

TEMMUZ 2025

Yüksek Lisans Tezi - Biyoloji

ÇİĞDEM POLAT

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KANTİTATİF PCR VE BİYOİNFORMATİK ANALİZ
YÖNTEMLERİ İLE MEME KANSERİ GELİŞİMİ İLE İLİŞKİLİ
mikroRNA'LARIN BELİRLENMESİ

BİYOLOJİ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

ÇİĞDEM POLAT
TEMMUZ 2025

**KANTİTATİF PCR VE BİYOİNFORMATİK ANALİZ
YÖNTEMLERİ İLE MEME KANSERİ GELİŞİMİ İLE İLİŞKİLİ
mikroRNA'LARIN BELİRLENMESİ**

Gaziantep Üniversitesi

Biyoloji

Yüksek Lisans Tezi

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Türkan GÜRER

İkinci Danışman

Doç. Dr. Sevgi GEZİCİ

Çiğdem POLAT

Temmuz 2025



©2025[Gaziantep Üniversitesi]

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

Çiğdem POLAT

ABSTRACT

DETERMINATION OF microRNAs ASSOCIATED WITH BREAST CANCER DEVELOPMENT USING QUANTITATIVE PCR AND BIOINFORMATICS ANALYSIS METHODS

POLAT, Çiğdem

M.Sc. in Biology

Supervisor: Assist. Prof. Turkan GURER

Co-Supervisor: Assoc. Prof. Sevgi GEZICI

July 2025

96 page

The aim of this thesis is to determine the expression levels of miR-3928-5p, miR-4295, and miR-4720-5p in breast cancer patients and to reveal the roles of these miRNAs in breast cancer. This study was approved by the Local Ethics Committee of Gaziantep University Faculty of Medicine (Approval No: 2023/197). In the study, tumor and adjacent healthy tissue samples were obtained from a total of 67 patients who underwent surgery at the Department of General Surgery, Gaziantep University. The expression levels of miR-3928-5p, miR-4295, and miR-4720-5p were determined using qRT-PCR. Bioinformatic analyses were performed to conduct a Functional Enrichment Analysis of the miRNAs. The results of the study showed that the expression levels of miR-3928-5p ($p < 0.001$), miR-4295 ($p = 0.029$) and miR-4720-5p ($p < 0.001$) were significantly lower in tumor tissues compared to healthy tissues. Bioinformatic analyses showed that the genes targeted by miRNAs are involved in biological processes such as RAS/RAC signal transduction and clathrin-mediated endocytosis, while KEGG analyses revealed that miRNAs are associated with cancer-related pathways such as the MAPK signalling pathway, oestrogen signalling pathway, and endocrine therapy resistance. Central genes such as SHC1 and ESR1 emerged as common regulators of oncogenic pathways. In conclusion, this study demonstrates that miR-3928-5p, miR-4295, and miR-4720-5p play important regulatory roles in breast cancer biology.

Keywords: miR-3928-5p, miR-4295, miR-4720-5p, Breast Cancer, qRT-PCR, Bioinformatic Analysis.

ÖZET

KANTİTATİF PCR VE BİYOİNFORMATİK ANALİZ YÖNTEMLERİ İLE MEME KANSERİ GELİŞİMİ İLE İLİŞKİLİ mikroRNA'LARIN BELİRLENMESİ

POLAT, Çiğdem
Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji
Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Türkan GÜRER
İkinci Danışman: Doç. Dr. Sevgi GEZİCİ
Temmuz 2025
96 sayfa

Bu tezin amacı, meme kanserli hastalarda miR-3928-5p, miR-4295 ve miR-4720-5p'nin ifade seviyelerinin belirlenmesi ve bu miRNA'ların meme kanserindeki rollerinin ortaya konmasıdır. Bu çalışma için Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Yerel Etik Kurulu tarafından onay alınmıştır (Onay no: 2023/197). Çalışmada, Gaziantep Üniversitesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı'nda opere edilmiş toplam 67 hastadan alınan tümörlü ve komşu sağlıklı doku örnekleri kullanılmıştır. qRT-PCR ile miR-3928-5p, miR-4295 ve miR-4720-5p'nin ifade seviyeleri belirlenmiştir. Biyoinformatik analizler yapılarak miRNA'ların Fonksiyonel Zenginleştirme Analizi yapılmıştır. Çalışma sonucunda, tümörlü dokularda sağlıklı dokulara kıyasla miR-3928-5p ($p < 0.001$), miR-4295 ($p = 0.029$) ve miR-4720-5p ($p < 0.001$)'nin azalan ifade seviyeleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Biyoinformatik analizlerle, miRNA'ların hedeflediği genlerin RAS/RAC sinyal iletimi, klatriin aracılı endositoz gibi biyolojik süreçlere dahil olduğunu, KEGG analizleri ile miRNA'ların MAPK sinyal yolağı, östrojen sinyal yolağı ve endokrin tedavi direnci gibi kanserle ilişkili yollarla bağlantılı olduğunu göstermiştir. *SHC1* ve *ESR1* gibi merkezi genler, onkogenik yolların ortak düzenleyicileri olarak öne çıkmıştır. Sonuç olarak, bu çalışma miR-3928-5p, miR-4295 ve miR-4720-5p'nin meme kanseri biyolojisinde önemli düzenleyici roller üstlendiğini ortaya koymaktadır.

Anahtar Kelimeler: miR-3928-5p, miR-4295, miR-4720-5p, Meme Kanseri, qRT PCR, Biyoinformatik Analiz.



"Canum aileme"

TEŞEKKÜR

Bu çalışma süresince tüm bilgilerini benimle paylaşmaktan kaçınmayan, her türlü konuda desteğini benden esirgemeyen ve tezimde büyük emeği olan Gaziantep Üniversitesi öğretim üyelerinden çok değerli danışman hocalarım, sayın Dr. Öğr. Üyesi Türkan GÜRER'e ve Doç. Dr. Sevgi GEZİCİ'ye teşekkürlerimi sunarım. Çalışma örneklerini oluşturan hastaların teşhisi ve operasyonunu yapan, örneklerin toplanması ile klinik verilerin değerlendirilmesini yaparak tezime önemli katkı sağlayan değerli hocam sayın Dr. Öğr. Üyesi Alper AYTEKİN'e teşekkürlerimi sunarım. Bilgi ve birikimlerini benden esirgemeyen çok değerli hocalarım sayın Prof. Dr. Filiz Özbaş GERÇEKER'e ve Dr. Öğr. Üyesi Deniz MIHÇIOĞLU'na çok teşekkür ederim.

Tezimin deney aşamalarında büyük katkıları bulunan Dr. Ruşen AVŞAR ve Oğuz AKVEÇ'e çok teşekkür ederim.

Yüksek lisans sürecim boyunca bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşarak yolumu aydınlatan ve katkılarıyla motivasyonumu artıran Özge DEMİREL hocama; çalışmam süresince her daim yanımda olan ve desteğini hiç esirgemeyen arkadaşım Arş. Gör. Asuman Evrim UYGUN'a; moral ve desteğiyle her zaman yanımda olan kıymetli arkadaşım Berivan GÜNERİ'ye; fikir ve görüşleriyle çalışmama katkı sağlayan Erhan ÖZTÜRK'e; varlığıyla beni destekleyen Arş. Gör. Ceren Tutku DOĞAN'a ve tez sürecimdeki yol gösterici tutumu, samimi desteği ve değerli katkılarıyla bana güç veren Arif EKİN'e gönülden teşekkür ederim.

Hayatım boyunca yanımda olan, desteğini ve sevgisini üzerimden hiç eksik etmeyen babam Haydar POLAT ve sevgili annem Hatice POLAT başta olmak üzere, fedakarlıklarıyla yanımda duran abilerime, ablama ve kardeşime en derin minnet ve teşekkürlerimi sunuyorum.

Tezimin yürütülmesinde maddi destek sağlayan Gaziantep Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi'ne (FEF YLT 23.22. no'lu proje), tez

alışmasında her türlü imkanlarından yararlandığımız, Gaziantep Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'ne teşekkürlerimi sunarım.



İÇİNDEKİLER

| | Sayfa |
|---|------------|
| ABSTRACT | i |
| ÖZET | ii |
| İTHAF | iii |
| TEŞEKKÜR | iv |
| İÇİNDEKİLER | vi |
| TABLolar LİSTESİ | ix |
| ŞEKİLLER LİSTESİ | x |
| SEMBOLLER LİSTESİ | xi |
| KISALTMALAR LİSTESİ | xii |
| BÖLÜM 1 GİRİŞ | 1 |
| 1.1 Meme Kanseri | 2 |
| 1.1.1 Meme Anatomisi..... | 2 |
| 1.1.2 Meme Kanseri Epidemiyolojisi | 3 |
| 1.1.3 Meme Kanseri Etiyolojisi | 4 |
| 1.1.3.1 Değişirilemeyen Risk Faktörleri | 5 |
| 1.1.3.1.1 Yaş | 5 |
| 1.1.3.1.2 Cinsiyet | 6 |
| 1.1.3.1.3 Irk ve Etnik Köken | 6 |
| 1.1.3.1.4 Aile Öyküsü | 6 |
| 1.1.3.1.5 Genetik Mutasyonlar..... | 6 |
| 1.1.3.1.6 Erken Adet Görme | 7 |
| 1.1.3.1.7 Geç Menapoz | 7 |
| 1.1.3.1.8 Boy | 7 |
| 1.1.3.2 Değişirilebilir Risk Faktörleri | 7 |
| 1.1.3.2.1 Obezite | 7 |
| 1.1.3.2.2 Doğum Yapmama | 8 |
| 1.1.3.2.3 Hormonal Tedavi | 8 |

| | |
|---|-----------|
| 1.1.3.2.4 Alkol Alımı | 8 |
| 1.1.3.2.5 Sigara İçmek | 9 |
| 1.1.3.2.6 Yetersiz Vitamin Takviyesi | 9 |
| 1.1.3.2.7 Yapay Işığa Maruz Kalmak | 9 |
| 1.1.3.2.8 İşlenmiş Gıda | 9 |
| 1.1.3.2.9 Kimyasallara Maruz Kalma | 9 |
| 1.1.4 Meme Kanserinin Sınıflandırılması | 10 |
| 1.1.4.1 Histolojik Sınıflandırma | 11 |
| 1.1.4.2 Moleküler Sınıflandırma | 12 |
| 1.1.4.2.1 Luminal A Meme Kanseri | 12 |
| 1.1.4.2.2 Luminal B Meme Kanseri | 13 |
| 1.1.4.2.3 HER2 ile Zengileştirilmiş Meme Kanseri | 13 |
| 1.1.4.2.4 Bazal Benzeri/Üçlü Negatif Meme Kanseri | 13 |
| 1.1.5 Meme Kanserinde Evreleme | 14 |
| 1.2 Kodlamayan RNA'lar ve Sınıflandırılması | 15 |
| 1.2.1 mikroRNA'lar | 15 |
| 1.2.1.1 mikroRNA'ların Biyogenezi | 16 |
| 1.2.1.2 mikroRNA'ların işlevleri | 17 |
| 1.2.1.3 mikroRNA'ların Hastalıklarla İlişkisi | 17 |
| 1.2.1.4 mikroRNA-Kanser İlişkisi | 17 |
| 1.2.1.5 Meme Kanseri Gelişiminde miRNA'ların Yeri | 18 |
| 1.3 Amaç | 19 |
| BÖLÜM 2 LİTERATÜR TARAMASI | 20 |
| 2.1 miR-4720-5p | 22 |
| 2.2 miR-3928-5p | 23 |
| 2.3 miR-4295 | 23 |
| BÖLÜM 3 MATERYAL VE METOTLAR | 24 |
| 3.1 Materyal | 24 |
| 3.1.1 Çalışmada Kullanılan Doku Örnekleri | 24 |
| 3.2 Metod | 24 |
| 3.2.1 Dokudan miRNA İzolasyonu | 24 |

| | |
|--|-----------|
| 3.2.2 Elde Edilen miRNA’lardan Revers Transkriptaz-PCR ile cDNA Sentezi | 24 |
| 3.2.3 Kantitatif Gerçek Zamanlı-PCR | 25 |
| 3.2.4 İstatistiksel Analiz..... | 27 |
| 3.2.5 Biyoinformatik Analizler | 27 |
| 3.2.5.1 Transkripsiyonel Ağların Görselleştirilmesi | 28 |
| 3.2.5.2 miRNA ile TF Ortak Düzenleyici Ağları..... | 28 |
| 3.2.5.3 miRNA-Hedef Gen Etkileşimlerinin Fonksiyonel Analizi .. | 29 |
| 3.2.5.4 Gen Ontolojisi (GO) Analizi | 29 |
| 3.2.5.5 KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) Analizleri..... | 29 |
| BÖLÜM 4 BULGULAR VE TARTIŞMA..... | 31 |
| 4.1 BULGULAR | 31 |
| 4.1.1 Çalışma Materyallerinin Klinik ve Patolojik Verileri..... | 31 |
| 4.1.2 Tümörlü ve Sağlıklı Dokularda miR-4720-5p, miR-3928-5p ve miR-4295’in Ekspresyon Analizleri | 32 |
| 4.1.3 miR-4720-5p, miR-3928-5p ve miR-4295’in Ekspresyon Seviyesinin Klinik ve Patolojik Verilerle İlişkisi..... | 34 |
| 4.1.4 Biyoinformatik Analiz Bulguları | 36 |
| 4.1.4.1 miRNA–Transkripsiyonel Ağların Haritalandırılması..... | 36 |
| 4.1.4.2 miRNA–TF–Hedef Gen Ağlarının Oluşturulması..... | 37 |
| 4.2 TARTIŞMA..... | 77 |
| BÖLÜM 5 SONUÇ VE ÖNERİLER..... | 83 |
| KAYNAKLAR | 87 |
| ÖZGEÇMİŞ..... | 96 |

TABLULAR LİSTESİ

| | Sayfa |
|--|--------------|
| Tablo 1.1 Meme kanserinin değiştirilebilir ve değiştirilemeyen risk faktörleri (Dadziak vd., 2023)..... | 5 |
| Tablo 1.2 Meme kanseri risk faktörleri ve koruyucu faktörler (Açıkgöz ve Yıldız, 2017) | 10 |
| Tablo 1.3 Meme kanserinde histolojik sınıflandırma (Çapanoğlu ve Bakar, 2018). | 12 |
| Tablo 1.4 Meme kanserinin moleküler alt tipleri (Nascimento ve Otoni, 2020). | 13 |
| Tablo 1.5 Meme kanserinde TNM evrelemesi | 14 |
| Tablo 3.1 cDNA sentez kiti içeriği..... | 25 |
| Tablo 3.2 Reverz Transkriptaz PCR metodu için kullanılan ısı-döngü cihazında ayarlanan sıcaklar ve süreler | 25 |
| Tablo 3.3 Çalışmada kullanılan genlerin ileri ve geri primer sekansları..... | 26 |
| Tablo 3.4 qRT-PCR aşaması için hazırlanan reaksiyon içeriği..... | 26 |
| Tablo 3.5 qRT-PCR için kullanılan sıcaklık ve süreler..... | 27 |
| Tablo 4.1 miR-3928-5p, miR-4295 ve miR-4720-5p'nin ekspresyon düzeyleri ile meme kanserli hastaların klinik ve patolojik verileri arasındaki ilişkisi ... | 35 |
| Tablo 4.2 miR-3928-5p, miR-4295 ve miR-4720 tarafından düzenlenen hedef genlerde yer alan kanserle ilişkili transkripsiyon faktörleri | 40 |
| Tablo 4.3 miR-3928-5p, miR-4295 ve miR-4720-5p'nin hedef genlerine ait GO temelli fonksiyonel analizi | 48 |

ŞEKİLLER LİSTESİ

| | Sayfa |
|--|-------|
| Şekil 1.1 Kadın meme anatomisi (Lipkowitz, 2016). | 2 |
| Şekil 1.2 2022-2025 yılları arasında kadınlarda meydana gelen tahmini meme kanseri vakalarının insidansı (https://gco.iarc.who.int). | 3 |
| Şekil 1.3 2022-2025 yılları arasında kadınlarda meydana gelen tahmini meme kanseri vakalarının mortalitesi (https://gco.iarc.who.int). | 4 |
| Şekil 1.4 miRNA biyogenezi (Loh vd., 2019). | 16 |
| Şekil 1.5 miRNA'ların kanser hücrelerindeki anormal ifade seviyeleri (Loh vd., 2019). | 18 |
| Şekil 4.1 Çalışma örneklemini oluşturan meme kanserli hastaların klinik ve patolojik verileri | 32 |
| Şekil 4.2 Tümörlü ve normal dokularda miR-4720-5p'nin ifade seviyelerinin karşılaştırılması. | 33 |
| Şekil 4.3 Tümörlü ve normal dokularda miR-3928-5p'nin ifade seviyelerinin karşılaştırılması | 33 |
| Şekil 4.4 Tümörlü ve normal dokularda miR-4295'in ifade seviyelerinin karşılaştırılması | 34 |
| Şekil 4.5 Venn diyagramı ile hedef genlerin dağılımı | 38 |
| Şekil 4.6 miRNA-hedef gen etkileşim ağları | 46 |
| Şekil 4.7 Meme Kanserinde miRNA Hedef Genlerine Yönelik GO Zenginleştirme Analizi | 72 |
| Şekil 4.8 Üç Ontolojiye İlişkin Gen Ontoloji Bulguları | 73 |
| Şekil 4.9 miR-3928-5p, miR-4295 ve miR-4720-5p mikroRNA'larının hedef genleriyle ilişkili KEGG yolları | 75 |

SEMBOLLER LİSTESİ

| | |
|----------|------|
| α | Alfa |
| β | Beta |
| Ω | Ohm |
| π | Pi |



KISALTMALAR LİSTESİ

| | |
|----------------|---|
| Ago2 | Argonaute 2 |
| ALAN | Artificial Light at Night |
| cDNA | Komplementer DNA |
| Ct | Eşik siklusu |
| DNA | Deoksiribonükleik asit |
| ErbB2 | İnsan Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü 2 Geni |
| GBM | Glioblastoma |
| HSNCC | Baş ve Boyun Skuamöz Hücre Karsinomu |
| IARC | Uluslararası Kanser Ajansı |
| KLL | Kronik Lenfositik Lösemi |
| KLL | Kronik Lenfositik Lösemi |
| miRNA | Mikro RNA |
| mRNA | Mesajcı RNA |
| NF-YB | Nükleer transkription factor Y subunit beta |
| Onkomir | Onkogenik miRNA |
| ORF | Open Reading Frame (Açık Okuma Bölgesi) |
| OS | Osteosarkom |
| PCR | Polimeraz Zincir Reaksiyonu |
| RISC | Ribonükleik Asit |
| TF | Transkripsiyon Faktörleri |
| TFs | Anahtar Transkripsiyon Faktörleri |
| Tsmir | Tümör Baskılayıcı miRNA |

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Kanser genlerde meydana gelen ve hücre fonksiyonlarının değişimine neden olan bir dizi mutasyon sonucu oluşur (Park vd., 2022). Günümüzde 277'den fazla kanser türü tanımlanmıştır (Hassanpour ve Dehghani, 2017). Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı'nın (IARC) yayımladığı GLOBOCAN 2022 verilerine göre meme kanseri, kadınlarda en sık teşhis edilen kanser türüdür (Bray vd., 2024). Meme kanseri cinsiyet, ilerleyen yaş, aile öyküsü, genetik mutasyonlar, fiziksel aktivite seviyesi, obezite, alkol ve sigara kullanımı gibi birçok risk faktörüyle ilişkilidir (Łukasiewicz vd., 2021). MikroRNA'lar (miRNA), hedef mRNA'ların 3'UTR (Untranslated Region) bölgesinde yer alan tamamlayıcı dizilere bağlanarak gen ifadesinin düzenlenmesinde önemli rol oynayan, 18-25 nükleotit uzunluğunda kısa, kodlamayan RNA'lardır. miRNA'lar; hücre bölünmesi, çoğalma ve apoptoz gibi birçok fizyolojik süreci düzenlemede işlev görürler. Günümüze kadar çalışılan birçok kanser türünde değişen miRNA ifadelerinin onkojenik süreçte potansiyel önem arz ettikleri gösterilmiştir. Bu nedenle miRNA'ların tanı ve prognoz için potansiyel kanser biyobelirteçleri olabilecekleri ileri sürülmüştür (Chakraborty vd., 2023).

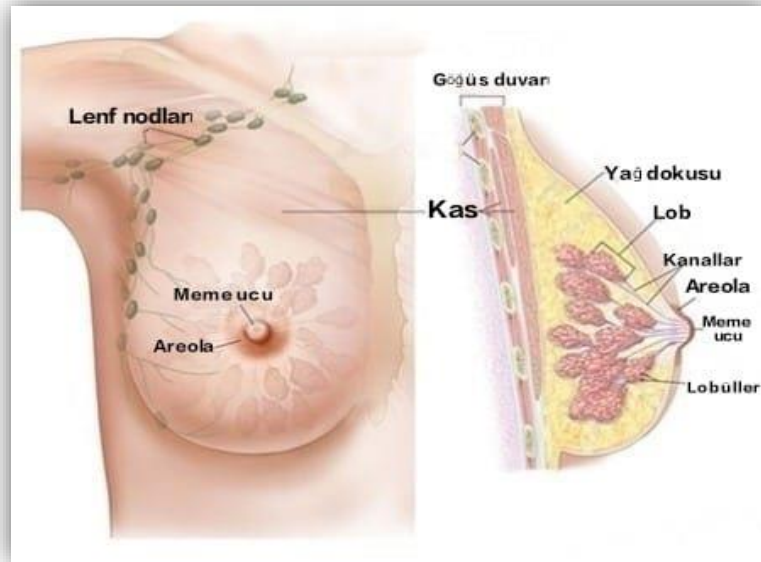
Yapılan bu çalışmada meme kanserli hastaların tümörlü ve tümörün çevresinde bulunan sağlıklı doku örneklerinde miR-3928-5p, miR-4295 ve miR-4720-5p'nin ifade seviyeleri belirlenmiştir. Ayrıca, bu miRNA'ların ifade seviyeleri ile hastaların klinik ve patolojik parametreleri arasındaki ilişkiler değerlendirilmiştir. Bunlara ilave olarak çeşitli biyoinformatik analizler yapılarak miRNA'ların hedef transkripsiyon faktörleri ve genleri belirlenmiş ve Fonksiyonel Zenginleştirme Analizi ile hedef genlerin biyolojik süreçlerdeki rolleri ortaya konulmuştur. Bu çalışma ile meme kanserinde miR-3928-5p, miR-4295 ve miR-4720-5p'nin rollerinin araştırılması ve literatüre katkı sağlanması hedeflenmiştir.

1.1 Meme Kanseri

Meme kanseri, memenin epitel dokusunda gelişen kötü huylu tümörün kontrolsüz bölünmesiyle ortaya çıkmaktadır (Lukong, 2017). Yüksek oranda kadınlarda görülmekle birlikte, %1'den az da olsa erkeklerde de meme kanseri görülebilmektedir (Łukasiewicz vd., 2021). Meme kanseri, uzak metastaz aracılığıyla hayati önem taşıyan organların işlevini bozarak, organ bütünlüğüne zarar verir. Bu durumun oluşma riski, tanı anında hastalığın evresi ve tedavinin zamanlamasıyla doğrudan ilişkilidir (Cordero Da Luz vd., 2022). Meme kanseri, metastaz oluşmadan önce erken bir evredeyken belirlenirse, bu hastalığa sahip kişilerin hayatta kalma oranı daha yüksek olmaktadır. Ancak bu hastalık çoğunlukla, metastaz oluşuktan sonra teşhis edilmektedir (Park vd., 2022).

1.1.1 Meme Anatomisi

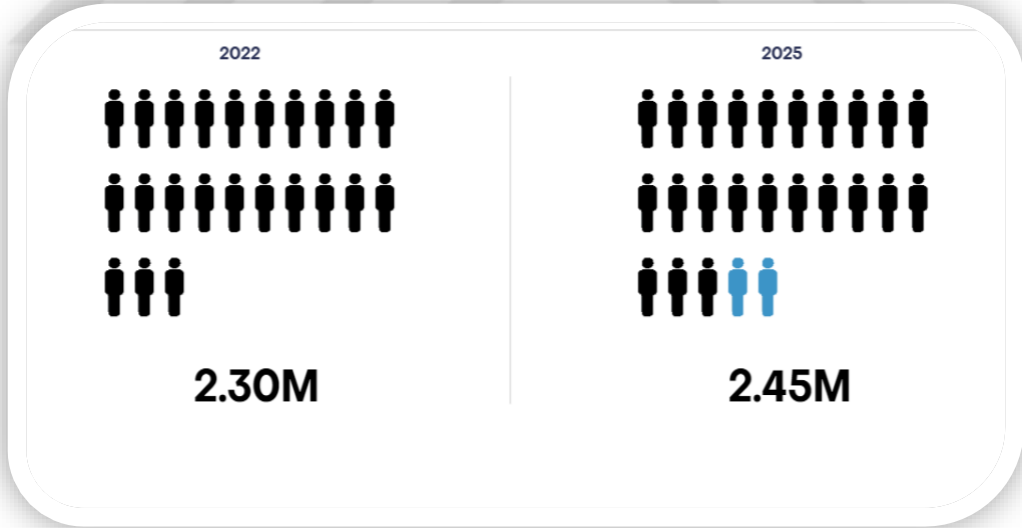
Meme, lob ve kanallardan oluşan kompleks bir yapıya sahiptir. Her meme, 15 ile 20 adet "lob" adı verilen bölümden oluşur. Loblar, süt üretiminden sorumlu daha küçük yapılardan, yani "lobüller"den oluşur. Memenin boyut ve şeklini ise lobları çevreleyen yağ dokusu belirlemektedir. Memeye ait yapısal elamanlar Şekil 1.1'de detaylı bir şekilde gösterilmiştir (National Cancer Institute, 2025).



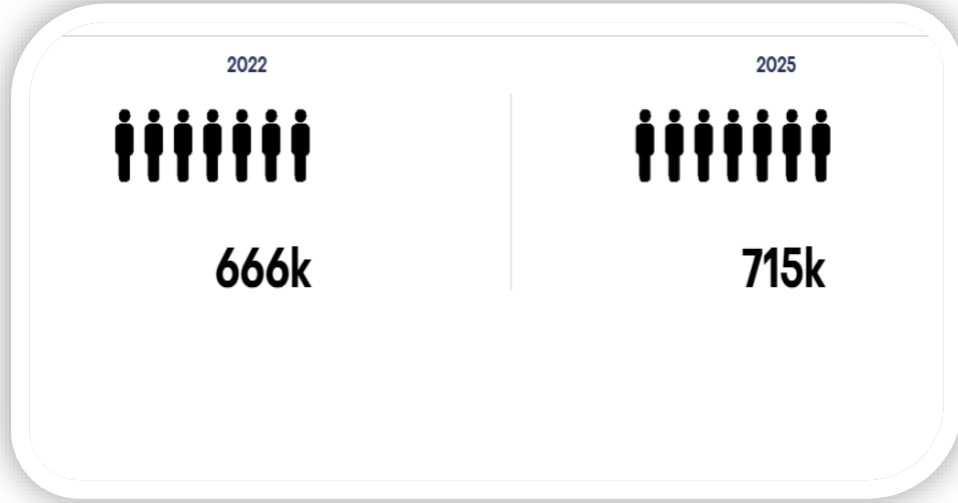
Şekil 1.1 Kadın meme anatomisi (Lipkowitz, 2016).

1.1.2 Meme Kanseri Epidemiyolojisi

Meme kanseri, 2020’de 2,26 milyon tanı ile en yaygın tespit edilen kanser türleri arasında yer almaktadır. Güncel tahminlere göre, 2030 yılında yıllık tanı sayısının 2,7 milyona, ölüm sayısının ise 870 bine ulaşması beklenmektedir (Łukasiewicz vd., 2021). GLOBOCAN 2022 verilerine ve ilgili projeksiyonlara göre, 2022-2025 yılları arasında kadınlarda tahmini meme kanseri insidans ve mortalite oranları sırasıyla Şekil 1.2 ve Şekil 1.3’te verilmiştir. Gelişmiş ülkelerde meme kanserinin insidans oranı yüksekken, az gelişmiş ülkelerde ölüm oranı daha yüksektir (Ghoncheh vd., 2016). Koo ve arkadaşları (2017) tarafından yapılan bir çalışmada, meme kanserinin tanımlanması yönelik toplam 5 semptom belirlenmiştir. Bunlar; %83 oranıyla en sık rastlanılan meme yumrusu, %7 oranıyla yumru olmayan belirtiler (örneğin; meme ucu anormallikleri), %6 oranında meme ağrısı, %1 oranında meme dışı semptomlar (örneğin sırt ağrısı) ve %0.3 oranında kilo kaybıdır. Memesinde yumru olmayan hastalar, yumru olanlara göre kanseri daha geç fark edebilme eğilimindedir (Arzonova ve Mayrovitz, 2022).



Şekil 1.2 2022-2025 yılları arasında kadınlarda meydana gelen tahmini meme kanseri vakalarının insidansı (<https://gco.iarc.who.int>).



Şekil 1.3 2022-2025 yılları arasında kadınlarda meydana gelen tahmini meme kanseri vakalarının mortalitesi (<https://gco.iarc.who.int>).

1.1.3 Meme Kanseri Etiyolojisi

Meme kanseri, patolojik özellikleri ve etiyolojisi bakımından oldukça heterojen bir yapıya sahiptir. Bazı vakalar iyi prognoz ile yavaş bir büyüme gösterirken, bazıları ise son derece agresif bir ilerleme göstermektedir.

Meme kanserinin risk faktörleri, Tablo 1.1'de değiştirilebilen ve değiştirilemeyen faktörler şeklinde sınıflandırılmıştır (Arzonova ve Mayrovitz, 2022). Bu risk faktörlerinin bilinmesi ve etkilerinin azaltılması, meme kanserinin görülme sıklığını düşürmede önemli bir rol oynamaktadır (Menon vd., 2024). Erkek meme kanseri için risk faktörleri arasında ise ek olarak klinefelter sendromu yer almaktadır (Khare vd., 2024). Tablo 1.2'de ise meme kanseri risk faktörleri ve koruyucu faktörleri verilmiştir (Açıkgöz ve Yıldız, 2017).

Tablo 1.1 Meme kanserinin değiştirilebilir ve değiştirilemeyen risk faktörleri
(Dadziak vd., 2023).

| Değiştirilemeyen Faktörler | Değiştirilebilen Faktörler |
|--|-----------------------------------|
| Kadın Cinsiyeti | Hormonal Replasman Tedavisi |
| İleri Yaş | Kimyasallara Maruz Kalma |
| Aile Öyküsü (Meme veya Yumurtalık Kanseri) | Fiziksel Aktivite |
| Genetik Mutasyonlar | Aşırı Kilo/Obezite |
| İrk/Etnik Köken | Alkol Alımı |
| Hamilelik ve Emzirme | Sigara Kullanımı |
| Adet Dönemi ve Menopoz | Yetersiz Vitamin Takviyesi |
| Meme Dokusunun Yoğunluğu | Yapay Işığa Maruz Kalma |
| Önceki Meme Kanseri Öyküsü | İşlenmiş Gıda Alımı |
| Kanserli Olmayan Meme Hastalıkları | Diğer İlaçlar |
| Önceki Radyasyon Tedavisi | |

1.1.3.1 Değiştirilemeyen Risk Faktörleri

1.1.3.1.1 Yaş

Meme kanserinin, artan yaşla birlikte görülme sıklığının da arttığı bilinmektedir (Lukong, 2017). Kanseri ileri yaşla birlikte artmasına rağmen, 65 yaş ve üzeri kişilerde hem kanser hastası popülasyonu hem de genel popülasyon oranı yükselmiştir (Siegel vd., 2025). Meme kanseri hastalarının %80'i 50 yaşının üzerindedir (Admoun ve Mayrovitz, 2022). Khare ve arkadaşlarının yaptıkları incelemede, erkek meme kanserli hastaların yaş aralığı 60 yaş ve üzeri olarak belirlenmiştir (Khare vd., 2024). Soliman ve Hetnal'ın, 39 erkek meme kanser hastası üzerinde yaptıkları bir çalışmada ise, erkek meme kanseri hastalarının tanıdaki ortalama yaşlarının 59 olduğu ifade edilmiştir (Soliman ve Hetnal, 2016).

1.1.3.1.2 Cinsiyet

Meme kanseri, erkeklerde %1'den daha az görülürken, kadınlarda çok daha yaygın olup kanserle ilişkili ölümlerin önemli bir kısmını oluşturmaktadır (Varzaru vd., 2024).

1.1.3.1.3 Irk ve Etnik Köken

Yapılan çeşitli çalışmalar farklı ırk ve etnik kökenli toplulukların meme kanseri insidansı ve ölüm oranında önemli seviyede farklılıklar bulunduğunu göstermişlerdir. ABD'de açık tenli kadınlarla siyahi kadınlar karşılaştırıldığında, siyahi kadınların çoğunlukla daha düşük bir insidansa ve daha yüksek bir mortaliteye sahip oldukları bulunmuştur (Xu ve Xu, 2023).

1.1.3.1.4 Aile Öyküsü

Meme kanserinde aile öyküsünün değerlendirilebilmesi için; aile geçmişinde hastalığın varlığı, meme kanseri olan akraba sayısı, teşhis zamanındaki yaşı, akrabalık ilişkisi ile teşhis anındaki kombinasyonu gibi faktörlerin dikkate alınması gereklidir (Brewer vd., 2017). Ayrıca birinci derecede akrabasında hastalığın görülmesi, meme kanseri için önemli oranda artan bir risk faktörüdür (Xu ve Xu, 2023). Erkek meme kanseri hastalarında, pozitif aile öyküsü oranı kadın meme kanseri hastalarına kıyasla daha yüksektir (%30,9'a karşı %18,4) (Khare vd., 2024).

1.1.3.1.5 Genetik Mutasyonlar

Meme kanserinin kalıtımla geçişinin yaklaşık %18-27 olduğu varsayılmaktadır (Chozas vd., 2022). Bu oran, ebeveynlerden geçen germline gen mutasyonları ile bağlantılıdır. Germline gen mutasyonları kalıtsal olmayan durumlara göre daha erken yaşlarda kanserin gelişme riskini artırır. *BRCA1* ve *BRCA2* genleri iyi çalışılmış tümör baskılayıcı genlerdir. Gelişmiş dizileme teknikleri yardımıyla tümör baskılayıcı ve DNA hasarı onarım gen ailesinin dahil olduğu birçok germline mutasyonu belirlenmiştir. Bu genler hücre döngüsü ve genom kararlılığının kontrolünde büyük önem arz eder; bu nedenle bu genlerde oluşan herhangi bir değişim tümör oluşumu ve kontrolsüz hücre büyümesine yol açabilir. Bu genler penetrans düzeyine göre sınıflandırılır; yani mutasyona sahip kişilerin sahip oldukları mutasyonun veya

hastalığın ilişkili özelliğini gösterme durumuna göre sınıflandırılır (Fairoosa ve Witharana, 2020).

1.1.3.1.6 Erken Adet Görme

13 yaşından önce meydana gelen adet görme ‘‘menarş’’ olarak tanımlanmaktadır. Daha küçükken meydana gelen menarşın, PR+/ER+ tümörler, lüminal tümörler ve lobüler tümörler için daha fazla risk teşkil ettiği gözlemlenmiştir (Lopes vd., 2024). Başka bir araştırmada ise 15 yaşından büyük bir menarş yaşının 12-13 veya daha küçük bir menarş yaşına oranla meme kanseri riskini önemli ölçüde artırdığı ortaya konmuştur (Xu ve Xu, 2023).

1.1.3.1.7 Geç Menapoz

Literatürde geç menopoz 50 yaş ve sonrasında meydana gelen menopoz olarak tanımlanmaktadır (Lopes vd., 2024). Menopoz yaşı, östrojene maruz kalma süresiyle bağlantılı olduğu için önemli bir risk faktörüdür. 55 yaş ve üzerinde menapoza giren kadınlar ile 45 yaşından küçük kadınların dahil edildiği bir çalışmada erken menopozun meme kanseri riskini düşürdüğü ortaya konmuştur (Xu ve Xu, 2023).

1.1.3.1.8 Boy

Uzun boy meme kanseri riskinin artmasıyla ilişkilendirilmiştir. Ancak boy ve meme kanseri arasındaki ilişki hakkında kesin bir sonuca varılamamıştır. Bu nedenle artan boy uzunluğu meme kanseri için bağımsız bir risk faktörüdür (Admoun ve Mayrovitz, 2022).

1.1.3.2 Değiştirilebilir Risk Faktörleri

1.1.3.2.1 Obezite

Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) obezite tanımı kişinin vücut kitle indeksinin (VKİ) 30'dan büyük olması olarak ifade edilir (Dehesh vd., 2023). Dünya Sağlık Örgütü'nün 2022 Avrupa Bölgesi Obezite Verilerine göre; obezite sıklığının en yoğun olduğu ülke Türkiye'dir. Yetişkin nüfusun %32,1'i obez olmakla birlikte toplamda %66.8'i fazla kilolu olarak belirtilmiştir. Obezite menopoz sonrası kadınlarda olduğu kadar menopoz öncesi kadınlarda da meme kanseri yönünden yüksek bir risk faktörüdür. Obez

kadınlarda östrojen seviyesindeki artışın kanser ile doğrudan ilişkisi olduğu ifade edilmiştir. Östrojen menapoz öncesi dönemde olan kişilerde yumurtalıklardan, menapoz sonrası dönemde ise yağ dokularından üretilmektedir. Postmenopozal dönemde fazla kilolu olmak kişinin östrojen seviyesini yükselttiği için meme kanseri riski iki kat artmaktadır. Bu sebeple VKİ > 40 olan kadınlar VKİ=18-24,9 aralığında olan kadınlarla kıyaslandığında meme kanserinin mortalitesi iki kat artmaktadır (Atan ve Kurt Can, 2024).

1.1.3.2.2 Doğum Yapmama

İlk doğum yaşının 30 ve üzeri olması, meme kanseri gelişme riskini artıran faktörlerden biridir. Doğum yapmamış kadınların, ilk doğum yaşının 20'den küçük olan kadınlara göre meme kanseri sağ kalım oranlarının daha düşük olduğu gözlemlenmiş; ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Aurin vd., 2020).

1.1.3.2.3 Hormonal Tedavi

Östrojen, kadınların cinsel özelliklerinin gelişiminden sorumlu olan ve metabolizmada önemli rol oynayan steroid yapılı bir hormondur. Östrojen ve östrojen metabolitleri, östrojen reseptörünü etkileyerek hücre çoğalması, hücre döngüsünün ilerlemesi ve DNA'da oksidatif hasara neden olma yoluyla kanserojen etkilere sahip olabilir. Bu yüzden, endojen veya ekzojen östrojen kaynaklarına bağlı olarak meydana gelen anormal derecede yüksek östrojen düzeyi, meme kanseri gelişim riskini arttırabilir (Xu ve Xu, 2023).

1.1.3.2.4 Alkol Alımı

Alkol ile meme kanseri arasındaki ilişkiyi araştıran geniş prospektif bir çalışmaya göre, haftada 3 ile 6 arası alkol kullanan kadınların meme kanseri riski, hiç alkol kullanmayan kadınlara kıyasla 1,15 kat daha yüksektir. Bunun nedeninin, alkol tüketiminin östrojen seviyelerinde meydana getirdiği artış kaynaklı olabileceği düşünülmektedir (Admoun ve Mayrovitz, 2022).

1.1.3.2.5 Sigara İçmek

100.000'den fazla kadınla yürütülen prospektif bir çalışmada, özellikle ergenlikte sigara kullanmaya başlayan kadınlarda meme kanseri riskinde %5 oranında bir artış olduğu gösterilmiştir (Admoun ve Mayrovitz, 2022).

1.1.3.2.6 Yetersiz Vitamin Takviyesi

Meme kanseri de dahil olmak üzere çeşitli malignitelerin önlenmesinde vitaminlerin potansiyel antikanser özellikler gösterdiği öne sürülmektedir; ancak bu etkilerin altında yatan mekanizmalar tam olarak aydınlatılmamıştır (Lukasiewicz vd., 2021).

1.1.3.2.7 Yapay Işığa Maruz Kalmak

Geceleri yapay ışığa (ALAN-Artificial Light at Night) maruz kalmanın, son dönemlerde artan meme kanseri ile ilişkili olabileceği öne sürülmektedir. Bu ilişkinin temelinde, melatonin ritminin bozulması ve bunu izleyen epigenetik değişiklikler olabilmektedir. Bununla birlikte, elektronik cihazların aşırı kullanımının meme kanseri riskini artırdığına dair veriler hâlâ yetersizdir (Lukasiewicz vd., 2021).

1.1.3.2.8 İşlenmiş Gıda

Dünya Sağlık Örgütü'ne göre yüksek seviyede işlenmiş et Grup 1 kanserojen olarak sınıflandırılmıştır ve bu durum sadece mide-bağırsak kanseri değil meme kanseri riskinide arttırabildiğini göstermiştir (Lukasiewicz vd., 2021).

1.1.3.2.9 Kimyasallara Maruz Kalma

Kronik olarak kimyasallara maruz kalma tümör mikroçevresini etkileyerek meme karsinogenezini teşvik edebilmekte ve sonrasında epigenetik değişikliklere sebep olabilmektedir (Lukasiewicz vd., 2021).

Tablo 1.2 Meme kanseri risk faktörleri ve koruyucu faktörler (Açıkgöz ve Yıldız, 2017)

| Risk Faktörleri | Koruyucu Faktörler |
|---|--|
| Artan Yaş | Östrojen Kullanımı (Histerektomi) |
| Aile Sağlık Öyküsü | Egzersiz |
| Germline Kalıtım Duyarlılığı | Erken Gebelik |
| <i>BRCA1</i> , <i>BRCA2</i> ve Diğer Meme Kanseri Duyarlı Genlerde Mutasyon | Emzirme |
| Alkol Alımı | Selektif Östrojen Reseptör Modülatörleri (SERMs) |
| Meme Dokusu Yoğunluğu (Mamografik) | Aromataz İnhibitörleri veya İnaktivatörleri |
| Östrojen (Endojen) | Risk Azaltıcı Mastektomi |
| Menstrüel Hikaye (Erken Menarj/Geç Menapoz) | Risk Azaltıcı Ooferektomi veya Over Ablasyonu |
| Nuliparite (Çocuk Sahibi Olmama Durumu) | |
| İlk Doğumun Geç Yaşta Olması | |
| Hormon Tedavisi Hikayesi | |
| Östrojen ve Progesteron Hormon Replasman Tedavi Kombinasyonu (HRT) | |
| Obezite | |
| Bireysel Meme Kanseri Öyküsü | |
| Meme/Göğüs Bölgesine Radyasyon Maruziyeti | |
| İrk | |
| Bireysel Benign Meme Hastalığının Proliferatif Formlarının Öyküsü | |

1.1.4 Meme Kanserin Sınıflandırılması

Meme kanseri sınıflandırılmasında östrojen reseptörü (ER), insan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2 (HER2) ve progesteron reseptörü (PR) olmak üzere üç temel biyobelirteç rol oynamaktadır (Luz vd., 2022).

Meme kanseri çoğunlukla, süt bezlerinde üretilen sütü meme ucuna taşıyan kanallarda başlar. Duktal karsinom, meme kanserinin süt taşıyan kanallarında başlayan alt tipidir. Lobüler karsinom ise süt üreten bezler olan lobüllerde başlayan bir alt tiptir (Obeagu ve Obeagu, 2024).

Hücre tipine bağlı olarak meme kanserleri, sarkomlar ve karsinomlar şeklinde sınıflandırılır. Sarkomlar, memenin epitel olmayan destek dokularından kaynaklanır ve görülme oranı %1'den daha azdır. Karsinomlar ise lobülleri ve kanalları oluşturan epitel hücrelerinden köken alır ve küresel kanser vakalarının yaklaşık %12'sini oluşturur (Swaminathan vd., 2023).

1.1.4.1 Histolojik Sınıflandırma

Meme kanserinin histolojik sınıflandırılması, tümörün meme dokusunun hangi bölümünde başladığına ve yakında bulunan dokulara yayılım durumuna göre yapılır. En yaygın alt tipler arasında invaziv duktal karsinom ve invaziv lobüler karsinom yer alır. Tablo 1.3'te meme kanserinin histolojik sınıflandırılması detaylı olarak verilmiştir. Ayrıca medüller karsinom, metaplastik karsinom, apokrin karsinom müsinöz karsinom, kribriform karsinom ve nöroendokrin karsinom gibi daha az görülen özel histolojik alt tiplerde tanımlanmıştır (Nascimento ve Otoni, 2020). Meme kanserinin histolojik tipi, hastalığın prognozu açısından klinik olarak önem arz eder (Açıkgöz ve Yıldız, 2017).

Tablo 1.3 Meme kanserinde histolojik sınıflandırma (Çapanoğlu ve Bakar, 2018).

| 1.İN SİTU KARSİNOM | |
|-----------------------------|--------------------------------|
| İn situ lobüler karsinom | İn situ duktal karsinom |
| 2.İNVAZİV KARSİNOM | |
| İnvaziv duktal karsinom | İnvaziv mikropapiller karsinom |
| İnvaziv lobüler karsinom | Apokrin karsinom |
| Tübüler karsinom | Sekretuar (juvenil) karsinom |
| İnvaziv kribriform karsinom | Adenoid kistik karsinom |
| Medüller karsinom | Metaplastik karsinom |
| Müsinöz karsinom | Nöroendokrin karsinom |
| İnvaziv papiller karsinom | İnflamatuar karsinom |

1.1.4.2 Moleküler Sınıflandırma

Meme kanseri, moleküler olarak dört alt türe sahiptir: Luminal A, Luminal B, İnsan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2 (HER2) pozitif ve üçlü negatif meme kanseri (TNBC) (Salum vd., 2024). Tablo 1.4’te meme kanserinin moleküler sınıflandırılması detaylı olarak gösterilmiştir.

1.1.4.2.1 Luminal A Meme Kanseri

Luminal meme kanseri, östrojen reseptörü (ER) pozitif olan tümörleri kapsar ve Luminal A ve Luminal B olmak üzere iki alt tipe ayrılır.

Luminal A tümörleri, östrojen reseptörü (ER) ve/veya progesteron reseptörü (PR) varlığı ve insan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2 (HER2) yokluğu ile bilinir. Bu alt tipte, ER transkripsiyon faktörleri, meme kanallarını kaplayan luminal epitel hücrelerine özgü genlerin ekspresyonunu aktive eder. Klinik olarak en iyi prognoza sahip olan Luminal A tümörleri, genellikle yavaş büyürler (Lukasiewicz vd., 2021).

1.1.4.2.2 Luminal B Meme Kanseri

Luminal B tümörleri ise daha yüksek derecelidir ve daha kötü bir prognozu vardır. ER pozitif ve PR negatif ve/veya HER2 pozitif olabilir. Ayrıca hücre çoğalması ile ilişkili genlerin (Örneğin; *MKI67* ve *AURKA* gibi) yüksek ifadesine sahiptir (Lukasiewicz vd., 2021).

1.1.4.2.3 HER2 ile Zengileştirilmiş Meme Kanseri

Tüm meme kanserlerinin yaklaşık %15-20'sini oluşturur. HER2 (Human Epidermal Growth Factor Reseptör 2), hücre büyümesini kontrol eden bir proteindir, aşırı ifade olduğu durumlarda kanser hücrelerinin hızla çoğalmasına neden olmaktadır (Nascimento ve Otoni, 2020).

1.1.4.2.4 Bazal Benzeri/Üçlü Negatif Meme Kanseri

Üçlü negatif meme kanseri tüm meme kanserlerinin %10-20'sini oluşturur. Bu alt tip östrojen ve progesteron reseptörlerini bulundurmaz. Genellikle agresif ve kötü diferansiye olup hızlı bir yayılma gösterir (Nascimento ve Otoni, 2020).

Tablo 1.4 Meme kanserinin moleküler alt tipleri (Nascimento ve Otoni, 2020).

| Moleküler Alt tipler | Luminal A | Luminal B | | HER2+ | TN (Üçlü Negatif) |
|--------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|--|------------------------------------|------------------------------------|
| | | (HER2-) | (HER2+) | | |
| Biyobelirteç | ER+ PR+ HER2- Ki67 düşük | ER+ PR- HER2- Ki67 yüksek | ER+ PR-/+ HER2+ Ki67 düşük/ yüksek | ER- PR- HER2+ Ki67 yüksek | ER- PR- HER2- Ki67 yüksek |
| Vaka Sıklığı (%) | 40-50 | 20-30 | | 15-20 | 10-20 |
| Histolojik Derece | İyi farklılaşmış (I.derece) | Orta farklılaşmış (II. s) | | Az farklılaşmış (III.derece) | Az farklılaşmış (III.derece) |
| Prognoz | İyi | Orta | | Fakir | Fakir |

1.1.5 Meme Kanserinde Evreleme

Meme kanserinin evrelemesi TNM (T-tümör boyutu; N-lenf nodu metastazı; M-uzak organ metastazı) evreleme sistemiyle oluşturulur. TNM evrelemesi Tablo 1.5'te detaylı olarak verilmiştir. Aynı TNM özelliklerine sahip kanserler, moleküler profil farklılığından dolayı çok zıt davranışlarda bulunabilir. Yapılan çalışmalar tümör boyutu (T), lenf nodu metastazı (N) ve uzak metastaz (M) arasında doğrusal olmayan bir ilişkinin bulunduğunu göstermiştir (Cordero Da Luz vd., 2022).

Tablo 1.5 Meme kanserinde TNM evrelemesi

| Evre 0 | Tis | N0 | M0 |
|------------------|------------|-----------|-----------|
| Evre I | T1 | N0 | M0 |
| Evre IIA | T0 | N1 | M0 |
| | T1 | N1 | M0 |
| | T2 | N0 | M0 |
| Evre IIB | T2 | N1 | M0 |
| | T3 | N0 | M0 |
| Evre IIIA | T0 | N2 | M0 |
| | T1 | N2 | M0 |
| | T2 | N2 | M0 |
| | T3 | N1 | M0 |
| | T3 | N2 | M0 |
| Evre IIIB | T4 | No | M0 |
| | T4 | N1 | M0 |
| | T4 | N2 | M0 |
| Evre IIIC | Her T | N3 | M0 |
| Evre IV | Her T | Her N | M1 |

1.2 Kodlamayan RNA'lar ve Sınıflandırılması

Kodlamayan RNA'lar (Non-coding RNAs, ncRNAs), housekeeping ve düzenleyici RNA'lar olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Housekeeping ncRNA'lar, rRNA ve tRNA'lar gibi mRNA çevirisinde rol oynarken, düzenleyici RNA'lar dış uyarıcılara cevap oluştururlar. ncRNA'lar, RNA işlenmesi, gen ifadesi ve protein sentezi gibi önemli biyolojik süreçlerde rol oynarlar. Kodlamayan RNA'lar uzunluklarına göre iki sınıfa ayrılırlar: kısa kodlamayan RNA'lar (< 200 nükleotit) ve uzun kodlamayan RNA'lar (>200 nükleotit). Küçük kodlamayan RNA'lar, mikroRNA'lar (miRNA'lar), küçük nükleer RNA'lar (snRNA'lar), küçük nükleolar RNA'lar (snoRNA'lar), küçük girişimci RNA'lar (siRNA'lar) ve Piwi ile etkileşimli RNA'lar (piRNA'lar) olmak üzere 5 farklı gruba ayrılırlar (Solaimani vd., 2025).

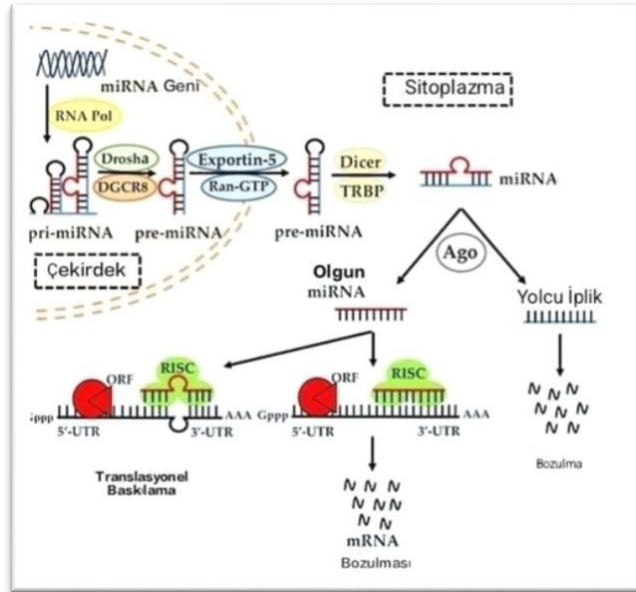
1.2.1 mikroRNA'lar

mikroRNA'lar (miRNA) 1993 yılında Victor Ambros ve Gary Ruvkun tarafından *Ceanorhabditis elegans* üzerinde çalışırken keşfedilmiştir. Bununla birlikte başka çalışmalar ile de *Lin-4* geninin miRNA ilişkili bir gen olması dikkatleri üzerine çekmiştir (Smolarz vd., 2022). Smolarz vd., (2022)'ne göre; "*C. elegans*'in gelişiminde rol oynayan *Lin-4* geni tarafından kodlanan Lin14 proteini ile 22 nükleotidlik bir RNA arasında bir ilişki mevcuttur." Bu açıdan, *Lin-4* keşfedilen ilk miRNA'dır (Vo vd., 2024). mikroRNA'lar hedefledikleri mRNA'ların tohum bölgeleriyle eşleşerek mRNA'nın baskılanması veya degradasyonunu neden olarak proteine dönüşmesini engelleyen, yaklaşık 19-25 nükleotid uzunluğunda tek zincirli bir RNA molekülleridir (Smolarz, 2022). miRNA'lar hedefledikleri mRNA dizisine bağlanarak mRNA'nın gen ekspresyonunu negatif düzenlemiş olurlar (Loh vd., 2019). Hücre bölünmesi, farklılaşması, hücre göçü, anjiyogenez, apoptoz ve onkogeneze dahil olmak üzere birçok biyolojik süreçleri kontrol ederler (Smolarz, 2022). Ayrıca çeşitli fizyolojik durumlarda (kanser, hamilelik, viral hastalıklar vb.) miRNA'ların seviyesi değişebilmektedir. Hedef mRNA'nın bu küçük RNA molekülleri olan miRNA'lar tarafından baskılanması veya degradasyona uğramasının keşfi ile gen ifadesini kontrol eden sistemlerin anlaşılması daha da hız kazanmıştır (Smolarz vd., 2022).

1.2.1.1 mikroRNA'ların Biyogenezi

miRNA biyogenezi bir çok adımı içeren karmaşık bir süreçtir. Şekil 1.4'te miRNA biyogenezi şematize edilmiştir. miRNA'lar, çekirdekte ve sitoplazmada kademeli olarak işlenir. Çekirdekte RNA Polimeraz II, DNA'dan olgun miRNA dizisini içeren hairpin yapısında uzun bir pri-miRNA transkripti kopyalar. Oluşan hairpin bir RNAz III enzimi olan Drosha ve kofaktörü DGCR8 (DiGeorge Kritik Sendrom Bölgesi 8) tarafından kesilir ve işlenmiş bir saç tokası şeklinde pre-miRNA oluşur. Exportin 5 (XPO5) proteini pre-miRNA'yı sitoplazmaya taşır. Bir diğer RNAz III enzimi olan DICER ve onun kofaktörü TRBP tarafından işlenerek olgun miRNA ipliğininide içeren çift sarmallı bir RNA dubleksü üretilir. Dubleks açılır ve olgun miRNA dizisini içeren daha kararlı kısım RNA kaynaklı susturma kompleksi (RISC) yüklenir. RISC/miRNA kompleksi hedef mRNA'nın seed bölgesine bağlanma durumuna göre ya mRNA'nın çevirimini engeller ya da bozunmasına neden olur (Bofill-De Ros ve Vang Ørom, 2023).

miRNA'ları kodlayan genler çoğunlukla yüksek kararsızlığa sahip olan gen içi bölgelerde ve protein kodlayan genlerin intron ve ekzonlarında lokalize olurlar. miRNA genlerindeki nokta mutasyonları, tek nükleotit polimorfizmleri ve epigenetik değişiklikler hedef genlerin ekspresyonunu etkileyebilirler (Smolarz vd., 2022). miRNA genleri gen içi veya genler arası olarak da oluşabilmektedir (Loh vd., 2019).



Şekil 1.4 miRNA biyogenezi (Loh vd., 2019).

1.2.1.2 mikroRNA'ların işlevleri

miRNA'lar etkiledikleri genlere bağılı olarak onkogenleri aktive ederse onkomiR veya onkogenleri inhibe ederse tümör baskılayıcı miR olarak iki farklı şekilde bulunabilirler. Tümör baskılayıcı miRNA'lar kanserin oluşumunu engelleyebilecek moleküllerin sentezinin artmasına sebep olurken, onkomiR'ler tümörün oluşumu ve yayılımında önemli olan moleküllerin artmasına neden olurlar. Sadece bir miRNA sayısız mRNA'yı hedefleyip 3'UTR bölgesine bağlanarak çok sayıda geni etkileyebilir (Smolarz vd., 2022). İnsanlarda 2000'den fazla miRNA bulunduğu ve bu miRNA'ların insan genomunun üçte birini düzenleyebildiği gösterilmiştir (Vo vd., 2024). Ayrıca 5'UTR ve ORF bölgelerine bağlanma ihtimali düşünüldüğünde bu oran daha da artmaktadır (Smolarz vd., 2022).

1.2.1.3 mikroRNA'ların Hastalıklarla İlişkisi

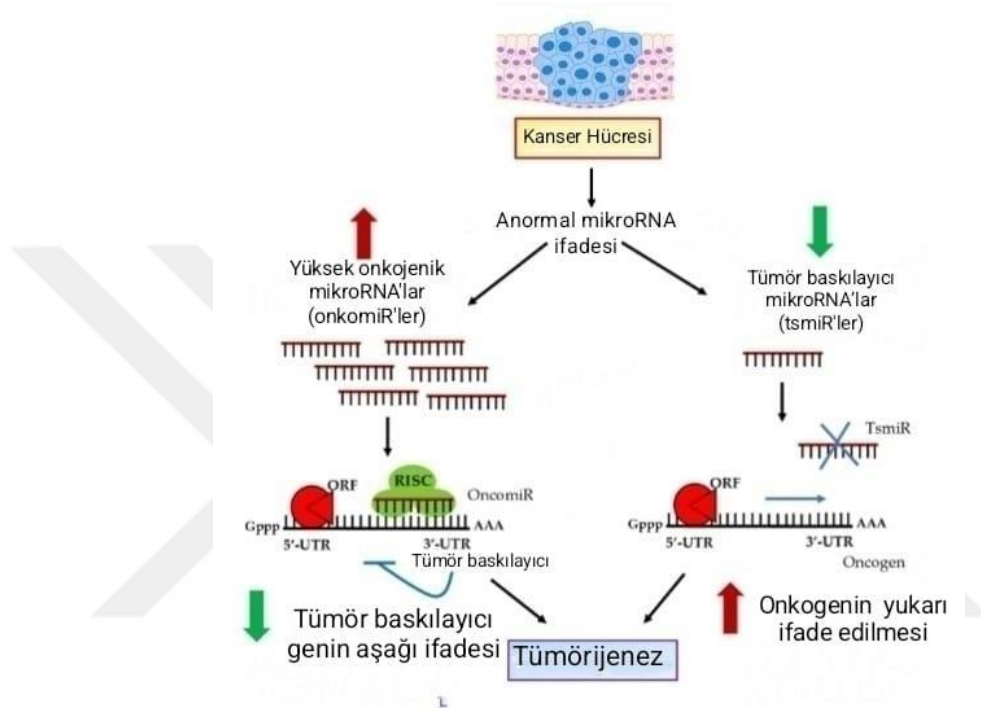
miRNA'nın bütün vücut sıvılarında var olduğunun keşfedilmesi teşhiste kullanılabileceğini düşündürmüştür ve bu yüzden miRNA'ların kullanım alanı oldukça genişlemiştir (Smolarz vd., 2022).

1.2.1.4 mikroRNA-Kanser İlişkisi

mikroRNA'ların (miRNA) apoptoz, hücre proliferasyonu, farklılaşma ve anjiyogenez gibi birçok temel biyolojik sürecin düzenlenmesinde rol oynadığı bilinmektedir. Bazı miRNA'ların onkogenik özellikler göstererek hücre proliferasyonunu artırdığı veya apoptozu baskıladığı; bazı miRNA'ların ise tümör baskılayıcı işlev görerek apoptoz gibi tümör karşıtı süreçleri desteklediği ortaya konmuştur. miRNA'ların ifade düzeylerinin kanserli ve normal doku örnekleri arasında farklılık göstermesi, bu moleküllerin kanserin patogenezinde önemli işlevlere sahip olabileceğini göstermektedir (Saydam ve ark., 2010). Örneğin, ksenojen prostat kanserinde yapılan bir çalışmada, dolaşımdaki miRNA seviyeleri ile tümör gelişimi arasında anlamlı bir ilişki olduğu saptanmıştır (Vo ve ark., 2024).

İnsan genomunda miRNA kodlayan genlerin yaklaşık %50'sinin kanserle ilişkili ve kırılğan kromozomal bölgelerde yer alması, bu moleküllerin kanser gelişimindeki önemini desteklemektedir (Loh ve ark., 2019).

miRNA tabanlı tedavi stratejileri ise kanserli hücrelerde bozulan moleküler dengenin yeniden sağlanmasını hedeflemektedir. Bu amaçla, tümör gelişimini teşvik eden onkomirlerin inhibe edilmesi ya da tümör baskılayıcı miRNA'ların yeniden eksprese edilmesi yoluyla miRNA'ların kanser üzerindeki çift yönlü etkilerinden yararlanılmaktadır (Di Martino ve ark., 2025). Şekil 1.5'te, kanserli ve normal dokular arasında gözlenen miRNA ifade düzeyi farkları görsel olarak sunulmaktadır.



Şekil 1.5 miRNA'ların kanser hücrelerindeki anormal ifade seviyeleri (Loh vd., 2019).

1.2.1.5 Meme Kanseri Gelişiminde miRNA'ların Yeri

Meme kanseri moleküler özellikleri arasında insan epidermal büyüme faktör reseptörü 2'nin aktivasyonu (ERBB2 tarafından kodlanan HER2), hormon reseptörlerinin aktivasyonu (östrojen reseptörü ve progesteron reseptörü) ve meme kanseri mutasyonlarının (*BRCA* genlerindeki mutasyonlar) dahil olduğu heterojen bir hastalıktır (Harbeck vd., 2019). Meme kanserinin farklı hücresel yolları metastaz, kanser nüksü, apoptoz, hücre proliferasyonu onkogenik veya tümör baskılayıcı miRNA'lar tarafından düzenlenmektedir. miRNA'ların anormal ekspresyonları meme kanserinde dahil olmak üzere çeşitli hastalıkların etiyolojisiyle ilişkilendirilmiştir (Loh vd., 2019). miRNA'lar transkripsiyon sonrası gen düzenleyicileri olarak hücre çoğalması, apoptoz, farklılaşma ve metabolizma gibi birçok önemli biyolojik olayı

etkileyerek hücrel homeostazın korunmasında rol oynarlar (Di Martino vd., 2025). Yapılan kapsamlı çalışmalar miRNA'ların meme kanserli hastalarda, kanserli ve sağlıklı dokularda farklı ifade edildiklerini göstermiştir (Munoz vd., 2023). miRNA'lar hedef genleri ifadesi üzerindeki etkilerine bağlı olarak tümör baskılayıcı veya onkojenik olarak rol oynarlar (Otmani vd., 2021).

1.3 Amaç

Bu tez çalışmasında, meme kanserli hastaların tümörlü ve tümörün çevresindeki sağlıklı dokularında miR-4720-5p, miR-4295 ve miR-3928-5p'nin ekspresyon düzeyleri karşılaştırılarak, meme kanseri gelişimi ile ilişkili olup olmadığının belirlenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca, meme kanserli hastaların klinik ve patolojik verileriyle, miR-4720-5p, miR-4295 ve miR-3928-5p'nin ifade düzeyleri arasındaki ilişkinin ortaya konulması da hedeflenmiştir. Bunlara ilave olarak çeşitli biyoinformatik analizler yapılarak miRNA'ların hedef transkripsiyon faktörlerinin ve genlerinin belirlenmesi ve Fonksiyonel Zenginleştirme Analizi ile hedef genlerin biyolojik süreçlerdeki rollerini açıklamak üzere KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) ve GO (Gene Ontology) veri tabanları kullanılarak moleküler işlev (MF), biyolojik süreç (BP) ve hücrel bileşenler (CC) düzeyinde fonksiyonel zenginleştirme analizlerinin gerçekleştirilmesi amaçlanmıştır. Elde edilen bulgular ışığında miR-3928-5p, miR-4295 ve miR-4720-5p'nin erken tanı, prognoz değerlendirmesi ve potansiyel terapötik hedef olarak kullanımının bilimsel temelini ortaya konulması gerçekleştirilmiştir.

BÖLÜM 2

LİTERATÜR TARAMASI

Lee ve arkadaşları (1993) *C. elegans* üzerinde yaptıkları çalışmada, lin-14 genine ait mRNA transkriptlerinin mevcut olduğunu, ancak buna rağmen Lin-14 proteinin üretilmediğini gözlemlemişlerdir. Lin-14 mRNA'sını incelediklerinde, lin-14 mRNA'sının 3'UTR bölgesinde lin-14 genine antisens bir RNA dizisi bulmuşlardır. Bu RNA dizisinin, yaklaşık 22-61 nükleotit uzunluğunda ve lin-14 mRNA'sının translasyonunu negatif olarak düzenlediğini tespit etmişlerdir. Bu kısa RNA dizisine 'lin-4' adını vermişlerdir.

Shen ve arkadaşları (2009) *BRCA1/2*, *p53* ve *PTEN* gibi meme kanserindeki temel genlerde yaptıkları çalışmada miR-21, miR-146a, miR-92, miR29b-1, miR-125a, miR-191, miR-125b1, miR-223, miR-128, miR125b-2, miR-128b, miR-17, miR-24-1, miR-29b-2, miR-29b-1, miR-30c-1, miR-30c-2 ve miR-125b-2'nin normal hücrelere kıyasla daha farklı olarak ifade edildikleri belirlenmiştir (Shen vd., 2009).

Li ve arkadaşları (2014), miR-221/222 kümesinin insan kanserlerinde onkomiR olarak rol oynadığını ifade etmişlerdir. miR-221/222'nin yüksek seviyede invaziv bazal benzeri meme kanseri (BLBC) hücrelerinde, invaziv olmayan lüminal hücrelere göre çok daha yüksek ifade edildiğini tespit etmişlerdir. Hücre döngüsünün S fazına girişi, miR-221/222 ifadesinin indüklenmesiyle bağlantılı bulunmuştur. Proteomik analiz, miR-221/222'yi hedefleyen miRNA inhibitörlerinin, BLBC'de hücre göçünü, invazyonunu ve hücre döngüsünün G1/S geçişini önemli seviyede baskıladığını göstermiştir. Bu çalışma, miR-221/222'nin hücre döngüsünün G1/S geçişini düzenlediğini ortaya koyan ilk çalışmadır.

miR-21, RAS onkogen ailesinin bir üyesi olan RAB6A, hücre ölümünü engelleyen Bcl2, hücre sel büyüme ve farklılaşmayı kontrol eden TGF β kaynaklı protein ve TGF β reseptörünün aktivitesini düzenler. Bu mekanizma, hücrelerin doğal ölüm sürecini baskılayarak kanser hücrelerinin kontrolsüz şekilde büyümesine ve tümör

gelişiminin hızlanmasına neden olur. Bu nedenle miR-21, kanser biyolojisinde önemli bir mikroRNA olarak kabul edilir (Tao vd., 2015).

Loh ve arkadaşları (2019) yaptıkları araştırmada insanda miRNA kodlayan genlerin yaklaşık olarak %50'sinin kanserle ilişkili ve kırılğan kromozomal bölgelerde bulunduğunu belirtmişlerdir.

Corrêa ve arkadaşları (2021) meme kanseri hücre hatları (MK) ile normal meme epitel hücreleri (HMEC) arasında farklı şekilde ifade edilen 430'dan fazla miRNA tanımlanmışlardır. Bu miRNA'lardan 110'unun MK'nin moleküler alt tiplerinde ortak olarak ifade edildiği gösterilmiştir. GTEx ve TCGA-BRCA veri setleri üzerinden yapılan kantitatif değerlendirmeler, *MYB* ve *EZH2* genlerinin MK miRNome tarafından potansiyel olarak hedef alındığını doğrulamıştır. Özellikle *EZH2* ekspresyonunun genel sağkalım üzerinde belirgin bir etkisi olduğu belirtilmiştir. MK alt tiplerinin agresiflik düzeylerine göre seçilen 15 miRNA'nın ekspresyonu TCGA-BRCA veri setiyle doğrulanmıştır. Bu miRNA'ların mRNA etkileşim tahmini sonucunda, meme kanserinde yeni veya yeterince çalışılmamış yedi miRNA tanımlanmıştır: *MYB*'yi hedefleyen miR-1271-5p, miR-130a-5p ve miR-134; *EZH2*'yi hedefleyen miR-138-5p, miR-455-3p, miR-487a ve miR-487b olarak tespit edilmiştir. Bu çalışmada, hastalık alt tiplerinde rol oynayan yeni bir moleküler miRNA imzası tanımlanmıştır.

Arun ve arkadaşları (2022) miRNA'ların kanserin farklı alt tiplerinde farklı hücresel etkiler gösterdiklerini ifade etmişlerdir. Luminal B alt tipinin, Luminal A tipine göre daha fazla miRNA düzensizliği gösterdiği belirtilmiştir. HER2+ alt tipte, *HER2* geneine entegre miR-4728 dahil olmak üzere çeşitli miRNA'ların hedef genlerle etkileşerek hücre proliferasyonunu etkilediği ve miRNA ile mRNA arası bağlantıların, HER2 sinyal yoluna entegre olan genlerle (*ERBB2*, *GRB7*) bağlantılı olduğu bildirilmiştir. Triple negatif meme kanserinde (TNBC) en agresif alt tip olduğu, miR-18a, miR-93, miR-155 gibi onkogenik miRNA'ların arttığı; miR-138 gibi tümör baskılayıcı miRNA'ların ise azaldığı vurgulanmıştır.

Gupta ve arkadaşları (2025), *GSK3 β* , *NCOA1* ve *SPI* gibi tümör progresyonu ve çeşitli malignitelerle bağlantılı olan genleri belirlemişlerdir. miR-23a, miR-27a ve miR-24-2'nin 26 meme tümörü ve sağlıklı doku örneklerinde, ayrıca MCF7 ve MDA-MB-231

hücre hatlarında qRT-PCR yaparak tümörlü örneklerde sağlıklı örneklerle kıyasla anlamlı düzeyde düşük ifade edildiği gösterilmiştir. Çalışmada, düşük *SPI* ve *NCOAI* düzeylerinin kötü bir prognozu öngördüğü, yüksek *GSK3β* düzeyinin ise daha düşük sağ kalımla ilişkilendirildiği ifade edilmiştir. Özellikle miR-23a ve miR-24-2'nin *GSK3β*'yi hedef alarak Wnt/β-katenin sinyal yolunu bozduğu ve bu yolla meme kanseri gelişimine katkıda bulunduğu ifade edilmiştir.

Gupta ve arkadaşları (2025), miR-23a, miR-27a ve miR-24-2 miRNA'ların meme kanserinde ilişkilerini incelemek için yaptıkları çalışmada bu üç miRNA'nın ifade seviyesinin aşağı regüle edildiğini bulmuşlardır. Çalışma kapsamında bu 3 miRNA'nın ortak hedef genleri belirlenmiş, 26 tümörlü dokuda ve MCF7 ile MDA MB231 hatlarında qRT-PCR ile seviyeleri incelenmiştir. Bu miRNA'ların hedef genlerle bağlanma bölgelerini belirlemek için lusiferaz raportör testi, meme kanseriyle ilişkili genlerin ekspresyonunu incelemek için Western blot, kanser metastazı ve hücre bölünmesi üzerine etkisi için invazyon ve hücre döngüsü testleri yapılmıştır. Çalışma sonucunda *GSK3B*, *NCOAI* ve *SPI* gibi önemli genler kanserle ilişkili bulunmuştur.

2.1 miR-4720-5p

Pascut ve arkadaşları (2019) hepatosellüler karsinomlu hastaların serum örneklerinde yaptıkları çalışmada miR-4720-5p'nin sağlıklı örneklerle göre artan ifade seviyesini anlamlı bulmuşlardır ve miR-4720-5p de dahil olmak üzere çeşitli miRNA'ların non-invaziv biyobelirteç olarak kullanılabileceğini ifade etmişlerdir.

Kim ve arkadaşları (2021) intramukozal mide kanserinde lenf nodu metastazı ile ilişkili miRNA'ları belirlemeyi amaçlamışlardır. Yaptıkları çalışmada miR-628-5p, miR-1587, miR-3175, miR-3620-5p, miR-4459, miR-4505, miR-4507, miR-4720-5p, miR-4742-5p ve miR-6779-5p'nin yukarı regüle olduğunu miR-106b-3p, miR-125a-5p, miR-151b, miR-181d-5p, miR-486-5p, miR-500a-3p, miR-502-3p, miR-1231, miR-3609 ve miR-6831-5p'nin ise aşağı regüle olduğunu ortaya koymuşlardır.

Metastatik karaciğer kanseri olan hastalardan alınan plazma örneklerinde miR-4720-5p'nin ifade seviyesinin metastatik olmayan hasta grubuna göre önemli seviyede aşağı ifade edildiği belirtilmiştir. miR-4720-5p'nin karaciğer kanseri için prognoz ve metastazı belirlemede kullanılabileceği ifade edilmiştir (Huang vd., 2021).

2.2 miR-3928-5p

Xu ve arkadaşları (2014) osteosarkom tanısı almış 10 hasta üzerinde yaptıkları çalışma sonucunda miR-3928'in aşağı regülasyonunun *ERBB3*, *IL-6R* ve *CDK6*'yı hedefleyerek hücre proliferasyonunu desteklediğini saptamışlardır. Osteosarkom dokusunda miR-3928'in yukarı regülasyonunun tümör büyümesini ve indüklemiş hücre apoptozunu inhibe ettiğini, G1 fazındaki hücrelerin yüzdesini arttırdığı ve S fazındaki hücrelerin yüzdesini azalttığı ifade edilmiştir.

Fadhil vd. (2020) baş ve boyun squamöz hücreli karsinomun erken teşhis ve prognozunda tükürük bazlı 2 güvenilir biyobelirteç bulmuşlardır. Tükürükte bulunan miR-let-7'a-5p ve miR-3928'in sağlıklı örneklerle kıyasla önemli ölçüde aşağı regüle edildiği gösterilmiştir.

Hastalardan alınan glioblastoma doku örnekleri ve hücre hatlarında yaptıkları çalışmada Mulcahy ve arkadaşları (2022) miR-3928'in normal beyin dokusuna göre aşağı regüle edildiğini ifade etmişlerdir. miR-3928'in glioblastoma hücrelerinin büyümesini ve invazivliği üzerinde güçlü bir inhibitör etki gösterdiği doğrulanmıştır.

2.3 miR-4295

2018 yılında mide kanserinde yapılan bir çalışmada miR-4295'in yukarı regüle olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmada araştırmacılar, miR-4295'in, mide kanseri hücrelerinin proliferasyonunu teşvik etmek ve DDP tarafından indüklenen GC hücrelerinin apoptozunu inhibe etmek amacıyla EGFR/PI3K/Akt sinyal yolunu aktive ettiğini ve *LRIG1* ekspresyonunu hedeflediğini bildirmişlerdir (Yan vd., 2018).

Cheng ve arkadaşları (2020) osteosarkomda (OS) 30 tümörlü doku ve çevresindeki sağlıklı doku örneklerini kullanarak yaptıkları çalışmada miR-4295'in tümörlü doku örneklerinin sağlıklı doku örneklerine kıyasla önemli ölçüde yukarı regüle edildiğini göstermişlerdir. Ayrıca tümör baskılayıcı olan interferon düzenleyici faktör 1'in (*IRF1*) ifadesinin miR-4295 tarafından düzenlendiği gösterilmiştir.

Yan ve arkadaşları (2022) yaptıkları çalışmada küçük hücreli olmayan akciğer kanseri (Non-Small Cell Lung Cancer; NSCLC) doku ve hücre hatlarında miR-4295'in aşağı regüle olduğunu bulmuştur. Aynı çalışmada miR-4295'in *E2F*'yi hedefleyerek NSCLC hücrelerinin çoğalmasını engellediği de ifade edilmiştir.

BÖLÜM 3

MATERYAL VE METOTLAR

3.1 Materyal

3.1.1 Çalışmada Kullanılan Doku Örnekleri

Çalışmada kullanılan dokular Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı'ndan meme kanseri tanısı alan 67 hastanın operasyonu sonucunda elde edilmiştir. Bu hastaların tümörlü ve tümörün çevresinde bulunan sağlıklı dokuları çalışma materyalini oluşturmuştur. Çalışma için gönüllü olan hastalar bilgilendirilip, "Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Form (BGOF)" ları okutulup imzalatıldıktan sonra çalışmaya dahil olmuşlardır.

2023/197 numaralı Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Etik Kurul Onayı alınmış çalışmada, hasta bireylerden alınan doku örnekleri içerisinde RNAlater (Thermo Fisher Scientific) solüsyonu bulunan eppendorf tüplerin içerisine konulmuş ve çalışmanın yapılacağı zamana kadar -80 °C'deki derin dondurucuda saklanmıştır.

3.2 Metod

3.2.1 Dokudan miRNA İzolasyonu

Bu çalışma için toplamda 67 meme kanserli hastadan alınan tümörlü ve normal doku örneklerinden miRNA izolasyonu, fenol içeren mirVana™ miRNA İzolasyon Kiti (AM1560, Invitrogen, ABD) kullanılarak firmanın belirlediği protokol çerçevesinde yapılmıştır. Elde edilen miRNA örnekleri kullanılacağı tarihe kadar -80 °C'de muhafaza edilmiştir.

3.2.2 Elde Edilen miRNA'lardan Revers Transkriptaz-PCR ile cDNA Sentezi

Dokulardan izole edilen miRNA örneklerinin cDNA'ya çevrimi miScript II RT Kit (Qiagen) kullanılarak Revers Transkriptaz PCR metodu ile yapılmıştır. Tablo 3.1'de

cDNA sentez kitinin içeriği verilmiştir. Tablo 3.2’de kullanılan ısı-döngü cihazında ayarlanan sıcaklık ve süreler verilmiştir.

Tablo 3.1 cDNA sentez kiti içeriği

| Reaksiyon İçeriği | Miktar |
|---------------------------------------|---------|
| 5x miScript HiFlex Buffer | 4 µl |
| 10x miScript Nükleik Karışım | 2 µl |
| miScript Revers Transkriptaz Karışımı | 2 µl |
| RNaz free su | 10.5 µl |
| miRNA örneği | 1.5 µl |
| Toplam Hacim: 20 µl | |

Tablo 3.2 Reverz Transkriptaz PCR metodu için kullanılan ısı-döngü cihazında ayarlanan sıcaklar ve süreler

| Sıcaklık | Süre |
|----------|-----------|
| 37 °C | 60 dakika |
| 95 °C | 5 dakika |
| 95 °C | ∞ |

Çalışmada elde edilen cDNA örnekleri Real-Time PCR işleminde kullanılmak üzere -20 °C’de saklanmıştır.

3.2.3 Kantitatif Gerçek Zamanlı-PCR

Kantitatif Gerçek Zamanlı-PCR (qRT-PCR) yöntemi nükleik asitlerin miktarlarını ölçmek için kullanılan en etkili uygulamalardan biridir. Bu çalışmada 67 meme kanserli hastanın tümörlü ve normal dokularından elde edilen cDNA örnekleri kullanılarak, qRT-PCR metodu ile miR-4720-5p, miR-4295 ve miR-3928-5p’nin ekspresyon düzeyleri belirlenmiştir. qRT-PCR analizi miScript SYBR Green PCR kiti (Qiagen) kullanılarak yapılmıştır. Referans kontrol olarak *RNU6* kullanılmıştır. Örneklerin ekspresyon düzeylerinin belirlenmesinde $2^{-\Delta\Delta Ct}$ metodu kullanılmıştır (Livak ve Schmittgen, 2001). Elde edilen sonuçlar, tümörlü dokuda miRNA ekspresyonunun tümörsüz dokuya oranla kaç kat değiştiğini ifade etmektedir. qRT-

PCR boyunca her örneğin amplifikasyonunun eksponansiyel faza geçtiği an ‘eşik siklus’ (thresholdcycle, Ct) değeri olarak alınmış ve aşağıda belirtilen formül uygulanarak hesaplamalar yapılmıştır.

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

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

Sonuçta tümörlü ve normal dokulardaki ekspresyon seviyeleri kıyaslanmıştır ve $2^{-\Delta\Delta Ct}$ değeri 1’den büyük olanlar yüksek ifade seviyesi, 1’den küçük olanlar ise düşük ifade seviyesi olarak değerlendirilmiştir.

qRT-PCR’da kullanılan miR-4720-5p, miR-4295, miR-3928-5p ve *RNU6*’nın primer dizileri Tablo 3.3’de verilmiştir.

Tablo 3.3 Çalışmada kullanılan genlerin ileri ve geri primer sekansları

| Genler | İleri Primer Sekansları | Geri Primer Sekansları |
|--------------------|------------------------------------|--|
| miR-4720-5p | 5’CAGCCTGGCATATTT GGT-3’ | 5’AGGTCCAGTTTTTTTTTTTTTTT TTAAGT-3’ |
| miR4295 | 5’GCAGCAGTGCAATGT TTTC-3’ | 5’GGTCCAGTTTTTTTTTTTTTTTTT TAAGG-3’ |
| miR-3928-5p | 5’GCAGTGAAGCTCTAA GGTTC-3’ | 5’GTCCAGTTTTTTTTTTTTTTTTTTT GCAG-3’ |
| <i>RNU6</i> | 5’GCTTCGGCAGCACAT ATACTAAAAT-3’ | 5’CGCTTCACGAATTTGCGTGT CAT-3’ |

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

Tablo 3.4 qRT-PCR aşaması için hazırlanan reaksiyon içeriği

| Real-Time PCR Reaksiyonu İçeriği | Hacim |
|----------------------------------|-------|
| miR-qPCR MasterMix | 5 µl |
| cDNA örneği | 1 µl |
| Toplam | 6 µl |

Buz üzerinde tepkime bileşenleri hazırlanıp miR-4720-5p, miR-4295, miR-3928-5p ve referans olarak *RNU6* ifade seviyelerini tespit etmek için 7500 Fast Real-Time PCR sistemi (Applied Biosystems, Singapore) kullanılmıştır. Tablo 3.5’de qRT-PCR için uygun tepkime koşulları verilmiştir.

Tablo 3.5 qRT-PCR için kullanılan sıcaklık ve süreler

| Sıcaklık(°C) | Süre | Döngü Sayısı |
|--------------|-----------|--------------|
| 95 | 15 dakika | 1 |
| 94 | 15 saniye | 4 |
| 55 | 30 saniye | 4 |
| 70 | 30 saniye | 4 |

3.2.4 İstatistiksel Analiz

Meme kanserli hastaların tümörlü ve tümörün çevresinde bulunan sağlıklı dokuları arasındaki farklılıkları belirlemek için Paired t-testi kullanılmıştır. Kategorik değişken olarak gruplandırılan meme kanserli hastaların klinik ve patolojik verileri ile miR-4720-5p, miR-4295 ve miR-3928-5p’nin ekspresyon düzeyleri arasındaki ilişki Pearson Ki-Kare ve Fishers’ Exact testleri kullanılarak belirlenmiştir. Bu analizler SPSS (Versiyon 22.0; IBM Corp.) programı kullanılarak yapılmıştır. Yapılan bu işlemler sonucunda p değeri 0,05’den küçük olanlar anlamlı olarak değerlendirilmiştir.

3.2.5 Biyoinformatik Analizler

Bu tez kapsamında, meme kanseri ile ilişkili olduğu belirlenen miR-3928-5p, miR-4295 ve miR-4720-5p mikroRNA’larının (miRNA) potansiyel hedef genleri, bu genlerin düzenlenmesinden sorumlu transkripsiyon faktörleri (TF) ve bu etkileşimlerin biyolojik anlamı kapsamlı bir biyoinformatik yaklaşımla incelenmiştir. Analiz sürecinde, deneysel olarak doğrulanmış veri tabanları, etkileşim ağları ve fonksiyonel zenginleştirme algoritmalarından yararlanılmıştır. Bu analizler; transkripsiyon faktörleri, sinyal yolları ve fonksiyonel gen kümeleri düzeyinde detaylandırılarak, bu miRNA’ların tümör biyolojisindeki rollerinin moleküler düzeyde anlaşılmasını amaçlamıştır. Böylece miRNA-TF-hedef gen eksenindeki düzenleyici ağlar haritalandırılmış, bu moleküler bileşenlerin özellikle meme kanseri patogeneziyle

ilişkili sinyal yollarındaki rolleri değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlar, çalışmada değerlendirilen miRNA'ların meme kanseri biyolojisindeki işlevlerini anlamaya yönelik önemli katkılar sağlamıştır.

3.2.5.1 Transkripsiyonel Ağların Görselleştirilmesi

MikroRNA'lar ile transkripsiyon faktörleri arasındaki düzenleyici ilişkilerin aydınlatılması amacıyla TransmiR v3.0 veri tabanı (<http://www.cuilab.cn/transmir>) kullanılmıştır. Bu veritabanı, TF-miRNA etkileşimlerini görselleştirme, ilişkileri tahmin etme ve işlevsel zenginleştirme gibi modüller sunarak, transkripsiyonel düzenleme ağlarının detaylı şekilde analizine olanak tanımaktadır. Çalışmada, miR-3928-5p, miR-4295 ve miR-4720-5p ile etkileşimde olduğu belirlenen transkripsiyon faktörlerinin biyolojik rolleri ve bu ilişkilerin potansiyel etkileri TransmiR aracılığıyla görselleştirilmiş ve yorumlanmıştır. Ağ yapısının haritalandırılması sayesinde, miRNA'ların hedef TF'lerle olan ilişkileri sistematik biçimde ortaya konmuştur (Tong vd., 2019).

3.2.5.2 miRNA ile TF Ortak Düzenleyici Ağları

MiRNA'lar ile transkripsiyon faktörleri arasında kurulan ortak düzenleyici (co-regulatory) ilişkilerin belirlenmesi amacıyla TransmiR'e ek olarak Human.mirFFL.DB veri tabanından (<http://www.mirffldb.in/human/>) faydalanılmıştır. Bu veri tabanı, miRNA aracılı ileri beslemeli döngüleri (feed-forward loops) ve bu döngüler kapsamında etkilenen genleri kapsamlı şekilde sunmaktadır. Bu analizler, özellikle TF-miRNA-hedef gen ekseninde kurulan düzenleyici motiflerin belirlenmesinde önemli katkı sağlamıştır (Wang vd., 2010). Ayrıca, metin madenciliğine dayalı olarak elle kütürlüğü yapılan TRRUST v2.0 veri tabanı (<https://www.grnpedia.org/trust/>) aracılığıyla meme kanseri ile ilişkili transkripsiyon faktörlerine ait hedef genler belirlenmiş ve bu genlerin düzenlenme dinamikleri analiz edilmiştir. Bu süreçte, insan proteomuna dair protein ekspresyon profilleri sunan Human Protein Atlas platformu (<https://www.proteinatlas.org>) da incelenmiş ve analiz edilen transkripsiyon faktörlerinin meme dokusundaki ekspresyon düzeyleri değerlendirilmiştir (Gurer vd., 2022).

3.2.5.3 miRNA-Hedef Gen Etkileşimlerinin Fonksiyonel Analizi

MiRNA'ların hedeflediği genlerle olan etkileşimlerinin fonksiyonel analizi için, deneysel doğruluğu yüksek iki entegre biyoinformatik araç olan DIANA-TarBase v7.0 (<http://www.microrna.gr/tarbase>) ve DIANA-mirPath v3.0 (<http://www.microrna.gr/miRPathv2>) kullanılmıştır. DIANA-TarBase, miRNA ve hedef gen etkileşimlerini deneysel bulgulara dayandırarak yüksek doğrulukla sunarken, DIANA-mirPath bu etkileşimlerin biyolojik süreçlere ve sinyal yollarına olan etkilerini zenginleştirme analizleri aracılığıyla değerlendirmektedir (Vlachos vd., 2015). Bu sayede, çalışmada değerlendirilen miRNA'ların meme kanseri progresyonundaki işlevsel rolleri kapsamlı şekilde ortaya konmuştur.

3.2.5.4 Gen Ontolojisi (GO) Analizi

Bu çalışmada, miR-3928-5p, miR-4295 ve miR-4720-5p mikroRNA'larının hedeflediği genlerin biyolojik işlevlerinin aydınlatılması amacıyla Gene Ontology (GO) analizleri gerçekleştirilmiştir. GO, Biyolojik Süreçler (Biological Processes, BP), Moleküler Fonksiyonlar (Molecular Functions, MF) ve Hücrel Bileşenler (Cellular Components, CC) olmak üzere genlerin üç temel kategori altında sınıflandırılmasını sağlayan kapsamlı bir biyoinformatik sistemdir. Analiz sürecinde, deneysel olarak doğrulanmış hedef gen listeleri DIANA-TarBase v7.0 ve mirDIP gibi güvenilir veri tabanlarından elde edilmiştir. Bu gen listeleri, daha sonra GO zenginleştirme analizine tabi tutulmuştur (Kanehisa vd., 2017; Gurer vd., 2022). Bu analizlerde, hedef genlerin anlamlı biçimde kümelendiği GO terimleri belirlenmiş ve bu terimlerin meme kanseri biyolojisindeki yeri literatür ışığında değerlendirilmiştir. GO analizinde anlamlılık eşiği $p < 0.05$ olarak belirlenmiş, zenginleştirme katsayısı (enrichment score) ve FDR (False Discovery Rate) gibi istatistiksel parametreler dikkate alınarak yorumlama yapılmıştır. Bu analizler, çalışılan miRNA'ların hedef genleri aracılığıyla hangi hücrel işlevleri modüle edebileceği detaylı bir şekilde ortaya konmuştur.

3.2.5.5 KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) Analizleri

Çalışmada elde edilen hedef genlerin, hücrel sinyal yolları içerisindeki rollerini belirlemek amacıyla KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) yolak

analizleri gerçekleştirilmiştir (Kanehisa vd., 2017). KEGG, gen ürünlerinin yer aldığı biyokimyasal yolları görselleştirme ve fonksiyonel bağlamda yorumlama olanağı sağlayan uluslararası kabul görmüş bir biyoinformatik platformdur. Bu veri tabanı (<https://www.genome.jp/kegg/pathway.html>) özellikle meme kanseri ile ilişkili sinyal yollarının görselleştirilmesinde ve yorumlanmasında kullanılmıştır. Bu analizde kullanılan gen setleri, öncelikle KEGG veri tabanına entegre edilmiş mirPath v3.0 aracı aracılığıyla KEGG yollarına eşlenmiş ve zenginleştirme analizi yapılmıştır. Zenginleştirme analizleri sonucunda elde edilen istatistiksel veriler, p-değeri ($p < 0.05$) ve FDR düzeltmeleri ile anlamlılık testine tabi tutulmuş ve yalnızca istatistiksel olarak güvenilir yollar değerlendirilmiştir. Ağ grafikleri ve fonksiyonel ilişki haritaları Cytoscape (v3.9.1) yazılımı kullanılarak çizilmiş, GO ve KEGG zenginleştirme analizlerinin sonuçları ise ggplot2 kütüphanesi aracılığıyla görselleştirilmiştir (Shannon vd., 2003; Ono vd., 2025). Ayrıca KEGG haritaları üzerinden hedef genlerin bu yollar içerisindeki konumları görsel olarak incelenmiş, böylece miRNA'ların bu yolları hangi moleküller düğümler üzerinden etkilediği belirlenmiştir.

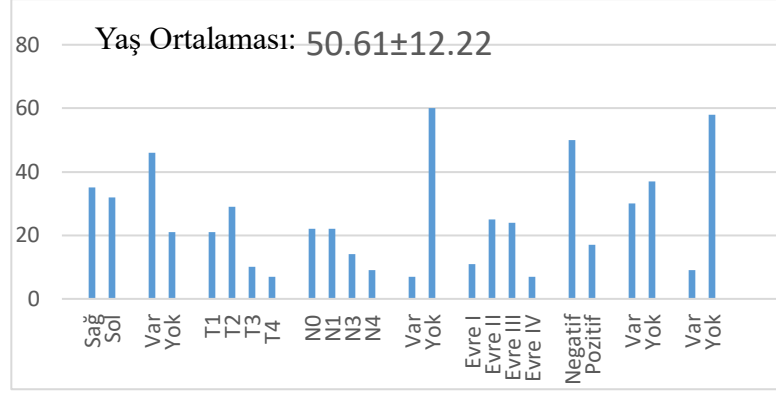
BÖLÜM 4

BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 BULGULAR

4.1.1 Çalışma Materyallerinin Klinik ve Patolojik Verileri

Çalışmaya dahil olan 67 meme kanserli hastaların yaş ortalaması 50.61 ± 12.22 olarak belirlenmiştir. Şekil 4.1’de çalışma örneklemini oluşturan meme kanserli hastaların klinik ve patolojik özellikleri verilmiştir. Kanser yerleşimi hastaların 35’inin sağ memesinde, 32’sinin ise sol memesinde olup tüm hastalardan tümörlü ve sağlıklı doku örnekleri alınmıştır. Meme kanserli hastaların %68.7’sinde metastatik lenf nodu gözlenirken, geriye kalan %31.3’lük kısımda ise metastatik lenf nodu saptanmamıştır. Tümör çapı T1 olanların sayısı 21, T2 olanların sayısı 29, T3 olanların ki 10, T4 olanlar ise 7 hastadan oluşmaktadır. Aksiller lenf nodu açısından yapılan evrelemeye göre hastaların %32.8’i N0, %32.8’i N1, %20.9’u N2 ve %13.4’ü ise N3’de yer almaktadır. Hastaların 7’sinde uzak metastaz gözlenirken, 60’ında ise gözlenmemiştir. TNM evrelemesine göre meme kanserli hastaların %16.4’ü Evre I, %37.3’ü Evre II, %35.8’i Evre III ve geriye kalan %10.4’ü Evre IV’dedir. HER 2 negatif olan hastaların sayısı 50, pozitif olanlar 17 olarak saptanmıştır. 30 hastada lenfovasküler invazyon görülürken, geriye kalan 37 hastada saptanmamıştır. Hastaların %13.4’ün de nöral invazyon tespit edilmiştir.

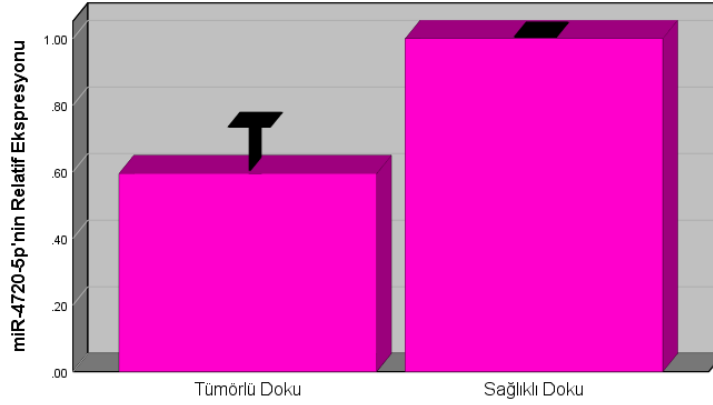


Şekil 4.1 Çalışma örneklemini oluşturan meme kanserli hastaların klinik ve patolojik verileri

4.1.2 Tümörlü ve Sağlıklı Dokularda miR-4720-5p, miR-3928-5p ve miR-4295'in Ekspresyon Analizleri

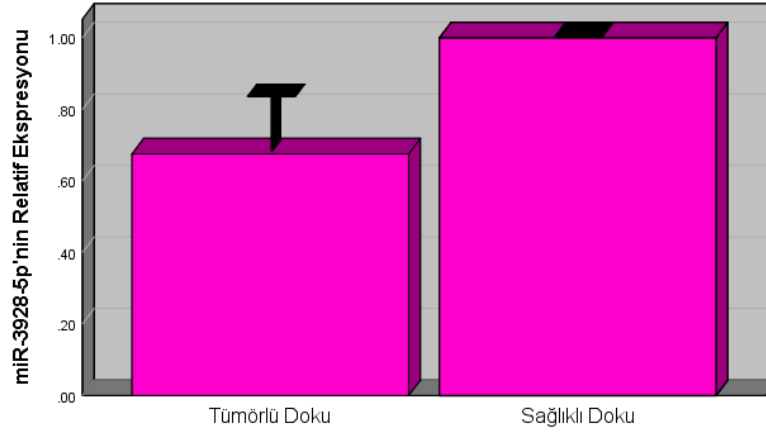
Mevcut çalışmada meme kanseri tanısı almış ve cerrahi operasyon geçirmiş toplam 67 hastanın tümörlü ve tümörün çevresinde bulunan sağlıklı doku örneklerindeki miR-4720-5p, miR-3928-5p ve miR-4295'in kat değişim değerleri (fold change) $2^{-\Delta\Delta Ct}$ metoduyla belirlenmiştir. Çalışmaya katılan 67 hastanın tümörlü ve sağlıklı dokularından izole edilen miRNA'lar Revers Transkriptaz-PCR metodu ile cDNA'ya çevrilmiş ve miRNA'ların ekspresyonları Real-Time PCR analizi ile belirlenmiştir. Kontrol gen olarak *RNU6* kullanılmıştır. Ct değerleri hesaplanmış olan tümörlü ve sağlıklı dokuların her biri için ayrı ayrı ΔCt değerleri hesaplanmıştır. Tümörlü ve sağlıklı dokular arasında ΔCt değerleri Paired t testi ile karşılaştırılmıştır.

miR-4720-5p'nin kat değişim (Fold change (FC)) değeri 0.85 ± 2.30 olarak bulunmuştur ve tümörlü dokular normal dokularla kıyaslandığında, miR-4720-5p ifade seviyelerinin anlamlı derecede düşük olduğu saptanmıştır ($p < 0.001$) (Şekil 4.2).



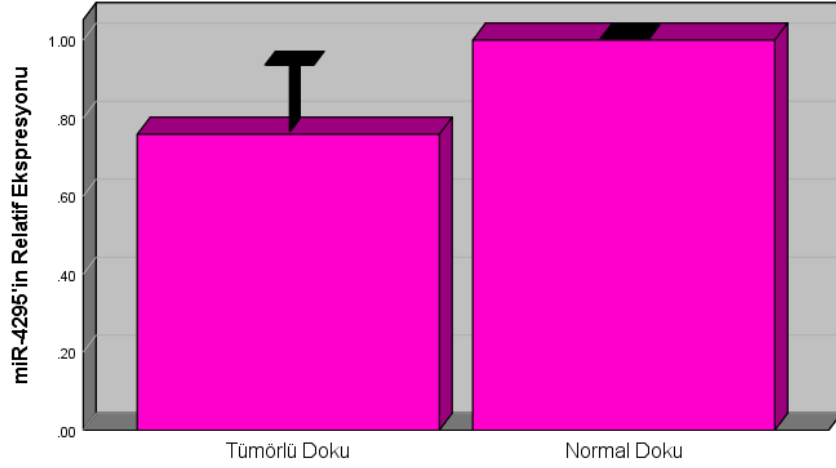
Şekil 4.2 Tümörlü ve normal dokularda miR-4720-5p'nin ifade seviyelerinin karşılaştırılması.

miR-3928-5p'nin kat değişim (FC) değeri 0.66 ± 1.88 olarak bulunmuştur. miR-3928-5p'nin tümörlü dokularda sağlıklı dokulara kıyasla azalan ifade seviyesi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0.001$) (Şekil 4.3).



Şekil 4.3 Tümörlü ve normal dokularda miR-3928-5p'nin ifade seviyelerinin karşılaştırılması

miR-4295'in kat değişim (FC) değeri 0.17 ± 2.22 olarak hesaplanmıştır. miR-4295'in tümörlü dokularında azalan ifadesi normal dokularla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p = 0.029$) (Şekil 4.4).



Şekil 4.4 Tümörlü ve normal dokularda miR-4295'in ifade seviyelerinin Karşılaştırılması

4.1.3 miR-4720-5p, miR-3928-5p ve miR-4295'in Ekspresyon Seviyesinin Klinik ve Patolojik Verilerle İlişkisi

Metastatik lenf nodu, tümör çapı, nöral invazyon vb. özellikleri gibi meme kanserli hastaların klinik ve patolojik verileri ile miR-3928-5p, miR-4295 ve miR-4720-5p'nin ekspresyon düzeyleri arasındaki ilişkiler ki-kare testi ile analiz edilmiştir. Yapılan analizler sonucunda miR3928-5p, miR-4295 ve miR-4720-5p'nin ekspresyon düzeyleri ile hastaların klinik ve patolojik özellikleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki saptanmamıştır ($p>0.05$) (Tablo 4.1).

Tablo 4.1 miR-3928-5p, miR-4295 ve miR-4720-5p'nin ekspresyon düzeyleri meme kanserli hastaların klinik ve patolojik verileri arasındaki ilişkisi

| Değişkenler | | miR-3928-5p | | | miR-4295 | | | miR-4720-5p | | |
|------------------------|----------------|-------------|--------|----------|----------|--------|----------|-------------|--------|----------|
| | | Düşük | Yüksek | P değeri | Düşük | Yüksek | P değeri | Düşük | Yüksek | P değeri |
| CEA | Normal | 40 | 15 | 0.163 | 36 | 19 | 0.072 | 42 | 13 | 0,237 |
| | Yüksek | 11 | 1 | | 11 | 1 | | 11 | 1 | |
| Taraf | Sağ | 26 | 9 | 0.713 | 26 | 9 | 0.439 | 28 | 7 | 0.850 |
| | Sol | 25 | 7 | | 21 | 11 | | 25 | 7 | |
| Metastatik Lenf Nodu | Var | 38 | 8 | 0.065 | 31 | 15 | 0.465 | 37 | 9 | 0.692 |
| | Yok | 13 | 8 | | 16 | 5 | | 16 | 5 | |
| Tümör Çapı | T1 | 15 | 6 | 0.431 | 19 | 2 | 0.011 | 16 | 5 | 0.794 |
| | T2 | 21 | 8 | | 21 | 8 | | 24 | 5 | |
| | T3 | 8 | 2 | | 4 | 6 | | 7 | 3 | |
| | T4 | 7 | 0 | | 3 | 4 | | 6 | 1 | |
| N evre | N0 | 14 | 8 | 0.247 | 17 | 5 | 0.682 | 17 | 5 | 0.740 |
| | N1 | 19 | 3 | | 15 | 7 | | 19 | 3 | |
| | N2 | 10 | 4 | | 10 | 4 | | 10 | 4 | |
| | N3 | 8 | 1 | | 5 | 4 | | 7 | 2 | |
| Uzak Metastaz | Var | 45 | 15 | 0.529 | 43 | 17 | 0.427 | 48 | 12 | 0.598 |
| | Yok | 6 | 1 | | 4 | 3 | | 5 | 2 | |
| Evre | Evre I | 6 | 5 | 0.257 | 10 | 1 | 0.075 | 10 | 1 | 0.682 |
| | Evre II | 21 | 4 | | 20 | 5 | | 19 | 6 | |
| | Evre III | 18 | 6 | | 13 | 11 | | 18 | 6 | |
| | Evre IV | 6 | 1 | | 4 | 3 | | 6 | 1 | |
| HER2 | Negatif | 38 | 12 | 0.969 | 36 | 15 | 0.963 | 39 | 11 | 0.703 |
| | Pozitif | 13 | 4 | | 12 | 5 | | 14 | 3 | |
| Lenfovasküler İnvazyon | Var | 23 | 7 | 0.925 | 18 | 12 | 0.102 | 25 | 5 | 0.443 |
| | Yok | 28 | 9 | | 29 | 8 | | 28 | 9 | |
| Nöral İnvazyon | Var | 8 | 1 | 0.334 | 6 | 3 | 0.806 | 7 | 2 | 0.96 |
| | Yok | 43 | 15 | | 41 | 17 | | 46 | 12 | |
| Multisentrite | Var | 15 | 4 | 0.733 | 13 | 6 | 0.846 | 15 | 4 | 0.984 |
| | Yok | 36 | 12 | | 34 | 14 | | 38 | 10 | |
| Tümör Tipi | Lüminal A | 16 | 8 | 0.382 | 18 | 6 | 0.567 | 20 | 4 | 0.169 |
| | Lüminal B | 17 | 2 | | 13 | 6 | | 15 | 4 | |
| | Triple Negatif | 6 | 2 | | 4 | 4 | | 4 | 4 | |
| | HER2 Pozitif | 12 | 4 | | 12 | 4 | | 14 | 2 | |
| Yaşam Durumu | Yaşiyor | 47 | 14 | 0.569 | 44 | 17 | 0.258 | 49 | 12 | 0.432 |
| | Yaşamıyor | 4 | 2 | | 3 | 3 | | 4 | 2 | |
| Karsinoma İn Situ | Var | 20 | 9 | 0.230 | 20 | 9 | 0.853 | 25 | 4 | 0.212 |
| | Yok | 31 | 7 | | 27 | 11 | | 28 | 10 | |
| Yaş | ≥55 | 21 | 4 | 0.255 | 18 | 7 | 0.132 | 35 | 10 | 0.151 |
| | <55 | 30 | 12 | | 29 | 13 | | 18 | 4 | |

4.1.4 Biyoinformatik Analiz Bulguları

MikroRNA'ların, hedef genlerin ekspresyonunu post-transkripsiyonel düzeyde düzenlemenin yanı sıra, TF'ler aracılığıyla dolaylı yoldan da genetik kontrol mekanizmalarını etkileyebildikleri bilinmektedir. Özellikle kanser biyolojisinde miRNA-TF etkileşim ağlarının aydınlatılması, hücrel homeostazın bozulmasına neden olan moleküler mekanizmaların anlaşılması açısından büyük önem taşımaktadır. Bu bağlamda, meme kanserinde diferansiyel ekspresyon gösterdiği belirlenen üç özgün mikroRNA'nın (miR-3928-5p, miR-4295 ve miR-4720-5p) moleküler rollerini anlamaya yönelik olarak bu tez kapsamında çok yönlü biyoinformatik analizler gerçekleştirilmiştir. İlk olarak, TransmiR v3.0 veritabanı kullanılarak miRNA-TF etkileşimleri analiz edilmiş, bu üç miRNA'nın hedeflediği transkripsiyonel düzenleyici ağlar detaylandırılmıştır. Ardından, TargetScan 8.0 veritabanı aracılığıyla her bir miRNA'ya ait tahmini hedef gen profilleri belirlenmiş; özgül ve ortak hedef gen kümeleri tanımlanarak bu genlerin oluşturduğu biyolojik etkileşim ağları görselleştirilmiştir. Ortak hedef genlerin işlevsel bağlamda değerlendirilmesi amacıyla GO ve KEGG zenginleştirme analizleri yapılmış, elde edilen bulgular moleküler fonksiyon, biyolojik süreç, hücrel bileşen ve sinyal iletim yolları düzeyinde incelenmiştir. Analiz sonuçları, bu üç mikroRNA'nın özellikle hücre proliferasyonu, apoptoz, vezikül taşınımı, endositoz, hücre polaritesi ve hormon yanıtı gibi meme kanseri ile ilişkili temel biyolojik süreçlerde düzenleyici roller üstlenebileceğini ortaya koymuştur. Ayrıca, bağışıklık yanıtı, iskelet organizasyonu ve hücre yapışması gibi kanser progresyonunu etkileyen ek süreçlerin de bu miRNA'lar aracılığıyla dolaylı olarak modüle edilebileceği gösterilmiştir. Bu tez çalışmasında, meme kanseriyle ilişkili üç özgün mikroRNA'nın (miR-3928-5p, miR-4295 ve miR-4720-5p) moleküler hedeflerini ve biyolojik rollerini ortaya koymaya yönelik olarak gerçekleştirilen biyoinformatik analizlerin sonuçları aşağıda ayrıntılı biçimde sunulmuştur.

4.1.4.1 miRNA-Transkripsiyonel Ağların Haritalandırılması

Bu çalışmada, TF'ler ile mikroRNA'lar arasındaki düzenleyici ilişkiler, TransmiR v3.0 veritabanı temel alınarak analiz edilmiştir. TF'ler, meme kanserinde gen ekspresyonundaki düzensizliklerin anlaşılmasında kritik rol oynamakta ve miRNA'ların transkripsiyonel düzeydeki regülasyonunda önemli bir yer tutmaktadır.

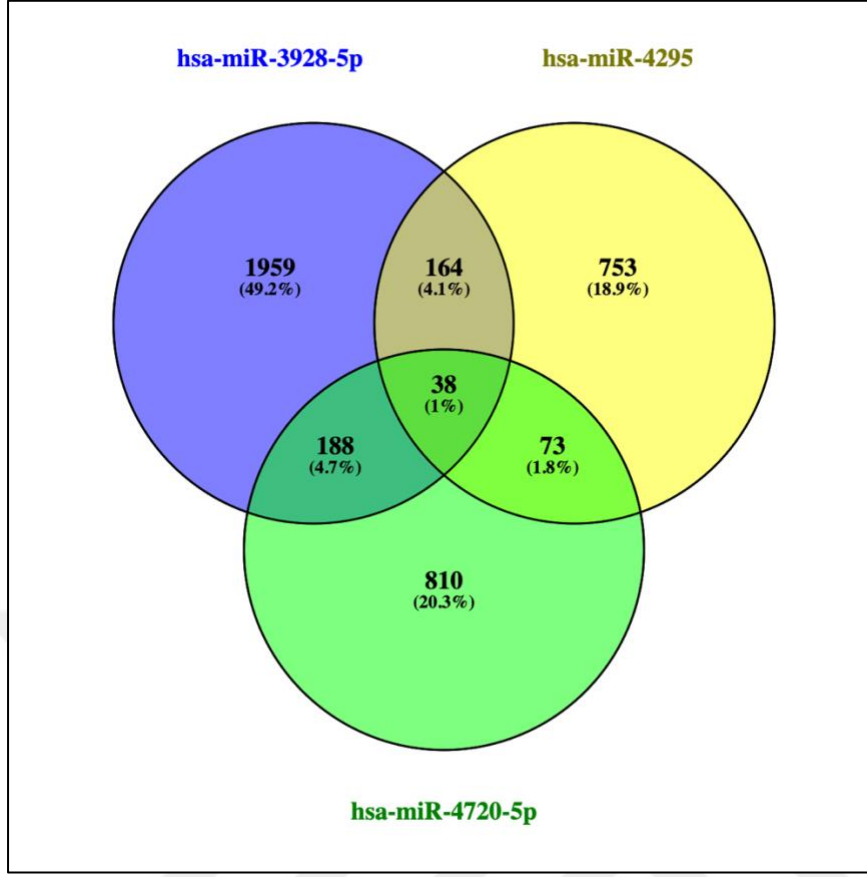
Bu doğrultuda, miR-3928-5p, miR-4295 ve miR-4720-5p ile ilişkili kapsamlı bir transkripsiyonel düzenleyici ağ oluşturulmuş ve bu üç miRNA'nın toplamda 46 farklı TF'ü hedeflediği belirlenmiştir.

Analiz sonuçları, her bir miRNA'nın özgül olarak ilişkilendiği TF'leri ortaya koymuş ve düzenleyici etkileşimlerin karmaşıklığını gözler önüne sermiştir. Özellikle, miR-3928-5p'nin ZNF560, ZNF362, ZBTB49, ZNF121, ZNF770, KMT2A ve ZNF585A gibi toplam 8 TF'ü hedeflediği tespit edilmiştir. miR-4295 ise KMT2A, ZNF441, ZNF135, ZNF613, ZNF284 ve VEZF1 başta olmak üzere 13 farklı TF ile ilişkili bulunmuştur. Benzer şekilde, miR-4720-5p'nin KMT2A, KLF9, KLF16, PATZ1, KLF15 ve MAZ gibi çeşitli TF'lerle düzenleyici etkileşim içinde olduğu saptanmıştır.

Dikkat çekici bir şekilde, KMT2A transkripsiyon faktörünün her üç miRNA tarafından da ortak hedef olarak düzenlendiği ortaya konmuştur. Bu bulgu, KMT2A'nın meme kanserinde transkripsiyonel regülasyon açısından merkezi bir rol oynayabileceğini ve bu üç miRNA'nın birlikte önemli transkripsiyonel süreçleri eşgüdümlü biçimde etkileyebileceğini düşündürmektedir. Ayrıca, elde edilen verilerde çinko parmak (zinc finger, ZNF) proteinlerinin (örn. ZNF362, ZNF560, ZNF121) TF'ler arasında baskın biçimde yer alması, bu protein ailesinin gen ekspresyonunun düzenlenmesindeki belirgin rolünü bir kez daha desteklemektedir. Bu durum, ilgili fonksiyonel zenginleştirme analizleriyle (Tablo 4.3, Şekil 4.7 ve 4.8) de doğrulanmıştır.

4.1.4.2 miRNA–TF–Hedef Gen Ağlarının Oluşturulması

miRNA'ların hücre içi işlevlerini yerine getirirken çok sayıda hedef geni regüle ettikleri bilinmektedir. Bu bağlamda, çalışmamızda miR-3928-5p, miR-4295 ve miR-4720-5p'ye ait hedef gen profilleri, TargetScan 8.0 veritabanı kullanılarak tahmin edilmiş ve her bir miRNA'nın özgül olarak düzenlediği genler belirlenmiştir. Bu analiz sonucunda, miR-3928-5p'nin 1959, miR-4295'in 753 ve miR-4720-5p'nin ise 810 adet hedef geni olduğu saptanmıştır. Elde edilen bu veriler, Şekil 4.5'de yer alan Venn diyagramı aracılığıyla görsel olarak sunulmuştur.



Şekil 4.5 Venn diyagramı ile hedef genlerin dağılımı

Diyagram incelendiğinde, en fazla sayıda özgül hedef gene sahip miRNA'nın miR-3928-5p olduğu ve toplam hedeflerin %49,2'sini oluşturduğu görülmektedir. miR-4295, toplam hedeflerin %18,9'unu (753 gen), miR-4720-5p ise %20,3'ünü (810 gen) oluşturarak benzer şekilde özgün hedefler tanımlamaktadır. Üç miRNA tarafından ortaklaşa hedeflenen gen sayısı 38 olarak belirlenmiş olup, bu sayı toplamın yaklaşık %1'ine denk gelmektedir. Bu durum, her üç miRNA'nın belirli bir ortak gen kümesini birlikte düzenleyebileceğine ve bu genlerin potansiyel olarak meme kanserinde önemli biyolojik işlevlere sahip olabileceğine işaret etmektedir.

Daha detaylı bir şekilde bakıldığında, miR-3928-5p ile miR-4295'in birlikte düzenlediği 164 gen (%4,1), miR-3928-5p ile miR-4720-5p'nin ortak hedeflediği 188 gen (%4,7) ve miR-4295 ile miR-4720-5p'nin birlikte regüle ettiği 73 gen (%1,8) olduğu görülmektedir. Bu bulgular, analiz edilen miRNA'ların hem özgül hem de örtüşen hedef gen kümeleri üzerinden işlevsel olarak önemli yolları düzenleyebileceğini göstermektedir. Üç miRNA tarafından ortaklaşa hedeflendiği tespit edilen 38 gen arasında şunlar yer almaktadır: AAK1, ARHGAP24, ATG2B,

BBX, BCAT1, CCDC6, CHMP3, DDX6, DNMT2, ERC1, FAM20B, FAT3, HCFC2, HRK, JHDM1D, KATNBL1, KCTD20, MOB3B, NFIA, NRP1, PCNX, PMEPA1, PRICKLE2, PRKD3, RASGRF2, RNF103-CHMP3, RPS6KA3, SATB1, SHC3, SLC25A32, SNAP25, STOX2, STX6, TGOLN2, TMEM110, VANGL1, ZNF652 ve ZPLD1. Bu genlerin, özellikle hücre sinyal iletimi, hücre iskeleti organizasyonu, apoptoz, veziküler transport ve transkripsiyonel regülasyon gibi temel biyolojik süreçlerde rol oynayan genler olduğu dikkate alındığında; üç miRNA'nın meme kanserinde birlikte kritik hücresel mekanizmaları hedefleyerek etkili olabileceği değerlendirilmektedir. Ortak hedeflenen bu genler üzerine yapılacak fonksiyonel deneyler, miRNA-tabanlı biyobelirteç veya tedavi stratejilerinin geliştirilmesine katkı sağlayabilecek niteliktedir.

4.1.4.3 miRNA–Hedef Gen Etkileşim Ağlarının Görselleştirilmesi

Üç miRNA tarafından ortak olarak hedeflendiği belirlenen toplam 38 gen, düzenleyici etkileri ve kanserle ilişkili biyolojik süreçlerdeki işlevsel rolleri açısından detaylı şekilde analiz edilmiştir. Bu genler, Tablo 4.2'de özetlenmiş ve analiz sonuçlarına göre ilişkili oldukları transkripsiyon faktörleri (TF'ler) belirlenmiştir. Yapılan analizlerde, söz konusu hedef genlerin MYC, TP53, NF- κ B, SMAD2/3, CREB1, STAT3, YY1, SP1 ve GATA3 gibi önemli TF'lerle etkileşim içinde olduğu ortaya konmuştur. Bu TF'lerin birçoğu, onkogenez, apoptoz, anjiyogenez ve hücre döngüsü düzenlenmesi gibi kanser biyolojisinin temel süreçlerinde merkezi roller üstlenmektedir.

Özellikle, HRK, JHDM1D, SATB1 ve BCAT1 gibi bazı genlerin apoptoz regülasyonu, kromatin yeniden modelleme ve kanser metabolizması gibi süreçlerde doğrudan işlev gördüğü tespit edilmiştir. Ayrıca, tümör baskılayıcı bir TF olan TP53, birden fazla hedef gen üzerinde (örneğin HRK ve SATB1) düzenleyici rol oynamaktadır. Benzer şekilde, bir onkogen olan MYC, BBX, DDX6 ve SHC3 gibi genlerin regülasyonunda yer almaktadır. Apoptoz ile ilişkili HRK ve ARHGAP24 genlerinin ise TP53 ve NF- κ B gibi pro-apoptotik TF'ler tarafından hedeflenmesi, hücre ölümünü destekleyen ortak bir düzenleyici ekseni işaret etmektedir.

Bununla birlikte, anjiyogenezin düzenlenmesinde görev alan NRP1 ve hücre polariteyi kontrol eden VANGL1 gibi genlerin, STAT3 ve LEF1 gibi TF'lerle ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Bu durum, söz konusu genlerin tümör mikroçevresinin

yeniden şekillenmesi ve invazyon süreçlerinde rol alabileceğini göstermektedir. Elde edilen bulgular, bu ortak hedef genlerin izole işlevler üstlenmekten ziyade, daha geniş transkripsiyonel ağlar içerisinde yer aldığını ve bu sayede hücresel sinyal yolları üzerinde kolektif etkilere sahip olduklarını ortaya koymaktadır. Fonksiyonel açıklamalar ve TF eşleştirmeleri (Tablo 4.2), bu genlerin hücre proliferasyonu, göç, apoptoz, otofaji, immün yanıt ve vezikül aracılı taşıma gibi çok sayıda biyolojik sürece dâhil olduğunu desteklemektedir.

Tablo 4.2 miR-3928-5p, miR-4295 ve miR-4720 tarafından düzenlenen hedef genlerde yer alan kanserle ilişkili transkripsiyon faktörleri

| Gen Adı | İlişkili TF(ler) | Gen Fonksiyonu | Aktivasyon Etkisi |
|----------|------------------|--|-----------------------|
| AAK1 | SP1, YY1 | Klatrin aracılı endositoz ve nöronal sinyalleşmeyi düzenler. | Aktivatör |
| ARHGAP24 | STAT3, NF-κB | Hücre iskeleti dinamiğinde görevli Rho GTPaz aktivasyon proteini. | Aktivatör/Baskılayıcı |
| ATG2B | FOXO3, TP53 | Zar dinamiklerinde görev alan otofaji ilişkili gen. | Aktivatör |
| BBX | MYC, E2F1 | Hücre döngüsü ve gelişimde görevli transkripsiyon faktörü. | Aktivatör |
| BCAT1 | HIF1A, MYC | Dallanmış zincirli amino asit metabolizmasında görevli; kanser metabolizmasında rol oynar. | Aktivatör |
| CCDC6 | CREB1, EWSR1 | DNA hasar yanıtı ve apoptoz regülasyonunda görev alır. | Aktivatör |
| CHMP3 | ETS1 | Endozomal sınıflandırmada görevli ESCRT-III kompleksi bileşeni. | Aktivatör |
| DDX6 | MYC | mRNA yıkımı ve translasyon regülasyonunda görevli RNA helikaz. | Aktivatör |
| DNM2 | SP1 | Endositoz ve vezikül taşınımında görevli GTPaz. | Aktivatör |

| Gen Adı | İlişkili TF(ler) | Gen Fonksiyonu | Aktivasyon Etkisi |
|----------|------------------|--|-------------------|
| ERC1 | TCF12 | Sinapslarda aktif bölgede iskele proteindir. | Aktivatör |
| FAM20B | ATF4 | Proteoglikan sentezinde görevli kinaz düzenleyici. | Aktivatör |
| FAT3 | SOX2 | Kaderin-benzeri protein; nöral gelişimde rol oynar. | Aktivatör |
| HCFC2 | IRF1 | Kromatin yeniden şekillenmesinde görevli ortak transkripsiyonel düzenleyici. | Baskılayıcı |
| HRK | TP53 | BCL2 ailesine ait pro-apoptotik gen. | Baskılayıcı |
| JHDM1D | EZH2 | Gen ekspresyonunu düzenleyen histon demetilaz. | Baskılayıcı |
| KATNBL1 | E2F4 | Mitozda sentrozoma bağlı protein. | Aktivatör |
| KCTD20 | NF-κB | Potasyum kanalı düzenleyici protein. | Baskılayıcı |
| MOB3B | YBX1 | Apoptoz ve hücre büyümesini düzenleyen sinyal proteindir. | Aktivatör |
| NFIA | REST | Glial farklılaşmada görevli nöral transkripsiyon faktörü. | Baskılayıcı |
| NRP1 | STAT3 | VEGF sinyalinde görevli nöropilin reseptörü; anjiyogenezi destekler. | Aktivatör |
| PCNX | FOXP1 | Gelişimde Notch sinyal yolunu modüle eden protein. | Baskılayıcı |
| PMEPA1 | SMAD3 | TGF-β'ya yanıt veren ve prostat kanserinde görevli gen. | Baskılayıcı |
| PRICKLE2 | TCF3 | Wnt sinyal yolunda yer alan nörogelişimsel protein. | Aktivatör |
| PRKD3 | ATF2 | Sinyal iletiminde görevli protein kinaz. | Aktivatör |

| Gen Adı | İlişkili TF(ler) | Gen Fonksiyonu | Aktivasyon Etkisi |
|--------------|------------------|---|-------------------|
| RASGRF2 | CREB1 | Ras sinyal yollarında görevli GTPaz aktivatörüdür. | Aktivatör |
| RNF103-CHMP3 | ZNF143 | Endozomal taşınımında görevli füzyon gendir. | Aktivatör |
| RPS6KA3 | ELK1 | Hücre proliferasyonunda görevli MAP kinaz. | Aktivatör |
| SATB1 | TP53 | Gen ekspresyonunu düzenleyen genom organizatörü. | Aktivatör |
| SHC3 | MYC | Tirozin kinaz reseptör sinyalinde adaptör protein. | Aktivatör |
| SLC25A32 | PPARG | Mitokondriyal taşıyıcı protein. | Aktivatör |
| SNAP25 | NRF1 | Sinaptik vezikül füzyonunda görevli SNARE proteini. | Aktivatör |
| STOX2 | SMAD2 | Plasenta gelişiminde görevli transkripsiyon faktörü. | Baskılayıcı |
| STX6 | FOXC1 | Vezikül taşınımında görevli sintaksin proteini. | Aktivatör |
| TGOLN2 | SPDEF | Vezikül taşınımında görevli Golgi proteini. | Aktivatör |
| TMEM110 | ATF6 | Endoplazmik retikulum zar proteinidir. | Baskılayıcı |
| VANGL1 | LEF1 | Hüresel polariteyi düzenleyen planar polarite proteini. | Aktivatör |
| ZNF652 | GATA3 | Tümör baskılanmasında görevli transkripsiyonel baskılayıcı. | Baskılayıcı |
| ZPLD1 | E2F1 | Üreme dokularında ifade edilen ZP domain proteinidir. | Baskılayıcı |

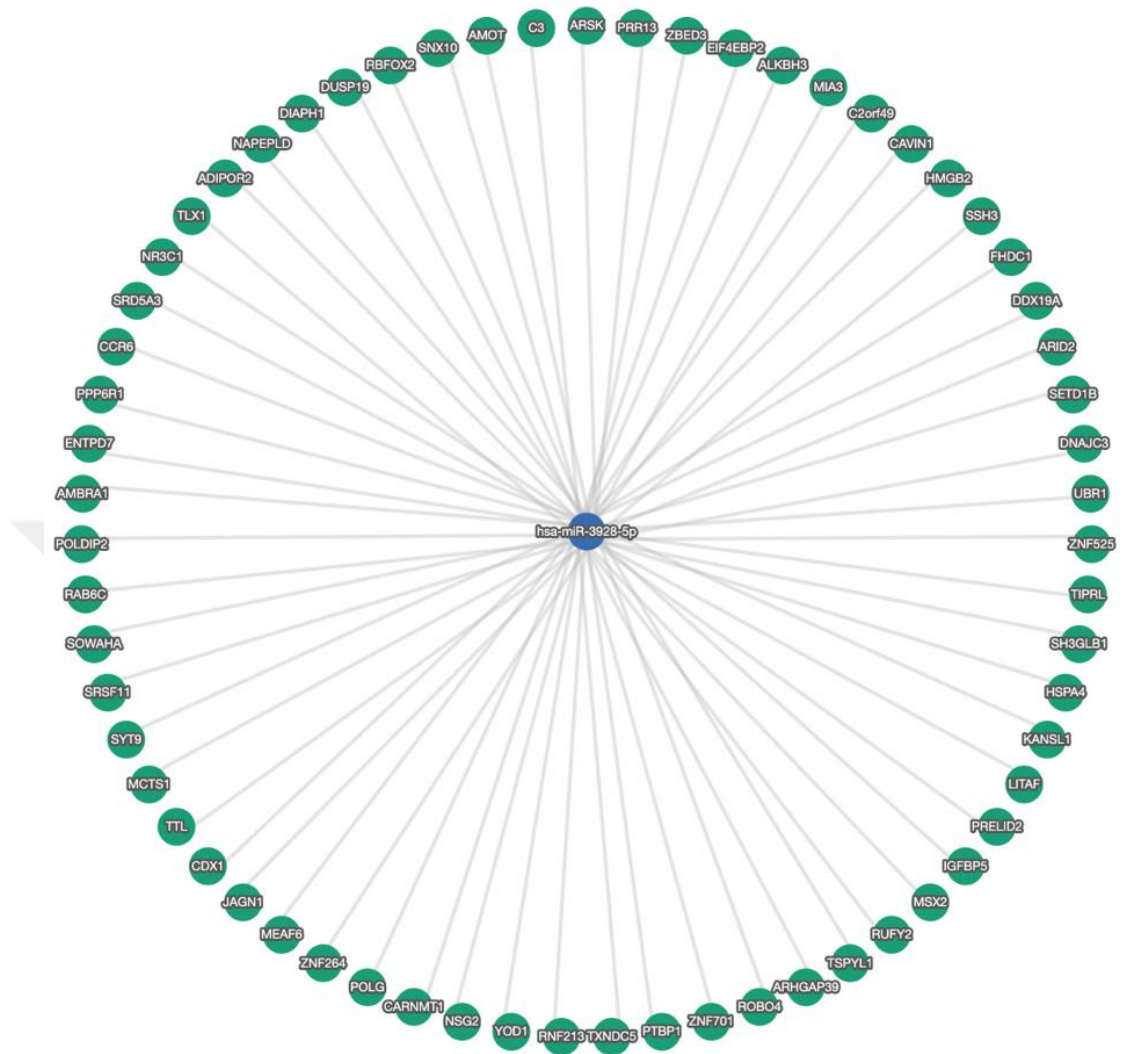
Her bir miRNA'ya ait hedef gen etkileşim ağları ayrıca görselleştirilerek, bu miRNA'ların düzenleyici potansiyeli daha ayrıntılı biçimde değerlendirilmiştir (Şekil

4.6A–C). Şekil 3A’da yer alan hsa-miR-3928-5p ağı, yaklaşık 80–90 hedef gen içermekte olup bu genlerin çoğu vezikül taşınımı (RAB8C, POLDIP2), sinyal iletimi ve apoptoz (AMBRA1, HRK) gibi hücre içi süreçlerde görev almaktadır. Bu durum, miR-3928-5p’nin hücre içi dinamiklerin ve programlanmış hücre ölümünün düzenlenmesinde etkili olabileceğini göstermektedir.

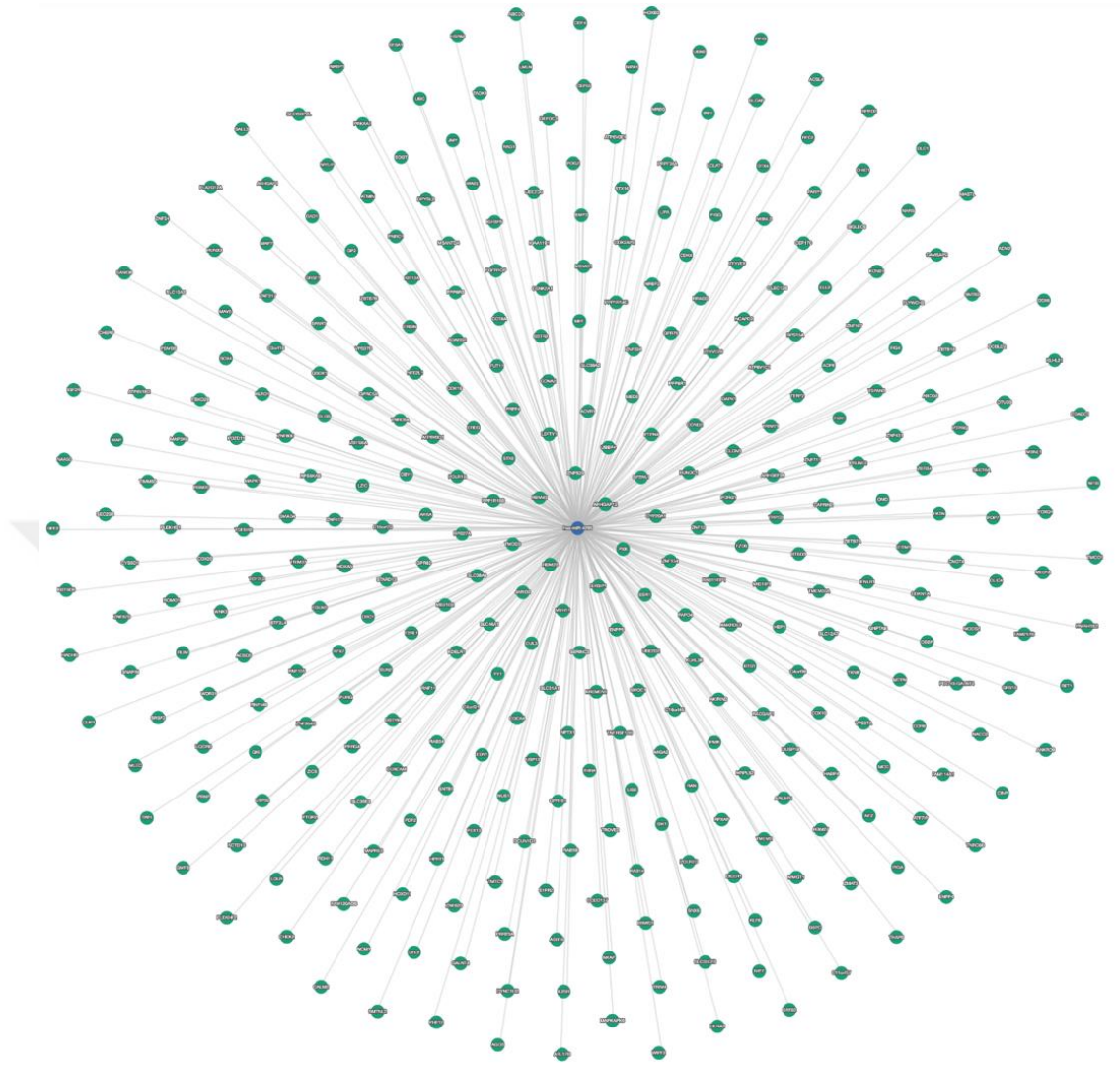
Şekil 4.6B ise analiz edilen üç miRNA arasında en geniş etkileşim ağına sahip olan hsa-miR-4295’i temsil etmekte olup 200’den fazla hedef gen içermektedir. Bu genler arasında kromatin modifikasyonu (SETD1B), transkripsiyonel baskılama (ZNF525) ve ubikuitin aracılı protein yıkımı (UBR1) gibi onkojenik süreçlerde görevli genler yer almaktadır. Bu nedenle, miR-4295’in hem tümör baskılayıcı hem de onkojenik yollarla ilişkili olduğu düşünülmektedir.

Şekil 4.6C’de gösterilen hsa-miR-4720-5p ağı ise yaklaşık 60–70 gen içermekte olup bu genlerin birçoğu hücre döngüsü (SOX4, MAPKAPK2), gelişimsel yollar ve sinyal iletim kaskadlarında (GINS3) rol oynamaktadır. Ayrıca, BRMS1 ve RASSF6 gibi tümör baskılayıcı genlerin varlığı, bu miRNA’nın anti-tümörogenik potansiyele de sahip olabileceğini göstermektedir.

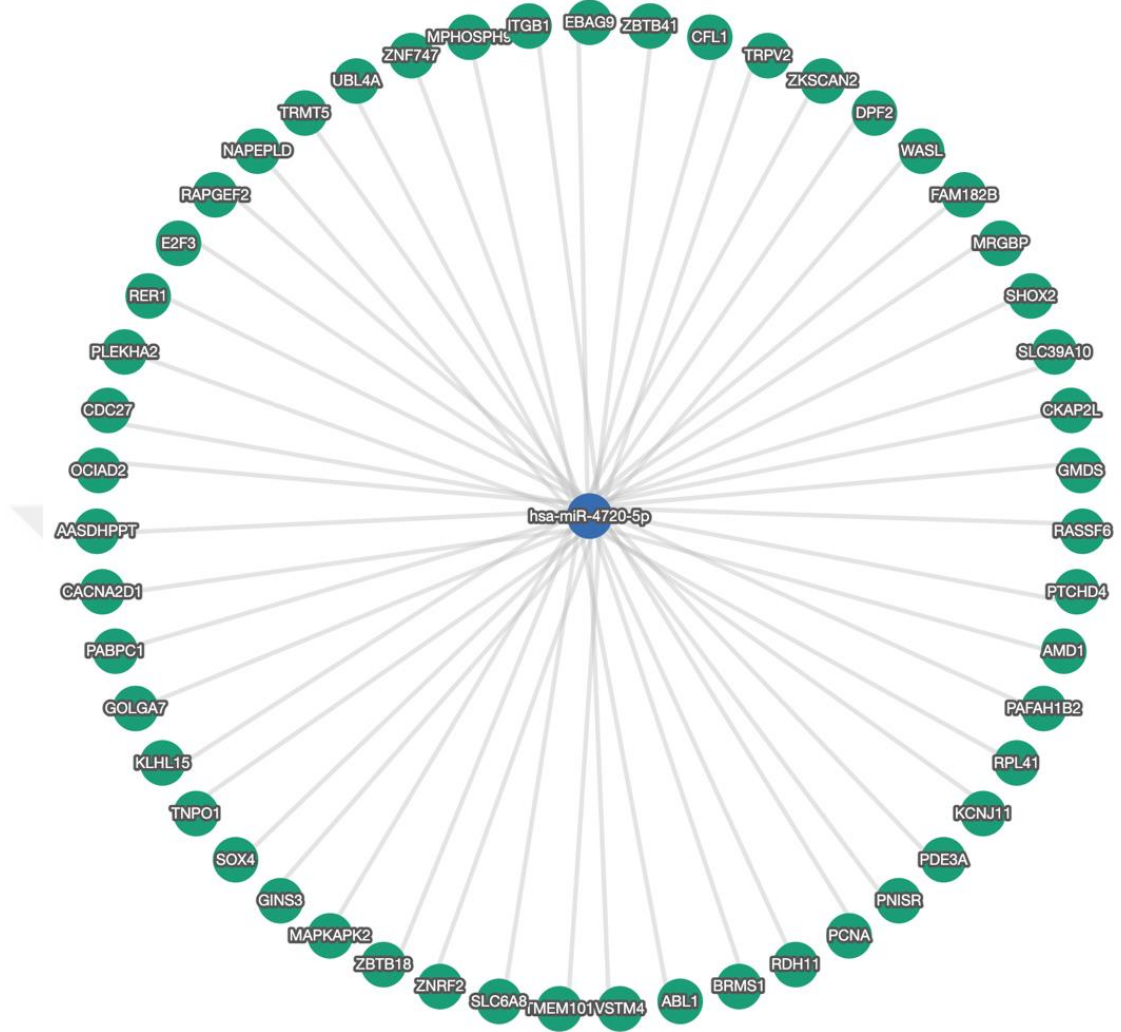
A



B



C



Şekil 4.6 miRNA–hedef gen etkileşim ağları (A: hsa-miR-3928-5p–Hedef Gen Ağı; B: hsa-miR-4295–Hedef Gen Ağı; C: hsa-miR-4720-5p–Hedef Gen Ağı)

Bu üçlü görselleştirme yaklaşımı, her bir miRNA'nın doğrudan hedeflediği genler üzerinden hücresel sinyal ağlarına nasıl entegre olduğunu ve biyolojik etkilerinin ne denli geniş bir spektruma yayılabileceğini anlamada önemli bir bakış açısı sunmaktadır.

4.1.4.4 GO Analizi ile Fonksiyonel Anlamlandırma

Bu çalışmada, miR-3928-5p, miR-4295 ve miR-4720-5p mikroRNA'larının biyolojik rollerini daha iyi anlamak amacıyla hedef genlerine yönelik fonksiyonel açıklamalar Gene Ontology (GO) anotasyonları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Analizler, üç

temel GO kategorisi olan Moleküler Fonksiyon (MF), Biyolojik Süreç (BP) ve Hücresel Bileşen (CC) başlıkları altında sınıflandırılmıştır (Tablo 4.3).

Biyolojik Süreç (BP) kategorisinde, analiz edilen genlerin hücre içi sinyal iletimi ve taşıma süreçleriyle güçlü bir şekilde ilişkili olduğu gözlemlenmiştir. En belirgin zenginleşme gösteren süreçler arasında Ras proteini sinyal iletiminin düzenlenmesi, kltrin-bağımlı endositozun düzenlenmesi ve Rac proteini sinyal iletiminin düzenlenmesi yer almıştır. Özellikle kltrin-bağımlı endositoz ve Rac sinyal yolları sırasıyla yaklaşık 61,6 kat ve 55,7 kat zenginleşme oranı ile dikkat çekmektedir. Bu durum, söz konusu mikroRNA'ların hücre proliferasyonu ve hareketliliğini düzenleyen onkogenik sinyal yollarını hedeflediğini göstermektedir. Ayrıca, vezikül füzyonu ve plazma zarına yönelik vezikül taşınımı gibi hücre zarı dinamikleriyle ilişkili süreçlerin de zenginleştirilmiş olduğu görülmüştür. İlginç bir şekilde, planar hücre polaritesi yolu (non-kanonik Wnt sinyal yolu) ve hücre polarizasyonu gibi terimlerin de yer alması, mikroRNA hedeflerinin doku mimarisi ve hücre yönelimi gibi kritik süreçlerde de etkili olabileceğini düşündürmektedir (Tablo 4.3; Şekil 4.7B).

Hücresel Bileşen (CC) düzeyindeki analizlerde ise genlerin özellikle kltrin kaplı vezikül gibi zarla ilişkili taşıma yapılarında lokalize olduğu ya da bu yapılarda işlev gördüğü ortaya konmuştur. Bunun yanında, trans-Golgi ağı, kaplı vezikül, erken endozom ve kltrin kaplı çukur gibi diğer sekresyon ve endositoz yollarıyla ilişkili yapılar da zenginleştirilmiş olarak bulunmuştur. Hücre-hücre ve hücre-matriks bağlantılarını temsil eden adherens bağlantıları ve odak adezyonları da nispeten daha düşük anlamlılık düzeyinde olsa da zenginleştirilmiş terimler arasında yer almıştır. Bu durum, bazı hedef genlerin hücresel yapışma kompleksleriyle ilişkili olabileceğini göstermektedir (Tablo 4.3; Şekil 4.7C).

Tablo 4.3 miR-3928-5p, miR-4295 ve miR-4720-5p'nin hedef genlerine ait GO temelli fonksiyonel analizi

(A) Moleküler Fonksiyon (MF)

| ID | Açıklama | p değeri | q değeri | Zenginleştirme Skoru | Katlanma Zenginliği (FDR) |
|------------|--|-----------------|-----------------|-----------------------------|----------------------------------|
| GO:0050699 | WW domain bağlanması | 0,001501059 | 0,087909534 | 2,82360229 | 34,78787879 |
| GO:0005484 | SNAP reseptör aktivitesi | 0,001898047 | 0,087909534 | 2,721693091 | 30,92255892 |
| GO:0019905 | Sintaçin bağlanması | 0,007798464 | 0,145003246 | 2,107990951 | 15,04340704 |
| GO:0000149 | SNARE bağlanması | 0,016627701 | 0,145003246 | 1,779167789 | 10,12011019 |
| GO:0035612 | AP-2 adaptör kompleksi bağlanması | 0,017825804 | 0,145003246 | 1,748950879 | 55,66060606 |
| GO:0036312 | Fosfatidilinozitol 3-kinaz düzenleyici alt birimi bağlanması | 0,017825804 | 0,145003246 | 1,748950879 | 55,66060606 |

| ID | Açıklama | p değeri | q değeri | Zenginleştirme Skoru | Katlanma Zenginliği (FDR) |
|------------|---|-------------|-------------|----------------------|---------------------------|
| GO:0043522 | Lösün fermuar domain bağlanması | 0,019591342 | 0,145003246 | 1,707935817 | 50,60055096 |
| GO:0017154 | Semaforin reseptör aktivitesi | 0,021353802 | 0,145003246 | 1,670524783 | 46,38383838 |
| GO:0017124 | SH3 domain bağlanması | 0,022744969 | 0,145003246 | 1,643114651 | 8,563170163 |
| GO:0106310 | Protein serin kinaz aktivitesi | 0,026388469 | 0,145003246 | 1,578585809 | 4,638383838 |
| GO:0050998 | Nitrik oksit sentaz bağlanması | 0,026622769 | 0,145003246 | 1,574746772 | 37,10707071 |
| GO:0004698 | Kalsiyum-bağımlı protein kinaz C aktivitesi | 0,028372971 | 0,145003246 | 1,547095189 | 34,78787879 |
| GO:0004697 | Protein kinaz C aktivitesi | 0,030120121 | 0,145003246 | 1,521143295 | 32,74153298 |
| GO:0030275 | LRR domain bağlanması | 0,030120121 | 0,145003246 | 1,521143295 | 32,74153298 |
| GO:0050780 | Dopamin reseptörü bağlanması | 0,030120121 | 0,145003246 | 1,521143295 | 32,74153298 |

| ID | Açıklama | p değeri | q değeri | Zenginleştirme Skoru | Katlanma Zenginliği (FDR) |
|------------|---|-------------|-------------|----------------------|---------------------------|
| GO:0004674 | Protein serin/treonin kinaz aktivitesi | 0,031542929 | 0,145003246 | 1,501097987 | 4,325953839 |
| GO:0098918 | Sinapsın yapısal bileşeni | 0,031864224 | 0,145003246 | 1,496696659 | 30,92255892 |
| GO:1990381 | Ubikuitin-spesifik proteaz bağlanması | 0,037078305 | 0,145003246 | 1,430880133 | 26,50505051 |
| GO:1901981 | Fosfatidilinozitol fosfat bağlanması | 0,038479328 | 0,145003246 | 1,414772524 | 6,434752146 |
| GO:0017075 | Sintaçin-1 bağlanması | 0,038810272 | 0,145003246 | 1,411053308 | 25,30027548 |
| GO:0043027 | Apoptoz sürecine katılan sistein-tipi endopeptidaz inhibitör Aktivitesi | 0,038810272 | 0,145003246 | 1,411053308 | 25,30027548 |
| GO:0072349 | Modifiye amino asit transmembran taşıyıcı aktivitesi | 0,038810272 | 0,145003246 | 1,411053308 | 25,30027548 |
| GO:0008483 | Transaminaz aktivitesi | 0,040539219 | 0,145003246 | 1,392124617 | 24,2002635 |
| GO:0009931 | Kalsiyum-bağımlı protein serin/treonin kinaz aktivitesi | 0,040539219 | 0,145003246 | 1,392124617 | 24,2002635 |

| ID | Açıklama | p değeri | q değeri | Zenginleştirme Skoru | Katlanma Zenginliği (FDR) |
|------------|--|-------------|-------------|----------------------|---------------------------|
| GO:0070412 | R-SMAD bağlanması | 0,040539219 | 0,145003246 | 1,392124617 | 24,2002635 |
| GO:0010857 | Kalsiyum-bağımlı protein kinaz aktivitesi | 0,042265151 | 0,145003246 | 1,37401758 | 23,19191919 |
| GO:0016769 | Azot içeren grupları transfer eden transferaz aktivitesi | 0,042265151 | 0,145003246 | 1,37401758 | 23,19191919 |
| GO:0005112 | Notch bağlanması | 0,043988071 | 0,145524445 | 1,356665084 | 22,26424242 |
| GO:0015215 | Nükleotid transmembran taşıyıcı aktivitesi | 0,047424899 | 0,149481463 | 1,323993581 | 20,61503928 |
| GO:0005096 | GTPaz aktivatör aktivitesi | 0,049424995 | 0,149481463 | 1,306053363 | 3,614325069 |

(B) Biyolojik Süreç (BP)

| ID | Açıklama | p değeri | q değeri | Zenginleştirme Skoru | Katlanma Zenginliği (FDR) |
|------------|---|-------------|-------------|----------------------|---------------------------|
| GO:0046578 | Ras protein sinyal iletiminin düzenlenmesi | 0,000289927 | 0,081138599 | 3,537711021 | 12,38293651 |
| GO:2000369 | klatrin bağımlı endositozun düzenlenmesi | 0,00047522 | 0,081138599 | 3,323105587 | 61,58881579 |
| GO:0035020 | Rac protein sinyal iletiminin düzenlenmesi | 0,000582359 | 0,081138599 | 3,234809299 | 55,72321429 |
| GO:0016032 | viral süreç | 0,000641964 | 0,081138599 | 3,1924892 | 7,049322289 |
| GO:0006906 | vezikül füzyonu | 0,000776329 | 0,081138599 | 3,109954045 | 16,55925708 |
| GO:0090174 | organel membran füzyonu | 0,000864467 | 0,081138599 | 3,063251422 | 15,95710227 |
| GO:0120033 | plazma membranıyla sınırlı hücre projeksiyon düzeneğinin negatif düzenlenmesi | 0,001445598 | 0,09047407 | 2,839952358 | 35,46022727 |
| GO:0098876 | plazma membranına vezikül aracılı taşıma | 0,001593727 | 0,09047407 | 2,797586061 | 12,90647978 |
| GO:0019068 | virion düzeneği | 0,001625568 | 0,09047407 | 2,788994978 | 33,43392857 |
| GO:0051056 | küçük GTPaz aracılı sinyal iletiminin düzenlenmesi | 0,001671217 | 0,09047407 | 2,776967256 | 7,749586093 |
| GO:0048284 | organel füzyonu | 0,001767204 | 0,09047407 | 2,752713363 | 12,44880319 |
| GO:0019058 | viral yaşam döngüsü | 0,001994683 | 0,091226532 | 2,700126183 | 7,382886435 |

| ID | Açıklama | p değeri | q değeri | Zenginleştirme Skoru | Katlanma Zenginliği (FDR) |
|------------|---|-------------|-------------|----------------------|---------------------------|
| GO:1900026 | substrat yapışmasına bağlı hücre yayılmasının pozitif düzenlenmesi | 0,002226004 | 0,091226532 | 2,652474019 | 28,54115854 |
| GO:0016601 | Rac protein sinyal iletimi | 0,002334817 | 0,091226532 | 2,63174722 | 27,86160714 |
| GO:0007265 | Ras protein sinyal iletimi | 0,002490446 | 0,091226532 | 2,603722847 | 6,944732938 |
| GO:0061025 | membran füzyonu | 0,002669361 | 0,091226532 | 2,573592687 | 10,76859663 |
| GO:0016482 | sitozolik taşıma | 0,002907392 | 0,091226532 | 2,536496403 | 10,44810268 |
| GO:0072583 | klatrin bağımlı endositoz | 0,002915839 | 0,091226532 | 2,535236507 | 24,89760638 |
| GO:0060071 | Wnt sinyal yolu, düzlemsel hücre polarite yolu | 0,003557711 | 0,099855152 | 2,448829394 | 22,50360577 |
| GO:0031345 | hücre projeksiyon organizasyonunun negatif düzenlenmesi | 0,003871184 | 0,099855152 | 2,412156136 | 9,436995968 |
| GO:0120032 | plazma membranıyla sınırlı hücre projeksiyon düzeneğinin düzenlenmesi | 0,003871184 | 0,099855152 | 2,412156136 | 9,436995968 |
| GO:0060491 | hücre projeksiyon düzeneğinin düzenlenmesi | 0,003988881 | 0,099855152 | 2,399148974 | 9,336602394 |
| GO:0090175 | düzlemsel polaritenin oluşumunun düzenlenmesi | 0,004114339 | 0,099855152 | 2,385699967 | 20,89620536 |

| ID | Açıklama | p değeri | q değeri | Zenginleştirme Skoru | Katlanma Zenginliği (FDR) |
|------------|---|-------------|-------------|----------------------|---------------------------|
| GO:1900024 | substrat yapışmasına bağlı hücre yayılmasının düzenlenmesi | 0,004259419 | 0,099855152 | 2,370649632 | 20,52960526 |
| GO:0048278 | vezikül kenetlenmesi | 0,004556632 | 0,099855152 | 2,341356036 | 19,83368644 |
| GO:0048167 | sinaptik plastisitenin düzenlenmesi | 0,004610135 | 0,099855152 | 2,33628635 | 8,865056818 |
| GO:0001736 | düzlemsel polaritenin oluşturulması | 0,006713612 | 0,130373233 | 2,173043744 | 16,25260417 |
| GO:0007164 | doku oluşumu polarite | 0,006713612 | 0,130373233 | 2,173043744 | 16,25260417 |
| GO:0035567 | kanonik olmayan Wnt sinyal yolu | 0,006713612 | 0,130373233 | 2,173043744 | 16,25260417 |
| GO:0016197 | endozomal taşıma | 0,006979086 | 0,131010921 | 2,156201423 | 7,631657609 |
| GO:0140056 | membran bağlanmasıyla organel lokalizasyonu | 0,007644773 | 0,13861999 | 2,116635378 | 15,19724026 |
| GO:0010770 | farklılaşmada rol oynayan hücre morfogenezinin pozitif düzenlenmesi | 0,008032676 | 0,13861999 | 2,095139728 | 14,8125 |
| GO:0006898 | reseptör aracılı endositoz | 0,008205546 | 0,13861999 | 2,08589251 | 7,193775615 |
| GO:0030512 | transforme edici büyüme faktörü beta reseptör sinyal yolunun negatif düzenlenmesi | 0,00842931 | 0,13861999 | 2,07420796 | 14,44675926 |
| GO:0007032 | endozom organizasyonu | 0,008630882 | 0,13861999 | 2,063944799 | 14,27057927 |

| ID | Açıklama | p değeri | q değeri | Zenginleştirme Skoru | Katlanma Zenginliği (FDR) |
|------------|---|-------------|------------|----------------------|---------------------------|
| GO:0022406 | membran kenetlenmesi | 0,009458698 | 0,13861999 | 2,024168658 | 13,6068314 |
| GO:0035023 | Rho protein sinyal iletiminin düzenlenmesi | 0,009458698 | 0,13861999 | 2,024168658 | 13,6068314 |
| GO:0042147 | retrograd taşıma, endosomdan Golgi'ye | 0,010541343 | 0,13861999 | 1,977104065 | 12,8592033 |
| GO:0001738 | polarize bir epitelin morfogenezi | 0,011216109 | 0,13861999 | 1,950157777 | 12,44880319 |
| GO:0030516 | akson uzamasının düzenlenmesi | 0,011445184 | 0,13861999 | 1,941377233 | 12,31776316 |
| GO:0010769 | farklılaşmada rol oynayan hücre morfogenezinin düzenlenmesi | 0,011676322 | 0,13861999 | 1,932693921 | 12,18945313 |
| GO:0060291 | uzun süreli sinaptik potansiyasyon | 0,012382051 | 0,13861999 | 1,907207417 | 11,82007576 |
| GO:0120034 | plazma membranıyla sınırlı hücre projeksiyon düzeneğinin pozitif düzenlenmesi | 0,013848264 | 0,13861999 | 1,858604668 | 11,14464286 |
| GO:0016050 | vezikül organizasyonu | 0,014332774 | 0,13861999 | 1,843669759 | 5,8509375 |
| GO:0034446 | substrat yapışmasına bağlı hücre yayılması | 0,014608362 | 0,13861999 | 1,835398463 | 10,83506944 |
| GO:0048259 | reseptör aracılı endositozun düzenlenmesi | 0,015124962 | 0,13861999 | 1,82030571 | 10,63806818 |
| GO:0061387 | hücre büyümesinin derecesinin düzenlenmesi | 0,015124962 | 0,13861999 | 1,82030571 | 10,63806818 |

| ID | Açıklama | p değeri | q değeri | Zenginleştirme Skoru | Katlanma Zenginliği (FDR) |
|------------|---|-------------|------------|----------------------|---------------------------|
| GO:0031623 | reseptör internalizasyonu | 0,015914521 | 0,13861999 | 1,798206428 | 10,35564159 |
| GO:0016081 | sinaptik vezikül kenetlenmesi | 0,016964472 | 0,13861999 | 1,770459664 | 58,509375 |
| GO:0021562 | vestibülokoklear sinir gelişimi | 0,016964472 | 0,13861999 | 1,770459664 | 58,509375 |
| GO:0033572 | transferrin taşınması | 0,016964472 | 0,13861999 | 1,770459664 | 58,509375 |
| GO:0044351 | Makropinositoz | 0,016964472 | 0,13861999 | 1,770459664 | 58,509375 |
| GO:0061299 | kamera tipi gözde retina damar yapısı morfogenezi | 0,016964472 | 0,13861999 | 1,770459664 | 58,509375 |
| GO:0099532 | sinaptik vezikül Endozomal işleme | 0,016964472 | 0,13861999 | 1,770459664 | 58,509375 |
| GO:0140059 | dendrit dallanması | 0,016964472 | 0,13861999 | 1,770459664 | 58,509375 |
| GO:1902855 | hareketsiz silyum topluluğunun düzenlenmesi | 0,016964472 | 0,13861999 | 1,770459664 | 58,509375 |
| GO:1902946 | erken endosomda protein lokalizasyonu | 0,016964472 | 0,13861999 | 1,770459664 | 58,509375 |
| GO:0048675 | akson uzaması | 0,017824263 | 0,13861999 | 1,748988406 | 9,7515625 |
| GO:0021561 | fasiyal sinir gelişimi | 0,018645503 | 0,13861999 | 1,729425902 | 53,19034091 |
| GO:0021604 | kraniyal sinir yapısal organizasyonu | 0,018645503 | 0,13861999 | 1,729425902 | 53,19034091 |

| ID | Açıklama | p değeri | q değeri | Zenginleştirme Skoru | Katlanma Zenginliği (FDR) |
|------------|--|-------------|------------|----------------------|---------------------------|
| GO:0021610 | fasiyal sinir morfogenezi | 0,018645503 | 0,13861999 | 1,729425902 | 53,19034091 |
| GO:0060837 | kan damarı endotel hücre farklılaşması | 0,018645503 | 0,13861999 | 1,729425902 | 53,19034091 |
| GO:0071679 | komissural nöron akson rehberliği | 0,018645503 | 0,13861999 | 1,729425902 | 53,19034091 |
| GO:0097494 | vezikül boyutunun düzenlenmesi | 0,018645503 | 0,13861999 | 1,729425902 | 53,19034091 |
| GO:1902188 | konak hücreden viral salınımın pozitif düzenlenmesi | 0,018645503 | 0,13861999 | 1,729425902 | 53,19034091 |
| GO:1902667 | akson rehberliğinin düzenlenmesi | 0,018645503 | 0,13861999 | 1,729425902 | 53,19034091 |
| GO:0010811 | hücre-substrat yapışmasının pozitif düzenlenmesi | 0,018671178 | 0,13861999 | 1,728828287 | 9,513719512 |
| GO:2000027 | hayvan organ morfogenezinin düzenlenmesi | 0,019245135 | 0,13861999 | 1,715679043 | 9,3615 |
| GO:0017015 | transformatör büyüme faktörü beta reseptör sinyal yolunun düzenlenmesi | 0,020119956 | 0,13861999 | 1,69637297 | 9,142089844 |
| GO:0021559 | trigeminal sinir gelişimi | 0,020323749 | 0,13861999 | 1,691996177 | 48,7578125 |
| GO:0060394 | yol kısıtlı SMAD protein fosforilasyonunun negatif düzenlenmesi | 0,020323749 | 0,13861999 | 1,691996177 | 48,7578125 |
| GO:1902287 | akson rehberliğinde yer alan semaforin-pleksin sinyal yolu | 0,020323749 | 0,13861999 | 1,691996177 | 48,7578125 |

| ID | Açıklama | p değeri | q değeri | Zenginleştirme Skoru | Katlanma Zenginliği (FDR) |
|------------|--|-------------|------------|----------------------|---------------------------|
| GO:0090101 | transmembran reseptör proteini serin/treonin kinaz sinyal yolunun negatif düzenlenmesi | 0,021011279 | 0,13861999 | 1,677547515 | 8,932729008 |
| GO:1903844 | transformatör büyüme faktörü beta uyarısına hücrel yanıtın düzenlenmesi | 0,021011279 | 0,13861999 | 1,677547515 | 8,932729008 |
| GO:0007183 | SMAD protein kompleksi topluluğu | 0,021999215 | 0,13861999 | 1,65759282 | 45,00721154 |
| GO:0048012 | hepatosit büyüme faktörü reseptör sinyal yolu | 0,021999215 | 0,13861999 | 1,65759282 | 45,00721154 |
| GO:0071696 | ektodermal plakod gelişimi | 0,021999215 | 0,13861999 | 1,65759282 | 45,00721154 |
| GO:0090161 | Golgi şeridi oluşumu | 0,021999215 | 0,13861999 | 1,65759282 | 45,00721154 |
| GO:1902285 | nöron projeksiyon rehberliğinde yer alan semaforin-pleksin sinyal yolu | 0,021999215 | 0,13861999 | 1,65759282 | 45,00721154 |
| GO:0007266 | Rho protein sinyal iletimi | 0,022842707 | 0,13861999 | 1,641252435 | 8,541514599 |
| GO:0046655 | folik asit metabolik süreci | 0,023671905 | 0,13861999 | 1,6257668 | 41,79241071 |
| GO:0061709 | Retikülofaji | 0,023671905 | 0,13861999 | 1,6257668 | 41,79241071 |
| GO:0071481 | X-ışınlarına hücrel yanıt | 0,023671905 | 0,13861999 | 1,6257668 | 41,79241071 |
| GO:1902187 | konak hücreden viral salınımın negatif düzenlenmesi | 0,023671905 | 0,13861999 | 1,6257668 | 41,79241071 |

| ID | Açıklama | p değeri | q değeri | Zenginleştirme Skoru | Katlanma Zenginliği (FDR) |
|------------|--|-------------|------------|----------------------|---------------------------|
| GO:0032488 | Cdc42 protein sinyal iletimi | 0,025341823 | 0,13861999 | 1,596162152 | 39,00625 |
| GO:1902018 | silyum topluluğunun negatif düzenlenmesi | 0,025341823 | 0,13861999 | 1,596162152 | 39,00625 |
| GO:1903729 | plazma membran organizasyonunun düzenlenmesi | 0,025341823 | 0,13861999 | 1,596162152 | 39,00625 |
| GO:0021783 | preganglionik parasempatik lif gelişimi | 0,027008974 | 0,13861999 | 1,568491917 | 36,56835938 |
| GO:0044804 | çekirdek otofajisi | 0,027008974 | 0,13861999 | 1,568491917 | 36,56835938 |
| GO:0061548 | ganglion gelişimi | 0,027008974 | 0,13861999 | 1,568491917 | 36,56835938 |
| GO:0071732 | nitrik okside hücre sel yanıt | 0,027008974 | 0,13861999 | 1,568491917 | 36,56835938 |
| GO:0072148 | epitelyal hücre kader taahhüdü | 0,027008974 | 0,13861999 | 1,568491917 | 36,56835938 |
| GO:0098969 | postsinaptik membrana nörotransmitter reseptör taşınması | 0,027008974 | 0,13861999 | 1,568491917 | 36,56835938 |
| GO:2000651 | sodyum iyon transmembran taşıyıcı aktivitesinin pozitif düzenlenmesi | 0,027008974 | 0,13861999 | 1,568491917 | 36,56835938 |
| GO:0032535 | hücre sel bileşen boyutunun düzenlenmesi | 0,027175558 | 0,13861999 | 1,565821535 | 4,582979765 |
| GO:0002031 | G proteinine bağlı reseptör içselleştirmesi | 0,028673362 | 0,13861999 | 1,542521381 | 34,41727941 |

| ID | Açıklama | p değeri | q değeri | Zenginleştirme Skoru | Katlanma Zenginliği (FDR) |
|------------|--|-------------|------------|----------------------|---------------------------|
| GO:0035729 | hepatosit büyüme faktörü uyarısına hücre sel yanıt | 0,028673362 | 0,13861999 | 1,542521381 | 34,41727941 |
| GO:0048532 | anatomik yapı düzenlemesi | 0,028673362 | 0,13861999 | 1,542521381 | 34,41727941 |
| GO:0060977 | koroner damar sistemi morfogenezi | 0,028673362 | 0,13861999 | 1,542521381 | 34,41727941 |
| GO:0061298 | kamera tipi gözde retina damar sistemi gelişimi | 0,028673362 | 0,13861999 | 1,542521381 | 34,41727941 |
| GO:0061952 | orta gövde absisyonu | 0,028673362 | 0,13861999 | 1,542521381 | 34,41727941 |
| GO:1903358 | Golgi organizasyonunun düzenlenmesi | 0,028673362 | 0,13861999 | 1,542521381 | 34,41727941 |
| GO:1903540 | postsinaptik membrana protein lokalizasyonunun kurulması | 0,028673362 | 0,13861999 | 1,542521381 | 34,41727941 |
| GO:0007030 | Golgi organizasyon | 0,029400768 | 0,13861999 | 1,531641327 | 7,453423567 |
| GO:0048486 | parasempatik sinir sistemi gelişimi | 0,030334992 | 0,13861999 | 1,518056113 | 32,50520833 |
| GO:0072189 | üreter gelişimi | 0,030334992 | 0,13861999 | 1,518056113 | 32,50520833 |
| GO:0098877 | nörotransmitter reseptörünün plazma membranına taşınması | 0,030334992 | 0,13861999 | 1,518056113 | 32,50520833 |
| GO:0099558 | sinaps yapısının korunması | 0,030334992 | 0,13861999 | 1,518056113 | 32,50520833 |

| ID | Açıklama | p değeri | q değeri | Zenginleştirme Skoru | Katlanma Zenginliği (FDR) |
|------------|--|-------------|------------|----------------------|---------------------------|
| GO:1902170 | reaktif azot türlerine hücre sel yanıt | 0,030334992 | 0,13861999 | 1,518056113 | 32,50520833 |
| GO:2000641 | erken endosomdan geç endosom taşınmasının düzenlenmesi | 0,030334992 | 0,13861999 | 1,518056113 | 32,50520833 |
| GO:0050806 | sinaptik iletimin pozitif düzenlenmesi | 0,031854188 | 0,13861999 | 1,496833465 | 7,135289634 |
| GO:0009081 | dallı zincirli amino asit metabolik süreci | 0,031993868 | 0,13861999 | 1,494933246 | 30,79440789 |
| GO:0016082 | sinaptik vezikül hazırlanması | 0,031993868 | 0,13861999 | 1,494933246 | 30,79440789 |
| GO:0031290 | retina ganglion hücresi akson rehberliği | 0,031993868 | 0,13861999 | 1,494933246 | 30,79440789 |
| GO:0035313 | yara iyileşmesi, epidermal hücrelerin yayılması | 0,031993868 | 0,13861999 | 1,494933246 | 30,79440789 |
| GO:0035461 | vitamin transmembran taşınması | 0,031993868 | 0,13861999 | 1,494933246 | 30,79440789 |
| GO:0035728 | hepatosit büyüme faktörüne yanıt | 0,031993868 | 0,13861999 | 1,494933246 | 30,79440789 |
| GO:2000251 | aktin sitoskeleton yeniden organizasyonunun pozitif düzenlenmesi | 0,031993868 | 0,13861999 | 1,494933246 | 30,79440789 |
| GO:0030307 | hücre büyümesinin pozitif düzenlenmesi | 0,032569676 | 0,13861999 | 1,487186557 | 7,049322289 |
| GO:0043112 | reseptör metabolik süreci | 0,032569676 | 0,13861999 | 1,487186557 | 7,049322289 |

| ID | Açıklama | p değeri | q değeri | Zenginleştirme Skoru | Katlanma Zenginliği (FDR) |
|------------|--|-------------|------------|----------------------|---------------------------|
| GO:0001558 | hücre büyümesinin düzenlenmesi | 0,033147032 | 0,13861999 | 1,479555354 | 4,239809783 |
| GO:0043555 | strese yanıt olarak translasyonun düzenlenmesi | 0,033649995 | 0,13861999 | 1,473014993 | 29,2546875 |
| GO:0071731 | nitrik okside yanıt | 0,033649995 | 0,13861999 | 1,473014993 | 29,2546875 |
| GO:0097320 | plazma membranı tübülasyonu | 0,033649995 | 0,13861999 | 1,473014993 | 29,2546875 |
| GO:1901679 | nükleotid transmembran taşınması | 0,033649995 | 0,13861999 | 1,473014993 | 29,2546875 |
| GO:1990138 | nöron projeksiyon uzaması | 0,034754103 | 0,13861999 | 1,458993911 | 6,803415698 |
| GO:0010469 | sinyal reseptör aktivitesinin düzenlenmesi | 0,035123647 | 0,13861999 | 1,454400399 | 6,764089595 |
| GO:0007252 | I-kappaB fosforilasyonu | 0,035303377 | 0,13861999 | 1,452183749 | 27,86160714 |
| GO:0007350 | blastoderm segmentleri | 0,035303377 | 0,13861999 | 1,452183749 | 27,86160714 |
| GO:0031629 | Ras protein sinyal iletiminin düzenlenmesi | 0,035303377 | 0,13861999 | 1,452183749 | 27,86160714 |
| GO:0033962 | klatrin bağımlı endositozun düzenlenmesi | 0,035303377 | 0,13861999 | 1,452183749 | 27,86160714 |
| GO:0035330 | Rac protein sinyal iletiminin düzenlenmesi | 0,035303377 | 0,13861999 | 1,452183749 | 27,86160714 |
| GO:0039702 | viral süreç | 0,035303377 | 0,13861999 | 1,452183749 | 27,86160714 |

| ID | Açıklama | p değeri | q değeri | Zenginleştirme Skoru | Katlanma Zenginliği (FDR) |
|------------|---|-------------|------------|----------------------|---------------------------|
| GO:0048485 | vezikül füzyonu | 0,035303377 | 0,13861999 | 1,452183749 | 27,86160714 |
| GO:0060445 | organel membran füzyonu | 0,035303377 | 0,13861999 | 1,452183749 | 27,86160714 |
| GO:0099500 | plazma membranıyla sınırlı hücre projeksiyon düzeneğinin negatif düzenlenmesi | 0,035303377 | 0,13861999 | 1,452183749 | 27,86160714 |
| GO:1902307 | plazma membranına vezikül aracılı taşıma | 0,035303377 | 0,13861999 | 1,452183749 | 27,86160714 |
| GO:0050808 | virion düzeneği | 0,035629416 | 0,13861999 | 1,448191298 | 4,120378521 |
| GO:0052126 | küçük GTPaz aracılı sinyal iletiminin düzenlenmesi | 0,03586737 | 0,13861999 | 1,445300471 | 6,686785714 |
| GO:0002029 | organel füzyonu | 0,036954018 | 0,13861999 | 1,432338331 | 26,59517045 |
| GO:0006907 | viral yaşam döngüsü | 0,036954018 | 0,13861999 | 1,432338331 | 26,59517045 |
| GO:0007413 | substrat yapışmasına bağlı hücre yayılmasının pozitif düzenlenmesi | 0,036954018 | 0,13861999 | 1,432338331 | 26,59517045 |
| GO:0021854 | Rac protein sinyal iletimi | 0,036954018 | 0,13861999 | 1,432338331 | 26,59517045 |
| GO:0022401 | Ras protein sinyal iletimi | 0,036954018 | 0,13861999 | 1,432338331 | 26,59517045 |
| GO:0106030 | membran füzyonu | 0,036954018 | 0,13861999 | 1,432338331 | 26,59517045 |

| ID | Açıklama | p değeri | q değeri | Zenginleştirme Skoru | Katlanma Zenginliği (FDR) |
|------------|---|-------------|------------|----------------------|---------------------------|
| GO:1900120 | sitozolik taşıma | 0,036954018 | 0,13861999 | 1,432338331 | 26,59517045 |
| GO:0007033 | klatrin bağımlı endositoz | 0,037753442 | 0,13861999 | 1,423043445 | 6,501041667 |
| GO:0008361 | Wnt sinyal yolu, düzlemsel hücre polarite yolu | 0,038135197 | 0,13861999 | 1,418674001 | 6,465124309 |
| GO:0099504 | hücre projeksiyon organizasyonunun negatif düzenlenmesi | 0,038135197 | 0,13861999 | 1,418674001 | 6,465124309 |
| GO:0050804 | plazma membranıyla sınırlı hücre projeksiyon düzeneğinin düzenlenmesi | 0,038425513 | 0,13861999 | 1,41538033 | 3,998362756 |
| GO:0006929 | hücre projeksiyon düzeneğinin düzenlenmesi | 0,038601923 | 0,13861999 | 1,413391057 | 25,4388587 |
| GO:0021884 | düzlemsel polaritenin oluşumunun düzenlenmesi | 0,038601923 | 0,13861999 | 1,413391057 | 25,4388587 |
| GO:0023058 | substrat yapışmasına bağlı hücre yayılmasının düzenlenmesi | 0,038601923 | 0,13861999 | 1,413391057 | 25,4388587 |
| GO:0060384 | vezikül kenetlenmesi | 0,038601923 | 0,13861999 | 1,413391057 | 25,4388587 |
| GO:0099590 | sinaptik plastisitenin düzenlenmesi | 0,038601923 | 0,13861999 | 1,413391057 | 25,4388587 |
| GO:1902410 | düzlemsel polaritenin oluşturulması | 0,038601923 | 0,13861999 | 1,413391057 | 25,4388587 |
| GO:0099177 | doku oluşumu polarite | 0,03864518 | 0,13861999 | 1,412904661 | 3,989275568 |

| ID | Açıklama | p değeri | q değeri | Zenginleştirme Skoru | Katlanma Zenginliği (FDR) |
|------------|---|-------------|-------------|----------------------|---------------------------|
| GO:0003148 | kanonik olmayan Wnt sinyal yolu | 0,040247096 | 0,141659188 | 1,395265445 | 24,37890625 |
| GO:0036010 | endozomal taşıma | 0,040247096 | 0,141659188 | 1,395265445 | 24,37890625 |
| GO:2000310 | membran bağlanmasıyla organel lokalizasyonu | 0,040247096 | 0,141659188 | 1,395265445 | 24,37890625 |
| GO:0007274 | farklılaşmada rol oynayan hücre morfogenezinin pozitif düzenlenmesi | 0,041889542 | 0,144199113 | 1,377894386 | 23,40375 |
| GO:0045324 | reseptör aracılı endositoz | 0,041889542 | 0,144199113 | 1,377894386 | 23,40375 |
| GO:0060074 | transforme edici büyüme faktörü beta reseptör sinyal yolunun negatif düzenlenmesi | 0,041889542 | 0,144199113 | 1,377894386 | 23,40375 |
| GO:0006760 | endozom organizasyonu | 0,043529265 | 0,144199113 | 1,361218667 | 22,50360577 |
| GO:0034063 | membran kenetlenmesi | 0,043529265 | 0,144199113 | 1,361218667 | 22,50360577 |
| GO:0046755 | Rho protein sinyal iletiminin düzenlenmesi | 0,043529265 | 0,144199113 | 1,361218667 | 22,50360577 |
| GO:0048499 | retrograd taşıma, endosomdan Golgi'ye | 0,043529265 | 0,144199113 | 1,361218667 | 22,50360577 |
| GO:0048843 | polarize bir epitelin morfogenezi | 0,043529265 | 0,144199113 | 1,361218667 | 22,50360577 |
| GO:0099637 | akson uzamasının düzenlenmesi | 0,043529265 | 0,144199113 | 1,361218667 | 22,50360577 |

| ID | Açıklama | p değeri | q değeri | Zenginleştirme Skoru | Katlanma Zenginliği (FDR) |
|------------|---|-------------|-------------|----------------------|---------------------------|
| GO:1902186 | farklılaşmada rol oynayan hücre morfogenezinin düzenlenmesi | 0,043529265 | 0,144199113 | 1,361218667 | 22,50360577 |
| GO:0007179 | uzun süreli sinaptik potansiyasyon | 0,044849742 | 0,146182419 | 1,348240046 | 5,910037879 |
| GO:0061437 | plazma membranıyla sınırlı hücre projeksiyon düzenineğinin pozitif düzenlenmesi | 0,045166269 | 0,146182419 | 1,345185785 | 21,67013889 |
| GO:0061440 | vezikül organizasyonu | 0,045166269 | 0,146182419 | 1,345185785 | 21,67013889 |
| GO:1901018 | substrat yapışmasına bağlı hücre yayılması | 0,045166269 | 0,146182419 | 1,345185785 | 21,67013889 |
| GO:0099003 | reseptör aracılı endositozun düzenlenmesi | 0,045666863 | 0,146743174 | 1,340398818 | 5,8509375 |
| GO:0007205 | hücre büyümesinin derecesinin düzenlenmesi | 0,046800559 | 0,146743174 | 1,329748964 | 20,89620536 |
| GO:0051894 | reseptör internalizasyonu | 0,046800559 | 0,146743174 | 1,329748964 | 20,89620536 |
| GO:0090200 | sinaptik vezikül kenetlenmesi | 0,046800559 | 0,146743174 | 1,329748964 | 20,89620536 |
| GO:1903649 | vestibülokoklear sinir gelişimi | 0,046800559 | 0,146743174 | 1,329748964 | 20,89620536 |
| GO:0051701 | transferrin taşınması | 0,046902958 | 0,146743174 | 1,328799764 | 5,764470443 |
| GO:0010592 | Makropinositoz | 0,048432138 | 0,148306036 | 1,314866357 | 20,17564655 |

| ID | Açıklama | p değeri | q değeri | Zenginleştirme Skoru | Katlanma Zenginliği (FDR) |
|------------|---|-------------|-------------|----------------------|---------------------------|
| GO:0021602 | kamera tipi gözde retina damar yapısı morfogenezi | 0,048432138 | 0,148306036 | 1,314866357 | 20,17564655 |
| GO:1903902 | sinaptik vezikül Endozomal işleme | 0,048432138 | 0,148306036 | 1,314866357 | 20,17564655 |
| GO:0016049 | dendrit dallanması | 0,048455879 | 0,148306036 | 1,314653527 | 3,641662344 |

(C) Hücresel Bileşen (CC)

| ID | Açıklama | p değeri | q değeri | Zenginleştirme Skoru | Katlanma Zenginliği (FDR) |
|------------|-----------------------|-------------|-------------|----------------------|---------------------------|
| GO:0030136 | klatrin kaplı vezikül | 0,000359036 | 0,032124291 | 3,444861769 | 11,73469388 |
| GO:0005802 | trans-Golgi ağı | 0,001021052 | 0,038427817 | 2,990952163 | 8,88030888 |
| GO:0150034 | distal akson | 0,001628656 | 0,038427817 | 2,78817067 | 7,823129252 |
| GO:0030135 | kaplı vezikül | 0,001732269 | 0,038427817 | 2,761384592 | 7,692307692 |
| GO:0031201 | SNARE kompleksi | 0,003149671 | 0,038427817 | 2,501734761 | 23,95833333 |
| GO:0030426 | büyüme konisi | 0,003552388 | 0,038427817 | 2,449479552 | 9,745762712 |

| ID | Açıklama | p değeri | q değeri | Zenginleştirme Skoru | Katlanma Zenginliği (FDR) |
|------------|---------------------------------|-------------|-------------|----------------------|---------------------------|
| GO:0030427 | polarize büyüme bölgesi | 0,003900488 | 0,038427817 | 2,408881007 | 9,426229508 |
| GO:0097060 | sinaptik membrane | 0,004266107 | 0,038427817 | 2,369968211 | 5,989583333 |
| GO:0098791 | Golgi aygıtı alt bölmesi | 0,004266107 | 0,038427817 | 2,369968211 | 5,989583333 |
| GO:0005769 | erken endosome | 0,004672567 | 0,038427817 | 2,330444425 | 5,837563452 |
| GO:0030496 | orta gövde | 0,004724361 | 0,038427817 | 2,325656926 | 8,801020408 |
| GO:0005905 | klatrin kaplı çukur | 0,006584143 | 0,049092296 | 2,181500731 | 16,42857143 |
| GO:0045334 | klatrin kaplı endositik vezikül | 0,010913282 | 0,075111654 | 1,96204464 | 12,63736264 |
| GO:0019898 | membranın dış bileşeni | 0,016297268 | 0,098336849 | 1,787885179 | 5,582524272 |
| GO:0000815 | ESCRT III kompleksi | 0,018969758 | 0,098336849 | 1,721938208 | 52,27272727 |
| GO:0002116 | semaforin reseptör kompleksi | 0,018969758 | 0,098336849 | 1,721938208 | 52,27272727 |
| GO:0030139 | endositik vezikül | 0,020316002 | 0,098336849 | 1,692161754 | 5,133928571 |
| GO:0098978 | glutamaterjik sinaps | 0,020633604 | 0,098336849 | 1,685424904 | 5,103550296 |
| GO:0033391 | kromatoid gövde | 0,022381075 | 0,098336849 | 1,65011906 | 44,23076923 |
| GO:0045335 | fagositik vezikül | 0,02362452 | 0,098336849 | 1,626637003 | 8,394160584 |

| ID | Açıklama | p değeri | q değeri | Zenginleştirme Skoru | Katlanma Zenginliği (FDR) |
|------------|---|-------------|-------------|----------------------|---------------------------|
| GO:0034045 | fagofor toplanma bölgesi membranı | 0,025780877 | 0,098336849 | 1,588702308 | 38,33333333 |
| GO:0099092 | postsinaptik yoğunluk, hücre içi bileşen | 0,025780877 | 0,098336849 | 1,588702308 | 38,33333333 |
| GO:0042734 | presinaptik membrane | 0,026583786 | 0,098336849 | 1,575383162 | 7,876712329 |
| GO:0061827 | sperm başı | 0,027476472 | 0,098336849 | 1,561039026 | 35,9375 |
| GO:0098831 | presinaptik aktif bölge sitoplazmik bileşen | 0,027476472 | 0,098336849 | 1,561039026 | 35,9375 |
| GO:0099091 | postsinaptik özelleşme, hücre içi bileşen | 0,03254609 | 0,107131463 | 1,487501184 | 30,26315789 |
| GO:0030133 | taşıma vezikül | 0,034324394 | 0,107131463 | 1,464397116 | 4,186893204 |
| GO:0005912 | adherens kavşağı | 0,035158585 | 0,107131463 | 1,453968613 | 6,764705882 |
| GO:0005925 | fokal yapışma | 0,035599405 | 0,107131463 | 1,448557261 | 4,126794258 |
| GO:0019897 | plazma membranının dış bileşeni | 0,036679824 | 0,107131463 | 1,435572761 | 6,609195402 |
| GO:0030055 | hücre-substrat kavşağı | 0,037117901 | 0,107131463 | 1,43041659 | 4,058823529 |
| GO:0030666 | endositik vezikül membrane | 0,044243365 | 0,112081144 | 1,35415185 | 5,958549223 |
| GO:0016442 | RISC kompleksi | 0,044275649 | 0,112081144 | 1,353835063 | 22,11538462 |
| GO:0031332 | RNAi efektör kompleksi | 0,044275649 | 0,112081144 | 1,353835063 | 22,11538462 |

| ID | Açıklama | p değeri | q değeri | Zenginleştirme Skoru | Katlanma Zenginliği (FDR) |
|------------|------------------|-------------|-------------|----------------------|---------------------------|
| GO:0036452 | ESCRT kompleks | 0,045939992 | 0,112081144 | 1,337809086 | 21,2962963 |
| GO:0001891 | fagositik kap | 0,047601521 | 0,112081144 | 1,322379167 | 20,53571429 |
| GO:0044665 | MLL1/2 kompleksi | 0,047601521 | 0,112081144 | 1,322379167 | 20,53571429 |
| GO:0071339 | MLL1 kompleksi | 0,047601521 | 0,112081144 | 1,322379167 | 20,53571429 |
| GO:0008021 | sinaptik vezikül | 0,049724608 | 0,114078048 | 1,303428634 | 5,582524272 |

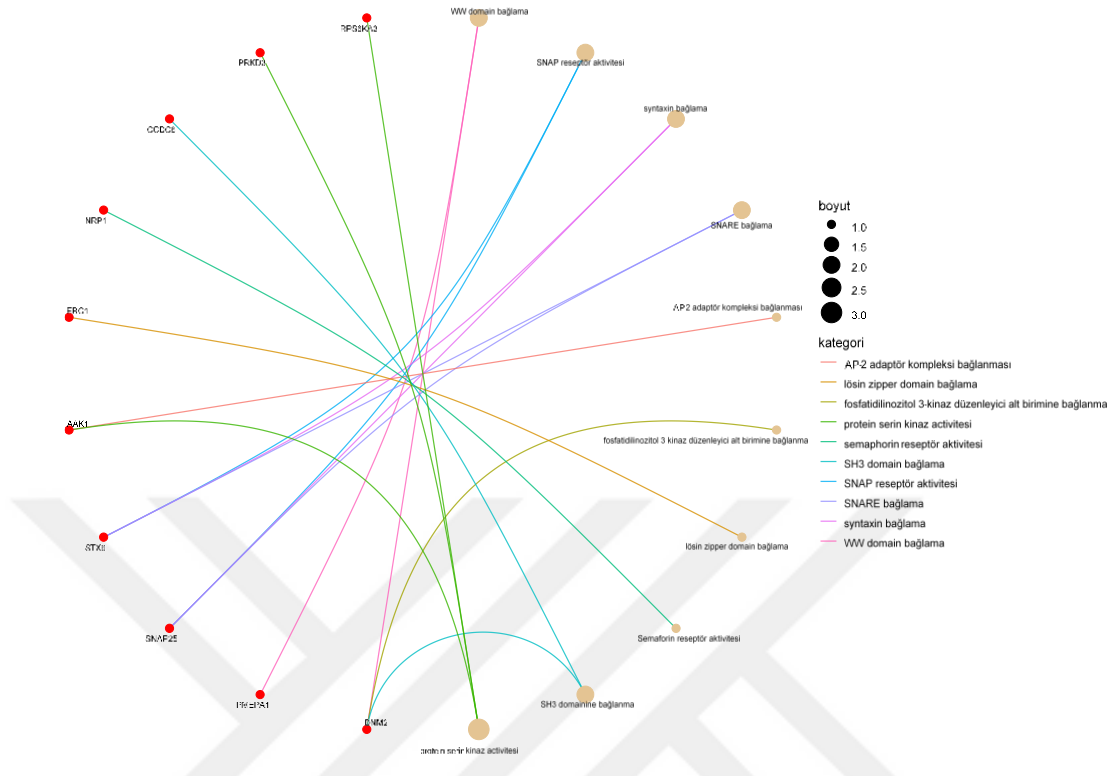
p değeri (p value): Belirli bir zenginleştirilmiş terimin anlamlılık değeridir ($p < 0.05$ olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edilir).

q değeri (q value): Belirli bir zenginleştirilmiş terime ait çoklu test düzeltmesi uygulanmış anlamlılık değeridir.

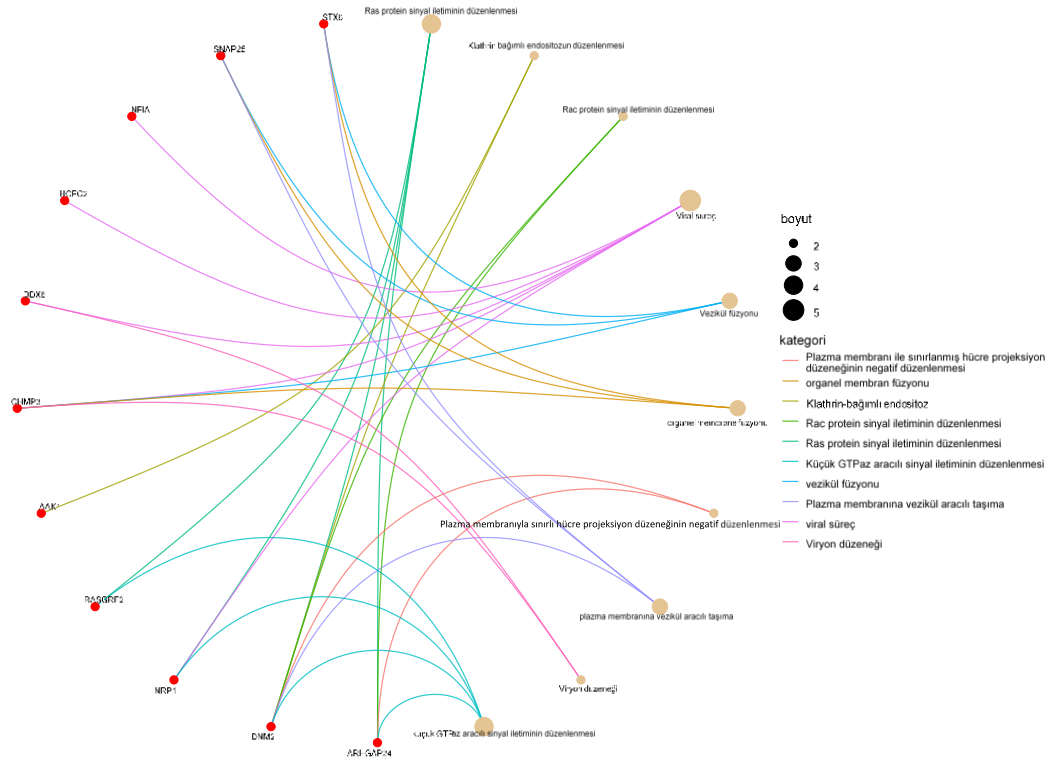
Zenginleştirme skoru (Enrichment score): Belirli bir terim için gen kümesinin zenginleştirilme anlamlılığını niceliksel olarak ifade eden istatistiksel ölçüm ($-\log_{10}(p\text{-değeri})$).

Katlanma zenginliği (Fold enrichment-FDR): Bir gen kümesindeki belirli bir GO terimine ait genlerin oranının, bu terimin tüm genoma göre oranına bölünmesiyle elde edilen orandır.

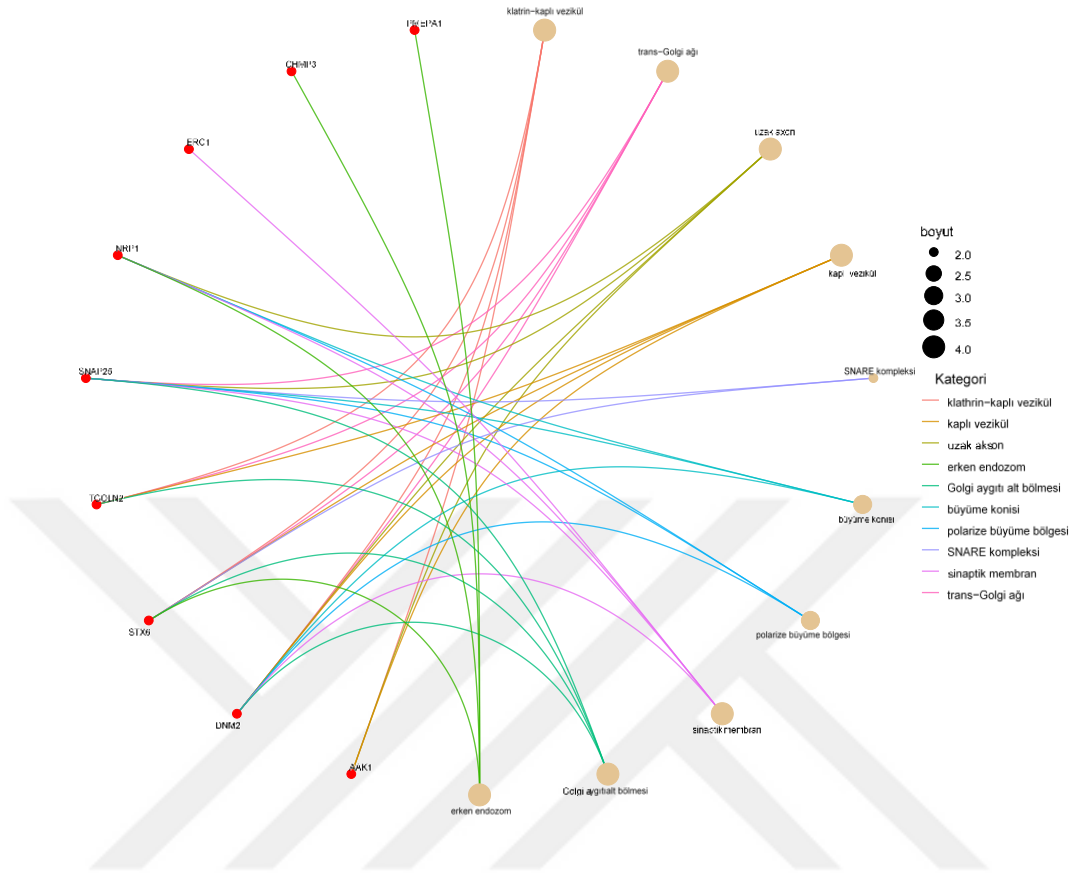
A: Moleküler Fonksiyon (MF)



B: Biyolojik Süreç (BP)



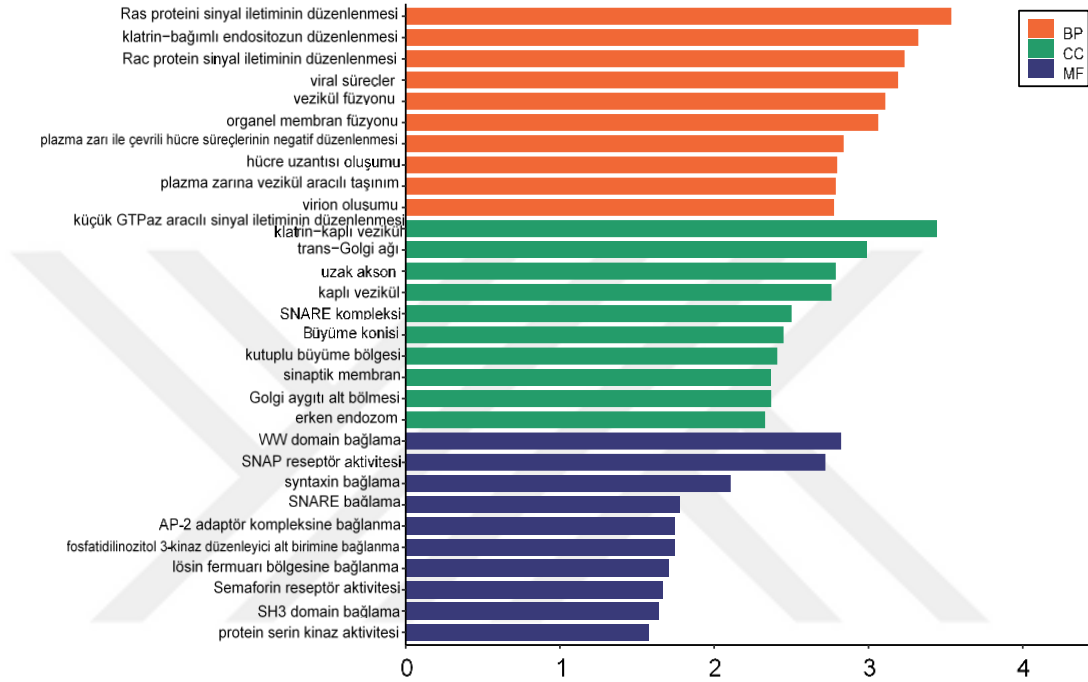
C: Hücresel Bileşen (CC)



Şekil 4.7 Meme Kanserinde miRNA Hedef Genlerine Yönelik GO Zenginleştirme Analizi (A: Moleküler Fonksiyon (MF); B: Biyolojik Süreç (BP); C: Hücresel Bileşen (CC))

Şekil 4.7A–C’de yer alan görsel analizler, üç mikroRNA’nın hedeflediği genlerin ortak bir işlevsel temada birleştiğini göstermektedir: hücre zarı dinamiklerinin ve taşıma süreçlerinin düzenlenmesi. Bu mikroRNA’lar, SNARE proteinleri ve adaptörleri gibi moleküler bileşenler üzerinden, klatrin aracılı endositoz, vezikül taşınımı ve zar füzyonu gibi süreçleri doğrudan etkileyebilecek potansiyele sahiptir. Dolayısıyla, hücre yüzeyinde yer alan reseptörlerin veya salgı faktörlerinin içeri alımı ya da geri dönüşümü bu mikroRNA’lar tarafından dolaylı olarak düzenlenebilir.

Ayrıca, BP kategorisinde öne çıkan Ras/Rac GTPaz sinyal yolları, bu mikroRNA'ların hücre proliferasyonu ve hareketliliğini etkileyebileceğini göstermektedir. Bununla birlikte, hücre polaritesi, iskelet düzenlenmesi ve adezyonla ilişkili terimlerin de zenginleştirilmiş olması, bu mikroRNA hedeflerinin meme kanseri hücrelerinin çevreleriyle fiziksel etkileşimini ve invazyon/metastaz için gerekli olan morfolojik değişimleri destekleyebileceğini düşündürmektedir.



Şekil 4.8 Üç Ontolojiye İlişkin Gen Ontoloji Bulguları

Bu tez kapsamında miR-3928-5p, miR-4295 ve miR-4720-5p mikroRNA'larına ilişkin olarak gerçekleştirilen üç farklı ontolojik kategoriye (BP, CC ve MF) dayalı analiz sonuçları Şekil 4.8'de sunulmuştur. Elde edilen bulgular, söz konusu üç miRNA'nın meme kanserinde ortak olarak hedeflediği genlerin; hücre içi taşınım, sinyal iletimi, membran füzyonu, endositoz ve hücre iskeleti organizasyonu gibi temel biyolojik süreçlerde önemli roller üstlendiğini ortaya koymaktadır. Özellikle Ras ve Rac protein sinyal iletiminin düzenlenmesi, klatrin-bağımlı endositoz, vezikül taşınımı, SNARE kompleksi aracılı membran füzyonu ve sinaptik vezikül organizasyonu gibi işlevlerde bu genlerin belirgin biçimde yer aldığı belirlenmiştir. Bu veriler, ilgili mikroRNA'ların hücrel homeostazın sürdürülmesinde ve tümöral mikroçevrenin dinamiklerinin kontrolünde etkili düzenleyici unsurlar olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca GO analizleri, bu miRNA'ların hedeflediği genlerin büyüme faktörü sinyalleme, hücrel

adezyon, sitoskeletal yeniden yapılanma ve endosomal taşınım gibi onkojenik yolları yöneten genetik ağların bir parçası olduğunu ortaya koymaktadır.

4.1.4.5. KEGG Yolak Haritalaması ile Hedef Genlerin Fonksiyonel Kümelenmesi

MiR-3928-5p, miR-4295 ve miR-4720-5p mikroRNA'larının ortak hedeflediği genler üzerinden gerçekleştirilen KEGG yolak analizi, bu genlerin dahil olduğu biyolojik sinyal yollarının belirlenmesini amaçlamıştır. Yapılan analizler, kanser oluşumu, bağışıklık sistemi düzenlenmesi, hücresel iletişim ve metabolik kontrol gibi çok sayıda temel biyolojik süreci kapsayan çeşitli zenginleştirilmiş yolları ortaya koymuştur.

Şekil 4.9 ortak hedef 38 gen için yapılan KEGG analizinin bir ağ diyagramını göstermektedir. Görselde mavi renkteki düğümler genleri, yeşil renkteki düğümler ise ilgili biyolojik yolları (pathways) temsil etmektedir. Buna göre, en anlamlı zenginleşme gösteren yollar arasında “kanser gelişimi ile ilgili yollar (Pathways in cancer)”, “meme kanseri”, “endokrin direnç” ve “MAPK sinyal yolları” gibi doğrudan kanser biyolojisiyle ilişkili süreçler yer almaktadır. Bu bulgular, ilgili mikroRNA'ların tümör oluşumu, proliferasyon ve hormon tedavisine direnç gelişimi gibi süreçleri regüle eden genler aracılığıyla meme kanseri gelişiminde potansiyel etkili olabileceklerini göstermektedir. Özellikle SHC1, PRKCI, ESR1 ve PIK3C2A gibi genlerin, birden fazla kanserle ilişkili sinyal yolunda tekrar eden şekilde yer aldığı tespit edilmiştir. Bu genler, ERBB sinyal yolu, Ras sinyal yolu ve Östrojen sinyal yolu gibi kritik hücresel iletişim yollarının düzenlenmesinde görev almakta olup, mikroRNA aracılığıyla regülasyonlarının kanser hücre davranışlarını önemli ölçüde etkileyebileceği öngörülmektedir. Örneğin; SHC1 hem MAPK hem de ERBB yollarında sinyal iletimi için adaptor protein olarak görev almakta ve büyüme faktörüne bağlı hücre proliferasyonunu tetikleyebilecek bir konumda bulunmaktadır. ESR1 geni ise, östrojen reseptör- α 'yı kodlamakta olup hem östrojen sinyal yolunda hem de endokrin dirençle ilişkili yollarda yer almakta, bu durum söz konusu mikroRNA'ların hormon-bağımlı tümör davranışlarını ve tedaviye yanıtı etkileyebileceğini düşündürmektedir.



Şekil 4.9 miR-3928-5p, miR-4295 ve miR-4720-5p mikroRNA'larının hedef genleriyle ilişkili KEGG yolları

Kanserle ilişkili klasik yolların yanı sıra, analizlerde bağışıklık sistemiyle ilişkili bir dizi önemli yolak da zenginleştirilmiş olarak saptanmıştır. Bunlar arasında doğal öldürücü hücre aracılı sitotoksinite, T hücre lösemi virüsü enfeksiyonu ve Fc-gama reseptörü aracılı fagositoz yer almaktadır. Bu bulgu, ilgili mikroRNA'ların sadece tümör hücresi proliferasyonu değil, aynı zamanda bağışıklık sisteminin tümör üzerindeki kontrolünü etkileyebilecek düzenleyici mekanizmalarda da rol alabileceğine işaret etmektedir. Örneğin; DNMT2, RAB3IP ve CHMP4B gibi genler, vezikül taşınımı ve immün sinaps oluşumu ile ilişkilendirilmiş olup; ekzositik aktivite ve antijen sunumu gibi immün yanıtın temel bileşenlerinin mikroRNA aracılığıyla kontrol edilebileceğini göstermektedir.

Bunlara ek olarak, analizlerde akson kılavuzluğu, nörotrofin sinyal iletimi ve insülin sekresyonu gibi nörolojik ve metabolik yolların da anlamlı biçimde zenginleştiği belirlenmiştir. Bu yollar ilk bakışta kanserle doğrudan ilişkili görünmese de vezikül taşınımı, hücre göçü ve reseptör geri dönüşümü gibi süreçlerdeki rolleri nedeniyle, kanser hücrelerinin morfolojik plastisitesi ve invazyon kabiliyeti açısından dolaylı etkilere sahip olabilirler. Ayrıca, SNARE aracılı vezikül taşınımı, endositoz ve sinaptik vezikül döngüsü gibi hücre içi taşınım ve sinyal iletimini düzenleyen yolların zenginleşmesi, GO analizlerinde ortaya konulan hücre içi organizasyonla ilişkili sonuçları desteklemektedir.

Bu bağlamda, KEGG yolak analizleri, miR-3928-5p, miR-4295 ve miR-4720-5p mikroRNA'larının; onkogenez, immün düzenleme ve sinyal iletim gibi temel biyolojik süreçleri ortak hedef genler üzerinden düzenleyebildiğini ve meme kanseri patogenezinde koordineli bir rol üstlenebileceklerini göstermektedir.

4.2 TARTIŞMA

Dünya genelinde kanser, ölüme neden olan ikinci hastalık olup, kanserden kaynaklı ölümlerin çoğu metastaz sonucu meydana gelmektedir (Kiri ve Ryba, 2024). Metastaz, sağlıklı hücrelerin sınırsız bir şekilde bölünmesi, bağışıklık sisteminden kaçması, hücre ölümüne karşı dirençli hale gelmesi ve diğer organları etkileyerek kanserli hücrelere dönüşmesine neden olan bir süreçtir. Kanser, kimyasal karsinogenez, viral enfeksiyonlar, somatik mutasyonlar ve epigenetik değişiklikler gibi farklı etkenlerden kaynaklı oluşabilir. Onkogenlerde ve tümör baskılayıcı genlerdeki mutasyonlar hücrelerin sınırsız bölünme ve büyümesine neden olur. Onkogenlerde meydana gelen mutasyonların heterozigot olması yeterlidir. Tümör baskılayıcı genlerdeki mutasyonlar inaktiftir ve tümör baskılama fonksiyonlarını kaybetmeleri için her iki kopyasında inaktif olması gerekir (Castaneda vd., 2022). 2014 yılındaki 14 milyon kanser vakasının 2032 yılında 22 milyona çıkacağı düşünülmektedir (Haroun vd., 2023).

Meme kanseri kadınlarda en sık rastlanılan neoplazmdir ve tüm kanser ölümlerinin yaklaşık %14'ünü oluşturur (Sabit vd., 2021). Kadınlar arasında en sık rastlanılan kanserler sırasıyla meme, kolon, akciğer ve rahim ağzı kanseridir. Meme kanseri genetik ve çevresel faktörlerden etkilenen heterojen bir hastalık sınıfına girer (Bayrakçeken vd., 2024).

mikroRNA'lar, hücre sağ kalımı, apoptoz, farklılaşma, karsinogenez, yaşlanma ve metastaz gibi birçok biyolojik süreçte kritik bir rol oynar (Sabit vd., 2021). İnsan miRNA genlerinin çoğunun kırılma bölgelerde, kansere özgü translokasyon kırılma noktalarında, tekrarlayan dizilerde ve CpG adaları ile bağlantılı bölgelerde olduğu bulunmuştur (Reddy, 2015). Tek bir miRNA birden fazla mRNA'yı hedefleyebildiği için anormal miRNA ifadesi çok sayıda transkripti etkileyebilir, bu durumda kanserle ilişkili sinyal yollarını etkileyebilir (Jansson ve Lund, 2012).

Bu çalışma, meme kanseri doku örneklerinde miR-3928-5p, miR-4295 ve miR-4720-5p miRNA'larının anlamlı düzeyde baskılandığını ortaya koymuş ve bu moleküllerin tümör baskılayıcı işlevler üstlenebileceğine dair güçlü biyoistatistiksel ve biyoinformatik kanıtlar sunmuştur. Bu mikroRNA'ların görece düşük ifade düzeyleri, malign meme dokularındaki genetik ve epigenetik düzenleme mekanizmalarındaki

bozukluklarla ilişkili olup, bu durum, tümör progresyonuna katkı sağlayan biyolojik süreçlerin çözülmesinde önemli bir ipucu sunmaktadır. Bu bulgular, miRNA düzeylerindeki düzensizliklerin hücresel proliferasyon, invazyon ve tedaviye direnç gibi temel tümör gelişim süreçlerine katkı sağladığını ortaya koyan literatür ile uyumludur (Gravell vd., 2015; Otmani & Lewalle, 2021; Reda vd., 2021).

Daha önce yapılan çalışmalarda, miR-3928-5p, miR-4295 ve miR-4720-5p'nin farklı kanser türlerine bağlı olarak değişken fonksiyonlar gösterebildiği bildirilmiştir. Kim ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada bizim aşağı regüle olarak bulduğumuz miR-4720-5p'nin intramukozal mide kanserinde (İMC) yukarı regüle edildiği bulunmuştur. Yaptıkları bu çalışmada bir algoritma kullanarak metastatik olmayan intramukozal mide kanserini (m- İMC) neoplastik olmayan intramukozal mide kanserinden ayırt edebilmişlerdir (Kim vd., 2021). Pascut ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada miR-4720-5p'nin hepatosit karsinomunda yukarı regüle edildiği belirlenmiştir. Aşırı ifade edildiğinde bir tümör baskılayıcı olan Erβ'nin ifadesini azalıp, kanserin ilerlemesi ve metastazında etkili olduğu bildirilmiştir (Pascut vd., 2019).

Bizim çalışmada bulduğumuz gibi glioblastomada da miR-3928 aşağı ifade edilmiştir. Glioblastoma'da (GBM) yapılan bu çalışmada miR-3928'in tümörlü doku örneklerinde ve hücre hatlarında normal beyin korteksi ve astrositlere kıyasla daha aşağı regüle edildiğini bulmuşlardır. miR-3928 bir onkogen olan *MDM2*'yi inhibe ederken, p53 ifadesini ve fosforilasyonunu yukarı regüle etmiştir. Bu durum miR-3928'in birkaç onkogeni aşağı ifade edip p53'ü yukarı ifade ederek aktivasyonunu sağlayıp GBM'de güçlü bir tümör baskılayıcı olduğunu bulmuşlardır (Mulcahy vd., 2022). Fadıl ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada miR-3928'inde aralarında bulunduğu beş miRNA'nın baş ve boyun skuamöz hücreli karsinomunda önemli ölçüde aşağı regüle edildiği belirlenmiştir (Fadhil vd., 2020). Literatürde yer alan bu veriler miR-3928'in tümör baskılayıcı etkisini desteklemektedir.

Cheng ve arkadaşları osteosarkomda (OS) 30 kanserli ve 30 da kansere yakın sağlıklı doku kullanarak yaptıkları çalışmada, miR-4295'in normal dokuya kıyasla önemli ölçüde arttığını ve bu artışın osteosarkomda hücre proliferasyonu, göçü ve invazyonu ile ilişkili olduğunu belirlemişlerdir (Cheng vd., 2020). Bir başka çalışmada baş ve boyun skuamöz hücreli karsinomu'nda (HNSCC) *NPTX1* adı verilen bir tümör

baskılayıcı geni hedef alarak hücre çoğalmasını ve metastazını kolaylaştırdığını belirlemişlerdir (Lu vd., 2020). Yuan ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada miR-4295'in pankreas duktal adenokarsinomunda (PDAC) GPC5'in PDAC'de bir tümör baskılayıcı rol oynadığını ve GPC5'in de miR-4295 tarafından düzenlendiği belirlenmiştir. Bu durumda miR-4295'in PDAC'de yukarı regüle edildiği düşünülmektedir (Yuan vd., 2018). Bunlara ilave olarak, miR-4295'in bazı kanser türlerinde onkojenik bir rol oynayarak tümör baskılayıcı *IRF1* genini baskılamak suretiyle osteosarkom büyümesini teşvik ettiği bildirilmiştir (Li vd.,2022). Mevcut çalışmada ise, bu üç miRNA'nın baskılanmasının, pro-tümörijenik genlerin artan ekspresyonu ile ilişkili olduğu ve dolayısıyla meme kanseri özelinde tümör baskılayıcı işlevlere sahip oldukları anlaşılmaktadır. Bu durum, miRNA'ların genetik kayıplar, epigenetik baskılama ya da transkripsiyonel düzenleme bozuklukları yoluyla ifade kaybına uğramasının, kanserin temel özelliklerinden olan sürekli proliferasyon, apoptozdan kaçış, artan invazyon kapasitesi ve tedaviye direnç gibi süreçlere katkı sunduğu görüşünü desteklemektedir (Loh vd., 2019; Hussen vd., 2021).

Bütüncül biyoinformatik analizler sonucunda elde edilen en dikkat çekici bulgulardan biri, ilgili miRNA'ların hedeflediği genlerin RAS/RAC sinyal yolları ile ilişkili olduğunun belirlenmesidir. Özellikle Ras/mitojenle aktive edilen protein kinaz (MAPK) kaskadı, bu miRNA'ların hedeflediği genler aracılığıyla önemli ölçüde etkilenmektedir. Meme kanserinde RAS/MAPK yolunun anormal şekilde aktive olması; hücre proliferasyonu, hayatta kalma ve metastaz süreçlerinin başlıca düzenleyicilerinden biridir. Her ne kadar *RAS* gen mutasyonları meme kanserinde nadiren görülse de bu yolak genellikle EGFR veya HER2 gibi yukarı akım reseptörlerin aşırı aktivasyonu veya negatif düzenleyicilerin kaybı aracılığıyla aktif hale gelir. Bu bağlamda, miR-200c gibi bazı miRNA'ların KRAS ifadesini baskılayarak ERK ve PI3K/Akt yollarını inhibe ettiği bilinmektedir (Wright vd., 2019; Mu vd., 2021).

Çalışmamızda, *SHC1* geninin ortak hedef genlerden biri olarak belirlenmesi, miR-3928-5p, miR-4295 ve miR-4720-5p'nin eksikliğinde RAS/MAPK sinyal iletiminin güçlenebileceğini düşündürmektedir. *SHC1*'in aşırı ifadesi, mitojenik sinyallerin artmasına, hatta tümör mikroçevresinde tümör destekleyici parakrin etkilere yol açarak meme tümörlerinin ilerlemesini kolaylaştırabilir. *SHC1* dışında *RPS6KA3* ve

RASGRF2 gibi diğer RAS yolak bileşenlerinin de bu miRNA'lar aracılığıyla baskılandığı anlaşılmıştır. Dolayısıyla, bu miRNA'ların kaybı; RAS/MAPK ekseninde regülasyon kaybına ve tümör büyümesi ile invazyonun artmasına yol açabilir (Wright vd., 2019; Hussen vd., 2021).

Çalışmada ayrıca östrojen reseptör (ER) sinyal iletiminin de bu miRNA'lar tarafından düzenlendiği görülmüştür. Özellikle *ESR1* (*ERα*) geni bu miRNA'ların hedefleri arasında yer almaktadır. Bilindiği üzere meme kanserlerinin yaklaşık %70–75'i ER pozitif özellik göstermekte olup, bu yolaktaki düzensizlikler tümör progresyonunu ve hormonal tedavilere karşı gelişen direnci tetiklemektedir (Kruger vd., 2018; Barzaman vd., 2020). Bu miRNA'ların baskılanması, *ESR1* ifadesinin artmasına ve östrojen kaynaklı proliferasyonun hızlanmasına neden olabilir. *SHC1*'in yine bu süreçte HER2 ve MAPK gibi büyüme faktörü sinyal yolları ile östrojen reseptörü arasında köprü görevi görebileceği düşünülmektedir. Bu da ligandan bağımsız ER aktivasyonu ve tamoksifen direnci gelişimine katkı sağlayabilir. Sonuç olarak, miRNA düzeylerindeki azalma hem hormonal dengeyi hem de mitojenik uyarıyı bozarak daha saldırgan bir tümör fenotipi ve tedaviye karşı dirençli bir yapı oluşturmaktadır (Zhao & Ramaswamy, 2014).

Yürütülen analizlerde, bu üç miRNA'nın ayrıca vezikül taşınımı, endositoz ve hücre iskeleti organizasyonu gibi hücre hareketliliği ve metastaz açısından kritik biyolojik süreçlerde de rol oynadığı görülmüştür. Gene Ontology (GO) analizleri, kltrin kaplı veziküller ve hücre polaritesi gibi kavramlarla ilişkili gen kümelerinin bu miRNA'ların hedefleri arasında olduğunu ortaya koymuştur. Bu noktada öne çıkan *DNM2* geni, kltrin aracılı endositozda ve aktin iskeleti ile etkileşimlerde görev alan bir GTPaz olup meme kanserinde aşırı ifade edilmesi ile bilinir. *DNM2* gen ekspresyonunun artışı; hücre göçü, reseptör geri dönüşümü ve metastatik yayılım gibi süreçlerin kolaylaşmasına neden olabilirken; bu genin inhibisyonu ise tümör hücrelerinin hayatta kalmasını ve invazyon yeteneklerini azaltmaktadır. Ayrıca *STX6*, *CHMP3* ve *VANGL1* gibi diğer hedeflerin vezikül trafiğini düzenlenmesinde rol oynadığı ve bu genlere yönelik miRNA'ların kaybının hücre hareketliliği artırdığı düşünülmektedir (Han vd., 2008; Trochet ve Bitoun, 2021; Tang vd., 2022).

Apoptoz ve hücre hayatta kalma açısından değerlendirildiğinde, miR-3928-5p, miR-4295 ve miR-4720-5p'nin *HRK* ve *SATB1* gibi önemli genleri hedeflediği

görülmüştür. HRK geni pro-apoptotik bir protein kodlamasına rağmen, epigenetik baskılayıcı mekanizmalar nedeniyle çoğu tümörde ekspresyonu susturulmuştur. Bu nedenle miRNA kaybı bu baskıyı tek başına ortadan kaldırmaya yeterli olmayabilir. Diğer yandan, *BFAR*, *BCL2L2* ve *STX6* gibi anti-apoptotik genlerin de bu miRNA'lar tarafından hedefleniyor olması, hücrel hayatta kalma lehine bir dengenin kurulmasına zemin hazırlamaktadır. Ayrıca, kromatin yeniden düzenlenmesi yoluyla metastaza katkıda bulunduğu bilinen *SATB1* geninin de bu miRNA'lar aracılığıyla düzenlendiği belirlenmiştir. *TP53* tümör baskılayıcı geni ise hem *HRK* hem de *SATB1*'in üst düzey düzenleyicisi olup, meme kanserinde sıklıkla inaktive olması da apoptozun bozulmasına ve metastazın kolaylaşmasına katkı sunmaktadır (Pan vd., 2016).

Bulgular, bu miRNA'ların bağışıklık sistemi ile tümör arasındaki etkileşimlerde de önemli roller üstlendiğini göstermektedir. Özellikle ortak hedeflerden biri olan *NRPI* (Neuropilin-1), anjiyogenez, bağışıklık baskılanması ve kanser kök hücresi özellikleri ile ilişkilidir. Bu miRNA'ların kaybı *NRPI*'in aşırı ifade edilmesine, dolayısıyla Treg hücreleri ve miyeloid hücreler üzerinden immün kaçışa neden olabilir. Ayrıca STAT3 ve NF- κ B gibi inflamasyonla ilişkili sinyal yollarının da bu miRNA'ların hedefi olduğu belirlenmiş ve bu durum bağışıklık sistemi baskılanmasının artabileceğini düşündürmüştür. IL-10 ve TGF- β gibi immünsüpresif sitokinlerin üretimi bu sayede artabilir ve tümör mikroçevresi immünojenik olmayan bir hale gelebilir (Barzaman vd., 2020; Tang vd., 2022).

Tüm bu bulgular ışığında, miR-3928-5p, miR-4295 ve miR-4720-5p molekülleri hem tanısal hem de terapötik açıdan umut vadetmektedir. Stabil yapıları sayesinde bu miRNA'lar, hem tümör dokularında hem de dolaşımdaki biyolojik örneklerde (kan, plazma, serum) tespit edilebilirler. Böylece erken tanı, hastalık sınıflandırması ve tedavi yanıtı öngörüsü gibi klinik alanlarda kullanılabilirler. Aynı zamanda, bu miRNA'ların yeniden hücreye verilmesi yoluyla, bozulmuş sinyal ağlarının düzeltilmesi hedeflenebilir. Bu strateji, daha önce miR-34a mimetikleri ile yapılan prelinik çalışmalarda anti-tümör etkilerin başarıyla gözlemlendiği yaklaşımlarla paralellik göstermektedir (Wu vd., 2024; Kumar & Ranga, 2025).

Ancak, bu tür terapötik uygulamalarda miRNA'ların dokuya özgü hedeflenmesi, *in vivo* stabilitelerinin artırılması ve yan etkilerin önlenmesi gibi zorluklar bulunmaktadır. Ayrıca, miRNA'ların bağlama özgü (context-dependent) hedefleri olabileceğinden, normal dokulardaki fizyolojik işlevlerinin detaylı şekilde incelenmesi ve hedef yelpazesinin dikkatli biçimde belirlenmesi gereklidir. Yine de meme kanserine özgü şekilde baskılanmaları ve pek çok patojenik süreci doğrudan etkileyen genleri hedeflemeleri nedeniyle, bu üçlü miRNA grubu, gelecekte özellikle agresif tümörlerin tedavisinde kombine miRNA terapileri için oldukça değerli bir platform sunabilir. Böyle bir yaklaşım, genellikle tek hedefli ilaçlara karşı geliştirilen direnç mekanizmalarının üstesinden gelmekte daha başarılı olabilir (Gravell vd., 2015; Momenimoved & Salehiniva, 2019; Gezici, 2023).



BÖLÜM 5

SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında, miR-3928-5p, miR-4295 ve miR-4720-5p mikroRNA'larının meme kanseri dokularındaki ifade düzeyleri ile bu dokulara komşu, tümör içermeyen normal doku örneklerindeki düzeyleri karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. Yapılan kantitatif RT-PCR (qRT-PCR) analizleri sonucunda, her üç mikroRNA'nın da tümör dokularında anlamlı düzeyde baskılandığı belirlenmiştir. Bu durum, söz konusu miRNA'ların tümör baskılayıcı potansiyele sahip olabileceğini göstermektedir. Elde edilen bu sonuçlar, bu mikroRNA'ların meme kanseri patogenezinde işlevsel roller üstlenebileceğini ortaya koymakta ve tanı ya da prognostik biyobelirteç olarak kullanılabilme potansiyellerini desteklemektedir.

Yapılan kapsamlı biyoinformatik analizlerde; GO (Gene Ontology) sınıflandırması ve KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) yolak zenginleştirme analizleri doğrultusunda, miR-3928-5p, miR-4295 ve miR-4720-5p'nin hedeflediği öngörülen genlerin; RAS/RAC sinyal iletimi, kltrin aracılı endositoz, vezikül taşınımı ve hücre polaritesinin düzenlenmesi gibi kanser biyolojisinin temelini oluşturan biyolojik süreçlerde yer aldığı saptanmıştır. GO kategorizasyonu, bu hedef genlerin özellikle SNAP reseptör aktivitesi ve syntaxin bağlanması gibi önemli moleküler fonksiyonlar ile ilişkili olduğunu; ayrıca hücrel lokalizasyon açısından kltrin kaplı veziküller ve endozomal bölmelerle yakın bağlantılı olduğunu göstermiştir. Bu bulgular, ilgili mikroRNA'ların hücre içi taşınım ve membrana bağlı sinyal iletimi mekanizmalarını modüle ederek kanser progresyonuna katkı sağlayabileceğini düşündürmektedir.

KEGG yolak analizleri ise bu mikroRNA'ların MAPK sinyal iletimi, östrojen sinyal iletimi ve endokrin tedaviye direnç gibi meme kanseriyle ilişkili çeşitli hücrel yollarlarda görev aldığını göstermiştir. Özellikle *SHC1* ve *ESR1* gibi bu yolların merkezinde yer alan genlerin bu mikroRNA'ların hedefleri arasında yer alması, onkojenik sinyalleme yollarının ortak bir düzenleyici ekseninde kontrol altında tutulduğunu göstermektedir. Bununla birlikte, analizlerde immün yanıtla ilişkili

yolalarda da zenginleşme saptanması, bu mikroRNA'ların tümör ile bağışıklık sistemi arasındaki etkileşimleri düzenleyebileceğini ve immün kaçış mekanizmalarına katkıda bulunabileceğini göstermektedir.

Bu tez çalışmasından elde edilen bulgular aşağıda maddeler halinde özetlenmiştir:

- **miR-3928-5p, miR-4295 ve miR-4720-5p**'nin ifade düzeyleri, meme kanseri dokuları ve karşılaştırmalı tümör dışı komşu dokularda analiz edilmiştir.
- **qRT-PCR analizleri**, tümör örneklerinde bu üç miRNA'nın belirgin şekilde **aşağı regüle** olduğunu ortaya koymuştur. Bu sonuçlar, söz konusu miRNA'ların potansiyel **tümör baskılayıcı** rolü olabileceğini göstermektedir.
- Bulgular, bu miRNA'ların meme kanseri patogenezinde önemli olduğunu ve **tanı veya prognoz belirteci (biyobelirteç)** olarak kullanılabilirliklerini düşündürmektedir.
- GO ve KEGG yolak zenginleştirme analizlerine dayanan kapsamlı biyoinformatik değerlendirmeler, bu miRNA'ların hedeflediği genlerin:
 - **RAS/RAC sinyal iletimi,**
 - **klatrin aracılı endositoz,**
 - **veziküler taşıma ve**
 - **hücre polaritesinin düzenlenmesi** gibi kritik biyolojik süreçlere dahil olduğunu göstermiştir.
- GO analizi:
 1. **SNAP reseptör aktivitesi ve**
 2. **syntaxin bağlanması** gibi önemli moleküler fonksiyonları tanımlamıştır.
 3. Hücresel lokalizasyon açısından genler en çok **klatrin kaplı veziküller ve endosomal kompartmanlarla** ilişkilendirilmiştir.

Bu veriler, ilgili miRNA'ların **hücre içi taşıma ve membran kaynaklı sinyal olayları** üzerinde etkili olarak kanser ilerlemesine katkıda bulunabileceğini düşündürmektedir.

- KEGG analizleri, bu miRNA'ların:
 1. **MAPK sinyal yolağı,**
 2. **östrojen sinyal yolağı ve**
 3. **endokrin tedavi direnci** gibi kanserle ilişkili yollarla bağlantılı olduğunu göstermiştir.

- **SHC1** ve **ESR1** gibi merkezi genler, onkojenik yolların ortak düzenleyicileri olarak öne çıkmıştır.

Ayrıca, **immün sistemle ilişkili yollarda** da zenginleşme gözlenmiş ve bu durum, bu miRNA'ların tümör–immün sistem etkileşimlerinde de rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

Sonuç olarak, bu çalışma miR-3928-5p, miR-4295 ve miR-4720-5p'nin meme kanseri biyolojisinde önemli düzenleyici roller üstlendiğini ortaya koymaktadır. Elde edilen bulgular, bu miRNA'ların ve **biyobelirteç** veya **terapötik hedef** olarak değerlendirilebilecek potansiyelde olduklarını göstermektedir.

Öneriler ve Gelecek Çalışmalar için Perspektifler

Bu çalışmanın bulguları, miR-3928-5p, miR-4295 ve miR-4720-5p'nin meme kanserinde önemli biyolojik süreçleri etkileyen düzenleyici elemanlar olduğunu açıkça göstermektedir. Ancak, bu mikroRNA'ların kesin mekanizmalarını aydınlatmak ve klinik uygulamalara yönelik somut adımlar atabilmek için ileri düzey çalışmalara ihtiyaç vardır:

Fonksiyonel doğrulama çalışmaları yapılmalı: Bu çalışmada biyoinformatik analizlerle belirlenen miR-3928-5p, miR-4295 ve miR-4720-5p'nin tümör baskılayıcı potansiyeli, ileri düzeyde *in vitro* (ör. knockdown/overexpression deneyleri) ve *in vivo* modellerle fonksiyonel olarak doğrulanmalıdır.

Hedef gen düzeyinde deneysel analizler: KEGG ve GO analizlerinde tanımlanan merkezi genlerin (ör. **SHC1**, **ESR1**, **MAPK1**) ifade düzeylerinin miRNA düzeyleriyle korelasyonu farklı hücre hatlarında veya hasta örneklerinde deneysel olarak değerlendirilmelidir.

Hasta alt gruplarına göre analizler yapılmalı: Moleküler alt tiplere (örneğin triple-negatif, HER2+, luminal A/B) göre bu miRNA'ların ekspresyon düzeylerinin karşılaştırılması, klinik kullanım potansiyelini değerlendirmek için faydalı olacaktır.

Sıvı biyopsi potansiyeli araştırılmalı: Bu miRNA'ların dolaşımdaki varlığı (örneğin plazma, serum, eksozom) incelenerek non-invaziv biyobelirteç olma potansiyelleri değerlendirilebilir.

İmmün etkileşim mekanizmaları araştırılmalı: İmmün sistemle ilişkili yollara olan etkileri doğrultusunda, bu miRNA'ların tümör mikroçevresi ve immün kaçış mekanizmaları üzerindeki rolleri araştırılmalıdır.

Bu doğrultuda yapılacak multidisipliner çalışmalar, bu mikroRNA'ların meme kanserinde klinik kullanıma yönelik uygulamalara dönüşmesini kolaylaştıracağı öngörülmektedir.



KAYNAKLAR

- Açıkgöz, A., & Akal Yıldız, E. (2017). Meme kanseri etiyolojisi ve risk faktörleri. *Ergoterapi ve Rehabilitasyon Dergisi*, 5(1), 45-56. <https://doi.org/10.30720/ered.441784>.
- Atan, G., & Kurt Can, E. (2024). Obezite ile meme kanseri arasındaki ilişki ve navigatör hemşirelik modelinin etkisi. *YOBU Faculty of Health Sciences Journal*, 5(2), 183-193.
- Admoun, C., & Maryovitz, H. N. (2022). The Etiology of Breast Cancer. *Breast Cancer*. içinde Exon Publications. doi:10.36255/exon-publications-breast-cancer-etiology.
- Arun, R. P., Cahill, H. F., & Marcato, P. (2022). Breast cancer subtype-specific microRNAs: Networks, impacts, and the potential for intervention. *Biomedicines*, 10(3), Article 651. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10030651>
- Arzonova, E., & Mayrovitz, H. N. (2022, May 31). The epidemiology of breast cancer. Nova Southeastern University. doi:10.36255/exon-publications-breast-cancer-epidemiology
- Aurin, J., Thorlacijs, H., & Butt, S. T. (2020). Age at first childbirth and breast cancer survival: A prospective cohort study. *BMC Research Notes*, 13(9). <https://doi.org/10.1186/s13104-019-4864-1>.
- Barzaman, K., Karami, J., Zarei, Z., Hosseinzadeh, A., Kazemi, M. H., Kalbolandi, S. M., . . . Farahmand, L. (2020, Temmuz). Breast cancer: Biology, biomarkers, and treatments. *International Immunopharmacology*, 84(106535). doi:10.1016/j.intimp.2020.106535.
- Bayrakçeken, E., Yaralı, S., & Alkan, Ö. (2024). Identify risk factors affecting participation of Turkish women in mammography screening for breast cancer prevention. *Breast Cancer Research and Treatment*, 205, 487-495. doi:10.1007/s10549-024-07296-9.
- BREAST CANCER ANATOMY AND. (2025). National Breast Cancer Foundation: <https://nbcf.org.au/about-breast-cancer/diagnosis/breast-cancer-anatomy>.

- Brewer, H. R., Jones, M. E., & Swerdlow, A. J. (2017). Family history and risk of breast cancer: An analysis accounting for family structure. *Breast Cancer Research and Treatment*, 165(1), 193–200. <https://doi.org/10.1007/s10549-017-4325-2>.
- Bray, F., Laversanne, M., Weiderpass, E., Soerjomataram, I., & Ferlay, J. (2024). Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 74(2), 107–123. <https://doi.org/10.3322/caac.21834>
- Bofill-De Ros, X., & Vang Ørom, U. A. (2023). Recent progress in miRNA biogenesis and decay. *RNA Biology*, 21(1), 36–43.
- Castaneda, M., Hollander, P. D., Kuburich, N. A., Rosen, J. M., & Mani, S. A. (2022). Mechanisms of cancer metastasis. *Seminars in Cancer Biology*, 87, 17-31. [doi:10.1016/j.semcancer.2022.10.006](https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2022.10.006).
- Castro-Muñoz, L. J., Ulloa, E. V., Sahlgren, C., Lizano, M., De La Cruz-Hernández, E., & Contreras-Paredes, A. (2023). Modulating epigenetic modifications for cancer therapy (Review). *Oncology Reports*, 49(3), Article 59. <https://doi.org/10.3892/or.2023.8496>
- Chakraborty, A., Patton, D. J., Smith, B. F., & Agarwal, P. (2023). miRNAs: Potential as Biomarkers and Therapeutic Targets for Cancer. *Genes*, 14(7), 1375. <https://doi.org/10.3390/genes14071375>.
- Cheng, J. P., Huang, B., Duan, J. H., Yi, K. J., & Zhuang, Z. L. (2020). miR-4295 promotes cell proliferation, migration and invasion of osteosarcoma through targeting interferon regulatory factor 1. *Oncology letters*, 20(5). [doi:10.3892/ol.2020.12123](https://doi.org/10.3892/ol.2020.12123).
- Cordero da Luz, F. A., Araújo, B. J., & de Araújo, R. A. (2022). The current staging and classification systems of breast cancer and their pitfalls: Is it possible to integrate the complexity of this neoplasm into a unified staging system? *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 178, 103781. <https://doi.org/10.1016/S1040842822002050>.
- Corrêa, S., Evangelista, A. F., Vieira, R. A. C., Marques, L. A., & Reis, R. M. (2021). miRNome profiling reveals shared features in breast cancer subtypes and highlights miRNAs associated with aggressiveness and survival. *Frontiers in Oncology*, 11, 710919. <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.710919>

- Çapanoğlu, G., Bakar, E. (2018). Meme Kanseri Ve Meme Kanseri Metastazında Rol Oynayan Moleküler Prognostik Faktörler. Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 3(2), 40-44.
- Dadziak, M., Olko, P., Zapała, M. A., Hunek, A., Chmielarz, K., Wiśniewska-Skomra, J., Tylutka, K., Hapon, A., & Kaziród, K. (2023). The non-modifiable risk factors for breast cancer development in women. Journal of Education, Health and Sport, 25(1), 12. <https://doi.org/10.12775/JEHS.2023.25.01.012>.
- Dehesh, T., Fadaghi, S., & Dehesh, P. (2023). The relation between obesity and breast cancer risk in women by considering menstruation status and geographical variations: A systematic review and meta-analysis. BMC Women's Health, 23(392).<https://bmcwomenshealth.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12905-023-02543-5>.
- Di Martino, M. T., Tagliaferri, P., & Tassone, P. (2025). MicroRNA in cancer therapy: breakthroughs and challenges in early clinical applications. Journal of Experimental & Clinical Cancer Research, 44(126). <https://doi.org/10.1186/s13046-025-03391-x>.
- Fadhil, R. s., Wei, M. Q., Nikolarakos, D., Good, D., & Nair, R. G. (2020, 03 24). Salivary microRNA miR-let-7a-5p and miR-3928 could be used as potential diagnostic bio-markers for head and neck squamous cell carcinoma. PloS one, 15(3). doi:10.1371/journal.pone.0221779.
- Fairoosa, P., & Witharana, C. (2020). Gene mutations in hereditary breast cancer—A review. European Journal of Medical and Health Sciences, 2(3). <https://doi.org/10.24018/ejmed.2020.2.3.286>.
- Gezici, S. (2023). Novel Approaches in Cancer Treatment: Tumor Targeted Therapy. In Handbook of Cancer and Immunology (pp. 1-34). Cham: Springer International Publishing.
- Ghoncheh, M., Pournamdar, Z., & Salehiniya, H. (2016). Incidence and Mortality and Epidemiology of Breast Cancer in the World. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention, 17, 43-46. doi:10.7314/APJCP.2016.17.S3.43.
- Graveel, C. R., Calderone, H. M., Westerhuis, J. J., Winn, M. E., & Sempere, L. F. (2015). Critical analysis of the potential for microRNA biomarkers in breast cancer management. Breast cancer: targets and therapy, 59-79.

- Gupta, H., Raghubansi, A., Bharat et al. Targeting GSK3 β and signaling pathways in breast cancer: role of individual members of miR- 23/24/27 cluster. *BMC Cancer* 25, 737 (2025). <https://doi.org/10.1186/s12885-025-14045-8>
- Gurer, T., Aytekin, A., Caki, E., & Gezici, S. (2022). miR-485-3p and miR-4728-5p as tumor suppressors in pathogenesis of colorectal cancer. *Molecular Biology*, 56(3), 474-488.
- Han, H. J., Russo, J., Kohwi, Y., & Kohwi-Shigematsu, T. (2008). SATB1 reprogrammes gene expression to promote breast tumour growth and metastasis. *Nature*, 452(7184), 187-193.
- Harbeck, N., Llorca, F. P., Cortes, J., Gnant, M., Hussami, N., Poortmans, P., . . . Cardoso, F. (2019, Eylül 23). Breast Cancer. *Nature Reviews Disease Primers*, 5(1). doi:10.1038/s41572-019-0111-2.
- Haroun, R., Wood, J. N., & Sikandar, S. (2023). Mechanisms of cancer pain. *Frontiers in Pain Research*, 3. doi:10.3389/fpain.2022.1030899.
- Hussen, B. M., Hidayat, H. J., Salihi, A., Sabir, D. K., Taheri, M., & Fard, S. G. (2021). MicroRNA: A signature for cancer progression. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. doi:10.1016/j.biopha.2021.111528.
- Jansson, M. D., & Lund, A. H. (2012). MicroRNA and cancer. *Molecular Oncology*, 6(6), 590-610. doi:10.1016/j.molonc.2012.09.006.
- Kanehisa, M., Furumichi, M., Tanabe, M., Sato, Y., Morishima, K. (2016). KEGG: new perspectives on genomes, pathways, diseases and drugs. *Nucleic Acids Research*, 45(1), <https://doi.org/10.1093/nar/gkw1092>.
- Khare, V. S., Huda, F., Misra, S., Amulya, K. R., Raj, N., Karn, S., & Basu, S. (2024). Male Breast Cancer: An Updated Review of Patient Characteristics, Genetics, and Outcome. *International journal of breast cancer*, 2024, 9003572. <https://doi.org/10.1155/2024/9003572>.
- Kruger, D. T., Beelen, K. J., Opdam, M., Sanders, J., van der Noort, V., Boven, E., & Linn, S. C. (2018). Hierarchical clustering of activated proteins in the PI3K and MAPK pathways in ER-positive, HER2-negative breast cancer with potential therapeutic consequences. *British journal of cancer*, 119(7), 832-839.
- Kim, S., Bae, W. J., Ahn, J. M., Heo, J. H., Kim, K. M., Choi, K. W., . . . Lee, D. (2021). MicroRNA signatures associated with lymph node metastasis in intramucosal gastric cancer. *Modern pathology : an official journal of the United*

- States and Canadian Academy of Pathology, 34(3), 672-683. doi:10.1038/s41379-020-00681-x.
- Kiri, S., & Ryba, T. (2024). Cancer, metastasis and the epigenome. *Molecular Cancer*, 23, 154. doi:10.1186/s12943-024-02069-w.
- Kumar, S., & Ranga, A. (2025). Role of miRNAs in breast cancer development and progression: Current research. *BioFactors*, 51(1), e2146.
- Lee, R. C., Feinbaum, R. L., & Ambros, V. (1993). The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell*, 75(5), 843–854. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(93\)90529-Y](https://doi.org/10.1016/0092-8674(93)90529-Y)
- Li, Y., Liang, C., Ma, H., Zhao, Q., Lu, Y., Xiang, Z., Li, L., Qin, J., Chen, Y., Cho, W. C., Pestell, R. G., Liang, L., & Yu, Z. (2014). miR-221/222 promotes S-phase entry and cellular migration in control of basal-like breast cancer. *Molecules*, 19(6), 7122–7137. <https://doi.org/10.3390/molecules19067122>
- Loh, H. Y., Norman, B. P., Lai, K. S., Rahman, N. M. A. N. A., Alitheen, N. B. M., & Osman, M. A. (2019). The regulatory role of microRNAs in breast cancer. *International journal of molecular sciences*, 20(19), 4940. doi:10.3390/ijms20194940.
- Lopes, L. C. P., Medeiros, G. A., Gualberto, I. J. N., Gut, T. B., Ferrazini, R. V. S., & Negrato, C. A. (2024). Relationship between early age at menarche, older age at menopause and subtypes of breast cancer: a scoping review. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia*, 46. <https://doi.org/10.61622/rbgo/2024rbgo50>.
- Lu, S., Zhou, C., Zou, B., Zhang, H., & Feng, M. (2020). MiR-4295 facilitates cell proliferation and metastasis in head and neck squamous cell carcinoma by targeting NPTX1. *Genes&Immunity*. doi:10.1038/s41435-019-0081-0.
- Łukasiewicz, S., Czezelewski, M., Forma, A., Baj, J., Sitarz, R., & Stanisławek, A. (2021). Breast Cancer—Epidemiology, Risk Factors, Classification, Prognostic Markers, and Current Treatment Strategies-an updated review. *Cancers*, 13(17). doi:10.3390/cancers13174287.
- Lukong, K. E. (2017, Haziran). Understanding breast cancer – The long and winding road. *BBA Clinical*, 7, 64-77. doi:10.1016/j.bbacli.2017.01.001.
- Menon, G., Alkabban, F. M., & Ferguson, T. (2024, Şubat 25). Breast Cancer. *StatPearls*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482286/>.

- Momenimovahed, Z., & Salehiniya, H. (2019). Epidemiological characteristics of and risk factors for breast cancer in the world. *Breast Cancer: Targets and Therapy*, 151-164. doi:10.2147/BCTT.S176070.
- Mu, H., Zhang, W., Qiu, Y., Tao, T., Wu, H., Chen, Z., & Xu, G. (2021). miRNAs as potential markers for breast cancer and regulators of tumorigenesis and progression. *International Journal of Oncology*, 58(5), 16.
- Mulcahy, E. Q., Zhang, Y., Colón, R. R., Cain, S. R., Gibert, M. K., Dube, C. J., . . . Abounader, R. (2022). MicroRNA 3928 Suppresses Glioblastoma through Downregulation of Several Oncogenes and Upregulation of p53. *International journal of molecular sciences*, 23(7). doi:10.3390/ijms23073930.
- Nascimento, R. G., & Otoni, K. M. (2020). Histological and molecular classification of breast cancer: what do we know? *Mastology*, 30, e20200024. DOI: 10.29289/25945394202020200024.
- Obeagu, E. I., & Obeagu, G. U. (2024). Breast cancer: A review of risk factors and diagnosis. *Medicine*, 103(3), e36905. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000036905>
- Otmani, K., & Lewalle, P. (2021). Tumor Suppressor miRNA in Cancer Cells and the Tumor Microenvironment Mechanism of Deregulation and Clinical Implications. *Frontiers in oncology*, 11. doi:10.3389/fonc.2021.708765.
- Pan, Z., Jing, W., He, K., Zhang, L., & Long, X. (2016). SATB1 is correlated with progression and metastasis of breast cancers: A meta-analysis. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 38(5), 1975-1983.
- Park, M., Kim, D., Ko, S., Kim, A., Mo, K., & Yoon, H. (2022, Haziran). Breast Cancer Metastasis: Mechanisms and Therapeutic Implications. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(12). doi:10.3390/ijms23126806.
- Pascut, D., Kırmaç, H., Gilardi, F., Patti, R., Calligaris, R., Croce, L. S., & Tiribelli, C. (2019). A comparative characterization of the circulating miRNome in whole blood and serum of HCC patients. *Scientific reports*. doi:10.1038/s41598-019-44580-x.
- Reda El Sayed, S., Cristante, J., Guyon, L., Denis, J., Chabre, O., & Cherradi, N. (2021). MicroRNA Therapeutics in Cancer: Current Advances and Challenges. *Cancers*, 13(11). doi:10.3390/cancers13112680.
- Reddy, KB Kanserde MikroRNA (miRNA). *Cancer Cell Int* 15 , 38 (2015). <https://doi.org/10.1186/s12935-015-0185-1>

- Sabit, H., Çevik, E., Tombuloğlu, H., Abdel-Ghany, S., Tombuloğlu, G., & Esteller, M. (2021). Triple negative breast cancer in the era of miRNA. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 157. doi:10.1016/j.critrevonc.2020.103196.
- Salum, G.M., Elaraby, N.M., Ahmed, H.A. et al. Evaluation of tumorigenesis-related miRNAs in breast cancer in Egyptian women: a retrospective, exploratory analysis. *Sci Rep* 14, 29757 (2024). <https://doi.org/10.1038/s41598-024-68758-0>
- Saydam, F., Değirmenci, İ., & Güneş, H. V. (2011). MikroRNA'lar ve kanser. *Dicle Tıp Dergisi*, 38(1), 113–120.
- SEER Training. (2025). Anatomy of the female breast. National Cancer Institute. Retrieved from <https://training.seer.cancer.gov/breast/anatomy.html>.
- Shen, J., Ambrosone, C.B., Zhao, H. (2009). Novel genetic variants in microRNA genes and familial breast cancer. *International Journal of Cancer*, 124, 11781182.
- Siegel, R. L., Kratzer, T. B., Giaquinto, A. N., Sung, H., & Jemal, A. (2025). Cancer statistics, 2025. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 75(1), 10-45. <https://doi.org/10.3322/caac.21871>.
- Smolarz, B., Durczyński, A., Romanowicz, H., Szyłło, K., & Hogendorf, P. (2022). miRNAs in Cancer (Review of Literature). *International Journal of Molecular Sciences*, 23(5). doi:10.3390/ijms23052805.
- Solaimani, M., Hosseinzadeh, S. & Abasi, M. Non-coding RNAs, a double-edged sword in breast cancer prognosis. *Cancer Cell Int* 25, 123 (2025). <https://doi.org/10.1186/s12935-025-03679-0>
- Soliman, M., & Hetnał, M. (2016). Male breast cancer: A clinicopathological study of an Egyptian population (Alexandria experience). *Contemporary Oncology (Poznań)*, 20(4), 335–340. <https://doi.org/10.5114/wo.2016.61855>.
- Swaminathan, H., Saravanamurali, K., & Yadav, S. A. (2023). Extensive review on breast cancer: its etiology, progression, prognostic markers, and treatment. *Medical Oncology*, 40(238). <https://doi.org/10.1007/s12032-023-02111-9>.
- Tao, Z., Shi, A., Lu, C., Song, T., Zhang, Z., & Zhao, J. (2015). Breast cancer: Epidemiology and etiology. *Cell Biochemistry and Biophysics*, 72(2), 333–338. <https://doi.org/10.1007/s12013-014-0459-6>.

- Tong, Z., Cui, Q., Wang, J., & Zhou, Y. (2019). TransmiR v2. 0: an updated transcription factor-microRNA regulation database. *Nucleic acids research*, 47(D1), D253-D258.
- Trochet, D., & Bitoun, M. (2021). A review of Dynamin 2 involvement in cancers highlights a promising therapeutic target. *Journal of experimental & clinical cancer research*, 40(1), 238.
- Varzaru, V. B., Anastasiu-Popov, D.-M., Eftenoiu, A.-E., Popescu, R., Vlad, D. C., Vlad, C. S., Moatar, A. E., Puscasiu, D., & Cobec, I. M. (2024). Observational study of men and women with breast cancer in terms of overall survival. *Cancers*, 16(17), 3049. <https://doi.org/10.3390/cancers16173049>.
- Vo, T. H., Esam, E.-S. A., Jordan, E., O'donovan, O., McNeela, E. A., Mehta, J. P., & Rani, S. (2024, March). miRNAs as biomarkers of therapeutic response to HER2-targeted treatment in breast cancer: A systematic review. *Biochemistry and Biophysics Reports*, 37. doi:<https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2023.101588>.
- Wright, K. D., Miller, B. S., El-Meanawy, S., Tsaih, S. W., Banerjee, A., Geurts, A. M., ... & Sorokin, A. (2019). The p52 isoform of SHC1 is a key driver of breast cancer initiation. *Breast Cancer Research*, 21, 1-12.
- Wu, H. H., Leng, S., Sergi, C., & Leng, R. (2024). How MicroRNAs Command the Battle against Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(11), 5865.
- Xu, H., & Xu, B. (2023). Breast cancer: Epidemiology, risk factors and screening. *Chin J Cancer Res*, 35(6), 565–583. <https://doi.org/10.21147/j.issn.1000-9604.2023.06.02>.
- Yan, R., Li, K., Yuan, D. W., Wang, H. N., Zhang, Y., Dang, C. X., & Zhu, K. (2018). Downregulation of microRNA-4295 enhances cisplatin-induced astric cancer cell apoptosis through the EGFR/PI3K/Akt signaling pathway by targeting LRIG1. *INTERNATIONAL JOURNAL OF ONCOLOGY*, 53, 2566-2578. doi:10.3892/ijo.2018.4595.
- Yan, X., Wang, T., & Wang, J. (2022). Circ_0016760 Acts as a Sponge of MicroRNA-4295 to Enhance E2F Transcription Factor 3 Expression and Facilitates Cell Proliferation and Glycolysis in Non-Small Cell Lung Cancer. *Cancer Biotherapy ve Radiopharmaceuticals*, 37(2). doi:10.1089/cbr.2020.3621.
- Yuan, Q., Zhang, Y., Li, J., Cao, G., & Yang, W. (2018). High expression of microRNA-4295 contributes to cell proliferation and invasion of pancreatic

ductal adenocarcinoma by the down-regulation of Glypican-5. Biochemical and biophysical research communications, 497(1), 73-79. 06 25, 2023 tarihinde <https://doi.org/10.1016/j.bbrc>.

Zhao, M., & Ramaswamy, B. (2014). Mechanisms and therapeutic advances in the management of endocrine-resistant breast cancer. World journal of clinical oncology, 5(3), 248.

İnternet sayfası olarak yararlanılan kaynaklar

- DIANA-mirPath v3.0 veri tabanı (<http://www.microna.gr/miRPathv2>)
- DIANA-TarBase v7.0 veri tabanı (<http://www.microna.gr/tarbase>)
- Human Protein Atlas platformu (<https://www.proteinatlas.org>)
- Human.mirFFL.DB veri tabanı (<http://www.mirffldb.in/human/>)
- KEGG veri tabanı (<https://www.genome.jp/kegg/pathway.html>)
- TransmiR v3.0 veri tabanı (<http://www.cuilab.cn/transmir>)
- TRRUST v2.0 veri tabanı (<https://www.grnpedia.org/trrust/>)

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel ve İletişim Bilgileri

Ad Soyad Çiğdem POLAT

Eğitim Bilgileri

01 Eylül 2018 - 01 Haziran 2022 Lisans, Anadal/Normal Öğretim, Gaziantep
Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi,
Biyoloji Bölümü

Genel Not Ortalaması: 3.20 / 4.0

01 Eylül 2022 – Devam Ediyor Yüksek Lisans, Tezli Program,
Gaziantep Üniversitesi, Fen Bilimleri
Enstitüsü, Biyoloji (YI) (Tezli)

Genel Not Ortalaması: 4.0 / 4.0

Tez Başlığı: Kantitatif PCR ve Biyoinformatik Analiz Yöntemleri ile Meme Kanseri
Gelişimi ile İlişkili MikroRNA'ların Belirlenmesi

Tez Konusu: Meme Kanseri, MikroRNA'lar

Yabancı Dil: İngilizce – Yazma ve okuma: Başlangıç seviyesi; Konuşma: Başlangıç
seviyesi

Yetkinlikler: Microsoft Office programlarını kullanma becerisi

Ulusal ve Uluslararası Geçerli Sınavlar

ALES (2023) Sonuç: **Sayısal:** 70,13

YÖKDİL (2024) Sonuç: **Fen Bilimleri:** 52.50