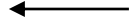


Adınızı soyadınızı giriniz

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)

YÜKSEK RİSKLİ OVER KANSER HASTALARINDA
MİR-27A-3P DÜZEYİNİN ARAŞTIRILMASI

GAMZE UYAROĞLU

DANIŞMAN
PROF. DR. HÜLYA YAZICI

TEMEL ONKOLOJİ ANABİLİM DALI
KANSER GENETİĞİ PROGRAMI

İSTANBUL-2020

TEZ ONAYI

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



BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Gamze UYAROĞLU



İTHAF

Annem Elvan UYAROĞLU'na ve Babam Hüseyin UYAROĞLU'na 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,

Tez çalışmalarımın her aşamasında bana yön veren, yardım ve tavsiyelerde bulunan, tez danışmanım, çok değerli hocam *Prof. Dr. Hülya YAZICI*'ya,

Yüksek lisans eğitimi ve öğretimi süresince ders aldığım tüm hocalarıma,

Tez çalışmamızda kullanmak için sağlıklı örnek toplamamıza yardımcı olan İ.Ü. Onkoloji Enstitüsü Patoloji ve Biyokimya Bölümü'ne,

Temel Onkoloji Anabilim Dalımızda bulunan Kanser Genetiği Bilim dalında görev yapan desteklerini esirgemeyen *Demet AKDENİZ*'e, *Betül ÇELİK*'e, *Seda KILIÇ ERCİYAS*'a ve tüm çalışma arkadaşlarıma,

Temel Onkoloji Anabilim Dalımızda Kanser Genetiği Bilim dalında benimle beraber çalışan değerli arkadaşlarım *Yasemin GİDER* ve *Khariga JABBARLI*'ya teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No:34939

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI.....	2
BEYAN	3
İTHAF	4
TEŞEKKÜR	5
İÇİNDEKİLER	6
TABLolar LİSTESİ	9
ŞEKİLLER LİSTESİ	10
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	11
ÖZET.....	13
ABSTRACT	14
1. GİRİŞ VE AMAÇ	15
2. GENEL BİLGİLER.....	18
2.1. Kadın Üreme Organları.....	18
2.2. Yumurtalık Kanseri Gelişimi ve Metastazı.....	20
2.3. Yumurtalık Kanserinin Epidemiyolojisi.....	21
2.4. Yumurtalık Kanserinin Alt Tipleri.....	21
2.5. Yumurtalık Kanserinde Genetik Değişiklikler.....	23
2.6. Evreleme.....	25
2.7. Risk Faktörleri.....	26
2.7.1. Genetik Risk Faktörleri.....	26
2.7.2. Diğer Risk Faktörleri.....	27
2.8. MikroRNA ve KANSER.....	28
2.8.1. MikroRNAların Biyolojik Özellikleri.....	29
2.8.2. MikroRNA Biyogenezi.....	30
2.8.3. Yumurtalık Kanseri Gelişiminde MiRNA İfade Profilleri.....	32
2.8.4. Tümör Baskılayıcı Role Sahip MicroRNA ’lar.....	33
2.8.5. Onkogen Rolünde MicroRNA ’lar.....	34

2.8.6. Yumurtalık Kanseri İnvazyonu ve Metastazında MiRNA Rolü.....	35
2.8.7. Kandaki MiRNA'lar (Total Kan, Serum, Plazma ve Eksozom).....	35
2.8.8. miRNA-27a-3p.....	36
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	39
3.1. Materyal.....	39
3.2. Kimyasal Maddeler ve Malzemeler.....	40
3.3. Kullanılan Çözeltiler Ve Tamponlar İle Bilgisayar Programları.....	41
3.4. Kullanılan Cihazlar.....	42
3.5. Tam Kandan Lenfosit İzolasyonu.....	42
3.6. Lenfositten RNA İzolasyonu.....	43
3.6.1. RNA İzolasyon Protokolü.....	43
3.7. RNA'ların Saflık ve Konsantrasyon Ölçümleri.....	43
3.8. Kalite Kontrol Verilerinin Değerlendirilmesi.....	44
3.9. ID3EAL miRNA qPCR Starter Kit Protokolü.....	44
3.9.1. cDNA Sentezi.....	44
3.9.2. Kantitatif Real Time PCR Reaksiyonu.....	44
3.10. qPCR ile Çoğaltılan miRNA Moleküllerinin Analizi	45
3.11. Δ CT ve $\Delta\Delta$ CT Değerlerinin Hesaplanması.....	46
3.12. İstatistiksel Analiz.....	46
4. BULGULAR.....	47
4.1. miR-27a-3p Ekspresyon Düzeylerinin Hastaların Klinik ve Patolojik Özellikleri İle Karşılaştırılması.....	53
4.2.Yumurtalık Kanseri Hastalarında miR-27a-3p Ekspresyon Düzeyinin Aile Hikâyeleri ile Karşılaştırılması.....	56
4.3. miR-27a-3p Ekspresyon Düzeyinin Yumurtalık Kanseri Hastaların Hamilelik ve İnfertilite Durumuna Göre Değerlendirilmesi.....	57
4.4.miR-27a-3p Ekspresyon Düzeylerinin Menopoz Durumu ve OKS (Oral Kontraseptif) Kullanımına Göre Değerlendirilmesi.....	58
4.5. ROC Analizi.....	58
4.6. Sağkalım Analizi.....	59
4.7. STRING Analizi.....	61

5. TARTIŞMA.....	63
KAYNAKLAR.....	67
HAM VERİLER.....	71
FORMLAR.....	72
ETİK KURUL KARARI.....	73
PATENT HAKKI İZNİ.....	76
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	77
ÖZGEÇMİŞ.....	78



TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: Yumurtalık Kanserinin Alt Tipleri.....	23
Tablo 2-2: Yumurtalık Kanserindeki Genetik Değişiklikler.....	25
Tablo 2-3: Yumurtalık Kanserinin FIGO Evreleme Sistemi.....	26
Tablo 2-4: Yumurtalık Kanseri Riskinin Arttığı Genetik Sendromlar.....	27
Tablo 2-5: Yumurtalık Kanserinin Farklı Histolojik Alt Tiplerinde Etkili Olan MiRNA'lar...33	
Tablo 3-1: Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Malzemeler.....	40
Tablo 3-2: Kullanılan Çözeltiler -Tamponlar ve Bilgisayar Programları.....	41
Tablo 3-3: Kullanılan Cihazlar ve İşlevleri.....	42
Tablo 3-4: Kantitatif Real Time PCR İşlemi Döngü ve Süreleri.....	45
Tablo 4-1: Yumurtalık Kanseri Hastalarına ait $2^{-\Delta\Delta CT}$ Değerleri.....	49
Tablo 4-2: Kontrol Grubunun $2^{-\Delta\Delta CT}$ Değerleri.....	50
Tablo 4-3: Kontrol ve Hasta Gruplarının Ortalama $2^{-\Delta\Delta Ct}$ Değerlerinin Karşılaştırılması ve Ekspresyon Farkının Gösterilmesi.....	51
Tablo 4-4: Toplam Hasta Ve Kontrol Grupları Arasında miR-27a-3p İfade Düzeyinin Mann-Whitney U Testi İle Değerlendirilmesi.....	52
Tablo 4-5: Yüksek Riskli Yumurtalık Kanseri Hastalarında Mir-27a-3p İfade Düzeyi İle Klinik Özellikler Arasındaki İlişkinin Değerlendirilmesi.....	53
Tablo 4-6: miR-27a-3p Ekspresyon Düzeyinin Hastaların Klinik Bulgularıyla Karşılaştırılması.....	56
Tablo 4-7 : miR-27a-3p Ekspresyon Düzeylerinin Hastaların Aile Hikayeleri İle Karşılaştırılması.....	57
Tablo 4-8: miR-27a-3p Ekspresyon Düzeylerinin Hastaların Hamilelik Durumu Ve Infertilite Tedavi Uygulaması Durumu İle Karşılaştırılması.....	58
Tablo 4-9: miR-27a-3p Ekspresyon Düzeylerinin Hastaların Menopoz Durumu Ve OKS Kullanımı İle Karşılaştırılması.....	58
Tablo 4-10: Yumurtalık Kanseri Hasta Ve Sağlıklı Grubun Ayrılmasında miR-27a-3p'nin ROC-AUC Değerleri.....	59
Tablo 4-11: Yumurtalık Kanseri Hastalarında miR-27a-3p Gen İfade Düzeyi ile Sağkalım Süresi Arasındaki Korelasyon.....	60
Tablo 4-12: Yumurtalık Kanseri Hastalarında miR-27a-3p Gen İfade Düzeyinin Sağkalım Süresine Bağlı Olarak “p” Değeri.....	60

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Kadın Üreme Sistemi.....	19
Şekil 2-2: MikroRNA'ların Kanserin Klinik Yönetimindeki Etkisi.....	29
Şekil 2-3: Mirna Biyogenezinin Şematik Gösterimi.....	32
Şekil 3-1: Mic qPCR Deney Tüplerinin Ve Çalışma Yerinin Görüntüsü.....	39
Şekil 3-2: Mic qPCR Cihazının Görüntüsü.....	40
Şekil 3-3: Mir-27a-3p Ekspresyonunun İncelenen Örneklerde Gerçek Zamanlı qPCR Eğri Görüntüsü.....	45
Şekil 3-4: Mir-27a-3p'nin Ekspresyonunun İncelenen Örneklerde Erime Eğrilerine İlişkin Görüntü.....	46
Şekil 4-1: Yumurtalık Kanseri Hasta Ve Sağlıklı Grubun Ayrılmasında miR-27a-3p'nin Etkinliğini Gösteren ROC Eğrisi.....	59
Şekil 4-2: Yumurtalık Kanseri Hastalarında miR-27a-3p Gen İfade Düzeyinin Sağ Kalım Süresi Arasındaki Korelasyon.....	60
Şekil 4-3: Mir-27a-3p'nin Gen/Protein Etkileşimini Gösteren String Analizi Sonuçları....	62

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

Ark.: Arkadaşları
AKT: Serin/treonin kinaz 1
ARID1A: AT-rich interactive domain-containing protein 1A
ATM: ATM (ataxia telangiectasia mutated)
Bcl-2: B hücreli lenfoma 2 geni
BRAF: v-Raf murine sarcoma viral oncogene homolog B geni
BRCA1: Breast Cancer 1 geni
BRCA2: Breast Cancer 2 geni
BRIP1: BRCA1 Interacting Protein C-Terminal Helicase 1 geni
BT: Bilgisayarlı Tomografi
CA-125: Kanser Antijeni-125
CA19-9: Kanser Antijeni-19-9
CLL: kronik lenfositik lösemi
CDKN2A: cyclin-dependent kinase Inhibitor 2A geni
cDNA: Tamamlayıcı DNA
CTNNB1: Catenin beta-1 geni
ct: Eşik döngüsü
CHEK2: Checkpoint kinase 2 geni
CXCL-1: C-X-C motif chemokine ligand geni
DGCR8: DiGeorge Syndrome Critical Region 8 Protein
DNA: Deoksiribonükleik Asit
DDSK: Düşük Dereceli Seröz Karsinom
dsRNA: Double-stranded RNA
EGF: Epidermal growth factor
EGFR: Epidermal Growth Factor Receptor
EXP5: Exportin 5
EOK: Epitelyal Over Kanseri
EMT: Epitelyal-Mezenkimal Geçiş
ESM: Hücre dışı matriks
EtBr: Etidyum Bromür
FIGO: International Federation of Gynecology and Obstetrics

HRT: Hormon replasman tedavisi
YDSK: Yüksek Dereceli Seröz Karsinom
KRAS: Kirsten-rous avian sarcoma
KLL: Kronik Lenfositik Lösemi
LH: Luteinize edici hormon
MAPK: Mitojenle aktifleştirilen protein kinaz
miRNA: mikroRNA
mRNA: Mesajcı RNA
MYC: onkogen
MMP: Matris metaloproteinazlar
MRG: Manyetik rezonans görüntüleme
NSCLC: Küçük hücreli olmayan akciğer kanseri
 μ L: mikrolitre
ng: nanogram
PAX8: paired-box geni 8
PCR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
pre-miRNA: Prekürsör miRNA
pri-miRNA: Primer miRNA
PTEN: Fosfataz ve Tensin Homoloğu
PIK3CA: Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit alpha
PKOS: polikistik over sendromu
PID: pelvik inflamatuvar hastalık
RanGTP: GTP bağlayıcı protein
RISC: RNA indüklenmiş susturma kompleksi
RNA: Ribonükleik Asit
ROC: Receiver Operator Characteristic
ROC-AUC: ROC Eğrisi Altında Kalan Alan
RCC: Renal Cell Carcinoma
TEB: Tris EDTA Borik Asit Tamponu
TP53: Tumor Protein 53
WT1: Wilms Tümör 1

ÖZET

UYAROGLU G.,Yüksek Riskli Over Kanser Hastalarında miR-27a-3p Düzeyinin Araştırılması, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Temel Onkoloji ABD.,Yüksek Lisans Tezi,İstanbul, 2020.

Kadınların çoğunda yumurtalık kanseri tanısı, erken evrede asemptomatik olması ve yeterli erken teşhis tarama yöntemlerinin bulunmaması sebebiyle ileri evrede koyulmaktadır. Yumurtalık kanserinin erken tanısı, tedavisi ve takibi için hastalığın moleküler patogenezinin açıklanması gerekmektedir. Bu sayede yeni biyolojik belirteçlere gereksinim duyulmaktadır. MikroRNA'lar, posttranskripsiyonel seviyede gen ekspresyonunu düzenleyen küçük kodlayıcı olmayan 18-25 nükleotid uzunluğunda bir RNA molekülü sınıfıdır. Onkogeneze hücre çoğalmasını, hücre farklılaşmasını ve onkogen veya tümör baskılayıcı olarak apoptozu düzenleyerek çok önemli bir işlevi olduğu gösterilmiştir. Yumurtalık tümörü oluşumunda çok sayıda miRNA'nın ilişkili olduğu gösterilmiş ve bu miRNA genlerinin bazılarının tanı, prognoz ve tedavi için ideal hedefler olabileceği gösterilmiştir. Sunulan tez çalışmasında grubumuz tarafından daha önce yumurtalık kanseri açısından önemli olduğu saptanan miRNA'lar arasından seçilen miR-27a-3p'nin ekspresyon düzeyi, yumurtalık kanserli hastalar ile sağlıklı kişilerin periferik kanında araştırıldı. RT-PCR tekniği kullanılarak yapılan ekspresyon analizleri SPSS v21.0 programı kullanılarak istatistiksel olarak değerlendirildi. Mann-WhitneyU testi ve ROC analizi sonucunda sağlıklı kontroller ile yumurtalık kanserli hasta grupları arasında çalışılmış olan miRNA'nın belirgin bir farka sebep olduğu saptandı. Yumurtalık kanserli hastalarda kontrol grubuna göre miR-27a-3p ekspresyonunun 1,95 kat arttığı gösterildi ve bu artışın istatistiksel açıdan anlamlı ($p<0,05$) olduğu hesaplandı. Literatürde, miR-27a-3p'nin yumurtalık kanseri dahil birçok kansere ait tümör dokusunda aşırı eksprese edildiği bildirilmiş olmakla beraber miR-27a-3p seviyesinin yumurtalık kanserli vakaların periferik dolaşımdaki düzeyine ilişkin bir bilgi bulunmamaktadır. Sunulan tez çalışmamız ile ilk kez yumurtalık kanserli vakaların periferik dolaşımında sağlıklı kotrollere göre miR-27a-3p ekspresyon seviyesinin artmış olduğu, söz konusu molekülün biyolojik belirteç olma potansiyeli olduğu belirlenmiştir. Gelecekte yapılacak çalışmalarla miR-27a-3p ekspresyon düzeyinin hastalığın tanısı ve tedavisinin izlenmesinde kullanması ile prognostik öneminin de gösterilebileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: miR-27a-3p, yumurtalık kanseri, biyobelirteç, miRNA, periferik kan

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No:34939

ABSTRACT

Uyaroglu G., Investigation of miR-27a-3p Level in High Risk Ovarian Cancer Patients
Istanbul University Health Sciences Institute, Institute of Health Science, Department of
Basic Oncology, Master Thesis, Istanbul, 2020.

Most women are diagnosed with ovarian cancer at an advanced stage, as it is asymptomatic at an early stage and lack of adequate early detection screening methods. Molecular pathogenesis of the disease should be explained for early diagnosis, treatment and follow-up of ovarian cancer. In this way, new biological markers are needed. MicroRNAs are a class of small non-coding 18-25 nucleotides in length RNA molecules that regulate gene expression at the posttranscriptional level. It has been shown to have a very important function in oncogenesis by regulating cell proliferation, cell differentiation, and apoptosis as an oncogene or tumor suppressor. A large number of miRNAs have been shown to be associated with ovarian tumor genesis, and some of these miRNA genes have been shown to be ideal targets for diagnosis, prognosis, and treatment. In the thesis study presented, the expression level of miR-27a-3p selected among miRNAs previously determined by our group to be important for ovarian cancer was investigated in the peripheral blood of ovarian cancer patients and healthy individuals. Expression analyzes using RT-PCR technique were statistically evaluated using SPSS v21.0 program. As a result of Mann-WhitneyU test and ROC analysis, it was determined that miRNA, which was studied between healthy controls and ovarian cancer patient groups, caused a significant difference. In ovarian cancer patients, miR-27a-3p expression was shown to increase by 1.95 times compared to the control group, and this increase was calculated to be statistically significant ($p < 0.05$). In the literature, it has been reported that miR-27a-3p is over-expressed in tumor tissue of many cancers, including ovarian cancer, but there is no information about the level of miR-27a-3p in the peripheral circulation of cases with ovarian cancer. By the presented thesis study, it was determined for the first time that the cases with ovarian cancer increased the level of miR-27a-3p expression in the peripheral circulation, and that the molecule in question has the potential to be a biological marker. In future studies, it is thought that the prognostic significance can be demonstrated by using the miR-27a-3p expression level in the diagnosis and treatment of the disease.

Key Words: miR-27a-3p, ovarian cancer, biomarker, miRNA, peripheral blood

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No: 34939

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Yumurtalık kanseri 2018 yılında GLOBOCAN verilerine göre dünya genelinde kadınlarda en sık görülen kanserler arasında 7. sıradadır [1]. Kanser nedeniyle 2018 yılında ölen hastaların % 62,5'i yumurtalık kanseri tanısını alan kişilerden oluşmaktadır. Yumurtalık kanseri kadınlarda sıklıkla menopozdan biraz önce ve menopoz sonrasında teşhis edilmektedir [2]. Yumurtalık kanseri en sık görülen jinekolojik malignitelerden olmakla birlikte bu kanser türünün sınıflandırması köken aldığı hücreye göre yapılmaktadır. Yumurtalık kanserinin %90'ından fazlasını epitelyal hücreli kanserler oluşturur ve epitelyal yumurtalık kanseri için beş yıllık sağkalım oranı %42.9'dur. Diğer hücre türlerinin karsinoma dönüştürme oranları endometrioid karsinom (EC) %10, berrak hücreli karsinom (CCC, Clear Cell Carcinoma) %10, müsinöz karsinom (MC) %3 ve düşük dereceli seröz karsinom (LGSC) <%5 olarak tespit edilmiştir. Farklı tümör histotipleri kemoterapiye farklı tepkiler verir. Tedaviler ve stratejiler geliştirilmeye devam etse de tedavinin başarılı olması için tek başına histopatolojik tanı yeterli olmayabilir. Ayrıca yumurtalık kanseri erken evrede belirgin bir semptom göstermemekte ve nedenle hastaların %60'ından fazlasında yumurtalık kanseri teşhisi koyulduğu anda karın bölgesi içinde veya uzak bölgelere metastazı gerçekleşmiş olmaktadır [3]. Yumurtalık kanseri tedavisi genellikle cerrahi ve kemoterapiden oluşmaktadır. Cerrahi ve platin bazlı kemoterapi şu anda standart yumurtalık kanseri tedavisi için kullanılmakla beraber, daha başarılı bir tedavi için yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesi gereklidir. Çünkü yüksek nüks oranları ve nüksten sonra gelişen ilaç direnci oranları, bu hastalıktaki yüksek ölüm oranlarının en önemli nedenlerindendir [4]. Etkili bir yumurtalık kanseri tedavisi için yumurtalık kanserinin moleküler patogenezinin açıklanması ve tedavinin takibinde işe yarayan yeni moleküler biyomarkerlerin geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır. Halen, erken aşamada yumurtalık kanserini tespit etmek için klinik kullanımda kanıtlanmış tek bir biyobelirteç mevcut değildir. Bu sorunu çözmek için, bilim insanları yeni teknolojiler kullanarak yumurtalık kanserinin erken tespiti için yeni biyobelirteçlerin tanımlanması için araştırmalar yapmaktadır. Mikro-ribonükleik asitler (miRNA'lar) kısa (18-25 nükleotitler), evrimsel olarak korunmuş, kodlayıcı olmayan RNA molekülleri ailesine ait endojen olarak eksprese edilen RNA'lardır. Her yıl farklı organizmalarda binlerce yeni miRNA keşfedilmekte ve miRbase'e göre, bugüne kadar 2500'den fazla işlevsel olarak farklı miRNA'nın olduğu bildirilmektedir. miRNA'lar, protein kodlayan mRNA'larının

stabilitesini ve translasyonunu, post-transkripsiyonel seviyede ise gen ekspresyonunu düzenleyen ve bu nedenle hücre bölünmesinin düzenlenmesi, farklılaşması, büyümesi ve apoptozisi gibi hemen hemen her normal biyolojik süreçte yer alan kritik modülatör moleküllerdir. miRNA moleküllerinin nörodejeneratif, enflamatuvar, metabolik, kardiyovasküler hastalıklar ve kanser gibi birçok patolojik durumda etkili oldukları gösterilmiştir. Yüzlerce miRNA'nın değişmiş ifadesi, kanserde tümör gelişimi, invazyonu, metastazı ve ilaç direnci ile yakından ilişkilidir. miRNA'ların ekspresyon profili, lokalizasyonu, türü ve evresi; normal ve kanserli dokular arasında önemli ölçüde farklıdır. Araştırmalar sonucu ortaya çıkan sonuçlar düzensiz miRNA'ların oncomiR'ler (onkojenik) veya tümör baskılayıcılar olarak işlev gördüğünü kanıtlamaktadır. miRNA'ların ekspresyon profili, farklı kanserlerin tanı ve prognozu için ilgili birer moleküler biyobelirteç olarak işlev görebilir [5]. miRNA ve kanser arasındaki ilk ilişki 2002 yılında Calin ve arkadaşlarının kronik lenfositik lösemi (CLL)'de yaptıkları çalışmasında miRNA'nın anormal ekspresyonu ile tümör hücreleri arasındaki korelasyonun keşfedilmesiyle ortaya koyulmuştur. miR-15'in çoğu CLL hücresine dahil olduğu bulunmuş iken miR-16 ekspresyonu aşağı regüle edilmiştir. Bu nedenle miR-15 ve miR-16'nın, tümör baskılayıcı genler olarak bir rol oynayabileceği ve hematolojik tümörlerin oluşumu ile yakından ilişkili olduğu iddia edilmiştir. Daha sonra, Kumar ve arkadaşları let-7 familyası miRNA'ların ekspresyonunun küçük hücreli olmayan akciğer kanserinde önemli ölçüde azaldığını, böylece K-RAS geni için gen üzerindeki etkisini zayıflattığını ve akciğer kanserinin gelişimini desteklediğini doğrulamıştır [6]. Bu, let-7 familyası miRNA ailesinin, küçük hücreli olmayan akciğer kanserinde tümör baskılayıcı genler olarak etki ettiğini göstermiştir [7]. miRNA ve yumurtalık kanseri ilişkisini araştıran bir çalışmada yumurtalık kanseri hücre hatları ve yumurtalık kanseri tümör doku örneklerinde miR-193b'nin ekspresyon seviyesi, kantitatif gerçek zamanlı PCR (qRT-PCR) kullanılarak değerlendirilmiş, miR-193b ekspresyonunun, normal kontrollerle karşılaştırıldığında, yumurtalık kanseri hücre hatlarında ve tümör dokularında önemli ölçüde ekspresyonunun azaldığı gösterilmiştir. Yumurtalık kanserinde miR-193b'nin azalması, düşük ekspresyonu göstermesi kötü prognoz ile ilişkili bulunmuştur. Dokudaki miR-193b'nin, yumurtalık kanseri için potansiyel yeni bir biyolojik belirteç olabileceği bildirilmiştir [8]. Şu ana kadar birçok çalışma yapılmış olmasına rağmen, yumurtalık kanserinin erken tanı ve prognozunda kullanılabilecek birçok aday molekül olmasına rağmen bu moleküllerin çoğunun daha büyük hasta gruplarında ve yumurtalığın selim hastalıklarında incelenerek doğrulanması yapılmamıştır. Çalışmamızda 2012-2017 yılları

arasında İstanbul Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü, Kanser Genetiği polikliniğine rutin tetkik için başvurmuş, rutin tetkikleri tamamlanmış ve kalan materyalinde araştırılma yapılmasına izin vermiş ve hasta onamı alınmış kişilerin arta kalan lenfosit hücrelerinde miR-27a-3p molekülü sağlıklı kişiler ile karşılaştırılarak araştırılmıştır. Araştırılması hedeflenen miR-27a-3p molekülü yumurtalık kanseri tanısı almış 150 hasta ve hasta popülasyonu ile yaş ve cinsiyet olarak eşleştirilmiş 100 sağlıklı kontrolün periferik kan lenfositlerinde incelenmiş, ve söz konusu molekülün yumurtalık kanseri için non-invaziv biyomarker olup olmadığı değerlendirilmiştir.



2. GENEL BİLGİLER

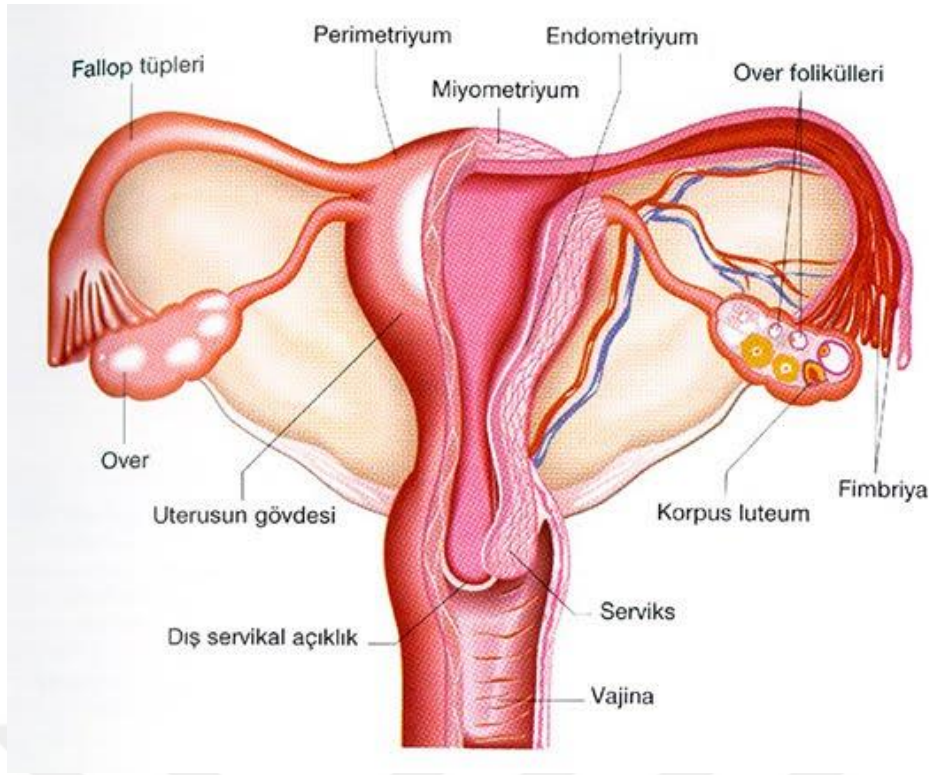
2.1. Kadın Üreme Organları

Kadın üreme sistemi, döllenmeyi, hamileliği ve doğumu mümkün kılan anatomik yapıdır. Bütün bu sistem pelvis bölgesinde bulunur ve üreme işlemine katılan tüm organları içerir. Kadın üreme sisteminde, iç ve dış organlar olmak üzere iki unsur yer almaktadır. Hepsi birbiriyle ilişkilidir ve her organın önemli bir rol oynadığı bir sistem oluşturulmuştur. Üreme sisteminin temel işlevleri üreme hücreleri üretmek, döllenmeye izin vermek ve döllenmiş hücreleri tamamen gelişene kadar korumak ve beslemek, böylece doğumun oluşmasını sağlamak şeklinde sıralanabilir. Bir kadının yumurtalıklarında yüz binlerce üreme hücresi vardır. Cinsiyet hormonlarının üretilmesi nedeniyle adet döngüsü ergenlik döneminde başlar. Ergenlikten sonra her ay bir üreme hücresi salınır. Eğer bir üreme hücresi döllenirse rahimde kalırsa yeni bir canlının oluşumu başlamış olur. Üreme hücresi döllenmemişse yumurtalıklardan salındıktan yaklaşık iki hafta sonra kurur ve vücuttan atılır. Bu durum kanla birlikte uterusun iç astarının rahimden atılması şeklinde gerçekleştirilir. Bu süreç menstürel siklus ya da halk arasında adet olarak bilinir. Bu döngünün ilk meydana geldiği durum ise menarş olarak adlandırılır.

Kadın Anatomisinin Oluşumu

Kadın üreme organları, dış ve iç genital organlar olmak üzere iki bölümde incelenir. İç genital organlar ovaryumlar, tuba uterinalar, uterus ve vajinadır. Dış genital organlar ise mons pubis, klitoris, labium minörler, labium majorlar, vestibül ve vestibüler bezlerdir.

Kadın genital organları, başlıca östrojen ve progesteronun etkisi altında gelişir. Bu etki intrauterin dönemden başlar ve fertil çağ boyunca devam eder. Kadın hayatının ileri dönemlerinde estrojen ve progesteron hormon seviyelerindeki düşme ile birlikte genital sistemde atrofi oluşur [9].



Şekil 2-1: Kadın Üreme Sistemi (uterus, fallop tüpleri, overler, serviks, miyometriyum, endometriyum, perimetrium, vajina)

Yumurtalıklar, erkekteki testislerin karşılığı olarak kadınlarda yumurtaları ve steroid hormonları üreten organlardır. Erişkinde iki taraflı, ortalama 3,5 cm uzunluğunda, 2 cm genişliğinde, 1,5 cm kalınlığında ve yaklaşık 7 gram ağırlığındadır. Pembemsi gri renktedir. Ligamentum overi suspensorium ve ligamentum overi proprium ile asılı duran ovaryumlar, pelvis boşluğunda, iki yan duvarda asılı duran Fossa Overika adlı çukura yerleşmiş durumdadır. Yumurtalıklar bağlarla uterusu bağlanır. Doğurmamış kadınlarda yumurtalıklar, Tuba Uterina'nın arka-aşağı kısmında bulunur. Puberte çağına kadar peritoneum ile üzeri örtülü olup parlak ve düzgündür, daha sonra periton yapısı değişir [10]. Ergenlikte her yumurtalıkta yaklaşık 300.000 primordiyal follikül bulunur. Menopoza kadar, her ay bunların 10-20 tanesi olgunlaşmaya başlar ve kadın cinsiyet hormonları olan östrojen ve progesteron salgılar. Bu hormonlar; başta memeler, fallop tüpleri, uterus ve vajina olmak üzere bir çok vücut dokusu üzerine etkisi vardır. Yumurtalıklar kadın cinsiyet hormonlarının yanı sıra çok az miktarda erkeklik hormonu da üretir [11]. Ovaryumdan salgılanan hormonlar ikiye ayrılır. Steroid hormonlar; östrojen (follikül hormonu) gelişen folliküllerin granülozom ve teka interna hücrelerinden salgılanır, üreme sistemi ve meme bezinin büyümesini ve gelişmesini sağlar. Endometriumun proliferasyonunu sağlar. Progesteron ise yeni follikül gelişimini ve ovulasyonu önler. Korpus Luteum'dan salgılanır ve

endometriyumunu sekresyona uğratarak uterusun implantasyona hazırlanmasını sağlar. Protein yapıdaki diğer hormonlar; Relaksin, gebeliğin ileri dönemlerinde Korpus Luteum'dan salgılanır. Gebelik süresince myometriyumun kasılmasını önler. Doğumda servikal değişikliklere yardım eder. Bundan başka kadınlarda az miktarda testosteron hormonu da bulunmaktadır. Testosteron kas, güç ve enerjiyi düzenleyen bir hormondur. Bu hormon olmadan, normalin üzerindeki kas faaliyetinin gerçekleştirilmesi mümkün olmamaktadır. Testosteron genellikle "erkek" hormonu olarak görülse de kadınlarda da çok az miktarda da olsa bulunmaktadır. Amerikalı kadınların %4-7'sinin yumurtalıklarında fazla düzeyde testosteron üretildiği ve buna bağlı olarak polikistik over sendromu (PCOS) olarak bilinen hastalığın geliştiği ve bu olayın kısırlığa kadar farklı düzeylerde etki gösterdiği bildirilmiştir [12-14].

2.2. Yumurtalık Kanseri Gelişimi ve Metastazi

Yumurtalık kanseri en ölümcül jinekolojik malignitedir. Yumurtalık kanseri, Amerika Birleşik Devletleri'ndeki kadınlar arasında beşinci önde gelen kanser ölüm nedenidir. 2010 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde yumurtalık kanserinden yaklaşık 21.880 yeni vaka ve 13.850 ölüm meydana geldi. Son yıllarda, yeni yumurtalık kanseri vakası yılda 100.000 kadın için 11.7 ve ölüm sayısı yılda 100.000 kadın için 7.4 idi. Ülkemizde ise GLOBOCAN 2018 verilerine göre 3.729 yeni yumurtalık vakası ve yumurtalık kanserinden oluşan ölümlerin sayısı 2.191 olarak rapor edilmiştir [15].

Kadınların yaklaşık % 1.3'ü yaşamları boyunca bir noktada yumurtalık kanseri teşhisi konacağı tahmin edilmektedir. Yumurtalık kanseri oranları en yüksek 55-64 yaş arası kadınlarda görülmektedir. Yumurtalık kanserinden dolayı ortalama ölüm yaşı 70'tir. Genellikle geç evrede teşhis edilir. Ölümlerin çoğu ileri evre, yüksek dereceli seröz yumurtalık kanseri ile başvuran hastalar arasında gerçekleşmektedir. Standart tedavi cerrahiyi takiben platin-taksan'dan oluşam kombine kemoterapi şeklindedir. Tedaviden sonra platin dirençli olan birçok hastada hastalık nüks etmekte ve bu nedenle toplam 5 yıllık sağ kalım oranı %30 gibi son derece düşük oranlarda gerçekleşmektedir. Yumurtalık kanseri vakalarının çoğunluğu tümörün periton boşluğuna geniş çapta yayılmasından sonra teşhis edilmektedir. Yumurtalık kanserinin teşhisi, karın rahatsızlığı, şişkinlik, gaz, bulantı ve idrar aciliyeti dahil olmak üzere sıklıkla gastrointestinal problemlerle karıştırılan belirtilerdir. Yumurtalık kanseri, rahim ve mesane (evre 2), karın (evre 3) veya periton boşluğu (evre 4 ve sonrası) gibi diğer pelvik organlara yayıldıktan sonra tedavi etkinliği sınırlı olmakta ve buna bağlı

olarak remisyon oranı önemli ölçüde düşmektedir. Yumurtalık kanseri vakalarının %70'inden fazlasının geç evrede teşhis edilmesi bu hastalıktan ölüm oranları diğer kanser türlerine göre daha yüksek olarak gerçekleşmektedir [16] [17].

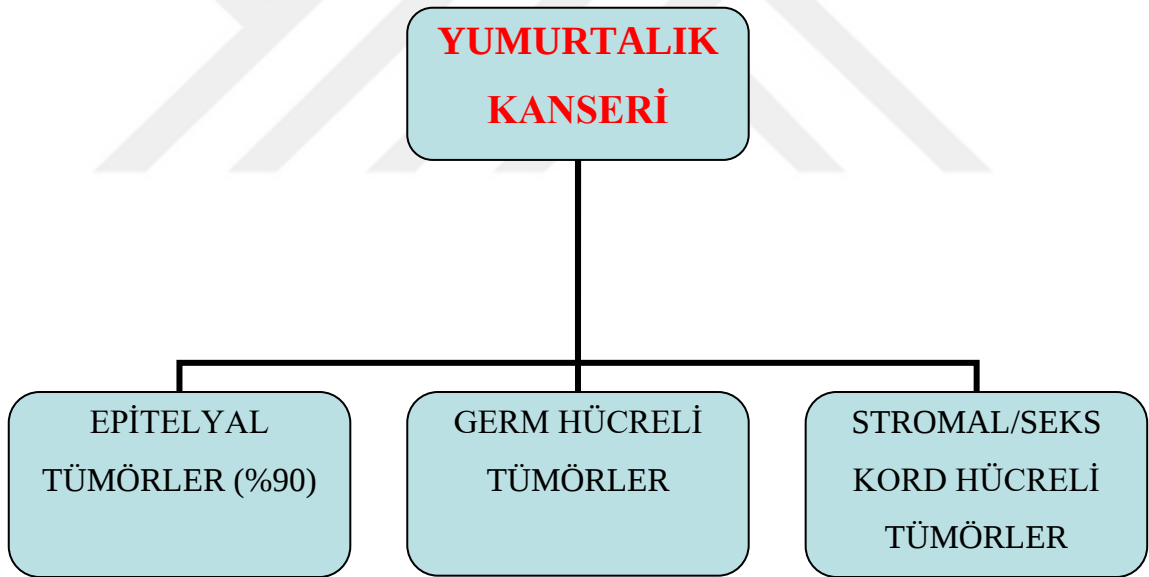
2.3. Yumurtalık Kanserin Epidemiyolojisi

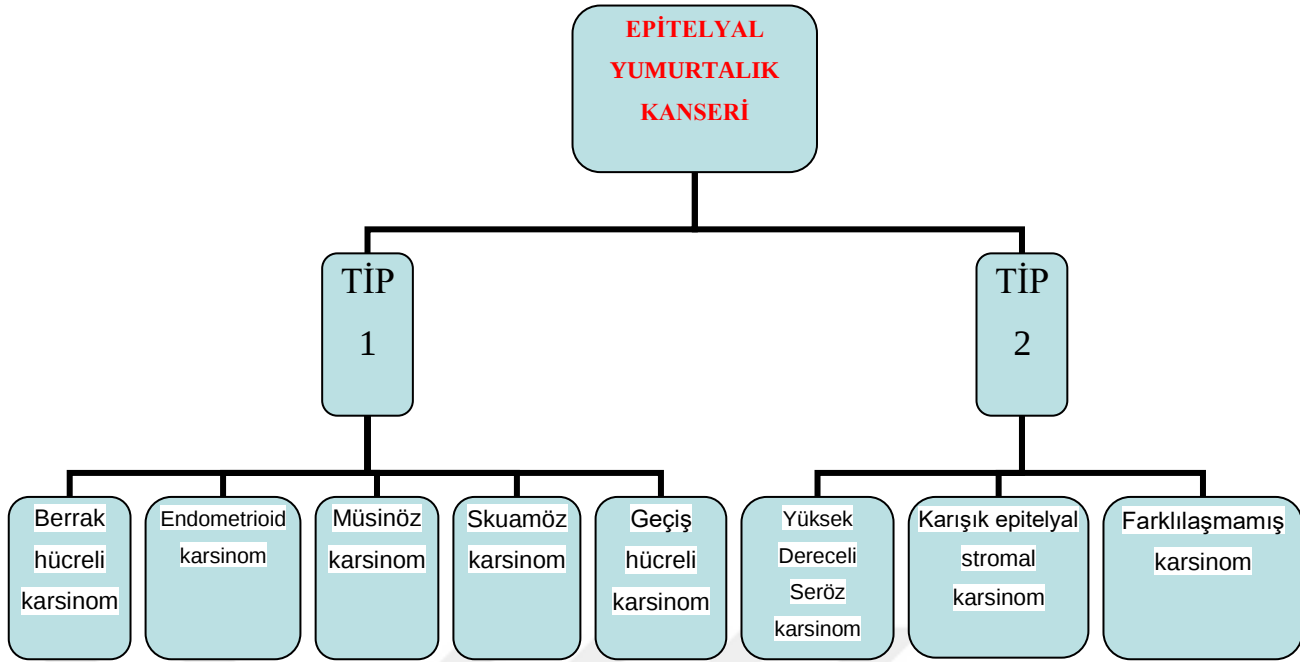
Dünyada her yıl 240.000 kadına yumurtalık kanseri teşhisi koyulmakta ve bu kişilerin 150.000'i bu hastalıktan hayatını kaybetmektedir. Yumurtalık kanseri kadınlarda en sık görülen kanserler arasında yedinci sırada yer almaktadır ve tüm kanserler birlikte değerlendirildiğinde tüm kanserler arasında sekizinci sırada kanser ölüm nedeni olarak karşımıza çıkmaktadır. Yumurtalık kanserinin beş yıllık sağ kalım oranları %45'in altındadır. Her ne kadar ortalama yaş bir yaş aralığında yüksek gelirli ülkelerde kanserin yayılma oranı düşse de birçok düşük ve orta gelirli ülkelerde yükselmektedir. Yumurtalık kanseri 40 yaşın altındaki kadınlarda nadirdir ve bu yaş grubundaki kanserlerin çoğu germ (cinsiyet) hücreli tümörlerdir. 40 yaşın üstünde olan kadınlarda ise %90'dan fazlası epitelyal tümörlerdir ve kanser riski yaşla birlikte artmaktadır, 70'li yaşların sonu en fazla görüldüğü yaş aralığıdır. Yumurtalık olarak sınıflandırılmasına rağmen yüksek dereceli seröz kanserlerin büyük bir kısmının fallop tüpünden kaynaklandığı düşünülmektedir. Yumurtalık kanserinin belirlenmiş yaşlar aralığında kabul edilmiş insidans oranları batı ve kuzey Avrupa'da ve kuzey Amerika'da yüksek insidansa sahip (10-12 / 100.000 sırasıyla); en düşük oranlar ise (3/100 000'in altında) Çin ve Afrika'da bulunmuştur. Hastalık insidansının yüksek oranlarda görüldüğü ülkelerde hastalığın görülmek sıklığı azalırken, hastalık insidansının düşük olduğu ülkelerde ise hastalık görülme sıklığının git gide arttığı bildirilmektedir. Bu nedenle günümüzde ülkeler arasında bildirilen farklar 30 yıl öncesinde bildirilen farklara göre daha az olarak karşımıza çıkmaktadır [18] [19].

2.4. Yumurtalık Kanserin Alt Tipleri

Yumurtalık kanseri heterojendir. Birbirinden farklı epidemiyolojik özelliklere, moleküler özelliklere, klinik tanılara ve prognostik sonuçlara sahip farklı histolojik alt tiplerden oluşur [20]. Yumurtalık kanserleri epitelyal, germ hücresi ve özelleşmiş stromal hücre tümörleri olmak üzere üç ana grupta değerlendirilebilir. Yumurtalık kanserlerinin büyük çoğunluğunu epitelyal yumurtalık kanseri (EOC) oluşturmaktadır. EOC Tip I ve Tip II tümörler olmak üzere iki farklı histolojik alt tipte değerlendirilmektedir. Tip I tümörler düşük dereceli seröz, müsinöz, endometrioid, berrak hücreli karsinomları içerir ve genellikle daha yavaş büyüme eğiliminde olan

tümörlerdir. Aksine, Tip II tümörler yüksek dereceli ve hızla ilerleyen hastalıklarla karakterizedir. Yüksek dereceli seröz yumurtalık karsinomu (HGSOC) tüm EOC'lerin neredeyse %75'ini oluşturan en yaygın Tip II tümördür. Bu karsinom aynı zamanda en agresif seyirli olanlardan biridir. HGSOC'un erken tespiti için etkili bir yöntem mevcut değildir. Sonuç olarak kadınların çoğunda yumurtalık kanseri genellikle periton boşluğunda bulunan diğer dokulara metastaz gerçekleştiğinde teşhis edilir. Bununla beraber bazen hastalık peritona yayıldığında dahi belirgin semptomlar vermemekte buna bağlı olarak geç tanıya ve kötü sağ kalım oranına neden olmaktadır [21] [22]. Düşük dereceli ve seröz EOC, tip I olarak sınıflandırılır; bu tür karsinomlar yavaş büyür, genellikle yumurtalıkta uzun süre kalır ve pelvik muayene veya transvajinal ultrason ile görülebilecek düzeyde olduklarında tespit edilmektedir. Bununla birlikte, tüm seröz kanserlerin sadece %10'unu oluştururlar ve nispeten az sayıda ölüme neden olurlar. Buna karşılık, HGSC tüm yumurtalık kanserlerinin büyük çoğunluğunu oluşturur ve ölümlerle sonuçlanmaktadır [23]. (Tablo 2-1)





Tablo 2-1: Yumurtalık Kanserinin Alt Tipleri [24].

2.5. Yumurtalık Kanseri Genetik Değişiklikler

HGSC (EOC'nin % 70'ini oluşturur); tipik olarak ileri aşamada ortaya çıkan ve en yaygın olarak papiller yapı gösteren en yaygın histotiptir. HGSC'ler papiller, glandüler, katı ve transiyonel olarak adlandırılan yapılar ile karakterizedir. *TP53* gen mutasyonu hemen hemen hepsinde bulunur (~% 97) ve *BRCA1/2* kaybı sıktır (germ hattındaki değişiklikler ve somatik değişiklikler dâhil %30-45 oranında görülmektedir). Endometriyal karsinomlar (EC) en yaygın formunun tipik histolojisi (EOC'nin %10'u) genellikle glandüler yapısı ve skuamöz farklılaşma ile erken evrede ortaya çıkar. *PTEN*, *CTNNB1*, *PIK3CA* ve *ARID1A* genellikle EC'de mutasyona uğrar ve tümörler sıklıkla PR (Progesteron Reseptörü) ve TFF3 (Trefoil Faktörü 3) için immünohistokimyasal olarak pozitiflik gösterir. Ayrıca sıklıkla düşük aşamada ortaya çıkan berrak hücreli karsinom (CCC) (EOC'nin %10'u), tübülökistik, papiller veya solid yapıda meydana gelen berrak hücrelerin bolluğu ile tanımlanır. Bu kemoterapiye dirençli tümörler genellikle HNF-1p eksprese eder ve sıklıkla *PIK3CA* ve *ARID1A* genlerinde mutasyonlara sahiptirler. Müsinöz karsinoma (MC) tipik olarak goblet hücreleri ve hücre içi müsin ile karakterize düşük dereceli bir EOC'dir. Bu tümör Ras-yolağı değişikliklerini barındırdığı bilinen nadir histotiptir ve EOC'nin % 2-4'ünü oluşturur. Son olarak, düşük dereceli seröz karsinoma (LGSC), EOC'nin % 2'sini oluşturur ve sıklıkla ileri aşamada ortaya çıkar, düşük dereceli nükleer atipi ve düşük

mitotik aktivite ile tanımlanır. LGSC ile ilişkili moleküler değişiklikler arasında *BRAF* ve *K-RAS* mutasyonları bulunur ve standart platin bazlı kemoterapi genellikle bu karsinoma için etkisiz kabul edilir. Hem HGSC'lerin hem de LGSC'lerin bazı örtüşen özellikleri yanı sıra bazı farklı immünofenotipik özellikleri bulunmaktadır. Her iki tümör tipi de *PAX8* (Paired-Box Geni 8) ve *WT1* ekspresyonu ayrıca östrojen reseptörü (ER) ve progesteron reseptörü (PR) ekspresyonu bakımından pozitifdir. p16, p53 ve Ki-67 immünohistokimyasal boyamalar faydalıdır. Çünkü HGSC'ler p16 ve p53 için yaygın boyanma ve yüksek Ki-67 proliferasyon indeksi gösterirken, LGSC'ler p16 için düzensiz boyama, p53 için yabancı tip boyama ve düşük Ki-67 proliferasyon indeksi gösterir. İleri derece yumurtalık kanseri olan hastaların çoğu cerrahi müdahale ve adjuvan tedavinin tamamlanmasından sonraki ilk veya ikinci yıl içinde nüks eder. Son ilacın alınması ile tümör nüksü arasındaki zaman aralığı 6 ayı aşarsa, nüks edilen tümörün platine duyarlı olduğu düşünülür. Platin ADP riboz polimeraz inhibitörleri (PARPi) artık platin tedavisine yanıt veren tekrarlayan EOC hastaları için bir idame tedavisi olarak önerilmektedir. Ek olarak PARPi, birkaç kemoterapi rejiminden sonra BRCA1 / 2-mutasyonu var olan EOC'li kadınlara da uygulanmaktadır. CA-125, epitelyal yumurtalık kanserlerinin %80'inde aşırı eksprese edilen yüksek moleküler ağırlıklı (5 milyon Dalton) ağır glikozile transmembran müsinidir (MUC16). CA-125, hücre zarının hemen dışından ayrılır ve daha sonra yumurtalık kanserinin tedavisinin yanıtını izlemek için klinik olarak biyobelirteç sağlayan çift determinant immünoanalizlerle tespit edilebilen vücut sıvılarına dökülür. Daha özel analizler geliştirilirken, tedaviye yanıt genellikle CA-125 değerlerinde yarı yarıya azalma ile ilişkilendirilirken, CA-125'in iki katına çıkması ilaç direncini ve hastalığın ilerlemesini gösterir. Primer kemoterapi sonrası hastalarda CA-125'in sürekli yükselmesi, rezidüel hastalığın kalıcılığını %90 oranında doğru bir şekilde tahmin etmektedir. Bununla birlikte, CA-125 birincil tedavi sırasında normale dönebilir. CA-125 oldukça spesifiktir, ancak primer tedaviye tam bir yanıt izlemek için optimal olarak duyarlı değildir [25] [26] [27] [28] [29] [30]. (Tablo 2-2).

	DÜŞÜK DERECELİ SERÖZ KARSİNOM	YÜKSEK DERECELİ SERÖZ KARSİNOM	MÜSİNÖZ KARSİNOM	ENDOMETRİOİD KARSİNOM	BERRAK HÜCRELİ KARSİNOM
PREVALANS	<%5	%70	%2-3	%10	%5-10
GEN DEĞİŞİKLİKLERİ	<i>KRAS, BRAF, ERBB2, PIK3CA</i>	<i>TP53, BRCA1/2</i>	<i>KRAS, HER2</i>	<i>ARID1A, PTEN, CTNNB1, PIK3CA, PPP2R1A</i>	<i>ARID1A, PIK3CA, ZNF217</i>
IMMUNO FENOTİP DEĞİŞİKLİKLER	<i>CK7+, WT1+, ER+</i>	<i>CK7+, CK20, PAX8+, WT1+</i>	<i>CK7+, CK20-, ER-, PR-, WT1-</i>	<i>CK7+, PAX8+, CK20-, WT1-</i>	<i>napsin A+, WT1-, p53-, ER-</i>

Tablo 2-2: Yumurtalık Kanserindeki Genetik Değişiklikler [31] [32].

2.6. Evreleme

Bilgisayarlı Tomografi (BT) taramalarının hastalığın karın içine yayılmasını bir dereceye kadar tanımlayabilmesinden dolayı yumurtalık, fallop tüpü ve peritoneal kanserler cerrahi olarak evrenlenmektedir. Operatif bulgular hastanın kesin histolojik tanısını, evresini ve prognozunu belirler. İleri evre hastalığı olan hastalarda, cerrahi müdahaleden önce kemoterapinin başlatılması uygun olabilir ve bu durumlarda neoadjuvan kemoterapiye başlamadan önce tanının histolojik veya sitolojik olarak doğrulanması gerekir. Göğüs radyografileri plevral efüzyonlar için bir tarama görevi görebilir. Uzak metastazlar nadir olduğu için semptomatik olmadıkça diğer radyolojik değerlendirmelere gerek yoktur. Serum CA-125 seviyeleri kemoterapiye yanıtı belirlemede yararlı olabilir ancak evrelemeye katkıda bulunmazlar. Güncellenmiş FIGO evreleme sistemi, yumurtalık, fallop tüpü ve periton kanseri için sınıflandırmayı birleştirir. Esas olarak evreleme sistemi cerrahi araştırmalarla elde edilen bulgulara dayanmaktadır. Tablo 2-3'te yumurtalık, fallop tüpü ve periton kanseri için 2014 FIGO evreleme sınıflandırması gösterilmektedir. Tabloda Uluslararası Kanser Kontrolü Birliği (UICC) TNM sınıflandırması ise içindeki eşdeğerlerle birlikte sunulmaktadır.

FIGO (2014)
EVRE I: Tümör overler veya <i>fallop tüpleri</i> ile sınırlıdır. EVRE IA: Tümör tek over <i>veya fallop tüpünde</i> sınırlı, yüzeyinde tümör yok, kapsül bozulmamış, assit sıvısı veya peritoneal yıkantı sıvısında tümör hücresi yok EVRE IB: Tümör her iki overde <i>veya fallop tüpünde sınırlı</i>, diğer özellikler Evre IA ile aynı. EVRE IC: Tümör tek veya her iki overle sınırlı. Ancak; <i>IC1: Cerrahi sırasında saçılma</i> <i>IC2: Cerrahi öncesi kapsül rüptürü veya over/ fallop tüp yüzeyinde tümör</i> <i>IC3: Assit veya peritoneal yıkama sıvısında malign hücre pozitifliği</i>
EVRE II: Tümör, primer peritoneal kanser veya pelvik yayılımı olan bir veya iki yumurtalık/ <i>fallop tüpünü</i> içerir. EVRE IIA: Uterus ve/veya fallop tüplerine ve overlere yayılım EVRE IIB: Diğer pelvik intraperitoneal dokulara yayılım
EVRE III: Pelvis dışı yayılım; peritoneal implant ve/veya retroperitoneal lenf nodlarına metastaz EVRE IIIA: Pelvis dışı mikroskopik metastaz <i>ve/veya retroperitoneal lenf nodu tutulumu</i> <i>IIIA1: Yalnızca retroperitoneal lenf nod tutulumu</i> <i>IIIA1(i): Metastaz, maksimum 10 mm</i> <i>IIIA1(ii): Metastaz, 10 mmden büyük</i> <i>IIIA2: Mikroskopik pelvis dışı yayılım ve/veya retroperitoneal lenf nodu tutulumu</i> EVRE IIIB: Makroskopik pelvis dışı peritoneal metastaz $\leq 2\text{cm}$ <i>ve/veya retroperitoneal lenf nodu tutulumu (dalak veya karaciğer kapsülüne yayılım dâhil).</i> EVRE IIIC: Makroskopik pelvis dışı peritoneal metastaz $> 2\text{cm}$ <i>ve/veya retroperitoneal lenf nodu tutulumu (dalak veya karaciğer kapsülüne yayılım dâhil).</i>
EVRE IV: Peritoneal metastaz dışı uzak metastaz <i>EVRE IVA: Pozitif plevral efüzyon</i> <i>EVRE IVB: Dalak ve/veya karaciğer parankim metastazı, abdomen dışı organlara metastaz (inguinal lenf nodu ve abdomen dışı lenf nodları tutulumu dâhil)</i>

Tablo 2-3: Yumurtalık Kanserinin FIGO Evreleme Sistemi [33] [34]

2.7. Risk Faktörleri

Risk faktörleri ikiye ayrılır; genetik risk faktörleri ve diğer risk faktörleri şeklindedir.

2.7.1. Genetik Risk Faktörleri

Ailesel genetik sendromlar, yumurtalık kanserlerinin yaklaşık %10 ila %12'sini oluşturan bilinen en güçlü risk faktörleridir. *BRCA1* ve *BRCA2* gen mutasyonları, yumurtalık kanseri vakalarının yaklaşık %10'unda yer alır ve kalıtsal polipozis olmayan kolorektal kanser (Lynch sendromu) vakalarının %2 ila %3'ünde görülmektedir. Tablo 2-4'te yumurtalık kanseri ve diğer nadir genetik sendromların genetik özellikleriyle beraber kansere dönüşme riskleri listelenmektedir. *BRCA1/BRCA2* tümör baskılayıcı gen mutasyonları, 300 ila 800 kadından birini etkileyen kalıtsal meme ve yumurtalık kanseri sendromunun nedenidir ancak Ashkenazi Yahudileri arasındaki prevalansı 50'de birden daha yüksek olabilmektedir. Aşırı gonadotropin salgılanması, sürekli yumurtlama, östrojen ve progesteron

dengesizliği kanser gelişimini tetikleyen faktörler arasındadır. Üreme fonksiyonları yumurtalık kanseri riskini etkiler. Bir kadının yumurtalıklarının ürettiği hormonlar olan östrojen ve progesteron yumurtalık kanserini etkileyen risk faktörleri arasında yer almaktadır. Endometriozis, polikistik over sendromu (PKOS) ve pelvik inflamatuvar hastalık (PID), yumurtalık kanserinin gelişimi ile doğru orantı göstermektedir [35]. Yumurtalık veya meme kanseri öyküsü olan ailelerde, yumurtalık kanseri vakalarının yaklaşık %90'ından BRCA1/2 gen mutasyonları sorumludur. Ömür boyu yumurtalık kanseri riski; *BRCA1* mutasyon taşıyıcılarında %40 ve *BRCA2* mutasyon taşıyıcılarında %18'dir. Bununla birlikte, eksik penetrasyon nedeniyle, BRCA taşıyıcılarının %35 ila % 85'i yumurtalık kanseri geliştirmedeği gibi yaklaşık olarak %20 ila %30'u da asla meme kanseri geliştirmemektedir [36].

SENDROMLAR	GEN MUTASYONLARI	YUMURTALIK KANSERİ RİSKİ
Kalıtsal Meme Ve Yumurtalık Kanseri Sendromu	<i>BRCA1</i> VE <i>BRCA2</i> tümör supresörleri	<i>BRCA1</i> ; %25-%65 <i>BRCA2</i> ; %10-%30
Kalıtsal Polipozis Olmayan Kolorektal Kanseri (Lynch Sendromu)	<i>MLH1</i> , <i>MLH3</i> , <i>MSH2</i> , <i>MSH6</i> , <i>TGFBR2</i> , <i>PMS1</i> ve <i>PMS2</i>	%10
<i>MUTYH</i> Bağımlı Polipozis	<i>MUTYH</i>	Tam bir veri yok
Peutz-Jeghers Sendromu	<i>STK11</i>	Tam bir veri yok
PTEN Hamartom Tümör Sendromu	<i>PTEN</i>	Tam bir veri yok

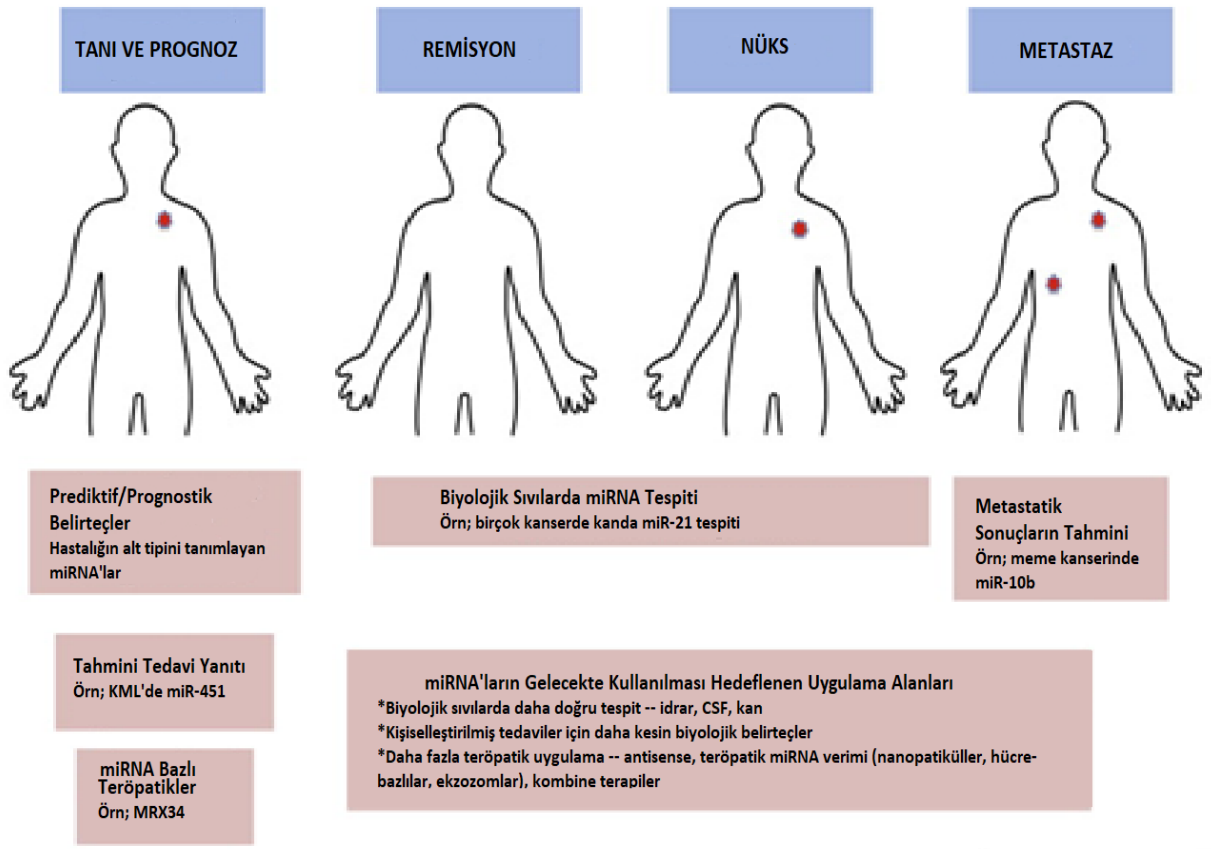
Tablo 2-4: Yumurtalık Kanseri Riskinin Arttığı Genetik Sendromlar

2.7.2. Diğer Risk Faktörleri

Yumurtalık kanseri vakalarının sadece %10 ila %12'si genetik temeli olduğu için kansere yakalanmış olan kadınların çoğunun aile öyküsü yoktur. Epitelyal yumurtalık kanserleri için bilinen nongenetik risk faktörleri; artan yaş, postmenopozal hormon tedavisi (özellikle beş yıldan fazla) obezite ve kilo artışı olarak sıralanmaktadır. Diyet, steroid olmayan antienflamatuvar ilaçlar, genital bölgeye pudra maruziyeti, sigara içmenin rolleri tartışmalıdır. İnfertilite ilaç tedavisinin etkisi ise hala belirsizdir. Menarş (ilk adet) ve menopoz yaşı, oral kontraseptif kullanımı, hamilelik ve emzirme gibi yumurtlamayı azaltan faktörler, düşük over kanseri riski ile ilişkilendirilmiştir. Uzun süreli oral kontraseptif kullanımı (dört yıl veya daha fazla), BRCA mutasyon taşıyıcılarında yumurtalık kanseri riskini yaklaşık %50 azaltır. Depot medroksiprogesteron (Depo-Provera) kullanımı, salpingektomi, tubal ligasyon ve emzirmenin de riski azalttığı ortaya çıkmıştır. Ancak risk oluşturma açısından multiparite, geç menarş ve erken menopoz için yeterli kanıt bulunmamaktadır [37] [38] [39].

2.8. MikroRNA ve KANSER

Kanserde mikroRNA düzensizliğine ilişkin ilk bulgular 2002'de, kronik lenfositik lösemide (KLL) sıkça delesyona uğrayan 13q14.3 bölgesinde miR-15 ve miR-16 olarak adlandırılan iki mikroRNA dizisinin rapor edilmesiyle rapor edilmiştir. Bu miR-15/16 mikroRNA delesyonunun, anti-apoptotik *BCL2* (B-hücreli lenfoma 2 geni)'yi hedef aldığı ve bu genin daha yüksek düzeyde ekspresyonuna neden olarak etki gösterdiği bildirilmiştir. Günümüzde microRNA'ların bilinen tüm kanser özelliklerinin oluşmasında ve gelişimlerinin her aşamasında, kanserlerin farklı klinik özellikler göstermesinde rol aldığı tespit edilmiştir [40].



Şekil 2-2: MikroRNA'ların Kanserinin Klinik Yönetimindeki Etkisi [40].

2.8.1. MikroRNAların Biyolojik Özellikleri

miRNA'lar küçük, endojen olarak eksprese edilen, tek iplikçikli RNA'lardır. Uzunluğu 19 ila 25 nükleotit olan kodlamayan RNA'lar 70 ila 100 nükleotid saç tokası (hairpin) pre-miRNA öncüsüdür. Son yıllarda birçok araştırma grubu yumurtalık kanserine sebep olan yumurtalık tümörogenezinde miRNA'ların değişen ekspresyonunu tanımlamış ve araştırmıştır. miRNAlar tespit, prognoz / tanı ve tedavi için yeni hedef ve belirteçler olarak kullanılmaktadır. İlk olarak *Caenorhabditis elegans*'larda (Lee, Feinbaum ve Ambros ark.1993) keşfedilen bu moleküllerin her türlü organizmada mevcut olduğu ve yüksek oranda korunduğu saptanmıştır. İnsanlarda, tek bir miRNA'nın birkaç düzine hatta yüzlerce mRNA hedefi bulunmaktadır. Biyoinformatik analizler insan genomunda insan transkriptomunun yaklaşık %60'ını düzenleyebilen yaklaşık 1.000 miRNA olduğunu öngörmektedir. miRNA'ların, hemen hemen tüm biyolojik süreçlerde, hücre gelişim kontrolü, regülasyonu ve kanser de dahil olmak üzere çeşitli hastalıkların gelişmesinde korunması, yüksek miktarda olması ve dokuya özgü ekspresyonları nedeniyle çok işlevli olduğu bulunmuştur. İnsanlarda protein kodlayan genlerin %60'ından fazlasının, 3'-UTR bölgelerinde miRNA bağlanma yerleri içerdiği tahmin edilmektedir. MiRBase veritabanına (www.mirbase.org) göre insan genomunda 2500'den fazla olgun miRNA dizisi vardır. MiRNA'lar, hedef

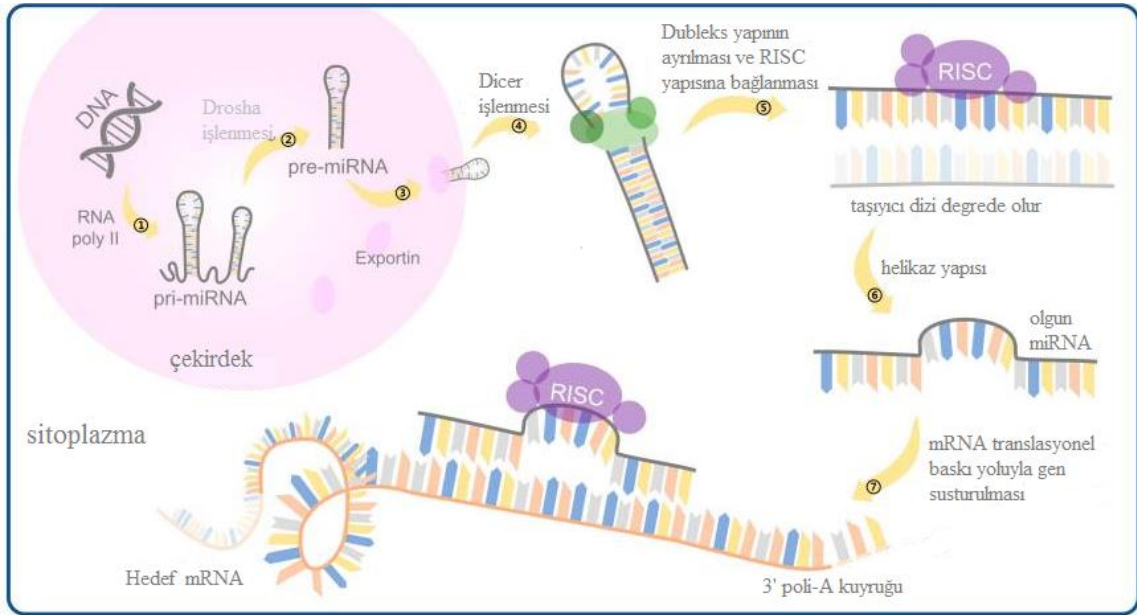
mRNA'ların 3'-UTR'deki tamamlayıcı sekanslara baz ayrıştırma yoluyla aracılık ederek transkript dengesizleşmesine, translasyonel baskıya veya her ikisine neden olur. Son çalışmalar, miRNA'ların protein kodlayan ekzonlar dâhil olmak üzere diğer bölgelere bağlanarak gen ekspresyonunu modüle ettiğini ve hatta memeli hücrelerinde gen ekspresyonunu indükleyebildiğini bildirmiştir. Birçok çalışmada miRNA düzensizliğinin kanser dahil çeşitli insan hastalıklarına yol açtığı bildirilmiştir [41]. Daha sonra onkogeneze yer alan miRNA'lar, ekspresyon paternlerine ve fonksiyonlarına bağlı olarak tümör baskılayıcılar veya onkogenler olarak sınıflandırılmaktadır [42, 43].

miRNA birkaç hedef genin mRNA'sını spesifik olarak tanıdığından 3'-UTR bölgeler ile miRNA dizileri birbirlerini tamamlayıcı niteliktedir ve tamamlayıcı eşleştirme derecesi mRNA'nın fonksiyonel özelliklerini belirlemektedir. Genel olarak tamamlayıcı bir çift miRNA eşleştirildiğinde, hedef genin mRNA'sı tanımlanır ve işlevsel hale getirilir; eğer eşleşme kısmen tamamlayıcı ise hedef gen mRNA'sı inhibe edilir [44] [45].

2.8.2. MikroRNA Biyogenezi

miRNA'ların sentezi ve işlenmesi kendine özgün şekilde yapılır. miRNA genleri insan genomu boyunca bulunur ve intergenik veya intrajenik olabilir. miRNA genlerinin çoğu, bilinen protein kodlayan / kodlanmayan genlerin intronları ve ekzonlarının içine gömülmüş intrajenik bölgede veya translasyona tabi tutulmamış bölgede (UTR) ve genomun tekrar bölgelerinde bulunur. miRNA genleri sıklıkla tek bir promotörle polistronik transkriptler olarak transkripte edilen kümelerde bulunur ancak bazı miRNA'lar kendi promotörleri ile monosistronik transkripsiyon ile sentez edilirler. İntronik miRNA'lar konakçı genlerin promotörünü paylaşırlar, daha sonra mRNA transkriptine eklenir. Hücre nükleusu içinde miRNA genleri, çeşitli polimeraz faktörleri ile birlikte RNA polimeraz II tarafından 1 kb'den daha uzun primer miRNA transkripti (pri-miRNA) olarak kopyalanır. Uçlarda bir veya daha fazla olgun miRNA'yı, terminal halkasını ve tek iplikçikli RNA segmentlerini kodlayan lokal kök halka yapılarından oluşur. 5'ucu, 7-metil guanosin (m7G) başlıklıdır ve 3'ucu ise poliadenilatlanmıştır [46]. Bu pri-miRNA, mikroişlemci kompleksi tarafından tanınır ve ~70 nt uzunluğunda öncü miRNA'yı (miRNA öncesi) üretmek üzere ayrılır. Mikroişlemci kompleksi, Drosha ve DGCR8'den oluşan minimal bir komplekstir. Kompleks, DGCR8 proteini tarafından pri-miRNA transkriptini tanır; Drosha, pri-

miRNA'yı, terminal döngüye bağlı apikal bağlantı noktası ile tek sarmallı RNA ve kök döngü yapısı arasındaki mevcut bazal bağlantı arasındaki belirli bir bazal bağlantı noktasından 11 bp sayarak ve apikal dönüm noktasından 22 bp uzak olacak şekilde spesifik olarak ayırır. Dicer gibi Drosha'da RNA polimeraz III ailesine aittir ve çift sarmallı RNA (dsRNA) üzerinde etkili olan bir endonükleaz sınıfıdır. Drosha, iki RNA polimeraz III bölgesinden ve bir dsRNA bağlanma bölgesinden oluşan bir işleme merkezidir. İşlem merkezi pri-miRNA'nın her iki ucunu da ayırır ve 3'ucunda iki nükleotid yapışkan uç üretir. DGCR8, yaklaşık 90 bp'lik bir boyuta sahip nükleer ve nükleolar benzeri bir proteindir ve pri-miRNA'yı tanımak için Drosha'ya bağlanan iki dsRNA bağlayıcı alan içerir. DGCR8'in çekirdek bölgesi dimerlere aracılık etmek için heme bağlanır ve pri-miRNA'nın işlenmesi için ferrik iyonlarla etkileşimi gerekir. Mikroişlemci tarafından işlendikten sonra, Exportin 5 (EXP5), sonraki işlemler için hücre zarından sitoplazmaya pre-miRNA'yı taşır. EXP5, iç boşluk yapısı tarafından taşınan pozitif yükün, miRNA'nın negatif yüküyle etkileştiği ve buna sıkıca bağlandığı, eldiven benzeri bir uzaysal yapı oluşturmak için GTP bağlayıcı proteinle (yani RanGTP) etkileşir. Son olarak, miRNA öncesi nükleer gözenekten sitoplazmaya taşınır. EXP5 geninin inhibisyonu, miRNA ekspresyon seviyesinin düşmesine ve çekirdeğin ön miRNA birikiminin olmamasına yol açabilir bu da EXP5'in sadece miRNA sentezi sırasında pre-miRNA'nın taşınmasından sorumlu olmadığını aynı zamanda pre-miRNA'nın varlığının korunmasını da sağladığını gösterir. EXP5'e ek olarak kanonik olmayan yolla sentezlenen pre-miRNA'ları taşımak için yeterli olan Exportin 1 (EXP1) gibi miRNA'ların taşınmasında rol oynayan başka düzenleyici faktörler de vardır. Sitoplazmada bulunan pre-miRNA kök-döngü yapısını ayırmak için Dicer tarafından katlanır bu işlemde daha sonra küçük RNA-dimerlerinin sitoplazmaya salınması takip eder. Olgunlaşma aşamasında aynı zamanda, önce mitojenle aktive edilmiş protein kinaz (MAPK/ERK) sinyal yolundan geçen transaktivasyon tepkisi RNA bağlayıcı protein (TRBP) gibi Dicer işleminin düzenlenmesinde diğer düzenleyici faktörler de yer alır. miRNA yapım sentezi düzenlemeden önce "HumanDicer1" enziminin aktivitesi de düzenlenmektedir. miRNA biyogenezi kısaca; pri-miRNA'nın oluşması, çekirdekte sitoplazmaya gönderilmesi ve sitoplazmada kesilerek olgunlaştırılması işlemi şeklinde özetlenebilir [47] [48] [49].



Şekil 2-3: MiRNA Biyogenezinin Şematik Gösterimi [6].

2.8.3. Yumurtalık Kanseri Gelişiminde MiRNA İfade Profilleri

Tümörler, insanlarda önemli bir sağlık sorunu ve ölüm nedenidir. Oluşum mekanizmaları, birçok tümör tipinde mevcut olan metastaz ve rekürrens sergileyen sayısız etki faktörü ile karmaşıktır. Ayrıca birçok tümörün tedavisi nispeten zordur ve bu nedenle sürekli olarak tıbbi araştırmanın odak noktası ve meydan okuması olmuştur. Son yıllarda, miRNA'nın keşfi ile kanser araştırmaları yeni bir boyut kazanmıştır. Özellikle çeşitli miRNA'ların yumurtalık kanserinde farklı roller oynadığı gösterilmiştir. Örneğin bazı miRNA'ların ekspresyonlarının yumurtalık kanserini inhibe ettiği ve bu miRNA'ların tümör baskılayıcı genlermiş gibi davrandığı görülmüştür. Bu durumun tam aksi olarak da diğer bir grup miRNA'ların ise yumurtalık kanserinde anormal şekilde eksprese edilerek kanserin gelişmesi yönünde etki oluşturduğu bildirilmiştir [50]. Yumurtalık kanserinde farklı miRNA'ların değişken ekspresyonu ve rolleri göz önüne alındığında, yumurtalık kanserinin erken teşhisinde ve tedavi takibinde potansiyel biyobelirteç olarak kullanılabileceği düşünülmektedir.

Meme kanseri gibi birçok çalışmada miRNA'lar ile yumurtalık kanseri arasındaki ilişkiyi bildirmiştir. miRNA'ların düzensiz ekspresyonu, tümör baskılayıcı genlerin ekspresyonunun baskılar ve yumurtalık kanseri hücrelerinin çoğalmasına, invazyonuna, metastazına ve kemoterapiye karşı direnç oluşturmaya yol açan onkogenlerin aşırı anlatım yapmasına neden olur. Onkogenik miR-182 ekspresyonu, yüksek dereceli

yumurtalık tümörlerinde yukarı regüle edilir, bu da BRCA1/HMGA2 yolunun düzensizliğini arttırarak kanser hücrelerinin çoğalmasına ve ilerlemesine neden olur. miR-221-3p, epitelyal yumurtalık kanserinin çoğalmasını ve migrasyonunu baskılamak için ARF4'ü hedefleyerek tümör baskılayıcı rol oynar. Yüksek miR-221-3p ekspresyonuna sahip epitelyal over kanseri hastaları diğerlerine göre daha uzun süre hayatta kalmaktadır [51]. Yumurtalık kanserinde farklı miRNA'ların değişken ekspresyonu ve rolleri göz önüne alındığında yumurtalık kanserinin erken teşhisi için daha spesifik moleküler biyobelirteçlerin gerekliliği anlaşılmaktadır.

HİSTOLOJİK ALT TİP	EKSPRESYON DÜZEYİ	İLİŞKİLİ miRNA'LAR
Seröz Karsinom	ARTIŞ GÖSTEREN	miR-205, miR-429, miR-141, miR-200c, miR-93, miR-16, miR-20a, miR-21, miR-27a, miR-200a, miR-200b, miR-200c
	AZALIŞ GÖSTEREN	miR-320c, miR-383, let-7b, miR-99a, miR-125b, miR-145, miR-100, miR-31, miR-137, miR-132, miR-26a
Epitelyal Yumurtalık Kanser Hücresi	ARTIŞ GÖSTEREN	miR-26, miR-26b, miR-103, miR-182, miR-203
	AZALIŞ GÖSTEREN	miR-377, miR-432, miR-124a, miR-436, let-7d
Berrak Hücreli Karsinom	ARTIŞ GÖSTEREN	miR-93, miR-126, miR-338-3p, miR-200a, miR-200c, miR-30a, miR-141, miR-182-5p, miR-200a-3p, miR-510
	AZALIŞ GÖSTEREN	miR-383, miR-424-5p, miR-127, miR-155, miR-99b
Endometriyum Karsinom	ARTIŞ GÖSTEREN	miR-21, miR-29a, miR-92, miR-30c1, miR-126
	AZALIŞ GÖSTEREN	miR-342-3p, miR-181a-3p, miR-450b-5p, miR-155, miR-127, miR-99b

Tablo 2-5:Yumurtalık Kanserinin Farklı Histolojik Alt Tiplerinde Etkili Olan MiRNA'lar [6].

2.8.4. Tümör Baskılayıcı Role Sahip MicroRNA'lar

Normal şartlarda bir tümör baskılayıcı genin görevi tümör oluşumunu engellemektir. Tümör baskılayıcı bir genin fonksiyonunun kaybı, mutasyonu bir onkojenin aktifleşmesine ve dolayısıyla kanserleşmeye neden olur. Tümör baskılayıcı gen ürünü; örneğin hücre proliferasyonunu inhibe edebilir, hücre farklılaşmasını teşvik edebilir ve / veya hücre göçünü inhibe edebilir, böylece negatif bir düzenleyici rol oynayabilir.

Özellikle, tümör dokularındaki belirli miRNA'ların ekspresyon seviyeleri önemli ölçüde aşağı regüle edilir böylece tümör baskılayıcı genler karakteristik özelliklerini göstermiş olurlar. 2002 yılında Calin ve ark. ilk olarak kronik lenfositik lösemi (KLL) çalışmasında miRNA'nın anormal ekspresyonu ile tümörlerin arasındaki ilişkiyi keşfetti. MiR-15'in çoğu KLL hücresinde rol aldığını, buna karşılık miR-16 ekspresyonunun aşağı regüle edildiğini veya eksik olduğunu buldular. Bu nedenle miR-15 ve miR-16'nın tümör baskılayıcı genler olarak rol oynayabileceği ve hematolojik tümörlerin oluşumu ile yakından ilişkili olabileceği düşünülmüştür. Ardından Kumar ve arkadaşları let-7 ailesi miRNA'larının ekspresyonunun, küçük hücreli dışı akciğer kanserinde önemli ölçüde azaldığını, böylece K-RAS geni üzerindeki bloke edici etkisinin zayıfladığını ve akciğer kanserinin oluşumunu ve gelişim sürecini teşvik ettiğini doğruladı. Bu, let-7 miRNA ailesi ailesinin, küçük hücreli olmayan akciğer kanserinde tümör baskılayıcı genler olarak da hareket ettiğini göstermiştir [52].

2.8.5. Onkogen Rolünde MicroRNA'lar

Proto-onkogenler genellikle hücre çoğalmasında rol oynayan genlerdir ve normal hücresel yaşam aktivitelerini sürdürmek için gereklidir. Bir proto-onkogenin ekspresyon ürünü, hücrelerin normal büyümesi, çoğalması, gelişimi ve farklılaşmasında kesin bir düzenleyici rol oynar. Proto-onkogenlerin anormal yapıları veya kontrolsüz ekspresyonu, anormal hücre davranışlarına ve tümör oluşumuna yol açabilir. Tümör dokularındaki belirli miRNA'ların ekspresyon seviyeleri, proto-onkogenlerin özelliklerini sergileyerek önemli ölçüde yukarı regüle edilir. Ayrıca, ekspresyonlarının yukarı doğru düzenlenmesi hücrelerin habis büyümesine yol açabilmektedir. Iorio ve diğ. yumurtalık kanseri dokularını değerlendirmek için gen çip teknolojisini kullandı ve miR-155 ekspresyonunun yukarı regüle edildiğini bulmuştur. MiR-155'in yüksek ekspresyonu ayrıca akciğer kanseri olan hastalarda kötü prognoza yol açtığını öne sürmüştür. Iyevleva ve diğ. miR-21, miR-10b ve miR-31 ekspresyonunun meme kanserinde, meme kanserinin oluşumu ve gelişimi ile yakından ilişkili olarak farklı derecelere yükseltildiğini ve onkogenlerinkine benzer bir rol oynadığını bulmuştur. miR-103, kolorektal kanserli hastalarda metastaz ve kötü prognoz ile doğrudan ilişkilidir. Martello ve diğ. meme kanserli hastalarda yüksek miR-107 ekspresyon düzeylerinin hastanın düşük sağkalım oranı ile yakından ilişkili olduğunu göstermiştir. Sonrasında miR-107 ekspresyonu mide, pankreas, kolorektal

ve meme kanserleri gibi birçok insan tümöründe önemli ölçüde artmaktadır, bu da kanserin gelişmesinde ve ilerlemesinde önemli bir rol oynadığını düşündürmektedir.

2.8.6. Yumurtalık Kanseri İnvazyonu ve Metastazında MiRNA Rolü

MiRNA'lar yumurtalık kanserinin invazyonu ve metastazını düzenler ve bu yüzden de miRNA'nın anormal ekspresyonu yumurtalık kanserinin invazyonu ve metastazı ile yakından ilgilidir. Tümör hücrelerinin invazyonu ve metastazı, üç aşamaya ayrılabilir.

1. Tümör hücre biyokimyası, morfolojisi ve göç kabiliyetindeki değişiklikler (kök hücre benzeri özelliklerde ve göç düzenlerinde değişiklikler),

2. Metastaza aracılık eden yüzey reseptörleri,

3. Hedef organ çevresinde bir tümör mikro-ortamının oluşumu, metastatik hücrelerin hayatta kalması ve çoğalmasına elverişlidir.

Tümör mikroçevresi, tümörlerin gelişiminde önemli bir rol oynar. Hipoksisi, düşük pH'ı ve yüksek basınçlı ortamı, tümör hücrelerindeki büyüme faktörleri, proteolitik enzimler ve immünoinflamatuvar faktörler için faydalıdır. Metastaz, farklılaşma, vb. süreçlerde önemli bir etkiye sahiptir. MiRNA'nın anormal ifadesi, hücre dışı matrisi düzenleyerek tümör invazyonunu ve metastaz yeteneğini değiştirebilir.

2.8.7. Kandaki MiRNA'lar (Total Kan, Serum, Plazma ve Eksozom)

Tümör dokularından alınan örneklerde tanımlanan tanısal miRNA belirtilerinin yanı sıra, çalışmalar ayrıca dolaşımdaki miRNA'ların tanısal ve prognostik yararlılığını göstermiştir. Aslında, biyopsilerdeki ve tümör örneklerindeki miRNA'lar dışında toplam kan serumu ve plazmasında (tükürük, idrar, anne sütü, seminal sıvısı ve gözyaşları gibi diğer vücut sıvıları da dahil olmak üzere) kanda önemli sayıda kansere bağlı miRNA tespit edilebilir. Bununla birlikte, şu anda bildiğimiz, tümör hücreleri tarafından salınan kandaki miRNA'ların, tümör hücrelerinin bir dizi yan ürünü olarak hareket etmeyebileceği görüşü vardır. Tümörle salınan (tumor-released TR) eksozomların, anjiyogenezi, hücre proliferasyonunu ve hücre sağkalımını teşvik edebilen çeşitli tipte proteinler, mRNA ve miRNA'ları taşıyan hücre içi araçlar olarak işlev görebildiği ve sistemik olarak onkojenik bir niş oluşmasına neden olduğu geniş çapta tanımlanmıştır. Son yapılan çalışmalarda TR ekzomları yoluyla kanserin mikroçevresine katkıda bulunan bir otokrin ve parakrin miRNA sinyal yolunun bir paradigması önerilmiştir. Örneğin, Skog ve arkadaşları ilk olarak EGFRvIII proteini ve miR-21 kodlayan habercilerin glioblastomdan türetilmiş eksozomlarda taşındığını ve bu moleküllerin normal konakçı hücreler tarafından alınabileceği ve kanser hücrelerinin proliferasyonunu uyararak fonksiyonel sinyallere dönüştürülebildiğini

bulmuştur [53]. Ek olarak, Pigati ve meslektaşları kansere bağlı miRNA'ların kanser hücrelerine spesifik olduğunu doğruladılar; bu durum dolaşımdaki miRNA'ların moleküler tümör markerleri olarak görev alıp, tespit edilmesini destekleyen bir başka olgudur. Malign hücreler tarafından üretilen miR-451 ve miR-1246 kütesinin özellikle seçici olarak kana salındığını gördüler, ancak normal hücreler tarafından üretilen bu miRNA'ların çoğunun hücre içi olarak tutulduğunu buldular. Bulguları, miRNA'ların kana ve diğer biyolojik sıvılara salınmasının muhtemel olduğu ve bu durumun malign transformasyonla değiştirilebileceğine dair özel seçici bir açıklama olduğunu göstermiştir [54]. Bu nedenle, kararlı bir form ve yaygın olarak hormon benzeri etkilerle dolaşımdaki noninvaziv olarak saptanıp kansere özgü miRNA'lar geniş ölçüde araştırılmıştır. miRNA'lar kanser hastalarını sağlıklı insanlardan etkili bir şekilde ayırdığı, prognozunu öngördüğü ve terapötik yanıtın izlenebildiğini somut bir şekilde ifade etmiştir [55].

2.8.8. miRNA-27a-3p

MicroRNA-27a (miR-27a) kromozom 19'da bulunmaktadır. Pankreatik kanser, meme kanseri, yumurtalık kanseri, özofagus kanseri, renal hücreli karsinom, hepatoselüler karsinom ve glioma dahil olmak üzere birçok tümör tipinde sıklıkla anormal eksprese olduğu ve fonksiyonel rol oynadığı bulunmuştur. Yapılan çalışmalar ayrıca miR-27a'nın gastrik kanser (GC-gastrik cancer) dokularında yukarı regüle edildiğini ve tümör baskılayıcı genini inhibe ederek, malign davranışları teşvik edebileceğini göstermiştir [56]. Bu durum miR-27a'nın çeşitli kanser türlerinde düzensizliği kanserin ortaya çıkmasında ve ilerlemesinde önemli bir rol oynadığını düşündürmektedir. Zhou ve arkadaşları, miR-27a-3p'nin BTG2'yi hedefleyerek mide kanserinde bir onkogen olarak işlev gördüğünü ortaya koymuştur. miR-27, sFRP1'in transkripsiyon sonrası regülasyonu yoluyla osteoblast proliferasyonunda, apoptozunda ve farklılaşmasında da önemli bir rol oynayabilir. Ek olarak miR-27a/b komşu endotel hücrelerinin ilerlemesini kontrol eden anjiyogenez inhibitörü SEMA6A'yı hedefleyerek anjiyogenezi arttırmıştır [57]. miR-27a'nın özofagus yassı epitel hücreli karsinom, kolorektal kanser, akut lösemi, pankreas kanseri ve akciğer adenokarsinomunda bir tümör baskılayıcı olduğu bildirilmiştir. Önceki araştırmalar miR-27a kümesinin TGF-beta yolu tarafından düzenlendiğini gösterdi. Androjene bağımlı prostat kanserinde ise miR-27a'nın androjen reseptör (AR) tarafından yukarı regüle edildiği bildirilmiştir. MiR-27a prostat kanserinde tümör baskılayıcı olarak işlev görmüştür. MiR-27a'nın aşırı ekspresyonu prostat kanseri hücrelerinin proliferasyonunu ve invazyonunu azalttı.

Bu olay prostat kanseri hücre döngüsünün durmasını ve apoptozu indüklemiştir [58]. Bir onkogen olarak miR-27a çeşitli kanser hücresi çoğalması ve gelişimi için temel bir molekül olmuştur. miR-27a'nın son yapılan çalışmalarda yumurtalık kanserinin ilerlemesinde bir onkogen olarak işlev gördüğünü göstermektedir. Yapılan çalışmada yumurtalık kanserindeki *FOXO1* geninin (Forkhead Box O1 (FOXO1), endotelial hücrelerin çoğalmasının temel bir düzenleyicisidir ve çeşitli hücreler üzerinde bir tümör baskılayıcı olarak işlev görür.) miR-27a-3p'nin potansiyel bir hedefi olabileceği düşünülmüştür. *FOXO1* ve miR-27a-3p ekspresyonu arasında negatif bir korelasyon var olduğu çıkmıştır. Belirtilen sonuçlar *FOXO1*'in hücre üzerindeki koruyucu etkisini göstermiştir. Tam anlamıyla açıklamak gerekirse, daha yüksek *FOXO1* ekspresyonu olan hastalarda genel sağkalım daha uzun süreli olmuştur. miR-27a-3p'nin onkogenik rolünün tümör baskılayıcı *FOXO1*'in işlevinin inhibe edilmesiyle ortaya çıktığı düşünülmüştür. Çalışmada yapılan kotransfeksiyon deneyleri, miR-27a'nın *FOXO1* ekspresyonunu düzenleyerek muhtemel malign bir faktör olduğunu göstermiştir [59]. Bir diğer çalışmada miR-27a ekspresyonunun pankreas kanserinin prognozunu değiştirip değiştirmediğini belirlemek için miR-27a ekspresyonunu serum içinden ölçülmesi yapılmıştır. Pankreas kanseri serumundaki miR-27a ekspresyonu normal gruba kıyasla yukarı doğru düzenlendiği tespit edilmiştir [60]. Yakın zamanda yapılan bir çalışmada da miR-27a ekspresyon seviyesi üç grup arasında belirlendi, buna bağlı olarak primer meme kanseri (BC-breastcancer) hastalarında düzeyi anlamlı derecede arttığı görülmüştür, bunun arkasından benign meme kanseri hastaları izlenmiş, sağlıklı bireyler arasındaki seviye en düşük olarak belirlenmiştir. miR-27a ekspresyonunun ve yaygın rutin tümör belirteçlerinin (CEA ve CA-15.3) tanısal etkinliğini araştırmak için araştırmacılar ROC eğrisini çizmişlerdir. miR-27a hem BC'nin erken teşhisi hem de daha yüksek özgüllüğü için BC'nin erken evrelerinin, BC'nin düşük derecelerinin tespiti ve özellikle BC'nin erken tespit edilmesi adına iyi bir potansiyel moleküler belirteç haline gelmiştir [61].

Yumurtalık kanseri ile miR-27a-3p arasındaki ilişki değerlendirilmiştir ancak sadece kanser hücre hattında ve yumurtalık dokusunda olarak ilişkilendirilmiştir. Dolaşımda bulunan miRNA'ların CA-125 değerleriyle birlikte geniş kapsamlı ve ayrıntılı olarak yumurtalık kanseri hastaları üzerindeki araştırılması yapılmamıştır. Tez çalışmamızda yumurtalık kanseri ile ilişkili bulunan miR-27a-3p moleküllerinin karşılaştırılmalı olarak yumurtalık kanser grubunda incelenmesi, validasyonlarının yapılması,

yumurtalık kanserinin etiyolojisindeki yeri ve biyolojik belirteç durumunun belirlenmesi amacıyla inceleme altına alınmıştır.



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Deney grubu İstanbul Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü, Kanser Genetiği Polikliniğine genetik test için gelen hastalar arasından seçilen, 150 yumurtalık kanserli hasta ile hasta popülasyonu yaş, cinsiyet ve etnik köken olarak eşleştirilmiş 100 sağlıklı kişiden oluşturulmuştur. Tez çalışması için İstanbul Tıp fakültesi etik kurul komisyonu tarafından 28.06.2019 tarihinde yapılan toplantıda, 907 sayılı belge ile etik kurul onayı alınmıştır (Etik Kurul onay: 28/06/2019, dosya no: 2019/813). Çalışmada hasta ve sağlıklı kontrol grubuna ait kalite kontrolü geçen uygun konsantrasyondaki RNA'lar kullanılmıştır. Çalışmaya alınan hastalar OH harfleri ile kontrol grubu ise OK harfleri ile kodlanmıştır. Buna göre hasta grubu OH1-OH147 şeklinde kontrol grubu ise OK1-OK100 arasında numaralandırılarak hasta isimleri anonimleştirilmiştir. Çalışmada yer alan deney gruplarının ortalama yaşları; yumurtalık kanserli hasta grubu için 50 ± 10 (23-84), kontrol grubu için 48 ± 11 (23-84) arasındadır.

miR-27a-3p'nin ekspresyon düzeyi, hasta ve sağlıklı kişilerin periferik kan lenfositlerinde incelenmiştir. Araştırılan miRNA'nın ekspresyon düzeyi 5SRNA referans gen varlığında analiz edilmiştir. Çalışmada, toplam 250 örnek ve referans gen dahil toplam 2 miRNA incelenmiştir.

Deney grubundaki RNA'lar, periferik kandan ayrıştırılmış lenfosit pelletinden ticari kit ile (Quick-RNATM MiniPrep kit) ekstrakte edilmiştir. Daha sonra özel bir kit yardımıyla (EPIKTM miRNA Hi/Lo-Rox Select Kit) miRNA molekülleri, total RNA moleküllerinden floresan işaretlenerek ayrıştırılmış ve miRNA ekspresyon düzeyi kantitatif RT-PCR (Gerçek Zamanlı-PZR) yöntemi ile incelenmiştir.



Şekil 3-1: Mic qPCR Deney Tüplerinin Ve Çalışma Yerinin Görüntüsü



Şekil 3-2: Mic qPCR Cihazının Görüntüsü

3.2. Kimyasal Maddeler ve Malzemeler

Kullanılan kimyasal maddeler ve solüsyonlar aşağıdaki **Tablo 3-1**'de verilmiştir.

Agaroz (Wisent MultiCell, Kanada)
Borik asit (Wisent MultiCell, Kanada)
Ethanol (Riedel De Haen, Almanya)
Etidyum Bromür (Sigma, Almanya)
Biocoll Separating Solution (Ficoll) [BIOCHROM]
Bromfenol Mavisi (BFB) [SIGMA]
Etilen-diamin-tetraasetikasit (EDTA)
Collection Tubes
PBS (Phosphate Buffer Solution)

Tablo 3-1: Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Malzemeler

3.3. Kullanılan Çözeltiler Ve Tamponlar İle Bilgisayar Programları

Deneyisel aşamalarda kullanılan tampon ve çözeltiler; PBS Tampon Çözeltisi, TEB Tampon çözeltisi, BFB Yükleme Tamponu, %1,5'lik Agaroz, Lysis Buffer, Buffer R; ile bilgisayar programları Tablo 3-2'de belirtilmiştir (**Tablo 3-2**).

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

Tablo 3-2: Kullanılan Çözeltiler -Tamponlar ve Bilgisayar Programları

3.4. Kullanılan Cihazlar

Tez çalışmasında İstanbul Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü, Temel Onkoloji Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarında yer alan cihazlar kullanılmıştır (**Tablo 3-3**).

Jel Dokümantasyon Sistemi-UV Transliminator	RNA kalite kontrolünde kullanılmıştır.
Santrifüjler [HERAUS, HETTICH, JOUAN]	RNA izolasyonunda, Saflaştırma çöktürme işlemlerinde kullanılmıştır.
Sıvı Azot Tankı	Hastalara ait hücrelerin saklanması için kullanılmıştır.
Derin Dondurucu (-80°C)	Kit, prob, hasta RNA'ların saklanması için kullanılmıştır.
Buzdolapları	Kit ve çeşitli kimyasal maddelerin saklanması için kullanılmıştır.
Teraziler	Çeşitli solüsyonların hazırlanması için kimyasal maddelerin ölçülmesinde kullanılmıştır.
Karıştırıcılar	Solüsyonların hazırlanması esnasında kullanılmıştır.
pH Metreler	Solüsyonların pH'larının ölçülmesinde kullanılmıştır.
1 Mikropipetler [GILSON]	Deneylerin yapılması esnasında reaksiyon karışımlarının hazırlanmasında kullanılmıştır.
Real-Time PCR cihazı	PCR işlemleri için kullanılmıştır.
Mic qPCR cihazı	Cihaz kuruma ait değildir. Proje süresince firma tarafından deneysel işlemlerin yapılması için kurulmuş ve kullanılmıştır.

Tablo 3-3: Kullanılan Cihazlar ve İşlevleri

3.5. Tam Kandan Lenfosit İzolasyonu

EDTA'lı tüpelere alınan yaklaşık 10 mL kan 1/1 oranında %0,9'luk NaCl ile dilue edilir. 2 mL Ficoll üzerine yavaş bir şekilde eklenir. 1970 RPM'de 30 dk. Santrifüjlenir. Santrifüj sonunda alt fazda eritrosit üst fazda serum ve orta fazda hücre pelleti ayrıştırılır. Lenfosit hücrelerinin oluşturduğu faz Eritrosit fazının hemen üzerinde ve serum fazının içinde halka şeklinde toplanmış beyaz renkli halka şeklindeki gözlendir. Bu halka şeklindeki lenfosit hücre fazı pastör pipeti yardımı ile toplanarak temiz tüpe alındı ve 1970 RPM'de tekrar 10 dk. santrifüj edildi. Süpernatant döküldü ve kalan pelet üzerine 4 mL PBS eklenerek pipetaj yapılarak hücreler patlatılmamaya özen gösterilerek çözüldü ve hücre solüsyonu kriyo tüplere 1'er mL olacak şekilde dağıtıldı ve ardından 1970 RPM'de 5 dk. Santrifüjlenerek çöktürüldü. Süpernatant döküldü. Çöktürülen hücreler daha sonraki deneysel işlemler

için kademeli olarak dondurularak önce -80°C’de daha sonra da uzun süreli saklanmak üzere sıvı azot tankına aktarıldı.

3.6. Lenfosit RNA İzolasyonu

Lenfosit RNA izolasyonu işlemi için ticari kit (Quick-RNATM MiniPrep) ile gerçekleştirildi. Kit protokolüne göre yapılan işlemler ayrıntılarıyla aşağıda belirtildi.

3.6.1. RNA İzolasyon Protokolü

RNA izolasyonu için Quick-RNATM MiniPrep protokolü uygulandı. Kit içerisindeki DNA-RNA Lysis Buffer -80°C’de ya da azot tankında saklanan hücre peleti üzerine ilave edildi. DNA-RNA Lysis Buffer ile hücre zarları patlatıldı ve hücre içinde yer alan DNA ve RNA molekülleri açığa çıkarıldı. Bu karışım RNA izolasyon kiti içinde yer alan filtre üzerine yüklendi ve 12.000g’de santrifüjlendi. Santrifüjleme işlemi sonrası DNA molekülü filtrede tutularak RNA moleküllerin alt faza geçmesi sağlandı. Alt faz, RNA izolasyonu işlemine devam etmek üzere temiz bir tüpe alındı ve işlemlere devam edildi. Biriktirme tüpü içerisine alınan RNA fazına Ethanol eklendi ve oluşan yeni karışım özel bir tüp içerisine aktarılarak 12.000g’de santrifüj edildi. Daha sonra kit içerisinde bulunan RNA Prep Buffer (400 µL) karışım üzerine eklendi ve ardından 12.000g’de tekrar santrifüj edildi, biriktirme tüpü içerisinde toplanan atık uzaklaştırıldı. Ardından Filtreye tutunan RNA molekülü filtrenin üzerine RNA Wash Buffer (700 µL) eklenmek ve 12.000g’de tekrar santrifüjlenmek suretiyle yıkandı, biriktirme tüpü içerisinde toplanan atık uzaklaştırıldı. Tekrar RNA Wash Buffer (400 µL) eklenerek iki dakika 12.000g’de santrifüj edildi. Son olarak RNase-Free Water eklenerek, 30 saniye/1 dakika boyunca 12.000g’de santrifüj edilerek RNA molekülünün filtreden çözülerek tüpün dibinde toplanması sağlandı. İzole edilmiş RNA porsiyonlara ayrıştırılarak -80°C’de saklandı.

3.7. RNA’ların Safılık ve Konsantrasyon Ölçümleri

cDNA sentezinin yapılabilmesi için yüksek kalitede RNA kullanılması gerekmektedir. Yüksek kalitedeki RNA’nın degrade olmamış ve genomik DNA kontaminasyonu içermemiş olması gerekmektedir. Elde edilen RNA’ların safılık ve konsantrasyon ölçümleri NanoDrop 2000 Spektrofotometre [THERMO SCIENTIFIC] cihazında yapıldı. Uygun olmayan RNA örnekleri deneyden çıkarıldı ve yeni pelletten tekrar RNA izolasyon işlemi yapıldı.

3.8. Kalite Kontrol Verilerinin Değerlendirilmesi

Çalışmamızda kullanılan RNA'ların kalite kontrol işlemleri “Nanodrop 2000” cihazında ölçümlerinin yapılması, değerlendirilmesi ve ardından agaroz jel elektroforezi ile incelenmesi aşamalarını içerecek şekilde yapıldı.

3.9. ID3EAL miRNA qPCR Starter Kit Protokolü

Kit protokolü cDNA sentezi ve RT qPCR reaksiyonu olmak üzere iki aşamadan oluşmaktadır. Bu aşamalardan ilkinde çalıştığımız miRNA için cDNA sentezi gerçekleştirilmektedir. İkinci aşamada ise iki farkı miRNA RT-qPCR assay için hazır hale getirilmektedir.

3.9.1. cDNA Sentezi

Tüm reaksiyon işlemleri buz üstünde yapıldı. cDNA sentez işlemi, ID3EAL miRNA qPCR Starter kiti kullanılarak, kit protokolü doğrultusunda gerçekleştirildi. cDNA sentez reaksiyonu öncesi hastalara ait RNA örnekleri çözüldü ve ardından vortekslendi. cDNA reaksiyonunun gerçekleştirileceği tüp içerisine sırasıyla kalıp RNA (5 µg'a kadar), ID3AL RT Buffer (5 µL), ID3AL RT Primer (1 µL), ID3AL RT (revers transkriptaz) (1 µL) eklendi. Elde edilen karışımın hacmi distile su ile 20 µL'ye tamamlandı. Mikropipet yardımıyla pipetaj yapıldı ve ardından vortekslendi. BioRad PCR cihazı kullanılarak 42°C'de 30 dakika, 95°C'da 5 dakika olacak şekilde inkübe edilerek cDNA oluşturma reaksiyonu tamamlandı.

3.9.2. Kantitatif Real Time PCR Reaksiyonu

Oluşan cDNA'ları 1:10 oranında distile su kullanılarak sulandırıldı. Sulandırılmış cDNA'lar -20°C'de saklandı. 4 hafta içinde tüm cDNA'lar kullanıldı.

Real Time PCR Reaksiyonu: MIC qPCR için üretilmiş özel tüpler içerisine total hacim 20 µL olacak şekilde, 10 µL ID3AL qPCR Master Mix, 2 µL ID3AL qPCR assays, 5 µL sulandırılmış cDNA ve 3 µL distile su eklendi. Mikropipet yardımıyla pipetaj yapıldı ve ardından vortekslendi.

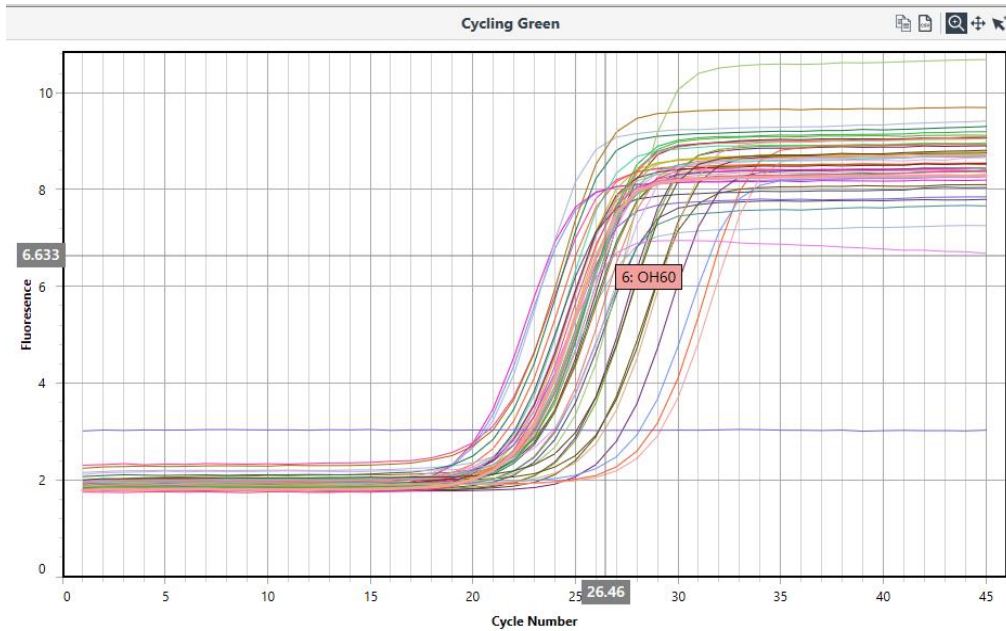
Kantitatif Real Time PCR işlemi MIC qPCR cihazı ile gerçekleştirildi. Kantitatif PCR işlemi Tablo 3-4'te verilen döngüye göre gerçekleştirildi. Gerçekleştirilen reaksiyonların ölçümü ve hesaplanma işlemi cihaz üzerinde yer alan MIC qPCR yazılımı ile yapıldı. Bu yazılım ile incelenen miRNA ekspresyon düzeyleri kantitatif olarak hesaplandı.

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

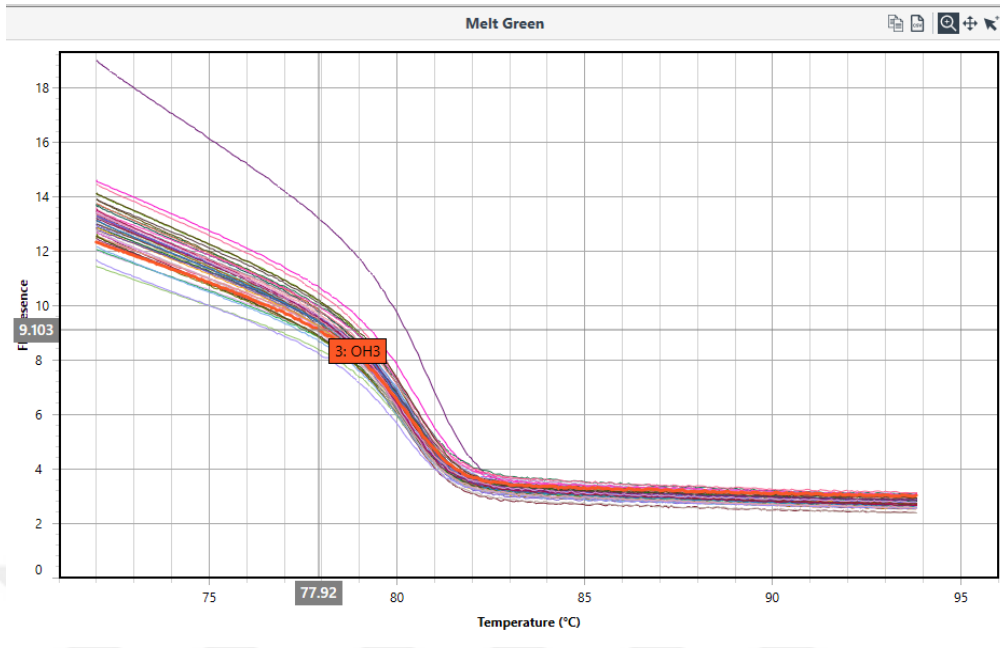
Tablo 3-4: Kantitatif Real Time PCR İşlemi Döngü ve Süreleri

3.10. qPCR ile Çoğaltılan miRNA Moleküllerinin Analizi

miR-27a-3p için MIC qPCR'a yüklenen hasta ve kontrol örneklerinin oluşturduğu Real Time PCR eğrileri (Şekil 3-2), (Şekil 3-3) verilmiştir. Her bir örneğin ekspresyon seviyeleri CT (Threshold Cycle = Eşik döngüsü) değerindeki farklılıklara göre değerlendirilmiştir.



Şekil 3-3: Mir-27a-3p Ekspresyonunun Incelenen Örneklerde Gerçek Zamanlı qPCR Eğri Görüntüsü



Şekil 3-4: Mir-27a-3p'nin Ekspresyonunun İncelenen Örneklerde Erime Eğrilerine İlişkin Görüntü

3.11. ΔCT ve $\Delta\Delta CT$ Değerlerinin Hesaplanması

İncelenen örneklerin ekspresyon düzeyleri arasındaki farkın hesaplanması ve değerlendirilmesi CT değerleri üzerinden, ΔCT ve $\Delta\Delta CT$ hesaplamaları ile yapıldı.

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

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

Bu değerlerin hesaplanmasından sonra $2^{-\Delta\Delta CT}$ değeri aşağıdaki formülle bulundu.

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

$\Delta\Delta CT$ değeri 0'a eşit olduğundan ve $2^0=1$ ifadesinden dolayı referans değeri 1 olarak kabul edildi. Referans değerine göre ekspresyon düzeylerindeki artış veya azalış hesaplandı.

3.12. İstatistiksel Analiz

Hasta ve kontrol grubu arasındaki miRNA ekspresyon düzeylerinin karşılaştırılma işlemleri IBM Support SPSS 21.0 bilgisayar programı kullanılarak gerçekleştirildi. Gruplar arasındaki dağılımın normallik varsayımı Kolmogorov-Smirnov testi ile değerlendirildi. Verilerin incelenmesinde ise parametrik olmayan Mann-Whitney U testi kullanıldı.

4. BULGULAR

Tez çalışmasında İstanbul Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü, Kanser Genetiği Polikliniği'ne *BRCA1/2* incelemesi için başvurmuş hastalar arasından 150 over kanserli hasta ve hasta popülasyonu ile yaş, cinsiyet ve etnik köken olarak eşleştirilmiş 100 sağlıklı kontrol dahil edildi. Biyolojik materyalin kalite kontrolünün ardından tez çalışmasında deney grubu için toplamda 147 yumurtalık kanseri hasta ve 100 sağlıklı kontrole ait RNA örnekleri kullanılarak aşağıdaki sonuçlar elde edildi (Tablo 4-1 ve Tablo 4-2'de gösterilmiştir.)

HASTA NO	miR-27a-3p 2-ΔΔCT DEĞERİ	HASTA NO	miR-27a-3p 2-ΔΔCT DEĞERİ	HASTA NO	miR-27a-3p 2-ΔΔCT DEĞERİ
OH001	42,81368175	OH048	10,78712034	OH095	2,154593354
OH002	0,737134609	OH049	0,62108823	OH096	1,047846713
OH003	8,224910613	OH050	0,286311447	OH097	3,594757048
OH004	0,806641759	OH051	1,942504427	OH098	0,485850937
OH005	1,292352831	OH052	0,476484255	OH099	0,286033814
OH006	7,210003701	OH053	0,861273009	OH100	1,517474492
OH007	4,563054863	OH054	0,679349979	OH101	2,343777922
OH008	4,9588308	OH055	1,968653524	OH102	0,230181106
OH009	7,503782833	OH056	1,0169736	OH103	0,850928092
OH010	2,09992403	OH057	15,30807758	OH104	0,174456723
OH011	7,81057985	OH058	4,123552271	OH105	0,458450616
OH012	4,912414749	OH059	0,980277829	OH106	16,02455168
OH013	0,086197067	OH060	4,929879058	OH107	0,345551186
OH014	1,422595493	OH061	50,18267798	OH108	1,719189168
OH015	1,128952008	OH062	32,9328962	OH109	0,088590057
OH016	2,717615637	OH063	0,021479986	OH110	1,469605155
OH017	7,29907947	OH064	4,389996221	OH111	0,252139964
OH018	1,112105449	OH065	1,69684867	OH112	0,722730825
OH019	7,537030593	OH066	5,741642778	OH113	0,426967372

OH020	2,807711755	OH067	0,151687963	OH114	2,155032088
OH021	16,45348968	OH068	7,053702757	OH115	0,642039868
OH022	0,77965797	OH069	8,204454972	OH116	0,703267137
OH023	2,864459516	OH070	4,493636423	OH117	3,608527958
OH024	2,548617808	OH071	1,853124244	OH118	3,906655738
OH025	0,183056617	OH072	1,372828682	OH119	0,382041343
OH026	0,799252583	OH073	1,422968304	OH120	0,759854107
OH027	2,23703815	OH074	2,464768557	OH121	0,697330674
OH028	9,022873822	OH075	0,629210821	OH122	0,186158106
OH029	0,176506116	OH076	4,676341546	OH123	0,662403881
OH030	1,110072639	OH077	2,158208722	OH124	2,5094967
OH031	6,931768282	OH078	5,139141761	OH125	3,464589553
OH033	112,9801625	OH079	3,997317682	OH126	0,963835098
OH034	0,014079461	OH080	1,459117339	OH127	1,496800843
OH035	1,077610039	OH081	5,293529763	OH128	1,340164059
OH036	31,2848864	OH082	0,742132095	OH129	0,599327295
OH037	1,528270192	OH083	0,64943416	OH130	0,113369011
OH038	4,768013385	OH084	1,982979072	OH131	0,072817378
OH039	9,089868076	OH085	6,084150375	OH132	3,832816398
OH040	3,024201484	OH086	0,338460279	OH133	0,308220993
OH041	4,842413261	OH088	5,770200832	OH134	0,136328602
OH042	1,329205024	OH089	0,517732729	OH135	0,405666157
OH043	42,81368175	OH090	4,702323497	OH136	1,350203954
OH044	7,938056301	OH091	5,941607644	OH137	0,094179898
OH045	0,007354267	OH092	0,918613453	OH138	0,289501002
OH046	4,443043443	OH093	2,248031344	OH139	0,124437381
OH047	5,121965033	OH094	3,106224136	OH140	6,647373716

OH141	0,215826648
OH142	4,64835091
OH143	0,557219213
OH144	5,063991125
OH145	0,164599317
OH146	3,567823147
OH147	0,145115399
OH148	0,292025549
OH149	0,936545469

Tablo 4-1: Yumurtalık Kanseri Hastalarına ait $2^{-\Delta\Delta CT}$ Değerleri

KONTROL NO	miR-27a-3p $2^{-\Delta\Delta CT}$	KONTROL NO	miR-27a-3p $2^{-\Delta\Delta CT}$	KONTROL NO	miR-27a-3p $2^{-\Delta\Delta CT}$
OK001	16,49117315	OK035	3,066005926	OK069	5,889236451
OK002	0,412838283	OK036	1,352569358	OK070	2,614814905
OK003	0,858451713	OK037	0,72065472	OK071	1,084846529
OK004	0,264983693	OK038	2,655901289	OK072	0,267101632
OK005	0,490787537	OK039	3,111950548	OK073	0,267992778
OK006	0,541872167	OK040	0,514724198	OK074	0,547068514
OK007	0,825042354	OK041	4,759711407	OK075	0,862011934
OK008	1,159717935	OK042	0,672399895	OK076	1,043806733
OK009	2,097522395	OK043	0,692508655	OK077	0,703819367
OK010	1,529807039	OK044	0,017864058	OK078	0,270790179
OK011	3,749893212	OK045	1,148957966	OK079	4,58821235
OK012	0,894979705	OK046	1,100855338	OK080	8,267644582
OK013	0,898923046	OK047	0,63789502	OK081	1,955790825

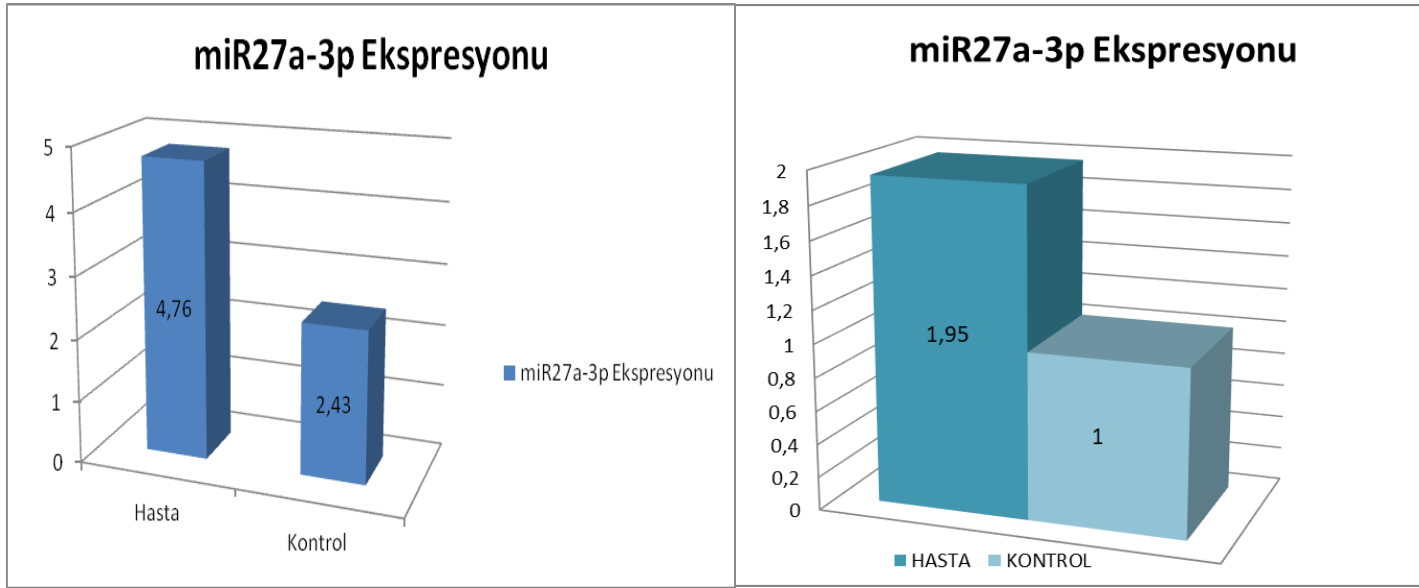
OK014	0,958897935	OK048	0,13182584	OK082	0,654384011
OK015	2,53761411	OK049	0,032633809	OK083	0,698302461
OK016	1,759710936	OK050	0,096354165	OK084	3,024036079
OK017	1,906538854	OK051	1,890365724	OK085	0,224546515
OK018	3,587858854	OK052	0,493170559	OK086	0,430790532
OK019	3,579998323	OK053	0,564365398	OK087	33,98541304
OK020	2,158264456	OK054	0,544961136	OK088	0,167939456
OK021	1,110464765	OK055	0,044906837	OK089	0,664267673
OK022	3,734064362	OK056	0,713542337	OK090	1,991886309
OK023	3,342256989	OK057	0,62939687	OK091	0,652432985
OK024	0,152271309	OK058	0,649977584	OK092	0,725751099
OK025	0,296338343	OK059	0,534561078	OK093	0,503521276
OK026	0,997623091	OK060	2,094123274	OK094	0,559526725
OK027	0,033231227	OK061	1,687291271	OK095	0,330262516
OK028	1,545487912	OK062	0,192718274	OK096	1,416860286
OK029	0,090613265	OK063	4,185229422	OK097	2,092594156
OK030	0,153608065	OK064	5,797004456	OK098	2,29143777
OK031	7,842943568	OK065	30,02488726	OK099	5,815434533
OK032	1,096727225	OK066	11,21727538	OK100	4,195842394
OK033	1,183935424	OK067	1,8209584		
OK034	1,547651577	OK068	0,802232375		

Tablo 4-2: Kontrol Grubunun $2^{-\Delta\Delta CT}$ Değerleri

İstatistiksel analizlere göre; çalışma kapsamında incelenen gruplar arasında dağılımın normallik varsayımı Kolmogorov-Smirnov testi ile belirlenmiştir. Verilerin normallik dağılımları değerlendirildiğinde miR-27a-3p için $p < 0,05$ olarak bulundu (Kolmogorov-Smirnov $Z=5,440$; $p < 0,05$). Hastalarda miR-27a-3p'nin $2^{-\Delta\Delta CT}$ ortalaması 4,76 kontrol

grubunda ise $2^{-\Delta\Delta C_T}$ ortalaması ise 2,43 olarak saptandı. Tablo 4-1 ve Tablo 4-2’de şematik olarak gösterilmiştir.

Yumurtalık kanserli hastalar arasında miR-27a-3p ekspresyon düzeyinin ortalamasının 4,76; kontrol grubunda ise söz konusu miRNA’ya ait ekspresyon düzeyi ortalamasının 2,43 olduğu saptandı. Hasta ve sağlıklı kontrol gruplarının $2^{-\Delta\Delta C_T}$ değerleri karşılaştırıldığında miR-27a-3p’nin ifade düzeyinin epitelyal yumurtalık kanserli hastalarda 1,95 kat artmış olduğu gösterildi ($2^{-\Delta\Delta C_T}=1,95$).



Tablo 4-3: Kontrol ve Hasta Gruplarının Ortalama $2^{-\Delta\Delta C_T}$ Değerlerinin Karşılaştırılması ve Ekspresyon Farkının Gösterilmesi

Gruplar normal dağılım göstermedikleri ve alt gruplar içinde hesaplama yapılması istendiğinden ve toplam beş alt grup olmasından dolayı, verilerin çözümlenmesinde Mann-Whitney U testi kullanıldı. Mann-Whitney U testi ile $2^{-\Delta\Delta C_T}$ değerleri baz alınarak yapılan hesaplamalarda miR-27a-3p düzeyinin hasta grubunda sağlıklı kontrollere göre istatistiksel açıdan yüksek düzeyde anlamlı olduğu görüldü ($p=0,021$) (Tablo 4-4).

	miR27a3p
Mann-Whitney U	6075,000
Wilcoxon W	11125,000
Z	-2,313
p değeri <	,021

Tablo 4-4: Toplam Hasta Ve Kontrol Grupları Arasında miR-27a-3p İfade Düzeyinin Mann-Whitney U Testi İle Değerlendirilmesi

Bununla birlikte yumurtalık kanseri hastalarında miR-27a-3p ifade düzeyi ile hastaların metastaz varlığı, histolojisi, klinik evresi, oral kontraseptif kullanımı, tanı aldığı yaş, aile içerisinde yumurtalık ve meme kanserli hasta sayısı, tümör boyutu, menopoiz durumu, infertilite tedavisi alıp almadığı ve hamilelik sayısı gibi klinik özellikler arasındaki ilişkileri de Mann-Whitney U testi ile ayrıca değerlendirilmiştir. Bu değerlendirmeye ait sonuçlar Tablo 4-5'te verilmiştir.

Yumurtalık kanseri hastalarında miR-27a-3p'nin değişken ifade düzeyi ile metastaz varlığı (p=0,259), oral kontraseptif kullanımı (p=0,814), tanı yaşı (p=0,258), tümör boyutu (p=0,666), menopoiz durumu (p=0,278), ailede kansere yakalanmış toplam vaka sayısı (p=0,195), infertilite durumu (p=0,899), hamilelik durumu (p=0,645), klinik evresi (p=0,807), ailede meme ve yumurtalık kanserine yakalanmış vaka sayısı (p=0,484) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır.

Hastaların Özellikleri	Klinik	Vaka Sayısı, n	Mann-Whitney U	Wilcoxon W	Z	p Değeri
Yaş						
<40 yaş		24	1260,000	1560,000	-1,132	,258
=>40 yaş		123				
Toplam		147				
Uzak Metastaz Durumu						
Var		102	2026,500	7279,500	-1,128	,259
Yok		45				
Toplam		147				
Ailede Yumurtalık Ve Meme Kanseri Sayısı						
<2		94	2317,500	3748,500	-,700	,484
>=2		53				

Toplam	147				
Tümör Boyutu					
<2 cm	32	1748,000	2276,000	-,432	,666
>=2 cm	115				
Toplam	147				
Ailede Toplam Kanser Sayısı					
<2	51	2129,500	6785,500	-1,296	,195
>=2	96				
Toplam	147				
Menopoz Durumu					
Premenopoz	68	2406,500	5566,500	-1,086	,278
Postmenopoz	79				
Toplam	147				
İnfertilite Durumu					
Hayır	140	476,000	10346,000	-,127	,899
Evet	7				
Toplam	147				
OKS Kullanımı					
Hayır	102	2239,000	7492,000	-,235	,814
Evet	45				
Toplam	147				
Hamilelik durumu					
Hayır	31	1701,000	8487,000	-,461	,645
Evet	116				
Toplam	147				
Klinik Evre					
Erken evre (1-2)	22	1330,000	9205,000	-,244	,807
İleri evre (3-4)	125				
Toplam	147				

Tablo 4-5: Yüksek Riskli Yumurtalık Kanser Hastalarında Mir-27a-3p İfade Düzeyi İle Klinik Özellikler Arasındaki İlişkinin Değerlendirilmesi

4.1. miR-27a-3p Ekspresyon Düzeylerinin Hastaların Klinik ve Patolojik Özellikleri İle Karşılaştırılması

Çalışmada yüksek riskli yumurtalık kanserli hastalarda miR-27a-3p ifade düzeyleri hastaların klinik histolojik ve patolojik evreleriyle karşılaştırılmıştır.

Tanı alma durumuna göre incelediğimizde; sadece yumurtalık kanseri tanısı alan 122 hastanın 48'inde (%39,3) miR-27a-3p ekspresyon seviyesinin azaldığı, 74'ünde (%60,4) ise arttığı saptanmıştır. Hem yumurtalık hem de meme kanseri olmak üzere iki farklı primer tümör tanısı almış 17 hastadan 5'inde (%29,4) ekspresyon seviyesinde düşüş gözlenirken, 12'sinde (%70,6) ise artmış saptanmıştır. Aynı anda yumurtalık ve endometriyum kanser

tanısına sahip 3 hastanın tamamında miR-27a-3p ekspresyon düzeyinin azaldığı gösterilmiştir. Yumurtalık kanseri ile birlikte meme ve endometriyum dışında başka herhangi bir kanser tanısı almış 5 hastadan 1'inde (%20) miR-27a-3p ekspresyon seviyesinin azalmış olduğunu, 4'ünde (%80) ise artış olduğu gözlenmiştir.

miR-27a-3p ekspresyon durumunu tanı yaşı ile karşılaştırdığımızda; 40 yaşın altında tanı almış olan 24 hastada yarı yarıya değişim görülmüştür. 12 kişide (%50) ekspresyon seviyesi artarken, diğer 12 kişide (%50) ise ekspresyon seviyesinde artış saptanmıştır. Tanı yaşı 40 yaşın üstünde yaş olan 123 hastada ise 45'inde (%36,6) ekspresyon seviyesinde azalış, 78'inde (%63,4) artış saptanmıştır.

Klinik evrelemeye göre yapılan karşılaştırmada; miR-27a-3p için ekspresyon düzeyi değerlendirmeye alınan 147 hasta arasında 8 (%5,4) kişide evre 1 hastalık, 14 kişide (%9,5) evre 2 hastalık, 82 kişide (%55,8) evre 3 hastalık, 43 kişide (%29,3) ise evre 4 hastalık mevcuttur. Evre 1 hastalarının 2'sinde (%25) ekspresyon seviyesi düşük saptanırken, 6'sında (%75) arttığı gözlenmiştir. Evre 2 derecesine sahip hastalardan 6'sında (%42,9) ekspresyon seviyesi düşük bulunurken, 8'inde (%57,1) artmıştır. Evre 3 hastalarının 32'sinde (%39) ekspresyon seviyesi azalırken, 50'sinde (%61) artmıştır. Evre 4 hastalar arasından 17 kişide (%39,5) ekspresyon seviyesi azalırken, 26'sında (%60,5) ekspresyon seviyesi artmıştır.

miR-27a-3p ekspresyonunun histolojik evrelere göre dağılımı incelendiğinde; Grade 1 olan 5 hastanın 4'ünde (%80'inde) ekspresyon düzeyi artarken, 1'inde (%20) ekspresyon seviyesi azalmıştır. Grade 2 olan 34 hastanın 13'ünde (%38,2) ekspresyon seviyesi düşükken, 21'inde (%60,2) ise artış gözlenmiştir. Grade 3 olan hastaların 43'ünde (%39,8) ekspresyon seviyesinin azaldığı, 65'inde (%60,2) ise arttığı saptanmıştır.

miR-27a-3p ekspresyonunun patolojik evrelere göre dağılımı incelendiğinde ise; bu grupta patolojik evresi 1 olan 8 hasta bulunmaktadır. Evre 1 olan hastalardan 2'sinde (%25) miR-27a-3p ekspresyon seviyesinin azaldığı gösterilirken, 6'sında (%75) ekspresyon seviyesinin arttığı saptanmıştır. Patolojik evresi 2 olan 13 hastanın 6'sında (%46,2) miR-27a-3p ekspresyon seviyesinin azaldığı, 7'sinde (%53,8) ise miR-27a-3p ekspresyon seviyesinin arttığı gözlemlendi. Patolojik evresi 3 olan 92 hastadan 37'sinde (%40,2) miR-27a-3p ekspresyon seviyesi azalmış, 55'inde ise (%59,8) miR-27a-3p ekspresyon seviyesi artmıştır. Patolojik

evresi 4 olan 34 hastadan 12'sinde (%35,3) ekspresyon seviyesi düşükken, 22 hastada ise (%64,7) miR-27a-3p ekspresyon seviyesinde artış olduğu saptanmıştır.

miR-27a-3p ekspresyon düzeyi ile uzak metastaz varlığı arasında yapılan karşılaştırmada; uzak metastaz yapmış olan 102 hastadan, 41'inde (%40,2) ekspresyon seviyesi azaldığı gösterilirken, 61'inde (%59,8) ise arttığı saptanmıştır. Uzak metastaz yapmamış olan 45 hastanın 16'sında (%35,6) ekspresyon seviyesi azalmış, 29'unda (%64,4) ise seviye artmıştır.

Cerrahi tedavi ile miR-27a-3p ekspresyon düzeyi arasındaki ilişki incelendiğinde; cerrahi uygulanmış 142 hastanın 56'sında (%39,4) ekspresyon seviyesi azalırken, 86'sında (%60,6) ekspresyon seviyesinin arttığı gösterilmiştir. Operasyon geçirmemiş 5 hastanın 1'inde (%20) ekspresyon seviyesinin azaldığı, 4'ünde (%80) ise miR-27a-3p ekspresyon düzeyinin arttığı saptanmıştır.

Tümör çapı ile miR-27a-3p ekspresyon düzeyi arasındaki ilişki incelendiğinde; tümör çapı <2 cm'den küçük olan 32 hastadan 14'ünde (%43,8) ekspresyon seviyesinin azaldığı gözlenirken, 18'inde (%56,2) ise arttığı gözlenmiştir. Tümör çapının 2 cm ve 2 cm'den büyük (>=2 cm) olan 115 hastadan 43'ünde (%37,4) ekspresyon seviyesinin düştüğü, 72 kişide (%62,6) ise arttığı saptanmıştır.

Sağ kalım analizi hesaplamasıyla kontrol ve hastalarımız ortalama 80 ay boyunca izlenmiştir. Bu izlenim sonucunda ekspresyon seviyesi değişimi hesaplanmıştır. Çalışmamızdaki hastaların son durumuyla miR-27a-3p'nin ekspresyon durumu arasındaki ilişki incelendiğinde ise ex olmuş 46 hastanın 19'ünde (%41,3) ekspresyon seviyesi azaldığı, 27'sinde (%58,7) ise arttığı gözlenmiştir. Şu an hayatta olan 100 hastamızdan 38'inde (%38) ekspresyon seviyesinin azaldığı, 62'inde (%62) ise ekspresyon seviyesi arttığı saptanmıştır.

miR-27a-3p EKSPRESYON DURUMU	AZALMIŞ EKSPRESYON	ARTMIŞ EKSPRESYON	TOPLAM
TANI DURUMU			
Sağlıklı	50 (%20,2)	50 (%20,2)	100 (%40,5)
Sadece Yumurtalık Kanseri	48 (%19,4)	74 (%30)	122 (%49,4)
Yumurtalık ve Meme Kanseri	5 (%2)	12 (%4,9)	17 (%6,9)
Yumurtalık ve Endometriyum Kanseri	3 (%1,2)	0	3 (%1,2)

Yumurtalık Ve Diğer Kanserler	1 (%0,4)	4 (%1,6)	5 (%2)
Toplam	107 (%43,3)	140 (%56,7)	247 (%100)
YAŞ			
<40 yaş	12 (%8,2)	12 (%8,2)	24 (%16,3)
=>40 yaş	45 (%30,6)	78 (%53,1)	123 (%83,7)
TOPLAM	57 (%38,8)	90 (%61,2)	147 (%100)
KLİNİK EVRE			
EVRE 1	2 (%1,4)	6 (%4)	8 (%5,4)
EVRE 2	6 (%4,1)	8 (%5,4)	14 (%9,5)
EVRE 3	32 (%21,8)	50 (%34,0)	82 (%55,8)
EVRE 4	17 (%11,6)	26 (%17,7)	43 (%29,3)
TOPLAM	57 (%38,8)	90 (%61,2)	147 (%100)
HİSTOLOJİK EVRE			
GRAD 1	1 (%0,7)	4 (%2,7)	5 (%3,4)
GRAD 2	13 (%8,8)	21 (%14,3)	34 (%23,1)
GRAD 3	43 (%29,3)	65 (%44,2)	108 (%73,5)
TOPLAM	57 (%38,8)	90 (%61,2)	147 (%100)
PATOLOJİK EVRE			
EVRE 1	2 (%1,4)	6 (%4)	8 (%5,4)
EVRE 2	6 (%4)	7 (%4,8)	13 (%8,8)
EVRE 3	37 (%25,2)	55 (%37,4)	92 (%62,6)
EVRE 4	12 (%8,2)	22 (%15,0)	34 23,2%
TOPLAM	57 38,8%	90 (%61,2)	147 (%100)
CERRAHİ DURUMU			
YOK	1 (%0,7)	4 (%2,7)	5 (%3,4)
VAR	56 (%38,1)	86 (%58,5)	142 (%96,6)
TOPLAM	57 (%38,8)	90 (%61,2)	147 (%100)
TÜMÖR ÇAPI			
<2 cm	14 (%9,6)	18 (%12,2)	32 (%21,8)
=>2 cm	43 (%29,2)	72 (%49)	115 (%78,2)
TOPLAM	57 (%38,8)	90 (%61,2)	147 (%100)
SON DURUM			
Ex	19 (%13)	27 (%18,5)	46 (%31,5)
Sağ	38 (%26)	62 (%42,5)	100 (%68,5)
TOPLAM	57 (%39)	89 (%61)	146 (%100)

Tablo 4-6: miR-27a-3p Ekspresyon Düzeyinin Hastaların Klinik Bulgularıyla Karşılaştırılması

4.2. Yumurtalık Kanseri Hastalarında miR-27a-3p Ekspresyon Düzeyinin Aile Hikâyeleri ile Karşılaştırılması

Çalışmada incelediğimiz miR-27a-3p ekspresyon düzeyi ailedeki yumurtalık ve meme kanseri hasta sayısı 2’den az olan 94 ailede 35’inde (%37,2) ekspresyon seviyesi azalmıştır, 59’unda

(%62,8) ekspresyon artışı görülmüştür. . Ailede yumurtalık ve meme kanseri sayısı 2’den fazla olan 53 ailede 22’sinde (%41,5) miRNA ekspresyon seviyesi azalmış, 31’inde (%58,5) ekspresyon artışı görülmüştür.

Ailelerdeki yumurtalık kanseri dışında diğer kanser tanısı almış kişi sayısına göre karşılaştırma yaptığımızda; aile içerisinde toplam kanser sayısı 2’den az olan 51 hastadan 18’inde (%35,3) ekspresyon seviyesi azalmış, 33’ünde (%64,7) ekspresyon artışı görülmüştür. Kanser sayısı 2’ye eşit ve fazla olan 96 hastadan 39’unda (%40,6) ekspresyon seviyesi azalmıştır, 57’sinde (%59,4) ise arttığı tespit edilmiştir.

EKSPRESYON DURUMU	AZALMIŞ	ARTMIŞ	TOPLAM
Ailede Yumurtalık Ve Meme Kanserli Vaka Sayısı			
<2	35 (%23,8)	59 (%40,1)	94 (%63,9)
=>2	22 (%15)	31 (%21,1)	53 (%36,1)
Toplam	57 (%38,8)	90 (%61,2)	147 (%100)
Ailede Yumurtalık Ve Meme Kanserli Dışında Toplam Kanser Vaka Sayısı			
<2	18 (%12,3)	33 (%22,4)	51 (%34,7)
=>2	39 (%26,5)	57 (%38,8)	96 (%65,3)
Toplam	57 (%38,8)	90 (%61,2)	147 (%100)

Tablo 4-7 : miR-27a-3p Ekspresyon Düzeylerinin Hastaların Aile Hikayeleri İle Karşılaştırılması

4.3. miR-27a-3p Ekspresyon Düzeyinin Yumurtalık Kanserli Hastaların Hamilelik ve İnfertilite Durumuna Göre Değerlendirilmesi

miR-27a-3p ekspresyon düzeyi, daha önce hamilelik geçiren 116 hastadan 46’sında (%39,7) azalmış, 70’inde (%60,3) ise artmıştır. Hamilelik geçirmeyen 31 hasta arasından 11’inde (%35,5) ekspresyon seviyesi azalmış, 20’sinde (%64,5) ekspresyon seviyesi artmıştır.

İnfertilite tedavisi alan 7 hastanın 3’ünde (%42,9) ekspresyon düzeyi azalmış, 4’ünde (%57,1) artmıştır. Tedavi olmayan 140 hastanın ise 54’ünde (%38,6) ekspresyon seviyesi azalmış, 86’sında (%61,4) ekspresyon seviyesi artmıştır.

EKSPRESYON DURUMU	AZALMIŞ	ARTMIŞ	TOPLAM
Hamilelik Durumu			
Yok	11 (%7,5)	20 (%13,6)	31 (%21,1)
Var	46 (%31,3)	70 (%47,6)	116 (%78,9)
Toplam	57 (%38,8)	90 (%61,2)	147 (%100)
İnfertilite Tedavisi			

Yok	54 (%36,7)	86 (%58,5)	140 (%95,2)
Var	3(% 2,1)	4 (%2,7)	7 (%4,8)
Toplam	57 (%38,8)	90 (%61,2)	147 (%100)

Tablo 4-8: miR-27a-3p Ekspresyon Düzeylerinin Hastaların Hamilelik Durumu Ve Infertilite Tedavi Uygulaması Durumu İle Karşılaştırılması

4.4. miR-27a-3p Ekspresyon Düzeylerinin Menopoz Durumu ve OKS (Oral Kontraseptif) Kullanımına Göre Değerlendirilmesi

Yumurtalık kanseri tanısını premenopozal dönemde alan 68 hastadan 25'inde (%36,8) miR-27a-3p ekspresyon seviyesi azalmış, 43'ünde (%63,2) ekspresyon seviyesi artmıştır. Postmenopozal dönemde tanı alan 79 hastadan 32'sinde (%40,5) miRNA ekspresyon seviyesi azalmış, 47 (%59,5) hastada ekspresyon seviyesi arttığı tespit edilmiştir.

Oral kontraseptif kullanan 45 hastadan 18'inde (%40) miR-27a-3p ekspresyon seviyesi azalmıştır, 27 (%60) hastada ekspresyon seviyesi artmıştır. Oral kontraseptif kullanmayan 102 hastadan 39'unda (%38,2) ekspresyon seviyesi azalmıştır, 63'ünde (%61,8) ise artmıştır.

EKSPRESYON DURUMU	AZALMIŞ	ARTMIŞ	TOPLAM
Menopoz Durumu			
Pre-menopoze	25 (%17)	43 (%29,2)	68 (%46,3)
Post-menopoze	32 (%21,8)	47 (%32)	79 (%53,7)
Toplam	57 (%38,8)	90 (%61,2)	147 (%100)
OKS Kullanımı			
Yok	39 (%26,6)	63 (%42,8)	102 (%69,4)
Var	18 (%12,2)	27 (%18,4)	45 (%30,6)
Toplam	57 (%38,8)	90 (%61,2)	147 (%100)

OKS: Oral Kontraseptif

Tablo 4-9: miR-27a-3p Ekspresyon Düzeylerinin Hastaların Menopoz Durumu Ve OKS Kullanımı İle Karşılaştırılması

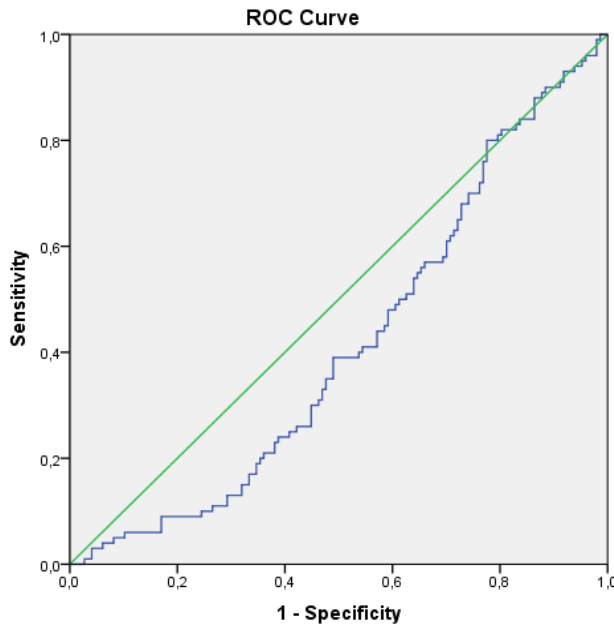
4.5. ROC Analizi

İncelediğimiz miR-27a-3p molekülünün aday biyobelirteç olarak tanısallı performansını diğer bir deyişle over kanserli hasta ve sağlıklı kontrol grubunu ayırt edebilme gücünü gösterebilmek amacı ile Receiver Operator Characteristics (ROC) analizi gerçekleştirildi.

Tablo 4-10 ve **Şekil 4-1**'de verilen miR-27a-3p için belirlenen ROC-AUC değerleri ve %95 CI (Güven Aralığı) sonuçları yer almaktadır. Bu sonuçlara göre yumurtalık kanseri hastaların tanısında miR-27a-3p miRNA değişkenlerinin tanısallı gücü istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.005$).

<i>miRNA</i>	<i>ROC-AUC</i>	<i>%95 CI</i>	<i>p değeri</i>
miR-27a-3p	0,413	0,342 - 0,484	0.021

Tablo 4-10: Yumurtalık Kanseri Hasta Ve Sağlıklı Grubun Ayrılmasında miR-27a-3p'nin ROC-AUC Değerleri



Şekil 4-1: Yumurtalık Kanserli Hasta Ve Sağlıklı Grubun Ayrılmasında miR-27a-3p'nin Etkinliğini Gösteren ROC Eğrisi

4.6. Sağkalım Analizi

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

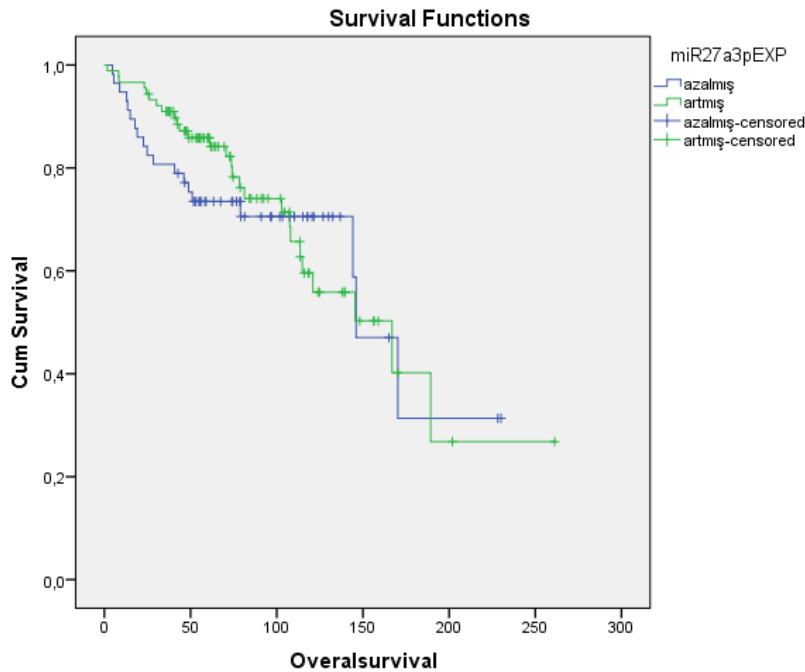
Araştırdığımız miR-27a-3p ifade düzeyinin sağkalım süresini etkileyen değişkenler olup olmadığını incelemek amacı ile Kaplan-Meier analizi gerçekleştirilmiştir. Gen ifade düzeyleri ile sağkalım süresi arasında bir korelasyon saptanmamıştır ($p>0.005$) (Tablo 4-11, Tablo 4-12 ve Şekil 4-2).

miR-27a-3p Ekspresyonu	İfade Düzeyi				Orta Değer			
	Tahmini Oran	Std. Hata	%95 Güven Aralığı		Tahmini Oran	Std. Hata	%95 Güven Aralığı	
			Alt Sınır	Üst Sınır			Alt Sınır	Üst Sınır
Azalmış	141,720	15,360	111,614	171,827	146,000	13,544	119,454	172,546
Artmış	153,399	14,913	124,169	182,630	166,967	33,540	101,229	232,705
Toplam	153,588	12,008	130,052	177,125	166,967	14,335	138,871	195,063

Tablo 4-11: Yumurtalık Kanseri Hastalarında miR-27a-3p Gen İfade Düzeyi ile Sağkalım Süresi Arasındaki Korelasyon

	Chi-Square	Df	p değeri
Log Rank (Mantel-Cox)	,122	1	,727
Breslow (Generalized Wilcoxon)	1,492	1	,222
Tarone-Ware	,731	1	,392

Tablo 4-12: Yumurtalık Kanseri Hastalarında miR-27a-3p Gen İfade Düzeyinin Sağkalım Süresine Bağlı Olarak “p” Değeri



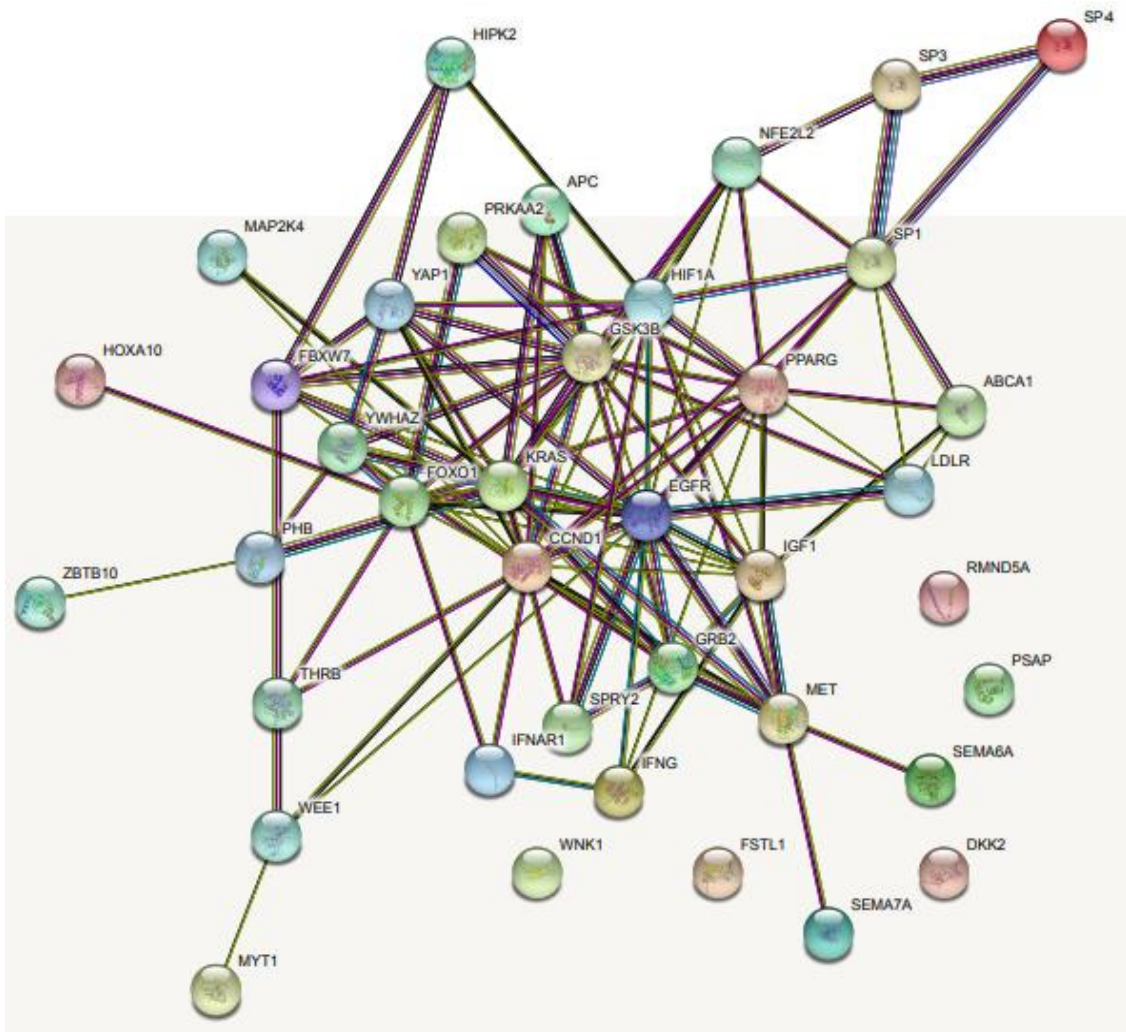
Şekil 4-2: Yumurtalık Kanseri Hastalarında miR-27a-3p Gen İfade Düzeyinin Sağ Kalım Süresi Arasındaki Korelasyon

4.7. STRING Analizi

miRTarBase ve TargetScan veri tabanı kullanarak güçlü kanıt sağlayan miR-27a-3p miRNA molekülü için hedef gen sayısının 39 olduğu belirlendi.

miR-27a-3p için miRTarBase ve TargetScan'den saptanan ortak gen hedeflerinin protein düzeyinde etkileşimleri STRING analizi ile belirlendi. miR-27a-3p için saptanan ortak gen hedeflerinin, STRING veritabanı kullanılarak yapılan protein düzeyinde etkileşim sonuçları anlamlı bulundu ($p=0.001$). Bu analize ilişkin sonuçlar Şekil 4-3'te gösterilmiştir.

miR-27a-3p'nin hedef genleri arasında genlerin *FOXO1*, *PHB*, *SP1*, *ZBTB10*, *YWHAZ*, *HOXA10*, *PSAP*, *IFNG*, *GRB2*, *SEMA7A*, *HIF1A*, *ABCA1*, *NFE2L2*, *EGFR*, *MAP2K4*, *PPARG*, *KRAS* ve *WNK1* genleri olduğu görüldü.





Şekil 4-3: Mir-27a-3p'nin Gen/Protein Etkileşimini Gösteren String Analizi Sonuçları

5. TARTIŞMA

Yumurtalık kanseri, 2018'de yayınlanan GLOBOCAN verilerine göre, dünyada kadınlarda ölümcül kanserler arasında 6. sırada yer almaktadır. Yine GLOBOCAN 2018 verilerine göre 295.414 yeni yumurtalık kanseri vakası rapor edilmiştir. Bu vakaların 184.799'unun yumurtalık kanseri nedeniyle öldüğü bildirilmiştir. Kadınların çoğunda yumurtalık kanseri tanısı, erken evrede asemptomatik olması ve yeterli erken teşhis tarama yöntemlerinin bulunmaması sebebi ile ileri evrede koyulmaktadır. İleri yumurtalık kanseri olan hastaların çoğunun tedavisi için mevcut standart tedavi, sitoredüktif cerrahi ve platin bazlı kemoterapi şeklinde uygulanmaktadır [62]. Başlangıç kemoterapi alan birçok hasta için yüksek yanıt oranlarına rağmen, ilerlemiş yumurtalık kanseri olan hastaların çoğunda sonuçta kemoterapiye dirençli tekrarlayan hastalık gelişmektedir [63]. Bu nedenle, kişiye özgü tedavi ve nüks geliştirme oranı yüksek olan hastaların, gerek ön tanıları gerekse tedavi planı ve takibinde kullanılabilecek nitelikte hastalığa spesifik bir biyolojik belirtece ihtiyaç duyulmaktadır.

Günümüzde kanserin erken teşhisinde kullanılan görüntüleme teknikleri olmasına rağmen bu yöntemlerin hassasiyeti ve spesifikliklerinin yeterli olmayışı nedeniyle gerçek tanı invazif bir yöntem olan biyopsi ile konmaktadır. Bu nedenle hala kanseri erken evrede teşhis edebilen biyobelirteçlere gereksinim duyulmaktadır. Yumurtalık kanserinde CA-125 ve CA-19-9 biyobelirteçleri klinik takipte kullanılmakla beraber bu belirteçlerin iyi huylu yumurtalık tümörlerinde ve diğer bazı jinekolojik hastalıklarda da arttığı bu nedenle çok spesifik olmadığı, ayrıca söz konusu belirteçlerin erken dönemdeki gelişmeleri göstermediği bilinmektedir. Her bir kansere özgü ve hassas bir biyobelirtecin olmayışı kanserin erken tanısını ve tedavi takibini zorlaştırmaktadır. Bu nedenle hücrese seviyede yumurtalık kanserinin teşhisinin yapılmasında ve tedavisinin takibinde daha güvenilir ve özgün biyobelirteçlere gereksinim duyulmaktadır.

Sunulan tez çalışmasında, daha önce grubumuz tarafından yüksek riskli yumurtalık kanserli ailelerde yapılan miRNA çalışmasından elde edilen bulgular sonucunda, ailesel ve sporadik yumurtalık kanseri hastaları açısından önemli olduğu saptanan miRNA'lar arasından seçilmiş, miR-27a-3p adlı miRNA'nın ekspresyon seviyeleri incelenmiştir (Tuncer SB, Erdogan OS, Erciyas SK, et al. 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. *J Ovarian Res.* 2020;13(1):99. Published 2020 Aug 27. doi:10.1186/s13048-020-00706-8.) Söz konusu tez çalışması yumurtalık kanserili hastaların periferik kanında yapılan ve sonuçların sağlıklı kontroller ile karşılaştırıldığı literatürdeki ilk çalışmadır.

Çalışmada toplamda 147 over kanserli hasta ve 100 sağlıklı kontrole ait periferik kan lenfositlerinde miR-27a-3p'in ekspresyon düzeyi incelenmiş ve gruplar arasında karşılaştırılmıştır. miR-27a-3p ekspresyon düzeyinin hastalarda sağlıklı kontrollere göre anlamlı derecede artmış gösterdiği saptanmıştır ($p=0,000$). Hasta grubundaki bu artmış miR-27a-3p ekspresyon düzeyinin 1,95 kat olduğu görülmüştür. miR-27a-3p ekspresyon düzeyinin hasta ve sağlıklı kontrol grubunda kat olarak ve istatistiksel olarak farklılık göstermesi nedeniyle söz konusu molekülün yumurtalık kanseri için bir biyomarker olarak kullanılıp kullanılmayacağı ROC analizi ile araştırılmış ve bu analiz sonuçları ile miR-27a-3p'nin yumurtalık kanseri için biyomarker olabileceği saptanmıştır.

Literatürde miR-27a-3p'nin araştırıldığı kısıtlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalardan birinde yumurtalık kanseri hücre soyları HO8910 ve OV90 kullanılmış ve miR-27a'nın ekspresyon düzeyinin yumurtalık kanseri hücre soylarında anlamlı derecede yüksek olduğu bildirilmiştir. Yapılan bu çalışmada, miR-27a aşırı ifadesinin HO8910 ve OV90 hücre soylarında hücrelerin göçünü ve invazyonunu güçlendirdiğini, miR-27a'nın inhibisyonunun ise, hücrelerin göçünü ve invazyonunu baskıladığı gösterilmiştir. Hücre soyları ile yapılan bu çalışmada yumurtalık kanserli hastaların tümör dokusunda miR-27a-3p ekspresyonunun tanısallık bir belirteç olabileceği vurgusu yapılmıştır [64].

Bir başka çalışmada ise sadece sekiz yumurtalık kanser hastasına ait tümör dokusu ve bu hastaların tümör dokularına komşu sekiz normal dokuda miR-27a'nın ekspresyon düzeyi araştırılmıştır (Lihui Si ve arkadaşları literatürünü ekle). miR-27a'nın yumurtalık kanseri tümör dokularında bitişik normal komşu dokulara göre 5 kat daha fazla eksprese edildiği gösterilmiştir. Aynı çalışmada miR-27a ekspresyonu DoTc24510, SV40, GH329, UACC-3247 adlı dört normal ve Caov-4, SK-OV-3, OVCAR-3, UWB1.289 adlı dört yumurtalık kanseri hücre soyu olmak üzere toplam 8 yumurtalık hücre hattında da incelenmiş ve miR-27a ekspresyonunun, tümör hücre hatlarında normal hücre hatlarına göre 3.2-4.5 kat aşırı eksprese edildiği saptanmıştır. Aynı çalışmada miR-27a süpresyonunun yumurtalık kanserinin büyümesini, kemosenesitivitesini ve invazyonunu inhibe ettiği ve yumurtalık

kanseri yönetiminde faydalı olabileceği gösterilmiştir [65]. Bir diğer çalışmada yumurtalık kanserinin tümör dokusunda miR-27a ekspresyonunun, normal yumurtalık dokularına göre daha yüksek olduğu bulunmuştur. Çalışmanın devamında yumurtalık kanseri hücre hattı olan SKOV3 hücrelerinde, miR-27a inhibitörü ile transfeksiyonu tümör hücrelerinin büyümesini ve invazyonunu bastırmıştır [66] HCC (Hepatoselüler Karsinoma) hücre hatlarında yapılan bir başka çalışmada ise miR-27a-3p'nin DUSP16'nın (DUSP16; mitojenle aktive edilen protein kinaz fosfataz 7 olarak da bilinir) ile etkileşimi gösterilmiştir. MiR-27a-3p'nin bir tümör baskılayıcı fonksiyonu göstererek aşağı doğru düzenlendiği ve HCC tümör oluşumunda rol oynadığı bulunmuştur. Buna göre miR-27a-3p-DUSP16 etkileşimin HCC için yeni bir tedavi stratejisi olarak kullanılabileceği vurgulanmıştır [67]. Yapılan bir diğer benzer çalışmada normal insan bronşiyal epitelyal BEAS-2B hücreleri ile NSCLC (A549 ve NCI-H1299) kanseri hücre hattı arasında kıyaslama yapılmıştır. Karşılaştırmanın sonucunda miRNA-27a-3p'nin küçük hücreli olmayan akciğer kanserinde (NSCLC) aşağı doğru düzenlendiği bulunmuştur [68]. Kolorektal kanser (CRC) hücre hatlarında miR-27a-3p'nin Wnt/ β -katenin sinyal yolu ile ilişkisinin araştırıldığı bir başka çalışmada miR-27a-3p ekspresyonunun CRC hücre hatlarında ve kanser hastalarına ait tümör dokularında yüksek düzeyde eksprese edildiği ve bu ekspresyon düzeyinin histolojik farklılaşma, klinik evre, uzak metastaz ve CRC hastalarının sağkalımı ile yakından ilişkili olduğu gösterilmiştir [69].

Meme kanseri hücre hatlarında yapılan miR-27a-3p ekspresyon düzeyinin araştırıldığı çalışmada miR-27a-3p'nin aşırı eksprese edildiği ve Endoplazmik Retikulum (ER) stresinin, meme kanseri hücrelerinden miR-27a-3p yüklü ekzozomların salgılanmasını indüklediği bulunmuştur. Eksozomal miR-27a-3p'nin artışı, makrofajlarda PD-L1'in aşırı düzeyde salgılanmasına neden olduğu saptanmıştır. PD-L1'deki bu artışın PTEN/AKT/PI3K yolağını aktive ederek meme kanseri gelişmesine sebep olduğu gösterilmiştir. miR-27a-3p ve PTEN/AKT/PI3K yolağı arasında saptanan bu ilişkinin gelecekte meme kanseri tedavisi için yeni bir terapötik hedef olabileceği vurgulanmaktadır [70]. miR-27a-3p ekspresyonu ile ilişkili olarak serviks kanseri hücre hatlarında yapılan çalışmada miR-27a-3p'nin aşırı eksprese edildiği gösterilmiştir. Aynı çalışmada miR-27a-3p'nin baskılandığı durumda ekspresyonunun azaldığı ve servikal kanser hücrelerinin proliferasyonu ve koloni oluşturma yeteneklerinin inhibe olduğu, apoptozun aktive olduğu bildirilmiştir [71]. miR-27a-3p molekülünü farklı kanser hücre soylarında ve kanser dokularında araştıran çalışmalardan miR-27a-3p ekspresyonunun çeşitli kanserlerde farklılık gösterdiği anlaşılmaktadır.

Bizim çalışmamızda ise yumurtalık kanserli hastaların periferik kan lenfositlerinde miR-27a-3p ekspresyon düzeyinin sağlıklı kontrollere göre yüksek olduğu, yumurtalık kanserli vakaların periferik kanından da dokuya ait özelliklerin takip edilebileceği ve ROC analizine göre miR-27a-3p ekspresyon düzeyinin sağlıklı ile hastalıklı kişileri ayırma gücü olduğu yönünde sonuçlar elde edilmiştir.

Çalışmamızın zayıf yönü, miR-27a-3p ekspresyon düzeyinin hastalara ait tümör dokusunda ve yumurtalık dokusunun diğer tüm benign hastalıklarında incelenmemiş olmasıdır. Gelecekte bu grup hastaların incelenmesi miR-27a-3p ‘nin yumurtalık dokusunun benign hastalıklarının ayırımı konusundaki düzeyini ve yumurtalık kanseri vakalarını tam ayırt etmedeki gücünü daha da belirginleştirmiş olacaktır.

Sunulan tez çalışması yüksek sayıda yumurtalık kanseri hastası içermesi, hasta sonuçlarının sağlıklı kontroller ile karşılaştırılmış olması ve periferik kan lenfositlerinin çalışılmış olması açısından özgün olmakla beraber sağlıklı ve hastaları ayırt etmede non- invaziv bir biyomarker olarak miR-27a-3p’nin kullanılabileceğini gösteren ilk çalışmadır.

KAYNAKLAR

1. Bray, F., et al., *Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries*. CA: a cancer journal for clinicians, 2018. **68**(6): p. 394-424.
2. Yazici, H., *Functions of miRNAs in the Development, Diagnosis, and Treatment of Ovarian Carcinoma*, in *Current Trends in Cancer Management*. 2019, IntechOpen.
3. Słodkowska, J., et al., *Functional assessment of synoptic pathology reporting for ovarian cancer*. Pathobiology, 2016. **83**(2-3): p. 70-78.
4. Rojas, V., et al., *Molecular characterization of epithelial ovarian cancer: implications for diagnosis and treatment*. International journal of molecular sciences, 2016. **17**(12): p. 2113.
5. Khan, S., et al., *MicroRNA biogenesis, gene silencing mechanisms and role in breast, ovarian and prostate cancer*. Biochimie, 2019.
6. Chen, S.-N., et al., *MicroRNA in Ovarian Cancer: Biology, Pathogenesis, and Therapeutic Opportunities*. International journal of environmental research and public health, 2019. **16**(9): p. 1510.
7. Armand-Labit, V. and A. Pradines, *Circulating cell-free microRNAs as clinical cancer biomarkers*. Biomolecular concepts, 2017. **8**(2): p. 61-81.
8. Li, H., et al., *Tissue miR-193b as a novel biomarker for patients with ovarian cancer*. Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research, 2015. **21**: p. 3929.
9. <https://docplayer.biz.tr/5104503-Ureme-sistemi-fizyolojisi-doc-dr-mitat-koz.html>.
10. http://www.megep.meb.gov.tr/mte_program_modul/moduller_pdf/%C3%9Creme%20Sistemi.pdf.
11. http://drmehmetinan.net/download/fizyoloji_ders_notlar%C4%B1/%C3%9Creme%20Sistemi%20Fizyolojisi.pdf.
12. <https://docplayer.biz.tr/34272489-Kadin-genital-organlarinin-anatomisi.html>.
13. <https://www.wikihow.com.tr/Testosteron-Seviyesi-Nas%C4%B1l-D%C3%BCr%C5%9F%C3%BCr%C3%BCl%C3%BCr>.
14. <https://www.drugs.com/health-guide/polycystic-ovary-syndrome.html>.
15. Ferlay, J., et al., *Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018: GLOBOCAN sources and methods*. International journal of cancer, 2019. **144**(8): p. 1941-1953.
16. Yeung, T.-L., et al., *Cellular and molecular processes in ovarian cancer metastasis. A review in the theme: cell and molecular processes in cancer metastasis*. American Journal of Physiology-Cell Physiology, 2015. **309**(7): p. C444-C456.
17. Testa, U., et al., *Ovarian cancers: genetic abnormalities, tumor heterogeneity and progression, clonal evolution and cancer stem cells*. Medicines, 2018. **5**(1): p. 16.
18. La Vecchia, C., *Ovarian cancer: epidemiology and risk factors*. European journal of cancer prevention, 2017. **26**(1): p. 55-62.
19. Webb, P.M. and S.J. Jordan, *Epidemiology of epithelial ovarian cancer*. Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology, 2017. **41**: p. 3-14.
20. Peres, L.C., et al., *Histotype classification of ovarian carcinoma: a comparison of approaches*. Gynecologic oncology, 2018. **151**(1): p. 53-60.
21. Kroeger Jr, P.T. and R. Drapkin, *Pathogenesis and heterogeneity of ovarian cancer*. Current opinion in obstetrics & gynecology, 2017. **29**(1): p. 26.

22. Leandersson, P., et al., *A biomarker panel increases the diagnostic performance for epithelial ovarian cancer type I and II in young women*. Anticancer research, 2016. **36**(3): p. 957-965.
23. Kurman, R.J., *Origin and molecular pathogenesis of ovarian high-grade serous carcinoma*. Annals of Oncology, 2013. **24**(suppl_10): p. x16-x21.
24. Matz, M., et al., *The histology of ovarian cancer: worldwide distribution and implications for international survival comparisons (CONCORD-2)*. Gynecologic oncology, 2017. **144**(2): p. 405-413.
25. Mackenzie, R., et al., *Morphological and molecular characteristics of mixed epithelial ovarian cancers*. The American journal of surgical pathology, 2015. **39**(11): p. 1548.
26. Yang, W.-L., Z. Lu, and R.C. Bast Jr, *The role of biomarkers in the management of epithelial ovarian cancer*. Expert review of molecular diagnostics, 2017. **17**(6): p. 577-591.
27. Gorodnova, T.V., et al., *Principles of clinical management of ovarian cancer*. Chin Clin Oncol, 2018. **7**(6): p. 56.
28. Ramalingam, P., *Morphologic, immunophenotypic, and molecular features of epithelial ovarian cancer*. Oncology, 2016. **30**(2).
29. Kurman, R.J. and I.-M. Shih, *The dualistic model of ovarian carcinogenesis: revisited, revised, and expanded*. The American journal of pathology, 2016. **186**(4): p. 733-747.
30. Mackenzie, R., et al., *Targeted deep sequencing of mucinous ovarian tumors reveals multiple overlapping RAS-pathway activating mutations in borderline and cancerous neoplasms*. BMC cancer, 2015. **15**(1): p. 415.
31. Kossai, M., et al., *Ovarian cancer: a heterogeneous disease*. Pathobiology, 2018. **85**(1-2): p. 41-49.
32. Kurman, R.J. and I.-M. Shih, *Molecular pathogenesis and extraovarian origin of epithelial ovarian cancer—shifting the paradigm*. Human pathology, 2011. **42**(7): p. 918-931.
33. Prat, J. and F.C.o.G. Oncology, *Staging classification for cancer of the ovary, fallopian tube, and peritoneum*. International Journal of Gynecology & Obstetrics, 2014. **124**(1): p. 1-5.
34. Meinhold-Heerlein, I., et al., *The new WHO classification of ovarian, fallopian tube, and primary peritoneal cancer and its clinical implications*. Archives of gynecology and obstetrics, 2016. **293**(4): p. 695-700.
35. Riman, T., S. Nilsson, and I.R. Persson, *Review of epidemiological evidence for reproductive and hormonal factors in relation to the risk of epithelial ovarian malignancies*. Acta obstetrica et gynecologica Scandinavica, 2004. **83**(9): p. 783-795.
36. Rebbeck, T.R., et al., *Association of type and location of BRCA1 and BRCA2 mutations with risk of breast and ovarian cancer*. Jama, 2015. **313**(13): p. 1347-1361.
37. Friebel, T.M., S.M. Domchek, and T.R. Rebbeck, *Modifiers of cancer risk in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: a systematic review and meta-analysis*. Journal of the National Cancer Institute, 2014. **106**(6): p. dju091.
38. Doubeni, C.A., A.R. Doubeni, and A.E. Myers, *Diagnosis and management of ovarian cancer*. American family physician, 2016. **93**(11): p. 937-944.
39. Milne, R.L., et al., *Parity and the risk of breast and ovarian cancer in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers*. Breast cancer research and treatment, 2010. **119**(1): p. 221-232.
40. Hayes, J., P.P. Peruzzi, and S. Lawler, *MicroRNAs in cancer: biomarkers, functions and therapy*. Trends in molecular medicine, 2014. **20**(8): p. 460-469.
41. Vishnoi, A. and S. Rani, *MiRNA biogenesis and regulation of diseases: an overview*, in *MicroRNA Profiling*. 2017, Springer. p. 1-10.

42. Rupaimoole, R. and F.J. Slack, *MicroRNA therapeutics: towards a new era for the management of cancer and other diseases*. Nature reviews Drug discovery, 2017. **16**(3): p. 203.
43. Oom, A.L., B.A. Humphries, and C. Yang, *MicroRNAs: novel players in cancer diagnosis and therapies*. BioMed research international, 2014. **2014**.
44. Hamam, R., et al., *Circulating microRNAs in breast cancer: novel diagnostic and prognostic biomarkers*. Cell death & disease, 2017. **8**(9): p. e3045-e3045.
45. Lages, E., et al., *MicroRNAs: molecular features and role in cancer*. Frontiers in bioscience, 2012. **17**: p. 2508.
46. Ha, M. and V.N. Kim, *Regulation of microRNA biogenesis*. Nature reviews Molecular cell biology, 2014. **15**(8): p. 509-524.
47. Deb, B., A. Uddin, and S. Chakraborty, *miRNAs and ovarian cancer: An overview*. Journal of cellular physiology, 2018. **233**(5): p. 3846-3854.
48. Catalanotto, C., C. Cogoni, and G. Zardo, *MicroRNA in control of gene expression: an overview of nuclear functions*. International journal of molecular sciences, 2016. **17**(10): p. 1712.
49. Vimalraj, S., et al., *Regulation of breast cancer and bone metastasis by microRNAs*. Disease markers, 2013. **35**.
50. Iorio, M.V., et al., *MicroRNA signatures in human ovarian cancer*. Cancer research, 2007. **67**(18): p. 8699-8707.
51. Khan, S., et al., *MicroRNA biogenesis, gene silencing mechanisms and role in breast, ovarian and prostate cancer*. Biochimie, 2019. **167**: p. 12-24.
52. Shah, M.Y. and G.A. Calin, *MicroRNAs as therapeutic targets in human cancers*. Wiley Interdisciplinary Reviews: RNA, 2014. **5**(4): p. 537-548.
53. Skog, J., et al., *Glioblastoma microvesicles transport RNA and proteins that promote tumour growth and provide diagnostic biomarkers*. Nature cell biology, 2008. **10**(12): p. 1470-1476.
54. Pigati, L., et al., *Selective release of microRNA species from normal and malignant mammary epithelial cells*. PloS one, 2010. **5**(10): p. e13515.
55. Lan, H., et al., *MicroRNAs as potential biomarkers in cancer: opportunities and challenges*. BioMed research international, 2015. **2015**.
56. Zhou, L., et al., *MIR-27a-3p functions as an oncogene in gastric cancer by targeting BTG2*. Oncotarget, 2016. **7**(32): p. 51943.
57. Urbich, C., et al., *MicroRNA-27a/b controls endothelial cell repulsion and angiogenesis by targeting semaphorin 6A*. Blood, The Journal of the American Society of Hematology, 2012. **119**(6): p. 1607-1616.
58. Wan, X., et al., *Androgen-induced miR-27A acted as a tumor suppressor by targeting MAP2K4 and mediated prostate cancer progression*. The international journal of biochemistry & cell biology, 2016. **79**: p. 249-260.
59. Wang, Z., et al., *Integrated microarray meta-analysis identifies miRNA-27a as an oncogene in ovarian cancer by inhibiting FOXO1*. Life sciences, 2018. **210**: p. 263-270.
60. Cui, Z., G. Liu, and D. Kong, *miRNA-27a promotes the proliferation and inhibits apoptosis of human pancreatic cancer cells by Wnt/ β -catenin pathway*. Oncology reports, 2018. **39**(2): p. 755-763.
61. Swellam, M., et al., *Serum MiRNA-27a as potential diagnostic nucleic marker for breast cancer*. Archives of Physiology and Biochemistry, 2019: p. 1-7.
62. Lheureux, S., M. Braunstein, and A.M. Oza, *Epithelial ovarian cancer: evolution of management in the era of precision medicine*. CA: a cancer journal for clinicians, 2019. **69**(4): p. 280-304.

63. Morgan, R.J., et al., *Ovarian cancer, version 1.2016, NCCN clinical practice guidelines in oncology*. Journal of the National Comprehensive Cancer Network, 2016. **14**(9): p. 1134-1163.
64. Zhang, L.-Y., et al., *MiR-27a promotes EMT in ovarian cancer through active Wnt/*. Cancer Biomarkers, 2019. **24**(1): p. 31-42.
65. Si, L., et al., *MicroRNA-27a regulates the proliferation, chemosensitivity and invasion of human ovarian cancer cell lines by targeting Cullin 5*. Archives of biochemistry and biophysics, 2019. **668**: p. 9-15.
66. Xu, L., et al., *Oncogenic MicroRNA-27a is a target for genistein in ovarian cancer cells*. Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents), 2013. **13**(7): p. 1126-1132.
67. Li, J.M., et al., *MicroRNA-27a-3p inhibits cell viability and migration through down-regulating DUSP16 in hepatocellular carcinoma*. Journal of cellular biochemistry, 2018. **119**(7): p. 5143-5152.
68. Yan, X., et al., *miR-27a-3p Functions as a tumor suppressor and regulates non-small cell lung cancer cell proliferation via targeting HOXB8*. Technology in cancer research & treatment, 2019. **18**: p. 1533033819861971.
69. Liang, J., et al., *miR-27a-3p targeting RXRa promotes colorectal cancer progression by activating Wnt/ β -catenin pathway*. Oncotarget, 2017. **8**(47): p. 82991.
70. Yao, X., et al., *Endoplasmic reticulum stress-induced exosomal miR-27a-3p promotes immune escape in breast cancer via regulating PD-L1 expression in macrophages*. J Cell Mol Med, 2020.
71. Ben, W., et al., *MiR-27a-3p Regulated the Aggressive Phenotypes of Cervical Cancer by Targeting FBXW7*. Cancer Management and Research, 2020. **12**: p. 2925.

HAM VERİLER

FORMLAR

ETİK KURUL KARARI

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



**Sayı : 907
Konu: Prof. Dr. Hülya YAZICI hk.**

Tarih : 05.08.2019

**Sayın Prof. Dr. Hülya YAZICI
Onkoloji Enstitüsü**

İlg: Onkoloji Enstitüsünün 22/03/2019 gün ve 60943 sayılı yazısı

Sorumlu araştırmacılığını üstlendiğiniz ve Gamze UYAROĞLU' nun yürüteceği 2019/813 dosya numaralı "Yüksek Riskli Over Kanseri Hastalarında miR 27a-3p Düzeyinin Araştırılması" başlıklı çalışma kurulumuzun 28/06/2019 tarih ve 12 sayılı toplantısında görüşülerek etik yönden uygun bulunmuş olup, tutanaklar ekte sunulmuştur.

Bilgilerinizi rica ederim.


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

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU KARAR FORMU

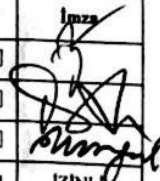
ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU
	AÇIK ADRESİ:	İ.Ü.İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ HULUSİ BEHÇET KÜTÜPHANESİ KAT:3 FATİH/İSTANBUL
	TELEFON	0 (212) 414 21 53
	FAKS	0 (212) 414 21 53
	E-POSTA	itfetikkurul@istanbul.edu.tr.

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	"Yüksek Riskli Over Kanseri Hastalarında miR 27a-3p Düzeyinin Araştırılması"			
	ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	---			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof. Dr. Hülya YAZICI			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Temel Onkoloji Anabilim Dalı Kanseri Genetiği Bilim Dalı			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	İstanbul Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü Temel Onkoloji Anabilim Dalı Kanseri Genetiği Bilim Dalı			
	DESTEKLEYİCİ	İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	---			
	ARAŞTIRMANIN FAZİ	FAZ 1	☐		
		FAZ 2	☐		
		FAZ 3	☐		
		FAZ 4	☐		
	ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	Yeni Bir Endikasyon	☐		
		Yüksek Doz Araştırması	☐		
		Diğer ise belirtiniz :			
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☒	ÇOK MERKEZLİ ☐	ULUSAL ☒	ULUSLAR ARASI ☐

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI "Yüksek Riskli Over Kanseri Hastalarında miR 27a-3p Düzeyinin Araştırılması"

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili	
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	10.04.2019		Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐	
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	☒		Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐	
	OLGU RAPOR FORMU	☐		Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐	
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ	☐		Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐	
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama			
	TÜRKÇE ETİKET ÖRNEĞİ	☐			
	SİGORTA	☐			
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☒			
	BİYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	☐			
	HASTA KARTI/GÖNÜLLÜKLERİ	☐			
	İLAN	☐			
	YILLIK BİLDİRİM	☐			
	SONUÇ RAPORU	☐			
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	☐			
	DİĞER:	☒	Anabilim Dalı Başkanlığından Üst Yazı ve Akademik Kurul Kararı, Literatür Kaynağı, Sorumluluk Paylaşım Belgesi, İlgili Elemanların Bilgilendirildiğine Dair Belge, CV, CD		
KARAR BİLGİLERİ	Karar No:12	Tarih: 28/06/2019			
	İstanbul Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü Temel Onkoloji Anabilim Dalı Kanser Genetiği Bilim Dalında görevli Prof. Dr. Hülya YAZICI' nın sorumluluğunda ve Gamze UYAROĞLU' nun yürüteceği yukarıda bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplanmış katılan Etik Kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.				

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU									
ÇALIŞMA ESASI		19.08.2011 tarihli, 28030 sayılı Resmi Gazetede yayımlanan Klinik Araştırmalar Hakkındaki Yönetmelik							
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:		Prof. Dr. A. Yağız ÜRESİN							
Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile İlişki *		Katılım **	İmza	
Prof. Dr. A. Yağız ÜRESİN	Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji	İstanbul Tıp Fakültesi (Etik Kurul Başkanı)	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	 İZİNLI
Prof. Dr. Berrin UMMAN	Kardiyoloji	İstanbul Tıp Fakültesi (Etik Kurul Başkan Yardımcısı)	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Ahmet GÜL	Romatoloji	İstanbul Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Oğuzhan ÇOBAN	Nöroloji	İstanbul Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☒	
Dr. Sevdâ ÖZEL YILDIZ	Biyoistatistik	İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	

* :Araştırma ile İlişki
 ** :Toplantıda Bulunma

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

CS CamScanner ile tarandı

PATENT HAKKI İZNİ

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

YÜKSEK RİSKLİ OVER KANSER HASTALARINDA MİR-27A-3P DÜZEYİNİN ARAŞTIRILMASI

ORIJINALLIK RAPORU

% 9	% 7	% 3	% 6
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	Submitted to Istanbul University Öğrenci Ödevi	% 1
2	res.mdpi.com İnternet Kaynağı	% 1
3	docplayer.biz.tr İnternet Kaynağı	% 1
4	www.nuveforum.net İnternet Kaynağı	% 1
5	Submitted to Haliç Üniversitesi Öğrenci Ödevi	<% 1
6	Submitted to TechKnowledge Turkey Öğrenci Ödevi	<% 1
7	www.scribd.com İnternet Kaynağı	<% 1
8	www.msxlabs.org İnternet Kaynağı	<% 1

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Gamze	Soyadı	Uyaroglu
Doğ.Yeri	Nazilli/ AYDIN	Doğ.Tar.	02.11.1994
Email	gamze.uyaroglu@gmail.com	Uyruğu	Türkiye Cumhuriyeti

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora		
Yük.Lis.	İstanbul Üniversitesi	2020
Lisans	Yıldız Teknik Üniversitesi	2017
Lise	Nazilli Anadolu Öğretmen Lisesi	2013

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

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

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	Çok İyi	İyi	Çok İyi		

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı			
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi

Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

Özel İlgi Alanları (Hobileri):

