

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

miR-142-3p'NİN EKSPRESYON DÜZEYİNİN OVER
KANSERLİ HASTALARIN PERİFERİK DOLAŞIMINDA
ARAŞTIRILMASI

YASEMİN GİDER

DANIŞMAN
PROF. DR. HÜLYA YAZICI

TEMEL ONKOLOJİ ANABİLİM DALI
KANSER GENETİĞİ PROGRAMI

İSTANBUL-2020

BEYAN

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

YASEMİN GİDER



İTHAF

Sevgili aileme ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Akademik hayata başlamamda ve tez çalışmamın her aşamasında bana yön veren, yüksek lisans eğitimimde bana çok büyük katkısı olan, değerli danışman hocam Prof. Dr. Hülya YAZICI'ya,

İ.Ü.Onkoloji Enstitüsü Müdürü Prof. Dr. Ahmet KİZİR'a,

Temel Onkoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Hatice BİLGE BECERİR'e

Temel Onkoloji ABD, Kanser Genetiği Bilim dalında görev yapan, özellikle Dr. Demet AKDENİZ ÖDEMİŐ, Dr. Őeref Buğra TUNÇER, Dr. Özge ŐÜKRÜOęLU ERDOğAN ve tüm çalışma arkadaşlarıma,

Tez sağlıklı örneklerini toplamada ve deney aşamasında yardımlarını esirgemeyen çok değerli arkadaşlarım Xariqe JABBARLI, Gamze UYAROğLU, Büşra KURT ve Arash Adamnejad GHAFOR'a,

Beni her zaman destekleyen, maddi manevi yanımda olan annem Nurten GİDER, babam Mustafa GİDER, ablalarım Ayşe GİDER, Asya Nilgün GİDER ve Aysun ÇALIŐKAN'a çok teşekkür ederim.

Bu alışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.

Proje No: 34784

İÇİNDEKİLER

BEYAN.....	ii
İTHAF.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
İÇİNDEKİLER	v
TABLolar LİSTESİ.....	vii
ŞEKİLLER LİSTESİ	ix
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	x
ÖZET	xii
ABSTRACT.....	xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Overin Embriyolojisi ve Anatomik Yapısı	3
2.1.1. Overin Histolojik Yapısı	4
2.2. OVER KANSERİ	5
2.2.1. Over Karsinogenezi ve Heterojenite	5
2.2.2. Over Kanserinde Epidemiyoloji ve Etiyoloji	7
2.2.2.1. Epidemiyoloji	7
2.2.2.2. Etiyoloji.....	8
2.2.3. Over Kanserinde Histopatoloji ve Sınıflandırma.....	9
2.2.4. Tanı	13
2.2.5. Tedavi.....	14
2.3. mikroRNA.....	15
2.3.1. MikroRNA’larda Fonksiyon ve Biyogenez	16
2.3.2. Kanserde miRNA’lar	17
2.3.3. miR142-3p	19
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	21
3.1. Kitler ve Kimyasal Maddeler.....	21
3.2. Cihazlar	22
3.3. Tampon Çözeltiler ve Bilgisayar Programları	22
3.4. Yöntemler	24

3.4.1. Kandan Lenfosit İzolasyonu	24
3.4.2. RNA İzolasyonu.....	25
3.4.2.1. Agaroz Jelin Hazırlanması ve Örneklerin Yüklenmesi.....	26
3.4.2.2. NanoDrop 2000 Spektrofotometre ile RNA Konsantrasyon Analizi.....	27
3.4.3. Komplementer DNA(cDNA) Sentezi	27
3.4.4. qRT-PCR Reaksiyonu.....	28
3.4.5. Biyoistatistiksel Analiz	29
4. BULGULAR.....	30
4.1. Gerçek-Zamanlı PZR Çoğalma ve Erime Eğrileri.....	31
4.2. miR-142-3p'nin Ekspresyon Analiz Sonuçlarının Değerlendirilmesi.....	32
4.3. miR-142-3p Ekspresyon Seviyesinin Tanıya Göre Değerlendirilmesi.....	48
4.4. miR-142-3p Ekspresyon Düzeyi ve Klinik Bilgiler arasındaki ilişki	49
4.5. miR-142-3p Ekspresyon Seviyesinin Aile Hikayesi ile Karşılaştırılması	55
4.6. ROC Analizi.....	56
4.7. Sağkalım Analizi.....	57
4.8. String Analizi	58
5. TARTIŞMA	60
KAYNAKLAR	64
HAM VERİLER	69
FORMLAR	70
ETİK KURUL KARARI	73
PATENT HAKKI İZİNİ	76
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	77
ÖZGEÇMİŞ	78

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: Over kanser riskini artıran faktörler.....	9
Tablo 2-2: FIGO Over Kanseri Evrelemesi 01 Ocak 2014 [35].....	12
Tablo 2-3: Bazı miRNA'ların çeşitli kanserlerdeki regülasyonu [57]	18
Tablo 3-1: Kullanılan kimyasal maddeler ve kitler	21
Tablo 3-2: Deneyde kullanılan cihazlar.....	22
Tablo 3-3: Çözümler ve bilgisayar programları.....	23
Tablo 3-4: Over hasta ve kontrol örneklerinin isimlendirilmesi.....	24
Tablo 3-5: cDNA reaksiyon bileşenleri	28
Tablo 3-6: RT reaksiyon döngüsü	28
Tablo 3-7: qPCR reaksiyon bileşenleri (reaksiyon başına)	28
Tablo 3-8: real-time qPCR thermo-cycling protokolü.....	29
Tablo 4-1: Hastaların Klinik Bilgileri.....	30
Tablo 4-2: Sağlıklı kontrollere ait bilgiler	31
Tablo 4-3: Hastalara ait $2^{-\Delta\Delta Ct}$ değerleri	32
Tablo 4-4: Normallik Dağılım Testi	34
Tablo 4-5: Hasta ve kontrol grupları arasında miR-142-3p gen ifade düzeyinin istatistiksel değeri	48
Tablo 4-6: miR-142-3p ekspresyon seviyesinin over kanseri ve over kanserine ilave tanıya sahip hastalardaki dağılımı.....	48
Tablo 4-7: miR-142-3p gen ekspresyon seviyesi ve tanı arasındaki istatistiksel ilişki ..	48
Tablo 4-8: Hasta miRNA gen ifade düzeyinin tanı yaşı ile karşılaştırılması	49
Tablo 4-9: Hasta miRNA gen ifade düzeyinin metastaz durumu ile karşılaştırılması ...	49
Tablo 4-10: Hasta miRNA gen ifade düzeyinin klinik evre ile karşılaştırılması.....	50
Tablo 4-11: Hasta miRNA gen ifade düzeyinin tümör boyutu ile karşılaştırılması	50
Tablo 4-12: Hasta miRNA gen ifade düzeyinin ailede toplam kanser sayısı ile karşılaştırılması.....	51
Tablo 4-13: Hasta miRNA gen ifade düzeyinin ailede meme-over kanseri sayısı ile karşılaştırılması.....	51
Tablo 4-14: Hasta miRNA gen ifade düzeyinin gebelik durumu ile karşılaştırılması....	52
Tablo 4-15: Hasta miRNA gen ifade düzeyinin menopoza durumu ile karşılaştırılması.52	52

Tablo 4-16: Hasta miRNA gen ifade düzeyinin oral kontraseptif kullanımı ile karşılaştırılması.....	52
Tablo 4-17: Hasta miRNA gen ifade düzeyinin infertilite tedavisi ile karşılaştırılması	53
Tablo 4-18: miR142-3p'nin ekspresyon düzeyi ile hastaların klinik özelliklerinin karşılaştırılması.....	53
Tablo 4-19: miR-142-3p ekspresyon seviyesinin over histolojik alt tipine göre dağılımı	55
Tablo 4-20: Aile bulunan kanser vakalarına göre miR-142-3p ekspresyon durumu.....	56
Tablo 4-21: Ailede bulunan kanser vakalarının istatistiksel olarak değerlendirilmesi...	56
Tablo 4-22: Over kanserli hasta ve sağlıklı grubun ayrılmasında miR-142-3p'nin ROC-AUC değeri ve güven aralığı	57
Tablo 4-23: Sağkalım süresi ile miR-142-3p ekspresyon düzeyi arasındaki korelasyonunun değerlendirilmesi.....	57

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Overlerin anatomik yapısı [13]	4
Şekil 2-2: Overin histolojik yapısı [14]	5
Şekil 2-3: Dünya’da over kanser insidansı ve mortalite oranları [27]	8
Şekil 2-4: Over kanserinde sınıflandırma [17]	10
Şekil 2-5: Epitelyal over kanseri alt tipleri ve ilişkili mutasyonlar	11
Şekil 2-6: Revize FIGO Evreleme Sistemi ve Görüntüleme Rolü [36]	12
Şekil 2-7: miRNA Biyogenezi [47]	17
Şekil 2-8: miR-142-3p Baz Dizisi [74]	20
Şekil 4-1: Over kanserli hasta ve sağlıklı kontrollerde incelenen miR-142-3p'nin gerçek zamanlı PZR eğrisi	32
Şekil 4-2: Over kanserli hasta ve sağlıklı kontrollerde incelenen miR-142-3p'nin erime eğrisi	32
Şekil 4-3: miR-142-3p geni ekspresyon düzeyinin hasta ve sağlıklı kontrol grubunda karşılaştırılması	34
Şekil 4-4: mir-142-3p ekspresyon düzeyinin ROC Eğri Analizi	56
Şekil 4-5: Over kanserli hastaların sağkalım süresinin grafiği	58
Şekil 4-6: mir-142-3p'nin Protein Etkileşimini Gösteren String Analizi	59

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

- AGO2: Argonaute RISC Catalytic Component 2
- AML: Akut Miyeloid Lösemi
- ARNTL: Aryl Hydrocarbon Receptor Nuclear Translocator Like
- BFB: Brom Fenol Mavisi
- BRCA1: Breast Cancer 1
- BRCA2: Breast Cancer 2
- CA125: Kanser Antijen-125
- CDK: Cyclin Dependent Kinase
- CDKN2A: Cyclin Dependent Kinase Inhibitor 2A
- cDNA: Tamamlayıcı DNA
- Ct: Eşik döngüsü
- DGCR8: DiGeorge Syndrome Critical Region 8 Protein
- DNA: Deoksiribonükleik Asit
- EDTA: Etilendiamin tetraasetik asit
- ERBB2: Erb-B2 Receptor Tyrosine Kinase 2
- EtBr: Etidyum Bromür
- FC: Fold Change
- FIGO: International Federation of Gynecology and Obstetrics
- g: gram
- HE4: Human Epididimis Protein 4
- HGSC: Yüksek Dereceli Seröz Karsinom
- kDa: Kilo Dalton
- KRAS: Kirsten-rous avian sarcoma
- LGSC: Düşük Dereceli Seröz Karsinom
- miRNA: mikroRNA
- mL: Mililitre
- MMR: DNA mismatch repair

mRNA: Mesajcı RNA
NF1: Nörofibromatozis tip 1
ng: nanogram
NGS: Next Generation Sequencing
NOTCH3: Neurogenic locus notch homolog protein 3
OD: Optical Density
Ort.: Ortalama
P21: The cyclin-dependent kinase inhibitor
p53: Tumor protein 53
PBS: Fosfat Tamponu
PCOS: Polycystic Ovary Syndrome
PCR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
pre-miRNA: Prekürsör miRNA
pri-miRNA: Primer miRNA
PTEN: Phosphatase and tensin homolog
RB: Retinoblastoma
RISC: RNA indüklenmiş susturma kompleksi
RNA: Ribonükleik Asit
ROC: Receiver Operator Characteristic
ROC-AUC: ROC Eğrisi Altında Kalan Alan
ROMA: Risk of Ovarian Malignancy Algorithm
RPM: Dakikada Devir Sayısı
TBE: Tris/Borate/EDTA
TEB: Tris EDTA Borik Asit Tamponu
TGFBR2: Transforming Growth Factor Beta Receptor II
TP53: Tümör Protein 53
WHO: Dünya Sağlık Örgütü
XPO5: Exportin 5
 μ L: Mikrolitre
%95 CI: %95 Confidence Interval-Güven Aralığı

ÖZET

Gider Y. miR142-3p'nin Ekspresyon Düzeyinin Over Kanserli Hastaların Periferik Dolaşımında Araştırılması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Temel Onkoloji ABD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul. (2020).

Kadınlarda en sık görülen kanserler meme, tiroid, kolorektal, uterus korpus, akciğer ve over kanseri şeklinde sıralanmaktadır. Over kanseri, dünya genelinde yılda 150.000'den fazla ölüme sebep olmaktadır. Bu kanserin, geç evrede kendini göstermesi ve kötü prognoz ile karakterize olan bir hastalık olması vakaların büyük çoğunluğunun ölümlerine sonuçlanmasına neden olmaktadır. Over kanserinin tanı ve tedavisinde hedef, ölüm sayısının azaltılması ve yaşam kalitesinin artırılmasıdır. mikroRNA'lar hedef genler üzerinde süpresör etki gösteren, 19-24 nükleotit uzunluğunda kodlanmayan RNA'lardır. miRNA'lar, kanser dahil birçok hastalığın patolojisinde rol almaktadır. miRNA'ların tanıda biyobelirteç adayı olması ve tedavide miRNA'yı taklit eden moleküllerin inhibitörler olarak kullanılması onların yeni terapötik hedef ve ajan olarak kullanılabilirler olduğunu göstermektedir.

Grubumuzda daha önceden miRNA ile ilgili yapılan öncül araştırmada over kanserinin tanısı ve takibinde kullanılacak 99 aday miRNA varlığı saptanmıştır. Sunulan tez çalışmasında bu miRNA'lar arasından miR-142-3p'nin ekspresyon düzeyi daha büyük bir over kanser hasta grubu ile kontrol grubunda karşılaştırmalı olarak incelendi. 147 hasta ve 100 sağlıklı kontrol grubunu kapsayan çalışmada miR-142-3p ekspresyon düzeyi Real-Time PCR yöntemi kullanılarak belirlendi. Over kanserli hasta ve sağlıklı kontroller grubunun periferik kan lenfositlerinde saptanan miR-142-3p'nin ekspresyon düzeyleri arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak değerlendirildi. Over kanser hastalarında miR-142-3p ekspresyon düzeyinin sağlıklı kontrollere göre 2 kattan fazla arttığı saptandı ve bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ($p=0,00$). Bu sonuçlar, over kanser hastalarının periferik kanında sağlıklı kontrollere göre anlamlı derecede yüksek bulunan miR-142-3p'nin over kanserinin erken tanısında hassas, non-invaziv bir biyobelirteç olabileceği düşündürmekle beraber overin benign hastalıklarında da ilgili molekülün araştırılması ve değerlendirilmesi için ileri araştırmalara gereksinim duyulmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Over kanseri, miR-142-3p ekspresyonu, biyobelirteç.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 34784

ABSTRACT

Gider Y. Investigation of the Expression Level of miR142-3p in Peripheral Circulation of Patients with Ovarian Cancer. İstanbul University, Institute of Health Science, Department of Basic Oncology. Master Thesis. İstanbul. (2020).

The most common cancers in women are breast, thyroid, colorectal, uterine corpus, lung and ovarian cancer. Ovarian cancer causes more than 150,000 deaths annually worldwide. The fact that this cancer manifests itself in the late stage and is a disease characterized by poor prognosis causes the vast majority of cases to result in death. The target of diagnosis and treatment of ovarian cancer is to reduce the number of deaths and to increase the quality of life. microRNAs are RNAs that do not encode 19-24 nucleotides in length, de-repressing the target gene translation. miRNAs play a role in the pathology of many diseases, including cancer. In the preliminary study on miRNA in our group, 99 candidate miRNAs were found to be used in the diagnosis and follow-up of ovarian cancer. In the presented thesis study, the expression level of miR-142-3p among these miRNAs was examined comparatively with a larger ovarian cancer patient group and control group. In the study, which includes 147 patients and 100 healthy control groups, the expression level of miR-142-3p was determined using the Real-Time PCR method. Differences between the expression levels of miR-142-3p detected in peripheral blood lymphocytes of ovarian cancer patients and healthy controls were statistically evaluated. It was found that miR-142-3p expression level increased more than 2 times in ovarian cancer patients compared to healthy controls, and this difference was found to be statistically significant ($p = 0.00$). As a result suggest that miR-142-3p may be a sensitive, non-invasive biomarker in the early diagnosis of ovarian cancer, but further research is needed to investigate and evaluate the related molecule in ovarian benign diseases.

Key Words: Ovarian cancer, miR-142-3p expression, biomarker.

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University. Project No. 34784

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Dünya çapında önemli bir halk sağlığı sorunu olan kanser, dünyadaki her bölgede ve tüm ülkelerde, morbidite ve mortalitenin önemli bir nedenidir. Kanser insidansını azaltmada ilk stratejik adım kanserden korunma yönünde yöntemler geliştirmektir. Over kanseri kadınlar arasında, rahim ağzı ve korpus uteri kanserinden sonra üçüncü sırada yer alan jinekolojik kanserlerden biridir. Yumurtalık kanseri, dünyada kadınlar arasında mortalite insidansına göre sıralandığında ikinci sırada yer alan ve en kötü prognoza sahip bir kanser türüdür [1].

Over kanseri için en önemli prognostik faktörlerden biri tanı sırasındaki evredir. Yüksek mortalite oranı over kanserin sessiz gelişimine ve zor görüntülenmesi ile ilişkilidir. Tümörün asemptomatik olması nedeniyle, tanı koyulan kadınların %75'i ileri evrededir. 5 yıllık sağkalım erken evre hastalığı olan kadınların %70'inden fazlasında mümkünken, ileri evre hastalığı olan kadınlarda bu oran %30'a düşmektedir [2] [3]. Hastaların çoğunluğu karın şişkinliği, pelvik ağrı, hazımsızlık, idrar yolu sorunları, kabızlık, mide bulantısı ve kusma gibi belirtiler göstermektedir. Over kanserinin semptomları gastrointestinal hastalıkların belirtileriyle örtüşmektedir, bu nedenle hastalar jinekologlara yönlendirilmemektedir. Ayrıca kadınlardaki adet düzensizliği, yorgunluk ve menopoz belirtileri yaşlanmayla ilişkili olduğu düşünüldüğü için de gözardı edilmektedir. Bu belirtilerin ihmal edilmesi ise tanıda gecikmeye neden olmaktadır [3-5].

Over kanserli hastaların için çeşitli güncel tedavi seçenekleri bulunmaktadır. Bu tedavi seçenekleri neoadjuvan kemoterapi, haftalık kemoterapi, intraperitoneal kemoterapi ve cerrahi rezeksiyon sayılabilir ve bu tedavi metotlarının herbiri sürekli güncellenmektedir. Fakat her hasta, kanser alt tipine bağlı olarak hücrel ve moleküler çeşitliliğe sahiptir. Örneğin, müsinöz tümörler *KRAS* mutasyonları, yüksek dereceli seröz tümörler *BRCA1/2* mutasyonları içerir [6]. Bundan başka son yıllarda farklı kanser türlerinde farklı miRNA'larında farklılıklar gösterdiği bildirilmiştir [6]. Günümüzde tüm tedaviler hastaların klinik özelliklerinin yanısıra ve kişisel genetik özellikleri göz önünde bulundurularak tasarlanmaktadır.

MikroRNA'lar (miRNA'lar), transkripsiyon sonrası gen ekspresyonunun düzenlenmesinde kritik bir rol oynayan, uzunluğu 19-24 nükleotit arasında değişen

küçük kodlanmayan bir RNA türüdür. Birçok çalışmada miRNA'ların proliferasyon, farklılaşma, göç, apoptoz, metabolizma ve stres yanıtı gibi kritik hücrel süreçlerin düzenlenmesinde önemli rol oynadığı gösterilmiştir. miRNA'ların, hastalıkların patogenezinde, özellikle kanserde, kilit düzenleyiciler olarak görev yaptıkları bilinmektedir [7]. Tümör baskılayıcı miRNA'lar, hücre farklılaşmasını veya apoptozu kontrol eden ve böylece tümör gelişimini önleyen onkojenleri ve/veya genleri negatif olarak inhibe eder. miRNA'lar kanserde prognostik biyobelirteçler ve terapötik hedefler için aday moleküllerdir. miRNA'ların ve hedef moleküllerinin belirlenmesi ile kanser gelişimi ve metastazında yeni terapötik hedef ve ajanların geliştirilmesi mümkündür [8].

Hızlı ve doğru teşhis, kanserin iyileşme şansının fazla olduğu erken evrelerde yapıldığı zaman kanser hastalığı ile mücadelede işe yararmaktadır. Bu nedenle over kanseri gibi ileri evrelerde semptom veren hastalıklarda hastalığın erken evrede yakalanması tedavi protokollerinin değişmesini ve sağkalımı etkilemektedir. Şu an için over kanseri için etkili bir tarama testi yoktur, bu nedenle erken tanı için temel beklenti asemptomatik olan kanserin daha iyi tanımlanmasıdır [5].

Over kanserinin erken teşhisinde, tedavinin seçiminde ve tedavinin izlenmesinde hastalığa özgü ve hassas biyobelirteçlere ihtiyaç vardır. İstanbul Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü, Kanser Genetiği Bilim dalında daha önce yapılan tez projesinde (Proje No: TDK-2016-20140) over kanserinin etiyojisinde önemli olabileceği belirlenen 99 aday miRNA saptanmıştır. Araştırılacak olan miR142-3p bu miRNA adayları arasından seçilmiştir. Önerilen tez çalışmasında, 150 sporadik ve ailesel over kanser vakası ile hasta grubu ile yaş, cinsiyet ve etnik köken olarak eşleştirilmiş 100 sağlıklı kişilerin oluşan kontrol grubunda miR142-3p molekülünün ekspresyon düzeyinin non-invaziv biyolojik belirteç niteliği taşıyıp taşımadığı araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

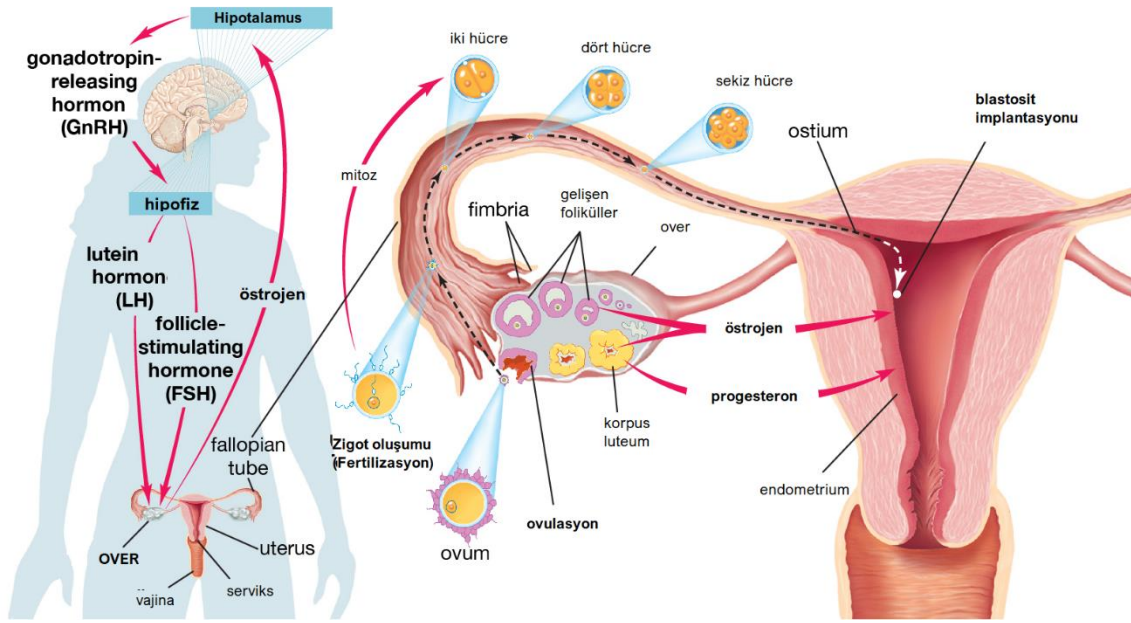
2.1. Overin Embriyolojisi ve Anatomik Yapısı

Overler, kadın üreme sisteminin önemli ve ana organlarıdır. Üç ana işlevi yerine getirmekle görevlidirler. Bu görevlerden birincisi, başlıca östrojen ve progesteron hormonları ile minor hormonlar olan relaksin ve inhibin hormonlarını üretmek, ikincisi yenidoğanda var olan yumurtaları barındırmak ve korumak, üçüncüsü ise olası fertilizasyon için ovulasyonu bir başka deyişle yumurta salınması olayı ile birlikte ürettiği hormonlarla rahmi gebeliğe hazırlamaktır. Başlangıçta kadın ve erkek gonadları herhangi bir farklılık göstermemektedir. Fakat zamanla XX kromozomuna sahip olan kadınlarda 1.kromozomdaki *wnt-4* geni ve X kromozomundaki *dax-1* geninin etkisiyle yumurtalıkların gelişim evresi başlamaktadır [9, 10].

Overler embriyolojik aşamada gonadal sırt (genital ridge), koelemik epitelyum (mezoderm) ve primordial germ hücreleri (endoderm) olmak üzere üç kaynaktan meydana gelmektedir. Gonadal sırt, bağ dokusunun, kapsülün (tunica albugenia) ve over stromasının kaynaklandığı bölümdür. Mezoderm, folikül hücrelerini oluşturmaktadır. Ara mezodermden meydana gelen overler, yüzey boyunca bir germinal epitel tabakasına sahip medullaya farklılaşmaktadırlar. Endoderm, olgunlaşmamış ova hücrelerini (oogonia) üretmektedir. Bu hücreler, hindguta (arka bağırsak) ve daha sonra gelişimin 4. haftasında oluşan gonadal sırtına göç etmektedir. Gonadal sırttaki migrasyonun sonunda, oogonia, bir bağ doku tabakası içinde olgunlaşmaya devam etmektedir. Bu aşamaların tümü, ilkel over foliküllerinin temelini oluşturmaktadır. Yumurtalıklar olgunlaştıkça aşağı kısma iner, ancak erkeklerin aksine, karın bölgesinde sona erer (Şekil 2-1). Yumurtalıklar, mezoderm şeridi olan gubernaculum'a bağlanmaktadır. Gubernaculumun diğer yönü, yumurtalıkların aşağı inmesini önleyerek uterusu bağlamaktadır. Uygun hale gelen over ligamenti, gubernaculumun kalıntılarından ortaya çıkmaktadır [11].

Overler, ovaryan fossa denen boşlukta fallop tüplerine yakın bir şekilde broad ligamente eklenmiş olan uterusun her iki yanında lokalize olan iki nodüler cisimdir. Overleri geniş ligamentlere bağlayan peritonun bir uzantısı olan mezovaryum tarafından desteklenmektedir. Mezovaryum overleri desteklemenin yanı sıra arteriyel ve venöz

damarlarla, lenfatik damarları ve sinirleri de barındırmaktadır. Overler, yaşa bağlı olarak indüklenen görsel değişimler de geçirmektedirler. Yenidoğanda over, pembemsi renkte 0,3 gr ağırlığında, 1,5 cm boyutundadır; yetişkin overi, 4-7 gr ağırlığında, 3,5 cm boyutundadır ve menopoza dönemine girdikten sonra atrofik hale geçerek tekrar küçülmektedir. Overlerde yaygın olan asimetrik yapıya göre, sağ over sol overden daha büyük olmaktadır [12].

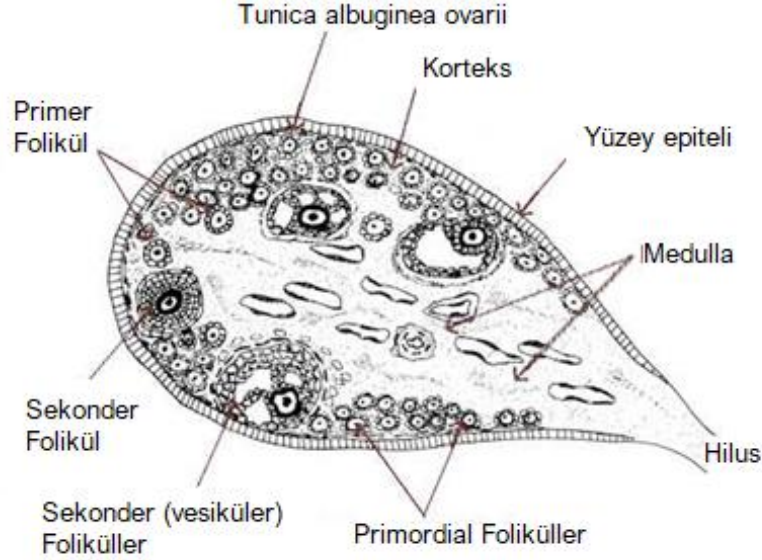


Şekil 2-1: Overlerin anatomik yapısı [13]

2.1.1. Overin Histolojik Yapısı

Over yüzeyi yaşla birlikte skuamözden küboidal değişen basit bir epitel olan yüzey epitelyumu ile kaplıdır. Bu yüzey epitelinin hemen altında yoğun bir bağ dokusu kılıfı, tunika albuginea ovarii bulunmaktadır. Overler, dış korteksten ve iç medulladan oluşmaktadır. Korteksi, yumurtalık folikülleri, interstisyel bez hücreleri ve stromal elementleri oluşturmaktadır. Kortekste bulunan yumurtalık folikülleri farklı gelişim aşamalarındadır. En erginden olguna doğru primordial, primer, sekonder, sekonder veziküler ve olgun şeklinde sıralanmaktadır. Korteks, foliküler gelişimin herhangi bir aşamasında ortaya çıkabilecek atretik foliküller adı verilen dejenere folikül kalıntılarını da içermektedir. Korteks, aynı zamanda östrojen salgılayan interstisyel bez hücrelerini de içermektedir. Medulla, çok sayıda elastik ve retiküler lif, büyük kan damarları, sinirler ve lenfatikleri içeren gevşek areolar bağ dokusundan oluşmaktadır. Overin kan

damarları, lenfatik damarlar ve sinirler ile desteklendiği bölge de hilus olarak adlandırılmaktadır (Şekil 2-2) [14].



Şekil 2-2: Overin histolojik yapısı [14]

2.2. OVER KANSERİ

2.2.1. Over Karsinogenezi ve Heterojenite

Over karsinomu, jinekolojik maligniteler arasında en yüksek vakaya ve fataliteye sahip kanserdir. Over kanseri olan kadınların genel sağkalımı, 50 yıldır değişmemekte ve son 20 yılda yapılan tarama çalışmaları, sağkalımda fayda sağlayamadığını göstermektedir. Over kanserinin gelişim aşamalarının ve moleküler mekanizmalarının eksikliklerinin tamamlanması ile, uygun tanı ve tedavi yöntemleri geliştirilmektedir. Yüksek mortalite oranı, kanserin patogenezinin tam bilinmemesiyle birlikte, tanı koyulduğunda kanserin son evreye ulaşmış olmasına dayanmaktadır. Over kanseri, orjin hücre, patolojik derece, risk faktörleri, prognoz ve tedavi ile farklılaşan heterojen bir malignite grubunu kapsamaktadır [15-17]. Over kanserinin patogenezinin aydınlatılmasındaki ana problem, bunun tek bir hastalık olmadığı, aslında heterojen olarak geniş çapta farklı klinikopatolojik özelliklere ve davranışlara sahip farklı tipte tümörlerden oluşuyor olmasıdır [18, 19]. Over kanserleri, hastalık ilerledikçe çeşitli formlarda değişebilen tümörlerdir. 14 hastada yapılan bir çalışmada, tümörlerin çoğunun metastazdan metastaza klonal genişleme geçirdiğini göstermiştir ve bu da anatomik yayılma boyunca sürekli evrim geçirdiğini kanıtlamıştır. Ayrıca, neoadjuvan kemoterapiden sonra primer

tümör örnekleri ve tümörler arasında sınırlı klonal genişleme olmaktadır. Bilateral over kanserli ve nüklü vakalara göre, tanı sırasında mevcut olan bir alt klondan belirgin bir klonal genişleme görülmüştür. Bu heterojeniteye göre hem kopya sayısı değişiklikleri hem de mutasyonlar oldukça heterojendir ve birbirinden bağımsızdır. Bugüne kadar yapılan çalışmalar, yüksek dereceli seröz kanserlerinin (HGSC) moleküler olarak çeşitli ve sürekli geliştiğini ve geniş subklonal yapıya sahip olduklarını göstermektedir [20]. 200 yıl öncesinden bu zamana kadar over patogenezi dair ve her bir modelin bir öncekinin güncel halini yansıttığı çeşitli modeller önerilmiştir. Klinik, patolojik ve moleküler genetik çalışmalara dayanan over kanserinin patogenezi için önerilen yeni modele göre, over tümörleri Tip I ve Tip II olarak iki geniş gruba ayrılmaktadır. Tip I tümörler prekürsör lezyonlardan oluşur ve özellikle border-line denem yumurtalık sınırını aşmayan tümörlerden meydana gelmektedir. Sürekli yumurtlama teorisine göre hücreler mutasyona uğrar ve önce kist, ardından kanserleşme gerçekleşmektedir. Tümör kitlesi, sinyal yollarını bozan genlerdeki mutasyonlarla ilişkilidir ve genetik olarak karardır. Bu moleküler değişiklikler bir takım morfolojik değişikliklerle sonuçlanır. Önce benign durumdan sınırlı tümörü oluşturur ve daha sonra sırasıyla non-invaziv ve invaziv düşük dereceli karsinoma doğru adım adım ilerler. Tip I tümörlerin aksine, Tip II tümörler, iyi tanımlanmış öncü lezyonların tanımlanmadığı, hızla büyüyen, oldukça agresif neoplazmlardır. “Over kanseri” olarak kabul edilenlerin büyük çoğunluğu Tip II kategorisine girmektedir. Tip II tümör grubu tüm yumurtalık kanserlerinin yaklaşık %75'ini ve ölümlerin büyük çoğunluğunu oluşturmaktadır. Prekürsör lezyonlar tanımlanmadığından, de novo olarak ortaya çıktığı düşünülmektedir. Genetik olarak kararsızdır ve Tip I'deki mutasyonlara rastlanmamaktadır, çoğunlukla mutant *p53* genini içermektedirler. Bu tümörler, hızlıca ekstra-ovaryan bölgelere yayılırlar, önemli bir kısmı ise periton ve fallop tüpünde gelişmektedir. Başlangıcında bile nadiren yumurtalıkla sınırlıdır. Bu nedenle yüksek dereceli seröz karsinomda en önemli olay; hastalığı düşük evrede değil, düşük hacimde saptamaktır [19, 21].

Tip I over karsinomunu tespit etmeyi amaçlayan mevcut tarama yöntemlerinin, over kanserinin heterojen özelliğinden ötürü, Tip II tümörlerde yarar sağlamamaktadır. Farklı over kanseri türlerinin patogenezinin bilinmesi, potansiyel olarak hedefe yönelik tedaviler için terapötik müdahalelere izin verir. Erken teşhis ve tedavi yaklaşımlarını özelleştirmek için bunlar karakterize edilmelidir [21].

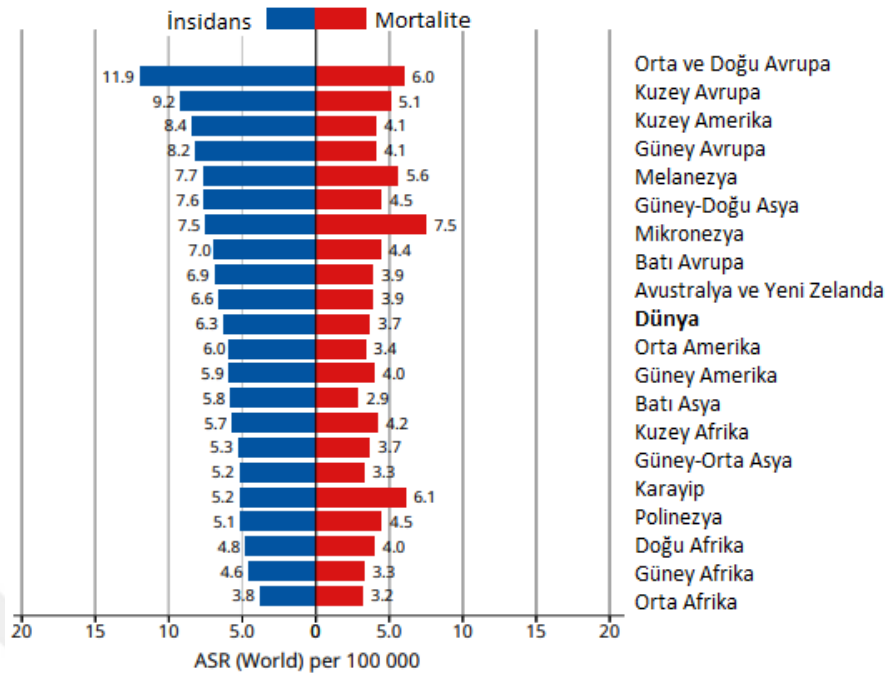
2.2.2. Over Kanserinde Epidemiyoloji ve Etiyoloji

2.2.2.1. Epidemiyoloji

Over kanseri mortalite oranı yüksek olan kanserler arasında bulunmaktadır. Kadınlarda en sık görülen kanserler arasında 7. sırada, jinekolojik kanserler arasında 2. sırada yer alır. Yumurtalık kanseri ağırlıklı olarak 50 yaşın üzerindeki, menopoz sonrası kadınları etkilemektedir. Her yıl dünya genelinde yaklaşık 200.000 kadın over kanseri tanısı alır ve yaklaşık 100.000 kadının hayatı sona ermektedir. 2018 yılında dünya çapında 295.414 yeni vakadan ve 184.799 ölümden sorumludur, Türkiye’de ise 3.729 vaka ve 2.191 ölümden sorumludur. Over kanseri insidansı tüm dünyada birçok kanserde olduğu gibi değişiklik göstermektedir (Şekil 2-3). Over kanserinin her ülkede insidansının farklı olması, over kanserinin oluşumunda rol oynayan risk faktörlerine bağlanmaktadır [22]. İnsidans oranı bölgelere göre sıralandığında over kanserinin Avrupa ve Kuzey Amerika ülkelerinde en yüksek sayıya ulaştığı gözlenmektedir. Vakaların yaklaşık üçte ikilik kısmını gelişmiş ülkeler üstlenmektedir. Afrika ise en düşük insidans oranının görülmesinin yanında en yüksek ölüm oranına sahiptir. Bu oran, geç tanı ve kompleks tedaviye ulaşım zorluğu ile açıklanmaktadır. Afrika kökenli kadınlar en yüksek mortalite/insidans oranına (0.71), ardından İspanyol asıllı olmayan Beyaz (0.66), İspanyol (0.55) ve Asyalı (0.5) kadınlar gelmektedir [23, 24]. Over kanserinde mortalite, 1976 yılından (100.000’de 10.0) 2018 yılına (100.000’de 6.6) tanı-tedavideki iyileşmeler sayesinde % 34 oranında düşmüştür [25].

Yumurtalık kanserlerinin %90’ından fazlası epitelyal (seröz (% 52), endometrioid (% 10), müsin (% 6) veya berrak hücre (% 6)), %3’ü germ hücreli tümörler ve %2’si sex kord-stromal tümör kökenlidir. Epitelyal over kanserlerinin büyük çoğunluğu postmenopozal kadınlarda meydana gelirken, germ hücreli tümörler daha genç yaş dağılımında ortaya çıkmaktadır [26].

Germ hücreli tümörler, Asya ve Afrika popülasyonlarında over kanserlerinin %10-15’ini oluşturmaktadır. Germ hücreli tümörlerin oranları Hispaniklerde en yüksek ve Amerika / Alaska Yerlilerinde en düşüktür. Germ hücreli tümörlerin görülme sıklığı 1995’ten beri sabit kalırken, seks kordonu stromal tümörlerinin oranları 2004’ten 2014’e arası yıllık %2,3’lük artış göstermiştir. Bu artışın gerçek nedenleri, risk faktörlerinin tamamının ne olduğu bilinmediği için ortaya koyulamamıştır [24].



Şekil 2-3: Dünya’da over kanser insidansı ve mortalite oranları [27]

2.2.2.2. Etiyoloji

Dünyada kadınlarda kanser nedenli ölümlerin önemli bir kısmını kapsayan over kanserinde insidans ve mortalite oranı ülkeden ülkeye değişmektedir. Bu değişikliğin nedenleri istatistiksel çalışmalar yoluyla araştırılmaktadır. Yapılan bir dizi epidemiyolojik çalışma genetik, çevresel ve yaşam stili gibi çeşitli faktörler değerlendirildiğinde over kanser gelişiminde birden fazla eksojen ve endojen risk faktörünün olduğu tanımlanmıştır [28, 29]. Bu riski artıran faktörler beyaz ırk, fazla kilolu ve uzun boylu olmak, >50 yaş olmak, infertil olmak, infertilite tedavisi görmüş olmak, fazla yağlı ve lifsiz beslenme stili ve sigara içme alışkanlığı, over kisti varlığı, genetik yatkınlık, hormon replasman tedavi geçmişi, talk pudra kullanımı ve sosyo-ekonomik durum şeklinde sıralanmaktadır. Doğum kontrol ilaçları, tüp ligasyonu ve emzirme ise riski azaltan faktörler arasında yer almaktadır (Tablo 2-1) [28, 30].

Tablo 2-1: Over kanser riskini artıran faktörler**Genetik Yatkınlık**

- BRCA1/2 mutasyonu varlığı
- Aile geçmişinde Over-Meme Ca Öyküsü
- Onarım genlerinde mutasyon
- Lynch Sendromu

Yaş

- 50-79 yaş aralığı

Beslenme Düzeni

- Fazla kafein
- Süt
- Yağlı diyet/Yüksek kolesterol
- Düşük lif

Demografik özellikler

- Japonya dışında sanayileşmiş bölgelerde yaşamak
- Beyaz ırk

Üreme Faktörleri

- Menarş-Menopoz aralığının uzun olması
- Hormon Replasman Tedavisi
- Endometriozis
- PCOS
- Çocuk sahibi olmamak ve laktasyon döneminin olmaması
- Erkek bebek, erken doğum, preeklampsi ve yüksek bebek ağırlığı

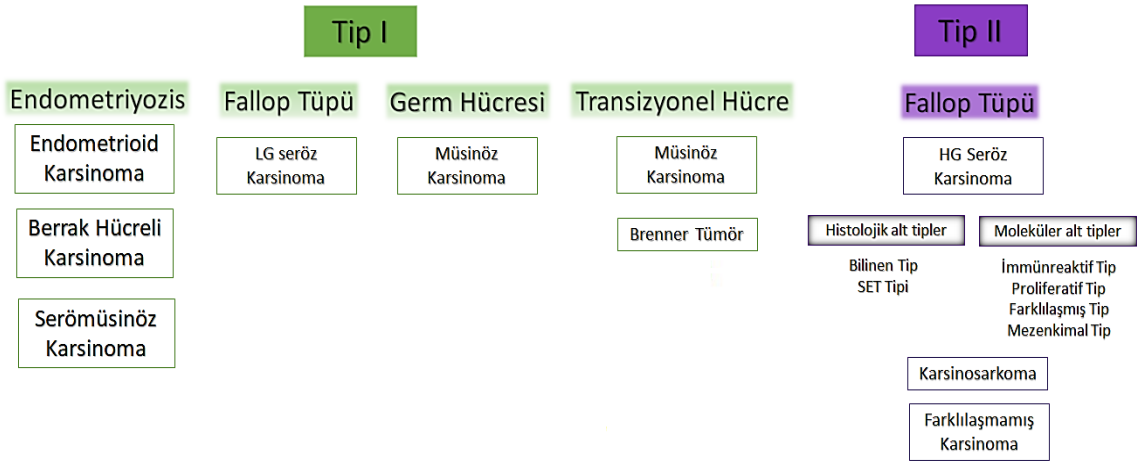
Maruziyet

- Asbest
- Talk pudrası
- Viral enfeksiyon
- Radyasyon

2.2.3. Over Kanserinde Histopatoloji ve Sınıflandırma

En doğru klinik tedavinin planlanma süreci, histolojik karakterizasyon ve evrelemenin rol aldığı over kanserinin sınıflandırılması yoluyla gerçekleşmektedir. Over patolojisi, diğer jinekolojik hastalıkların patolojilerine göre en karmaşık olandır [31]. Yıllardır çeşitli sınıflandırma sistemleri önerilmiş ve geliştirilmiştir. 1870’li yıllarda over kanseri tek bir hastalık olarak nitelendiriliyordu. Daha sonra, genomik bilgilerin keşfinden önce geniş çapta uygulanan bir sistem olan duolistik sınıflandırmaya göre “tip I ve tip II” kanserleri olarak gruplandırılmıştır. Ancak bu sınıflandırmaya göre beklenenin aksine tümörler, histolojik alt tiplerde bile homojen değildir. Tümörlerin

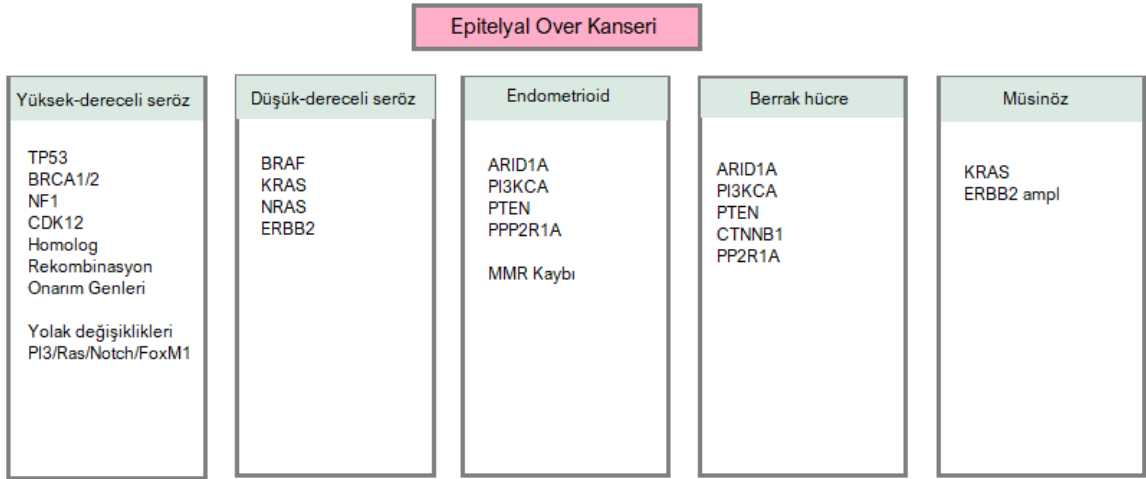
evrimi zamanla tanımlanarak moleküler değişiklikler saptanmıştır. Over kanserinin etiyolojik, histolojik, epidemiyolojik, klinik ve moleküler özellikler açısından oldukça heterojen bir hastalık olduğu gözlenmiştir ve bu heterojenite kadın üreme sisteminde bulunan epitel hücre tiplerine göre revize edilerek tekrar bir sınıflandırma önerilmiştir (Şekil 2-4) [32]. Kanser kökenine ve gelişimine dayanan bir çok moleküler ve histopatolojik çalışma sonuçlarının bildirilmesinin ardından, tümör sınıflaması artık morfoloji ve genetik ile bütünleşmektedir. Overler, germ hücreleri, özel gonadal stromal hücreler ve epitel hücreleri olmak üzere farklı hücre tiplerinden oluşmaktadır. Kanser, bu hücre tiplerinin herhangi birinden ortaya çıkmaktadır, tümörlerin yaklaşık %90'ı ileri yaşta ortaya çıkan epitelyal özelliktedir, % 2'den azı daha genç kadınlarda görülen germ hücreli tümörlerdir. Östrojen hormonunu üreten stromal hücre tümörleri, over kanserlerinin yaklaşık %1'ini oluşturur [33]. Son sınıflandırmaya göre over kanserleri, çoğunlukla düşük dereceli özellik gösteren tip I ve yüksek dereceli özellikte olan tip II kanserler olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Tip I tümörler, endometriyozis, fallop tüpü, germ hücresi ve geçiş hücresi kökenli tümörlerden oluşmaktadır. Tip II tümörler ise fallop tüpünden köken alan yüksek dereceli seröz, karsinosarkoma ve farklılaşmamış karsinomadan oluşmaktadır [17].



Şekil 2-4: Over kanserinde sınıflandırma [17]

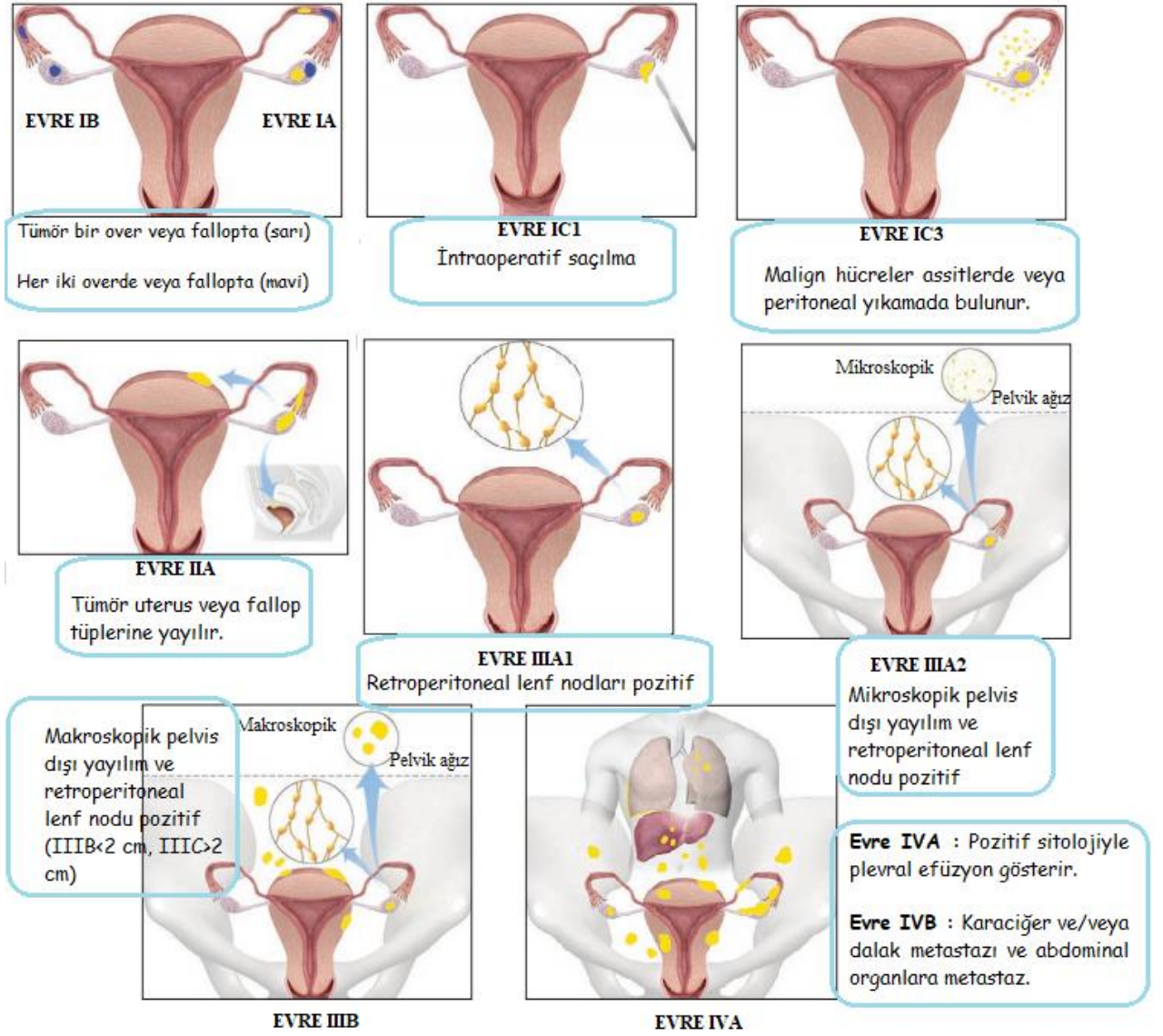
Sınıflandırmada değerlendirilmeye alınan moleküler farklılıklar Tip II tümörlerin Tip I tümörlere göre daha agresif, hızlı ve kötü prognoza sahip olmasında ve Tip I tümörlerin düşük proliferasyonunda ve borderline tümörle sınırlı kalmasında

etkilidir. Sık görülen ve şu ana kadar tespit edilen bu genetik farklılıklar şunlardır: Tip I'de *KRAS-BRAF*, *ARID1A*, *PIK3CA*, *PAX2* ve *CTNNB1* mutasyonu, *ERBB2* ve *MET* amplifikasyonu, *RAS/MEK* yolağı ve *Wnt-catenin* yolağı aktivasyonu, *PTEN* yolağı inaktivasyonu ve *MMR (Mismatch Repair)* kaybı şeklindedir. Tip II'de *TP53*, somatik ve germ *BRCA1/2*, *RB*, *CDK12*, *NF1* genlerinde mutasyon, anormal *NOTCH3* ve *FOXM* sinyalleri, *CDKN2A* geninde aşırı ekspresyon, *HR DDR (Homolog recombination DNA Damage Response)* kaybı *CCNE1* ve *NOTCH3* aktivasyonu şeklindedir (Şekil 2-5). Tip I de mikrosatellit instabilite görülürken Tip II'de kromozom instabilitesi yaygındır [17, 34].



Şekil 2-5: Epitelyal over kanseri alt tipleri ve ilişkili mutasyonlar [17].

Over tümörünün evrelemesi, hastanın tanı aşamasındaki klinik seyri açısından belirleyici rol oynamaktadır [31]. Günümüzde over kanserinin evrelemesinde 01 Ocak 2014'te güncellenen FIGO (International Federation of Gynecology and Obstetrics) evrelendirme sistemi kullanılmaktadır (Tablo 2-2). FIGO tarafından over, fallop tüpü ve peritoneal kanseri aynı sisteme dahil ederek evreleme revize edilmiştir (Şekil 2-6). Bu sistemde sınıflama dört evreye ayrılmaktadır. Birinci ve üçüncü evrenin A, B ve C tipleri, ikinci ve dördüncü evrenin A, B tipleri mevcuttur [35].



Şekil 2-6: Revize FIGO Evreleme Sistemi ve Görüntüleme Rölü [36]

Tablo 2-2: FIGO Over Kanseri Evrelemesi 01 Ocak 2014 [35]

<p>EVRE I : Tümör overlerle sınırlı</p> <p>IA : Tümör bir overle sınırlı, kapsül intakt, yüzeyde tümör yok, assit negatif</p> <p>IB : Tümör her iki overde, diğer özellikler IA gibi</p> <p>IC : Tümör bir veya her iki overle sınırlı</p>
<p>IC1: Cerrahi dökülme</p> <p>IC2: Cerrahi öncesi kapsül rüptürü veya over yüzeyinde tümör</p> <p>IC3: Assitte veya peritoneal yıkama sıvısında malign hücreler</p>
<p>EVRE II : Tümör, primer peritoneal kanser veya pelvik yayılımı olan bir veya her iki overi içerir.</p> <p>IIA : Uterus ve/veya tuba yayılım</p>

IIB : Diğer pelvik intraperitoneal dokulara yayılım

EVRE III : Bir veya iki overde tümör, pelvis dışı yayılım, retroperitoneal lenf nodlarına metastaz

IIIA : Pelvis dışı mikroskopik metastaz ve/veya pozitif retroperitoneal lenf nodu

IIIA1: Yalnızca pozitif retroperitoneal lenf nodları

IIIA1(i): Metastaz \leq 10 mm

IIIA1(ii): Metastaz $>$ 10 mm

IIIA2: Mikroskopik pelvis dışı tutulum ve/veya retroperitoneal lenf nodu pozitif

IIIB: Makroskopik pelvis dışı peritoneal metastaz \leq 2cm \pm retroperitoneal lenf nodu tutulumu. Dalak veya karaciğer kapsülüne yayılım dahil.

IIIC: Makroskopik pelvis dışı peritoneal metastaz $>$ 2cm \pm retroperitoneal lenf nodu tutulumu. Dalak veya karaciğer kapsülüne yayılım dahil.

EVRE IV : Peritoneal metastaz dışı uzak metastaz

IVA : Pozitif sitolojiyle plevral efüzyon

IVB : Hepatik ve/veya splenik parankimal metastaz, abdomen dışı organlara metastaz (inguinal lenf nodu ve abdomen dışı lenf nodları tutulumu dahil).

2.2.4. Tanı

Over kanserinin asemptomatik özelliği, hastaların erken tanı almasını zorlaştırmaktadır ve tanı alan hastaların %70'i ileri evreye ulaşmıştır. Over kanserinin teşhis edilmesinde yararlanılan yöntemler arasında fizik muayene, görüntüleme sistemleri ve biyobelirteç seviyeleri yer almaktadır.

Semptomlar belirsizdir ve gastrointestinal hastalıklarla karıştırılmaktadır. Bu semptomlar belirgin bir pelvik karın ağrısı, artan karın hacmi, şişkinlik, erken doyunluk, sırt ağrısı, yorgunluk gibi belirtiler gözlenmektedir. Bu nedenle tanısal görüntüleme için öncelikle fizik muayene ile bulguları tanımlamak ve hastanın geçmişini iyi anlamak önemlidir [37].

Tam bir fizik muayenede genellikle belirgin karın ağrısı ile başvuran hastalara karın bölgesinde (asit) sıvı birikimi olup olmadığını kontrol etmek için pelvik muayene yapılmaktadır. Muayenede over kanserine dair şüpheli bulgu bulunursa görüntüleme yöntemlerine başvurulmaktadır [38].

Over kanserinde görüntüleme yöntemlerinde genellikle ilk olarak ultrason yapılır ve sıklıkla pozitron emisyon tomografi (PET) uygulanmaktadır. Kanserinin derecesini ve diğer organlardaki metastazı tanımlamak için bilgisayarlı tomografi (BT)

ve manyetik rezonans (MR) yapılmaktadır [39]. Akciğerlerde plevral efüzyon sıvısının varlığı akciğer röntgeni ile tespit edilir. Bunların dışında laparoskopi, kolonoskopi ve biyopsi ile kanserin evresi detaylandırılır.

Eş zamanlı olarak tam kan sayımı ile serum belirteçlerine bakılır ve değerlendirilecek paneller arasında kanser antijeni 125 (CA-125) ve insan epididimis proteini 4 (HE4) bulunmaktadır. CA-125, 30 yıl boyunca over kanserinin tanısı ve izlenmesi için bir tümör belirteci olarak kullanılmış ve aynı zamanda nüks-etkinlik değerlendirmesi ve izlenmesi için de kullanılmıştır. Fakat over kanserine özgü olmaksızın başka durumlarda da yükselmektedir. HE4 ise over için en yüksek özgüllüğe ve pozitif prediktif değere sahiptir. En uygunu CA-125 ve HE4 proteinlerinin birlikte bakılması ve bu değerlerin ROMA (over malignite algoritması) indeksi ile değerlendirilerek over kanseri için en yüksek duyarlılığı ve prediktif değerinin hesaplanmasıdır [40, 41]. Ancak hala geç tanı alması nedeniyle hasta kayıpları çok fazladır. Yeni ve hassas tanı yöntemlerine ihtiyaç duyulmaktadır.

2.2.5. Tedavi

Over kanserinin tedavisi başlıca kemoterapi ve cerrahiden oluşmaktadır. Bunların dışında nüks eden hastalarda ve tedavinin kişisel olması açısından hormonal tedavi, hedeflenmiş tedavi ve immünoterapi de yararlanılan tedavi yöntemlerindedir. Radyoterapi, bu kanserde kullanılan bir yöntem değildir. Cerrahi yöntem, tümör evrelemesi ve debulking olarak tanımlanan tümör hacminin çıkarılmasını içeren iki amaç için kullanılmaktadır. Genellikle ilk uygulama cerrahidir, ilerlemiş olanlarda kanser yükünü azaltmak için önce kemoterapi sonra cerrahi uygulama yapılmaktadır. Kemoterapide standart yaklaşım, over kanserinin heterojen yapısı nedeniyle tek özellikte kemoterapötik ajan kullanılmayıp, platin ve taksan kombinasyonu ile tedavi sağlanmaktadır. Erken klinik evrede (I-II) tanı koyulan hastalara cerrahi tedavi yeterli olmaktadır, fakat yüksek risk grubunda veya tedavi yetersizse postoperatif kemoterapi yani adjuvan tedavi yapılır. İleri klinik evrede (III-IV) ise neoadjuvan kemoterapi ile cerrahi sitoredüksiyon ve kanserli bölgeye doğrudan erişim için intraperitoneal kemoterapi yapılmaktadır [42]. Erken evre kanser hastalarının prognozu iyidir ve 5 yıllık sağkalımı yüksektir. Geç evre hastalarında prognostik faktörlerin olmasına rağmen erken evreye özgü belirti vermemesinden dolayı prognozu kötüdür [43].

Kanserin erken saptanmasına ve tedavi yönetimine yardımcı olabilecek prediktif biyomarkırların keşfedilmesine ihtiyaç duyulmaktadır. Halen, erken dönemde yumurtalık karsinomunun yeterli duyarlılık ve özgüllükle saptanmasında klinik kullanımda kanıtlanmış tek bir biyobelirteç bulunmamaktadır. Bu sorunu çözmek için, yeni teknolojiler kullanılarak over karsinomunun erken tespiti için yeni biyobelirteçlerin tanımlanması amaçlanmıştır [44]. Son yıllarda mikroRNA'lar üzerine yapılan yoğun çalışmaların yanında, overe özgü biyobelirteç olmaması invaziv olmayan yeni biyobelirteç arayışlarını mikroRNA'lar üzerine çekmiştir [45].

2.3. mikroRNA

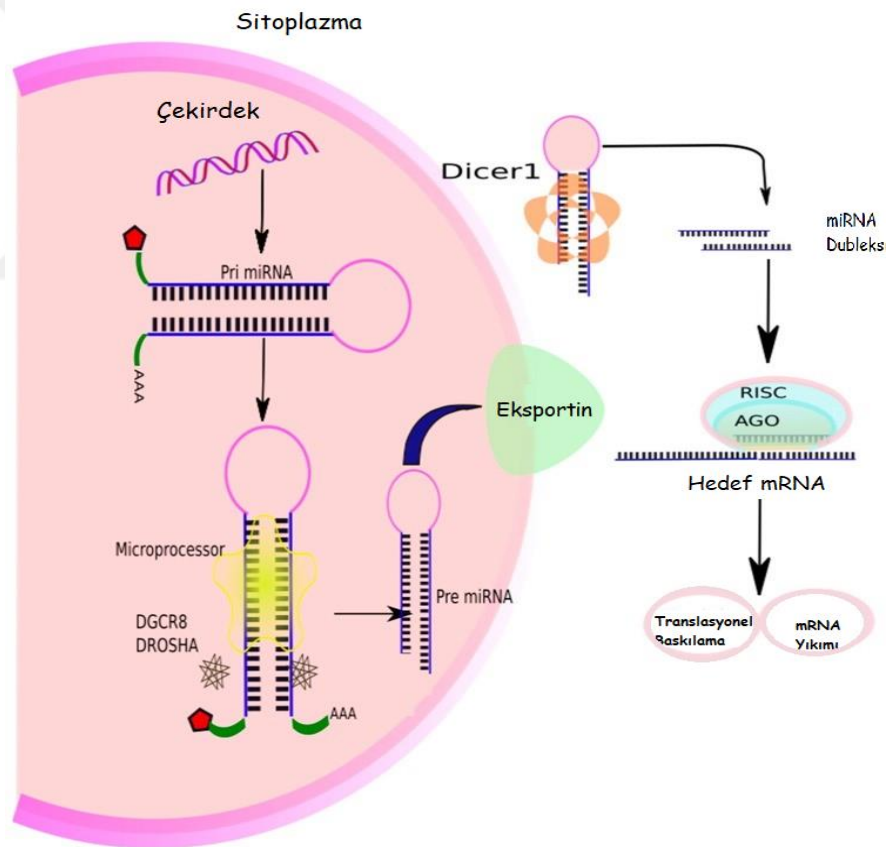
Kompleks organizmalarda hücrel düzenleme, farklı protein kodlayan genlerin sayısı ve ürünlerinin birbirleriyle etkileşimi ile sınırlı kalmayıp, aynı zamanda RNA'ları içeren karmaşık düzenleyici bir ağ ile gerçekleşmektedir [46]. Genetik faktörler hastalıkların patogeneğinde önemli bir rol oynamaktadır, bunun yanında genetik lokuslar sanılanın aksine sadece kodlanan bölgelerde değil, gen ifadesini düzenleyebilecek intergenik ve introjenik bölgelerde de bulunur. mikroRNA(miRNA)'lar transkripsiyon sonrası gen ifadesini düzenleyen önemli bir sınıftır [47]. miRNA'lar, toplam RNA'nın yalnızca küçük bir kısmını (~% 0,01) oluşturan, yüksek oranda korunmuş, 21-25 nükleotid uzunluğunda ve tek sarmallı protein kodlamayan RNA sınıfıdır. miRNA'lar, hedef genlerin 3'UTR (untranslated region) bölgesine bağlanarak translasyonel baskısını veya hedef transkriptin degradasyonunu uyarmaktadır. İlk miRNA 30 yıl önce Lee ve ark. tarafından *Caenorhabditis elegans* nematodunda gelişimsel regülatör *lin-4*'ün tanımlanması ile keşfedilmiştir. *lin-4*'ün bir proteini kodlamadığı, 22 nükleotid düzenleyici RNA'yı kodladığını ve *LIN-14* proteininin üretimini kontrol edebildiğini göstermişlerdir [48, 49]. Ardından, birçok organizmada binlerce miRNA keşfedilmiştir ve son verilere göre 271 tür için 48,885 miRNA bilinmektedir. Her miRNA direkt veya indirekt olarak yaklaşık 100 mRNA transkriptini düzenlemektedir; oysa, protein kodlayan tek bir gen birden fazla miRNA tarafından düzenlenebilmektedir [44]. Bazı miRNA'lar, olgun miRNA'nın birden fazla izomerine yol açan heterojen yarıma bölgelerine sahiptir. Her miRNA'nın yüzlerce hedef genin ekspresyonunu düzenlediği tahmin edildiğinden, bir bütün olarak miRNA yolu, gen ekspresyon kontrolü için kritik bir mekanizmadır [49]. miRNA'ların, hücre gelişimini, farklılaşmasını, proliferasyonunu ve apoptozunu,

hücrel sinyali ve birbirleriyle etkileşimini içeren hemen hemen tüm hücrel fonksiyonları düzenlediği bulunmuştur. Gen regülatörleri gelişim için gereklidir. Gen düzenlenmesinde anormal bir durum gerçekleştiğinde hastalık sürecine geçerek, karsinogenez gibi patolojik durumlara neden olmaktadır [50]. Yapılan son çalışmalarda, kolorektal kanser, over kanseri, kardiyovasküler hastalık, kronik lenfositik lösemi, akciğer kanseri ve Fragile X sendromu gibi birçok hastalık ile miRNA'ların arasındaki bağlantı bulunmuştur. Bilinen miRNA'ların büyük bir kısmı kırılğan bölgelerde veya kansere bağlı genomik bölgelerde bulunur [46, 51]. Çeşitli çalışmalarda, hastalıklı dokuların yanı sıra çeşitli patolojilerde idrar, serum, plazma ve diğer vücut sıvılarında miRNA bulunmuş ve bu da onları biyobelirteçler için uygun bir aday haline getirmiştir. miRNA'lar sadece teşhis amaçlı değil, aynı zamanda hastalık evresi ve terapötikler için öncü biyobelirteçler olarak ortaya çıkmaktadır. İdeal bir biyobelirteç, hastalığa özgü, hastalık sürecinin başlangıcında saptanabilen, non-invaziv, stabil, tekrarlanabilir ve bilinen bir mekanizma ile ilişkilidir [47].

2.3.1. MikroRNA'larda Fonksiyon ve Biyogenez

mikroRNA'lar çoğunlukla somatik dokuda hakim olan küçük RNA sınıfıdır. miRNA dizileri genomik bölgelerde bulunur. Protein kodlayan genlerin ekzonlarında, intronlarında ve protein kodlamayan diğer bölgelerde bulunabilir. Genellikle birkaç miRNA lokusu birbirine yakın olduğunda birlikte kopyalanmaktadır [52]. miRNA genleri, çoğunlukla kanser ile ilişkili olan ve kırılğan genomik bölgelerde bulunur ve bu da miRNA'ların insan hastalıklarında yerinin önemini vurgulamaktadır. Kan, idrar, tükürük, gözyaşı gibi vücut sıvılarında stabil olduğu doğrulanmış olmakla birlikte, pH ve ısı gibi çeşitli uygulamalara dayanıklı olduğu da gözlenmiştir [48]. Hücre dışında plazmada bulunan RNAaz'ın aktivitesinden eksozomlar veya Ago2 proteini yoluyla kendini koruyarak biyobelirteç olmaya adaydır [53-55]. miRNA'lar sıkıca düzenlenir ve düzenlenmesinde herhangi bir sapma çeşitli hastalıklarla ilişkilidir. Biyogenezi hem nükleer hem de sitoplazmik süreçlerden oluşmaktadır. miRNA'lar, olgun ve fonksiyonel formlarına ulaşmaya kadar, aşamalı olarak büyük primer (pri) ve prekürsör transkriptlerden meydana gelmektedir. Tüm miRNA'lar, kromozomal DNA'dan RNA polimeraz II aracılığıyla pri-miRNA'lar olarak bilinen 1-3 kb uzunluğunda, 5'cap ve 3' poly A kuyruğuna sahip olan birincil transkriptlere kopyalanır. Drosha ve DGCR8'den oluşan mikroşlemci kompleksi, çok uzun olan pri-miRNA'ları, prekürsör miRNA (pre-

miRNA) adı verilen ~70 nükleotid uzunluğunda çift sarmallı kök halkalı saç tokası benzeri yapıda işlemektedir. Bu pre-miRNA saç tokaları, Ran-GTPase ile kompleks haline gelir ve Exportin-5 ile çekirdekte sitoplazmaya taşınır. Sitoplazmada Dicer/TRBP (transaktivasyondan sorumlu RNA bağlayıcı protein) enzim kompleksi tarafından ~22 bp rehber miRNA / yolcu miRNA dubleksine ayrılır. Zincirler birbirinden ayrılır ve ardından RNA ile indüklenen susturma kompleksinin (RISC) Argonaute (AGO) proteini ile rehber zincir birleşir ve RISC ile birleşen miRNA, tamamlayıcı sekansa sahip mRNA'lara spesifik olarak bağlanmaktadır. Sekansların tam veya eksik eşlenmesine bağlı olarak mRNA degradasyonu veya translasyonel inhibisyonu ile sonuçlanmaktadır (Şekil 2-7). Yolcu miRNA zinciri ise sitoplazmada degrade olmaktadır [54].



Şekil 2-7: miRNA Biyogenezi [47]

2.3.2. Kanserde miRNA'lar

Onkogeneze mikroRNA'lar, onkogenler ve tümör baskılayıcı görevini üstlenerek hücre proliferasyonunu, hücre farklılaşmasını ve apoptozu düzenlemektedirler. miRNA'lar kanserde anormal şekilde eksprese edilir ve

miRNA'ların düzensizliği protein sentez mekanizmasına dahil edilmesiyle kanser gelişimine neden olmaktadır [49, 56]. Birçok miRNA'nın kanserli dokularda sağlıklılara kıyasla düzensiz regüle edildiği bulunmuştur. Tümör-sağlıklı doku ayırımına ek olarak, miRNA ekspresyonu kanser tipinde, kanser evresinde ve diğer klinik değişkenler için de karakteristiktir. miRNA'ların anormal ekspresyonu bir dizi mekanizmalar yoluyla ortaya çıkmaktadır, bunlar; genomik anomali, epigenetik faktörler, transkripsiyonel düzenleme ve miRNA işleme aşamalarında düzenlemedir. miRNA'ların yüksek veya düşük ekspresyonu hedef mRNA'ların protein ürününün aşağı veya yukarı regülasyonu ile sonuçlanmasına neden olmaktadır. Bir miRNA'nın direkt hedefi onkogen veya tümör baskılayıcı ise, bu miRNA'nın regülasyonu anormal olduğunda kanser nedeni haline gelmektedir. Bazı miRNA'ların kanserlerde diğer miRNA'lardan daha sık deregülasyona uğradığı gözlenmiştir [57]. Transkripsiyonel profillemeye ve mikrodizi tabanlı analizlere dayalı araştırmalar, normal dokulara göre yukarı veya aşağı regüle edilen çok sayıda miRNA dizisini ortaya çıkarmıştır. Bu miRNA'lar, tümör oluşumunda anahtar rol oynamaktadır. Kanserde miRNA'ların rolünü tanımlamak için yapılan bu çalışmaların ilkinde, farelerde lösemi hücre hattının transkriptom analizinde gösterilmiştir [58]. miR-17-92 kümesi, onkojenik olduğu gösterilen ilk miRNA'ları içerir. miR-21 ve miR17-92 kümesi gibi kanserde aşırı ekspresse edilen miRNA'lar olarak tanımlanırken, let-7 ve miR-34 aileleri de dahil olmak üzere diğer miRNA aileleri kanserde sıklıkla az ekspresse edilmektedir (Tablo 2-3) [49].

Tablo 2-3: Bazı miRNA'ların çeşitli kanserlerdeki regülasyonu [57]

miRNA	Regülasyon	Kanser Türü
let - 7	aşırı ekspresyon	kolon kanseri
	düşük ekspresyon	meme kanseri
	düşük ekspresyon	prostat kanseri
	düşük ekspresyon	mide tümörü
	aşırı ekspresyon	rahim leiomyomu
	aşırı ekspresyon	pankreas kanseri
	aşırı ekspresyon	hepatoselluar karsinom
miR-9	düşük ekspresyon	meme kanseri
	düşük ekspresyon	nöroblastom

miRNA	Regülasyon	Kanser Türü
miR-10b	aşırı ekspresyon	meme kanseri
miR-17-5p	aşırı ekspresyon aşağı	nöroblastom meme kanseri

2.3.3. miR142-3p

miR-142, genomda 17q22 bölgesinde bulunmaktadır (Şekil 2-8) [59]. Prekürsör miR-142 transkriptinin 3' ve 5' kolundan sırasıyla miR-142-3p ve miR-142-5p isimli iki olgun miRNA'nın kodlandığı gösterilmiştir [60]. miR-142-3p'nin işlevleri, çeşitli fizyolojik süreçler üzerine yapılan çalışmalarla açıklanmaktadır. Bazı çalışmalarda miR-142-3p'nin kanserin ayırt edici özelliği olan proliferasyonu ve inflamasyonu engelleyerek tümör baskılayıcı olarak işlev gördüğü kanıtlanmıştır [61, 62]. Wang ve ark'nın yaptıkları çalışmaya göre miR-142-3p normal miyeloid farklılaşmasının anahtar düzenleyicisidir ve miRNA'nın ekspresyon seviyesinde azalma, AML (akut miyeloid lösemi) gelişiminde rol oynamaktadır [63]. Aucher ve ark'nın yaptıkları çalışmada Kupffer hücrelerinin miRNA'yı hepatokarsinom hücrelerine aktardığını bulmuşlardır ve miRNA'ların makrofajlardan transferi, bu kanserli hücrelerin proliferasyonunu fonksiyonel olarak inhibe ederek miRNA'nın tümör büyümesine karşı yeni bir savunma işlevi görebileceğini öne sürmüşlerdir [64]. Son yapılan çalışmalara göre düşük seviyeli miR-142-3p, serviks kanserinde kötü prognoza neden olmaktadır [65], meme kanserinde *WASL* genini hedefleyerek invazivliği aktiveleştirir [66] ve meme kanseri kök hücre özelliklerini güçlendirir, in vitro radyosensitivitesini artırmaktadır [67]. Yine kolorektal kanserde de miR-142-3p düşük seviyededir [68] ve bu kanserde miRNA *CDK4*'ü hedefleyerek hücre büyümesini engellemektedir [69]. Araştırmacılardan bazıları miR-142-3p'nin onkogenik özelliğini keşfetmişlerdir. Tan ve ark, prostat kanserinde iyi prognoz göstergesi olan FOXO1 proteinin ekspresyonunu incelemişlerdir. miR-142-3p tarafından proteinin 3'-UTR bölgesinin doğrudan hedeflenmesi ile FOXO1 ekspresyonunu baskıladığını ve bu baskılamayla hücre proliferasyonunu indüklediğini göstermişlerdir [70]. ZHOU ve ark tarafından yapılan çalışmaya göre, miR-142-3p'nin TCF7'nin post-transkripsiyonel ekspresyonunu negatif olarak düzenlediği ve bu deneye göre SW480 kolorektal kanser hücrelerinde hücre proliferasyonunu engellediği bulunmuştur [71]. Zhang ve ark, miR-142-3p'nin insan T

hücre akut lenfoblastik lösemi (T-ALL) hücre dizilerinde aşırı eksprese edildiğini ve miR-142-3p'nin onkogenik rolünü, hedefleyici siklik adenosin monofosfat (cAMP)/protein kinaz A (PKA) ve glukokortikoid reseptör alfa (GR α) ile açıklamaktadırlar [72].

Diana-MicroT yazılımlarında tarama yapıldığında miR-142-3p için tahmini ve aralarında deneysel olarak da doğrulanan 515 hedef gen bulunmaktadır ve miRNA'nın öngörülen hedefleri arasında kanser dahil birçok insan hastalığında önemli bir yere sahip olduğu anlaşılmıştır [73]. Fakat yayınlar arasında over kanseri ve miR-142-3p arasındaki ilişkiyi açıklayan kaynaklar sınırlıdır. Ayrıca çalışmamızda, periferik kandan miR-142-3p seviyelerini geniş hasta ve sağlıklı popülasyonunda karşılaştırıp değerlendiren, over kanserinin tanı ve tedavisinde biyolojik belirteç ve terapötik hedef olarak kullanımı potansiyelini araştıran bir çalışma bulunmamaktadır. Bir miRNA'nın hedef kümesini tanımlamak biyolojik rolünü anlamak için anahtardır. Bilinen hedefler, miRNA terapötikleri geliştirmede kullanılan miRNA mimik veya inhibitörün etkinliğinin, belirlenmesi için en iyi biyobelirteçleri sağlar [49].



Şekil 2-8: miR-142-3p Baz Dizisi [74]

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Tez projesinde kullanılan hasta ve kontrol örnekleri, 150 over kanserli hastadan ve 100 sağlıklı kişiden alınan periferik kan numunelerinden oluşturuldu. Hasta ve sağlıklı kontrollerden kan örneği almadan önce bilgilendirilmiş onam formu imzalandı. Hastalar, İstanbul Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü, Kanser Genetiği Bilim Dalı'na başvurular arasında ve materyalinin araştıma amaçlı kullanılmasını kabul eden kişiler arasında seçildi. Sağlıklı kontrol grubu, hasta grubuyla ırk, yaş ve cinsiyet olarak eşleştirilmiş ayrıca sigara içmeyen ve kendisiyle birlikte en az 3 jenerasyonda kanser hikayesi bulunmayan sağlıklı görünen kişiler arasında seçildi. Tez çalışması için İstanbul Tıp fakültesi etik kurulu tarafından onay alındı (Etik Kurul onay: 07.05.2019 Tarih; /2029/624 sayılı). Bu tez çalışması Helsinki Bildirgesi'nin güncel haline göre yapılmıştır.

3.1. Kitler ve Kimyasal Maddeler

Tez çalışmasında kullanılan kimyasalların tümü ve ticari olarak temin edilen kitler tedarikçileriyle birlikte aşağıdaki Tablo 3-1'de belirtilmiştir.

Tablo 3-1: Kullanılan kimyasal maddeler ve kitler

✓ BIOCHROM - Biocoll Separating Solution (Ficoll)
✓ EDTA - Etilen-Diamin-Tetraasetikasit
✓ SIGMA - Etidyum Bromid (EtBr), Bromfenol Mavisi (BFB)
✓ RIEDEL DE HAEN - Etanol
✓ ZymoResearch - Quick-RNA™ MiniPrep Kit
✓ MIRXES - ID3EAL cDNA Synthesis System
✓ MIRXES - ID3EAL Individual hsa miRNA3 RT primer 1plex
✓ MIRXES - ID3EAL Individual miRNA qPCR Assay
✓ MIRXES - IDE3EAL miRNA qPCR MasterMix

3.2. Cihazlar

Tez projesinin deneysel prosedürlerini gerçekleştirmek için kullanılan cihaz ekipmanı, Tablo 3-2’de listelenmiştir.

Tablo 3-2: Deneyde kullanılan cihazlar

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

3.3. Tampon Çözeltiler ve Bilgisayar Programları

Tez çalışması boyunca PBS Tampon Çözeltisi, BFB Yükleme Tamponu, TEB Tampon Çözeltisi, Lysis Buffer, 1,5’lik Agaroz, Buffer R. ve Bilgisayar Programları kullanılmıştır. Tampon çözeltiler tablo 3-3’de belirtildiği gibi hazırlanmıştır.

Tablo 3-3: Çözelti ve bilgisayar programları**10X PBS Tampon Çözeltisi**

1 litre için;

80 g NaCl

2 g KCl

11,5 g Na₂HPO₄

2 g KH₂PO₄

10X BFB Yükleme Tamponu

2 mL için ;

%1 SDS

5 mg Bromfenol Mavisi

2 mL Gliserol

10X TEB (Tris-EDTA-Borik Asit) Tampon Çözeltisi

0.88 M Borik Asit

5 M Tris

0.02 M EDTA (pH :8.00)

1X Lysis Buffer (100mL)

10 mL 10X Lysis Buffer (ABM)

90 mL distile su

%1,5'lik Agaroz Hazırlanması

1,5 g Agaroz

100mL 0.5X TEB

5µL Etidyum Bromür (10mg/mL)

Buffer R.(100mL)

49 mL PBS

2 mL FBS

50 µL EDTA

Etidyum Bromür: 10 mg/mL**Bilgisayar Programları**

IBM Support SPSS 21.0

3.4. Yöntemler

Kapsamlı bir literatür taramasının sonucunda over kanseri ve miR-142-3p arasındaki etkileşimi gösteren çalışmaların yetersizliği gözönünde bulundurularak over kanseri gelişim yollarında etkili olabilecek mikroRNA adayları arasından çalışılacak miRNA, mir-142-3p olarak seçildi. Hasta ve sağlıklı kontrol kanları toplandı ve çalışmaya alınan örnekler isimlendirilmiştir (Tablo 3-4) . Hasta ve sağlıklı kontrollerden alınan periferik kanlardan lenfosit hücreleri elde edildi. Lenfositlerden total RNA izole edildi. Total RNA'dan ters transkriptaz yöntemiyle hedef miRNA'ya özgü cDNA sentezlendi. Çalışılan miR-142-3p'nin ekspresyon düzeyi 5SRNA referans gen varlığında eş zamanlı olarak Gerçek Zamanlı PZR yöntemiyle çoğaltıldı. Çalışmada toplam 250 örnek çalışıldı, referans gen dahil 2 miRNA incelendi. Hasta ve kontrol grupları arasındaki miRNA-142-3p gen ifade düzeyi, 5S rRNA geni ile karşılaştırılarak değerlendirildi.

Tablo 3-4: Over hasta ve kontrol örneklerinin isimlendirilmesi

OH	Over Hastası
OK	Over Sağlıklı Kontrolü

3.4.1. Kandan Lenfosit İzolasyonu

- Donörden yaklaşık 10 mL kan alındı, toplanan kan EDTA'lı tüpe aktarıldı ve 1/1 oranında %0,9'luk NaCl içeren izotonik ile dilüe edildi.

- Seyreltilen kan yavaş yavaş 2 mL Ficoll üzerine pipetle aktarıldı. Soğutmalı santrifüjde 1970 RPM’de 30 dk santrifüj edildi.
- Santrifüj bittiğinde üst fazda plazma, orta fazda opak görünümde lenfositler ve alt fazda eritrositler olmak üzere üç faz görülür; lenfositler dikkatle pastör pipet yardımıyla temiz bir tüpe toplandı. 1970 RPM’de 10 dk santrifüj edildi.
- Süpernatant döküldü, pellet üzerine 4 mL PBS eklenip pipetaj yapılarak çözüldü. Çözülen pellet 1’er mL olacak şekilde 4 Krio tüpe dağıtıldı.
- Krio tüpler 1970 RPM’de 5 dk santrifüj edildi. Süpernatant döküldü.
- Elde edilen hücreler -80°C’de 1 gün süreyle inkübe edildi.
- Ardından Krio tüplerdeki hücreler, uzun süreli saklanmak üzere sıvı azotlu hücre saklama tankına aktarıldı.

3.4.2. RNA İzolasyonu

- Hasta ve kontrol örneklerinden elde edilen lenfosit hücrelerinden total RNA izolasyonu için Quick-RNA MiniPrep İzolasyon Kiti (ZYMO RESEARCH) kullanılmıştır. Kit protokolüne göre uygulanan işlem aşamaları şunlardır:
- Lenfosit hücreleri azot tankından çıkarıldı, örnekler buz üzerinde çalışıldı. Üzerine 300 µL RNA Lysis Buffer eklenerek çözülene kadar pipetaj yapıldı. 10,000 x g’de 30 saniye santrifüj edildi. Hücre içindeki DNA-RNA açığa çıkarıldı.
- İçinde RNA bulunan süpernatant alt faza geçer ve alt faz yeni bir tüpe aktarıldı.
- Üzerine süpernatant ile aynı miktarda %95-100’lük etanol eklendi ve karışım 10,000 g’de 30 saniye santrifüj edildi.
- Ardından altta biriken süpernatant döküldü, filtre üzerine RNA Prep Buffer (400 µL) eklendi. 12.000g’de tekrar santrifüj edildi, biriktirme tüpü içinde toplanan atık atıldı.
- Filtrenin üzerine RNA Wash Buffer (700 µL) eklenerek tekrar 12.000g’de santrifüj edildi, biriktirme tüpü içinde toplanan atık atıldı. 400 µL RNA Wash Buffer eklenerek iki dakika 12.000g’de santrifüj edildi.

- Son olarak 100 µL DNase/RNase-Free Water eklendi, 1 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra 30 saniye 12.000g'de santrifüj edilerek RNA izole edildi.
- Elde edilen RNA'ların kontrolleri yapıldıktan sonra birkaç tüpe bölünerek -80°C'de saklandı.
- Tüm RNA'lar kalite kontrol için %1,5'luk agaroz jelde 160 volt akımda yürütüldü. Elektroforez sonucu, yürütülen RNA'da DNA bandının olmaması ve 28S/18S rRNA'ları temsil eden iki majör bandın varlığı ile cDNA sentezi için gerekli olan RNA'ların kalitesi kontrol edildi.
- RNA'ların degrade olmadığından ve genomik DNA kontaminasyonu içermediğinden emin olduktan sonra saflık ve konsantrasyon ölçümü NanoDrop 2000 Spektrofotometre THERMO SCIENTIFIC kullanılarak değerlendirildi.
- RNA örneklerinin saflığı, A260 / A280 dalga boyu oranından değerlendirildi. Yüksek oranda saf RNA örnekleri 1.8 - 2.2 aralığında olanlar çalışmaya dahil edildi.

3.4.2.1. Agaroz Jelin Hazırlanması ve Örneklerin Yüklenmesi

%1.5'luk agaroz jel aşağıda belirtildiği gibi hazırlandı.

- 1,5 g agaroz tartılıp, 100 mL 0.5X TEB tamponu içine koyuldu.
- Agaroz tamamen çözülene kadar 3-5 dk mikrodalga fırında uygun aralıklarla karıştırılarak kaynatıldı.
- Homojen hale gelen karışım, yaklaşık 50°C'ye kadar soğuması beklendi.
- Agaroz, 5 µL konsantrasyonu 10 mg/mL olan Etidyum bromür ilave edilerek jel hazırlandı.
- Jel, yirmi dişli tarak yerleştirilmiş jel tepsisine döküldü.
- Jele, araştırılan örneklerin yüklenebilmesi için 30 dk kadar oda sıcaklığında polimerize olması beklendi.
- 5 µL RNA örneği, 1 µL 10X BFB (brom fenol mavisi) ile karıştırıldı ve jelde bulunan kuyucuklara TBE tamponu içinde yüklendi.

- 160 volt akımda yürütüldü ve UV ışığı altında bandlar görüntüledi.

3.4.2.2. NanoDrop 2000 Spektrofotometre ile RNA Konsantrasyon Analizi

RNA'ların ölçümleri NanoDrop 2000 Spektrofotometre cihazına dilüe edilmemiş örneklerden 1 µL yüklenerek yapıldı. İzole edilen RNA'nın saflığı ve konsantrasyonu 260nm ve 280nm dalga boylarındaki ölçümlerin karşılaştırılması ile belirlendi. Absorbansı 1.8-2.2 OD aralığında olan RNA'lar araştırmaya uygun RNA örneği olarak kabul edildi. RNA'nın 260 nm'de vermiş olduğu 1 OD'lik absorbans, 40 µg RNA molekülüne eşittir. NanoDrop ile RNA konsantrasyonu ölçülürken RNA'nın sulandırılmasına gerek yoktur.

NanoDrop ile ölçülen RNA konsantrasyonu şu şekilde hesaplandı:

$$\text{RNA konsantrasyonu } (\mu\text{g/mL}) = \text{OD}_{A260} \times \text{Sulandırma Katsayısı}(1) \times 40\mu\text{g}$$

Konsantrasyonu ölçülen RNA'ların sonraki yapılacak çalışmalarda kullanıldığında konsantrasyonlarının eşit olması gerektiğinden hasta ve sağlıklı kontrol grubuna ait olan RNA örneklerinin 200 ng/µL olacak şekilde sulandırıldı.

3.4.3. Komplementer DNA(cDNA) Sentezi

Tüm işlemler buz üzerinde yapıldı. Komplementer DNA, ticari bir kit olan ID3EAL cDNA Synthesis System protokolü ile birlikte miRNA spesifik Ters Transkriptaz enzimi kullanılarak sentezlendi. Gerçek-Zamanlı PZR reaksiyonu için RNA örnekleri çözüldü ve vortekslendi. cDNA reaksiyon bileşenleri Tablo 3-5'te belirtildiği gibi eklendi. Pipetaj yapıp, vortekslendi. 20 µL'lik karışım, ters transkriptaz reaksiyonunun gerçekleşmesi için, BioRad PCR cihazında inkübe edildi. Reaksiyon 42°C'de 30 dakika inkübasyonu takiben, 95°C'de 5 dakika enzim aktivitesinin ortadan kaldırılmasını içeren iki aşamalı reaksiyon ile cDNA sentezi gerçekleştirildi (Tablo 3-6).

cDNA örnekleri -20°C'de muhafaza edildi.

Tablo 3-5: cDNA reaksiyon bileşenleri

İSİM	MİKTAR
RNA	X µL
ID3EAL RT Buffer 2X	5 µL
ID3EAL RT Primer I Plex miRNA-142-3p	1 µL
ID3EAL RT Primer I Plex 5s rRNA	1 µL
ID3EAL Reverse Transcriptase	1 µL
Nükleaz içermeyen dH ₂ O	Toplam karışım 20 µL olacak şekilde tamamlanır.

Tablo 3-6: RT reaksiyon döngüsü

Döngü	Sıcaklık	Süre
1	42 °C	30 dk
1	95°C	5 dk

3.4.4. qRT-PCR Reaksiyonu

Total RNA izolasyonu ve miRNA örneklerinin cDNA sentezinden sonra miR-142-3p ekspresyon seviyesini ölçmek için gerçek zamanlı kantitatif PCR (qRT-PCR) reaksiyonları gerçekleştirildi. qRT-PCR prosesi, MIC Gerçek-Zamanlı PZR Cihazı (MIC qPCR Cycler) ile, ifade düzeylerinin kontrolü ve hesaplanması ise MIC qPCR Software ile analiz edildi. Over kanser hikayesine sahip hasta grubu ile sağlıklı kontrol grubu arasında gen ekspresyon farklılıkları değerlendirildi.

Kantitatif Real Time PCR reaksiyon karışımı ve koşulları Tablo 3-7 ve 3-8'de belirtilmiştir.

Tablo 3-7: qPCR reaksiyon bileşenleri (reaksiyon başına)

Bileşenler	20 µL Reaksiyon Başına Hacim
ID3EAL qPCR Master Mix	10 µL
ID3EAL qPCR Assay	2 µL
Nuclease-free dH ₂ O	3 µL

Dilüe cDNA (1:10 oranında)	5 µL
----------------------------	------

Tablo 3-8: real-time qPCR thermo-cycling protokolü

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

3.4.5. Biyoistatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler yapmak için IBM Support SPSS 21.0 bilgisayar programı kullanıldı.

- Grupların ifade düzeylerindeki değişimin kat oranı (Fold-Change) belirtildi.
 - Fold-Change oranı $|FC| \geq 2$ ve $p < 0,05$ değerleri istatistiksel anlamlılığı ifade eder.
- Mann-Whitney U testi ile hasta ve sağlıklı kontrol grubuna ait gen ekspresyon seviyeleri ve gen ekspresyon seviyeleriyle klinik datalar arasındaki bağlantı karşılaştırıldı.
- Receiver Operator Characteristics Curve (ROC) analizi ile aday biyolojik belirteç olarak belirlenen miR-142-3p'nin tanısal performansı gösterildi.
- Belirlenen gruplardan elde edilen sonuçlar arasındaki farkların önemi Student t testi (Independent-Samples T-Test) ile incelendi.
- Ki-kare ile klinik veriler, kendi aralarında ikili karşılaştırmalar yapıldı.
- Kaplan-Meier testi ile hastaların sağkalım analizi incelendi.

4. BULGULAR

Tez çalışmamda, İstanbul Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü, Kanser Genetiği polikliniğine başvuran hastalar arasından seçilmiş 150 over kanserli ve bu hastalarla ırk, cinsiyet, yaş ile eşleştirilen 100 sağlıklı kontrol grubunun çalışılması hedeflenmiş olup, RNA kalitesi kötü olan 3 hasta örneği elimine edilmiştir. İstatistik sonuçları 147 hasta (n=147) ve 100 kontrol (n=100) üzerinden yapılmıştır. Hasta ve sağlıklı kontrol grubuna ait klinik bilgiler Tablo 4-1 ve Tablo 4-2’de verilmiştir.

Tablo 4-1: Hastaların Klinik Bilgileri

	Özellikler	Hasta Sayısı (N=147)
Yaş ortalaması	49,4(50±10)	147
Tanı	Over	122
	Over ve meme	17
	Over ve endometrium	3
	Over ve diğer kanser	5
Histolojik alt tip	Seröz adenokarsinoma	55
	Seröz papiller adenokarsinoma	33
	Adenokarsinoma	29
	Seröz	13
	Berrak hücreli adenokarsinoma	8
	Müsinöz	6
	Papiller	1
	Skuamöz hücreli karsinoma	1
	Endometrioid	1
Metastaz	Var	102
	Yok	45
Evre	I-II	22
	III-IV	125
BRCA tanısı	Negatif	117
	Pozitif	30
Tümör boyutu	< 2	32
	≥ 2	115
Tedavi	Kemoterapi	5
	Cerrahi	10
	Kemoterapi ve cerrahi	115
	Kemoterapi,radyoterapi ve cerrahi	16
Menapoz	Premenapoz	68
	Postmenapoz	79
Sigara	Evet	45
	Hayır	103

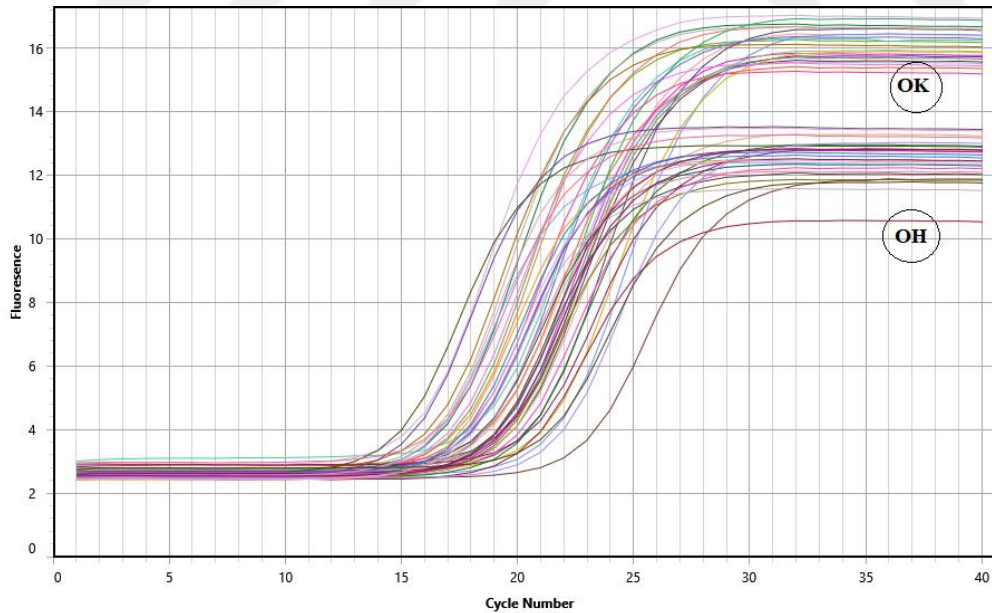
Oral kontraseptif kullanımı	Evet	45
	Hayır	102
Ailede 4 nesil kanser hikâyesi	Evet	127
	Hayır	20

Tablo 4-2: Sağlıklı kontrollere ait bilgiler

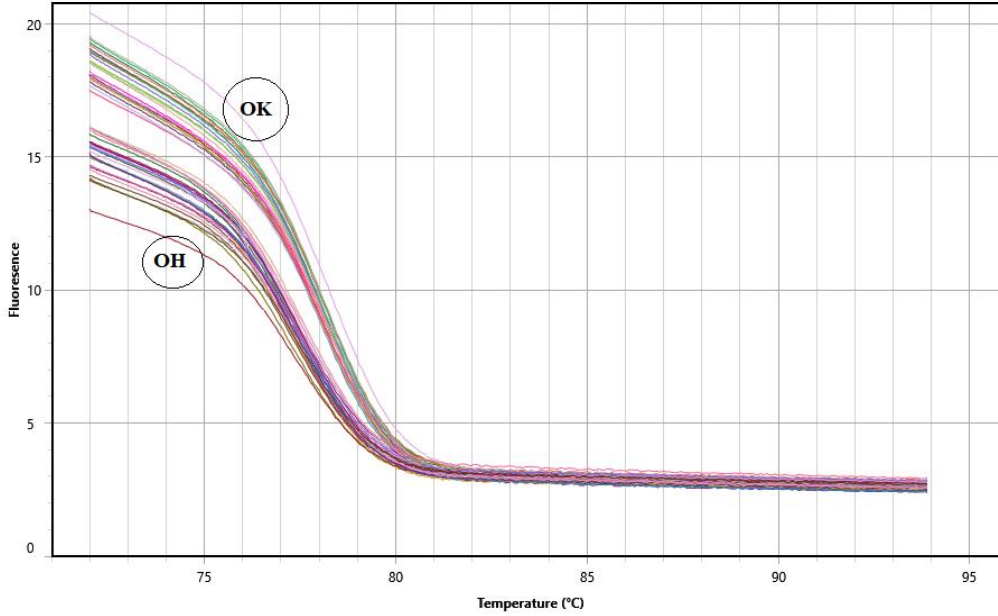
	Özellikler	Kontrol Sayısı (N=100)
Yaş ortalaması	47,9 (48±11)	100
Sigara	Evet	0
	Hayır	100
Ailede 4 nesil kanser hikâyesi	Evet	0
	Hayır	100

4.1. Gerçek-Zamanlı PZR Çoğalma ve Erime Eğrileri

SYBR-Green floresan boyası kullanılarak yapılan PCR analizi sonucunda erime eğrisi incelendi, çoğaltılmak istenen hedef DNA dışında bir bölge veya primer dimerlerinin var olmadığı saptandı. Şekil 4-1 ve 4-2’de gerçek zamanlı PCR ile miRNA ekspresyonunu belirlemek için çoğaltılan örneklerin çoğalma ve erime eğrisi analizleri verildi.



Şekil 4-1: Over kanserli hasta ve sağlıklı kontrollerde incelenen miR-142-3p'nin gerçek zamanlı PZR eğrisi



Şekil 4-2: Over kanserli hasta ve sağlıklı kontrollerde incelenen miR-142-3p'nin erime eğrisi

4.2. miR-142-3p'nin Ekspresyon Analiz Sonuçlarının Değerlendirilmesi

miR-142-3p gen ekspresyonunu hesaplamak için $2^{-\Delta\Delta Ct}$ formülü kullanıldı. Ct, numunelerin eşik döngü değerini temsil eder. Her hasta ve sağlıklı kontrol için ΔCt ve $\Delta\Delta Ct$ değerleri Excel programında hesaplandı.

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

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

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

Bu formüle ilişkin hastaların $2^{-\Delta\Delta Ct}$ değerleri tablo 4-3'te belirtilmektedir.

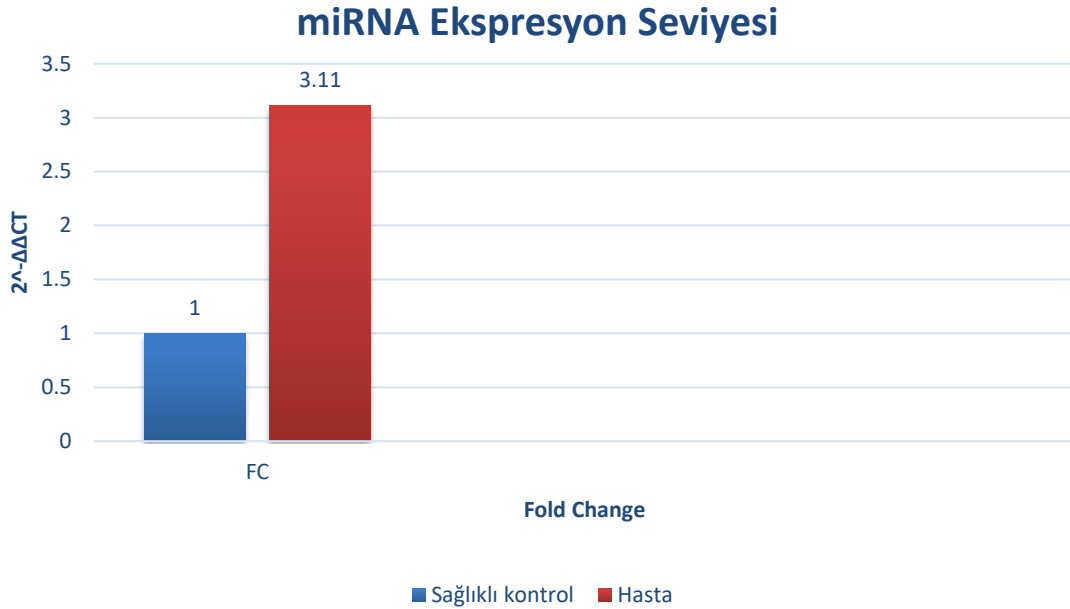
Tablo 4-3: Hastalara ait $2^{-\Delta\Delta Ct}$ değerleri

OH001	55,82	OH008	2,47	OH014	3,30	OH020	5,73
OH002	1,07	OH009	4,22	OH015	2,29	OH021	25,14
OH003	8,63	OH010	1,49	OH016	0,93	OH022	1,43
OH004	1,19	OH011	14,96	OH017	6,82	OH023	3,54
OH005	1,24	OH012	2,63	OH018	3,72	OH024	3,15
OH006	6,30	OH013	0,11	OH019	10,91	OH025	0,50
OH007	5,73						

OH026	1,86	OH058	8,58	OH090	8,82	OH121	1,58
OH027	2,78	OH059	2,89	OH091	5,50	OH122	0,76
OH028	14,56	OH060	22,02	OH092	0,50	OH123	2,79
OH029	0,46	OH061	51,04	OH093	1,53	OH124	3,21
OH030	0,45	OH062	62,11	OH094	3,49	OH125	6,14
OH031	6,82	OH063	0,03	OH095	1,28	OH126	3,55
OH033	388,23	OH064	5,24	OH096	2,12	OH127	0,74
OH034	0,06	OH065	3,57	OH097	8,07	OH128	0,62
OH035	3,08	OH066	12,46	OH098	1,43	OH129	0,21
OH036	44,36	OH067	0,04	OH099	0,12	OH130	0,31
OH037	3,53	OH068	1,05	OH100	1,75	OH131	1,08
OH038	18,23	OH069	5,09	OH101	2,92	OH132	2,21
OH039	42,88	OH070	4,11	OH102	0,31	OH133	0,99
OH040	12,50	OH071	1,46	OH103	1,12	OH134	0,65
OH041	28,11	OH072	8,39	OH104	0,49	OH135	1,18
OH042	5,60	OH073	2,08	OH105	0,75	OH136	0,64
OH043	0,09	OH074	6,29	OH106	9,74	OH137	0,34
OH044	7,09	OH075	0,49	OH107	1,30	OH138	1,08
OH045	0,01	OH076	9,50	OH108	2,07	OH139	0,56
OH046	20,70	OH077	1,98	OH109	0,22	OH140	7,52
OH047	7,80	OH078	7,51	OH110	2,35	OH141	0,57
OH048	21,67	OH079	5,13	OH111	0,49	OH142	6,27
OH049	6,52	OH080	3,05	OH112	1,05	OH143	1,43
OH050	1,20	OH081	11,97	OH113	1,30	OH144	12,52
OH051	4,69	OH082	1,72	OH114	3,12	OH145	0,84
OH052	0,93	OH083	0,96	OH115	1,04	OH146	3,81
OH053	3,96	OH084	0,95	OH116	1,62	OH147	0,78
OH054	1,54	OH085	1,77	OH117	2,24	OH148	0,96
OH055	7,39	OH086	0,38	OH118	4,20	OH149	2,15
OH056	1,43	OH088	4,50	OH119	0,55		
OH057	41,39	OH089	0,61	OH120	0,68		

Hasta numunelerine ait $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 'nin sağlıklı $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 'ye oranı alınarak kat değişimi (fold change=fc) hesaplandı ve gen ifade oranı belirlendi. Sağlıklı kontrol grubu gen ifadesinin referans değeri ($\Delta\Delta Ct=0 \rightarrow 2^0=1$) 1 olarak alındı. Buna göre hasta grubu,

sağlıklı kontrol grubuyla karşılaştırıldığında miR-142-3p'nin 3,11 kat arttığı saptandı. miR-142-3p'nin ekspresyon seviyesi Şekil 4-3'te gösterildi.



Şekil 4-3: miR-142-3p geni ekspresyon düzeyinin hasta ve sağlıklı kontrol grubunda karşılaştırılması

İstatistiksel analiz SPSS v21 programında yapıldı. Analizlerin yapılması için normallik dağılım testi uygulandı. Normallik dağılımı Kolmogorov Smirnov testi ile belirlendi. Bu test sonucuna göre $p < 0,05$ (Tablo 4-4) anlamlı kabul edilerek dağılımın normal olmadığına karar verildi.

**Tablo 4-4:
Normallik
Dağılım Testi**

	ÖRNEKLER	N	Kolmogorov-Smirnov Z	p değeri
miR142-3p	Sağlıklı Kontrol	100	1,894	,002
	Hasta	147		
	Toplam	247		

Normal dağılım göstermeyen iki bağımsız veri dizisinden tek ölçüm yapılarak ortalamalarının karşılaştırılması için non-parametrik testlerden Man Whitney U testi uygulandı. Man Whitney U testinde $2^{-\Delta\Delta C_t}$ değerleri baz alınarak yapılan değerlendirmeye göre hasta grubu, sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak ($p=0,00$) anlamlı bulundu (Tablo 4-5).

Tablo 4-5: Hasta ve kontrol grupları arasında miR-142-3p gen ifade düzeyinin istatistiksel değeri

	miR1423p
Mann-Whitney U	5221,000
Wilcoxon W	10271,000
Z	-3,863
p Değeri	,000

4.3. miR-142-3p Ekspresyon Seviyesinin Tanıya Göre Değerlendirilmesi

Sağlıklı kişilerin dahil olduğu grupta miR-142-3p'nin ekspresyon seviyesi değerlendirildiğinde; sağlıklı kontrolün %53(53/100)'ünde miR-142-3p ekspresyon seviyesinin arttığı, %47(47/100)'sinde azaldığı görüldü.. Over kanseri tanısı alan hastaların %75,4(92/122)'ünde miR-142-3p ekspresyon seviyesi arttığı görülürken, %24,6(30/122)'sinde azaldığı tespit edildi. Over ve meme kanserli hastaların %64,7(11/17)'sinde miR-142-3p ekspresyon seviyesinin arttığı gözlenirken, %35,3(6/17)'ünde azaldığı saptandı. Over ve endometrium kanserli hastaların %33,3(1/3)'ünde miR-142-3p ekspresyon seviyesi artarken, %66,7(2/3)'sinde azaldı. Over ve diğer kanserli hastaların %80(4/5)'inde miR-142-3p ekspresyon seviyesi artarken, %20(1/5)'sinde ise azaldığı görüldü (Tablo 4-6). Yapılan Pearson Chi-Square analizi sonucunda tanı ve miR-142-3p ekspresyonu arasında anlamlı bir ilişki $p<0,05$ (Tablo 4-7) olduğu gözlemlendi.

Tablo 4-6: miR-142-3p ekspresyon seviyesinin over kanseri ve over kanserine ilave tanıya sahip hastalardaki dağılımı

Tanı	miR-142-3p Ekspresyonu		Toplam
	Azalmış	Artmış	
Sağlıklı	47 (% 19)	53 (% 21,5)	100 (% 40,5)
Over kanseri	30 (% 12,1)	92 (% 37,2)	122 (% 49,4)
Over ve meme kanseri	6 (% 2,4)	11 (% 4,5)	17 (% 6,9)
Over ve endometrium kanseri	2 (% 0,8)	1 (% 0,4)	3 (% 1,2)
Over ve diğer kanser	1 (% 0,4)	4 (% 1,6)	5 (% 2)
Toplam	86 (% 34,8)	161 (% 65,2)	247 (100,0%)

Tablo 4-7: miR-142-3p gen ekspresyon seviyesi ve tanı arasındaki istatistiksel ilişki

	Value	df	p değeri
Pearson Chi-Square	13,989 ^a	4	,007

Likelihood Ratio	14,011	4	,007
Linear-by-Linear Association	10,978	1	,001

4.4. miR-142-3p Ekspresyon Düzeyi ve Klinik Bilgiler arasındaki ilişki

Over kanseri hastalarında tanı yaşına göre miR-142-3p'nin ekspresyon seviyesi değerlendirildiğinde; yaşı 40'ın altında olan hastaların %70,8(17/24)'ünde miR-142-3p ekspresyon seviyesi artmıştır, %29,2(7/24)'sinde azalmıştır. Tanı yaşı 40 ve 40'ın üstünde olan hastaların %74(91/123)'ünde miR-142-3p ekspresyon seviyesi artmıştır, %26(32/123)'sında azalmıştır.

Araştırdığımız miR-142-3p gen ifade seviyesi hastaların yaşı, metastaz durumu, klinik evresi, tümör boyutu, gebelik, menopoz durumu, infertilite tedavisi, ailede toplam kanser ve meme-over kanseri sayısı ve oral kontraseptif kullanımı gibi farklı klinik özelliklerine göre ayrı ayrı Mann-Whitney U testi ile incelenmiş ve elde edilen sonuçlar Tablo 4-8, 4-9, 4-10, 4-11, 4-12, 4-13, 4-14, 4-15, 4-16 ve 4-17'de verilmiştir. İncelenen gruplara göre; hastalarda miRNA ve diğer eşlenen klinik bilgiler arasında istatistiksel bir anlamlılık bulunmamıştır ($p>0,05$).

Tablo 4-8: Hasta miRNA gen ifade düzeyinin tanı yaşı ile karşılaştırılması

	yaş	N		miR142-3p
miR142-3p	<40 yaş	24	Mann-Whitney U	1407,000
	=>40 yaş	123	Wilcoxon W	1707,000
	Toplam	147	Z	-,362
			p değeri	,718

Metastaza göre değerlendirildiğinde; metastazı olmayan hastaların %66,7(30/45)'sinde miR-142-3p ekspresyon seviyesi artmıştır, %33,3(15/45)'ünde azalmıştır. Metastazı olan hastaların ise %76,5(78/102)'inde miR-142-3p ekspresyon seviyesi artmış olup, %23,5(24/102)'inde azalmıştır (Tablo 4-18).

Tablo 4-9: Hasta miRNA gen ifade düzeyinin metastaz durumu ile karşılaştırılması

	metastaz	N		miR142-3p
miR142-3p	hayır	45	Mann-Whitney U	2218,000
	evet	102	Wilcoxon W	7471,000
	Toplam	147	Z	-,324

	p değeri	,746
--	----------	------

Klinik evrelemeye göre; evre 1 hastalarının %75(6/8)'inde miR-142-3p ekspresyon seviyesi artmıştır, %25(2/8)'inde azalmıştır. Evre 2 hastalarının %64,3(9/14)'ünde miR-142-3p ekspresyon seviyesi artmıştır, %35,7(5/14)'sinde azalmıştır. Evre 3 hastalarının %78(64/82)'inde miR-142-3p ekspresyon seviyesi artmıştır, %22(18/82)'sinde azalmıştır. Evre 4 hastalarının ise %67,4(29/43)'ünde miR-142-3p ekspresyon seviyesi artmıştır, %32,6(14/43)'sında azalmıştır (Tablo 4-18).

Tablo 4-10: Hasta miRNA gen ifade düzeyinin klinik evre ile karşılaştırılması

	Klinik evre kategori	N		miR142-3p
miR142-3p	erken evre(1-2)	22	Mann-Whitney U	1356,000
	ileri evre(3-4)	125	Wilcoxon W	9231,000
	Toplam	147	Z	-,103
			p değeri	,918

Patolojik evrelemeye göre değerlendirildiğinde; evre 1 hastalarının %75(6/8)'inde miR-142-3p ekspresyon seviyesi artmıştır, %25(2/8)'inde azalmıştır. Evre 2 hastalarının %61,5(8/13)'inde miR-142-3p ekspresyon seviyesi artmıştır, %38,5(5/13)'inde azalmıştır. Evre 3 hastalarının %77,2(71/92)'sinde miR-142-3p ekspresyon seviyesi artmıştır, %22,8(21/92)'inde azalmıştır. Evre 4 hastalarının ise %67,6(23/34)'sında miR-142-3p ekspresyon seviyesi artmıştır, %32,4(11/34)'ünde azalmıştır (Tablo 4-18).

Histolojik evrelemeye göre, grade 1 hastalarının %80(4/5)'inde miR-142-3p ekspresyon seviyesi artmıştır, %20(1/5)'sinde azalmıştır. Grade 2 hastalarının %73,5(25/34)'inde miR-142-3p ekspresyon seviyesi artmıştır, %26,5(9/34)'inde azalmıştır. Grade 3 hastalarının %73,1(79/108)'inde miR-142-3p ekspresyon seviyesi artmıştır, %26,9(29/108)'unda azalmıştır (Tablo 4-18).

Tümör boyutuna göre, boyutu 2 cm'den küçük tümöre sahip olan hastaların %65,6(21/32)'sında miR-142-3p ekspresyon seviyesi artmıştır, %34,4(11/32)'ünde azalmıştır. Boyutu 2 cm veya daha büyük tümöre sahip olan hastaların %75,7(87/115)'sinde miR-142-3p ekspresyon seviyesi artmıştır, %24,3(28/115)'ünde azalmıştır (Tablo 4-18).

Tablo 4-11: Hasta miRNA gen ifade düzeyinin tümör boyutu ile karşılaştırılması

	Tümör Boyutu	N		miR142-3p
--	--------------	---	--	-----------

miR142-3p	<2 cm	32	Mann-Whitney U	1729,000
	>=2 cm	115	Wilcoxon W	2257,000
	Toplam	147	Z	-,521
			p değeri	,602

Cerrahi durumuna göre, operasyon geçirmeyen hastaların %60(3/5)'inde miR-142-3p ekspresyon seviyesi artmıştır, %40(2/5)'inde azalmıştır. Operasyon geçiren hastaların %73,9(105/142)'unda miR-142-3p ekspresyon seviyesi artmıştır, %26,1(37/142)'inde azalmıştır (Tablo 4-18).

Son duruma göre; ex olan hastaların %67,4(31/46)'ünde miR-142-3p ekspresyon seviyesi artmıştır, %32,6(15/46)'sında azalmıştır. Hayatta olan hastaların %76(76/100)'sında miR-142-3p ekspresyon seviyesi artmıştır, %24(24/100)'ünde azalmıştır (Tablo 4-18).

Ailede toplam kanser sayısına göre, aile hikâyesinde 2 kişiden daha azında kanser bulunan hastaların %80,4(41/51)'ünde miR-142-3p ekspresyon seviyesi artmıştır, %19,6(10/51)'sında azalmıştır. Aile hikâyesinde 2 veya daha fazla kişide kanser bulunan hastaların %69,8(67/96)'inde miR-142-3p ekspresyon seviyesi artmıştır, %30,2(29/96)'sinde azalmıştır (Tablo 4-18).

Tablo 4-12: Hasta miRNA gen ifade düzeyinin ailede toplam kanser sayısı ile karşılaştırılması

	Ailede toplam kanser	N		miR142-3p
miR142-3p	<2	51	Mann-Whitney U	2156,000
	=>2	96	Wilcoxon W	6812,000
	Toplam	147	Z	-1,188
			p değeri	,235

Ailede over ve meme kanser sayısına göre, aile hikâyesinde 2 kişiden daha azında over veya meme kanseri bulunan hastaların %75,5(71/94)'inde miR-142-3p ekspresyon seviyesi artmıştır, %24,5(23/94)'inde azalmıştır. Aile hikâyesinde 2 veya daha fazla kişide azında over veya meme kanseri bulunan hastaların %69,8(37/53)'inde miR-142-3p ekspresyon seviyesi artmıştır, %30,2(16/53)'sinde azalmıştır (Tablo 4-18).

Tablo 4-13: Hasta miRNA gen ifade düzeyinin ailede meme-over kanseri sayısı ile karşılaştırılması

	Ailede over ve meme kanseri	N		miR142-3p
miR142-3p	<2 meme ve over kanseri	94	Mann-Whitney U	2402,000
	>=2 meme ve over kanseri	53	Wilcoxon W	3833,000

Toplam	147	Z	-,359
		p değeri	,720

Gebelik durumuna göre, gebelik geçmişi olmayan hastaların %71(22/31)'inde miR-142-3p ekspresyon seviyesi artmıştır, %29(9/31)'unda azalmıştır. Gebelik geçmişi olan hastaların %74,1(86/116)'inde miR-142-3p ekspresyon seviyesi artmıştır, %25,9(30/116)'unda azalmıştır (Tablo 4-18).

Tablo 4-14: Hasta miRNA gen ifade düzeyinin gebelik durumu ile karşılaştırılması

	Gebelik	N		miR142-3p
miR142-3p	Hayır	31	Mann-Whitney U	1716,000
	Evet	116	Wilcoxon W	2212,000
	Toplam	147	Z	-,389
			p değeri	,697

Menopoz durumuna göre, premenopoz olan hastaların %70,6(48/68)'sında miR-142-3p ekspresyon seviyesi artmıştır, %29,4(20/68)'ünde azalmıştır. Postmenopoz olan hastaların %75,9(60/79)'unda miR-142-3p ekspresyon seviyesi artmıştır, %24,1(19/79)'inde azalmıştır (Tablo 4-18).

Tablo 4-15: Hasta miRNA gen ifade düzeyinin menopoz durumu ile karşılaştırılması

	Menopoz Durumu	N		miR142-3p
miR142-3p	Premenopoz	68	Mann-Whitney U	2671,000
	Postmenopoz	79	Wilcoxon W	5017,000
	Toplam	147	Z	-,058
			p değeri	,954

Oral kontraseptif (OK) durumuna göre; OK kullanmayan hastaların %71,6(73/102)'sında miR-142-3p ekspresyon seviyesi artmıştır, %28,4(29/102)'ünde azalmıştır. OK kullanan hastaların %77,8(35/45)'inde miR-142-3p ekspresyon seviyesi artmıştır, %22,2(10/45)'sinde azalmıştır (Tablo 4-18).

Tablo 4-16: Hasta miRNA gen ifade düzeyinin oral kontraseptif kullanımı ile karşılaştırılması

	Oral Kontraseptif	N		miR142-3p
miR142-3p	Hayır	102	Mann-Whitney U	2148,000
	Evet	45	Wilcoxon W	7401,000
	Toplam	147	Z	-,618
			p değeri	,537

İnfertilite tedavi durumuna göre, infertilite tedavisi almayan hastaların %73,6(103/140)'sında miR-142-3p ekspresyon seviyesi artmıştır, %26,4(37/140)'sında azalmıştır. Geçmişinde infertilite tedavi alan hastaların %71,4(5/7)'ünde miR-142-3p ekspresyon seviyesi artmıştır, %28,6(2/7)'sında azalmıştır (Tablo 4-18).

Tablo 4-17: Hasta miRNA gen ifade düzeyinin infertilite tedavisi ile karşılaştırılması

	İnfertilite Tedavisi	N		miR142-3p
miR142-3p	Hayır	140	Mann-Whitney U	480,000
	Evet	7	Wilcoxon W	508,000
	Toplam	147	Z	-,091
			p değeri	,928

Tablo 4-18: miR142-3p'nin ekspresyon düzeyi ile hastaların klinik özelliklerinin karşılaştırılması

Yaş	miR-142-3p Ekspresyonu		Toplam
	Azalmış	Artmış	
<40 yaş	7 (%4,8)	17 (%11,6)	24 (%16,3)
≥40 yaş	32 (%21,8)	91 (%61,9)	123 (%83,7)
Klinik Evre	miR-142-3p Ekspresyonu		Toplam
	Azalmış	Artmış	
Erken evre (1-2)	7 (%4,8)	15 (%10,2)	22 (%15)
İleri evre (3-4)	32 (%21,7)	93 (%63,3)	125 (%85)
Patolojik Evre	miR-142-3p Ekspresyonu		Toplam
	Azalmış	Artmış	
Evre 1	2 (%1,4)	6 (%4,1)	8 (%5,4)
Evre 2	5 (%3,4)	8 (%5,4)	13 (%8,8)
Evre 3	21 (%14,3)	71 (%48,3)	92 (%62,6)
Evre 4	11 (%7,5)	23 (%15,6)	34 (%23,1)
Histolojik Grade	miR-142-3p Ekspresyonu		Toplam
	Azalmış	Artmış	
Grade 1	1 (%0,7)	4 (%2,7)	5 (%3,4)
Grade 2	9 (%6,1)	25 (%17)	34 (%23,1)
Grade 3	29 (%19,7)	79 (%53,7)	108 (%73,5)
Tümör Boyutu	miR-142-3p Ekspresyonu		Toplam
	Azalmış	Artmış	
<2 cm	11 (%7,5)	21 (%14,3)	32 (%21,8)
≥2 cm	28 (%19)	87 (%59,20)	115 (%78,2)
Cerrahi	miR-142-3p Ekspresyonu		Toplam
	Azalmış	Artmış	

Hayır	2 (%1,4)	3 (%2)	5 (%3,4)
Evet	37 (%25,2)	105 (%71,4)	142 (%96,6)
Gebelik	miR-142-3p Ekspresyonu		Toplam
	Azalmış	Artmış	
Hayır	9 (%6,1)	22 (%15)	31 (%21,1)
Evet	30 (%20,4)	86 (%58,5)	116 (%78,9)
Menopoz	miR-142-3p Ekspresyonu		Toplam
	Azalmış	Artmış	
Premenopoz	20 (%13,6)	48 (%32,7)	68 (%46,3)
Postmenopoz	19 (%12,9)	60 (%40,8)	79 (%53,7)
Oral Kontraseptif	miR-142-3p Ekspresyonu		Toplam
	Azalmış	Artmış	
Hayır	29 (%19,7)	73 (%49,7)	102 (%69,4)
Evet	10 (%6,8)	35 (%23,8)	45 (%30,6)
İnfertilite Tedavisi	miR-142-3p Ekspresyonu		Toplam
	Azalmış	Artmış	
Hayır	37(%25,2)	103(%70,1)	140 (%95,2)
Evet	2(%1,4)	5(%3,4)	7 (%4,8)
Metastaz	miR-142-3p Ekspresyonu		Toplam
	Azalmış	Artmış	
Hayır	15(%10,2)	30 (%20,4)	45 (%30,6)
Evet	24(%16,3)	78 (%53,1)	102 (%69,4)
Ailede over ve meme ca	miR-142-3p Ekspresyonu		Toplam
	Azalmış	Artmış	
<2	23 (%15,6)	71 (%48,3)	94 (%63,9)
≥2	16 (%10,9)	37 (%25,2)	53 (%36,1)
Ailede toplam kanser	miR-142-3p Ekspresyonu		Toplam
	Azalmış	Artmış	
<2	10(%6,8)	41 (%27,9)	51 (%34,7)
≥2	29(%19,7)	67 (%45,6)	96 (%65,3)
Toplam	39 (%26,5)	108 (%73,5)	147 (%100)
Son durum	miR-142-3p Ekspresyonu		Toplam
	Azalmış	Artmış	
Öldü	15(%10,3)	31(%21,2)	46 (%31,5)
Hayatta	24(%16,4)	76(%52,1)	100 (%68,5)
Toplam	39 (%26,7)	107 (%73,3)	146 (100,0%)

Over histolojik alt tipine göre, seröz tipli over hastalarının %84,6(11/13)'sında miR-142-3p ekspresyon seviyesi artmıştır, %15,4(2/13)'ünde azalmıştır. Müsinöz tipli over hastalarının %66,7(4/6)'sinde miR-142-3p ekspresyon seviyesi artmıştır,

%33,3(2/6)'ünde azalmıştır. Papiller, endometrioid tipli ve skuamöz hücreli over hastalarının %100(1/1)'ünde miR-142-3p ekspresyon seviyesi artmıştır. Adenokarsinoma tipli over hastalarının %69(20/29)'unda miR-142-3p ekspresyon seviyesi artmıştır, %31(9/29)'unda azalmıştır. Seröz adenokarsinoma tipli over hastalarının %69,1(38/55)'inde miR-142-3p ekspresyon seviyesi artmıştır, %30,9(17/55)'unda azalmıştır. Seröz papiller adenokarsinoma tipli over hastalarının %75,8(25/33)'inde miR-142-3p ekspresyon seviyesi artmıştır, %24,2(8/33)'sinde azalmıştır. Berrak hücreli karsinoma tipli over hastalarının %87,5(7/9)'inde miR-142-3p ekspresyon seviyesi artmıştır, %12,5(1/8)'inde azalmıştır((Tablo 4-19).

Tablo 4-19: miR-142-3p ekspresyon seviyesinin over histolojik alt tipine göre dağılımı

Histolojik alt tip	miR-142-3p Ekspresyonu		Toplam
	Azalmış	Artmış	
Seröz	2 (%1,4)	11 (%7,5)	13 (%8,8)
Müsinöz	2 (%1,4)	4 (%2,7)	6 (%4,1)
Papiller	0 (%0)	1 (%0,7)	1 (%0,7)
Skuamöz hücreli karsinoma	0 (%0)	1 (%0,7)	1 (%0,7)
Adenokarsinoma	9 (%6,1)	20 (%13,6)	29 (%19,7)
Seröz adenokarsinoma	17 (%11,6)	38 (%25,9)	55 (%37,4)
Seröz papiller adenokarsinoma	8 (%5,4)	25 (%17)	33 (%22,4)
Berrak hücreli karsinoma	1 (%0,7)	7 (%4,8)	8 (%5,4)
Endometrioid	0 (%0)	1 (%0,7)	1 (%0,7)
Toplam	39 (%26,5)	108 (%73,5)	147 (100,0%)

4.5. miR-142-3p Ekspresyon Seviyesinin Aile Hikayesi ile Karşılaştırılması

İncelediğimiz miRNA ifade düzeyinin, hastaların ailesinde 4 jenerasyon hiç kanser bulundurmeyen ve ailesinde en az bir kişide kanser vakası bulunduran kişiler ile arasında bir ilişkinin olup olmadığını anlamak için Pearson Chi-Square analizi gerçekleştirilmiştir. miR-142-3p geninin ekspresyon düzeyi ile akrabalarda kanser olup olmama durumu arasında istatistiksel bir anlam bulunmuştur ($p<0,05$) (Tablo 4-21). Over kanserli hastaların dört nesil boyu akrabalarında hiç kanser bulundurmeyenlerin %94,4(17/18)'ünde miR-142-3p ekspresyon seviyesi artmıştır, %5,6(1/18)'sında azalmıştır. Akrabalarında en az bir kanser vakası bulunduran hastaların %70,5(91/129)'inde miR-142-3p ekspresyon seviyesi artmıştır, %29,5(38/129)'inde azalmıştır (Tablo 4-20).

Tablo 4-20: Aile bulunan kanser vakalarına göre miR-142-3p ekspresyon durumu

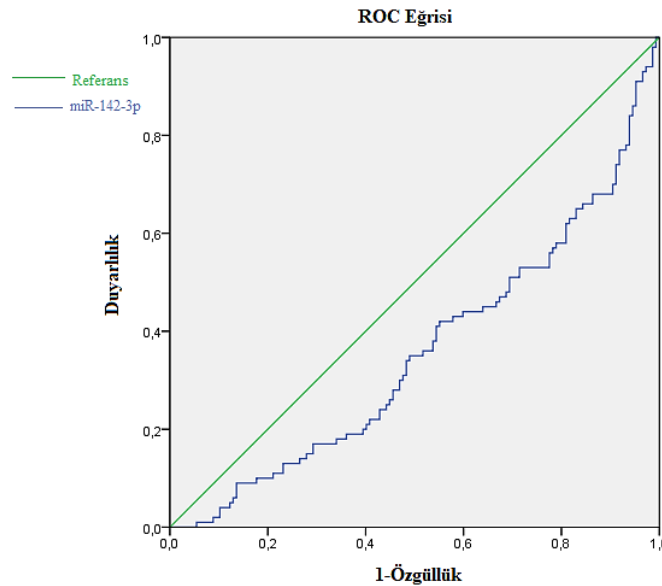
4 jenerasyonda en az 1 vaka	miR-142-3p Ekspresyonu		Toplam
	Azalmış	Artmış	
Yok	1 (%5,6)	17 (%94,4)	18 (%12,2)
Var	38 (%29,5)	91 (%70,5)	129 (%87,8)
Toplam	39 (%26,5)	108 (%73,5)	147 (100,0%)

Tablo 4-21: Ailede bulunan kanser vakalarının istatistiksel olarak değerlendirilmesi

	Value	df	p değeri
Pearson Chi-Square	4,630 ^a	1	,031
Likelihood Ratio	5,966	1	,015
Linear-by-Linear Association	4,598	1	,032

4.6. ROC Analizi

Receiver Operating Characteristic (ROC) eğrisi, tanı testlerinin duyarlılık ve özgüllüğünü gösterir. İncelediğimiz miR-142-3p molekülünün aday biyobelirteç olarak tanısal performansını diğer bir deyişle over kanserli hasta ve sağlıklı kontrol grubunu ayırt edebilme gücünü gösterebilmek amacı ile Receiver Operator Characteristics (ROC) analizi gerçekleştirildi (Şekil 4-4).

**Şekil 4-4: mir-142-3p ekspresyon düzeyinin ROC Eğri Analizi**

Testin güvenilir olabilmesi için ROC eğrisi altında kalan bölgenin 0,5 ile 1 arasında olması gerekir. miR-142-3p için ROC-AUC değerleri ve %95 CI (Güven Aralığı) sonuçları Tablo 4-22'de belirtilmiştir. Yapılan analize göre over kanserli hastaların

tanısında miR-142-3p miRNA değişkenlerinin tanısal gücü istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0.005$).

Tablo 4-22: Over kanserli hasta ve sağlıklı grubun ayrılmasında miR-142-3p'nin ROC-AUC değeri ve güven aralığı

miRNA	ROC-AUC	%95 CI	p değeri
miR-142-3p	0,355	0,285 - 0,425	0.000

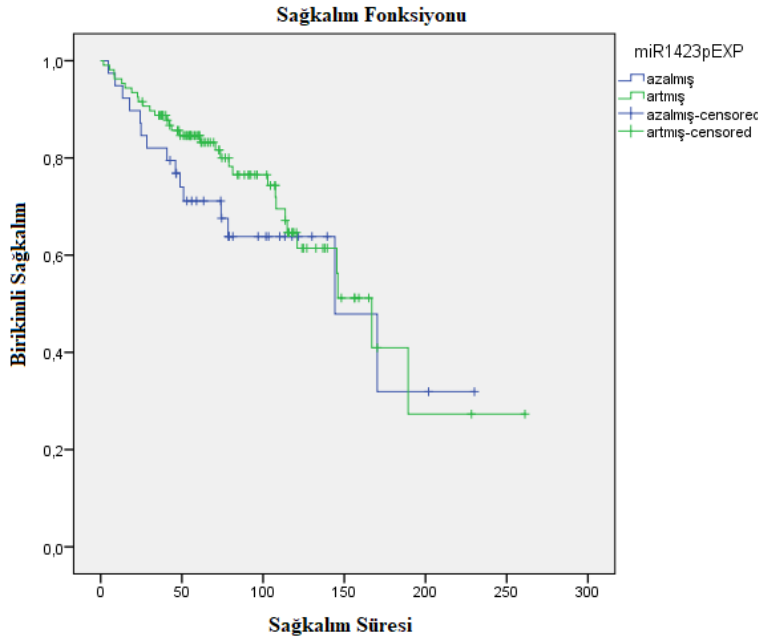
4.7. Sağkalım Analizi

Çalışmada incelediğimiz over kanserli hastaların ortalama sağkalım süresi 80 (SD ± 49) aydır ve 2010-2019 yılları arasında taradığımız 147 hastadan, 47(%32)'sinin öldüğü, 100 (%68) hastanın tanıdan sonra hayatta kaldığı tespit edilmiştir. Araştırdığımız miR-142-3p ifade düzeyinin sağkalım süresini etkileyen değişkenler olup olmadığını incelemek amacı ile Kaplan-Meier analizi gerçekteştirilmiştir. Gen ifade düzeyleri ile sağkalım süresi arasında bir korelasyon bulunamamıştır ($p > 0.005$) (Tablo 4-23 ve şekil 4-5).

Tablo 4-23: Sağkalım süresi ile miR-142-3p ekspresyon düzeyi arasındaki korelasyonunun değerlendirilmesi

	Chi-Square	df	p değeri
Log Rank (Mantel-Cox)	,799	1	,371
Breslow (Generalized Wilcoxon)	1,959	1	,162
Tarone-Ware	1,579	1	,209

Şekil 4-5: Over kanserli hastaların sağkalm süresinin grafiği



4.8. String Analizi

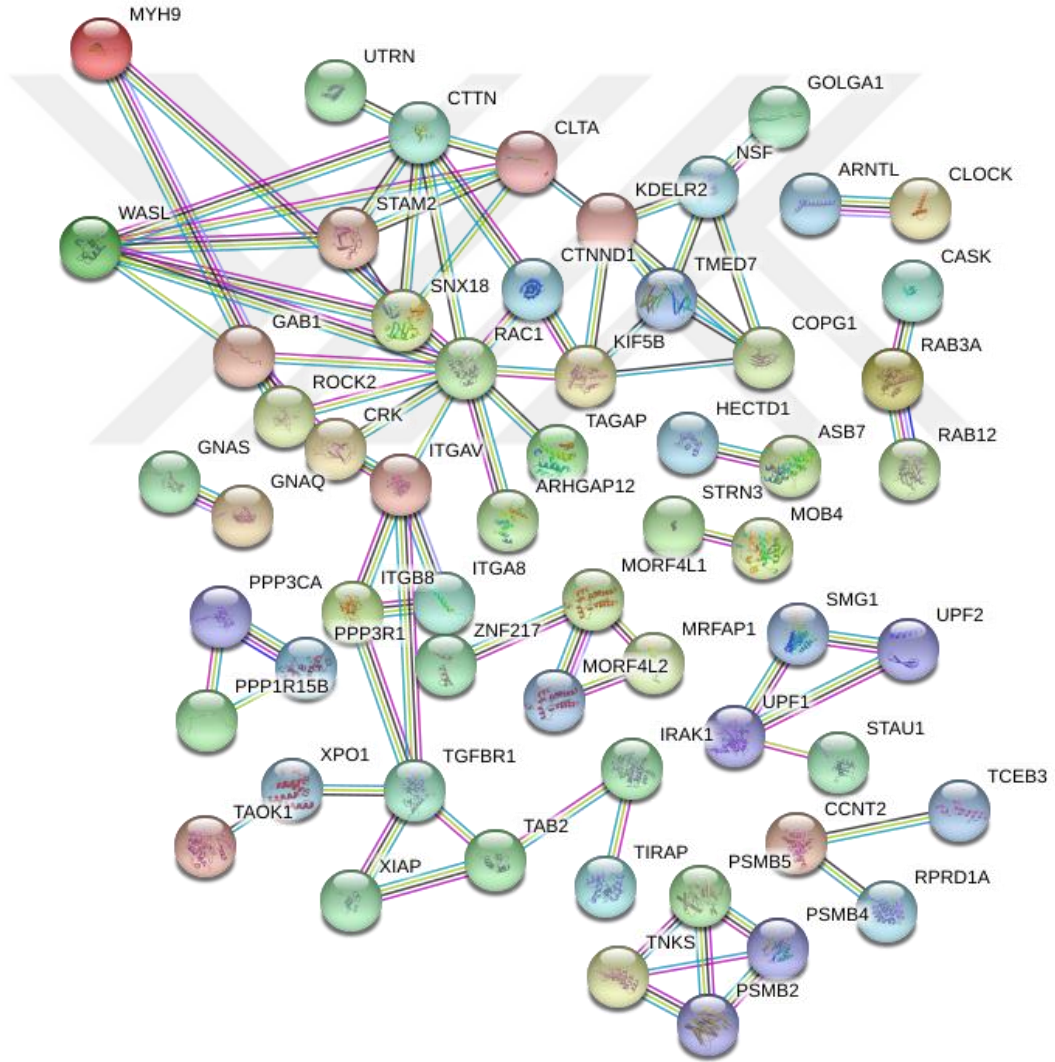
miR-142-3p'nin hedef genleri miRTarBase ve TargetScan veritabanları aracılığıyla tarandı. Toplam hsa-miR-142-3p için 376 hedef gen belirlendi, diğer veritabanlarıyla karşılaştırılarak 151 hedef gene düşürüldü. Bir dizi gen verisi belirlendi. Ardından bu veriler ile protein etkileşimlerini analiz eden STRING veritabanı kullanıldı. Şekil 4-6'de gösterilen STRING analizi sonucunda anlamlı bir sonuç elde edildi ($p=0,00000238$).

String analizi sonucuna göre miR-142-3p ile ilişkili olan en önemli hedef genler *MYH9*, *ARNTL*, *CCNT2*, *IRAK1*, *TAB2*, *TIRAP*, *WASL*, *GNAQ* ve *RAC1* olarak belirlendi. Literatürde bu genler ile tümör ilişkisi üzerine yapılan çalışmalar mevcuttur. Normalde tümör baskılayıcı görevi olan ve miR-142-3p'nin hedefi olan *MYH9* geni, miRNA'nın aşırı ekspresyonu etkisiyle, *MYH9* genini baskılar ve genin fonksiyonunu bozarak deney sonucunda *MYH9* gen mutasyonu benzeri bir sonuç elde edildiği bildirilmiştir [75]. Mide kanserinde miR-142-3p'nin düşük ekspresyonu, *CCNT2* ekspresyonunda artışa neden olarak karsinogeneze neden olduğu bildirilmiştir [76]. Başka bir çalışmada, *GNAQ*, *WASL* ve *RAC1* genlerinin miR-142-3p'nin yüksek ekspresyonu ile baskılanarak tümöre sebep olduğunu ifade etmektedir [77]. Diğer önemli proteinlerden biri ise *ARNTL*'dir. *ARNTL* proteini, kritik bir sirkadiyen transkripsiyon faktörü olan *BMAL1* geni tarafından kodlanmaktadır. *ARNTL* geninin insan genomunda 150'den fazla bölgeyi hedef aldığı bilinmektedir ve *ARNTL* geninin baskılanması, *CDK*

inhibitörü olan *p21*'i modüle ederek kanserlerin çoğunda mutasyonlu bulunan *p53* genini inaktive etmektedir [78, 79].

Sonuç olarak miR-142-3p'nin hem onkogenik hem tümör süpresör görevi olduğu anlaşılmaktadır. Ancak over kanseri üzerine yaptığımız bu tez çalışmasında çıkan sonuçlara göre onkogenik yollar ile kanser mekanizmasına dahil olduğu düşünülmektedir.

Şekil 4-6: mir-142-3p'nin Protein Etkileşimini Gösteren String Analizi



5. TARTIŞMA

Over kanseri, kadınlar arasında sık görülen ve tedavisi zor olan bir jinekolojik kanserdir. Globocan verilerine göre dünyada 2018 yılında 295.414 yeni vaka görülmüştür ve 184.799 kadın hayatını kaybetmiştir. Ülkemizde ise 2018 TÜİK istatistiklerine göre 3.729 yeni kanser vakası görülmüş olup ve bu kanser 2.191 kadının hayatını kaybetmesine neden olmuştur. Dünya genelinde görülme sıklığı 100.000’de 6,6 iken mortalite sıklığı 3,9 oranıyla kadınlar arasında ölümcül jinekolojik kanser sıralamasında rahim ağzından sonra ikinci sırada yer aldığı bildirilmiştir. Türkiye’de görülme sıklığı 100.000’de 7,5, Merkez ve Doğu Avrupa başta olmak üzere gelişmiş ülkelerde 100.000’de 9’dan fazla kişide görülmesi en yüksek insidansa sahip bölgeler olarak bildirilmiştir [27] [22].

Over dokusu çok çeşitli hücre grubunu kapsamaktadır. Kanserin %90’ından fazlası epitelyal kökenlidir. Kanserin gelişiminde etkisi olan genetik, çevresel ve hormonal faktörler bu kanserin daha iyi tanımlanabilmesi için farklı tümör gruplarında sınıflandırılmıştır [15-17]. Over kanserinin patogenezinin aydınlatılamamasının nedeni, kanserli dokunun değişik bölgelerinden alınan örneklerde bulunan heterojenite ile açıklanmaktadır. Bu heterojenliği oluşturan mekanizmalar epigenetik ve genetik mekanizmalardır. Epigenetik mekanizmalar metilasyon ve modifikasyonların dışında mikroRNA’ların regülatör özelliklerini de kapsamaktadır. Bağlandığı mRNA’yı yıkıma uğratarak kanser dahil birçok hastalıkta regülatör olarak görev yapan bu küçük kodlanmayan RNA parçaları olan miRNA’ların, kanserde onkogen ve tümör baskılayıcı görevi üstlendiği bilinmektedir. miRNA’lar, özellikle over kanserinin tanı sürecinde, hassas ve minimal invaziv yönetime uygun biyobelirteç adayı olarak görülmektedir. Literatürde miRNA’lar üzerine yapılan çalışmalara göre biyobelirteç olmanın yanı sıra hastalığın prognozunu belirlemede, tümörlü dokunun metastaz eğiliminde ve kemoterapi yanıtında da belirleyici bir faktör olduğu gözlenmiştir. Aynı zamanda miRNA mimikleri veya antagonistleri kullanılarak, tedavi etkinliği yükseltilmektedir. Hala over kanserinin erken tanı almasında etkili olabilecek faktörler belirlenememiştir, bu durum hastanın geç tanı alma riskini daha da artırmaktadır ve etkin tedavi uygulanamamaktadır. Over kanseri biyobelirteçlerinin çalışılması, over biyolojisini

daha iyi anlamamız ve kanserin tanı, prognoz ve tedavisini daha iyi kavramamız açısından yararlı olacaktır.

Çalışmamızda araştırılan miR-142-3p, daha önce Kanser Genetiği araştırma ekibine ait olan ve İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenen tez projesinde over kanseri ile ilişkisi bulunan 97 aday miRNA arasından seçilmiştir. Periferik kandan elde edilen lenfositlerle çalışılan miR-142-3p, 147 hasta ve 100 sağlıklı örneğin Real Time PCR sonuçlarının analizleri karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir. Bu sonuçlara göre miR-142-3p ekspresyon seviyesi, over kanserli hastalarımızda sağlıklı kontrollerimize göre 3,11 kat fazla bulunmuş olup, istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde ($p=0,00$) artmıştır. Ekspresyon seviyesinde oluşan bu artış bahsi geçen mikroRNA'nın onkogen görevi görerek tümör süpresör genleri inhibe etmesiyle hücreyi kanserleşmeye teşvik ettiği düşünülmektedir. miRNA ekspresyon seviyesi ile hastaların klinik bilgileri, tanı ve aile hikayeleri detaylı olarak analiz edildi. miRNA ifadesi over, over-meme, over-endometriyum ve over-diğer kanser gruplarına göre analiz edildiğinde istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Bu sonuçlara göre sadece over kanserli olan hastalarımızın çoğunluğu miR-142-3p ekspresyon düzeyinin yüksek olduğu görülmüştür. Metastaz varlığı, evresi, yaşı, oral kontraseptif kullanımı ve diğer klinik veriler ile miR-142-3p arasında herhangi bir ilişki bulunamamıştır ($p>0,05$). Ek olarak miRNA ekspresyon seviyesi ile kanser hastalarının 4 nesil akrabalarında hiç kanser bulundurmama ve en az 1 kişide bulunduran kişilerle karşılaştırmalı değerlendirildiğinde sonuçların istatistiksel olarak anlamlı olduğu gösterilmiştir ($p<0,05$). Bu bilgilere göre, ailede miRNA seviyesi ve kanser geçişi arasında genetik bir bağlantı olabileceği sonucuna varılmıştır. Ayrıca miR-142-3p'nin tanısal gücünün aydınlatılması için ROC analizi yapılmış ve söz konusu miR-142-3p molekülünün periferik kanda sağlıklı kontrollre göre over kanserin ayırt etme gücünün olduğu gösterilmiştir ($p<0,05$).

Literatürde over kanseri ile miRNA arasındaki ilişkiyi kanserleşme, prognoz, invazyon vb her aşamasında inceleyen birçok çalışma mevcuttur. Bu çalışmalardan ilkinde normal ve kanserli dokuda miRNA'nın ekspresyon düzeyinin farklılık gösterdiği bildirilmiş ve bu farklılığın her iki dokuyu birbirinden ayıracak nitelikte olduğu gösterilmiştir [80]. Bu çalışmada belirgin derecede aşırı eksprese edilen miRNA'lar miR-200a, miR-141, miR-200c ve miR-200b iken, düşük eksprese edilen miRNA'lar miR-199a, miR-140, miR-145 ve miR-125b1'dir. Ayrıca, ekspresyona göre histolojik tipi,

lenfovasküler ve metastaz ile over yüzeyinin tutulumu gibi spesifik over kanseri özellikleri ile ilişkili olan miRNA'lar da belirlenebildiği ifade edilmektedir [80]. Yine miR-155 ekspresyonunun over kanserlilerde yukarı regüle edildiği bulunmuştur [80]. Diğer bir çalışmaya göre miR-126'nın, over kanseri *SKOV3* hücre hattında, tümörlü kanser hücrelerini *PAK4* ekspresyonunu inhibe ederek tümör süpresör benzeri bir etkiye sahip olduğu belirtilmektedir [81]. Yamamoto ve ark., endometrial kanserde düşük regüle edildiği bulunan miR-1 /133a kümesinin *PDE7A* genini hedefleyerek aşırı ekspresyonuna neden olduğu bulunmuştur. Bu da kanserli hücre göçünü tetikleyerek metastaza neden olduğu bulunmuş ve miRNA ekspresyon seviyesini düzenleyerek metastazı inhibe edebileceklerini bulmuşlardır [82]. Metastaz ve nüks ile ilişkili diğer miRNA'lar ise miR-200 ve miR-429 olduğu belirtilmiştir [83]. Yine over kanserinde yapılan çalışmalara göre, tümör büyümesi, metastaz yeteneği, tümörün malign ve benign farklılığı, prognoz durumu ve tümör anjiyogenezi ilişkili olan miRNA'lar let-7b [84], let-7f [84], miR-200 ailesi [85, 86] olarak sıralanmaktadır.

Araştırma konumuz olan miR-142-3p ve kanser arasında bir ilişkinin olup olmadığını belirlemek üzere yapılan literatür taramasında miR-142-3p bazı çalışmalarda tümör süpresör, bazılarında ise onkogen görevi gördüğü belirtilmiştir. Yüksek miR-142-3p ekspresyon düzeyinin prostat kanserinde [70], kolorektal kanserinde [71], lösemide [72] ve özofagus [87] kanserinde onkojenik bir rol oynadığı görülmektedir. Renal hücreli karsinomda (RCC)'da bir onkogen olan miR-142-3p'nin inhibitörü ile indüklenen miR-142-3p'nin aşağı regülasyonunun, hücre göçünü ve proliferasyonunu önemli ölçüde baskıladığı ve hücre apoptozunu indüklediği bildirilmektedir [88]. Düşük seviyede bulunan miR-142-3p'nin tümör süpresör olarak işlev gördüğü bazı kanser çalışmaları tarafından desteklenmektedir. Normal miyeloid farklılaşmasında düzenleyici olduğu bilinen miR-142-3p, akut miyeloid lösemide düşük seviyede bulunmuştur [63]. Serviks kanserinde kötü prognoza sebep olarak [65], meme kanserinde invazivliği etkinleştirerek [66] ve kolorektal kanserde CDK4'ün proliferasyonu tetiklemesiyle [69] kanserde etkin olduğu belirtilmektedir. Literatürde miR-142-3p ve over kanseri arasında bir ilişkinin varlığını ve bu molekülün over kanseri vakalarının periferik kanında inceleyen bir çalışma bulunmamaktadır. Tez çalışması periferik kanda miR-142-3p ve over kanseri arasındaki ilişkiyi bildiren ilk çalışmadır.

miR-142-3p'nin hangi proteinlerle etkileşime girdiğini belirlemek üzere yapılan STRING analizinde miR-142-3p ile ilişkili genlere dair yapılan literatür taramasında

miR-142-3p'nin hem onkogen hem de tümör süpresör olarak görev yaptığı görülmüştür. Deneilerin her biri farklı kanser dokularında yapıldığından miR-142-3p ekspresyon düzeyinin over kanser dokusunda nasıl bir etki gösterdiğine dair bir çıkarımda bulunmak mümkün olmamaktadır. Bu tez çalışmasınının zayıf yanlarından biri over kanserli hastaların dokularında miR-142-3p ekspresyon düzeyinin çalışılmamış olmasıdır. Ancak araştırdığımız miR-142-3p sağlıklı kontrollere göre over kanserli hastaların periferik kanında 3,11 kat fazla eksprese edildiğinden miR-142-3p'nin, bağlandığı hedef mRNA seviyesini düşürerek onkogenik yollar ile kanser mekanizmasına dahil olduğu düşünülmektedir. Ancak karsinogeneze neden olan hedef genlerin belirlenmesi için ileri çalışmaların yapılması gerekmektedir.

Tüm veriler göz önüne alındığında, miR-142-3p molekülü over kanserinde biyobelirteç ve teröpotik hedef olabilmesi için mekanizmaları aydınlatan bazı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Aynı zamanda miRNA seviyesi ile ailede kanser vakasının görülme sıklığının korele gitmesi miR-142-3p'nin henüz aydınlatılmayan bazı genetik yollar ile bağlantılı olarak ailesel kanser hikayesini artırdığını da düşündürmektedir. Over kanserli ve sağlıklı kontrol grubunun periferik kanında incelenen miR-142-3p'nin anlamlı olarak bulunması tanı, tedavi ve takipte umut vaat etmektedir. Ancak over kanserli hastaların tanı ve tedavisini geciktiren heterojenite nedeniyle tek bir biyobelirteç yeterli olmayacaktır. Çalışma sonuçlarımız miR-142-3p molekülünün over kanseri tanısında non-invaziv biyobelirteç niteliği taşıdığını göstermektedir. Ancak bu molekülün overin benign hastalıklarında da değerlendirilmesi ve bunun için ileri araştırmalara gereksinim duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Bray, F., et al., *Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries*. CA Cancer J Clin, 2018. **68**(6): p. 394-424.
2. Yoneda, A., et al., *Breast and ovarian cancers: a survey and possible roles for the cell surface heparan sulfate proteoglycans*. J Histochem Cytochem, 2012. **60**(1): p. 9-21.
3. Bankhead, C.R., et al., *Identifying symptoms of ovarian cancer: a qualitative and quantitative study*. BJOG, 2008. **115**(8): p. 1008-14.
4. Wynn, M.L., S. Chang, and L.A. Peipins, *Temporal patterns of conditions and symptoms potentially associated with ovarian cancer*. J Womens Health (Larchmt), 2007. **16**(7): p. 971-86.
5. Goff, B.A., et al., *Frequency of symptoms of ovarian cancer in women presenting to primary care clinics*. JAMA, 2004. **291**(22): p. 2705-12.
6. Monk, B.J. and P.J. Anastasia, *Ovarian Cancer: Current Treatment and Patient Management*. J Adv Pract Oncol, 2016. **7**(3): p. 271-273.
7. Plank, M., et al., *Targeting translational control as a novel way to treat inflammatory disease: the emerging role of microRNAs*. Clin Exp Allergy, 2013. **43**(9): p. 981-99.
8. Tan, W., et al., *MicroRNAs and cancer: Key paradigms in molecular therapy*. Oncol Lett, 2018. **15**(3): p. 2735-2742.
9. https://embryology.med.unsw.edu.au/embryology/index.php/Ovary_Development.
10. Hernandez Gifford, J.A., *The role of WNT signaling in adult ovarian folliculogenesis*. Reproduction, 2015. **150**(4): p. R137-48.
11. Gibson, E. and H. Mahdy, *Anatomy, Abdomen and Pelvis, Ovary*, in StatPearls. 2020: Treasure Island (FL).
12. Blaustein A. (1977) *Anatomy and Histology of the Human Ovary*. In: Blaustein A. (eds) *Pathology of the Female Genital Tract*. Springer, New York, NY.
13. <https://www.britannica.com/science/ovary-animal-and-human>.
14. <https://instruction.cvhs.okstate.edu/Histology/fr/HiFRp03.htm>. Available from: <https://instruction.cvhs.okstate.edu/Histology/fr/HiFRp03.htm>.
15. Prat, J., *New insights into ovarian cancer pathology*. Ann Oncol, 2012. **23 Suppl 10**: p. x111-7.
16. Wentzensen, N., et al., *Ovarian Cancer Risk Factors by Histologic Subtype: An Analysis From the Ovarian Cancer Cohort Consortium*. J Clin Oncol, 2016. **34**(24): p. 2888-98.
17. Kurman, R.J. and M. Shih Ie, *The Dualistic Model of Ovarian Carcinogenesis: Revisited, Revised, and Expanded*. Am J Pathol, 2016. **186**(4): p. 733-47.
18. Lengyel, E., *Ovarian cancer development and metastasis*. Am J Pathol, 2010. **177**(3): p. 1053-64.
19. Kurman, R.J., *Origin and molecular pathogenesis of ovarian high-grade serous carcinoma*. Ann Oncol, 2013. **24 Suppl 10**: p. x16-21.

20. *The Biology of Ovarian Cancers*, in *Ovarian Cancers: Evolving Paradigms in Research and Care*. 2016 Apr 25.: Washington (DC): National Academies Press (US).
21. Kurman, R.J. and M. Shih Ie, *Pathogenesis of ovarian cancer: lessons from morphology and molecular biology and their clinical implications*. Int J Gynecol Pathol, 2008. **27**(2): p. 151-60.
22. Hunn, J. and G.C. Rodriguez, *Ovarian cancer: etiology, risk factors, and epidemiology*. Clin Obstet Gynecol, 2012. **55**(1): p. 3-23.
23. Chornokur, G., et al., *Global ovarian cancer health disparities*. Gynecol Oncol, 2013. **129**(1): p. 258-64.
24. Torre, L.A., et al., *Ovarian cancer statistics, 2018*. CA Cancer J Clin, 2018. **68**(4): p. 284-296.
25. <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/ovary.html>.
26. Sankaranarayanan, R. and J. Ferlay, *Worldwide burden of gynaecological cancer: the size of the problem*. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol, 2006. **20**(2): p. 207-25.
27. <https://geo.iarc.fr/today/data/factsheets/cancers/25-Ovary-fact-sheet.pdf>.
28. Momenimovahed, Z., et al., *Ovarian cancer in the world: epidemiology and risk factors*. Int J Womens Health, 2019. **11**: p. 287-299.
29. Mok, S.C., et al., *Etiology and pathogenesis of epithelial ovarian cancer*. Dis Markers, 2007. **23**(5-6): p. 367-76.
30. McLemore, M.R., et al., *Epidemiological and genetic factors associated with ovarian cancer*. Cancer Nurs, 2009. **32**(4): p. 281-8; quiz 289-90.
31. Jolles, C.J., *Ovarian cancer: histogenetic classification, histologic grading, diagnosis, staging, and epidemiology*. Clin Obstet Gynecol, 1985. **28**(4): p. 787-99.
32. Salazar, C., I.G. Campbell, and K.L. Gorringer, *When Is "Type I" Ovarian Cancer Not "Type I"? Indications of an Out-Dated Dichotomy*. Front Oncol, 2018. **8**: p. 654.
33. Umakanthan, S., V.K. Chattu, and S. Kalloo, *Global epidemiology, risk factors, and histological types of ovarian cancers in Trinidad*. J Family Med Prim Care, 2019. **8**(3): p. 1058-1064.
34. Lalwani, N., et al., *Histologic, molecular, and cytogenetic features of ovarian cancers: implications for diagnosis and treatment*. Radiographics, 2011. **31**(3): p. 625-46.
35. <https://www.figo.org/news/staging-ovftp-malignancies-0016123>.
36. Javadi, S., et al., *Ovarian Cancer, the Revised FIGO Staging System, and the Role of Imaging*. AJR Am J Roentgenol, 2016. **206**(6): p. 1351-60.
37. Orr, B. and R.P. Edwards, *Diagnosis and Treatment of Ovarian Cancer*. Hematol Oncol Clin North Am, 2018. **32**(6): p. 943-964.
38. <https://www.cancer.org/cancer/ovarian-cancer/detection-diagnosis-staging/how-diagnosed.html>.
39. Musto, A., et al., *Present and future of PET and PET/CT in gynaecologic malignancies*. Eur J Radiol, 2011. **78**(1): p. 12-20.
40. Wei, S.U., H. Li, and B. Zhang, *The diagnostic value of serum HE4 and CA-125 and ROMA index in ovarian cancer*. Biomed Rep, 2016. **5**(1): p. 41-44.
41. Doubeni, C.A., A.R. Doubeni, and A.E. Myers, *Diagnosis and Management of Ovarian Cancer*. Am Fam Physician, 2016. **93**(11): p. 937-44.

42. Di Lorenzo, G., et al., *Imaging and therapy of ovarian cancer: clinical application of nanoparticles and future perspectives*. *Theranostics*, 2018. **8**(16): p. 4279-4294.
43. *Diagnosis and Treatment*, in *Ovarian Cancers: Evolving Paradigms in Research and Care*. 2016 Apr 25: Washington (DC): National Academies Press (US).
44. H., Y., *Functions of miRNAs in the Development, Diagnosis, and Treatment of Ovarian Carcinoma*, H. Yazici, Editor. 2019.
45. Moga, M.A., et al., *Circulating miRNAs as Biomarkers for Endometriosis and Endometriosis-Related Ovarian Cancer-An Overview*. *J Clin Med*, 2019. **8**(5).
46. Mattick, J.S. and I.V. Makunin, *Small regulatory RNAs in mammals*. *Hum Mol Genet*, 2005. **14 Spec No 1**: p. R121-32.
47. Agrawal, S., et al., *The miRNA Mirage: How Close Are We to Finding a Non-Invasive Diagnostic Biomarker in Endometriosis? A Systematic Review*. *Int J Mol Sci*, 2018. **19**(2).
48. Hull, M.L. and V. Nisenblat, *Tissue and circulating microRNA influence reproductive function in endometrial disease*. *Reprod Biomed Online*, 2013. **27**(5): p. 515-29.
49. Hammond, S.M., *An overview of microRNAs*. *Adv Drug Deliv Rev*, 2015. **87**: p. 3-14.
50. Ranganathan, K. and V. Sivasankar, *MicroRNAs - Biology and clinical applications*. *J Oral Maxillofac Pathol*, 2014. **18**(2): p. 229-34.
51. Saini, H.K., S. Griffiths-Jones, and A.J. Enright, *Genomic analysis of human microRNA transcripts*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007. **104**(45): p. 17719-24.
52. Ha, M. and V.N. Kim, *Regulation of microRNA biogenesis*. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2014. **15**(8): p. 509-24.
53. Turchinovich, A., et al., *Characterization of extracellular circulating microRNA*. *Nucleic Acids Res*, 2011. **39**(16): p. 7223-33.
54. Sohel, M.H., *Extracellular/circulating microRNAs: release mechanisms, functions and challenges*. *Achievements in the Life Sciences*, 2016. **10**(2): p. 175-186.
55. GÖRÜR, A. and L. TAMER, *MikroRNA\ların Terapötik Kullanımı*. *Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 2011. **4**(2).
56. Yazici, H., *Functions of miRNAs in the Development, Diagnosis, and Treatment of Ovarian Carcinoma*, in *Current Trends in Cancer Management*. 2019, IntechOpen.
57. Lee, Y.S. and A. Dutta, *MicroRNAs in cancer*. *Annu Rev Pathol*, 2009. **4**: p. 199-227.
58. Bhayani, M.K., G.A. Calin, and S.Y. Lai, *Functional relevance of miRNA sequences in human disease*. *Mutat Res*, 2012. **731**(1-2): p. 14-9.
59. <https://omim.org>.
60. Kasashima, K., Y. Nakamura, and T. Kozu, *Altered expression profiles of microRNAs during TPA-induced differentiation of HL-60 cells*. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004. **322**(2): p. 403-10.
61. Zheng, Z., et al., *MiR-142 acts as a tumor suppressor in osteosarcoma cell lines by targeting Rac1*. *Oncol Rep*, 2015. **33**(3): p. 1291-9.
62. Guo, F., et al., *microRNA-142-3p inhibits apoptosis and inflammation induced by bleomycin through down-regulation of Cox-2 in MLE-12 cells*. *Braz J Med Biol Res*, 2017. **50**(7): p. e5974.

63. Wang, X.S., et al., *MicroRNA-29a and microRNA-142-3p are regulators of myeloid differentiation and acute myeloid leukemia*. *Blood*, 2012. **119**(21): p. 4992-5004.
64. Aucher, A., D. Rudnicka, and D.M. Davis, *MicroRNAs transfer from human macrophages to hepato-carcinoma cells and inhibit proliferation*. *J Immunol*, 2013. **191**(12): p. 6250-60.
65. Li, M., et al., *Expression of microRNA-142-3p in cervical cancer and its correlation with prognosis*. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2017. **21**(10): p. 2346-2350.
66. Schwickert, A., et al., *microRNA miR-142-3p Inhibits Breast Cancer Cell Invasiveness by Synchronous Targeting of WASL, Integrin Alpha V, and Additional Cytoskeletal Elements*. *PLoS One*, 2015. **10**(12): p. e0143993.
67. Troschel, F.M., et al., *miR-142-3p attenuates breast cancer stem cell characteristics and decreases radioresistance in vitro*. *Tumour Biol*, 2018. **40**(8): p. 1010428318791887.
68. Gao, W., D. Pang, and S. Yu, *Serum level of miR-142-3p predicts prognostic outcome for colorectal cancer following curative resection*. *J Int Med Res*, 2019. **47**(5): p. 2116-2125.
69. Zhu, X., et al., *miR-142-3p Suppresses Cell Growth by Targeting CDK4 in Colorectal Cancer*. *Cell Physiol Biochem*, 2018. **51**(4): p. 1969-1981.
70. Tan, Y.F., et al., *MiR-142-3p functions as an oncogene in prostate cancer by targeting FOXO1*. *J Cancer*, 2020. **11**(6): p. 1614-1624.
71. JiaLiang, Z., *MicroRNA-142-3p is frequently upregulated in colorectal cancer and may be involved in the regulation of cell proliferation*. *Springerlink.com* 2013.
72. Lv, M., et al., *An oncogenic role of miR-142-3p in human T-cell acute lymphoblastic leukemia (T-ALL) by targeting glucocorticoid receptor-alpha and cAMP/PKA pathways*. *Leukemia*, 2012. **26**(4): p. 769-77.
73. <http://diana.imis.athena-innovation.gr/>.
74. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>.
75. Flamant, S., et al., *Micro-RNA response to imatinib mesylate in patients with chronic myeloid leukemia*. *Haematologica*, 2010. **95**(8): p. 1325-33.
76. Wang, Y., et al., *Downregulation of microRNA-142-3p and its tumor suppressor role in gastric cancer*. *Oncol Lett*, 2018. **15**(5): p. 8172-8180.
77. Peng, D., et al., *miR-142-3p suppresses uveal melanoma by targeting CDC25C, TGFbetaR1, GNAQ, WASL, and RAC1*. *Cancer Manag Res*, 2019. **11**: p. 4729-4742.
78. Mullenders, J., et al., *A large scale shRNA barcode screen identifies the circadian clock component ARNTL as putative regulator of the p53 tumor suppressor pathway*. *PLoS One*, 2009. **4**(3): p. e4798.
79. Hatanaka, F., et al., *Genome-wide profiling of the core clock protein BMAL1 targets reveals a strict relationship with metabolism*. *Mol Cell Biol*, 2010. **30**(24): p. 5636-48.
80. Iorio, M.V., et al., *MicroRNA signatures in human ovarian cancer*. *Cancer Res*, 2007. **67**(18): p. 8699-707.
81. Luo, P., et al., *microRNA-126 suppresses PAK4 expression in ovarian cancer SKOV3 cells*. *Oncol Lett*, 2015. **9**(5): p. 2225-2229.

82. Yamamoto, N., et al., *The tumor-suppressive microRNA-1/133a cluster targets PDE7A and inhibits cancer cell migration and invasion in endometrial cancer*. Int J Oncol, 2015. **47**(1): p. 325-34.
83. Hu, X., et al., *A miR-200 microRNA cluster as prognostic marker in advanced ovarian cancer*. Gynecol Oncol, 2009. **114**(3): p. 457-64.
84. Bussing, I., F.J. Slack, and H. Grosshans, *let-7 microRNAs in development, stem cells and cancer*. Trends Mol Med, 2008. **14**(9): p. 400-9.
85. Koutsaki, M., et al., *The miR-200 family in ovarian cancer*. Oncotarget, 2017. **8**(39): p. 66629-66640.
86. Prahm, K.P., et al., *Identification and validation of potential prognostic and predictive miRNAs of epithelial ovarian cancer*. PLoS One, 2018. **13**(11): p. e0207319.
87. Lin, R.J., et al., *MiR-142-3p as a potential prognostic biomarker for esophageal squamous cell carcinoma*. J Surg Oncol, 2012. **105**(2): p. 175-82.
88. Li, Y., et al., *Oncogenic microRNA-142-3p is associated with cellular migration, proliferation and apoptosis in renal cell carcinoma*. Oncol Lett, 2016. **11**(2): p. 1235-1241.

HAM VERİLER

FORMLAR

Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu

Açıklama:

Bu bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu İstanbul Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü, Temel Onkoloji ABD Kanser Genetiği Polikliniğine başvuran BRCA1-2 genetik analizine karar verilen over kanser tanısı almış bireyleri “miR142-3p’nin Ekspresyon Düzeyinin Over Kanserli Hastaların Periferik Dolaşımında Araştırılması” araştırmasına davet etmek üzere hazırlanmıştır.

- Sorumlu Araştırmacının adı, soyadı: Prof.Dr. Hülya Yazıcı
- Araştırmayı yürütecek kuruluşun adı: İstanbul Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü, Temel Onkoloji Anabilim Dalı
- Destekleyici kuruluş: Üniversite (BAP)

Araştırmanın adı ve varsa versiyon numarası : “miR142-3p’nin Ekspresyon Düzeyinin Over Kanserli Hastaların Periferik Dolaşımında Araştırılması”

Birinci Bölüm: Araştırma Hakkında Bilgi

Giriş

“miR142-3p’nin Ekspresyon Düzeyinin Over Kanserli Hastaların Periferik Dolaşımında Araştırılması” adını verdiğimiz çalışmaya katılmak üzere davet edilmiş bulunmaktasınız. Bu çalışmada yer almayı kabul etmeden önce çalışmanın ne amaçla ve nasıl yapılacağını anlamanız ve katılıp katılmama doğrultusundaki kararınızı bu bilgilendirme sonrası özgürce vermeniz gerekmektedir. Araştırma hakkında sözlü olarak size aktaracağım bilgiler yazılı olarak da size bir sonraki bölümde sunulacaktır. Size özel hazırlanmış bu bilgilendirmeyi lütfen dikkatlice okuyunuz, sorularınıza açık yanıtlar isteyiniz. Bu belgedeki son bölüm onay işlemleri ile ilgilidir. Araştırmaya katılmayı kabul ederseniz lütfen bu bölümü imzalayınız. Okuma ve yazma konusunda engelleriniz olduğu takdirde bir tanığın gözetiminde bu belgeyi onaylamanız istenecek ve gerektiğinde parmak iziniz alınacaktır.”

Araştırma Hakkında Bilgi

Projemizin amacı aday olarak belirlenen miRNA geninin, over kanserine sahip kişiler ile sağlıklı kişilerden alınan kan örnekleri arasında moleküler olarak karşılaştırılması amaçlanmaktadır. Çalışmanın sonunda aday olarak belirlenen miRNA geninin over kanserinde erken tanı ve taramada biyobelirteç olarak kullanılabilme potansiyelleri belirlenmiş olacaktır.

İstanbul Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü, Temel Onkoloji ABD Kanser Genetiği Polikliniğine başvuran BRCA1-2 genetik analizine karar verilen over kanser tanısı almış 150 kişi, çalışma hakkında bilgilendirilip onayı alındıktan sonra genetik test öncesi periferik kan (7-10 cc.) örnekleri alınacaktır. Kan alma sırasında kan alınan bölgede acı, morarma, kanama ya da diğer rahatsızlıklar meydana gelebilir, fakat bu güçlüklerin en aza indirilmesi için gereken önlemler alınacaktır. İşlem sonrası ortaya çıkabilecek olası enfeksiyonlar için gerekli ilaçlar reçete edilecektir. Bu araştırma sonunda kadınlar arasında tüm kanser türleri arasında 6. sırada yer alan over Kanserine karşı erken tanı ve tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi planlanmaktadır.

İkinci Bölüm: Katılımcının Beyanı

Doktor Hülya Yazıcı tarafından İstanbul Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsünde “miR142-3p'nin Ekspresyon Düzeyinin Over Kanserli Hastaların Periferik Dolaşımında Araştırılması” konusunda bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilendirmeden sonra böyle bir araştırmaya “gönüllü” olarak katılmak üzere davet edildim. Eğer bu araştırmaya katılırsam hekim ile aramda kalması gereken bana ait bilgilerin, gizlilik içinde, bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı ile korunacağı güvencesi verildi. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında da kişisel bilgilerimin özenle korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi. Araştırmanın yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirim. Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı da tutulabilirim. Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Tarafıma bir ücret ödenmeyecektir. İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle olabilecek herhangi bir sağlık sorunumun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak parasal bir yük altına da girmeyeceğim. Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda; herhangi bir saatte, Prof.Dr. Hülya Yazıcı İstanbul Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsünde 0212 414 24 34 / 34186 numaralı telefon ve adresten arayabileceğimi biliyorum. Bu araştırmaya

katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkiye herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum. Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme süresi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde **gönüllü** olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti gönüllülük içerisinde kabul ediyorum. İmzalı bilgilendirilmiş gönüllü olur formunun bir örneğinin bana verileceğini de biliyorum.”

İmza ve ulaşım bilgileri

Gönüllünün Adı-soyadı/ İmzası/Tarih/ Adresi (varsa telefon no., faks no,...)

Araştırma ekibinde yer alan ve yetkin bir araştırmacının
Adı-soyadı/ İmzası/ Tarih

Gerekliyse olur işlemine tanık olan kişinin Adı-soyadı/ İmzası/Tarih/ Adresi (varsa telefon no., faks no,...)

Gerekliyse yasal temsilcisinin Adı-soyadı/ İmzası/Tarih/ Adresi (varsa telefon no., faks no,...)

ETİK KURUL KARARI

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



Sayı : 614
Konu: Prof. Dr. Hülya YAZICI hk.

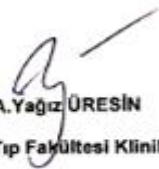
Tarih : 07.05.2019

Sayın Prof. Dr. Hülya YAZICI
Onkoloji Enstitüsü

İlgi: Onkoloji Enstitüsünün 22/03/2019 gün ve 60940 sayılı yazısı

Sorumlu araştırmacılığını üstlendiğiniz ve Yasemin GİDER' in yürüteceği 2019/524 dosya numaralı "miR142-3p'nin Ekspresyon Düzeyinin Over Kanseri Hastaların Periferik Dolaşımında Araştırılması" başlıklı çalışma kurumumuzun 26/04/2019 tarih ve 08 sayılı toplantısında görüşülerek etik yönden uygun bulunmuş olup, tutanaklar ekte sunulmuştur.

Bilgilerinizi rica ederim.


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

Eki: İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmaları Etik Kurulu Karar Formu

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI		"miR142-3p'nin Ekspresyon Düzeyinin Over Kanserli Hastaların Periferik Dolayımında Araştırılması"			
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili	
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	10.04.2019		Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	<input checked="" type="checkbox"/>		Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
	OLGU RAPOR FORMU	<input type="checkbox"/>		Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ	<input type="checkbox"/>		Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama			
	TÜRKÇE ETİKET ÖRNEĞİ	<input type="checkbox"/>			
	SİGORTA	<input type="checkbox"/>			
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input checked="" type="checkbox"/>			
	BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	<input type="checkbox"/>			
	HASTA KARTU/GÖNÜLLÜKLERİ	<input type="checkbox"/>			
	İLAN	<input type="checkbox"/>			
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>			
	SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>			
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	<input type="checkbox"/>			
DİĞER:	<input checked="" type="checkbox"/>	Anabilim Dalı Başkanlığından Üst Yazı ve Akademik Kurul Kararı, Literatür Kaynağı, Sorumluluk Paylaşım Belgesi, İlgili Elemanların Bilgilendirildiğine Dair Belge, CV, CD			
KARAR BELGELERİ	Karar No:08	Tarih: 26/04/2019			
	İstanbul Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü Temel Onkoloji Anabilim Dalı Kansere Genetik Bilim Dalında görevli Prof. Dr. Hülya YAZICI' nın sorumluluğunda ve Yasemin GİDER' in yürüteceği yukarıda bilgileri verilen araştırmaya başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan Etik Kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.				

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU							
ÇALIŞMA ESASI		19.05.2011 tarihli, 28030 sayılı Resmî Gazetede yayımlanan Klinik Araştırmalar Hakkındaki Yönetmelik					
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:		Prof. Dr. A. Yağız ÜRESİN					
Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile İlişki *	Katılım **	İmza
Prof. Dr. A. Yağız ÜRESİN	Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji	İstanbul Tıp Fakültesi (Etik Kurul Başkanı)	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Berrin UMMAN	Kardiyoloji	İstanbul Tıp Fakültesi (Etik Kurul Başkan Yardımcısı)	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Ahmet GÜL	Romatoloji	İstanbul Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Oğuzhan ÇOBAN	Nöroloji	İstanbul Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Dr. Sevda ÖZEL YILDIZ	Biyoistatistik	İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	

* :Araştırma ile İlişki
** :Toplantıda Bulunma

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

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU KARAR FORMU

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

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	"miR142-3p'nin Ekspresyon Düzeyinin Over Kanseri Hastaların Periferik Dolanımında Araştırılması"			
	ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	---			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof. Dr. Hülya YAZICI			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Temel Onkoloji Anabilim Dalı Kanser Genetiği Bilim Dalı			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	İstanbul Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü Temel Onkoloji Anabilim Dalı Kanser Genetiği Bilim Dalı			
	DESTEKLEYİCİ	İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	---			
	ARAŞTIRMANIN FAZI	FAZ 1	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 2	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 3	<input type="checkbox"/>		
FAZ 4		<input type="checkbox"/>			
ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	Yeni Bir Endikasyon	<input type="checkbox"/>			
	Yüksek Doz Araştırması	<input type="checkbox"/>			
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	Diğer ise belirtiniz :				
	TEK MERKEZ ■	ÇOK MERKEZLİ □	ULUSAL ■	ULUSLAR ARASI □	

PATENT HAKKI İZİNİ



İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

MGR142-3P'NGN EKSPRESYON DÜZEYNGN OVER
KANSERLG HASTALARIN PERGFERGK DOLAĞIMINDA
ARAĞTIRILMASI

ORJİNALLIK RAPORU

%5	%3	%0	%3
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	Submitted to Istanbul University Öğrenci Ödevi	%2
2	ukodlk2018.com İnternet Kaynağı	%1
3	www.nco.ncep.noaa.gov İnternet Kaynağı	<%1
4	acikerisim.istanbul.edu.tr İnternet Kaynağı	<%1
5	Submitted to Uludag University Öğrenci Ödevi	<%1
6	randolphcomuseum.org İnternet Kaynağı	<%1
7	bb-garden.com İnternet Kaynağı	<%1
8	nek.istanbul.edu.tr:4444 İnternet Kaynağı	<%1

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	YASEMİN	Soyadı	GİDER
Doğ.Yeri	BAKIRKÖY	Doğ.Tar.	09.05.1994
Email	yasemingider94@gmail.com	Uyruğu	TC

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora		
Yük.Lis.		
Lisans	İSTANBUL YENİ YÜZYIL ÜNİVERSİTESİ	2016
Lise	EYÜP OTAKÇILAR LİSESİ	2012

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

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

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İNGİLİZCE	İyi	Orta	İyi		

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı			
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi

Yayınları/Tebligleri Sertifikaları/Ödülleri

Özel İlgi Alanları (Hobileri):

