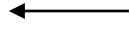


Adınızı soyadınızı giriniz

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 KANSERLİ HASTALAR İLE SAĞLIKLI KİŞİLERİN
PERİFERİK DOLAŞIMINDA MİR-3653-3P'NİN
EKSPRESYON DÜZEYİNİN KARŞILAŞTIRILARAK
İNCELENMESİ**

FATMA SEHER PEKTOPAL

**DANIŞMAN
PROF. DR. HÜLYA YAZICI**

**İ.Ü. SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ,
TEMEL ONKOLOJİ A.B.D. KANSER GENETİĞİ B.D.**

İSTANBUL-2021

TEZ ONAYI

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



BEYAN



İTHAF

Sevgili aileme ithaf ediyorum

TEŞEKKÜR

İ.Ü. Onkoloji Enstitüsü Müdürümüz *Prof. Dr. Ahmet KİZİR*'e,

Değerli Temel Onkoloji Anabilim Dalı Başkanımız, *Prof. Dr. Hatice Bilge BECERİR*'e,

Yüksek Lisans eğitimimiz boyunca bizlerin alanımızda tecrübe kazanması için çabalayan, destek olan ve tez çalışmamın her aşamasında beni yönlendirip, yardımcı olan Sayın Hocam *Prof. Dr. Hülya YAZICI*'ya,

Temel Onkoloji Anabilim Dalımızda bulunan Kanser Genetiği Bilim dalında görev yapan, desteklerini ve yardımlarını esirgemeyen Dr. Şeref Buğra TUNÇER ve Dr. *Demet AKDENİZ*'e,

Yüksek lisans eğitimi ve öğretimi süresince ders aldığım tüm hocalarıma,

Bana her zaman destek olan aileme teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 37278

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	ii
BEYAN.....	iii
İTHAF.....	iv
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar LİSTESİ.....	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ	ix
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	x
ÖZET	xii
ABSTRACT.....	xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Kadın Üreme Organları.....	4
2.2. Over Kanseri	4
2.2.1. Over Kanserinin Alt Tipleri	5
2.2.2. Over Kanserinde Genetik Değişiklikler	8
2.3. MikroRNA	9
2.3.1. miRNA'ların Fonksiyonu ve Biyogenezi	9
2.4. Kanser ve miRNA.....	11
2.4.1. Over Kanserinde miRNA.....	14
2.4.2. miR-3653-3p	15
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	16
3.1. Gereçler.....	16
3.1.1. Kitler ve Kimyasallar	16
3.1.2. Cihazlar	17
3.1.3. Tampon Çözeltiler ve Bilgisayar Programları	18
3.2. Yöntemler	19
3.2.1. Periferik Kandan Lenfosit İzolasyonu	19
3.2.2. RNA İzolasyonu.....	19
3.2.3. cDNA Sentezi	20

3.2.4. Real-Time qPCR.....	21
3.2.5. Biyoistatistik Analiz.....	22
4. BULGULAR.....	23
4.1. miR-3653-3p'nin Ekspresyon Analiz Sonuçlarının Değerlendirilmesi	23
4.2. qPCR ile Çoğaltılan miR-3653-3p Ekspresyon Eğrileri.....	27
4.3. miR-3653-3p'nin Ekspresyon Düzeyi ile Hastaların Klinik Bilgileri Arasındaki İlişki	29
4.4. miR-3653-3p'nin Ekspresyon Düzeyi ile Tümör Histolojik Alt Tipleri Arasındaki İlişki	34
4.5. miR-3653-3p'nin Ekspresyon Düzeyi ile Hastaların Aile Hikayeleri Arasındaki İlişki	35
4.6. ROC Analizi.....	36
4.7. Sağkalım Analizi.....	37
4.8. STRING Analizi	38
5. TARTIŞMA	40
KAYNAKLAR	44
HAM VERİLER	51
FORMLAR	52
6. GÖNÜLLÜ ONAY FORMU	54
ETİK KURUL KARARI	55
PATENT HAKKI İZNİ	56
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	57
ÖZGEÇMİŞ	58

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: Over, fallop tüpü ve periton kanseri için FIGO sınıflandırması.	7
Tablo 2-2:Kanserler için potansiyel biyobelirteç olarak kullanılabileceği bildirilen dolaşımdaki tümör ilişkili miRNA'lar.	13
Tablo 3-1:Kitler ve kimyasallar	16
Tablo 3-2:Kullanılan cihazlar	17
Tablo 3-3:Tampon çözeltiler ve bilgisayar programları	18
Tablo 3-4:ID3EAL cDNA sentez kiti içeriği.....	21
Tablo 3-5:RT reaksiyonu için PCR siklusu	21
Tablo 3-6:ID3EAL miRNA qPCR kiti içeriği.....	22
Tablo 3-7:Real-Time qPCR siklusu.....	22
Tablo 4-1:Over kanseri hastalarının $2^{-\Delta\Delta CT}$ değerleri.....	23
Tablo 4-2:Kontrol grubunun $2^{-\Delta\Delta CT}$ değerleri.	25
Tablo 4-3:Hasta ve kontrol grupları arasında miR-3653-3p gen ifade düzeyinin Mann-Whitney U Testi Değerlendirmesi	26
Tablo 4-4:miR-3653-3p ekspresyon düzeylerinin tanı ile karşılaştırılması.....	29
Tablo 4-5:miR-3653-3p'nin ekspresyon düzeyi ile klinik değişkenler arasındaki ilişki.	32
Tablo 4-6:miR-3653-3p ekspresyon düzeylerinin tümör histolojik alt tipleri ile karşılaştırılması.	35
Tablo 4-7:Ailedeki kanser hikayesi ile miR-3653-3p ekspresyon düzeyi arasındaki ilişki	36
Tablo 4-8:Over kanserli hasta ve sağlıklı grubun ayrılmasında miR-3653-3p'nin ROC-AUC değeri.	36
Tablo 4-9:miR-3653-3p ekspresyon düzeyleri ile sağkalım süreleri arasındaki korelasyon.	37

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1:Kadın üreme sistemi.....	4
Şekil 2-2:miRNA biyogenezi.....	11
Şekil 4-1:Over kanseri hastaları ve kontrol gruplarında miR-3653-3p ekspresyon seviyelerinin karşılaştırılması.	27
Şekil 4-2:miR-3653-3p ekspresyonunun over kanserli hasta (OH) örneklerinde qPCR eğrileri.....	28
Şekil 4-3:miR-3653-3p ekspresyonunun kontrol örneklerinde (OK) qPCR eğrileri.....	28
Şekil 4-4:Over kanserli hasta ve sağlıklı grubun ayrılmasında miR-3653-3p'nin ROC-AUC eğrisi.	37
Şekil 4-5:miR-3653-3p ekspresyon düzeyleri ile sağkalım süreleri arasındaki korelasyon grafiği.....	38
Şekil 4-6:STRING analizi protein etkileşimlerinin network içindeki etkileşimlerinin görünümü.....	39

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

aCGH: Array Comparative Genomic Hybridization
AGO2: Argonaute RISC Catalytic Component 2
ATM: Ataxia Telangiectasia Mutated
BFB: Bromfenol Blue
BRCA1/2: Breast Cancer 1/2
cDNA: Tamamlayıcı DNA
CHEK2: Checkpoint kinase 2 geni
c-myc: Cellular myc
DGCR8: DiGeorge Syndrome Critical Region 8 Protein
DNA: Deoksiribonükleik Asit
dsRBD: Double-Stranded RNA-Binding Domain
EDTA: Etilendiamin Tetraasetik Asit
EOC: Epithelial Ovary Cancer
erbB-2: Erb-B2 Receptor Tyrosine Kinase 2
ESCC: Esophageal Squamous Cell Carcinoma
FIGO: International Federation of Gynecology and Obstetrics
GTP: Guanozin Trifosfat
HCC: Hepatocellular Carcinoma
HPV: Human Papilloma Virus
IARC: International Agency for Research on Cancer
K-ras: Kirsten-rous Avian Sarcoma
LUAD: Lung Adenocarcinoma
miRNA: MikroRNA
mL: Mililitre
MLH1: MutL Homolog 1
MSH: MutS Homolog
ng: nanogram
OSE: Over Surface Epithel

P53: Tumor protein 53

PBS: Phosphate-Buffered Saline

PNET: Pancreatic Neuroendocrine Tumours

pol II: Polimeraz II

pre-miRNA: AGO2: Argonaute RISC Catalytic Component 2

pri-miRNA: Primer miRNA

PTEN: Phosphatase and Tensin Homolog

PZR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

RB: Retinoblastoma

RISC: RNA-Induced Silencing Complex

RNA: Ribonükleik Asit

ROC: Receiver Operator Characteristic

ROC-AUC: ROC Eğrisi Altında Kalan Alan

RPM: Revolutions per Minute

RT: Reverse Transkriptaz

TEB: Tris-EDTA-Borik Asit

TP53: Tumor Protein 53

UTR: Untranslated Region

μL: mikrolitre

ÖZET

Pektopal, F.S. (2021). Over Kanserli Hastalar ile Sağlıklı Kişilerin Periferik Dolaşımında miR-3653-3p'nin Ekspresyon Düzeyinin Karşılaştırılarak İncelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Temel Onkoloji ABD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

Over kanseri geç evrede tanı alan, erken ve sık nüks eden bir kanser türüdür ve hala etkin bir tedavisi bulunmamaktadır. Bu nedenle hastalıksız geçen zaman (PFS) ve sağkalım bu hastalık grubunda son derece kısadır. Hastalığın erken tanısı ve tedavisinin takibinde etkin olarak kullanılacak hassas ve spesifik biyobelirteçler bulunmamaktadır. Klinikte halihazırda kullanılanlar ise hastalığın erken tanı ve tedavi takibinde, minimal rezidüel hastalığın hassas bir şekilde belirlenmesi açısından son derece yetersizdir. Over kanserinin erken tanı ve tedavisinin geliştirilmesine ilişkin moleküler düzeyde çok sayıda çalışma yapılmaktadır. miRNA ekspresyon çalışmaları bu açıdan kanser hastalığında geniş yer tutmaktadır. Kodlanmayan küçük RNA sınıfında yer alan miRNA'ların deregülasyonunun veya disfonksiyonunun kanser gelişimine katkısı olduğu birçok çalışmayla gösterilmiştir. Bununla birlikte over kanserinde bir dizi miRNA'nın ekspresyonlarının farklılık gösterdiği bilinmektedir. Kanser araştırmalarında bilinen miRNA'ların ekspresyon paternlerinin hasta ve sağlıklı kişiler arasında karşılaştırılarak incelenmesi hastalıklara özgü biyolojik belirteçlerin bulunması açısından son derece önemli olup, over kanserinin patogenezinde bu moleküllerinin rollerinin de belirlenmesi anlamlıdır. Sunulan tez çalışmasında 150 yüksek riskli over kanserli hasta ile 100 sağlıklı kişiden oluşan control grubunda miR-3653-3p'nin ekspresyon profili araştırılmış ve her iki grup birbiri ile karşılaştırılmıştır. Over kanser hastalarının periferik kanında, miR-3653-3p ekspresyon düzeyinin kontrol gruplarından 9,49 kat fazla olduğu saptanmış ve sonuçların istatistiksel açıdan anlamlı ($p=0,00$) olduğu gösterilmiştir. Bu sonuçlara ilave olarak, miR-3653-3p'nin over kanseri için periferik kanda non-invaziv olmayan bir biyobelirteç olarak kullanılıp kullanılamayacağı, ROC analizi ile değerlendirilmiş ve söz konusu molekülün istatistiksel olarak anlamlı ($p=0,000$) bir biyobelirteç olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Over kanseri, miRNA ekspresyonu, miR-3653-3p, biyobelirteç.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 37278

ABSTRACT

Pektopal, F.S. (2021). Comparison of the Expression Level of miR-3653-3p in Peripheral Circulation of Patients with Ovarian Cancer and Healthy People. İstanbul University, Institute of Health Science, Basis Oncology D. Master Degree Thesis. İstanbul.

Ovarian cancer is a late-stage cancer with early and frequent recurrence, and there is still no effective treatment. Therefore, time to disease free (PFS) and survival are extremely short in this disease group. There are no sensitive and specific biomarkers to be used effectively in the early diagnosis and treatment of the disease. Those currently used in the clinic are extremely insufficient for the early diagnosis and treatment follow-up of the disease, in terms of accurately determining the minimal residual disease. Numerous studies are conducted at the molecular level regarding the development of early diagnosis and treatment of ovarian cancer. In this respect, miRNA expression studies have a large place in cancer disease. Many studies have shown that deregulation or dysfunction of miRNAs in the small non-coding RNA class contributes to cancer development. Many studies have shown that deregulation or dysfunction of miRNAs contributes to cancer development. However, it is known that the expressions of a number of miRNAs differ in ovarian cancer. However, it is known that the expressions of a number of miRNAs differ in ovarian cancer. Examining the expression patterns of known miRNAs in cancer research by comparing them between patients and healthy people is extremely important in terms of finding disease-specific biological markers, and determining the roles of these molecules in the pathogenesis of ovarian cancer is also significant. In the thesis study presented, the expression profile of miR-3653-3p was investigated in a control group consisting of 150 high-risk ovarian cancer patients and 100 healthy individuals, and both groups were compared with each other. It was found that the expression level of miR-3653-3p in the peripheral blood of ovarian cancer patients was 9.49 times higher than the control groups and the results were shown to be statistically significant ($p = 0.00$). In addition to these results, whether miR-3653-3p can be used as a non-invasive biomarker in peripheral blood for ovarian cancer was evaluated by ROC analysis and it was shown that the molecule in question was a statistically significant biomarker.

Key Words: Overian carcinoma, miRNA expression, miR-3653-3p, biomarker.

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No: 37278

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Çeyrek asırlık hızlı ilerlemeler neticesinde kanser araştırmaları, zengin ve karmaşık bilgi birikimine neden olmuş ve kanserin genomdaki dinamik değişiklikleri içeren bir hastalık olduğu ortaya çıkmıştır. Onkogenleri üreten ve tümör baskılayıcı genlerin işlev kaybına neden olan mutasyonların keşfi, insan ve hayvan kanser hücrelerinin deneysel modellerinde kanser fenotiplerinin ortaya çıkarılmasıyla tanımlanmıştır. Bir kanser hücrelerini diğer normal hücrelerden ayıran temel özellikler; kendi kendine büyüme sinyali üretmek, büyüme inhibitörlerine duyarsızlık, apoptozdan kaçınma, sınırsız replikatif potansiyel, sürekli anjiyogenez, doku invazyonu ve metastaz olarak tanımlanmıştır (Hanahan & Weinberg, 2000). Tümörlerin; nokta mutasyonu, gen amplifikasyonu, delesyonu ve translokasyonu gibi moleküler genetik veya genomik değişikliklerin bir sonucu olarak geliştiği ve ilerlediği iyi bilinmektedir. Bu değişikliklerin analizi onkogenler, tümör baskılayıcı genler ve DNA hasar onarımında yer alan genler dahil olmak üzere kanserle ilişkili yeni genlerin tanımlanmasına yol açmıştır (Cho & Shih, 2009).

IARC'nin (International Agency for Research on Cancer) 2020 yılı verilerine göre, over kanseri dünyada kadınlar arasında en sık teşhis edilen sekizinci kanserdir, Türkiye'de ise yedinci kanserdir ve her yıl diğer kadın üreme sistemi kanserlerinden daha fazla ölüme neden olmaktadır. Yüksek insidans ve ölüm oranlarına rağmen, bu hastalığın etiyojisi tam olarak anlaşılamamıştır. Over kanseri risk faktörleri arasında yaş ve ailede hastalık öyküsü bulunmaktadır. Koruyucu faktörler ise artan doğum sayısı, oral kontraseptif kullanımı ve ooferektomi içerir. Emzirme, inkomplet gebelikler, histerektomi ve tüp ligasyonu gibi ameliyatlara over kanserine karşı zayıf bir koruyucu etki sağlayabilir. İnfertilite, doğum yapmamış kadınlar arasında over kanseri riskine katkıda bulunabilir. Over kanseri için diğer olası risk faktörleri arasında menopoza sonrası hormon replasman tedavisi, sigara içimi ve alkol tüketimi gibi faktörler bulunur. Over kanserinin nedenlerinin çoğu henüz tanımlanmamıştır (Permuth-Wey & Sellers, 2009). Over kanserleri genellikle köken aldıkları hücre tiplerine göre: epitelyal, stromal veya germ hücresi olarak sınıflandırılır. Epitel over kanserinin ayrıca seröz, müsinöz, endometrioid ve berrak hücreli histolojik alt tipleri vardır. Yukarıda belirtilen risk faktörlerinin yanı sıra, *BRCA1/BRCA2* genlerindeki mutasyonların taşıyıcısı olmak,

kalıtsal non-polipozis kolorektal kanser sendromundan etkilenmek gibi ailede hastalık öyküsü olması da riski artırır (Weiderpass & Labrèche, 2012).

Yüksek ölüm nedeninin başlıca nedeni, geç başvuru nedeniyle karın içinde geniş çapta metastaz olmasıdır. Tedavi gören kadınların önemli bir kısmı tam yanıt verse de başvuranlarda ilerlemiş hastalığa sahip kadınların çoğunda 18 ay içerisinde nüks gerçekleşmektedir. Epitelyal over kanseri tedavisi cerrahi, kemoterapi, görüntüleme, histopatoloji ve palyasyon uzmanlıklarının multidisipliner çalışmasını gerektirir. Epitelyal over tümörlerinin histopatolojisi heterojendir ve her alt tipi, moleküler olarak hedeflenmiş tedavilerin etkinliğini öngörme açısından değerlendirilen genetik mutasyonları barındırır (Jayson, Kohn, Kitchener, & Ledermann, 2014).

Son 5 yılda, ekspresyon profileme teknolojileri büyük ölçüde gelişmiş, böylece kanser etiyolojisi ve biyobelirteçler hakkındaki bilgiler, klinik uygulamalarla genişlemiştir. Bununla birlikte bu teknolojiler, yeni biyobelirteçlerin çoğuna teşhis, ilaç geliştirme ve kişiye özel tedavi için potansiyel kullanım sağlamış olsa da, şimdiye kadar bu neoplazinin kökenindeki ayrıntılı mekanizmalarla ilgili çok az fikir vermişlerdir (Iorio et al., 2007).

Geçtiğimiz birkaç yılda, mikroRNA'nın (miRNA) kanser hücrelerinde önemi anlaşılmıştır. miRNA ekspresyonunun kontrolü, hücresel mekanizmanın kararlı halini sürdürmek için gereklidir. Son zamanlarda, ribonükleazın hem plazmada hem de serumda mevcut olmasıyla birlikte, hücre dışı miRNA'ların hem sağlıklı hem de hasta kişilerin kanında dolaştığı keşfedilmiştir. Dolaşımdaki miRNA'ların çoğu apoptotik cisimler, mikroveziküller veya eksozomlar gibi lipid veya lipoprotein komplekslerinin içerisinde ve bu nedenle oldukça stabildir. Kanser hastalarının kanında dolaşan miRNA'ların varlığı, miRNA'ların yeni bir teşhis belirteci olarak hizmet edebilme olasılığını artırmıştır. Bununla birlikte, salgı mekanizması ve biyolojik işlevi ile ilgili bilgi sınırlı olduğundan, hücre dışı miRNA'ların varlığının anlamı büyük ölçüde belirsizliğini korumaktadır (Kosaka, Iguchi, & Ochiya, 2010).

miRNA'lar, küçük endojen kodlamayan RNA'ların ana sınıfını temsil eder ve tüm insan genlerinin neredeyse üçte birini kontrol eder. miRNA'lar 19-25 nükleotid uzunluğundadırlar ve hedef mRNA'ların translasyonunu 3' translate edilmemiş bölgelerine bağlanarak negatif regüle ederler. Hedef genlerin mikroRNA tarafından transkripsiyonel susturulması, homolog mRNA'nın bölünmesi veya protein sentezinin

spesifik inhibisyonu ile meydana gelebilir. MikroRNA'lar; proliferasyon, diferansiyasyon, gelişme ve hücre ölümü gibi hücresel süreçlerin kritik düzenleyicileridir. MikroRNA profili ile analiz edilen tüm tümörler, aynı dokudaki normal hücrelere kıyasla önemli ölçüde farklı mikroRNA özellikleri sergilemiştir. Kötü huylu ve normal hücreler arasındaki miRNA genlerinin yaygın farklı ekspresyonunun nedeni, miRNA genlerindeki kromozomal değişiklikler, DNA'da nokta mutasyonları, epigenetik mekanizmalar veya miRNA üretiminden sorumlu mekanizmalardaki değişiklikler gibi farklı etkenlerle açıklanabilir. (Di Leva & Croce, 2013; Taylor & Gercel-Taylor, 2008).

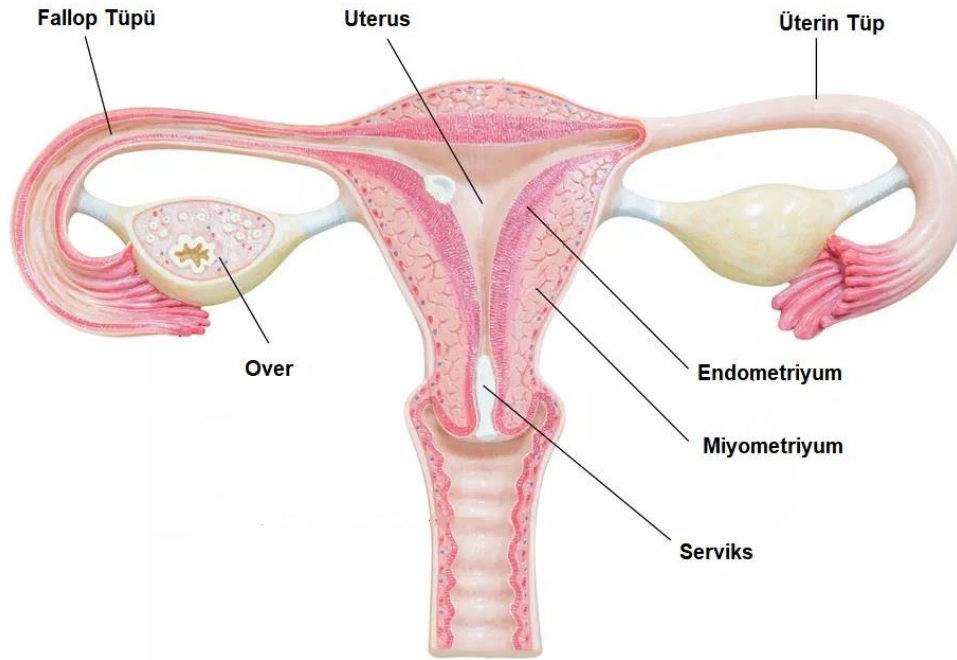
Rutin uygulamalarda over kanserinin erken teşhisinin zor olması ve dolayısıyla geç evrelerde tespit edilmesi sebebi ile ölümcül olan over kanserini periferik kan gibi kolaylıkla hastadan alınabilen bir materyal kullanarak erken evrede teşhis edebilecek biyobelirteçlere gereksinim duyulmaktadır. Tuncer ve ark. tarafından İ.Ü. BAP koordinatörlüğü tarafından desteklenen (Proje No: TDK-2016-20140) ve 2020 yılında yayınlanan çalışmada (Tuncer et al., 2020) yüksek riskli over kanserli vakalarda, miRNA mikroarray analizi ile 2549 adet miRNA'da ekspresyon farklılıkları belirlenmiş ve bu miRNA'lar arasından 99 miRNA'nın ekspresyonunun over kanseri erken tanısı ve etiyolojisinde anlamlı olduğu gösterilmiştir. Planlanan tez çalışmasında, over kanser etiyolojisinde önemli olduğunu düşündüğümüz miR-3653-3p'nin ekspresyon profili, 150 sporadik ve ailesel yüksek riskli over kanserli grup ve yaş, cinsiyet, etnik köken olarak eşleştirilmiş 100 sağlıklı kontrol grubunda araştırılmış ve farklılıklar her iki grup arasında karşılaştırılmıştır. Çalışmada söz konusu miR-3653-3p'nin yüksek riskli over kanserli hastaların erken tanısında ve hastalığın prognozunda kullanılabilecek biyobelirteç olma potansiyeli araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kadın Üreme Organları

Overler, pelvisin yan duvarındaki overian fossada yer alan, utero-overian bağıyla uterusu ve infundibulum pelvik bağıyla pelvik yan duvarına bağlanan iki oval organdır. Her bir over, iç medulla ve foliküller ve stroma içeren dış korteksten oluşur.

Genital organlar gonadlar, üreme kanalları ve dış genital organlardan oluşur. Genel olarak cinsiyet belirlemeyi etkileyen faktörler transkripsiyonel düzenleyicilerdir (Graziottin & Gambini, 2015) (Şekil 2.1).



Şekil 2-1:Kadın üreme sistemi (Bradford, 2017)

2.2. Over Kanseri

Over kanserleri genellikle granüloz teka hücrelerinde veya germ hücrelerinde gerçekleşir. Çoğu over kanseri, overlerin mezotelyal yüzeyinden veya kortikal inklüzyon kistleri oluşturmak için bu yüzeyin over korteksine invajinasyonundan

kaynaklanır. Normal over yüzey mezotelyumu bağımsız bir fenotiptir ve ovülasyon ile bağlantılı olan sinyallere yanıt olarak epitel veya mezenkimal fenotiplere modüle etme potansiyeline sahiptir. Seröz borderline tümörler ayrı bir kategoridedir ve çoğu durumda klinik olarak belirgin bir karsinoma ilerlememektedir. Müsinöz karsinomlar ise bazı durumlarda önceden var olan iyi huylu ve borderline müsinöz tümörlerden kaynaklanabilir (Feeley & Wells, 2001).

Over kanseri risk faktörleri arasında persistant ovülasyon, aile öyküsü, yaş ve kalıtsal *BRCA1* mutasyonuna sahip olmak gibi farklı faktörler yer almaktadır (Corney & Nikitin, 2008).

2.2.1. Over Kanserinin Alt Tipleri

Benign, borderline ve malign dahil olmak üzere overe ait farklı tümör türleri bulunmaktadır. Over tümörlerinin yaklaşık %80'i benign tümörlerdir ve malign ile borderline tümörlerin neredeyse %90'ı 40 yaşından sonra teşhis edilmektedir. Over tümörleri, over hücresi orijinine göre sınıflandırılmaktadır. Bunlar; yaygın olarak görülen epitelyal tümörler (~%60), germ hücreleri tümörleri (%30), seks kord/stromal tümörler (%8) ve over metastatik tümörleridir. Epitelyal tümörler, malign over tümörlerinin yaklaşık %90'ını oluştururlar ve yüksek dereceli seröz adenokarsinomlar en yaygın olanlarıdır (%70). Over kanseri, endometriyal kanserlerden sonra en sık görülen jinekolojik malignitedir ve ölüm oranı yüksektir. Erken teşhis zor olduğu için hastaların dörtte üçünden fazlasında, tanı anında over tümörlerinin pelvis veya abdomene yayıldığı görülür (IARC, 2020).

Over tümörünün tipi hastanın yaşına göre değişir. Epitelyal hücre tümörleri, genellikle 50 yaşın üzerindeki kadınlarda görülürken, stromal hücre tümörleri her yaşta kadında ortaya çıkabilir, ancak androblastomlar gibi bazı tümörler ergenlik döneminde daha yaygın olabilir. Germ hücreli tümörler ise genellikle bir yaşından küçük hastalarda ve 15-19 yaş arası hastalarda görülmektedir (Roett & Evans, 2009).

Shih ve arkadaşlarının over tümör progresyon modeline göre over tümörleri, tip I ve tip II olarak iki geniş kategoriye ayrılır. Tip I tümörleri arasında düşük dereceli seröz karsinom, müsinöz karsinom, endometrioid karsinom, malignant Brenner

tümörleri ve berrak hücreli karsinom bulunur. Tip II tümörleri, orta derecede ve zayıf şekilde farklılaşmış seröz karsinom (yüksek dereceli seröz karsinom), malignant karışık mezodermal tümörler (karsinosarkomlar) ve farklılaşmamış karsinomlardan oluşur (Shih & Kurman, 2004).

Epitelyal over tümörleri öncelikle hücre tipine göre seröz, müsinöz, endometrioid, berrak hücreli, transisyonel ve skuamöz hücreli tümörler olarak sınıflandırılır (Prat & Mutch, 2018). Epitelyal over kanseri (EOC), en yaygın over kanseri türüdür ve görülme sıklığı seks kord stromal tümörleri ve germ hücreli tümörlerden çok daha fazladır. EOC'nin bilinen kaynağı, overin yüzeyini kaplayan tek bir kübik hücre tabakası olan over yüzey epiteli (OSE) (Auersperg, Wong, Choi, Kang, & Leung, 2001). Yaşamın erken dönemlerinde, OSE genellikle pürüzsüzdür, ancak yaşla birlikte giderek kıvrılır ve bu da inklüzyon kistlerinin sayısında artışa neden olur. İnvazyonların sıkıştırılmasıyla veya postovülatör yara iyileşmesi sırasında epitel hücrelerinin yakalanmasıyla oluşabilen bu tür kistler, karsinom oluşması için bir öncü lezyon olabilir (Corney & Nikitin, 2008).

Ancak yapılan bir diğer çalışma, over kanseri gelişiminin iki farklı yolunun daha olduğunu göstermiştir. Yapılan çalışmada, over karsinomlarının %54'ünün önceden var olan, iyi huylu görünen kistlerden veya endometriotik kistlerden geliştiği görülmüştür. Bu hastalarda, transvajinal ultrasonografi kullanılarak yapılan takipte, boyutta bir artış ve/veya kistte katı bir kısım görülmüştür. Bununla birlikte, karsinomlu hastaların kalan %46'sının tanıdan önce saptanabilir anormalliklerinin olmadığı görülmüştür ve bu da bazı over karsinomlarının önceden var olan kistlerden gelişmediğini, ancak normal görünen bir overden kaynaklanıyor gibi görüldüğünü düşündürmektedir (Horiuchi et al., 2003).

Cinsiyet kordonu stromal tümörleri; teka hücrelerinde, diğer stromal hücrelerde ve granüloza hücrelerinde ve bunların testis seks kord benzerleri olan Sertoli ve Leydig hücrelerinde ortaya çıktığı düşünülen over tümörleridir. Bu tümörler genellikle endokrin belirtiler ile karakterize olup tüm over tümörlerinin yaklaşık %8'ini ve tüm kötü huylu over tümörlerinin yaklaşık %7'sini oluştururlar (V. W. Chen et al., 2003).

Over germ hücreleri, testis germ hücresi tümörleri ile aynı olan bir dizi tümörün kökenidir. Yolk kesesi ile gelişmekte olan gonadlar arasındaki göçleri sırasında mahsur kalan veya yoldan çıkan germ hücreleri, gonadların dışındaki germ hücresi tümörlerine

dönüşebilir. Bu tümörler tüm over tümörlerinin yaklaşık dörtte birini oluştururken, kötü huylu over tümörlerin yalnızca %3-7'sini oluşturur. Çocuklarda ve ergenlerde gelişen over neoplazilerinin yarısından fazlası (%60) germ hücresi kökenlidir ve bunların üçte biri kötü huyludur. Fakat yetişkinlerde germ hücreli tümörler nispeten seyrek ve bunların büyük çoğunluğu iyi huyludur, çoğu olgun kistik teratomlardır (dermoid kistler). Embriyonal veya somatik yönde farklılaşan germ hücre tümörleri teratomlara neden olmaktadır (V. W. Chen et al., 2003; Prat & Mutch, 2018).

FIGO (International Federation of Gynecology and Obstetrics)'nın 2018 tarihli raporuna göre over, fallop tüpü ve periton kanseri sınıflandırılması Tablo 2.1'de verilmiştir.

Tablo 2-1: Over, fallop tüpü ve periton kanseri için FIGO sınıflandırması (Berek, Kehoe, Kumar, & Friedlander, 2018).

Evre I: Overler veya fallop tüp(ler) ile sınırlı tümör
IA: Tümör 1 over (kapsül sağlam) veya fallop tüpü ile sınırlı; over veya fallop tüpü yüzeyinde tümör yok.
IB: Tümör, her iki over (kapsüller sağlam) veya fallop tüpleri ile sınırlı; over veya fallop tüpü yüzeyinde tümör yok.
IC: Tümör; cerrahi dökülme, kapsül yırtılmış veya over veya fallop tüpü yüzeyinde tümör olması gibi durumlardan biri ile her iki yumurtalık veya fallop tüpü ile sınırlıdır.
Evre II: Tümör, 1 veya her iki over/fallop tüpleri ile pelvik ekstansiyon (pelvik ağzın altında) veya periton kanserini kapsar.
IIA: Uterus ve/veya fallop tüpleri ve/veya overler üzerindeki ekstansiyon ve/veya implantlar.
IIB: Diğer pelvik intraperitoneal dokulara ekstansiyon.
Evre III: Tümör, sitolojik veya histolojik olarak doğrulanmış peritona pelvis dışında yayılma ve/veya retroperitoneal lenf düğümlerine metastaz ile 1 veya her iki over/fallop tüpü veya periton kanserini kapsar.
IIIA1: Yalnızca pozitif retroperitoneal lenf düğümleri (sitolojik veya histolojik olarak kanıtlanmış)
IIIA2: Pozitif retroperitoneal lenf düğümleri olan veya olmayan mikroskobik ekstrapelvik (pelvik kenarın üstünde) periton tutulumu

IIIB: Retroperitoneal lenf düğümlerine metastazlı veya metastazsız, pelvisin ötesinde 2 cm'ye kadar en büyük boyutta makroskopik peritoneal metastaz
IIIC: Retroperitoneal lenf düğümlerine metastazlı veya metastazsız, pelvisin ötesine 2 cm'den fazla makroskopik peritoneal metastaz (her iki organda parankimal tutulum olmaksızın tümörün karaciğer ve dalak kapsülüne uzanmasını içerir)
Evre IV: Peritoneal metastazlar hariç uzak metastaz
Evre IVA: Pozitif sitolojili plevral efüzyon
Evre IVB: Karın dışı organlara parankimal metastazlar ve metastazlar (kasık lenf düğümleri ve karın boşluğunun dışındaki lenf düğümleri dahil)

2.2.2. Over Kanserinde Genetik Değişiklikler

Over karsinomlarıyla ilgili yapılan moleküler çalışmalar, onkogenlerde ve *BRCA1*, *p53*, *nm23*, *PTEN*, *K-ras*, *c-myc* ve *c-erbB-2* gibi tümör baskılayıcı genlerde çeşitli genetik ve epigenetik değişiklikler olduğunu ve ayrıca çeşitli kromozomal lokuslarda heterozigotluk kaybı olduğunu göstermiştir (Horiuchi et al., 2003).

Kalıtsal over kanserlerinin çoğu, *BRCA1* veya *BRCA2* genlerindeki patojenik mutasyonlardan kaynaklanmaktadır. Yüksek dereceli musinöz olmayan over kanserinde, kadınların en az %15'inde *BRCA1/2* germline mutasyonları bulunmaktadır ve daha da önemlisi, bu kadınların yaklaşık %40'ının ailesinde meme veya over kanseri öyküsü yoktur. Yüksek dereceli musinöz olmayan invaziv over kanseri tüm kadınlara, ailelerinde meme veya over kanseri geçmişi olmasa bile genetik test önerilmelidir (Berek et al., 2018; Yazici et al., 2018). Germline *BRCA2* mutasyonlarının genel sağkalım oranları, germ hattı *BRCA1* mutasyonlarına kıyasla fazladır, bunun nedeni muhtemelen *BRCA2*'nin fazla platin duyarlılığına sahip olması ve dolayısıyla da tedavide *BRCA1*'e göre kanser hücrelerinin daha fazla öldürülebilir olmasıdır. *BRCA* mutasyonunun gen içindeki yeri ve mutasyon tipi de over kanseri gelişme riskini etkileyebilir. Germline *BRCA1* veya *BRCA2* mutasyonları olan hastalarda meme kanseri veya over kanseri gelişme riski ve tanı anındaki ortalama yaş; mutasyon tipine, nükleotid pozisyonuna ve mutasyonun fonksiyonel sonucuna göre değişebilir. *BRCA1*

ve *BRCA2*'nin yanı sıra, DNA onarımında yer alan *RAD51C*, *RAD51D*, *BRIP1*, *BARD1* ve *PALB2* gibi *BRCA* yolaklarının bir parçası olan genlerdeki germline mutasyonlar da over kanseri gelişme riskini artırabilirken; *CHEK2*, *MRE11A*, *RAD50*, *ATM* ve *TP53* gibi genlerdeki kalıtsal mutasyonların da over kanseri gelişme riskini artırdığı bilinmektedir (Matulonis et al., 2016).

Lynch sendromu gibi diğer kalıtsal bozukluklar da over kanseri riskini artırabilir. Bu sendrom, DNA mismatch onarım genlerinden birinde (*MLH1*, *PMS2*, *MSH2* veya *MSH6*) germline mutasyonunun kalıtımı ile ortaya çıkan bir otozomal dominant ailesel kanser sendromudur (Crispens, 2012).

Diğer insan kanserlerinin %80'inde olduğu gibi over kanserinde de p53 ve RB yolaklarındaki değişiklikler sıkça görülür ve kötü prognozla ilişkilidirler (Corney, Flesken-Nikitin, Choi, & Nikitin, 2008).

2.3. MikroRNA

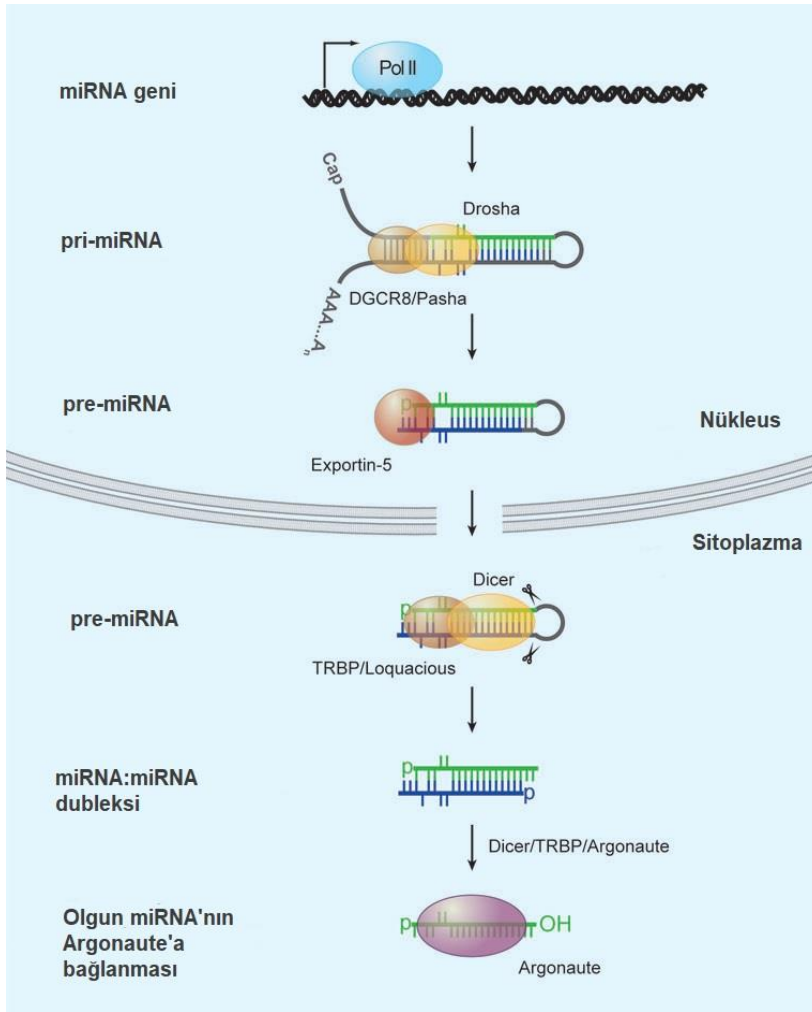
Asıl olarak *Caenorhabditis elegans*'ta keşfedilen MicroRNA (miRNA), insanlar dahil çoğu ökaryotta bulunur. miRNA'nın insan genomunun %1-5'ini oluşturduğu ve protein kodlayan genlerin en az %30'unu düzenlediği düşünülmektedir. Bugüne kadar insan genomu içinde çok sayıda farklı miRNA molekülü tanımlanmıştır. miRNA moleküllerinin spesifik hedefleri ve biyolojik fonksiyonları hakkında çok az şey bilinmesine rağmen, miRNA'nın çeşitli hücresel ve metabolik yolları kontrol eden gen ekspresyonunun düzenlenmesinde çok önemli bir rol oynadığı bilinmektedir (MacFarlane & R. Murphy, 2010).

2.3.1. miRNA'ların Fonksiyonu ve Biyogenezi

miRNA'lar, çoğu somatik dokuda baskın küçük bir RNA sınıfıdır. Yaklaşık 22 nükleotid uzunluğundadırlar ve iki RNase III proteinin, Drosha ve Dicer tarafından aktif hale getirilmesiyle oluşturulurlar. RNA susturmada miRNA, baz eşleşmesi yoluyla hedef mRNA'lar ile kılavuz görevi görürken; AGO proteinleri, translasyonel

baskılamayı, mRNA deadenilasyonunu ve mRNA bozulmasını indükleyen faktörleri bir araya getirerek efektör olarak işlev görür. miRNA bağlanma bölgeleri genellikle mRNA'ların 3' translate edilmemiş bölgesinde (untranslated region-UTR) bulunur. miRNA'ların 5' ucundaki 2. nükleotitten 7. nükleotide kadar uzanan hedef tanıma için çok önemli olan bu bölge "miRNA seed" olarak adlandırılmaktadır. miRNA'nın downstream nükleotidleri (özellikle nükleotid 8 ve daha az önemli olan nükleotidler 13-16) de hedeflerle baz eşleşmesine katkıda bulunur. İnsan protein kodlama genlerinin %60'ından fazlası en az bir korunmuş miRNA bağlama bölgesi içerir ve çok sayıda korunmamış bölgenin de bulunduğu göz önüne alındığında, çoğu protein kodlayan gen, miRNA'ların kontrolü altında olabilir (Ha & Kim, 2014).

RNA polimeraz III tarafından kopyalanabilen Alu-tekrarlayan elemanlar içinde yer alan miRNA'lar hariç miRNA genleri, boyutları yüzlerce nükleotitten onlarca kilobaza kadar değişebilen primer miRNA (pri-miRNA) içeren bir stem-loop oluşturmak için RNA polimeraz II (Pol II) tarafından transkribe edilir. mRNA'lar gibi, Pol II transkripsiyonlu pri-miRNA'lar da 5 cap yapısı içerir, poliadenile edilir ve splice edilebilir. Pri-miRNA çekirdek içinde, ana bileşenleri RNase III enzimi Drosha ve çift sarmallı RNA bağlanma alanı (double-stranded RNA-binding domain - dsRBD) proteini DGCR8/Pasha olan Mikroişlemci (Microprocessor) adı da verilen bir multiprotein kompleksi tarafından işlenir. Bu kompleks, tek sarmallı/çift sarmallı RNA birleşiminden olan mesafeyi ölçerek pri-miRNA sapını böler ve yaklaşık 70-nt hairpin precursor miRNA (pre-miRNA) üretir. RNase III aracılı bölünmenin özelliği olan 2-ntlik 3' uçlu pre-miRNA, Ran-GTP'ye bağlı bir mekanizma yoluyla sitoplazmaya taşıyan Exportin5 tarafından tanınır. Daha sonra, pre-miRNA, başka bir RNase III enzimi olan Dicer tarafından olgun 22-nt miRNA: miRNA dupleksini üretmek için bölünür ve dsRBD proteinleri ile etkileşime giren TRBP, Argonaute proteini Ago2'yi alır. Dicer ile birlikte, bir ribonükleoprotein kompleksi olan RNA kaynaklı susturma kompleksinin (RNA-induced silencing complex-RISC) birleşimini başlatan trimerik bir kompleks oluştururlar. 5' ucunda nispeten düşük baz eşleşmesi stabilitesine sahip miRNA ipliği RISC'ye dahil edilirken miRNA ipliği bozulur. miRNA, RISC'ye dahil edildikten sonra kompleksi, baz eşleştirme etkileşimleriyle RNA hedeflerine yönlendirir. Bölünmenin gerçekleşmesi için RISC kompleksinin, endonükleolitik bölünme yapabilen bir Argonaute proteini içermesi gereklidir (Bushati & Cohen, 2007)(Şekil 2.2).



Şekil 2-2:miRNA biyogenezi (Bushati & Cohen, 2007).

2.4. Kanser ve miRNA

miRNA kontrolü altındaki olaylar arasında hematopoez, kardiyogenez, blastosist implantasyonu ve nöronal gelişim yer almaktadır. Fakat araştırmaların çoğu, miRNA'ların hastalıkta, özellikle de kanserde oynayabileceği olası rollere odaklanmıştır (Corney & Nikitin, 2008).

Birçok miRNA farklılaşmış hücre tiplerinde ifade edildiğinden, genel miRNA düzeyleri dokunun farklılaşma durumunu yansıtabilir ve belki de Drosha'nın işlenmesindeki bir yanlışın neden olduğu düşünülebilir. Önemli ölçüde farklı miRNA profilleri çeşitli tümör türlerinde görülebilir, bu da miRNA profillemesinin tanısal ve

belki de prognostik potansiyele sahip olduğunu düşündürür. Bununla birlikte, çoğu miRNA'nın, tümör oluşumunda gerçekten aktif bir rol oynayıp oynamadığı bilinmemektedir (Bushati & Cohen, 2007).

Tanımlanan ilk onkogenik miRNA'lardan biri miRNA-17-92 kümesidir ve oncomiRNA-1 olarak da bilinir. Küme, insanlarda bir polisistronik transkriptten yedi miRNA'ya (miRNA-17- 5p, miRNA-17-3p, miRNA-18a, miRNA-19a, miRNA-20a, miRNA-19b-1 ve miRNA-92-1) işlenen 13q31.3 kromozomunda bulunur. miRNA-17-92 kümesi; lenfomalar, akciğer kanserleri ve diğer kanserler dahil olmak üzere çeşitli kanserlerde upregüle edilir. Onkogenik miRNA'ların bir başka örneği, hemen hemen tüm kanser türlerinde upregüle edilen miRNA-21'dir. Onkogenik miRNA'ların aksine, malign hücrelerde ekspresyonu azalmış miRNA'lar, onkogenleri ve/veya hücre farklılaşmasını veya apoptozu inhibe eden genleri negatif olarak inhibe ederek bir tümör baskılayıcı olarak işlev görebilir. Tümör baskılayıcı genler olarak görev yapan miRNA'lar, Ras ve HMGA2'yi negatif olarak düzenleyen *let-7*; B hücresi lenfoma 2 proteinini negatif olarak regüle eden miRNA-15a ve miRNA-16-1; apoptoza veya hücre senesense yol açan p53'e bağlı bir şekilde DNA hasarı ve onkogenik stres tarafından indüklenen miRNA-34'tür (Dong et al., 2013).

Colin ve arkadaşları, 3q14'te bulunan miR-15a ve miR-16a'nın, artan sağkalım ile karakterize bir bozukluk olan B hücreli kronik lenfositik lösemili hastalarda sıklıkla silindiğini ve/veya downregüle edildiğini göstermişlerdir. Yapılan çalışmada, miR genlerinin sıklıkla kırılma bölgelerinde ve aynı zamanda minimal heterozigotluk kaybı bölgelerinde, minimal amplifikasyon bölgelerinde (minimal amplikonlar) veya ortak kırılma noktası bölgelerinde bulunduğunu bildirilmiştir. Genel olarak, araştırılan miR genlerinin %52,5'inin kanserle ilgili genomik bölgeler ile kırılma bölgelerinde olduğu gösterilmiştir (Calin et al., 2004).

miRNA-155, tek bir miRNA'nın tümörigenezi indüklemek için yeterli olduğuna dair bir örnektir. miRNA-155'in aşırı ekspresyonuna sahip transgenik fareler, B hücreli lösemiye ve yüksek dereceli lenfomaya ilerleyen prelösemik bir pre-B hücre proliferasyonuna neden olur. Bu da, miR-155'in rolünün poliklonal ekspansiyonu indüklemek olduğunu ve tam transformasyon için sekonder genetik değişikliklerin olmasını kolaylaştırdığını göstermektedir (Costinean et al., 2006).

Barshack ve arkadaşları, formalinle fikse edilmiş ve parafine gömülmüş 76 primer akciğer kanseri ve metastatik tümörle yaptıkları çalışmada, primer tümörlerde hsa-miR-182'nin, metastatik tümörlerde hsa-miR-126'nın aşırı eksprese edildiğini bulmuş ve miRNA'ların akciğer tümörü sınıflandırması için biyobelirteç olarak kullanılabileceğini göstermişlerdir (Barshack et al., 2010). Szafranska ve arkadaşları da formalinle fikse edilmiş ve parafine gömülmüş örneklerle yaptığı çalışmada, pankreas kanseri ile referans aldıkları normal dokularda yaygın 46 miRNA'nın farklı düzeylerde eksprese edildiğini göstermiş, miRNA'ların yeni tanı, prognoz ve tedavi için biyobelirteç olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir (Szafranska et al., 2008). Tetzlaff ve arkadaşları, formalinle fikse edilmiş ve parafine gömülmüş dokularla yaptıkları çalışmada, papiller tiroid karsinomada 13 miRNA'nın upregüle edildiğini ve 26 miRNA'nın downregüle edildiğini göstermiş ve potansiyel biyobelirteç olarak kullanılabileceklerini belirtmişlerdir (Tetzlaff et al., 2007). Fridman ve arkadaşları, böbrek tümörleri için yaptıkları çalışmada, hsa-miR-210, miR221, miR139-5p, hsa-miR-200c, hsa-miR-126 ve hsa-miR-31 mikro RNA'larının biyobelirteç olarak kullanılabileceğini bildirmiştir (Fridman et al., 2010).

Yapılan farklı çalışmalarda eksprese edilen miRNA'lar Tablo 2-2'de verilmiştir.

Tablo 2-2:Kanserler için potansiyel biyobelirteç olarak kullanılabileceği bildirilen dolaşımdaki tümör ilişkili miRNA'lar (Wang, Zhang, Liu, & Sen, 2014).

Çalışma Dizayını	Vücut Sıvısı	Farklı Eksprese Edilen miRNA	Method
Epitelyal OC ile sağlıklı control	Serum	miR-21, miR-29a, miR-126, miR-92, miR-93	miR array, qRT-PCR
Yüksek dereceli seröz OC ile normal	Serum	miR-200 ailesi	qRT-PCR
Seröz OC ile normal	Serum	miR-132, miR-26a, let-7b, miR-145	miR array, qRT-PCR
Over kanseri ile benign tümörlerin farklı evreleri	Serum	8-miRNA, miR-21, miR-141, miR-200	miR array
Endometriozis ve endometriosisle ilişkili OC ile normal	Plazma	10-miRNA	miR array, qRT-PCR

2.4.1. Over Kanserinde miRNA

Zhang ve arkadaşları, kanserde miRNA kopya sayısı değişikliklerinin daha ayrıntılı bir görünümünü elde etmek için over kanseri, meme kanseri ve melanomda kazanılan/kaybedilen miRNA lokuslarını tanımlamak için dizi tabanlı karşılaştırmalı genomik hibridizasyon (array comparative genomic hybridization-aCGH) kullanmıştır. Yapılan analizde, miRNA genlerinde kopya sayısı değişiklikleri saptanmıştır. miRNA kopya değişikliklerinin miRNA ekspresyonuyla ilişkili olduğunu göstermişlerdir. Tüm tümör tiplerinde *miR-17-92* lokusunun kaybı görülmüş, ayrıca *miR-15a/16-1* lokusunun overlerin % 23,9'unda ve meme kanserlerinin % 24,7'sinde kaybolduğu görülmüştür. Ayrıca sırasıyla over tümörlerinin %24,8 ve %51,5'inde *Dicer1* ve *Argonaute2* lokuslarının kopya sayısında artış olduğu gözlemlenmiştir (Lin Zhang et al., 2006).

Iorio ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, over kanserinde en fazla aşırı eksprese edilen miRNA'ların *miR-200a*, *miR-141*, *miR-200c* ve *miR200b* olduğunu down-regüle edilen miRNA'ların ise *miR-199a*, *miR-140*, *miR-145* ve *miR-125b1* olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmanın sonuçları, miRNA'ların insan EOC'nin patogeneğinde etkili olabileceğini göstermiştir (Iorio et al., 2007).

Tunçer ve arkadaşları, fenotipik olarak diskordant monozigotik ikizleri karşılaştırdıkları çalışmada, *miR-1273 g-3p*, *miR-1305*, *miR-197-3p*, *miR-3651*, *miR6131* ve *miR-92a-3p*'nin ekspresyonlarının up-regüle; *let-7i - 5p*, *miR125a-5p*, *miR-15b-5p*, *miR-22 - 3p*, *miR-3135b*, *miR320d*, *miR-342-3p*, *miR-4430*, *miR-451a*, *miR-664b-5p* ve *miR-766-3p*'nin ekspresyonlarının down-regüle edildiğini göstermiştir. Çalışmada ayrıca, *BRCA1* gen mutasyon taşıyıcıları ile ilgili down-regüle ve up-regüle edilen miRNA'lar belirlenmiştir. *BRCA1* gen mutasyonu varlığı ile ilişkili *miR-4449*, *miR-4653-3p*, *miR-486-5p*, *miR-5739*, *miR-6165* ve *miR-874-3p* dahil olmak üzere toplam 6 miRNA'nın ekspresyonunun up-regüle edildiği ve *miR-126-3p*, *miR-320a*, *miR320b*, *miR-320c*, *miR-320d*, *miR-320e*, *miR-324-3p*, *miR3656*, *miR-4284*, *miR-4428*, *miR-4516*, *miR-4741*, *miR484*, *miR-564*, *miR-6089*, *miR-6869-5p*, *miR-6891-5p*, *miR-7107-5p* ve *miR-7847-3p* dahil olmak üzere toplam 19 miRNA'nın ifadesinin down-regüle edildiği bulunmuştur. Ayrıca, *let-7a5p*, *let-7b-5p*, *miR-181a-5p*, *miR-197-3p*, *miR-21-5p*, *miR-223-3p*, *miR-23a-3p*, *miR-27a-3p*, *miR-3653-3p*, *miR-425-5p*, *miR-572*,

miR-574-5p, *miR-6127* ve *miR7641*'den oluşan 14 miRNA'nın ifadesinin up-regüle edildiği ve *let-7i-5p*, *miR- 25a-5p*, *miR-15b-5p*, *miR-150-5p*, *miR-22-3p*, *miR-328-3p*, *miR-4430*, *miR-451a*, *miR-4697-5p*, *miR-664b-5p* ve *miR-766-3p*'den oluşan 11 miRNA'nın ifadesinin down-regüle edildiği tespit edilmiştir (Tuncer et al., 2020).

2.4.2. miR-3653-3p

miR-3653-3p, CUAAGAAGUUGACUGAAG sekansına sahip olan hedef genleri arasında *CCND2*, *MYLIP*, *MTMR4*, *SMAD5*, *PTEN* genlerinin yer aldığı bir kodlamayan küçük RNA molekülüdür. Bu miRNA'nın Tunçer ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, epitelyal over kanserinde up-regüle edildiği bildirilmiştir (Tuncer et al., 2020).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Deney grubu, İstanbul Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü, Kanser Genetiği Bilim Dalı'na başvuran hastalardan 150 over kanserli hasta ile hasta popülasyonu ile yaş, cinsiyet ve etnik köken olarak eşleştirilmiş 100 sağlıklı kişiden oluşmaktadır. Deneyde, grubu oluşturan kişilerin periferik kan örnekleri kullanılmıştır. Kan örneği alınmadan önce kişilere bilgilendirilmiş onam formu imzalatılmıştır. Tez çalışması için İstanbul Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan onay alınmıştır (Etik Kurul Onayı: 28 sayılı, 13/11/2020 tarihli toplantı, Dosya No: 2020/1570).

Çalışmaya alınan hasta ve kontrol grubuna ait RNA'lardan hastalara ait olanları OH, sağlıklı bireylere ait olanları OK olarak kodlanmıştır.

3.1. Gereçler

3.1.1. Kitler ve Kimyasallar

Çalışmada kullanılan kitler ve malzemeler tedarikçileriyle birlikte Tablo 3-1'de verilmiştir (Tablo 3-1).

Tablo 3-1:Kitler ve kimyasallar

BIOCHROM - Biocoll Separating Solution (Ficoll)
EDTA - Etilen-Diamin-Tetraasetikasit
SIGMA - Etidyum Bromid (EtBr), Bromfenol Mavisi (BFB)
RIEDEL DE HAEN - Etanol
ZymoResearch - Quick-RNA™ MiniPrep Kit
Universal cDNA Synthesis Kit II
ID3EAL hsa-mir-3653-3p Exiqon RT primer 1plex
ID3EAL Individual miRNA qPCR Assay
ID3EAL miRNA qPCR MasterMix

3.1.2. Cihazlar

Çalışmada kullanılan cihazlar Tablo 3-2’de verilmiştir (Tablo 3-2).

Tablo 3-2:Kullanılan cihazlar

Distile Su Cihazı (MILLIPORE)
37°C Etüv (NÜVE)
56°C Etüv (NÜVE)
Jel Dökümantasyon Sistemi (BRL)
Manyetik Karıştırıcı (NÜVE)
MIC Gerçek Zamanlı PZR Cihazı (Bio Molecular Systems)
Mikrodalga Fırın (ARÇELİK)
Mikropipetler (GILSON)
Sıvı Azot Tankları (MVY)
Spektrofotometre Nano Drop 2000 (THERMO SCIENTIFIC)
Soğutmasız Santrifüjler (HETTICH, JOUAN)
Soğutmalı Eppendorf Santrifüj (HERAEUS)
Termal Döngü Cihazı (TECHNE)
Vorteks (FINEPZR)
Yatay Jel Elektforez Tankları ve Jel Dökme Sistemleri (BRL)
Yüksek Hızlı Soğutmalı Santrifüj (HERAEUS)
-80 Derin Dondurucu (SANYO)
-30 Derin Dondurucu (SANYO)

3.1.3. Tampon Çözeltiler ve Bilgisayar Programları

Deneyde; PBS Tampon Çözeltisi, TEB Tampon Çözeltisi, BFB Yükleme Tamponu, %1,5'lik Agaroz, Lysis Buffer, Buffer R ve bilgisayar programları kullanılmıştır. Tablo 3-3'te belirtildiği gibi kullanılan çözeltiler hazırlanmıştır (Tablo 3-3).

Tablo 3-3: Tampon çözeltiler ve bilgisayar programları

10X PBS Tampon Çözeltisi (1 L)	Buffer R. (100mL)
80 g NaCl 2 g KCl 11,5 g Na ₂ HPO ₄ 2 g KH ₂ PO ₄	49 mL PBS 2 mL FBS 50 µL EDTA
10X BFB Yükleme Tamponu (2 mL)	%1,5'lik Agaroz
%1 SDS 5 mg Bromfenol Mavisi 2 mL Gliserol	1,5 g Agaroz 100mL 0.5X TEB 5µL Etidyum Bromür (10mg/mL)
10X TEB (Tris-EDTA-Borik Asit) Tampon Çözeltisi	Bilgisayar Programları
0.88 M Borik Asit 5 M Tris 0.02 M EDTA (pH :8.00)	IBM Support SPSS 21.0
1X Lysis Buffer (100mL)	Etidyum Bromür (10 mg/mL)
10 mL 10X Lysis Buffer (ABM) 90 mL distile su	

3.2. Yöntemler

3.2.1. Periferik Kandan Lenfosit İzolasyonu

Her bir kişiden EDTA'lı tüpelere yaklaşık 10 mL alınan kan, 1:1 oranında %0,9'luk NaCl içeren izotonik çözelti ile dilüe edildi. Dilüe edilen kan 2 mL Ficoll üzerine yavaş yavaş eklendi. Soğutmalı santrifüjde 1970 RPM'de 30 dk. santrifüjlendikten sonra tüpte alt fazda eritrosit, orta fazda lenfositler ve üst fazda plazma ayrıştı. Ortada bulunan halka şeklindeki lenfosit hücre fazı pastör pipeti yardımı ile toplanarak temiz tüpe alındı ve tekrar 1970 RPM'de 10 dk. santrifüj edildi. Süpernatant döküldükten sonra kalan pelletin üzerine 4 mL PBS pipetaj yapılarak eklendi ve hücreler çözüldü. Çözülen pellet, kriyo tüplere 1'er mL olacak şekilde aktarıldı. Tüpler, 1970 RPM'de 5 dk. santrifüjlenerek çöktürüldükten sonra süpernatant döküldü. Elde edilen pelletteki hücreler, daha sonraki işlemler için kademeli olarak dondurularak önce -80°C'ye alındı, daha sonra da uzun süreli saklanmak üzere sıvı azot tankına koyuldu.

3.2.2. RNA İzolasyonu

Hasta ve kontrol örneklerinden elde edilen lenfositlerden total RNA izolasyonu için Quick-RNA MiniPrep İzolasyon Kiti (ZYMO RESEARCH) kullanılmıştır. Kit protokolüne göre yapılan işlemler şu şekildedir:

Azot tankına kaldırılmış olan lenfosit hücreleri çıkarıldı ve tüm işlemler buz üzerinde gerçekleştirildi. Lenfosit hücrelerini içeren kriyo tüplerin her birine kit içerisindeki DNA-RNA Lysis Buffer'dan 300 µL eklenerek hücrelerin çözülmesi için pipetaj yapıldı. Bu çözelti, RNA izolasyon kiti içerisinde yer alan filtre üzerine aktararak 10.000 g'de 30 saniye santrifüjlendi. Bu şekilde hücre içerisindeki DNA-RNA molekülleri açığa çıkarıldı. Santrifüjleme işlemi sonrası DNA molekülü filtrede tutuldu ve RNA molekülleri alt faza geçti. Alt faz, yeni bir tüpe alındı ve aynı miktarda %95-100'lük etanol eklenerek 10.000 g'de 30 saniye santrifüj edildi. Daha sonra kit içerisindeki RNA Prep Buffer (400 µL) karışım üzerine eklendi ve ardından 12.000 g'de

tekrar santrifüj edilerek biriktirme tüpü içerisinde toplanan atık uzaklaştırıldı. Ardından filtrede tutunan RNA moleküllerinin üzerine RNA Wash Buffer (700 µL) eklendi ve 12.000 g'de tekrar santrifüjlenerek yıkama işlemi gerçekleştirildi. Biriktirme tüpü içerisinde toplanan atık atıldı. RNA Wash Buffer (400 µL) tekrar eklenerek, 12.000 g'de 2 dakika santrifüj edildi. Son olarak 100 µL RNase-Free Water eklenerek, 1 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra 12.000 g'de 30 saniye santrifüj edildi ve RNA moleküllerinin çözülerek filtreden tüpün içerisine toplanması sağlandı. İzole edilmiş RNA bölünerek -80°C'de saklandı.

cDNA sentezinin yapılabilmesi için tüm RNA'ların yüksek kalitede olması beklenir. Kalite kontrolü için RNA'lar, %1,5'luk agaroz jelde 160 volt akımda yürütüldü. Elektroforez sonucunda, yürütülen RNA'larda DNA bandının olmaması ve 28S/18S rRNA'ları temsil eden iki majör bandın varlığı gibi noktalar dikkate alınarak cDNA sentezi için gerekli olan RNA'ların kalitesi kontrol edildi. Daha sonra, NanoDrop 2000 Spektrofotometre THERMO SCIENTIFIC kullanılarak saflık ve konsantrasyon ölçümü yapıldı. Bunun için dilüe edilmemiş RNA örneklerinden 1'er µL kullanıldı. RNA örneklerinin saflığı, A260/A280 dalga boyu oranından değerlendirildi ve 1.8-2.2 aralığında olan saf RNA örnekleri çalışmaya dahil edildi. Hesaplama şu şekilde yapıldı:

$$\text{RNA konsantrasyonu } (\mu\text{g/mL}) = \text{OD}_{260} \times \text{Sulandırma Katsayısı}(1) \times 40\mu\text{g}$$

RNA'lar porsiyonlanarak -80°C'de saklandı.

3.2.3. cDNA Sentezi

RNA'lar buz içerisinde yavaşça çözdürüldü ve vortekslendi ve hafif düzeyde santrifüjlenerek tüp içinde belli noktada toplanması sağlandı. Diğer bütün işlemler de buz üzerinde yapıldı. cDNA sentezi için ID3EAL miRNA qPCR kiti kullanıldı. Kite ilişkin bileşenler Tablo 3-4'te verildi (Tablo 3-4). Bileşenler tabloda verildiği miktarlarda eklenerek, her bir örnek için son hacim 20 µL olacak şekilde hazırlandı. Örnekler, ters transkriptaz reaksiyonunun gerçekleşmesi için BioRad PCR cihazında inkübe edildi. Reaksiyon siklusları Tablo 3-5'te verildi (Tablo 3-5). cDNA'lar reaksiyon sonrasında -20°C'de saklandı.

Tablo 3-4:ID3EAL cDNA sentez kiti içeriği

BİLEŞEN	MİKTAR
Kalıp RNA	X μ L
ID3EAL RT Buffer(4x)	5 μ L
ID3EAL RT Primer 1-plex 1 (20x)	1 μ L
ID3EAL RT Primer 1-plex miR-3653-3p (20x) (N $\leq$ 10)	1 μ L
ID3EAL Reverse Transcriptase (20x)	1 μ L
Nuclease free water	Son hacim 20 μ L olacak şekilde

Tablo 3-5:RT reaksiyonu için PCR siklusu

Siklus	Sıcaklık	Süre
1	42°C	30 dakika
1	95°C	5 dakika

3.2.4. Real-Time qPCR

Real-Time qPCR işlemi, MIC qPCR Cyclers cihazı kullanılarak yapıldı ve sonuçlar analiz edildi.

cDNA'lar -20°C'den çıkarılarak çözündürüldü ve sonraki işlemler buz üzerinde gerçekleştirildi. Çözdürülen cDNA'lar, 1:10 oranında nükleaz free water ile sulandırıldı ve Tablo 3-6'da verilen miktarlarda karışım, son hacim 20 μ L olacak şekilde MIC qPCR tüplerine aktarıldı (Tablo 3-6). MIC qPCR tüpleri, MIC qPCR Cyclers cihazına yerleştirilerek Tablo 3-7'de belirtilen sıklusa göre reaksiyon gerçekleşmesi sağlandı. Sonuçlar kaydedildi (Tablo 3-7).

Tablo 3-6:ID3EAL miRNA qPCR kiti içeriği

BİLEŞEN	MİKTAR
ID3EAL qPCR Master Mix (2x)	10 µL
ID3EAL qPCR assay (10x)	2 µL
Diluted cDNA	5 µL
Nuclease-free water	3 µL

Tablo 3-7:Real-Time qPCR siklusu

Siklus	Sıcaklık	Süre	Reaksiyon
1x	95°C	10 dakika	Polimeraz aktivasyonu
	40°C	5 dakika	
40x	95°C	10 saniye	Denatürasyon
	60°C	30 saniye	Bağlanma/Uzama

3.2.5. Biyoistatistik Analiz

Hasta ve kontrol grubu arasındaki miRNA ekspresyon düzeylerinin karşılaştırılması için IBM Support SPSS 21.0 bilgisayar programı kullanıldı. Gruplar arasındaki ekspresyon düzeylerindeki farkların Fold-Change oranı $|FC| \geq 2$ ve $p < 0,05$ olarak kabul edildi. Gruplar arasındaki dağılımın normallik varsayımı Kolmogorov-Smirnov testi ile değerlendirildi. Parametrik olmayan Mann-Whitney U testi ile hasta ve sağlıklı grubun gen ekspresyon düzeyleri ve gen ekspresyon düzeyleri ile klinik veriler arasındaki bağlantılar karşılaştırıldı. Reciever Operator Characteristics Curve (ROC) analiziyle miR-3653-3p'nin biyobelirteç olarak performansı değerlendirildi. Gruplar arasındaki farkların önemi, Student t testi (Independent-Samples T-Test) ile analiz edildi ve Mann-Whitney U ile klinik veriler arasında ikili karşılaştırmalar yapıldı. Son olarak, Kaplan-Meier testi ile hastaların sağkalım oranı incelendi.

4. BULGULAR

Tez çalışmasında İstanbul Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü, Kanser Genetiği Polikliniği'ne başvurmuş hastalar arasından 150 over kanserli hasta ile hasta popülasyonu ile yaş, cinsiyet ve etnik köken olarak eşleştirilmiş 100 sağlıklı kontrol kullanılmıştır. Materyallerin kalite kontrolünün ardından deney grubu için toplamda 149 over kanseri hastasına ve 91 sağlıklı kontrole ait RNA örnekleri kullanılmış ve tüm analizler bu gruplar üzerinden yapılmıştır.

4.1. miR-3653-3p'nin Ekspresyon Analiz Sonuçlarının Değerlendirilmesi

miR-3653-3p'nin ekspresyonunu hesaplamak için $2^{-\Delta\Delta C_t}$ formülü kullanılmıştır. Her hasta örneği ve sağlıklı kontrol örneği için ΔC_t ve $\Delta\Delta C_t$ değerleri Excel programında hesaplandıktan sonra $2^{-\Delta\Delta C_t}$ değerleri hesaplanmıştır. Hesaplamalarda aşağıda verilen formüller kullanılmıştır:

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

$$\Delta\Delta C_t = \Delta C_t (\text{hasta}) - \Delta C_t (\text{sağlıklı kontrol})$$

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

Örneklerin bulunan $2^{-\Delta\Delta C_t}$ değerleri tablo 4-1 ve Tablo 4-2'de verilmiştir (Tablo 4-1 ve Tablo 4-2).

Tablo 4-1:Over kanseri hastalarının $2^{-\Delta\Delta C_t}$ değerleri.

OH NO	miR-3653-3p $2^{-\Delta\Delta C_t}$	OH NO	miR-3653-3p $2^{-\Delta\Delta C_t}$	OH NO	miR-3653-3p $2^{-\Delta\Delta C_t}$
OH001	49,56	OH016	2,99	OH031	27,69
OH002	4,44	OH017	11,09	OH032	44,67
OH003	24,95	OH018	4,47	OH033	22,18
OH004	15,68	OH019	17,28	OH034	34,56
OH005	2,73	OH020	2,25	OH035	0,85
OH006	21,13	OH021	10,06	OH036	98,44
OH007	7,22	OH022	7,32	OH037	11,72
OH008	2,52	OH023	8,52	OH038	14,63
OH009	12,92	OH024	2,85	OH039	3,76
OH010	3,03	OH025	2,03	OH040	0,13
OH011	2,10	OH026	5,43	OH041	69,61
OH012	2,95	OH027	7,47	OH042	7,57

OH013	0,65	OH028	23,77	OH043	4,12
OH014	10,13	OH029	0,49	OH044	34,80
OH015	2,60	OH030	2,36	OH045	8,12
OH046	5,90	OH082	30,30	OH118	24,95
OH047	10,64	OH083	10,28	OH119	5,03
OH048	1,50	OH084	4,66	OH120	18,52
OH049	23,45	OH085	7,79	OH121	8,46
OH050	3,27	OH086	3,46	OH122	4,20
OH051	41,10	OH087	4,54	OH123	3,10
OH052	7,52	OH088	2,72	OH124	2,36
OH053	28,27	OH089	0,37	OH125	6,11
OH054	8,82	OH090	1,88	OH126	7,27
OH055	5,82	OH091	5,86	OH127	2,68
OH056	12,31	OH092	0,69	OH128	3,87
OH057	12,31	OH093	1,49	OH129	12,39
OH058	10,56	OH094	3,87	OH130	5,14
OH059	15,36	OH095	8,06	OH131	1,37
OH060	2,93	OH096	3,71	OH132	9,86
OH061	24,27	OH097	0,85	OH133	36,03
OH062	7,17	OH098	2,48	OH134	1,74
OH063	6,15	OH099	4,47	OH135	2,93
OH064	3,41	OH100	1,41	OH136	0,11
OH065	2,57	OH101	7,42	OH137	1,97
OH066	3,79	OH102	1,18	OH138	0,53
OH067	3,89	OH103	4,79	OH139	0,94
OH068	8,95	OH104	1,55	OH140	0,57
OH069	6,46	OH105	3,71	OH141	0,60
OH070	8,95	OH106	2,27	OH142	1,88
OH071	8,82	OH107	1,04	OH143	1,69
OH072	17,77	OH108	1,84	OH144	0,06
OH073	14,33	OH109	3,37	OH145	0,11
OH074	0,95	OH110	41,68	OH146	0,01
OH075	11,72	OH111	12,14	OH147	0,05
OH076	2,43	OH112	0,69	OH148	4,95
OH077	6,83	OH113	4,23	OH149	0,00
OH078	20,84	OH114	5,78		
OH079	21,87	OH115	2,87		
OH080	2,77	OH116	5,17		
OH081	1,64	OH117	16,01		

Tablo 4-2: Kontrol grubunun 2^{-ΔΔCT} değerleri.

OK NO	miR-3653-3p 2-ΔΔCT	OK NO	miR-3653-3p 2-ΔΔCT	OK NO	miR-3653-3p 2-ΔΔCT
OK01	11,32	OK31	3,11	OK61	1,11
OK02	0,13	OK32	0,70	OK62	0,26
OK03	1,44	OK33	0,77	OK63	1,31
OK04	0,62	OK34	1,27	OK64	0,80
OK05	27,30	OK35	1,10	OK65	1,69
OK06	23,28	OK36	1,11	OK66	1,18
OK07	1,36	OK37	0,59	OK67	0,65
OK08	4,20	OK38	0,80	OK68	0,42
OK09	3,03	OK39	1,07	OK69	2,33
OK10	0,91	OK40	1,23	OK70	0,32
OK11	2,91	OK41	1,37	OK71	0,46
OK12	1,63	OK42	0,96	OK72	0,26
OK13	1,23	OK43	0,47	OK73	0,19
OK14	2,69	OK44	0,13	OK74	0,31
OK15	0,99	OK45	0,78	OK75	0,71
OK16	1,48	OK46	0,67	OK76	0,43
OK17	1,49	OK47	0,79	OK77	0,68
OK18	1,49	OK48	0,25	OK78	0,28
OK19	1,20	OK49	0,85	OK79	1,85
OK20	4,11	OK50	0,35	OK80	1,29
OK21	2,14	OK51	0,69	OK81	1,06
OK22	3,38	OK52	0,80	OK82	0,44
OK23	2,00	OK53	0,84	OK83	0,50
OK24	0,18	OK54	0,83	OK84	4,38
OK25	1,03	OK55	0,41	OK85	1,06
OK26	1,66	OK56	1,03	OK86	0,95
OK27	1,10	OK57	0,71	OK87	3,92
OK28	1,76	OK58	1,07	OK88	0,11
OK29	0,74	OK59	3,20	OK89	0,55
OK30	1,30	OK60	1,58	OK90	0,67
				OK91	0,41

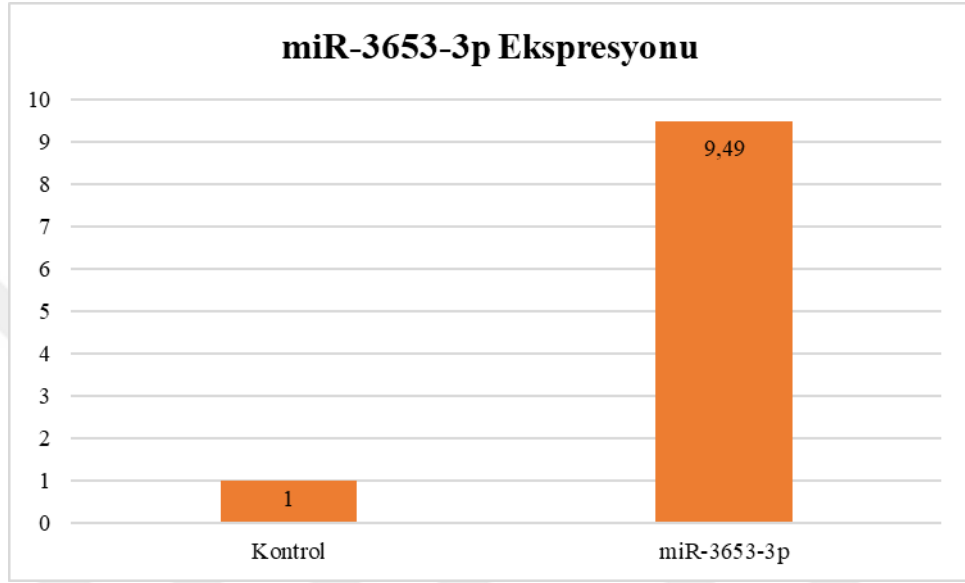
Gruplar arasındaki dağılımın normallik varsayımı SPSS v21.0 programında Kolmogorov-Smirnov testi ile değerlendirilmiştir. Test Sonuçları $p < 0,05$ ($p:0,000$) olduğu için gruplar arasında normal dağılım olmadığı belirlenmiş olup, verilerin incelenmesinde non-parametrik bir test olan Mann-Whitney U testi kullanılmıştır.

Mann-Whitney U testi, hasta ve kontrol gruplarının $2^{-\Delta\Delta C_t}$ değerleri baz alınarak yapılmıştır. Yapılan Mann-Whitney U testine göre miR-3653-3p'nin ifade düzeyinin hasta gruplarında sağlıklı kontrollere göre istatistiksel açıdan anlamlı olduğu belirlenmiştir ($p < 0,05$). miR-3653-3p için elde edilen p değeri $p=0,000$ 'dır (Tablo 4-3).

Tablo 4-3:Hasta ve kontrol grupları arasında miR-3653-3p gen ifade düzeyinin Mann-Whitney U Testi Değerlendirmesi

	miR-3653-3p
Mann-Whitney U	4291,500
Wilcoxon W	8477,500
Z	-6,225
Asymp Sig. (2-Tailed)	,000

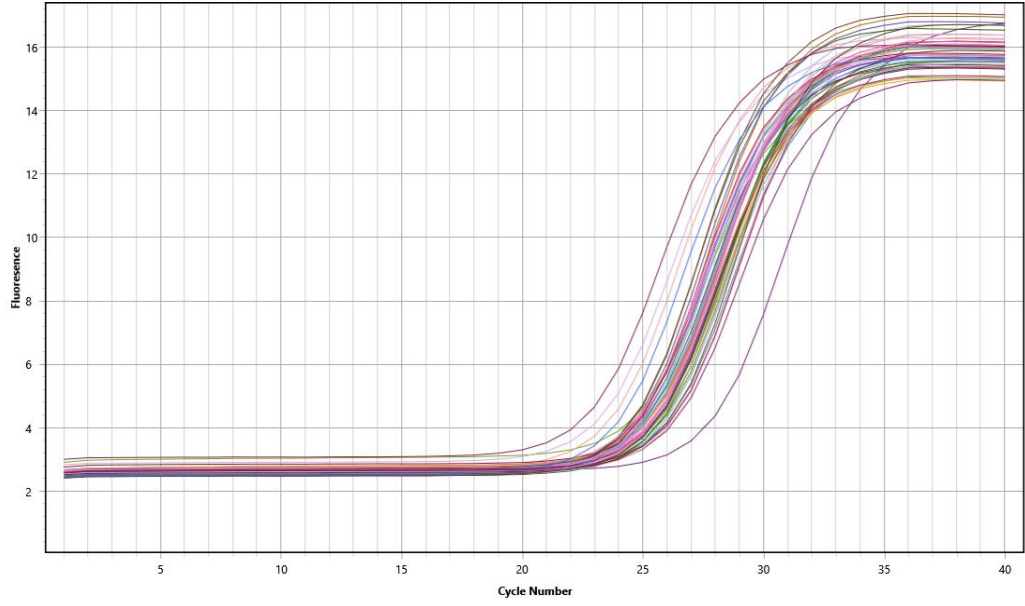
Hasta ile kontrol gruplarının miR-3653-3p ekspresyon düzeylerinin karşılaştırılması sonucunda, hasta örneklerinin ekspresyon düzeylerinin, kontrol grubunun 9,49 katı olduğu saptanmış ve Şekil 4-1’de verilmiştir (Şekil 4-1).



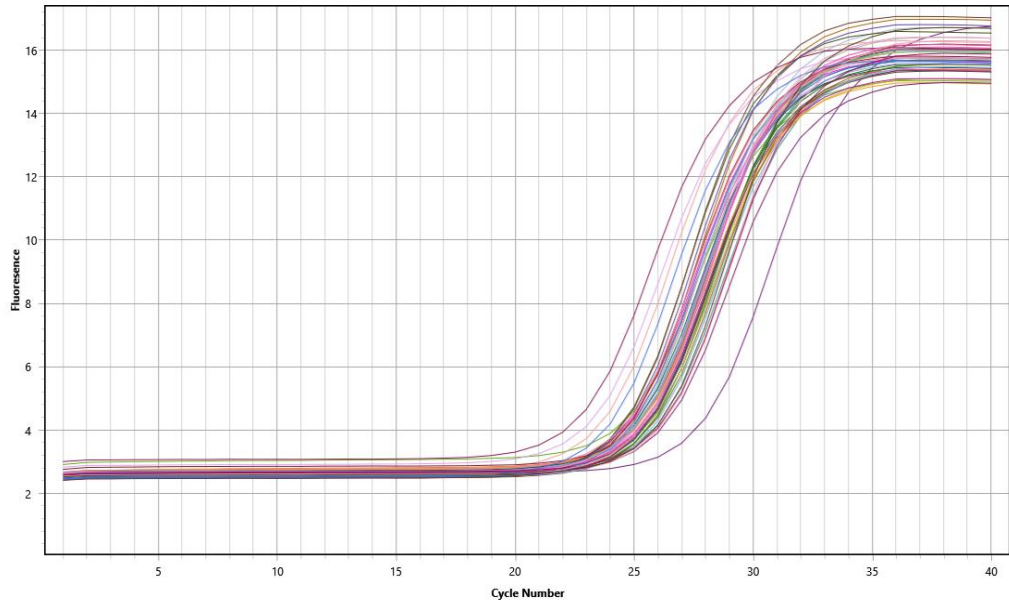
Şekil 4-1:Over kanseri hastaları ve kontrol gruplarında miR-3653-3p ekspresyon seviyelerinin karşılaştırılması.

4.2. qPCR ile Çoğaltılan miR-3653-3p Ekspresyon Eğrileri

miR-3653-3p için MIC qPCR’a yüklenen hasta ve kontrol örneklerinin oluşturduğu Real Time PCR eğrileri Şekil 4-2 ve 4-3’te verilmiştir (Şekil 4-2 ve 4-3).



Şekil 4-2:miR-3653-3p ekspresyonunun over kanserli hasta (OH) örneklerinde qPCR eğrileri.



Şekil 4-3:miR-3653-3p ekspresyonunun kontrol örneklerinde (OK) qPCR eğrileri.

4.3. miR-3653-3p'nin Ekspresyon Düzeyi ile Hastaların Klinik Bilgileri Arasındaki İlişki

Over kanseri hastalar, ek tanıya sahip hastalar ve sağlıklı kontrol grubunda, miR-3653-3p ekspresyon düzeyleri arasındaki ilişki Mann-Whitney U testi ile değerlendirilmiş ve sonuç istatistiksel olarak anlamlı ($P=0,000$) bulunmuştur. miR-3653-3p ekspresyon düzeylerinin karşılaştırılması Tablo 4-4'te verilmiştir (Tablo 4-4).

Sadece over kanseri tanısı alan 124 hastanın 15'inde (%12,1) miR-3653-3p ekspresyon düzeyinin azaldığı, 109'unda (%87,9) ise arttığı saptanmıştır. Hem over hem de meme kanseri olmak üzere iki farklı primer tümör tanısı almış 17 hastanın 2'inde (%11,8) ekspresyon düzeyinin azaldığı gözlenirken, 15'inin (%88,2) ise artmış olduğu saptanmıştır. Aynı anda over ve endometriyum kanser tanısına sahip 3 hastanın 2'sinde (%66,7) miR-3653-3p ekspresyon düzeyinin azaldığı, 1'inde (%33,3) arttığı gösterilmiştir. Over kanseri ile birlikte meme ve endometriyum dışında başka herhangi bir kanser tanısı almış 5 hastanın tamamında miR-3653-3p ekspresyon düzeyinin artmış olduğunu saptanmıştır.

Tablo 4-4:miR-3653-3p ekspresyon düzeylerinin tanı ile karşılaştırılması.

		miR-3653-3p Ekspresyonu		Toplam	P Değeri
		Azalmış	Artmış		
Tanı	Sağlıklı	45 (%49,5)	46 (%50,5)	91 (%37,9)	P:0,000
	Meme ve over	2 (%11,8)	15 (%88,2)	17 (%7,1)	
	Over	15 (%12,1)	109 (%87,9)	124 (%51,7)	
	Over ve Endometriyum	2 (%66,7)	1 (%33,3)	3 (%1,2)	
	Over ve diğer	0 (%0)	5 (%100,0)	5 (%2,1)	
Toplam		64 (%26,7)	176 (%73,3)	240	

Over kanseri hastalarda miR-3653-3p ekspresyon düzeyleri ile hastaların tanı yaşları, klinik evreleri, tümör çapı, metastaz durumu, cerrahi, radyasyon ya da kemoterapi gibi tedavi seçenekleri, menopoz durumları, oral kontraseptif kullanımı, östrojen/progesteron kullanımı, infertilite tedavisi, hamilelik durumu, emzirme süresi, sigara ve alkol kullanımı gibi değişkenler arasındaki ilişki Mann-Whitney U testi ile değerlendirilmiştir ve sonuçlar Tablo 4-5'te verilmiştir (Tablo 4-5).

Sonuç olarak; over kanseri hastaların miR-3653-3p ekspresyon düzeyleri ile hastaların tanı yaşları ($p=0,595$), klinik evreleri ($p=0,253$), tümör çapı ($p=0,641$), metastaz durumu ($p=0,152$), cerrahi ($p=0,386$), radyasyon ($p=0,824$) ya da kemoterapi ($p=0,212$) gibi tedavi seçenekleri, menopoz durumları ($p=0,285$), oral kontraseptif kullanımı ($p=0,960$), östrojen/progesteron kullanımı ($p=0,856$), infertilite tedavisi ($p=0,901$), hamilelik durumu ($p=0,265$), emzirme süresi ($p=0,889$), sigara ($p=0,892$) ve alkol kullanımı ($p=0,633$) gibi değişkenler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Hastaların yaşlarıyla miR-3653-3p ekspresyon düzeyi arasındaki ilişki incelendiğinde; 40 yaşın altında tanı almış olan 25 hastanın 4'ünde (%16) ekspresyon seviyesi azalırken, 21'inde (%84) ise ekspresyon düzeyinde artış saptanmıştır. Tanı yaşı 40 yaşın üstünde olan 124 hastanın 15'inde (%12,1) ekspresyon düzeyinde azalış, 109'unda (%87,9) artış saptanmıştır.

Hastaların klinik evreleriyle miR-3653-3p ekspresyon düzeyi arasındaki ilişki incelendiğinde; değerlendirmeye alınan 149 hastanın, evre I-II olan 32 hastanın 6'sında (%18,8) ekspresyonda azalış, 26'sında (%81,2) artış görülmüştür. Evre III-IV olan 117 hastanın 13'ünde (%11,1) azalış, 104'ünde (%88,9) artış olduğu saptanmıştır.

Hastaların tümör çaplarıyla miR-3653-3p ekspresyon düzeyi arasındaki ilişki incelendiğinde; tümör çapı <2 cm'den küçük olan 33 hastanın 5'inde (%15,2) ekspresyon düzeyinin azaldığı gözlenirken, 28'inde (%84,8) arttığı gözlenmiştir. Tümör çapı 2 cm ve 2 cm'den büyük olan (≥ 2 cm) 116 hastanın 14'ünde (%12,1) ekspresyon seviyesinin azaldığı, 102'sinde (%87,9) ise arttığı saptanmıştır.

Hastaların metastaz durumuyla miR-3653-3p ekspresyon düzeyi arasındaki ilişki incelendiğinde; Metastaz yapmış olan 100 hastanın 10'unda (%10) ekspresyon düzeyinin azaldığı görülürken, 90'ında (%90) arttığı görülmüştür. Metastaz yapmamış 49 hastanın 9'unda (%18,4) ekspresyon düzeyi azalmış, 40'ında (%81,6) ise artmıştır.

Hastaların tedavi yöntemleriyle miR-3653-3p ekspresyon düzeyi arasındaki ilişki incelendiğinde; cerrahi yöntem uygulanan 144 hastanın 19'unda (%13,2) ekspresyon düzeyi azalırken, 125'inde (%86,8) ekspresyon düzeyinin arttığı görülmüştür. Cerrahi işlem gerçekleştirilmemiş 5 hastanın tamamında ise miR-3653-3p ekspresyon düzeyinin arttığı saptanmıştır. Tedavi yöntemlerinden radyasyon uygulanan 18 hastanın 2'sinde (%11,1) ekspresyon düzeyi azalırken, 16'sında (%88,9) ekspresyon

düzeyinin arttığı görülmüştür. Radyasyon uygulanmamış 131 hastanın 17'sinde (%13) ekspresyon düzeyi azalırken, 114'ünde (%87) miR-3653-3p ekspresyon düzeyinin arttığı saptanmıştır. Tedavi yöntemlerinden kemoreterapi uygulanan 139 hastanın 19'unda (%13,7) ekspresyon düzeyi azalırken, 120'sinde (%86,3) ekspresyon düzeyinin arttığı görülmüştür. Kemoterapi uygulanmamış 10 hastanın tamamında ise miR-3653-3p ekspresyon düzeyinin arttığı saptanmıştır.

Hastaların menopoz durumlarıyla miR-3653-3p ekspresyon düzeyi arasındaki ilişki incelendiğinde; premenopozal dönemde olan 72 hastanın 7'sinde (%9,7) ekspresyon düzeyi azalırken, 65'inde (%90,3) ekspresyon düzeyinin arttığı görülmüştür. Postmenopozal dönemde olan 77 hastanın 12'sinde (%15,6) ekspresyon düzeyi azalırken, 65'inde (%84,4) ekspresyon düzeyinin arttığı saptanmıştır.

Hastaların oral kontraseptif kullanımıyla miR-3653-3p ekspresyon düzeyi arasındaki ilişki incelendiğinde; Oral kontraseptif kullanan 46 hastanın 6'sında (%13) ekspresyon düzeyi azalırken, 40'ında (%87) ekspresyon düzeyinin arttığı görülmüştür. Oral kontraseptif kullanmayan 102 hastanın 13'ünde (%12,6) ekspresyon düzeyi azalırken, 90'ında (%87,4) ekspresyon düzeyinin arttığı saptanmıştır.

Hastaların östrojen/progesteron kullanımıyla miR-3653-3p ekspresyon düzeyi arasındaki ilişki incelendiğinde; östrojen/progesteron kullanmayan 131 hastanın 17'sinde (%13) ekspresyon düzeyi azalırken, 114'ünde (%87) ekspresyon düzeyinin arttığı görülmüştür. 1-5 yıl östrojen/progesteron kullanan 13 hastanın 1'inde (%7,7) ekspresyon düzeyi azalırken, 12'sinde (%92,3) ekspresyon düzeyinin arttığı saptanmıştır. ≥5 yıl östrojen/progesteron kullanan 5 hastanın 1'inde (%20) ekspresyon düzeyi azalırken, 4'ünde (%80) ekspresyon düzeyinin arttığı görülmüştür.

Hastaların infertilite tedavisi alıp almamasıyla miR-3653-3p ekspresyon düzeyi arasındaki ilişki incelendiğinde; infertilite tedavisi alan 7 hastanın 1'inde (%14,3) ekspresyon düzeyi azalırken, 6'sında (%85,7) ekspresyon düzeyinin arttığı görülmüştür. infertilite tedavisi almayan 142 hastanın 18'inde (%12,7) ekspresyon düzeyi azalırken, 124'ünde (%87,3) ekspresyon düzeyinin arttığı saptanmıştır.

Hastaların hamilelik durumuyla miR-3653-3p ekspresyon düzeyi arasındaki ilişki incelendiğinde; daha önce doğum yapmış 119 hastanın 17'sinde (%14,3) ekspresyon düzeyi azalırken, 102'sinde (%85,7) ekspresyon düzeyinin arttığı

görülmüştür. Daha önce doğum yapmamış 30 hastanın 2'sinde (%6,7) ekspresyon düzeyi azalırken, 28'inde (%93,3) ekspresyon düzeyinin arttığı görülmüştür.

Hastaların emzirme süresiyle miR-3653-3p ekspresyon düzeyi arasındaki ilişki incelendiğinde; emzirme süresi <6 ay olan 45 hastanın 6'sında (%13,3) ekspresyon düzeyi azalırken, 39'unda (%86,7) ekspresyon düzeyinin arttığı görülmüştür. Emzirme süresi ≥6 ay olan 104 hastanın 13'ünde (%12,5) ekspresyon düzeyi azalırken, 91'inde (%87,5) ekspresyon düzeyinin arttığı saptanmıştır.

Hastaların sigara ve alkol kullanımıyla miR-3653-3p ekspresyon düzeyi arasındaki ilişki incelendiğinde; sigara kullanan 57 hastanın 7'sinde (%12,3) ekspresyon düzeyi azalırken, 50'sinde (%87,7) ekspresyon düzeyinin arttığı görülmüştür. sigara kullanmayan 92 hastanın 12'sinde (%13) ekspresyon düzeyi azalırken, 80'inde (%87) ekspresyon düzeyinin arttığı saptanmıştır. Alkol kullanan 21 hastanın 2'sinde (%9,5) ekspresyon düzeyi azalırken, 19'unda (%90,5) ekspresyon düzeyinin arttığı görülmüştür. Alkol kullanmayan 128 hastanın 17'sinde (%13,3) ekspresyon düzeyi azalırken, 111'inde (%86,7) ekspresyon düzeyinin arttığı görülmüştür.

Tablo 4-5:miR-3653-3p'nin ekspresyon düzeyi ile klinik değişkenler arasındaki ilişki.

Özellikler	miR-3653-3p Ekspresyonu			P Değeri
Ekspresyon Düzeyi	Azalmış n(%)	Artmış n(%)	Toplam n(%)	
Yaş Ortalaması 49±10,8 (24-84)				
<40	4(%16)	21(%84)	25 (%16,8)	0,595
≥40	15 (%12,1)	109 (%87,9)	124 (%83,2)	
Toplam n (%)	19 (%12,8)	130 (%87,2)	149	
Evre				
Evre I-II	6 (%18,8)	26(%81,2)	32 (%21,5)	0,253
Evre III-IV	13(%11,1)	104(%88,9)	117 (%78,5)	
Toplam n (%)	19 (%12,8)	130 (%87,2)	149	
Tümör Çapı				
<2cm	5 (%15,2)	28 (%84,8)	33 (%22.1)	0,641
≥2cm	14(%12,1)	102(%87,9)	116 (%77,9)	
Toplam n (%)	19 (%12,8)	130 (%87,2)	149	

Metastaz Durumu				
Hayır	9(%18,4)	40 (%81,6)	49 (%32,9)	0,152
Evet	10(%10)	90(%90)	100 (%67,1)	
Toplam n (%)	19 (%12,8)	130 (%87,2)	149	
Tedavi				
Cerrahi				
Hayır	0 (%0)	5 (%100)	5 (%3,4)	0,386
Evet	19 (%13,2)	125(%86,8)	144(%96,6)	
Toplam n (%)	19 (%12,8)	130 (%87,2)	149	
Radyasyon				
Hayır	17 (%13)	114 (%87)	131 (%87,9)	0,824
Evet	2(%11,1)	16 (%88,9)	18 (%12,1)	
Toplam n (%)	19 (%12,8)	130 (%87,2)	149	
Kemoterapi				
Hayır	0 (%0)	10 (%100)	10 (%6,7)	0,212
Evet	19 (%13,7)	120(%86,3)	139(%93,3)	
Toplam n (%)	19 (%12,8)	130 (%87,2)	149	
Tanı Sırasındaki Menopoz Durumu				
Premenopozal	7 (%9,7)	65 (%90.3)	72 (%48,3)	0,285
Postmenopozal	12(%15,6)	65 (%84,4)	77 (%51,7)	
Toplam n (%)	19 (%12,8)	130 (%87,2)	149	
Oral Kontraseptif Kullanımı				
Hayır	13 (%12,6)	90 (%87,4)	103 (%69,1)	0,943
Evet	6 (%13)	40 (%87)	46 (%30,9)	
Toplam n (%)	19 (%12,8)	130 (%87,2)	149	
Östrojen/Progesteron Kullanımı				
Hayır	17 (%13)	114 (%87)	131 (%87,9)	0,856
1-5 yıl	1 (%7,7)	12 (%92,3)	13 (%8,7)	
≥5 yıl	1(%20)	4(%80)	5(%3,4)	
Toplam n (%)	19 (%12,8)	130 (%87,2)	149	

İnfertilite Tedavisi				
Hayır	18 (%12,7)	124 (%87,3)	142 (%95,3)	0,901
Evet	1 (%14,3)	6 (%85,7)	7 (%4,7)	
Toplam n (%)	19 (%12,8)	130 (%87,2)	149	
Hamilelik Durumu				
Hayır	2 (%6,7)	28(%93,3)	30 (%20,1)	0,265
Evet	17 (%14,3)	102 (%85,7)	119 (%79,9)	
Toplam n (%)	19 (%12,8)	130 (%87,2)	149	
Emzirme Süresi				
<6 ay	6 (%13,3)	39 (%86,7)	45 (%30,2)	0,889
≥6 ay	13 (%12,5)	91(%87,5)	104 (%69,8)	
Toplam n (%)	19 (%12,8)	130 (%87,2)	149	
Sigara				
Hayır	12 (%13)	80 (%87)	92 (%61,7)	0,892
Evet	7 (%12,3)	50 (%87,7)	57 (%38,3)	
Toplam n (%)	19 (%12,8)	130 (%87,2)	149	
Alkol				
Hayır	17 (%13,3)	111 (%86,7)	128 (%85,9)	0,633
Evet	2 (%9,5)	19 (%90,5)	21 (%14,1)	
Toplam n (%)	19 (%12,8)	130 (%87,2)	149	

4.4. miR-3653-3p'nin Ekspresyon Düzeyi ile Tümör Histolojik Alt Tipleri Arasındaki İlişki

miR-3653-3p ekspresyon düzeyleri ile tümör histolojik alt tipleri arasındaki ilişki Mann-Whitney U testi ile değerlendirilmiş ve sonuç istatistiksel olarak anlamsız ($P=0,585$) bulunmuştur. Sonuçlar Tablo 4-6'da verilmiştir (Tablo 4-6).

Seröz histolojik alt tipine sahip 133 hastanın 16'sında (%12) ekspresyon düzeyi azalırken, 117'sinde (%88) ekspresyon düzeyinin arttığı görülmüştür. Müsinöz histolojik alt tipine sahip toplam 6 hastanın 2'sinde (%33,3) ekspresyon düzeyi azalırken, 4'ünde (%66,7) ekspresyon düzeyinin arttığı görülmüştür. Berrak hücreli

karsinom histolojik alt tipine sahip 9 hastanın hepsinde (%100) ekspresyon düzeyinin artmış olduğu görülmüştür. Endometrioid histolojik alt tipine sahip sadece 1 hasta vardır ve bu 1 hastanın ekspresyon düzeyinin azalmış olduğu görülmüştür. Çalışma grubunda yer alan over kanserli hastalar histolojik alt tiplerine göre miR-3653-3p ekspresyon düzeyi ile karşılaştırıldığına istatistiksel olarak bir fark olmadığı saptanmıştır (p:0,465).

Tablo 4-6:miR-3653-3p ekspresyon düzeylerinin tümör histolojik alt tipleri ile karşılaştırılması.

		miR-3653-3p Ekspresyonu		Toplam	P Değeri
		Azalmış	Artmış		
Histolojik tipler	Seröz	16 (%12)	117 (%88)	133 (%89,3)	0,465
	Müsinöz	2 (%33,3)	4 (%66,7)	6 (%4)	
	Berrak hücreli karsinom	0 (%0)	9 (%100)	9 (%6)	
	Endometrioid	1 (%100)	0 (%0)	1 (%0,7)	
Toplam		19 (%12,8)	130 (%87,2)	149	

4.5. miR-3653-3p'nin Ekspresyon Düzeyi ile Hastaların Aile Hikayeleri Arasındaki İlişki

Yaptığımız çalışmada, over kanseri hastalarının ailesinde meme ve over kanseri öyküsü bulunan kişi sayısı ile, miR-3653-3p ekspresyon düzeyleri arasındaki ilişkiye bakılmış ve sonuç istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunamamıştır (p=0,789).

Ailede meme ve over kanser sayısı <2 olan 114 hastanın 15'inde (%13,2) ekspresyon düzeyi azalırken, 99'unda (%86,8) ekspresyon düzeyinin arttığı görülmüştür. Ailede meme ve over kanser sayısı ≥2 olan 35 hastanın 4'ünde (%11,4) ekspresyon düzeyi azalırken, 31'inde (%88,6) ekspresyon düzeyinin arttığı saptanmıştır. Tablo 4-7'de analiz sonuçları yer almaktadır (Tablo 4-7).

Tablo 4-7:Ailedeki kanser hikayesi ile miR-3653-3p ekspresyon düzeyi arasındaki ilişki

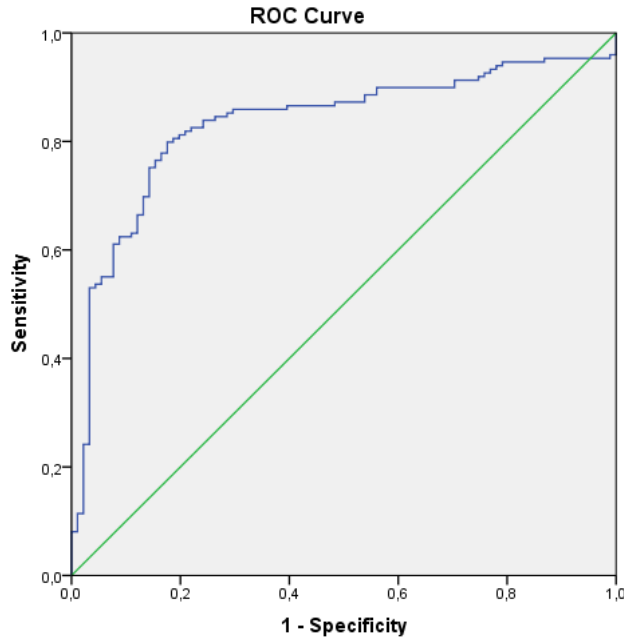
		miR-3653-3p Ekspresyonu		Toplam	p Değeri
		Azalmış	Artmış		
Ailede meme ve over kanser sayısı	<2	15(13,2%)	99(86,8%)	114(76,5%)	0,789
	≥2	4(11,4%)	31(88,6%)	35(23,5%)	
Toplam		19 (%12,8)	130 (%87,2)	149	

4.6. ROC Analizi

Over kanserli hasta ve sağlıklı kontrol grubunu ayırt edebilme gücünü, yani incelediğimiz miR-3653-3p'nin aday biyobelirteç olarak tanısal performansını gösterebilmek amacı ile Receiver Operator Characteristics (ROC) analizi yapıldı. Tablo 4-8 ve Şekil 4-4'te verilen her bir miRNA için belirlenen ROC-AUC değerleri ve %95 CI (Güven Aralığı) sonuçları yer almaktadır. Bu sonuçlara göre over kanserli hastaların tanısında, miR-3653-3p miRNA değişkenlerinin tanısal gücü istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.005$) (Tablo 4-8 ve Şekil 4-4).

Tablo 4-8:Over kanserli hasta ve sağlıklı grubun ayrılmasında miR-3653-3p'nin ROC-AUC değeri.

miRNA	ROC-AUC	%95 CI	p değeri
miR-3653-3p	0,833	0,779 - 0,887	0.000



Şekil 4-4:Over kanserli hasta ve sağlıklı grubun ayrılmasında miR-3653-3p'nin ROC-AUC eğrisi.

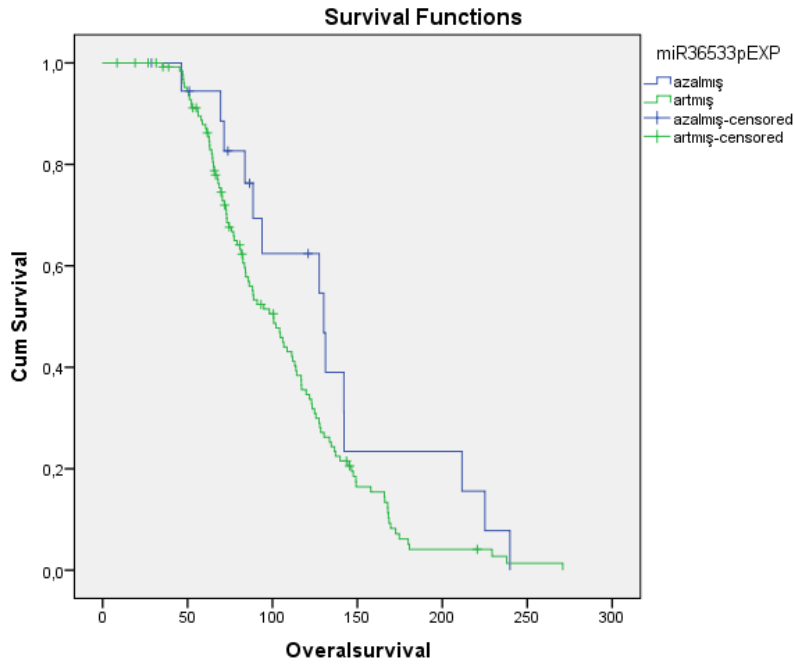
4.7. Sağkalım Analizi

Çalışmada incelediğimiz over kanserli hastaların ortalama sağkalım süresi 98 (SD ± 47) aydır ve 2010-2020 yılları arasında taradığımız 149 hastadan, 26 (17.4%)'sının öldüğü, 123 (82.6%) hastanın tanıdan sonra hayatta kaldığı tespit edilmiştir.

Araştırdığımız miR-3653-3p ifade düzeyinin sağkalım süresini etkileyen değişkenler olup olmadığını incelemek amacı ile Kaplan-Meier analizi yapılmıştır ve gen ifade düzeyleri ile sağkalım süresi arasında bir korelasyon bulunmamıştır ($p > 0.005$) (Tablo 4-9 ve Şekil 4-5).

Tablo 4-9:miR-3653-3p ekspresyon düzeyleri ile sağkalım süreleri arasındaki korelasyon.

	Chi-Square	df	p Değeri
Log Rank (Mantel-Cox)	,449	1	,503



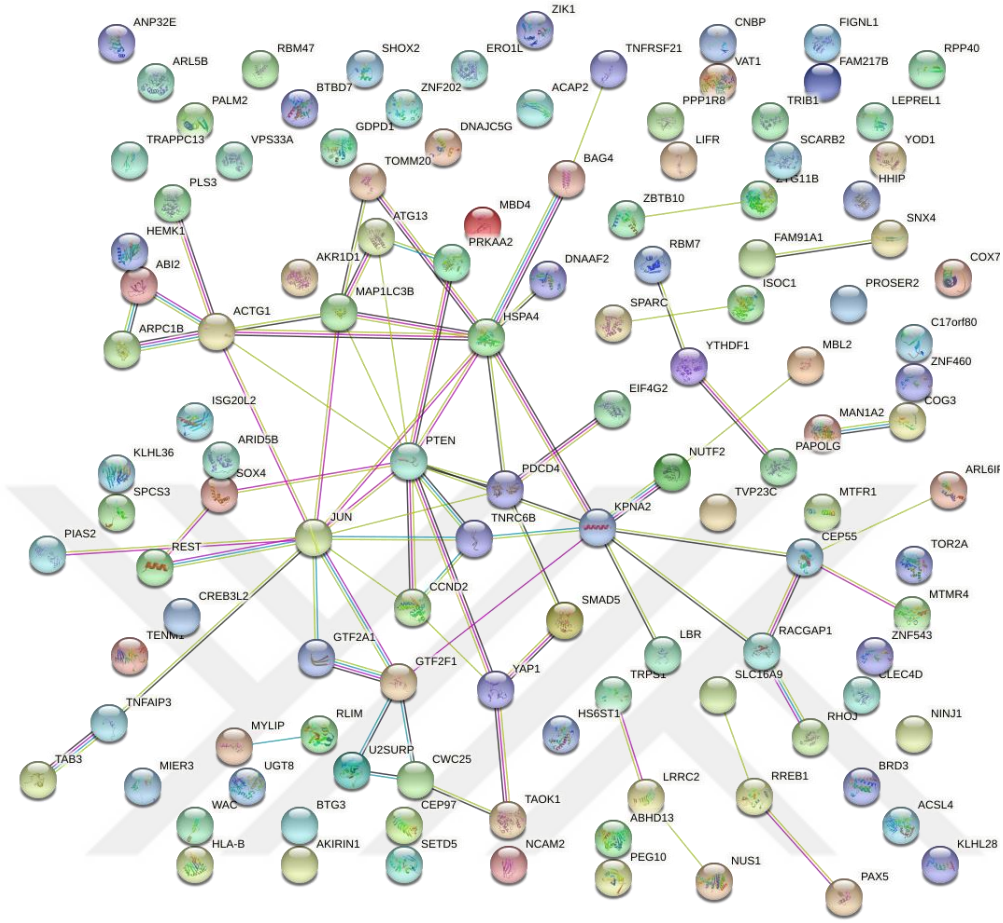
Şekil 4-5:miR-3653-3p ekspresyon düzeyleri ile sağkalm süreleri arasındaki korelasyon grafiği.

4.8. STRING Analizi

TargetScan kullanılarak yapılan analizde miR-3653-3p ile ilişkili olabilecek 5462 gen bulundu, miRTarBase ve miRTargetLink Human veri tabanları kullanılarak miR-3653-3p ile ilişkili genler 118'e düşürüldü.

Saptanan gen hedeflerinin protein düzeyinde etkileşimleri STRING analizi ile belirlendi. STRING analizi sonucu, miR-3653-3p'nin saptanan gen hedeflerinin protein düzeyindeki etkileşim sonucu anlamlı bulundu ($p=0,0206$). STRING analizi protein etkileşimlerinin network gösterimi Şekil 4.6'da verilmiştir (Şekil 4-6).

mir-3653-3p'ye ait belirlenen hedef genlerden bazıları *CCND2*, *MYLIP*, *MTMR4*, *SMAD5*, *PTEN*'dir ve bu genlerin over kanseri ve başka kanser türleriyle ilişkisi olduğu bilinmektedir (Álvarez-Garcia, Tawil, Wise, & Leslie, 2019; Bourgonje et al., 2016; Cafri et al., 2019; Chang, Guo, Yuan, Shi, & Zhang, 2018; Hung et al., 2018; Ngeow, Sesock, & Eng, 2017; L. Zhao, Zhao, He, & Mao, 2017; Zheng et al., 2019).



Şekil 4-6:STRING analizi protein etkileşimlerinin network içindeki etkileşimlerinin görünümü.

5. TARTIŞMA

IARC'nin 2020 verilerine göre over kanseri, Dünya'da her yaşta kadınlarda görülen kanser türlerinde sekizinci sırada, Türkiye'de ise yedinci sırada yer almaktadır. Sadece 2020 yılında Dünya'da 313.959 yeni over kanseri vakası tanımlanmış ve 207.252 ölüm kaydedilmiştir. Türkiye'de ise 4059 over kanseri vakası tanımlanmış ve 2730 ölüm kaydedilmiştir (Global Cancer Observatory, 2020; WHO, 2020).

Günümüzde over kanseri tarama stratejileri, transvajinal ultrason görüntülemeyle birlikte kan bazlı biyobelirteçlere dayanmaktadır. Over kanseri teşhisi için yaygın olarak kan bazlı biyobelirteç olarak serum CA-125 düzeyine bakılsa da, yüksek CA-125; hamilelik, endometriozis, adenomiyoz, uterin fibroidler, pelvik enflamatuvar hastalık, menstrüasyon ve iyi huylu kistler gibi çeşitli durumlarla da ilişkilendirildiği için ne tek başına yeterince duyarlıdır ne de tanı koymaya yetecek kadar spesifiktir. Serum CA-125 düzeyi; pankreas, göğüs, akciğer, mide ve kolon kanserleri gibi diğer malign durumlarda da yükselebilir. Bu nedenle, CA-125 seviyesinin ölçülmesi, karmaşık bir over kistinin ameliyatı öncesi değerlendirilmesinde genellikle yardımcı olmaz ve bu nedenle kesin tanı için genellikle cerrahi yöntem kullanılır (Cannistra, 2004).

MikroRNA'ların disregülasyonları, kanser dahil birçok hastalığın gelişimi ile ilişkilendirilmiştir. Çeşitli çalışmalar, miRNA'ların hastalıklı dokularda farklı şekillerde eksprese edildiğini ve plazma, serum ve diğer vücut sıvılarında farklı şekillerde ve miktarlarda bulunduğunu ve bunun da onları potansiyel olarak rutin klinik tanıda kullanmak için faydalı olabileceğini göstermiştir. Dolaşımdaki miRNA'ların ve ekzozomal miRNA'ların; viral enfeksiyonlar, sinir sistemi bozuklukları, kardiyovasküler bozukluklar, diyabet dahil diğer hastalıklar ve farklı kanser türleri için biyobelirteç olarak kullanılabileceği öne sürülmüştür (Tuncer et al., 2020; Wang, Chen, & Sen, 2016).

Mitchell ve arkadaşları, miRNA'ların insan plazmasında endojen RNaz aktivitesinden korunduğunu ve kararlı bir formda bulunduğunu gösteren bir çalışma yapmıştır. İnsan kanserinin periferik kandan tespiti için önemli bir yaklaşım sunmuşlar ve serum ile plazmada tümörden kaynaklı miRNA ölçümünün mümkün olduğunu

göstermişlerdir (Mitchell et al., 2008). Wang ve arkadaşları da, bazı çalışmalarda periferik kanda dolaşan miRNA'ların tanı ve prognozu için kullanıldığını, çeşitli kanserlerin ve diğer hastalıkların erken teşhisi için yeni invazif olmayan biyobelirteçler olarak işlev görebileceğini belirtmiştir (Tuncer et al., 2020; Wang et al., 2014).

Tunçer ve arkadaşlarının, fenotipik olarak diskordant monozygotik ikizlerin periferik kan lenfositlerinde yaptıkları çalışmada, miR-3653-3p'nin epitelyal over kanseri riski olan kişilerde upregüle olduğu gösterilmiştir (Tuncer et al., 2020). Zhao ve arkadaşlarının in silico olarak yaptıkları çalışmada ise, over kanserli hastaların tümör doku örneklerinde miR-3653-3p ekspresyon farklılığının over kanseri sağkalımı ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (J. Zhao et al., 2021).

Gao ve arkadaşları, Çin'deki Uygur popülasyonuyla yaptıkları çalışmada servikal kanseri olan hastalarda insan papilloma virüsü (HPV) enfeksiyonunu incelemiş ve araştırdıkları 140 miRNA'dan biri olan miR-3653'ün bu kanser türü ve HPV için biyobelirteç olarak kullanılabileceğini belirtmiştir (Gao, Zhang, Zhu, Liu, & Wang, 2016). Lin ve arkadaşları, 418 akciğer adenokarsinomu (LUAD) olan hastada miRNA ekspresyon profillerini analiz etmiş ve tespit ettikleri 185 miRNA'dan biri olan miR-3653'ün prognostik biyobelirteç olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir (Lin et al., 2016). Zhu ve arkadaşları, kolon kanseri dokularında ve hücre hatlarında yaptıkları çalışmada miR-3653'ün ekspresyonunun önemli ölçüde azaldığını ve *Zeb2* geninin ekspresyonunu inhibe ettiğini bulmuşlardır. Bu nedenle de miR-3653'ün kolon kanserinde biyobelirteç ve terapötik hedef olarak kullanılabileceğine vurgu yapmışlardır (Zhu et al., 2019). Chen ve arkadaşları, glioma hastalarının prognozunda miR-3653'ün ekspresyonunu araştırmış ve normal dokulara göre ekspresyonunun azaldığını bulmuşlardır. Ayrıca ekspresyonunun azalmasının daha büyük tümör boyutu, lenf nodu metastazıyla da ilişkili olduğunu ortaya koymuş, 5 yıllık sağkalım oranının kötü olduğunu belirtmiştir. Bu çalışmada, miR-3653'ün glioma için prognostik biyobelirteç olarak kullanılabileceğine vurgu yapılmıştır (Y. Chen et al., 2019). Zhang ve arkadaşları, hepatosellüler karsinomda (HCC) miR-3653 ekspresyonunu araştırmış ve sonuç olarak HCC'de ekspresyonun önemli ölçüde azaldığını göstermişlerdir. Azalmış miR-3653 ekspresyonunu, olumsuz klinik özelliklerle ve kötü prognozla ilişkilendirmiştir (Lijuan Zhang, Zhang, Deng, & Sun, 2019). Gill ve arkadaşları, pankreas nöroendokrin tümörleriyle (PNET) yaptıkları miRNA araştırmasında, miR-

3653'ün pankreas nöroendokrin tümörlerinde ekspresyonunun fazla olduğunu bulmuş ve metastazda artışla ilgili olabileceğini belirtmiştir (Gill et al., 2019). Sathipati ve arkadaşları, akciğer adenokarsinomunda yaptıkları miRNA araştırmasında akciğer adenokarsinomu ile ilişkili 18 miRNA saptamış ve bunlardan birinin de miR-3653 olduğunu göstermişlerdir. Bu miRNA'ların akciğer adenokarsinomu için yeni terapötik yaklaşımların geliştirilmesinde yardımcı olabileceğini belirtmiştir (Yerukala Sathipati & Ho, 2017). Slotta-Huspenina ve arkadaşlarının, miRNA analizi ile özafagusun skuamöz hücreli karsinomuna (ESCC) sahip hastalarının radyokemoterapiye direncini tahmin etmeye yönelik yaptıkları çalışmada, miR-3653'ün ekspresyonunun düşük olduğunu saptamıştır. Buldukları sonuçlara göre, miRNA'ların terapötik yanıtta rol oynadığını ve tedavi öncesinde hasta seçimini kolaylaştırabileceğini belirtmiştir (Slotta-Huspenina et al., 2018).

Literatür özetinden de anlaşılacağı üzere miR-3653, farklı kanser türlerinde farklı ekspresyon profilleri ile biyobelirteç olmaya aday bir moleküldür. Literatürde özellikle miR-3653-3p ekspresyonunun over kanserinin etyolojisi, teşhisi ve prognozu ile ilişkili bir çalışma bulunmamakla birlikte söz konusu miRNA'nın periferik kanda ekspresyon düzeyinin ne olduğunu bildiren bir çalışmaya da rastlanmamaktadır. Söz konusu miR-3653-3p ve over kanseri arasındaki ilişki Tuncer ve arkadaşlarının periferik kanda yapmış oldukları over kanseri açısından diskordant olan monozigotik ikiz çalışmasında ortaya koyulmuştur. Sadece yüksek riskli aile fertlerinin yer aldığı az hasta ile yapılan bu çalışmanın geniş hasta ve sağlıklı grupta tekrarlanması amacıyla; 149 over kanseri teşhisi konmuş hasta ile 91 sağlıklı kontrol grubunun periferik kanında miR-3653-3p ekspresyon düzeyi araştırılmıştır. Over kanser hastalarının periferik kanında, miR-3653-3p ekspresyon düzeyinin kontrol gruplarından 9,49 kat fazla olduğu bulunmuş ve sonuçların istatistiksel açıdan anlamlı ($p=0,00$) olduğu gösterilmiştir. Over kanserli hastalar, ek tanıya sahip hastalar ve sağlıklı kontrol grubunda, miR-3653-3p ekspresyon düzeyleri arasındaki ilişki de istatistiksel olarak anlamlı ($p=0,000$) bulunmuştur. Bu sonuçlara ilave olarak, miR-3653-3p'nin over kanseri için periferik kanda non-invaziv olmayan bir biyobelirteç olarak kullanılıp kullanılamayacağı, ROC analizi ile değerlendirilmiş ve söz konusu molekülün %95 güven aralığıyla istatistiksel olarak anlamlı bir biyobelirteç olduğu gösterilmiştir (ROC-AUC değeri 0,833; p değeri 0,00).

Özetle, miR-3653-3p'nin over kanseri için non-invaziv biyobelirteç özelliği taşıdığı görülmektedir. miR-3653-3p ekspresyonunun hasta ve sağlıklı kişilerin periferik kanlarında anlamlı düzeyde farklı olduğu, over kanserinin erken tanısı ve tedavi takibinde kullanılabileceğini düşündürmektedir. Ancak hastalığın erken tanısı ve prognozunda kullanılması için overin benign hastalıklarında ve over kanseri tedavisi alan kişilerin tedavileri sırasında belli aralıklarla düzeylerinin ölçüldüğü çalışmalara ihtiyaç vardır.



KAYNAKLAR

- Álvarez-Garcia, V., Tawil, Y., Wise, H. M., & Leslie, N. R. (2019). Mechanisms of PTEN loss in cancer: It's all about diversity. *Seminars in Cancer Biology*, 59(January), 66–79. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2019.02.001>
- Auersperg, N., Wong, A. S. T., Choi, K. C., Kang, S. K., & Leung, P. C. K. (2001). Ovarian surface epithelium: Biology, endocrinology, and pathology. *Endocrine Reviews*, 22(2), 255–288. <https://doi.org/10.1210/er.22.2.255>
- Barshack, I., Lithwick-Yanai, G., Afek, A., Rosenblatt, K., Tabibian-Keissar, H., Zepeniuk, M., ... Perelman, M. (2010). MicroRNA expression differentiates between primary lung tumors and metastases to the lung. *Pathology Research and Practice*, 206(8), 578–584. <https://doi.org/10.1016/j.prp.2010.03.005>
- Berek, J. S., Kehoe, S. T., Kumar, L., & Friedlander, M. (2018). Cancer of the ovary, fallopian tube, and peritoneum. *International Journal of Gynecology and Obstetrics*, 143, 59–78. <https://doi.org/10.1002/ijgo.12614>
- Bourgonje, A. M., Verrijp, K., Schepens, J. T. G., Navis, A. C., Piepers, J. A. F., Palmen, C. B. C., ... Hendriks, W. J. A. J. (2016). Comprehensive protein tyrosine phosphatase mRNA profiling identifies new regulators in the progression of glioma. *Acta Neuropathologica Communications*, 4(1), 96. <https://doi.org/10.1186/s40478-016-0372-x>
- Bushati, N., & Cohen, S. M. (2007). MicroRNA functions. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 23, 175–205. <https://doi.org/10.1146/annurev.cellbio.23.090506.123406>
- Cafri, G., Yossef, R., Pasetto, A., Deniger, D. C., Lu, Y. C., Parkhurst, M., ... Rosenberg, S. A. (2019). Memory T cells targeting oncogenic mutations detected in peripheral blood of epithelial cancer patients. *Nature Communications*, 10(1), 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-08304-z>

- Calin, G. A., Sevignani, C., Dumitru, C. D., Hyslop, T., Noch, E., Yendamuri, S., ... Croce, C. M. (2004). Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(9), 2999–3004. <https://doi.org/10.1073/pnas.0307323101>
- Cannistra, S. A. (2004). Cancer of the Ovary. *New England Journal of Medicine*, 351(24), 2519–2529. <https://doi.org/10.1056/NEJMra041842>
- Chang, L., Guo, R., Yuan, Z., Shi, H., & Zhang, D. (2018). LncRNA HOTAIR Regulates CCND1 and CCND2 Expression by Sponging miR-206 in Ovarian Cancer. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 49(4), 1289–1303. <https://doi.org/10.1159/000493408>
- Chen, V. W., Ruiz, B., Killeen, J. L., Coté, T. R., Wu, X. C., Correa, C. N., & Howe, H. L. (2003). Pathology and classification of ovarian tumors. *Cancer*, 97(10 SUPPL.), 2631–2642. <https://doi.org/10.1002/cncr.11345>
- Chen, Y., Li, Z. H., Liu, X., Liu, G. X., Yang, H. M., & Wu, P. F. (2019). Reduced expression of miR-3653 in glioma and its correlations with clinical progression and patient survival. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 12(15), 6596–6601. https://doi.org/10.26355/eurev_201908_18547
- Cho, K. R., & Shih, I. M. (2009). Ovarian cancer. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*, 4, 287–313. <https://doi.org/10.1146/annurev.pathol.4.110807.092246>
- Corney, D. C., Flesken-Nikitin, A., Choi, J., & Nikitin, A. Y. (2008). Role of p53 and Rb in ovarian cancer. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 622, 99–117. https://doi.org/10.1007/978-0-387-68969-2_9
- Corney, D. C., & Nikitin, A. Y. (2008). MicroRNA and ovarian cancer. *Histology and Histopathology*, 23(9), 1161–1169. <https://doi.org/10.14670/HH-23.1161>
- Costinean, S., Zanesi, N., Pekarsky, Y., Tili, E., Volinia, S., Heerema, N., & Croce, C. M. (2006). Pre-B cell proliferation and lymphoblastic leukemia/high-grade lymphoma in Eμ-miR155 transgenic mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(18), 7024–7029. <https://doi.org/10.1073/pnas.0602266103>

- Crispens, M. (2012). Endometrial and ovarian cancer in lynch syndrome. *Clinics in Colon and Rectal Surgery*, 25(2), 97–102. <https://doi.org/10.1055/s-0032-1313780>
- Di Leva, G., & Croce, C. M. (2013). MiRNA profiling of cancer. *Current Opinion in Genetics and Development*, 23(1), 3–11. <https://doi.org/10.1016/j.gde.2013.01.004>
- Dong, H., Lei, J., Ding, L., Wen, Y., Ju, H., & Zhang, X. (2013). MicroRNA: Function, detection, and bioanalysis. *Chemical Reviews*, 113(8), 6207–6233. <https://doi.org/10.1021/cr300362f>
- Feeley, K. M., & Wells, M. (2001). Precursor lesions of ovarian epithelial malignancy. *Histopathology*, 38(2), 87–95. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2559.2001.01042.x>
- Fridman, E., Dotan, Z., Barshack, I., David, M. Ben, Dov, A., Tabak, S., ... Spector, Y. (2010). Accurate molecular classification of renal tumors using microRNA expression. *Journal of Molecular Diagnostics*, 12(5), 687–696. <https://doi.org/10.2353/jmoldx.2010.090187>
- Gao, D., Zhang, Y., Zhu, M., Liu, S., & Wang, X. (2016). MiRNA expression profiles of HPV-infected patients with cervical cancer in the uyghur population in China. *PLoS ONE*, 11(10), 1–12. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0164701>
- Gill, P., Kim, E., Chua, T. C., Clifton-Bligh, R. J., Nahm, C. B., Mittal, A., ... Samra, J. S. (2019). MiRNA-3653 Is a Potential Tissue Biomarker for Increased Metastatic Risk in Pancreatic Neuroendocrine Tumours. *Endocrine Pathology*, 30(2), 128–133. <https://doi.org/10.1007/s12022-019-9570-y>
- Global Cancer Observatory. (2020). Estimated age-standardized incidence rates (World) in 2020, worldwide, both sexes, all ages, 2020. Retrieved from https://gco.iarc.fr/today/online-analysis-multi-bars?v=2020&mode=cancer&mode_population=countries&population=900&populations=900&key=asr&sex=0&cancer=39&type=0&statistic=5&prevalence=0&population_group=0&ages_group%5B%5D=0&ages_group%5B%5D=17&nb_items=10&
- Graziottin, A., & Gambini, D. (2015). *Anatomy and physiology of genital organs - women. Handbook of Clinical Neurology* (1st ed., Vol. 130). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/b978-0-444-63247-0.00004-3>

- Ha, M., & Kim, V. N. (2014). Regulation of microRNA biogenesis. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 15(8), 509–524. <https://doi.org/10.1038/nrm3838>
- Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2000). The Hallmarks of Cancer. *Cell*, 100(1), 57–70. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)81683-9](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)81683-9)
- Horiuchi, A., Itoh, K., Shimizu, M., Nakai, I., Yamazaki, T., Kimura, K., ... Konishi, I. (2003). Toward understanding the natural history of ovarian carcinoma development: A clinicopathological approach. *Gynecologic Oncology*, 88(3), 309–317. [https://doi.org/10.1016/S0090-8258\(02\)00104-X](https://doi.org/10.1016/S0090-8258(02)00104-X)
- Hung, C. S., Wang, S. C., Yen, Y. T., Lee, T. H., Wen, W. C., & Lin, R. K. (2018). Hypermethylation of CCND2 in lung and breast cancer is a potential biomarker and drug target. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(10). <https://doi.org/10.3390/ijms19103096>
- IARC. (2020). *World cancer report 2020*. World Health Organization. Retrieved from <http://publications.iarc.fr/Non-Series-Publications/World-Cancer-Reports/World-Cancer-Report-2014>
- Iorio, M. V., Visone, R., Di Leva, G., Donati, V., Petrocca, F., Casalini, P., ... Croce, C. M. (2007). MicroRNA signatures in human ovarian cancer. *Cancer Research*, 67(18), 8699–8707. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-07-1936>
- Jayson, G. C., Kohn, E. C., Kitchener, H. C., & Ledermann, J. A. (2014). Ovarian cancer. *The Lancet*, 384(9951), 1376–1388. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)62146-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)62146-7)
- Kosaka, N., Iguchi, H., & Ochiya, T. (2010). Circulating microRNA in body fluid: A new potential biomarker for cancer diagnosis and prognosis. *Cancer Science*, 101(10), 2087–2092. <https://doi.org/10.1111/j.1349-7006.2010.01650.x>
- Lin, K., Xu, T., He, B. S., Pan, Y. Q., Sun, H. L., Peng, H. X., ... Wang, S. K. (2016). MicroRNA expression profiles predict progression and clinical outcome in lung adenocarcinoma. *OncoTargets and Therapy*, 9, 5679–5692. <https://doi.org/10.2147/OTT.S111241>

- MacFarlane, L.-A., & R. Murphy, P. (2010). MicroRNA: Biogenesis, Function and Role in Cancer. *Current Genomics*, 11(7), 537–561. <https://doi.org/10.2174/138920210793175895>
- Matulonis, U. A., Sood, A. K., Fallowfield, L., Howitt, B. E., Sehouli, J., & Karlan, B. Y. (2016). Ovarian cancer. *Nature Reviews Disease Primers*, 2, 1–22. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2016.61>
- Mitchell, P. S., Parkin, R. K., Kroh, E. M., Fritz, B. R., Wyman, S. K., Pogosova-Agadjanyan, E. L., ... Tewari, M. (2008). Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(30), 10513–10518. <https://doi.org/10.1073/pnas.0804549105>
- Ngeow, J., Sesock, K., & Eng, C. (2017). Breast cancer risk and clinical implications for germline PTEN mutation carriers. *Breast Cancer Research and Treatment*, 165(1), 1–8. <https://doi.org/10.1007/s10549-015-3665-z>
- Permuth-Wey, J., & Sellers, T. A. (2009). Epidemiology of ovarian cancer. *Methods in Molecular Biology*, 472, 413–437. https://doi.org/10.1007/978-1-60327-492-0_20
- Prat, J., & Mutch, D. G. (2018). Pathology of cancers of the female genital tract including molecular pathology. *International Journal of Gynecology and Obstetrics*, 143, 93–108. <https://doi.org/10.1002/ijgo.12617>
- Roett, M. A., & Evans, P. (2009). Ovarian cancer: An overview. *American Family Physician*, 80(6), 609–616. Retrieved from <https://www.aafp.org/afp/2009/0915/p609.html>
- Shih, I.-M., & Kurman, R. J. (2004). Ovarian tumorigenesis: a proposed model based on morphological and molecular genetic analysis. *The American Journal of Pathology*, 164(5), 1511–1518. [https://doi.org/10.1016/s0002-9440\(10\)63708-x](https://doi.org/10.1016/s0002-9440(10)63708-x)
- Slotta-Huspenina, J., Drecoll, E., Feith, M., Habermehl, D., Combs, S., Weichert, W., ... Langer, R. (2018). MicroRNA expression profiling for the prediction of resistance to neoadjuvant radiochemotherapy in squamous cell carcinoma of the esophagus. *Journal of Translational Medicine*, 16(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/s12967-018-1492-9>

- Szafranska, A. E., Davison, T. S., Shingara, J., Doleshal, M., Riggenbach, J. A., Morrison, C. D., ... Labourier, E. (2008). Accurate molecular characterization of formalin-fixed, paraffin-embedded tissues by microRNA expression profiling. *Journal of Molecular Diagnostics*, 10(5), 415–423. <https://doi.org/10.2353/jmoldx.2008.080018>
- Taylor, D. D., & Gercel-Taylor, C. (2008). MicroRNA signatures of tumor-derived exosomes as diagnostic biomarkers of ovarian cancer. *Gynecologic Oncology*, 110(1), 13–21. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2008.04.033>
- Tetzlaff, M. T., Liu, A., Xu, X., Master, S. R., Baldwin, D. A., Tobias, J. W., ... Baloch, Z. W. (2007). Differential expression of miRNAs in papillary thyroid carcinoma compared to multinodular goiter using formalin fixed paraffin embedded tissues. *Endocrine Pathology*, 18(3), 163–173. <https://doi.org/10.1007/s12022-007-0023-7>
- Tuncer, S. B., Erdogan, O. S., Erciyas, S. K., Saral, M. A., Celik, B., Odemis, D. A., ... Yazici, H. (2020). MiRNA expression profile changes in the peripheral blood of monozygotic discordant twins for epithelial ovarian carcinoma: Potential new biomarkers for early diagnosis and prognosis of ovarian carcinoma. *Journal of Ovarian Research*, 13(1), 1–15. <https://doi.org/10.1186/s13048-020-00706-8>
- Wang, J., Chen, J., & Sen, S. (2016). MicroRNA as Biomarkers and Diagnostics. *Journal of Cellular Physiology*, 231(1), 25–30. <https://doi.org/10.1002/jcp.25056>
- Wang, J., Zhang, K. Y., Liu, S. M., & Sen, S. (2014). Tumor-Associated circulating micromRNAs as biomarkers of cancer. *Molecules*, 19(2), 1912–1938. <https://doi.org/10.3390/molecules19021912>
- Weiderpass, E., & Labrèche, F. (2012). Malignant tumors of the female reproductive system. *Safety and Health at Work*, 3(3), 166–180. <https://doi.org/10.5491/SHAW.2012.3.3.166>
- WHO. (2020). Source: Globocan 2020. *Globocan 2020*, 419, 3–4. Retrieved from <https://ascopost.com/news/december-2020/globocan-2020-database-provides-latest-global-data-on-cancer-burden-cancer-deaths/#:~:text=Female breast cancer has now,with 685%2C000 deaths in 2020.>

- Yazici, H., Kilic, S., Akdeniz, D., Sukruoglu, O., Tuncer, S. B., Avsar, M., ... Saip, P. (2018). Frequency of Rearrangements Versus Small Indels Mutations in BRCA1 and BRCA2 Genes in Turkish Patients with High Risk Breast and Ovarian Cancer. *European Journal of Breast Health*, 93–99. <https://doi.org/10.5152/ejbh.2017.3799>
- Yerukala Sathipati, S., & Ho, S. Y. (2017). Identifying the miRNA signature associated with survival time in patients with lung adenocarcinoma using miRNA expression profiles. *Scientific Reports*, 7(1), 1–15. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-07739-y>
- Zhang, Lijuan, Zhang, T., Deng, Z., & Sun, L. (2019). MicroRNA-3653 inhibits the growth and metastasis of hepatocellular carcinoma by inhibiting ITGB1. *Oncology Reports*, 41(3), 1669–1677. <https://doi.org/10.3892/or.2019.6971>
- Zhang, Lin, Huang, J., Yang, N., Greshock, J., Megraw, M. S., Giannakakis, A., ... Coukos, G. (2006). microRNAs exhibit high frequency genomic alterations in human cancer. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(24), 9136–9141. <https://doi.org/10.1073/pnas.0508889103>
- Zhao, J., Song, X., Xu, T., Yang, Q., Liu, J., Jiang, B., & Wu, J. (2021). Identification of Potential Prognostic Competing Triplets in High-Grade Serous Ovarian Cancer. *Frontiers in Genetics*, 11(January), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fgene.2020.607722>
- Zhao, L., Zhao, Y., He, Y., & Mao, Y. (2017). miR-19b promotes breast cancer metastasis through targeting MYLIP and its related cell adhesion molecules. *Oncotarget*, 8(38), 64330–64343. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.19278>
- Zheng, Y. J., Zhao, J. Y., Liang, T. S., Wang, P., Wang, J., Yang, D. K., & Liu, Z. S. (2019). Long noncoding RNA SMAD5-AS1 acts as a microRNA-106a-5p sponge to promote epithelial mesenchymal transition in nasopharyngeal carcinoma. *FASEB Journal*, 33(11), 12915–12928. <https://doi.org/10.1096/fj.201900803R>
- Zhu, W., Luo, X., Fu, H., Liu, L., Sun, P., & Wang, Z. (2019). MiR-3653 inhibits the metastasis and epithelial-mesenchymal transition of colon cancer by targeting Zeb2. *Pathology Research and Practice*, 215(10), 152577. <https://doi.org/10.1016/j.prp.2019.152577>

HAM VERİLER

FORMLAR

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

I-Araştırmayla İlgili Bilgi Verilmesi:

Proje Adı: “Over Kanserli Hastalar ile Sağlıklı Kişilerin Periferik Dolaşımında miR-3653-3p’nin Ekspresyon Düzeyinin Karşılaştırılarak İncelenmesi”

Yapılacak İşlemin Tanımı: Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü Temel Onkoloji Anabilim Dalı tarafından yürütülecektir. İstanbul Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü’ne başvuran araştırmaya katılmayı kabul eden ve gönüllü onamı alınan 150 over kanser hasta grubu ile yaş, cinsiyet ve etnik açısından eşleştirilmiş 100 sağlıklı kontrole ait periferik kan örneklerinden ayrıştırılmış lenfosit hücrelerinde miR-3653-3p’nin ekspresyon düzeyi araştırılacaktır.

Araştırmanın Amacı: Kanser araştırmalarında bilinen miRNA’ların ekspresyon paternlerinin hasta ve sağlıklı kişiler arasında karşılaştırılarak incelenmesi hastalıklara özgü biyolojik belirteçlerin bulunması açısından son derece önemlidir ve over kanserinin patogenezinde bu moleküllerinin rollerinin de belirlenmesi anlamlıdır. Çalışmanın amacı, miR-3653-3p’nin over kanser hastalarının ve sağlıklı kişilerin dolaşımlarında ekspresyon düzeylerinin karşılaştırılmalı bir analizini yaparak, over kanseri erken tanısı için biyobelirteç olarak kullanılıp kullanılamayacağına bakmaktır.

Araştırmada Kullanılacak Yöntemler: Gönüllülerden alınan kan örneklerinden lenfosit hücre izolasyonu gerçekleştirilip miRNA izolasyonu yapılır. İzole edilen miRNA’ların saflık ve konsantrasyon analizleri yapıp, qPCR yapılır. Veriler SPSS programında değerlendirilir.

Çalışmanın Süresi: 26.11.2020 - 26.11.2021

Katılımcı sayısı: 150

Olası riskler ve faydalar : Hasta veya sağlıklı gönüllülerden kan alınma sırasında kan alınan bölgede acı, morarma ya da kanama benzeri rahatsızlıklar meydana gelebilir.

Yapılacak araştırmanın getirebileceği olası riskler: Size ait genetik bilgi kesinlikle gizli kalacaktır. Araştırma sonucu çıkan bilgi isteğiniz üzere sizinle paylaşılabilir. Ancak bu genetik bilginin öğrenilmesine bağlı olarak sosyal, ekonomik ve psikolojik sorunlar ortaya çıkabilir.

Kan alma işlemi rutin biyokimyasal analizler için yapılan standart kan alma işlemi ile aynıdır. Bu işlem sırasında damarın bulunamaması gibi olası sorunlarla karşılaşılabilir. Gönüllüden alınmış kan örneğine uygulanacak olan lenfosit hücresi izolasyon protokolü gönüllü açısından herhangi bir risk taşımamaktadır.

İnceleme sonunda elde edilecek sonuçlar istediğiniz takdirde size bildirilecektir. Ancak bu bilgiyi öğrenmeyi reddetmek her zaman hakkınızdır. Bu bilgiyi sizin dışınızda birisi ile paylaşmamız sadece sizin iznimize bağlı olacaktır.

Olası yararlar: Bu incelemelerin esas amacı, over kanseri erken tanısı için kanda bazı belirteçlere bakmaktır. Bu araştırma, over kanser hastalığının erken tanısı için yol gösterebilir ve erken tanıyla birlikte tedavinin de gecikmemesini sağlayabilir.

II-Gönüllünün Haklarıyla İlgili Bilgi Verilmesi

- Bu çalışmada gönüllünün hiçbir hukuki ve mali sorumluluğu bulunmayıp tüm sorumluluk araştırmacı ve destekleyiciye aittir.

- Gönüllü arzusu üzerine mali ve hukuki yükümlülük olmaksızın çalışmadan ayrılabilir.
- Bu işlemler için gönüllüden hiçbir ücret talep edilmeyecektir.
- Bu çalışma için gönüllüye herhangi bir ücret ödenmeyecektir.
- Çalışmaya katılmak zorunluluğunuz bulunmamaktadır, gönüllü istediği takdirde çalışmadan ayrılabilir.
- Gönüllünün çalışmaya katılmayı reddetmesi onun gelecekteki takip ve tedavisi üzerine olumsuz etkide bulunmayacaktır.
- Çalışma kabul kriterlerine ve özelliklerine uyum sağlamadığınız takdirde çalışmadan çıkarılabileceğiniz durumlar oluşabilir. Bu nedenle çalışmadan araştırmacının isteği ile çıkarılabilirsiniz.
- Araştırma sırasında elde edilen test sonuçlarının sizi ve ailenizi psikolojik veya diğer bir yönden etkileyeceğini düşünmeniz durumunda araştırmadan isteğiniz üzere ayrılabilirsiniz.
- Araştırmaya katılmayı kabul etmemeniz durumunda veya herhangi bir nedenle çalışma programından çıkmanız ya da çıkarılmanız halinde hastalığınızın tedavisi ile ilgili hiçbir aksama olmayacaktır.
- Kimlik bilgileriniz gizli tutulacak ve sizden alınacak doku örneklerinden elde edilecek tüm materyaller özel bir kodlama ile kodlanacak ve bu bilgiler üçüncü şahıslara aktarılmayacaktır.

Katılımcının/Hastanın Beyanı:

Sayın **Prof.Dr. Hülya Yazıcı** tarafından İstanbul Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü Temel Onkoloji Anabilim Dalı tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya “katılımcı” (denek) olarak davet edildim.

Eğer bu araştırmaya katılırsam hekim ile aramda kalması gereken bana ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı ile yaklaşılabileceğine inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin ihtimamla korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi.

Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirim. (Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemim uygun olacağının bilincindeyim) Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı da tutulabilirim.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır.

İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorunumun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. (Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğim).

Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda; herhangi bir saatte,

Prof.Dr. Hülya Yazıcı'yı 0530 311 01 38 no'lu telefondan, İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Temel Onkoloji Ana Bilim Dalından arayabileceğimi biliyorum.

Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkiye herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme süresi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde “katılımcı” (denek) olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

İmzalı bu form kağıdının bir kopyası bana verilecektir.

6. GÖNÜLLÜ ONAY FORMU

Yukarıda, gönüllüye araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri gösteren metni okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarla söz konusu klinik araştırmaya kendi rızamla hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum.

Tarih:**Gönüllünün Adı-soyadı :****İmzası****Gönüllünün Telefonu :****Adresi :**

Velayet veya vesayet altında bulunanlar için veli veya vasinin Adı-soyadı, İmzası, Adresi (varsa telefon no. faks no,)

Açıklamaları yapan araştırmacının**Adı-soyadı:****İmzası****Rıza alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin****Adı-soyadı:****İmzası**

ETİK KURUL KARARI

PATENT HAKKI İZİNİ

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

OVER KANSERLİ HASTALAR İLE SAĞLIKLI KİŞİLERİN PERİFERİK DOLAŞIMINDA MİR-3653-3P'NİN EKSPRESYON DÜZEYİNİN KARŞILAŞTIRILARAK İNCELENMESİ

ORIJİNALLIK RAPORU

% **13**
BENZERLİK ENDEKSİ

% **11**
İNTERNET KAYNAKLARI

% **5**
YAYINLAR

% **6**
ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	nek.istanbul.edu.tr:4444 İnternet Kaynağı	%2
2	Submitted to Istanbul University Öğrenci Ödevi	%2
3	Submitted to Fatih University Öğrenci Ödevi	%1
4	Submitted to Haliç Üniversitesi Öğrenci Ödevi	<%1
5	www.mdpi.com İnternet Kaynağı	<%1
6	Yasemin Gider, Xhariga Jabbarli, Gamze Uyaroglu, Seref Bugra Tuncer et al. "High Level of Mir-142-3P Expression in Peripheral Blood of Patients with Ovarian Carcinoma", Research Square, 2021 Yayın	<%1
7	Submitted to TechKnowledge Turkey Öğrenci Ödevi	<%1

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı		Soyadı	
Doğ.Yeri		Doğ.Tar.	
Email		Uyruğu	

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora		
Yük.Lis.		
Lisans		
Lise		

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, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi

Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

Özel İlgi Alanları (Hobileri):