

← 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;
Doktora ise DOKTORA TEZİ ifadesi kalacak

← Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız

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

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**OVER KANSERLERİNDE MİR-1260 MİKRORNA
AİLESİNİN ARAŞTIRILMASI**

ARASH ADAMNEJAD GHAFOR

**DANIŞMAN
PROF. DR. HÜLYA YAZICI**

**TEMEL ONKOLOJİ ANABİLİM DALI
KANSER GENETİĞİ PROGRAMI**

İSTANBUL-2019

YÜKSEK LİSANS TEZİ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Temel Onkoloji Anabilim Dalı, Kanser Genetiği Bilim Dalı Programında Yüksek Lisans öğrencisi Arash ADAMNEJAD GHAFOR tarafından Prof.Dr.Hülya YAZICI'nın danışmanlığında hazırlanan "Over Kanserlerinde miR-1260 Ailesinin Araştırılması" başlıklı tez aşağıdaki jüri üyeleri tarafından 26/04/2019 tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavında başarılı bulunmuş ve Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.



Jüri Başkanı
Prof.Dr.Pınar SAİP
İ.Ü.Onkoloji Enstitüsü
Klinik Onkoloji Anabilim Dalı



Jüri-Danışman

Prof.Dr.Hülya YAZICI
İ.Ü.Onkoloji Enstitüsü
Temel Onkoloji Anabilim Dalı
Kanser Genetiği Bilim Dalı



Jüri

Doç.Dr.Meral YÜKSEL
Marmara Üniversitesi
Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu
Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışının 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 davranışının olmadığını beyan ederim.

Arash ADAMNEJAD GHAFOR



Scanned with
CamScanner

İTHAF

Annem Laleh Farokhzad ve Babam Khosro Adamnejad Ghafour'a ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Akademik hayatıma başlangıcımdan bugüne kadar, her türlü fedakarlıkta bulunan, tez çalışmalarımın her aşamasında bana yön veren, yardım ve tavsiyelerde bulunan, tez danışmanım, çok değerli hocam *Prof. Dr. Hülya Yazıcı*'ya,

İ.Ü. Onkoloji Enstitüsü Müdürü *Prof. Dr. Ahmet Kızır*'e, Temel Onkoloji Anabilim Dalı Başkanı, Prof. Dr. Hatice bilge BECERİR'e ve yüksek lisans programı süresince ders aldığım tüm hocalarıma,

Temel Onkoloji Anabilim Dalımızda bulunan, özellikle Kanser Genetiği Bilim dalında görev yapan desteklerini esirgemeyen *Dr. Demet Akdeniz Ödemiş*, *Dr.Şeref Buğra Tunçer* tüm meslektaşlarım ve çalışma arkadaşlarıma, yüksek lisans eğitimim boyunca yanımda olan arkadaşlarım *Büşra Kurt*, *Yasemin Gider*, *Roshan Javanifar*'a,

Her zaman yanımda olan ve sonsuz destekleri için sevgili ailem *Laleh Farokhzad*, *Khosro Adamnejad Ghafour*, *Shahnaz Farokhzad*, *Shahin Farokhzad*, *Ladan Farokhzad* ve *Aram Asghari*'e teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.
Proje No:31188

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.
BEYAN.....	3
İTHAF.....	4
TEŞEKKÜR.....	5
İÇİNDEKİLER	6
TABLolar LİSTESİ	9
ŞEKİLLER LİSTESİ	10
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	12
ÖZET	14
ABSTRACT.....	15
1. GİRİŞ VE AMAÇ	16
2. GENEL BİLGİLER	18
2.1. Kadın Üreme Organları	18
2.2. Over Kanseri Gelişimi ve Metastazı.....	19
2.2.1. Epidemiyoloji.....	19
2.2.2. Over Kanseri Patolojisi	20
2.3. Risk Faktörleri.....	23
2.3.1. Hormonal ve Reprodüktif Risk Faktörleri	23
2.3.2. Menarş ve Menopoz Yaşı.....	23
2.3.3. Laktasyon.....	23
2.3.4. Obezite	23
2.3.5. Egzersiz ve Fiziksel aktivite	24
2.3.6. İlaç Kullanımı	24
2.4. Over Karsinomu Gelişimine Genetik Bakış	24
2.5. Herediter Over Kanseri	25
2.6. mikro RNA (miRNA).....	26
2.7. Kanseri ve mikroRNA'lar	28
2.7.1. "miRNome"	28
2.7.2. Kanseri Belirteçleri olarak miRNA'ların özellikleri	28
2.7.3. Dolaşımdaki miRNA'lar.....	28
2.8. Genetik Anormallikler ve miRNA'lar.....	29
2.9. Epigenetik ve miRNA'lar	29
2.10. miRNA'ların Transkripsiyon Kontrolü	29

2.11. Kanserde miRNA'ların Fonksiyonu	30
2.11.1. Tümör Süpressör Niteliği Taşıyan miRNA'lar	30
2.11.1.1. miR-15/16 Kümesi	30
2.11.1.2. Let-7 Paralogları.....	30
2.11.2. Onkogen Niteliği Taşıyan miRNA'lar.....	31
2.11.2.1. miR-155	31
2.11.2.2. miR-17/92 Kümesi ve Paralogları	31
2.11.2.3. miR-222/221 Kümesi	31
2.11.2.4. miR1260a Kümesi.....	31
2.11.2.5. miR1260b Kümesi.....	33
2.12. miRNA'lar ve Tedavi	33
3. GEREÇ VE YÖNTEM	35
3.1. Kullanılan Cihazlar	35
3.2. Kullanılan Kitler, Malzemeler ve Kimyasal Maddeler	36
3.3. Kullanılan Tampon ve Çözeltiler	37
3.4. YÖNTEMLER	38
3.4.1. Periferik Kandan Lenfosit İzolasyonu	38
3.4.2. Quick-RNA™ MiniPrep Protokolü:	38
3.4.3. miRNA İzolasyonu.....	39
3.4.4. miRNA'ların Saflık ve Konstantrasyon Analizleri	40
3.4.5. ID3EAL miRNA qPCR Starter Kit Protokolü:.....	40
3.4.5.1. cDNA Sentezi	40
3.4.5.2. RT qPCR Reaksiyon	40
3.4.6. MIC qPCR Cyclers:.....	41
3.4.7. Verilerin Değerlendirilmesinde Kullanılan İstatistiksel Yöntemler	41
4. BULGULAR.....	42
4.1. Biyolojik Materyallerin Kalite Kontrol Ölçümleri	42
4.2. miR1260 Ailesinin Ekspresyon Analiz Sonuçları	42
4.3. miR-1260a ve miR-1260b Ekspresyon Düzeylerinin Klinik Özellikleri ile İlişkilerinin Değerlendirilmesi.....	48
4.4. miR-1260a ve miR-1260b Ekspresyon Düzeylerinin Hastaların Aile Hikayesi ile Değerlendirilmesi.....	50
4.5. miR-1260a ve miR-1260b Ekspresyon Düzeyleri ile Hastaların BRCA Durumlarının Karşılaştırılması.....	50
4.6. İstatistiksel Analiz.....	52

4.7. miR-1260a ve miR-1260b'nin Etkileştikleri Gen/Proteinlerin Gösterilmesi İçin Yapılan String Analizi	54
5. TARTIŞMA	57
KAYNAKLAR	60
HAM VERİLER	74
FORMLAR	75
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI	79
ÖZGEÇMİŞ	80



TABLolar LİSTESİ

Tablo 2-1: Prostat Kanseri sinyal ileti yollarında miR-1260a'nın valide ve tahmin edilen hedefleri.....	29
Tablo 3-1: Kullanılan Cihazlar.....	31
Tablo3-2:Kullanılan Kitler, Malzemeler ve Kimyasal Maddeler.....	32
Tablo3-3:Kullanılan Çözeltiler ve Tampon bilgisayar programları.....	33
Tablo4-1:Biyolojik materyalin kalite kontrol ölçümleri.....	39
Tablo 4-2: miR-1260a ve miR-1260b ekspresyon durumlarının over kanseri ve over kanser alt gruplarındaki dağılımı.....	43
Tablo 4-3: miR-1260a ve miR-1260b ekspresyon düzeyinin klinik ve genetik özellikler ile karşılaştırılması.....	45
Tablo4-4:ANOVA Testi.....	48

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Coğrafik bölgelere göre 2018 yılı over kanseri insidansı	18
Şekil 2-2: Borderline Tümörlerin Majör Histolojik Alt Tipleri, Epitelyal Over Karsinomu Ve Normal Doku.....	20
Şekil 2-3: miRNA'ların genomdaki konumları ve biyogenezi.....	24
Şekil 4-1: Mic qPCR ile Elde Edilen, Hasta Ve Kontrol Grubundaki Örneklerle Ait miR-1260a Ekspresyon Eğrisi	40
Şekil 4-2: Mic qPCR ile Elde Edilen, Hasta ve Kontrol Grubundaki Örneklerle Ait miR-1260a erime eğrileri.....	40
Şekil 4-3: Mic qPCR ile elde edilen, Hasta Ve Kontrol Grubundaki Örneklerle Ait miR-1260b Ekspresyon Eğrisi	41
Şekil 4-4: Mic qPCR ile Elde Edilen, Hasta Ve Kontrol Grubundaki Örneklerle Ait miR-1260b Erime Eğrileri.....	41
Şekil 4-5: miR-1260a Ekspresyonunun Total Hasta Ve Alt Gruplarında Sağlıklı Kontrollere Göre Oransal Farklılıklarının Grafikselsel Gösterilişi	42
Şekil 4-6: miR-1260b Ekspresyonunun Total Hasta Ve Alt Gruplarında Sağlıklı Kontrollere Göre Oransal Farklılıklarının Grafikselsel Gösterilişi	43
Şekil 4-7: miR-1260a'nın Gen/Protein Etkileşimini Gösteren String Analiz Sonuçları.....	49
Şekil 4-8: miR-1260b'nin Gen/Protein Etkileşimini Gösteren String Analiz Sonuçları	50

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

Ark.: Arkadaşları

A549 CELL: Adenocarcinomic human alveolar basal epithelial cells

ADAM9: A Disintegrin and Metalloprotease

CEBP-a: CCAAT Enhancer-Binding Protein Alpha

BRCA1: Breast Cancer 1

BRCA2: Breast Cancer 2

BCL2: B-cell lymphoma 2

TRPS1: Trichorhinophalangeal Syndrome Type1

BRAF: V-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1

Zeb2: Zinc finger E-box-binding homeobox 2

PDAC: Pancreatic Ductal Adenocarcinoma

ncRNA BIC: B-cell integration cluster

MYC: Myelocytomatosis

cDNA: Complementary DNA

CRC: Colon ve Rectum Cancer

DGCR8: DiGeorge syndrome chromosomal region 8

DNA: Deoksiribonükleik asit

Dkk2: Dickkopf WNT Signaling Pathway Inhibitor 2

EGF: Epidermal growth factor

EGFR: Epidermal growth factor receptor

EPIC: European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition cohort

FFPE: Formalin Fixed Paraffin Embedded

g: gram

HNPCC: Hereditary nonpolyposis colorectal cancer

ALL: Acute Lymphoblastic Leukaemia

KLL: Kronik Lenfositik Lösemi

CLL: chronic lymphocytic leukemia

CHK1: checkpoint kinase 1

FRA: Fragile Sites

FOSL1: Fos Like1, AP-1 Transcription Factor Subunit

MLL: Myeloid Lymphoid Leukemia or Mixed Lineage Leukemia

KRAS: Kirsten-rous avian sarcoma

LOH: Loss of heterozygosity

LNA: locked-nucleic acids
μL: Mikrolitre
mL: Mililitre
MET: Hepatocyte Growth Factor Receptor
MCM7: Minichromosome Maintenance Complex Component 7
mRNA: Mesajcı RNA
miRNA: MikroRNA
ng: nanogram
OCAC: Ovarian Cancer Association Consortium
PIK3CA: Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit alpha
Pre-miRNA: Prekürsör mikroRNA
PTEN: Phosphatase and tensin homolog
PROMPT: Prognostic miR Panel Template
PFS: Progression-Free Survival
PID: Pelvic Inflammatory Disease
PC: Prostate Cancer
PCR: Polymerase Chain Reaction
RISC: RNA-induced silencing Complex
RPM: Revolutions per Minute
RNA: Ribonükleik asit
RCC: Renal Cell Carcinoma
TP53: Tumor Protein 53
TKI: tyrosine kinase inhibitors
HGSC: High-grade serous carcinoma
CCC: Clear Cell Carcinoma
ncRNA: small non-coding RNA
TRBP: TAR RNA-binding protein
PACT: Protein ACTivator of the interferon-induced protein kinase
SRRP1: S1 RNA-binding Ribosomal Protein 1
SMAD4: SMAD family member 4, Mothers against decapentaplegic homolog 4
SFRP1: Secreted Frizzled Related Protein 1
WEE: Wee1-like protein kinase
2MEO: 2-Methoxyestradiol

ÖZET

Adamnejad Ghafour, A. (2019).Over Kanserlerinde miR-1260 mikroRNA Ailesinin Araştırılması.İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Temel onkoloji ABD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

Kadınlarda en sık görülen kanserler arasında meme, tiroid ve kolorektal kanser sayılabilir. Jinekolojik kanserler açısından bakıldığında ülkemizde de en sık görülen jinekolojik kanserler, rahim kanseri, over kanseri ve rahim ağzı kanseridir. Bu verilere göre Türkiye'de her yıl ortalama 3800 kişi rahim kanseri, 2790 kişi over kanseri, 1950 kişi rahim ağzı kanseri ve 400 kişinin de diğer genital kanserlerine yakalandığı bildirilmektedir. Amerika Birleşik Devletleri'nde ise yılda ortalama 14.270 kişinin jinekolojik kanserlere yakalandığı bildirilmektedir. Over kanseri tedavisi genellikle kemoterapi ve cerrahiden oluşmaktadır. Genellikle önce cerrahi tedaviyi takiben kemoterapi uygulanmaktadır. Klinikte etkili bir over kanseri tedavisi için öncelikle over kanserinin moleküler patogenezinin açıklanması ve tedavinin takibini kolaylaştıran yeni moleküler biyomarkerler gereklidir. miRNA'ların birçok kanser türü için biyolojik marker olabileceği bildirilmektedir. Over kanserinde miRNA'ların etkinliğine ilişkin grubumuzun yaptığı öncül bir araştırmada over kanserinin etiyolojisinde 99 aday miRNA'nın önemli olduğu belirlenmiştir. Bu tez çalışması kapsamında, bu miRNA'lar arasından miR-1260 mikroRNA ailesine ait 2 miRNA'nın ailesel ve sporadik over kanser hastalarından oluşan daha geniş bir hasta grubunda validasyonlarının yapılması planlanmıştır. Çalışmada 150 ailesel ve sporadik over kanser hastası ile hasta grubu ile yaş, cinsiyet ve etnik olarak eşleştirilmiş 100 sağlıklı kontrol grubunda miR-1260 mikroRNA ailesine ait 2 miRNA'nın ekspresyon düzeyleri incelendi ve over kanseri için biyomarker özelliği taşıyıp taşımadığı araştırıldı. Çalışmada over kanserli hastalara ait ekspresyon sonuçları sağlıklı kontroller ile karşılaştırılarak değerlendirildi. Over kanserli hastalarda miR-1260a ve miR-1260b ekspresyon düzeylerinin kontrol grubuna göre yüksek oranlarda artmış olduğu saptandı.

Over kanseri hastalarında miR-1260a ekspresyon düzeyinin sağlıklı kontrol grubuna göre yaklaşık 17 kat arttığı, miR-1260b ekspresyon düzeyinin ise sağlıklı kontrol grubuna göre yaklaşık 33 kat arttığı saptanmıştır. Hem over hem de diğer tip kanserler için de tanı alan hastalarda da kontrol grubuna göre miR-1260a ve miR-1260b ekspresyon düzeylerinin yüksek oranlarda arttığı görülmüştür. Sonuç olarak öncül çalışmasında da over kanseri ile ilişkili ekspresyon artışı saptanan miR-1260a ve miR-1260b mikroRNA'larının bu çalışma sonucunda ekspresyonlarının yüksek olduğu gözlenmiş ve validasyonları sağlanmıştır. 150 hastadan oluşan over kanser grubunda ve 100 hastadan oluşan sağlıklı kontrollerde valide edilen miR-1260a ve miR-1260b miRNA'larının, epitelyal over kanserinin (EOK) tanısında kullanılabilecek girişimsel olmayan yeni biyolojik markerlar olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca bu moleküllerin etkileştiği gen ve yolaklar üzerindeki moleküllerin ise gelecekte terapötik birer hedef olarak çalışılması gerektiği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Ailesel ve Sporadik Over kanseri, miRNA ifadesi, biyomarker,

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.

Proje No:31188

ABSTRACT

Adamnejad Ghafour, A. (2019). Investigation of miR-1260 microRNA family in ovarian cancers. Istanbul University Health Sciences Institute, Department of Basic Oncology. Master Thesis. Istanbul.

Breast, thyroid and colorectal cancers are the most common types of cancer among women. In terms of gynecologic cancers, the most common gynecological cancers are cervical and ovarian in Turkey. According to this data, every year around 3800 uterine cancer, 2790 ovarian cancer, 1950 cervical cancer, and around 400 other female genital cancers cases have been reported in Turkey. In the US, 14,270 people have been diagnosed with gynecological cancers. Ovarian cancer is usually treated through surgery and chemotherapy. Generally, surgery is the first treatment followed by chemotherapy. Although surgical and platinum-based chemotherapy are currently used in the treatment of standard ovarian cancer, new treatment strategies should be developed for more effective treatment. In order to have an effective treatment of ovarian cancer as well as to follow the treatment process, there must be new molecular biomarkers that explain the molecular pathogenesis of ovarian cancer. There is a need for disease-specific and sensitive biomarkers in early diagnosis of ovarian cancer, the choice and the follow-up of treatment. The miR-1260 microRNA family (miR1260a and miR1260b), previously identified as an important factor in the etiology of ovarian cancer and are related to the efficacy of miRNAs in this kind of cancer, are selected from 99 miRNAs candidates. In this thesis, 2 miR1260 microRNA family from 99 microRNAs candidate are validated and compared with healthy controls in sporadic and familial ovarian cancer cases. In the study, the expression levels of 2 miRNAs of miR-1260 microRNA family were investigated and evaluated for biomarkers for ovarian cancer in 150 familial and sporadic ovarian cancer patients; and 100 healthy controls matched in- age, gender and ethnically with the patients. Expression levels of miR-1260a and miR-1260b were higher in ovarian cancer patients compared to control group. It was found that the expression level of miR-1260a in patients with ovarian cancer was increased by 17 times, and the expression level of miR-1260b was increased by 33 times compared to the healthy control group. It was found that the expression levels of miR-1260a and miR-1260b increased significantly in patients diagnosed with both ovarian and other cancers. In conclusion, miR-1260a and miR-1260b microRNAs, which were found to be increased in ovarian cancer, were validated in this study. These miRNAs are validated in higher in ovarian cancer than healthy controls, suggesting that miR-1260a and miR-1260b miRNAs may be new non-invasive biomarkers that can be used in the diagnosis of epithelial ovarian cancer.

Keywords: Familial and Sporadic Ovarian Carcinoma, miRNA expression, Biomarkers

This study was supported by Istanbul University Scientific Research Projects Unit. Project No: 2018/712

1. GİRİŞ VE AMAÇ

2018'de Amerika Birleşik Devletleri'nde yaklaşık 22.240 kişide over kanseri teşhis edilmiş ve 14.070 kişinin over kanserinden hayatını kaybettiği bildirilmiştir [1]. Kadınlarda jinekolojik tümörlerin %2,5'ini habis tümör oluşturmaktadır. Bu kanserlere yakalanan kadınların %5'i ise ileri evre kanserler nedeniyle hayatını kaybetmektedir [2, 3]. Over kanseri en sık görülen jinekolojik kanser olup, yüksek mortalite oranına sahiptir.

Kanser çalışmalarında tüm bilinen miRNA'ların hasta ve sağlıklı kişiler arasında ekspresyon paternlerinin karşılaştırılması hastalıklara ilişkin biyolojik markerların saptanması açısından son derece önemlidir. Literatürlerde kanser ve miRNA ekspresyonu ilişkilendirilmiş olmakla beraber over kanserli hasta ile sağlıklı kişilerde miR-1260 ailesinin incelendiği herhangi bir çalışma mevcut değildir. MikroRNA'lar (miRNA'lar veya miR'ler) ~ 18-22 nükleotid uzunluğunda küçük RNA'ların bir sınıfıdır. miRNA'lar, hedef miRNA'ların 3'-untranslated region bölgesine (3'-UTR) bağlanarak haberci RNA (mRNA) aktivasyonunu inhibe ederek veya mRNA bozulmasını indükleyerek protein ekspresyonunu baskılamakta ve böylece ekspresyonu kontrol etmektedir. miRNA'ların fonksiyonlarının yeniden düzenlenmesi veya bozulması, kanser gelişimine sebep olmaktadır [4]. Over kanserinin çoğu postmenopozal dönemde karşımıza çıkmakla beraber premenopoz döneminde de over kanserlerine sıklıkla rastlanılmaktadır. Bu nedenle, menopozun hastalıkla olan ilişkisi ve zamanlaması halen tam olarak netleştirilememiş önemli bir konudur. Over kanserinin nasıl ve nereden geliştiği halen tartışmalı bir konu olup tam nedenleri bilinmemektedir. Yeni teoriler farklı over tümörü alt tiplerinin farklı noktalardan kaynaklandığını düşündürmektedir. Over kanserinin Tip 1 tümörlerinde tümörlerin fallop tüpünde yer alan yumurtalık yüzey epiteline benzer olan hücrelerden geliştiği ileri sürülmektedir. Over kanseri patogenezinin anlaşılması over kanserine yol açan farklı kökenden gelen hücrelerin belirlenmesi ve bu hücrelerin tümör gelişiminde ortak özelliklerinin belirlenmesiyle sağlanabilecektir. Menstrüasyon ve ovülasyon gibi olayların ve bunlarla ilişkili faktörlerin over kanserine nasıl yol açtığını anlamak için çeşitli modeller önerilmiştir. Çoğunlukla sürekli ovülasyon hipotezi (Incessant Ovulation Hypothesis) olarak adlandırılan hipoteze göre, aylık ovülasyon ile indüklenen yumurtalık yüzey epitelinin ve fallop tüp epitelinin üzerindeki tekrarlayan sürekli olarak hasarların ve buna karşı onarım aktivasyonunun, hücre proliferasyonunu ve dolayısıyla onkogeneze yol açabilecek genetik istikrarsızlık ihtimalini arttırdığı düşünülmektedir. Gonadotropin hipotezi olarak bilinen bir diğer hipoteze göre, over yüzey epitelinin doğrudan ve dolaylı olarak aşırı uyarılması, gonadotropinlerin diferansiyasyonuna yol açarak çoğalmaya neden olduğu ve buna bağlı olarak malign transformasyonun geliştiği ileri sürülmektedir. Bütün bu hipotezlerde ortak yaklaşım, yumurtlama sebebi ile over epitelinde meydana gelen hasarın over kanserine yol açtığı ile ilişkilidir. Bu durum over kanser gelişiminde ovülasyonun önemini güçlendirmekle beraber bu işlemden görev alan diğer yakın organların işlevsel etkisinin ayrıştırılmasını da zorlaştırmaktadır. Polikistik Over Sendromu (PCOS) tanılı kadınların değişen steroid hormonu seviyesi nedeniyle sürekli ovülasyon eğilimi gösterdiği, oral kontraseptif kullanan kadınların ise hem düşürülen gonadotropin düzeyi hem de ovülasyonun inhibisyonu sebebi ile ovülasyondan ve dolayısıyla over kanser geliştirme riski açısından korunuyor olabileceği düşünülmektedir. Over kanserinin ortalama tanı yaşı olan 63 yaş, ovülasyonun durduğu menopoz sonrası postmenopozal dönemdir. Bu nedenle, halen yanıtlanmamış bir soru olan, menopozun hastalık üzerindeki etkisi son derece karmaşık bir soru haline gelmektedir [5].

Jiang ve ark. Real-Time PCR yöntemi kullanarak insan kanser hücre soylarında 222 adet miRNA öncülünü analiz etmişlerdir. PCR tabanlı bu analiz ile miRNA ekspresyon düzeyi belirlenebilmektedir [6]. miRNA profillemesi için genel olarak kullanılan temel yöntemler arasında dizileme, mikrodizileme ve gerçek zamanlı qPCR sayılmaktadır [7-9]. Real time qPCR tabanlı sistemlerde biyolojik değişikliklerin değerlendirilmesinde teknikten kaynaklanan ölçme hataları için normalizasyon işlemi önerilmektedir [10]. Bu yöntemler, yeni miRNA'ları belirleme potansiyelinin yanı sıra dizisi bilinen miRNA'larda da var olan değişiklikleri ortaya koyan bir işlemdir [11-19].

Planlanan tez çalışmasında over kanserinde değişiklik gösterdiği düşünülen miR-1260 ailesine ait 2 farklı miRNA'nın Real Time tabanlı qPCR metodu kullanılarak validasyonlarının yapılması, over kanserindeki etkinliklerinin belirlenmesi ve over kanserinin etiyolojisindeki yerinin anlaşılmasında son derece önem taşımaktadır.

Bu amaçla planlanan çalışmada, 150 ailesel ve sporadik over kanser hastası ile hasta grubu ile yaş, cinsiyet ve etnik olarak eşleştirilmiş 100 sağlıklı kontrol grubunda miR-1260 mikroRNA ailesine ait 2 miRNA'nın ekspresyon düzeyleri incelenecek ve over kanseri için biyomarker özelliği taşıyıp taşımadığı değerlendirilecektir. Hasta ve sağlıklı gruplar arasındaki ekspresyon farklılıkları ortaya koyularak miR-1260 ailesinin over kanseri etiyolojisinde önemi belirlenecektir. Elde edilen bulgular, miR1260 a ve miR1260b miRNA'larının over kanserinin erken teşhisinde, prognoz belirlenmesinde, tedavi planlaması ve takibinde biyomarkerlar olarak kullanılıp kullanılmayacağı belirlenecektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kadın Üreme Organları

Kadın cinsel organı iç ve dış genital bölgelerden oluşmaktadır. Pelvik boşluğunun içinde bulunan organlar iç genital organlar olarak sınıflandırılır ve over, uterus ve vajinal kanal olarak sıralanır.

Over, kadınlarda yumurtaların üretildiği ve dişilik hormonlarının salgılandığı, bir organdır. Her over yaklaşık 3,5 cm uzunluğunda, 2 cm genişliğinde ve 1 cm kalındığında oval bir yapıdadır. Birkaç sütünal bağ ve perineal kist, uterusun kenarlarında ve uterus tüplerinin altında, pelvis tabanının yanında bulunan overi tutmaktadır.

Germ tabakası adı verilen ince tabaka, embriyo benzeri bir visseral periton tabakası olan yumurtalığın yüzeyini kaplar. Overin kanaması, abdominal aortdan ve aynı zamanda uterus arterlerinin dallarından oluşan bir çift atardamardan kaynaklanır. Overlerin içinde yer alan her bir yumurta, foliküler hücreler olarak adlandırılan küçük hücre tabakasıyla çevrilidir. Ovum ve ovumu çevreleyen foliküler hücrelerin hepsi birlikte folikül olarak adlandırılır.

Ovum hücreleri, embriyonik yaşamın erken dönemlerinde birkaç mitotik bölünme geçirir, daha sonraki dönemlerde ise mayoz bölünmeye geçiş yapar. Embriyonik aşamada ovum hücreleri, mitoz bölünme geçirmesine rağmen, bu bölünme, hücre çekirdeğinin ilk fazında foliküler hücrelerin salgılanmasını önler. Salgılanan hormonların yardımıyla ve mitoz bölünme ile foliküler büyümenin desteklenmesine ve ovum hücrelerinin harekete geçmesine sebep olur. Nöronal ve endokrin sistemlerin aktivitesi ile ergenlikten sonra ovum hücreleri, aylık rutin bir düzenlenme hali alır. Sonuç olarak, embriyonik dönemde inaktif ovum hücreleri, hipofiz bezi salgılarının aktivasyonu ve mitoz bölünme ile yeniden düzenlenir. Sonunda, bu hücrelerden birinin büyümesi tamamlanır ve mayozun ilk aşaması başlar ve yaklaşık 11 gün sonra olgunlaşmış olur. Yumurtanın serbest bırakılması olayına yumurtlama denir. Yumurta daha sonra uterusu gider ve eğer spermatozoidler ile birleşebilirse, mayozun ikinci aşaması başlar. Bu şekilde, mayozun ikinci aşaması, spermatozoidlerin girmesi ve döllenmesi durumunda tamamlanır.

Overin en önemli görevi, embriyonun ilk günlerinden itibaren dişilik hormonları olan östrojen ve progesteronun üretimi ve salgılanmasıdır. Bu hormonların miktarı sabit değildir ve hipofiz fonksiyonunun etkisi döngülerin farklı aşamalarında azalabilir veya artabilir. Ayrıca, bu hormonlar özellikle, kadın cinsel organlarının gelişimini ve işlevini etkilemektedir [20].

2.2. Over Kanseri Gelişimi ve Metastazı

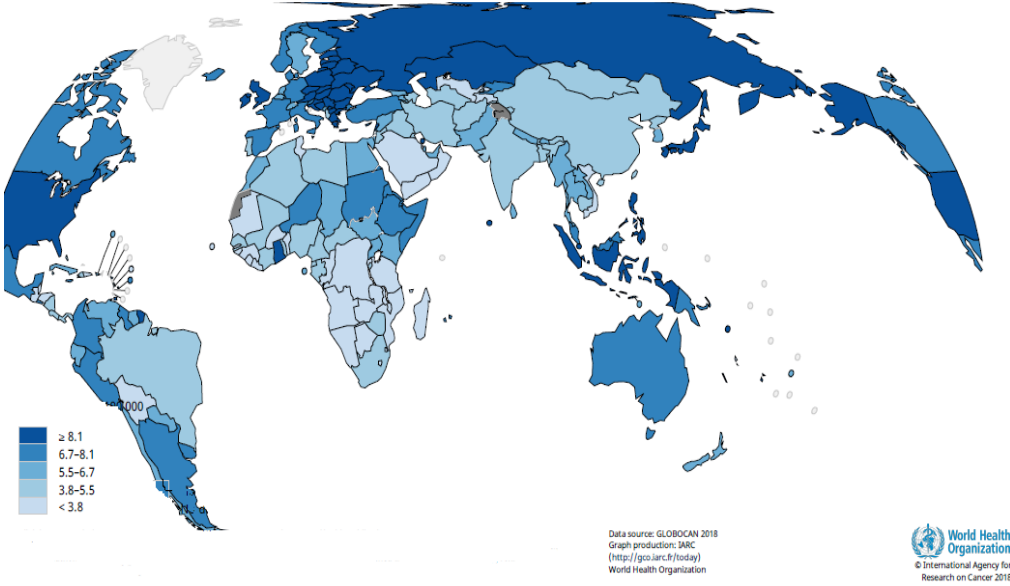
Over kanser biyolojisi hematojen olarak metastaz yapan tümörlerden farklıdır, çünkü over kanser hücreleri periton boşluğu içine invaze olmaktadır. Hızla çoğalan tümörlerin viseral organları sıkıştırması ve hücrelerin kemosensitiflik özelliğinin düşük olması nedeniyle over karsinomu sadece %30'luk tedavi oranıyla ölümcül bir hastalıktır. Over karsinomu hücre transformasyonuna yol açan genetik ve epigenetik değişiklikleri içerir. Over karsinomu potansiyel üç farklı bölgenin birinden kaynaklanır: Yumurtalık yüzeyleri, fallop tüpü veya mezotelyum periton boşluğu. Over kanser tümörögenezi ya yavaş büyüyen bir borderline tümörden iyi diferansiye karsinomaya (tip I) aşamalı bir mutasyon süreci boyunca ilerler ya da hızla metastaz yapan (tip II) genetik olarak stabil olmayan yüksek dereceli seröz karsinomu şeklinde gelişir.

Tümör oluşumu sırasında, over kanser hücreleri, epitelyal-mezenkimal geçişe uğrar; bu mekanizma integrin ekspresyonunda ve proteolitik yolakların regülasyonunda bir değişiklik meydana getirir. Peritoneal sıvı tarafından taşınan kanser hücresi sferoidleri, anoikisi geçer ve kanser hücrelerinin epitelyal fenotipe geri döndüğü abdominal periton veya omentuma tutunur. Metastazın başlangıç basamakları, adezyon reseptörleri ve proteazların kontrollü bir etkileşimi ile düzenlenir. Geç metastaz, mezotelyum kaplı yüzeyler üzerindeki tümör nodüllerinin onkojene dayalı hızlı büyümesi ile karakterize edilir, bu da bağırsak tıkanıklığına ve tümör kaşeksisine neden olur [21].

2.2.1. Epidemiyoloji

Yaşa göre düzenlenmiş insidans oranları, Kuzey Amerika, Orta ve Doğu Avrupa dahil, dünyanın gelişmiş bölgelerinde, genellikle 100.000'de 8'i aşan oranlarda gözlenmektedir. Güney Amerika'da oranlar 100.000'de 5.8 ve Asya ve Afrika'da ortalama 100.000'de 3 düzeydedir [22, 23].

Amerika Birleşik Devletleri'nde, insidans ve mortalite oranları arasında ırksal farklılıklara bakıldığında, beyaz ırk riskler açısından yüksek riske sahipken, hispanikler için orta risk, siyahlar ve asyalılar için ise düşük oranlarda gözlenen risk farklılıkları mevcuttur [24]. Kuzey Amerika ve Avrupa'yı da kapsayan çoğu gelişmiş ülkede, büyük ölçüde, over kanser insidansı ve mortalitesi 1990'lı yıllardan sonra azalmaya başlamıştır [24-29]. Buna karşılık, son zamanlarda ekonomik büyümede sıkıntı yaşayan ve yaşam kalitesi düşük olan az gelişmiş ülkelerde over kanseri insidans ve ölüm oranlarında artışlar görülmektedir [30, 31].



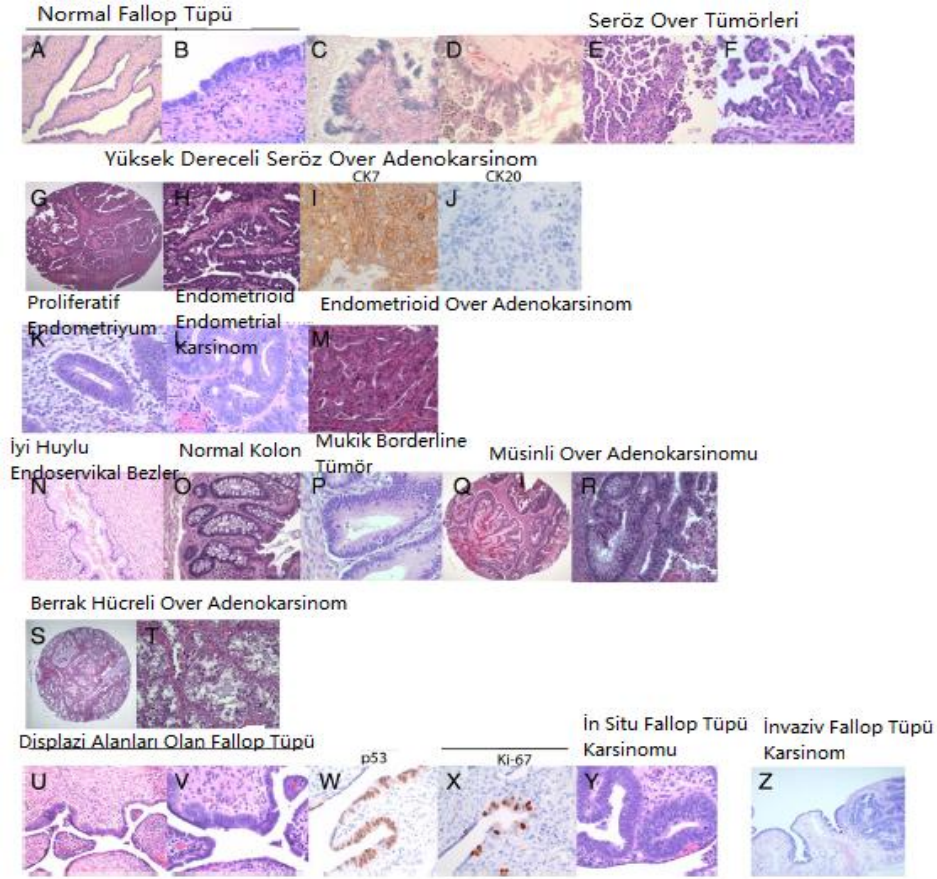
Şekil 2-1: Coğrafik bölgelere göre 2018 yılı over kanseri insidansı [32].

Dünya Sağlık Örgütü, hücre tipine göre over kanserlerinin %80'ini epitelyal over karsinomu olarak bildirmiştir (şekil 2-2). Bu nedenle, seröz over kanseri, iyi veya orta derecede diferansiye olduğu zaman, genellikle fallop tüpünün papiller yüzey epitelyumuna benzeyen glandüler veya papiller bir yapıya sahiptir (Şekil 2-2, A-J), bu nedenle seröz papiller over karsinomu olarak da adlandırılır (Şekil 2-2, A-J). Endometriyum kanserleri genel olarak endometrioid ve endometrioid olmayan kanserler olarak ikiye ayrılır. Endometrioid bezlerden oluşan endometriyum kanseri sıklıkla endometriozis ile ilişkilidir ve uterusun endometrioid karsinomlarını andırır (Şekil 2-2, K-M). Müsinöz karsinomlar, daha iyi diferansiye bölgelerde, endoservikal bezlere veya gastrointestinal epitelyuma benzemektedirler (Şekil 2-2, N-R). Over kanserini, yumurtalığa metastaz yapmış olan mide ve bağırsak tümörlerinden ayırt etmek bazen zordur, fakat sitokeratin 7 ve 20 (CK7 ve CK20) immünohistokimyasal boyama tanımı kolaylaştıran araçlardır. Seröz over kanseri sıklıkla CK7 pozitif ve CK20 negatif iken, gastrointestinal kanserler CK7 negatif ve CK 20 pozitifdir (Şekil 2-2, I and J). Bununla birlikte, bu ifade her zaman organa özgü değildir, çünkü kolon ve gastrik adenokarsinomlar CK7'yi eksprese edebilirken, müsinöz over adenokarsinomlarının %33'ü CK20 pozitifdir. Dördüncü majör histolojik kategoride, hem seröz hem de endometrioid formda over kanseri ile morfolojik özellikleri paylaştıkları endometriozis ile

ilişkili nadir bir alt tip olan berrak hücreli over kanseridir (Şekil 2-2, S ve T). Geçtiğimiz 40 yıl boyunca, over yüzey epitelinin tek tabakasının seröz over kanserine yol açtığı fikri genellikle kabul görmekteydi [33, 34]. “Sürekli ovulasyon” teorisi, ovulasyonun sırasında yüzey onarımı döngüsünü indüklemekte ve yumurtalık epitelyumunun inklüzyon kistlerine yakalanma eğilimini arttırmaktadır. Sonuç olarak bu olaylar malign transformasyona katkıda bulunduğunu göstermektedir. Over yüzeyindeki epitelyal hücreler, peritonyum plevra ve perikardı kapsayan mezotelyal hücreler gibi hem epitelyal (keratin) hem de mezenkimal (vimentin) hücre yapısını içerir. Dr. Naora’nın laboratuvarından yapılan çalışmada, kadın üreme sistemi ve farklı dokuların morfogenezinde HOX genlerini rol oynadığı gösterilmiştir [35, 36].

HOX genleri, morfogenez ile ilişkil genleri düzenleyen bir transkripsiyon faktörüdür. Over kanserinin bu mekanizma yoluyla geliştiği düşünülmekle birlikte, fizyolojik olarak, kötü diferansiye over yüzey epitel hücrelerinin, farklı epitel hücrelerini taklit ederek, Mullerian benzeri bir morfolojiye diferansiye olabileceği görülmüştür. Seröz over kanseri, bir prekanseröz bileşeni olmayan kanserdir. Piek ve ark.’nın yaptıkları çalışmalara dayanarak fallop tüpünün fimbriyal epitelyumu (Şekil 2-2, U-Z), over kanseri için bir başlangıç yeri olarak kabul edilmiştir [37, 38]. Pelvik tutulumu olan seröz over kanseri 55 hastanın fallop tüplerinin tıkanması sonucu, hastaların 41’inde(%75) fallop tüpünün iç astarında tümör tutulumu olduğu gösterilmiştir. En önemlisi, hastaların 29’unda (% 52) tubal intraepitelyal karsinomu mevcut olduğunu, bu da seröz karsinomların fallop tüpünden kaynaklandığını düşündürmüştür. Fallop tüpünde bulunan intraepitelyal karsinomlar endokrin epitelyal hücrelerden oluşmuş, TP53 inaktivasyonu/mutasyonu gösteren güçlü TP53 boyanması ve epitelyal hücrelerde DNA hasarı için bir biyobelirteç olan aşırı eksprese edilmiş γ -H2AX proteinin varlığı bildirilmiştir [39, 40]. Over kanseri histolojik olarak normal fallop tüpü (şekil 2-2, A ve B) ve endometrium (Şekil 2-2 K) kökenli, mezodermden gelişen mullerium kanalı olmak üzere ortak bir embriyolojik kökenini paylaşır [41].

Buna karşılık, over epitelyumu, koelomik kökenlidir ve over epitelinin müllerian kanalının dokularına benzeyen bir tümöre nasıl dönüştüğünü halen bilinmeyen konular arasındadır. Fallop tüpünün ve overlerin tümör oluşumuna nasıl katkıda bulunduğunu açıklamak için iki hipotez geliştirilmiştir. Birincisi, fallop tüpü ve over geçişinde, servikse çok benzeyen malign transformasyona karşı hassas olan bir epitelyal geçiş alanı olduğunu iddia edilmektedir [42]. İkinci teoride ise, yumurta salınımı sırasında, tubal epitelyal hücrelerin yumurtalık yüzeyini etkisiz hale getirdiği ve yumurtalık mikroçevresinde dönüştürülen inklüzyon kistlerinin oluşumu ile sonuçlandığını ileri sürülmektedir [43].



Şekil 2-2 Borderline tümörlerin majör histolojik alt tipleri, epitelyal over karsinomu ve normal doku [44].

A ve B: 100× normal fallop tüpü (**A**) ve 400× (**B**) büyütme. **C.** 100× seröz borderline over tümörü. **D.** Mikropapiller, iyi diferansiye over karsinomu. 400×. **E.** Düşük dereceli seröz over karsinomu. 100×. **F.** Düşük dereceli seröz over karsinomu. 400×. **G.** Yüksek dereceli seröz over karsinomu. 100×. **H.** Yüksek dereceli seröz over karsinomu. 400×. **İ.** Sitokeratin 7 için yüksek dereceli seröz karsinom boyası. 400×. **J.** Sitokeratin 20. 400×. **K.** Proliferatif endometriyum. 400×. **L.** Endometrioid endometrial karsinom, Grade I. 400×. **M.** İnvaziv endometrioid over karsinomu. 200×. **N.** İyi huylu endoservikal bezler. 200×. **O.** Normal kolon. 200×. **P.** mukik borderline tümör. 400×. **Q ve R.** 40× düşük dereceli müsinli over karsinomu. **S.** Berrak hücreli karsinom. 40×. **T.** Berrak hücreli karsinom. 200×. **U.** Displazi alanları ile fallop tüpü. **V.** 100×. Displazi alanları ile fallop tüpü. 400×. **W.** Displastik epiteli Fallop tüpü, p53 pozitif. 400×. **X.** Ki-67 pozitif olan displastik epiteli Fallop tüpü. 400×. **Y.** İn situ fallop tüpü karsinomu. 400×. **Z.** Displastik fallop tüpü. 200×

2.3. Risk Faktörleri

2.3.1. Hormonal ve Reprodüktif Risk Faktörleri

Epidemiyolojik araştırmalar kanser patogeneğinde hormonal ve reprodüktif faktörlerin önemini göstermiştir [45]. “Sürekli ovulasyon” hipotezi, yumurtlama döngülerinin sayısını her yumurtlamadan sonra yüzey epitelinin onarımı ile ilişkili hücrel bölünme hızını ve böylece spontan mutasyon oranını arttırdığını ortaya koymaktadır [46]. Yaşam boyu yumurtlama sayısı ile yüksek risk arasındaki korelasyon bu hipotez ile tutarlıdır. "Gonadotropin hipotezi", luteinleştirici hormon ve folikül uyarıcı hormon gibi gonadotropinlerin olası etkilerini gösterir [46-50]. Önerilen bu mekanizmaların her ikisinde de, dişilik hormonuna maruz kalmanın endojen korelasyonları ve eksojen hormon kaynakları hakkındaki epidemiyolojik verilerin yorumlanması gerekmektedir [47].

2.3.2. Menarş ve Menopoz Yaşı

Sürekli yumurtlama hipotezine göre, menarşta erken yaş ve menopozda geç yaş, yumurtlama döngü sayısını arttırmak koşulu ile riski de arttırmaktadır. Gonadotropin hipotezine göre menopozda ve menopoz sonrası gonadotropin hormonlarının yükselişini geciktirmek de riski azaltmaktadır [51-61]. Vaka kontrol çalışmaları menopozda yaş kategorisinin 45 ile 52 arasında değiştiğini göstermiştir. Avrupa Prospektif Kanser ve Nutrisyon Araştırması (EPIC) kohortunda menopoz yaşı (> 52 'ye ≤ 45 yıl) artan risk ile ilişkili olduğu bildirilmiştir [62-65]. Ulusal Sağlık Servisi'nden bir rapor, doğal menopozdaki yaşı aynı zamanda endometriyum tümör riskinin artmasıyla da ilişkili olduğunu göstermiştir [66].

Laktasyon, hipofiz gonadotropinlerinin salgılanmasını baskılar ve özellikle doğumdan sonraki ilk aylarda, anovülasyona yol açar [67]. Sürekli ovulasyon ve gonadotropin hipotezi, laktasyonun kanser riskini azaltacağını düşündürmektedir [57, 58, 61, 68-74]. Son zamanlarda yapılan bir meta-analiz çalışmasında, uzun süre emzirmenin (RR = 0.85, 0.73 ve 0.64 < 6 ay, 6-12 ay boyunca ve > 12 aylık toplam emzirme süresi) önemli bir koruyucu etkisi (özetle RR = 0.68, % 95 CI: 0.61-0.76) olduğunu göstermektedir [75].

2007 yılında yayınlanmış 28 popülasyon çalışmasının meta analiz sonuçlarına göre kilolu kadınlar (25-29.9 kg / m² BMİ) ve obez kadınlar (≥ 30 kg / m² BMİ), RR = 1.2 ve 1.3 normal kilolu kadınlarla (18.5 24.9 kg / m² BMİ) karşılaştırıldığında over kanseri açısından kilolu- obez kadınların artan bir risk taşıdıkları bildirilmiştir. Sistematik bir çalışma sonucunda, vaka kontrol çalışması ile obezitenin endometriyum ve over kanser riski artışı ile ilişkili olduğunu göstermiştir [76].

Bugüne kadar, 29 epidemiyolojik çalışma, 14 prospektif kohort çalışması dahil olmak üzere iki yüksek kohort çalışmasının meta analizi sonucu, popülasyon temelli ve vaka tabanlı kontrol çalışması, fiziksel aktivite ile over kanser riski arasındaki ilişkiyi araştırmıştır [77-105]. Sonuçlar tam olarak net olmamakla birlikte, fiziksel aktivite açısından aktif kadınların, hareketsiz olanlara kıyasla yaklaşık %20 daha düşük oranda over kanser riski taşıdıkları bildirilmiştir. (toplanmış göreceli risk = 0.81,% 95 CI: 0.72-0.92) [98].

Jinekolojik enflamatuvar hastalıklar ve endometriozis ile ilişkili artan over kanser riski, inflamasyonun over karsinogenezinde önemini göstermektedir. Bazı hayvan ve in vitro çalışmalarda, aspirinin over kanserinin progresyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir [106, 107]. Bazı prospektif ve vaka kontrol çalışmalarında ise , aspirin ve steroid içerikli olmayan antienflamatuvar ilaçlar ile over kanser insidansı arasında bir ilişki olduğu bildirilmiştir [108-111]. Yapılan bir çalışmada 12 vaka ile bir analiz gerçekleştirilmiş, aspirin kullanımının, özellikle düşük dozlu günlük kullanımın (<100 mg) over kanser riskini (OR = 0.91,% 95 CI: 0.84-0.99) düşürdüğü bildirilmiştir. Bu nedenle, kardiyovasküler ataklardan ve diğer kanserlerden (örneğin kolorektal kanser) korunmak için öngörülen aspirin dozajının over kanser riskini % 20 ila %34 oranında azalttığı belirtilmiştir [110].

2.4. Over Karsinomu Gelişimine Genetik Bakış

Son on yılda, over kanseri tümör genezini anlamamıza ilişkin önemli çalışmalar kaydedilmiştir. Shih ve Kurman, over kanseri farklı histolojik alt türlerinde genetik değişimleri sınıflandırmış ve over kanserine yol açan iki ana moleküler yolu kavramsallaştırmıştır. Birinci kategori (tip I kanserler; Şekil 2-2, C – F ve M) düşük dereceli seröz papiller, endometrioid ve düşük malignite potansiyeli olan müsinöz borderline over tümöründe oluşmaktadır. İkinci kategori ise yüksek dereceli seröz karsinomlardır (tip II kanserler; Şekil 2-2, G-J) [37,38].

Genel olarak, tip I kanser kategorisi, genç yaşta tanı konulması ile karakterize edilir ve ortalama 82 aylık süre boyunca devam eden bir hastalık seyri ile karakterizedir [112]. Menopoz sonrası kadınlarda sıklıkla tip II kanser görülmektedir. Kemoterapiye genellikle hassastırlar fakat yalnızca 30 aylık bir ortalama sağkalım gösterirler. İyi diferansiye (Şekil 2-2, E ve F) seröz neoplazmlardaki (tip I tümörler) genetik değişikliklerin birikimi, benign epitelyumu düşük dereceli bir malign tümöre dönüştürme yetisine sahiptir (Şekil 2-2, A-F). Tip I tümörler tipik olarak BRAF, KRAS, ERBB2, mikrosatellit instabilitesi olmak üzere farklı genetik değişikliklere sahiptirler ve ilk olarak kolon kanseri için tarif edilen ve kolon kanserinde daha sıklıkla görülen genetik değişimleri gösterirler [113]. KRAS mutasyonları müsinöz karsinomlarda çok sık görülür. Klinik olarak, hem berrak hücre, hem de endometrioid over karsinomları yaygın bir görüntüye sahiptir ki çoğu hastalarda nadiren metastaz yapmış ve erken evrelerde over tümör kitlesine dönüşmüşlerdir [114]. Endometrioid over karsinomlu

hastalardan alınan kanser dokusunda çalışılan ve elde edilen mutasyon verileri, fare modeli kullanılan deneylerle doğrulanmıştır. Çalışmada onkogenik KRAS'ın ekspresyonu veya PTEN delesyonu, fare overinde endometriyoza yol açmıştır. İki mutasyon, farede genellikle endometrioid ortaya çıkaran metastatik over karsinomu geliştirmektedir [115, 116]. Yüksek dereceli seröz tümörlerde genetik değişiklikler arasında, BRCA 1 ve 2 mutasyonları ve AKT2 serin / treonin kinaz ve fosfatidilinositol 3-kinaz genlerinin (% 40) amplifikasyonu yer alır [117, 118]. Fosfatidilinositol 3-kinaz, berrak hücreli over karsinomlarının üçte birinde mutasyona uğramasına karşın, bu vakalarda hiçbirinde amplifikasyon saptanmamıştır. AKT / fosfatidilinositol 3-kinaz yolağı tip II over kanserlerinin iyi diferansiye olmasını sağladığından, çeşitli fosfatidilinositol 3-kinaz inhibitörleri geliştirilmektedir [119].

2.5. Herediter Over Kanseri

Epitelyal over karsinomunun en yaygın alt tipi olan yüksek dereceli seröz karsinomun (HGSC), düşük dereceli seröz karsinomdan (LGSC) farklı bir hastalık olduğu bilinmektedir. HGSC genellikle ileri yaşta ortaya çıkar ve kemoterapiye iyi yanıt vermektedir, ancak LGSC'den daha kötü bir genel prognoza sahiptir.

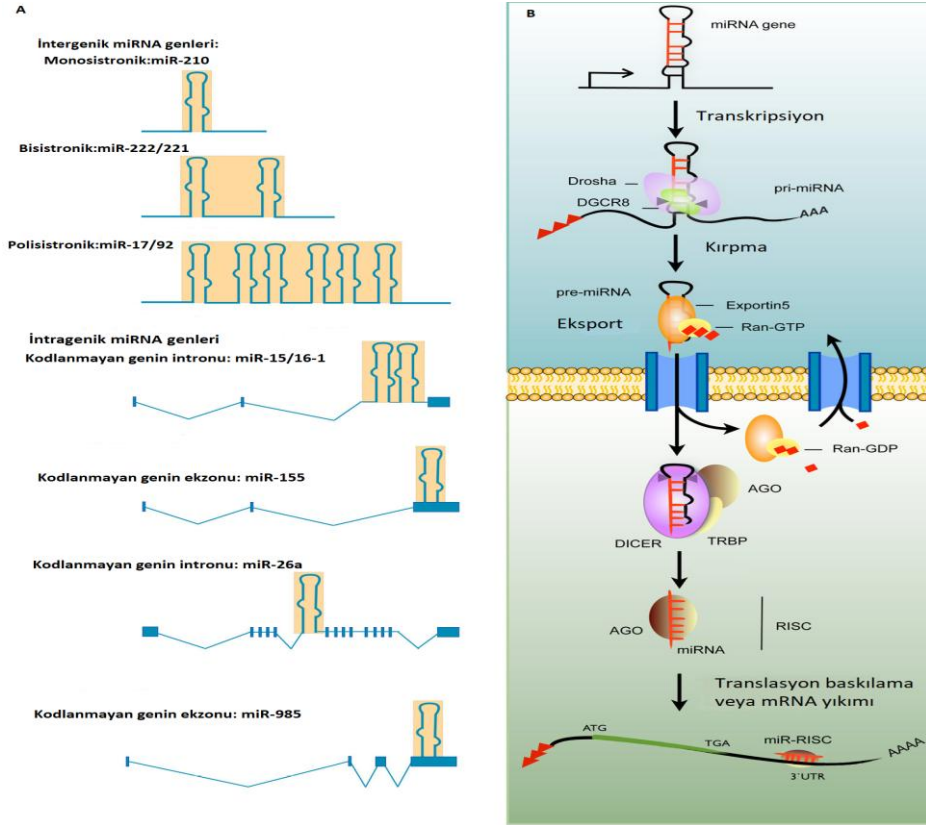
Aksine, LGSC genç yaşlarda ortaya çıkar ve kemoterapiye iyi yanıt vermez, ama daha iyi bir prognoza sahiptir [112, 120-122]. Endometrioid adenokarsinom (EC) ve berrak hücre karsinomu (CCC) tipik olarak evre I / II hastalık olarak ortaya çıkar ve sıklıkla pelvik endometriozis ile ilişkilidir. Ovaryumun müsinöz karsinomu (MUC) ise, metastaz ile ilişkili bir hastalıktır ve invazyonun tipine bağlı olarak prognozu değişiklik göstermektedir [123-125]. HGSC tanılı genç kadınlarda *BRCA1* veya *BRCA2* mutasyonları veya Lynch sendromu gibi kalıtsal sendromlar dikkate alınmalıdır. Over kanserlerinin çoğunluğu sporadiktir ve aile öyküsü en güçlü risk faktörlerinden biridir. Genel olarak, over kanserlerinin yaklaşık %10'u kalıtsaldır; bu kalıtsal tümörlerin %90'ı *BRCA* mutasyonları ile ilişkilidir ve geri kalanı herediter nonpolipozis kolorektal kanser (HNPCC) sendromuna bağlıdır [126]. Meta-analizler, *BRCA1* mutasyonu olan hastalarda, over kanseri geliştirmede kümülatif riskinin daha yüksek olduğunu göstermiştir. Antoniou ve ark. tarafından gerçekleştirilen bir meta-analiz ile; *BRCA1* mutasyonlu hastalarda over kanseri için kümülatif riskin 70 yaşına kadar %39, *BRCA2* mutasyonu olan hastalarda ise riskin ortalama %11 olduğu bildirilmiştir [127]. Chen ve ark. ise yapılan 10 çalışmayı gözden geçirerek *BRCA1* mutasyon taşıyıcılarında kümülatif riskin 70 yaşına kadar ortalama %40, *BRCA2* mutasyon taşıyıcıları için ise ortalama %70 olduğunu bildirdiler [128]. Çalışmalar sonucunda, germline *BRCA1* mutasyon taşıyıcılarının, sporadik over kanseri vakalarıyla karşılaştırıldığında germline *BRCA1* mutasyonu taşıyıcılarının over kanserinin insidansının yüksek olduğu, klinik özellikleri ve tedaviye verdiği cevapların farklı olduğu gösterilmiştir [129-132]. Kalıtsal *BRCA* ile ilişkili over kanserlerinin ancak hastalığın daha ileri bir aşamasında tanısının konulduğu, fakat sporadik kanserli hastalara kıyasla platin bazlı kemoterapiye daha iyi yanıt verdiği ve hastalıksız sağkalımın daha uzun süre olduğu gösterilmiştir [131, 132]. Reitsma ve ark. 55 *BRCA1* mutasyonu taşıyıcısı ve 16 *BRCA2* mutasyonu taşıyıcısı

olgusu ile yaptıkları çalışmada, *BRCA2* mutasyonları olan hastaların, ilk relaps ve sağkalım sürelerinin daha uzun olduklarını göstermişlerdir [133].

2.6. mikro RNA (miRNA)

mikroRNA (miRNA), ilk olarak 1993'te, iki bağımsız çalışmanın *Caenorhabditis Elegans*'ta *lin-4*'ün protein kodlamayan RNA'sında (ncRNA) keşfedilmiştir [134]. Yedi yıl sonra, Reinhart ve ark. (2000), başka bir *Caenorhabditis Elegans*'ta, *let-7*'nin de küçük bir ncRNA tarafından temsil edildiğini ve *lin-4* RNA'sı ile birlikte bir RNA-RNA etkileşimini göstermişlerdir [135]. miRNA'lar tüm bitki ve hayvan türlerinde keşfedilmiştir [136]. Hayvansal miRNA'lar filogenetik olarak korundukları (*C. elegans* miRNA'ların ~% 55'i insanlarda homologlardır) ve memeli miRNA genlerinin çoklu izoformlara (paralog) sahip olduğu bildirilmiştir. Örneğin, insan *let-7* geninin 11 genomik lokusta dağıtılan 8 farklı izoformu bulunmaktadır (Şekil 2-3). miRNA genlerinin %50'sinden fazlası kümelenir ve normalde multisistronik RNA transkriptleri olarak bulunurlar. miRNA'ların bir bölümü ise, başka bir genin içinde bulundukları ve aynı transkripsiyonel oryantasyona sahip oldukları için intragenik olarak kabul edilirler (Şekil 2-3). Konakçı gen bir kodlayıcı veya kodlamayan gen olabilir, intergenik miRNA'ların ~%40'ı kodlayıcı olmayan transkriptlerin intronik bölgelerinde bulunurken, %10'u ekzonik bölgelere yerleştirilir. Kodlama transkriptlerinde bulunan miRNA'lar genellikle intronlarda bulunur. miRNA genleri, RNA polimeraz II (Pol II) ile kopyalanır ve 5'sapka yapısı ve 3' poli (A) kuyruğu mRNA'yı degradasyondan korur [137, 138]. Bununla birlikte, Alu tekrarları ile ilişkili küçük bir miRNA grubunun Pol III tarafından kopyalandığı bildirilmiştir [139].

miRNA'lar, endojen saç tokası biçimli transkriptlerden üretilen, 19-24 nükleotid uzunluğundaki tek iplikli ncRNA'lar olarak tanımlanır [140]. Baz ifadesi, genellikle 3'UTR'de hedef mRNA'lar üzerinde parsiyel komplementer bölgelere gen ifadesini negatif olarak düzenler. Bir miRNA'nın hedef mRNA'ya bağlanması tipik olarak translasyonel represyona ve ekzonükleolitik mRNA bozunmasına yol açar, ancak yüksek derecede tamamlayıcı hedefler endonükleolitik olarak yarılanabilir. İnsanda protein kodlayan genlerin %60'ından fazlasının, 3' UTR içinde miRNA bağlama bölgelerini içerdiği tahmin edilmektedir. Bu nedenle miRNA'lar hayvanlarda en fazla bulunan gen düzenleyici molekülleri oluştururlar. miRNA'ların gen ekspresyonu yüksek etkisi göz önüne alındığında, kanser gibi hastalık fenotiplerinde benzersiz bir rol oynadıkları belirlenmiştir [141].



Şekil 2-3: miRNA'ların genomdaki konumları ve biyogenezi [142].

A: Intragenik miRNA'lar genlerin kodlanması

B: Translasyon baskılama veya miRNA yıkımı

miRNA'lar, çekirdekten başlayan ve sitoplazmaya kadar devam eden üç ana olay sonrasında üretilen RNA'lardır [143-146]. miRNA genleri, RNA polimeraz II ile miRNA'nın (pri-miRNA'lar) primer başlığı ve poliadenile prekürsörlerinde transkribe edilir [137]. Olgun miRNA, nükleer Drosha / DGCR8 heterodimeri tarafından "kırpılmış" olup, pri-miRNA'lara dönüştürülür ve 60-100 bp bir hairpin yapıya pre-miRNA'yı serbest bırakır [147]. DGCR8, RNase III enzimi Drosha'nın katalitik bölgelerini tanıyan pri-miRNA hairpinin bir ~10 bp proksimal sapını tanıyan bir dsRNA bağlayıcı proteindir [148]. Pre-miRNA'lar, ~ 22 nt miRNA duplekslerini serbest bırakan RNase III Dicer tarafından sitoplazmada bırakılır [149, 150]. Dicer iki farklı protein olan protein TRBP ve PACT ile etkileşir [151, 152]. miRNA'lar hedef mRNA'ları düzenleme ve onların işlevlerinin gerçekleşmesi için gereklidir [153].

2.7. Kanser ve mikroRNA'lar

miRNA'ların kanser hücrelerinde fonksiyonel değişikliklere neden olarak birçok kanserde önemli roller oynadığı belirlenmiştir. Croce ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, miR-15a / 16-1 kümesinin, KLL'de sıkça delesyona uğradığı bildirilmiş ve bu durum bu miRNA'ların tümör baskılayıcı rolleri olduğunu göstermiştir [154].

2.7.1. “miRNome”

Analiz edilen tümörler ile malign durumları karakterize eden ve tümörlerin bazı klinikopatolojik özelliklerini (derece, evre, cinsiyet, yaş, tümör agresifliği, vasküler invazyon, proliferasyon indeksi, vb.) tanımlayan belirli bir miRNA grubu “miRNome” olarak rapor edilmiştir [154]. Tümör dokularından analiz edilen miRNA profilleri, malign dokuların gelişimsel kökenleri için bilgiler sunar ayrıca miRNA ekspresyonundaki farklılıklar transformasyon mekanizmalarını yansıtır. Örnek olarak, epitelyal tümörler, hematopoetik malignitelerden farklı bir miRNA ekspresyonuna sahiptirler; miRNA profilleri ayrıca ALL örneklerini üç ana gruba ayırabilir: biri t(9; 22) BCR / ABL- ve t(12; 21) TEL / AML1-pozitif örneklerini içeren; T hücresi tüm örneklerini içeren ikinci bir grup; ve ALL gen yeniden düzenlemesini içeren üçüncü bir gruptur [155].

2.7.2. Kanser Belirteçleri olarak miRNA'ların özellikleri

miRNA'ların, malign hücrelerde 6 ayırt edici özelliği;

- 1) büyüme sinyallerinde kendi kendine yeterlilik (let-7 ailesi),
- 2) anti-büyüme sinyallerine karşı duyarsızlık (miR-17-92cluster),
- 3) apoptoz (miR-34a),
- 4) Sınırsız replikatif potansiyel (miR-372/373),
- 5) anjiyogenez (miR 210),
- 6) invazyon ve metastazlar (miR-10b) [156].

2.7.3. Dolaşımdaki miRNA'lar

miRNA'ların serum, plazma, tükürük, idrar ve amniyotik sıvı da dahil olmak üzere birçok vücut sıvısında bulunduğu bildirilmiştir [157]. Serumdaki miRNA'lar, hematolojik malignitelerin ve solid tümörlerin varlığı ile ilişkilidir ve konvansiyonel yöntemlerle önceden teşhis edilen kanser türlerinin erken teşhisi için değerli oldukları bildirilmiştir [158]. miRNA'ların lipoprotein kompleksleri eksozom olarak bilinen küçük zarlı vesikül olarak salgılanır. Non-vesiküler miRNA'ların çoğunun, fonksiyonel miRNA-kaynaklı komplekslerden oluşan Ago2 ribonükleoprotein olarak plazmada mevcut olduğu bildirilmiştir [159]. Vesiküler miRNA'lar fraksiyonunun yakın zamanda, prometastatik inflamatuvar sitokinlerin üretimini stimüle etmek ve pro-tümör inflamatuvar süreçlerini indüklemek için Toll-benzeri reseptörler ile etkileştiği bildirilmiştir. Dolaşımdaki miRNA'ların, transkripsiyon sonrası gen regülasyonunda reseptör aktivasyonunu aktive eden sinyal görevi de vardır [160].

2.8. Genetik Anormallikler ve miRNA'lar

Kromozomal yeniden düzenlemeler, genomik amplifikasyonlar, delesyonlar veya mutasyonlar, kodlanan bölgeleri etkiledikleri gibi miRNA genlerini de değiştirirler. 2004'te Calin ve arkadaşları, miRNA'ların yarısından fazlasının, sıklıkla kanserde hotspot bölgelerde bulunduğunu tespit etmişlerdir [161]. Kanserde genetik değişikliğin net bir örneği, KLL hastalığında 13q14.3 delesyon bölgesinde miR-15a / 16-1 yer almasıdır [154]. miR-15a / 16-1 lokusu mutasyonlardan da etkilenir: analiz edilen KLL hastalarının %15'inde, miR-15a / 16-1 ekspresyon profillerinde öncül hücrelerde germline bir mutasyon mevcuttur. Yeni Zelanda'da yürütülen hayvan deneylerinde KLL geliştiren farelerde her iki miRNA'nın mutasyon bölgesinde olduğu gösterilmiştir [162, 163]. Kanserde miRNA ekspresyon seviyelerinden başka bir genom mekanizması, Dicer veya Drosha'dır. Örneğin, over kanseri olan hastaların %39'unda Dicer ve Drosha enzimlerinin seviyelerinde sırasıyla %60 ve %51'lik bir azalma tespit edilmiştir [164]. Dicer geni sıklıkla kanserde tek kopya olarak silinir ve bu nedenle tümör süpressör role sahiptir [165, 166].

2.9. Epigenetik ve miRNA'lar

Epigenetik modifikasyonlar, kanserde miRNA ekspresyonunun değişmesi ile ilgili başka bir mekanizmayı temsil eder [167, 168]. Literatürdeki çalışmalar, tümör süpressör özellik gösteren miRNA'ların metilasyonunda bir artış olduğunu göstermektedir. Ayrıca DNA metilasyonu ve histon asetilasyon inhibitörleri tedavisinden sonra, indüklenen miR-127 aktivasyon durumu söz konusudur. miR-127'nin aktivasyonu, prostat ve mesane tümörlerinin %75'inde epigenetik olarak baskılanır ve proto-onkogen BCL6'nın ekspresyonunu inhibe eder, bu da miR-127'nin bir tümör süpresör olduğunu gösterir [169]. Aynı şekilde, kolon kanserinde miR-124a'nın hipermetilasyonu ve onkogen CDK6 kinazın aşırı ekspresyonuna neden olmaktadır [170]. miRNA'lar epigenetik kontrolden sorumlu olduğu bilinen ana enzimleri hedefleyerek, tüm genomun epigenetik formunu değiştirebilirler [171]. miR-101 gen lokusun delesyonu, klinik olarak prostat kanseri hücrelerinin %37.5'inde ve metastatik prostat hücrelerinin ise %66.7'sinde somatik olarak tanımlanmıştır. Mutasyon veya delesyona bağlı genetik inaktivasyon ile miRNA genlerinin epigenetik değişimleri, kanserdeki mikroRNA düzensizliklerini ve farklılıklarını açıklamaktadır [172].

2.10. miRNA'ların Transkripsiyon Kontrolü

miRNA'ların çoğunluğu, RNA polimeraz II tarafından kopyalanır ve bu süreçte çok sayıda Pol II ile ilişkili faktörler yer alır, bu da hücrelerde miRNA genlerinin transkripsiyonunun regülasyonuna izin verir [137]. miRNA genlerinin kanserle ilgili transkripsiyonal regülasyonunun ilk örneklerinden biri, MYC onkogeni aracılı miR-17-92'nin transkripsiyonel aktivasyonudur [173]. miR-17-92 ve miR-106a / 363 ailesi, meme kanseri hücrelerinde östrojen tedavisinden sonra upregüle olmaktadır [174]. TP53 mutasyonu fonksiyon kaybı, kanserde en sık görülen genetik anormalliklerden biridir: over kanserinde hem sporadik hem de ailesel vakaların %60-80'inde bu genin mutasyonlarına rastlanır [175]. TP53 kaybına bağlı olarak, miR-34a ekspresyonu,

epitelyal over kanserinde %72 oranında azalır. miR-34a genindeki metilasyon over tümör dokularının %27 ve %39'unda meydana gelir [176].

2.11. Kanserde miRNA'ların Fonksiyonu

Kanser patogeneğinde yer alan birçok düzenleyici faktör arasında miRNA'lar önemli bir rol oynar. Birçok miRNA'nın bugüne kadar, kanserlerin çoğunda onkogen veya tümör süpressör miR'ler olarak işlev gördüğü gösterilmiştir. Kanser dokularındaki miRNA'lar normal dokulara göre farklılıklar gösterirler. Bu nedenle, tümör ve miRNA arasındaki fonksiyonel bağlantıların deneysel olarak tanımlanması gerekir. İnsan kanser hücreleri veya hayvan modelleri kullanılarak kanserde miRNA'ların rolünün araştırıldığı kapsamlı analizler yapılmıştır. Örnek olarak miR-155 veya miR-21'in transgenik ifadesi ve miR-15a / 16-1'in delesyonu farelerde invazyon ve metastazı başlatmak için yeterlidir [177-179]. Buna karşılık, let-7, miR-26a, miR-34a ve miR-143/145 miRNA'ların tümör ilerlemesini inhibe ettikleri bulunmuştur [179-181].

2.11.1. Tümör Süpressör Niteliği Taşıyan miRNA'lar

2.11.1.1. miR-15/16 Kümesi

miRNA'lar ve kanser arasındaki bağlantının kurulduğu ilk miRNA'lar; miR-15 ve miR-16 dır [154]. Bunların KLL'deki ekspresyon kaybının, BCL2 ifadesiyle ters orantılı olduğu gösterilmiştir [182]. Prostat kanseri ve multipl miyelomda miR-15a ve miR-16-1 kaybı da gözlenmiştir [183, 184]. Musumeci ve ark. analiz edilen hastaların çoğunda prostat tümörlerini çevreleyen stromal fibroblastlarda miR-15 ve miR-16'nın azaldığı gösterilmiştir [185]. Pouliot ve ark. miR-15/16'nın, sispaltin-dirençli hücrelerde yaygın olarak aşırı eksprese edilen iki kinaz olan Wee1 ve CHK1'in ekspresyonunu kontrol ederek sispaltine dirençli hücreleri stabilize ettikleri gözlemlenmiştir. miR-15a/16-1 genlerinin BCL2'nin ve diğer onkogenlerin doğal antisens interaktörleri olduğunu ve tümörlerde terapötik uygulamada tümör büyümesini baskılamak için kullanılabileceğini göstermişlerdir [186].

2.11.1.2. Let-7 Paralogları

let-7 ailesi tarafından kodlanan miRNA'ların, akciğer, meme, ürotelyal ve servikal kanserlerle ilişkili olduğu saptanmıştır. Bu miRNA'nın fragile bölgelerde bulunması tümör süpressör olduğunu göstermektedir [161]. let-7a'nın promoter aktivitesinin, akciğer kanserinde onkogenik özelliklere sahip bir transkripsiyon faktörü olan CEBP-a tarafından A549 hücrelerinde downregüle edildiği gösterilmiştir [187]. Hu ve Ark. lenf nodu metastazı olmayan meme kanseri hastaları ile lenf nodu metastazı olanları karşılaştırdığında let-7 ailesinin, üç üyesi olan let-7a, let-7b ve let-7g'in ekspresyon düzeylerinin azaldığını göstermiştir [188].

2.11.2. Onkogen Niteliği Taşıyan miRNA'lar

2.11.2.1. miR-155

ncRNA BIC (B-hücre entegrasyon kümesi) tarafından kodlanan miR-155'in, bugüne kadar belirlenen solid ve hematopoetik malignitelerin çoğunluğunda onko-miR olarak işlev gösterdiği bulunmuştur. BIC/miR-155'in yüksek ifadesi Hodgkin Lenfomada Reed-Sternberg hücrelerinde ve varyant nodüler lenfosit baskın Hodgkin Lenfomasının lenfositik ve histiyositik hücrelerinde gözlenmiştir [189, 190]. O'Connell ve Ark. akut miyeloid lösemili hastaların kemik iliğinde artmış miR-155 ekspresyonu olduğunu bulmuşlardır [191]. Granülosit / monosit proliferasyonu ile ilişkili bakteriyel lipopolisakkarit enjeksiyonu sonrası, fare kemik iliğinin aktifleşmesinde miR-155'in indüksiyonunun etkili olduğu gösterilmiştir. miR-155, myeloid hiperplazi ve Bach1, Sla, Cutl1, Csf1r, Jarid2, Cebp β , PU.1, Arntl, Hif1a ve Palm gibi hematopoezlerde rolleri olan genler ile etkileşmektedir. miR-155 geninin, meme kanseri, kolon kanseri, servikal kanser, PDAC, tiroid karsinomu ve akciğer kanseri gibi bazı solid tümörlerde aşırı eksprese olduğu bulunmuştur ve prognozun bir belirteci olduğu düşünülmektedir [192-197].

2.11.2.2. miR-17/92 Kümesi ve Paralogları

miR-17-92, birkaç lenfoma türünde sıklıkla çoğaltılan bir bölge olan insan kromozomu 13q31 üzerindeki C13 or f25 lokusunun intronunun ~ 1 kb'si içinde bulunur [198, 199]. miR-17-92'nin, küçük hücreli akciğer kanseri, kolon kanseri, mide kanseri, nöroblastom, medulloblastom, ve osteosarkomda aşırı eksprese edildiği gösterilmiştir [200, 201]. İnsan mide tümörlerinin bir grubunda miR-106b-25 upregüle edildiği ve bunun, konakçı Mcm7 geni ile paralel olarak, E2F1'i aktive ettiği gösterilmiştir [201].

2.11.2.3. miR-222/221 Kümesi

miR-222/221, kanserleşmede rol oynayan miRNA'lardan biridir. miR-222 / 221'in ekspresyonu, hepatokarsinom, östrojen reseptörü negatif meme kanseri, tiroid kanseri ve melanoma da kanser hücreleri tarafından aşırı düzeyde anlatım yaptığı gösterilmiştir [202-205]. Stinson ve ark. miR-221 ve miR-222'nin ekspresyonunun epitelyal hücrelerde arttığını ve mezenkimal hücrelerde ise azalttığını bildirmişlerdir [206]. Stinson ve Ark. Transkripsiyon faktörü FOSL1'in, bir Zeb2 inhibitörü olan TRPS1'i hedef alarak, meme kanserinin agresif klinik davranışına katkıda bulunan E-kadherin aktivitesini azaltan miR-221 / 222'nin transkripsiyonunu doğrudan uyardığını göstermiştir [206-208]. Stinson ve Ark. MET ve EGF reseptörler tarafından kontrol edilen miR-221 / 222'nin, NSCLC'deki TKI direncinde önemli bir rol oynadığını bildirmişlerdir [208].

2.11.2.4. miR1260a Kümesi

miR-1260a ve miR-1274a, sırasıyla 14q24.3 ve 5p13.1 kromozomlarının ekzon 1 bölgesinde yer alırlar. Bu miR'lerin meme kanseri, malign melanoma, hepatoselüler karsinom, kolorektal karsinom, özofageal skuamöz hücreli karsinom, böbrek karsinomu, over kanseri ve mide kanserinde up-regüle olduğu tespit edilmiştir [209-

216]. Ayrıca, miR-1260a ve-1274a'nın ekspresyon seviyeleri, serum ve FFPE dokularında prostat kanseri ve prostatik hücre dizilerinde bildirilmiştir [217-219]. Meme Kanseri miR-1274a, metastatik meme kanserinde PFS ve OS ile ilişkilidir ve prognostik miR paneli PROMPT olarak isimlendirilmiştir [209]. miR-1274a'nın ekspresyonu, Paklitaksel ve Sorafenib kullanılarak yapılan kemoterapide indüklenmektedir [211]. Sorafenib tedavisine yanıt olarak aşırı ekspresyon, proteaz proteini ADAM9 rolünün baskılanmasına antitümör immünitesini arttırmaktadır. miR-1260a ile ilgili olarak, Benign Prostat Hiperplazisi (BPH) kontrollere kıyasla Prostat Kanseri (PC) hastalarında upregüle olduğunu göstermişlerdir [219]. miR-1260a, Danimarka popülasyonunda FFPE'de PC'nin sınıflandırılmasında diyagnostik marker olarak kabul 13 miR'den biridir [217].

Tablo 2-1: Prostat Kanseri sinyal ileti yollarında miR-1260a'nın valide ve tahmin edilen hedefleri

Veritabanı	Hedef sembolü	Hedef Group	Pubmed_id veya Puanı	Tip	Yolak
miRTarBase	E2F3	ENSG00000112242	20371350	Onaylanmış	Hücre Döngüsü
miRTarBase	TFDP2	ENSG00000114126	19536157	Onaylanmış	Apoptoz PI3K_AKT
Hedef Tarama	YWHAZ	ENSG00000164924	-0.395	Tahmin Edilmiş	Apoptoz Hücre Döngüsü
Hedef Tarama	CDK2	ENSG00000123374	-0.223	Tahmin Edilmiş	PI3K_AKT P53
Hedef Tarama	CCNA2	ENSG00000145386	-0.434	Tahmin Edilmiş	Hücre Döngüsü
Hedef Tarama	ANAPC11	ENSG00000141552	-0.366	Tahmin Edilmiş	Hücre Döngüsü
Hedef Tarama	ORC4	ENSG00000115947	-0.23	Tahmin Edilmiş	Hücre Döngüsü

2.11.2.5. miR1260b Kümesi

miRNA'lar, hücre bölünmesi, hormon salgılanması, kanser gelişimi ve metastazı gibi birçok biyolojik aktiviteye katılabilirler [220]. insanda 1000'den fazla miRNA tanımlanmıştır ve miRNA genlerinin %50'sinden fazlası, tümörle ilişkili kromozomların hotspot bölgelerinde bulunur [221, 222]. Normal dokularla karşılaştırıldığında, tümör dokularındaki miRNA ekspresyonu genellikle upregüle veya downregüle olurlar [223, 224]. Literatürler gözden geçirildiğinde, miR-1260b'nin birçok tümörde anormal şekilde eksprese edildiği belirlendi. miR-1260b'nin insan dendritik hücrelerinde anormal ve yüksek derecede eksprese edildiği gösterildi; bu, dendritik hücrelerin immün reaksiyonda önemli bir rol oynayabileceği gösterildi [225]. Genistein'in, anti-tümör etkisini, prostat kanser hücrelerinde SRRP1 ve Smad4 genlerini hedef alan miR-1260b'nin downregüle olduğu bildirilmiştir [226]. miR-1260b ekspresyon düzeyinin CRC karsinomlarda arttığı ve miR-1260b ekspresyonunun da pozitif lenf nodlarına sahip CRC dokularında upregüle olduğu gösterildi. Yüksek miR-1260b ekspresyonunun lenf nodu metastazı ve venöz invazyon ile ilişkili olduğu gösterilmiştir; bu, miR-1260b'nin CRC'nin erken evre metastazını desteklediği anlamına gelmektedir. miR-1260b'nin yüksek ekspresyonu, CRC'li hastalarda kötü prognoz olduğunu göstermektedir. miR-1260b'nin, CRC nin prognozu için önemli bir moleküler belirteç olabileceği ileri sürülmektedir [227].

2.12. miRNA'lar ve Tedavi

miRNA'ların terapötik uygulaması iki stratejiyi içerir: ilki, anti-miR'ler, nükleik asitler veya antagomiR'ler gibi miRNA antagonistlerini kullanarak onkogenik miRNA'ları inhibe etmeyi amaçlar [228]. miRNA antagonistleri, yaklaşık 21-23 nükleotitlik tek iplikli RNA molekülleri olup, miRNA'larla tamamlayıcı baz eşleştirmesi yoluyla etki ederler. Hastalıkla ilişkili miRNA'ların etkili farmakolojik inhibisyonu sağlaması için miRNA antagonistleri, bağlanma afinitesini arttırmak, nükleaz direnç geliştirmek ve hücre tarafından alınmasını kolaylaştırmak için kimyasal modifikasyonların yapılması gereklidir. Nükleaz direncini arttırmak için, çoğu antimiR, plazma proteini bağlanmasını destekleyen fosforotiyoat ([phosphorotihoate-PS(Fosfodiester bağında oksijen atomu sülfür atomu ile değiştirilerek elde edilen moleküllerdir)] omurga bağlantılarını barındırır, böylece antimiR'lerin in vivo doku dağıtımını kolaylaştıran glomerüler filtrasyon ve idrar atılımı yoluyla temizliğini azaltır. "AntigomiRs" olarak adlandırılan 2'Ometil (2'OMe) bağlantısıyla konjüge edilmiş kolesterol içeren antimiR'ler, olgun miRNA dizisine tamamen tamamlayıcıdır ve stabiliteyi arttırmak için birkaç fosforotiyoat grubu içerir [229]. LNA modifiye, anti-miR122'nin insan olmayan primatlarda etkili olduğu gösterilmiştir. Karaciğer hücrelerinde hepatit C virüsü, RNA akümüülasyon için karaciğer ekspresyonu yapılanlarda mikroRNA-122 esansiyeldir [230]. İkinci strateji, miRNA replasmanı, bir fonksiyon kaybı geri yüklemek için bir tümör süpresör miRNA taklitinin yeniden sokulmasını içerir [231]. miRNA taklitleri, anti-miR'lere kıyasla ek bir karmaşıklık düzeyini temsil eder. İlk olarak, Grimm ve Ark. tarafından açıklanan RISC satürasyon etkileri vardır [232]. Yeni mikroRNA'lar bir hücreye sokulduğunda istenmeyen etkileri

ortaya çıkarma potansiyeli vardır. Bu varsayımlar anlaşılabilir olsa da, miRNA taklitleri tarafından indüklenen toksisiteyi in vivo gösteren belirteçler hala bulunmamaktadır [179, 233].



3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmanın etik kurul onayı İstanbul Tıp fakültesi etik kurulu tarafından 28.05.2018 tarih ve 01 sayılı Etik Kurul kararı ile alınmıştır. Çalışmada, 2012 yılında İstanbul Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü Genetik Polikliniği'ne genetik test için başvuran ve rutin testten sonra arta kalan materyalinde araştırma yapılmasını kabul eden over kanser hastaları ve bu hasta grubu ile yaş cinsiyet, etnik köken olarak eşleştirilmiş ve ailesinde 3 kuşakta kanser hikayesi olmadığı teyit edilen kişilerden alınan periferik kan örnekleri kullanılmıştır. Periferik kan örneklerinden ayrıştırılan lenfositlerden RNA izolasyonu işlemi yapıldı. Çalışmaya dahil edilen her olgudan kan alma işlemi bilgilendirilmiş ve gönüllü onam formu imzalatıldıktan yapıldı. Deneyisel çalışmaların tümü İ.Ü. Onkoloji Enstitüsü, Temel Onkoloji ABD, Kanser Genetiği Bilim Dalı Laboratuvarında gerçekleştirildi.

3.1. Kullanılan Cihazlar

Kullanılan cihazlar Tablo 3-1'de belirtilmiştir.

Tablo 3-1: Kullanılan Cihazlar

-80 Derin Dondurucu [SANYO]
Azot Tankları [MVY]
Yüksek Hızlı Soğutmalı Santrifüj [HERAEUS]
Soğutmalı Eppendorf Santrifüj [HERAEUS]
Santrifüjler Soğutmasız [HETTICH, JOUAN]
Mikropipetler [GILSON]
Yatay Gel Elektrophorez Tankları ve Jel Dökme Sistemleri [BRL]
Vorteks [FINEPZR]
Distile Su Cihazı [MILLIPORE]
Spektrofotometre NanoDrop 2000 [THERMO SCIENTIFIC]

Etüvler (37°C ve 56°C) [NÜVE]
Manyetik Karıştırıcı [NÜVE]
MIC qPCR Cycler [Bio Molecular Systems]
Gel Dökümantasyon Sistemi [BRL]

3.2. Kullanılan Kitler, Malzemeler ve Kimyasal Maddeler

Tez çalışması sırasında kullanılan kitler, kimyasal maddeler ve malzemeler Tablo 3-2'de belirtilmiştir.

Tablo 3-2: Kullanılan Kitler, Kimyasal Maddeler ve Malzemeler

Agaroz (Wisent MultiCell, Kanada)	
Borik asit (Wisent MultiCell, Kanada)	
Ethanol (Riedel De Haen, Almanya)	
Etidyum Bromür (Sigma, Almanya)	
Biocoll Separating Solution (Ficoll) [BIOCHROM]	
Bromfenol Mavisi (BFB) [SIGMA]	
Etilen-diamin-tetraasetikasit (EDTA)	
Lysis Buffer ve Buffer R.	
Quick-RNA Miniprep Kit	
RNA Lysis Buffer	
PBS	
RNA Prep Buffer	
RNA Wash Buffer	

DNase/RNase-Free Water	
Collection Tubes	

3.3. Kullanılan Tampon ve Çözeltiler

Tez çalışması sırasında kullanılan tampon ve çözeltilere ilişkin bilgiler Tablo 3-3'de bildirilmiştir.

Tablo 3-3: Kullanılan Tampon ve Çözeltiler

✓ 10X BFB Yükleme Tamponu (2mL)
%1 SDS
5mg Bromfenol Mavisi
2mL Gliserol
✓ 10X PBS Tampon Çözeltisi (1L)
80 g NaCl
2 g KCl
11,5 g Na ₂ HPO ₄
2 g KH ₂ PO ₄
✓ 10X TEB (Tris-EDTA-Borik Asit) Tampon Çözeltisi (1L)
0.88 M Borik Asit
5 M Tris
0.02 M EDTA (pH: 8.00)
✓ %1,5'lik Agaroza Hazırlanması
1,5 g Agaroza
100mL 0.5X TEB
5µL Etidyum Bromür (10mg/mL)
✓ 1X Lysis Buffer (100mL)
10 mL 10X Lysis Buffer (ABM)

90 mL distile su
✓ Buffer R.(100mL)
49 mL PBS
2 mL FBS
50 µL EDTA
✓ Bilgisayar Programları
IBM Support SPSS 21.0

3.4. YÖNTEMLER

3.4.1. Periferik Kandan Lenfosit İzolasyonu

- EDTA'lı tüpe alınmış 6 mL kan 1/1 oranında %0.9'luk NaCl ile sulandırıldı.
- Dilüe edilmiş kan örneği 2 mL Ficoll üzerine yavaş yavaş pipet yardımıyla eklendi. 2000 RPM'de 30 dk. süreyle santrifuj edildi.
- Üst fazında serum, alt fazında eritrosit ve diğer beyaz kan hücreleri bulunan tüpten lenfositler pastör pipet yardımıyla temiz bir tüpte toplandı.
- 2000 RPM'de tekrar 10 dk. santrifuj edildi.
- Süpernatant dökülerek pellet üzerine 4 mL PBS eklendi ve pipetlenerek pellet çözüldü. Çözülmüş pellet 4 krio tüpe 1'er mL olacak şekilde dağıtıldı.
- Krio tüpler 2000 RPM'de 5 dk. santrifuj edildi.
- Süpernatant döküldü. Pellet halindeki hücreler -80°C'de 1 gün süreyle inkübe edildi.
- Daha sonra Kriyo tüplerdeki hücreler uzun süreli saklanmak üzere azot tankına aktarıldı.

3.4.2. Quick-RNA™ MiniPrep Protokolü:

RNA izolasyonu işlemi Quick-RNA™ MiniPrep kiti kullanılarak kit protokolüne uygun bir şekilde yapıldı. Kit içerisindeki RNA Lysis Buffer solüsyonu ile hücre pelleti çözüldü. Toplama tüpünün içerisindeki sarı renkli spin-away filtre üzerine Lysis buffer ile çözülmüş hücreler

yüklendi. Daha sonra 12,000 g'de 1 dk santrifüj edildi. Sarı filtre DNA izolasyonu için saklandı. Santrifüj işleminden sonra biriktirme tüpü içerisinde kalan kısım toplandı ve bu kısım ile RNA izolasyon işlemine devam edildi. Biriktirme tüpü içerisine absolute etanol eklendi ve oluşan karışım yeşil renkli Zymo-Spin(tm) IIICG Column1 filtrenin üzerine aktarıldı ve 12,000 g'de 1 dk santrifüj edildi. Santrifüj işlemini takiben biriktirme tüpün içerisindeki supernatant atıldı ve yeşil renkli filtre yeni biriktirme tüpüne alındı. Santrifüj sonrası biriktirme tüpü içerisinde toplanan atık uzaklaştırıldı. Filtre üzerine 400 µL RNA Wash Buffer eklenerek iki dakika santrifüj edildi. 0.5 mL'lik tüpün içerisine 5 µL DNaseI ve 75 µL Digestion Buffer karıştırıldı. Bu karışımın tamamı yeşil filtrenin üzerine eklendi. 15 dk oda sıcaklığında bekletildi. Daha sonra filtrenin üzerine 400 µL RNA prep Buffer eklendi. Sonra tekrar 12,000 g'de 1 dk santrifüj edildi. Santrifüjden sonra biriktirme tüpündeki supernatant atıldı. Filtrenin üzerine 700 µL wash Buffer eklendi. 12,000 g'de 1 dk santrifüj edildi. Supernatant atıldı. Filtrenin üzerine 400 µL wash Buffer eklendi. 12,000 g'de 2 dk santrifüj edildi. Santrifüjden sonra yeşil filtre 1,5 mL ependorf tüpe aktarıldı. Filtrenin üzerine 100 µL DNase/RNase free water eklendi. 1-2 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Sonra 12,000 g'de 1 dk santrifüj edilerek RNA ekstraksiyon işlemi tamamlandı. İzole edilmiş RNA daha sonra kullanılmak üzere aliquot edilerek -80°C'de saklandı. Tüm deneysel basamakların akış diyagramı ayrıntıları ile aşağıda verilmiştir.

3.4.3. miRNA İzolasyonu

- Ayırıştırılan lenfositlerden miRNA izolasyon işlemi miRNA'ya özel olan miRNeasy Mini Kit (QIAGEN) kullanılarak ve firmanın verdiği protokole göre gerçekleştirildi. Buna göre işlemler aşağıdaki sıra ile yapıldı;
- Azot tankında saklanan hücreler buz içine çıkarıldı ve erimeleri beklenmeden üzerlerine 700 µL QIAzol solüsyonu eklendi.
- Vorteks yardımıyla karıştırılarak hücrelerin parçalanmaları sağlandı.
- Nükleoproteinlerin tamamen parçalanması için 5 dakika oda sıcaklığında bekletildi.
- Üzerlerine 140 µL kloroform eklenerek 15 saniye boyunca elde çalkalanarak karıştırıldı.
- 2-3 dakika oda sıcaklığında inkübe edilen tüpler +40°C'de 12.000g'de, 15 dakika santrifüj edildi.
- Santrifüj sonunda oluşan üst faz pipet yardımıyla alınarak toplama tüpüne aktarıldı. Üzerine 525 µL %100 Etanol eklenerek vorteks yardımıyla karıştırıldı.
- Elde edilen karışımdan 700 µL alınarak, 2 mL'lik toplama tüpüne yerleştirilmiş RNeasy MinElute spin kolona aktarıldı.
- Tüpler oda sıcaklığında 8000g'de 15 saniye boyunca santrifüj edildi.
- Spin kolonlara 700 µL RWT tamponu eklenerek, 8000g'de 15 saniye santrifüj edilmek suretiyle kolonlar yıkandı.

- Kolonlara iki kez üst üste 500 µL RPE tamponu eklenerek santrifüj işlemi tekrarlandı.
- 2 mL'lik temiz tüplere yerleştirilen kolonlar maksimum hızda 1 dakika santrifüj edilmek suretiyle kurutuldu.
- 1.5 mL'lik steril tüplere yerleştirilen kolonlar, 50 µL saf su eklenerek 8000g'de 1 dakika santrifüj edilerek miRNA'larca zengin 200 nt'ten kısa RNA'lar toplandı.
- miRNA'larca zengin 200 nt'ten kısa RNA'lar cDNA sentezine kadar -80°C'de saklandı.

3.4.4. miRNA'ların Safılık ve Konstrasyon Analizleri

Öncelikle miRNeasy Mini Kit (QIAGEN) kullanılarak izole edilen miRNA'larca zengin 200 nt'ten kısa RNA'ların varlığı ve kalitesi %1,5 agaroz jelde 150V 'da elektroforez edilerek incelendi. Ardından safılık ve konstrasyon analizi için miRNA'ların 1µL'si nanodrop da ölçüldü. Nanodrop ölçüm sonucuna göre her bir hasta ve kontrol grubuna ait miRNA'ların konstrasyonları 200 ng/µL olacak şekilde sulandırıldı. Böylece miRNA'lar cDNA sentez reaksiyonu için hazır hale getirildi.

3.4.5. ID3EAL miRNA qPCR Starter Kit Protokolü:

Bu protokol, cDNA sentez reaksiyonu total RNA kullanımı için optimize edilmiştir.

3.4.5.1. cDNA Sentezi

- RNA çözüldü.
- Tüp içerisine 5 µL ID3EAL RT buffer ekliyoruz.
- Kalıp RNA eklendi. (1 µL a kadar)
- 1 µL ID3EAL RT primer eklendi.
- Bu tüpü distile su ile 20 µL ye tamamlandı.
- Tüp vortekslendi ve ardından santrifüjlendi.
- 42°C de 30 dk ve 95°C de 5 dk PCR yapıldı ve cDNA elde edildi.

3.4.5.2. RT qPCR Reaksiyon

- Her bileşen çözülüp ve vortekslendi.
- cDNA 1:10 oranında distile su ile dilüe edildi.
- Reaksiyon toplam 20 µL hacimde gerçekleştirildi.

1. 200 µL ID3EAL qPCR master mix

2. 60 µL nukleaz Su
3. 40 µL ID3EAL qPCR essays
4. 5 µL sulandırılmış cDNA

- Hazırlanan 20 µL'lik reaksiyon tüpü MIC qPCR cihazına yüklendi.

3.4.6. MIC qPCR Cycler:

Çalışmamızda araştırmak üzere belirlediğimiz miR-1260a ve miR-1260b miRNA ekspresyonları MIC qPCR Cycler cihazında belirlendi. Bu cihaz, dünyanın ilk Manyetik İndüksiyon Teknolojisini kullanan cihazı olarak bilinmektedir. MIC qPCR Cycler cihazında örneklerin ısıtılma ve soğutulma işlemleri fan ile güçlendirilmiş patentli bir tür manyetik indüksiyon teknolojisi kullanılarak gerçekleştirilmektedir. Bu teknoloji sayesinde 35 döngülük bir qPCR reaksiyonunun 25 dakikadan daha az zamanda tamamlanması ve hızlı bir şekilde sonuca ulaşılması sağlanmaktadır. MIC qPCR cycler cihazının, 2 veya 4 kanallı modelleri mevcuttur. Her bir kanal bağımsız hassas LED, fotodetektör ve filtre seti kullanarak birlikte unparalelize bir deteksiyon gerçekleştirirler. Cihazda sabit bir optik yol olduğu ve hareketli parça bulunmadığından optik hizalama veya kalibrasyona ihtiyaç duyulmamaktadır. Daha da önemlisi, herhangi bir referans boya veya crosstalk sebebi ile normalizasyon için ekstra bir boyanın kullanılmasına da gerek kalmamaktadır. Çalışmamızda gelişmiş bir teknolojiyi kullanan bu cihaz ile artan ve azalan miRNA ekspresyon profilleri belirlenmiştir.

3.4.7. Verilerin Değerlendirilmesinde Kullanılan İstatistiksel Yöntemler

Hastalara ait klinik parametrelerle elde edilen miRNA-1260 ekspresyon düzeyleri ve sağlıklı kontrollerde elde edilen miRNA-1260 ekspresyon düzeyleri arasındaki ilişkilerin istatistiksel anlamlılığı SPSS.21 istatistik programı yardımı ile χ^2 testleri (Yates, Fisher's exact) kullanılarak değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

Over kanser tanısı almış 150 hasta ve 100 sağlıklıya ait örnekler kullanıldı. Yapılan kalite analizleri sonucunda 127 hasta ve 98 sağlıklı ile çalışmaya devam edildi. Over kanserli hasta grubunun yaş ortalaması 50 ± 10 (25-84), kontrol grubunun yaş ortalaması 48 ± 11 (23-84) olarak saptandı.

4.1. Biyolojik Materyallerin Kalite Kontrol Ölçümleri

Çalışmada Nanodrop 2000 cihazı ile yapılan bazı örneklere ait ölçüm değerleri Tablo 4-1'de görülmektedir.

Tablo 4-1: Biyolojik materyalin kalite kontrol ölçümleri

Numuneler*	A260/A280 Absorbans oranı	A260/A230 Absorbans Oranı	RNA Konsantrasyonu (ng/ μ L)
1	2,13	2,15	186,3
23	2,06	1,04	123,4
31	2,14	2,23	119,4
45	2,16	0,93	127,3
57	2,17	2,02	116,9
66	2,03	2,22	117,1
74	2,16	2,15	123,4
87	2,16	2,00	105,8

*Sadece birkaç numunenin RNA konsantrasyon değerleri belli hastalar için örnek olarak verilmiştir.

4.2. miR1260 Ailesinin Ekspresyon Analiz Sonuçları

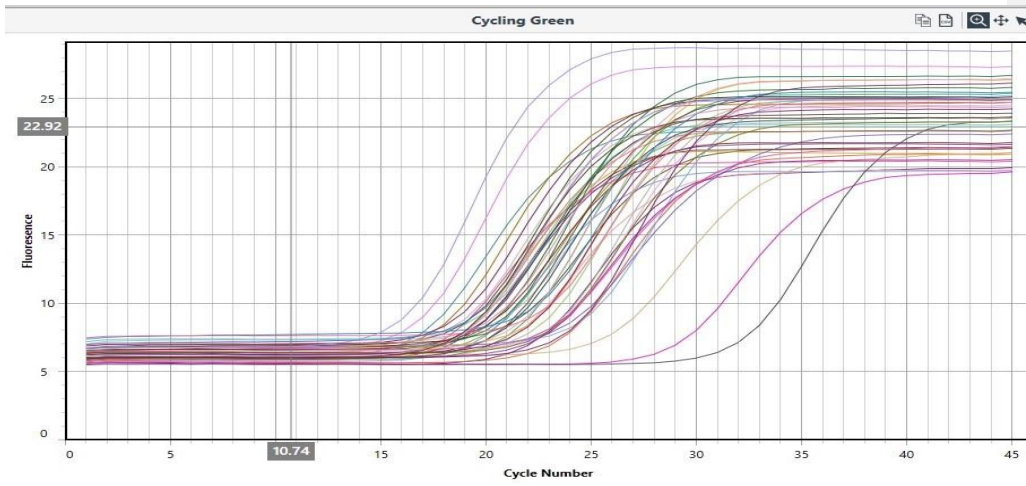
Mic qPCR ile elde edilen sonuçların hedef gen ve referans (5sRNA) genlerinin CT değerlerinin analizi yapılarak Δ CT ve $\Delta\Delta$ CT değerleri tüm örnekler için hesaplandı.

$$\Delta CT = CT (\text{Hedef Gen}) - CT (\text{Referans Gen}).$$

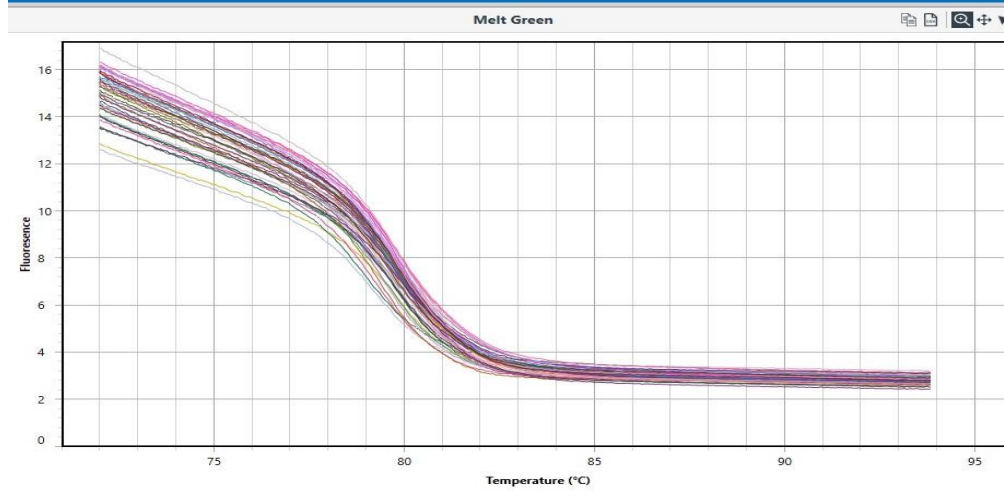
$$\Delta\Delta CT = \Delta CT (\text{Hedef Gen}) - \sum \Delta CT (\text{Referans Gen}).$$

Bu değerler hesaplandıktan sonra $2^{-\Delta\Delta CT}$ değeri de hesaplandı. $\Delta\Delta CT$ değeri 0 olduğundan ve $2^0 = 1$ eğleniğinden dolayı referans değeri 1 olarak alındı.

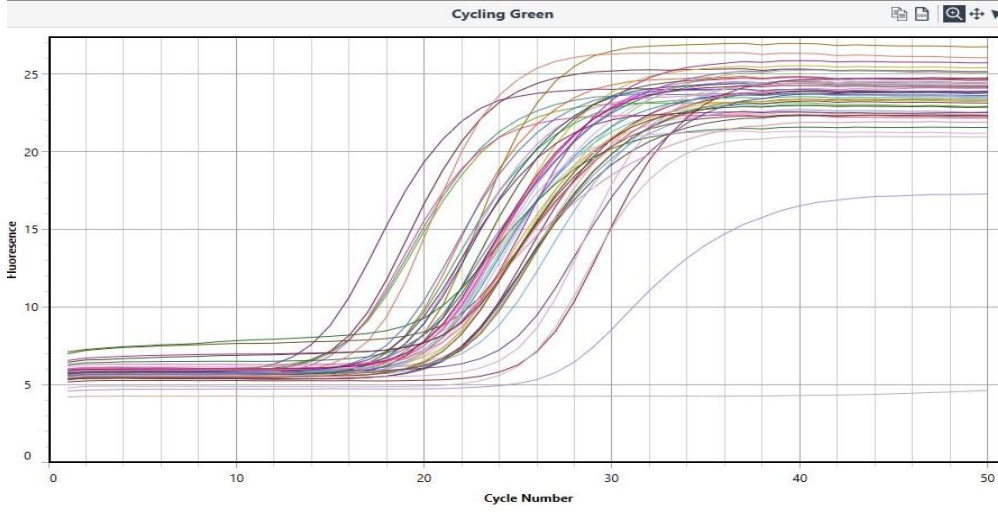
Mic qPCR ile elde edilen miR-1260a ve miR-1260b ekspresyon erime eğrileri Şekil 4-1, Şekil 4-2, Şekil 4-3 ve Şekil 4-4’de görölmektedir.



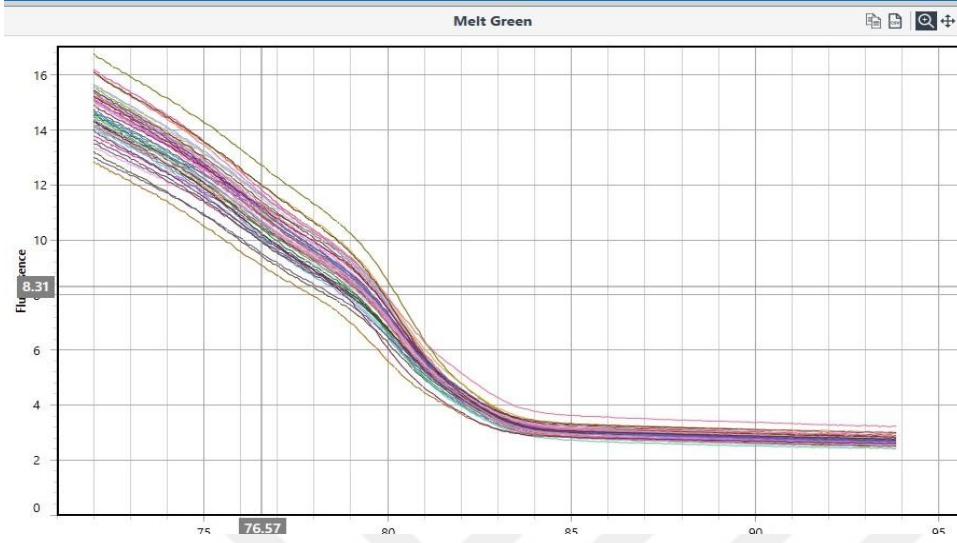
Şekil 4-1: Mic qPCR İle Elde Edilen, Hasta Ve Kontrol Grubundaki Örneklere Ait miR-1260a Ekspresyon Eğrileri



Şekil 4-2: Mic qPCR ile elde edilen, Hasta Ve Kontrol Grubundaki Örneklerle Ait miR-1260a Erime Eğrileri

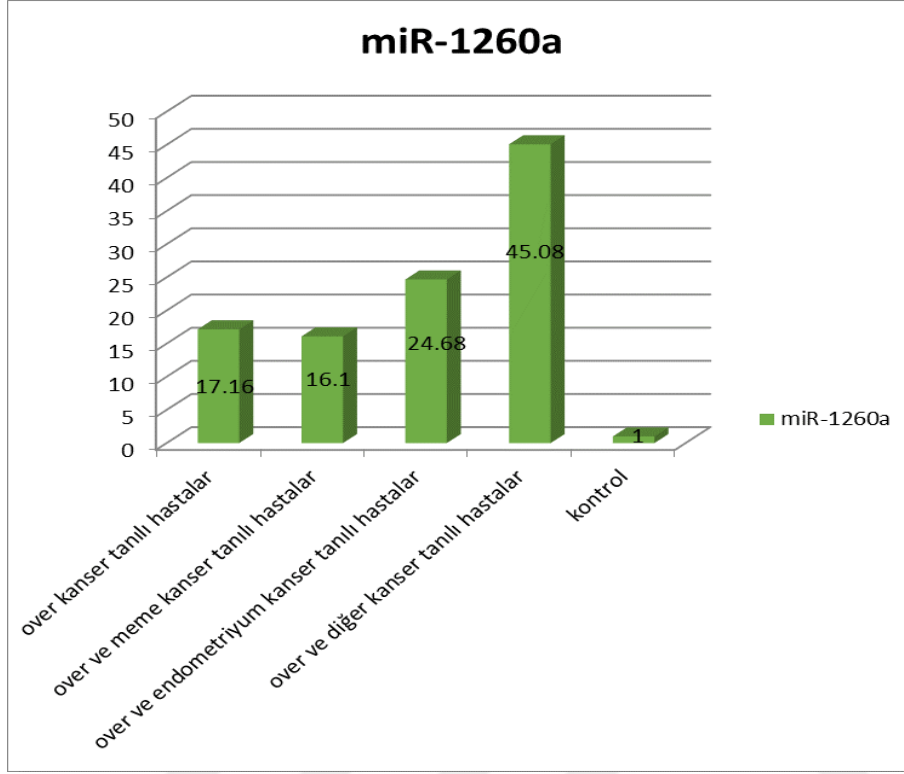


Şekil 4-3: Mic qPCR ile elde edilen, Hasta Ve Kontrol Grubundaki Örneklerle Ait miR-1260b Ekspresyon Eğrileri



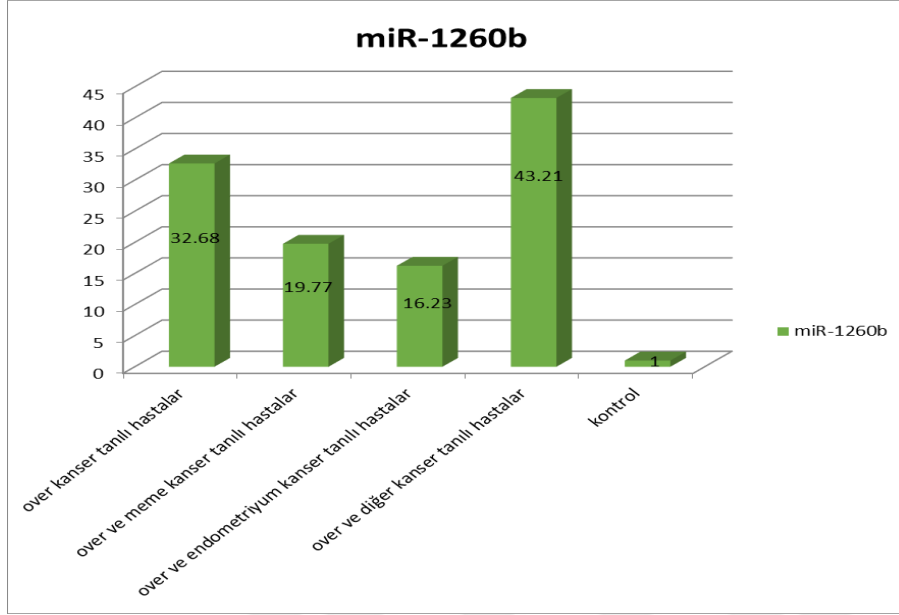
Şekil 4-4: Mic qPCR ile elde edilen, Hasta Ve Kontrol Grubundaki Örneklerle Ait miR-1260b Erime Eğrileri

Tüm over kanserli hastalara ait ekspresyon sonuçları birlikte değerlendirildiğinde; yalnızca over kanser tanısı almış hastalarda sağlıklı kontrol grubuna göre miR-1260a ekspresyonunun 17.16 kat artmış olduğu saptanmıştır. Over hasta grubu içinde bazı hastaların birden fazla primer kanser tanısı bulunmaktaydı. Hem over hem de meme kanser tanısı almış iki primeri olan hastalar ile sağlıklı kontrol grubunda saptanan miR-1260a ekspresyon düzeyleri karşılaştırıldığında hasta grubunda 16.1 kat artış olduğu gözlenmiştir. Hem over hem de endometriyum kanseri olmak üzere 2 farklı primer kanser tanısı almış hastalarda kontrol grubuna göre miR-1260a ekspresyonunun 24.68 kat arttığı belirlenmiştir. Over kanserine ilave olarak endometriyum ve meme dışında herhangi bir ilave kanseri sekonder olarak bulunduran hastalarda ise miR-1260a ekspresyonunun kontrol grubuna göre 40.08 kat arttığı görülmüştür (Şekil 4-5).



Şekil 4-5: miR-1260a Ekspresyonunun Total Hasta Ve Alt Gruplarında Sağlıklı Kontrollere Göre Oransal Farklılıklarının Grafiksel Gösterilişi

Tüm over kanserli hastalara ait miR-1260b ekspresyon sonuçları birlikte değerlendirildiğinde ise yalnızca over kanser tanısı almış hastalarda kontrol grubuna göre miR-1260b ekspresyonunun 32.68 kat arttığı saptanmıştır. Hem meme hem de over kanseri olmak üzere 2 farklı primeri olan hastalar ile kontrol grubunda saptanan miR-1260b ekspresyon düzeyleri karşılaştırıldığında ekspresyon düzeyinin hasta grubunda kontrol grubuna göre 19.77 kat arttığı gözlenmiştir. Hem over hem de endometriyum kanser tanısı almış iki primer tünörlü hastaların miR-1260b ekspresyon düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırmalı olarak incelendiğinde hasta grubunda miR-1260b ekspresyon düzeyinin 16.23 kat arttığı gösterilmiştir. Over kanserine ilave olarak endometriyum ve meme dışında herhangi bir ilave kanseri sekonder olarak bulunduran hastalarda ise kontrol grubuna göre miR-1260b ekspresyonunun 43.21 kat arttığı görülmüştür (Şekil 4-6).



Şekil 4-6: miR-1260b Ekspresyonunun Total Hasta Ve Alt Gruplarında Sağlıklı Kontrollere Göre Oransal Farklılıklarının Grafiksel Gösterilişi

miR-1260a ve miR-1260b ekspresyon durumları çalışmaya dahil edilen tüm over kanserli hasta grupları açısından değerlendirildiğinde; hastaların %34,7(44/127)'sinde miR-1260a'nın ekspresyonu azalmışken, %65,3(83/127)'ünde artmıştır. miR-1260b'nin ekspresyonu toplam 127 hastanın %26,8(34/127)'inde azalmışken, %73,2(93/127)'sinde artmıştır (Tablo 4-2).

miR-1260a ve miR-1260b ekspresyon durumlarının over kanseri ve over kanser alt gruplarındaki dağılımı değerlendirildiğinde; toplam 127 over kanser tanılı hastadan sadece over kanser tanısı almış ve başka bir primer tümörü bulunmayan hasta sayısı 103'tü. Bu hastaların %64,1 (66/103)'inde miR-1260a ekspresyonu artmışken, %35,9 (37/103)'unda azalmıştır. Hem over hem de meme kanser tanısı almış grupta miR-1260a ekspresyon düzeyinin hastaların %62,5 (10/16)'inde arttığı görülürken, %37,5 (6/16)'inde azaldığı saptanmıştır. Hem over hem de endometriyum kanseri olmak üzere iki farklı primer kanser tanısı olan hastalarda miR-1260a ekspresyonu hastaların %50 (1/2)'inde artarken, diğer %50 (1/2)'sinde azaldığı görülmüştür. Over kanseri ile birlikte meme ve endometriyum hariç ikinci bir primer taşıyan hastaların hepsinde yani %100 (6/6)'de miR-1260a ekspresyonunun arttığı tespit edilmiştir (Tablo 4-2).

miR-1260b ekspresyonu açısından ise toplam 127 over kanser tanılı hastadan sadece over kanser tanısı almış ve başka bir primer tümörü bulunmayan 103 hastanın %71,8(74/103)'inde miR-1260b ekspresyonu artmışken, %28,2 (29/103)'sinde azalmıştır. Hem over hem de meme kanser tanılı hasta grubunda hastaların %75

(12/16)'inde miR-1260b ekspresyon düzeyinin arttığı gözlenirken %25 (4/16)'inde azaldığı saptanmıştır. Hem over hem de endometriyum kanser tanılı hastalarda ise miR-1260b ekspresyonunun hastaların yarısında artarken diğer yarısında azaldığı görülmüştür. Over kanseri ile birlikte meme ve endometriyum hariç ikinci bir primer taşıyan hastaların hepsinde miR-1260b ekspresyonunun arttığı saptanmıştır (Tablo 4-2).

Tablo 4-2: miR-1260a ve miR-1260b ekspresyon durumlarının over kanseri ve over kanser alt gruplarındaki dağılımı

Tanı	miR-1260a Ekspresyonu		miR-1260b Ekspresyonu		Toplam
	Artmış n(%)	Azalmış n(%)	Artmış n(%)	Azalmış n(%)	Toplam n (%)
Sadece Over Kanser tanılı hastalar	66 (%64,1)	37 (%35,9)	74 (%71,8)	29 (%28,2)	103 (%81,1)
Over ve Meme kanser tanılı hastalar	10 (%62,5)	6 (%37,5)	12 (%75,0)	4 (%25,0)	16 (%12,6)
Over ve Endometriyum Kanser tanılı hastalar	1 (%50,0)	1 (%50,0)	1 (%50,0)	1 (%50,0)	2 (%1,6)
Over ve Diğer Kanser tanılı hastalar	6 (%100,0)	0 (%00,0)	6 (%100,0)	0 (%0,0)	6 (%4,7)
Toplam n (%)	83 (%65,3)	44 (%34,7)	93 (%73,2)	34 (%26,8)	127

4.3. miR-1260a ve miR-1260b Ekspresyon Düzeylerinin Klinik Özellikleri ile İlişkilerinin Değerlendirilmesi

Over kanserli hastalarda miR-1260a ve miR-1260b ekspresyon düzeylerinin klinik evrelere göre dağılımı incelendi. miR-1260a'nın Evre I ve II hastaların %30,5(11/36)'inde ekspresyon düzeyi azalmışken, %69,5(25/36)'inde ekspresyon seviyesi artmıştır. Evre III ve IV hastaların %36,3(33/91)'ünde ekspresyon seviyesi azalmış iken, %63,7(58/91)'sinde artış gözlenmiştir. miR-1260b ekspresyon seviyesinin klinik evrelere göre dağılımı incelendiğinde ise; Evre I ve II olan hastaların %25(9/36)'inde ekspresyon azalırken, %75(27/36)'inde ekspresyon seviyesinin artmış olduğu, Evre III ve IV hastaların %27,5(25/91)'inde ekspresyon seviyesi azalırken, %72,5(66/91)'inde artış saptanmıştır (Tablo 4-3).

Over kanser hastaları patolojik evrelerine göre ekspresyon düzeyi açısından değerlendirildiğinde; Evre I hastaların %50(11/22)'sinde miR-1260a'nın ekspresyonu

azalmışken, %50(11/22)'sinde artmıştır. Evre II hastaların %26,3(5/19)'ünde miR-1260a'nın ekspresyon seviyesi azalmışken, %73,7(14/19)'inde artmıştır. Evre III hastaların %32,5(28/86)'inde miR-1260a'nın ekspresyon seviyesi azalmışken, %67,5(58/86)'inde artmıştır. miR-1260b ekspresyonu Evre I hastaların %27,3(6/22)'ünde azalmışken, %72,7 (16/22)'sinde artmıştır. Evre II hastaların %26,3(5/19)'ünde miR-1260b ekspresyon seviyesi azalmışken, %73,7(14/19)'sinde artmıştır. Evre III hastaların ise %26,7(23/86)'sinde miR-1260b ekspresyon seviyesi azalmışken, %73,3(63/86)'ünde artmıştır (Tablo 4-3).

Over kanser hastaları histolojik gradlarına göre değerlendirildiğinde; miR-1260a ekspresyon düzeyi Grad I hastaların %52(13/25)'sinde artmışken, %48(12/25)'inde azalmış, Grad II hastalarda, %45,8 (11/24)'inde miR-1260a ekspresyon artmışken %54,2(13/24)'sinde miR-1260a ekspresyon seviyesi azalmış ve Grad III hastaların, %25,6(20/78)'sında miR-1260a ekspresyonu artmışken, %74,4(58/78)'ünde azalmıştır. miR-1260b ekspresyonu Grad I hastaların, %36(9/25)'sında artmışken, %64(16/25)'ünde ekspresyon azalmıştır. Grad II hastaların %29,1(7/24)'inde miR-1260b ekspresyonu artmışken %70,9 (17/24)'unda miR-1260b ekspresyon seviyesi azalmıştır. Grad III hastaların ise, %23(18/78)'sinde miR-1260b ekspresyonu artmışken, %77(60/78)'sinde azalmıştır (Tablo 4-3).

Over kanser hastaları tümör boyutuna göre değerlendirildiğinde; miR-1260a ekspresyonu tümör çapı 2 cm'den küçük olan hastaların %64,3(18/28)'ünde artarken, %35,7 (10/28)'sinde azalmıştır. Tümör çapı 2 cm'den büyük olan hastaların %65,7(65/99)'sinde miR-1260a ekspresyon seviyesi artarken %34,3(34/99)'ünde azalmıştır. miR-1260b ekspresyonu ise tümör çapı 2 cm'den küçük olan hastaların %71,4(20/28)'ünde artarken, %28,6(8/28)'sında azalmıştır. Tümör çapı 2 cm'den büyük olan hastaların %73,7(73/99)'sinde ekspresyon seviyesi artarken %26,3(26/99)'ünde azalmıştır (Tablo 4-3).

Over kanser hastaları aldıkları tedavi durumlarına göre değerlendirildiğinde, cerrahi uygulanmış hastaların %63,9(78/122)'unda miR-1260a ekspresyon seviyesi artmışken, %36,1(44/122)'inde miR-1260a ekspresyonu azalmıştır. Cerrahi uygulanmamış hastaların ise %100 (5/5)'ünde miR-1260a ekspresyon seviyesi artmış olup, hiçbir hastada ekspresyon seviyesinde azalma görülmemiştir. Cerrahi uygulanmış hastaların %71,3(87/122)'ünde miR-1260b ekspresyon seviyesi artmışken, %28,7(34/122)'sinde miR-1260b ekspresyonu azalmıştır. Cerrahi uygulanmamış hastaların ise %100(5/5)'ünde miR-1260b ekspresyon seviyesi artmış olup, hiçbir hastada ekspresyon seviyesi azalmamıştır.

Kemoterapi uygulanmış hastaların %66,1(78/118)'inde miR-1260a ekspresyon seviyesi artmışken, %33,9 (40/118)'unda miR-1260a ekspresyonu azalmıştır. Kemoterapi uygulanmamış hastaların %50(5/10)'sinde miR-1260a ekspresyon seviyesi artmış olup, %50(5/10)'sinde ekspresyon seviyesi azalmıştır. Kemoterapi uygulanmış hastaların %72,8(86/118)'inde miR-1260b ekspresyon seviyesi artmışken, %27,2(30/118)'sinde azalmıştır. Kemoterapi uygulanmamış hastaların ise %60(6/10)'ında miR-1260b ekspresyon seviyesi artmış olup, %40(4/10)'ında azalmıştır.

Radyoterapi uygulanmış hastaların %66,6(10/15)'sında miR-1260a ekspresyon seviyesi artmışken, %33,4(5/15)'ünde azalmıştır. Radyoterapi uygulanmamış hastaların ise %65,1(73/112)'inde miR-1260a ekspresyon seviyesi artmış olup, %34,9(39/112)'unda azalmıştır. Radyoterapi uygulanmış hastaların %66,6(10/15)'sında miR-1260b ekspresyon seviyesi artmışken, %33,4(5/15)'ünde azalmış ve radyoterapi uygulanmamış hastaların ise %73,2(82/112)'sinde miR-1260b ekspresyon seviyesi artmış olup, %26,8(29/112)'inde azalmıştır (Tablo 4-3).

4.4. miR-1260a ve miR-1260b Ekspresyon Düzeylerinin Hastaların Aile Hikayesi ile Değerlendirilmesi

Over kanser hastaları aile hikayesine göre değerlendirildiğinde; miR-1260a ekspresyonu, ailesinde 2'den az over veya meme kanseri olan hastaların %37,4(31/83)'ünde azalmışken, %62,6(52/83)'sında artmıştır. Ailesinde 2 veya 2'den çok over veya meme kanseri olan hastaların %29,6(13/44)'sında miR-1260a ekspresyon seviyesi azalmış ve %70,4(31/44)'ünde ekspresyon seviyesi artmıştır. miR-1260b için bakıldığında ailesinde 2'den az over veya meme kanseri olan %29(24/83)'unda miR-1260b ekspresyon seviyesi azalmışken, %71(59/83)'inde artmış ve ailesinde 2 veya 2'den çok over veya meme kanseri olan hastaların %22,8(10/44)'inde ekspresyon seviyesi azalmış ve %77,2(34/44)'sinde artmıştır (Tablo 4-3).

4.5. miR-1260a ve miR-1260b Ekspresyon Düzeyleri ile Hastaların BRCA Durumlarının Karşılaştırılması

Çalışmada miR-1260a ve miR-1260b ekspresyon düzeyleri incelenen hasta grubunda BRCA durumlarına göre ekspresyon durumları değerlendirildiğinde; miR-1260a ekspresyonunun BRCA pozitif 25 hastanın %76(19/25)'sında arttığı ve %24(6/25)'ünde azaldığı görülmüştür. BRCA negatif 102 hastanın %62,7 (64/102)'sinde miR-1260a ekspresyonunun arttığı ve %37,3(38/102)'ünde azaldığı belirlenmiştir. miR-1260b ekspresyonunun BRCA pozitif 25 hastanın %72(18/25)'sinde arttığı ve %28(7/25)'inde azaldığı görülmüştür. BRCA negatif 102 hastanın ise %73,5(75/102)'inde miR-1260b ekspresyonu artmış ve %26,5(27/102)'inde azalmıştır (Tablo 4-3).

Tablo 4-3: miR-1260a ve miR-1260b ekspresyon düzeyinin klinik ve genetik özellikler ile karşılaştırılması

Özellikler	miR-1260a Ekspresyonu		miR-1260b Ekspresyonu		Toplam n(%)
Ekspresyon Düzeyi	Artmış	Azalmış	Artmış	Azalmış	
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	

Klinik Evre					
Evre 1	12 (%9,4)	10 (%7,9)	14 (%11,0)	8 (%9,3)	22 (%17,3)
Evre 2	13 (%10,2)	1 (%0,8)	13 (%10,2)	1 (%0,8)	14 (%11)
Evre 3	49 (%38,6)	27 (%21,3)	56 (%44,1)	20 (%15,7)	76 (%59,9)
Evre 4	9 (%7,1)	6 (%4,7)	10 (%7,9)	5 (%3,9)	15 (%11,8)
Toplam n(%)	83 (%65,3)	44 (%34,7)	93 (%73,2)	34(%26,8)	127
Yaş Ortalama 50 ± 10 Aralık (25-84)					
40 >	11 (%8,7)	5 (%3,9)	13 (%10,2)	3 (%2,4)	16 (%12,5)
40 ≤	72 (%56,7)	39 (%30,7)	31 (%24,4)	80 (%63)	111 (%87,5)
Toplam n (%)	83 (%65,3)	44 (%34,7)	44 (%34,7)	83 (%65,3)	127
Patolojik Evre					
Evre 1	11 (%8,7)	11 (%8,7)	16 (%12,6)	6 (%4,7)	22 (%17,3)
Evre 2	14 (%11,0)	5 (%3,9)	14 (%11,0)	5 (%3,9)	19 (%15)
Evre 3	58 (%45,7)	28 (%22,0)	63 (%49,6)	23 (%18,1)	86 (%67,7)
Toplam n(%)	83 (%65,3)	44 (%34,6)	93 (%73,2)	34 (%26,8)	127
Histologik Grad					
Grad 1	12 (%9,4)	13 (%10,2)	16 (%12,6)	9 (%7,1)	25 (%19,6)
Grad 2	13 (%10,2)	11 (%8,7)	17 (%13,4)	7 (%5,5)	24 (%18,9)
Grad 3	58 (%45,7)	20 (%15,7)	60 (%47,2)	18 (%14,2)	78 (%61,5)
Toplam n(%)	83 (%65,3)	44 (%34,6)	93 (%73,2)	34 (%26,8)	127
Tümör Boyutu					
<2cm	18 (%14,2)	10 (%7,9)	20 (%15,7)	8 (%6,3)	28 (%22)
≥2cm	65 (%51,2)	34 (%26,8)	73 (%57,5)	26 (%20,5)	99 (%78)
Toplam n(%)	83 (%65,3)	44 (%34,6)	93 (%73,2)	34 (%26,8)	127
Tedavi					
Cerrahi					
Var	78 (%63,9)	44 (%32,1)	87 (%69,0)	34 (%27,0)	122 (%96)

Yok	5 (%4,0)	0 (%0,0)	5 (%4,0)	0 (%0,0)	5 (%4)
Toplam n(%)	83 (%65,3)	44 (%34,6)	93 (%73,2)	34 (%26,8)	127
Kemoterapi					
Var	78 (%66,1)	40 (%25,9)	86 (%68,3)	30 (%23,8)	118 (%92,9)
Yok	5 (%4,0)	5 (%4,0)	6 (%4,8)	4 (%3,2)	10 (%7,1)
Toplam n(%)	83 (%65,3)	44 (%34,6)	93 (%73,2)	34 (%26,8)	127
Radyoterapi					
Var	10 (%7,9)	5 (%4,0)	10 (%7,9)	5 (%4,0)	15 (%11,8)
Yok	73 (%57,4)	39 (%30,7)	82 (%65,1)	29 (%23,0)	112 (%88,2)
Toplam n(%)	83 (%65,3)	44 (%34,6)	93 (%73,2)	34 (%26,8)	127
Ailede Over&Meme Kanseri Hikayesi					
<2 kişi	52 (%40,9)	31 (%24,4)	59 (%46,5)	24 (%18,8)	83 (%65,3)
≥2 kişi	31 (%24,4)	13 (%10,3)	34 (%26,8)	10 (%7,9)	44 (%34,7)
Toplam n(%)	83(%65,3)	44(%34,7)	93(%73,2)	34(%26,8)	127
Ailede Diğer Kanser Hikayesi					
<2 kişi	25 (%19,7)	21 (%16,5)	32 (%25,3)	14 (%11,0)	46 (%36,2)
≥ 2 kişi	58 (%45,7)	23 (%18,1)	61 (%48,0)	20 (%15,7)	81 (%63,8)
Toplam n(%)	83(%65,3)	44(%34,7)	93(%73,2)	34(%26,8)	127
BRCA Durumu					
Pozitif	19 (%15)	6 (%4,7)	18 (%14,2)	7(%5,5)	25 (%19,6)
Negatif	64 (%50,3)	38 (%30)	75 (%59)	27 (%21,3)	102 (%80,4)
Toplam n(%)	83(%65,3)	44(%34,7)	93(%73,2)	34(%26,8)	127

4.6. İstatistiksel Analiz

SPSS v21.0 programı ile yapılan istatistiksel analizlere göre; araştırma kapsamında değerlendirilen gruplar arasında dağılımın normallik varsayımı

Kolmogorov-Smirnov testi ile belirlendi. Verilerin normallik dağılımları miR-1260a için (Kolmogorov-Smirnov $Z=5,274$; $p<0,05$); miR-1260b için (Kolmogorov-Smirnov $Z=5,361$; $p<0,05$)’dir. Gruplar normal dağılım gösterdikleri için ve beş grup olmalarından dolayı, verilerin çözümlenmesinde post-hoc ANOVA testi kullanıldı. ANOVA testi ile yapılan değerlendirmeye göre hasta ve kontrol grupları arasındaki $2^{-\Delta\Delta Ct}$ değerleri baz alınarak yapılan hesaplamalarda miR-1260a ve miR-1260b ifade düzeylerinin, hasta gruplarında sağlıklı kontrollere göre istatistiksel açıdan anlamlı olduğu görüldü ($p=0,000$). Hangi gruplar arasında anlamlılık olduğunu daha detaylı görebilmek için Post-Hoc Tukey HSD testini uygulandı. Bu testin sonuçlarına göre, sağlıklı kontroller ile over kanserli, over ve meme kanserli, over ve endometriyum ve over ve diğer tümörü bulunan hasta grupları arasında her iki miRNA için de istatistiksel açıdan anlamlı bir fark olduğu görüldü ($p=0,000$). Bu gruplar arasındaki ilişki (Tablo 4-5) ’de detaylı olarak gösterildi.

Tablo 4-4: ANOVA Test Sonuçları. *, istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$)

Bağımlı Değişken	Grup1	Grup2	Ortalama Farkı	Standart Hata	p Değeri	%95 Güven Aralığı	Güven sınırı
miR-1260a	Kontrol Grup	Tüm Over Kanserli			,000*		
		Over + Meme kanserler	137500*	,09612	,000*	1,1106	1,6394
		Sadece Over Kanserli	1,35922*	,05031	,000*	1,2209	1,4976
		Over + endometriyum Kanserli	1,50000*	,25464	,000*	,7996	2,2004
		Over + Diğer Kanserler	1,00000*	,14993	,000*	,5876	1,4124
miR-1260b	Kontrol Grup	Tüm Over Kanserli			,000*		
		Over+ Meme kanserler	125000*	,08968	,000*	1,0033	1,4967
		Sadece Over Kanserli	1,28155*	,04693	,000*	1,1525	1,4106

		Over + endometriyum	1,50000*	,23756	,000*	,8466	2,1534
		Over + Diğer Kanserler	1,00000*	,13987	,000*	,6153	1,3847

4.7. miR-1260a ve miR-1260b'nin Etkileştikleri Gen/Proteinlerin Gösterilmesi İçin Yapılan String Analizi

MiRTarBase bilgi bankası kullanarak miR-1260a ve miR-1260b için deneysel olarak valide edilmiş bir gen listesi oluşturuldu. TargetScan veri tabanı ile de miR-1260a ve miR-1260b için öngörülen hedef genler de hesaplandı. Her bir miR için kümülatif ağırlıklı, (context++ score) sıfırdan düşük gen hedefleri, TargetScan tarafından belirlendi. Buna göre hsa-miR-1260a için 4857 gen hedefi ve hsa-miR-1260b için 388 gen hedefi olduğu görüldü. TargetScan tarafından belirlenen gen hedefleri daha sonra miRTarBase ile tanımlanan gen hedef listeleri ile birleştiği zaman, analiz için ortak çıkan gen sayısı miR1260a için 42 hedef gene ve miR-1260b için 8 hedef gene düşürüldü. miR1260a için miRTarBase ve TargetScan'den saptanan ortak gen hedeflerinin, String veritabanı kullanılarak yapılan analiz sonrasında protein düzeyinde anlamlı etkileşimleri olduğu belirlendi (P=0.000). Bu analiz sonuçları Şekil 4-7'de verilmiştir.

Yapılan String analizine göre; miR-1260a'nın ilişkili olduğu en önemli protein ailesi translasyonun hücresel aşamasında etkisi olduğu bilinen ribozomal protein ailesidir. Literatürde bu protein ailesinin over kanser gelişimi üzerindeki etkilerinin araştırıldığı bazı çalışmalar mevcuttur [234, 235]. Bu çalışmalar sonucunda ribosomal proteinlerin over gelişiminde önemli ve kritik fonksiyonlara sahip olduğu gösterilmiş ve bu nedenle over fonksiyon bozukluklarının patofizyolojisi ve tedavisine yönelik bilgi verebileceği vurgulanmıştır.

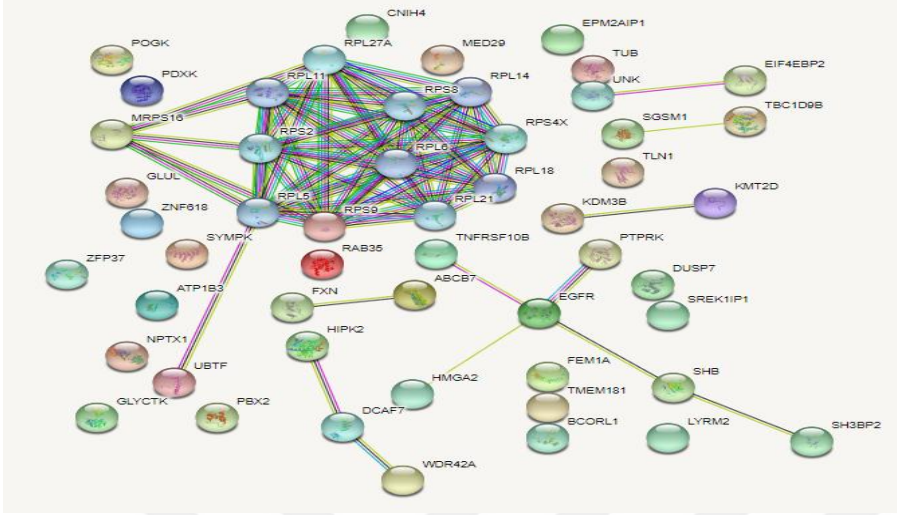
Silinmiş: -

Silinmiş: -

Silinmiş: -

Silinmiş: -

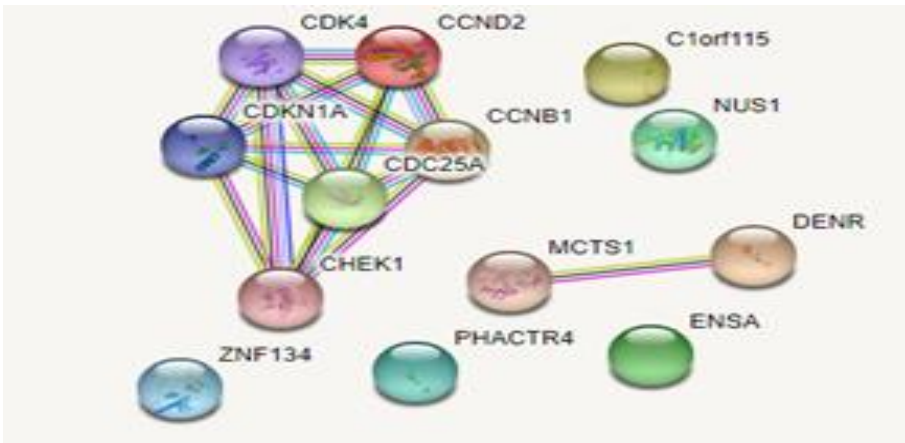
Silinmiş: -



Şekil 4-7: miR-1260a'nın Gen/Protein Etkileşimini Gösteren String Analiz Sonuçları

miR1260b için miRTarBase ve TargetScan'den saptanan ortak gen hedefleri, String veritabanı kullanılarak yapılan analiz sonrasında protein düzeyinde etkileşim içinde oldukları belirlendi ($P=0.00361$). Bu analiz sonuçları Şekil 4-8'de gösterilmiştir.

Yapılan String analizine göre; miR-1260b'nin ilişkili olduğu en önemli protein Serin/ treonin-protein kinaz ailesinin bir üyesi olan CHEK2 proteinidir. Bu proteinler hücre döngüsünde var olan kontrol noktalarının durdurulmasında, DNA onarımının aktivasyonunda önemli rol oynarlar [236]. Dikkat çeken bir diğer Siklin bağımlı kinaz aile üyesi olan CDK4 proteinidir. Bu protein ailesinin anormal aktivasyonu over kanser hücrelerinin proliferasyonunda ve apoptoz düzenlemesinde rol oynamaktadır [237]. Analiz sonuçlarına göre; CDK kinazlarının düzenleyicileri olarak işlev gören siklinler (CCND2, CCNB1) de dikkat çekmektedir. Siklin proteinleri over kanser dokularında yüksek oranda eksprese edilmektedirler.



Şekil 4-8: miR-1260b'nin Gen/Protein Etkileşimini Gösteren String Analiz Sonuçları



5. TARTIŞMA

2018'de Amerika Birleşik Devletleri'nde yaklaşık 22.240 kişi over kanser tanısı almıştır. Tanı koyulan kişilerin 14.070'inin hayatını over kanseri sebebi ile kaybettikleri bildirilmiştir [238]. 2018 Globocan verilerine göre Türkiye'de her 100,000 kişiden 7 kişinin over kanserine yakalandığı bildirilmektedir. Yaşa göre ayarlanmış en yüksek insidans oranları, Kuzey Amerika, Orta ve Doğu Avrupa dahil, dünyanın gelişmiş bölgelerinde, genellikle 100.000'de 8'i aşan oranlardadır. Güney Amerika'da oranlar 100.000'de 5.8 ve Asya ve Afrika'da 100.000'de ≤ 3 olarak bildirilmektedir [23, 24]. Over kanseri en sık görülen, yüksek mortalite oranına sahip bir jinekolojik tümördür. Epidemiyolojik araştırmalar kanser patogeneğinde hormonal ve reproduktif faktörlerin etkili olduğunu göstermektedir [46]. Over karsinomu hücre transformasyonuna yol açan genetik ve epigenetik değişiklikleri içerir. Son on yılda, over karsinomunun onkogeneğine ilişkin önemli bilgiler edinilmiş olmakla beraber hala etiyolojisi hakkında kesin bir bilgi bulunmamaktadır. miRNA'ların kanser dahil bir çok hastalıkta önemli rol oynadığını, moleküler biyolojik belirteç, hatta kanser tedavisi için moleküler hedef ya da bizzat kendilerinin kemoterapötik ajan olarak kullanılabilecekleri konusundan birçok çalışma mevcuttur. Over kanseri ise gerek etiyolojisinin tam olarak bilinmemesi gerekse erken tanı ve tedavi takibinde kullanılacak biyolojik belirteçlerin olmaması nedeniyle üzerinde çalışılması gereken bir hastalıktır. Bu nedenle bu hastalığa ilişkin tanımlanacak yeni biyolojik belirteçlerin bulunması ve araştırılması önem arz etmektedir.

Grubumuz tarafından yapılan İstanbul Üniversitesi BAP destekli bir çalışmada, over kanserli hastaların periferik kanında bulunan ve over kanserine özgü olduğu belirlenen 99 miRNA molekülü saptanmıştır. Sunulan tez çalışmasında, saptanan bu miRNA moleküllerinden ikisi olan miR1260a ve miR1260b'nin ekspresyon düzeyleri daha geniş bir over kanser hasta ve sağlıklı kontrol grubunda karşılaştırılarak incelenmiştir. Söz konusu moleküllerin gerek validasyonlarının yapılması gerekse over kanseri için biyolojik bir belirteç olup olmadığı bu tez çalışması ile belirlenmiştir. Çalışma ailesel ve sporadik over kanser tanılı hasta ile bu hastalar ile yaş, cinsiyet ve etnik olarak eşleştirilmiş sağlıklı kontrollerin periferik kan lenfositlerindeki miR1260 a ve miR1260b ekspresyon düzeylerinin Real Time PCR ile kantitatif incelenmesini kapsamaktadır.

Bugüne kadar over kanserinin gelişimi, tanısı ve tedavisi ile ilişkili olarak birçok miRNA molekülü araştırılmıştır. miR-193b, miR-532, miR-3064 ekspresyon düzeylerinin over kanserli hastalarda over kanseri evrelemesinde kullanılan FIGO evrelemesi, tümör çapı, histolojik grad, asit birikimi, lenf nodu metastazı ve aynı zamanda kötü prognozla ilişkili olduğu bildirilmiştir [239] [240]. miR-506'nın ise erken FIGO evresi ve iyi prognoz ve uzun sağ kalımla ilişkili olduğu gösterilmiştir [241]. miR-199'un over kanserinde düşük ekspresyon yaptığı ve bu miRNA'nın c-MET, HIF1-alfa HIF2-beta ve IKK-beta proteinlerinin aktivasyonunun bloke ederek ilgili gen yolağını durdurduğu ve buna bağlı olarak bir terapötik hedef olabileceği belirtilmiştir [242-244]. miR-152'nin, over kanseri hücre soylarında ERBB3 ekspresyonunu baskılayarak over kanser hücrelerinin proliferasyon ve metastaz yeteneklerini baskıladığı gösterilmiştir. Bu nedenle miR-152'nin, over kanserinde hücre proliferasyonu, invazyon ve metastaz da önemli bir moleküler hedef olabileceği bildirilmiştir [245].

Bundan başka over kanseri tedavisine karşı direnç gelişimine neden olan birçok miRNA'nın da olduğu farklı araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (240). Bu miRNA'lar arasında let-7 [246] , miR-9, miR-366, miR-424 [247], miR-622 [248] yer almaktadır. Over kanserinin

tanı ve takibinde ekzozomal ve periferik kanda dolaşan miRNA'ların da olduğu bildirilmiştir. Bunlardan miR-21, miR-141, miR-200a, miR-200c, miR-200b, miR-203, miR-205, and miR-214'ün serumda ekzozomal olarak bulunduğu ve ileri evre over kanseri ile korelasyon gösterdiği, plasmada bulunan miR-106b, miR-126, miR-150, miR-17, miR-20a, and miR-92a'ların ise benign over hastalıklarının malign over hastalıklarından ayırtılmasında kullanılabileceği gösterilmiştir [249]. Yine over kanser hücrelerle tarafından oluşturulan asit sıvısında ve hastaların idrarlarında sağlıklı kontrollere göre miR92a ve miR200b'nin ekspresyon düzeylerinin farklılık gösterdiği saptanmıştır [250]. Yine over kanser hücrelerinin invazyonunda miR-630 ve miR205'in ekspresyon farklılıklarının over kanserli hastalarda over kanser hücrelerinin invazif davranışı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [251]. miR-125, miR-200 ailesine ve miR-30d miRNA genlerinin ise epitelyal mezenkimal geçişte (EMT) etkili oldukları saptanmıştır [252-255]. Over kanserlerinde miR-222-3p ekspresyonunun uzun sağkalım ile ilişkili olduğu miR-9, miR-595(81), miR-15b'nin düşük ekspresyonu ve WNT7a'nın ise yüksek ekspresyonun birlikteliğinin [256] ise kısa sağkalım ve kötü prognoz ile ilişkili olduğu, bunun yanında miR-141[257], miR-200a miR-200c'nin ekspresyon düzeyindeki farklılıkların ise uzun hastalıklı geçen zamanla (PFS) ilişkili olduğu bildirilmiştir. 2018 yılına kadar yapılan PubMed taramasında yukarıda bahsi geçen bir çok miRNA'nın over kanserinde araştırıldığı ve over kanserinin tanısı, prognozu, sağkalımı, ilaç direnci ve metastatik özellikler ile ilişkilendirildiği görülmüştür. Ancak literatürde çalışmamızda araştırdığımız miR-1260a ve miR-1260b miRNA moleküllerinin over kanserli hastalarda araştırıldığını gösteren bir literatür bilgisine rastlanılmamıştır.

Tez çalışmasında araştırılan miR-1260a'nın ekspresyon düzeyi meme, böbrek, mide kanseri, malign melanoma, hepatoselüler karsinom, kolorektal karsinom, özofageal skuamöz hücreli karsinomda incelenmiş ve bu kanserlerde upregüle olduğu tespit edilmiştir [210-217]. Bundan başka, miR-1260a ekspresyon düzeyinin, prostat kanserli hastaların serum ve FFPE dokularında BPH kontrollerine kıyasla ve prostat hücre soylarında da yüksek düzeyde anlatım yaptığı bildirilmiştir [218, 219, 258]. miR-1260a ekspresyon düzeyinin, BPH kontrollerine kıyasla prostat kanser hastalarında upregüle olduğunu gösterilmiştir [258]. miR-1260a, Danimarka popülasyonunda prostat kanserli hastaların FFPE'sinde sınıflamada kullanılan 13 miRNA arasında yer alan diyagnostik biyomarker niteliği taşıyan bir miRNA olarak bildirilmiştir [218], [227].

Tez çalışmasında incelenen ikinci miRNA olan miR-1260b'nin de, literatürde over kanseri hariç birçok kanser türünde incelendiği ve kanser ile ilişkili olduğu ve anormal ekspresyon gösterdiği bildirilmiştir. miR-1260b'nin insan periferik kanındaki dendritik hücrelerde anormal ve yüksek derecede eksprese edildiği ve dolayısıyla immün yanıtta ilişkili olabileceği bildirilmiştir [226]. miR-1260b ekspresyon düzeyinin özellikle lenf nodu metastazına sahip kolorektal kanser dokularında (CRC) arttığı, bu durumun lenf nodu metastazı ve venöz invazyon ile ilişkili olduğu ve erken evre metastazı gösterdiği düşünülmektedir. miR-1260b'nin, CRC nin prognozu için önemli bir moleküler biyolojik belirteç olabileceği ileri sürülmektedir [228]. Bundan başka mi1260b malign melanom hastalarında da araştırılmış ve melanomun cerrahi rezeksiyonunun takibinde, miR-1260a'nın farklı bir ekspresyon paterni gösterdiği bildirilmiştir [259]. Ayrıca, mi1260a ekspresyonunun atipik Spitz lezyonlarında benign Spitz tümörlerine göre ekspresyonunun yüksek olduğu gösterilmiştir [260]. mi1260b'nin, küçük hücreli dışı akciğer kanseri (NSCLC) hücre soylarında (A549) ise hücre migrasyonunu ve invazyonunu azalttığı saptanmıştır. Bu sonuç, miR-1260b'nin NSCLC

Silinmiş: -

hastalarında metastazın durdurulmasında önemli bir rol oynadığını ve NSCLC'nin tedavisi için hedef bir molekül olabileceğini düşündürmektedir [261].

miR-1260b'nin renal hücreli kanser (RCC) hücrelerinde normal böbrek hücrelerine göre çok fazla ekspresyon gösterdiği bu ekspresyonun hücre çoğalması, invazyon, kısa sağkalım ile korele olduğu ve bu olaylarda miR-1260'ın Wnt sinyal yolağını inhibe ederek bu etkiyi yarattığı gösterilmiştir [262].

Tez çalışmamızda yapılan analizlerin sonucuna göre over kanserli hastalar ile sağlıklı kontrol grubu birbiri ile karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan son derece anlamlı bir fark ($P=0.000$) olduğu görülmüştür. Sağlıklı kontrollere göre, over kanserli hastalarda miR-1260a ve miR-1260b'in 16.1-43.21 kat arasında değişen oranlarda ekspresyonlarının arttığı saptanmıştır. Bu moleküllerin etkileşimlerini anlamak amacıyla yapılan String analizinde ise; miR-1260a'nın ilişkili olduğu en önemli protein ailesinin translasyonun hücresel aşamasında etkisi olduğu bilinen ribozomal protein ailesi olduğu saptanmıştır. Literatürde bu protein ailesinin over kanseri gelişimi üzerindeki etkilerinin araştırıldığı bazı çalışmalar mevcuttur [234, 235]. Bu çalışmalar sonucunda ribosomal proteinlerin over gelişiminde önemli ve kritik fonksiyonlara sahip olduğu gösterilmiş ve bu nedenle over fonksiyon bozukluklarının patofizyolojisi ve tedavisine yönelik bilgi verebileceği vurgulanmıştır. Bu bilgiler ve bizim çalışmamızın sonuçları birlikte değerlendirildiğinde over kanserinde ribosomal proteinlerde oluşan bozuklukların miR-1260a üzerinden indirekt olarak da yapılabildiğini göstermektedir.

miR1260b için yapılan String analizi sonrasında ise miR-1260b'nin bir Serin/ treonin-protein kinaz ailesinin üyesi olan CHEK2 proteini ile siklin bağımlı kinaz aile üyesi olan CDK4 proteini arasında sıkı bir ilişki olduğu görülmektedir. Biri DNA onarımında diğeri ise hücre proliferasyonunun ve apoptozunun kontrolünde etkili olduğu bilinen bu genlerin over kanseri gelişiminde hücre proliferasyonunun ve apoptozu engelleyerek tümör gelişimine katkıda bulunduklarını düşündürmektedir [237]. Bu sonuçlar ve bizim çalışmamızdan elde edilen bulgular birlikte değerlendirildiğinde bu 2 farklı gen ailesi ile miR1260b'nin etkileşiminin over kanseri gelişimine neden olabileceği sonucuna varılmaktadır.

Özetle, gerek miR1260 gerekse miR1260b'nin sağlıklı kontrollere göre over kanserli hastaların periferik kan lenfositlerindeki anlamlı ekspresyonu ilk defa grubumuz tarafından gösterilmiş olup, bu iki molekülün yaptığı gen etkileşimlerinin over kanserine neden olması sebebi ile diyagnostik bir önem taşıdığı düşünülmektedir. Öte yandan bu moleküllerin periferik kanda farklılık göstermiş olmalarından dolayı ileri ki çalışmalarla prognostik önemi ve dolayısıyla prognostik bir marker olarak kullanılması olasılığı bulunmaktadır. Bu moleküllerin over kanserinin erken evrede tanınması ve diyagnostik öneminin anlaşılması için overin benign hastalıklarında da bu moleküllerin araştırılması gerekmektedir. Ayrıca söz konusu moleküllerin prognostik biyolojik belirteç olup olmadığının kanıtlanması için ise tedavi süresince bu moleküllerin varlığının periferik kandaki düzeylerinin karşılaştırılmalı olarak araştırılması gerekmektedir.

Biçimlendirilmiş: Yazı tipi: Kalın Değil

KAYNAKLAR

Uncategorized References

1. Siegel, R.L., K.D. Miller, and A. Jemal, *Cancer statistics, 2018*. CA Cancer J Clin, 2018. **68**(1): p. 7-30.
2. Surveillance, E., and End Results (SEER) Program. SEER*Stat Database: North American Association of Central Cancer Registries (NAACCR) Incidence Data-Center in North America (CiNA) Analytic File, 1995-2014 for Expanded Races, Custom File With Country, American Cancer Society Fact and Figures Projection Project (Which includes data from Center for Disease Control and Prevention's National Program of Cancer Registries [NPCR] , the Canadian Council of Cancer Registry's Provincial and Territorial Registries, and the national Cancer institute's SEER Registries), Certified by the NAACCR as meeting high-quality incidence data standards for the specifies time periods. Bethesda , MD : National Cancer Institute, 1995-2014
3. Copeland G, L.A., Firth R, et al. eds, *Combined Cancer Incidence for the United States, Canada and North America*. Springfield, IL: North American Association of Central Cancer Registries Inc ; 2017. . 2010-2014. **Volume One**.
4. Guan, R., et al., *Upregulation of miR-520b promotes ovarian cancer growth*. Oncol Lett, 2017. **14**(3): p. 3155-3161.
5. Emori, M.M. and R. Drapkin, *The hormonal composition of follicular fluid and its implications for ovarian cancer pathogenesis*. Reprod Biol Endocrinol, 2014. **12**: p. 60.
6. Jiang, J., et al., , *Real-time expression profiling of microRNA precursors in human cancer cell lines*. Nucleic Acids Res. 2005. **33**(17): p. p. 5394-403.
7. Aravin, A. and T. Tuschl, *Identification and characterization of small RNAs involved in RNA silencing*. FEBS Lett, 2005. **579**(26): p. 5830-40.
8. Creighton, C.J., J.G. Reid, and P.H. Gunaratne, *Expression profiling of microRNAs by deep sequencing*. Brief Bioinform, 2009. **10**(5): p. 490-7.
9. Meyer, S.U., M.W. Pfaffl, and S.E. Ulbrich, *Normalization strategies for microRNA profiling experiments: a 'normal' way to a hidden layer of complexity?* Biotechnol Lett, 2010. **32**(12): p. 1777-88.
10. Mestdagh, P., et al., *A novel and universal method for microRNA RT-qPCR data normalization*. Genome Biol, 2009. **10**(6): p. R64.
11. Smith, R.D., et al., *Exogenous reference RNA for normalization of real-time quantitative PCR*. Biotechniques, 2003. **34**(1): p. 88-91.
12. Taulli, R., et al., *The muscle-specific microRNA miR-206 blocks human rhabdomyosarcoma growth in xenotransplanted mice by promoting myogenic differentiation*. J Clin Invest, 2009. **119**(8): p. 2366-78.
13. Lagos-Quintana, M., et al., *Identification of novel genes coding for small expressed RNAs*. Science, 2001. **294**(5543): p. 853-8.
14. Lau, N.C., et al., *An abundant class of tiny RNAs with probable regulatory roles in Caenorhabditis elegans*. Science, 2001. **294**(5543): p. 858-62.
15. Lee, R.C. and V. Ambros, *An extensive class of small RNAs in Caenorhabditis elegans*. Science, 2001. **294**(5543): p. 862-4.
16. Berezikov, E., et al., *Diversity of microRNAs in human and chimpanzee brain*. Nat Genet, 2006. **38**(12): p. 1375-7.

17. Houbaviy, H.B., M.F. Murray, and P.A. Sharp, *Embryonic stem cell-specific MicroRNAs*. Dev Cell, 2003. **5**(2): p. 351-8.
18. Landgraf, P., et al., *A mammalian microRNA expression atlas based on small RNA library sequencing*. Cell, 2007. **129**(7): p. 1401-14.
19. Witten, D., et al., *Ultra-high throughput sequencing-based small RNA discovery and discrete statistical biomarker analysis in a collection of cervical tumours and matched controls*. BMC Biol, 2010. **8**: p. 58.
20. 109_114_37_salamat_jensi.PDF.
21. Patbol, A.J., 177:1053-1064;DOI:10.2353/ajpatb.2010.100105. 2010.
22. Kliever, E.V. and K.R. Smith, *Ovarian cancer mortality among immigrants in Australia and Canada*. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 1995. **4**(5): p. 453-8.
23. Wei, K., et al., *Ovary cancer incidence and mortality in China, 2011*. Chin J Cancer Res, 2015. **27**(1): p. 38-43.
24. Allemani, C., et al., *Global surveillance of cancer survival 1995-2009: analysis of individual data for 25,676,887 patients from 279 population-based registries in 67 countries (CONCORD-2)*. Lancet, 2015. **385**(9972): p. 977-1010.
25. Coleman, M.P., et al., *Trends in cancer incidence and mortality*. IARC Sci Publ, 1993(121): p. 1-806.
26. Howe, H.L., et al., *Annual report to the nation on the status of cancer, 1975-2003, featuring cancer among U.S. Hispanic/Latino populations*. Cancer, 2006. **107**(8): p. 1711-42.
27. Howlander N, N.A., Krapcho M, Neyman N, Aminou R, Waldron W, et al, *National Cancer Institute. Bethesda, MD, http://seer.cancer.gov/csr/1975_2008/, based on November 2010 SEER data submission, posted to the SEER web site, 2011. 1975–2008.*
28. Malvezzi M, C.G., Rodriguez T, Negri E, La Vecchia C., *Global trends and predictions in ovarian cancer mortality*. Ann Oncol. 2016; **27**: 2017–25.
29. Teng, Z., et al., *Increase of Incidence and Mortality of Ovarian Cancer during 2003-2012 in Jiangsu Province, China*. Front Public Health, 2016. **4**: p. 146.
30. Society, A.C., *Cancer Facts & Figures* . Atlanta: American Cancer Society. 2015.
31. Nguyen, H.N., H.E. Averette, and M. Janicek, *Ovarian carcinoma. A review of the significance of familial risk factors and the role of prophylactic oophorectomy in cancer prevention*. Cancer, 1994. **74**(2): p. 545-55.
32. Mantha, S., et al., *Ovarian vein thrombosis after debulking surgery for ovarian cancer: epidemiology and clinical significance*. Am J Obstet Gynecol, 2015. **213**(2): p. 208 e1-4.
33. Fathalla, M.F., *Factors in the causation and incidence of ovarian cancer*. Obstet Gynecol Surv, 1972. **27**(11): p. 751-68.
34. Auersperg, N., et al., *The biology of ovarian cancer*. Semin Oncol, 1998. **25**(3): p. 281-304.
35. Cheng, W., et al., *Lineage infidelity of epithelial ovarian cancers is controlled by HOX genes that specify regional identity in the reproductive tract*. Nat Med, 2005. **11**(5): p. 531-7.
36. Naora, H., *Developmental patterning in the wrong context: the paradox of epithelial ovarian cancers*. Cell Cycle, 2005. **4**(8): p. 1033-5.
37. Piek JM, v.D.P., Zweemer RP, Jansen JW, Poort-Keesom RJ, Menko FH, Gille JJ, Jongsma AP, Pals G, Kenemans P, Verheijen RH, *Diagnostic changes in prophylactically removed fallopian tubes of women predisposed to developing ovarian cancer*. 2001. **J Pathol** 2001, **195**:451–456.

38. Powell, C.B., et al., *Risk-reducing salpingo-oophorectomy in BRCA mutation carriers: Role of serial sectioning in the detection of occult malignancy*. Journal of Clinical Oncology, 2005. **23**(1): p. 127-132.
39. Kindelberger, D.W., et al., *Intraepithelial carcinoma of the fimbria and pelvic serous carcinoma: Evidence for a causal relationship*. American Journal of Surgical Pathology, 2007. **31**(2): p. 161-169.
40. Folkins, A.K., et al., *Precursors to pelvic serous carcinoma and their clinical implications*. Gynecologic Oncology, 2009. **113**(3): p. 391-396.
41. Dubeau, L., *The cell of origin of ovarian epithelial tumours*. Lancet Oncology, 2008. **9**(12): p. 1191-1197.
42. Auersperg, N., M.M.M. Woo, and C.B. Gilks, *The origin of ovarian carcinomas: A developmental view*. Gynecologic Oncology, 2008. **110**(3): p. 452-454.
43. Kurman, R.J. and I.M. Shih, *The Origin and Pathogenesis of Epithelial Ovarian Cancer: A Proposed Unifying Theory*. American Journal of Surgical Pathology, 2010. **34**(3): p. 433-443.
44. Lengyel, E., *Ovarian cancer development and metastasis*. Am J Pathol, 2010. **177**(3): p. 1053-64.
45. Casagrande JT, L.E., Pike MC, Roy S, Ross RK, Henderson Beale, R., *"Incessant ovulation" and ovarian cancer*. Lancet. 1979;. **2**: 170-3.
46. Tung, K.H., et al., *Effect of anovulation factors on pre- and postmenopausal ovarian cancer risk: revisiting the incessant ovulation hypothesis*. Am J Epidemiol, 2005. **161**(4): p. 321-9.
47. 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.
48. Moorman, P.G., et al., *Ovulation and ovarian cancer: a comparison of two methods for calculating lifetime ovulatory cycles (United States)*. Cancer Causes Control, 2002. **13**(9): p. 807-11.
49. Schildkraut, J.M., et al., *Cyclin E overexpression in epithelial ovarian cancer characterizes an etiologic subgroup*. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2008. **17**(3): p. 585-93.
50. Terry, K.L., et al., *Incessant ovulation, mucin 1 immunity, and risk for ovarian cancer*. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2007. **16**(1): p. 30-5.
51. Franceschi, S., et al., *Pooled analysis of 3 European case-control studies of ovarian cancer: II. Age at menarche and at menopause*. Int J Cancer, 1991. **49**(1): p. 57-60.
52. Parazzini, F., et al., *The epidemiology of ovarian cancer*. Gynecol Oncol, 1991. **43**(1): p. 9-23.
53. Parazzini, F., et al., *Menstrual factors and the risk of epithelial ovarian cancer*. J Clin Epidemiol, 1989. **42**(5): p. 443-8.
54. Purdie, D., et al., *Reproductive and other factors and risk of epithelial ovarian cancer: an Australian case-control study*. Survey of Women's Health Study Group. Int J Cancer, 1995. **62**(6): p. 678-84.
55. Tavani, A., et al., *Risk factors for epithelial ovarian cancer in women under age 45*. Eur J Cancer, 1993. **29A**(9): p. 1297-301.
56. Whittemore, A.S., R. Harris, and J. Itnyre, *Characteristics relating to ovarian cancer risk: collaborative analysis of 12 US case-control studies. II. Invasive epithelial ovarian cancers in white women*. Collaborative Ovarian Cancer Group. Am J Epidemiol, 1992. **136**(10): p. 1184-203.

57. Wu, M.L., et al., *Personal and environmental characteristics related to epithelial ovarian cancer. I. Reproductive and menstrual events and oral contraceptive use*. Am J Epidemiol, 1988. **128**(6): p. 1216-27.
58. Wynder, E.L., H. Dodo, and H.R. Barber, *Epidemiology of cancer of the ovary*. Cancer, 1969. **23**(2): p. 352-70.
59. Hankinson, S.E., et al., *A prospective study of reproductive factors and risk of epithelial ovarian cancer*. Cancer, 1995. **76**(2): p. 284-90.
60. Risch, H.A., L.D. Marrett, and G.R. Howe, *Parity, contraception, infertility, and the risk of epithelial ovarian cancer*. Am J Epidemiol, 1994. **140**(7): p. 585-97.
61. Shu XO, B.L., Gao YT, Yuan JM, *Population-based casecontrol study of ovarian cancer in Shanghai*. Cancer Res. 1989. **49**:3670-4.
62. Moorman, P.G., et al., *Ovarian cancer risk factors in African-American and white women*. Am J Epidemiol, 2009. **170**(5): p. 598-606.
63. Tzonou, A., et al., *The epidemiology of ovarian cancer in Greece: a case-control study*. Eur J Cancer Clin Oncol, 1984. **20**(8): p. 1045-52.
64. Kvale, G., et al., *Reproductive factors and risk of ovarian cancer: a prospective study*. Int J Cancer, 1988. **42**(2): p. 246-51.
65. Tsilidis, K.K., et al., *Oral contraceptive use and reproductive factors and risk of ovarian cancer in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition*. Br J Cancer, 2011. **105**(9): p. 1436-42.
66. Wentzensen, N., et al., *Ovarian Cancer Risk Factors by Histologic Subtype: An Analysis From the Ovarian Cancer Cohort Consortium*. J Clin Oncol, 2016. **34**(24): p. 2888-98.
67. Gwinn, M.L., et al., *Pregnancy, breast feeding, and oral contraceptives and the risk of epithelial ovarian cancer*. J Clin Epidemiol, 1990. **43**(6): p. 559-68.
68. Hartge, P., et al., *A case-control study of epithelial ovarian cancer*. Am J Obstet Gynecol, 1989. **161**(1): p. 10-6.
69. Nasca, P.C., et al., *An epidemiologic case-control study of ovarian cancer and reproductive factors*. Am J Epidemiol, 1984. **119**(5): p. 705-13.
70. Adami HO, L.M., Persson I, Ekblom A, Adami HO, Hsieh CC, et al. , *Parity, age at first childbirth, and risk of ovarian cancer*. Lancet. 1994. **344**: 1250-4.
71. Rosenblatt, K.A. and D.B. Thomas, *Lactation and the risk of epithelial ovarian cancer. The WHO Collaborative Study of Neoplasia and Steroid Contraceptives*. Int J Epidemiol, 1993. **22**(2): p. 192-7.
72. Schneider, A.P., 2nd, *Risk factor for ovarian cancer*. N Engl J Med, 1987. **317**(8): p. 508-9.
73. Jordan, S.J., et al., *Breastfeeding and risk of epithelial ovarian cancer*. Cancer Causes Control, 2010. **21**(1): p. 109-16.
74. Jordan, S.J., et al., *Breast-feeding and risk of epithelial ovarian cancer*. Cancer Causes Control, 2012. **23**(6): p. 919-27.
75. Fauser, B.C., et al., *Consensus on women's health aspects of polycystic ovary syndrome (PCOS): the Amsterdam ESHRE/ASRM-Sponsored 3rd PCOS Consensus Workshop Group*. Fertil Steril, 2012. **97**(1): p. 28-38 e25.
76. 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.
77. Bertone, E.R., et al., *Prospective study of recreational physical activity and ovarian cancer*. J Natl Cancer Inst, 2001. **93**(12): p. 942-8.

78. Anderson, J.P., J.A. Ross, and A.R. Folsom, *Anthropometric variables, physical activity, and incidence of ovarian cancer: The Iowa Women's Health Study*. Cancer, 2004. **100**(7): p. 1515-21.
79. Hannan, L.M., et al., *Physical activity and risk of ovarian cancer: a prospective cohort study in the United States*. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2004. **13**(5): p. 765-70.
80. Schnohr, P., et al., *Physical activity in leisure-time and risk of cancer: 14-year follow-up of 28,000 Danish men and women*. Scand J Public Health, 2005. **33**(4): p. 244-9.
81. Biesma, R.G., et al., *Physical activity and risk of ovarian cancer: results from the Netherlands Cohort Study (The Netherlands)*. Cancer Causes Control, 2006. **17**(1): p. 109-15.
82. Patel, A.V., et al., *Recreational physical activity and sedentary behavior in relation to ovarian cancer risk in a large cohort of US women*. Am J Epidemiol, 2006. **163**(8): p. 709-16.
83. Weiderpass, E., et al., *Prospective study of physical activity in different periods of life and the risk of ovarian cancer*. Int J Cancer, 2006. **118**(12): p. 3153-60.
84. 3153–60., C.B.M.I.J.C., *periods of life and the risk of ovarian cancer*. 2017. **14**.
85. Leitzmann, M.F., et al., *Prospective study of physical activity and the risk of ovarian cancer*. Cancer Causes Control, 2009. **20**(5): p. 765-73.
86. Huang, T., et al., *A prospective study of leisure-time physical activity and risk of incident epithelial ovarian cancer: Impact by menopausal status*. Int J Cancer, 2016. **138**(4): p. 843-52.
87. Patel, A.V., et al., *Leisure-Time Spent Sitting and Site-Specific Cancer Incidence in a Large U.S. Cohort*. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2015. **24**(9): p. 1350-9.
88. Xiao, Q., et al., *Physical activity in different periods of life, sedentary behavior, and the risk of ovarian cancer in the NIH-AARP diet and health study*. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2013. **22**(11): p. 2000-8.
89. Hildebrand, J.S., et al., *Moderate-to-vigorous physical activity and leisure-time sitting in relation to ovarian cancer risk in a large prospective US cohort*. Cancer Causes Control, 2015. **26**(11): p. 1691-7.
90. Pukkala, E., et al., *Life-long physical activity and cancer risk among Finnish female teachers*. Eur J Cancer Prev, 1993. **2**(5): p. 369-76.
91. Zheng, W., et al., *Occupational physical activity and the incidence of cancer of the breast, corpus uteri, and ovary in Shanghai*. Cancer, 1993. **71**(11): p. 3620-4.
92. Moorman, P.G., et al., *Recreational physical activity and ovarian cancer risk and survival*. Ann Epidemiol, 2011. **21**(3): p. 178-87.
93. Whittemore, A.S., et al., *Personal and environmental characteristics related to epithelial ovarian cancer. II. Exposures to talcum powder, tobacco, alcohol, and coffee*. Am J Epidemiol, 1988. **128**(6): p. 1228-40.
94. Cottreau, C.M., R.B. Ness, and A.M. Kriska, *Physical activity and reduced risk of ovarian cancer*. Obstet Gynecol, 2000. **96**(4): p. 609-14.
95. Bertone, E.R., et al., *Recreational physical activity and ovarian cancer in a population-based case-control study*. Int J Cancer, 2002. **99**(3): p. 431-6.
96. Pan, S.Y., A.M. Ugnat, and Y. Mao, *Physical activity and the risk of ovarian cancer: a case-control study in Canada*. Int J Cancer, 2005. **117**(2): p. 300-7.

97. Olsen, C.M., et al., *Recreational physical activity and epithelial ovarian cancer: a case-control study, systematic review, and meta-analysis*. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2007. **16**(11): p. 2321-30.
98. Carnide N, K.N., Cotterchio M, *Association between frequency and intensity of recreational physical activity and epithelial ovarian cancer risk by age period*. 2009. **18**: 322–30.
99. Rossing, M.A., et al., *Recreational physical activity and risk of epithelial ovarian cancer*. Cancer Causes Control, 2010. **21**(4): p. 485-91.
100. Cannioto, R., et al., *Chronic Recreational Physical Inactivity and Epithelial Ovarian Cancer Risk: Evidence from the Ovarian Cancer Association Consortium*. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2016. **25**(7): p. 1114-24.
101. Abbott, S.E., et al., *Recreational physical activity and ovarian cancer risk in African American women*. Cancer Med, 2016. **5**(6): p. 1319-27.
102. Tavani, A., et al., *Physical activity and risk of ovarian cancer: an Italian case-control study*. Int J Cancer, 2001. **91**(3): p. 407-11.
103. Dosemeci, M., et al., *Occupational physical activity, socioeconomic status, and risks of 15 cancer sites in Turkey*. Cancer Causes Control, 1993. **4**(4): p. 313-21.
104. Zhang, M., A.H. Lee, and C.W. Binns, *Physical activity and epithelial ovarian cancer risk: a case-control study in China*. Int J Cancer, 2003. **105**(6): p. 838-43.
105. Zhang, M., et al., *Sedentary behaviours and epithelial ovarian cancer risk*. Cancer Causes Control, 2004. **15**(1): p. 83-9.
106. Huang, S.T., et al., *Anti-tumor and anti-angiogenic effects of Phyllanthus urinaria in mice bearing Lewis lung carcinoma*. Int Immunopharmacol, 2006. **6**(6): p. 870-9.
107. Pinheiro SP, T.S., Cramer DW, Rosner BA, Hankinson Seagar, M., *Use of nonsteroidal antiinflammatory agents and incidence of ovarian cancer in 2 large prospective cohorts*. Am J Epidemiol. 2009. **169**: 1378–87.
108. Prizment AE, F.A., Anderson KE., *Nonsteroidal antiinflammatory drugs and risk for ovarian and endometrial cancers in the Iowa Women's Health Study*. Cancer Epidemiol Biomarkers. 2009. **18**: 1037–44.
109. Med, C.B., No 1 February 2017 31. **14**(Prev. 2010; 19: 435–42.).
110. Baandrup L, K.S., Olsen JH, Dehlendorff C, Friis S., *Low-dose aspirin use and the risk of ovarian cancer in Denmark*. Ann Oncol. 2015; p. 26: 787–92.
111. Hannibal CG, R.M., Wicklund KG, Cushing-Haugen KL. Am J Epidemiol. 167: 1430–7., *Analgesic drug use and risk of epithelial ovarian cancer*. 2008.
112. Gershenson, D.M., et al., *Clinical behavior of stage II-IV low-grade serous carcinoma of the ovary*. Obstet Gynecol, 2006. **108**(2): p. 361-8.
113. Kinzler, K.W. and B. Vogelstein, *Lessons from hereditary colorectal cancer*. Cell, 1996. **87**(2): p. 159-70.
114. Prowse, A.H., et al., *Molecular genetic evidence that endometriosis is a precursor of ovarian cancer*. Int J Cancer, 2006. **119**(3): p. 556-62.
115. Dinulescu, D.M., et al., *Role of K-ras and Pten in the development of mouse models of endometriosis and endometrioid ovarian cancer*. Nat Med, 2005. **11**(1): p. 63-70.
116. Romero, I.L., et al., *Effects of oral contraceptives or a gonadotropin-releasing hormone agonist on ovarian carcinogenesis in genetically engineered mice*. Cancer Prev Res (Phila), 2009. **2**(9): p. 792-9.

117. Cheng, J.Q., et al., *AKT2, a putative oncogene encoding a member of a subfamily of protein-serine/threonine kinases, is amplified in human ovarian carcinomas*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1992. **89**(19): p. 9267-71.
118. Shayesteh, L., et al., *PIK3CA is implicated as an oncogene in ovarian cancer*. Nat Genet, 1999. **21**(1): p. 99-102.
119. Kuo, K.T., et al., *Frequent activating mutations of PIK3CA in ovarian clear cell carcinoma*. Am J Pathol, 2009. **174**(5): p. 1597-601.
120. Boyd, C. and W.G. McCluggage, *Low-grade ovarian serous neoplasms (low-grade serous carcinoma and serous borderline tumor) associated with high-grade serous carcinoma or undifferentiated carcinoma: report of a series of cases of an unusual phenomenon*. Am J Surg Pathol, 2012. **36**(3): p. 368-75.
121. Diaz-Padilla, I., et al., *Ovarian low-grade serous carcinoma: a comprehensive update*. Gynecol Oncol, 2012. **126**(2): p. 279-85.
122. Gershenson, D.M., et al., *Recurrent low-grade serous ovarian carcinoma is relatively chemoresistant*. Gynecol Oncol, 2009. **114**(1): p. 48-52.
123. Riopel, M.A., B.M. Ronnett, and R.J. Kurman, *Evaluation of diagnostic criteria and behavior of ovarian intestinal-type mucinous tumors: atypical proliferative (borderline) tumors and intraepithelial, microinvasive, invasive, and metastatic carcinomas*. Am J Surg Pathol, 1999. **23**(6): p. 617-35.
124. Ronnett, B.M., et al., *Mucinous borderline ovarian tumors: points of general agreement and persistent controversies regarding nomenclature, diagnostic criteria, and behavior*. Hum Pathol, 2004. **35**(8): p. 949-60.
125. Yemelyanova, A.V., et al., *Distinction of primary and metastatic mucinous tumors involving the ovary: analysis of size and laterality data by primary site with reevaluation of an algorithm for tumor classification*. Am J Surg Pathol, 2008. **32**(1): p. 128-38.
126. Prat, J., A. Ribe, and A. Gallardo, *Hereditary ovarian cancer*. Hum Pathol, 2005. **36**(8): p. 861-70.
127. Antoniou, A., et al., *Average risks of breast and ovarian cancer associated with BRCA1 or BRCA2 mutations detected in case Series unselected for family history: a combined analysis of 22 studies*. Am J Hum Genet, 2003. **72**(5): p. 1117-30.
128. Chen, S. and G. Parmigiani, *Meta-analysis of BRCA1 and BRCA2 penetrance*. J Clin Oncol, 2007. **25**(11): p. 1329-33.
129. Boyd, J., et al., *Clinicopathologic features of BRCA-linked and sporadic ovarian cancer*. JAMA, 2000. **283**(17): p. 2260-5.
130. Rijnsburger, A.J., et al., *BRCA1-associated breast cancers present differently from BRCA2-associated and familial cases: long-term follow-up of the Dutch MRISC Screening Study*. J Clin Oncol, 2010. **28**(36): p. 5265-73.
131. Vencken, P.M., et al., *Chemosensitivity and outcome of BRCA1- and BRCA2-associated ovarian cancer patients after first-line chemotherapy compared with sporadic ovarian cancer patients*. Ann Oncol, 2011. **22**(6): p. 1346-52.
132. Vencken, P.M., et al., *Outcome of BRCA1- compared with BRCA2-associated ovarian cancer: a nationwide study in the Netherlands*. Ann Oncol, 2013. **24**(8): p. 2036-42.
133. Reitsma, W., et al., *Clinicopathologic characteristics and survival in BRCA1- and BRCA2-related adnexal cancer: are they different?* Int J Gynecol Cancer, 2012. **22**(4): p. 579-85.

134. 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.
135. Reinhart, B.J., et al., *The 21-nucleotide let-7 RNA regulates developmental timing in Caenorhabditis elegans*. Nature, 2000. **403**(6772): p. 901-6.
136. Kozomara, A. and S. Griffiths-Jones, *miRBase: integrating microRNA annotation and deep-sequencing data*. Nucleic Acids Res, 2011. **39**(Database issue): p. D152-7.
137. Lee, Y., et al., *MicroRNA genes are transcribed by RNA polymerase II*. EMBO J, 2004. **23**(20): p. 4051-60.
138. Cai, X., C.H. Hagedorn, and B.R. Cullen, *Human microRNAs are processed from capped, polyadenylated transcripts that can also function as mRNAs*. RNA, 2004. **10**(12): p. 1957-66.
139. Borchert, G.M., W. Lanier, and B.L. Davidson, *RNA polymerase III transcribes human microRNAs*. Nat Struct Mol Biol, 2006. **13**(12): p. 1097-101.
140. Bartel, D.P., *MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function*. Cell, 2004. **116**(2): p. 281-97.
141. Friedman RC, F.K., Burge CB, Bartel DP, *Most mammalian mRNAs are conserved targets of microRNAs*. Genome Res. 2009. **19**:92–105.
142. Di Leva, G., M. Garofalo, and C.M. Croce, *MicroRNAs in cancer*. Annu Rev Pathol, 2014. **9**: p. 287-314.
143. Kim, V.N., J. Han, and M.C. Siomi, *Biogenesis of small RNAs in animals*. Nat Rev Mol Cell Biol, 2009. **10**(2): p. 126-39.
144. Kim, V.N., *MicroRNA precursors in motion: exportin-5 mediates their nuclear export*. Trends Cell Biol, 2004. **14**(4): p. 156-9.
145. Kim, V.N., *MicroRNA biogenesis: coordinated cropping and dicing*. Nat Rev Mol Cell Biol, 2005. **6**(5): p. 376-85.
146. Lee, Y., et al., *MicroRNA maturation: stepwise processing and subcellular localization*. EMBO J, 2002. **21**(17): p. 4663-70.
147. Han, J., et al., *The Drosha-DGCR8 complex in primary microRNA processing*. Genes Dev, 2004. **18**(24): p. 3016-27.
148. Yeom, K.H., et al., *Characterization of DGCR8/Pasha, the essential cofactor for Drosha in primary miRNA processing*. Nucleic Acids Res, 2006. **34**(16): p. 4622-9.
149. Hutvagner, G., et al., *A cellular function for the RNA-interference enzyme Dicer in the maturation of the let-7 small temporal RNA*. Science, 2001. **293**(5531): p. 834-8.
150. Ketting, R.F., et al., *Dicer functions in RNA interference and in synthesis of small RNA involved in developmental timing in C. elegans*. Genes Dev, 2001. **15**(20): p. 2654-9.
151. Chendrimada, T.P., et al., *TRBP recruits the Dicer complex to Ago2 for microRNA processing and gene silencing*. Nature, 2005. **436**(7051): p. 740-4.
152. Lee, Y., et al., *The role of PACT in the RNA silencing pathway*. EMBO J, 2006. **25**(3): p. 522-32.
153. John, B., et al., *Human MicroRNA targets*. PLoS Biol, 2004. **2**(11): p. e363.
154. 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.
155. Lu, J., et al., *MicroRNA expression profiles classify human cancers*. Nature, 2005. **435**(7043): p. 834-8.

156. Felli, N., et al., *MicroRNAs 221 and 222 inhibit normal erythropoiesis and erythroleukemic cell growth via kit receptor down-modulation*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2005. **102**(50): p. 18081-6.
157. Cortez, M.A., et al., *MicroRNAs in body fluids--the mix of hormones and biomarkers*. Nat Rev Clin Oncol, 2011. **8**(8): p. 467-77.
158. Boeri, M., et al., *MicroRNA signatures in tissues and plasma predict development and prognosis of computed tomography detected lung cancer*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2011. **108**(9): p. 3713-8.
159. Arroyo, J.D., et al., *Argonaute2 complexes carry a population of circulating microRNAs independent of vesicles in human plasma*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2011. **108**(12): p. 5003-8.
160. Fabbri, M., et al., *MicroRNAs bind to Toll-like receptors to induce prometastatic inflammatory response*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2012. **109**(31): p. E2110-6.
161. Calin, G.A., et al., *Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2004. **101**(9): p. 2999-3004.
162. Calin, G.A., et al., *A MicroRNA signature associated with prognosis and progression in chronic lymphocytic leukemia*. N Engl J Med, 2005. **353**(17): p. 1793-801.
163. Raveche, E.S., et al., *Abnormal microRNA-16 locus with syteny to human 13q14 linked to CLL in NZB mice*. Blood, 2007. **109**(12): p. 5079-86.
164. Merritt, W.M., et al., *Dicer, Drosha, and outcomes in patients with ovarian cancer*. N Engl J Med, 2008. **359**(25): p. 2641-50.
165. Kumar, M.S., et al., *Dicer1 functions as a haploinsufficient tumor suppressor*. Genes Dev, 2009. **23**(23): p. 2700-4.
166. Lambert, I., et al., *Monoallelic but not biallelic loss of Dicer1 promotes tumorigenesis in vivo*. Cell Death Differ, 2010. **17**(4): p. 633-41.
167. Lopez-Serra, P. and M. Esteller, *DNA methylation-associated silencing of tumor-suppressor microRNAs in cancer*. Oncogene, 2012. **31**(13): p. 1609-22.
168. Fabbri, M., et al., *Epigenetic regulation of miRNAs in cancer*. Adv Exp Med Biol, 2013. **754**: p. 137-48.
169. Saito, Y., et al., *Specific activation of microRNA-127 with downregulation of the proto-oncogene BCL6 by chromatin-modifying drugs in human cancer cells*. Cancer Cell, 2006. **9**(6): p. 435-43.
170. Lujambio, A., et al., *Genetic unmasking of an epigenetically silenced microRNA in human cancer cells*. Cancer Res, 2007. **67**(4): p. 1424-9.
171. Fabbri, M., et al., *MicroRNA-29 family reverts aberrant methylation in lung cancer by targeting DNA methyltransferases 3A and 3B*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2007. **104**(40): p. 15805-10.
172. Iliopoulos, D., et al., *Loss of miR-200 inhibition of Suz12 leads to polycomb-mediated repression required for the formation and maintenance of cancer stem cells*. Mol Cell, 2010. **39**(5): p. 761-72.
173. O'Donnell, K.A., et al., *c-Myc-regulated microRNAs modulate E2F1 expression*. Nature, 2005. **435**(7043): p. 839-43.
174. Castellano, L., et al., *The estrogen receptor-alpha-induced microRNA signature regulates itself and its transcriptional response*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2009. **106**(37): p. 15732-7.
175. Bast, R.C., Jr., B. Hennessy, and G.B. Mills, *The biology of ovarian cancer: new opportunities for translation*. Nat Rev Cancer, 2009. **9**(6): p. 415-28.

176. Corney, D.C., et al., *MicroRNA-34b and MicroRNA-34c are targets of p53 and cooperate in control of cell proliferation and adhesion-independent growth*. *Cancer Res*, 2007. **67**(18): p. 8433-8.
177. Costinean, S., et al., *Pre-B cell proliferation and lymphoblastic leukemia/high-grade lymphoma in E(mu)-miR155 transgenic mice*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006. **103**(18): p. 7024-9.
178. Medina, P.P., M. Nolde, and F.J. Slack, *OncomiR addiction in an in vivo model of microRNA-21-induced pre-B-cell lymphoma*. *Nature*, 2010. **467**(7311): p. 86-90.
179. Kota, J., et al., *Therapeutic microRNA delivery suppresses tumorigenesis in a murine liver cancer model*. *Cell*, 2009. **137**(6): p. 1005-17.
180. Pramanik, D., et al., *Restitution of tumor suppressor microRNAs using a systemic nanovector inhibits pancreatic cancer growth in mice*. *Mol Cancer Ther*, 2011. **10**(8): p. 1470-80.
181. Trang, P., et al., *Regression of murine lung tumors by the let-7 microRNA*. *Oncogene*, 2010. **29**(11): p. 1580-7.
182. Cimmino, A., et al., *miR-15 and miR-16 induce apoptosis by targeting BCL2*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2005. **102**(39): p. 13944-9.
183. Ambs, S., et al., *Genomic profiling of microRNA and messenger RNA reveals deregulated microRNA expression in prostate cancer*. *Cancer Res*, 2008. **68**(15): p. 6162-70.
184. Rocco, A.M., et al., *MicroRNAs 15a and 16 regulate tumor proliferation in multiple myeloma*. *Blood*, 2009. **113**(26): p. 6669-80.
185. Musumeci, M., et al., *Control of tumor and microenvironment cross-talk by miR-15a and miR-16 in prostate cancer*. *Oncogene*, 2011. **30**(41): p. 4231-42.
186. Pouliot, L.M., et al., *Cisplatin sensitivity mediated by WEE1 and CHK1 is mediated by miR-155 and the miR-15 family*. *Cancer Res*, 2012. **72**(22): p. 5945-55.
187. Guan, H.Y., et al., *Characterization and functional analysis of the human microRNA let-7a2 promoter in lung cancer A549 cell lines*. *Molecular Biology Reports*, 2011. **38**(8): p. 5327-5334.
188. Hu, X.W., et al., *The Heterochronic microRNA let-7 Inhibits Cell Motility by Regulating the Genes in the Actin Cytoskeleton Pathway in Breast Cancer*. *Molecular Cancer Research*, 2013. **11**(3): p. 240-250.
189. Kluiver, J., et al., *BIC and miR-155 are highly expressed in Hodgkin, primary mediastinal and diffuse large B cell lymphomas*. *Journal of Pathology*, 2005. **207**(2): p. 243-249.
190. van den Berg, A., et al., *High expression of B-cell receptor inducible gene BIC in all subtypes of Hodgkin lymphoma*. *Genes Chromosomes & Cancer*, 2003. **37**(1): p. 20-28.
191. O'Connell, R.M., et al., *Sustained expression of microRNA-155 in hematopoietic stem cells causes a myeloproliferative disorder*. *Journal of Experimental Medicine*, 2008. **205**(3): p. 585-594.
192. Volinia, S., et al., *A microRNA expression signature of human solid tumors defines cancer gene targets*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2006. **103**(7): p. 2257-2261.
193. Poliseno, L., et al., *Identification of the miR-106b similar to 25 MicroRNA Cluster as a Proto-Oncogenic PTEN-Targeting Intron That Cooperates with Its Host Gene MCM7 in Transformation (vol 3, artn ra29, 2010)*. *Science Signaling*, 2010. **3**(123).

194. Wang, X.H., et al., *Aberrant Expression of Oncogenic and Tumor-Suppressive MicroRNAs in Cervical Cancer Is Required for Cancer Cell Growth*. Plos One, 2008. **3**(7).
195. Lee, E.J., et al., *Expression profiling identifies microRNA signature in pancreatic cancer*. International Journal of Cancer, 2007. **120**(5): p. 1046-1054.
196. Nikiforova, M.N., et al., *MicroRNA expression profiling of thyroid tumors: Biological significance and diagnostic utility*. Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 2008. **93**(5): p. 1600-1608.
197. Yanaihara, N., et al., *Unique microRNA molecular profiles in lung cancer diagnosis and prognosis*. Cancer Cell, 2006. **9**(3): p. 189-198.
198. Ota, A., et al., *Identification and characterization of a novel gene, C13orf25, as a target for 13q31-q32 amplification in malignant lymphoma*. Cancer Research, 2004. **64**(9): p. 3087-3095.
199. Hayashita, Y., et al., *A polycistronic microRNA cluster, miR-17-92, is overexpressed in human lung cancers and enhances cell proliferation*. Cancer Research, 2005. **65**(21): p. 9628-9632.
200. Ventura, A. and T. Jacks, *MicroRNAs and Cancer: Short RNAs Go a Long Way*. Cell, 2009. **136**(4): p. 586-591.
201. Petrocca, F., et al., *E2F1-regulated microRNAs impair TGF beta-dependent cell-cycle arrest and apoptosis in gastric cancer*. Cancer Cell, 2008. **13**(3): p. 272-286.
202. Fornari, F., et al., *MiR-221 controls CDKN1C/p57 and CDKN1B/p27 expression in human hepatocellular carcinoma*. Oncogene, 2008. **27**(43): p. 5651-61.
203. Di Leva G, G.P., Piovan C, Nganku A, Garofalo M, et al, *MicroRNA cluster 221–222 and estrogen receptor interactions in breast cancer*. J Natl Cancer Inst. 2010; 102:706–21.
204. Pallante, P., et al., *MicroRNA deregulation in human thyroid papillary carcinomas*. Endocr Relat Cancer, 2006. **13**(2): p. 497-508.
205. Felicetti, F., et al., *The promyelocytic leukemia zinc finger-microRNA-221/-222 pathway controls melanoma progression through multiple oncogenic mechanisms*. Cancer Res, 2008. **68**(8): p. 2745-54.
206. Stinson, S., et al., *miR-221/222 targeting of trichorhinophalangeal 1 (TRPS1) promotes epithelial-to-mesenchymal transition in breast cancer*. Sci Signal, 2011. **4**(186): p. pt5.
207. le Sage, C., et al., *Regulation of the p27(Kip1) tumor suppressor by miR-221 and miR-222 promotes cancer cell proliferation*. EMBO J, 2007. **26**(15): p. 3699-708.
208. Garofalo, M., et al., *EGFR and MET receptor tyrosine kinase-altered microRNA expression induces tumorigenesis and gefitinib resistance in lung cancers*. Nat Med, 2011. **18**(1): p. 74-82.
209. Madhavan, D., et al., *Circulating miRNAs with prognostic value in metastatic breast cancer and for early detection of metastasis*. Carcinogenesis, 2016. **37**(5): p. 461-70.
210. Sand, M., et al., *Comparative microarray analysis of microRNA expression profiles in primary cutaneous malignant melanoma, cutaneous malignant melanoma metastases, and benign melanocytic nevi*. Cell Tissue Res, 2013. **351**(1): p. 85-98.
211. Yan, H., et al., *Molecular pathways and functional analysis of miRNA expression associated with paclitaxel-induced apoptosis in hepatocellular carcinoma cells*. Pharmacology, 2013. **92**(3-4): p. 167-74.

212. Zheng, G., et al., *Serum microRNA panel as biomarkers for early diagnosis of colorectal adenocarcinoma*. Br J Cancer, 2014. **111**(10): p. 1985-92.
213. Dai, F., et al., *The global expression profiling in esophageal squamous cell carcinoma*. Genomics, 2017. **109**(3-4): p. 241-250.
214. Yoshino, H., et al., *Downregulation of microRNA-1274a induces cell apoptosis through regulation of BMPR1B in clear cell renal cell carcinoma*. Oncol Rep, 2018. **39**(1): p. 173-181.
215. Halvorsen, A.R., et al., *Evaluation of Prognostic and Predictive Significance of Circulating MicroRNAs in Ovarian Cancer Patients*. Dis Markers, 2017. **2017**: p. 3098542.
216. Wang, G.J., et al., *The role of microRNA-1274a in the tumorigenesis of gastric cancer: accelerating cancer cell proliferation and migration via directly targeting FOXO4*. Biochem Biophys Res Commun, 2015. **459**(4): p. 629-35.
217. Kristensen, H., et al., *Novel diagnostic and prognostic classifiers for prostate cancer identified by genome-wide microRNA profiling*. Oncotarget, 2016. **7**(21): p. 30760-71.
218. Moltzahn, F., et al., *Microfluidic-based multiplex qRT-PCR identifies diagnostic and prognostic microRNA signatures in the sera of prostate cancer patients*. Cancer Res, 2011. **71**(2): p. 550-60.
219. Hessvik, N.P., et al., *Profiling of microRNAs in exosomes released from PC-3 prostate cancer cells*. Biochim Biophys Acta, 2012. **1819**(11-12): p. 1154-63.
220. Cherni, I. and G.J. Weiss, *miRNAs in lung cancer: large roles for small players*. Future Oncology, 2011. **7**(9): p. 1045-1055.
221. Le Large, T.Y.S., et al., *Circulating microRNAs as diagnostic biomarkers for pancreatic cancer*. Expert Review of Molecular Diagnostics, 2015. **15**(12): p. 1525-1529.
222. Vidal, D.O., et al., *The Role of microRNAs in Medulloblastoma*. Pediatric Hematology and Oncology, 2013. **30**(5): p. 367-378.
223. Ferracin, M., A. Veronese, and M. Negrini, *Micromarkers: miRNAs in cancer diagnosis and prognosis*. Expert Review of Molecular Diagnostics, 2010. **10**(3): p. 297-308.
224. Hernando, E., *microRNAs and cancer: role in tumorigenesis, patient classification and therapy*. Clinical & Translational Oncology, 2007. **9**(3): p. 155-160.
225. Jing Li, L.L., Limin X et al, *Expression of microRNA-1260b in non-smallcell lung carcinoma and the clinical significance*. Chin J Exp Surg, 2015; **32**(3): 624–26.
226. Hirata, H., et al., *Genistein downregulates onco-miR-1260b and upregulates sFRP1 and Smad4 via demethylation and histone modification in prostate cancer cells*. Br J Cancer, 2014. **110**(6): p. 1645-54.
227. Deng-Rui Liu , Q.-L.G., Ming-Tai Gao, Lei Jiang, Hong-Xia Kang, *miR-1260b is a Potential Prognostic Biomarker in Colorectal Cancer*. 2016.
228. Krutzfeldt, J., et al., *Specificity, duplex degradation and subcellular localization of antagomirs*. Nucleic Acids Res, 2007. **35**(9): p. 2885-92.
229. Esau C, D.S., Murray SF, Yu XX, Pandey SK, et al, *miR122 regulation of lipid metabolism revealed by in vivo antisense targeting*. Cell Metab. 2006; **3**:87–98.
230. Lanford, R.E., et al., *Therapeutic silencing of microRNA-122 in primates with chronic hepatitis C virus infection*. Science, 2010. **327**(5962): p. 198-201.
231. Bader, A.G., D. Brown, and M. Winkler, *The promise of microRNA replacement therapy*. Cancer Res, 2010. **70**(18): p. 7027-30.

232. Grimm D, S.K., Jopling CL, Storm TA, Pandey K, et al., *Fatality in mice due to oversaturation of cellular microRNA/short hairpin RNA pathways*. *Nature*. . 2006; 441:537–41. .
233. Wiggins, J.F., et al., *Development of a lung cancer therapeutic based on the tumor suppressor microRNA-34*. *Cancer Res*, 2010. **70**(14): p. 5923-30.
234. Liu, X.M., et al., *Loss of oocyte Rps26 in mice arrests oocyte growth and causes premature ovarian failure*. *Cell Death Dis*, 2018. **9**(12): p. 1144.
235. Chen, A., et al., *Mutations in the mitochondrial ribosomal protein MRPS22 lead to primary ovarian insufficiency*. *Hum Mol Genet*, 2018. **27**(11): p. 1913-1926.
236. Ahmed, M. and N. Rahman, *ATM and breast cancer susceptibility*. *Oncogene*, 2006. **25**(43): p. 5906-11.
237. Zhang, R., et al., *The aberrant upstream pathway regulations of CDK1 protein were implicated in the proliferation and apoptosis of ovarian cancer cells*. *J Ovarian Res*, 2017. **10**(1): p. 60.
238. Bray, F., et al., *Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries*. *CA Cancer J Clin*, 2018. **68**(6): p. 394-424.
239. Yazici, H., *Functions of miRNAs in the Development, Diagnosis, and Treatment of Ovarian Carcinoma*. 2018(Current Trends in Cancer Management).
240. Li, H., et al., *Tissue miR-193b as a Novel Biomarker for Patients with Ovarian Cancer*. *Med Sci Monit*, 2015. **21**: p. 3929-34.
241. Sun, Y., et al., *MiR-506 inhibits multiple targets in the epithelial-to-mesenchymal transition network and is associated with good prognosis in epithelial ovarian cancer*. *J Pathol*, 2015. **235**(1): p. 25-36.
242. al., K.Y.e., *The hypoxiarelated microRNA miR-199a-3p displays tumor suppressor functions in ovarian carcinoma*. 2015.
243. Joshi, H.P., et al., *Dynamin 2 along with microRNA-199a reciprocally regulate hypoxia-inducible factors and ovarian cancer metastasis*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2014. **111**(14): p. 5331-6.
244. Chen, R., et al., *Regulation of IKKbeta by miR-199a affects NF-kappaB activity in ovarian cancer cells*. *Oncogene*, 2008. **27**(34): p. 4712-23.
245. al., L.L.e., *miR-152 is involved in the proliferation and metastasis of ovarian cancer through repression of ERBB3*. 2018.
246. Iorio, M.V. and C.M. Croce, *Commentary on microRNA Fingerprint in Human Epithelial Ovarian Cancer*. *Cancer Res*, 2016. **76**(21): p. 6143-6145.
247. Xu, S.H., et al., *miR-424(322) reverses chemoresistance via T-cell immune response activation by blocking the PD-L1 immune checkpoint*. *Nature Communications*, 2016. **7**.
248. Choi, Y.E., et al., *Platinum and PARP Inhibitor Resistance Due to Overexpression of MicroRNA-622 in BRCA1-Mutant Ovarian Cancer*. *Cell Rep*, 2016. **14**(3): p. 429-439.
249. Shapira, I., et al., *Circulating biomarkers for detection of ovarian cancer and predicting cancer outcomes*. *Br J Cancer*, 2014. **110**(4): p. 976-83.
250. Zavesky, L., et al., *Evaluation of Cell-Free Urine microRNAs Expression for the Use in Diagnosis of Ovarian and Endometrial Cancers. A Pilot Study*. *Pathol Oncol Res*, 2015. **21**(4): p. 1027-35.
251. Wei, J., et al., *MicroRNA-205 promotes cell invasion by repressing TCF21 in human ovarian cancer*. *J Ovarian Res*, 2017. **10**(1): p. 33.

252. Cowden Dahl, K.D., et al., *The epidermal growth factor receptor responsive miR-125a represses mesenchymal morphology in ovarian cancer cells*. Neoplasia, 2009. **11**(11): p. 1208-15.
253. Ying, X., et al., *MicroRNA-125b Suppresses Ovarian Cancer Progression via Suppression of the Epithelial-Mesenchymal Transition Pathway by Targeting the SET Protein*. Cell Physiol Biochem, 2016. **39**(2): p. 501-10.
254. Park, S.M., et al., *The miR-200 family determines the epithelial phenotype of cancer cells by targeting the E-cadherin repressors ZEB1 and ZEB2*. Genes Dev, 2008. **22**(7): p. 894-907.
255. Ye, Z., et al., *TET3 inhibits TGF-beta1-induced epithelial-mesenchymal transition by demethylating miR-30d precursor gene in ovarian cancer cells*. J Exp Clin Cancer Res, 2016. **35**: p. 72.
256. MacLean, J.A., 2nd, et al., *WNT7A Regulation by miR-15b in Ovarian Cancer*. PLoS One, 2016. **11**(5): p. e0156109.
257. Shi, M., et al., *MicroRNA-200 and microRNA-30 family as prognostic molecular signatures in ovarian cancer: A meta-analysis*. Medicine (Baltimore), 2018. **97**(32): p. e11505.
258. Cherni, I. and G.J. Weiss, *miRNAs in lung cancer: large roles for small players*. Future Oncol, 2011. **7**(9): p. 1045-55.
259. |, N.L.M.M.J.D.D., et al., *Alterations in patient plasma microRNA expression profiles following resection of metastatic melanoma*.
260. Latchana, N., et al., *Global microRNA profiling for diagnostic appraisal of melanocytic Spitz tumors*. J Surg Res, 2016. **205**(2): p. 350-358.
261. Xu, L., et al., *MiR-1260b promotes the migration and invasion in non-small cell lung cancer via targeting PTPRK*. Pathol Res Pract, 2018. **214**(5): p. 776-783.
262. Hirata, H., et al., *Correction: Genistein downregulates onco-miR-1260b and upregulates sFRP1 and Smad4 via demethylation and histone modification in prostate cancer cells*. Br J Cancer, 2018. **119**(3): p. 388.

HAM VERİLER

FORMLAR

**ETİK
KARARI****KURUL**

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU**



Sayı : 761
Konu: Prof. Dr. Hülya YAZICI hk.

Tarih : 28.05.2018

Sayın Prof. Dr. Hülya YAZICI
Onkoloji Enstitüsü

İlgi : Onkoloji Enstitüsünün 30/03/2018 gün ve 121110 sayılı yazısı

Sorumlu araştırmacılığını üstlendiğiniz ve Arash Adamnejad GHAFOR' un yürüteceği 2018/712 dosya numaralı "Over Kanserlerinde miR1260 mikroRNA Ailesinin Araştırılması" başlıklı çalışma kurulumuzun 25/05/2018 tarih ve 10 sayılı toplantısında görüşülerek etik yönden uygun bulunmuş olup, tutanaklar ekte sunulmuştur.

Bilgilerinizi rica ederim.


Prof. Dr. A.Yağz ÜRESİN
İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar
Etik Kurul Başkanı

Eki: İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmaları Etik Kurulu Karar Formu

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI "Over Kanserlerinde miR1260 mikroRNA Ailesinin Araştırılması"

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	☒		
BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	☒			Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
OLGU RAPOR FORMU	☐			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ	☐			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	☐		Açıklama
	TÜRKÇE ETİKET ÖRNEĞİ	☐		
	SİGORTA	☐		
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☒		
	BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	☐		
	HASTA KARTI/GÜNLÜKLERİ	☐		
	ILAN	☐		
	YILLIK BİLDİRİM	☐		
	SONUÇ RAPORU	☐		
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	☐		
DİĞER:	☒		Anabilim Dalı Başkanlığından Üst Yazı ve Akademik Kurul Kararı, Literatür Kaynağı, Sorumluluk Paylaşım Belgesi, İlgili Elemanların Bilgilendirildiğine Dair Belge, CV, CD	
KARAR BİLGİLERİ	Karar No:10	Tarih: 25/05/2018	İstanbul Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü Temel Onkoloji Anabilim Dalı Kansere Genetiği Bilim Dalında görevli Prof. Dr. Hülya YAZICI'nın sorumluluğunda ve Arash Adamnejad GHAFOUR'un yürüteceği yukarıda bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan Etik Kurul üye tam sayısının 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				
Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	Araştırma ile ilişki *	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 ilişki
 ** :Toplantıda Bulunma

İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Klinik araştırmalar Etik kurulu 13.04.2013 tarih, 28617 sayılı Resmi Gazetede yayınlanan Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik çerçevesinde kurulmuş ve T.C.Sağlık Bakanlığı Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu tarafından onaylanmıştır. İlgili yönetmelik kapsamında kalan araştırmalar Sağlık Bakanlığından izin almak zorundadır. Yönetmelik kapsamı dışında kalan araştırmalar ise Etik Kurul bünyesinde oluşturulmuş 5 kişilik altı komisyon tarafından değerlendirilmekte olup Sağlık Bakanlığı iznine tabi değildir.

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU KARAR FORMU

ETİK KURUL 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	"Over Kanserlerinde miR1260 mikroRNA Ailesinin 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 □

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

OVER KANSERLERİNDE MİR-1260 MİKRORNA AİLESİNİN
ARAŞTIRILMASI

ORJİNALLIK RAPORU

%7	%2	%2	%4
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	Submitted to Istanbul University Öğrenci Ödevi	%3
2	www.ncbi.nlm.nih.gov İnternet Kaynağı	<%1
3	www.gazeteguncel.com İnternet Kaynağı	<%1
4	www.cuilab.cn İnternet Kaynağı	<%1
5	Latchana, Nicholas, Kelly Regan, John Harrison Howard, Jennifer H. Aldrink, Mark A. Ranalli, Sara B. Peters, Xiaoli Zhang, Alejandro Gru, Philip R.O. Payne, Lorena P. Suarez-Kelly, and William E. Carson. "Global microRNA profiling for diagnostic appraisal of melanocytic Spitz tumors", Journal of Surgical Research, 2016. Yayın	<%1
6	Submitted to Gaziantep Aniversitesi Öğrenci Ödevi	<%1

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Arash	Soyadı	ADAMNEJAD GHAFOR
Doğ.Yeri	İRAN(URMIYE)	Doğ.Tar.	13-06-1992
Uyruğu	Yabancı öğrenci	TC Kim No	99014616062
Email	arash.adamnezhad@gmail.com	Tel	5439159576

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora		
Yük.Lis.		
Lisans	Urmia İslamik Azad Üniversitesi Biyoteknoloji Bölümü	2015
Lise	Urmia Shahed 1 lisesi	2010

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
İngilizce	Çok iyi	Çok iyi	Çok iyi		
Farsça	Çok iyi	Çok iyi	Çok iyi		
Azerice	Çok iyi	Çok iyi	Çok iyi		
Türkçe	Çok iyi	Çok iyi	Çok iyi		
İspanyolca	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