epitelyal over kanseri

Yumurtalık kanserlerinin büyük çoğunluğunu (%90) epitelyal yumurtalık kanserleri (EOK) oluşturur. EOK ise kendi arasında iki ana histolojik alt tipe ayrılır: Tip I ve Tip II tümörleri.

Tip I tümörleri düşük dereceli seröz, müsin, endometrioid, saydam hücreli karsinomları içerir. Tip I karsinomlar, tip II tümörlerine göre daha yavaş ilerler ve daha hafif klinik seyir gösterir [6, 7].

Tip II tümörleri, yüksek dereceli over kanserleri, undiferansiye karsinomlar ve karsinosarkomlardan oluşur. Tip II tümörleri, yüksek dereceli ve hızlı ilerleyen hastalık olarak kabul edilmektedir.



Şekil 2.2.1: Over kanserinin tipleri

Dünya genelinde musin tümörler %3, endometrioid %11, saydam hücreli kanserler %12, undiferansiye karsinomlar ve karsinosarkomlar ise nadir tümörler olarak bildirilmiştir [8]. Yüksek dereceli seröz over karsinomu (YDSOK) ve düşük dereceli seröz over karsinomu, tüm EOK'ların yaklaşık olarak %71'ini oluşturur. Genellikle, agresif over kanseri türü olan ve aynı zamanda en metastatik kanser türlerinden biri olarak kabul edilen yüksek dereceli seröz karsinomun, düşük dereceli seröz karsinom türünden köken aldığı düşünülmektedir [7, 9]. Ancak düşük dereceli seröz karsinomun, yüksek dereceli seröz karsinom için öncü bir lezyon olma ihtimalinin düşük olduğu yapılan araştırmalar sonucunda ortaya çıkarılmıştır. Bununla birlikte, farklı prognostik özelliklere sahip olan bu iki over kanseri alt türü, farklı genomik mutasyonlar ile

karakterize edilmekte ve birbirinden farklı hastalıklar olduğu düşünülmektedir [6, 7, 9]. Günümüzde YDSOK'un erken tespiti için kullanılan yüksek güvenilirli bir tarama yöntemi mevcut değildir. Bundan dolayı, over kanserli hastaların büyük çoğunluğu, periton boşluğunda bulunan diğer dokulara metastaz yaptığına teşhis edilir. Herhangi bir semptom görülmediğinden dolayı over kanseri hastaların ileri evrede tanı almakta ve dolayısı ile düşük sağkalım oranlarına sahip olmaktadır [10]. Son yıllarda yürütülen araştırmalara göre düşük dereceli seröz karsinomu, tip I karsinom olarak, yüksek dereceli seröz karsinom ise tip II karsinom olarak sınıflandırılmaktadır [6, 7].

2.3. Over kanserinde genetik değişiklikler

Moleküler çalışmalar, over kanserinin farklı histolojik alt tipleri ile ilişkili geniş bir genomik değişkenlik aralığını ortaya çıkarmıştır. Bu genomik farklılıkların öğrenilmesi kanserin klinik seyri ve kökenine göre de tiplere ayrılmasında temel bir yaklaşım sağlamıştır [7] [6].

Tip I karsinomlar nispeten stabil bir genomik profile sahiptir [6, 7]. Örneğin, berrak hücreli karsinom hariç, daha hafif klinik seyri olan tip I tümörleri, mitojenle aktiveleştirilen protein kinaz yolunun (MAPK) düzenleyicilerindeki (örn. *K-RAS* veya *BRAF*) mutasyonlarla karakterize edilmiştir [6, 7, 11-24].

Gen Değişiklikleri	Düşük Dereceli Seröz Over Kanseri	Berrak Hücreli Karsinom	Endometrioid	Müsinöz
<i>BRAF</i>	%33; %38; %16	%0; %1	%24	%0; %23; %5
<i>KRAS</i>	%19; %35; %21	%1; %7	%1	%50; %68; %65
<i>PIK3CA</i>	%11	%25; %33	%12	%14
<i>PTEN</i>	%20	%0; %5	%14; %31	%3
<i>ARID1A</i>	~	%46; %57	%30	%9
<i>CTNNB1</i>	~	%0; %3	%23; %24	%5
<i>CDKN2A</i>	~	~	~	%19
<i>TP53</i>	~	~	~	%57; %52

Şekil 2.3.1: Over kanserinin alt tiplerinde görülen genetik değişiklikler

Yapılan farklı araştırmalarda düşük dereceli seröz over kanserinde *K-RAS* mutasyonlarının %16-%33, *B-RAF* mutasyonlarının %16-%38, *PIK3CA* %11, *PTEN* mutasyonu ise %20 oranında görüldüğü rapor edilmiştir [12, 15, 20, 25]. Berrak hücreli karsinomlarda *K-RAS*, *B-RAF*, *PTEN* nadir görülmekte olup, en çok *PIK3CA*

mutasyonu %25-%33 görülmüştür. *ARID1A* geninde ise yüksek oranda (%46-%57) inaktive edici mutasyonların olduğu bildirilmektedir [16-20]. Endometrioid tümörlerde ise *B-RAF* %24, *K-RAS* %1, *PIK3CA* %12, *PTEN* mutasyonu %14-%31 görülmektedir. *CDKN2A* ise en çok bu tümör tipinde görülmekte olup, %23 oranında rastlanmıştır [17, 19, 20, 23]. Musinöz tümörlerde *B-RAF* mutasyonuna %23 civarında rastlandığı bildirilse de, diğer çalışmalarda daha az oranda bulunduğu gösterilmiştir [24, 26]. *TP53* mutasyonları genellikle tip 1 tümörlerinde nadir görülür, fakat müsinöz tip karsinomda %57 oranında rastlanmaktadır. *K-RAS* mutasyonları (%50-%65) en fazla musinöz tümörlerde görülmektedir [21,24]. *PIK3CA*, *PTEN*, *ARID1A*, *CTNNB1* (%3-%15) mutasyonları ise çok az oranda rastlanmıştır [6, 7, 13, 16, 17, 20, 23, 24].

Klinik olarak daha agresif seyir gösteren tip II tümörlerinde dizileme çalışmaları genellikle, yüksek derecede genomik/ kromozomal instabilite varlığı gösterilmiştir ve *TP53* sık bulunan mutasyonlardan biridir (Tablo 4) [6, 7, 9, 27]. Tip II over kanserlerinde belli genlerde somatik ve belli genlerde ise germline mutasyonları görülmektedir. *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2*, *ATM* gibi genlerde somatik mutasyonlara görülürden, *BRCA1*, *BRCA2*, *RAD51D*, *CHEK2* ve *BRIP1* genlerinde germline mutasyonlardır [28, 29].

Gen Değişiklikleri	Mutasyon görülme sıklıkları	Kopya sayısı değişiklikleri
<i>TP53</i>	%96	%0.9
<i>BRCA1</i>	%12	%0.6
<i>BRCA2</i>	%11	%2
<i>MYC</i>	%0	%31
<i>PIK3CA</i>	%0.6	%17
<i>KRAS</i>	%0.6	%11
<i>ERBB2</i>	%0.9	%2
<i>MECOM</i>	%0.6	%22

Şekil 2.3.2: Tip II over kanserlerinde görülen genetik değişiklikler ve görülme sıklıkları

Günümüzde, epitelyal over kanseri tümörlerinin tip I ve tip II sınıflarının belirlenmesi tümörün histopatolojik özelliklerine ve tümörün derecesine göre yapılsa da, DNA ve RNA dizileme teknolojilerinin gelişmesiyle, moleküler analizlerin daha

ayrıntılı şekilde yapılması, sınıflandırmanın daha net şekilde yapılmasına yardımcı olacağı düşünülmektedir.

Hereditör over karsinomlarının ise yaklaşık %5-15'inde, tümör baskılayıcı genler olan *BRCA1* ve *BRCA2* mutasyonları bulunmuştur. Bu iki gen tüm dünyada meme ve over kanserine yatkınlık sağlayan genler olarak kabul edilmektedir. *BRCA1/2* genlerinde herhangi bir mutasyona sahip olan kadınların mutasyon taşımayan kadınlara göre daha yüksek oranda kalıtsal yumurtalık kanseri riski taşıdıkları bilinmektedir. *BRCA1* mutasyon taşıyıcıları için bu risk oranı %39, *BRCA2* mutasyon taşıyıcıları için ise risk oranı %11-17 arasında değişmektedir. Yapılan genetik testler sonucunda *BRCA1/2* genlerinde mutasyon bulunan kadınlara kanser riskini önlemek için oofektomi yani yumurtalığın cerrahi olarak çıkarılması önerilmektedir.

2.4. Evreleme

FIGO (International Federation of Gynecology and Obstetrics) Onkoloji Komitesi, 1988'de yapılan FIGO sınıflandırmasına ek olarak tümör evresini, evreye uygun tedaviyi belirlemek ve hastaları prognostik olarak spesifik gruplara ayırmak amacıyla 2014 yılında yeni bir sınıflandırma oluşturmuştur. Over karsinomlarının doğru sınıflandırılması için klinik, cerrahi ve patolojik evreleme gereklidir. Tablo 2'de yeni FIGO evreleme sistemi gösterilmekte ve 1988'in eski versiyonuyla karşılaştırılmaktadır [30].

Tablo 2.7.4.1.1: Over Kanserinin FIGO evreleme sistemi

FIGO (1988)	FIGO (2014)
EVRE I: Tümör overlerde sınırlıdır. EVRE IA: Tümör tek overde sınırlı, yüzeyinde tümör yok, kapsül bozulmamış, assit sıvısı veya peritoneal yıkantı sıvısında tümör hücresi yok EVRE IB: Tümör her iki overde sınırlı, diğer özellikler Evre IA ile aynı. EVRE IC: 1 veya her iki yumurtalıkla sınırlı tümör. Cerrahi öncesi kapsül rüptürü yumurtalık yüzeyinde tümör, asitlerdeki malign hücreler veya periton sitolojisi pozitifliği	EVRE I: Tümör overler veya fallop tüpleri ile sınırlıdır. EVRE IA: Tümör tek over veya fallop tüpünde sınırlı, yüzeyinde tümör yok, kapsül bozulmamış, assit sıvısı veya peritoneal yıkantı sıvısında tümör hücresi yok EVRE IB: Tümör her iki overde veya fallop tüpünde sınırlı, diğer özellikler Evre IA ile aynı. EVRE IC: Tümör tek veya her iki overle sınırlı. Ancak; IC1: Cerrahi sırasında saçılma IC2: Cerrahi öncesi kapsül rüptürü veya over/ fallop tüp yüzeyinde tümör IC3: Assit veya peritoneal yıkama sıvısında malign hücre pozitifliği
EVRE II: Tümör, pelvik yayılımı olan bir veya iki yumurtalığı içerir. EVRE IIA: Uterus ve/veya fallop tüplerine yayılım assitlerde veya periton sitolojisinde malign hücre yok	EVRE II: Tümör, primer peritoneal kanser veya pelvik yayılımı olan bir veya iki yumurtalık/ fallop tüpünü içerir. EVRE IIA: Uterus ve/veya fallop tüplerine ve overlere yayılım

EVRE IIB: Diğer pelvik dokulara yayılım <i>assitlerde veya periton sitolojisinde malign hücre yok</i> EVRE IIC: <i>EVRE IIA EVRE IIB özellikleri+ assitlerde veya periton sitolojisinde malign hücre var</i>	EVRE IIB: Diğer pelvik intraperitoneal dokulara yayılım
EVRE III: Pelvis dışı peritoneal metastaz ve lenf nodlarına metastaz EVRE IIIA: Pelvis dışı mikroskopik metastaz EVRE IIIB: Makroskopik pelvis dışı peritoneal metastaz $\leq 2\text{cm}$ EVRE IIIC: Makroskopik pelvis dışı peritoneal metastaz $>2\text{cm}$ ve/veya retroperitoneal lenf nodu metastazı	EVRE III: Pelvis dışı yayılım; peritoneal implant ve/veya retroperitoneal lenf nodlarına metastaz EVRE IIIA: Pelvis dışı mikroskopik metastaz <i>ve/veya retroperitoneal lenf nodu tutulumu</i> IIIA1: <i>Yalnızca retroperitoneal lenf nod tutulumu</i> IIIA1(i): <i>Metastaz, maksimum 10 mm</i> IIIA1(ii): <i>Metastaz, 10 mmden büyük</i> IIIA2: <i>Mikroskopik pelvis dışı yayılım ve/veya retroperitoneal lenf nodu tutulumu</i> EVRE IIIB: Makroskopik pelvis dışı peritoneal metastaz $\leq 2\text{cm}$ <i>ve/veya retroperitoneal lenf nodu tutulumu (dalak veya karaciğer kapsülüne yayılım dahil).</i> EVRE IIIC: Makroskopik pelvis dışı peritoneal metastaz $>2\text{cm}$ ve/veya retroperitoneal lenf nodu tutulumu <i>(dalak veya karaciğer kapsülüne yayılım dahil).</i>
EVRE IV: Peritoneal metastaz dışı uzak metastaz	EVRE IV: Peritoneal metastaz dışı uzak metastaz EVRE IVA: <i>Pozitif plevral efüzyon</i> EVRE IVB: <i>Dalak ve/veya karaciğer parankim metastazı, abdomen dışı organlara metastaz (inguinal lenf nodu ve abdomen dışı lenf nodları tutulumu dahil)</i>

2.5. Risk Faktörleri

Over kanserinin etiyolojisi, belirsizliğini korumaktadır ve risk faktörlerinin etkilerine dair araştırmalar devam etmektedir [31]. Over kanserinin gelişmesinde bazı coğrafik alan ve ırksal farklılıklar olduğu bildirilmiştir [32]. Fakat, coğrafik veya ırksal faktörlerden bağımsız olarak da over karsinomları olan kişilerde aynı risk faktörleri etkili olduğu görülmüştür.

Risk faktörleri olarak, aşırı gonadotropin salgılanması, östrojen ve progesteron hormonlarının dengesizliği ve kanserojenlere maruziyet olarak sıralanabilir [33]. Birinci derece akrabalarda iki veya daha fazla sayıda yumurtalık kanseri veya meme kanseri vakası, önemli bir aile öyküsü, kalıtsal bir yumurtalık kanseri gelişimi ile ilişkilendirilmiştir [34, 35] [33, 36]. Nulliparite ve kısırlığın, kanser riskini %36-46 oranında artırdığı bildirilmiştir [37, 38]. Endometriozis, polikistik over sendromu (PKOS) ve pelvik bölgesindeki

inflatuar hastalık (PID), over kanserlerinin gelişimi ile de pozitif bir ilişki göstermektedir [33]. Sigara içme alışkanlığı veya obezite gibi yaşam tarzı faktörleri de yüksek yumurtalık kanseri riski ile ilişkilidir [39, 40]. Menarş (ilk adet) ve menopoz yaşı, oral kontraseptif kullanımı, hamilelik ve emzirme gibi yumurtlamayı azaltan faktörler ise düşük over kanseri riski ile ilişkilidir [31, 41]. Beş veya daha fazla yıl boyunca oral kontraseptif kullanan kadınların, bu yöntemi hiç kullanmayan kadınlara kıyasla, yumurtalık kanseri riskinde %50 azalma olduğu gösterilmiştir [33, 42]. Gebeliğin, her doğumda riski düşürmekle birlikte koruyucu bir etkisi de olduğu bildirilmiştir [42, 43]. Menopoz semptomlarının hafifletilmesi için kısa süreli hormon replasman tedavisinin (HRT) kullanılmasının ise over kanseri riskini arttırmadığı gösterilmiştir [44].

2.6. Tanı ve Tedavi

Yumurtalık kanseri olan kadınlar yüksek düzeyde glikoprotein CA125 seviyelerine sahip olurlar ve şu anda CA125 yumurtalık kanserini saptamak için standart tümör biyobelirteçi olarak kullanılmaktadır [45]. CA125 dişi üreme organlarında üretilir. Gelişmekte olan veya çoğalan bir tümörün neden olduğu doku hasarı, kanda CA125'in yükselmesine neden olur ve yumurtalık kanseri için tespit edilebilir bir belirteç görevi yapar [46]. Fakat, endometriozis ve diğer kadın üreme hastalıkları da CA125 seviyelerini yükseltebilir ve CA125'i yüksek bulunan her kadında yumurtalık maligniteleri gelişmemiş olabilir [47]. Tek başına yapılan testlerin hiçbirisi, tamamen güvenilir bir malignite göstergesi olarak kullanılamamakta ve kanda CA125 seviyelerinin 35 IU/mL'den yüksek olduğu yerlerde, ultrason görüntüleme [48], bilgisayarlı tomografi (BT) ve manyetik rezonans görüntüleme (MRI) gibi tanı yöntemleri kullanılır.

Yumurtalık kanseri tedavisi cerrahi ve kemoterapi şeklinde uygulanır [49] [50]. Tedavinin uygulanması, over kanseri evresine bağlıdır, bu nedenle, erken evre hastaları için, doğru evreleme hayati önem taşımaktadır. Cerrahi yaklaşımlar aşağıdaki abdominal histerektomi; bilateral salpingo ooforektomi; periton sıvı biyopsileri; pelvik ve abdominal peritonun biyopsileri; omenektomi ve retroperitoneal lenf nodu değerlendirmesi olmak üzere çok farklı prosedürleri içermektedir [50, 51].

Doğurganlık koruyucu cerrahi, evre I over kanseri olan genç kadınlarda veya düşük malign potansiyeli olan tümörlerde düşünülebilir [52]. Bu durumda, kalan over sağlıklı olduğunda tek taraflı salpingooforektomi yapılabilir. Fakat, erken evre

yumurtalık kanseri olduğu düşünölen kadınların % 15 ila % 22'sinde pozitif lenf nodları olduğu tespit edilmiştir [53]. Bu da, hastalığın evresini, daha fazla tedavi gerektiren, evre III'e yükseltmektedir. İleri over kanserinin tedavisi ise zordur ve yalnız cerrahi tedavi uygulaması yetersiz olmaktadır. Bu durumlarda, sağkalımı arttıran sitoredüktif cerrahi ile birlikte kemoterapi tedavisi uygulanmaktadır. Erken evre yumurtalık kanserinin tedavisinde adjuvan kemoterapinin kullanımı önerilmemektedir (NICE, 2011). Yalnız evrelemenin şüpheli olduğu durumlarda erken evre kanser hastalarına kemoterapi önerilmektedir.

İleri evre yumurtalık kanseri tedavisinde kemoterapinin kullanılması, haftalar boyunca verilen ve genellikle ilk cerrahi tedaviyi (adjuvanı) takip eden standart bir sitotoksik ilaç rejiminin uygulanmasını içerir.

Over kanseri genellikle platin bazı ilaçlarla intravenöz kemoterapi tedavisine iyi yanıt verir [50]. Çalışmalar, paklitaksel ve bir platin ajan birleştirildiğinde, hayatta kalma oranlarının daha yüksek olduğunu göstermiştir [54]. Fakat, zamanla, over kanseri hücreleri, kemoterapi tedavisine direnç kazanır ve tekrar nüks eder. Kanser hücrelerin platin direnci olasılığı nedeniyle hastalığın platin kemoterapisine yanıt verme şansı düşer [55] [56, 57]. Bu durumlarda bireyselleştirilmiş tedavi ve yönetim gereklidir.

2.7. MikroRNA

2.7.1. miRNA'ların Biyolojik Özellikleri

Ökaryotlarda yaygın olarak bulunan miRNA'lar, endojen genler tarafından kodlanan, uzunluğu yaklaşık 19-22 nükleotid olan, kodlamayan tek iplikli küçük molekül bir RNA sınıfını içerir [58]. Araştırmalar, miRNA'nın bir hedef mRNA'ya bağlanması sonucunda onun parçalanmasına ya da kararsızlaşmasına neden olabileceğine ve bununla da, miRNA'ların proteini inhibe edebileceği ve gelişiminin düzenlenmesinde rolü olacağına dair sonuçlar vermiştir [59].

Doğrulan ilk mikroRNA, 1993 yılında *Caenorhabditis elegans*'ın araştırmaları sırasında Lee ve ark'nın bulduğu lin-4 olmuştur. Daha sonra insanla ilişkili miRNA'lar tanımlanmıştır ve miRNA araştırmalarının derinleştirilmesiyle miRNA'ların, insan genlerinin %60'ından fazlasının özgü bir şekilde translasyon inhibisyonuna neden olduğu öğrenilmiştir. Böylece hücre gelişimini, farklılaşmayı,metabolizmayı,yaşlanmayı, enflamasyonu ve bağışıklık sistemini etkilediği, ayrıca miRNA'ların tümör gelişimi ve ilerlemesi ile de doğrudan bir ilişkisi olduğu bulunmuştur [60-64].

2.7.2. miRNA'ların Moleküler Yapısı

pre-miRNA genellikle bir intramoleküler kök ilmek yapısı oluşturur. Olgun miRNA'nın kendisi açık bir okuma çerçevesi içermez. Beşinci uçta bir fosfat grubu bulunurken, üçüncü ucu bir hidroksil grubu içerir. Bir miRNA, bir veya birkaç hedef mRNA'yı spesifik olarak tanıyabilir.

mRNA'nın 3'ucundaki kodlanmayan bölge (UTR'ler) ve miRNA'nın 5'ucundaki 2-8 nükleotitten oluşan (seed sequence) bölge birbirleriyle tamamlayıcı niteliktedir. Genel olarak, eşleşmenin tam olması, mRNA'nın yıkılmasına neden olur; Eğer eşleşme kısmen tamamlayıcı olursa, mRNA translaysonunun inhibe edilmesine neden olur [65].

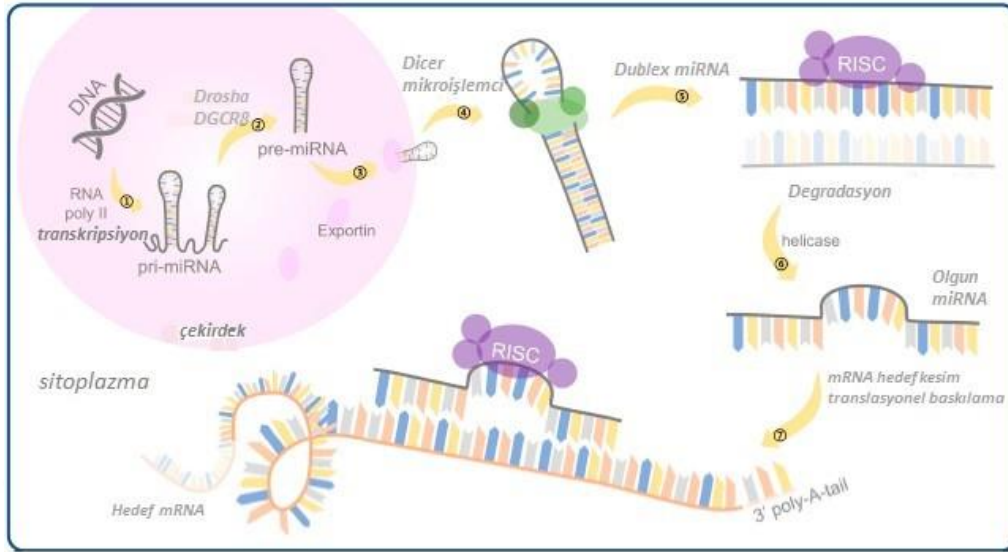
2.7.3. miRNA'ların biyosentezi

miRNA'ların sentezi ve işlenmesi kendine özgü şekilde yapılır (Şekil 2.7.1). İlk önce miRNA genleri RNA polimeraz II tarafından transkripsiyona uğrar ve “primer miRNA (pri-miRNA)” sentezlenir (14).

Sonra pri-miRNA, çekirdekte 60-70 bp uzunluğunda saç tokasına benzer küçük bir RNA “pre-miRNA(miRNA öncüsü)” oluşturmak için bir mikroişlemci tarafından işlenir. İşleme merkezi, pri-miRNA'nın her iki ucunu ayırır. 3'ucunda iki nükleotid yapışkan bir uç oluşturur ve “pre-miRNA” sentezlenir [66, 67]. Mikroişlemci bir ribonükleaz Drosha ve bir mikroişlemci kompleksi alt birim 8'den (DGCR8) oluşmuştur [68]. Drosha, RNA polimeraz III ailesine aittir ve çift sarmallı RNA (dsRNA) üzerinde etki eden bir endonükleaz sınıfıdır. Drosha, iki RNA polimeraz III alanından ve bir dsRNA bağlanma alanından oluşan bir işleme merkezine sahiptir [69-71].

DGCR8 (DiGeorge sendromu kritik bölge protein 8), Drosha enziminin kofaktörü olup yaklaşık 90 bp'lik büyüklüğe sahip bir proteindir ve Drosha'ya bağlanmasını sağlayan iki dsRNA bağlama alanı içerir. DGCR8'in çekirdek bölgesi ise, heme'e bağlanır ve pri-miRNA'nın işlenmesi için demir iyonlarla etkileşimi gerçekleştirir [72].

Mikroişlemci tarafından işlemden geçirildikten sonra, Exportin 5 (EXP5), GTP bağlayıcı proteinle (RanGTP) etkileşime girerek, pre-miRNA'yı sonraki işlem için çekirdekten sitoplazmaya taşır [73].



Şekil 2.7.1: miRNA'ların biosentezi [73]

EXP5 geninin inhibisyonu, hem miRNA ekspresyon seviyesinin düşmesine hem de, çekirdekdeki pre-miRNA birikiminin yokluğuna neden olur. Bunun sebebi, EXP5'in pre-miRNA'nın taşınmasından sorumlu olması ile birlikte aynı zamanda da pre-miRNA'yı nükleaz tarafından parçalanmasından da korumasıdır [74]. Sonraki aşamada, pre-miRNA sitoplazmada Dicer tarafından sindirilir. İlk olarak, Dicer pre-miRNA'nın 3' ucundaki iki nükleotidden oluşan yapışkan uça bağlanır. Pre-miRNA'nın kök ilmek yapısını parçalar ve Dicer, 3'ucundan pre-miRNA'yı 22 bp'lik küçük moleküler RNA'lara ayırır. RNA molekülünün bir ipliği yıkılır, diğeri ise Argonaut protein kompleksi ile birleşir ve RISC (RNA-induced silencing complex) kompleksi oluşturur. Son olarak, miRNA, RISC yönlendirmesiyle, gelen hedef mRNA'nın "3' kodlanmayan bölgesine (3' UTR)" bağlanarak onu degrade eder veya translasyonunu inhibe eder.

2.7.4. Yumurtalık Kanserinde miRNA İfade Profilleri

Kanser, insanlarda önemli bir sağlık sorunu ve ölüm sebebidir. Kanser oluşum mekanizmalarının karışık olması; birçok tümör tipinin metastaz ve nüks sergilemesi ve tedavisinin zor olmasından dolayı araştırmalar devam etmektedir. Son yıllarda, miRNA'nın keşfi kanser araştırmalarına bir ivme kazandırılmıştır. Özellikle, çeşitli miRNA'ların yumurtalık kanserindeki etkileri araştırılmıştır. Örneğin, bazı miRNA'ların ekspresyonun yumurtalık kanserinde düşük olması bu miRNA'ların tümör baskılayıcı

genler olarak kabul edilebileceğini gösterirken, aksine diğer miRNA'lar, yumurtalık kanserinde anormal bir şekilde yüksek eksprese edilir ve kanseri teşvik eden onkogen niteliği taşıdığı kabul edilebilir. Yumurtalık kanserinde farklı miRNA'ların değişen ekspresyonu ve rolleri göz önüne alındığında, yumurtalık kanserinin erken teşhisi için moleküler biyobelirteçler olarak kullanılabileceği düşünülmektedir [73].

2.7.4.1. Tümör Baskılayıcı olarak miRNA

Tümör baskılayıcı genler, tümör genezi inhibe eden genler olarak tanımlanırken, bu genlerin mutasyonu veya fonksiyon kaybı, bir onkojenin aktifleşmesine ve kanser oluşmasına neden olur. Bazı miRNA'ların tümör dokularındaki ekspresyon seviyeleri çok düşük düzeydedir ve tümör baskılayıcı genlerin özelliklerini sergilerler. 2002 yılında Calin ve ark., kronik lenfositik lösemi (KLL) çalışmasında miRNA'nın anormal ekspresyonu ile tümörler arasındaki korelasyonu keşfetti [75]. KLL hücrelerinde miR-15 ve miR-16 ekspresyonun normalden daha aşağı regüle edildiğini veya inhibe edildiğini bildirdiler. Bu nedenle miR-15 ve miR-16'nın tümör baskılayıcı genler olarak rol oynayabileceği ve hematolojik tümörlerin oluşumuyla yakından ilgili olacağını bildirdiler. Daha sonra, Kumar ve ark., let-7 ailesi miRNA'larının ekspresyonunun küçük hücreli olmayan akciğer kanserinde önemli ölçüde azaldığını, böylece K-RAS için gen üzerindeki bloke edici etkinin zayıfladığını ve akciğer kanserinin oluşumunu ve gelişim sürecini desteklediğini doğruladı [76]. Yapılan birçok araştırmada let-7, miR-15/16 Kümesi, miR-375, miR-126 (PAK4'ün ekspresyonunu inhibe ederek), miR-1/miR-133a, miR-128'in ve bir çok miRNA'nın farklı tümör tiplerinde ekspresyon düzeylerinin azalarak tümör süpresör olarak işlev yaptığı bildirilmiştir [77-79].

2.7.4.2. Onkogen olarak miRNA

Proto-onkojenler genellikle hücre çoğalmasına katılan genlerdir ve proto-onkogenin ekspresyon ürünü, normal büyüme, üreme, gelişme ve hücrelerin farklılaşmasında düzenleyici rol oynar. Proto-onkogenlerin kontrolsüz ifadesi anormal hücre davranışlarına ve tümörlerin oluşumuna yol açabilir. Tümör dokularında bazı miRNA'ların ekspresyon seviyeleri proto-onkogenlerin özelliklerini sergileyerek önemli ölçüde fazla eksprese edilir. Onkogen olarak ifade edilen bu miRNAların farklı eksprese edilmesi tümör gelişiminde rol oynayabilir. İlk kez Iorio ve ark. yumurtalık kanseri dokularını değerlendirmek için gen-çip teknolojisini kullanmışlar ve miR-155'in aşırı eksprese edildiğini göstermişlerdir [80].

Yapılan birçok çalışmada ise miR-155'in akciğer kanserinde, miR-107, miR-21, miR-10b ve miR-31 ekspresyonunun meme kanserinde, ve miR-103ün kolorektal kanserli hastalarda yüksek eksprese edilerek onkogen olarak görev aldığını bildirmişlerdir [81] [82] [80, 83].

2.7.5. Yumurtalık Kanseri İnvazyonu ve Metastazında miRNAların rolü

Tümör hücrelerinin invazyonu ve metastazı, tümör hücresinin biyokimyası, morfolojisi ve göç kabiliyetindeki değişikliklere; metastaza aracılık eden yüzey reseptörlerindeki değişikliklere; hedef organ etrafında bir tümör mikro-çevresinin oluşumuna; bu mikro-çevrenin metastatik hücrelerin hayatta kalması ve çoğalmasına yardımcı olması olmak üzere üç bağımsız aşamada gerçekleşir [84, 85].

Tümör mikro-çevresi, tümörlerin gelişiminde önemli bir rol oynar. Hipoksi, düşük pH ve yüksek basınç ortamı tümör hücrelerinde büyüme faktörlerine, proteolitik enzimlere ve immünoinflamatuvar faktörlere etki eder. Metastaz, farklılaşma vb. işlemlerin kanserde önemi büyüktür ve miRNA'nın anormal ekspresyonu, hücre dışı matrisi düzenleyerek tümör istilasını ve metastazı kolaylaştırmaktadır [86, 87].

2.7.6. miRNA ve Epitelyal-mezenkimal geçiş

Over kanserinin nüksü ve sağkalımı ile ilişkili birkaç miRNA bulunmuştur, bu miRNAların ekspresyon düzeylerindeki artış kanser metastazının inhibisyonu ile ilişkilendirilmiştir [88]. Kanser hücrelerinin metastazı, sadece kanser tedavisinin kötü prognozuna neden olmakla kalmaz, aynı zamanda kanser tedavisinin başarısızlığının önemli bir nedenini de oluşturmaktadır.

Epitelyal-mezenkimal geçiş (EMT) tümör invazyonu ve metastazında önemli bir özelliktir. Yumurtalık kanserinde miRNAların EMT, tümör ilerlemesi ve metastazı ile yakından ilişkili olduğu doğrulanmıştır [73]. miR-125a, over kanseri hücrelerinde EMT'yi tersine çevirerek hiperinvaziteyi indüklemektedir [89]. Ayrıca, Li ve ark. yumurtalık kanserinde miRNA'ların ekspresyonunu ters transkripsiyon-polimeraz zincir reaksiyonu ve Western blotlama ile incelemişler ve düşük gradlı az metastatik yumurtalık kanserinde miR-183 ve miR-22 ifadesinin yüksek metastatik yumurtalık kanserinde olduğundan daha yüksek olduğunu saptamışlardır [73]. Bu miRNA'ların yumurtalık kanseri hücrelerinde ekspresyonunun arttırılması, EZRIN proteininin ekspresyon seviyesini düşürmekte olduğu anlaşılmıştır. Bu da tümör baskılayıcı olarak

EZRIN'in miR-183 ve miR-22 ile inhibe edildiğini ve over kanseri metastazını inhibe etmede rol oynadığını ortaya koymuştur [90].

2.7.7. miRNA'lar Ekstraselüler Matrisin İfadesini ve İşlevini Düzenler

Hücre dışı matris, hücrel mekanik değişikliklerden ve hücre dışı sıvıdaki biyokimyasal değişikliklerden oluşan dinamik bir sistem oluşturur. Hücreler ve lifler arasındaki bileşim proteoglikanlar, poliglikoproteinler ve glikosaminoglikanlar; Hücre dışı matris (ESM) molekülleri hücre göçünü ve tümör metastazını düzenler [91]. miRNA'ların ekspresyonlarının azalması, ESM'yi parçalayarak tümör metastazını düzenlemektedir [92].

Matris metaloproteinazlar (MMP'ler) familyası, tümör metastazını hızlandırmak için ESM'yi bozan ve yeniden şekillendiren bir çinko bağımlı endopeptidaz sınıfıdır [93]. MMP-2, MMP-3, MMP-7 ve MMP-9'un, yumurtalık kanserinde tümör hücrelerinin istila ve göçünde rol oynadığı düşünülmektedir. Uzak metastaz yapmış yumurtalık kanseri dokuları ile metastaz yapmamış yumurtalık kanseri dokuları karşılaştırıldığında, MMP-7 önemli ölçüde artmış ve miR-543 ise önemli ölçüde azalmıştır. miR-543 ve MMP-7 mRNA'nın 3'UTR'lerine bağlanarak MMP-7 transkripsiyonunu inhibe ettiği ve yumurtalık kanseri hücrelerinin metastazını azalttığı gösterilmiştir [94].

2.7.8. miRNA'ların Anjiyogeneze Rolü

Tümör anjiyogenezi, kan dolaşımını kullanarak tümör hücrelerinin yayılmasını ve metastazını kolaylaştıran tümörün yayılmasına ve ilerlemesine katkıda bulunan bir süreçtir [84]. miR-200 ailesi sadece EMT ile değil aynı zamanda tümör anjiyogeneziyle de ilişkilidir. miR-200 ailesinin, tümör epitel hücreleri ve kemokin CXCL-1 tarafından salgılanan interlökin-8'i doğrudan veya dolaylı olarak hedefleyerek kan damarlarının oluşumunu inhibe ettiği bildirilmiştir. miR-200 ailesinin tümör epiteline aktarılmasıyla, tümör hücrelerinin metastazı ve anjiyogenezinde önemli bir baskılanma ve azalma görülmüştür [95].

2.7.9. miR-451a

Diğer miRNA'lar gibi miR-451a, translasyonu inhibe etmek için hedef mRNA'ların 3' UTR'lerine bağlanma yeteneği olan, yaklaşık 22 nükleotitden oluşan bir RNA molekülüdür. miR-451a, miR-451 ailesine ait olup 17q11.2 kromozomunun uzun

kolunda yer almaktadır. miR-451a'nı kodlayan pri-miRNA, aynı zamanda miR-144'ü de kodlamaktadır[96]. Fare modelleri ile yapılan çalışmalarda miR-451a'nın oluşumunun diğer miRNA'lara göre farklı olduğu bildirilmiştir. miR-451a'nın oluşumunda Drosha enziminin etkili olduğunu, fakat Dicer enziminin rolü olmadığı bildirilmiştir [97]. Yumurtalık kanserinde miR-451a'nın, ilaç taşıyıcı protein olan P- glikoproteinini düzenlediği, bu nedenle de kemoterapi ilacı olan Paklitaksele karşı direnci arttırdığı bildirilmiştir [98] [99]. RCC hastaları üzerinde yapılan bir çalışma sonucunda ise miR-451a'nın RCC'de aşırı ekspresse edildiği gösterilmiştir [100]. Diğer bir çalışma da ise miR-451a ekspresyon düzeyinin glioma dokularında ve hücrelerinde azaldığı bildirilmiştir [101].

Farklı oluşum mekanizmasına sahip olan bu miRNA'nın kanser hücrelerinde farklı şekilde regüle edilmesi, kanserin gelişmesinde miR-451a'nın rolünün çok daha büyük olacağını düşündürmektedir bu nedenle etki mekanizmalarının daha çok araştırılması ve incelenmesi gerekmektedir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Tez çalışması İstanbul Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü, Kanser Genetiği Polikliniğine gelen over kanseri olan hastalardan seçilen 150 kişi ve hasta popülasyonu ile yaş cinsiyet olarak eşleştirilmiş ailesinde kanser hastalığı olmayan 100 sağlıklı kişiden alınan kan örnekleri ile kullanılmıştır. Sunulan tez çalışmasında miR-451a miRNA molekülünün epitelyal over kanserinde ekspresyon düzeyi 5S-RNA referans gen varlığında incelenmiştir.

Toplam 250 kişiden alınan kan örneğinden Quick-RNA™ MiniPrep kit ile RNA izole edilmiştir. Daha sonra EPİK™ miRNA Hi/Lo-Rox Select Kit kullanılarak ve kit prosedürüne uygun şekilde RNA moleküllerinden cDNA sentez edilmiştir. Son olarak qPCR yöntemi ile floresan işaretlenerek ayrıştırılmış miRNA ekspresyon düzeyi incelenmiştir.

EDTA'lı Kan Örneklerinden RNA İzolasyonu

150 hasta ve 100 sağlıklı gönüllü kişiden K₃EDTA'lı tüplere 10 mL periferik kan örneği alındı. Kan örneklerinden 1 saat içerisinde aşağıda belirtildiği şekilde lenfosit izole edildi:

- *EDTA'lı tüpdeki 10 mL kan örneği % 0.9'luk NaCl ile sulandırıldı.*
 - *Sulandırılmış kan örnekleri yavaşça 2 mL Ficoll üzerine eklendi.*
 - *Ficol üzerine yüklenmiş kan örnekleri oda sıcaklığında 30 dakika 1950 RPM'de santrifüj edildi.*
 - *Santrifüj sonrası Ficol'un üst fazında toplanan plazma ve lenfositler toplandı ve pastör pipetle 2 tüpe aktarıldı.*
 - *Tüpler tekrar oda sıcaklığında, 1950 RPM'de 10 dk. santrifüj edildi.*
 - *Santrifüj sonrası lenfositler tüpün dibine çöker ve süpernatant atıldı, üzerine 2 mL PBS eklendi.*
 - *Pipetleme işlemi yapıldıktan sonra pellet çözüldü ve elde edilen 2 tüp pellet 4 krio tüpe dağıtıldı.*
 - *Kriyo tüpler oda sıcaklığında, 2 dakika 1950 RPM'de. santrifüj edildi. Süpernatant döküldü.*
- Elde edilen lenfositler -80°C'de bir gün bekletildikten sonra azot tanklarına kaldırıldı.

Quick-RNA™ MiniPrep Protokolü ile RNA izolasyonu

QuickRNA MiniPrep Kit protokolüne uygun RNA izolasyonu aşağıdaki gibi yapıldı:

- Lenfositlere 300 µL RNA Lysis Buffer eklendi ve ardından pipetaj yapıldı.
- Çözülen lenfositler +4°C de, 30 saniye 10,000 x g'de santrifüj edildi.
- Karışım sarı kolonlu toplama tüplerindeki filtre üzerine aktarıldı ve +4°C de, 1dk 12.000g'de santrifüj yapıldı.
- DNA molekülü filtre tarafından tutulurken, RNA molekülleri tüpün altında toplandı. Altta klan RNA örneği "RNA biriktirme" tüpüne alarak üzerine 300 µL %95-100'lük Ethanol eklendi ve +4°C de, 30 san olmak üzere 10.000g'de santrifüj edildi.
- Altta toplanan faz Zymo-Spin IIICG Column tüplerine aktarıldı.
- Üzerine 5 µL DNase I ve 75 µL DNA Digestion Buffer eklendi ve 15 dakika olmak üzere oda sıcaklığında inkübe edildi.
- Sonra üzerine 400 µL RNA Prep Buffer eklendi ve 30 san 10,000 g'de santrifüj edildi. Alt faz uzaklaştırıldı.
- 700 µL yıkama tamponu (RNA Wash Buffer) Kolonun üzerine eklendi ve +4°C de, 30 san 10,000 g'de santrifüj edildi. Alttaki faz uzaklaştırıldı.
- 400 µL RNA Wash Buffer eklenerek yıkama işlemi tekrar edildi ve +4°C de, 10,000 g'de 2 dak. santrifüj yapıldı. Alttaki faz atıldı.
- Kolon 1,5 mL'lik yeni santrifüj tüpüne alınarak üzerine 100 µL distile su eklendi. +4°C de, 10,000 g'de 30 saniye santrifüj edildi.

Elde edilen RNA'ların ölçümleri yapıldı ve kullanılacağı ana kadar -80°C'de saklandı.

RNA'ların kalite ve saflık ölçümleri

cDNA sentezi için kullanılacak RNA yüksek kalitede ve temiz olmalıdır. RNA'nın saflığını belirlemek için RNA agaroz jelde 160 Volt akımda 3 cm kadar yürütüldü ve UV altında görüntülendi.

RNA'ların konsantrasyon ölçümleri ise NanoDrop cihazında yapıldı. Nanodrop sonucuna göre konsantrasyonu yüksek olan RNA'lar seçildi. Ardından hasta ve kontrol grubu RNA örneklerinin herbiri 200 ng/ μ L olacak şekilde sulandırıldı.

cDNA Sentezi

cDNA sentezi ID3EAL cDNA Synthesis System [MIRXES] kitine uygun yapıldı. cDNA reaksiyonu için maksimum 1 μ g RNA örneği kullanıldı.

- *RNA çözüldü, vortekslendi.*

- *Tüm reaksiyonlar buz içerisinde gerçekleştirildi*

Her bir örnek için (Toplam reaksiyon hacim 20 μ L olacak şekilde):

- 5 μ L RNA (200ng/ μ L, toplam 1 μ g RNA)

- 5 μ L ID3EAL RT buffer,

- 1 μ L ID3EAL RT primer,

- 1 μ L ID3AL RT transkriptaz

- 8 μ L dH₂O ile reaksiyon hacmi 20 μ L'ye tamamlandı.

- *Tüpler vortekslendi ve ardından santrifüjlendi.*

BioRad PCR cihazında 2 aşamalı Ters transkriptaz reaksiyonu gerçekleştirilerek cDNA elde edildi. cDNA'lar -20°C'de saklandı.

Tablo 2.7.4.2.1: cDNA sentez protokolü

SICAKLIK	SÜRE
42°C	30 dakika
95°C	5 dakika

Gerçek Zamanlı qPZR Reaksiyonu

cDNA'lar çözümlü, vortekslendi. 1:10 oranında distile su ile sulandırıldı.

Reaksiyon MIC PCR cihazında yapıldı. Bunun için:

- 10 μ L ID3AL qPCR Master Mix,
- 2 μ L ID3AL qPCR assays,
- 5 μ L sulandırılmış cDNA,
- 3 μ L distile su eklendi.

Tüpler MIC qPCR cihazına yüklendi ve protokole uygun olarak çalışma başlatıldı. mikroRNA'ların anlatım düzeyleri bilgisayar üzerinden analiz edildi.

Tablo 2.7.4.2.2: MIC-qPCR protokolü

DÖNGÜ	SICAKLIK	SÜRE
1X	95°C	10 dakika
	40°C	5 dakika
40X	95°C	10 saniye
	60°C	30 saniye



Şekil 2.7.1: MIC-PCR cihaz görünümü



Şekil 2.7.2 MIC-PCR tüpleri

İstatistiksel analizler ve ekspresyon düzeyi hesaplamaları

Ekspresyon Düzeyi hesaplamaları: Gerçek-Zamanlı-PZR işlemine ait Gerçek-Zamanlı-PZR eğrileri ile birlikte hedef genden başka bir ürünün çoğalıp çoğalmadığını, kontaminasyon olup-olmadığını ve primerlerin düzgün bağlanıp-bağlanmadığını görmek için “Erime Eğrisi Analizi (Melting Curve Analysis)”de yapıldı.

MIC-PCR cihazı sonuçlarına göre over kanseri hastaları ve kontrollerin CT değerleri belirlendi ve $2^{-\Delta\Delta CT}$ değerleri hesaplandı. $2^{-\Delta\Delta CT}$ değerlerinin hesaplanması için ilk önce hasta hem de kontrol grubu için ayrı ayrı olmak üzere hedef gen ile referans gen arasındaki farkı belirleyen ΔCT değeri hesaplandı.

$$\Delta CT = CT (\text{hedef gen}) - CT (\text{referans gen})$$

Ardından her bir hastanın ΔCT değerinden sağlıklı gruba ait ortalama ΔCT değeri çıkartılarak $\Delta\Delta CT$ değeri hesaplandı.

$$\Delta\Delta CT = \Delta CT (\text{hasta}) - \Delta CT (\text{sağlıklı kontrol})_{\text{ort}}$$

$2^{-\Delta\Delta CT}$ hesaplanmasıyla da hasta grubuna ait miR-451a ifade düzeyinin kontrol grubuna göre ne kadar oranda değiştiği belirlendi.

$$2^{-\Delta\Delta CT} = 2^{-[(Ct \text{ hedef} - Ct \text{ ref})_{\text{hasta}} - (Ct \text{ hedef} - Ct \text{ ref})_{\text{kontrol}}]}$$

Sonuçların klinik verilerin karşılaştırılmasında kullanılan istatistiksel analizler:

Gruplar arasındaki dağılımın normallik varsayımı SPSS v21.0 programında

Kolmogorov-Smirnov testi ile değerlendirildi. Test Sonuçlarının $p < 0,05$ olduğu ve bu yüzden gruplar arasındaki dağılımın normal dağılım göstermediği belirlendi. Verilerin incelenmesinde ise parametrik olmayan Mann-Whitney U testi kullanıldı.

3.1. Kullanılan Tampon ve zeltiler

Tablo 3.1 Kullanılan Tampon ve zeltiler

10X PBS Tampon zeltisi 1 litre için; - 80 g NaCl - 2 g KCl - 11,5 g Na₂HPO₄ - 2 g KH₂PO₄
10X BFB Yükleme Tamponu 2 mL için ; - %1 SDS - 5 mg Bromfenol Mavisi - 2 mL Gliserol
10X TEB (Tris-EDTA-Borik Asit) Tampon zeltisi - 0.88 M Borik Asit - 5 M Tris - 0.02 M EDTA (pH :8.00)
<u>%1,5'lik Agaroza Hazırlanması</u> - 1,5 g Agaroza - 100mL 0.5X TEB - 5μL Etidyum Bromür (10mg/mL)

Table 3.2. Kullanılan Cihazlar

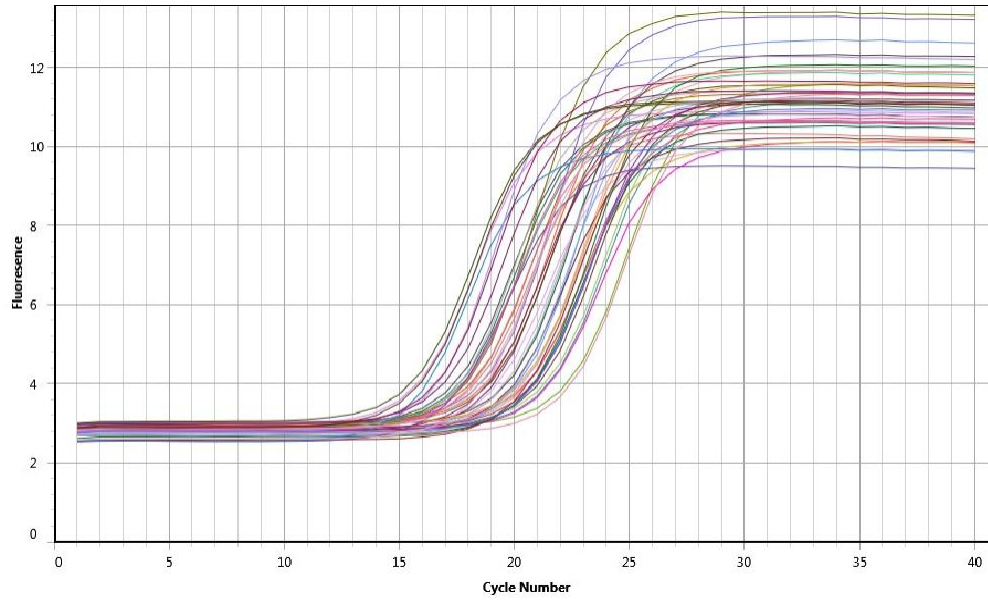
<i>-80 Derin Dondurucu [SANYO]</i>
<i>-30 Derin Dondurucu [SANYO]</i>
<i>Santrifüjler [HERAUS, HETTICH, JOUAN]</i>
<i>Termal Döngü Cihazı [TECHNE]</i>
<i>Mikropipet [GILSON]</i>
<i>Yatay Gel Elektrophorez Tankları ve Jel Dökme Sistemleri [BRL]</i>
<i>Manyetik Karıştırıcı [NÜVE]</i>
<i>Vorteks [FINEPZR]</i>
<i>Distile Su Cihazı [MILLIPORE]</i>
<i>Spektrofotometre NanoDrop 2000 [THERMO SCIENTIFIC]</i>
<i>MIC Gerçek-Zamanlı PZR Cihazı</i>
<i>Mikrodalga Fırın [ARÇELİK]</i>
<i>Gel Dökümantasyon Sistemi [BRL]</i>
<i>Etüvler (37°C ve 56°C) [NÜVE]</i>
<i>Manyetik Karıştırıcı [NÜVE]</i>

Table 3.3 Kimyasal maddeler ve malzemeler

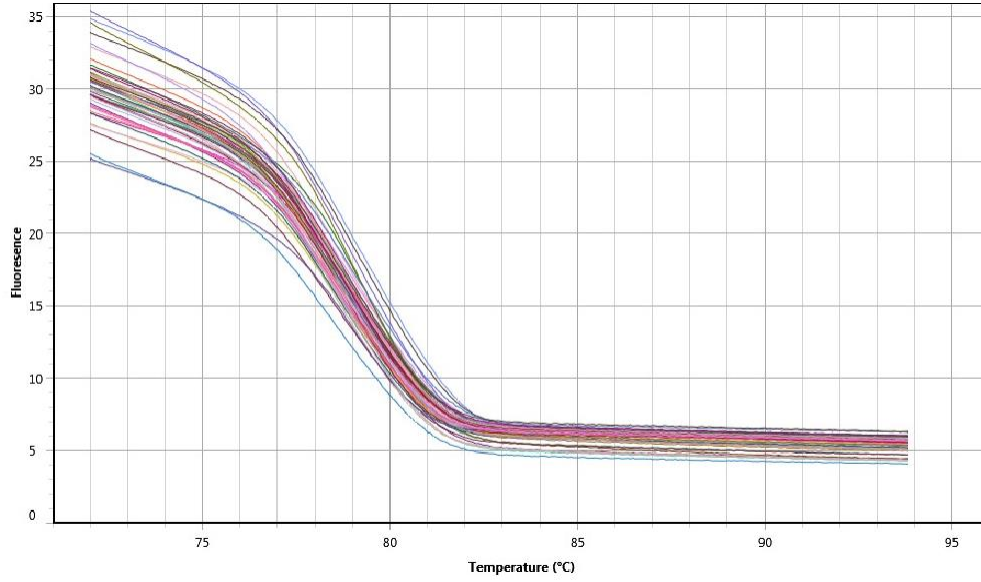
<i>Biocoll Separating Solution (Ficoll) [BIOCHROM]</i>
<i>Etilen-Diamin-Tetraasetikasit (EDTA),</i>
<i>Etidyum Bromid (EtBr), Bromfenol Mavisi (BFB) [SIGMA]</i>
<i>Etanol [RIEDEL DE HAEN]</i>
<i>Quick RNA MiniPrep Kit [ZYMO RESEARCH]</i>
<i>Collection Tubes PBS (Phosphate Buffer Solution)</i>
<i>Lysis Buffer ve Buffer R.</i>
<i>ID3EAL cDNA Synthesis System [MIRXES]</i>
<i>Agaroz (Wisent MultiCell, Kanada)</i>
<i>ID3EAL miRNA qPCR Starter Kit [MIRXES]</i>

4. BULGULAR

Sunulan tez çalışması epitelyal over kanserinde miR-451a'nın ekspresyon düzeyi Gerçek-Zamanlı-PZR eğrileri analiz edilerek MIC-PCR cihazında belirlendi. Hasta ve sağlıklı kontrollere ait miR-451a ekspresyon düzeylerine ilişkin sonuçlara bakıldığında, 149 hastadan 35'de ekspresyon düzeyi azalmış, 114 hastada ise artmıştır. Kontrol grupundan ise 47 sağlıklıda azalmış, 53 sağlıklı kontrolde ise artmıştır.



Şekil 3.1.1: Epitelyal Over kanserli hastalarda ve sağlıklı kontrollerde incelenen miR-451a' ın gerçek-zamanlı-PZR eğrileri



Şekil 3.1.2 Epitelyal Over kanserli hastalarda ve sağlıklı kontrollerde incelenen miR-451a' ın erime eğrileri (MELTING CURVE) görüntüsü

Tablo 4.1 Hastaların 2- $\Delta\Delta\text{CT}$ değerleri

Hasta no	mir-451a 2- $\Delta\Delta\text{CT}$	Hasta no	mir-451a 2- $\Delta\Delta\text{CT}$	Hasta no	mir-451a 2- $\Delta\Delta\text{CT}$
OH001	115,325110 8	OH026	3,32827249 3	OH052	119,019296 1
OH002	5,34082517 8	OH027	5,34085023 1	OH053	0,22414805 5
OH003	22,1174249 3	OH028	23,9120616 2	OH054	30,2805744 2
OH004	0,86844233 2	OH029	2,2078448 1	OH055	3,64794780 7
OH005	1,82590751 1	OH030	2,47111841 9	OH056	15,5078315 2
OH006	14,7121774 9	OH031	25,1843271 4	OH057	26,8926918 5
OH007	4,84882299 1	OH033	3058,62055 4	OH058	5,00441446 2
OH008	27,2956817 2	OH034	0,2960521 6	OH059	2,43191566 8
OH009	4,43737287 4	OH035	1,07959444 8	OH060	48,6006247 6
OH010	1,0343105 2	OH036	81,9048029 2	OH061	7,00749074 9
OH011	4,20911498 3	OH037	14,4817015 7	OH062	119,307809 6
OH012	54,9771875 6	OH038	25,3772341 2	OH063	0,00439940 6
OH013	6,85666509 5	OH039	464,928319 6	OH064	6,87767942 4
OH014	236,423395 7	OH040	4,50759535 1	OH065	67,1728978 7
OH015	1,20321776	OH041	0,18029365	OH066	0,91647178

	8		7		2
--	---	--	---	--	---



OH016	1,01066716 3	OH042	0,38135366 5	OH067	3,46417765 3
OH017	5,83099098 3	OH043	0,20042592 6	OH068	10,0861064 9
OH018	5,19754546 9	OH044	12,9884367 8	OH069	2,10528078 2
OH019	1,88362613 5	OH045	0,03634620 2	OH070	13,3860397 3
OH020	5,21299926 4	OH046	5,59768461 7	OH071	25,7399222 6
OH021	26,2760958 1	OH047	5,08313320 1	OH072	20,2675870 6
OH022	0,75842202 8	OH048	32,0967555 9	OH073	1,60262882 5
OH023	1,57630242 2	OH049	2,04288821 5	OH074	2,16044604 2
OH024	6,24196343 6	OH050	0,99946395 1	OH075	3,40006377 4
OH025	2,87052123 9	OH051	4,8833450 7	OH076	5,49042391 5

OH077	4,708042119	OH101	308,227706 2	OH124	24,00472088
OH078	6,507089997	OH102	0,07874496 5	OH125	5,126878225
OH079	2,933561515	OH103	1,47799377 4	OH126	12,54019303
OH080	0,462473092	OH104	1,71340056 2	OH127	104,9571806
OH081	0,306837578	OH105	0,28965075 6	OH128	2,260580607
OH082	1,04315204	OH106	0,51978395 1	OH129	2,614846346
OH083	1,93838195	OH107	26,7291959 6	OH130	11,46898239
OH084	2,763157459	OH108	0,52940622 6	OH131	7,041388251
OH085	25,26659639	OH109	0,37318783 6	OH132	4,102624173
OH086	26,31717032	OH110	0,72942025 3	OH133	0,557354434
OH088	3,33880259	OH111	5,74635620 3	OH134	0,437183711
OH089	6,486065079	OH112	2,89354270 8	OH135	2,203604438
OH090	0,084089884	OH113	0,23462675 8	OH136	0,749273469
OH091	1,371607283	OH114	3,64811079 1	OH137	0,040808817
OH092	7,733555894	OH115	39,7051561 3	OH138	28,53002026
OH093	0,093271872	OH116	0,08551871 8	OH139	0,357645304
OH094	46,12476043	OH117	2,57525560 2	OH140	61,41008639
OH095	4,8797811	OH118	16,1188075 6	OH141	0,138005711

OH096	2,668842802	OH119	8,57768871 4	OH142	8,686881296
OH097	1,233723492	OH120	0,2033367 8	OH143	28,90035258
OH098	0,149108356	OH121	4,09224457 2	OH144	109,4135449



OH099	0,269438114	OH122	0,450170269	OH145	1,346508641
OH100	36,678523	OH123	2,69026078	OH146	6,840205335
				OH147	10,88045655
				OH148	0,736119407
				OH149	0,313376314

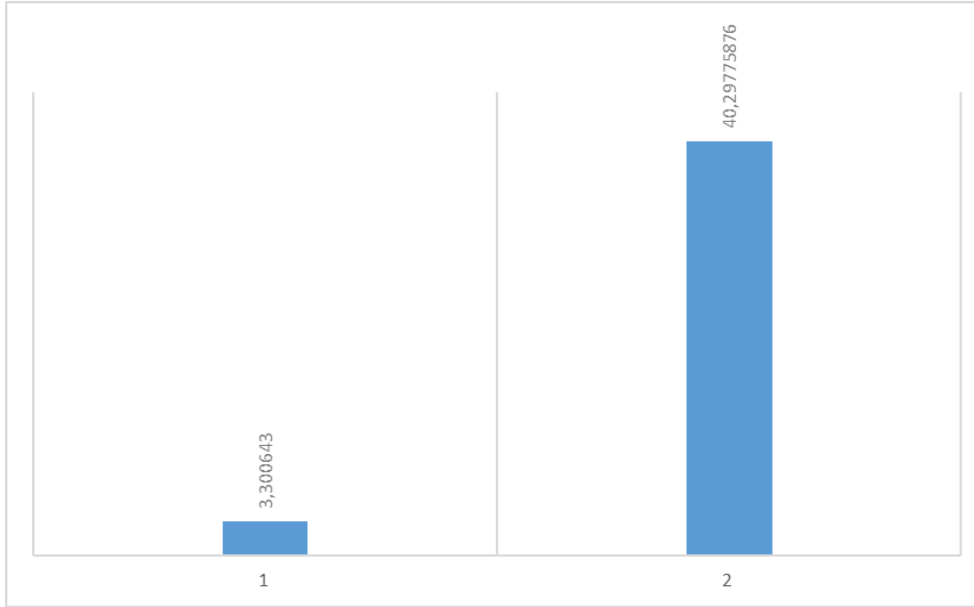
Tablo 4.2 Sağlıklı kişilerin 2^{-AACT} değerleri

sağlıklı no	mir-451a 2-AACT	Sağlıklı no	mir-451a 2-AACT	Sağlıklı No	mir-451a 2-AACT
OK001	8,797944	OK026	0,406919	OK052	0,263305
OK002	0,130477	OK027	0,049142	OK053	0,098872
OK003	1,341029	OK028	0,444925	OK054	0,222442
OK004	0,196606	OK029	1,622292	OK055	0,047118
OK005	9,184492	OK030	4,843045	OK056	0,166667
OK006	3,349642	OK031	0,027104	OK057	6,073038
OK007	0,734507	OK032	1,478351	OK058	0,080406
OK008	0,439145	OK033	3,048733	OK059	0,15478
OK009	1,031448	OK034	6,11185	OK060	0,382425
OK010	0,276703	OK035	12,14314	OK061	0,253475
OK011	7,002439	OK036	23,12263	OK062	0,161167
OK012	0,465597	OK037	1,263737	OK063	0,643049
OK013	0,708257	OK038	9,692064	OK064	0,606562
OK014	0,816142	OK039	8,822239	OK065	20,78478
OK015	4,126675	OK040	2,470801	OK066	1,878092
OK016	2,292028	OK041	1,619582	OK067	1,396368
OK017	4,245735	OK042	0,437485	OK068	0,397399
OK018	6,927115	OK043	0,969082	OK069	2,562708
OK019	6,246378	OK044	0,021034	OK070	0,936102
OK020	39,23722	OK045	3,615759	OK071	0,157546
OK021	3,036689	OK046	0,666814	OK072	0,393825
OK022	5,131138	OK047	0,180221	OK073	3,535733
OK023	2,611868	OK048	0,129759	OK074	0,435189
OK024	0,220963	OK049	0,040459	OK075	0,06481

OK025	0,185691	OK050	0,229286	OK076	4,978388
		OK051	5,713564		
OK077	1,007488	OK085	0,028691	OK093	0,095361
OK078	3,3678	OK086	1,032197	OK094	30,14744
OK079	1,63727	OK087	7,697546	OK095	0,783845
OK080	1,63575	OK088	0,069907	OK096	7,976867
OK081	9,663973	OK089	0,599056	OK097	2,584898
OK082	0,924369	OK090	1,132347	OK098	5,531535
OK083	1,260072	OK091	1,70016	OK099	2,438643
OK084	5,772777	OK092	0,708696	OK100	0,705779

Hastalarda miR451a'nın $2^{-\Delta\Delta CT}$ ortalaması 40,20, kontrol grunda ise $2^{-\Delta\Delta CT}$ ortalaması ise 3,30 olarak hesaplanmıştır (Table 3.1.2)

Hasta ve sağlıklı kontrol gruplarının $2^{-\Delta\Delta Ct}$ değerlerinin karşılaştırıldığında miR-451a'nın ifade düzeyinin epitelyal over kanserli hastalarda 12,2 kat arttığı saptanmıştır ($2^{-\Delta\Delta Ct}=12,2$).



Tablo 4.3 Kontrol ve hasta gruplarının $2^{-\Delta\Delta Ct}$ değerlerinin karşılaştırılması

Hasta ve kontrol gruplarına ait $2^{-\Delta\Delta C_t}$ değerleri Mann-Whitney U istatistiksel analiz metodu kullanılarak karşılaştırıldı. Bu analize göre miR-451a'nın ifade düzeyinin hasta gruplarında sağlıklı kontrollere göre istatistiksel açıdan anlamlı olduğu saptandı ($p<0,05$). miR-451a için elde edilen p değeri $p=0,000$ olarak hesaplandı ve aşırı düzeyde anlamlı olduğu görüldü (Tablo 3.1.3).

Tablo 4.4 Hasta ve kontrol grupları arasında miRNA gen ifade düzeylerinin Mann-Whitney U testi ile değerlendirilmesi

	miR451a
Mann-Whitney U	4611,500
Wilcoxon W	9661,500
Z	-4,968
p Değeri<	,000

Bununla birlikte, epitelyal over kanserli hastalarda miR-451a ifade düzeyi ile hastaların metastaz varlığı, oral kontraseptif kullanımı, tanı aldığı yaş, ailede over ve meme kanser sayısı, tümör boyutu, menopoz durumu, ailede kansere yakalanmış toplam vaka sayısı, infertilite, hamilelik, oral kontraseptif kullanımı, evre arasındaki ilişki ayrı ayrılıkta Mann-Whitney U testi ile değerlendirildi. Bu değerlendirmeye ait sonuçlar Tablo 4-7, 4-8, 4-9'da verildi.

Over kanseri hastalarında miR-451a'nın artan ifade düzeyi metastaz varlığı ($p=0,948$), oral kontraseptif kullanımı ($p=0,429$), tanı yaşı ($p=0,081$), tümör boyutu ($p=0,716$), menopoz durumu ($p=0,923$), ailede kansere yakalanmış toplam vaka sayısı ($p=0,473$), infertilite ($p=0,627$), hamilelik ($p=0,699$), OKS kullanımı ($p=0,429$), klinik evre ($p=0,499$) ile herhangi bir istatistiksel anlamlılık görülmezken ($p>0,05$), miR- 451a'nın artan ifade düzeyi ile ailede over ve meme kanserine yakalanmış vaka sayısı arasında anlamlı bir fark saptanmıştır ($p=0, 018$).

Tablo 4.5. Epitelyal over kanserli hastalarda miR-451a ifade düzeyi ile klinik bulgular arasındaki ilişkinin Mann-Whitney U testi ile değerlendirilmesi

	N	Mann-Whitney U	Wilcoxon W	Z	p Değeri
Yaş					
<40 yaş	24	1443,00	1443,00	-1,745	,081
=>40 yaş	123				
Toplam	147				
Metastaz durumu					
Var	102	2279,500	3314,500	-,065	,948
Yok	45				
Ailede over ve meme ca sayısı					
<2	94	1902,500	3333,500	2,374	,018
>=2	53				
Tümör boyutu					
<2 cm	32	1762,500	2290,500	-,364	,716
>=2 cm	115				
Ailede toplam kanser sayısı					
<2	51	2271,500	6927,500	-,718	,473
>=2	96				
Menopoz Durumu					
Premenopoz	68	2661,000	5007,000	-,097	,923
Postmenopoz	79				
İnfertilite durumu					
Hayır	140	436,500	464,500	-,487	,627
Evet	7				
OKS kullanımı					
Hayır	102	2107,000	3142,000	-,790	,429
Evet	45				
Hamilelik durumu					
Hayır	31	1716,500	2212,500	-,387	,699
Evet	116				
Klinik evre					
erken evre(1-2)	22	1250,500	1503,500	-,676	,499
ileri evre(3-4)	125				

4.1. miR-451a Ekspresyon Düzeylerinin Hastaların Klinik ve Patolojik Özellikleri İle Karşılaştırılması

Yapılan çalışmada epitelyal over kanseri hastalarında miR-451a ifade düzeyleri hastaların klinik histolojik ve patolojik evreleriyle karşılaştırılmıştır

Klinik evreye göre yapılan karşılaştırmada; miR-451a için ekspresyon düzeyi değerlendirmeye alınan 147 hasta arasında 8 tanesi Evre I (%5,44), 14 hasta Evre II (%9,52), 82 hasta Evre III (%55,78), 43 hasta ise EvreIV (%29,25) hastalığa sahiptir. Evre I hastalarından 0,68% (1/147)'inde miR-451a ekspresyon seviyesi azalmış, 4,76% (7/147)'inde ise artmıştır. Ekspresyon seviyesi evre 2 hastalarından 4,08% (6/147)'inde azalmış, 5,44% (8/147)'inde ise artmış bulunmuştur. Evre 3 hastalarından 10,88% (16/147)'inde azalmış, 44,9% (66/147)'inde artmış; Evre 4 hastalarından ise 8,16% (12/147)'inde azalmış, 21,08% (31/147)'inde artmış bulunmuştur

Histolojik evreyle karşılaştırdığımızda ise; Grad 1 olan 5 hastanın 5'inde de (5/147) ekspresyon düzeyi artmıştır. Grad 2 olan hastalarda ise ekspresyon seviyesi 6,12% (9/147)'inde azalmış, 17,0% (25/147)'inde ise artmış; Grad 3 olan hastalarda ise ekspresyon seviyesi 17,68% (26/147)'inde azalmış, 55,78% (82/147)'unda ise artmıştır. mir-451a ekspresyon seviyesi patolojik evresi 1 olan hastalardan 0,68% (1/147)'inde azalmış, 4,76% (7/147)'inde ise artmış; Evre 2 olan hastalarda 4,76% (7/147)'inde azalmış, 4,08% (6/147)'inde ise artmıştır. Evre 3 olan hastalardan 12,92% (19/147)'inde azalmış, 49,65% (73/147)'inde artmış; Evre 4 hastalardan ise 5,44%(8/147)'inde azalmış, 17,68%(26/147)'inde arttığı bulunmuştur.

mir-451a ekspresyon durumunu hastaların metastaz durumuna göre değerlendirdiğimizde; ekspresyon düzeyi metastazı olan hastalardan 14,96% (22/147)'inde azalmış, 54,42% (80/147)'ünde ise artmıştır; Metastazı olmayan hastalardan ise 8,84% (13/147)'unda azalmış, 21,76% (32/147)'inde ise artmıştır.

Cerrahi durumuna göre karşılaştırdığımızda; Operasyon geçirmiş hastalardan 23,8% (35/147)'inde azalmış, 72,7% (107/147)'ünde artmıştır. Operasyon geçirmemiş 5 hastanın 5'inde de (3.4%) ekspresyon düzeyi artmıştır.

Ekspresyon durumuna hastaların tümör çapına göre baktığımızda; Tümör boyutu <2 cm olan hastalardan 4,7% (7/147)'unda ekspresyon seviyesi azalmış, 17,0% (25/147)'inde artmıştır; Tümör boyutu ≥2 cm olan hastalardan 19% (28/147)'unda ekspresyon seviyesi azalmış, 59,18% (87/147)'inde artmıştır.

Sadece over kanseri tanısı alan hastalardan; 20,4% (30/147)'inde miR-451a ekspresyon durumu azalmış, 62,5% (92/147)'ünde ise artmıştır. Over ve meme kanseri tanısı alan hastalardan; 2,04% (3/147)'inde azalmış, 9,5% (14/147)'ünde ise artmıştır. Over ve endometrium kanser tanısı alan hastalardan ise; 0,6% (1/147)'ünde miR-451a ekspresyon durumu azalmış, 1,36% (2/147)'inde ise artmıştır. Over ve diğer kanser tanısı alan hastalardan ise 0,6% (1/147)'inde azalmış 2,7% (4/147)'inde artmıştır

Ekspresyon durumunu tanı yaşı ile karşılaştırdığımızda; Tanı yaşı <40 olan hastalardan 5,44% (8/147)'inde ekspresyon azalmış, 10,8% (16/147)'inde artmış; Tanı yaşı =>40 yaş olan hastalardan 18,36% (27/147)'inde ekspresyon azalmış, 65,3% (96/147)'inde artmıştır. miR-451a ekspresyon düzeyinin over kanseri hastalarının histolojik alt tiplerine göre değerlendirdiğimizde farklı sonuçlar elde edilmiştir.

Seröz over kanseri olan hastalardan 1,36% (2/147)'inde ekspresyon azalmış, 7,48% (11/147)'inde artmış; Müsinöz over kanseri olan hastalarda ise 2,04%(3/147)'ünde artmış 2,04% (3/147)'ünde azalmıştır;

Papiller over kanseri olan hastalarda ise 50,0%(0/147) artmış 0,68% (1/147) azalmıştır; Squamoz hücreli over kanseri olan hastalardan ise 50,0%(0/147)'inde artmış 0,68% (1/147)'inde azalmıştır; adenokarsinom hastalarda ise 4,76%(7/147)'inde artmış 14,96% (22/147)'inde azalmıştır

Seroz adenokarsinom over kanseri olan hastalarda ise 9,52%(14/147)'inde artmış 27,89% (41/147)'unda azalmıştır; Serözpapiller adenokarsinomlarda ise 4,76%(7/147) 'inde artmış 17,68% (26/147)'inde azalmıştır; Berrak hücreli adenokarsinom kanseri olan hastalarda ise 1,36%(2/147)'inde artmış, 4,08% (6/147)'inde azalmıştır; Endometrioid over kanseri olan hastalardan ise 50,0%(0/147)'inde artmış, 0,68% (1/147)'inde azalmıştır. miR-451a ifade düzeyinin hastaların evreleri ile karşılaştırdığımızda ekspresyon düzeyinin evre 3'lerde bir artış gösterdiği görülmüştür; ancak yapılan Man Whitney U testine göre bu artışın anlamlı olmadığı görülmüştür. Yine de bir sonraki araştırmada evre 3 hastaların gözlenmesi ve durumun değerlendirilmesi yapılması planlanmaktadır.

Tablo 4.6 miR-451a ekspresyon düzeylerinin hastaların klinik özellikleri ile karşılaştırılması

	Mir451A		
EKSPRESYON DURUMU	AZALMIŞ	ARTMIŞ	TOPLAM
KLİNİK EVRE			
EVRE 1	1(12,5%)	7(87,5%)	8(5,4%)
EVRE 2	6(42,9%)	8(57,1%)	14(9,5%)

EVRE 3	16(19,5%)	66(80,5%)	82(55,8%)
EVRE 4	12(27,9%)	31(72,1%)	43(29,3%)
TOPLAM	35(23,8%)	112(76,2%)	147(100,0%)
HİSTOLOJİK EVRE			
GRAD 1	0 (0,0%)	5(100,0%)	5(3,4%)
GRAD 2	9(26,5%)	25(73,5%)	34(23,1%)
GRAD 3	26(24,1%)	82(75,9%)	108(73,5%)
TOPLAM	35(23,8%)	112(76,2%)	147(100,0%)
PATOLOJİK EVRE			
EVRE 1	1(12,5%)	7(87,5%)	8(5,4%)
EVRE 2	7(53,8%)	6(46,2%)	13(8,8%)
EVRE 3	19(20,7%)	73(79,3%)	92(62,6%)
EVRE 4	8(23,5%)	26(76,5%)	34(23,1%)
TOPLAM	35(23,8%)	112(76,2%)	147(100,0%)
TEDAVİ			
CERRAHİ			
YOK	0(0,0%)	5(100,0%)	5(3,4%)
VAR	35(24,6%)	107(75,4%)	142(96,6%)
TOPLAM	35(23,8%)	112(76,2%)	147(100,0%)
Tümör çapı			
<2 cm	7(21,9%)	25(78,1%)	32(21,8%)
>=2 cm	28(24,3%)	87(75,7%)	115(78,2%)
TOPLAM	35(23,8%)	112(76,2%)	147(100,0%)
TANI			
Sağlıklı kontrol grubu	48 (48,0%)	52 (52,0%)	100 (100,0%)
Meme ve over hasta grubu	3 (17,6%)	14 (82,4%)	17 (100,0%)
Over ca	30 (24,6%)	92 (75,4%)	122 (100,0%)
Over ca ve Endometriyum ca	1 (33,3%)	2 (66,7%)	3 (100,0%)
Over ca ve diğer bir kanser tanısı	1 (20,0%)	4 (80,0%)	5 (100,0%)
Toplam	83 (33,6%)	164 (66,4%)	247 (100,0%)
YAŞ			
<40 yaş	8(33,3%)	16(66,7%)	24(100,0%)
=>40 yaş	27(22,0%)	96(78,0%)	123(100,0%)
TOPLAM	35(23,8%)	112(76,2%)	147(100,0%)
Histolojik tipler			
Seröz	2(15,4%)	11(84,6%)	13(8,8%)
Müsinöz	3(50,0%)	3(50,0%)	6(4,1%)
Papiller	0(0,0%)	1(100,0%)	1(0,7%)
Squamous Cell Carcinoma	0(0,0%)	1(100,0%)	1(0,7%)
Adenocarcinoma	7(24,1%)	22(75,9%)	29(19,7%)
Seröz adenocarcinoma	14(25,5%)	41(74,5%)	55(37,4%)
Serözpapiller adenocarcinoma	7(21,2%)	26(78,8%)	33(22,4%)

Berrak hücreli karsinoma	2(25,0%)	6(75,0%)	8(5,4%)
Endometrioid	0(0,0%)	1(100,0%)	1(0,7%)
TOPLAM	35(23,8%)	112(76,2%)	147(100,0%)

4.2. miR-451a Ekspresyon Düzeylerinin Hastaların Aile Hikayeleri ile Karşılaştırılması

miR-451a ekspresyon düzeyi ailedeki meme ve over kanseri sayısı 2'den az olan hastalardan 10,88% (16/147)'inde azaldığı, 53,06% (78/147)'inde ise arttığı görülmüştür. Ailede meme ve over kanseri sayısı 2'den fazla olan hastalardan 12,92% (19/147)'inde ise azaldığı, 23,12% (34/147)'inde ise arttığı görülmüştür.

Ailedeki over dışı diğer kanser sayına baktığımızda; kanser sayı 2den az olan hastalardan 6,8% (10/147)'nda azaldığı, 27,89% (41/147)'ünde ise arttığı görülmüştür. Kanser sayı 2'den fazla olan hastalardan 17,0% (25/147)'ında ise azaldığı, 48,29% (71/147)'ünde ise arttığı görülmüştür.

Tablo 4.7. miR-451a Ekspresyon Düzeylerinin Hastaların Aile Hikayeleri ile Karşılaştırılması

EKSPRESYON DURUMU	AZALMIŞ	ARTMIŞ	TOPLAM
Ailede meme ve over kanserli vaka sayısı			
<2	16(17,0%)	78(83,0%)	94(63,9%)
>=2	19(35,8%)	34(64,2%)	53(36,1%)
Toplam	35(23,8%)	112(76,2%)	147(100,0%)
Ailede meme ve over kanseri dışında görülen toplam kanser vaka sayısı			
=>2	10(19,6%)	41(80,4%)	51(34,7%)
=>2	25(26,0%)	71(74,0%)	96(65,3%)
Toplam	35(23,8%)	112(76,2%)	147(100,0%)

4.3. miR-451a Ekspresyon Düzeylerinin Hastaların Hamilelik ve Infertilite Durumuna Göre Değerlendirilmesi

miR-451a ekspresyon düzeylerinin hamilelik geçiren kadınlardan 19,72% (29/147)inde azalmış, 59,12% (87/147)inde ise artmıştır. Hamilelik geçirmeyen kadınlardan 4,08% (6/147)ünde azalmış, 17 % (25/147)ında ise artmıştır.

Infertilite tedavisi alan hastalardan 7'sinden 1'inde ekspresyon düzeyi azalmış

0,68% (1/147), 6'sında ise artmıştır 4,08% (6/147).



Tablo 4.8 miR-451a ekspresyon düzeylerinin hastaların hamilelik ve infertilite durumu ile karşılaştırılması

EKSPRESYON DURUMU	AZALMIŞ	ARTMIŞ	TOPLAM
Hamilelik Durumu			
Yok	6(19,4%)	25(80,6%)	31(21,1%)
Var	29(25,0%)	87(75,0%)	116(78,9%)
Toplam	35 (23,8%)	112(76,2%)	147 (100,0%)
Infertilite tedavisi			
Yok	34(24,3%)	106(75,7%)	140(95,2%)
Var	1(14,3%)	6(85,7%)	7(4,8%)
Toplam	35(23,8%)	112(76,2%)	147(100,0%)

4.4. miR-451a Ekspresyon Düzeylerinin Menopoz Durumu ve OKS Kullanımına Göre Değerlendirilmesi

Over kanseri tanısını premenopozal dönemde alan kadınlardan 10,88% (16/147)'inde miR-451a ekspresyon düzeyi azalmış, 35,37% (52/147)'inde ise artmış; postmenopozal dönemde tanı alan kadınlardan ise 12,92% (19/147)'inde ekspresyon düzeyi azalmış, 40,8% (60/147)'unda ise artmıştır.

Oral kontraseptiv kullanan kadınlardan 8,16% (12/147)'inde ekspresyon seviyesi azalmış, 22,44% (33/147)'ünde ise artmış; OKS kullanmayan kadınlardan 15,64% (23/147)'inde ekspresyon seviyesi azalmış, 53,74% (79/147)'inde ise artmıştır.

Tablo 4.9. miR-451a ekspresyon düzeylerinin hastaların menopoz durumu ve OKS Kullanımı ile karşılaştırılması

EKSPRESYON DURUMU	AZALMIŞ	ARTMIŞ	TOPLAM
Menopoz durumu			
Premenopoz	16(23,5%)	52(76,5%)	68(46,3%)
Postmenopoz	19(24,1%)	60(75,9%)	79(53,7%)
Toplam	35(23,8%)	112(76,2%)	147(100,0%)
OKS kullanımı			
Yok	23(22,5%)	79(77,5%)	102(69,4%)
Var	12(26,7%)	33(73,3%)	45(30,6%)
Toplam	35(23,8%)	112(76,2%)	147(100,0%)

OKS: Oral kontraseptiv

4.5. ROC analizi

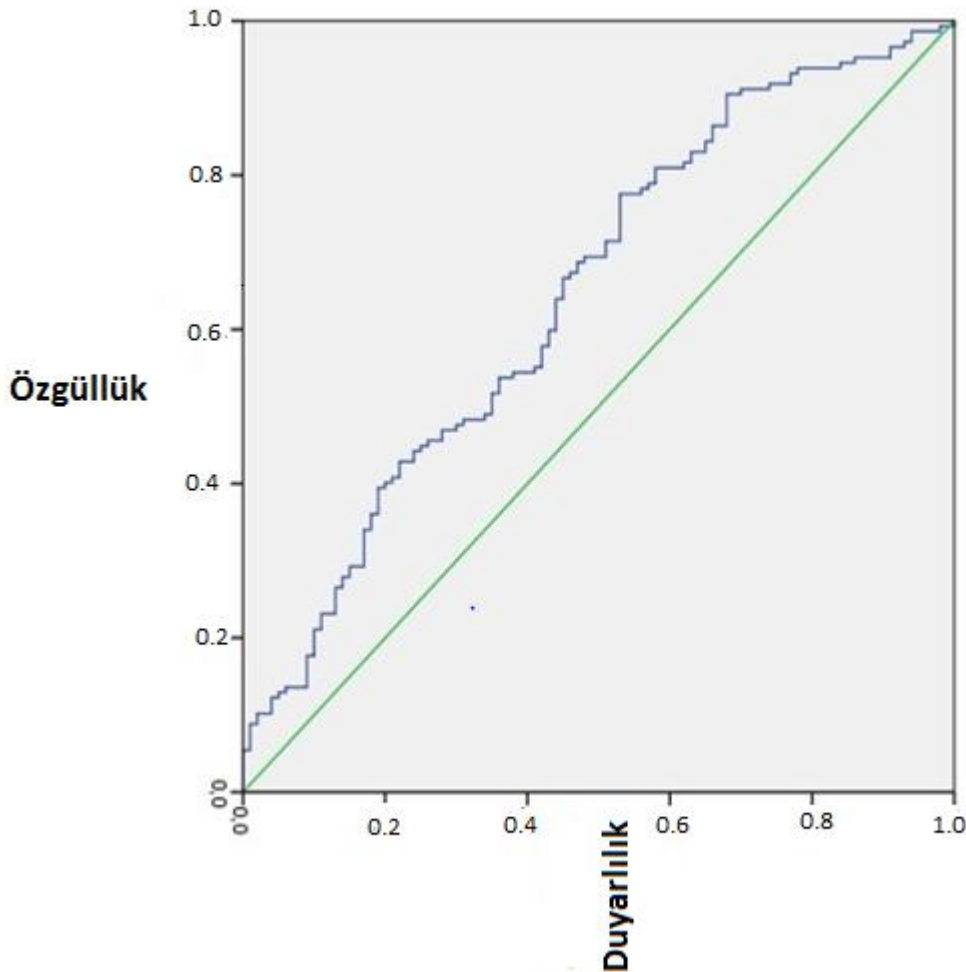
İncelediğimiz miR-451a molekülünün aday biyobelirteç olarak tanısal performansını diğer bir deyişle over kanserli hasta ve sağlıklı kontrol grubunu ayırt

edebilme gücünü gösterebilmek amacı ile Receiver Operator Characteristics (ROC) analizi gerçekleştirildi (Şekil 4.5.1).

Tablo 4.5.1 ve Şekil 4.5.1 'de verilen miR-451a için belirlenen ROC-AUC değerleri ve %95 CI (Güven Aralığı) sonuçları yer almaktadır. Bu sonuçlara göre over kanserli hastaların tanısında miR-451a miRNA değişkenlerinin tanısal gücü istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0.005$).

miRN A	ROC-AUC	%95 CI	p değeri
miR-451a	0,314	0,248 - 0,379	$p=0.000$

Tablo 4.10. Over kanserli hasta ve sağlıklı grubun ayrılmasında miR-451a'nin ROC-AUC değerleri



Şekil 4.5.1. Over kanserli hasta ve sağlıklı grubun ayrılmasında miR-451a'in etkinliğini gösteren ROC eğrisi

4.6. Sağkalım Analizi

Çalışmada incelediğimiz over kanserli hastaların ortalama sağkalım süresi 80 (SD ± 49) aydır ve 2010-2019 yılları arasında taradığımız 147 hastadan, 47(32%)'inin öldüğü, 100 (68%) hastanın tanıdan sonra hayatta kaldığı tespit edilmiştir.

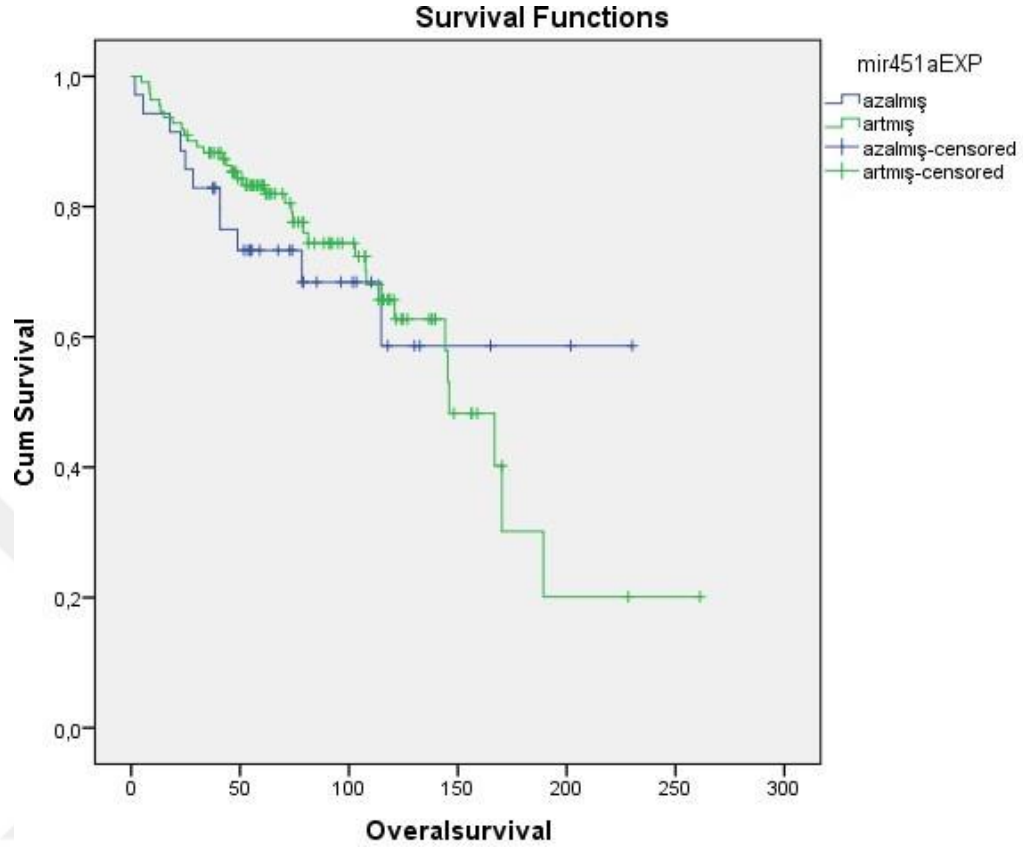
Araştırdığımız miR-451a ifade düzeyinin sağkalım süresini etkileyen değişkenler olup olmadığını incelemek amacı ile Kaplan-Meier analizi gerçekleştirilmiştir. Gen ifade düzeyleri ile sağkalım süresi arasında bir korelasyon saptanmamıştır ($p > 0.005$) (Tablo 4.6.1, Tablo 4.6.2 ve Şekil 3-4).

Tablo 4.11. Over kanseri hastalarında miR-451a gen ifade düzeyinin sağkalım süresi arasındaki korelasyonu

mir451A exp	Mean ^a				Median			
	Estimate	Std. Error	95% Confidence Interval		Estimate	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound			Lower Bound	Upper Bound
Azalmış	157,057	18,345	121,102	193,013	.	.	.	.
Artmış	147,054	12,901	121,768	172,340	146,000	11,301	123,850	168,150
Overall	153,588	12,008	130,052	177,125	166,967	14,335	138,871	195,063

Tablo 4.12. Over kanseri hastalarında miR-451a gen ifade düzeyinin sağkalım süresine göre p değeri

	Chi-Square	Df	p değeri
Log Rank (Mantel-Cox)	,034	1	,853
Breslow (Generalized Wilcoxon)	1,007	1	,316
Tarone-Ware	,605	1	,437

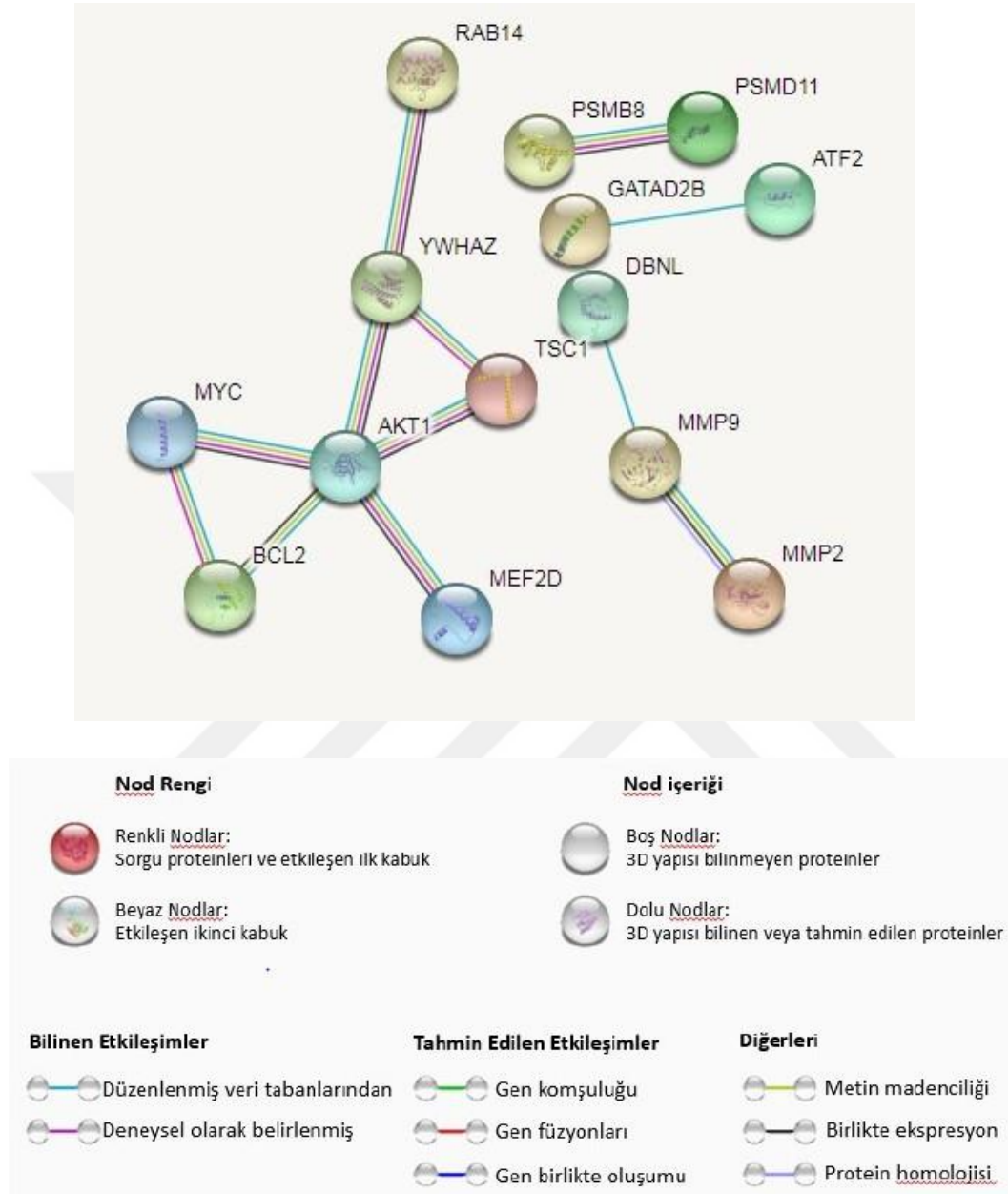


Şekil 4.6.1. Over kanseri hastalarında miR-451a gen ifade düzeyinin sağkalım süresi arasındaki korelasyon istatistiği

4.7. STRING Analizi

miRTarBase ve TargetScan veri tabanı kullanarak miR-451a miRNA molekülü için öngörülen hedef gen sayısının 37 olduğu belirlendi.

miR-451a için miRTarBase ve TargetScan'den saptanan ortak gen hedeflerinin protein düzeyinde etkileşimleri STRING analizi ile belirlendi. miR-451a için saptanan ortak gen hedeflerinin, STRING veritabanı kullanılarak yapılan protein düzeyinde etkileşim sonuçları anlamlı bulundu ($p=0.001$) şekil. Bu analiz sonuçları Şekil 4-7'de verilmiştir.



Şekil 4.7.1. miR-451a'nın Gen/Protein Etkileşimini Gösteren String Analiz Sonuçları

miR-451a'nın hedef genleri arasında genlerin *AKT*, *BCL2* ve *TSC*, *MEF2D*, *YWHAZ*, *MYC*, *RAB14*, *PSMB8*, *PSMD11*, *MMP2*, *MMP9*, *DBNL*, *PSMB8* genleri olduğu görüldü.

Hedef genleri arasında en dikkat çekici genler ise *BCL2*, *AKT* ve *TSC* genleridir. Bu genler PI3K/AKT/mTOR yolağında görev almaktadır. PI3K yolağındaki bu gen

değişiklikleri jinekolojik tümör oluşumunda, aynı zamanda kemorezistansda rol oynar

[[102](#)]



TARTIŞMA

Yumurtalık kanseri en sık görülen jinekolojik malignitelerden biridir. GLOBOCAN 2018 verilerine göre yumurtalık kanseri, kadınlarda en sık görülen yedinci kanserdir. Jinekoloji kanserler arasından ise üçüncü sıradadır. 2018 verilerine göre dünyada yumurtalık kanseri tanısı alan kişi sayısı 295,414, buna bağlı ölümün 184,799 kişi olduğu saptanmıştır.

Bildiğimiz üzere, yumurtalık kanseri sıklıkla ileri evrede teşhis edilmektedir. İleri evre over kanserli hastaların bir çoğunun tedavisinde sitoredüktif cerrahi ve platin bazlı kemoterapi uygulanmaktadır [103]. Kemoterapi alan birçok hasta tedaviye yüksek oranda cevap vermesine rağmen, ilerlemiş over kanseri olan birçok hasta, nihayetinde kemoterapiye dirençli, tekrarlayan hastalık geliştirir. Bu nedenle, kişiselleştirilmiş tedavi ve nüks geliştirme riski yüksek olan hastaların seçimi için etkili bir biyobelirteç gereklidir.

Yumurtalık kanseri etiyojisi hakkındaki araştırmalar ve hastalığın tedaviye direnç mekanizmaları araştırıldıkça, tedaviye ilişkin biyobelirteçlerin önemi artmaktadır. Günümüzde, yumurtalık kanseri teşhisinde CA-125 ve CA19-9 biyobelirteçleri sıklıkla kullanılmaktadır. Ancak, CA-125 ve diğer tümör belirteç oranlarının yüksek bulunması incelenen kişilerin %100 over kanseri olduğunu göstermez ve over kanseri tanısı koyduracak spesifiklikte ve özgüllükte değildir. Over kanseri teşhisinde kullanılan biyobelirteçlerin sınırlı sayıda olması ve hastalığın kendine özgü belirtileri olmaması hastalığın daha erken evrede teşhisini zorlaştırmaktadır.

Bu çalışma, epitelyal over kanseri hastalarında biyobelirteç olarak miR-451a'nın değerini gösteren ilk çalışmadır. Daha önce, over kanserinin dışında farklı kanser dokusunda yapılan araştırmada, miR-451a ekspresyonunun kanser hastalarında klinik özelliklerle ilişkisi değerlendirilmiştir [104]. S. Ling ve ark.'nın yaptığı çalışmada, over kanserli hastaların tümör dokularında miR-451a ekspresyon düzeyi incelenmiş ve söz konusu miRNA'nın tümör dokusunda ekspresyonunun azaldığı bildirilmiştir [104]. Ancak şu ana kadar literatürde over kanserli hastaların periferik kanında miR-451a ekspresyon düzeyinin araştırıldığı bir yayın bulunmamaktadır. Yapılan tez çalışmasında ise 150 hasta ve 100 sağlıklı kontrol karşılaştırılarak miR-451a'nın over kanserinde

ekspresyon durumu incelenmiştir ve miR-451a'nın epitelyal over kanserinde non- invaziv nitelikte bir biyobelirteç olabileceği görülmüştür. Sağlıklı kontrol grubu içeren çalışmamızda kontrollerden farklı olarak hasta grubunda miR451a ekspresyon düzeyinin 12.5 kat oranında arttığı görülmüştür. Söz konusu miRNA molekülünün periferik kandan over kanserini belirlemede kullanılabilecek bir biyomarker olup olmadığını değerlendiren ROC analizinde over kanseri için biyomarker niteliği taşıdığı gösterilmiştir.

Kanaoka ve ark.'nın yaptığı çalışmada evre I, II veya III küçük hücreli-dışı akciğer kanser hastalarının plazma eksozomal miR-451a ifade düzeylerinin sağlıklı bireylere göre anlamlı derecede yüksek olduğu bildirilmiştir [105]. Başka bir çalışmada, endometriyozisli kadınların serumunda miR-451a ekspresyonunun arttığı bildirilmiştir [106]. Diğer bir çalışmada ise dolaşımdaki miR-451a ekspresyon düzeylerinin Papiller Tiroid karsinom (PTK) hastalarında sağlıklı kontrollere göre anlamlı derecede yüksek olduğunu ve PTK tümör dokularında da yüksek oranda ifade edildiği gösterilmiştir [107]. Buna karşılık, meme kanseri hastalarında ise belirgin olarak daha düşük serum miR-451 seviyeleri tespit edildiği bildirilmiştir [108]. miR-451a molekülünün kanserde rolüne ilişkin çalışmalarda farklı sonuçların elde edilmiş olması, miR-451a'nın farklı kanser türlerinde kanser gelişiminin farklı mekanizmalarla tetiklenmesine bağlı olabileceğini düşündürmektedir.

Zhu ve ark.'ları miR-451 molekülünün ilaç taşıyıcı MDR1'in (P-glikoprotein) ekspresyonunu düzenlediğini ve miR-451 ifadesinin, ilaca dirençli (MDR) kanser hücre soylarında (A2780DX5 yumurtalık kanseri hücre hattı ve KB-V1 serviks kanseri hücre hattı) aşırı eksprese edildiğini göstermişlerdir [99]. Çok ilaca dirençli *MDR1* genin aşırı ekspresyonu, özellikle paklitaksele karşı kemorezite kazanımı ile ilişkilidir [109] [98]. Bu da, miR451'in MDR üzerinden yumurtalık kanseri tedavisine etki edebileceğini düşündürmektedir.

Bu sonuçlara bakıldığında yumurtalık kanserinin tedavisinin kötü prognoza sahip olması kanserin ilaca direnç kazanmasının miR-451a'nın yukarı regüle edilmesi ile ilişkisinin olması ve bu miRNA'nın yumurtalık kanserinde özellikle araştırılması gerektiğini göstermektedir.

Yaptığımız STRING analizine göre miR-451a'nın hedef genleri arasında en dikkat çekici genler *AKT*, *BCL2* ve *TSC* genleridir. Bu genler PI3K/AKT/mTOR

yolağında görev almakta olup çoğu kanserde bu genlerde mutasyonların görüldüğü bilinmektedir. PI3K yolağındaki bu gen değişiklikleri jinekolojik tümör oluşumunda, aynı zamanda kemorezistansda rol oynar [102]

Bildiğimiz üzere yumurtalık kanseri tedavisinde hastalığın kemoterapiye direnç kazandığı bellidir. Yapılan çalışmalarda yumurtalık kanserinde de bu genler mutasyona uğradığı ve yumurtalık kanserinde kemorezistansın artmasından sorumlu olduğu bilinmektedir [110].

Yapılan bir çalışmada elde edilen veriler miR-451' in insan glioblastom hücre soylarında muhtemelen AKT ekspresyonunu düzenleyerek hücre proliferasyonu, istilası ve apoptoz üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir [111]. AKT, protein sentezi, hücre döngüsü, hücre sağkalımı ve apoptoz gibi çeşitli hücresel fonksiyonların kontrolünde rol oynar. Çalışmanın sonucuna göre, glioblastom hücrelerinde miR-451'in tümör baskılayıcı aktivitesinin, muhtemelen PI3K/AKT yolunun düzenlenmesi yoluyla etki ettiğini göstermektedir. Sonraki çalışmalarında ise miR-451' in, insan gliomlarında CAB39u hedefleyerek PI3K/AKT yolunu etkileyebileceği bildirilmiştir [112]. Bu bulgular miR-451a'nın yumurtalık kanserinde ister kanserin gelişiminde, isterse de kemorezistansda bu yolak üzerinden etkili olabileceğini düşündürmektedir.

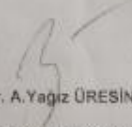
Konishi ve ark. yaptığı çalışmada yeni tanı almış mide kanserli hastaların dolaşımdaki miR-451 seviyesinin yüksek olduğu tespit edilmiş, tümör çıkarıldıktan sonra ise bu hastalarda ekspresyon düzeylerinin önemli ölçüde azaldığı ve normal sağlıklı kişilerdekine yaklaştığı bildirilmiştir [113]. Bu çalışma, miRNA ekspresyonunun cerrahi tedavi sonrasında değişebileceğini gösteriyor. Çalışmamızda kullandığımız hastaların çoğunlukla cerrahi tedavi almış olması miR-451a sonuçlarının yüksek bulunmasında etkili olabilir. Bu yüzden hastalarda tedavi sonrası ve öncesi olmak üzere farklı dönemlerde ekspresyon değişikliklerinin değerlendirilmesi gerekmektedir. Bir sonraki çalışmalarımızda cerrahi tedavi olmayan hastalar üzerinden çalışmalar yapılması ve ilacla olan etkileşimi üzerinden çalışma yapılması planlanmaktadır. Bununla birlikte miR-451a'nın farklı regüle edilmesi, çalışma popülasyonlarındaki farklılıklara, farklı örneklerin seçilmesine, işlenmesi için kullanılan yöntemlerin farklı olmasına da bağlı olabilir.

Sonuç olarak, incelenen miR451a'nın epitelyal yumurtalık kanserinde aşırı eksprese edildiği ve over kanserini saptamak ve ilerlemesini göstermek için potansiyel biyobelirteç olabileceği belirlenmiştir. Öte yandan miR-451a'nın tedaviye diren geliştirmedeki rolü onun yumurtalık kanserinde tedavide etkilerinin de büyük olacağını göstermektedir ve yeni tedavi seçimlerinin belirlenmesinde büyük rol oynayacağı düşünülmektedir.

HAM VERİLER

FORMLAR

ETİK KURUL KARARI

	T.C. İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
Sayı : 613 Konu: Prof. Dr. Hülya YAZICI hk.		Tarih : 07.05.2019
Sayın Prof. Dr. Hülya YAZICI Onkoloji Enstitüsü		
İlgili Onkoloji Enstitüsünün 22/03/2019 gün ve 60937 sayılı yazısı		
Sorumlu araştırmacılığını üstlendiğiniz ve Khariga JABBARLI' nın yürüteceği 2019/521 dosya numaralı "Epitelyal Over Kanseriinde miR451a İfade Düzeyinin Araştırılması" başlıklı çalışma kurulumuzun 26/04/2019 tarih ve 06 sayılı toplantısında görüşülerek etik yönden uygun bulunmuş olup, tutanaklar ekte sunulmuştur.		
Bilgilerinizi rica ederim.		
		
Prof. Dr. A.Yagiz ÜRESİN İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanı		
Ekt: İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmaları Etik Kurulu Karar Formu		

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU KARAR FORMU

ETİK KURULU BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU
	AÇIK ADRESİ:	İ.Ü.İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ HULUSİ BEHÇET KÜTÜPHANESİ KAT:3 FATİH/İSTANBUL
	TELEFON	0 (212) 414 21 53
	FAKS	0 (212) 414 21 53
	E-POSTA	itfetikkurul@istanbul.edu.tr.

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	"Epitelyal Over Kanslerinde miR451a İfade Düzeyinin Araştırılması"		
	ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	---		
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof. Dr. Hülya YAZICI		
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Temel Onkoloji Anabilim Dalı Kanser Genetiği Bilim Dalı		
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	İstanbul Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü Temel Onkoloji Anabilim Dalı Kanser Genetiği Bilim Dalı		
	DESTEKLEYİCİ	İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi		
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	---		
	ARAŞTIRMANIN FAZİ	FAZ 1	☐	
		FAZ 2	☐	
		FAZ 3	☐	
		FAZ 4	☐	
	ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	Yeni Bir Endikasyon	☐	
		Yüksek Doz Araştırması	☐	
		Diğer ise belirtiniz :		
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☒	ÇOK MERKEZLİ ☐	ULUSAL ☒
				ULUSLAR ARASI ☐

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI		"Epitelyal Over Kanserinde miR451a İfade Düzeyinin Araştırılması"				
BİLGİLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarhi	Versiyon Numarası	Dili		
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	10.04.2019		Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐		
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	☒		Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐		
	OLUR RAPOR FORMU	☐		Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐		
	ARAŞTIRMA KİMLİKİ	☐		Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐		
BİLGİLENDİRİLEN İÇERİ BELGELER	Belge Adı	Açıklama				
	TORUĞE ETİKET ÖRNEĞİ	☐				
	BİLGİRTA	☐				
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☒				
	BİYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	☐				
	HASTA KARTI/GÖNÜLLÜKLERİ	☐				
	ELAN	☐				
	YILLIK BİLDİRİM	☐				
	BONUÇ RAPORU	☐				
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	☐				
KARAR BELGELERİ	DİĞER:	☒ Anabilim Dalı Başkanı'ndan Üst Yazi ve Akademik Kurul Kararı, Literatür Kaynağı, Sorumluluk Paylaşım Belgesi, İlgili Elemanların Bilgilendirilmesine Dair Belge, CV, CD				
	Karar No:08	Tarih: 26/04/2019				
İstanbul Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü Temel Onkoloji Anabilim Dalı Kansere Karşıtı Bilim Dalında görevli Prof. Dr. Hülya YAZICI' nın emriyle İstanbul'da ve Khariga JAHARRI' nın yürütceği yukarıda bilgileri verilen araştırma hayvanı ile ilgili belgeler araştırmanın gerektirdiği, amaç, yaklaşımları ve sonuçları dikkate alınarak incelendi, gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına ve araştırma için Etik Kurul üyesi tarafından salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.						
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU						
ÇALIŞMA ESASI		19.08.2011 tarihli, 28030 sayılı Resmi Gazetede yayınlanan Klinik Araştırmalar Hakkındaki Yönetmelik				
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:		Prof. Dr. A. Yağız ÜRESİN				
Unvan/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	Araştırma ile İlgili *	Katılım **	İmza
Prof. Dr. A. Yağız ÜRESİN	Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji	İstanbul Tıp Fakültesi (Etik Kurul Başkanı)	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Berrin UMMAN	Kardiyoloji	İstanbul Tıp Fakültesi (Etik Kurul Başkan Yardımcısı)	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Ahmet GÜL	Romatoloji	İstanbul Tıp Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Oğuzhan ÇOBAN	Nöroloji	İstanbul Tıp Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Dr. Sevdâ ÖZEL YILDIZ	Biyoistatistik	İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
* : Araştırma ile ilgili ** : Toplantıda bulunma						
İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu 13.04.2013 tarih, 28617 sayılı Resmi Gazetede yayınlanan Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik gereğince kurulmuş ve T.C. Sağlık Bakanlığı Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu tarafından onaylanmıştır. İlgili yönetmelik kapsamında kalan araştırmalar Sağlık Bakanlığı'ndan izin almak zorundadır. Yönetmelik kapsamı dışında kalan araştırmalar ise Etik Kurul bünyesinde değerlendirilerek 5 kişilik etik komiteyon tarafından değerlendirilmekte olup Sağlık Bakanlığı iznine tabi değildir.						



PATENT HAKKI İZNİ

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Khariga	Soyadı	Jabbarli
Doğ.Yeri	Gabala, Azerbaycan	Doğ.Tar.	12.04.1996
Email	Xariqe.cabbarli@mail.ru	Uyruğu	azerbaycan

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora		
Yük.Lis.	Istanbul Universitesi	2020
Lisans	Bakü Devlet Universitesi	2017
Lise	Necat Apayev Adına 4 № lise	2013

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.			-
2.			-
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
azerbaycan	çok iyi	çok iyi	çok iyi		
İngilizce	iyi	zayıf	iyi		
Rusca	iyi	iyi	iyi		

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı			
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi

Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

Özel İlgi Alanları (Hobileri):

KAYNAKLAR

1. Xiong, X., et al., *FBP1 promotes ovarian cancer development through the acceleration of cell cycle transition and metastasis*. *Oncol Lett*, 2018. **16**(2): p. 1682-1688.
2. Mahdian-Shakib, A., et al., *Differential role of microRNAs in prognosis, diagnosis, and therapy of ovarian cancer*. *Biomed Pharmacother*, 2016. **84**: p. 592-600.
3. Pask, A., *The Reproductive System*. *Adv Exp Med Biol*, 2016. **886**: p. 1-12.
4. Walker, M. and M. Sobel, *Diagnosing ovarian cancer*. *CMAJ*, 2018. **190**(42): p. E1259.
5. Blagden, S.P., *Harnessing Pandemonium: The Clinical Implications of Tumor Heterogeneity in Ovarian Cancer*. *Front Oncol*, 2015. **5**: p. 149.
6. Kurman, R.J. and M. Shih Ie, *The Dualistic Model of Ovarian Carcinogenesis: Revisited, Revised, and Expanded*. *Am J Pathol*, 2016. **186**(4): p. 733-47.
7. Kurman, R.J. and M. Shih Ie, *Molecular pathogenesis and extraovarian origin of epithelial ovarian cancer--shifting the paradigm*. *Hum Pathol*, 2011. **42**(7): p. 918-31.
8. Rojas, V., et al., *Molecular Characterization of Epithelial Ovarian Cancer: Implications for Diagnosis and Treatment*. *Int J Mol Sci*, 2016. **17**(12).
9. Kurman, R.J., *Origin and molecular pathogenesis of ovarian high-grade serous carcinoma*. *Ann Oncol*, 2013. **24 Suppl 10**: p. x16-21.
10. Kroeger, P.T., Jr. and R. Drapkin, *Pathogenesis and heterogeneity of ovarian cancer*. *Curr Opin Obstet Gynecol*, 2017. **29**(1): p. 26-34.
11. Della Pepa, C., et al., *Low Grade Serous Ovarian Carcinoma: from the molecular characterization to the best therapeutic strategy*. *Cancer Treat Rev*, 2015. **41**(2): p. 136-43.
12. Jones, S., et al., *Low-grade serous carcinomas of the ovary contain very few point mutations*. *J Pathol*, 2012. **226**(3): p. 413-20.
13. Vereczkey, I., et al., *Molecular characterization of 103 ovarian serous and mucinous tumors*. *Pathol Oncol Res*, 2011. **17**(3): p. 551-9.
14. Tan, D.S., et al., *Genomic analysis reveals the molecular heterogeneity of ovarian clear cell carcinomas*. *Clin Cancer Res*, 2011. **17**(6): p. 1521-34.
15. Landen, C.N., Jr., M.J. Birrer, and A.K. Sood, *Early events in the pathogenesis of epithelial ovarian cancer*. *J Clin Oncol*, 2008. **26**(6): p. 995-1005.
16. Kuo, K.T., et al., *Frequent activating mutations of PIK3CA in ovarian clear cell carcinoma*. *Am J Pathol*, 2009. **174**(5): p. 1597-601.
17. Willner, J., et al., *Alternate molecular genetic pathways in ovarian carcinomas of common histological types*. *Hum Pathol*, 2007. **38**(4): p. 607-13.
18. Jones, S., et al., *Frequent mutations of chromatin remodeling gene ARID1A in ovarian clear cell carcinoma*. *Science*, 2010. **330**(6001): p. 228-31.
19. Wiegand, K.C., et al., *ARID1A mutations in endometriosis-associated ovarian carcinomas*. *N Engl J Med*, 2010. **363**(16): p. 1532-43.

20. Singer, G., et al., *Mutations in BRAF and KRAS characterize the development of low-grade ovarian serous carcinoma*. J Natl Cancer Inst, 2003. **95**(6): p. 484-6.
21. Gemignani, M.L., et al., *Role of KRAS and BRAF gene mutations in mucinous ovarian carcinoma*. Gynecol Oncol, 2003. **90**(2): p. 378-81.
22. Cuatrecasas, M., et al., *K-ras mutations in mucinous ovarian tumors: a clinicopathologic and molecular study of 95 cases*. Cancer, 1997. **79**(8): p. 1581-6.
23. Catasus, L., et al., *Molecular genetic alterations in endometrioid carcinomas of the ovary: similar frequency of beta-catenin abnormalities but lower rate of microsatellite instability and PTEN alterations than in uterine endometrioid carcinomas*. Hum Pathol, 2004. **35**(11): p. 1360-8.
24. Mackenzie, R., et al., *Targeted deep sequencing of mucinous ovarian tumors reveals multiple overlapping RAS-pathway activating mutations in borderline and cancerous neoplasms*. BMC Cancer, 2015. **15**: p. 415.
25. Hunter, S.M., et al., *Molecular profiling of low grade serous ovarian tumours identifies novel candidate driver genes*. Oncotarget, 2015. **6**(35): p. 37663-77.
26. Ryland, G.L., et al., *Mutational landscape of mucinous ovarian carcinoma and its neoplastic precursors*. Genome Med, 2015. **7**(1): p. 87.
27. Cancer Genome Atlas Research, N., *Integrated genomic analyses of ovarian carcinoma*. Nature, 2011. **474**(7353): p. 609-15.
28. Pennington, K.P., et al., *Germline and somatic mutations in homologous recombination genes predict platinum response and survival in ovarian, fallopian tube, and peritoneal carcinomas*. Clin Cancer Res, 2014. **20**(3): p. 764-75.
29. Beltrame, L., et al., *Profiling cancer gene mutations in longitudinal epithelial ovarian cancer biopsies by targeted next-generation sequencing: a retrospective study*. Ann Oncol, 2015. **26**(7): p. 1363-71.
30. Meinhold-Heerlein, I., et al., *Statement by the Kommission Ovar of the AGO: The New FIGO and WHO Classifications of Ovarian, Fallopian Tube and Primary Peritoneal Cancer*. Geburtshilfe Frauenheilkd, 2015. **75**(10): p. 1021- 1027.
31. Salehi, F., et al., *Risk factors for ovarian cancer: an overview with emphasis on hormonal factors*. J Toxicol Environ Health B Crit Rev, 2008. **11**(3-4): p. 301- 21.
32. Ushijima, K., *Current status of gynecologic cancer in Japan*. J Gynecol Oncol, 2009. **20**(2): p. 67-71.
33. Riman, T., S. Nilsson, and I.R. Persson, *Review of epidemiological evidence for reproductive and hormonal factors in relation to the risk of epithelial ovarian malignancies*. Acta Obstet Gynecol Scand, 2004. **83**(9): p. 783-95.
34. Whittemore, A.S., et al., *Oral contraceptive use and ovarian cancer risk among carriers of BRCA1 or BRCA2 mutations*. Br J Cancer, 2004. **91**(11): p. 1911-5.
35. Kauff, N.D., et al., *Risk-reducing salpingo-oophorectomy for the prevention of BRCA1- and BRCA2-associated breast and gynecologic cancer: a multicenter, prospective study*. J Clin Oncol, 2008. **26**(8): p. 1331-7.
36. Sueblinvong, T. and M.E. Carney, *Current understanding of risk factors for ovarian cancer*. Curr Treat Options Oncol, 2009. **10**(1-2): p. 67-81.
37. Tworoger, S.S., et al., *Association of oral contraceptive use, other contraceptive methods, and infertility with ovarian cancer risk*. Am J Epidemiol, 2007. **166**(8): p. 894-901.

38. Jensen, A., et al., *Use of fertility drugs and risk of ovarian cancer: Danish Population Based Cohort Study*. BMJ, 2009. **338**: p. b249.
39. Jordan, S.J., et al., *Does smoking increase risk of ovarian cancer? A systematic review*. Gynecol Oncol, 2006. **103**(3): p. 1122-9.
40. Schouten, L.J., et al., *Height, body mass index, and ovarian cancer: a pooled analysis of 12 cohort studies*. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2008. **17**(4): p. 902-12.
41. Hennessy, B.T., R.L. Coleman, and M. Markman, *Ovarian cancer*. Lancet, 2009. **374**(9698): p. 1371-82.
42. Pasalich, M., et al., *Reproductive factors for ovarian cancer in southern Chinese women*. J Gynecol Oncol, 2013. **24**(2): p. 135-40.
43. Kurian, A.W., et al., *Histologic types of epithelial ovarian cancer: have they different risk factors?* Gynecol Oncol, 2005. **96**(2): p. 520-30.
44. Beral, V., et al., *Ovarian cancer and hormone replacement therapy in the Million Women Study*. Lancet, 2007. **369**(9574): p. 1703-10.
45. Sturgeon, C., *Practice guidelines for tumor marker use in the clinic*. Clin Chem, 2002. **48**(8): p. 1151-9.
46. Suh, K.S., et al., *Ovarian cancer biomarkers for molecular biosensors and translational medicine*. Expert Rev Mol Diagn, 2010. **10**(8): p. 1069-83.
47. Bankhead, C.R., et al., *Identifying symptoms of ovarian cancer: a qualitative and quantitative study*. BJOG, 2008. **115**(8): p. 1008-14.
48. Barroilhet, L., et al., *Sonographic predictors of ovarian malignancy*. J Clin Ultrasound, 2013. **41**(5): p. 269-74.
49. Bristow, R.E., et al., *Survival effect of maximal cytoreductive surgery for advanced ovarian carcinoma during the platinum era: a meta-analysis*. J Clin Oncol, 2002. **20**(5): p. 1248-59.
50. Winter-Roach, B.A., H.C. Kitchener, and T.A. Lawrie, *Adjuvant (post-surgery) chemotherapy for early stage epithelial ovarian cancer*. Cochrane Database Syst Rev, 2012(3): p. CD004706.
51. Schorge, J.O., C. McCann, and M.G. Del Carmen, *Surgical debulking of ovarian cancer: what difference does it make?* Rev Obstet Gynecol, 2010. **3**(3): p. 111-7.
52. Benedet, J.L., et al., *FIGO staging classifications and clinical practice guidelines in the management of gynecologic cancers. FIGO Committee on Gynecologic Oncology*. Int J Gynaecol Obstet, 2000. **70**(2): p. 209-62.
53. Trimbos, B., et al., *Surgical staging and treatment of early ovarian cancer: long-term analysis from a randomized trial*. J Natl Cancer Inst, 2010. **102**(13): p. 982-7.
54. Piccart, M.J., et al., *Randomized intergroup trial of cisplatin-paclitaxel versus cisplatin-cyclophosphamide in women with advanced epithelial ovarian cancer: three-year results*. J Natl Cancer Inst, 2000. **92**(9): p. 699-708.
55. Parmar, M.K., et al., *Paclitaxel plus platinum-based chemotherapy versus conventional platinum-based chemotherapy in women with relapsed ovarian cancer: the ICON4/AGO-OVAR-2.2 trial*. Lancet, 2003. **361**(9375): p. 2099- 106.
56. Clark, T.G., et al., *A prognostic model for ovarian cancer*. Br J Cancer, 2001. **85**(7): p. 944-52.
57. Pinato, D.J., et al., *Evolving concepts in the management of drug resistant ovarian cancer: dose dense chemotherapy and the reversal of clinical platinum resistance*. Cancer Treat Rev, 2013. **39**(2): p. 153-60.

58. Uppal, A., et al., *Towards a molecular basis of oligometastatic disease: potential role of micro-RNAs*. Clin Exp Metastasis, 2014. **31**(6): p. 735-48.
59. Lee, R.C., R.L. Feinbaum, and V. Ambros, *The C. elegans heterochronic gene lin-4 encodes small RNAs with antisense complementarity to lin-14*. Cell, 1993. **75**(5): p. 843-54.
60. Hayes, J., P.P. Peruzzi, and S. Lawler, *MicroRNAs in cancer: biomarkers, functions and therapy*. Trends Mol Med, 2014. **20**(8): p. 460-9.
61. Sokol, N.S., *Small temporal RNAs in animal development*. Curr Opin Genet Dev, 2012. **22**(4): p. 368-73.
62. He, L., et al., *A microRNA component of the p53 tumour suppressor network*. Nature, 2007. **447**(7148): p. 1130-4.
63. Contreras, J. and D.S. Rao, *MicroRNAs in inflammation and immune responses*. Leukemia, 2012. **26**(3): p. 404-13.
64. Wu, Q., et al., *MiRNAs in human cancers: the diagnostic and therapeutic implications*. Curr Pharm Des, 2014. **20**(33): p. 5336-47.
65. Lagos-Quintana, M., et al., *Identification of novel genes coding for small expressed RNAs*. Science, 2001. **294**(5543): p. 853-8.
66. Boominathan, L., *The tumor suppressors p53, p63, and p73 are regulators of microRNA processing complex*. PLoS One, 2010. **5**(5): p. e10615.
67. Han, J., et al., *The Drosha-DGCR8 complex in primary microRNA processing*. Genes Dev, 2004. **18**(24): p. 3016-27.
68. Davis, B.N., et al., *Smad proteins bind a conserved RNA sequence to promote microRNA maturation by Drosha*. Mol Cell, 2010. **39**(3): p. 373-84.
69. Kim, V.N., *MicroRNA biogenesis: coordinated cropping and dicing*. Nat Rev Mol Cell Biol, 2005. **6**(5): p. 376-85.
70. Ha, M. and V.N. Kim, *Regulation of microRNA biogenesis*. Nat Rev Mol Cell Biol, 2014. **15**(8): p. 509-24.
71. Han, J., et al., *Molecular basis for the recognition of primary microRNAs by the Drosha-DGCR8 complex*. Cell, 2006. **125**(5): p. 887-901.
72. Weitz, S.H., et al., *Processing of microRNA primary transcripts requires heme in mammalian cells*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2014. **111**(5): p. 1861-6.
73. Chen, S.N., et al., *MicroRNA in Ovarian Cancer: Biology, Pathogenesis, and Therapeutic Opportunities*. Int J Environ Res Public Health, 2019. **16**(9).
74. Yi, R., et al., *Exportin-5 mediates the nuclear export of pre-microRNAs and short hairpin RNAs*. Genes Dev, 2003. **17**(24): p. 3011-6.
75. Calin, G.A., et al., *Frequent deletions and down-regulation of micro- RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2002. **99**(24): p. 15524-9.
76. Kumar, M.S., et al., *Suppression of non-small cell lung tumor development by the let-7 microRNA family*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2008. **105**(10): p. 3903-8.
77. Luo, P., et al., *microRNA-126 suppresses PAK4 expression in ovarian cancer SKOV3 cells*. Oncol Lett, 2015. **9**(5): p. 2225-2229.
78. Yamamoto, N., et al., *The tumor-suppressive microRNA-1/133a cluster targets PDE7A and inhibits cancer cell migration and invasion in endometrial cancer*. Int J Oncol, 2015. **47**(1): p. 325-34.
79. Cui, J.G., et al., *Micro-RNA-128 (miRNA-128) down-regulation in glioblastoma targets ARP5 (ANGPTL6), Bmi-1 and E2F-3a, key regulators of brain cell proliferation*. J Neurooncol, 2010. **98**(3): p. 297-304.

80. Iorio, M.V., et al., *MicroRNA signatures in human ovarian cancer*. *Cancer Res*, 2007. **67**(18): p. 8699-707.
81. Yanaihara, N., et al., *Unique microRNA molecular profiles in lung cancer diagnosis and prognosis*. *Cancer Cell*, 2006. **9**(3): p. 189-98.
82. Iyevleva, A.G., et al., *High level of miR-21, miR-10b, and miR-31 expression in bilateral vs. unilateral breast carcinomas*. *Breast Cancer Res Treat*, 2012. **131**(3): p. 1049-59.
83. Martello, G., et al., *A MicroRNA targeting dicer for metastasis control*. *Cell*, 2010. **141**(7): p. 1195-207.
84. Braga, E.A., M.V. Fridman, and N.E. Kushlinskii, *Molecular Mechanisms of Ovarian Carcinoma Metastasis: Key Genes and Regulatory MicroRNAs*. *Biochemistry (Mosc)*, 2017. **82**(5): p. 529-541.
85. Li, C.J., et al., *New Insights into the Role of Autophagy in Tumor Immune Microenvironment*. *Int J Mol Sci*, 2017. **18**(7).
86. Casey, S.C., et al., *Cancer prevention and therapy through the modulation of the tumor microenvironment*. *Semin Cancer Biol*, 2015. **35 Suppl**: p. S199-S223.
87. Li, Z., et al., *MicroRNA-mediated regulation of extracellular matrix formation modulates somatic cell reprogramming*. *RNA*, 2014. **20**(12): p. 1900-15.
88. Hu, X., et al., *A miR-200 microRNA cluster as prognostic marker in advanced ovarian cancer*. *Gynecol Oncol*, 2009. **114**(3): p. 457-64.
89. Lee, Y., et al., *The nuclear RNase III Drosha initiates microRNA processing*. *Nature*, 2003. **425**(6956): p. 415-9.
90. Li, J., S.H. Liang, and X. Lu, *[Potential role of ezrin and its related microRNA in ovarian cancer invasion and metastasis]*. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi*, 2010. **45**(10): p. 787-92.
91. Januchowski, R., et al., *Microarray-based detection and expression analysis of extracellular matrix proteins in drugresistant ovarian cancer cell lines*. *Oncol Rep*, 2014. **32**(5): p. 1981-90.
92. Meng, X., et al., *Regulatory roles of miRNA-758 and matrix extracellular phosphoglycoprotein in cervical cancer*. *Exp Ther Med*, 2017. **14**(4): p. 2789- 2794.
93. Luo, Z., et al., *Tumor microenvironment: The culprit for ovarian cancer metastasis?* *Cancer Lett*, 2016. **377**(2): p. 174-82.
94. Song, N., et al., *Placental growth factor promotes metastases of ovarian cancer through MiR-543-regulated MMP7*. *Cell Physiol Biochem*, 2015. **37**(3): p. 1104-12.
95. Pecot, C.V., et al., *Tumour angiogenesis regulation by the miR-200 family*. *Nat Commun*, 2013. **4**: p. 2427.
96. Dore, L.C., et al., *A GATA-1-regulated microRNA locus essential for erythropoiesis*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008. **105**(9): p. 3333-8.
97. Yang, J.S., et al., *Conserved vertebrate mir-451 provides a platform for Dicer-independent, Ago2-mediated microRNA biogenesis*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010. **107**(34): p. 15163-8.
98. van Jaarsveld, M.T., et al., *MicroRNAs in ovarian cancer biology and therapy resistance*. *Int J Biochem Cell Biol*, 2010. **42**(8): p. 1282-90.
99. Zhu, H., et al., *Role of MicroRNA miR-27a and miR-451 in the regulation of MDR1/P-glycoprotein expression in human cancer cells*. *Biochem Pharmacol*, 2008. **76**(5): p. 582-8.

100. Su, Z., et al., *MicroRNA-451a is associated with cell proliferation, migration and apoptosis in renal cell carcinoma*. Mol Med Rep, 2015. **11**(3): p. 2248-54.
101. Zhao, K., et al., *The role of miR-451 in the switching between proliferation and migration in malignant glioma cells: AMPK signaling, mTOR modulation and Rac1 activation required*. Int J Oncol, 2017. **50**(6): p. 1989-1999.
102. Porta, C., C. Paglino, and A. Mosca, *Targeting PI3K/Akt/mTOR Signaling in Cancer*. Front Oncol, 2014. **4**: p. 64.
103. Morgan, R.J., Jr., et al., *Ovarian Cancer, Version 1.2016, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology*. J Natl Compr Canc Netw, 2016. **14**(9): p. 1134-63.
104. Ling, S., et al., *Expression and prognostic significance of microRNA-451 in human epithelial ovarian cancer*. Eur J Gynaecol Oncol, 2015. **36**(4): p. 463-8.
105. Kanaoka, R., et al., *Usefulness of Plasma Exosomal MicroRNA-451a as a Noninvasive Biomarker for Early Prediction of Recurrence and Prognosis of Non-Small Cell Lung Cancer*. Oncology, 2018. **94**(5): p. 311-323.
106. Cosar, E., et al., *Serum microRNAs as diagnostic markers of endometriosis: a comprehensive array-based analysis*. Fertil Steril, 2016. **106**(2): p. 402-9.
107. Li, M., et al., *Circulating miR-25-3p and miR-451a May Be Potential Biomarkers for the Diagnosis of Papillary Thyroid Carcinoma*. PLoS One, 2015. **10**(7): p. e0132403.
108. Luo, J., et al., *A novel panel of microRNAs provides a sensitive and specific tool for the diagnosis of breast cancer*. Mol Med Rep, 2014. **10**(2): p. 785-91.
109. Kamazawa, S., et al., *Multidrug resistance gene-1 is a useful predictor of Paclitaxel-based chemotherapy for patients with ovarian cancer*. Gynecol Oncol, 2002. **86**(2): p. 171-6.
110. Brasseur, K., N. Gevry, and E. Asselin, *Chemoresistance and targeted therapies in ovarian and endometrial cancers*. Oncotarget, 2017. **8**(3): p. 4008-4042.
111. Nan, Y., et al., *MiRNA-451 plays a role as tumor suppressor in human glioma cells*. Brain Res, 2010. **1359**: p. 14-21.
112. Tian, Y., et al., *MicroRNA miR-451 downregulates the PI3K/AKT pathway through CAB39 in human glioma*. Int J Oncol, 2012. **40**(4): p. 1105-12.
113. Konishi, H., et al., *Detection of gastric cancer-associated microRNAs on microRNA microarray comparing pre- and post-operative plasma*. Br J Cancer, 2012. **106**(4): p. 740-7.