

EYLÜL 2023

Doktora Tezi-Biyoloji

RUŞEN AVŞAR

TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KOLOREKTAL KANSERLİ DOKULARDA miRNA  
EKSPRESYON SEVİYELERİNİN BELİRLENMESİ

ENSTİTÜ ANABİLİM DALI ADI  
DOKTORA TEZİ

RUŞEN AVŞAR  
EYLÜL 2023

**KOLOREKTAL KANSERLİ DOKULARDA miRNA  
EKSPRESYON SEVİYELERİNİN BELİRLENMESİ**

**Gaziantep Üniversitesi**

**Biyoloji**

**Doktora Tezi**

**Danışman**

**Dr.Öğr.Üyesi Türkan GÜRER**

**İkinci Danışman**

**Dr.Öğr.Üyesi Alper AYTEKİN**

**Ruşen AVŞAR**

**Eylül 2023**



©2023[Gaziantep Üniversitesi]

**KOLOREKTAL KANSERLİ DOKULARDA miRNA EKSPRESYON  
SEVİYELERİNİN BELİRLENMESİ**

başlıklı bu çalışma, **Ruşen AVŞAR** tarafından hazırlanmış ve yapılan savunma sınavı sonucunda başarılı bulunarak jürimiz tarafından **Gaziantep Üniversitesi Biyoloji Bölümü'nde** Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Çiğdem AYKAÇ  
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

.....

Prof.Dr. Canan CAN  
Enstitü Anabilim Dalı Başkanı

.....

Dr. Öğr. Üyesi Türkan GÜRER  
Danışman

.....

Dr. Öğr. Üyesi Alper AYTEKİN  
İkinci Danışman  
Gaziantep Üniversitesi

.....

Sınav Tarihi: 14.09.2023

**Jüri Üyeleri:**

Prof.Dr. Filiz ÖZBAŞ GERÇEKER  
Gaziantep Üniversitesi

.....

Prof.Dr. Zafer ÇETİN  
Sanko Üniversitesi

.....

Doç.Dr. Remziye Aysun KEPEKÇİ  
Gaziantep Üniversitesi

.....

Dr. Öğr. Üyesi Deniz MIHÇIOĞLU  
Sanko Üniversitesi

.....

Dr. Öğr. Üyesi Türkan GÜRER  
Gaziantep Üniversitesi

.....

**İlgili tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilmek suretiyle tezde yer aldığını beyan ederim.**

**Ruşen AVŞAR**

## ABSTRACT

### DETERMINATION OF miRNA EXPRESSION LEVELS IN TISSUES WITH COLORECTAL CANCER

**AVSAR, Rusen**

**Ph.D. in Biology**

**Supervisor: Assist.Prof.Dr. Turkan GURER**

**Co-Supervisor: Assist.Prof.Dr. Alper AYTEKIN**

**September 2023**

**134 pages**

Colorectal cancer is among the most common cancer types in the world and is a heterogeneous disease with different molecular pathways that lead to different phenotypes. For this reason, many studies are carried out for the early diagnosis of the disease. MicroRNAs (miRNA) show tumor suppressor and oncogenic properties according to the molecular pathway of the target mRNA. In recent years, by determining the functions of miRNAs and their role in cancer development, it has supported both the understanding of the molecular pathology of cancers and the development of new treatment approaches for molecular targets. The aim of this thesis is to determine the expression levels of miR-639, miR-641, miR-1915-3p and miR-3613-3p in patients with colorectal cancer and the potential of these miRNAs in the diagnosis of the disease. For this purpose, tumor and healthy adjacent tissue samples were collected from 59 patients with colorectal cancer. Expression levels of miR-639, miR-641, miR-1915-3p and miR-3613-3p were determined by quantitative Real Time-PCR method. As a result of the study, the expression of miR-639 ( $p = 0.000$ ), miR-641 ( $p = 0.000$ ) and miR-3613-3p ( $p = 0.000$ ) was statistically significantly decreased in tumor tissues compared to normal tissues, it was determined that miR-1915-3p ( $p = 0.032$ ) increased significantly. However, a significant correlation was found between low expression of miR-639 and advanced stage of the disease ( $p < 0.05$ ). In conclusion, it is thought that miR-639, miR-641 and miR-3613-3p play a tumor suppressor role in the pathogenesis of colorectal cancer, while miR-1915-3p plays an oncogenic role and may be new biomarkers that can be used in the diagnosis.

**Key Words:** Colorectal cancer, miR-639, miR-641, miR-1915-3p, miR-3613-3p, tissue, tumor, expression.

## ÖZET

### KOLOREKTAL KANSERLİ DOKULARDA miRNA EKSPRESYON SEVİYELERİNİN BELİRLENMESİ

AVŞAR, Ruşen

Doktora Tezi, Biyoloji

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Türkan GÜRER

İkinci Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Alper AYTEKİN

Eylül 2023

134 sayfa

Kolorektal kanser dünyada en sık rastlanan kanser türleri arasında yer almakta olup farklı fenotiplere yol açan farklı moleküler yollara sahip heterojen bir hastalıktır. Bu nedenle hastalığın erken tanısına yönelik çok sayıda araştırma yapılmaktadır. MikroRNA'lar (miRNA), hedef mRNA'nın moleküler yolağındaki özelliğine göre, tümör baskılayıcı ve onkogenik özellik göstermektedir. Son yıllarda miRNA'ların işlevlerinin ve kanser gelişimindeki rollerinin belirlenmesiyle, hem kanserlerin moleküler patolojisinin anlaşılmasında hem de moleküler hedeflere yönelik yeni tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesinde destek olmuştur. Bu tezin amacı kolorektal kanserli hastalarda miR-639, miR-641, miR-1915-3p ve miR-3613-3p ekspresyon düzeylerinin ve bu miRNA'ların hastalığın tanısındaki potansiyellerinin belirlenmesidir. Bu amaç doğrultusunda kolorektal kanserli 59 hastadan tümörlü ve sağlıklı komşu doku örnekleri toplanmıştır. Kantitatif Real Time-PCR yöntemiyle miR-639, miR-641, miR-1915-3p ve miR-3613-3p ekspresyon seviyeleri belirlenmiştir. Çalışma sonucunda miR-639 ( $p = 0.000$ ), miR-641 ( $p = 0.000$ ) ve miR-3613-3p ( $p = 0.000$ )'nin ekspresyonunun tümörlü dokularda normal dokulara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaldığı, miR-1915-3p ( $p = 0.032$ )'nin ekspresyonunun ise anlamlı düzeyde arttığı tespit edilmiştir. Bununla beraber miR-639'un düşük ekspresyonu ile hastalığın ileri evresi arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Sonuç olarak miR-639, miR-641 ve miR-3613-3p'nin kolorektal kanser patogenezinde tümör baskılayıcı, miR-1915-3p'nin ise onkogenik rol oynadığını ve tanıda kullanılacak yeni biyomarkırlar olabileceği düşünülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Kolorektal kanser, miR-639, miR-641, miR-1915-3p, miR-3613-3p, doku, tümör, ekspresyon.



*"Cam m aileme"*

## TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın oluşmasında ve yürütülmesinde her zaman yanımda olan, her türlü desteği gösteren ve deneyimlerini benimle paylaşan değerli hocam ve tez danışmanım çok değerli hocam, Dr. Öğr. Üyesi Türkan GÜRER' e sonsuz minnet ve teşekkürlerimi sunarım.

Eğitim sürecimde deneyimleri ve bilgi birikimleri ile her türlü yardımlarını esirgemeyen değerli hocam, Dr. Öğr. Üyesi Alper AYTEKİN'e, doktora eğitimimde kendisinden ders almamın akademik yaşantımı zenginleştiren en önemli süreçlerden biri olduğunu düşündüğüm, tezimin her aşamasında önemli katkı ve destekleri olan değerli hocalarım, Prof. Dr. Filiz ÖZBAŞ GERÇEKER, Prof. Dr. Erdihan TUNÇ, Prof. Dr. Zafer ÇETİN, Doç. Dr. Remziye Aysun KEPEKÇİ ve Dr. Öğr. Üyesi Deniz MIHÇIOĞLU' na teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma için gerekli fon desteği sağlayan Gaziantep Üniversitesi BAP Yönetim Birimi'ne (FEF. ALT. 19. 28 no'lu proje ve FEF. DT. 19. 29 no'lu proje),

Çalışmalarımız sırasında her türlü imkanlarından faydalandığımız, Gaziantep Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'ne sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum...

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>i</b>
<b>ÖZET</b> .....	<b>ii</b>
<b>İTHAF</b> .....	<b>iii</b>
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	<b>iv</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>v</b>
<b>TABLolar LİSTESİ</b> .....	<b>viii</b>
<b>ŞEKİLLER LİSTESİ</b> .....	<b>ix</b>
<b>KISALTMALAR LİSTESİ</b> .....	<b>xii</b>
<b>BÖLÜM 1 GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
1.1. Kanser.....	2
1.1.1. Tanım .....	2
1.1.2. Tarihçe .....	3
1.1.2. Kanserin Moleküler Mekanizmaları .....	3
1.2. Kolorektal Kanser.....	6
1.2.1. Epidemiyoloji.....	8
1.2.2. Etiyoloji.....	11
1.3. Kolorektal Kanserin Moleküler Mekanizması .....	19
1.3.1. Adenom-Karsinom Ardışıklığı .....	19
1.3.2. Genomik ve Epigenomik İnstabilite ve Kromozomal Değişiklikler..	20
1.4. Kolorektal Kanserde Biyobelirteçler .....	23
1.4.1. Klasik Tümör Belirteçleri .....	24
1.4.2. Moleküler Biyobelirteçler .....	25
1.5. MikroRNA.....	27
1.5.1. Tanım ve Tarihçe .....	27

1.5.2. miRNA'ların Biyogenezi .....	27
1.5.3. miRNA'ların Fonksiyonu .....	29
1.5.4. miRNA'ların Hastalıklarla İlişkisi .....	30
1.5.5. miRNA'lar ve Kanser .....	31
1.6. Araştırmanın Amacı .....	35
<b>BÖLÜM 2 .....</b>	<b>37</b>
<b>LİTERATÜR ÖZETLERİ .....</b>	<b>37</b>
<b>BÖLÜM 3 .....</b>	<b>46</b>
<b>MATERYAL VE METOD.....</b>	<b>46</b>
3.1. Materyal.....	46
3.2. Metod.....	46
3.2.1. miRNA İzolasyonu .....	46
3.2.2. Revers Transkriptaz PCR.....	46
3.5. İstatistiksel Analiz .....	49
<b>BÖLÜM 4 .....</b>	<b>50</b>
<b>BULGULAR.....</b>	<b>50</b>
4.1. Kolorektal Kanser Hastalarının Özelliklerine İlişkin Bulgular .....	50
4.2. Tümörlü ve Komşu Sağlıklı Dokularda miR-639, miR-641, miR-1915-3p ve miR-3613-3p Ekspresyon Düzeylerine İlişkin Bulgular.....	52
4.3. miR-639, miR641, miR-1915-3p ve miR-3613-3p Ekspresyonu ve Klinikopatolojik Özellikler Arasındaki İlişkiye Yönelik Bulgular.....	55
4.3.1. miR-639 Ekspresyonunun Klinikopatolojik Faktörlerle İlişkisi.....	55
4.3.2. miR-641 Ekspresyonunun Klinikopatolojik Faktörlerle İlişkisi.....	68
4.3.3. miR-1915-3p Ekspresyonunun Klinikopatolojik Faktörlerle İlişkisi	68
4.3.4. miR-3613-3p Ekspresyonunun Klinikopatolojik Faktörlerle İlişkisi	81
<b>BÖLÜM 5 .....</b>	<b>95</b>
<b>TARTIŞMA .....</b>	<b>95</b>
<b>BÖLÜM 6 .....</b>	<b>101</b>
<b>SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>	<b>101</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>102</b>

**ÖZGEÇMİŞ..... 132**



## TABLULAR LİSTESİ

	<b>Sayfa</b>
<b>Tablo 1. 1</b> Herediter kalıtım bulunduran kolorektal kanser sendromları .....	15
<b>Tablo 1. 2</b> AJCC kolorektal kanser evreleme sistemi .....	18
<b>Tablo 1. 3</b> Kolorektal karsinogenezisde serrated ve tübüler adenomatöz poliplerin kansere dönüşümünde rol oynayan genetik değişiklikler (Canbay ve Buğra, 2011).....	20
<b>Tablo 1. 4</b> Herediter ve sporadik kolorektal kanserlerdeki genetik ve epigenetik değişiklikler (Canbay ve Buğra, 2011) .....	23
<b>Tablo 1. 5</b> miRNA'lardaki bozuklukların miRNA ve mRNA işlevine etkisi (Cowland ve ark., 2007).....	31
<b>Tablo 3. 1</b> cDNA sentezi için hazırlanan reaksiyon içeriği.....	47
<b>Tablo 3. 2</b> cDNA sentezi için kullanılan reaksiyon koşulları.....	47
<b>Tablo 3. 3</b> miRNA'ların primer dizileri .....	48
<b>Tablo 3. 4</b> qRT- PCR için hazırlanan reaksiyon içeriği .....	48
<b>Tablo 3. 5</b> qRT-PCR için kullanılan sıcaklık ve süreler.....	49
<b>Tablo 4. 1</b> Kolorektal kanser hastalarının demografik, klinik ve patolojik özellikleri .....	51

## ŞEKİLLER LİSTESİ

### Sayfa

<b>Şekil 1. 1</b> Neoplastik olmayan kolon dokusu histolojisi.....	6
<b>Şekil 1. 2</b> Erkeklerde en yaygın olarak görülen 10 kanser türünün yaşa göre standardize edilmiş hızları (Türkiye birleşik veri tabanı, 2016) (Dünya standart nüfusu, 100.000 Kişide) (Türkiye kanser istatistikleri, 2016) .....	9
<b>Şekil 1. 3</b> Kadınlarda en yaygın olarak görülen 10 kanser türünün yaşa göre standardize edilmiş hızları (Türkiye birleşik veri tabanı, 2016) (Dünya standart nüfusu, 100.000 Kişide) (Türkiye kanser istatistikleri, 2016) .....	9
<b>Şekil 1. 4</b> 2018 yılında dünyada yeni vaka ve ölüm sayıları (Her iki cinsiyet, tüm yaşlar) ( <a href="https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/cancers/39-All-cancers-fact-sheet.pdf">https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/cancers/39-All-cancers-fact-sheet.pdf</a> ) .....	10
<b>Şekil 1. 5</b> Türkiye’de 2018 yılı yeni kanser vakası sayıları (Her iki cinsiyet-tüm yaşlar) ( <a href="https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/792-turkey-fact-sheets.pdf">https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/792-turkey-fact-sheets.pdf</a> ).....	10
<b>Şekil 1. 6</b> Kolorektal kanserin yaşa göre hızı (Semi-Log) (Türkiye birleşik veri tabanı, 2016) (Türkiye kanser istatistikleri, 2016).....	11
<b>Şekil 1. 7</b> Kolorektal kanserler evrelerinin yüzde dağılımları (Türkiye birleşik veri tabanı, 2016) (Türkiye kanser istatistikleri, 2016).....	19
<b>Şekil 1. 8</b> Kolorektal karsinogenezisde adenom-karsinom ardışıklığı (Canbay ve Buğra, 2011) .....	19
<b>Şekil 1. 9</b> Kolorektal karsinogenezisde epigenetik ve genetik instabilite ve kansere dönüşüm basamakları (Canbay ve Buğra, 2011).....	21
<b>Şekil 1. 10</b> miRNA oluşumu (Yang ve Lai, 2011; Hitit ve ark., 2015). .....	29
<b>Şekil 1. 11</b> miRNA fonksiyonu (Hayes ve ark., 2014) .....	30
<b>Şekil 1. 12</b> Onkogenik ve tümör baskılayıcı miRNA’ların etki mekanizması (Teker, 2018).....	35
<b>Şekil 4. 1</b> miR-639’un relatif ekspresyon düzeyleri .....	52
<b>Şekil 4. 2</b> miR-641’in relatif ekspresyon düzeyleri .....	53
<b>Şekil 4. 3</b> miR-1915-3p’nin relatif ekspresyon düzeyleri .....	54

Şekil 4. 4 miR-3613-3p'nin relatif ekspresyon düzeyleri .....	55
Şekil 4. 5 miR-639 ekspresyonu ile doku tipi arasındaki ilişki .....	56
Şekil 4. 6 miR-639 ekspresyonu ile cinsiyet arasındaki ilişki .....	57
Şekil 4. 7 miR-639 ekspresyonu ile sigara kullanımı arasındaki ilişki.....	58
Şekil 4. 8 miR-639 ekspresyonu ile alkol kullanımı arasındaki ilişki .....	59
Şekil 4. 9 miR-639 ekspresyonu ile nöral invazyon arasındaki ilişki.....	60
Şekil 4. 10 miR-639 ekspresyonu ile lenfovasküler invazyon arasındaki ilişki .....	61
Şekil 4. 11 miR-639 ekspresyonu ile lenf nodu metastaz arasındaki ilişki .....	62
Şekil 4. 12 miR-639 ekspresyonu ile yaş arasındaki ilişki .....	63
Şekil 4. 13 miR-639 ekspresyonu ile metastaz arasındaki ilişki.....	64
Şekil 4. 14 miR-639 ekspresyonu ile tümör evresi arasındaki ilişki.....	65
Şekil 4. 15 miR-639 ekspresyonu ile tümör çapı arasındaki ilişki .....	66
Şekil 4. 16 miR-639 ekspresyonu ile tümör histolojik tipleri arasındaki ilişki .....	67
Şekil 4. 17 miR-639 ekspresyonu ile invazyon arasındaki ilişki.....	68
Şekil 4. 18 miR-1915-3p ekspresyonu ile yaş arasındaki ilişki.....	69
Şekil 4. 19 miR-1915-3p ekspresyonu ile doku tipi arasındaki ilişki .....	70
Şekil 4. 20 miR-1915-3p ekspresyonu ile cinsiyet arasındaki ilişki.....	71
Şekil 4. 21 miR-1915-3p ekspresyonu ile sigara kullanımı arasındaki ilişki .....	72
Şekil 4. 22 miR-1915-3p ekspresyonu ile alkol kullanımı arasındaki ilişki.....	73
Şekil 4. 23 miR-1915-3p ekspresyonu ile alkol kullanımı arasındaki ilişki.....	74
Şekil 4. 24 miR-1915-3p ekspresyonu ile nöral invazyon arasındaki ilişki .....	75
Şekil 4. 25 miR-1915-3p ekspresyonu ile nöral invazyon arasındaki ilişki .....	76
Şekil 4. 26 miR-1915-3p ekspresyonu ile lenf nodu metastaz arasındaki ilişki .....	77
Şekil 4. 27 miR-1915-3p ekspresyonu ile tümör evresi arasındaki ilişki .....	78
Şekil 4. 28 miR-1915-3p ekspresyonu ile tümör çapı arasındaki ilişki .....	79
Şekil 4. 29 miR-1915-3p ekspresyonu ile tümör histolojik tip arasındaki ilişki .....	80
Şekil 4. 30 miR-1915-3p ekspresyonu ile metastaz arasındaki ilişki .....	81
Şekil 4. 31 miR-3613-3p ekspresyonu ile yaş arasındaki ilişki.....	82
Şekil 4. 32 miR-3613-3p ekspresyonu ile doku tipi arasındaki ilişki .....	83
Şekil 4. 33 miR-3613-3p ekspresyonu ile cinsiyet arasındaki ilişki.....	84
Şekil 4. 34 miR-3613-3p ekspresyonu ile sigara kullanımı arasındaki ilişki .....	85
Şekil 4. 35 miR-3613-3p ekspresyonu ile alkol kullanımı arasındaki ilişki.....	86
Şekil 4. 36 miR-3613-3p ekspresyonu ile nöral invazyon arasındaki ilişki .....	87
Şekil 4. 37 miR-3613-3p ekspresyonu ile lenfovasküler invazyon arasındaki ilişki .....	88

<b>Şekil 4. 38</b> miR-3613-3p ekspresyonu ile lenf nodu metastaz arasındaki ilişki .....	89
<b>Şekil 4. 39</b> miR-3613-3p ekspresyonu ile tümör evresi arasındaki ilişki .....	90
<b>Şekil 4. 40</b> miR-3613-3p ekspresyonu ile tümör çapı arasındaki ilişki .....	91
<b>Şekil 4. 41</b> miR-3613-3p ekspresyonu ile tümör histolojik tip arasındaki ilişki .....	92
<b>Şekil 4. 42</b> miR-3613-3p ekspresyonu ile invazyon arasındaki ilişki.....	93
<b>Şekil 4. 43</b> miR-3613-3p ekspresyonu ile metastaz arasındaki ilişki .....	94



## KISALTMALAR LİSTESİ

<b>APC</b>	: Adenomatöz Polipozis Koli
<b>ATP</b>	: Adenizin Tri Fosfat
<b>Bcl-2</b>	: B-cell lymphoma 2
<b>BIC</b>	: B cell İntegrasyon Cluster
<b>cDNA</b>	: Komplementer DNA
<b>DNA</b>	: Deoksiribonükleik asit
<b>FAP</b>	: Familyal Adenomatöz Polipozis
<b>HMGA</b>	: High Mobility Group AT-hook
<b>HNPCC</b>	: Herediter Nonpolipozis Kolorektal Kanser
<b>KLL</b>	: Kronik Lenfositik Lösemi
<b>mRNA</b>	: Mesajcı RNA
<b>miRNA</b>	: MikroRNA
<b>MTA</b>	: Metastasis associated
<b>ORF</b>	: Open Reading Frame
<b>PCR</b>	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
<b>PTEN</b>	: Fosfataz ve Homolog Tensin
<b>RAS</b>	: Resistance to Audiogenic Seizures
<b>RISC</b>	: RNA ile indüklenen susturma kompleksi
<b>RNA</b>	: Ribonükleik Asit
<b>RNase</b>	: Ribonuclease
<b>TP53</b>	: Tümör protein 53
<b>TS</b>	: Tümör baskılayıcı

## BÖLÜM 1

### GİRİŞ

Kanser dünya genelinde görülen en yaygın sağlık sorunlarından biridir (Bray ve ark., 2018). Epitel hücrelerinde ortaya çıkan adenokarsinomlar genellikle meme, prostat ve kolorektal kanser türlerini kapsamaktadır (Torre ve ark., 2015). Dünya genelinde kadınlarda en fazla görülen ikinci, erkeklerde ise üçüncü kanser türü iken ülkemizde hem kadınlarda hem de erkeklerde en yaygın üçüncü kanser türüdür (Bray ve ark., 2018; Türkiye Kanser İstatistikleri, 2016). Kolorektal kanser çevresel faktörler, genetik ve ailesel yatkınlık gibi birçok etken spektrumunu nedeniyle multifaktöriyel bir hastalık olarak tanımlanmaktadır (Hagggar ve Boushey, 2009). Bu yüzden hastalığın alt tiplere ayrılması gerekmektedir. Hastalıkların teşhisinde, tedavisinde ve alt tiplere ayrılmasında önem arz eden biyobelirteçler ve yeni yöntem ve teknikler sayesinde çok daha kolay saptanabilmektedir. Günümüzde kanser biyobelirteçlerinin keşfedilmesine yönelik çalışmalar kanser araştırmalarının odak noktasına dönüşmüş durumdadır. Her geçen gün insidansı artan ve tedavide de hedeflenen başarının sağlanamadığı kolorektal kanser için de yeni biyobelirteçlerin keşfedilmesine ihtiyaç duyulmaktadır.

Bu tez çalışmasında kolorektal kanserli hastaların tümörlü ve sağlıklı dokularında miR-639, miR-641, miR-1915-3p ve miR-3613-3p'in ekspresyon düzeylerini belirlenmiş ve bu miRNA'ların ekspresyon düzeyleri ile kolorektal kanserli hastaların yaşı, cinsiyeti, tümörün evresi, tümör lokalizasyonu, tümör boyutu, invazyon, metastaz gibi bilinen klinik ve patolojik faktörleri ile ilişkisi saptanmıştır. Bu çalışma ile kolorektal kanserde yeni teşhis ve tarama yöntemlerinin geliştirilmesi, kolorektal kanser oluşumunun daha iyi anlaşılmasına yardımcı olunması ve bilimsel literatüre katkı sağlanması hedeflenmiştir.

## 1.1. Kanser

### 1.1.1. Tanım

Hücreler belli bir program dahilinde büyüyüp gelişir ve nihayetinde de ölür. Yaşamın ilk yıllarında vücut hücrelerinin önemli bir kısmı yetişkinlik dönemine dek son derece büyük bir hız ile bölünmekte iken yetişkinlik sonrası dönemde ise ölen hücrelerin yerinin doldurulması yahut yenileme amacıyla hücreler bölünür. Buna karşın kanser hücreleri herhangi bir neden olsun ya da olmasın kontrolsüz bir şekilde çoğalırlar. Programsız ve kontrolsüz hücre çoğalması çoğu kanser türünün temelini teşkil eder (Bayrak, 2010).

Gelişen dünyada en yaygın görülen hastalık kanserdir (Curigliano ve ark., 2020). 2020 yılında yaklaşık 20 milyon yeni kanser vakası tespit edilmiş ve bunların 9,9 milyonu ölümlle sonuçlanmıştır (GLOBOCAN, 2020). Kanser, oluşum mekanizması açısından bireyler arasında çeşitlilik gösterdiği gibi, hücresel ve moleküler düzeyde de heterojenite ve çeşitlilik ile kendini göstermektedir (Tewary ve ark., 2017). Normalde metabolizmada hücreler belirli bir düzen dahilinde büyüyüp çoğalmakta olup doku ve organlar da görevlerini normal bir şekilde yerine getirmektedir. Buna karşın kanser durumunda, hücreler anormal şekil ve hızda büyümeye ve kontrolsüz şekilde çoğalmaya başlayarak, tümör oluşumuna neden olmaktadır (Smith ve ark., 2019). Çeşitli sağlık problemlerine neden olan kanserin hala etkili bir tedavi şekli bulunmamaktadır (Siegel ve ark., 2017). Günümüzde kardiyovasküler hastalıklardan sonra en fazla ölümlle sonuçlanan sağlık sorunlarının temelinde kanser bulunmaktadır. Kanserin oluşma sürecine ve gelişimine çevresel faktörler ve kalıtsal etmenler neden olmaktadır (Yar, 2012; Babat, 2014).

Kanserin genetik bir hastalık olarak tanımlanması, kanserin tanısında, prognozunda ve tedaviye yönelik yaklaşımlarında yeniden gözden geçirilmeyi gerektiren yeni bir açılıma neden olmuştur. Bu yeni yaklaşımlar kanser biyolojisi ile ilgili çalışmaların hız kazanmasında etkili olmaktadır. Çoğu kanser tipi için, tanı kriterleri, prognozu ve tedaviyi doğrudan etkileyen pek çok genetik değişim tanımlanmıştır. Ayrıca kanserin çok evreli gelişiminde açıklanmayı bekleyen önemli birçok nokta bulunmaktadır (Ay, 2006).

### **1.1.2. Tarihçe**

Kanser ve kanser türleriyle bilimsel manada insanoğlu ilk kez 17. yüzyılda tanışmışmıştır. Bu yüzyılda insanoğlu kanser ile ilgili bilgilere çok hızlı bir şekilde ulaşmaya başlamıştır. Giovanni Morgagni tarafından gerçekleştirilen otopsiler neticesinde ölüme yol açan patolojik durumlar keşfedilmiş olup bu onkolojik çalışmalar kanserin keşfedilmesi bakımından son derece önemlidir (Hunt, 2000; Baykara, 2016).

On dokuzuncu yüzyılda mikroskop teknolojisindeki gelişmeler onkoloji biliminin ortaya çıkmasına zemin hazırlamıştır. Hücre patolojisi alanında ilk çalışmaları gerçekleştiren araştırmacılardan Rudolf Virchow tarafından modern patoloji ile onkoloji bilimi birleştirilmiştir. Bu durum kanser tanısının yanı sıra kansere karşı cerrahi müdahalede de yeni bir döneme geçilmesinde etkili olmuştur. Bu gelişmelerle birlikte hastalardan ameliyat ile alınan dokulardan kanser tanısı yapılmaya başlanmıştır (Reese, 1998). Yaşanan gelişmeler neticesinde 18. yüzyılda kanser epidemiyolojisinde üç tür gözlem öne çıkmıştır. Dünyaca ünlü İtalyan Doktor Bernardino Ramazzini 1713 yılında rahibelerdeki serviks ve meme kanserini karşılaştırmış ve yaşam tarzının kanserin ortaya çıkmasında etkili olduğunu belirtmiştir. Bu gelişme hamilelik temelli yahut enfeksiyon nedenli hormonal faktörlerin de kanserin oluşumunda etkilerinin ortaya konmasında önemli olmuştur. 18. yüzyılda gerçekleştirilen araştırmalar neticesinde tümörlü dokunun alınmaması halinde hastalığın çok yüksek düzeyde progresyon göstereceği görülmüş olup tümörlü dokunun alınmasına ilişkin çeşitli yöntemler ve cerrahi girişimler denenmiştir. Kan nakli ve anestezi biliminin keşfinden önce de çok sayıda cerrahi müdahale gerçekleştirilmiş olmakla beraber anestezinin keşfiyle birlikte ameliyatlara sayısında ve niteliğinde de artış gerçekleşmiştir. Bu nedenle bu yüzyıl ameliyat yüzyılı olarak adlandırılmıştır (Felton, 1997).

### **1.1.2. Kanser Moleküler Mekanizmaları**

Boveri 1914 senesinde genom yapısındaki anormalliklerin tümör oluşumuyla ilişkili olduğunu ifade etmiş olup daha sonraki süreçte çok sayıda araştırmada Boveri'nin bu görüşünü destekleyici sonuçlar elde edilmiştir (Descamps ve Prigent 2002; Sathanathan ve ark., 2006; Teker, 2018). Teknoloji alanındaki gelişmeler ve yeni

keşifler sonucunda kanserin moleküler mekanizmasına yönelik önemli deliller elde edilmeye başlanmıştır. Pek çok hastalıkta olduğu gibi kanser de genler ile ilişkili hastalıklardan birisidir. Kromozomlardaki genler paketlenmiş durumdadır. Bu genlerdeki fiziksel/kimyasal farklılıklar hücre fonksiyonlarını doğrudan etkileyebilir. DNA tamir sistemleri genlerin işlevlerini tekrar kazandırmak için çalışmakla beraber her zaman başarı elde edemez. Bu durumda proteinler tam olmayan veya hatalı üretilir ki bu da hücre fonksiyonlarında hasarlara neden olur.

Genlerin fonksiyonlarında değişikliğe yol açan faktörlerden bir diğeri ise asetillenme, metillenme, fosforillenme ve ribozillenme gibi epigenetik modifikasyonlar olup bunlar yalnızca belirli bir bölgede etki gösterebilmenin yanı sıra kromozomların tamamını yahut büyük bir kısmını etkileyen inversiyonlar/insersiyonlar ve delesyonlar şeklinde olabilir. DNA tamir genleri, tümör baskılayıcı genler ve onkogenler kanser oluşumunda en önemli role sahip üç gen grubudur. Proto-onkogenler (*RAS*, *Erk*, *MYC* gibi) gen ekspresyonundaki artış, mutasyonlar, gen duplikasyonları ve yeniden düzenlemelerden ötürü onkogenlere dönüşebilmektedir. Tümör baskılayıcı genler ise hücre bölünmesi ve çoğalmasını kontrol eden, hasar olması halinde DNA tamir sürecini başlatan, tamirin başarısız olması halinde de apoptozu tetikleyen gen gruplarıdır. Bu genlerden en çok çalışılanı *TP53* genidir. Kromozomların düzgün bir şekilde ayrılamaması, delesyonlar, epigenetik susturmalar, nokta mutasyonları ve mitotik rekombinasyonlar tümör baskılayıcı genlerin işlevlerine engel olarak onların hücre döngüsünde kontrollerini yitirmelerine, sonuç olarak da karsinogeneze yol açmaktadır. Mutasyonlar kanserli hücrelerdeki apoptoz sinyallerinde duyarsızlaşma ve büyüme faktörü üretebilme fonksiyonları gibi normal hücrelerde olmayan özellikleri kazandırmakta olup bu özelliklere sahip olan tümörlü hücrelerde kontrol dışı çoğalma gözlenmektedir. Bununla birlikte hücrelerdeki bütün mutasyonlar kansere yol açmaz. Fakat genlerdeki mutasyonlar kanserle ilişkilendirilmiştir. Kanserle ilişkili olan bu genler tümör baskılayıcı genler, protoonkogenler ve DNA tamir mekanizması genleridir. Kansere çok sayıda etken neden olmakta olup bunlar arasında sağlıksız beslenme, alkol, tütün ve ürünlerinin kullanılması, virüsler, iyonize ışınlarla maruz kalma, obezite, mesleki hastalıklar, çevresel kirleticiler önemli rol oynamaktadır (Baykara, 2016). DNA'da mutasyonların meydana gelmesinden sonra tümör başlangıcı, tümör

gelişimi, malignans dönemi ve tümörün yayılma dönemi şeklinde dört farklı süreç söz konusudur (Hahn ve Weinberg 2002).

Tümör çok aşamalı ve uzun bir süreç olup fenotipik ve genotipik olarak tümör gelişimini hızlandırmaktadır (Yokuş ve Çakır, 2012). Bu süreçte meydana gelebilecek olayların tamamı netliğe kavuşturulamamış olmakla beraber tümör oluşumu açısından önemli olan genlerde meydana gelebilen ve tümörlü hücrelere çeşitli büyüme olanakları sağlayan mutasyonların çoğalmasi ile bulunmuştur (Martinez ve Willett, 1998). Bütün kanserli hücrelerde bulunan ve onların normal hücrelerden ayrılmasını sağlayan çeşitli özellikler söz konusu olup bunlar aşağıdaki gibi sıralanabilir (Alberts ve ark., 2003; Alberts ve ark., 2007):

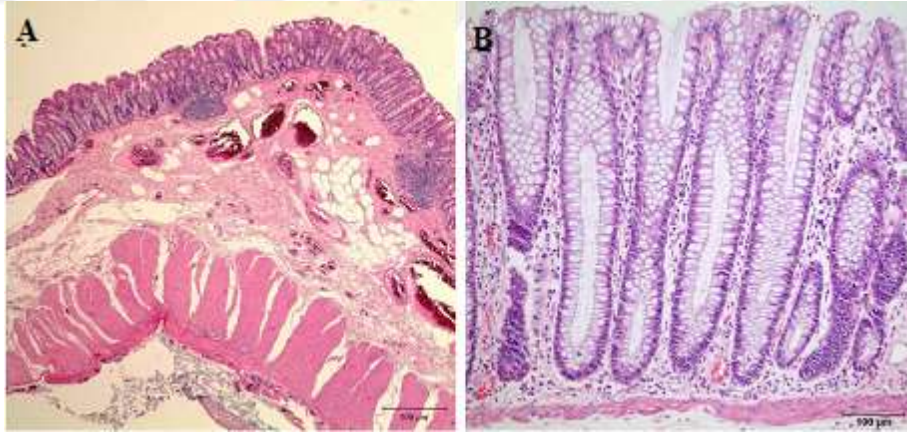
- Bütün kanserli hücreler büyüme sinyalleri bakımından diğer hücrelerden bağımsız hareket etmekte olup proliferasyonda dış sinyallere gerek duyulmaz.
- Kanserli hücrelerin apoptoz ile olan sınıvı diğer hücrelerle kıyaslandığında daha azdır. Kanserli hücrelerin apoptoz sinyal mekanizmalarından etkilenmesine karşın normal hücreler etkilenmezler.
- Kanserli hücreler sınırsız çoğalma eğiliminde iken normal hücreler ise sınırlı çoğalma eğilimindedir.
- Kanserli hücrelerde mutasyon oranı oldukça fazla olduğu için genetik olarak kararsız hücrelerdir.
- Kanserli hücreler özel adhezyon moleküllerinin bulunmadığı asıl yerlerinde durmayıp diğer dokulara dağılırarak buralarda çoğalmayı sürdürürler ve bu durum metastaz olarak adlandırılır.
- Kanserli hücreler antiproliferatif sinyaller karşısında tepki vermemektedirler.
- Kanserli hücreler beslenme için damar oluşumunu tetiklemektedirler.

Kanser hücreleri çok az oksijen, besin ve zor şartlara direnç gösteren, zamanla bu koşulları lehlerine çevirerek yaşayabilen oldukça zeki hücrelerdir. Zaman içerisinde şekillerini değiştirebilme kabiliyetine de sahiptirler. Normal hücreler bir zemine tutunarak büyüyüp yaşayabilirken kanser hücreleri ise yaşayabilmek, büyüyüp

çoğalabilmek için herhangi bir yere tutunmaya ihtiyaç duymazlar. Çoğu kanser türü başlangıç döneminde belirti vermemekte olup tüm kanser türlerinin aynı olmadığı da unutulmamalıdır. Belirtiler kanser tipine göre farklılık arz edebildiğinden her bir kanser türüne de farklı yaklaşım söz konusudur. Bununla birlikte erken tanıyla beraber iyi bakımın beklenen yaşam süresini ve kalitesini artırdığı da bir gerçektir. Bu sebepten ötürü de her geçen gün yeni yöntemler uygulanmaktadır.

## 1.2. Kolorektal Kanser

Kolon ve rektum, gastrointestinal sistem (GİS) içerisinde yer almakta olan sindirim kanalının son kısmında bulunan ve kalın barsağı meydana getirmekte olan yapılardır. Kalın barsakta oluşan malig neoplaziler “kolorektal kanser” olarak adlandırılmaktadır. Histolojik olarak kolon dokusu dört tabakadan oluşmaktadır. Kolon duvarının kesiti incelendiğinde dıştan içe doğru “seroza”, “kas tabakası”, “submukoza” ve “mukoza” tabakaları açık bir şekilde görülmektedir. Kolorektal kanser emici ve salgılayıcı özellikteki basit kolumnar epitel hücreleri ile kaplı olan ve luminal yapıları kaplayan mukoza tabakasını meydana getiren epitel hücrelerinden meydana gelmektedir (Öztop, 2019) (Şekil 1.1).



**Şekil 1. 1** Neoplastik olmayan kolon dokusu histolojisi

A: Kolon duvarı tam kat hematoxilen eozin (H ve E, x40) kesiti

B: Kolon mukozası (H ve E, x100) kesiti (Doç. Dr. Aytakin Akyol'un arşivinden; Öztop, 2019)

Kolon mukozasının üzerinde hücre yığınlarının şekillendirmiş olduğu farklı büyüklüğe sahip kabarıklıklar polip olarak adlandırılmakta olup yaştaki artışa bağlı olarak insidansı da artmakta olan bu lezyonlar neoplastik ve neoplastik olmayan polipler şeklinde ikiye ayrılabilir (Shinya ve ark., 1979). Bunlardan neoplastik

polipler kolorektal kanserin öncül lezyonları olup Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından histomorfolojik özelliklerine göre “tubular adenom”, “viloz adenom”, “tubulovilloz adenom” ve “serrated adenom” şeklinde sınıflandırılmıştır (Westhues, 1934; Arthur, 1968; Muto ve ark., 1973; Williams ve ark., 1982). Neoplastik olmayan polipler ise “inflamatuvar poli (İP)”, “inflamatuvar fibroid polip (İFP)” ve “hamartomatöz polip (HP)” şeklinde sınıflandırılırlar. Bunlardan HP’ler tümör benzer yapısal gelişime sahip olabilen, buna karşın malign olmayan poliplerdir (Campos ve ark., 2015). Kronik inflamatuvar barsak hastalığı (KİBH) ve divertikülit gibi kronik inflamatuvarlarda görülmekte olan inflamatuvar polipler reaktif epitelyum, fibröz doku ve granülasyon dokusundan meydana gelmektedir (Hamilton ve Aaltonen, 2006).

Uluslararası Kanser Ajansı (International Agency for Research on Cancer-IARC) tarafından gerçekleştirilen GLOBOCAN 2020 projesi sonuçları incelendiğinde kolorektal kanserlerin erkekler arasında dünya genelinde 3., kadınlar arasında ise 4. en yaygın kanser türü olduğu, dünya genelinde kansere bağlı ölümlerde erkeklerde 4., kadınlarda ise 3. sırada yer aldığı görülmektedir. Dünya genelinde 2020 yılı içerisinde 1.931.590 yeni kolorektal kanseri tanısı konmuş olup 935.173 kişi de kolorektal kanserden ötürü hayatını kaybetmiştir. Türkiye’de 2020 yılına ilişkin veriler incelendiğinde kolorektal kanserin bütün yaş grupları içerisinde üçüncü sırada yer aldığı, kadınlarda meme ve tiroid kanserinin, erkeklerde de akciğer ve prostat kanserinin ardından en yaygın üçüncü kanser türü olduğu görülmektedir. Aynı zamanda kanserle ilişkili ölümler arasında hem kadın hem de erkeklerde kolorektal kansere bağlı ölümler üçüncü sırada yer almaktadır.

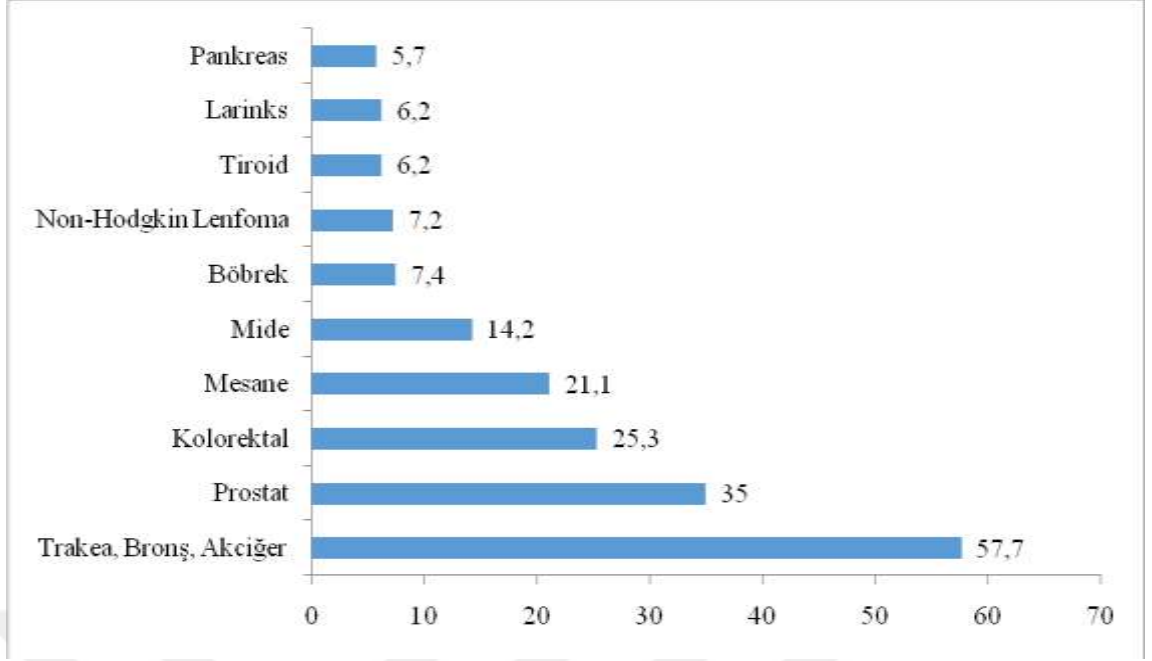
Dünya genelinde kanserle ilişkili ölüm oranı 2012’de %21.7 (8.2 milyon) iken bu oranın 2030’da %24.2’ye (12.6 milyon) çıkacağı öngörülmektedir (Emiral ve ark., 2018). Ülkemizde ise bütün kanser türleri içerisinde kolorektal kanserlerin oranı %7.6 olup kanser ölümleri içinde ise %7.4’lük bir mortaliteye sahiptirler (Okyay, 2013). Sağlık Bakanlığı 2018 yılı Sağlık İstatistikleri Yıllığı incelendiğinde kolorektal kanserler kadın (%27.4) ve erkeklerde (%16) en yaygın görülen 3. kanser türüdür (Sağlık İstatistikleri Yıllığı, 2018).

### 1.2.1. Epidemiyoloji

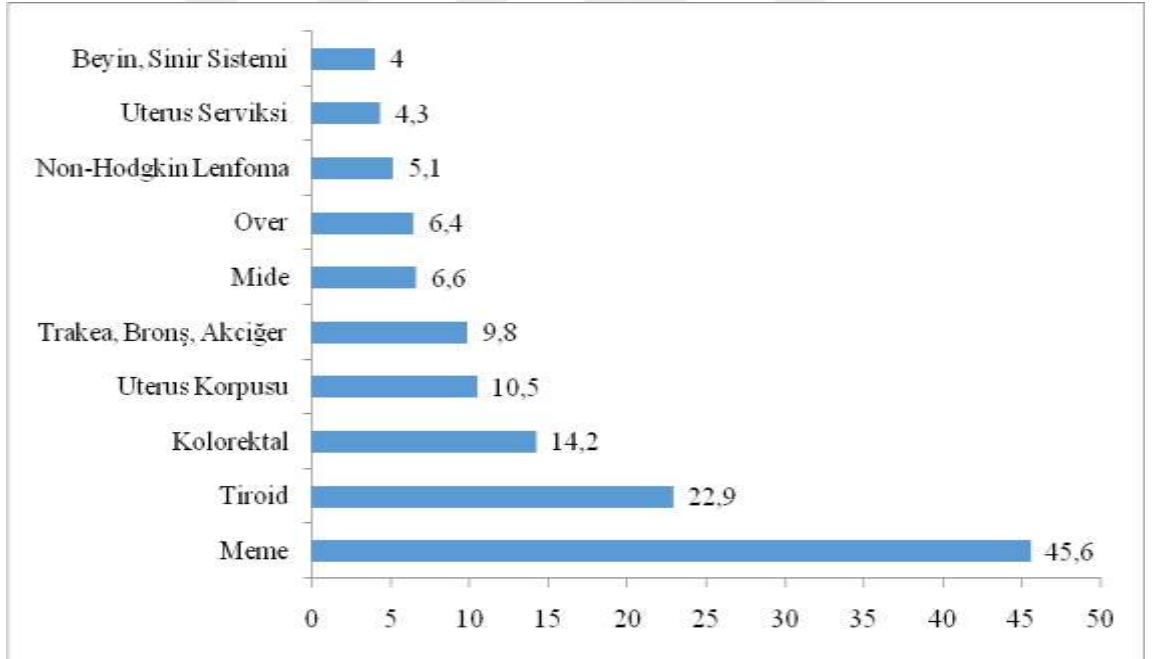
Kolorektal kanser en yaygın kanser türlerinden olup dünya genelinde her yıl 500 bin dolayında yeni kolorektal kanser olgusu bildirilmektedir. Bunlarda aynı zamanda morbidite ve mortalite oranları da oldukça yüksektir. Kolorektal kanser çoğunlukla beslenme alışkanlıkları ve ileri yaş ile ilişkili olmakla beraber sosyoekonomik açıdan gelişmiş olan ülkelerde daha yaygındır (Liu ve ark., 2014; Bray ve ark., 2017; Üçüncü, 2019).

Tüm kolorektal kanserlerin yaklaşık %63'ü kolonda ve %28'i rektumda bulunmaktadır. Çevresel ve genetik faktörler kolon kanserinin patogeneğinde etkili olmaktadır. Etkili kanser tarama testleri sayesinde kolorektal kanser insidansı ve ölüm oranı azalmaktadır (Thanikachalam ve Khan, 2019). Ancak dünyada 2018 yılında yeni tespit edilen 1,8 milyon vaka bulunmakta olup bu sayısının neredeyse yarısı ölümlerle sonuçlanmaktadır (Bray ve ark., 2018). Kolorektal kanser moleküler süreçler sonrası meydana gelen ve normal hücreden tek bir kript epitelindeki farklılıklara, birkaç benign (adenomatöz polipler) adenokarsinomları da kapsayan bir dizi morfolojik değişimle ortaya çıkmaktadır (Güngörmez ve ark., 2017). Kolorektal kanser yaygınlık ve ölüm oranı açısından kadınlarda ve erkeklerde benzer orana sahiptir (Sharma, 2020). Hastalığa yakalanma riski ülkeler arasında farklılık arz etmektedir (Martinez ve Willett 1998). Yapılan araştırmalar sosyoekonomik olarak gelişmiş olan Kuzey Amerika, Batı Avrupa ve Avustralya'da kolorektal kanserin daha yaygın olduğunu göstermiştir (Jemal ve ark., 2011). Buna karşın sosyoekonomik açıdan daha düşük düzeyde olan Doğu Avrupa ve Orta Afrika ülkelerinde kolorektal kanser oranı düşüktür (Edwards ve ark., 2002).

Erkeklerde kolorektal kanserin görülme sıklığı prostat ve akciğer kanserinin ardından üçüncü sırada iken kadınlarda ise meme kanserinin ardından ikinci sırada yer almaktadır (Türkiye Kanser İstatistikleri, 2016). Kolorektal kanser insidansı günümüzde 40 ila 50 yaş arasına kadar düşmüş durumdadır. Erkeklerde progresyonu yaşa bağlı olarak kadınlara kıyasla daha fazla artmaktadır. 2009 yılında ABD'de 70.223'ü erkek, 66.494'ü kadın olmak üzere toplam 136.717 kişi kolorektal kanser tanısı almışken 2013'te bu sayı 142.820'ye ulaşmıştır (DeSantis ve ark., 2013). Avrupa genelinde kolorektal kanser tüm kanser türleri içerisinde ikinci sırada bulunmaktadır (Ferlay ve ark., 2018).



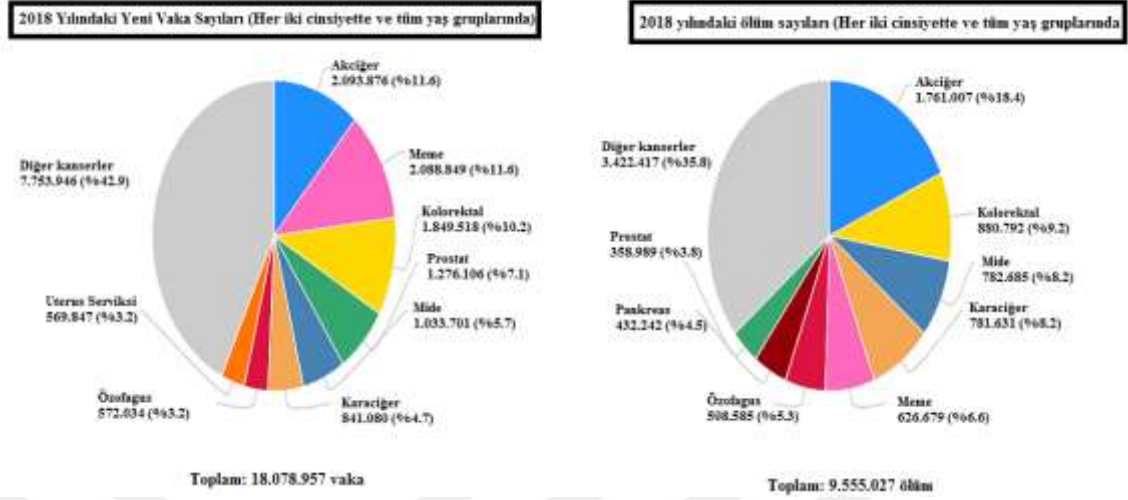
**Şekil 1. 2** Erkeklerde en yaygın olarak görülen 10 kanser türünün yaşa göre standardize edilmiş hızları (Türkiye birleşik veri tabanı, 2016) (Dünya standart nüfusu, 100.000 Kişide) (Türkiye kanser istatistikleri, 2016)



**Şekil 1. 3** Kadınlarda en yaygın olarak görülen 10 kanser türünün yaşa göre standardize edilmiş hızları (Türkiye birleşik veri tabanı, 2016) (Dünya standart nüfusu, 100.000 Kişide) (Türkiye kanser istatistikleri, 2016)

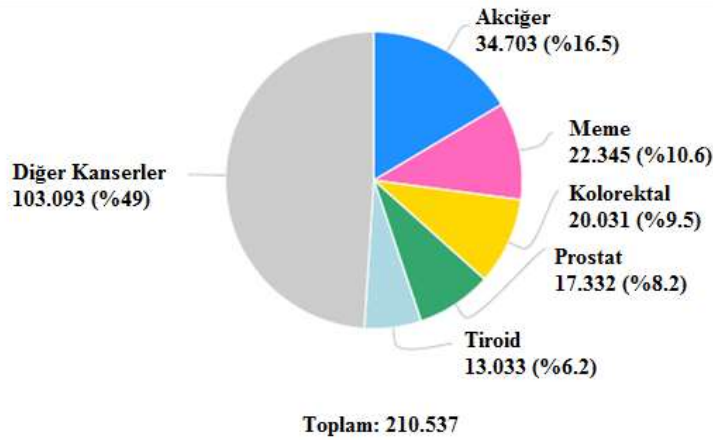
2018 yılında yaklaşık 2 milyon yeni kolorektal kanser vakasının yanı sıra 881 bin kişinin hayatını kaybettiği rapor edilmiştir (Şekil 1.4). Değerlendirmeler neticesinde kolorektal kanserin insidans bakımından 3., mortalite bakımında da 2. sırada yer

aldığı bildirilmiştir (<https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/cancers/39-All-cancers-fact-sheet.pdf>)



**Şekil 1. 4** 2018 yılında dünyada yeni vaka ve ölüm sayıları (Her iki cinsiyet, tüm yaşlar) (<https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/cancers/39-All-cancers-fact-sheet.pdf>).

Kolorektal kanser insidansı dünya genelinde kolon kanserinde 8, rektal kanserde ise 6 kat farklı olacak biçimde önemli oranda değişmektedir. Hastalığın sosyo-ekonomik gelişimin göstergelerinden birisi olduğu, gelişme sürecindeki ülkelerde insidansının insani gelişme indeksi (HDI) artışıyla orantılı olarak arttığı bildirilmiştir (Fidler ve ark., 2016). Ülkemizde 2018’de 210.537 yeni kanser vakası bildirilmiş olup bunların 20031’i (%9.5) kolorektal kanser vakasıdır (Şekil 1.5) (<https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/cancers/39-All-cancers-fact-sheet.pdf>).



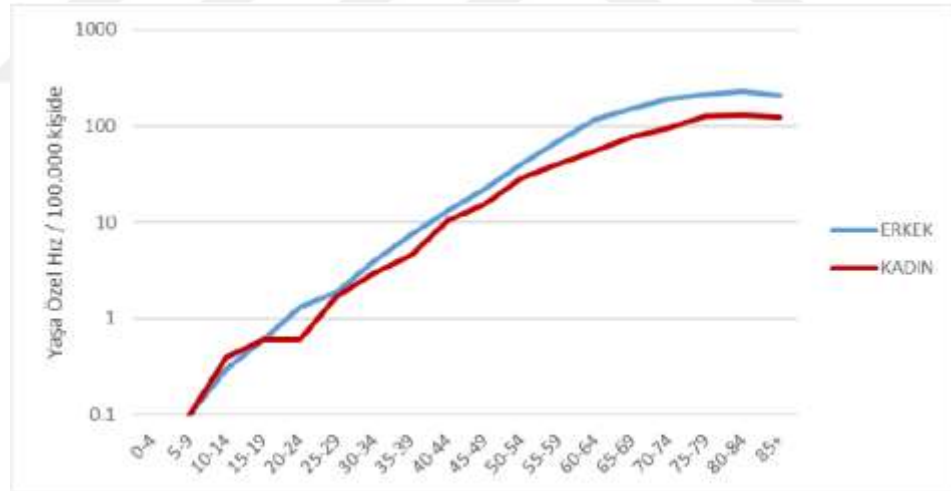
**Şekil 1. 5** Türkiye’de 2018 yılı yeni kanser vakası sayıları (Her iki cinsiyet-tüm yaşlar) (<https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/792-turkey-fact-sheets.pdf>).

İnsidanstaki artışın nedenleri üzerine yapılan çalışmalarda diyet örüntüleri, obezite ve yaşam tarzı gibi faktörlerin son derece etkili olduğu, gelişmiş ülkelerde mortalitedeki düşüşün temel nedenlerinin de kanser tedavi ve yönetimiyle ilgili uygulamalarda en iyi olanın benimsenmesi olduğu belirtilmiştir. Mortalitedeki düşüşlerde 1990'lı yıllarda uygulanmaya başlanılan tarama ve erken tanı programlarının etkili olduğu ifade edilmektedir (Siegel ve ark., 2019).

## 1.2.2. Etiyoloji

### 1.2.2.1. Yaş

Dünyada gelişmiş ülkelerde kolorektal kanser sıklığı kadınlarda ve erkeklerde ortalama 20-30 yaşından sonra artmaktadır. Yaştaki artışla beraber kolorektal kanser riski de artmakta olup 50 yaş ve üzerinde bu risk %90'ın üzerindedir. 65-85 yaş arasındaki kişilerde 50 yaş altındakilere kıyasla kolorektal kanser riski 6 kat daha fazladır (Bray ve ark., 2018) (Şekil 1.6). 85 yaşın üzerindeki kişiler kolorektal kanser taraması yaptırmamalıdır (Wolf ve ark., 2018).



**Şekil 1. 6** Kolorektal kanserin yaşa göre hızı (Semi-Log) (Türkiye birleşik veri tabanı, 2016) (Türkiye kanser istatistikleri, 2016).

### 1.2.2.2. Diyet ve Yaşam Tarzı

Kolorektal kanser oluşumu kişiye ilişkin yapısal farklılıkların yanı sıra çevresel faktörler ile sıkı ilişki içerisinde. Dünya genelinde kolorektal kanserli hastalardaki farklılıklar ve ABD'deki göçmenler arasındaki riskte bariz değişiklikler söz konusu

olup bu durumun ortaya çıkmasında beslenme alışkanlıklarının etkili olduğu ileri sürülmektedir. Kolorektal kanser oluşumunda riski artırıcı besin maddelerinin tüketilmesi veya aşırı beslenmeyle obezite durumunun ortaya çıkması önemli etkiye sahiptir. Aynı zamanda diyet ile alınan gıdalar kolondaki mikroorganizmalar üzerinde de önemli etkiye sahiptir (O'keefe, 2016). Kolon ortamının kompozisyonunun immün yanıt ve enflamasyon etkisi ile tümör gelişimi açısından olumlu ve olumsuz fonksiyona sahip olduğu ileri sürülmektedir (Brennan ve Garrett, 2016).

Yapılan araştırmaların büyük kısmında süt ve süt ürünleri ile takviyelerinden elde edilmekte olan kalsiyum alımı ile kolorektal kanser gelişimi arasında negatif yönde bir ilişki olduğunu göstermiştir. Yeterli düzeyde kalsiyum alımının kolorektal kanserden korunma sağladığı gösterilmiştir (Aune ve ark., 2012).

Diyetteki lif oranı, yüksek dışkı hacmi ve daha hızlı geçiş süresinden ötürü kanserojenlere maruziyet de dahil pek çok sebep nedeniyle kolorektal kanser riskinin azalması mümkün olmakla beraber randomize kontrollü çalışmalar sonucunda bu hususlarla ilgili anlamlı bir farklılık olmadığı bildirilmiştir (Song ve ark., 2015). Buna karşın Amerikan Kanser Topluluğu ve Dünya Kanser Araştırma Fonu yüksek lif içeriğine sahip olan gıdaların sağlık açısından faydalı olduğunu ve kanseri önlemede tam tahılların, meyvelerin ve sebzelerin oldukça önemli paya sahip olduğunu ifade etmektedir (Kushi ve ark., 2012).

Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı 2009 yılında sigara kullanımıyla kolorektal kanser gelişimi arasında ilişki olduğunu bildirmiştir. Genel itibariyle aktif sigara kullananlarda ve sigarayı bırakmış olanlarda hiç sigara içmemiş olanlara oranla daha kötü prognoz söz konusudur (Walter ve ark., 2014).

Orta ve ağır alkol kullanımı ile kolorektal kanser insidansında hafif artış görülmüştür (Choi ve ark., 2018). Günlük ortalama 2-3 alkollü içecek tüketen kişilerde ara sıra alkol kullananlara göre kolorektal kanser riskinin %20 daha yüksek olduğu, günde 3'ün üzerinde alkollü içki tüketenlerde bu oranının %40'a çıktığı bildirilmiştir (Bagnardi ve ark., 2015).

Yapılan araştırmalar uzun süreli ve düzenli aspirin ve diğer non-steroidal antiinflamatuvar ilaç (NSAIDS) kullanımının kolorektal kanser gelişim riskini

düşürdüğüne yönelik sonuçlar ortaya koymuştur (Bosetti ve ark., 2020). Aspirin kullanan kolorektal kanserli hastalarda aspirin kullanmayan kolorektal kanserli hastalara kıyasla daha az agresif tümör ve daha iyi sağkalım olduğu bildirilmiştir (Lin ve ark., 2020). ABD Önleyici Hizmetler Görev birimi tarafından kardiyovasküler hastalık riski bulunan 50'lili yaşlardaki hastaların kalp damar hastalığı ve kolorektal kanserden korunmak için her gün düşük dozlarda aspirin kullanmalarını önermektedir (Chubak ve ark., 2015).

Yukarıdaki açıklamalardan da açık bir şekilde görüleceği üzere kolorektal kanserlerin genellikle batı tarzı beslenme ve sedanter yaşam birlikteliğiyle ilişkili olduğu görülmektedir. Bu bağlamda kırmızı et tüketimi, obezite, sigara, alkol tüketimi önemli değiştirilebilir risk faktörleri arasında yer almaktadır. Buna karşın tam tahıllı diyetle beslenme, yeterli kalsiyum ve D vitamini alımı, meyve ve sebze tüketimi, aspirin ve NSAİD kullanımı gibi durumların ise kolorektal kanser gelişimini azaltıcı etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (Kune ve Watson, 2006).

#### **1.2.2.3. Cinsiyet**

Kolorektal kanserli genç kadınlar genç erkeklerden daha uzun süre hayatta kalmakta olup, bu durum hormonal açıdan kolorektal kanserin gelişimi ve patogeneğinde önemli bir rol oynamakla kalmıyor, aynı zamanda prognostik olarak da önem taşıyor (Hendifar ve ark., 2009). Kolorektal kanser erkeklerde kadınlara göre daha yüksek bir insidans gösterir ve daha erken yaşta ortaya çıkar (Douaiher ve ark., 2017).

#### **1.2.2.4. Genetik Faktörler**

Kolorektal kanser önemli ölçüde sporadik gelişim göstermekle beraber hastaların yaklaşık olarak %30'unun ailesinde hastalık öyküsü söz konusudur. Bunların da yaklaşık %5'inin kalıtsal genetik anomaliden kaynaklı olduğu bildirilmiştir (Patel ve Ahnen, 2012). Kolorektal kanser tanılı birinci dereceden akrabası bulunan hastalarda bu tanı öyküsüne ve aynı zamanda kolorektal kanser tanılı akraba sayısına bağlı olarak kolorektal kanser tanılı aile öyküsü bulunmayanlara göre kolorektal kanser gelişme riskinin yaklaşık 2 kat fazla olduğu, birden çok kolorektal kanser tanılı akrabaya sahip olmanın ve daha genç olmanın da bu riski artırdığı bildirilmiştir (Butterworth ve ark., 2006). Yakın tarihli araştırmalar aile riskinin birinci dereceden akrabaların da ötesine geçtiğini göstermiştir (Samadder ve ark., 2014). Adenom

tanısı konulan hastalarla birinci ya da ikinci dereceden akraba olan bireylerde de kolorektal kanser riskinin biraz arttığı bildirilmiştir. Kolorektal kanser olgularının olduğu ailelerin büyük bölümünde riski bariz bir şekilde artırmakta olan etkenin ender kalıtsal sendromlardan ziyade hastalık riskinde artışa yol açan ve nispeten daha yaygın olan genetiksel varyasyonların yaşam tarzıyla ilişki etkenlerle beraber kümülatif etkisinden kaynaklı olduğu ifade edilmektedir (Peters ve ark., 2012). Karakterize edilmiş olan kalıtsal sendromlar bütün kolorektal kanserlerin yaklaşık %5'ini teşkil etmekte olup spesifik gen mutasyonlarıyla ilişkili olduğu bildirilmiştir (Patel ve Ahnen, 2012).

En yaygın kalıtsal kolorektal kanser türü olan herediter non-polipoid kolorektal kanserler (HNPCC) otozomal dominant kalıtım neticesinde meydana gelmektedir (Yeğinboy ve ark., 1995). Yapılan çalışmalar sonucunda Lynch sendromlu bireylerin endometrium, over, ince barsak ve mide kanseri de dahil pek çok başka organ kanserleri açısından da risk altında olduğu saptanmıştır (Bonadona ve ark., 2011).

Polipozis sendromlarında kolon ve diğer organ kanserlerine yakalanma riski yüksektir. Polip tipleri (adenomatöz, tırtıklı) çeşitlilik göstermekte olup, görülen polip tipine, ortaya çıkma yaşına, poliplerin üst/alt gastrointestinal sistem dağılımına, polip sayısına ve bağırsak dışı bulgulara göre kategorize edilmektedir (Konishi ve Morson, 1982; Boland ve Kim, 1983; Dölek ve ark., 2013; Itzkowitz ve Potack, 2016). Bu sendromlar otozomal dominant kalıtım gösterirken, MUTHY-ilişkili polipozis (MAP) otozomal resesif kalıtım göstermektedir (Van ve ark., 2008; Valle, 2014). Polipozis sendromları kalıtsal (adenomatöz polipozis sendromları, hamartomatöz polipozis sendromları vb.) ve kalıtsal olmayan polipozis sendromları şeklinde gruplandırılabilir. Adenomatöz poliplerin bulunmadığı gastrointestinal polipozis sendromlarında genellikle hiperplastik, hamartomatöz veya inflamatuvar tipte polipler bulunur (örn. "Tırtıklı" polipozis sendromu, Peutz-Jeghers sendromu). Çoğunlukla hiperplastik, hamartomatöz veya inflamatuvar tipteki poliplerin displazi veya karsinom geliştirmesi beklenmez ancak polipozis sendromuna eşlik eden vakalarda görülebilmektedir (Rawla ve ark., 2019) (Tablo 1.1).

**Tablo 1. 1** Herediter kalıtım bulunduran kolorektal kanser sendromları

SENDROMLAR
Otozomal dominant kalıtımlı kolorektal kanser
Polip bulundurmıyan veya birkaç adenomatöz polip içeren
- Lynch Sendrom
Adenomatöz polip bulunduranlar
-FAP ve Atenu FAP (AFAP)
-Gardner Sendromu, Turcot Sendromu <sup>1</sup>
Hamatomatöz / mikst /hiperplastik polipler bulunduran
-Peutz-Jeghers Sendromu (PJS)
-Jüvenil Polipozis Sendromu (JPS)
-Herediter hemorajik telenjektazi sendromu (HHT)*
-“Serrated” polipozis sendromu*
-Herediter mikst polipozis sendromu (HMPS)*
-PTEN hamartoma sendrom (Cowden Sendrom/ Bannayan-Ruvalcaba – Riley Sendromları)*
-Birt-Hogg-Dube Sendromu*
Otozomal resesif kalıtımlı kolorektal kanser
Adenomatöz, serrated adenoma ve hiperplastik polipler
-MUTHY ilişkili polipozis (MAP) <sup>2</sup>

<sup>1</sup>Turcot sendromu: Lynch Sendromu varyantı veya beyin tümörlerinin FAP’e eşlik etmesi

<sup>2</sup>Muir-Torre Sendromu: Lynch Sendromu varyantı veya sebace gland tümörlerinin MAP’e eşlik etmesi

\*Kolorektal kanser riski belli değil (Jasperson ve ark., 2010)

#### 1.2.2.5. Adenomlar

Tek yahut birden çok sayıda görülebilen, kolon kanseri gelişiminin habercisi olabilen benign glandular neoplazilerdir (Colucci ve ark., 2003). 40 yaş öncesinde adenomatöz polip prevalansı %20-30 arasında değişmekte iken bu oran 60 yaş üzerinde %40-50’ye kadar çıkmaktadır (Hamilton ve Aaltonen, 2006). Kadınlarda ve erkeklerde eşit oranlarda olup adenomatöz polipler histolojik açıdan epitelde hiperselülarite, hiperkromatik nükleus, farklı düzeyde stratifikasyon ve polarite kaybıyla karakterizedir (Burgart, 2002; Hamilton ve Aaltonen, 2006; Savaş ve ark., 2007). Makroskobik olarak pediküllü, sesi veya saplı adenomlar şeklinde üçe ayrılmakta iken yapılarına göre ise tubular, villoz ve tubuvilloz olmak üzere üçe ayrılırlar (Savaş ve ark., 2007). Tanımlanmış genetik yatkınlığı bulunan sendromların haricinde bile aile öyküsü önemli risk faktörlerindedir. Birinci derece yakınında kolorektal kanser öyküsü bulunanlarda yaklaşık iki kat risk artışı söz konusudur (Tuohy ve ark., 2014; Erçolak, 2016).

#### **1.2.2.6. Çevresel Faktörler**

Çevresel faktörlere bağlı olarak gelişen çoğu hastalıkta olduğu gibi kolorektal kanser gelişiminde de yaşam tarzı, maruziyet hikayesi önem taşımaktadır (Lüthy, 2001; Taşçıoğlu ve ark., 2006). Düşük ve orta gelir düzeyine sahip ülkelerde nüfus artışı ve ölüm yaşının artmasına bağlı olarak nüfusun yaşlanması, yaşam tarzının batılı yaşam tarzına evrilmesi ve tütün tüketimindeki artışla beraber kanser yükünde ciddi artış olduğu bildirilmektedir (Haggar ve Boushey, 2009).

#### **1.2.2.7. Sigara**

Kolorektal kanser sıklığı ve yüksek mortalitesi sigara içimi ile önemli ölçüde ilişkilidir (Botteri ve ark., 2008). Küçük yaşlarda sigaraya başlama ve uzun süreli sigara kullanımının kolorektal kanseri açısından önemli risk faktörlerinin başında yer aldığı bildirilmektedir (Giovannucci ve ark., 1994). Hem erkeklerde hem de kadınlarda günde bir paket sigaradan kaynaklanan kolon kanseri riskinde yaklaşık %50 artış görülmekte olup sigarayı bırakanlar, 10 yıldan fazla bir süre önce bırakmış olsalar bile risk altındadır (Slattery ve ark., 1997).

#### **1.2.2.8. Alkol**

Dünya Kanser Araştırma Fonu (WCRF) / Amerikan Kanser Araştırma Enstitüsü (AICR) tarafından yapılan en son literatür taraması, alkollü içeceklerin kolorektal kanser için bir risk faktörü olduğuna dair kanıtların, günde yaklaşık 30 g'ın üzerindeki alımlar için kanıtlara dayalı olarak ikna edici olduğu sonucuna varmıştır. Yapılan bir meta-analiz çalışmasında, günlük alkol tüketiminde 10 g'lık bir artışın, kolorektal kanser riskini genel olarak %7, erkekler için %8 ve kadınlar için %4 artırdığı görülmüştür. Coğrafi konumlarda (Avrupa, Kuzey Amerika ve Asya), anatomik tümör alt bölgelerinde (kolon ve rektum) ve alkollü içecek türlerinde (şarap, bira ve alkollü içkiler) alkol tüketimiyle ilgili artan risk de gözlenmiştir. Bira ve şarap tüketimi kolorektal kanser riskiyle pozitif olarak ilişkili bulunmuştur (Park ve ark., 2019; <https://www.wcrf.org/sites/default/files/Colorectal-cancer-report.pdf>).

### **1.2.2.9. Obezite**

Aşırı kilo ve obezite, her yıl en az 2,8 milyon yetişkin ölümüne neden olan genel ölüm oranı için beşinci ana riski oluşturmaktadır. Ayrıca, kolorektal kanser vakalarının yaklaşık %11'i, Avrupa'da aşırı kilo ve obeziteye bağlanmıştır. Epidemiyolojik veriler, erkeklerde obezitenin %30-70 oranında kolon kanseri riskinde artışa neden olduğunu, kadınlarda ise bu ilişkinin daha az tutarlı olduğunu göstermektedir. Risk daha düşük görülmüşse, kolorektal adenom için benzer eğilimler mevcuttur. Obeziteyi kolorektal kansere bağlayan mekanizmalar hala tartışma konusudur, ancak metabolik sendrom, insülin direnci ve adipositokin düzeylerindeki değişiklikler büyük önem taşıyor gibi görünmektedir (Bardou ve ark., 2013).

### **1.2.2.10. Fiziksel Aktivite**

Yapılan düzenli fiziksel aktivite kolorektal kanserden korumaktadır. Daha yüksek fiziksel aktivite seviyesi kolorektal kanser riski arasında potansiyel olarak nedensel bir ilişkiyi desteklemektedir. Bu verilere dayanarak, fiziksel aktivitenin teşvik edilmesi, bu yaygın olarak teşhis edilen kanserlerin birincil önlenmesinde muhtemelen etkili bir stratejidir (Papadimitriou ve ark., 2020).

### **1.2.2.11. Tümörün Evrenmesi**

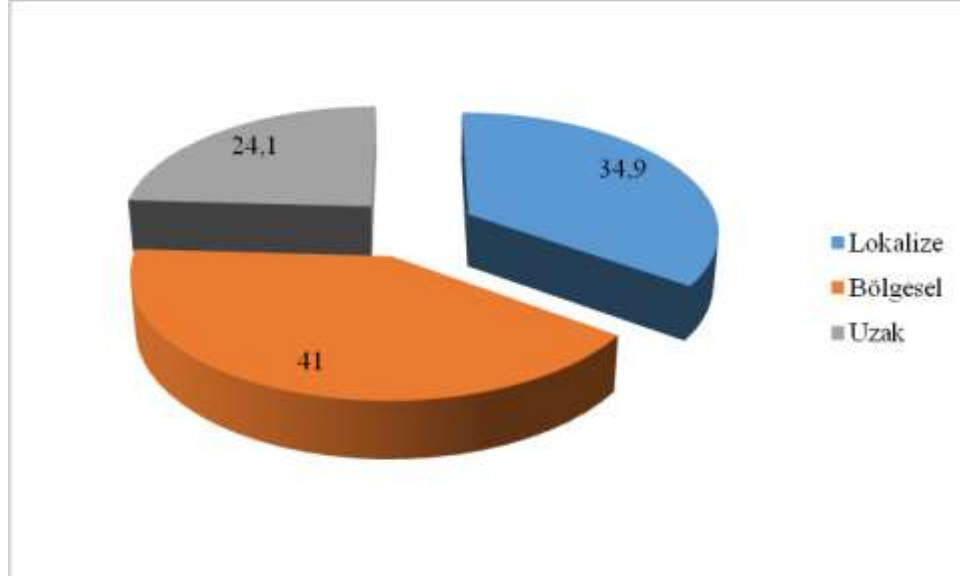
Hastalığın evresi kolorektal kanser tedavisinde sağkalım üzerinde etkili olan en önemli faktördür (Akkoca ve ark., 2014). Tanılama yöntemleriyle tümör evresi ve derecesinin belirlenmesi hedefe yönelik tedavi yaklaşımlarının planlanması açısından önemlidir (Öztop, 2019). Tümörün evrelemesi için çok sayıda sınıflama yöntemi kullanılmış olmakla beraber günümüzde Amerikan Kanser Ortak Komitesi (The American Joint Committee On Cancer –AJCC) ve Ulusal Kanser Birliği (International Association of Cancer -UICC) tarafından oluşturulmuş olan TNM sınıflama sistemi en yaygın olarak kullanılan tümör sınıflama sistemidir (Tablo 1.2). Tedaviye karar vermede günümüzde bu sınıflama sistemi kullanılmaktadır (Fenoglio-Preiser ve ark., 1999; Ballinger ve Anggiansah, 2007; Akkoca ve ark., 2014). Sınıflandırmada yaşam süresiyle ilişkili olan tümörün barsak duvarındaki penetrasyon derinliği ile lenf nodu tutulum sayısı iki önemli faktör olarak öne çıkmaktadır (Compton ve Greene, 2004).

**Tablo 1. 2** AJCC kolorektal kanser evreleme sistemi

<b>T Primer Tümör</b>
Tx Yayılım derinliğinin belirlenemediği tümör
T0 Klinik olarak tümör yok
Tis Karsinoma insitu ve intramukozal (lamina propria içinde)
T1 Tümör submukozaya invaze
T2 Muskularis propria tutulumu
T3 Seroza ve adventisya tutulumu
T4 Periton boşluğu ve komşu organlara invazyon varlığı
N Bölgesel Lenf Bezi Tutulumu
Nx Lenf bezi tutulumu değerlendirilmemiş
N0 Lenf bezi tutulumu yok
N1 Perikolik veya perirektal lenf bezlerinde 4'ün altında tutulum varlığı.
N2 Perikolik veya perirektal lenf bezlerinde 4 ve üzerinde tutulum varlığı.
M: Uzak Metastaz
Mx: Değerlendirilmemiş
M0: Bilinen uzak metastaz yok
M1: Uzak metastaz var
Evrelendirme;
Evre 0: Tis N0 M0
Evre I: T1-2 N0 M0
Evre IIA: T3 N0 M0
Evre IIB: T4 N0 M0
Evre IIIA: T1-2 N1 M0
Evre IIIB: T3-4 N1 M0
Evre IIIC: Herhangi T N2 M0
Evre IV: Herhangi T Herhangi N, M1

TNM sınıflandırma sistemi cerrahi rezeksiyonla alınıp incelenen numuneyle belirlenen patolojik evrelemeye ilişkin bilgileri, hastalığın boyutuyla ilgili en doğru ve güvenilir şekilde evreleme olarak kabul edilir. Bu evreleme sistemi aynı zamanda adjuvan tedavinin operasyondan sonra doğru olarak uygulanabilmesine dair de yol göstericidir. Sınıflandırma sistemiyle tespit edilen patolojik veriler ve tanılayıcı özellikler tümörlerin farklı risk kategorilerine ayrılmasına katkı sağlayabilmektedir. Tüm kanser türlerinde olduğu gibi kolorektal kanserde de doğru evreleme hastalığın belirtisi, tedavi yaklaşımları ve klinik uygulama sonuçlarının anlaşılmasında temel teşkil etmektedir (Compton ve Greene, 2004).

Kolorektal kanser evrelerinin yüzde dağılımları Şekil 1.7'de verilmiştir.

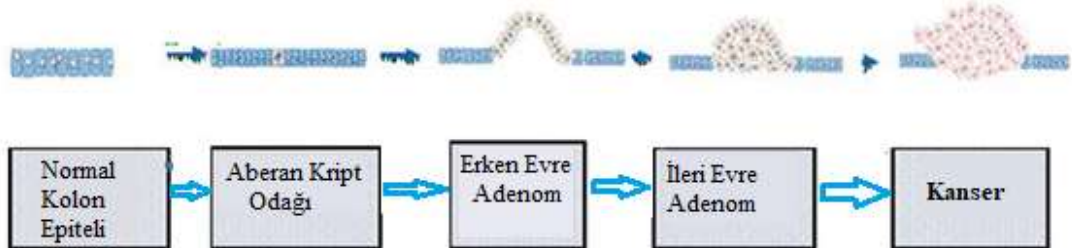


**Şekil 1. 7** Kolorektal kanserler evrelerinin yüzde dağılımları (Türkiye birleşik veri tabanı, 2016) (Türkiye kanser istatistikleri, 2016)

### 1.3. Kolorektal Kanserin Moleküler Mekanizması

#### 1.3.1. Adenom-Karsinom Ardışıklığı

Kolorektal kanser normal glandüler epitelin invaziv kanser haline geldiği genetik ve epigenetiksel değişikliklerin birikimi şeklinde ifade edilebilir. Vogelstein ve Fearon normal kolon epitelinin adenoma, invaziv kansere ve metastatik kansere dönüşümünü içeren aşamaları tanımladılar (Şekil 1.8) (Vogelstein ve ark., 1988; Canbay ve Buğra, 2011). Model ilk tanımlandığı zaman tübüler ve tübülovillöz adenomların kansere ilerlediği bildirilmiş olup sonrasında ise sesil serrated adenomlar ve klasik serrated adenomların da kansere yol açma potansiyelinin olduğu belirtilmiştir (Jass, 2004; Goldstein, 2006).



**Şekil 1. 8** Kolorektal karsinogenezisde adenom-karsinom ardışıklığı (Canbay ve Buğra, 2011)

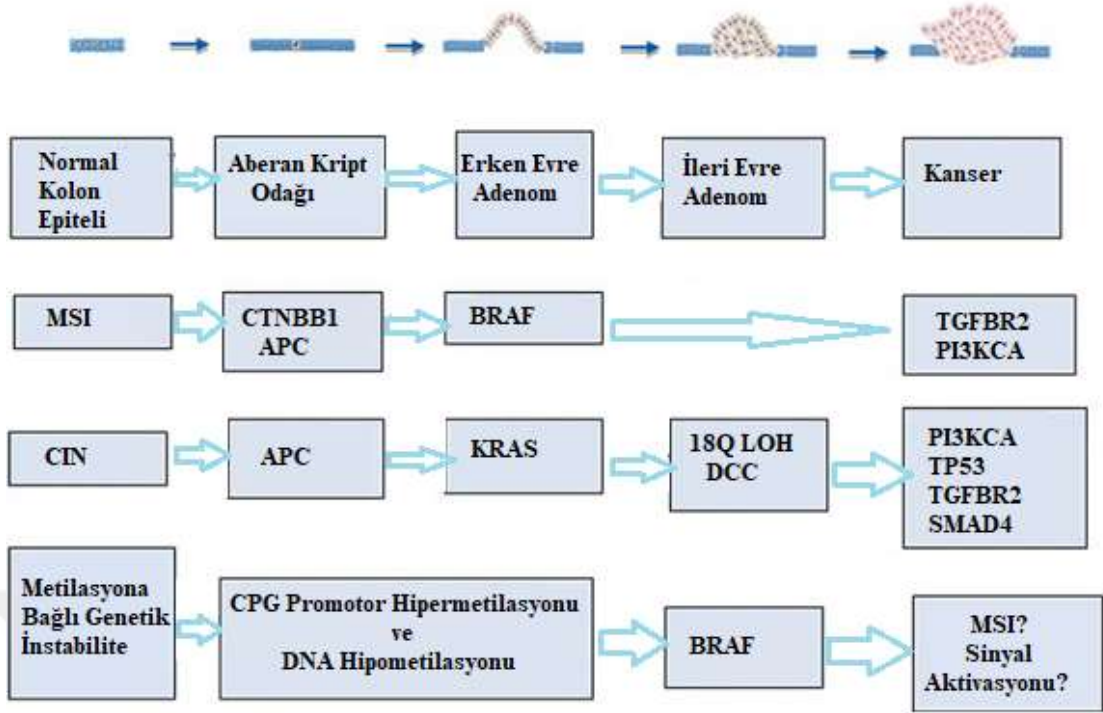
Konu üzerinde gerçekleştirilen araştırmalar neticesinde klasik ve sesil serrated (sapsız testereli) poliplerin kanser dönüşümünün mikrosatellit kararsızlığı (MSI), CpG adacıklarında yoğun DNA metilasyonu (CIMP) ve BRAF V600E mutasyonu ile tübüler adenomatöz poliplerin kansere dönüşümünün ise adenomatöz polipozis koli (APC) gen inaktivasyonu ve kromozom kararsızlığı (CIN) ile ilişkili olduğu saptanmıştır (Tablo 1.3) (Noffsinger, 2009; Canbay ve Buğra, 2011).

**Tablo 1. 3** Kolorektal karsinogenezde serrated ve tübüler adenomatöz poliplerin kansere dönüşümünde rol oynayan genetik değişiklikler (Canbay ve Buğra, 2011)

Genetik Değişiklikler	Serrated Polipler	Tübüler Adenomatöz Polipler
MSI	+	-
CIMP	+	-
BRAF V600E Mutasyonu	+	-
APC Gen İnaktivasyonu Sonucu Gelişen CIN	-	+

### 1.3.2. Genomik ve Epigenomik İnstabilite ve Kromozomal Değişiklikler

Kolorektal karsinogenezin en önemli basamağı genomik ve epigenomik instabilitedir (Şekil 1.9). CIN, CIMP, MSI ve yaygın DNA hipometilasyonu şeklinde 4 tip genomik ve epigenomik instabilite tanımlanmıştır (Little ve ark., 2008; Hanahan ve Weinberg, 2000; Canbay ve Buğra, 2011).



**Şekil 1. 9** Kolorektal karsinogenezisde epigenetik ve genetik instabilite ve kansere dönüşüm basamakları (Canbay ve Buğra, 2011)

### 1.3.2.1. Kromozomal İnstabilite

Kolorektal kanser vakalarının %85'inde en yaygın görülen durumlardan birisi kromozomal instabilite olup CIN'nin klonal farklılıkta artışa neden olarak kansere sebep olduğu ileri sürülmektedir. Konu üzerine gerçekleştirilen çalışmalarda da CIN'nin kolorektal kanserin kötü prognostik faktörlerden birisi olduğu gösterilmiştir (Popat ve Houlston 2005; Grady ve Carethers, 2008; Walther ve ark., 2008; Canbay ve Buğra, 2011).

### 1.3.2.2. Mikrosatellit İnstabilite

Mikrosatellitler insan genomundaki 1-6 baz çift uzunluğa sahip diziler olup, insan genomunda 100.000'in üzerinde mikrosatellite sahip olduğu bilinmektedir. Kolorektal kanser vakalarının %15'inde mikrosatellit instabilitesi (MSI) görülmekte olup *MLH1*, *MSH2*, *PMS2* ve *MSH6* genlerinin inaktivasyonuna bağlı olarak oluşur. Replikasyon esnasında DNA'da yanlış eşleşme hatası MMR genleriyle tespit edilir. *MLH1* ve/veya *PMS2* heterodimeri de belirlenen bu hatayı kesmek suretiyle DNA zincirinin düzeltilmesine katkıda bulunur. MMR sisteminde meydana gelen hatalar

MMR aktivite kaybına yol açar ki bu da hipermutator fenotip olan MSI oluşumuna neden olur. Sporatik kolorektal kanser olgularında MSI epigenetik değişikliklere bağlı olarak oluşur. **MLH1** promotorundaki metilasyon genin sessizliğine yol açarak MSI'ye neden olur (Gupta ve ark., 2018; Satorres ve ark., 2020).

### 1.3.2.3. CpG Adacık Hipermetilasyonu

CpG adacıkları, genellikle 500 bp'den uzun tekrarlayan sitozin-guanozin kalıntılarından oluşan DNA bölgeleridir ve promotörlerin, insan genomunun %50'sinde CpG adacıklarına gömülü olduğu bulunmuştur. CpG adacıklarının promotörlerinin anormal metilasyonu, tümör genlerinin inaktivasyonu ile ilgili en önemli epigenetik mekanizmalar arasında yer alır ve bu epigenetik değişiklik, DNA onarım sistemi, hücre döngüsünün düzenlenmesi, apoptoz, anjiyogenez inhibisyonu gibi mekanizmaların inaktivasyonuna yol açar. Yapılan çalışmalar sonucunda kolorektal kanser alt grubunda birçok metillenmiş CpG adacıklarının aynı anda karakterize edildiği ve birçok tümör geninin inaktif olduğu belirlendi. CIMP olarak adlandırılan bu alt grup, cinsiyet, kolonik baskınlık, zayıf ve müsinöz histoloji ve sık KRAS veya BRAF mutasyonları dahil olmak üzere benzersiz klinikopatolojik ve moleküler özelliklere sahiptir. CIMP-pozitif kolorektal kanserin çoğunlukla istenmeyen prognozla ilişkili olduğu ve bu özelliğin MSI ve KRAS veya BRAF mutasyonlarının varlığından bağımsız olduğu belirlenmiştir (Jia ve ark. 2016). CIMP pozitif kolorektal kanserlerin büyük kısmı bir MSI fenotipi sergilediği için CIMP pozitif kolorektal kanserlerin klinopatolojik özellikleri ile MSI kolorektal kanserleri birbiriyle çakışır. CIMP pozitif MSS kolorektal kanserleri CIMP pozitif MSI kolorektal kanserlere benzer şekilde yüksek BRAFV600E mutasyonu frekansıyla karakterize edilirler. APC mutasyonları ve WNT/CTNNB1 sinyal yolağını aktivasyonu ile CIMP arasında negatif yönlü bir ilişki söz konusudur (East ve ark., 2017). Konu üzerine gerçekleştirilen araştırmalarda sporadik kanser gelişiminde etkili olan MSI ve CIMP arasındaki ilişkiyi destekler nitelikte sonuçlar elde edilmiştir (Tablo 1.4) (Weisenberger ve ark., 2006; Barault ve ark., 2008; Canbay ve Buğra, 2011).

**Tablo 1. 4** Herediter ve sporadik kolorektal kanserlerdeki genetik ve epigenetik değişiklikler (Canbay ve Buğra, 2011)

Genetik/Epigenetik Değişiklikler	HNPCC (Lynch Sendromu)	Famlyal Adenomatöz Polipozis Koli	Sporadik Kolorektal Kanserler
MMR inaktivasyonu ile MMR protein kaybı	+	-	-
MLH1, MSH2, MSH6 PMS 2 germline mutasyonu	+	-	-
MLH1 hipermetilasyonu	-	-	+
BRAF V600E mutasyonu	+	-	-
APC gen mutasyonu	-	+	-
CIN	-	+	-

#### 1.4. Kolorektal Kanserde Biyobelirteçler

Kolorektal kanser dünya genelinde en fazla görülen 3. kanser tipi olmasına karşın hastaların %10'undan fazlasına tanı konulduğunda genellikle hastaların ileri evrelere ulaştığı ve diğer doku ya da organlara metastaz yaptığı görülmektedir. Dolayısıyla kolorektal kanser mortalitesindeki artışta erken dönemde teşhis edilememesi büyük rol oynamaktadır. Bu nedenle biyobelirteçler erken tanı ve kişiselleştirilmiş tedavi yaklaşımının seçilmesi açısından son derece önemlidir (Yiu ve Yiu, 2016; Aghagolzadeh ve Radpour, 2016).

Kanser biyobelirteçleri tümör hücrelerince veya tümöre karşı yanıt olarak diğer vücut hücrelerince üretilmekte olan biyomoleküllerdir. Bunlar kanser taramaları, erken tanı, prognostik veya genel sonucun öngörülmesinde kullanılan önemli biyomoleküllerdir. Aynı zamanda belli bir tedaviye olumlu yanıt verme ihtimali en yüksek hasta alt popülasyonlarının belirlenmesinde de katkı sağlamaktadırlar. Biyobelirteçler, kanda, idrarda, dokularda veya diğer vücut sıvılarında tespit edilebilen spesifik hücreler, hormonlar, enzimler, moleküller, genler ve/veya gen ürünlerini içeren son derece geniş bir biyomolekül grubudur. Özellikle görülme sıklığı ve ölüm oranı yüksek olan kanser türleri açısından biyobelirteç tanımlama aşamasında ilgili kriterlerin doğru değerlendirilmesi ve hedefe en uygun biyobelirteçlerin tanımlanması oldukça önemlidir. İdeal biyobelirteç, kanserli ve iyi huylu vakalar arasında ve agresif tümörler ile agresif olmayanlar arasında iyi ayırım yapma potansiyeline sahip olmalıdır. Bununla birlikte, ideal bir biyobelirtecin

özellikleri farklılık gösterir ve bu da onların sınıflandırılmasını ve uygulanmasını sınırlar. İdeal bir biyobelirtecine sahip olması gereken özellikler şu şekilde sıralanabilir (Kamel ve Al-Amodi, 2016):

- Yüksek klinik duyarlılık: İlgili spesifik kansere sahip olan bütün hastalarca üretilmelidir.
- Yüksek klinik spesifiklik: Yanlış negatiflik oranının düşük olması gerekir.
- Organ/dokuya özgü sentezlenmelidir.
- Kantitatif olarak tümör hacmi yahut hastalığın progresyonuyla doğru orantılı olmalıdır.
- Yarı ömrü kısa olmalı: Tedavinin uygun olarak takibi açısından tümör yükündeki herhangi erken bir değişikliği hızlıca yansıtabilmelidir.
- Sağlıklı bireylerin ve iyi huylu hastalıkları olan kişilerin serumunda (varsa) düşük düzeyde bulunmalıdır.
- Metastatik tümörler için ayırt edici olmalıdır.
- Kantitatif, standartlaştırılmış, tekrarlanabilir ve doğrulanmış testler mevcut olmalıdır.
- Ucuz bir tespit yöntemine sahip olmalıdır.
- Non-invaziv olarak elde edilmelidir.

#### **1.4.1. Klasik Tümör Belirteçleri**

Karsinoembriyonik antijen (CEA) pek çok epitelyum tümöründe eksprese edilmekte olan serum glikoproteinlerinden birisidir. Fetal gelişim esnasında üretilen CEA hücre adhezyonunda rol oynar. Doğum ile birlikte üretimi çoğunlukla durmaktadır. Doğum sonrasında sağlıklı bireylerde CEA ekspresyonu önemli oranda inhibe edilmiş olup oldukça düşük plazma CEA düzeyleri ölçülür. Fakat akciğer, meme, pankreas ve kolorektal kanserli bireylerde, sigara kullananlarda, akciğer sirozu, diyabet, sarılık, kronik böbrek yetmezliği gibi hastalığı olanlarda yüksek düzeyler saptanabilmektedir (Nicholson ve ark., 2015).

İlk kez 1965'te tanımlanmış olan CEA bilhassa kolon ve rektum dokularında ve adenokarsinomlarda fazla eksprese edilir. Tanı konulması esnasında kolorektal kanser hastalarının yaklaşık %70'inde CEA değeri yüksek olup bu da CEA'nın iyi

bir biyobelirteç olduğunu gösterir. CEA, kolorektal kanser hücrelerinin akciğer ve karaciğere metastaz yapmasını kolaylaştırabilmektedir. Ameliyat sonrasındaki CEA düzeyleri önemli prognostik göstergelerden birisi olup ameliyattan sonraki yüksek CEA düzeylerinin 4-6 hafta içerisinde normale dönmesi gerekir. Normale dönmeyen CEA düzeyi olumsuz prognostik bir belirteçtir (Quentmeier ve ark., 1987; Bolocan ve ark., 2015; Jelski ve Mroczko, 2020).

CA 19-9 (Karbonhidrat Antijeni), kolorektal kanser teşhisinde kullanılan ve kana salınabilecek yüksek molekül ağırlıkla karakterize bir glikoproteindir. Adenokarsinomlarca üretilmekte olup kolon, mide, endometrial epitelyum ile insan pankreas ve safra kanalı hücreleri tarafından sentezlenir. Sağlıklı bireylerin serum örneklerinde düşük düzeyde bulunmasına karşın gastrointestinal hastalıklar ve pankreatit gibi durumlarda aşırı eksprese edilmektedir. Bu bağlamda da gastrointestinal kanserlerde kullanılan önemli prognostik belirteçlerden birisi olarak değerlendirilmektedir (Scarà ve ark., 2015).

Fekal gizli kan testi (FOBT) kolorektal kanser taramalarında kullanılmakta olan en önemli dışkı testi olup tarama protokollerinin ilk aşamasında kullanılır. Uygulanması kolay, ucuz ve özgüllüğü yüksek (%98-99) bir testtir. Bu testin kolorektal kanser mortalitesinde %11-33, insidansında ise %17-20'lik bir azalma sağladığı bildirilmiştir. Spesifikliğı yüksek olmakla beraber duyarlılığı düşüktür. Kırmızı et ve C vitamini gibi besin kaynakları testin pozitif çıkmasına yol açabilmektedir. Diğer bir dezavantajı ise adenomların büyüklüğü ile ilgilidir. Çelişkili olarak kolon bölgesinden bağımsız bir şekilde 1 cm'den küçük adenomlar 1.5-2 cm boyutlarındaki adenomlara göre daha sık kanamaya yol açtığından kolon adenomlu hastaların %40'ından azında FOBT sonucu pozitif çıkmaktadır (Dickinson ve ark., 2015; Iannone ve ark., 2016).

#### **1.4.2. Moleküler Biyobelirteçler**

İnsan *RAS* (Resistance to Audiogenic Seizures) gen ailesi nöroblastom *RAS* viral onkogen homologu (*NRAS*), Kirsten *RAS* (*KRAS*) ve Harvey sıçan sarkol viral onkogen homologu (*HRAS*) şeklinde 3 üye içermekte olup bunlar da *NRAS*, *KRAS4A-B* ve *HRAS* isimli 4 protein üretir (Hobbs ve ark., 2016). Belirtilen proteinler GTPaz enzim aktiviteleriyle hücre dışı sinyalleri (Büyüme ve farklılaşma

gibi) çekirdekdeki hücre siklusu proteinlerine ileterek hücre büyümesi, farklılaşması, çoğalması ve hayatta kalmasında rol oynarlar (Quinlan ve Settleman, 2009; Prior ve ark., 2012). RAS gen ailesi üyelerindeki işlev kazandıran (Gain of Function) yanlış anlam (Missense) mutasyonları bütün insan kanserlerinin yaklaşık ¼'ünde tespit edilmiş olup bu mutasyonlar çoğunlukla tek nükleotid nokta mutasyonlarıdır ve birkaç hotspot bölgede (ekzon 2'deki 12 ve 13. kodonlar, ekzon 3'teki 59-61 kodonlar ve ekzon 4'teki 117 ve 146 kodonlar) bulunurlar (Maffeis ve ark., 2019).

*KRAS* bütün kanser türlerinin yaklaşık %20'sinde görülen en yaygın mutasyona uğramış izoform iken *NRAS* ve *HRAS* mutasyonları ise tüm kanserlerin sırasıyla %8'inde ve %3'ünde bulunur. Kolorektal kanserde *KRAS* mutasyon oranı %30-50 arasında değişmektedir (Bos, 1989; Edkins ve ark., 2006; Santini ve ark., 2008; Van Cutsem ve ark., 2016). *KRAS* mutasyonunun prognostik değeri üzerine yapılan çok sayıda çalışmada metastatik kolorektal kanserlerde *KRAS* mutasyonu ile kötü prognoz arasında ilişki olduğu saptanmıştır (Peluso ve ark., 2017).

RAF (Rapidly Accelerated Fibrosarcoma) gen ailesi *ARAF*, *BRAF* ve *RAF1* olmak üzere 3 adet serin/treonin kinaz içerir. Bunlardan *BRAF* bir serin/treonin protein kinazı kodlamakta olup RAS/RAF/MEK/ERK mitojen ile aktive edilen protein kinaz (MAPK) sinyal yolağında farklılaşma, proliferasyon ve sağkalım mekanizmalarının yönetiminde sorumludur (Aghagolzadeh ve ark., 2016). *BRAF* mutasyonu kolorektal kanser vakalarının %7-10'unda bulunur (Strickler ve ark., 2017).

*APC* (Adenomatosis poliposis koli) geni, kolorektal kanser karsinogenez sürecindeki önemli tümör genlerinden birisidir. Hücreler arası iletişim, proliferasyon ve transkripsiyon gibi işlevleri bulunmakta olup temel işlevi protein beta-katenin interaksiyonuyla Wnt sinyal yolağının regülasyonudur (Raskov ve ark., 2014; Zhang ve Shay, 2017).

*TP53* geni bir transkripsiyon faktörünü kodlamakta olup DNA onarımı, hücresel stres, apoptoz ve anjiyogenezden sorumlu gendir. İnsan malignitelerinin yaklaşık %50'si tümör p53 geninde mutasyon içermekte olup bu oran kolorektal kanserler vakalarında %50-70 arasındadır. Tümör genlerindeki sürücü (Driver) mutasyonlar protein fonksiyonunun veya ifadesinin kaybolmasına yol açar. *TP53* fonksiyon kaybı tümör oluşumunda önemli bir role sahip olup bu gende meydana gelen değişiklikler

kolon kanserinde sıkça CIN fenotipiyle ilişkili ve MSI tümör fenotipiyle de ters ilişkiye sahiptir. Yapılan çalışmalar sonucunda *TP53* genindeki mutasyonların kolorektal kanserlerde kötü prognoz ile ilişkili olduğu saptanmıştır (Tejpar ve ark., 2010; Li ve ark., 2015; Cuyle ve Prenen, 2017).

## **1.5. MikroRNA**

### **1.5.1. Tanım ve Tarihçe**

MikroRNA'lar (miRNA), 19-23 nükleotid uzunluğunda, küçük RNA'ların (small RNA) bir üyesi olup, protein kodlamayan, tek iplikli, transkripsiyon sonrası gen ekspresyonunu düzenleyen küçük endojen RNA'lardır (Lu ve Rothenberg, 2018). miRNA'ların büyük çoğunluğu protein kodlayan genlerin intronik bölgelerinde bulunmaktadır, ancak genler arası bölgelerde veya eksonlarda da bulunabilirler. miRNA'lar, DNA'dan transkripsiyonu yapılan ancak proteine çevirisi yapılmayan genler tarafından kodlanmaktadır. 271 organizmada yaklaşık 40.000 miRNA tespit edilmiş olup insanlarda yaklaşık 20.000 miRNA tanımlanmıştır. miRNA'ların çeşitli biyolojik ve patolojik durumlarda düzenleyici olarak fonksiyon gördükleri bilinmektedir (Kozomara ve ark., 2019).

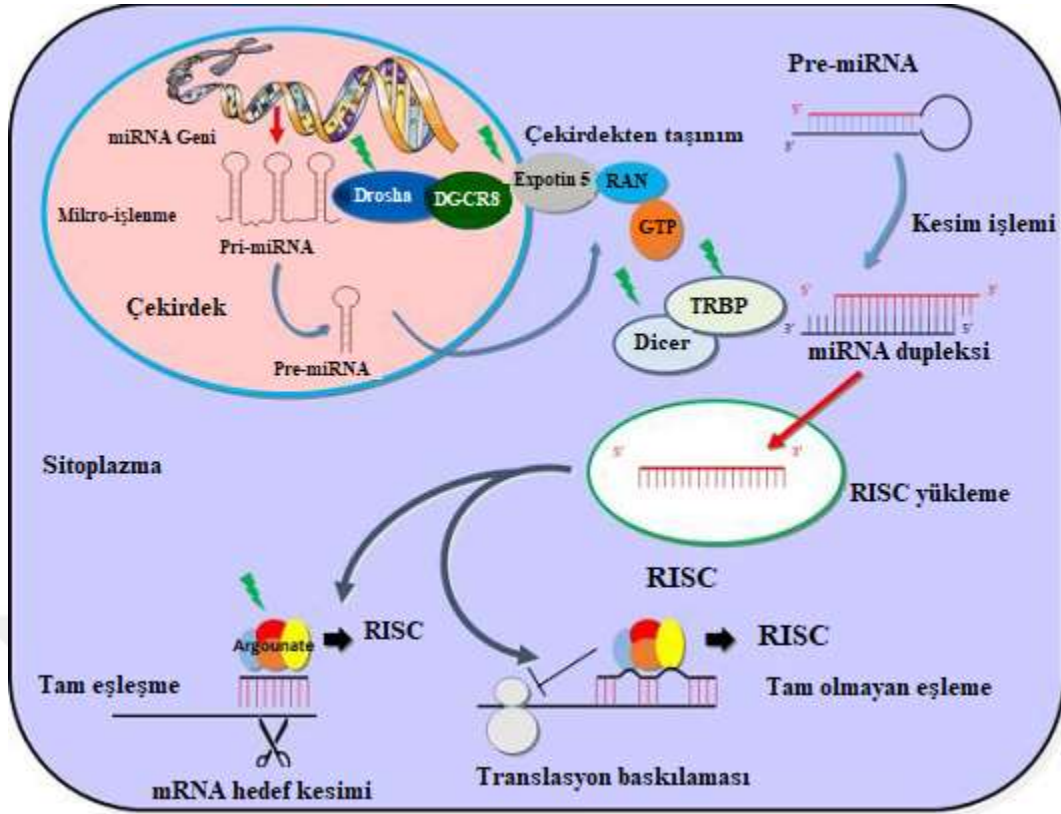
miRNA ailesinin ilk üyesi, 1993 yılında Lee ve arkadaşlarının *C. elegans* üzerinde yaptıkları çalışmalar sırasında keşfedilen lin-4' tür. İlk keşfedildiklerinde fonksiyonları anlaşılamayan, sadece nematodlara özgü oldukları düşünülen, küçük ve geçici RNA'lar olarak tanımlanmışlardır. miRNA'ların temel işlevleri *D. melanogaster* ve insanda let-7'nin keşfedilmesinden sonra anlaşılmaya başlanmıştır. miRNA terimi ise ilk olarak 2001 yılında kullanıma girmiştir. Sonraki çalışmalarda miRNA'ların hayvan, bitki ve virüslerde de bulunduğu ve gen ekspresyonu düzenlenmesinde fonksiyonları olduğu gösterilmiştir (Bartel, 2004). Kansere ilişkilendirilmeleri ise ilk olarak 2002 yılında miR-15 ve miR-16'da meydana gelen bozuklukların, 13q14 kromozom delesyonuna neden olarak kronik lenfositik lösemisiye yol açtığına gösterilmesiyle olmuştur (Calin ve ark., 2002).

### **1.5.2. miRNA'ların Biyogenezi**

miRNA'lar 3 aşamalı bir süreç sonunda meydana gelmektedir. İlk aşamada primer miRNA'ların (pri-miRNA) transkripsiyonu olur. İkinci aşamada pri-miRNA'lar

çekirdek içerisinde prekürsör miRNA'lara (pre-miRNA) dönüştürülür. Üçüncü aşamada ise olgun miRNA'lar sitoplazma içerisinde oluşur (Kwak ve ark., 2010).

miRNA'lar primer transkript (pri-miRNA) olarak RNA polimeraz II enzimi tarafından genomik DNA'dan sentezlenmektedir. Pri-miRNA "cap" ve "poli A" kuyruğuna sahip sap-ilmik yapısında olup çekirdekte RNAaz III enzim ailesinin endonükleazı olan Drosha ile kofaktörü olan Pahsa (yahut DGCR8) tarafından yaklaşık 70 nukleotid uzunluktaki pre-miRNA'ya dönüştürülmektedir (Lee ve ark., 2003; Denli ve ark., 2004). Oluşan pre-miRNA molekülü bir nüklear taşıma reseptörü olan Exportin 5 ve bir nüklear protein olan RAN-GTP'ye bağımlı olarak sitoplazmaya taşınır. Daha sonra pre-miRNA'lar RNAaz III enzim ailesi içerisinde yer alan Dicer endonükleazı ile kesilerek 18-24 nukleotid uzunlukta çift zincirli miRNA'ya dönüştürülür (Karagün ve ark., 2014). Ayrıca Dicer, RNA ile tetiklenmiş olan susturma kompleksinin (RISC = RNA-induced silencing complex) oluşumunu başlatır. Dicer tarafından pre-miRNA'nın sap ilmiği kesildikten sonra miRNA dubleksinden yalnızca birisi RISC kompleksine katılır. Bu iplik kılavuz iplik (Guide Strand) olarak adlandırılmakta iken diğer iplik ise anti-kılavuz yahut yolcu iplik olarak adlandırılır ve RISC kompleksinin substratı olarak sindirilir. miRNA'lar aktif RISC kompleksine entegre olduktan sonra ya argonaute proteinleri aracılığı ile mRNA'nın yıkımına yahut protein translasyonunun baskılanmasına yol açarlar (Şekil 1.10) (Garzon ve ark., 2009).



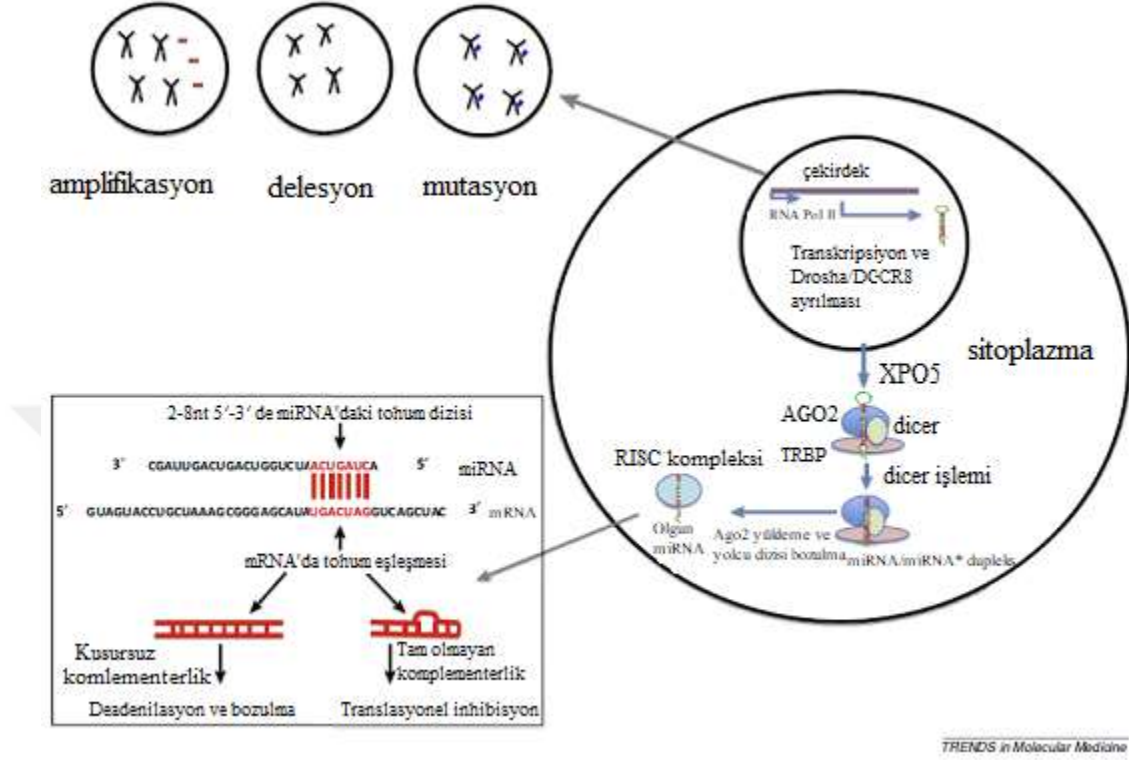
Şekil 1. 10 miRNA oluşumu (Yang ve Lai, 2011; Hitit ve ark., 2015).

### 1.5.3. miRNA'ların Fonksiyonu

miRNA'lar hedefledikleri genlerin ekspresyonlarını azaltmak suretiyle protein sentezinin düzenlenmesine katkıda bulunmaktadır. Kendine uygun nükleotid dizilerini ve komplementer hedef genleri tanıma özelliğine sahip olan miRNA'lar RISC ile birleşmek suretiyle bir kompleks oluştururlar. Baz eşleşme özelliği ile de mRNA'ya bağlanarak protein translasyonunun baskılanmasına ve/veya mRNA yıkımına yol açarlar (Rothschild, 2014).

miRNA'lar hedefledikleri mRNA'nın 3' ucundaki translasyonunun olmadığı bölgeye yahut hedef aldığı mRNA'nın ORF bölgesine bağlanmaktadır. Bağlanma pozisyonu miRNA komplekslerinin mRNA ile nasıl komplementer oldukları ile ilişkilidir. miRNA'lar mRNA'nın 3' UTR bölgesine bağlanırsa kusurlu, eksik ya da tam olmayan komplementerlik denilen durum gerçekleşir ki bu durum da translasyonun inhibisyonuna yol açar. Bağlanma ORF bölgesinin içerisine olursa kusursuz, tam komplementerlik denilen durum söz konusu olup bu durumda da Ago2 tarafından mRNA yıkımı gerçekleşmektedir. Aynı zamanda miRNA'ların her birinin birden çok

mRNA'nın ekspresyonunu düzenleyebildiği ve her bir mRNA'nın da birden fazla miRNA tarafından hedef alınabileceği saptanmıştır (Şekil 1.11) (Hayes ve ark., 2014).



Şekil 1. 11 miRNA fonksiyonu (Hayes ve ark., 2014)

miRNA'ların her biri hedef genlerin yüzlercesini kontrol etmek suretiyle farklı biyolojik süreçleri düzenlemektedirler.

#### 1.5.4. miRNA'ların Hastalıklarla İlişkisi

Çalışmalar miRNA'ların ökaryotik hücrelerdeki bazı hastalıklarla ilişkili olduğunu göstermiştir. Onkoloji, nöroloji, kardiyoloji ve viroloji gibi birçok alanda çalışmalar devam etmekte ve elde edilen sonuçlara göre de tedavi stratejileri değişmektedir (Care ve ark. 2007; Cameron ve ark. 2008). Huntington hastalığı ve Alzheimer, belirli bir gene bağlı ve baskın olarak kalıtsal olan nörodejeneratif hastalıkların örnekleridir. Bu nedenle bu gen ürününün RNAi ile sessizleştirilmesi sonucunda bu tarz hastalıkların önemli oranda tedavi edilebileceği düşünülmektedir (Gonzalez-Alegre, 2007). Benzer şekilde dünyanın %3'ünü enfekte eden hepatit C virüsü üzerinde yapılan bir araştırmada fare hepatositlerindeki siRNA'ların HCV dizisinin

gen ürününü doğrudan sessizleştirdiği saptanmıştır (McCaffrey ve ark. 2002). miRNA fonksiyonunun kalpteki rolünün araştırıldığı deneylerde miRNA'ların olgunlaşması engellenmiş ve deney sonucunda miRNA'ların kalp gelişiminde önemli bir rol oynadığı görülmüştür (Abdellatif, 2010). miRNA'lardaki bozukluklar mRNA'nın fonksiyonunu etkileyerek genetik ve epigenetik değişikliklere neden olur (Tablo 1.5). Aynı zamanda proliferasyon, morfogenez, apoptoz ve farklılaşma gibi çok sayıda hücrel aktivite de miRNA'larca düzenlenmektedir. miRNA mutasyonunun veya ekspresyonunun çeşitli insan kanserleri ile ilişkili olduğu ve miRNA'ların tümör baskılayıcı veya onkogen olarak işlev görebildiği bilinmektedir (Karagün ve ark. 2014).

**Tablo 1. 5** miRNA'lardaki bozuklukların miRNA ve mRNA işlevine etkisi (Cowland ve ark., 2007)

Genetik/epigenetik düzenlemeler	yeniden	Etki	miRNA etkinliği	mRNA üzerindeki etki
Delesyon			↓	↑
Amplifikasyon			↑	↓
Translokasyon			↑↓	↑↓
Tek baz mutasyonu/polimorfizm				
Pri-/pre-miRNA		Süreçte bozulma	↓	↑
Olgun miRNA		Hedefin değiştirilmiş bağlanması	↑↓	↑↓
		Yeni hedefe bağlanma	↑	↓
Hedef mRNA- bağlama bölgesi		miRNA'nın değiştirilmiş bağlanması	↑↓	↑↓
Non-target mRNA		miRNA'nın hedef olmayana bağlanması	↑	↓
Epigenetik Olaylar				
mRNA metilasyonu	promotörünün	miRNA transkripsiyonu downregüle	↓	↑
Kapalı kromatin yapısı		miRNA transkripsiyonu downregüle	↓	↑

### 1.5.5. miRNA'lar ve Kanser

Bundan 20 yıl öncesine kadar sadece onkogenler ile tümör genlerindeki bozuklukların kanser oluşumuna neden olduğu düşünülmekteydi. Fakat miRNA'ların keşfiyle birlikte kansere karşı diagnostik, prognostik ve terapötik yaklaşımlarda yeni bir boyuta geçilmiştir (Wijnhoven ve ark., 2007; Saydam ve ark., 2011).

Pek çok tümör dokusunda miRNA'ların düzensiz eksprese olduğu bildirilmiştir (Ruan ve ark., 2009). OnkomiRNA'lar gibi bazı miRNA'lar tümörlü dokularda upregüle olmakta iken bazıları ise downregüle olmaktadır. Onkojenik miRNA'ların upregülasyonu ve downregülasyonu malign proliferasyon, metastaz ve invazyon gibi kanserin ayırt edici özelliklerine katkıda bulunmak suretiyle kanser oluşumunu teşvik eder (Esquela-Kerscher ve Slack, 2006; Reichel ve ark., 2011; Xing ve ark., 2014; Yavuzşen ve ark., 2019; Çınar ve Dursun, 2016).

Kanser ve miRNA'lar arasındaki ilk bulgular kronik lenfositik lösemi (KLL) hastaları üzerinde gerçekleştirilen çalışmalar sonucunda saptanmıştır. Calin ve ark (2002) B hücreli KLL hastalarında miR-15a ve miR-16-1 kodlayan gen bölgesinin sıkça delesyona yahut translokasyona uğradığını bildirmişlerdir. Delesyon neticesinde miRNA'ların hedefi olan anti-apoptotik BCL-2 (B-cell lymphoma 2) proteinin ekspresyon düzeyi artmakta, hücreler bu nedenle apoptoza gitmemektedir. Bu bulgudan hareketle konu üzerine gerçekleştirilen diğer çalışmalar sonucunda da miRNA'ların kanser patobiyolojisinde etkili olduğu bildirilmiştir (Melo ve Esteller, 2011). miRNA'ların kanser oluşumunda bu denli etkili olmalarından ötürü tümör miRNA'ların işlevlerinin taklit edilmesi yahut onkogenik miRNA'ların işlevlerinin inhibisyonu kuvvetli bir terapötik potansiyel ortaya koymaktadır. Günümüze dek bu konuya dair önemli ilerlemeler sağlanamamış olsa da bu yönde çalışmalar umut vericidir (Petrocca ve Lieberman, 2009).

#### **1.5.5.1. Tümör Baskılayıcı miRNA'lar**

Bir onkogenin ekspresyonunu kontrol etme işlevi bulunan miRNA'lar tümör baskılayıcı miRNA'lar (TSMiRNA) olarak adlandırılırlar. miRNA'ların kanserleşme üzerindeki etkisi ilk olarak miR-15a ve miR-16-1'in 2001'de keşfedilmesi sonucunda ortaya konmuş olup belitilen bu miRNA'ların etki mekanizması ise 2005 yılında belirlenmiştir. Bu miRNA'ların ekspresyon seviyelerinin, KLL hücrelerinde anti-apoptotik B hücreli lenfoma proteini Bcl-2'nin üretimi ile negatif bir ilişkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Böylelikle miR-15a ve miR-16-1'in tümör baskılayıcı etkilere sahip olduğu tespit edilmiştir. Bu miRNA'ların düşük seviyelerinin (tümör baskılayıcı fonksiyon kaybı) yüksek seviyelerde Bcl-2 proteini ile ilişkili olduğu, bu nedenle de anormal hücre büyümesine yol açtığı, yüksek seviyelerinin (normal tümör baskılayıcı aktivite) ise apoptoz ile ilişkili olduğu belirlenmiştir. Normal

seviyelerinin kontrolsüz hücre büyümesini inhibe ettiği bildirilen miR-15a ve miR16-1'in tümör baskılayıcı aktiviteleri saptanmıştır (Calin ve ark., 2008).

Tümör süpresör özelliğe sahip bir diğer miRNA let-7 ailesinin üyeleridir (let-7b, let-7c, let-7d, let-7f ve let-7g). Takamizawa ve ark (2004) tarafından yapılan çalışmada akciğer kanseri hastalarının akciğer dokusunda normal akciğer dokusuyla karşılaştırıldığında genellikle düşük let-7 düzeyleri olduğu tespit edilmiştir. Aynı çalışmada akciğer kanseri hücre kültürü modelindeki Let-7 düzeyleri normal akciğer dokusundaki Let-7 düzeylerinden daha yukarılara çıktığında kanser hücrelerinin büyümesinde önemli düşüş olduğu bildirilmiştir (Takamizawa ve ark., 2004).

Johnson ve ark (2005) tarafından yapılan çalışmada Let-7'nin insanlarda önemli onkogenlerden olan RAS proteinin aktivitesini kontrol ettiği tespit edilmiştir. Aynı çalışmada düşük Let-7 düzeyine sahip akciğer tümör dokularının önemli düzeyde artmış RAS protein düzeyine sahip olduğu saptanmıştır. RAS onkogeninin mRNA dizisi let-7'nin bu mRNA'ya bağlanmasını, böylelikle proteine translasyonunu engellemesini sağlayan bölgeleri içerir. Düşük let-7 düzeyleri RAS geninin kontrolsüz fonksiyon göstermesine neden olmaktadır. Lee ve Dutta (2007) yapmış oldukları çalışmada let-7 üyelerinin *HMGA2* mRNA'sını, Sampson ve ark. (2007) da yapmış oldukları çalışmada *c-Myc* mRNA'sını inhibe ettiğini bildirmişlerdir.

miR-29a, miR-29b, miR-29c olmak üzere üç tane izoformu olan miR-29 tümör baskılayıcı özellikteki miRNA'lardandır. İzofomu bulunan miR-29 ailesinin üyelerinin kronik lenfositler lösemi (KLL) (Calin ve ark., 2005), akciğer kanseri (Lin ve ark., 2010), invaziv meme kanseri (Iorio ve ark., 2005), akut myeloid lösemi (AML) (Garzon ve ark., 2008) ve kolanjiyokarsinom (Mott ve ark., 2007) hücrelerinde aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir.

Yapılan çalışmalar sonucunda miR-143'ün pek çok histolojik tümör türünde anormal büyümeyi baskıladığı gösterilmiştir (Slaby ve ark., 2007; Lin ve ark., 2009; Amaral ve ark., 2009).

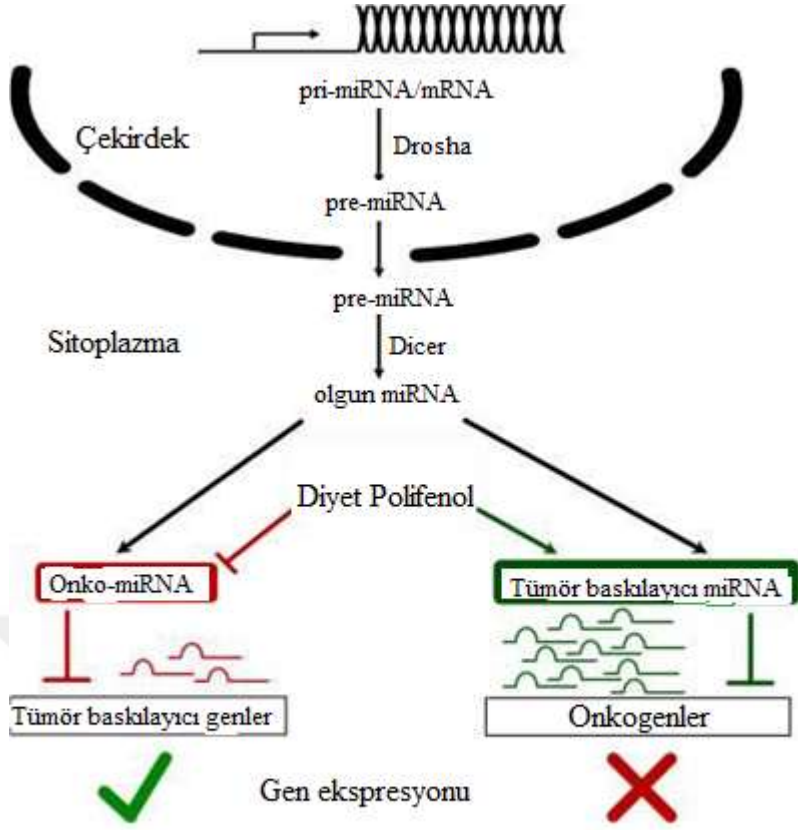
#### **1.5.5.2. Onkogenik miRNA'lar**

Tümör baskılayıcı miRNA'lardan farklı işlev gören onkogenik miRNA'lar, kanserde genellikle kontrolsüz büyümeyi teşvik edici ve/veya antiapoptotik işlev gösterir.

miR-155, ilk kez keşfedilen ve protein eksikliği olan BIC geni ile birlikte eksprese edilen onkogenik miRNA'lardan biridir. miR-155'in hedeflediği mRNA'lar tam olarak belirlenememiştir ve ekspresyon düzeyinin tavuklarda lösemi ve lenfoma oluşumunu arttırdığı bulunmuştur (Kluiver ve ark. 2005). Çalışmaların çoğunda miR-155'in B hücreli lenfoma, akciğer, meme, pankreas ve Hodgkin lenfoma gibi kanser türlerinde yüksek ekspresyona sahip olduğu belirlenmiştir (Saydam ve ark. 2011).

miR-21'in onkogen ailesine ait bir miRNA olarak görev yaptığı belirlendi. miR-21'in AML, KLL ve glioblastoma gibi hematolojik tümörlerde ve mide, pankreas, prostat, meme, akciğer ve kolon kanserleri gibi birçok kanser türünde yüksek düzeyde eksprese edildiği gözlemlenmiştir. miR-17-92 gen kümesi altı farklı miRNA'yı (miR-17, miR-18a, miR-19a, miR-20a, miR-19b-1, miR-92-1) kodlar. C-Myc onkogeninin aşırı eksprese edildiği transgenik farelerde miR-17-19 gen kümesinin yüksek ekspresyonuna neden olan B hücreli lenfoma gelişimini arttırdığı bulunmuştur. miR-17-92 gen kümesi üyelerinin bazı solid tümörlerde, hematolojik malignitelerde, meme, akciğer, mide, pankreas, prostat, kolon ve lenfomalar dahil kanser türlerinde yüksek oranda eksprese edildiği rapor edilmiştir (Gebeshuber ve diğerleri, 2009). Onkogenik miRNA'ların örnekleri miR-17-92, miR-372, miR-373, miR-2'dir (Saydam ve ark., 2011).

Onkogenik ve tümör baskılayıcı miRNA'ların etki mekanizması Şekil 1.12'de görülmektedir.



Şekil 1. 12 Onkogenik ve tümör baskılayıcı miRNA'ların etki mekanizması (Teker, 2018).

### 1.6. Araştırmanın Amacı

Kolorektal kanser gelişiminde genetik ve çevresel faktörler önemli rol oynar. En belirgin risk faktörü diğer pek çok hastalıkta olduğu gibi kanserde de genetik yatkınlık olmakla beraber kolorektal kanserler genellikle sporadik olarak gelişebilmektedir. Hüresel onkogenler, tümör baskılayıcı genler, DNA tamir genleri, büyüme faktörleri ve çeşitli büyüme reseptörleri kolorektal kanserin gelişimi ve büyümesinde rol almaktadırlar.

Tedavi başarısındaki en önemli unsur erken tanı ve uygun tedavi yönteminin seçiminde kullanılmakta olan biyobelirteçlerdir. Klinikte rutin olarak kullanılan ve yapılan çalışmalarda bildirilmiş olan biyobelirteçler hastalığın heterojen yapısı ve tümör gelişiminde görevli kompleks süreçlerden ötürü yetersiz kaldığından kolorektal kanser gelişim sürecinde görevli olan moleküler yolların/genlerin sistem

biyolojisine uygun entegre yaklaşımlar ile ortaya çıkarılması ve bunların biyobelirteç potansiyellerinin belirlenmesi önemlidir. Kolorektal kanserin moleküler patolojisinin belirlenmesi tanı ve prognoza ilişkin güvenilir sonuçlara ulaşmayı sağlayan biyobelirteçlerin tanımlanması uygun tedavi rejimlerinin izlenmesinin yanı sıra tedaviye yanıtın artırılmasına da katkıda bulunmaktadır. Bu çalışma ile kolorektal kanserde yeni teşhis ve tarama yöntemlerinin geliştirilmesi, kolorektal kanser oluşumunun daha iyi anlaşılmasına yardımcı olunması ve bilimsel literatüre katkı sağlanması hedeflenmiştir.

Bu çalışmanın amacı; kolorektal kanserli hastaların sağlıklı ve tümörlü dokularındaki miR-639, miR-641, miR-1915-3p ve miR-3613-3p'in ekspresyon düzeylerini araştırmak, tümör dokusundaki ekspresyonların kolorektal kanserde yaş, cinsiyet, evre, tümör lokalizasyonu, tümör boyutu, invazyon, metastaz gibi bilinen klinik ve patolojik faktörlerle ilişkisini saptamaktır.

## BÖLÜM 2

### LİTERATÜR ÖZETLERİ

Lee ve arkadaşları (1993) *C. elegans*'ta yaklaşık 22 ve 61 nt'nin iki küçük lin-4 transkriptini tespit ettiler ve lin-14 mRNA'nın 3' kodlanmayan UTR bölgesinde bir tekrarlı sekans elementini tamamlayıcı sekanslar içerdiğini buldular. Bu durum lin-4'ün bir antisens RNA-RNA etkileşimiyle lin-14 translasyonunu düzenlediğini destekler niteliktedir.

Calin ve ark. (2004), miRNA'ların kanser biyolojisinde rol oynadığına ilişkin bulgular ile, miRNA genlerinin %50' sinden fazlasının kırılğan bölgeler ve insan kanserinde değiştirilen delesyon veya amplifikasyon bölgeleri gibi kromozomal bölgelerde bulunması gerçeğiyle desteklendiğini bildirmişlerdir.

Guo ve arkadaşları (2008) tarafından gerçekleştirilen çalışmada ilk kez miRNA mikroarray yöntemiyle kriyopreserve özofagus kanserli dokularda miRNA ekspresyon düzeyi incelenmiştir. Çalışmadaki mikroarray analizleri neticesinde özofagus kanserine neden olan 7 miRNA saptanmıştır. Çalışmadan elde edilen sonuçlar özofagus kanser tanısı ve etkilerinin araştırılmasında düşük maliyetli ve uyulması kolay PCR yönteminin miRNA ekspresyonuna yönelik çalışmalar açısından önemini ortaya koymuştur.

Ak (2013) tarafından kolorektal kanserli hastalar üzerinde gerçekleştirilen çalışmaya Türkiye'de yaşayan ve ailesinde kolorektal kanser öyküsü bulunan, kolorektal kanser tanısı almış 50 yaş altı bireyler dahil edilmiştir. Çalışmanın amacı doğrultusunda hastalardan alınan tümörlü dokularda kolorektal kanser gelişiminde etkili olabileceği düşünülmüş olan 38 miRNA'nın ekspresyon düzeyleri incelenmiştir. Çalışma sonucunda tümörlü dokularda miR-143 ekspresyon düzeyinin normal dokulara oranla anlamlı şekilde düşük olduğu, bunun yanı sıra 4. evredeki tümörlü dokularda miR-106a ekspresyon düzeyinin de normal dokularla karşılaştırıldığında anlamlı şekilde yüksek olduğu saptanmıştır.

## miR-639

Li ve ark. (2014) yaptıkları çalışmalarında miR-639 seviyesinin metastatik meme kanseri dokularında ve yüksek oranda invaziv hücre hatlarında yüksek oranda artış gösterdiği gözlemlenmiştir. Ayrıca, meme kanseri hücre hatlarında miR-639 mekanizması araştırılmıştır. Bu sonuçlar, miR-639'un aşırı ekspresyonunun, meme kanseri hücrelerinin in vitro invazyonunu ve göçünü arttırdığını göstermiştir.

Lin ve ark. (2014), miR-639'un, *FOXCI*'i hedef alarak insan dilindeki kanser hücrelerinde *TGFb*'nin neden olduğu epitelyal-mezenkimal geçişi düzenlediği saptanmıştır.

İnsan tiroid kanserinde yapılan başka bir çalışmada Lei ve ark. (2016), miR-639'un fonksiyonel rolünü araştırmış, tiroid kanseri hücre hatları ve klinik dokularında miR-639'un ekspresyonunun arttığını gözlemiştir. miR-639'un aşırı ekspresyonunun, *CDKN1A* genini in vitro hedefleyerek hücre proliferasyonunu ve hücre döngüsünü önemli ölçüde artırdığı bulunmuştur. Çalışma sonucunda, miR-639'un tiroid kanseri hücre hatları için potansiyel bir terapötik hedefi temsil edebileceği belirlenmiştir.

2018 yılında Wang ve ark. 139 hasta üzerinde yaptıkları çalışmalarında, miR-639'un daha yüksek ekspresyonu, metastaz, daha ileri kanser aşamaları ve düşük hastalısız sağ kalım oranları ile ilişkilendirmişlerdir. Ayrıca insan NPC C666-1 ve NPC/HK1 hücre hatlarında miR-639 taklitleri ve antagomir ile transfekte edilmesini içeren in vitro deneylerde, miR-639'un aşırı eksprese edilmesinin, hücre çoğalmasını ve göçünü arttırdığını, miR-639'un baskılanmasının proliferasyon ve göçü inhibe ettiğini göstermektedir. Bu çalışma, miR-639'un değişen kanser aşamalarının NPC dokularında farklı şekilde ifade edildiğine dair kanıt sağlar ve dolaşımdaki miR-639 miktarının ölçülmesinin non-invaziv tanı ve prognostik değerlendirme için önemli olabileceğini, aynı zamanda potansiyel terapötik faydaya sahip olabileceğini göstermektedir.

Ismail ve ark. (2019) yapmış oldukları çalışmada miR-639'un meme kanserinde onkojenik miRNA olduğunu bildirmişlerdir.

Tang ve ark. (2019), miR-639'un, MAPK/RTK, Ras ve PI3K-Akt sinyal yollarında etkili olup meme kanseri hastaları için prognostik göstergeler arasında yer aldığını belirlemişlerdir.

Bai ve arkadaşları (2020) miR-639'un ekspresyonunun, hepatoselüler karsinomlu dokularda normal karaciğer dokularına kıyasla önemli ölçüde azaldığını saptamışlardır.

Özofagus skuamöz hücreli karsinomda (ESCC) miR-639'un downregüle olduğu görülmüştür (Yang ve ark., 2020).

Xiao ve arkadaşları (2020) miR-639 ekspresyonunun karaciğer kanseri dokularında baskılanmasını promoter bölgesinde hipermetilasyon ile ilişkilendirmiş ve DNA metiltransferazın (DNMT3A) bu hipermetilasyona aracılık ettiğini bildirmişlerdir. Aynı çalışmada miR-639'un *MYST2* and *ZEB1*'in 3'-UTR bölgelerine bağlandığı ve bu genlerin ekspresyonlarını baskıladığı belirlenmiştir.

Liu ve arkadaşları (2021) tarafından akciğer kanserli hastalar üzerinde gerçekleştirilen çalışmada ZNF674-AS1 regülasyonunun TNM evresi ve genel sağ kalım ile önemli ölçüde ilişkili olduğu bildirilmiştir. Çalışmada aynı zamanda ZNF674-AS1'deki aşırı ekspresyonunun miR-639 ekspresyonunda düşüşe neden olduğu tespit edilmiştir.

Carron ve ark. (2021), baş ve boyun skuamöz hücreli karsinom hastaları için miR-639'un azalan ekspresyonunun genomik stabiliteyi azalttığını ve zayıf prognozunu desteklediğini bulmuşlardır.

Wu ve ark. (2021), yumurtalık kanseri dokularında yaptıkları çalışmada miR-639 ekspresyonunun hücre proliferasyonu ve göçü ile negatif korelasyon gösterdiğini, FOXC1'in mRNA seviyesinin ise bu proseslerle pozitif korelasyon gösterdiğini bildirmişlerdir.

Jo ve ark. (2021), sereblon (CRBN)'nin glukoneojenik uyarılar altında hepatik hepsidin gen ekspresyonu ve üretimi üzerindeki çalışmada miR-639 ekspresyonunda önemli bir azalma olduğunu göstermişlerdir.

## miR-641

Yao ve ark.'nın (2013) yaptıkları çalışmada, miR-641 hipermetilasyonunun servikal hücre hatlarında HPV enfeksiyonu ile bir ilişkisi olduğu tespit edilmiş olup eşleştirilmiş normal dokuya sahip primer serviks tümörlerinde, miRNA'ların ekspresyon seviyeleri, 5-AZA ile tedavi edilen servikal kanser hücre dizilerindeki DNA metilasyon durumları ile ters orantılı olarak belirlenmiştir. Ayrıca miRNA'ların HPV ile insan servikal kanserinin patogeneğinde rol oynayabileceğini ve değiştirilmiş miRNA metilasyonunu, anormal ekspresyonlarında yer alan olası bir epigenetik mekanizma olabileceğini düşünmektedir.

Akciğer kanseri olan dokularda yapılan başka bir çalışmada miR-641 hücrelerinin proliferasyonunu, metastazını inhibe ettiği gözlemlenmiş ancak *PDCD4* genini hedefleyen hücrelerde apoptozisi artırmıştır. Ayrıca miR-641'in aşırı ekspresyonunun hücre canlılığını, göçünü ve invazyonunu inhibe ettiği bildirilmiştir (Zhou ve ark., 2017).

Kong ve ark. (2018), akciğer kanseri dokularında miR-641'in *MDM2*'yi hedefleyerek tümör baskılayıcı rol üstlendiği ve antiproliferasyon ve antimetastaz etki gösterdiği saptanmıştır.

Zhu ve ark. (2019) tarafından yapılan çalışmada, TUSC8'in aşırı ekspresyonunun, *PTEN*'i miR-641 yoluyla upregüle ederek servikal kanserde hücre göçünü inhibe ettiği sonucuna varılmıştır.

Zhang ve ark. (2019), *DLX6-AS1*'in kemik tümöründe miR-641/*HOXA9* sinyal yolunu hedefleyerek hücre proliferasyonu ve metastazında etkili olduğunu belirlemişlerdir.

Wang ve ark. (2019), miR-641 ekspresyonunun mide kanserinde düşük olduğunu göstermişlerdir.

Zhao ve ark. (2020), akciğer kanseri hücrelerinde miR-641'in, DDP kemoresistansının düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığını tespit etmişlerdir.

Meng ve ark. (2020), akciğer kanserli hastalar üzerinde gerçekleştirdikleri çalışmada miR-641'in hücre proliferasyonunun hastalığın metastazını inhibe ettiğini gözlemlemişlerdir.

Li ve ark. (2020) tarafından yapılan çalışmada miR-641'in pankreas karsinomunun ilerlemesini inhibe ettiğini ortaya konulmuştur.

Wu ve ark (2020) tarafından yapılan çalışmada YAP1'in ekspresyonunun miR-641'i downregüle ederek kemik kanser hücrelerinin çoğalmasını ve metastazını inhibe ettiği bildirilmiştir.

Li ve ark (2020) tarafından yapılan çalışmada cirRNA, CDR1as ve miR-641'i adsorbe ederek AKT/mTOR yolunu aktive ettiği ve karaciğer kanserinin ilerlemesini artırdığı bildirilmiştir.

Zhang ve ark (2020) tarafından yapılan çalışmada ZEB1 ve MDM2 aracılı EMT'yi düzenleyerek yumurtalık kanserinde hücre büyümesini ve metastazı desteklediği ve miR-641 endojen RNA olarak görev yaptığı bildirilmiştir.

Liu ve ark (2021) tarafından yapılan çalışmada hepatosellüler karsinom hücrelerinde miR-641 ekspresyonunun yüksek olduğu bildirilmiştir.

Ma ve Zhang (2021) tarafından yapılan çalışmada vasküler düz kas hücrelerinde miR-641'in downregüle olduğu bildirilmiştir.

Niu ve ark (2021) tarafından yapılan çalışmada circCDR1as/miR-641/XIAP'nin prostat kanseri PC-3 hücre hattında proliferasyon ve yayılım üzerindeki etkisi incelenmiştir. Çalışma sonucunda normal prostat epitel hücre hattına kıyasla prostat kanserli hücre hattında circCDR1as ve XIAP'nin yüksek, miR-641 ekspresyonunun ise düşük olduğu bildirilmiştir.

Tian ve ark (2021) tarafından yapılan çalışmada miR-641'in mesane kanserli hastaların mesane dokularında ve hücre hatlarında yüksek düzeyde eksprese olduğu bildirilmiştir.

Liu ve ark (2021) tarafından yapılan çalışmada COX10-AS1'in gliomada COX10-AS1/miR-641/E2F6 ile kombinasyon halinde bir onkogen olarak hareket ettiği ve bunun gliomanın tanı ve tedavisi için faydalı olabileceği bildirilmiştir.

Zhao ve ark (2021) tarafından yapılan çalışmada cisplatin dirençli küçük hücreli olmayan akciğer kanseri hücrelerinde circRNA CDR1as ve HOXA9'un yüksek düzeyde, miR-641'in ise düşük düzeyde eksprese olduğu bildirilmiştir.

### **miR-1915-3p**

Xu ve ark (2013) tarafından yapılan çalışmada miR-1915-3p'nin insan kolorektal kanserli hücrelerin çoklu ilaç direncini modüle ettiği ve *BCL-2* genini hedeflediği bildirilmiştir.

Budak ve ark (2016) tarafından akut ve kronik bruselloz hücrelerinde perifer kan örnekleri kullanılarak yapılan çalışmada miR-1915-3p'nin ekspresyonu downregüle olduğu tespit edilmiştir.

Xu ve ark (2016) tarafından yapılan çalışmada miR-1915-3p'nin kemoterapötik ilaç ile indüklenen akciğer kanseri hücrelerinin apoptozundaki rolü araştırılmış, miR-1915-3p ile kemoterapötik ilaç ile indüklenen hücre apoptozunu önlemekte olup GTP bağlayıcı protein 2 (*DRG2*) ve B hücresi lösemi homeobox 2 (*PBX2*) genlerini düzenlediği ve bu genlerin miR-1915-3p'nin fonksiyonel hedefleri olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle miR-1915-3p'nin, akciğer kanserinin tedavisi için varsayılan bir terapötik ajan olduğu bildirilmiştir.

Guo ve ark. (2018) tarafından yapılan çalışmada meme kanserli hastaların serum örneklerinde miR-1915-3p'nin ekspresyon seviyesi araştırılmıştır. Meme kanseri hastalarının serumlarında sağlıklı bireylerin serumlarına kıyasla miR-1915-3p ekspresyonunda artış olduğu gözlenmiştir. Çalışmanın sonucunda miR-1915-3p'nin meme kanseri için umut verici bir serum tanı ve prediktif biyobelirteç olma potansiyeline sahip olduğu belirlenmiştir.

Shi ve ark. (2019) çalışmalarında miR-1915-3p'nin diffuse large B-cell lenfomada upregüle olduğunu bildirmişlerdir.

Kim ve ark (2020) tarafından yapılan çalışmada miR-1915-3p'nin ekspresyonu meme kanserinde önemli ölçüde düşük regüle olduğu bildirilmiştir. Bu sonuçlarla benzer olarak gastrik kanserde de düşük ekspresyon gösterdiği saptanmıştır (Cui ve ark., 2019).

Su ve ark (2020), çalışmalarında miR-1915-3p'nin akut miyokardiyal enfarktüs hastalarında düşük ekspresyon gösterdiğini bildirmişlerdir.

Huang ve ark. (2021), miR-1915-3p ekspresyonunun karaciğer kanseri doku örneklerinde ve hücre dizilerinde önemli ölçüde arttığını tespit edilmiştir.

Pan ve ark. (2021) tarafından yapılan çalışmada, miR-1915-3p'nin akciğer kanseri dokularında ve hücre dizilerinde down regüle olduğu ve klinik TNM evresi ve genel sağkalım ile ters orantılı olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, miR-1915-3p'nin akciğer kanseri hücrelerinde göçünü, metastazı ve epitelyal-mezenkimal geçişi (EMT) önemli ölçüde bastırdığı tespit edilmiştir.

Xiao ve ark. (2021) tarafından yapılan çalışmada stabil oksaliplatine dirençli kolorektal kanser hücre hatlarında miR1915-3p yüksek ekspresyon gösterdiği, ayrıca miR-1915-3p'nin eksozomal verilmesinin EMT'yi teşvik eden onkogenler PFKFB3 ve USP2'yi baskılayarak kolorektal kanser hücrelerinde oksaliplatinin kemoterapötik etkinliğini iyileştirebildiği bildirilmiştir

### **miR-3613-3p**

Kızıltuğ (2016) alzheimer hastası bireylerde kan örneklerinin materyal olarak kullanıldığı bazı miRNA' ların ekspresyonlarını araştırdığı çalışmada kontrollerle karşılaştırılan alzheimer hastalarında miR-3613-3p'nin ekspresyonunun anlamlı bir biçimde arttırdığını bildirmiştir. Ayrıca miR-3613-3p'nin alzheimer hastalarında nörodejenerasyonuna katkı sağlayabildiğini ispatlamıştır.

Kumar ve ark, (2017) tarafından serum örnekleri kullanılarak Alzheimer hastalığının erken teşhisinde biyobelirteç olarak miRNA'ların kullanıldığı çalışmada miR-3613-3p'nin regülasyonunu artırdığı görülmüştür.

Zhang ve ark. (2017) tarafından miR-3613-3p'nin hepatosellüler kanserde hücre çoğalması ve döngüsü üzerinde etkili olup olmadığının belirlenmesi amacıyla

gerçekleştirilen çalışmada miR-3613-3p'nin hepatoselüler kanser ile ilişkisi ortaya konmuştur.

Fricke ve ark. (2018) tarafından yapılan çalışmada iyi ve kötü lipomatöz tümörü arasındaki ameliyat öncesi farklılaşma manyetik rezonans görüntüleme, bilgisayarlı tomografi ve biyopsi ile sınırlı olduğundan liposarkom hastalarını sağlıklı kontrollerden ayırmak için miRNA dizisi kullanılmıştır. Materyal olarak kan örneklerinin kullanıldığı çalışmanın sonucunda liposarkomalı hastalarda miR-3613-3p ekspresyon düzeyinin sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında artmış olduğu görülmüştür. Liposarkom hastaları ile sağlıklı kontroller arasında ayırım yapmak için spesifik bir tam kan miRNA (miR-3613-3p) tanımlanmış olup liposarkom için potansiyel bir biyobelirteç olarak görev yapabileceği ortaya konmuştur.

Yan ve ark. (2018) tarafından yapılan çalışmada, birincil insan kolon adenokarsinom hücrelerinde (SW480) ve lenf nodu metastatik türevlerinde (SW620) 13 farklı miRNA ekspresyonun düzeyleri araştırılmış ve bu çalışma sonucunda bu miRNA'lerden, miR-3613-3p'nin ekspresyonunun azaldığı gösterilmiştir.

Gad ve ark. (2019) tarafından yapılan çalışmada melonoma hücre hatlarında miR-3613-3p'ni downregüle olduğu ve *CD7*'yi hedef aldığı belirlenmiştir.

Li ve ark. (2020) tarafından yapılan çalışmada miR-3613-3p'nin deri kanseri için tanı ve prediktif biyobelirteç olma potansiyeline sahip olduğu belirlenmiştir.

Liu ve ark. (2020) tarafından yapılan çalışmada mide kanserinde, miR-3613-3p'nin upregüle olduğu ve *QKI*, *TRIM67* ve *HMGA2* genlerini hedef alarak bu genlerin ekspresyonlarının azaldığı görülmüştür.

Liu ve ark. (2020) tarafından yapılan çalışmada meme kanseri hücrelerinde miR-3613-3p'nin up regüle olduğu tespit edilmiştir.

Yu ve ark. (2020) tarafından yapılan çalışmada üçlü negatif meme kanseri (TNBC) hastalarında, TNBC tümörlerinde ve hücrelerinde miR3613-3p ekspresyonunun aşağı regüle edildiği belirlenmiştir. Ayrıca in vitro, miR-3613-3p'nin aşırı ekspresyonunun hücre proliferasyonunu inhibe ettiği, G1 hücre döngüsü durmasını indüklediği ve TNBC hücrelerinin Palbociclib tedavisine duyarlılığını arttırdığı tespit edilmiştir.

Chen ve ark. (2021) tarafından yapılan çalışmada miR-3613-3p'nin, tümör dokularında önemli ölçüde düşük ekspresyon göstermiştir.

Li ve ark. (2021) tarafından yapılan çalışmada miR-3613-3p'nin, hipertrofik skar yönetimi için potansiyel terapötik hedefler sağlayabilen ARGLU1'i hedefleyerek hipertrofik skar oluşumunu inhibe ettiği tespit edilmiştir.

Rassoulzadegan ve ark. (2021) tarafından yapılan çalışmada otizm spektrum hastalarında miR-3613-3p'nin düşük ekspresyon gösterdiği tespit edilmiştir.

Rezaei ve ark. (2021) tarafından yapılan çalışmada nöroblastom hastalarında miR-3613-3p up-regüle olduğu tespit edilmiştir.

Singh ve ark. (2021) tarafından yapılan çalışmada hepatoselüler karsinom da miR-3613-3p'nin sağlıklı kontrol ile karşılaştırıldığında aşağı regüle olduğu görülmüştür.

Xie ve ark. (2021) yapmış oldukları çalışmada kemoterapinin neden olduğu çoklu ilaç direnci (MDR), Wnt/ $\beta$ -katenin yolunu inaktive etmek ve P-gp ekspresyonunu baskılamak için AXIN2 ve GSK-3 $\beta$ 'yi negatif olarak düzenlediği, aynı zamanda lösemi hücrelerinde miR-3613-3p düşük ekspresyona sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Duca ve ark. (2021) tarafından yapılan çalışmada prostat kanseri tanısı konulan hastalarda miR-3613-3p ekspresyonu önemli ölçüde upregüle olduğu görülmüştür.

## BÖLÜM 3

### MATERYAL VE METOD

#### 3.1. Materyal

Çalışmaya Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı'nda opere edilen ve kolorektal kanser tanısı konulan 59 hasta dahil edilmiştir. Bu hastalara ait sağlıklı ve tümörlü kolon ve/veya rektum dokuları çalışma materyalini oluşturmaktadır. Araştırma için gönüllü olan hastalar bilgilendirilip, bilgilendirilmiş gönüllü olur formları okutulup imzalatıldıktan sonra çalışmaya başlanmıştır. Her bir bireyden alınan doku örnekleri RNAlater (Thermo Fisher Scientific) solüsyonu bulunan eppendorf tüplerde çalışmanın yapılacağı zamana kadar -80°C'de saklanmıştır.

Bu çalışma Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Etik Kurulu'nun 23.10.2019 tarihli, 2019/420 ve 2019/421 sayılı kararları ile uygun görülmüştür.

#### 3.2. Metod

##### 3.2.1. miRNA İzolasyonu

Kolorektal kanserli hastaların normal ve tümörlü doku örneklerinden miRNA izolasyonu, *mirVana*<sup>TM</sup> miRNA İzolasyon Kiti (Thermo Fisher Scientific) ile ticari firmanın belirlediği protokol uygulanarak yapılmıştır. Elde edilen RNA örnekleri kullanılacağı zamana kadar -80 °C'de muhafaza edilmiştir.

##### 3.2.2. Revers Transkriptaz PCR

Normal ve tümörlü dokulardan izole edilen miRNA örnekleri kullanılarak Revers Transkriptaz PCR metodu ile cDNA sentezi, miScript II RT Kit (Qiagen) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Protokol üretici firmanın tavsiyesine göre yapılmıştır. cDNA sentezi için kullanılan reaksiyon içeriği Tablo 3.1'de verilmiştir.

**Tablo 3. 1** cDNA sentezi için hazırlanan reaksiyon içeriği

Reaksiyon İçeriği	Miktar
5x miScript HiFlex tamponu	4 µl
10x miScript Nükleik karışımı	2 µl
RNA içermeyen su	10.5 µl
miScript RT karışımı	2 µl
miRNA örneği	1.5 µl
<b>Toplam hacim</b>	<b>20 µl</b>

cDNA sentezi için Tablo 3. 2’de verilen sıcaklık ve süreler uygulanmıştır.

**Tablo 3. 2** cDNA sentezi için kullanılan reaksiyon koşulları

	Basamak 1	Basamak 2
Sıcaklık (°C)	37	95
Zaman	60 dakika	5 dakika

### 3.2.3. Kantitatif- Real Time (Gerçek Zamanlı) Polimeraz Zincir Reaksiyonu (qRT-PCR)

Günümüzde nükleik asitlerin miktarlarını belirlemek için kullanılan etkili metotlardan birisi Real-Time PCR yöntemidir. 59 kolorektal kanserli hastanın normal ve tümörlü dokularından elde edilen cDNA örnekleri kullanılarak, qRT-PCR metodu ile miR-639, miR-641, miR-1915-3p ve miR-3613-3p’nin ekspresyon düzeyleri belirlenmiştir. Real-time PCR analizi miScript SYBR Green PCR kiti (Qiagen) kullanılarak yapılmıştır. İnternal kontrol olarak *RNU6* kullanılmıştır. Ekspresyon düzeylerinin belirlenmesinde  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  metodu kullanılmıştır (Livak ve Schmittgen, 2001). Elde edilen sonuçlar, tümörlü dokuda miRNA ekspresyonunun tümörsüz dokuya göre (rölatif) kaç kat değiştiğini ifade etmektedir. qRT-PCR sırasında her örneğin amplifikasyonunun eksponansiyel faza geçtiği an ‘eşik siklus’ (*thresholdcycle*, *Ct*) değeri olarak alınmış ve aşağıda belirtilen formüldeki yerine konularak hesaplamalar yapılmıştır.

$$2^{-\Delta\Delta Ct} = 2^{- (\Delta Ct \text{ tümör} - \Delta Ct \text{ kontrol})}$$

$$2^{-\Delta\Delta Ct} = 2^{- [(Ct \text{ tümör} - Ct \text{ referans}) - (Ct \text{ kontrol} - Ct \text{ referans})]}$$

Tümörlü dokulardaki ekspresyon normal dokulardaki ekspresyon ile kıyaslanmıştır ve  $2^{-\Delta\Delta CT}$  değeri 1'den büyük olanlar yüksek ekspresyon seviyesi, 1'den küçük olanlar ise düşük ekspresyon seviyesi olarak gruplandırılmıştır.

RT-PCR'da kullanılan miR-639, miR-641, miR-1915-3p, miR-3613-3p ve *RNU6*'nın primer sekansları Tablo 3.3'de verilmiştir.

**Tablo 3. 3** miRNA'ların primer dizileri

miRNA	İleri Primer Sekansları	Geri Primer Sekansları
miR-639	5'-ATCGCTGCGGTTGCGAGCGCTGT-3'	5'-CGAGGAAGAAGACGGAAGAAT-3'
miR-641	5'-AAAGACATAGGATAGAGTCACCTC-3'	5'-CGAGGAAGAAGACGGAAGAAT-3'
miR-1915-3p	5'-CCCCAGGGCGACGCGGCGGG-3'	5'-CGAGGAAGAAGACGGAAGAAT-3'
miR-3613-3p	5'-ACAAAAAAAAAAGCCCAACCCTTC-3'	5'-CGAGGAAGAAGACGGAAGAAT-3'
<i>RNU6</i>	5'-GCTTCGGCAGCACATATACTAAAAT-3'	5'-CGCTTCACGAATTTGCGTGTTCAT-3'

Real-Time PCR için kullanılan reaksiyon içeriği Tablo 3.4' de verilmiştir.

**Tablo 3. 4** qRT- PCR için hazırlanan reaksiyon içeriği

Reaksiyon İçeriği	Miktar
2X SYBR GreenPCR Master Karışımı	12.5µl
10X miScript Universal Primer	2.5µl
10X miScriptPrimerAssay	2.5µl
RNA içermeyen su	5 µl
cDNA örneği	2.5µl
<b>Toplam Hacim: 25µl</b>	

Buz üzerinde tepkime bileşenleri hazırlanıp miR-639, miR-641, miR-1915-3p ve miR-3613-3p ve referans olarak *RNU6* ifade seviyelerini tespit etmek için 7500 Fast Real-Time PCR sistemi (AppliedBiosystems, Singapore) kullanılmıştır. Tablo 3.4.'de qRT-PCR tepkime koşulları verilmiştir.

**Tablo 3. 5** qRT-PCR için kullanılan sıcaklık ve süreler

Sıcaklık	Süre	Döngü Sayısı
95°C	15 dakika	1
94°C	15 saniye	40
55°C	30 saniye	
70 °C	30 saniye	

### 3.5. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler SPSS (sürüm 22.0; IBM Corp.) istatistik yazılımı ile yapılmıştır. Veriler ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir. Tümör ve komşu tümör olmayan dokulardaki miRNA ekspresyonundaki fark,  $\Delta C_{t_{\text{tümör}}}$  ve  $\Delta C_{t_{\text{kontrol}}}$  değerleri karşılaştırılarak belirlenmiştir. İki grubun ortalama değerleri arasındaki farklılık Paired t-testi kullanılarak belirlenmiştir. Ayrıca miRNA ekspresyon seviyeleri ile klinikopatolojik parametreler arasındaki ilişki Pearson ki-kare ( $\chi^2$ ) ve Fishers' Exact testleri ile analiz edilmiştir. p değeri 0,05'den küçük olanlar istatistiksel açıdan anlamlı kabul edilmiştir.

## BÖLÜM 4

### BULGULAR

#### 4.1. Kolorektal Kanser Hastalarının Özelliklerine İlişkin Bulgular

Bu çalışmaya Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı'na başvuran kolorektal kanser tanısı almış 59 hasta birey dahil edilmiştir. Çalışmadaki örneklerin %62,7'si kolon, %37,3'ü rektum dokularından alınmıştır. Çalışmaya dahil edilen kolorektal kanserli hastaların yaş ortalaması  $55.06 \pm 11.89$  olarak belirlenmiştir. Bu hastaların %66,1'i 55 yaş ve üzeri iken, %33,9'u 55 yaş altı bireylerden oluşmaktadır. Hastaların %59,3'ünü kadın, %40,7'sini erkek bireyler oluşturmaktadır. Bu bireylerin %8,5'i alkol kullanmakta, %28,8'i sigara kullanmakta, %71,2'si ise sigara kullanmamaktadır.

Kolorektal kanserli hastaların %16,9'unda metastaz varken, %83,1'inde metastaz saptanmamış; %40,7'sinde lenf nodu tutulumu gözlenmiş, %59,3'ünde lenf nodu tutulumu görülmemiştir. Bu bireylerin %22'sinde mukoza ve submukozaya invazyon saptanmış, %78'inde ise seroza ve subserozaya invazyon tespit edilmiştir. The American Joint Committee on Cancer (AJCC) TNM sistemine göre hastaların %50,8'i evre I ve II'de, %49,2'si ise evre III ve IV'de tespit edilmiştir. Histolojik olarak değerlendirildiğinde dokuların %72,9'u adenokarsinom, %27,1'i müsinöz adekarsinom olarak tanımlanmıştır. Çalışma örneklemini oluşturan kolorektal kanserli hastaların demografik, klinik ve patolojik verileri Tablo 4.1'de özetlenmiştir.

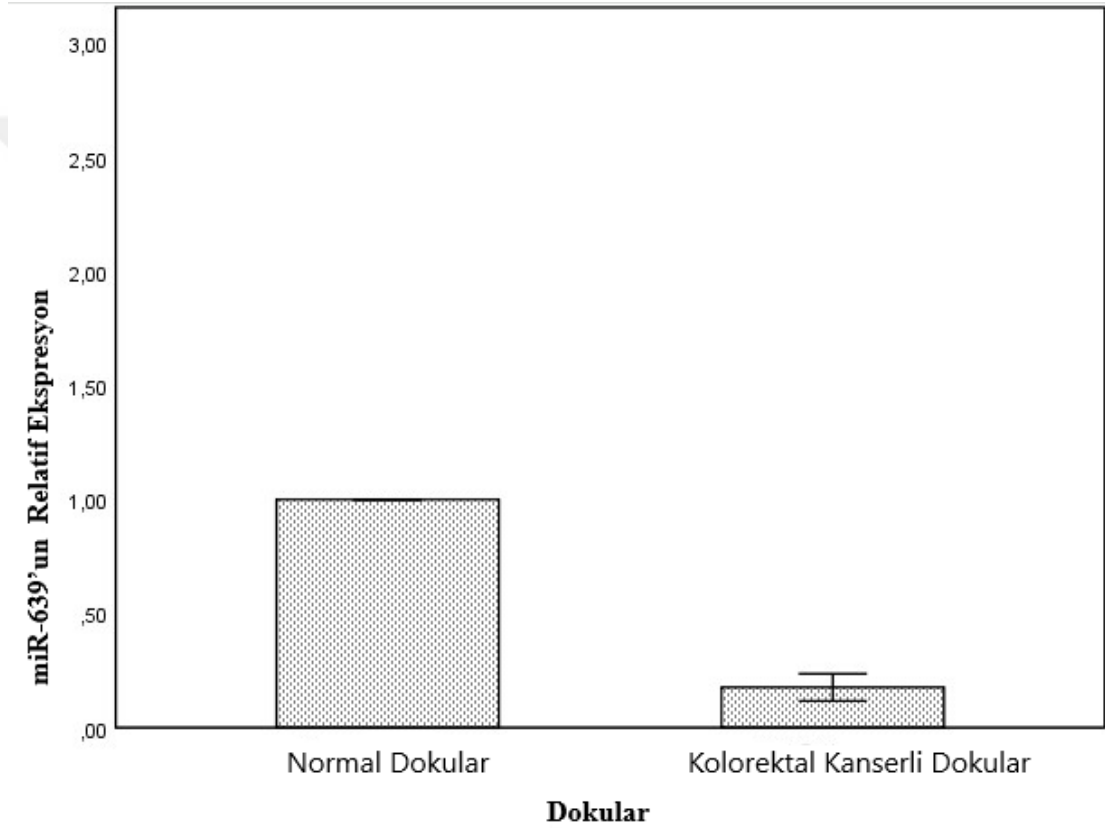
**Tablo 4. 1** Kolorektal kanser hastalarının demografik, klinik ve patolojik özellikleri

<b>Karakterler</b>	<b>Hasta (%)</b>
<b>Yaş</b>	
≥55	39 (66.1)
<55	20 (33.9)
<b>Cinsiyet</b>	
Erkek	35 (59.3)
Kadın	24 (40.7)
<b>Sigara</b>	
Kullanıyor	17 (28.8)
Kullanmıyor	42 (71.2)
<b>Alkol</b>	
Kullanıyor	5 (8.5)
Kullanmıyor	54 (91.5)
<b>Tümör lokalizasyonu</b>	
Kolon	37 (62.7)
Rektum	22 (37.3)
<b>İnvazyon</b>	
T1+T2	13 (22)
T3+T4	46 (78)
<b>Nöral invazyon varlığı</b>	
Evet	11 (18.6)
Hayır	48 (81.4)
<b>Lenfovasküler invazyon varlığı</b>	
Evet	16 (27.1)
Hayır	43 (72.9)
<b>Uzak metastaz</b>	
M0	49 (83.1)
M1	10 (16.9)
<b>Lenf nodu metastaz</b>	
N0	35 (59.3)
N1+N2	24 (40.7)
<b>Tümör evresi</b>	
I-II	30 (50.8)
III-IV	29 (49.2)
<b>Tümör boyutu (cm)</b>	
≤6	33 (55.9)
>6	26 (44.1)
<b>Tümörün histolojik tipleri</b>	
Adenokarsinom	43 (72.9)
Müsinöz adenokarsinom	16 (27.1)

(T1: Submukoza invazyonu yapmış tümör, T2: Muskularis propriya invazyonu yapmış tümör, T3: Tümör muskularis propriayı geçerek perikolorektal yağlı doku invazyonu yapıyor, T4: Tümör visseral periton veya komşu organ veya yapılara yapışık veya invazyon yapıyor, M0: Uzak metastaz yok, M1: Bir veya daha fazla bölge veya organda veya peritonda metastaz varlığı, N0: Lenf nodu metastazı yok, N1: 1-3 perikolik lenf tutulumu, N2: 2-4 perikolik ve perirektal tutulum)

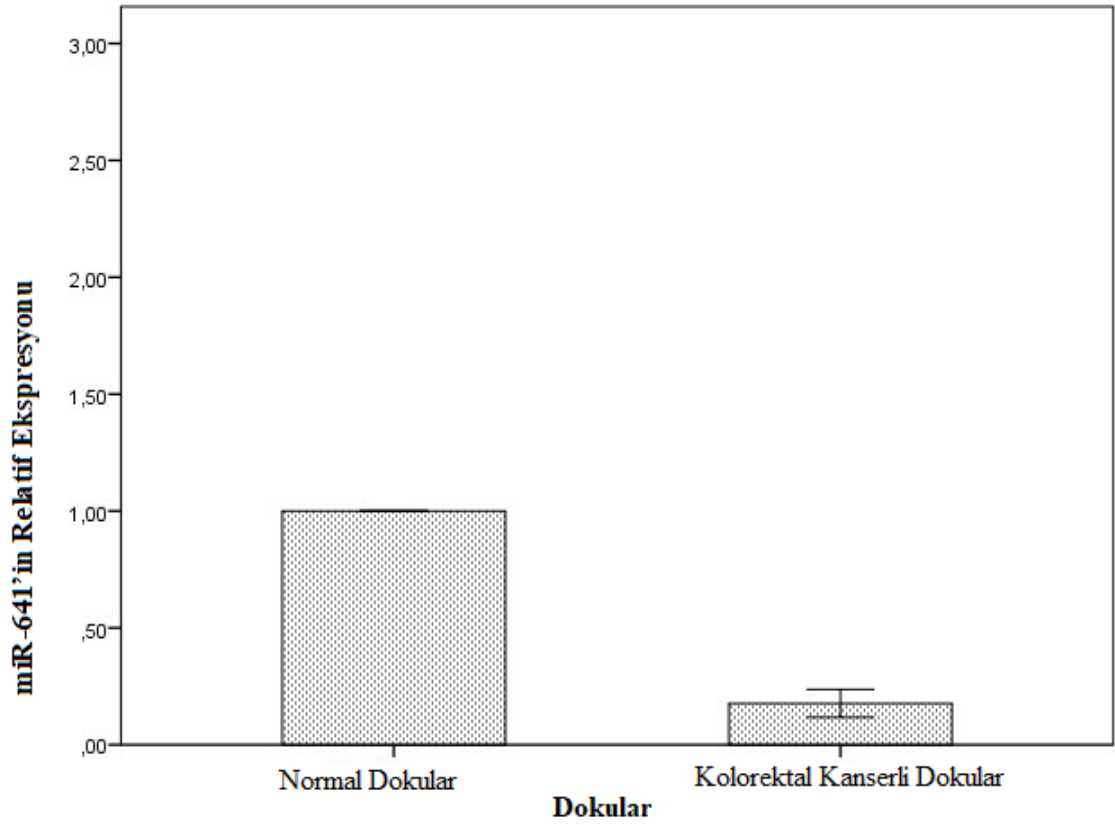
#### 4.2. Tümörlü ve Komşu Sağlıklı Dokularda miR-639, miR-641, miR-1915-3p ve miR-3613-3p Ekspresyon Düzeylerine İlişkin Bulgular

Bu çalışmada, 59 kolorektal kanserli hastanın tümörlü ve komşu sağlıklı dokularında 4 miRNA'nın ekspresyonları Real Time-PCR metodu kullanılarak belirlenmiştir. miR-639'un tümörlü dokulardaki  $\Delta Ct$  değeri (ortalama $\pm$ standart sapma)  $-20.13\pm 2.32$  iken, normal dokularda ise  $-21.08\pm 2.58$  olarak hesaplanmıştır. miR-639'un ekspresyon düzeyi tümörlü dokularda normal dokulara kıyasla istatistiksel açıdan anlamlı derecede azalış göstermiştir ( $p=0.000$ ; Fold change= $0.20\pm 0.26$ ) (Şekil 4.1).



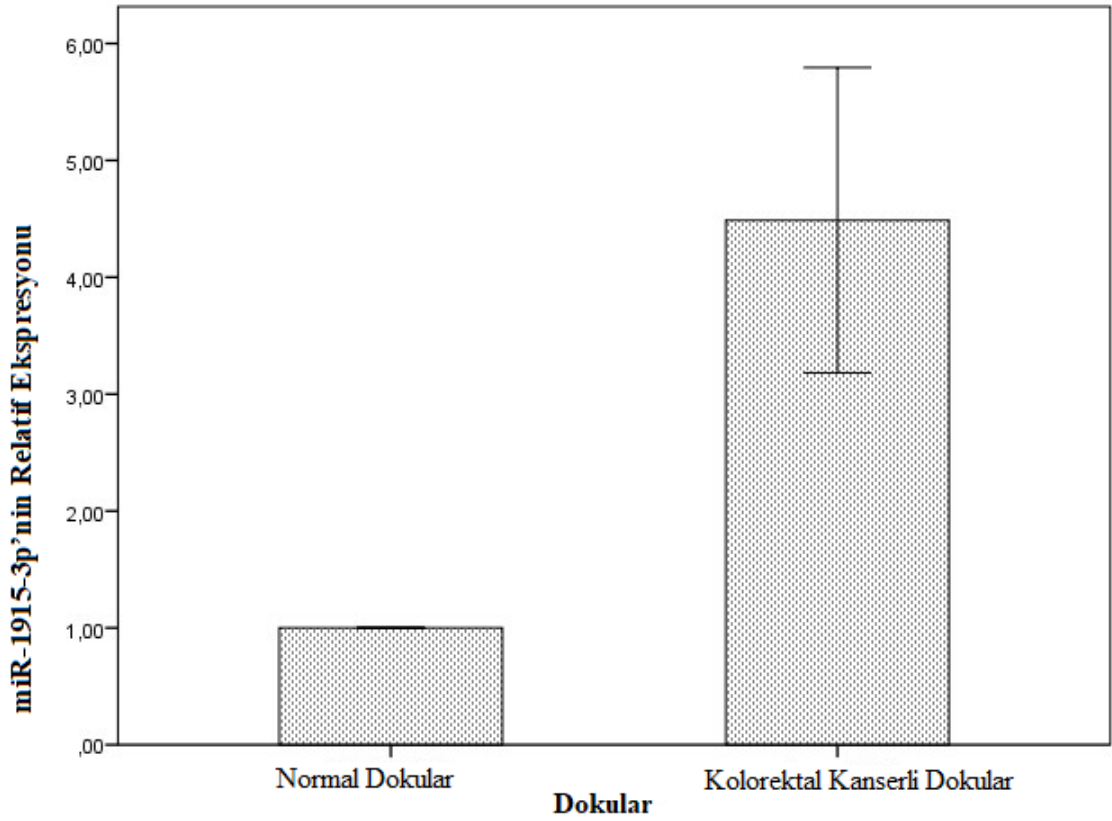
Şekil 4. 1 miR-639'un relatif ekspresyon düzeyleri

miR-641'in tümörlü dokulardaki  $\Delta Ct$  değeri (ortalama $\pm$ standart sapma)  $-18.46\pm 2.94$  iken, normal dokularda ise  $-22.21\pm 2.89$  olarak hesaplanmıştır. miR-641'in ekspresyon düzeyi tümörlü dokularda normal dokulara kıyasla istatistiksel açıdan anlamlı derecede azalış göstermiştir ( $p=0.000$ ; Fold change= $0.17\pm 0.22$ ) (Şekil 4.2).



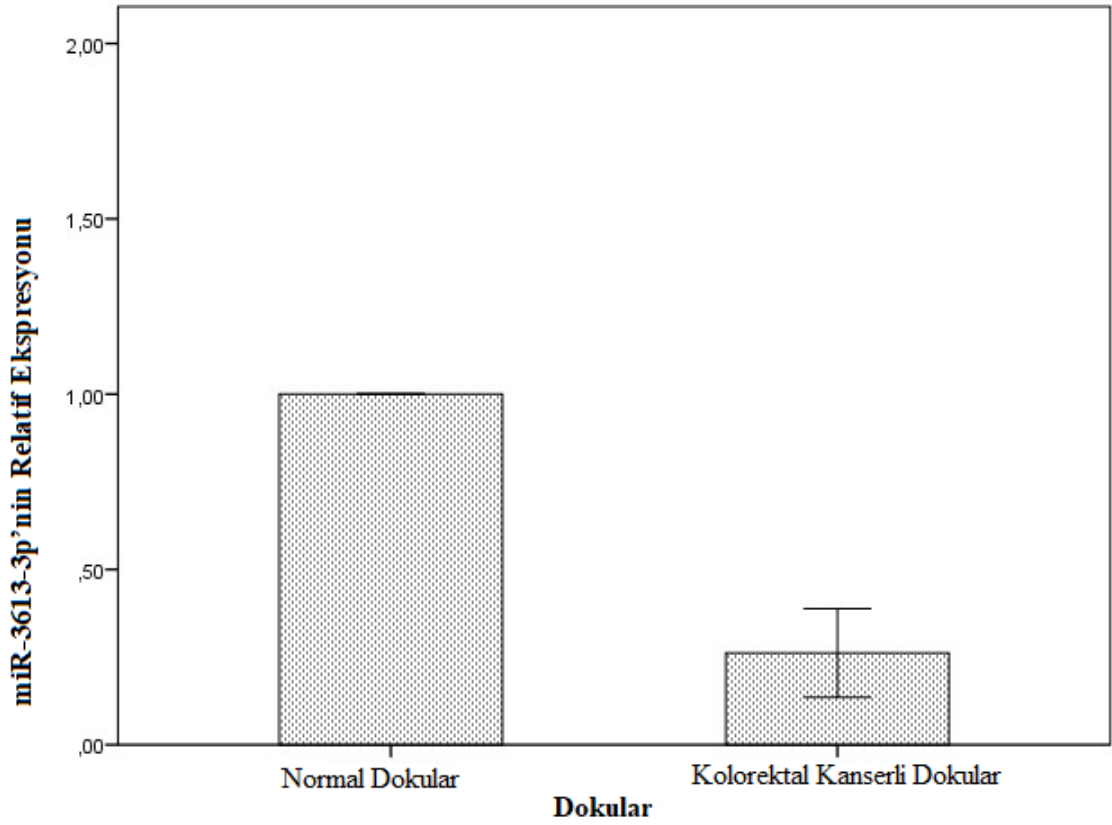
**Şekil 4. 2** miR-641'in relatif ekspresyon düzeyleri

miR-1915-3p'nin tümörlü dokulardaki  $\Delta Ct$  değeri (ortalama $\pm$ standart sapma) -18.46 $\pm$ 2.18 iken, normal dokularda ise -17.75 $\pm$ 2.47 olarak hesaplanmıştır. miR-1915-3p'nin ekspresyon düzeyi tümörlü dokularda normal dokulara kıyasla istatistiksel açıdan anlamlı derecede upregüle olduğu görülmüştür. (p=0.032; Fold change=4.48 $\pm$ 5.01) (Şekil 4.3).



**Şekil 4. 3** miR-1915-3p'nin relatif ekspresyon düzeyleri

miR-3613-3p'nin tümörlü dokulardaki  $\Delta Ct$  değeri (ortalama $\pm$ standart sapma) -  $18.13 \pm 1.94$  iken, normal dokularda ise  $-22.33 \pm 3.03$  olarak hesaplanmıştır. miR-3613-3p'nin ekspresyon düzeyi tümörlü dokularda normal dokulara kıyasla istatistiksel açıdan anlamlı derecede azalış göstermiştir ( $p=0.000$ ; Fold change= $0.26 \pm 0.48$ ) (Şekil 4.4).

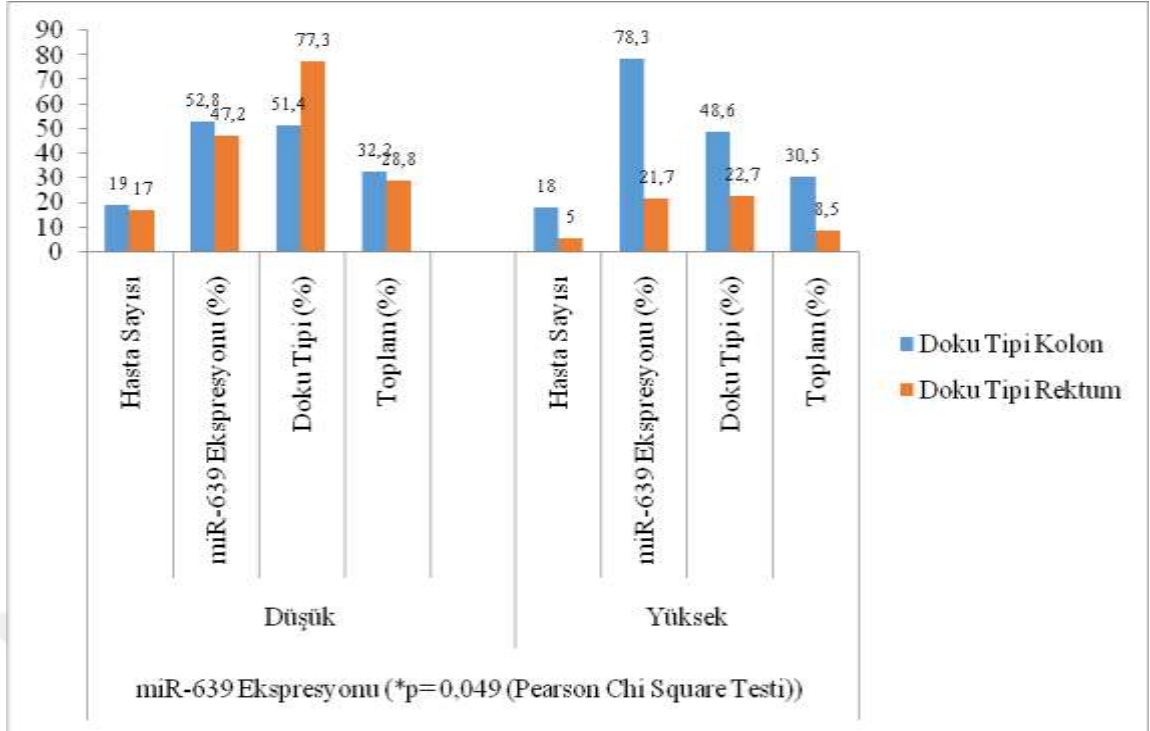


Şekil 4. 4 miR-3613-3p'nin relatif ekspresyon düzeyleri

### 4.3. miR-639, miR641, miR-1915-3p ve miR-3613-3p Ekspresyonu ve Klinikopatolojik Özellikler Arasındaki İlişkiye Yönelik Bulgular

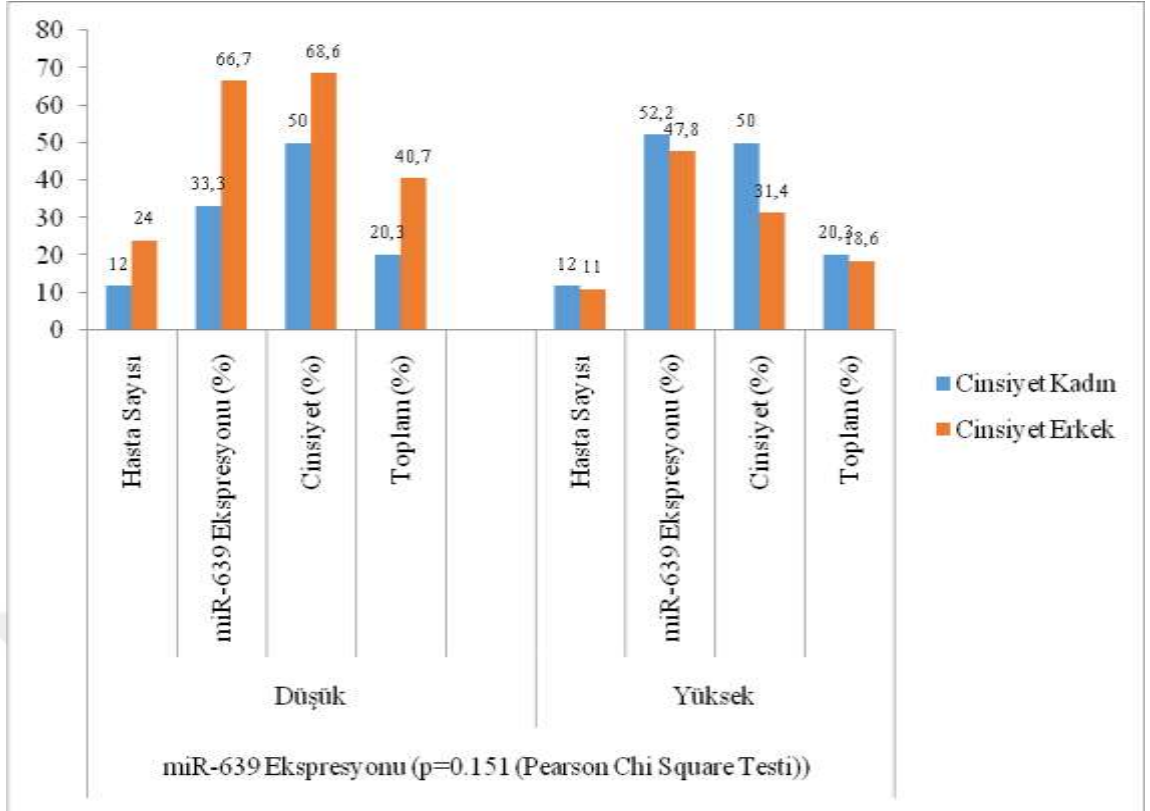
#### 4.3.1. miR-639 Ekspresyonunun Klinikopatolojik Faktörlerle İlişkisi

Şekil 4. 5'de verildiği gibi 37 kolon dokusunun 19'un da düşük, 18'in de ise yüksek ekspresyon gözlenmiştir. Toplamda 22 tane olan rektum dokusunun ise 17 tanesinde düşük, 5 tanesinde ise yüksek miR-639 ekspresyonu gözlenmiştir. miR-639'un azalan ekspresyonu, artan ekspresyona kıyasla hem kolon hem de rektum dokularında istatistiksel açıdan anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ( $p=0,049$ ).



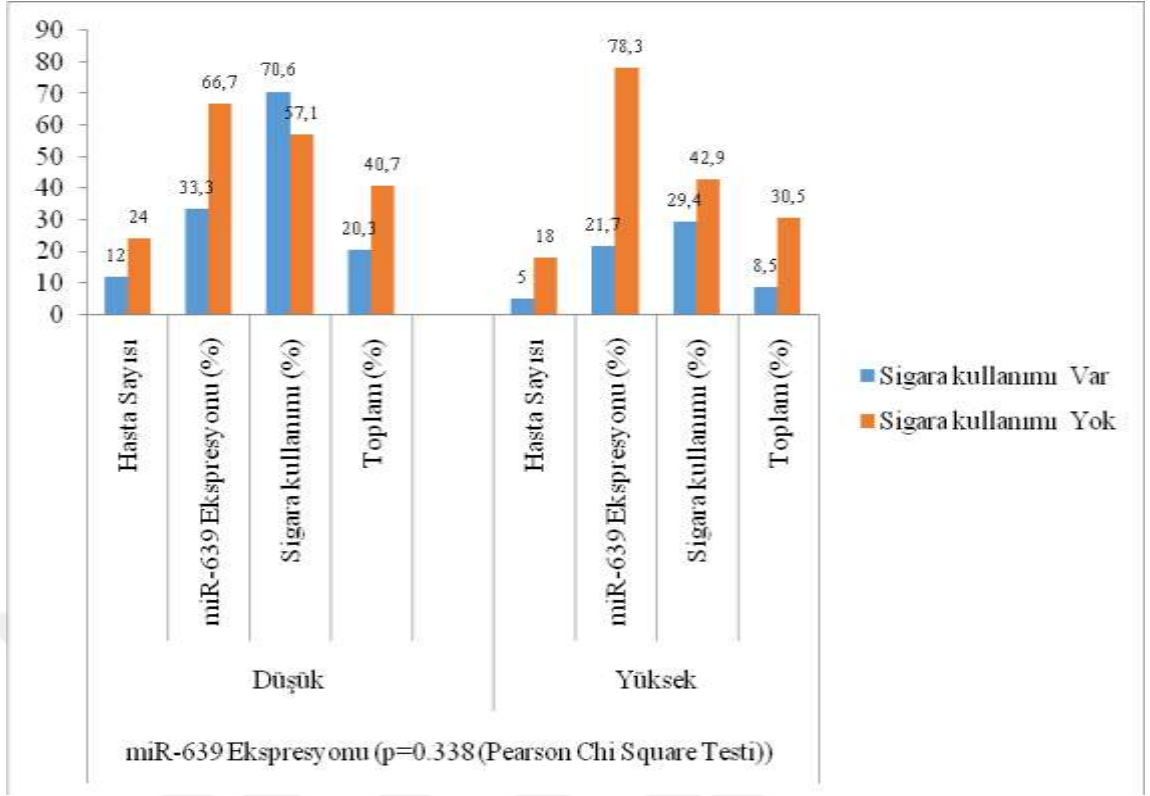
**Şekil 4. 5** miR-639 ekspresyonu ile doku tipi arasındaki ilişki

Örneklerin %40,7'sini oluşturan kadın hastaların %50'sinde miR-639 ekspresyonunun düşük, geriye kalan diğer yarısında ise yüksek olduğu saptanmıştır. Toplam örneklerin %59,3'ünü ise erkek hastalar oluşturmaktadır. Bu hastaların %68,6'sında düşük, geriye kalan %31,4'ünde ise yüksek ekspresyon bulunmuştur. miR-639 ekspresyon düzeyi ile cinsiyet arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilmemiştir ( $p=0.151$ ) (Şekil 4. 6).



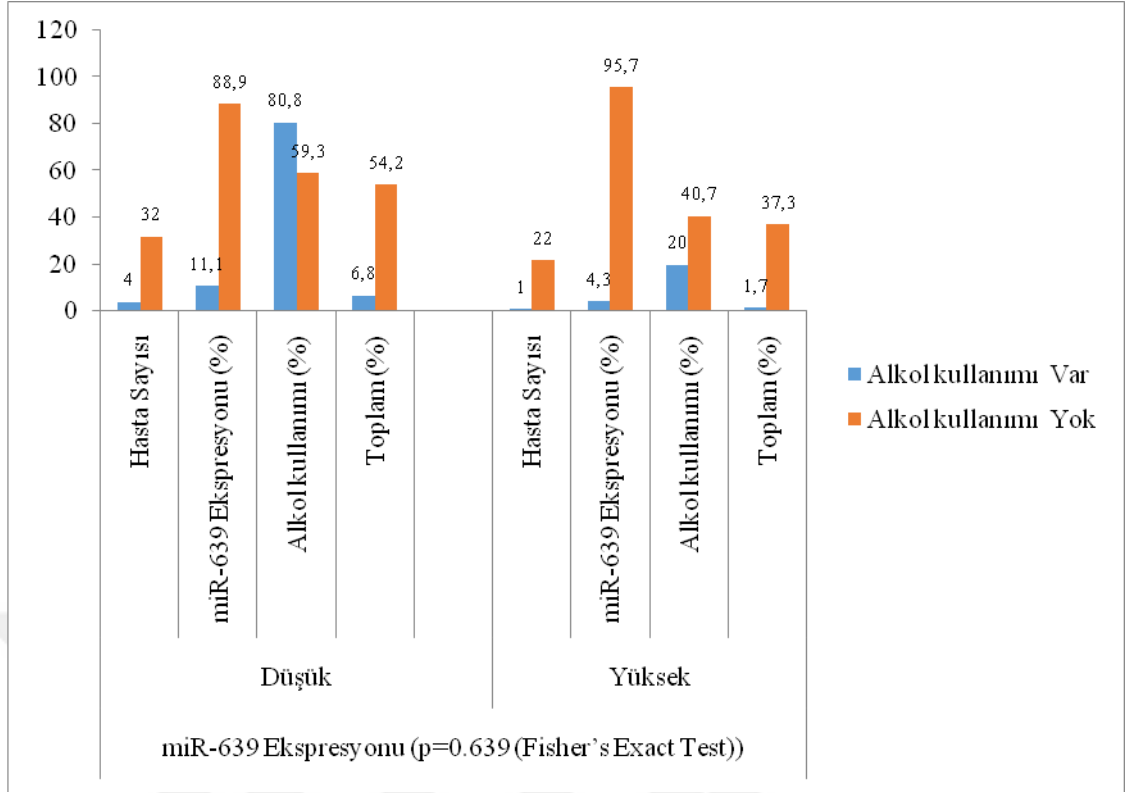
**Şekil 4. 6** miR-639 ekspresyonu ile cinsiyet arasındaki ilişki

Sigara kullanan 17 hastanın 5'inde yüksek, 12'sinde ise miR-639 ekspresyonu düşük olarak saptanmıştır. Hastaların geriye kalan 42 tanesi sigara kullanmamakta ve bunların %57,1'inde düşük, %42,9'unda yüksek miR-639 ekspresyonu gözlenmiştir. miR-639 ekspresyonu ile sigara kullanımı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (p=0,338) (Şekil 4. 7).



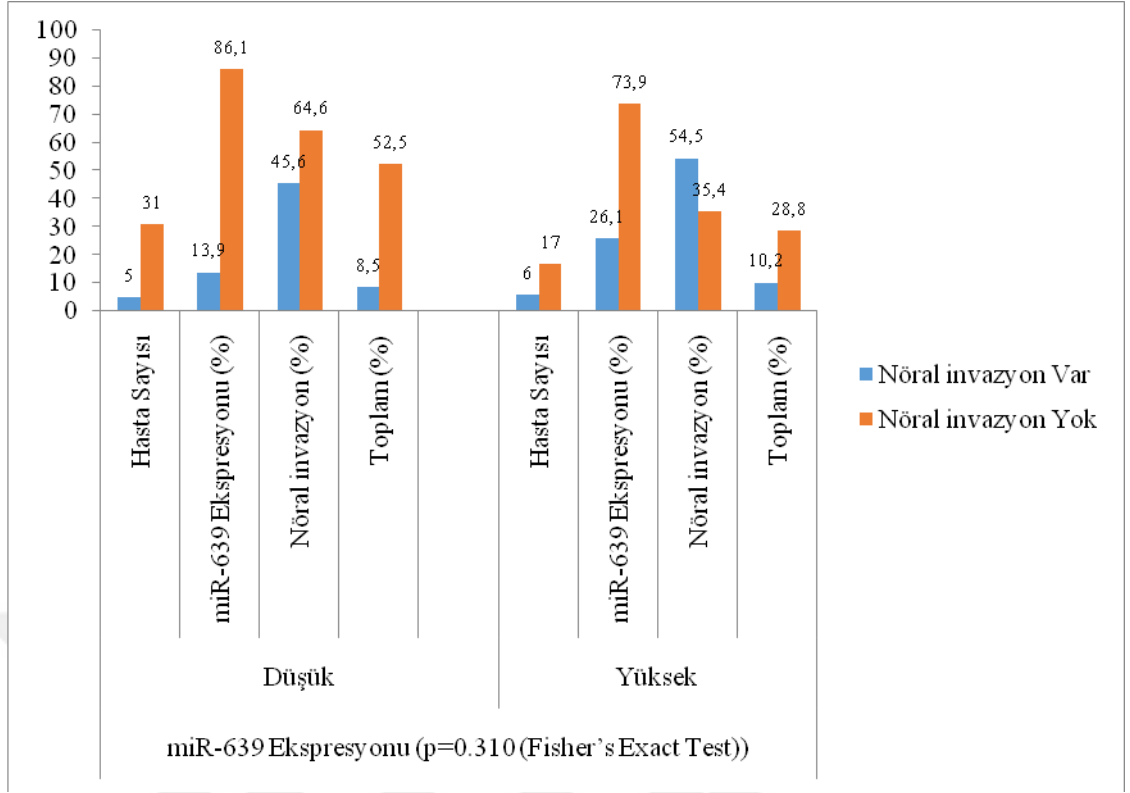
**Şekil 4. 7** miR-639 ekspresyonu ile sigara kullanımı arasındaki ilişki

Alkol kullanan 5 hastanın 1'inde yüksek, 4'ünde ise miR-639 ekspresyonu düşük olarak saptanmıştır. Hastaların geriye kalan 54 tanesi alkol kullanmamakta ve bunların %59,3'ünde düşük, %40,7'sinde yüksek miR-639 ekspresyonu gözlenmiştir. miR-639 ekspresyonu ile alkol kullanımı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (p=0,639) (Şekil 4. 8).



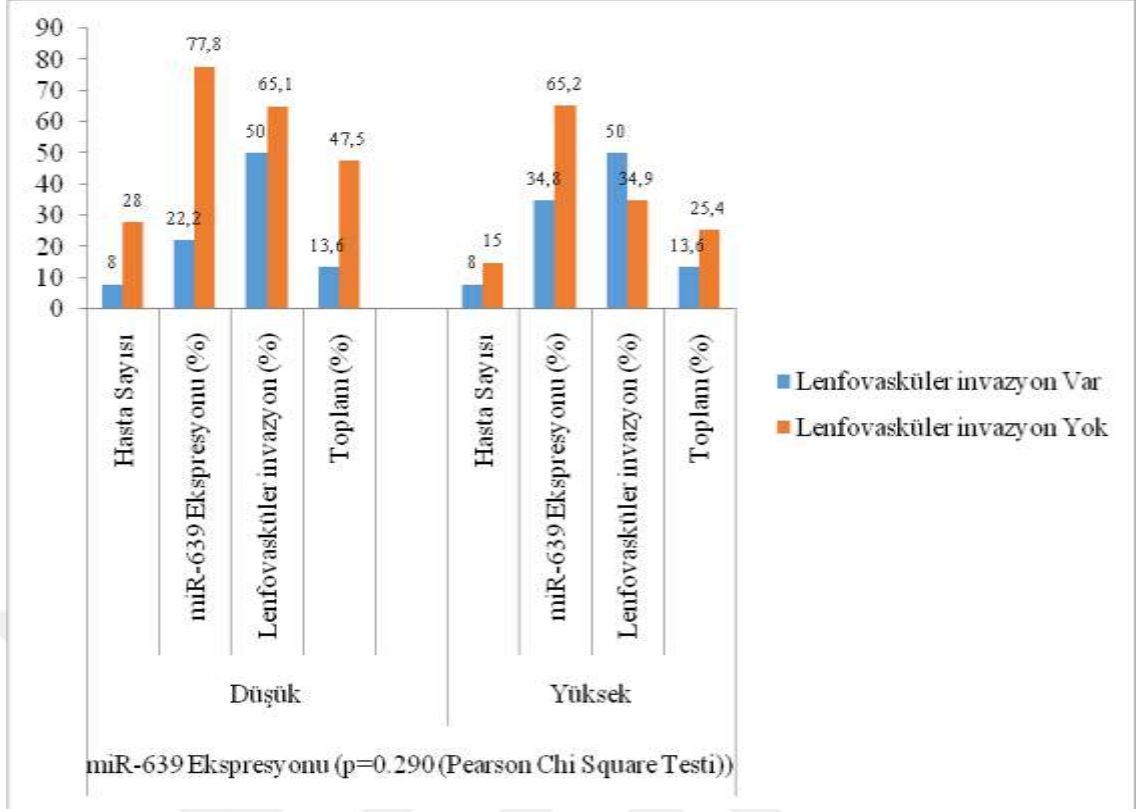
**Şekil 4. 8** miR-639 ekspresyonu ile alkol kullanımı arasındaki ilişki

Çalışmamızda, 11 hastada nöral invazyon varlığı tespit edilmiştir. Bu kişilerin % 45,5'inde düşük % 54,5'inde ise yüksek ekspresyon tespit edilmiştir. 48 hastada ise nöral invazyon bulunmamaktadır. Bu hastalarında % 64,6'sın da düşük, % 35,4'ünde yüksek ekspresyon gözlenmiştir. Kolorektal kanserli hastalarda miR-639 ekspresyon düzeyi ile nöral invazyon arasında istatistiksel olarak bir ilişki görülmemiştir (p=0,310) (Şekil 4. 9).



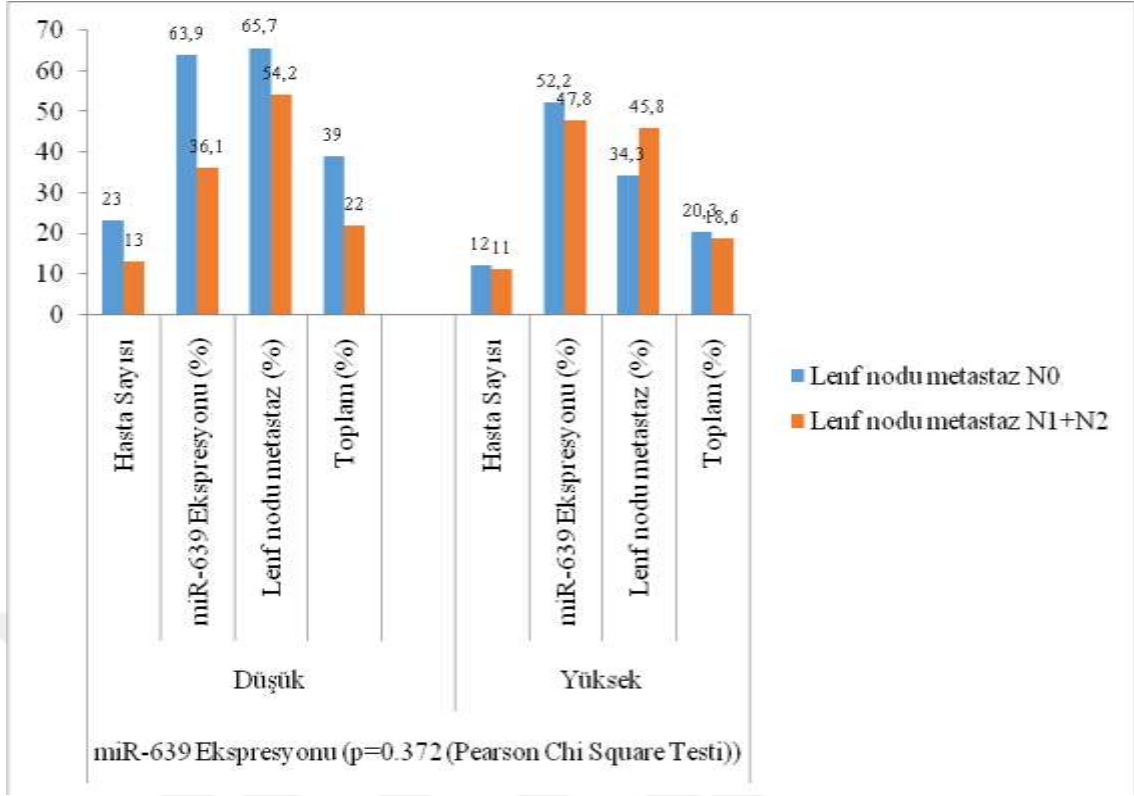
**Şekil 4. 9** miR-639 ekspresyonu ile nöral invazyon arasındaki ilişki

Şekil 4. 10'da verildiği gibi 43 lenfovasküler invazyon bulunmayan hastanın 28'inde düşük, 15'inde yüksek ekspresyon bulunmuştur. Lenfovasküler invazyonlu hastaların %50'sinde düşük, geriye kalan %50'sinde ise yüksek ekspresyon saptanmıştır. miR-639 ekspresyonu ile lenfovasküler invazyon arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (p=0,290).



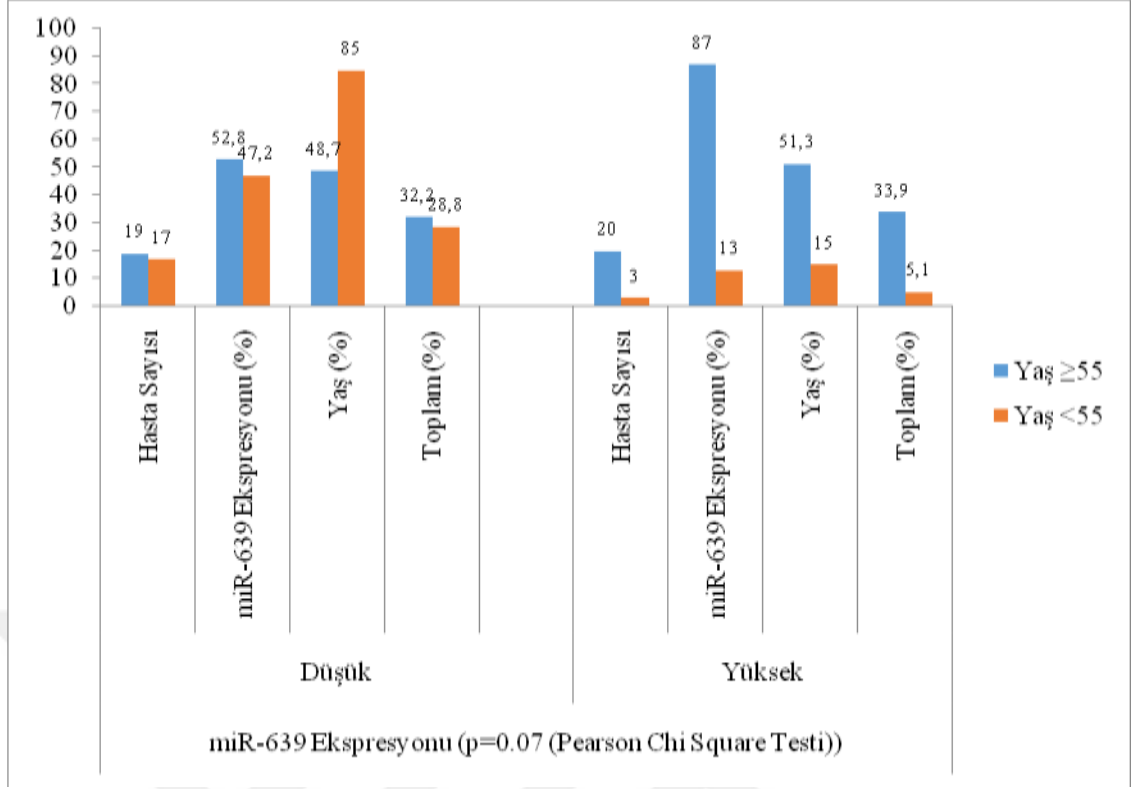
**Şekil 4. 10** miR-639 ekspresyonu ile lenfovasküler invazyon arasındaki ilişki

Çalışmaya dahil edilen hastaların 24 tanesinde lenf tutulumu gözlenirken, 35 tanesinde lenf tutulumu gözlenmemiştir. Lenf tutulumu bulunanların %54,2'sinde düşük ekspresyon, %45,8'inde yüksek ekspresyon görülmüştür. Lenf tutulumu olmayan hastaların %65,7'sinde düşük, %34,3'inde yüksek ekspresyon saptanmıştır. Kolorektal kanserli hastalarda miR-639 ekspresyon düzeyi ile lenf nodu metastazı arasında istatistiksel olarak bir ilişki görülmemiştir (p=0,372) (Şekil 4.11).



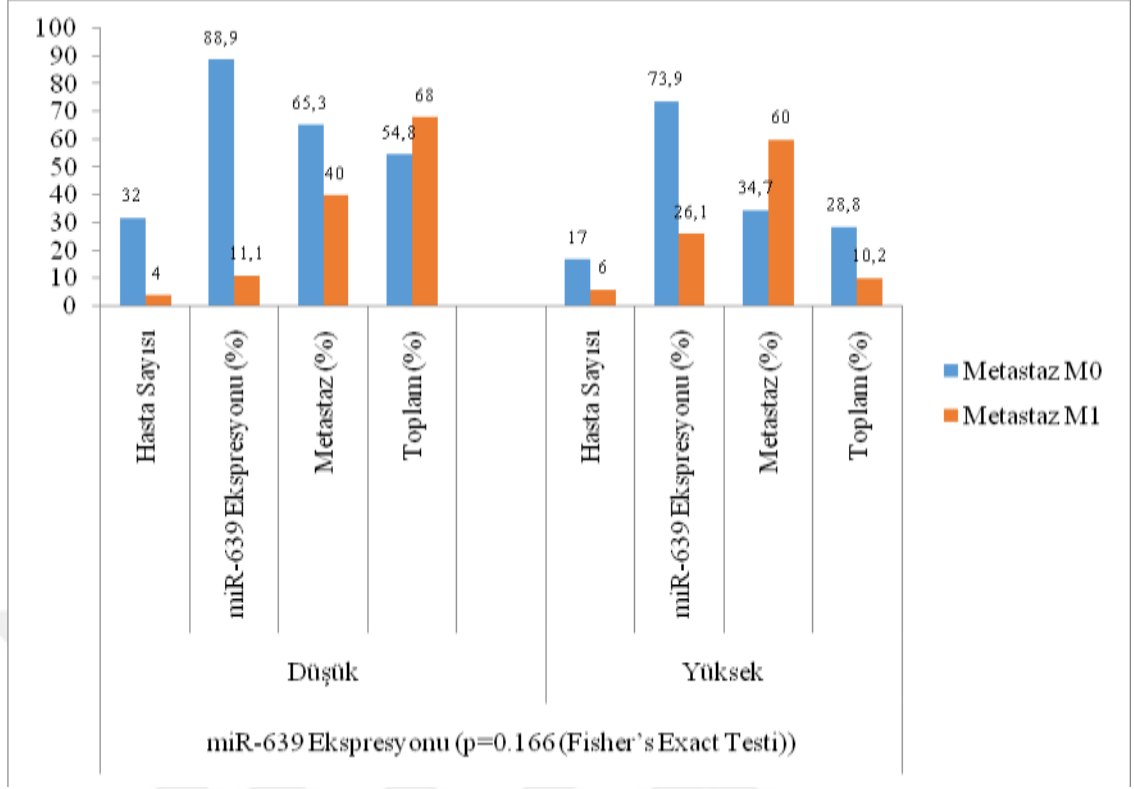
**Şekil 4. 11** miR-639 ekspresyonu ile lenf nodu metastaz arasındaki ilişki

Çalışmada 55 yaş ve üzerinde 39 hasta bulunmakta olup miR-639 için bu hastaların % 48,7'sinde düşük, geriye kalan % 51,3'ünde ise yüksek ekspresyon gözlenmiştir. 55 yaş altı 20 hastanın ise % 85'inde düşük, % 15'inde yüksek ekspresyon saptanmıştır. miR-639 ekspresyonu ile yaş arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (p=0,07) (Şekil 4. 12).



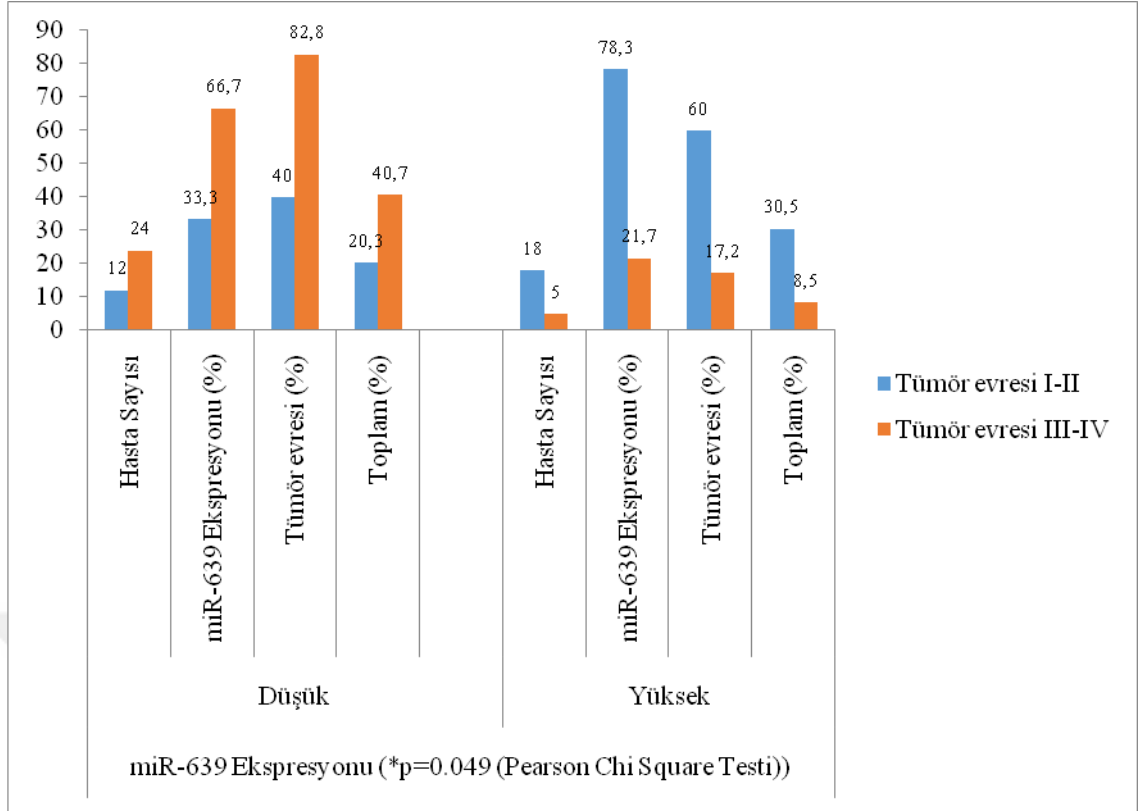
**Şekil 4. 12** miR-639 ekspresyonu ile yaş arasındaki ilişki

Kolorektal kanserli 10 hastada metastaz varlığı gözlenmiştir. Bu bireylerin % 40'ında düşük, % 60'ında ise yüksek ekspresyon tespit edilmiştir. 49 hastada ise metastaz bulunmamaktadır. Bu hastalarında % 65,3'ün de düşük, % 34,7'inde yüksek ekspresyon gözlenmiştir. miR-639 ekspresyonu ile metastaz arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilmemiştir (p=0,166) (Şekil 4.13).



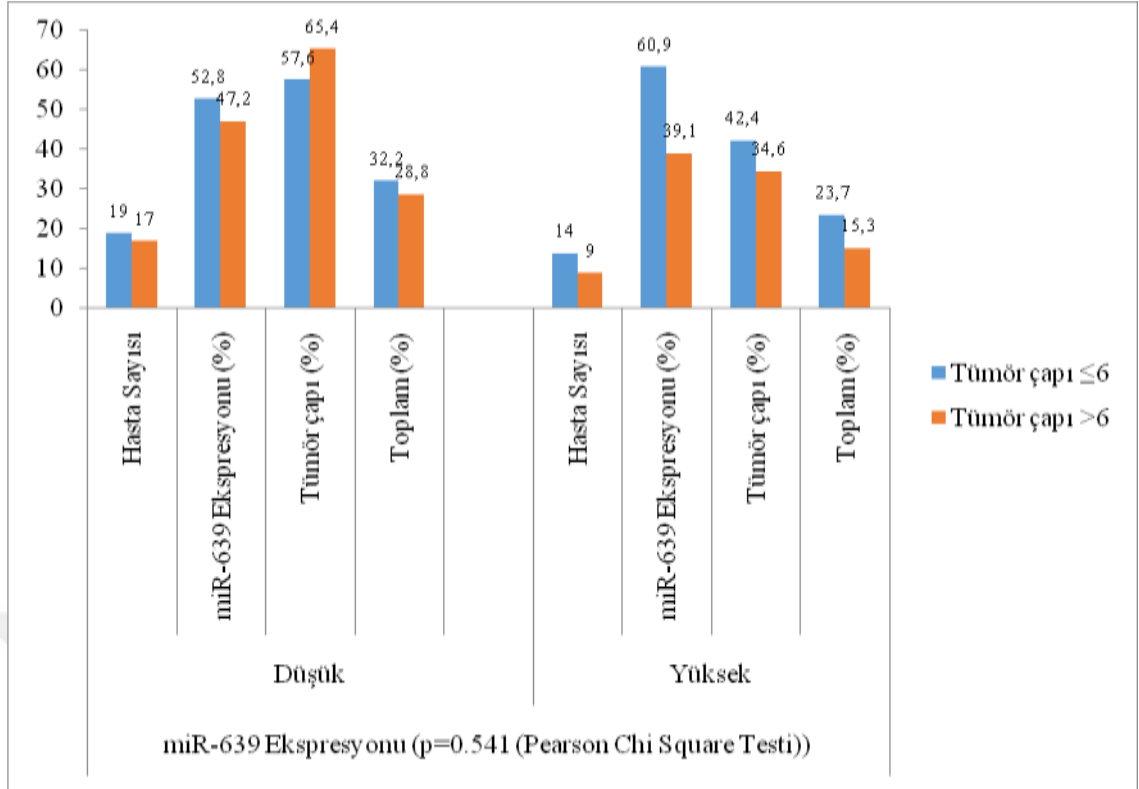
**Şekil 4. 13** miR-639 ekspresyonu ile metastaz arasındaki ilişki

TNM evrelendirilmesine göre 59 kolorektal kanserli hasta 2 grup altında toplanmıştır. Evre I ve II bir grup, Evre III ve IV diğer grubu temsil etmektedir. 59 hastanın 30'u Evre I ve II içinde değerlendirilirken 29'u Evre III ve IV içerisinde yer almaktadır. Bu çalışmada, hem birinci grupta hem de ikinci grupta miR-639'un azalan ekspresyonu artan ekspresyona kıyasla istatistiksel açıdan anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p=0.049) (Şekil 4.14).



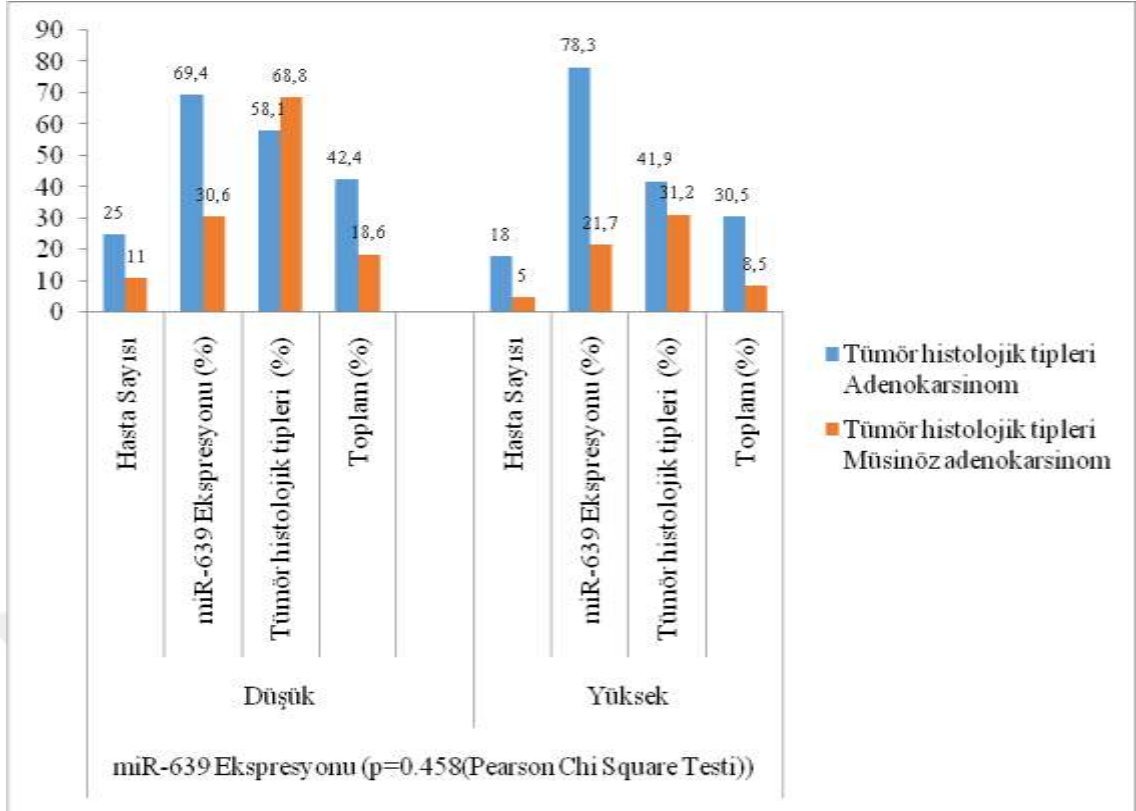
**Şekil 4. 14** miR-639 ekspresyonu ile tümör evresi arasındaki ilişki

Tümör çapı 6 cm ve altı olan kişilerin %57,6'sında düşük, %42,4'ünde yüksek; tümör çapı 6 cm üstü olanların %65,4'ünde düşük, %34,6'sında yüksek ekspresyon saptanmıştır. miR-639 ekspresyonu ile tümör çapı arasındaki ilişkide istatistiksel bir anlamlılık belirlenmemiştir (p=0,541) (Şekil 4.15).



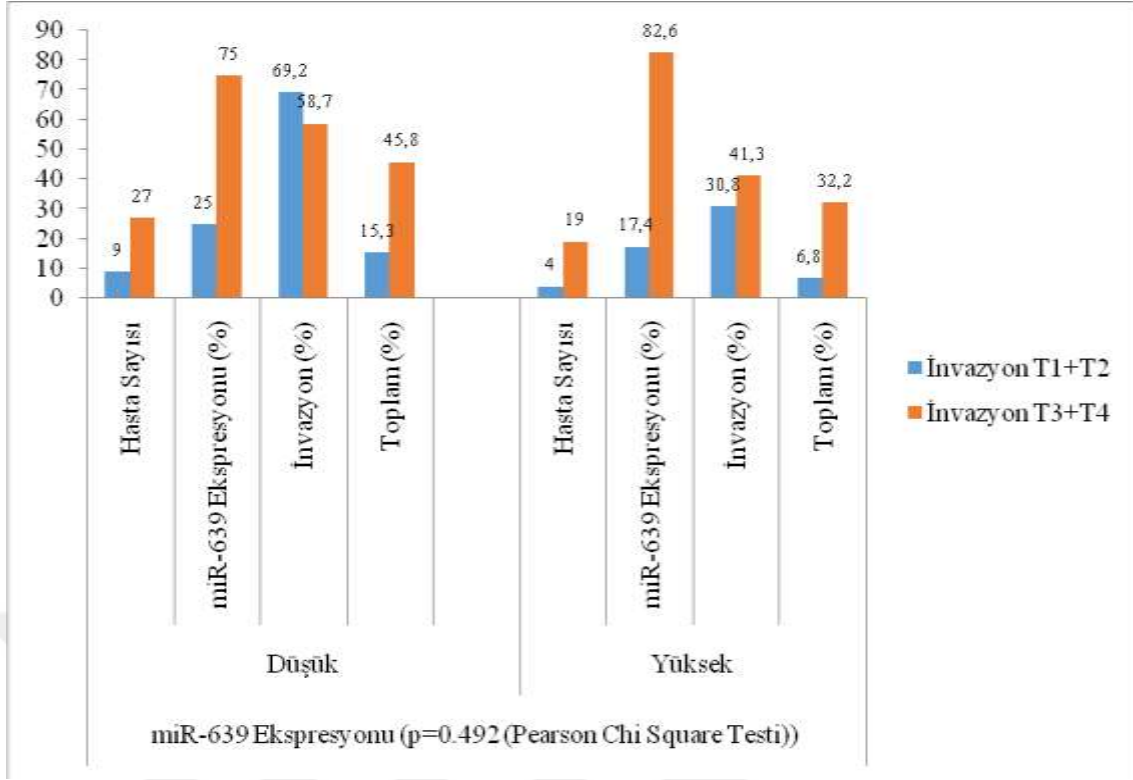
**Şekil 4. 15** miR-639 ekspresyonu ile tümör çapı arasındaki ilişki

Çalışma grubumuzda iki histolojik tip gözlenmiş olup adenokarsinom 43'ünü (% 72,9), müsinöz adenokarsinom ise 16'sını (% 27,1) oluşturmaktadır. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda miR-639 ekspresyon düzeyi ile hastaların tümör histolojik tipleri arasında istatistiksel bir ilişkiye rastlanılmamıştır (p=0,458) (Şekil 4.16).



**Şekil 4. 16** miR-639 ekspresyonu ile tümör histolojik tipleri arasındaki ilişki

TNM sınıflandırmasına göre invazyon T1+T2’ deki 13 hastanın 4’ünde yüksek, 9’unda ise miR-639 ekspresyonu düşük olarak saptanmıştır. Hastaların geriye kalan 46 tanesi invazyon T3+T4’de tespit edilmiş olup bunların % 58,7’sinde düşük, % 41,3’ünde yüksek miR-639 ekspresyonu gözlenmiştir. miR-639 ekspresyonu ile invazyon arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (p=0,492) (Şekil 4.17).



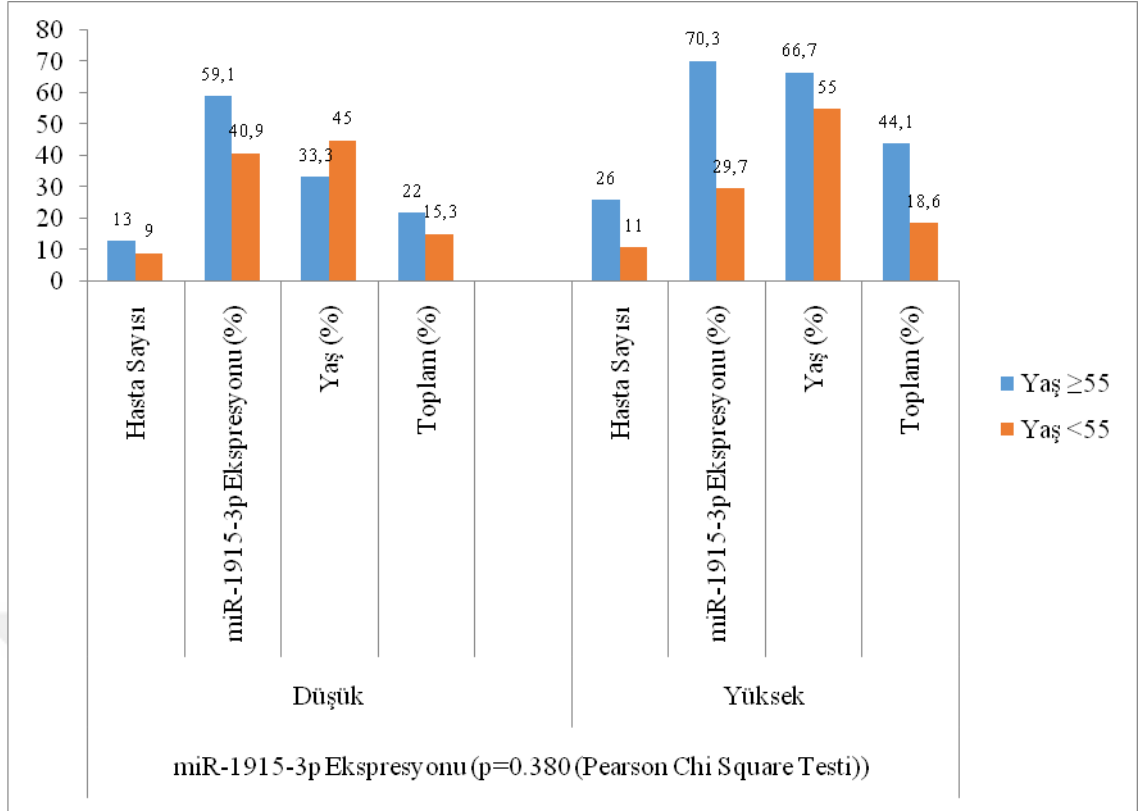
Şekil 4. 17 miR-639 ekspresyonu ile invazyon arasındaki ilişki

#### 4.3.2. miR-641 Ekspresyonunun Klinikopatolojik Faktörlerle İlişkisi

Çalışmaya dahil olan bütün hastaların tümörlü dokularında normal dokularına kıyasla miR-641'in ekspresyonu azalış gösterdiği için, miR-641 ekspresyon düzeyi ile hastaların klinikopatolojik karakterleri arasındaki ilişki değerlendirilmemiştir.

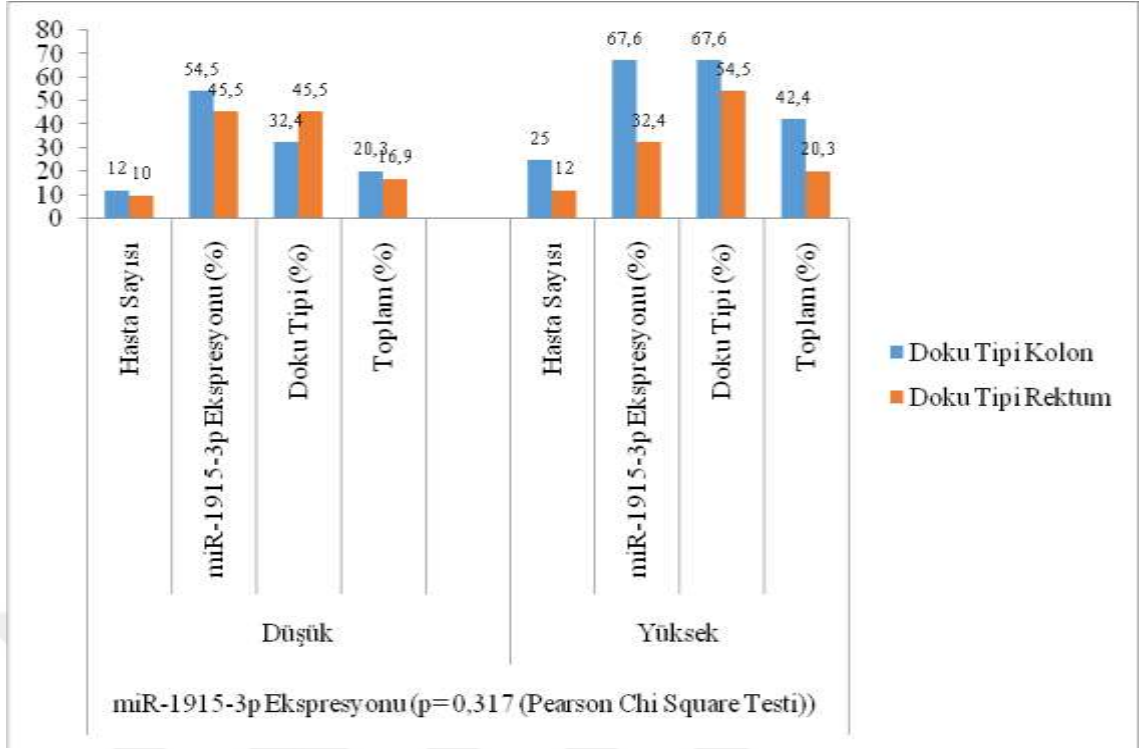
#### 4.3.3. miR-1915-3p Ekspresyonunun Klinikopatolojik Faktörlerle İlişkisi

55 yaş ve üzerinde 39 hastanın 26'ında yüksek, 13'ünde ise miR-1915-3p ekspresyonu düşük olarak saptanmıştır. Hastaların geriye kalan 20 tanesi 55 yaş altı ve bunların %45'inde düşük, %55'inde yüksek miR-1915-3p ekspresyonu gözlenmiştir. miR-1915-3p ekspresyonu ile yaş arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (p=0,380) (Şekil 4.18).



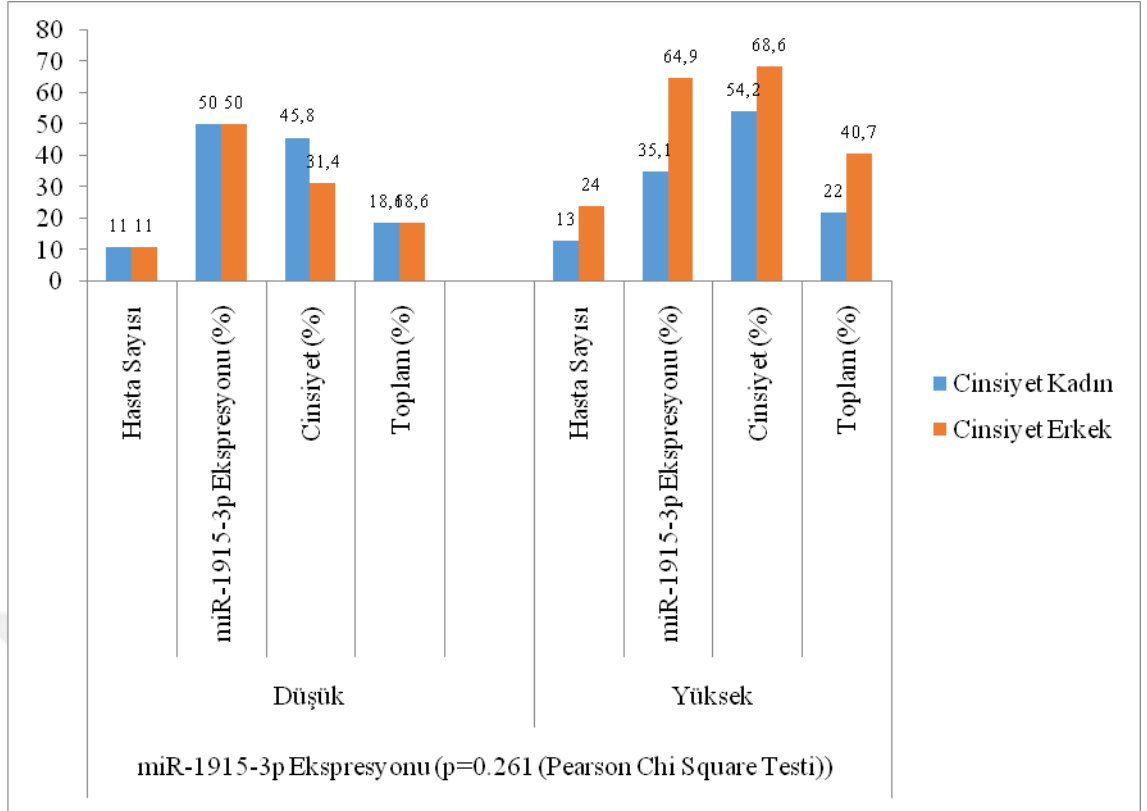
**Şekil 4. 18** miR-1915-3p ekspresyonu ile yaş arasındaki ilişki

Şekil 4.19’da verildiği gibi 37 kolon dokusunun 12’sinde düşük, 25’in de ise yüksek ekspresyon gözlenmiştir. Toplamda 22 tane olan rektum dokusunun ise 10 tanesinde düşük, 12 tanesinde ise yüksek miR-1915-3p ekspresyonu gözlenmiştir. miR-1915-3p ekspresyonu ile hem kolon hem de rektum dokuları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (p=0,317).



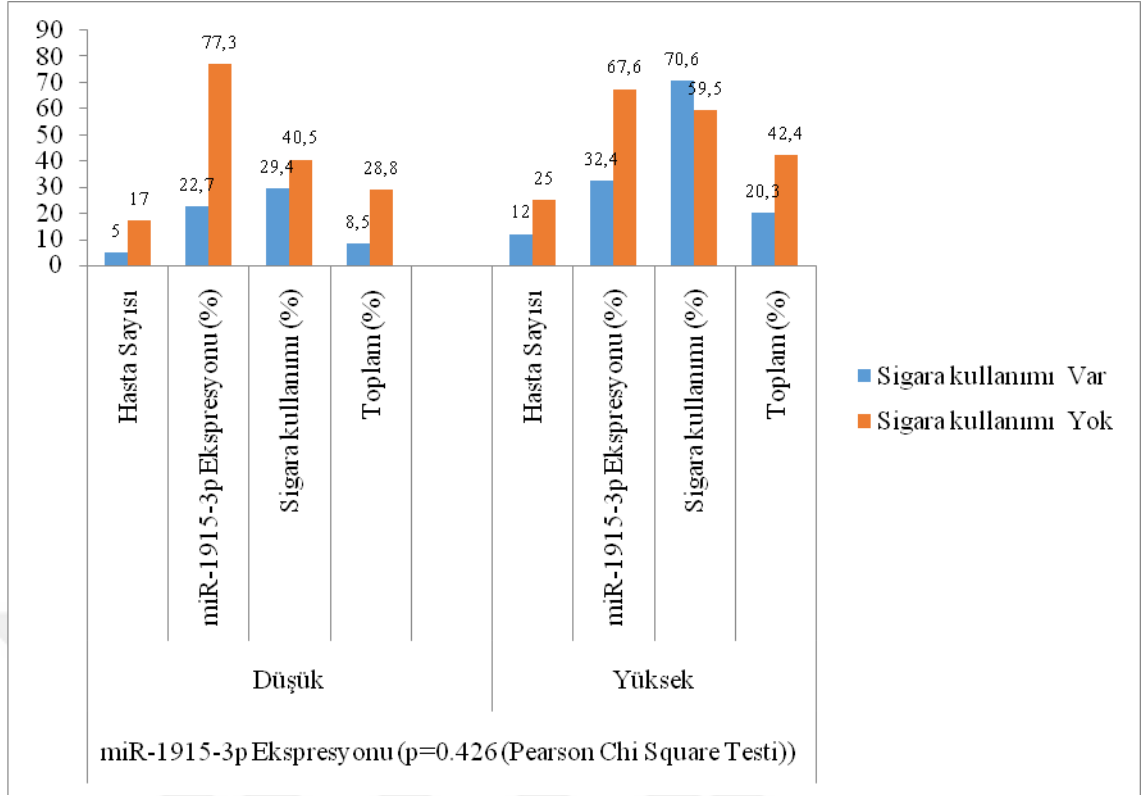
**Şekil 4. 19** miR-1915-3p ekspresyonu ile doku tipi arasındaki ilişki

24 kadın hastanın %50' sinde miR-1915-3p ekspresyonunun düşük, geriye kalan diğer yarısında ise yüksek olduğu saptanmıştır. Toplam örneklerin %59,3'ünü ise erkek hastalar oluşturmaktadır. Bu hastaların %31,4'ünde düşük, geriye kalan %68,6'sında ise yüksek ekspresyon bulunmuştur. miR-1915-3p ekspresyon düzeyi ile cinsiyet arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilmemiştir (p=0.261) (Şekil 4.20).



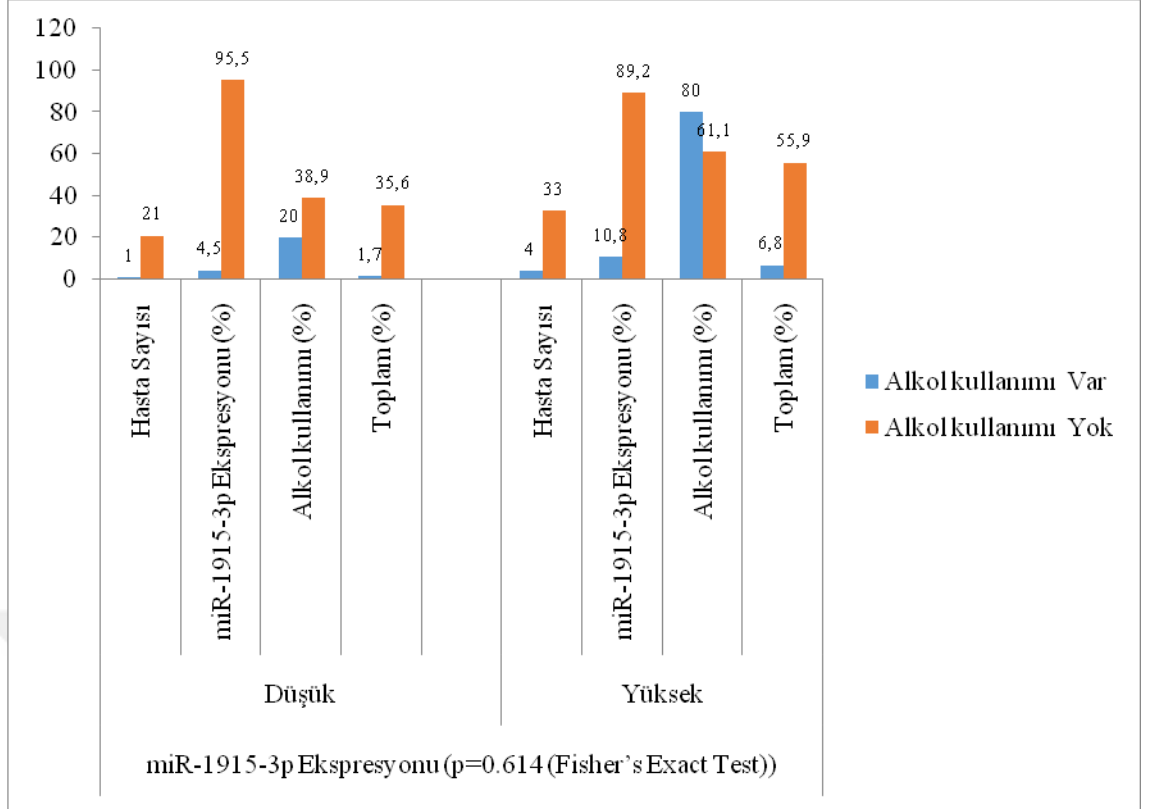
**Şekil 4. 20** miR-1915-3p ekspresyonu ile cinsiyet arasındaki ilişki

Sigara kullanan 17 hastanın 12'sinde yüksek, 5'inde ise miR-1915-3p ekspresyonu düşük olarak saptanmıştır. Hastaların geriye kalan 42 tanesi sigara kullanmamakta ve bunların %40,5'inde düşük, %59,5'inde yüksek miR-1915-3p ekspresyonu gözlenmiştir. miR-1915-3p ekspresyonu ile sigara kullanımı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (p=0,426) (Şekil 4.21).



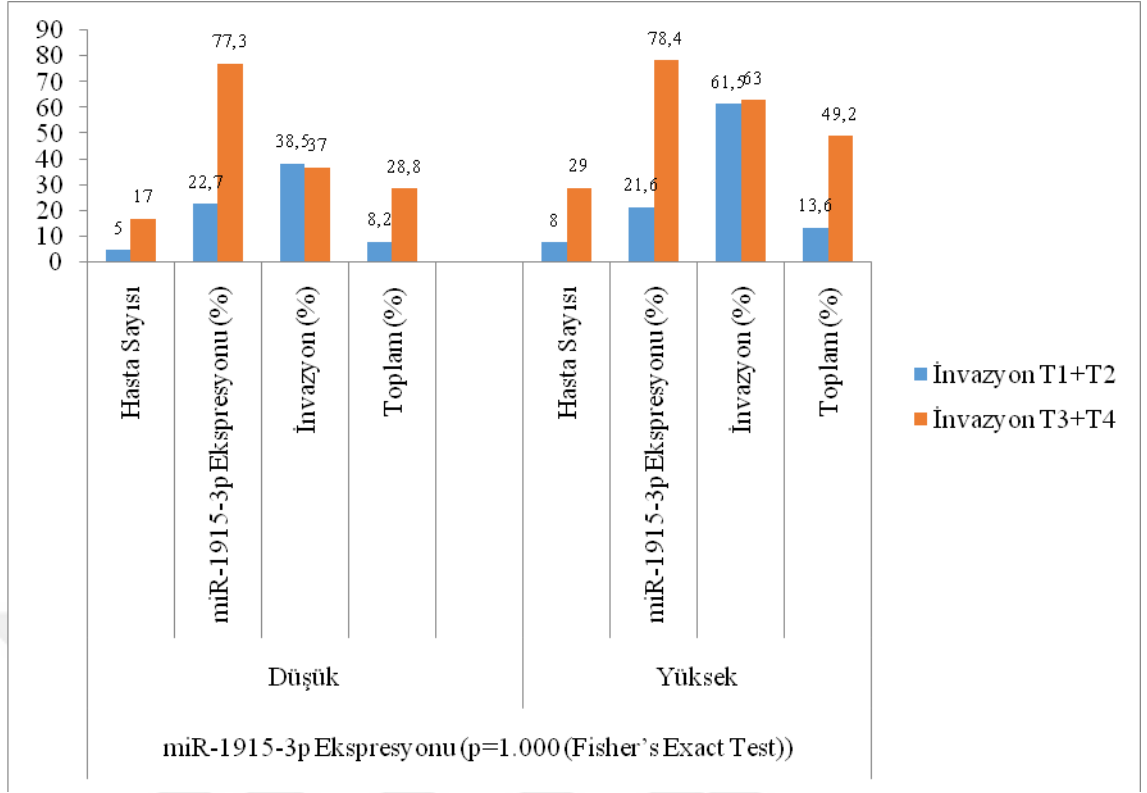
**Şekil 4. 21** miR-1915-3p ekspresyonu ile sigara kullanımı arasındaki ilişki

Alkol kullanan 5 hastanın 1'inde düşük, 4'ünde ise miR-1915-3p ekspresyonu yüksek olarak saptanmıştır. Hastaların geriye kalan 54 tanesi alkol kullanmamakta ve bunların %38,9'unda düşük, %61,1'inde yüksek miR-1915-3p ekspresyonu gözlenmiştir. miR-1915-3p ekspresyonu ile alkol kullanımı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (p=0,614) (Şekil 4.22).



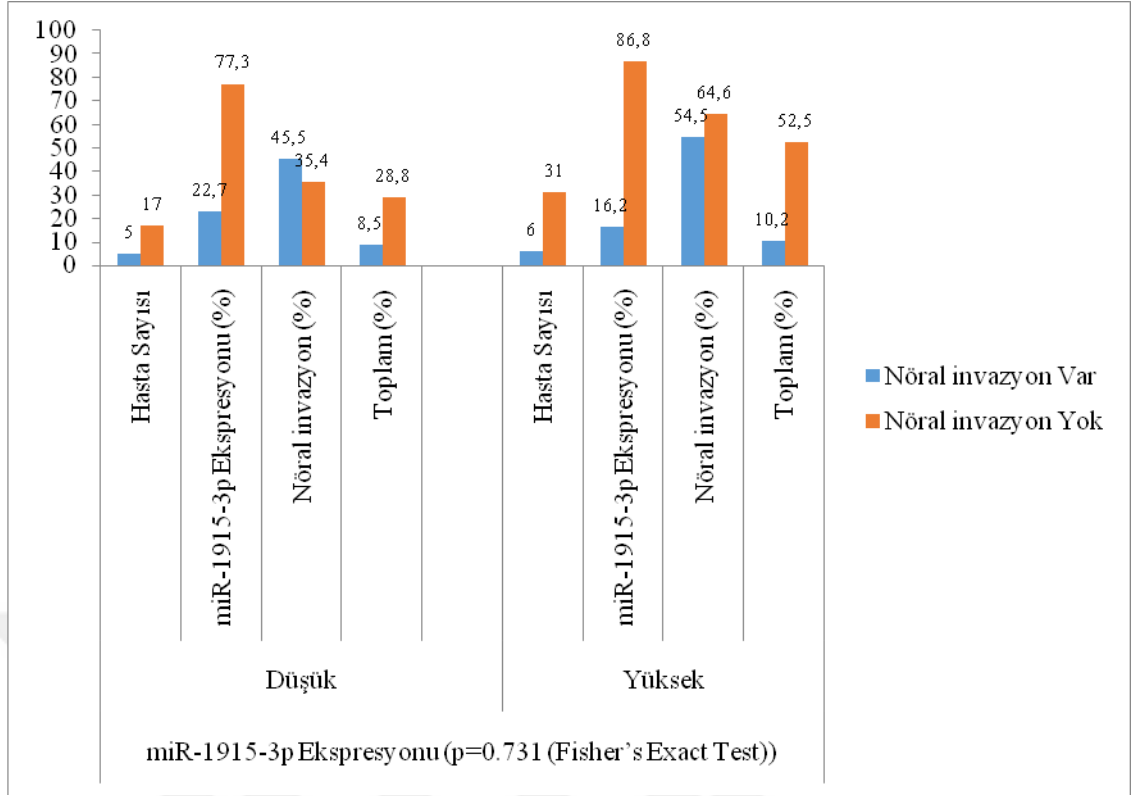
**Şekil 4. 22** miR-1915-3p ekspresyonu ile alkol kullanımı arasındaki ilişki

TNM sınıflandırmasına göre invazyon T1+T2' deki 13 hastanın 8'inde yüksek, 5'inde ise miR-1915-3p ekspresyonu düşük olarak saptanmıştır. Hastaların geriye kalan 46 tanesi invazyon T3+T4' de tespit edilmiş olup bunların %37'sinde düşük, %63'ünde yüksek miR-1915-3p ekspresyonu gözlenmiştir. miR-1915-3p ekspresyonu ile invazyon arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (p=1,000) (Şekil 4.23).



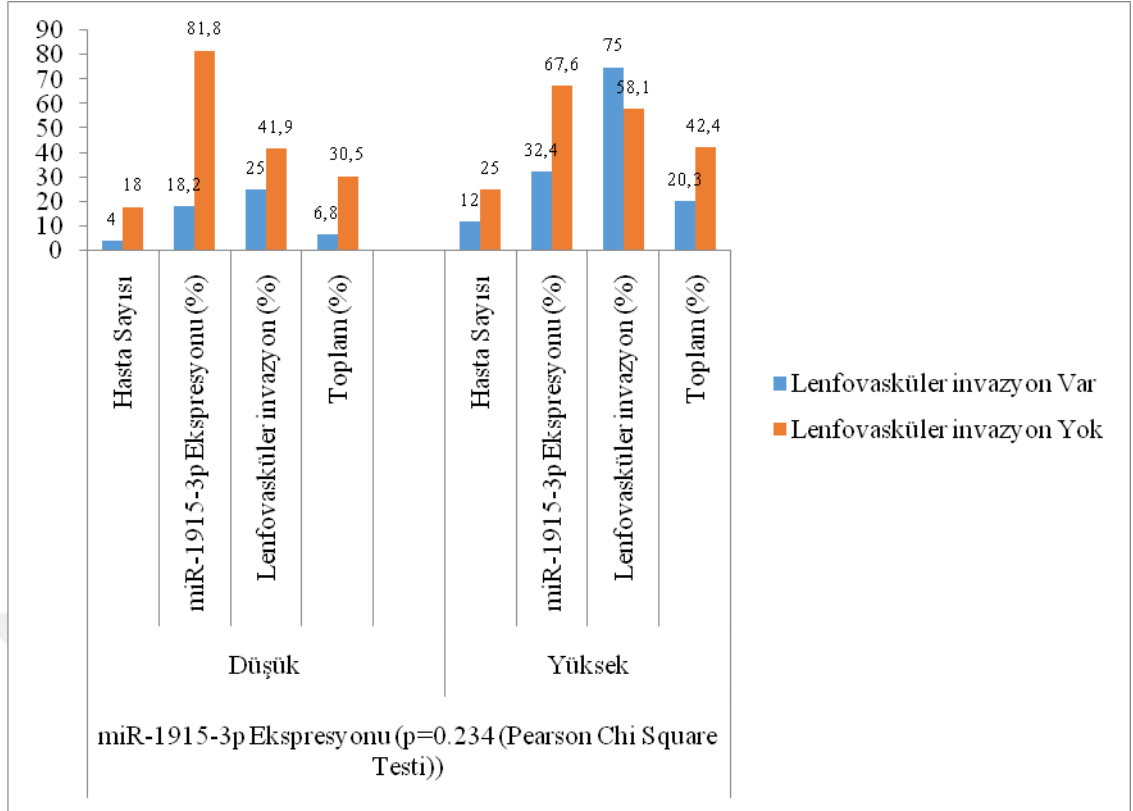
**Şekil 4. 23** miR-1915-3p ekspresyonu ile alkol kullanımı arasındaki ilişki

Şekil 4.24'de belirtildiği gibi 59 hastanın 11'inin nöral invazyona sahip olduğu, 48'inde ise nöral invazyon bulunmadığı görülmektedir. Nöral invazyon bulunan kişilerin %45,5'inde düşük, %54,5'inde yüksek; nöral invazyon bulunmayanların %35,4'ünde düşük, %64,6'sında ise yüksek ekspresyon saptanmıştır. miR-1915-3p ekspresyonu ile nöral invazyon arasındaki ilişkide istatistiksel bir anlamlılık belirlenmemiştir (p=0,731).



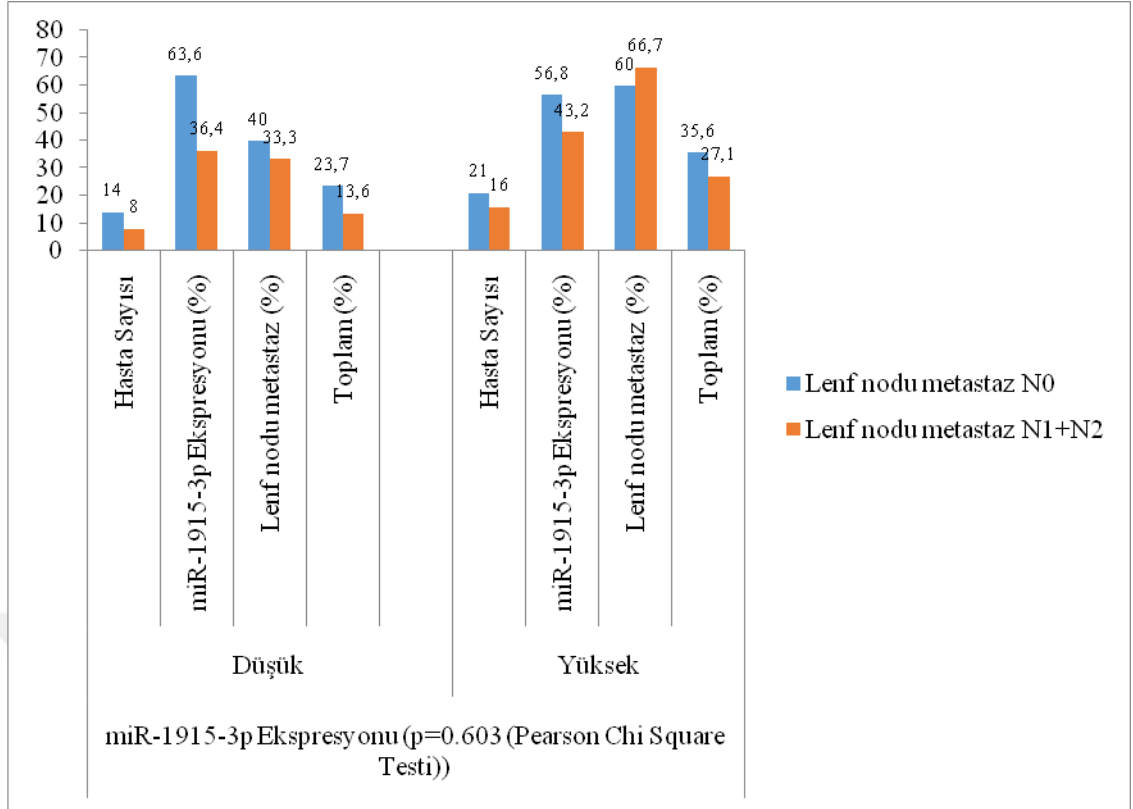
**Şekil 4. 24** miR-1915-3p ekspresyonu ile nöral invazyon arasındaki ilişki

43 lenfovasküler invazyon bulunmayan hastanın 18'inde düşük, 25'inde yüksek ekspresyon bulunmuştur. Lenfovasküler invazyonlu hastaların %75'inde yüksek, geriye kalan %5'inde ise düşük ekspresyon saptanmıştır. miR-1915-3p ekspresyonu ile lenfovasküler invazyon arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (p=0,234) (Şekil 4.25).



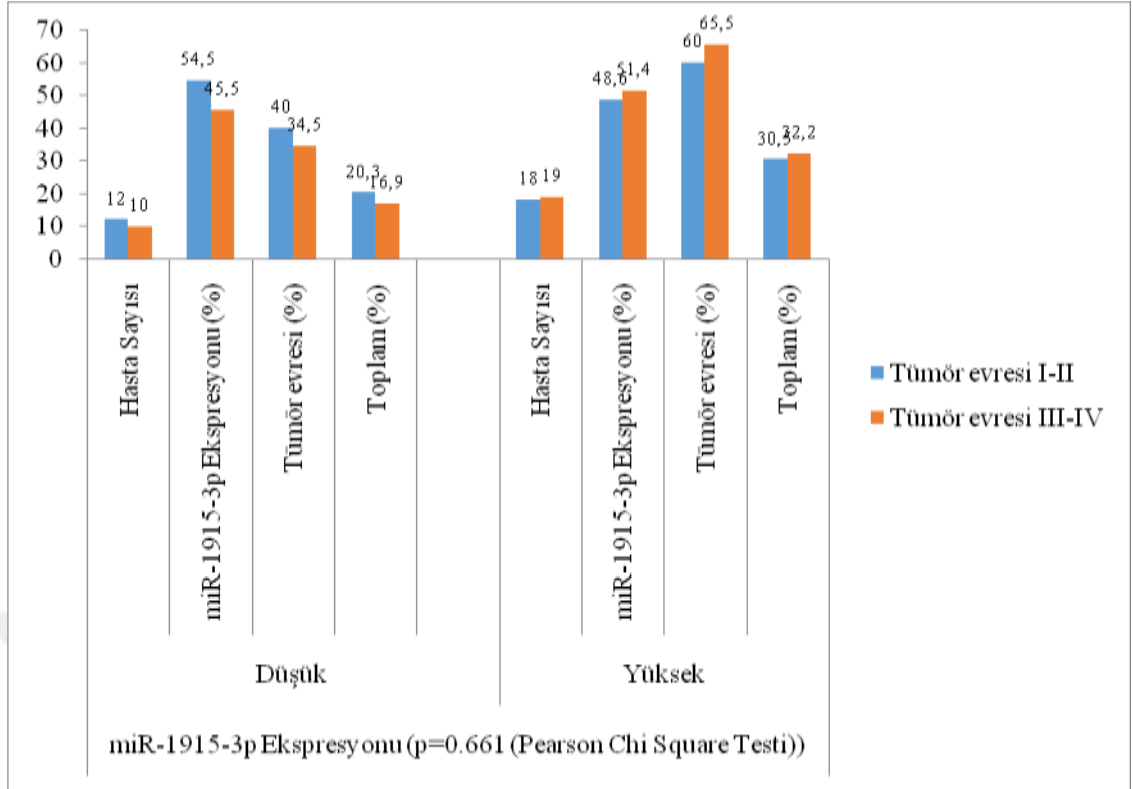
**Şekil 4. 25** miR-1915-3p ekspresyonu ile nöral invazyon arasındaki ilişki

Kolorektal kanserli 24 hastada lenf tutulumu varlığı tespit edilmiştir. Bu bireylerin %33,3'ünde düşük, %66,7'sinde ise yüksek ekspresyon bulunmuştur. 35 hastada ise lenf nodu metastazı bulunmamaktadır. Bu hastalarında %40'ın da düşük, %60'ında yüksek ekspresyon gözlenmiştir. Kolorektal kanserli hastalarda miR-1915-3p ekspresyon düzeyi ile lenf nodu metastaz arasında istatistiksel olarak bir ilişki görülmemiştir (p=0,603) (Şekil 4.26).



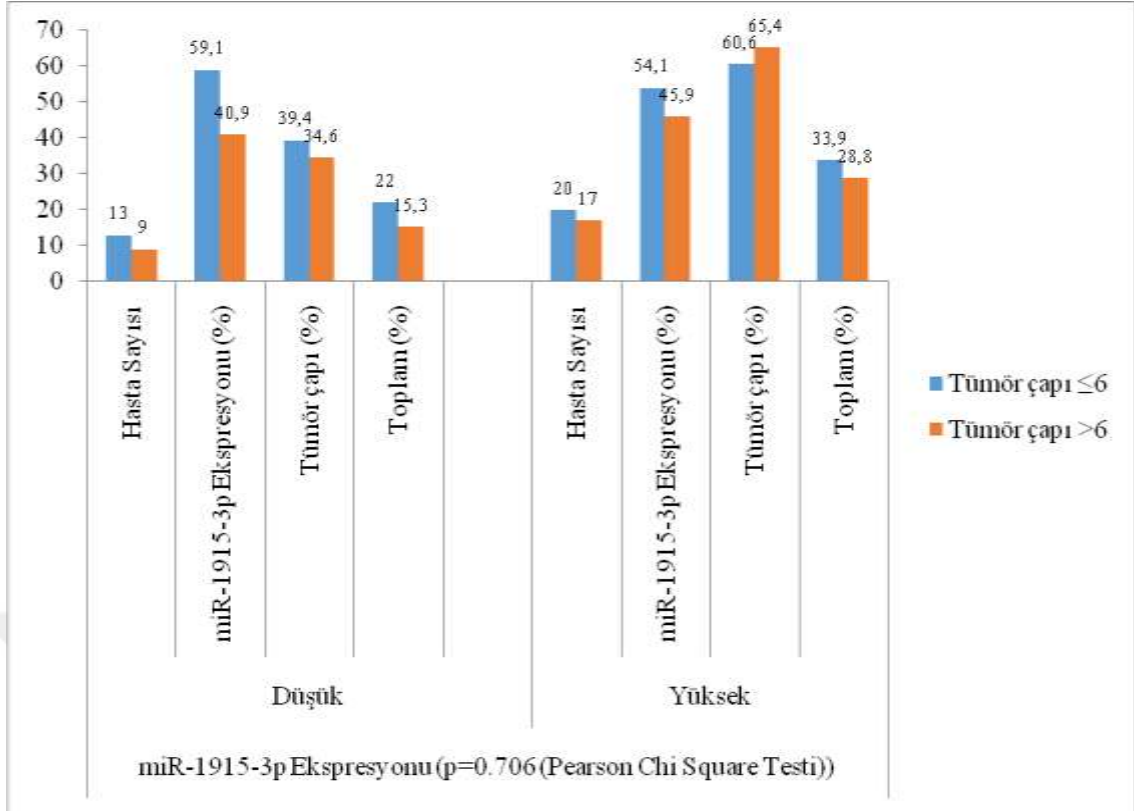
**Şekil 4. 26** miR-1915-3p ekspresyonu ile lenf nodu metastaz arasındaki ilişki

Evre I ve II hastaların %40'ında miR-1915-3p ekspresyon düzeyi düşük, %60'ında ise yüksek bulunmuştur. Evre III ve IV'deki 29 hastanın ise %34,5'inde düşük, %65,5'inde yüksek ekspresyon saptanmıştır. miR-1915-3p ekspresyonu ile tümör evresi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (p=0,653) (Şekil 4.27).



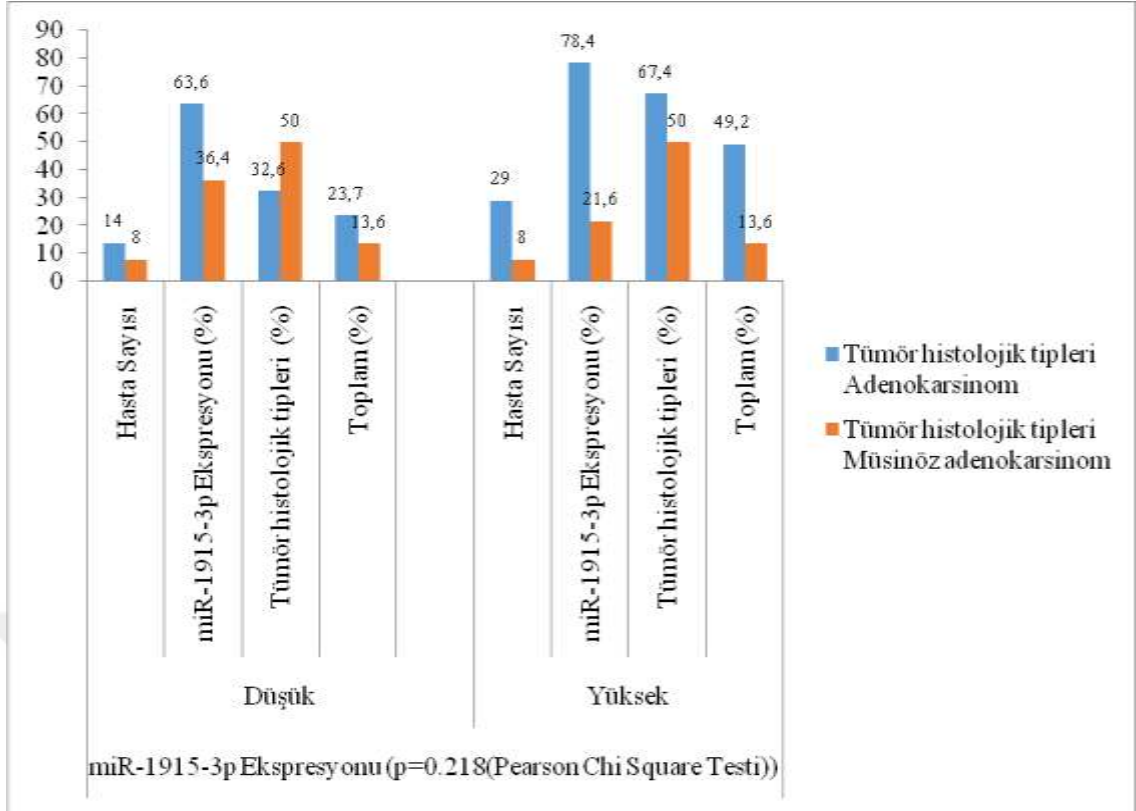
**Şekil 4. 27** miR-1915-3p ekspresyonu ile tümör evresi arasındaki ilişki

Tümör çapı 6 cm ve altı olan kişilerin %39,4'ünde düşük, %60,6'sında yüksek; tümör çapı 6 cm üstü olanların %34,6'sında düşük, %65,4'ünde yüksek ekspresyon saptanmıştır. miR-1915-3p ekspresyonu ile tümör çapı arasındaki ilişkide istatistiksel bir anlamlılık belirlenmemiştir (p=0,706) (Şekil 4.28).



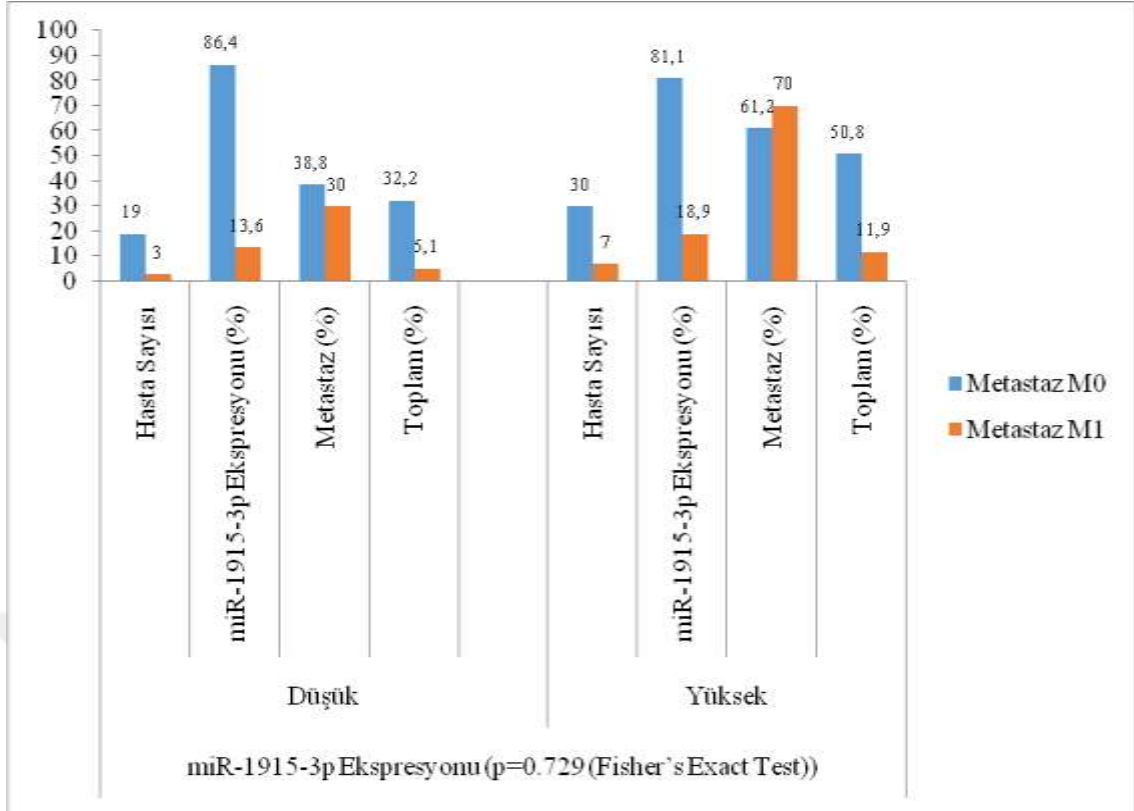
**Şekil 4. 28** miR-1915-3p ekspresyonu ile tümör çapı arasındaki ilişki

Çalışma grubumuzda iki histolojik tip gözlenmiş olup adenokarsinom 43'ünü (%72,9), müsinöz adenokarsinom ise 16'sını (%27,1) oluşturmaktadır. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda miR-1915-3p ekspresyon düzeyi ile hastaların tümör histolojik tipleri arasında istatistiksel bir ilişkiye rastlanılmamıştır (p=0,218) (Şekil 4.29).



**Şekil 4. 29** miR-1915-3p ekspresyonu ile tümör histolojik tip arasındaki ilişki

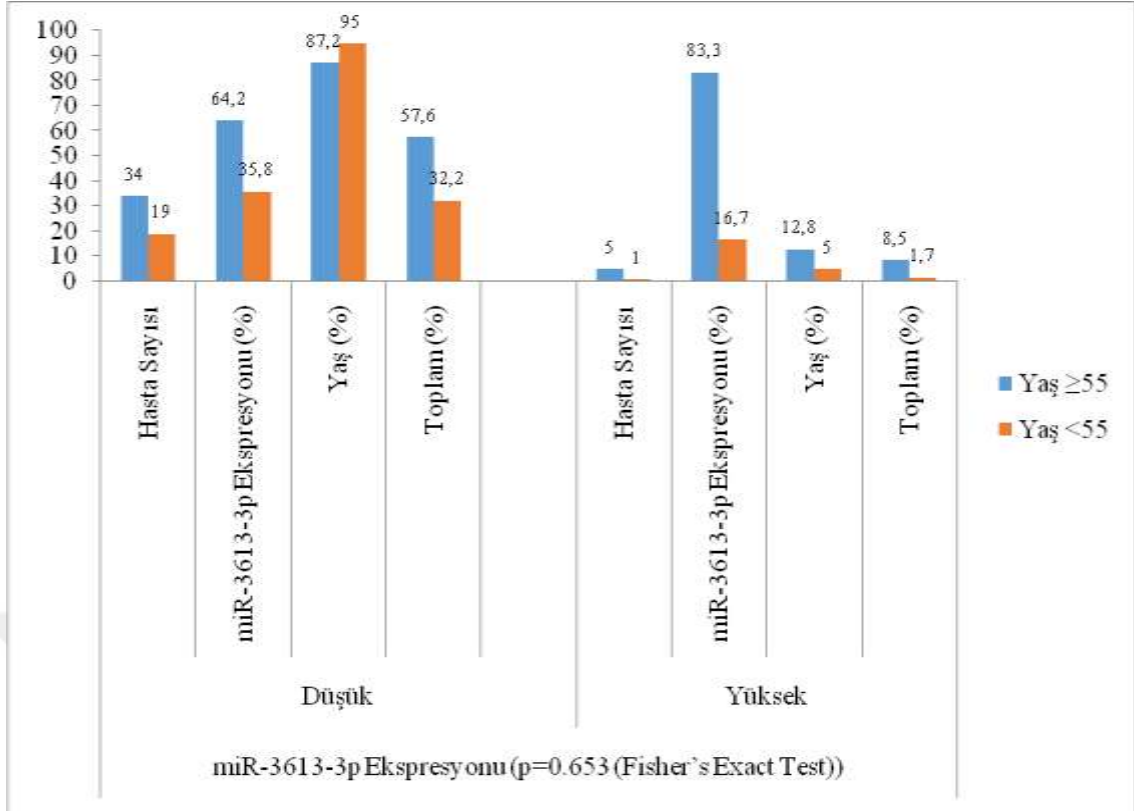
Kolorektal kanserli 10 hastada metastaz varlığı gözlenmiştir. Bu bireylerin % 30'unda düşük, %70'inde ise yüksek ekspresyon tespit edilmiştir. 49 hastada ise metastaz bulunmamaktadır. Bu hastalarında %38,8'in de düşük, %61,2'sinde yüksek ekspresyon gözlenmiştir. miR-1915-3p ekspresyonu ile metastaz arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilmemiştir (p=0,729) (Şekil 4.30).



Şekil 4. 30 miR-1915-3p ekspresyonu ile metastaz arasındaki ilişki

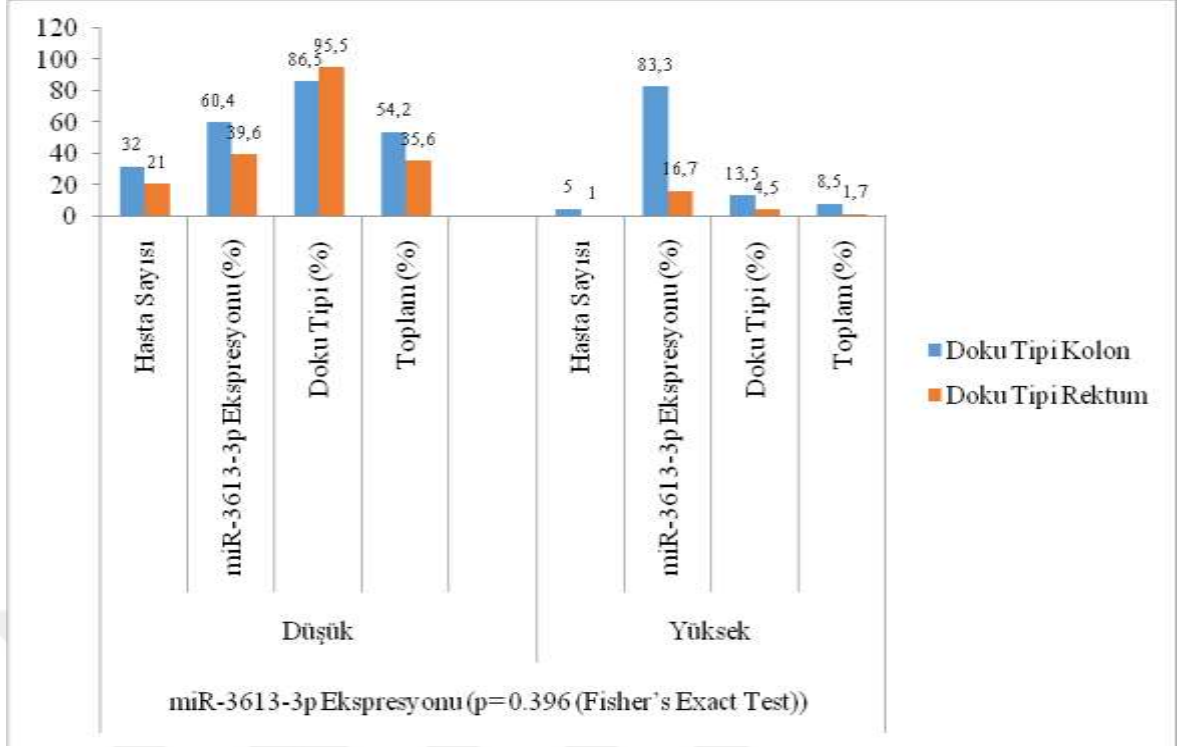
#### 4.3.4. miR-3613-3p Ekspresyonunun Klinikopatolojik Faktörlerle İlişkisi

Şekil 4.31'de verildiği gibi 55 yaş ve üzeri 39 hastanın 34'ün de düşük, 5'in de ise yüksek ekspresyon gözlenmiştir. Toplamda 20 tane olan 55 yaş altı hastanın ise 19 tanesinde düşük, 1 tanesinde ise yüksek miR-3613-3p ekspresyonu gözlenmiştir. miR-3613-3p ekspresyonu ile hem 55 yaş ve üzeri hem de 55 yaş altı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (p=0,653).



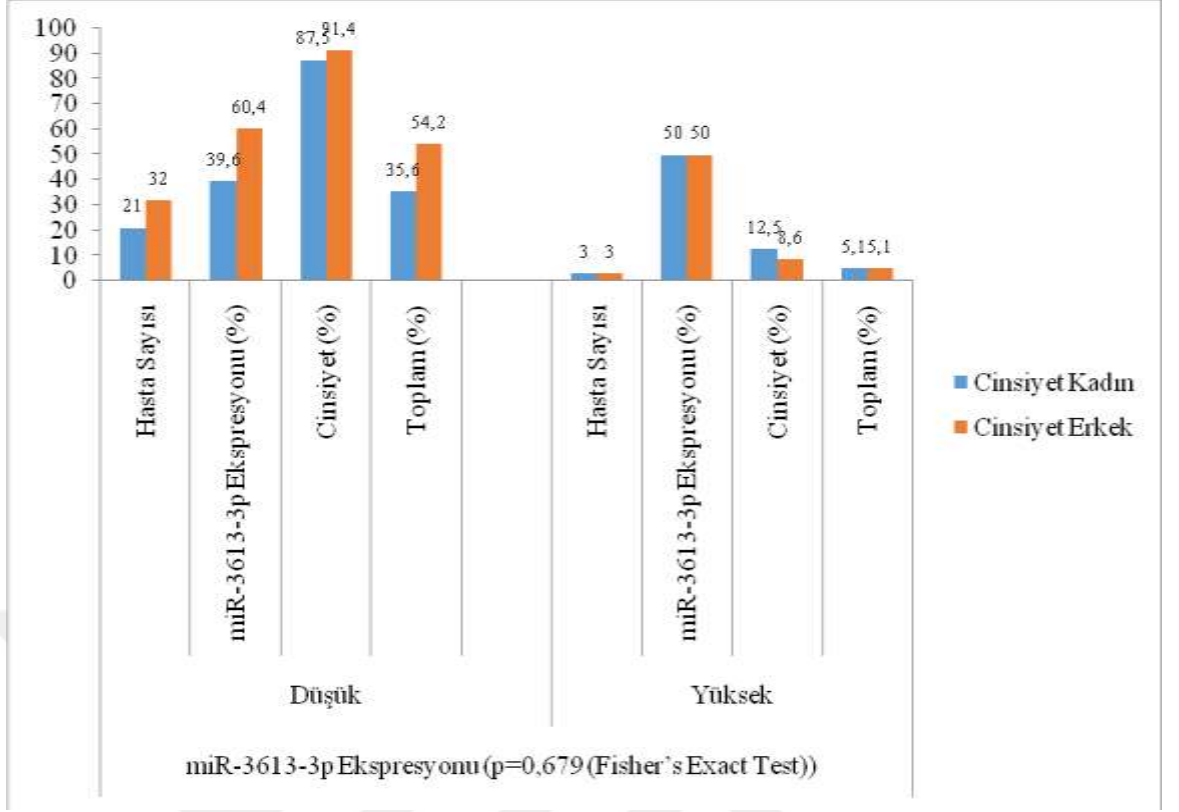
**Şekil 4. 31** miR-3613-3p ekspresyonu ile yaş arasındaki ilişki

Doku tipi kolon olan 37 hastanın %86,5'inde düşük miR-3613-3p ekspresyonu gözlenirken, %13,5'inde yüksek ekspresyon saptanmıştır. Rektum dokusu alınan 22 hastada ise, düşük ekspresyon hastaların %95,5'inde, yüksek ekspresyon ise %4,5'inde tespit edilmiştir (p=0.396) (Şekil 4.32).



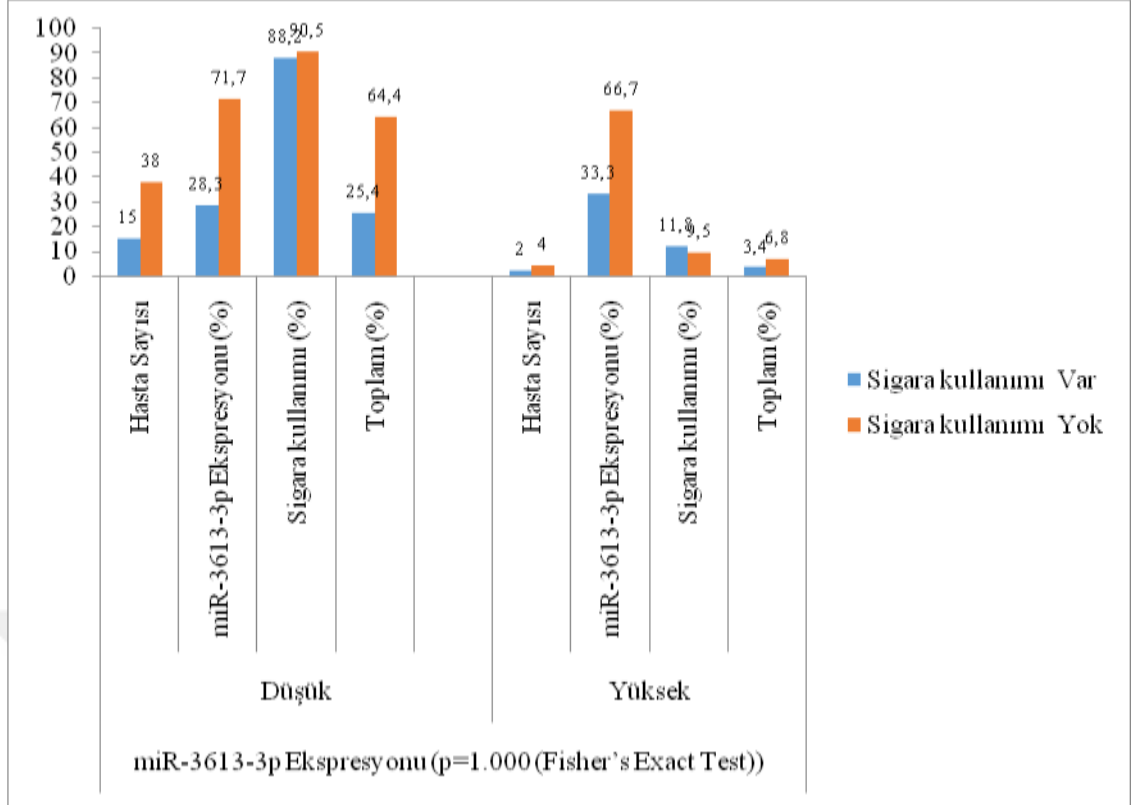
**Şekil 4. 32** miR-3613-3p ekspresyonu ile doku tipi arasındaki ilişki

24 kadın hastanın %87,5' inde miR-3613-3p ekspresyonunun düşük, geriye kalan %12,5' inde ise yüksek olduğu saptanmıştır. Toplam örneklerin %59,3'ünü ise erkek hastalar oluşturmaktadır. Bu hastaların %91,4'ünde düşük, geriye kalan %8,6'sında ise yüksek ekspresyon bulunmuştur. miR-3613-3p ekspresyon düzeyi ile cinsiyet arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilmemiştir (p=0.679) (Şekil 4.33).



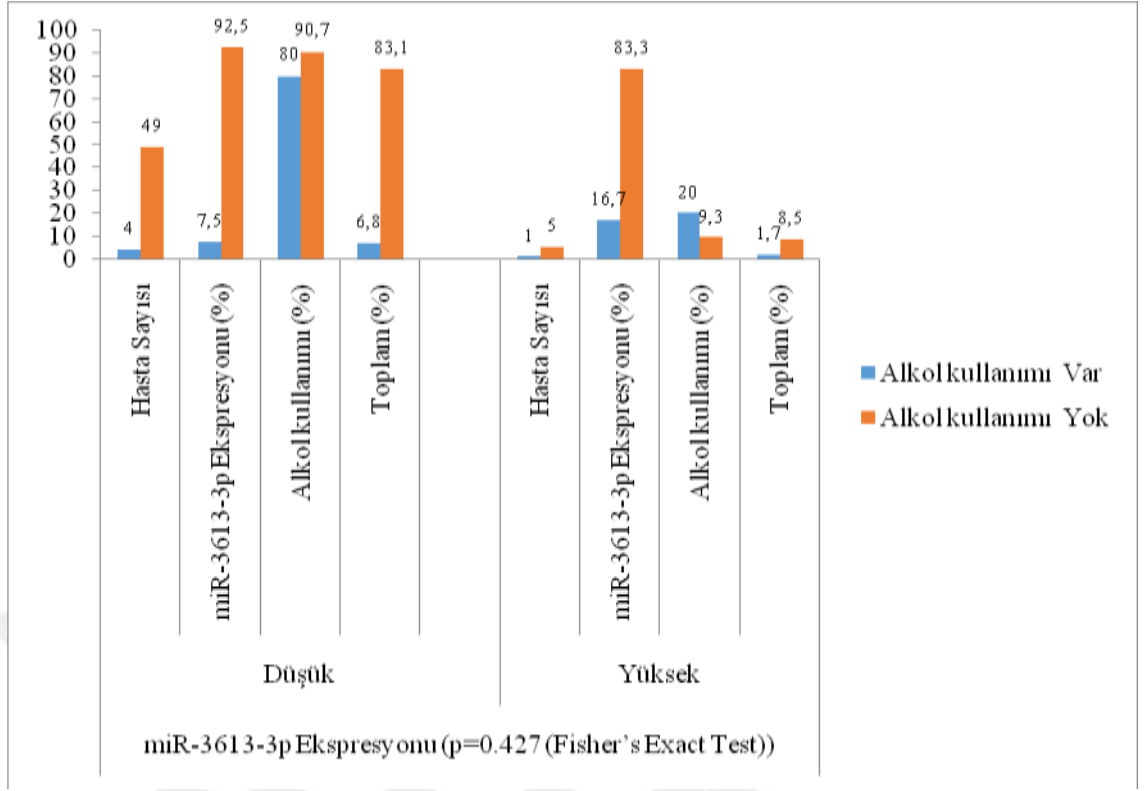
**Şekil 4. 33** miR-3613-3p ekspresyonu ile cinsiyet arasındaki ilişki

Sigara kullanan 17 hastanın 2'sinde yüksek, 15'inde ise miR-3613-3p ekspresyonu düşük olarak saptanmıştır. Hastaların geriye kalan 42 tanesi sigara kullanmamakta ve bunların %90,5'inde düşük, %9,5'inde yüksek miR-3613-3p ekspresyonu gözlenmiştir. miR-3613-3p ekspresyonu ile sigara kullanımı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (p=1,000) (Şekil 4.34).



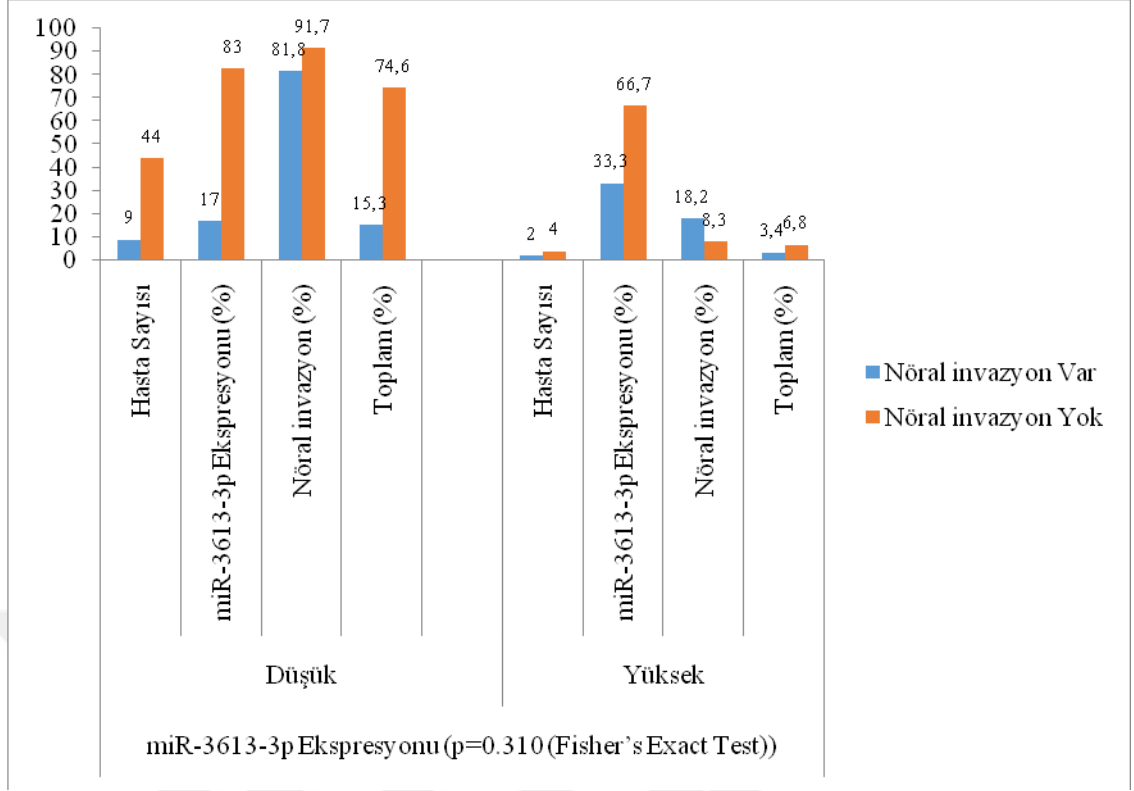
**Şekil 4. 34** miR-3613-3p ekspresyonu ile sigara kullanımı arasındaki ilişki

Alkol kullanan 5 hastanın 4'ünde düşük, 1'inde ise miR-3613-3p ekspresyonu yüksek olarak saptanmıştır. Hastaların geriye kalan 54 tanesi alkol kullanmamakta ve bunların %90,7'sinde düşük, %9,3'ünde yüksek miR-3613-3p ekspresyonu gözlenmiştir. miR-3613-3p ekspresyonu ile alkol kullanımı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (p=0,427) (Şekil 4.35).



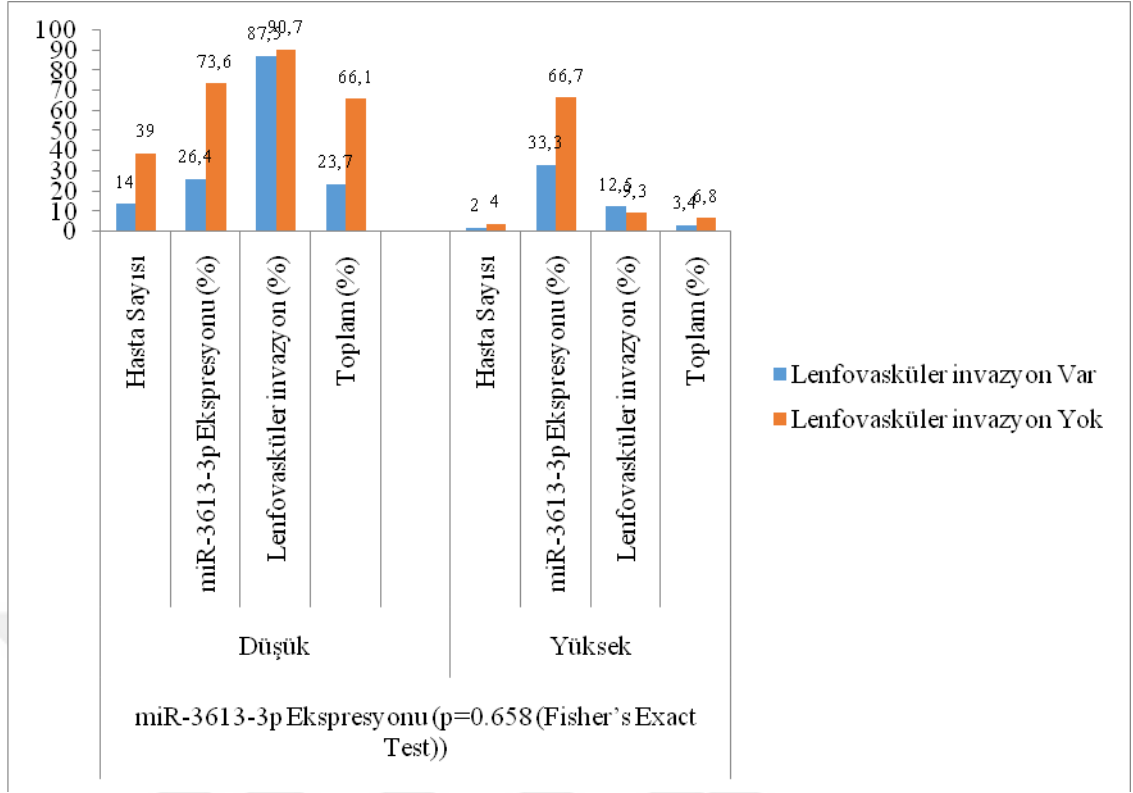
**Şekil 4. 35** miR-3613-3p ekspresyonu ile alkol kullanımı arasındaki ilişki

Şekil 4.36'da belirtildiği gibi 59 hastanın 11'inin nöral invazyona sahip olduğu, 48'inin ise nöral invazyon bulunmadığı görülmektedir. Nöral invazyon bulunan kişilerin %81,8'inde düşük, %18,2'sinde yüksek; nöral invazyon bulunmayanların %91,7'sinde düşük, %8,3'ünde yüksek ekspresyon saptanmıştır. miR-3613-3p ekspresyonu ile nöral invazyon arasındaki ilişkide istatistiksel bir anlamlılık belirlenmemiştir (p=0,731).



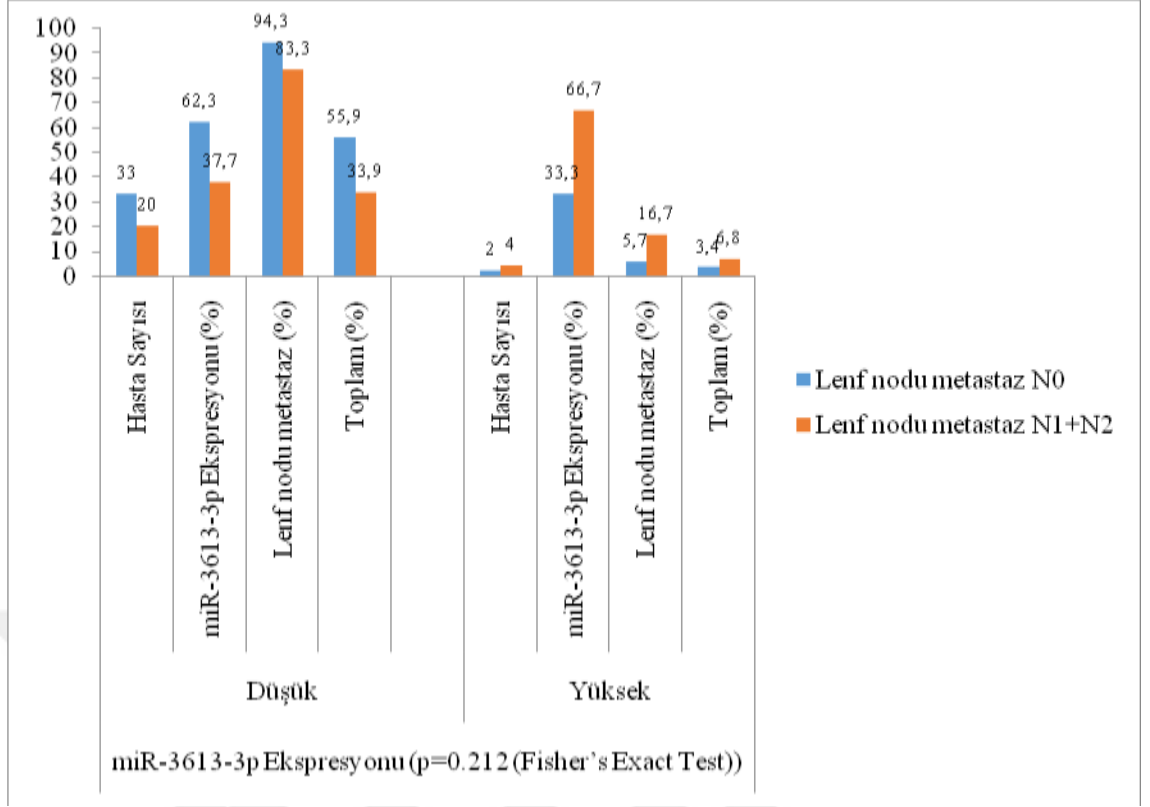
**Şekil 4. 36** miR-3613-3p ekspresyonu ile nöral invazyon arasındaki ilişki

43 lenfovasküler invazyon bulunmayan hastanın 39'unda düşük, 4'ünde yüksek ekspresyon bulunmuştur. Lenfovasküler invazyonlu hastaların %12,5'inde yüksek, geriye kalan %87,5'inde ise düşük ekspresyon saptanmıştır. miR-3613-3p ekspresyonu ile lenfovasküler invazyon arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (p=0,658) (Şekil 4.37).



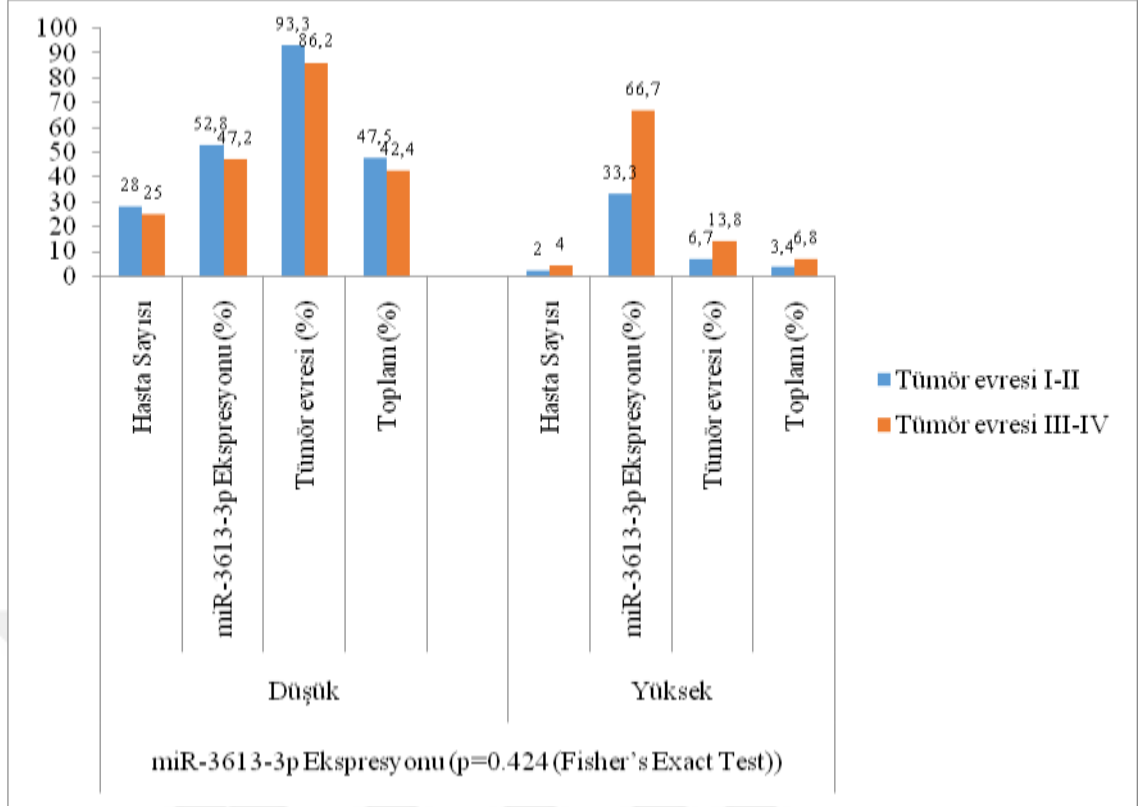
**Şekil 4. 37** miR-3613-3p ekspresyonu ile lenfovasküler invazyon arasındaki ilişki

Kolorektal kanserli 24 hastada lenf nodu tutulumunun varlığı tespit edilmiştir. Bu bireylerin %83,3'ünde düşük, %16,7'sinde ise yüksek ekspresyon bulunmuştur. 35 hastada ise lenf nodu metastazı bulunmamaktadır. Bu hastalarında %94,3'ün de düşük, %5,7'sinde yüksek ekspresyon gözlenmiştir. Kolorektal kanserli hastalarda miR-3613-3p ekspresyon düzeyi ile lenf nodu metastaz arasında istatistiksel olarak bir ilişki görülmemiştir (p=0,212) (Şekil 4.38).



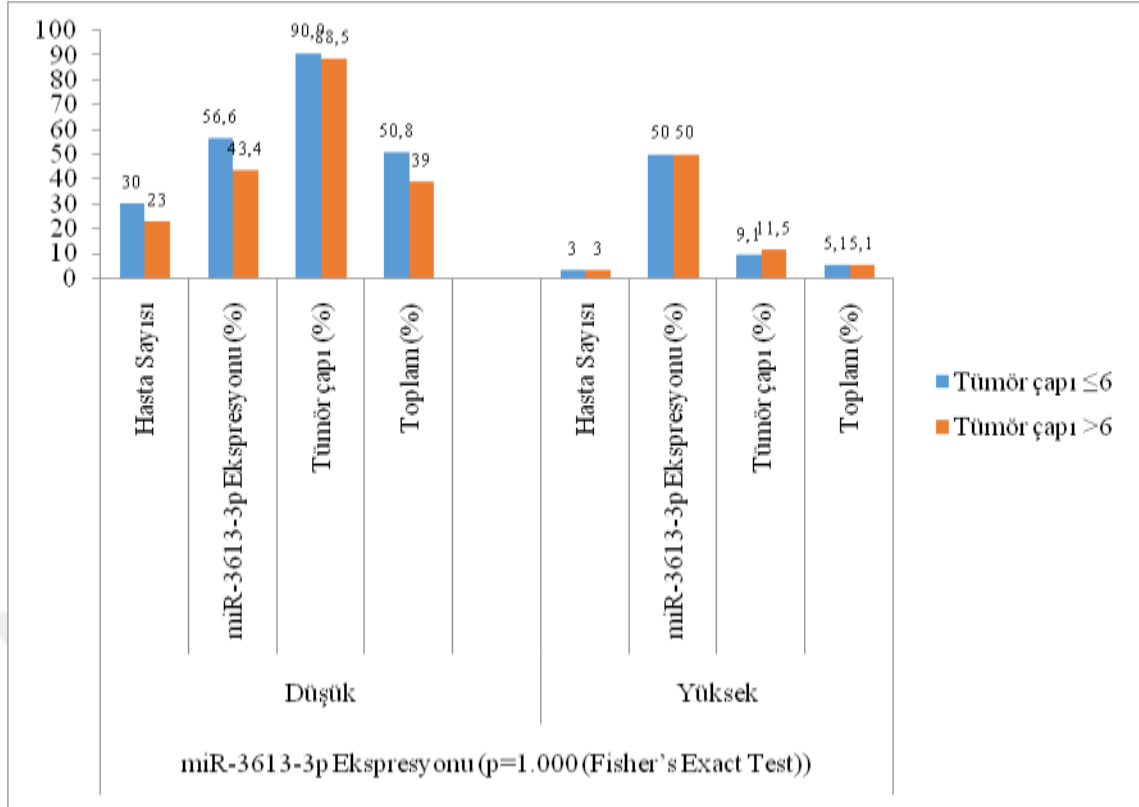
**Şekil 4. 38** miR-3613-3p ekspresyonu ile lenf nodu metastaz arasındaki ilişki

Tümörün evre I ve II'si bir grup olup, bu grupta 30 hasta bulunmaktadır. miR-3613-3p'nin bu hastaların %93,3'ünde düşük, geriye kalan %6,7'sinde ise yüksek ekspresyonu gözlenmiştir. Evre III ve IV'deki 29 hastanın ise %86,2'sinde düşük, %13,8'inde yüksek ekspresyon saptanmıştır. miR-3613-3p ekspresyonu ile tümör evresi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (p=0,424) (Şekil 4.39).



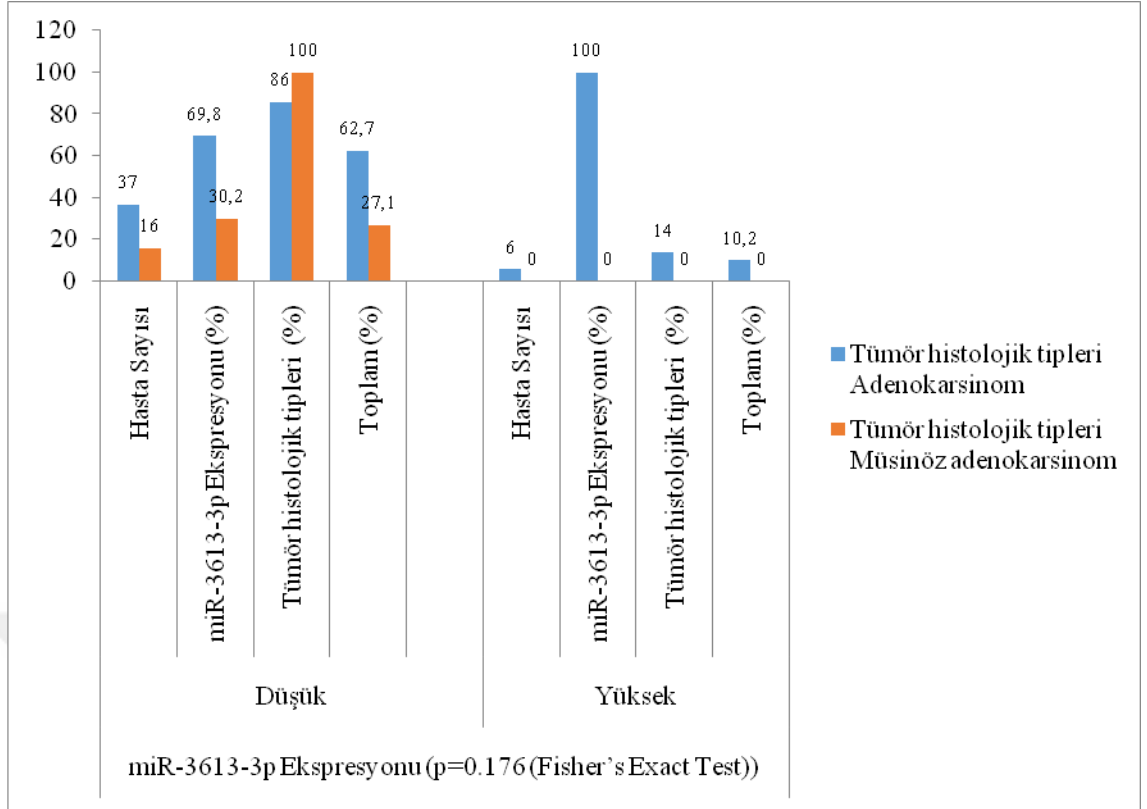
**Şekil 4. 39** miR-3613-3p ekspresyonu ile tümör evresi arasındaki ilişki

Tümör çapı 6 cm ve altı olan hastaların %90,9'unda düşük, %9,1'inde yüksek; tümör çapı 6 cm üstü olanların %88,5'inde düşük, %11,5'inde yüksek miR-3613-3p ekspresyonu saptanmıştır. miR-3613-3p ekspresyonu ile tümör çapı arasındaki ilişkide istatistiksel bir anlamlılık belirlenmemiştir (p=1,000) (Şekil 4.40).



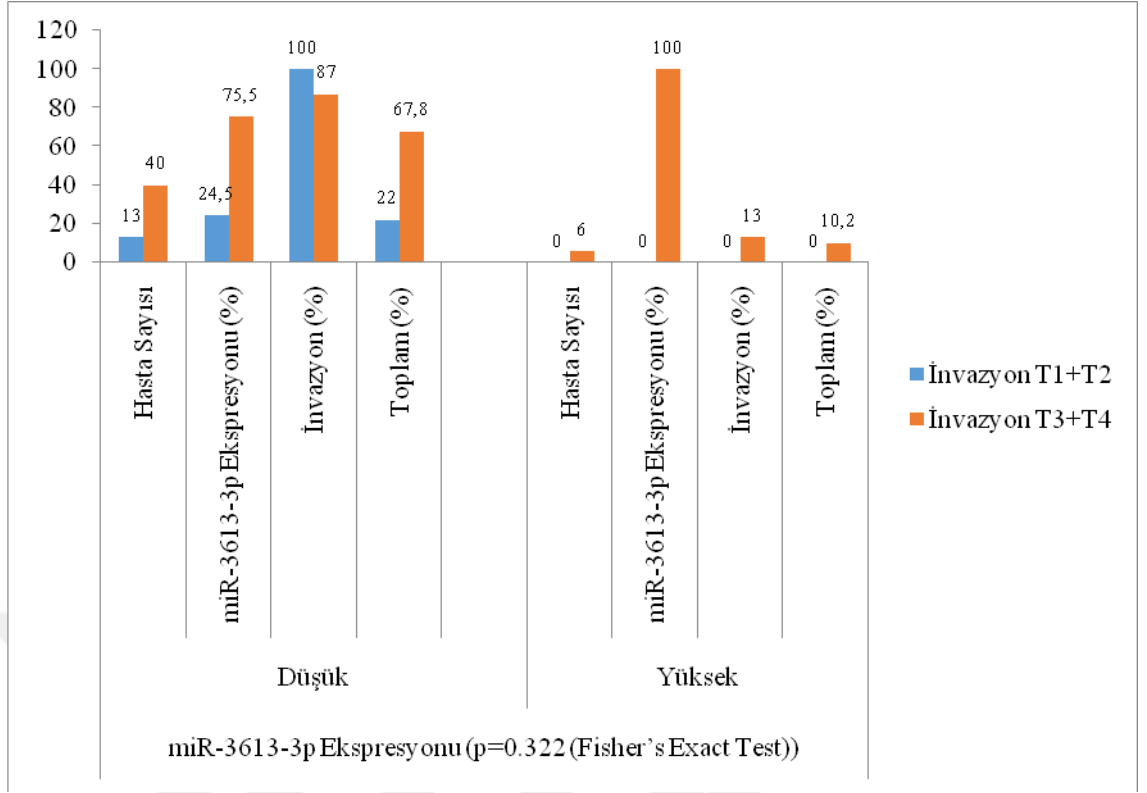
**Şekil 4. 40** miR-3613-3p ekspresyonu ile tümör çapı arasındaki ilişki

Çalışma grubumuzda iki histolojik tip gözlenmiş olup adenokarsinom 43'ünü (%72,9), müsinöz adenokarsinom ise 16'sını (%27,1) oluşturmaktadır. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda miR-3613-3p ekspresyon düzeyi ile hastaların tümör histolojik tipleri arasında istatistiksel bir ilişkiye rastlanılmamıştır (p=0,176) (Şekil 4.41).



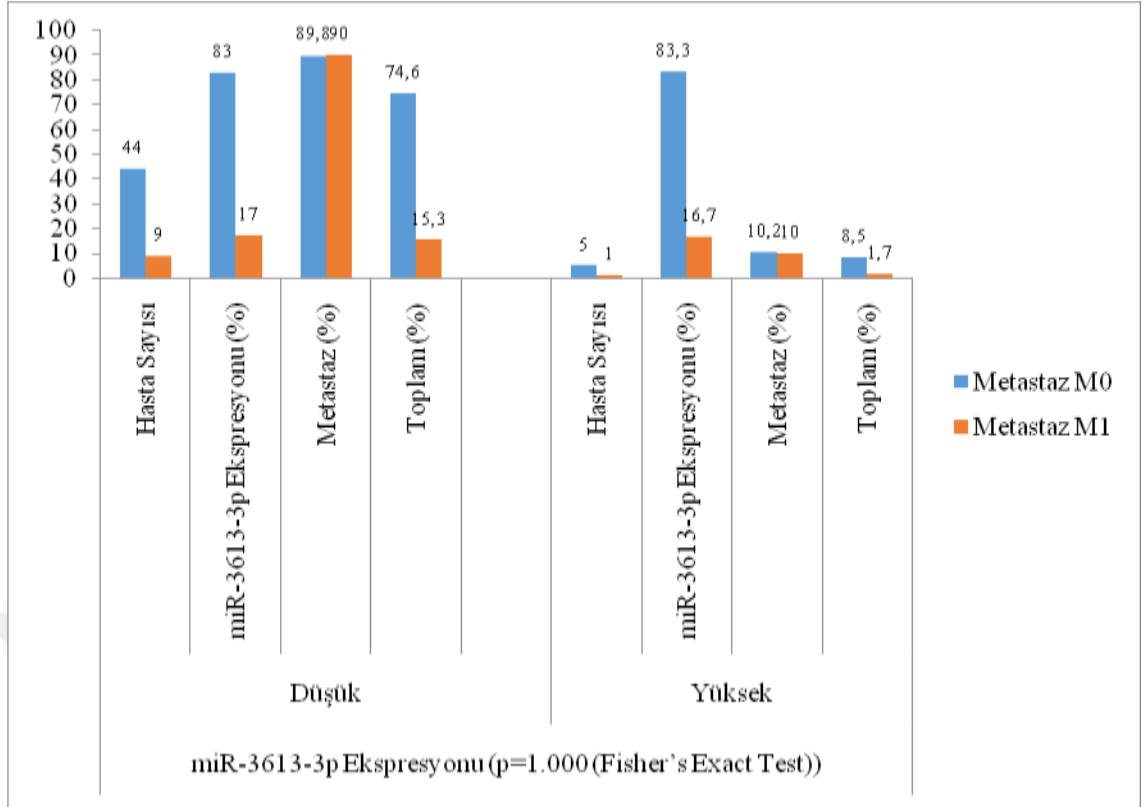
**Şekil 4. 41** miR-3613-3p ekspresyonu ile tümör histolojik tip arasındaki ilişki

TNM sınıflandırmasına göre invazyon T1+T2' deki 13 hastanın hepsinde miR-1915-3p ekspresyonu düşük olarak saptanmıştır. Hastaların geriye kalan 46 tanesi invazyon T3+T4' de tespit edilmiş olup bunların %87'sinde düşük, %13'ünde yüksek miR-3613-3p ekspresyonu gözlenmiştir. miR-3613-3p ekspresyonu ile invazyon arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (p=0,322) (Şekil 4.42).



**Şekil 4. 42** miR-3613-3p ekspresyonu ile invazyon arasındaki ilişki

Kolorektal kanserli 10 hastada metastaz varlığı gözlenmiştir. Bu bireylerin %90'ında düşük, %10'unda ise yüksek miR-3613-3p ekspresyonu tespit edilmiştir. 49 hastada ise metastaz bulunmamaktadır. Bu hastalarında %89,8'in de düşük, %10,2'sinde yüksek ekspresyon gözlenmiştir. miR-3613-3p ekspresyonu ile metastaz arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilmemiştir (p=1,000) (Şekil 4.43).



Şekil 4. 43 miR-3613-3p ekspresyonu ile metastaz arasındaki ilişki

## BÖLÜM 5

### TARTIŞMA

Kolorektal kanser tüm dünyada kanser kaynaklı ölüm nedenleri arasında ikinci sırada yer almaktadır. Diğer tüm hastalıklarda olduğu gibi kolorektal kanserde de erken teşhis tedavi başarısı ve sağkalım süresi üzerinde etkilidir. Bu bağlamda kolorektal kanserin erken teşhis edilmesine ilişkin spesifik ve güçlü biyobelirteçlerin keşfi son derece önemlidir (Ghareib ve ark., 2019). Son dönemlerde kolorektal kanserin de aralarında yer aldığı insan malignensilerinin hemen hemen tamamında bazı miRNA'ların onkogen bazılarının ise tümör süpresör etki göstermek suretiyle tümör oluşumu ve progresyonu üzerinde etkili oldukları ve prognostik biyobelirteç olarak kullanıldıklarına yönelik pek çok çalışma bulunmaktadır (Zhang ve ark., 2017; Yao ve ark., 2018; Wang ve ark., 2019; Cui ve ark., 2020). Bu bilgi de miRNA'ların disregülasyonlarının tümör oluşumundaki önemini ortaya koymaktadır. Yapmış olduğumuz çalışmada kolorektal kanserli dokularda miR-639, miR-641, miR-1915-3p ve miR-3613-3p'nin ekspresyon düzeyleri tespit edilmiştir.

Çalışmamızda miR-639'un kolorektal kanserli doku örneklerinde sağlıklı doku örneklerine göre anlamlı düzeyde downregüle olduğu görülmüştür. Çalışmamızla paralellik arz edecek şekilde Yang ve ark (2020) tarafından yapılan çalışmada miR-639'un özofagus skuamöz hücreli kanser dokularında downregüle olduğu bildirilmiştir. Liu ve ark (2021) akciğer kanserli hastalar üzerinde yapmış olduğu çalışmada ZNF674-AS1 regülasyonunun TNM evresi ve sağkalım süresiyle anlamlı düzeyde ilişkili olduğunu, ayrıca ZNF674-AS1'nin aşırı ekspresyonunun miR-639 ekspresyonunda düşüşe yol açtığını bildirmiştir. Carron ve ark (2021) tarafından yapılan araştırmada skuamöz karsinom hastalarında miR-639'un azalan ekspresyonun genomik stabiliteyi azalttığı ve zayıf prognozu desteklediği bildirilmiştir. Bai ve ark (2020) tarafından hepatosellüler kanser dokuları üzerinde yapılan çalışmada da miR-639'un tümör süpresör görev yaptığı saptanmıştır. Xiao ve ark (2020) karaciğer kanserli hastalar üzerinde bir araştırma yapmış ve araştırmalarının sonucunda miR-639 ekspresyonunun kanserli dokularda azaldığı, bu

azalışın miR-639'un promoter bölgesinin *DNMT3A* geni tarafından hipermetilasyona uğramasına bağlı olarak meydana geldiği saptanmıştır. Çalışmada aynı zamanda miR-639'un *MYST2* and *ZEB1*'in 3'-UTR bölgelerine bağlanarak bu genlerin ekspresyonlarını baskıladığı tespit edilmiştir.

Çalışmamızda TargetScan (Release 7.2, Whitehead Institute for Biomedical Research, Cambridge, MA, USA) ve miRDB (<http://mirdb.org>) ile miR-639'un hedef aldığı genleri taradık ve bu genler arasında *FOXCI*'in yer aldığı tespit edildi. Lin ve ark (2014) yapmış oldukları çalışmada miR-639'un insan dil kanseri hücrelerinde düşük ekspresyona sahip olduğunu ve *FOXCI* genini hedef aldığını göstermişlerdir. Pek çok çalışmada transkripsiyon faktörü olan *FOXCI*'in hücre proliferasyonu, apoptosisi ve farklılaşmasında rol oynadığı ve pek çok farklı kanser türünde invazyon ve metastazla ilişkili olduğu gösterilmiştir (Xu ve ark., 2012; Wang ve ark., 2013; Wei ve ark., 2013; Xia ve ark., 2013). Yine bazı çalışmalarda *FOXCI*'in kolorektal kanserli dokularda yüksek ekspresyon düzeyine sahip olduğu bildirilmiştir (Liu ve ark., 2018; Li ve ark., 2019; Zhang ve ark., 2020). Bu bilgiler doğrultusunda çalışmamızda downregüle olduğu tespit edilen miR-639'un hedeflediği genler arasında *FOXCI*'in bulunma olasılığının son derece yüksek olduğu görünmektedir. Bunların yanı sıra miR-639'un *FGF-BP1* ve *Zik1* genlerini hedeflediğini ve bu genlerin kolorektal kanser riskiyle ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar da bulunmaktadır (Tassi ve ark., 2006; Borinstein ve ark., 2010; Kim ve ark., 2014).

Çalışmamızda kolorektal kanserin ileri evresiyle (TNM-III ve IV) düşük miR-639 ekspresyonu arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki olduğu tespit edildi. Bu veriler göz önünde bulundurulduğunda miR-639'un kolorektal kanser tanısı ve prognozunda kullanılabilecek bir biyobelirteç olarak kullanılabileceği söylenebilir. Buna karşın meme (Li ve ark., 2014; Ismail ve ark., 2019), tiroid (Lei ve ark., 2016) ve mesane kanserinde (Scheffer ve ark., 2014) miR-639'un onkogenik etki gösterdiği bildirilmiştir.

Bu tez çalışmasında miR-641 ekspresyon düzeyinin kolorektal kanserli dokuların tamamında normal dokulara göre daha düşük olduğu saptanmıştır. Kong ve ark (2018) tarafından yapılan çalışmada da benzer şekilde miR-641'in karaciğer kanserli dokularda ve hücre hatlarında downregüle olduğu ve onkogen olarak tanımlanan *MDM2*'yi hedeflediği tespit edilmiştir. Yao ve ark (2018), serviks kanserli dokularda

miR-641'in düşük ekspresyon düzeyine sahip olduğunu ve iki eli çinko parmak faktörlerinin delta EF1 ailesinin (the deltaEF1 family of two-handed zinc-finger factors) bir üyesi olan *ZEB1*'in 3'-UTR bölgesine doğrudan bağlandığını tespit etmişlerdir. Zhu ve ark (2019) TUSC8'in aşırı ekspresyonunun miR-641 yoluyla PTEN'i inhibe ederek servikal kanserde hücre göçünü inhibe ettiğini bildirmiştir. Zhang ve ark (2019) yapmış oldukları çalışmada DLX6-AS1'in kemik tümöründe miR-641/HOXA9 sinyal yolunu hedeflemek suretiyle hücre proliferasyonu ve metastazında etkili olduğu saptanmıştır. Wang ve ark (2019) mide kanseri dokuları üzerinde gerçekleştirdikleri çalışmada miR-641'in ekspresyon düzeyinin düşük olduğunu bildirmişlerdir. Zhao ve ark (2020) tarafından yapılan çalışmada miR-641'in akciğer kanseri hücrelerinde DDP kemoresistansının regülasyonunda önemli rol oynadığı bildirilmiştir. Akciğer kanserli hastalar üzerinde yapılan başka çalışmalarda miR-641'in hücre proliferasyonunun metastazını inhibe ettiği gösterilmiştir (Fan ve ark., 2019; Meng ve ark., 2020). Liu ve ark (2020) yapmış oldukları çalışmada miR-641'in pankreas karsinomunun ilerlemesini inhibe ettiğini tespit etmişlerdir. Wu ve ark (2020) yapmış oldukları çalışmada *YAP1*'in ekspresyonunun miR-641'i downregüle etmek suretiyle kemik kanseri hücrelerinin proliferasyonunu ve metastazını engellediğini bildirmişlerdir. Niu ve ark (2021), prostat kanserinde circCDR1as/miR-641/XIAP düzenleyici eksenin PC-3 hücre hattının istilasında ve göçünde önemli rol oynadığını bildirmiştir. Li ve ark (2020) yapmış oldukları çalışmada cirRNA CDR1as'nin miR-641'i adsorbe ederek AKT/mTOR yolunu aktive ettiğini ve karaciğer kanserinin progresyonunu artırdığını bildirmişlerdir. Zhao ve ark (2021) miR-641 inhibisyonunun, LINC00173'deki düşüşün karaciğer kanser hücrelerinde cisplastinin etkisini artırdığını, aynı zamanda miR-641'in *RAB14*'ü hedeflediği ve *RAB14* aşırı ekspresyonu, LINC00173'ün HCC hücresi DDP duyarlılığı üzerindeki indükleyici etkisini azalttığını tespit etmişlerdir. Zhang ve ark (2020) tarafından yapılan çalışmada miR-641'in *ZEB1* ve *MDM2* aracılığı EMT'yi düzenlemek suretiyle yumurtalık kanserinde hücre büyümesini ve metastazı desteklediği, böylelikle endojen RNA olarak görev yaptığı bildirilmiştir. *ZEB1*'in kolorektal kanserin (Zhang ve ark., 2013) de içinde bulunduğu tiroid (Zhang ve ark., 2016), karaciğer (Larsen ve ark., 2016) ve endometrial (Singh ve ark., 2008) kanserler gibi birçok kanser türünde upregüle olduğu rapor edilmiştir. miR-641'in hedef aldığı genlerden bir diğeri *LIN28B*'dir (<http://mirdb.org>). *LIN28B* başta kolon kanseri (Pang ve ark., 2014) olmak üzere hepatosellüler karsinom (Guo ve ark.,

2006; Viswanathan ve ark., 2009), Wilm's tümör (Viswanathan ve ark., 2009) ve ovaryum kanseri (Helland ve ark., 2011) gibi pek çok kanserde aşırı eksprese olduğu bildirilmiştir. Bizim analizlerden elde ettiğimiz sonuçların aksine, Li ve ark (2020) CDR1as'nin safra yolu kanserinde miR-641'i düzenlemek suretiyle kısmen onkojenik özellikler gösterdiğini ve bu bağlamda da miR-641'in safra yolu kanseri için terapötik bir belirteç olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Liu ve ark (2021) miR-641'in hepatosellüler karsinom hücrelerinde yüksek düzeyde eksprese olduğunu bildirmişlerdir. Chen ve ark (2021) tarafından yapılan çalışmada da miR-641'in safra yolu kanserinde yüksek ekspresyon düzeyine sahip olduğu saptanmıştır. Bizim bulgularımızı destekleyen çalışmalarla beraber, miR-641'in hedeflediği bazı genlerin doğrudan kolorektal kanser ile olan ilişkisini de dikkate aldığımızda, miR-641'in kolorektal kanserde tümör baskılayıcı rol oynadığı ve kolorektal kanser tanısında kullanılacak güçlü bir belirteç olabileceği söylenebilir.

Çalışmamızda miR-1915-3p'nin kolorektal kanserli dokularda sağlıklı dokulara göre upregüle olduğu görülmüştür. Çalışmamızla paralellik arz edecek şekilde Borrelli ve ark (2017) miR-1915-3p'nin papiller tiroid karsinomun folüküler varyantında, Guo ve ark (2018) meme kanserinde, Shi ve ark (2019) diffüz büyük B hücreli lenfomada miR-1915-3p'nin upregüle olduğunu bildirmişlerdir. Buna karşın Cui ve ark (2019) gastrik kanserde, Kim ve ark (2020) meme kanserinde, Xu ve ark (2016) apoptotik hücre hatlarında miR-1915-3p'nin downregüle olduğunu bildirmişlerdir. miR-1915-3p'nin hedeflediği çok sayıda gen bulunmaktadır (TargetScan; <http://mirdb.org>). Yapılan literatür taraması sonucunda bu genler arasında yer alan *CA7* ve *TUSC5*'in kolorektal kanserle ilişkili olduğu görülmüştür. Yang ve ark (2015) çalışmalarında *CA7*'nin, Yue ve ark. (2020) ise *TUSC5*'in kolorektal karsinomada down regüle olduğunu bildirmişlerdir. Yumurtalık kanserinde miR-1915-3p'nin *GSK3B*'yi hedeflediği çalışmada hücre göçünde, *FAIM2* ve *BCL2*'yi hedeflediği çalışmada ise hücre ölümü ve apoptotik süreçte etkili olduğu gösterilmiştir (Vallino ve ark., 2020). Huang ve ark (2021) tarafından yapılan çalışmada miR-1915-3p ekspresyonunun karaciğer kanseri dokularında ve hücre dizilerinde önemli oranda arttığı bildirilmiştir. Su ve ark (2020) tarafından yapılan çalışmada ise miR-1915-3p'nin akut myokardial enfarktüs hastalarında düşük eksprese olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmalar dikkate alındığında çalışmamızda miR-1915-3p'nin kolorektal kanserli

dokularda yüksek düzeyde eksprese olmasının *CA7* ya da *TUSC5*'yi hedef alarak bu genlerin downregüle olmasına neden olabileceği düşünülebilir.

Çalışmamızda, diğer bir ekspresyon düzeyi araştırılan miRNA miR-3613-3p idi ve miR-3613-3p kolorektal kanserli dokularda downregüle olmuştur. Çalışmamızdan elde edilen sonuçla benzerlik gösterecek şekilde Yan ve ark (2018) tarafından yapılan çalışmada farklı metastatik özellikte sahip kolon kanser hücre hatları olan SW480 and SW620'da miR-3613-3p'nin ekspresyonunun azaldığı bildirilmiştir. Bununla beraber gastrik kanserde (Bibi ve ark., 2016) tümör süpresör olarak tanımlanan miR-3613-3p'nin, melonoma hücre hatlarında da downregüle olduğu ve *CD7*'yi hedef aldığı gösterilmiştir (Gad ve ark., 2019). Yu ve ark (2020) tarafından yapılan çalışmada miR-3613-3p'nin meme kanserinde tümör baskılayıcı görev üstlendiği saptanmıştır. Li ve ark (2020), miR-3613-3p'nin deri kanseri için tanı ve prediktif biyobelirteç olma potansiyeline sahip olduğunu bildirmişlerdir. Bununla beraber, miR-3613-3p'nin hepatosellüler karsinomda sağlıklı kontrollere göre downregüle olduğu tespit edilmiştir (Singh ve ark., 2021). Rassoulzadegan ve ark (2021) miR-3613-3p'nin otizm spektrum hastalarında düşük eksprese olduğunu bildirmişlerdir. Li ve ark (2021) tarafından yapılan çalışmada miR-3613-3p'nin hipertrofik skar yöntemi için potansiyel terapötik hedefler sağlayabilen *ARGLU1* genini hedefleyerek hipertrofik skar oluşumunu inhibe ettiği bildirilmiştir. Chen ve ark (2021) miR-3613-3p'nin meme kanserli dokularda önemli oranda düşük eksprese olduğunu bildirmişlerdir. Xie ve ark (2021), miR-3613-3p'nin lösemi hücrelerinde düşük eksprese olduğunu saptamışlardır. Çalışmamızdan elde edilen sonuçların aksine meme kanseri hücrelerinde (Liu ve ark., 2020), farklılaşmış lipokarsinomada (Fricke ve ark., 2018) ve nöroblastom hastalarında (Rezaei ve ark., 2021) miR-3613-3p'nin upregüle olduğu bildirilmiştir.

miR-3613-3p'nin hedef aldığı genlerin sayısı oldukça fazladır (TargetScan; <http://mirdb.org>). Bu genler arasında yer alan *TBLIXR1*, *EIF5A2*, *Siklin D2* ve *SATB*'nin kolorektal kanser ile ilişkili olduğuna dair daha önce yapılan birçok araştırma söz konusu olup bu araştırmalar sonucunda *TBLIXR1*'in yüksek ekspresyonu ile kolorektal kanser arasında ilişki olduğu gösterilmiştir (Liu ve ark., 2017). Zhu ve ark (2012) kolorektal kansere *EIF5A2*'nin onkojenik rol oynadığını, Mermelshtein ve ark (2005) *Siklin D2*'nin, Liu ve ark (2019) da *SATB2*'nin yüksek

düzyde eksprese olduklarını göstermişlerdir. Bu sonuçlardan hareketle miR-3613-3p'nin kolorektal kanserde tümör baskılayıcı rol oynadığı ve kolorektal kanser için miR-3613-3p'nin *TBL1XR1*, *EIF5A2*, *Siklin D2* ve *SATB2*'yi hedef alabileceği olasıdır.

Literatürde yer alan miR-639, miR-641, miR-1915-3p ve miR-3613-3p'nin farklı kanser türleri ile olan ilişkilerini belirlemeye yönelik yapılan çalışmalarda, çalışmamızdan elde edilen sonuçlarla benzerlik gösterenler olduğu gibi farklılık gösterenlerde mevcuttur. Bu çelişkili sonuçların kanserin heterojenlik göstermesiyle ilgili olabileceğini düşünmekteyiz. Bununla birlikte miRNA'lar genomda pek çok farklı mRNA molekülünü hedeflemekte olup bu hedef moleküllerin bazıları onkogen, bazıları ise tümör süpresör etkiye sahiptir. Aynı miRNA'ların hedef aldıkları mRNA molekülüne bağlı olarak farklı kanser türlerinde farklı roller üstlenmesi de kaçınılmazdır.

## BÖLÜM 6

### SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışması kapsamında elde edilen veriler doğrultusunda, kolorektal kanserli hastaların sağlıklı dokularına kıyasla tümörlü dokularında miR-639, miR-641, ve miR-3613-3p'nin ekspresyon düzeylerinin azaldığı, miR-1915-3p'nin ise ekspresyonunun arttığı saptanmıştır. Bu sonuçlardan hareketle kolorektal karsinogeneziste miR-639, miR-641, ve miR-3613-3p'nin tümör baskılayıcı, miR-1915-3p'nin ise onkojenik rol oynadığı söylenilebilir. Bu çalışmadan elde edilen veriler dikkate alınarak, miR-639, miR-641, miR-1915-3p ve miR-3613-3p'nin kolorektal kanserde etkili olabilecek hedef genlerinin tanımlanması bundan sonra yapılacak olan çalışmalar arasında yer alabilir. Hedef mRNA moleküllerinin tanımlanmasına yönelik yapılacak çalışmalar, kolorektal kanserde bu miRNA'ların oynadıkları rollerinin altında yatan mekanizmalarının araştırılması açısından önemli olacaktır. Bununla beraber, bu miRNA'ların disregülasyonlarının fonksiyonel olarak değerlendirilmesi gelecekte yapılacak çalışmalar içerisinde değerlendirilebilir.

## KAYNAKLAR

Abdellatif, M. (2010). The role of microRNA-133 in cardiac hypertrophy uncovered. *Circulation research*, 106(1), 16-18.

Aghagolzadeh, P. and Radpour, R. (2016). New trends in molecular and cellular biomarker discovery for colorectal cancer. *World journal of gastroenterology*, 22(25), 5678.

Ak, S., (2013). Genç Yaş Kolorektal Kanserlerde Tümör Gelişim Sürecinde miRNA'ların Önemi. Uludağ Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Bursa, 73s.

Akkoca, A. N., Yanık, S., Özdemir, Z. T., Cihan, F. G., Sayar, S., Cincin, T. G. and Özer, C. (2014). TNM and Modified Dukes staging along with the demographic characteristics of patients with colorectal carcinoma. *International journal of clinical and experimental medicine*, 7(9), 2828.

Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K. and Walter, P. (2007). *Molecular Biology of the Cell*. Garland Science, New York, 351–352s.

Alberts, B., Bray, D., Hopkin, K., Johnson, A., Lewis, J., Roberts, K., Raff, M. and Walter, P. (2003). *Essential Cell Biology*, 2. Baskı, Garland Publishing, New York, 58.

Amaral, F. C., Torres, N., Saggiaro, F., Neder, L., Machado, H. R., Silva Jr, W. A. and Castro, M. (2009). MicroRNAs differentially expressed in ACTH-secreting pituitary tumors. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 94(1), 320-323.

Arthur, J. F. (1968). Structure and significance of metaplastic nodules in the rectal mucosa. *Journal of clinical pathology*, 21(6), 735.

Aune, D., Lau, R., Chan, D. S. M., Vieira, R., Greenwood, D. C., Kampman, E. and Norat, T. (2012). Dairy products and colorectal cancer risk: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. *Annals of oncology*, 23(1), 37-45.

Ay, M. E., Terziođlu, O., Terzi, C. and Ay, Ö. İ. (2006). Kolorektal kanserlerde, p21, p27, p57 siklin bağımlı kinaz inhibitör geni (CDKI) ekspresyonlarının değerlendirilmesi. *Akademik Gastroenteroloji Dergisi*, 5(1), 20-25.

Babat, Y. (2014). İnsan osteosarkoma hücre hattında (saos-2) baicalein'in 12-lox ve 15-lox mrna ifadesi ve apoptozis üzerine etkisi (Master's thesis, Adnan Menderes Üniversitesi).

Bagnardi, V., Rota, M., Botteri, E., Tramacere, I., Islami, F., Fedirko, V. and Pelucchi, C. (2015). Alcohol consumption and site-specific cancer risk: a comprehensive dose–response meta-analysis. *British journal of cancer*, 112(3), 580-593.

Bai, Z., Xia, X. and Lu, J. (2020). MicroRNA-639 is Down-Regulated in Hepatocellular Carcinoma Tumor Tissue and Inhibits Proliferation and Migration of Human Hepatocellular Carcinoma Cells Through the KAT7/Wnt/ $\beta$ -Catenin Pathway. *Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*, 26, e919241-1.

Ballinger, A. B. and Anggiansah, C. (2007). Colorectal cancer. *BMJ (Clinical research ed.)*, 335(7622), 715–718.

Barault, L., Charon-Barra, C., Jooste, V., De La Vega, M. F., Martin, L., Roignot, P. and Chapusot, C. (2008). Hypermethylator phenotype in sporadic colon cancer: study on a population-based series of 582 cases. *Cancer research*, 68(20), 8541-8546.

Bardou, M., Barkun, A. N. and Martel, M. (2013). Obesity and colorectal cancer. *Gut*, 62(6), 933-947.

Bartel, D. P. (2004). MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *cell*, 116(2), 281-297.

Baykara, O. (2016). Kanser Tedavisinde Güncel Yaklaşımlar. Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi, 5(3), 154-165.

Bayrak, Ö. F. (2010). İnsan Kordomalarında Ekspresyon Farklılıkları Olan MikroRNA'ların ve İlgili Transkriptlerin İncelenmesi ve Bunların Kordomaların Patogenezindeki Öneminin Belirlenmesi. Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Konya, 161s.

Bibi, F., Naseer, M. I., Alvi, S. A., Yasir, M., Jiman-Fatani, A. A., Sawan, A. and Azhar, E. I. (2016). microRNA analysis of gastric cancer patients from Saudi Arabian population. BMC genomics, 17(9), 751.

Boland, C. R. and Kim, Y. S. (1983). Colonic polyps and the gastrointestinal polyposis syndromes. Gastrointestinal disease: Pathophysiology Diagnosis Managment. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders, Co, 1196-219.

Bolocan, A., Ion, D., Ciocan, D. N. and Paduraru, D. N. (2012). Prognostic and predictive factors in colorectal cancer. Chirurgia (Bucharest, Romania: 1990), 107(5), 555-563.

Bonadona, V., Bonaïti, B., Olschwang, S., Grandjouan, S., Huiart, L., Longy, M. and Colas, C. (2011). Cancer risks associated with germline mutations in MLH1, MSH2, and MSH6 genes in Lynch syndrome. Jama, 305(22), 2304-2310.

Borinstein, S. C., Conerly, M., Dzieciatkowski, S., Biswas, S., Washington, M. K., Trobridge, P. and Grady, W. M. (2010). Aberrant DNA methylation occurs in colon neoplasms arising in the azoxymethane colon cancer model. Molecular Carcinogenesis: Published in cooperation with the University of Texas MD Anderson Cancer Center, 49(1), 94-103.

Borrelli, N., Denaro, M., Ugolini, C., Poma, A. M., Miccoli, M., Vitti, P. and Basolo, F. (2017). miRNA expression profiling of 'noninvasive follicular thyroid neoplasms with papillary-like nuclear features' compared with adenomas and infiltrative follicular variants of papillary thyroid carcinomas. Modern Pathology, 30(1), 39-51.

Bos, J. L. (1989). Ras oncogenes in human cancer: a review. Cancer research, 49(17), 4682-4689.

- Bosetti, C., Santucci, C., Gallus, S., Martinetti, M. and La Vecchia, C. (2020). Aspirin and the risk of colorectal and other digestive tract cancers: an updated meta-analysis through 2019. *Annals of Oncology*, 31(5), 558-568.
- Botteri, E., Iodice, S., Bagnardi, V., Raimondi, S., Lowenfels, A. B. and Maisonneuve, P. (2008). Smoking and colorectal cancer: a meta-analysis. *Jama*, 300(23), 2765-2778.
- Bray, C., Bell, L. N., Liang, H., Collins, D. and Yale, S. H. (2017). Colorectal cancer screening. *Wmj*, 116(1), 27-33.
- Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R. L., Torre, L. A. and Jemal, A. (2018). Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: a cancer journal for clinicians*, 68(6), 394-424.
- Brennan, C. A. and Garrett, W. S. (2016). Gut microbiota, inflammation, and colorectal cancer. *Annual review of microbiology*, 70, 395-411.
- Budak, F., Bal, S. H., Tezcan, G., Guvenc, F., Akalin, E. H., Goral, G. and Oral, H. B. (2016). MicroRNA expression patterns of CD8<sup>+</sup> T cells in acute and chronic brucellosis. *PLoS One*, 11(11), e0165138.
- Burgart, L. J. (2002). Colorectal polyps and other precursor lesions: need for an expanded view. *Gastroenterology Clinics*, 31(4), 959-970.
- Butterworth, A. S., Higgins, J. P. and Pharoah, P. (2006). Relative and absolute risk of colorectal cancer for individuals with a family history: a meta-analysis. *European journal of cancer*, 42(2), 216-227.
- Cameron, J. E., Yin, Q., Fewell, C., Lacey, M., McBride, J., Wang, X. and Flemington, E. K. (2008). Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 induces cellular MicroRNA miR-146a, a modulator of lymphocyte signaling pathways. *Journal of virology*, 82(4), 1946-1958.

Calin, G. A., Dumitru, C. D., Shimizu, M., Bichi, R., Zupo, S., Noch, E. and Rassenti, L. (2002). Frequent deletions and down-regulation of micro-RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. *Proceedings of the national academy of sciences*, 99(24), 15524-15529.

Calin, G. A., Sevignani, C., Dumitru, C. D., Hyslop, T., Noch, E., Yendamuri, S. and Croce, C. M. (2004). Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(9), 2999-3004.

Calin, G. A., Ferracin, M., Cimmino, A., Di Leva, G., Shimizu, M., Wojcik, S. E. and Iuliano, R. (2005). A MicroRNA signature associated with prognosis and progression in chronic lymphocytic leukemia. *New England Journal of Medicine*, 353(17), 1793-1801.

Calin, G. A., Cimmino, A., Fabbri, M., Ferracin, M., Wojcik, S. E., Shimizu, M. and Alder, H. (2008). MiR-15a and miR-16-1 cluster functions in human leukemia. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(13), 5166-5171.

Campos, F. G., Figueiredo, M. N. and Martinez, C. A. R. (2015). Colorectal cancer risk in hamartomatous polyposis syndromes. *World journal of gastrointestinal surgery*, 7(3), 25.

Canbay, E. ve Buğra, D. (2011). Kolorektal kanser: Genetik ve moleküler biyoloji araştırmaları hasta tedavisine yeterince yansiyor mu?. *Turkish Journal of Surgery/Ulusal Cerrahi Dergisi*, 27(4).

Care, A., Catalucci, D., Felicetti, F., Bonci, D., Addario, A., Gallo, P. and Elia, L. (2007). MicroRNA-133 controls cardiac hypertrophy. *Nature medicine*, 13(5), 613-618.

Carron, J., Torricelli, C., Silva, J. K., Queiroz, G. S., Ortega, M. M., Lima, C. S. and Lourenço, G. J. (2021). microRNAs deregulation in head and neck squamous cell carcinoma. *Head & Neck*, 43(2), 645-667.

Chen, C., Pan, Y., Bai, L., Chen, H., Duan, Z., Si, Q. and Luo, Y. (2021). MicroRNA-3613-3p functions as a tumor suppressor and represents a novel therapeutic target in breast cancer. *Breast Cancer Research*, 23(1), 1-13.

Choi, Y. J., Myung, S. K. and Lee, J. H. (2018). Light alcohol drinking and risk of cancer: a meta-analysis of cohort studies. *Cancer research and treatment: official journal of Korean Cancer Association*, 50(2), 474.

Chubak, J., Kamineni, A., Buist, D. S., Anderson, M. L. and Whitlock, E. P. (2015). Aspirin use for the prevention of colorectal cancer.

Colucci, P. M., Yale, S. H. and Rall, C. J. (2003). Colorectal polyps. *Clinical medicine & research*, 1(3), 261-262.

Compton, C. C. and Greene, F. L. (2004). The staging of colorectal cancer: 2004 and beyond. *CA: a cancer journal for clinicians*, 54(6), 295-308.

Cowland, J. B., Hother, C. and Grønbaek, K. (2007). MicroRNAs and cancer. *Apmis*, 115(10), 1090-1106.

Cui, H. W., Han, W. Y., Hou, L. N., Yang, L., Li, X. and Su, X. L. (2019). miR-1915-3p inhibits Bcl-2 expression in the development of gastric cancer. *Bioscience Reports*, 39(5).

Cui, M., Yao, X., Lin, Y., Zhang, D., Cui, R. and Zhang, X. (2020). Interactive functions of microRNAs in the miR-23a-27a-24-2 cluster and the potential for targeted therapy in cancer. *Journal of cellular physiology*, 235(1), 6-16.

Curigliano, G., Lenihan, D., Fradley, M., Ganatra, S., Barac, A., Blaes, A. and Patel, A. (2020). Management of cardiac disease in cancer patients throughout oncological treatment: ESMO consensus recommendations. *Annals of Oncology*, 31(2), 171-190.

Cuyle, P. J. and Prenen, H. (2017). Current and future biomarkers in the treatment of colorectal cancer. *Acta Clinica Belgica*, 72(2), 103-115.

Çınar, İ. ve Dursun, H. G. (2016). miRNA Biyogenezi ve Kanser Patogenezindeki Fonksiyonu. *Sakarya Tıp Dergisi*, 6(2).

Denli, A. M., Tops, B. B., Plasterk, R. H., Ketting, R. F. and Hannon, G. J. (2004). Processing of primary microRNAs by the Microprocessor complex. *Nature*, 432(7014), 231-235.

DeSantis, C., Naishadham, D. and Jemal, A. (2013). Cancer statistics for African Americans, 2013. *CA: a cancer journal for clinicians*, 63(3), 151-166.

Descamps, S. and Prigent, C. (2002). Protein kinases aurora, centrosome amplification, aneuploidy, and cancers. *M S-Medecine Sciences*, 18(4), 474-480.

Dickinson, B. T., Kisiel, J., Ahlquist, D. A. and Grady, W. M. (2015). Molecular markers for colorectal cancer screening. *Gut*, 64(9), 1485-1494.

Dölek, Y., Karabulut, Y. Y., Topal, F. ve Kurşun, N. (2013). Gastrointestinal poliplerin boyut, lokalizasyon ve histopatolojik tipleriyle değerlendirilmesi. *Endoskopi Gastrointestinal*, 21(2), 31-35.

Douaiher, J., Ravipati, A., Grams, B., Chowdhury, S., Alatise, O. and Are, C. (2017). Colorectal cancer global burden, trends, and geographical variations. *Journal of surgical oncology*, 115(5), 619-630.

Duca, R. B., Massillo, C., Dalton, G. N., Farré, P. L., Graña, K. D., Gardner, K. and De Siervi, A. (2021). MiR-19b-3p and miR-101-3p as potential biomarkers for prostate cancer diagnosis and prognosis. *American Journal of Cancer Research*, 11(6), 2802.

East, J. E., Atkin, W. S., Bateman, A. C., Clark, S. K., Dolwani, S., Ket, S. N. and Tomlinson, I. (2017). British Society of Gastroenterology position statement on serrated polyps in the colon and rectum. *Gut*, 66(7), 1181-1196.

Edkins, S., O'Meara, S., Parker, A., Stevens, C., Reis, M., Jones, S. and Hunter, C. (2006). Recurrent KRAS codon 146 mutations in human colorectal cancer. *Cancer biology & therapy*, 5(8), 928-932.

Edwards, B. K., Howe, H. L., Ries, L. A., Thun, M. J., Rosenberg, H. M., Yancik, R. and Feigal, E. G. (2002). Annual report to the nation on the status of cancer, 1973–1999, featuring implications of age and aging on US cancer burden. *Cancer*, 94(10), 2766-2792.

Emiral, G. Ö., Atalay, B. I., Önsüz, M. F., Zeytin, A. M., Küçük, Y. S., Işıklı, B. ve Metintaş, S. (2018). Yarı Kırsal Alanda Yaşayan Kişilerde Gaitada Gizli Kan Taraması ve Tarama Programları Hakkında Farkındalıkları. *ESTÜDAM Halk Sağlığı Dergisi*, 3(1), 42-55.

Erçolak, V. (2016). Kolorektal Kanserlerde Epidemiyoloji ve Risk Faktörleri. *Klinik Tıp Aile Hekimliği*, 8(1), 11-15.

Esquela-Kerscher, A. and Slack, F. J. (2006). Oncomirs—microRNAs with a role in cancer. *Nature reviews cancer*, 6(4), 259-269.

Fan, Y. F., Yu, Z. P. and Cui, X. Y. (2019). lncRNA Colorectal Neoplasia Differentially Expressed (CRNDE) promotes proliferation and inhibits apoptosis in non-small cell lung cancer cells by regulating the miR-641/CDK6 axis. *Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research*, 25, 2745.

Fenoglio-Preiser, C. M., Noffsinger, A. E., Stemmermann, G. N., Lantz, P. E., Listrom, M. B. and Rilke, F. O. (1999). Carcinomas and other epithelial and neuroendocrine tumors of the large intestine. *Gastrointestinal pathology an atlas and text*. 2nd ed. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 909-1068.

Felton, J. S. (1997). The heritage of Bernardino Ramazzini. *Occupational medicine*, 47(3), 167-179.

Ferlay, J., Colombet, M., Soerjomataram, I., Dyba, T., Randi, G., Bettio, M. and Bray, F. (2018). Cancer incidence and mortality patterns in Europe: Estimates for 40 countries and 25 major cancers in 2018. *European journal of cancer*, 103, 356-387.

Fidler, M. M., Soerjomataram, I. and Bray, F. (2016). A global view on cancer incidence and national levels of the human development index. *International journal of cancer*, 139(11), 2436-2446.

Fricke, A., Cimniak, A. F. V., Ullrich, P. V., Becherer, C., Bickert, C., Pfeifer, D. and Eisenhardt, S. U. (2018). Whole blood miRNA expression analysis reveals miR-3613-3p as a potential biomarker for dedifferentiated liposarcoma. *Cancer Biomarkers*, 22(2), 199-207.

Gad, S. A., Ali, H. E., Gaballa, R., Abdelsalam, R. M., Zerfaoui, M., Ali, H. I. and Abd Elmageed, Z. Y. (2019). Targeting CDC7 sensitizes resistance melanoma cells to BRAF V600E-specific inhibitor by blocking the CDC7/MCM2-7 pathway. *Scientific reports*, 9(1), 1-12.

Garzon, R., Volinia, S., Liu, C. G., Fernandez-Cymering, C., Palumbo, T., Pichiorri, F. and Flomenberg, N. (2008). MicroRNA signatures associated with cytogenetics and prognosis in acute myeloid leukemia. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 111(6), 3183-3189.

Garzon, R., Calin, G. A. and Croce, C. M. (2009). MicroRNAs in cancer. *Annual review of medicine*, 60, 167-179.

Gebeshuber, C. A., Zatloukal, K. and Martinez, J. (2009). miR-29a suppresses tristetraprolin, which is a regulator of epithelial polarity and metastasis. *EMBO reports*, 10(4), 400-405.

Ghareib, A. F., Mohamed, R. H., Abd el-Fatah, A. R. and Saadawy, S. F. (2019). Assessment of Serum MicroRNA-21 Gene Expression for Diagnosis and Prognosis of Colorectal Cancer. *Journal of Gastrointestinal Cancer*, 1-6.

Giovannucci, E., Rimm, E. B., Stampfer, M. J., Colditz, G. A., Ascherio, A., Kearney, J., & Willett, W. C. (1994). A prospective study of cigarette smoking and risk of colorectal adenoma and colorectal cancer in US men. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, 86(3), 183-191.

Goldstein, N. S. (2006). Serrated pathway and APC (conventional)-type colorectal polyps: molecular-morphologic correlations, genetic pathways, and implications for classification. *American journal of clinical pathology*, 125(1), 146-153.

Gonzalez-Alegre, P. (2007). Therapeutic RNA interference for neurodegenerative diseases: From promise to progress. *Pharmacology & therapeutics*, 114(1), 34-55.

- Grady, W. M. and Carethers, J. M. (2008). Genomic and epigenetic instability in colorectal cancer pathogenesis. *Gastroenterology*, 135(4), 1079-1099.
- Guo, Y., Chen, Y., Ito, H., Watanabe, A., Ge, X., Kodama, T. and Aburatani, H. (2006). Identification and characterization of lin-28 homolog B (LIN28B) in human hepatocellular carcinoma. *Gene*, 384, 51-61.
- Guo, Y., Chen, Z., Zhang, L., Zhou, F., Shi, S., Feng, X. and Shao, K. (2008). Distinctive microRNA profiles relating to patient survival in esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer research*, 68(1), 26-33.
- Guo, J., Liu, C., Wang, W., Liu, Y., He, H., Chen, C. and Luo, Y. (2018). Identification of serum miR-1915-3p and miR-455-3p as biomarkers for breast cancer. *PloS one*, 13(7), e0200716.
- Gupta, R., Sinha, S. and Paul, R. N. (2018). The impact of microsatellite stability status in colorectal cancer. *Current problems in cancer*, 42(6), 548-559.
- Güngörmez, Ç., Gumushan Aktas, H. ve Borazan, E. (2017). Stage II Kolon kanseri dokularında Onkogenik microRNA olan miR-92, miR-21, miR-155'in qRT-PCR'da Ekspresyonu. *Journal of Harran University Medical Faculty*, 14.
- Haggar, F. A. and Boushey, R. P. (2009). Colorectal cancer epidemiology: incidence, mortality, survival, and risk factors. *Clinics in colon and rectal surgery*, 22(4), 191.
- Hahn, W. C. and Weinberg, R. A. (2002). Rules for making human tumor cells. *New England Journal of Medicine*, 347(20), 1593-1603.
- Hamilton, S. R. and Aaltonen, L. A. (2006). Pathology and genetics of tumours of the digestive system. IARC press.
- Hanahan, D. and Weinberg, R. A. (2000). The hallmarks of cancer. *cell*, 100(1), 57-70.
- Hayes, J., Peruzzi, P. P. and Lawler, S. (2014). MicroRNAs in cancer: biomarkers, functions and therapy. *Trends in molecular medicine*, 20(8), 460-469.

Helland, Å., Anglesio, M. S., George, J., Cowin, P. A., Johnstone, C. N., House, C. M. and Phillips, W. A. (2011). Deregulation of MYCN, LIN28B and LET7 in a molecular subtype of aggressive high-grade serous ovarian cancers. *PloS one*, 6(4), e18064.

Hendifar, A., Yang, D., Lenz, F., Lurje, G., Pohl, A., Lenz, C. and Lenz, H. J. (2009). Gender disparities in metastatic colorectal cancer survival. *Clinical Cancer Research*, 15(20), 6391-6397.

Hitit, M., Kurar, E. ve Güzeloğlu, A. (2015). MikroRNA Biyogenezi. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 10(3).

Hobbs, G. A., Der, C. J. and Rossman, K. L. (2016). RAS isoforms and mutations in cancer at a glance. *Journal of cell science*, 129(7), 1287-1292.

[https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/kanser-db/istatistik/Trkiye\\_Kanser\\_statistikleri\\_2016.pdf](https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/kanser-db/istatistik/Trkiye_Kanser_statistikleri_2016.pdf)

<https://gco.iarc.fr/today/home>

<https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/cancers/39-All-cancers-fact-sheet.pdf>

<https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/792-turkey-fact-sheets.pdf>

<https://www.wcrf.org/sites/default/files/Colorectal-cancer-report.pdf>

<https://www.training.seer.cancer.gov/colorectal/treatment/radiation.html>

<http://mirdb.org>

<https://dosyasb.saglik.gov.tr/Eklenti/36134,siy2018trpdf.pdf?0>

Huang, W., Li, S., Chen, X., Sun, L., Pan, G., Chen, J. and Sun, Y. (2021). microRNA-1915-3p Promotes Cell Metastasis and Progression by Targeting Bcl2L11 in Hepatocellular Carcinoma.

Hunt, P. J. M. (2000). Cancer Nursing (Book). *Journal of Advanced Nursing*, 31(3), 732-732.

- Iannone, A., Losurdo, G., Pricci, M., Girardi, B., Massaro, A., Principi, M. and Di Leo, A. (2016). Stool investigations for colorectal cancer screening: from occult blood test to DNA analysis. *Journal of gastrointestinal cancer*, 47(2), 143-151.
- Iorio, M. V., Ferracin, M., Liu, C. G., Veronese, A., Spizzo, R., Sabbioni, S. and Ménard, S. (2005). MicroRNA gene expression deregulation in human breast cancer. *Cancer research*, 65(16), 7065-7070.
- Ismail, A., Abulsoud, A. I., Mansour, O. A. and Fawzy, A. (2019). Diagnostic Significance of miR-639 and miR-10b in Breast Cancer Patients. *Meta Gene*, 19, 155-159.
- Itzkowitz, S. H. and Potack, J. (2016). Colonic polyps and polyposis syndromes. *Sleisenger and Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease: Pathophysiology/Diagnosis/Management*. 10th ed. Philadelphia, PA: Elsevier Saunders.
- Jasperson, K. W., Tuohy, T. M., Neklason, D. W. and Burt, R. W. (2010). Hereditary and familial colon cancer. *Gastroenterology*, 138(6), 2044-2058.
- Jass, J. R. (2004). Hyperplastic polyps and colorectal cancer: is there a link?. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 2(1), 1-8.
- Jelski, W. and Mroczko, B. (2020). Biochemical Markers of Colorectal Cancer—Present and Future. *Cancer Management and Research*, 12, 4789.
- Jemal, A., Bray, F., Center, M. M., Ferlay, J., Ward, E. and Forman, D. (2011). Global cancer statistics. *CA: a cancer journal for clinicians*, 61(2), 69-90.
- Jia, M., Gao, X., Zhang, Y., Hoffmeister, M. and Brenner, H. (2016). Different definitions of CpG island methylator phenotype and outcomes of colorectal cancer: a systematic review. *Clinical epigenetics*, 8(1), 25.
- Jo, J. R., Lee, S. E., An, S., Nedumaran, B., Ghosh, S., Park, K. G. and Kim, Y. D. (2021). Gluconeogenic signals regulate hepcidin gene expression via a CRBN-KLF15 axis. *BMB reports*, 54(4), 221.

Johnson, S. M., Grosshans, H., Shingara, J., Byrom, M., Jarvis, R., Cheng, A. and Slack, F. J. (2005). RAS is regulated by the let-7 microRNA family. *Cell*, 120(5), 635-647.

Kamel, H. F. M. and Al-Amodi, H. S. B. (2016). Cancer Biomarkers. In *Role of Biomarkers in Medicine*. IntechOpen.

Karagün, B. Ş., Antmen, B., Şaşmaz, İ. ve Kılınç, Y. (2014). Mikro RNA and Cancer. *Türk Klinik Biyokimya Derg*, 12(1), 45-56.

Kızıltuğ, M.T. (2016). Alzheimer hastası bireylerde bazı mikroRNA'ların ekspresyonlarının araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Mersin Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mersin, 82s.

Kim, S. T., Sohn, I., Do, I. G., Jang, J., Kim, S. H., JUNG, S. H. and Kim, H. C. (2014). Transcriptome analysis of CD133-positive stem cells and prognostic value of survivin in colorectal cancer. *Cancer Genomics-Proteomics*, 11(5), 259-266.

Kim, J. E., Kim, B. G., Jang, Y., Kang, S., Lee, J. H. and Cho, N. H. (2020). The stromal loss of miR-4516 promotes the FOSL1-dependent proliferation and malignancy of triple negative breast cancer. *Cancer Letters*, 469, 256-265.

Kluiver, J., Poppema, S., de Jong, D., Blokzijl, T., Harms, G., Jacobs, S. and van den Berg, A. (2005). BIC and miR-155 are highly expressed in Hodgkin, primary mediastinal and diffuse large B cell lymphomas. *The Journal of Pathology: A Journal of the Pathological Society of Great Britain and Ireland*, 207(2), 243-249.

Kong, Q., Shu, N., Li, J. and Xu, N. (2018). miR-641 functions as a tumor suppressor by targeting MDM2 in human lung cancer. *Oncology Research Featuring Preclinical and Clinical Cancer Therapeutics*, 26(5), 735-741.

Konishi, F. and Morson, B. C. (1982). Pathology of colorectal adenomas: a colonoscopic survey. *Journal of Clinical Pathology*, 35(8), 830-841.

Kozomara, A., Birgaoanu, M. and Griffiths-Jones, S. (2019). miRBase: from microRNA sequences to function. *Nucleic acids research*, 47(D1), D155-D162.

Kumar, S., Vijayan, M. and Reddy, P. H. (2017). MicroRNA-455-3p as a potential peripheral biomarker for Alzheimer's disease. *Human molecular genetics*, 26(19), 3808-3822.

Kune, G. and Watson, L. (2006). Colorectal cancer protective effects and the dietary micronutrients folate, methionine, vitamins B6, B12, C, E, selenium, and lycopene. *Nutrition and cancer*, 56(1), 11-21.

Kushi, L. H., Doyle, C., McCullough, M., Rock, C. L., Demark-Wahnefried, W., Bandera, E. V. and American Cancer Society 2010 Nutrition and Physical Activity Guidelines Advisory Committee. (2012). American Cancer Society Guidelines on nutrition and physical activity for cancer prevention: reducing the risk of cancer with healthy food choices and physical activity. *CA: a cancer journal for clinicians*, 62(1), 30-67.

Kwak, P. B., Iwasaki, S. and Tomari, Y. (2010). The microRNA pathway and cancer. *Cancer science*, 101(11), 2309-2315.

Larsen, J. E., Nathan, V., Osborne, J. K., Farrow, R. K., Deb, D., Sullivan, J. P. and Girard, L. (2016). ZEB1 drives epithelial-to-mesenchymal transition in lung cancer. *The Journal of clinical investigation*, 126(9), 3219-3235.

Lee, R. C., Feinbaum, R. L. and Ambros, V. (1993). The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *cell*, 75(5), 843-854.

Lee, Y., Ahn, C., Han, J., Choi, H., Kim, J., Yim, J. and Kim, V. N. (2003). The nuclear RNase III Droscha initiates microRNA processing. *Nature*, 425(6956), 415-419.

Lee, Y. S. and Dutta, A. (2007). The tumor suppressor microRNA let-7 represses the HMGA2 oncogene. *Genes and development*, 21(9), 1025-1030.

Lei, S. T., Shen, F., Chen, J. W., Feng, J. H., Cai, W. S., Shen, L. and Xu, B. (2016). miR-639 promoted cell proliferation and cell cycle in human thyroid cancer by suppressing CDKN1A expression. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 84, 1834-1840.

- Li, L., Qiu, X. G., Lv, P. W. and Wang, F. (2014). miR-639 promotes the proliferation and invasion of breast cancer cell in vitro. *Cancer cell international*, 14(1), 39.
- Li, X. L., Zhou, J., Chen, Z. R. and Chng, W. J. (2015). P53 mutations in colorectal cancer-molecular pathogenesis and pharmacological reactivation. *World journal of gastroenterology: WJG*, 21(1), 84.
- Li, Q., Wei, P., Wu, J., Zhang, M., Li, G., Li, Y. and Xie, K. (2019). The FOXC1/FBP1 signaling axis promotes colorectal cancer proliferation by enhancing the Warburg effect. *Oncogene*, 38(4), 48
- Li, K., Han, H., Gu, W., Cao, C. and Zheng, P. (2020). Long non-coding RNA LINC01963 inhibits progression of pancreatic carcinoma by targeting miR-641/TMEFF2. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 129, 110346.
- Li, D., Tang, Z., Gao, Z., Shen, P., Liu, Z. and Dang, X. (2020). Circular RNA CDR1as exerts oncogenic properties partially through regulating miR-641 in cholangiocarcinoma. *Molecular and Cellular Biology*.
- Li, L., Han, W., Chen, Y. and Chen, Y. (2020). MiR-3613-3p inhibits hypertrophic scar formation by down-regulating arginine and glutamate-rich 1. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 1-12.
- Li, L., Han, W., Chen, Y. and Chen, Y. (2021). miR-3613-3p inhibits hypertrophic scar formation by down-regulating arginine and glutamate-rich 1. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 476(2), 1025-1036.
- Lin, T., Dong, W., Huang, J., Pan, Q., Fan, X., Zhang, C. and Huang, L. (2009). MicroRNA-143 as a tumor suppressor for bladder cancer. *The Journal of urology*, 181(3), 1372-1380.
- Lin, P. Y., Yu, S. L. and Yang, P. C. (2010). MicroRNA in lung cancer. *British journal of cancer*, 103(8), 1144-1148.

Lin, Z., Sun, L., Chen, W., Liu, B., Wang, Y., Fan, S. and Li, J. (2014). miR-639 regulates transforming growth factor beta-induced epithelial–mesenchymal transition in human tongue cancer cells by targeting FOXC 1. *Cancer science*, 105(10), 1288-1298.

Lin, J., Lin, J. X., Zheng, C. H., Li, P., Xie, J. W., Wang, J. B. and Huang, C. M. (2020). Relationship between aspirin use of esophageal, gastric and colorectal cancer patient survival: a meta-analysis.

Little, M. P., Vineis, P. and Li, G. (2008). A stochastic carcinogenesis model incorporating multiple types of genomic instability fitted to colon cancer data. *Journal of theoretical biology*, 254(2), 229-238.

Liu, Z., Zhang, Y., Niu, Y., Li, K., Liu, X., Chen, H. and Gao, C. (2014). A systematic review and meta-analysis of diagnostic and prognostic serum biomarkers of colorectal cancer. *PloS one*, 9(8), e103910.

Liu, H., Xu, Y., Zhang, Q., Li, K., Wang, D., Li, S. and Chen, Y. (2017). Correlations between TBL1XR1 and recurrence of colorectal cancer. *Scientific Reports*, 7, 44275.

Liu, J., Zhang, Z., Li, X., Chen, J., Wang, G., Tian, Z. and Huang, W. (2018). Forkhead box C1 promotes colorectal cancer metastasis through transactivating ITGA7 and FGFR4 expression. *Oncogene*, 37(41), 5477-5491.

Liu, F., Gao, Z., Shen, D., Zhao, H., Wang, C., Ye, Y. and Kong, F. (2019). Significance of SATB2 expression in colon cancer and its differential diagnosis in digestive tract adenocarcinoma and ovarian primary and metastatic carcinoma. *Pathology-Research and Practice*, 215(7), 152430.

Liu, Y., Yang, Y., Du, J., Lin, D. and Li, F. (2020). MiR-3613-3p from carcinoma-associated fibroblasts exosomes promoted breast cancer cell proliferation and metastasis by regulating SOCS2 expression. *IUBMB life*.

- Liu, H. Q., Shu, X., Ma, Q., Wang, R., Huang, M. Y., Gao, X. and Liu, Y. N. (2020). Identifying specific miRNAs and associated mRNAs in CD44 and CD90 cancer stem cell subtypes in gastric cancer cell line SNU-5. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 13(6), 1313.
- Liu, Y., Huang, R., Xie, D., Lin, X. and Zheng, L. (2021). ZNF674-AS1 antagonizes miR-423-3p to induce G0/G1 cell cycle arrest in non-small cell lung cancer cells. *Cellular & molecular biology letters*, 26(1), 1-14.
- Liu, G., Sun, J., Yang, Z. F., Zhou, C., Zhou, P. Y., Guan, R. Y. and Yi, Y. (2021). Cancer-associated fibroblast-derived CXCL11 modulates hepatocellular carcinoma cell migration and tumor metastasis through the circUBAP2/miR-4756/IFIT1/3 axis. *Cell death & disease*, 12(3), 1-19.
- Liu, L., Li, X., Wu, H., Tang, Y., Li, X. and Shi, Y. (2021). The COX10-AS1/miR-641/E2F6 feedback loop is involved in the progression of glioma. *Frontiers in Oncology*, 11.
- Livak, K. J. and Schmittgen, T. D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2<sup>-</sup> ΔΔCT method. *methods*, 25(4), 402-408.
- Lu, T. X. and Rothenberg, M. E. (2018). MicroRNA. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 141(4), 1202-1207.
- Lüthy, J. (2001). Folate and the risk of colorectal, breast and cervix cancer: the epidemiological evidence. *Swiss medical weekly*, 131(3738).
- Ma, G., Bi, S. and Zhang, P. (2021). Long non-coding RNA MIAT regulates ox-LDL-induced cell proliferation, migration and invasion by miR-641/STIM1 axis in human vascular smooth muscle cells. *BMC Cardiovascular Disorders*, 21(1), 1-12.
- Maffeis, V., Nicolè, L. and Cappellesso, R. (2019). RAS, cellular plasticity, and tumor budding in colorectal cancer. *Frontiers in Oncology*, 9.

Martinez, M. E. and Willett, W. C. (1998). Calcium, vitamin D, and colorectal cancer: a review of the epidemiologic evidence. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, 7(2), 163-168.

McCaffrey, A. P., Meuse, L., Pham, T. T. T., Conklin, D. S., Hannon, G. J. and Kay, M. A. (2002). RNA interference in adult mice. *Nature*, 418(6893), 38-39.

Melo, S. A. and Esteller, M. (2011). Dysregulation of microRNAs in cancer: playing with fire. *FEBS letters*, 585(13), 2087-2099.

Meng, F., Zhou, Y., Dong, B., Dong, A. and Zhang, J. (2020). Long non-coding RNA LINC01194 promotes the proliferation, migration and invasion of lung adenocarcinoma cells by targeting miR-641/SETD7 axis. *Cancer Cell International*, 20(1), 1-13.

Mermelshtein, A., Gerson, A., Walfisch, S., Delgado, B., Shechter-Maor, G., Delgado, J. and Gheber, L. (2005). Expression of D-type cyclins in colon cancer and in cell lines from colon carcinomas. *British journal of cancer*, 93(3), 338-345.

Mott, J. L., Kobayashi, S., Bronk, S. F. and Gores, G. J. (2007). mir-29 regulates Mcl-1 protein expression and apoptosis. *Oncogene*, 26(42), 6133-6140.

Muto, T., Bussey, H. J. R. and Morson, B. C. (1973). Pseudo-carcinomatous invasion in adenomatous polyps of the colon and rectum. *Journal of clinical pathology*, 26(1), 25.

Nicholson, B. D., Shinkins, B., Pathiraja, I., Roberts, N. W., James, T. J., Mallett, S. and Mant, D. (2015). Blood CEA levels for detecting recurrent colorectal cancer. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, (12).

Niu, Y., He, J. H., Zhang, Y., Li, K. and Xing, C. (2021). Effect of the circCDR1as/miR-641/XIAP regulatory axis on the proliferation and invasion of the prostate cancer PC-3 cell line. *Oncology letters*, 21(6), 1-10.

Noffsinger, A. E. (2009). Serrated polyps and colorectal cancer: new pathway to malignancy. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*, 4, 343-364.

Okuy, P. (2013). Kolorektal Kanser Epidemiyolojisi. Türkiye Klinikleri Tıbbi Onkoloji-Özel Konular, 6(3), 1-5.

O'keefe, S. J. (2016). Diet, microorganisms and their metabolites, and colon cancer. Nature reviews Gastroenterology and hepatology, 13(12), 691.

Öztop, S. (2019). Kolorektal Kanserde Yeni Biyobelirteçlerin Tanımlanması. Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara, 135s.

Pan, H., Pan, Z., Guo, F., Meng, F., Zu, L., Fan, Y. and Zhou, Q. (2021). MicroRNA-1915-3p inhibits cell migration and invasion by targeting SET in non-small-cell lung cancer. BMC cancer, 21(1), 1-16.

Pang, M., Wu, G., Hou, X., Hou, N., Liang, L., Jia, G. and Li, G. (2014). LIN28B promotes colon cancer migration and recurrence. PloS one, 9(10), e109169.

Papadimitriou, N., Dimou, N., Tsilidis, K. K., Banbury, B., Martin, R. M., Lewis, S. J. And Berndt, S. I. (2020). Physical activity and risks of breast and colorectal cancer: a Mendelian randomisation analysis. Nature communications, 11(1), 1-10.

Park, S. Y., Wilkens, L. R., Setiawan, V. W., Monroe, K. R., Haiman, C. A. and Le Marchand, L. (2019). Alcohol intake and colorectal cancer risk in the multiethnic cohort study. American Journal of Epidemiology, 188(1), 67-76.

Patel, S. G. and Ahnen, D. J. (2012). Familial colon cancer syndromes: an update of a rapidly evolving field. Current gastroenterology reports, 14(5), 428-438.

Peluso, G., Incollingo, P., Calogero, A., Tammaro, V., Rupealta, N., Chiacchio, G. and Sabbatini, M. (2017). Current tissue molecular markers in colorectal cancer: a literature review. BioMed research international, 2017.

Peters, U., Hutter, C. M., Hsu, L., Schumacher, F. R., Conti, D. V., Carlson, C. S. and Lemire, M. (2012). Meta-analysis of new genome-wide association studies of colorectal cancer risk. Human genetics, 131(2), 217-234.

Petrocca, F. and Lieberman, J. (2009). Micromanipulating cancer: microRNA-based therapeutics?. RNA biology, 6(3), 335-340.

Popat, S. and Houlston, R. S. (2005). A systematic review and meta-analysis of the relationship between chromosome 18q genotype, DCC status and colorectal cancer prognosis. *European journal of cancer*, 41(14), 2060-2070.

Prior, I. A., Lewis, P. D. and Mattos, C. (2012). A comprehensive survey of Ras mutations in cancer. *Cancer research*, 72(10), 2457-2467.

Quinlan, M. P. and Settleman, J. (2009). Isoform-specific ras functions in development and cancer.

Quentmeier, A., Möller, P., Schwarz, V., Abel, U. and Schlag, P. (1987). Carcinoembryonic antigen, CA 19-9, and CA 125 in normal and carcinomatous human colorectal tissue. *Cancer*, 60(9), 2261-2266.

Raskov, H., Pommergaard, H. C., Burcharth, J. and Rosenberg, J. (2014). Colorectal carcinogenesis-update and perspectives. *World journal of gastroenterology: WJG*, 20(48), 18151.

Rassoulzadegan, M., Taheri, S., Cuzin, F. and Özkul, Y. (2021). A Transgenerational Genetic Marker of the Autism Spectrum Disorder. *Erciyes Medical Journal/Erciyes Tip Dergisi*, 43(3).

Rawla, P., Sunkara, T. and Barsouk, A. (2019). Epidemiology of colorectal cancer: incidence, mortality, survival, and risk factors. *Gastroenterology Review/Przegląd Gastroenterologiczny*, 14(2), 89-103.

Reese, D. M. (1998). Fundamentals--Rudolf Virchow and modern medicine. *Western journal of medicine*, 169(2), 105.

Reich, J. L., Duan, F., Smith, L. M., Gustafson, D. M., O'Connor, R. S., Zhang, C. and Barr, F. G. (2011). Genomic and clinical analysis of amplification of the 13q31 chromosomal region in alveolar rhabdomyosarcoma: a report from the Children's Oncology Group. *Clinical Cancer Research*, 17(6), 1463-1473.

Rezaei, O., Tamizkar, K. H., Hajiesmaeili, M., Taheri, M. and Ghafouri-Fard, S. (2021). Non-coding RNAs participate in the pathogenesis of neuroblastoma. *Frontiers in Oncology*, 11.

Rothschild, S. I. (2014). microRNA therapies in cancer. *Molecular and cellular therapies*, 2(1), 1-8.

Ruan, K., Fang, X. and Ouyang, G. (2009). MicroRNAs: novel regulators in the hallmarks of human cancer. *Cancer letters*, 285(2), 116-126.

Santini, D., Loupakis, F., Vincenzi, B., Floriani, I., Stasi, I., Canestrari, E. and Graziano, F. (2008). High concordance of KRAS status between primary colorectal tumors and related metastatic sites: implications for clinical practice. *Oncologist*, 13(12), 1270.

Samadder, N. J., Curtin, K., Tuohy, T. M., Rowe, K. G., Mineau, G. P., Smith, K. R. and Burt, R. W. (2014). Increased risk of colorectal neoplasia among family members of patients with colorectal cancer: a population-based study in Utah. *Gastroenterology*, 147(4), 814-821.

Sampson, V. B., Rong, N. H., Han, J., Yang, Q., Aris, V., Soteropoulos, P. and Krueger, L. J. (2007). MicroRNA let-7a down-regulates MYC and reverts MYC-induced growth in Burkitt lymphoma cells. *Cancer research*, 67(20), 9762-9770.

Sathananthan, A. H., Ratnasooriya, W. D., De Silva, A. ve Randeniya, P. (2006). Rediscovering Boveri's centrosome in *Ascaris* (1888): its impact on human fertility and development. *Reproductive biomedicine online*, 12(2), 254-270.

Satorres, C., García-Campos, M. and Bustamante-Balén, M. (2020). Molecular Features of the Serrated Pathway to Colorectal Cancer: Current Knowledge and Future Directions. *Gut and Liver*.

Savaş, B., Erinanç, H., Perçinel, S. ve Ensari, A. (2007). Kolorektal Karsinogenez. *Güncel Gastroenteroloji*, 11(1), 27-33.

Saydam, F., Değirmenci, İ. ve Güneş, H. V. (2011). MikroRNA'lar ve kanser. *Dicle Medical Journal/Dicle Tip Dergisi*, 38(1).

Scarà, S., Bottoni, P. and Scatena, R. (2015). CA 19-9: biochemical and clinical aspects. In *Advances in Cancer Biomarkers* (pp. 247-260). Springer, Dordrecht.

Scheffer, A. R., Holdenrieder, S., Kristiansen, G., von Ruecker, A., Müller, S. C. and Ellinger, J. (2014). Circulating microRNAs in serum: novel biomarkers for patients with bladder cancer?. *World journal of urology*, 32(2), 353-358.

Sharma, R. (2020). An examination of colorectal cancer burden by socioeconomic status: evidence from GLOBOCAN 2018. *EPMA Journal*, 11(1), 95-117.

Shi, Y., Liu, T. Y., Song, M. Y., Chen, L., Liu, J. and Gao, S. (2019). Reproducibility of quantitative real-time PCR analysis in microRNA expression profiling and comparisons with microarray assays in diffuse large B-cell lymphoma patients. *International Journal Of Clinical And Experimental Medicine*, 12(5), 5776-5784.

Shinya, H. I. R. O. M. I. and Wolff, W. I. (1979). Morphology, anatomic distribution and cancer potential of colonic polyps. *Annals of surgery*, 190(6), 679.

Siegel RL, Miller KD, Jemal A. *Cancer Statistics, 2017*. CA: a cancer journal for clinicians. 2017; 67: 7-30.

Siegel, R. L., Torre, L. A., Soerjomataram, I., Hayes, R. B., Bray, F., Weber, T. K. and Jemal, A. (2019). Global patterns and trends in colorectal cancer incidence in young adults. *Gut*, 68(12), 2179-2185.

Singh, M., Spoelstra, N. S., Jean, A., Howe, E., Torkko, K. C., Clark, H. R. and Richer, J. K. (2008). ZEB1 expression in type I vs type II endometrial cancers: a marker of aggressive disease. *Modern Pathology*, 21(7), 912-923.

Singh, A. K., Rooge, S. B., Varshney, A., Vasudevan, M., Kumar, M., Geffers, R. and Sarin, S. K. (2021). Identification of miRNAs associated with dendritic cell dysfunction during acute and chronic hepatitis B virus infection. *Journal of Medical Virology*, 93(6), 3697-3706.

Slaby, O., Svoboda, M., Fabian, P., Smerdova, T., Knoflickova, D., Bednarikova, M. and Vyzula, R. (2007). Altered expression of miR-21, miR-31, miR-143 and miR-145 is related to clinicopathologic features of colorectal cancer. *Oncology*, 72(5-6), 397-402.

Slattery, M. L., Potter, J. D., Friedman, G. D., Ma, K. N. and Edwards, S. (1997). Tobacco use and colon cancer. *International journal of cancer*, 70(3), 259-264.

Smith, R. A., Andrews, K. S., Brooks, D., Fedewa, S. A., Manassaram-Baptiste, D., Saslow, D. and Wender, R. C. (2019). Cancer screening in the United States, 2019: A review of current American Cancer Society guidelines and current issues in cancer screening. *CA: a cancer journal for clinicians*, 69(3), 184-210.

Song, M., Garrett, W. S. and Chan, A. T. (2015). Nutrients, foods, and colorectal cancer prevention. *Gastroenterology*, 148(6), 1244-1260.

Strickler, J. H., Wu, C. and Bekaii-Saab, T. (2017). Targeting BRAF in metastatic colorectal cancer: maximizing molecular approaches. *Cancer treatment reviews*, 60, 109-119.

Su, J., Li, J., Yu, Q., Wang, J., Li, X., Yang, J. and Chen, X. (2020). Exosomal miRNAs as potential biomarkers for acute myocardial infarction. *IUBMB life*, 72(3), 384-400.

Takamizawa, J., Konishi, H., Yanagisawa, K., Tomida, S., Osada, H., Endoh, H. and Mitsudomi, T. (2004). Reduced expression of the let-7 microRNAs in human lung cancers in association with shortened postoperative survival. *Cancer research*, 64(11), 3753-3756.

Tang, J., Ma, W., Zeng, Q., Tan, J., Cao, K. and Luo, L. (2019). Identification of miRNA-Based Signature as a Novel Potential Prognostic Biomarker in Patients with Breast Cancer. *Disease markers*, 2019.

Tassi, E., Henke, R. T., Bowden, E. T., Swift, M. R., Kodack, D. P., Kuo, A. H. and Wellstein, A. (2006). Expression of a fibroblast growth factor-binding protein during the development of adenocarcinoma of the pancreas and colon. *Cancer research*, 66(2), 1191-1198.

Taşçıoğlu, N., Taheri, S., Saatçi, Ç. and Özkul, Y. (2006). Gastrointestinal sistem kanserlerinde metilentetrahidrofolat redüktaz geni 677C→ T polimorfizminin incelenmesi. *Sağlık Bilimleri Dergisi*, 15(1), 41-45.

Tejpar, S., Bertagnolli, M., Bosman, F., Lenz, H. J., Garraway, L., Waldman, F. and Harkin, D. P. (2010). Prognostic and predictive biomarkers in resected colon cancer: current status and future perspectives for integrating genomics into biomarker discovery. *The oncologist*, 15(4), 390.

Teker, E., 2018. Kolon Kanserinde Tümör Supressör Mikrona'ların Araştırılması. Fen Bilimleri Ens, Yüksek Lisans Tezi, Şanlıurfa, 63s.

Tewary, P., Gunatilaka, A. L., & Sayers, T. J. (2017). Using natural products to promote caspase-8-dependent cancer cell death. *Cancer Immunology, Immunotherapy*, 66(2), 223-231.

Thanikachalam, K. and Khan, G. (2019). Colorectal cancer and nutrition. *Nutrients*, 11(1), 164.

Tian, Y., Gao, P., Dai, D., Chen, L., Chu, X. and Mei, X. (2021). Circular RNA circSETD3 hampers cell growth, migration, and stem cell properties in bladder cancer through sponging miR-641 to upregulate PTEN. *Cell Cycle*, 20(16), 1589-1602.

Torre, L. A., Bray, F., Siegel, R. L., Ferlay, J., Lortet-Tieulent, J. and Jemal, A. (2015). Global cancer statistics, 2012. *CA: a cancer journal for clinicians*, 65(2), 87-108.

Tuohy, T. M., Rowe, K. G., Mineau, G. P., Pimentel, R., Burt, R. W. and Samadder, N. J. (2014). Risk of colorectal cancer and adenomas in the families of patients with adenomas: A population-based study in Utah. *Cancer*, 120(1), 35-42.

Viswanathan, S. R., Powers, J. T., Einhorn, W., Hoshida, Y., Ng, T. L., Toffanin, S. and Shah, S. P. (2009). Lin28 promotes transformation and is associated with advanced human malignancies. *Nature genetics*, 41(7), 843.

Üçüncü, M. Z. (2019). Kolorektal Kanserlerin Tanı ve Prognostik Takibinde Eski ve Yeni Serum Biyobelirteçleri: Sistematik İnceleme ve Meta-Analiz.

Valle, L. (2014). Genetic predisposition to colorectal cancer: where we stand and future perspectives. *World journal of gastroenterology: WJG*, 20(29), 9828.

Vallino, L., Ferraresi, A., Vidoni, C., Secomandi, E., Esposito, A., Dhanasekaran, D. N. And Isidoro, C. (2020). Modulation of non-coding RNAs by resveratrol in ovarian cancer cells: In silico analysis and literature review of the anti-cancer pathways involved. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*.

Van Cutsem, E., Cervantes, A., Adam, R., Sobrero, A., Van Krieken, J. H., Aderka, D. and Ciardiello, F. (2016). ESMO consensus guidelines for the management of patients with metastatic colorectal cancer. *Annals of Oncology*, 27(8), 1386-1422.

Van P. M., Nielsen, M., Tops, C. M., Halfwerk, H., Vasen, H. F., Weiss, M. M. and Morreau, H. (2008). Identification of patients with (atypical) MUTYH-associated polyposis by KRAS2 c. 34G> T prescreening followed by MUTYH hotspot analysis in formalin-fixed paraffin-embedded tissue. *Clinical Cancer Research*, 14(1), 139-142.

Vogelstein, B., Fearon, E. R., Hamilton, S. R., Kern, S. E., Preisinger, A. C., Leppert, M. and Bos, J. L. (1988). Genetic alterations during colorectal-tumor development. *New England Journal of Medicine*, 319(9), 525-532.

Walter, V., Jansen, L., Hoffmeister, M. and Brenner, H. (2014). Smoking and survival of colorectal cancer patients: systematic review and meta-analysis. *Annals of Oncology*, 25(8), 1517-1525.

Walther, A., Houlston, R. and Tomlinson, I. (2008). Association between chromosomal instability and prognosis in colorectal cancer: a meta-analysis. *Gut*, 57(7), 941-950.

Wang, L., Gu, F., Liu, C. Y., Wang, R. J., Li, J. and Xu, J. Y. (2013). High level of FOXC1 expression is associated with poor prognosis in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Tumor Biology*, 34(2), 853-858.

Wang, Y. H., Yin, Y. W., Zhou, H. and Cao, Y. D. (2018). miR 639 is associated with advanced cancer stages and promotes proliferation and migration of nasopharyngeal carcinoma. *Oncology letters*, 16(6), 6903-6909.

Wang, W., He, Y., Rui, J. and Xu, M. Q. (2019). miR-410 acts as an oncogene in colorectal cancer cells by targeting dickkopf-related protein 1 via the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway. *Oncology letters*, 17(1), 807-814.

Wang, L. W., Li, X. B., Liu, Z., Zhao, L. H., Wang, Y. and Yue, L. (2019). Long non-coding RNA OIP5-AS1 promotes proliferation of gastric cancer cells by targeting miR-641. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 23(24), 10776-10784.

Wei, L. X., Zhou, R. S., Xu, H. F., Wang, J. Y. and Yuan, M. H. (2013). High expression of FOXC1 is associated with poor clinical outcome in non-small cell lung cancer patients. *Tumor Biology*, 34(2), 941-946.

Weisenberger, D. J., Siegmund, K. D., Campan, M., Young, J., Long, T. I., Faasse, M. A. and Koh, H. (2006). CpG island methylator phenotype underlies sporadic microsatellite instability and is tightly associated with BRAF mutation in colorectal cancer. *Nature genetics*, 38(7), 787-793.

Westhues, H. (1934). *Die Pathologisch-Anatomischen Grundlagen der Chirurgie des Rektumk arzinoms*. Georg Thieme.

Wijnhoven, B. P. L., Michael, M. Z. and Watson, D. I. (2007). MicroRNAs and cancer. *British journal of surgery*, 94(1), 23-30.

Williams, A. R., Balasooriya, B. A. and Day, D. W. (1982). Polyps and cancer of the large bowel: a necropsy study in Liverpool. *Gut*, 23(10), 835-842.

Wolf, A. M., Fontham, E. T., Church, T. R., Flowers, C. R., Guerra, C. E., LaMonte, S. J. and Walter, L. C. (2018). Colorectal cancer screening for average-risk adults: 2018 guideline update from the American Cancer Society. *CA: a cancer journal for clinicians*, 68(4), 250-281.

Wu, H., Li, W., Zhu, S., Zhang, D. and Zhang, M. (2020). Circular RNA circUBAP2 regulates proliferation and invasion of osteosarcoma cells through miR-641/YAP1 axis. *Cancer Cell International*, 20(1), 1-12.

Wu, S. G., Zhou, P., Chen, J. X., Lei, J., Hua, L., Dong, Y., Zhou, J. (2021). circ-PTK2 (hsa\_circ\_0008305) regulates the pathogenic processes of ovarian cancer via miR-639 and FOXC1 regulatory cascade. *Cancer Cell International*, 21(1), 1-20.

Xia, L., Huang, W., Tian, D., Zhu, H., Qi, X., Chen, Z. and Wu, K. (2013). Overexpression of forkhead box C1 promotes tumor metastasis and indicates poor prognosis in hepatocellular carcinoma. *Hepatology*, 57(2), 610-624.

Xiao, J., Liu, Y., Wu, F., Liu, R., Xie, Y., Yang, Q. and Tang, H. (2020). miR-639 expression is silenced by DNMT3A-mediated hypermethylation and functions as a tumor suppressor in liver cancer cells. *Molecular Therapy*, 28(2), 587-598.

Xiao, Z., Liu, Y., Li, Q., Liu, Q., Liu, Y., Luo, Y. and Wei, S. (2021). EVs delivery of miR-1915-3p improves the chemotherapeutic efficacy of oxaliplatin in colorectal cancer. *Cancer chemotherapy and pharmacology*, 88(6), 1021-1031.

Xie, B., Li, L., Zhang, Z., Zhao, L., Cheng, J., Zhou, C. and Wei, H. (2021). MicroRNA-1246 by Targeting AXIN2 and GSK-3 $\beta$  Overcomes Drug Resistance and Induces Apoptosis in Chemo-resistant Leukemia Cells. *Journal of Cancer*, 12(14), 4196-4208.

Xing, Z., Li, D., Yang, L., Xi, Y. and Su, X. (2014). MicroRNAs and anticancer drugs. *Acta Biochim Biophys Sin*, 46(3), 233-239.

Xu, Z. Y., Ding, S. M., Zhou, L., Xie, H. Y., Chen, K. J., Zhang, W. and Zheng, S. S. (2012). FOXC1 contributes to microvascular invasion in primary hepatocellular carcinoma via regulating epithelial-mesenchymal transition. *International journal of biological sciences*, 8(8), 1130.

Xu, K., Liang, X., Cui, D., Wu, Y., Shi, W. and Liu, J. (2013). miR-1915 inhibits Bcl-2 to modulate multidrug resistance by increasing drug-sensitivity in human colorectal carcinoma cells. *Molecular carcinogenesis*, 52(1), 70-78.

Xu, C., Li, H., Zhang, L., Jia, T., Duan, L. and Lu, C. (2016). MicroRNA-1915-3p prevents the apoptosis of lung cancer cells by downregulating DRG2 and PBX2. *Molecular medicine reports*, 13(1), 505-512.

- Yan, W., Yang, W., Liu, Z. and Wu, G. (2018). Characterization of microRNA expression in primary human colon adenocarcinoma cells (SW480) and their lymph node metastatic derivatives (SW620). *OncoTargets and therapy*, 11, 4701.
- Yang, H., Su, H., Hu, N., Wang, C., Wang, L., Giffen, C. and Taylor, P. R. (2020). Integrated analysis of genome-wide miRNAs and targeted gene expression in esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) and relation to prognosis. *BMC cancer*, 20, 1-14.
- Yang, J. S. and Lai, E. C. (2011). Alternative miRNA biogenesis pathways and the interpretation of core miRNA pathway mutants. *Molecular cell*, 43(6), 892-903.
- Yang, G. Z., Hu, L., Cai, J., Chen, H. Y., Zhang, Y., Feng, D. and Cai, Q. P. (2015). Prognostic value of carbonic anhydrase VII expression in colorectal carcinoma. *BMC cancer*, 15(1), 209.
- Yao, T., Rao, Q., Liu, L., Zheng, C., Xie, Q., Liang, J. and Lin, Z. (2013). Exploration of tumor-suppressive microRNAs silenced by DNA hypermethylation in cervical cancer. *Virology journal*, 10(1), 1-7.
- Yao, R., Zheng, H., Wu, L. and Cai, P. (2018). miRNA-641 inhibits the proliferation, migration, and invasion and induces apoptosis of cervical cancer cells by directly targeting ZEB1. *OncoTargets and therapy*, 11, 8965.
- Yar, A.T. (2012). Kolon Kanser Hücre Hatlarında Reseptör Tirozin Kinaz Ve Jak-Stat İnhibitörlerinin Apoptotik Ve Anti-Proliferatif Etkilerinin Araştırılması, Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 181s.
- Yavuzşen, H. T., Aktaş, S., Saatli, H. B. and Altun, Z. S. (2019) Over Kanserinde mikro RNA'lar. *Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 33(1), 93-101.
- Yeğinboy, E., Büyükerkmen, M. E., Bayol, Ü., Karaca, C. ve Çökmez, A. (1995). Herediter Nonpolipozis Kolorektal Kanser Ailesi.
- Yiu, A. J. and Yiu, C. Y. (2016). Biomarkers in colorectal cancer. *Anticancer research*, 36(3), 1093-1102.

Yokuş, B. ve Çakır, D. Ü. (2012). Kanser biyokimyası. Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, (1), 7-18.

Yu, Y., Liao, H., Xie, R., Zhang, Y., Zheng, R., Chen, J. and Zhang, B. (2020). Overexpression of miRNA-3613-3p enhances the sensitivity of triple negative breast cancer to CDK4/6 inhibitor Palbociclib. *Frontiers in oncology*, 10.

Yue, N., Ye, M., Zhang, R. and Wang, M. (2020). MicroRNA-1307-3p accelerates the progression of colorectal cancer via regulation of TUSC5. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 20(2), 1746-1751.

Zhang, G. J., Zhou, T., Tian, H. P., Liu, Z. L. and Xia, S. S. (2013). High expression of ZEB1 correlates with liver metastasis and poor prognosis in colorectal cancer. *Oncology letters*, 5(2), 564-568.

Zhang, Y., Liu, G., Wu, S., Jiang, F., Xie, J. and Wang, Y. (2016). Zinc finger E-box-binding homeobox 1: its clinical significance and functional role in human thyroid cancer. *OncoTargets and therapy*, 9, 1303.

Zhang, D., Liu, E., Kang, J., Yang, X. and Liu, H. (2017). MiR-3613-3p affects cell proliferation and cell cycle in hepatocellular carcinoma. *Oncotarget*, 8(54), 93014.

Zhang, L. and Shay, J. W. (2017). Multiple roles of APC and its therapeutic implications in colorectal cancer. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, 109(8).

Zhang, N., Meng, X., Mei, L., Zhao, C. and Chen, W. (2019). LncRNA DLX6-AS1 promotes tumor proliferation and metastasis in osteosarcoma through modulating miR-641/HOXA9 signaling pathway. *Journal of Cellular Biochemistry*, 120(7), 11478-11489.

Zhang, Y., Liao, Y., Chen, C., Sun, W., Sun, X., Liu, Y. and Zhang, H. (2020). p38-regulated FOXC1 stability is required for colorectal cancer metastasis. *The Journal of Pathology*, 250(2), 217-230.

Zhang, F., Xu, Y., Ye, W., Jiang, J. and Wu, C. (2020). Circular RNA S-7 promotes ovarian cancer EMT via sponging miR-641 to up-regulate ZEB1 and MDM2. *Bioscience Reports*, 40(7).

Zhao, Y., Zheng, R., Chen, J. and Ning, D. (2020). CircRNA CDR1as/miR-641/HOXA9 pathway regulated stemness contributes to cisplatin resistance in non-small cell lung cancer (NSCLC). *Cancer cell international*, 20(1), 1-12.

Zhao, G., Zhang, A., Sun, S. and Ding, Y. (2021). Long non-coding RNA LINC00173 enhances cisplatin resistance in hepatocellular carcinoma via the microRNA-641/RAB14 axis. *Oncology Letters*, 21(5), 1-9.

Zhou, J., Li, H., Li, N., Li, X., Zhang, H., Song, Q. and Peng, M. (2017). MicroRNA-641 inhibits lung cancer cells proliferation, metastasis but promotes apoptosis in cells by targeting PDCD4. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 10(8), 8211.

Zhu, W., Cai, M. Y., Tong, Z. T., Dong, S. S., Mai, S. J., Liao, Y. J. and Guan, X. Y. (2012). Overexpression of EIF5A2 promotes colorectal carcinoma cell aggressiveness by upregulating MTA1 through C-myc to induce epithelial-mesenchymal transition. *Gut*, 61(4), 562-575.

Zhu, Y., Liu, B., Zhang, P., Zhang, J. and Wang, L. (2019). LncRNA TUSC8 inhibits the invasion and migration of cervical cancer cells via miR-641/PTEN axis. *Cell biology international*, 43(7), 781-788.

# ÖZGEÇMİŞ

**Ruşen AVŞAR**

## Öğrenim Durumu

Derece	Bölüm/Program	Üniversite	Yıl
Lisans	Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji	Gaziantep Üniversitesi	2007-2011
Y.Lisans	Fen Bilimleri, Biyoloji	Gaziantep Üniversitesi	2011-2014
Doktora	Fen Bilimleri, Moleküler Biyoloji	Gaziantep Üniversitesi	2017-2023

## Tezler

**Yüksek Lisans:** Kırşehir İli Meyve Sinekleri Faunası ve Sistematigi Üzerine Araştırmalar, Gaziantep Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü (Tez Danışmanı: Doç.Dr. Murat KÜTÜK).

## Uluslararası bilimsel dergilerde yayınlanan makaleler

**1. Avsar R,** Gurer T, Aytekin A. Bioinformatics and Expression Analyses of miR-639, miR-641, miR-1915-3p and miR-3613-3p in Colorectal Cancer Pathogenesis. J Cancer 2023; 14(13):2399-2409. doi:10.7150/jca.86974. <https://www.jcancer.org/v14p2399.htm>

**2. Avşar, R.** and Kütük, M.2017. Fauna of fruit flies (Diptera: Tephritidae) in Kırşehir province. Munis Entomology & Zoology, 12 (1): 60-67.

## Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında (*Proceedings*) basılan bildiriler :

**1. Avsar R,** Gurer T, Aytekin A. (2021). Investigation of miR-639 and miR-641 expression levels in the tissues of colorectal cancer patients. 3 rd International Cancer and Ion Channels Congress, 16-18 September, Online (Sözlü Bildiri)

**2. Avşar R**, Gurer T, Aytekin A. (2021). Relationship between colorectal cancer and expression levels of miR-1915-3p and miR-3613-3p. 10 th International Molecular Biology and Biotechnology Congress, 4-8 October, 65 Online (Sözlü Bildiri)

**3. Kızakoglu Mehmet Emin, Avşar Rusen**, Gürer Türkan, Aytekin Alper (2021). Determination of Expression Levels of miR-379 and miR-519a in Tumor and Healthy Tissues of Patients With Colorectal Cancer. The 11th International Scientific Research Congress (UBAK).

**4. Nacarkahya G. Çakmak EA. Akıl M. Avşar R. Erinmez A. Yılmaz M.** Moleküler Genetik ve Hematoloji Doku Tipleme Laboratuvarı HLA Doku Sonuçları. IV. Uluslararası Katılımlı Deneysel Hematoloji Kongresi, 28-30 Nisan 2017, Gaziantep, (DH2017-5).

**5. Nacarkahya G. Eroğlu S. Akıl M. Avşar R. Erinmez A. Yılmaz M.** HLA Typing Report of Moleküler Genetik Laboratuvarı. 4<sup>TH</sup> Aegean Hematology Oncology Symposium. 21-24 September 2017, Rhodes, Greece, (83).

#### **Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler:**

**1. Yaran M. Kütük M. Koyuncu MÖ. Avşar R. Aytekin HU.** Niğde ili meyve sinekleri (Diptera: Tephritidae) faunası üzerine çalışmalar. 23. Ulusal Biyoloji Kongresi, 5-9 Eylül 2016, Gaziantep, (PS-216).

**2. Avşar R. Kütük M. Yaran M.** Kırşehir İli Tephritis latreille (Diptera: Tephritidae) Faunası Üzerine Bir Araştırma. 22. Ulusal Biyoloji Kongresi, 23-27 Haziran 2014, Eskişehir, (HB-P2-59).

**3. Yaran M. Kütük M. Avşar R.** Türkiye Faunası için Yeni Bir Meyve Sineği (Diptera: Tephritidae) Türü. 22. Ulusal Biyoloji Kongresi, 23-27 Haziran 2014, Eskişehir, (HB-P2-50).

**4. Yaran M. Avşar R. Atacan E. Yurdadöner A. Kütük M.** Bazı Tephritis Latreille (Diptera: Tephritidae) Türlerinde Spermateka Yapılarının Elektron Mikroskopi İle İncelenmesi. 23. Ulusal Biyoloji Kongresi, 3-7 Eylül, 2012, İzmir.

5. Görmez V, Yaran M, **Avşar R**, Işık M, Kütük M. Kahramanmaraş İli Urophora Rob-Des (Diptera: Tephritidae) Sistematığı, Faunası ve Ekolojisi. Ekoloji 2012 Sempozyumu, 3-5 Mayıs 2012, Kilis, (P-182).

### **Projeler**

1. Kolorektal Kanserli Dokularda miRNA Ekspresyon Seviyelerinin Belirlenmesi (Doktora Tezi Proje No: FEF. DT. 19. 29) (**Araştırmacı**).

2. Kolorektal Kanserli Dokularda miR-639 ve miR-641 İfade Düzeylerinin İncelenmesi (Alt Yapı Proje No: FEF. ALT. 19. 28) (**Araştırmacı**).

3. Kolorektal Kanserli Hastaların Tümörlü ve Sağlıklı Dokularında miR-379 ve miR-519a'nın Ekspresyon Seviyelerinin Belirlenmesi (BAB Proje No: FEF. YLT. 20. 17) (**Araştırmacı**).

4. Aksaray, Kırşehir, Mersin, Nevşehir ve Niğde İllerinde Meyve Sinekleri (Diptera: Tephritidae) Faunası ve Sistematığı Üzerine Araştırmalar. (BAB Proje No: FEF. YLT. 12. 11) (**Araştırmacı**).

### **Yazılan uluslararası kitaplar veya kitaplarda bölümler**

1. **Avsar R.** (2023) İnsan Embriyolarında Genom Düzenleme Araştırmalarıyla İlgili Etik Sorunlar. Editör Hüsnu Ümit LÜLEYAP. Güncel Tıbbi Biyoloji ve Genetik Çalışmaları IV. Akademisyen Yayınevi. Ankara. 2023. (83-91).