



T.C.

**SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**PROSTAT KANSERİ VE BENİGN PROSTAT HİPERPLAZİ
(BPH) HASTALARINDA miRNA EKSPRESYON PROFİLİNİN
BELİRLENMESİ**

**HAZIRLAYAN
Okan SANCER**

DOKTORA TEZİ

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Pınar ASLAN KOŞAR**

**Bu Tez Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Koordinasyon Birimi tarafından TDK-2020-7470 proje numarası ile
desteklenmiştir.**

ISPARTA-2021

KABUL VE ONAY SAYFASI

Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı Doktora Programı** çerçevesinde yürütölmüş olan bu çalışma, aşğıdaki jüri tarafından **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 23/06/2021

Danışman : Doç. Dr. Pınar ASLAN KOŞAR
Süleyman Demirel Üniversitesi
Tıp Faköltesi Tıbbi Biyoloji A.B.D.

Üye : Prof. Dr. Nilüfer ŞAHİN CALAPOĞLU
Süleyman Demirel Üniversitesi
Tıp Faköltesi Tıbbi Biyoloji A.B.D

Üye : Dr. Öğr. Üys. Muhammet Yusuf TEPEBAŞI
Süleyman Demirel Üniversitesi
Tıp Faköltesi Tıbbi Genetik A.B.D

Üye : Prof. Dr. Ayşe Gül MUTLU GÜLMEMİŞ
Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi
Fen Edebiyat Faköltesi
Moleküler Hücre Biyolojisi A.B.D.

Üye : Doç. Dr. Zehra SAFİ ÖZ
Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi
Tıp Faköltesi Tıbbi Biyoloji A.B.D

ONAY: Bu doktora tezi, Enstitü Yönetim Kurulu'nca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görölmüş ve kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ebru ÇUBUK DEMİRALAY
Enstitü Müdürü

BEYAN

‘Prostat Kanseri ve Benign Prostat Hiperplazi (BPH) Hastalarında miRNA Ekspresyon Profilinin Belirlenmesi’ adlı Doktora tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.

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

Tezi Hazırlayan

Okan SANCER

Danışman

Doç. Dr. Pınar ASLAN KOŞAR

TEŞEKKÜR

Beni danışmanlığına kabul eden, akademik hayatım boyunca hakkını ödeyemeyeceğim iyilikleri ve desteği ile her konuda bana yardımcı olan, bilimsel çalışmanın gereklerini öğreten değerli hocam Doç. Dr. Pınar ASLAN KOŞAR'a, engin tecrübe ve bilgilerinden yararlandığım değerli hocam Prof. Dr. Nurten ÖZÇELİK'e, her konuda yardım ve bilgilerini esirgemeyen Prof. Dr. Nilüfer ŞAHİN CALAPOĞLU hocama, çalışmamızın planlanmasında yardımcı olan Prof. Dr. Alim KOŞAR hocama, gerekli materyallerin toplanmasında yardımcı olan Arş. Gör. Murat DEMİR'e, laboratuvar çalışmalarımda yardımcı olan Dr. Öğretim Üyesi Muhammet Yusuf TEPEBAŞI ve Öğr. Gör. Uğur ŞAHİN'e teşekkür ederim.

Hoşgörüsü, desteği ile her konuda yanımda olan ve beni yetiştiren sevgili annem, babam ve kardeşime,

Eğitim hayatım boyunca anlayışı ve desteği ile her zaman yanımda olan eşim ve sevgili oğluma, teşekkürü bir borç bilirim.

Bu tez Süleyman Demirel Üniversitesi BAP Koordinasyon birimi tarafından TDK-2020-7470 proje numarası ile desteklenmiştir. Desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

ÖZET

Prostat Kanseri ve Benign Prostat Hiperplazi (BPH) Hastalarında miRNA Ekspresyon Profilinin Belirlenmesi

Dünyada ölümlerin ikinci sebebi kanserdir. Erkeklerde kansere bağlı ölümlerin en sık nedeni olarak yerini alan prostat kanseri, Avrupa ve Amerikalı erkeklerde en sık görülen kanserdir. Türkiye’de 2020 yılında erkeklerde tüm kanser türleri arasında prostat kanseri görülme sıklığı ikinci sırada ve ölüm sıklığı ise dördüncü sırada yer almaktadır. Yaşlanan erkeklerde en yaygın görülen benign neoplazm, benign prostat hiperplazisidir (BPH). BPH, prostat bezinin büyümesi olup 60 yaşındaki erkeklerin >%50’sinde ve 85 yaşındaki erkeklerin ~% 90’ ında histolojik olarak tanımlanabilmektedir. Prostat kanserinde de diğer kanserlerde olduğu gibi erken tanı, tedavi yönteminin belirlenmesi ve etkinliği için oldukça önemlidir. Periferik kan mononükleer hücreleri (PKMH), bağışıklık sistemindeki maligniteye karşı ilk savunma hattı olarak hareket ederler. Disfonksiyonları durumunda ise, kanser immünojenitesi veya immün evazyon ortaya çıkabilmektedir. Bu nedenle, PKMH’lerin moleküler profilleri, malignitelerin erken tespiti için yeni biyobelirteçler sağlayabilir. Prostat kanseri ve BPH’ta PKMH üzerine mikroarray yöntemi ile yapılan çok fazla çalışma bulunmamaktadır. Mikro array yöntemi ile bu iki grupta doku ve PKMH’lere ait miRNA çalışması yapılmıştır. Prostat kanseri hastalarında, BPH hastalarına kıyasla doku örneklerinde 37 adet miRNA downregüle olarak belirlenmiştir. Bunlar içerisinde downregüle ve büyük oranda korunmuş olan miRNA’lar ise hsa-miR-27b-3p, hsa-miR-30a-5p, hsa-miR-22-3p, hsa-miR-99a-5p, hsa-miR-100-5p, hsa-miR-24-3p, hsa-miR-181a-5p, hsa-miR-140-3p, hsa-miR-221-3p, hsa-miR-143-3p olarak belirlenmiştir. Prostat kanseri hastalarında, BPH hastalarına kıyasla PKMH örneklerinde 27 adet miRNA downregüle olarak belirlenmiştir. Bunlar içerisinde downregüle ve büyük oranda korunmuş olan miRNA’lar ise hsa-miR-451a, hsa-miR-16-5p, hsa-let-7e-5p, hsa-miR-23b-3p olarak belirlenmiştir. Prostat kanseri kesin tanısı için düzenli aralıklarla tekrarlanan multipl biyopsi yönteminin invazif olmasından dolayı, prostat kanserin erken tanısında kullanılmak üzere sensitivite ve spesifitesi daha yüksek yeni biyomarkörlerin arayışı içine girilmiştir. Araştırılan markerlerde olması istenen başlıca özellik sadece prostata spesifik olmayıp BPH ve prostat kanseri arasında ayırım yapabilecek farklı düzeyde miRNA profiline sahip olmalarıdır. Bu amaçla günümüzde genel olarak dünyada yapılan çalışmalar miRNA ekspresyon profil çalışmalarıdır.

Anahtar Kelimeler: Prostat Kanseri, Benign Prostat Hiperplazisi, miRNA, Mikroarray

ABSTRACT

Determination of miRNA Expression Profile in Patients with Prostate Cancer and Benign Prostate Hyperplasia (BPH)

In the world cancer is the second cause of death. Prostate cancer, which is the most common cause of cancer-related death in men, is the most common cancer in European and American men. In Turkey, prostate cancer is in the second place among all cancer types in men in 2020, and the frequency of death is in the fourth place. The most common benign neoplasm in aging men is benign prostatic hyperplasia (BPH). BPH is an enlargement of the prostate gland that can be histologically identified in >50% of men aged 60 years and in ~90% of men aged 85 years. In prostate cancer, as in other cancers, early diagnosis is very important for the determination and effectiveness of the treatment method. Peripheral blood mononuclear cells (PKMH) act as the first line of defense against malignancy in the immune system. In the case of their dysfunction, cancer immunogenicity or immune invasion may occur. Therefore, molecular profiles of PKMHs may provide new biomarkers for early detection of malignancies. There are not many studies with microarray method on PKMH in prostate cancer and BPH. In these two groups, miRNA studies were carried out of tissues and PKMHs by microarray method. In prostate cancer patients, 37 miRNAs were downregulated in tissue samples compared to BPH patients. Among these, downregulated and broadly conserved miRNAs were determined as; hsa-miR-27b-3p, hsa-miR-30a-5p, hsa-miR-22-3p, hsa-miR-99a-5p, hsa-miR-100-5p, hsa-miR-24-3p, hsa-miR-181a-5p, hsa-miR-140-3p, hsa-miR-221-3p, hsa-miR-143-3p. In prostate cancer patients, 27 miRNAs were downregulated in PKMH samples compared to BPH patients. Among these, downregulated and broadly conserved miRNAs were determined as hsa-miR-451a, hsa-miR-16-5p, hsa-let-7e-5p, hsa-miR-23b-3p. Due to the invasiveness of the regularly repeated multiple biopsy method for the definitive diagnosis of prostate cancer, new biomarkers with higher sensitivity and specificity have been sought for use in the early diagnosis of prostate cancer. The main desired feature of the investigated markers is that they are not only prostate specific, but also have different levels of miRNA profiles that can differentiate between BPH and prostate cancer. For this purpose, studies conducted in the world today are miRNA expression profiling studies.

Keywords: Prostate Cancer, Benign Prostate Hyperplasia, miRNA, Microarray

ÖNSÖZ

Prostat kanseri tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de erkeklerde en sık görülen kanser türleri arasında yer almaktadır. 2020 yılına ait verilerde görülme sıklığı ikinci sırada yer almaktadır. Prostat kanseri ve benign prostat hiperplazisi tanısı için farklı sayıda teşhis yöntemi uygulanabilmektedir. Uygulanan bu yöntemler çoğu durumda kesin sonuçlar vermemekte ve gereksiz prostat biyopsilerinin yapılmasına neden olmaktadır. Bu durumda hasta hem invaziv risklere maruz kalmakta hem de yapılan uygulamalardan dolayı ek maliyetler ortaya çıkmaktadır.

miRNA'ların temel rollerini içeren veriler toplandığında; hücrelerin proliferasyonu, farklılaşması, hayatta kalması ve apoptozda oynadıkları rollerinin önemli olduğu, dolayısı ile tümör oluşumu mekanizmasının önlenmesi ve yeni kanser tedavileri için umut verici terapötik hedefler olarak kabul edilmişlerdir.

Çalışmamızda prostat kanseri ve benign prostat hiperplazi hastalarının doku ve periferik kan mononükleer hücrelerinde biyomarker olarak kullanılabilecek miRNA'ların belirlenmesinde geniş kapsamlı, ucuz maliyetli ve daha hızlı sürede sonuç alabildiğimiz mikro array yöntemi kullanılarak her iki hasta grubunda karşılaştırma yapılmıştır.

Elde etmiş olduğumuz sonuçlar ile biyomarker olarak kullanılabilecek miRNA'ların belirlenmesi ve tanılarının konulmasındaki olumsuzlukların önüne geçmek amacı ile literatüre katkıda bulunmaya çalışıldı.

Okan SANCER

ISPARTA, 2021

İÇİNDEKİLER

Sayfa

BEYAN.....	i
TEŞEKKÜR	ii
ÖZET.....	iii
ABSTRACT	iv
ÖNSÖZ.....	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	xi
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER.....	4
2.1.Prostat Bezinin Yapı ve Fonksiyonu	4
2.1.1. Anatomisi	4
2.1.2.Zonal Anatomi.....	4
2.1.3.Embriyolojisi	5
2.1.4 Histolojisi.....	5
2.1.5. Fizyolojisi	6
2.2.Prostat Bezi Hastalıkları	7
2.2.1. Prostatit Tanımı ve Tanısı.....	7
2.3.Benign Prostat Hiperplazi (BPH)	7
2.3.1. BPH Tanısı.....	8
2.3.2. BPH Tedavisi	8
2.4.Prostat Kanseri	8
2.4.1. Prostat kanserinin epidemiyolojisi.....	8
2.4.2. Prostat kanseri için risk faktörleri	9
2.4.3 Yaş.....	9

2.4.4. Irk.....	9
2.4.5 Beslenme.....	9
2.4.6. Aile öyküsü	10
2.4.7. Prostat kanseri tanısı ve derecelendirilmesi.....	10
2.4.8. Prostat kanseri taramalarında PSA'nın yeri	13
2.4.9. Prostat kanserinin gelişimi ve ilerlemesi	14
2.5. Prostat Kanseri Genetiği.....	16
2.5.1. Sporadik prostat kanseri.....	16
2.5.2. Kalıtsal (Hereditör) Prostat Kanseri.....	16
2.5.3. Kalıtsal prostat kanserinde biyobelirteç genler.....	17
2.5.3.1. Somatik kopya sayısı değişikliği	18
2.5.3.2. Yapısal düzenlemeler.....	18
2.5.3.3. Nokta mutasyonlar	19
2.5.3.4. Tek nükleotid polimorfizmi	19
2.5.3.5. MikroRNA (miRNA).....	19
2.5.3.5.1. Tümör supressör ve onkogenik miRNA'lar	20
2.5.3.5.2. miRNA ve Prostat Kanseri	21
2.5.3.5.3. miRNA ve Periferik Kan Mononükleer Hücreleri (PKMH).....	22
2.5.3.5.4. miRNA'ların Biyogenezi.....	24
2.5.3.5.5. Memelilerde miRNA gen promotörleri ve transkripsiyonel düzenlenmesi	25
2.5.3.5.6. miRNA'ların kanser biyobelirteçleri olarak farklı teknolojilerde kullanımı	26
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	29
3.1. Kan örneklerinden periferik kan mononükleer hücrelerin (PKMH) eldesi ve saklanması.....	30
3.2. Doku örneklerinin eldesi ve saklanması.....	30
3.3. Dokudan ve PKMH'den total RNA izolasyonu	30
3.4. Total RNA ölçümü ve havuzlama	32

3.5.FlashTag™ Biotin HSR RNA Etiketleme Prosedürü	33
3.6.FlashTag™ Biotin HSR Ligasyonu	33
3.7.GeneChip™ miRNA Array Prosedürü.....	34
3.8.Hibridizasyon ve Biyoinformatik Analiz	35
3.9.miRNA dizilerinin seçimi	36
3.10.miRNA genlerinin genomik bölgelerinin belirlenmesi	37
3.11.miRNA yolak analizi.....	37
3.12.Fonksiyonel zenginleştirme analizi, tahmin edilen miRNA hedeflerinin tespiti ve etkileşim analizi	37
4.BULGULAR.....	38
5.TARTIŞMA	62
6.SONUÇ ve ÖNERİLER.....	75
KAYNAKLAR	77
EKLER.....	90
Ek 1. Etik Kurul Kararı.....	90
ÖZGEÇMİŞ.....	93

TABLolar DİZİNİ

Sayfa

Tablo 2.1. Gleason derecelendirme tablosu.....	11
Tablo 2.2. Prostat kanserinde TNM evreleme sistemi.....	12
Tablo 2.3. Yaşla bağılı referans PSA aralıkları	13
Tablo 2.4. miRNA profil oluşturma teknolojileri.....	27
Tablo 3.1. Poly A Tailing Master mix hazırlanması	33
Tablo 3.2. Kokteyl bileşeninin hazırlanması	35
Tablo 4.1. Hasta gruplarına ait klinik bilgiler	38
Tablo 4.2. Doku örneklerinde PKa grubunun, BPH grubuna kıyasla down regüle/up regüle miRNA listesi	45
Tablo 4.3. PKMH örneklerinde PKa grubunun, BPH grubuna kıyasla down regüle/up regüle miRNA listesi	48

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 3.1. Hasta gruplarına ait örneklerin total RNA izolasyonu ve ölçümü.	32
Şekil 3.2. Array kartuşunun görünümü	34
Şekil 3.3. Mikroarray çalışma prosedür özeti	36
Şekil 4.1. Hastalara ait yaş, PSA ve prostat hacmi ortalamaları.	40
Şekil 4.2. PKa ve BPH gruplarının dokularına ait kontrol sonuçları	41
Şekil 4.3. PKa ve BPH gruplarının PKMH'lerine ait kontrol sonuçları	42
Şekil 4.4. PCa grubunda downregüle olarak ifade edilen, büyük oranda korunmuş doku ve PKMH'lere ait miRNA'ların ideogramda gösterilmesi.	50
Şekil 4.5. PKa ve BPH gruplarının doku örneklerine ait scatter plot diyagramı	51
Şekil 4.6. PKa ve BPH gruplarının PKMH örneklerine ait scatter plot diyagramı	51
Şekil 4.7. PKa ve BPH gruplarının doku örneklerine ait volcano plot diyagramı	52
Şekil 4.8. PKa ve BPH gruplarının PKMH örneklerine ait volcano plot diyagramı	52
Şekil 4.9. PKa grubunda, dokularda down regüle miRNA'ların etkilediği genler ve protein-protein etkileşiminin Funrich yazılım aracılığı ile gösterilmesi.	54
Şekil 4.10. Prostat kanseri yolağında dokularda büyük oranda korunmuş miRNA'ların hedeflediği genler.	55
Şekil 4.11. PKa grubunda, PKMH'lerde down regüle miRNA'ların etkilediği genler ve protein-protein etkileşiminin Funrich yazılım aracılığı ile gösterilmesi	57
Şekil 4.12. Prostat kanseri yolağında PKMH'lerde büyük oranda korunmuş miRNA'ların hedeflediği genler	58
Şekil 4.13. Genlerin venn şeması ile gösterimi.	59
Şekil 4.14. miRNA'ların hedefledikleri yolakların hiyerarşik küme analizi .	60
Şekil 4.15. Biyolojik prosesin gösterimi.	61
Şekil 4.16. Doku ve PKMH'lere ait hedef genlerin biyolojik yolaktaki etkileri.	61

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

AKT	: Protein kinaz B
AR	: Androjen reseptörü
ATP	: Adenozin trifosfat
AÜSS	: Alt üriner sistem semptomları
Bcl-2	: Anti-apoptotik faktör
BPH	: Benign prostat hiperplazi
BRCA	: Meme kanseri duyarlılık proteini
CD	: Farklılaşma kümesi
CK	: Sitokeratin
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
DHT	: Dihidrotestosteron
DMSO	: Dimetil sülfoksit
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DRM	: Dijital rektal muayene
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
EPS	: Eksprese prostatik sekresyon
Gr	: Gram
HGF	: Hepatosit büyüme faktörü
HIF-1a	: Hipoksi ile indüklenebilir faktörler -1a
HSP70	: Isı şok proteini 70
IPSS	: Uluslararası Prostat Belirtileri Skoru
mRNA	: Mesajcı ribonükleik asit
miRNA	: MikroRNA
MRI	: Manyetik Rezonans Görüntüleme

NK	: Doğal öldürücü
NSF	: Nöron spesifik enolazı
PAP	: Prostatik asit fosfatazı
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
PIRADS	: Prostat görüntüleme, raporlama ve veri sistemi
PKa	: Prostat kanseri
PKMh	: Periferik kan mononükleer hücreler
PSA	: Prostat spesifik antijen
PSCA	: Prostat kök hücre antijeni
PTEN	: Fosfataz ve tensin homologu
RB1	: Retinoblastoma 1
RNA	: Ribonükleik asit
RNase L	: Ribonükleaz L
SNP	: Tek nükleotid polimorfizmi
Thr	: Treonin
TURP	: Transüretral rezeksiyonu
USG	: Ultrasonografi
UTR	: Untranslated region
VB	: Voided bladder
VEGF	: Vasküler epidermal büyüme faktörü
QoL	: Yaşam Kalitesi

1. GİRİŞ

Hücrelerin kontrolsüz çoğalması olarak tanımlanan kanser “normal” bir hücrede sinyal sisteminin bozulması ve hücre döngüsü kontrol mekanizmalarının devre dışı kalmasından kaynaklanmaktadır. “Onkogene” veya “karsinogene” olarak adlandırılan bu değişim sürecinde; hücrenin yaşlanması, büyüme kontrolü, morfolojik değişiklikler, hücreler arası bağlantılarda meydana gelen değişiklikler gibi biyolojik olayları etkileyen mutasyonların aşamalı olarak bir araya gelmesi yer almaktadır (1, 2). Dünyada yaklaşık olarak 22 milyon kanser hastası bulunmaktadır. Her yıl yaklaşık 10 milyonu aşan yeni kanser vakaları tanımlanmakla birlikte 6 milyon kişi de bu hastalıklar yüzünden kaybedilmektedir (3). Küresel kanser istatistiklerini sunan bir platform olan ‘The Global Cancer Observatory (GCO)’ verilerine göre Türkiye’de 2020 yılında 132.816 erkeğin çeşitli kanser türlerine yakalandığı ve 78.949 kişinin de hayatını bu yüzden kaybettiği bildirilmektedir. Prostat kanserine yakalanan kişi sayısı 19.444 iken bu hastalıktan hayatını kaybedenlerin sayısı 5.464 kişidir (4).

Dünyada yeni vakalar ve ölümler açısından kanser türlerinin görülme sıklığı incelendiğinde, 2018 yılında erkeklerde prostat kanseri en çok tanı alan kanser türü olarak belirlenmiştir. Akciğer kanseri, en sık ölüm nedeni olmakla birlikte, bunu sırasıyla prostat ve karaciğer kanserleri takip etmiştir (5). Mevcut olan zamansal verilere göre Asya, Kuzey ve Batı Avrupa’daki ülkelerde prostat kanseri insidans oranlarında ciddi artışlar görülmektedir (6). Irk farklılıkları, yaşam tarzı, diyet, yaş, aile öyküsü, genetik polimorfizmler ve sosyoekonomik nedenler prostat kanseri görülme sıklığını etkileyen etmenler arasında bulunur. Dünyada prostat kanseri sıklığının değişiklik göstermesinin birçok nedeni vardır. Genetik ve çevresel faktörler bu iki ana unsuru oluşturmaktadır (6, 7). Yapılan epidemiyolojik çalışmalar incelendiğinde prostat kanseri hayvansal gıdaların daha fazla tüketildiği beslenme tarzını benimseyen Batı ülkelerinde yüksek, özellikle soya ve yeşil çay tüketiminin fazla olduğu Çin, Güney Asya gibi Akdeniz ülkelerinde daha düşük olduğu görülmektedir (8).

Prostatın malign olmayan proliferatif bir hastalığı olan benign prostat hiperplazisi (BPH), 50 yaş ve üstü 210 milyondan fazla erkekte global bir insidansa

sahiptir. BPH, önemli morbiditeye sahip malign olmayan bir tümördür ve 40 yaş üstü erkeklerde artmaya başlayan prostat hacmi ile ilişkilidir (9). Patogenezi büyük ölçüde bilinmemektedir. Prostat gelişiminin ilk aşamalarındaki androjen bağımlılığı, yüksek testosteron varlığının BPH oluşumunda rol oynayabileceği görüşü düşünülse de; son çalışmalar birçok farklı görüşleri de önermektedir (10).

Kanser hastalarında erken teşhis ile tedavi yönteminin belirlenmesi tedavinin etkinliği açısından oldukça önemlidir. Prostat kanserinin erken teşhisinde serum prostat spesifik antijen düzeyi (11), rektal muayene ve transrektal ultrasonografi USG ile birlikte yapılan prostat biyopsi yöntemleri oldukça sık kullanılmaktadır (12, 13). Serum PSA'sı, potansiyel prostat kanseri hastalarının takibi için kullanılan önemli bir belirteçtir. PSA ölçümlerinde görülen artış prostat kanseri büyümesi ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Bunun yanı sıra PSA değerinin BPH ve prostatit gibi prostat hastalıklarında arttığı görülmektedir. PSA'nın organa spesifik fakat kansere spesifik bir test marker olmamasından dolayı değerini yükseltebilen bu hastalıkların ayırıcı tanısında anlamlı olmadığı gösterilmiştir (13, 14).

Prostat kanseri ve benign prostat hiperplazisi tanısı için farklı sayıda teşhis yöntemi uygulanabilmektedir. Uygulanan bu yöntemler çoğu durumda kesin sonuçlar vermemekte ve gereksiz prostat biyopsilerinin yapılmasına neden olmaktadır. Bu durumda hasta hem invaziv risklere maruz kalmakta hem de yapılan uygulamalardan dolayı ek maliyetler ortaya çıkmaktadır. Bilim alanında prostat kanserinin erken aşamada teşhisi ve tedavisi ile hastalığın ilerlemesini yavaşlatmak için birtakım çalışmalar yapılmıştır.

Kanserdeki kilit rollerinden dolayı mikroRNA'lar (miRNA) kanser teşhisi ve prognozu için minimal invaziv girişim gerektiren mükemmel adaylar haline gelmiştir. miRNA'lar yaklaşık 20-23 nükleotid uzunluğunda, tek zincirli yapıda proteine dönüşmeyen, kodlayıcı olmayan RNA molekülleridir. miRNA'lar mesajcı ribonükleik asit'e (mRNA) tam ya da kısmi bağlanıp bu yapıların yıkımını gerçekleştirir veya post-transkripsiyonel aşamada translasyonu baskılayarak gen ekspresyonunun düzenlenmesinde rol oynar. miRNA ekspresyon düzeyi kanser ve normal dokular arasında farklılar göstermekle birlikte, prognoz arasındaki ilişkiyi de göstermektedir. miRNA'ların çeşitli vücut sıvıları ve dokularda stabil kalabilmeleri

göz önünde bulundurulduğunda malign hastalıkların tanı ve sınıflandırılmasında biyobelirteç olarak kullanılabileceğini akla getirmiştir (15-17).

Özetle kanser oluşumunda çevresel ve genetik faktörler bireylere göre farklılık gösterebilmektedir. Tüm kanser türleri arasında prostat kanseri, erkeklerde en sık tanı konan ve kanser ölümlerinden en çok sorumlu tutulan kanser türlerinden birisidir. Çalışmamızda prostat kanseri ve BPH hastalıkları için mevcut tanı konulmasında kullanılan yöntemlerin yanı sıra benign-malign ayrımının yapılmasında miRNA ekspresyon seviyelerinin doku ve periferik kan mononükleer hücrelerinde (PKMH) karşılaştırılması amaçlandı.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Prostat Bezinin Yapı ve Fonksiyonu

2.1.1. Anatomisi

Prostat bezi erkek genital sisteminde bulunan ağırlığı yaklaşık 20-30 gr civarında, 3 cm yüksekliğinde 4 cm genişliğinde ve 2,5 cm kalınlığında olan en büyük aksesuar bezdir. Prostatın dört yüzü bulunur. Bunlar iki adet inferolateral yüz, bir adet anterior yüz ve bir adet posterior yüzden oluşur. Inferolateral yüzler konveks şeklinde olup, levator ani kası ile komşudur. Bezin anterior yüzü, simfizis pubis ile komşudur. Bu alan, Santorini ven plexusu, yüzeysel dorsal ven, bağ doku ve yağ doku içermekte olup Retzius boşluğu olarak adlandırılır. Posterior yüz rektumla komşu olup, rektumdan Denonvilliers fasyasıyla ayrılır. Denonvilliers fasyası; anterior rektal duvarı ile prostat ve seminal veziküllerin posterior yüzü arasında yer alır (18, 19).

2.1.2. Zonal Anatomi

Prostat bezi santral zon, transisyonel zon, periferik zon ve anterior fibromüsküler stroma olmak üzere dört bölgeden meydana gelir. Prostat bezinin yaklaşık olarak %70'lik kısmı periferik zondan oluşur. Glandüler yapıları içeren bezin en büyük bölümünü oluşturmaktadır. Bu kısım prostat bezinin apikal ve lateral kısımlarını oluşturur. Prostat apeksi, prostatik kapsülün ince olması ya da hiç olmamasından dolayı anatomik açıdan zayıf bir alan oluşturur. Prostatik intraepitelyal neoplazi ve prostat karsinomları dolayısıyla en fazla bu bölgede oluşmaktadır (20, 21). Santral zon, periferik ve transisyonel zonları arasında prostat tabanına yerleşmiş bir şekildedir ve salgı dokusunun yaklaşık % 25' ini oluşturur. Ejakülatör kanallarını çevreleyen koni şeklinde bir yapıdır (20). Transisyonel zon, glandüler dokunun sadece % 5'ini oluşturur. Bu zon, ilerleyen yaşla birlikte transisyonel zona ait glandüler hücrelerin hiperplaziye uğraması neticesinde iç kısma doğru hacimce genişlemeye başlar ve çevre dokuları sıkıştırır. Bu bölge BPH'a bağlı olarak artış gösteren kısımdır. Periferik zon ise bu hiperplaziyi

kapsamaz (20). Anterior fibromusküler stroma, anterior dış yüzeyin konveks yapısını oluşturur ve glandüler dokudan yoksundur. Bunun yerine fibröz ve düz kaslı yapılardan oluşur. Anterior fibromusküler stroma Santorini'nin venöz pleksusu (penisin dorsal damarlarını drene eder) ve Retzius'un boşluğundaki bazı bağ ve yağ dokuları ile kasık semptomlarından ayrılır (20).

2.1.3. Embriyolojisi

Prostat bezi, gebeliğin üçüncü ayında posterior ürogenital sinüsten gelen epitelyal yayılımlardan gelişir. Bu gelişimin normal bir şekilde olması için, 5α -dihidrotestosteron varlığı gereklidir. Bu molekül 5α -redüktazın etkisiyle fetal testosterondan sentezlenir ve insan ürogenital sinüsünde lokalize olur. Puberte öncesi dönemde, insan prostatının oluşumu aynı kalır; ancak ergenliğin başlamasıyla birlikte fenotipinde morfolojik değişikliğe uğrar. Sonuç olarak bez, 20-30 yaşlarında yaklaşık 20 gr ağırlığına ulaşır (20).

2.1.4 Histolojisi

Prostasomlar, prostat asinüsünü kaplayan epitelyal hücreler tarafından üretilen, küçük (40-500 nm) zara bağlı veziküllerdir (22). Sperm motilitesi prostasomların varlığı ile artar ve bunların füzyonları erken akrozom reaksiyonlarını önler. Prostasomların, immün baskılayıcı, antioksidan ve antibakteriyel özelliklerden dolayı dişi üreme sistemi içindeki spermin korunmasına yardımcı olduğu gösterilmiştir (22). Prostat, epitel ve stromal hücre yapılarından oluşur. Epitel hücreler; lüminal hücreler, nöroendokrin hücreler, bazal hücreler ve ara hücrelerden oluşur. Stroma ise düz kas, fibroblast, endotelial hücreler ve nöronları kapsayan bir bölümden oluşur (23).

Sağlıklı bir insan prostatında stromal ve epitelyal oranı 2:1 şeklinde bulunmaktadır. Bazal hücreler, bazal membranın üzerinde kübik şekilli hücre katmanını oluşturur. Bu kısım p63'ü (tümör baskılayıcı gen p53'ün bir homologu), Bcl-2 (bir anti-apoptotik faktör), farklılaşma kümesi (CD) 44, hepatosit büyüme faktörü (HGF) ve yüksek moleküler ağırlıklı sitokeratinler (CK) 5 ve 14'ü eksprese eder. Bazal hücrelerde androjen reseptörü (AR) ya çok az ya da saptanamayacak

miktardadır. Bu da bazal hücrelerin yaşaması için androjen bağımsız olduğunu göstermektedir (24). Luminal hücreler, bazal tabakanın üzerinde sütun şeklinde bir hücre tabakası oluşturan ve prostatın ekzokrin bölümünü oluşturan, lümen içerisine prostat spesifik antijeni (11) ve prostatik asit fosfatazı (25) salgılayan hücre tipini oluşturur. Bunlar, yüksek AR düzeyleriyle birlikte düşük moleküler ağırlıklı CK8 ve 18, CD57 ve p27Kip1 (hücre döngüsü inhibitörü) eksprese eden, terminal olarak farklılaşmış, androjene bağımlı ve çoğalmayan hücrelerdir (24). Nöroendokrin hücreler, prostatın bazal ve lümen tabakalarına dağılmış olarak bulunur. Kromogranin A, sinaptofizin ve nöron spesifik enolazı (NSF) eksprese eden terminal olarak farklılaşmış ve androjene duyarsız hücrelerdir. Ayrıca, epitelyal hücre büyümesini ve farklılaşmasını desteklediği düşünülen bombesin, kalsitonin ve nörotensin gibi nöropeptidler salgılar (24). Ara hücreler (intermediate) lümenal ve bazal hücreler arasında geçiş formu yapısında bulunur. Prostat kanseri (PKa) hücreleri tarafından çok fazla eksprese olan prostat kök hücre antijeninin (PSCA) ara hücreler tarafından da eksprese edildiği bilinmektedir (26).

2.1.5. Fizyolojisi

Prostat sıvısı alkali pH özelliğinde beyaz renkli bir sıvıdır. Kadınların vajina pH'sı asidik özellikte olmasından dolayı yumurtanın yüksek oranda döllemesi ve spermin vajinal ortamda canlılıklarını devam ettirebilmeleri prostat sıvısının bu alkali özelliği ile sağlanabilmektedir. Prostat sıvısı su, sitrik asit, asit fosfataz, amilaz, kolesterol, çinko, tamponlayıcı tuzlar, fosfolipidler, prostaglandinler, prostatik spesifik antijen (11), seminal plazmin, kalsiyum sitrat, fosfat iyonları, pıhtılaşma sağlayıcı enzim ve plazminojen gibi birçok bileşenden meydana gelmektedir. Semen sıvısının yaklaşık %25-30'unu bu sıvı oluşturmaktadır. Ejakülasyondan sonra semen, seminal vezikül salgısının içeriğinde bulunan fibrinojenin fibrine dönüşmesi ile dişi üreme sistemine tutunması sağlanır. Bu pıhtılaşma sürecinde kalsiyum iyonları rol oynar. Semen içerisinde bulunan spermin yüksek hareket yeteneğini kazanabilmesi için fibrin yapısının parçalanması gerekir. Prostat salgısı içerisinde bulunan fibrinolizin, fibrini parçalayarak likefaksiyonu gerçekleştirir (27).

2.2. Prostat Bezi Hastalıkları

2.2.1. Prostatit Tanımı ve Tanısı

Prostatit, enfeksiyöz hastalıkların (akut ve kronik bakteriyel prostatit); kronik pelvik ağrı sendromu ve asemptomatik enflamasyonun bir kombinasyonu olarak ifade edilir. Hastalarda üriner obstrüksiyon, ateş, kas ağrıları, libido kaybı ve erektil disfonksiyonu, ejakülasyonda ağrı, bel ağrıları gibi değişik belirtiler ortaya çıkar (28, 29). Prostatit tanısında 1968'de Meares ve Stamey tarafından ortaya çıkarılan üretra, mesane ve prostat enfeksiyonunu belirleyebilmek için dört kadeh testini tanımlamışlar ve altın standart olarak kullanılmaya başlanmıştır. Bu teste göre voided bladder-1 (VB-1) ilk 10 ml idrar örneğini, voided bladder-2 (VB-2); orta akım idrar örneğini, expressed prostatic secretion (EPS); prostat masajı ile alınan sıvı örneğini, voided bladder-3 (VB-3); EPS sonrası ilk 10 ml idrar örneğini ifade eder. Alınan idrar örneklerinin mikroskopik ve kültür inceleme işlemleri sonucunda hastalar;

- 1) Akut bakteriyel prostatit,
- 2) Kronik bakteriyel prostatit,
- 3) Non-bakteriyel prostatit ve
- 4) Prostatodini gruplarına göre sınıflandırılırlar (29).

2.3. Benign Prostat Hiperplazi (BPH)

Benign Prostat Hiperplazinin patofizyoloji ve epidemiyolojisi tam olarak anlaşılmamıştır. BPH, prostatik üretranın proksimal segmentinin etrafındaki küçük bir bölgesinde bağ dokusunun düzensiz proliferasyonu, düz kas ve glandüler epitel ile ilişkili çok yaygın olarak görülen histolojik bir tanıdır. Malign olmayan nodüllerin anormal büyümesinden kaynaklanan BPH üretrayı sıkıştırabilir ve anatomik mesane çıkışı tıkanıklığına neden olabilir. Mesane çıkışının tıkanıklığı, alt idrar yolu semptomları, enfeksiyonlar ve retansiyon olarak ortaya çıkabilir (30, 31). Hafif üriner semptomları 50 yaşın üzerindeki erkeklerde çok daha yaygındır. Orta ve şiddetli üriner semptomları, kişilerde yüksek düzeyde rahatsızlığa neden olmakla

birlikte günlük yaşam aktivitelerini etkilemektedir. BPH'nin etiyojisi yaş, hormonal durum ve hastalığın gelişimi ile ilgili çok faktörlüdür. (32).

2.3.1. BPH Tanısı

BPH, insan yaşamını tehdit edici bir hastalık olarak değerlendirilmemesine rağmen, ilerleyen yaşla birlikte görülebilen ve yaşam kalitesi üzerindeki ciddi etkileri olan bir hastalıktır. BPH hastalığının başlıca şikayetleri arasında genellikle sık idrara çıkma, idrar aciliyeti, nokturi, idrar akış akımındaki değişiklikler ve mesane boşalma hissindeki yetersizlik yer almaktadır (33). Doktorlar BPH'ı düşündüren semptomlara göre anamnez ve fiziksel muayene yaparak yaş, uluslararası prostat belirtileri skoru (IPSS) ve yaşam kalitesi (QoL) endeksi, idrar tahlili, serum kreatinin, dijital rektal muayene (DRM), serum prostat spesifik antijen, üroflowmetri gibi analiz sonuçları ile birlikte tanının konulmasını gerçekleştirirler (34-36).

2.3.2. BPH Tedavisi

Prostatın yaşla birlikte aşırı büyümesi, mesane çıkışının tıkanmasına neden olan ve sonunda AÜSS' ye yol açan BPH ile sonuçlanmaktadır. Son on yılda, semptomatik BPH için birçok yeni tedavi yöntemi ortaya çıkmıştır. Bunlar yeni minimal invaziv cerrahi tedaviler, yeni ilaçlar, yeni tıbbi tedavilerin kombinasyonları ve açık cerrahiye kadar değişen tedavi seçenekleri gibi birçok alternatif yöntemler geliştirildi. BPH tedavisinin amacı, semptomlarda rahatlatma sağlayarak maksimum akış hızını arttırma, hastalık ilerlemesini ve yeni hastalıkların gelişimini azaltarak hastayı iyileştirme yönündedir. (37).

2.4. Prostat Kanseri

2.4.1. Prostat kanserinin epidemiyolojisi

Prostat kanseri, dünyadaki en yaygın altıncı, erkeklerde en sık görülen üçüncü kanser türüdür. Avrupa, Kuzey Amerika ve Afrika'nın bazı bölgelerinde erkeklerde en sık görülen kanser olarak karşımıza çıkmaktadır. 2000 yılında, yeni

prostat kanseri vakalarının dünya çapında 513.000 civarında olduğu ve erkeklerde tüm kanserlerin % 9.7'sini oluşturduğu görülmüştür (38). Erkeklerde tüm yaşlarda görülen kanser türleri arasında 2020 yılında Türkiye’de prostat kanserinin görülme sıklığı iki ve ölüm sıklığı ise dördüncü sırada yer almaktadır (4).

2.4.2. Prostat kanseri için risk faktörleri

Prostat kanseri sıklığı dünyada değişiklik gösterebilir. Bunun başlıca nedenleri arasında yaş, ırk, kalıtsal geçiş, metabolik sendrom, beslenme, genetik faktörler ve inflamasyon sayılabilir (7).

2.4.3 Yaş

Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde orta yaşı geçmiş erkeklerde en sık tanı konan kanserlerden bir tanesidir. Prostat kanserinin 0-39 yaş arasındaki erkeklerde gelişme olasılığı %0.01 iken, 40-59 yaş arasında %2.58, 60-79 yaş arasında %14.7 ve yaşam boyu bir erkekte klinik önemi olan prostat kanserinin gelişme olasılığı %17.8 civarındadır (39). Otopsi çalışmalarına göre 50 yaş civarında bir erkekte prostat kanseri bulunma riski %30-50 iken, bu oran 80 yaşında %80'lere ulaşmaktadır (40).

2.4.4. Irk

Kafkasyalı (beyaz) erkekler ve Afrikalı-Amerikalı erkekler, dünyadaki en yüksek prostat kanseri insidansına sahip ırklardır. Afrikalı-Amerikalı erkekler, beyaz Amerikalılara göre tanıyı daha erken yaşta almalarının yanı sıra, prostat kanseri seviyeleri daha ilerlemiş ve hayatta kalma sürelerinin 5 yıl daha az olduğu bilinmektedir. Beslenme, genetik ve sosyoekonomik faktörlerin hepsi bilinmesine rağmen, ırksal farklılıkların nedenleri tam olarak anlaşılamamıştır (41).

2.4.5 Beslenme

Prostat kanseri için diyet risk faktörleri henüz belirlenmemiş olsa da, uluslararası karşılaştırma çalışmalarından elde edilen bulgular, yağ alımı gibi bazı

bileşenlerin prostat kanseri riski ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir (42). Abdominal yağlanmanın ise ileri prostat kanseri riski ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir (43). Selenyum, E vitamini, domates, soğan, sarımsak, pırasa, brokoli, karnabahar, brüksel lahanası, turp benzeri sebzeler ile balık ve deniz yağlarının tüketimi, ayrıca serumda yüksek oranda D vitamini bulunmasının prostat kanseri riskini azaltabileceği bilinmektedir (44).

2.4.6. Aile öyküsü

Amerikan Kanser Derneği rehberliğine göre, aile öyküsü pozitif olan erkeklerde prostat kanseri taramasının, aile öyküsü olmayan erkeklerden 10 yıl daha önce başlanması gerekmektedir. Erkek kardeşi prostat kanseri olan bir kişinin, babası prostat kanseri olan bir kişiye göre prostat kanserine yakalanma riskinin yapılmış olan meta analizlerde daha yüksek olduğu görülmüştür. Bu farklılığın nedeni ise tam olarak açıklanamamıştır. Ancak birinci derece akrabalarda görülen prostat kanseri sayısı arttıkça prostat kanserine yakalanma riski de o derece artmaktadır (45).

2.4.7. Prostat kanseri tanısı ve derecelendirilmesi

Prostat kanseri tanısında başlıca parmakla rektal muayene, serum total PSA düzeyi analizi ve transrektal ultrason eşliğinde biyopsi yöntemleri kullanılır. Gleason skorlaması, biyopsi örneklerinin histopatolojik incelenmesi ile tanının belirlenmesinde kullanılmaktadır. Hastalığın evrenlenmesinde ise tümörün büyüklüğü (T), lenf nodu tutulumu (N) ve metastazın (M) değerlendirilmiş olduğu (TNM) evreleme sistemi kullanılmaktadır. Daha ileri tanı veya evreleme çalışması ile hastada kullanılacak olan tedavi seçenekleri; hastanın tercihi, yaşı ve komorbiditesi göz önünde bulundurularak tercih edilir (46).

1960’larda patalog Dr. Donald Gleason tarafından bulunan ve geliştirilen Gleason skorlamasının tüm prostat kanserlerinde evrensel olarak kullanılması en güvenilir ve öngörücü histolojik derecelendirme sistemi olduğu için kabul görmüştür. Gleason skorlama sistemi, prostattaki bezlerin mikroskopik düzenlemesine, yapısına veya paternine dayanır. Patern, 1 ila 5 arasında bir

dereceyle verilir (Tablo 2.1.). Tümörde en sık rastlanılan patern birincil, ikinci en sık rastlanılan patern ise ikincil olarak ifade edilir. Örnek verecek olursak tümörün 4 numaralı patern özelliğini göstermesinin yanı sıra 3 numaralı paterninde özelliğinin bulunması neticesinde $4+3=7$ olarak derecelendirme işlemi yapılmaktadır (47).

Tablo 2.1. Gleason derecelendirme tablosu

Sınıflandırma Grubu	Gleason Skoru	Derecelendirme Tanımı
1	≤ 6	Sadece bireysel olarak ayrılmış şekilleri düzgün bezlerin varlığı.
2	$3+4=7$	Kötü şekilli, kaynaşmış veya kribriform bezlerin daha az miktarda, şekilleri düzgün bezlerin daha fazla miktarda olması.
3	$4+3=7$	Şekilleri düzgün bezlerin daha az miktarda olması, kötü şekilli, kaynaşmış veya kribriform bezlerin daha fazla miktarda olması.
4	8	Sadece kötü şekilli / kaynaşmış / kribriform bezler; bez yapısı oluşturmayan veya ağırlıklı olarak düğün şekilli bezler; veya düzgün şekilli bezlerden daha az bileşenine sahip bez yapısı oluşturmayan hücrelerden meydana gelmesi.
5	9-10	Hiç bez yapısının görülmediği veya nekrozla birlikte kötü şekilli, kaynaşmış, kribriform yapıdaki hücrelerin bulunması.

Leslie ve ark., (2018)'den modifiye edilmiştir.

Prostat kanseri evrelemesinde kilit ayırım, kanserin prostat ile sınırlı olup olmadığı ve bu nedenle potansiyel olarak tedavi edilebilir olup olmadığıdır. Klinik evreleme, ilk kesin tedaviden önce elde edilen verilere dayanmaktadır. Klinik olarak belirgin tümörün boyutu dijital rektal muayene, transrektal ultrasonografi veya diğer görüntüleme teknikleri ile belirlenir. T1 ve T2 kanserleri sadece prostat ile sınırlıdır ve "lokalize" kabul edilir. T3 kanseri prostatik kapsülün dışında yayılma olduğunu, ancak rektum ve mesaneye kadar ulaşmadığını göstermektedir. T4 kanserleri prostat dışına, mesane gibi komşu bölgelere yayılmıştır.

Akciğerlere, lenf düğümlerine veya karaciğere metastaz yapabilirler. N (lenf nodu tutulumu) veya M (metastaz) skorlarıyla tanımlanırlar (47, 48). TNM evreleme sistemi tablo 2.2.' verilmiştir.

Tablo 2.2. Prostat kanserinde TNM evreleme sistemi

T	Primer tümör
x	Primer tümörün değerlendirilememesi
0	Primer tümör bulgusunun olmaması
1	Klinik olarak görüntüleme yoluyla görülemeyen tümör;
1a	TURP ile rezeke edilen dokunun $\leq$ % 5 oranında histolojik tümör bulgusu
1b	TURP ile rezeke edilen dokunun $\geq$ % 5 oranında histolojik tümör bulgusu
1c	Yüksek PSA sonucunda iğne biyopsisi ile tanımlanmış tümör
2	Prostat içinde bulunan sınırlı tümör
2a	Prostat lobunun yarısının tümör içermesi
2b	Prostat lobunun yarısından fazlasının tümör içermesi
2c	Prostat lobunun her ikisinde tümör içermesi
3	Prostat kapsülü boyunca uzanan tümör
3a	Tek veya çift taraflı olarak kapsül dışına uzanım göstermesi
3b	Tümörün seminal vezikülde görülmesi
4	Seminal vezikül haricinde diğer komşu organlarda yayılan tümör
4a	Tümörün mesane boynu, dış sfinkter veya rektumda görülmesi
4b	Tümörün pelvik duvarda görülmesi
N	Bölgesel lenf nodları
x	Bölgesel lenf nodlarının değerlendirilememesi
0	Bölgesel lenf nodu metastazı olmaması
1	Bölgesel lenf nodu metastazı olması
M	Uzak metastaz
x	Metastaz uzaklığının değerlendirilememesi
0	Uzak metastaz olmaması
1	Uzak metastaz olması
1a	Bölgesel olmayan lenf nodlarına yayılım
1b	Kemiklere yayılım
1c	Kemik haricindeki diğer bölgelere yayılım

Cheng ve ark., (2012; Leslie ve Siref, (2018)'den modifiye edilmiştir.

2.4.8. Prostat kanseri taramalarında PSA'nın yeri

Prostat spesifik antijen, hem prostat epitel ve asiner hücreleri tarafından hem de prostat kanserli hücreler (PKa) tarafından üretilen 33 kDa ağırlığında % 93 aminoasid, % 7 karbonhidrat içeren tek zincirli glikopeptid olup, kallikrein gen ailesinden bir serin proteazdır. Kromozomun 19p bölgesine lokalizedir. Androjenle regüle edilen bir serin proteazdır. Organa spesifik fakat kansere spesifik olmayan prostat kanserinde en sık kullanılan serum belirtecidir. Seminal sıvıda çok yüksek konsantrasyonlarda bulunur. PSA, 244 amino asit proenzimi olarak (proPSA) prostatik kanallara inaktif bir şekilde salgılanır ve yedi N-terminal amino asidin ayrılması ile aktive olur. PSA'nın bir kısmı prostatın yapısında meydana gelen bozulmalar ile birlikte asinüslerden stromaya, stromadan da lenfatik ve kapiller yolu ile sistemik dolaşıma geçmektedir. Dolaşımda proteaz inhibitörü α 1-antikimotripsine bağlı olarak bulunur. Proteaz inhibitörleri ile kompleks bir yapı oluşturmayan serbest PSA ise enzimatik olarak aktif form yapısında bulunur (49, 50). Yüksek PSA düzeyinin karsinom varlığı ile ilişkili olduğu yaygın olarak bilinmesine rağmen, prostatik kanserin erken tanısında sadece PSA'nın kullanılmasına ilişkin çok az veri bulunmaktadır (51). İlerleyen yaşla birlikte prostat boyutundaki artış, PSA konsantrasyonunun artmasına neden olmaktadır. Sonuç olarak, bir erkeğin yaşına bağlı PSA düzeyleri tablo 2.3.'de verilen farklı referans aralıklarına göre değerlendirilmektedir (52).

Tablo 2.3. Yaşa bağlı referans PSA aralıkları

Yaş Aralığı	PSA Aralığı
40 – 49	0- 2.5 ng/mL
50 - 59	0 -3.5 ng/mL
60 - 69	0 - 4.5 ng/mL
70 - 79	0 - 6.5 ng/mL

Adhyam ve Gupta, (2012)'den modifiye edilmiştir.

Dolaşımda bulunan PSA, serbest ve proteaz inhibitörlerine bağlı bir şekilde kompleks yapıda bulunurlar. Total serumda PSA değerinin büyük bir kısmını kompleks PSA oluştururken, çok daha az bir kısmını ise serbest PSA oluşturmaktadır. Serumda PSA α 1-antikimotripsine bağlı olarak bulunur. α 2-

makroglobulin ile α 1-proteaz inhibitörü ise PSA'nın daha düşük oranda bağlandığı proteaz inhibitörleridir. Serbest PSA; inaktif PSA, öncül proPSA ve benign PSA bileşenlerinden oluşmaktadır. İnaktif PSA; yapı ve bütünlüğü bozulmamış bir molekülüdür. Benign PSA; BPH'lı hastalardan izole edilmiş olan bir formdur. Farklı PSA molekül formlarının çeşitli klinik özellikleri bulunmaktadır. Serbest PSA oranının yüksek olduğu durumlar benign hastalık ihtimalini kuvvetlendirmektedir. Serbest/total PSA oranı, prostat kanserinde sıklıkla kullanılmakla birlikte gereksiz biyopsileri engellemek için günümüzde kullanılmaktadır. Bu oranın düşük olduğu değerler sıklıkla ciddi tümörlerle ilişkili olmaktadır. Serbest/total PSA oranının standart bir değeri olmadığı için farklı çalışmalarda farklı standart değerleri kullanılmıştır. Bu oranlar 0.10 ile 0.25 arasındaki değerlerde değişiklik göstermektedir. Serbest PSA oranı kabul edilen sınır değer altına düştükçe özgüllük artarken, duyarlılık düşmekte; sınır değer üzerine çıktıkça duyarlılık artarken, özgüllük azalmaktadır (53, 54).

2.4.9. Prostat kanserinin gelişimi ve ilerlemesi

Prostat kanseri gelişiminde ve ilerlemesinde rol oynayan düzenleyici hormonlar androjenlerdir. Bunların başında ise testosteron hormonu gelmektedir. Testosteron temel olarak testislerden salgılanmasının yanı sıra adrenal steroidlerin periferik dönüşümü ile de gerçekleşebilir. Prostat hücresi içerisine geçiş yapan serbest testosteronun yaklaşık %90'lık kısmı 5α -redüktaz enzimiyle dihidrotestosterona (DHT) dönüşür. Androjen reseptörüne (AR), DHT çok yüksek bir afinite ile bağlanır (55). DHT'nin AR'ye bağlanması HSP70 ve 90'ın AR'den ayrılmasını ardından AR'nin fosforilasyonunun indüklenmesini sağlar. Böylece AR'nin nükleer lokalizasyona geçişini destekleyerek hücrenin büyümesi, hayatta kalması, metabolizması gibi önemli birçok fonksiyonun kontrolünde rol oynar (56).

Prostat hücreleri gelişim, proliferasyon ve fonksiyonları için androjenlere bağımlıdır. Prostat hücrelerinde androjenik uyarının engellenmesi halinde hücreler apoptozis sürecine girmektedir. Tümör hücrelerinin büyümesini engellemede kullanılan, androjenik aktiviteyi baskılamada kullanılan tedavilerin tümü androjen deprivasyon tedavisi olarak adlandırılmaktadır (57). Prostat kanserinde androjen baskılanması ile tedavinin olumlu gelişmesinden sonra lokal ileri ve metastatik

prostat kanserinde kullanılan temel tedavi yöntemi haline gelmiştir. Androjen baskılanması cerrahi ve medikal kastrasyon olarak iki şekilde sağlanabilir. Bilateral orşiektominin, kolay uygulanması ve anti-androjen tedavi yöntemlerine kıyasla kısa bir sürede kastrasyon düzeylerine ulaşılabilmesi nedeniyle altın standart olarak değerlendirilmektedir. Fakat vücuttaki androjen üretiminin tek kaynağı testisler olmadığı için, total androjen deprivasyonu için yeterli olmayabilmektedir. Medikal kastrasyon ise testosteron ve dihidrotestosteron ile androjen reseptörlerine bağlanmada yarışan ve androjen reseptörlerini inhibe edici özellikte anti-androjenler kullanılmaktadır. Kullanılan bu tedavi yöntemlerinde hastaların tedavilere cevap oranları yüksek olmasına rağmen ilerleyen süreçlerde non-metastatik ya da metastatik kastrasyon dirençli döneme girmeleri muhtemeldir. Kastrasyona dirençli prostat kanseri hastalığı görülen bireylerin bir kısmında metastaz görülmezken, bir kısmında kemik metastazları görülmektedir. Kastrasyona dirençli prostat kanserinin gerçekleşmesi androjen reseptör bağımlı ve bağımsız kompleks mekanizmaların sonucunda gerçekleşmektedir. Kastrasyon direncine neden olan mekanizmaların başında AR amplifikasyonu, hipermetilasyonu ve çeşitli mutasyonlar görülmektedir (57, 58).

Androjen bağımlı yolda; dihidrotestosteronun AR'ye bağlanmasının ardından, AR'nin dimerizasyonu gerçekleşir, çeşitli metabolik, yaşamsal aktivitelerin devamının sağlanması için nükleusa yerleşmesine neden olur. Androjen bağımsız yolda ise; tirozin kinaz reseptörünün dimerizasyonu, PI3K'nın aktivasyonuna ve AKT'nin fosforilasyonuna yol açar. Fosforile AKT daha sonra AR'nin dimerizasyonunu sağlayarak nükleusa yerleşmesini, böylece metabolik aktiviteler ve büyüme ile ilgili aktivitelerin oluşumunu başlatır. Normalde fonksiyonel PTEN, fosforile AKT tarafından başlatılan AR dimerizasyonunu inhibe eder. Bu şekilde görüldüğü gibi PTEN'de meydana gelen bazı mutasyonlar inhibisyonunun kaybına yol açar. Bu nedenle PTEN'deki somatik mutasyonlar androjen deprivasyon tedavisinde duyarlılık eksikliği ile sonuçlanır (58). Son yıllarda prostat kanserine bağlı ölüm oranının azalmış olduğu görüldüğü gibi, bu azalmaya neden olan metastatik hastalık tedavi sürecinin katkısının oldukça az olduğu bilinmektedir. Bu yüzden androjen reseptör sinyal yollarını ve alternatif

onkogenik yolları hedef alan tedavi sürecini, erken dönemde planlama önem arz etmektedir (59).

2.5. Prostat Kanseri Genetiği

Son yıllarda yapılan araştırmalar prostat kanserinin genetik temellerini belirlemeye yönelik olarak gerçekleştirilmektedir. Epigenetik ve gen ekspresyonunda meydana gelen bir dizi genetik değişikliğin prostat kanseri riskini artırabileceği bilinmektedir. Prostat kanseri epidemiyolojik açıdan sporadik ve herediter olmak üzere iki gruba ayrılır.

2.5.1. Sporadik prostat kanseri

Multiple genler sporadik prostat kanseri riskini etkilese de, ilgili gen varyantlarını belirlemeye yönelik mevcut girişimlerin çoğu tek gen polimorfizmine dayanmaktadır. 8q24 (rs6983267), 17q12 (rs4430796 / rs7501939) ve 17q24.3 (rs1859962) tek nükleotid polimorfizmi (SNP) sporadik prostat kanseri ile ilişkilendirilmiştir. Her SNP prostat kanseri riskini 1,1- 1,65 oranında birbirinden bağımsız olarak artırabilir. Eğer aile öyküsünde prostat kanseri varsa risk oranı yaklaşık 10 kat daha artış gösterir (60, 61).

HPC2 / ElaC2 geni, kalıtsal prostat kanseri geni olarak tanımlanmasının yanı sıra, sporadik prostat kanseri ile ilişkili bazı polimorfizmleri kapsar. Prostat kanseri riskine bağlı gen polimorfizmleri, yüksek penetrasyonlu kanser duyarlılık geni olabileceğinden HPC2/ ElaC2 treonin (thr) alelinin 541. seviyesinde sporadik prostat kanseri yatkınlığında Japon popülasyonlarında önemli bir rol oynar. Gen profillemeye çalışmaları, gen ekspresyonunun periferik bölge ve transisyonel zon arasında farklılık gösterdiğini, prostat dokusunun büyümesini ve farklılaşmasını etkilediğini göstermektedir (60).

2.5.2. Kalıtsal (Herediter) Prostat Kanseri

Prostat kanserinin bir varyantı olan kalıtsal prostat kanseri, erkeklerde başlangıç yaşının erken olması ve otozomal dominant kalıtım ile ayırt edilir. Kalıtsal prostat kanserinde, aileler boyunca geçiş gösteren tek bir gen bile bu

hastalığın oluşumunda büyük ölçüde rol oynar (62). Birinci derece akrabalarda görülen prostat kanseri kişilerde kanser oluşum riskini 2-3 kat, birinci derece akrabalarında etkilenen kişi sayısı iki veya daha fazla ise kişide kanser oluşum riskini 5-10 kat arttırmaktadır. Kalıtsal prostat kanseri, sporadik prostat kanserine göre 5-7 kat daha erken görülebilmektedir. Prostat kanserinde 3 farklı kalıtım kalıbı görülmektedir. Bunlar;

-Otozomal dominant,

-Otozomal resesif ve

-X'e bağlı kalıtım kalıbıdır.

Kalıtsal PKa riski taşıyan kişiler aşağıdaki 'Hopkins Kriterleri' ne sahiptirler;

1. Birinci derece akrabalar arasında en az 3 kişide görülmesi (baba+2 erkek kardeş ya da 3 erkek kardeşte görülmesi)
2. Maternal veya paternal geçişli 3 kuşakta görülmesi (Örneğin büyükbaba, baba ve probandda görülmesi)
3. ≤55 yaşta prostat kanseri teşhisi konulmuş en az 2 yakınında görülmesi
4. Anne tarafındaki etkilenmiş vakaları da içeren 3 ya da daha fazla akrabada (büyükbaba, amca ve proband) görülmesidir (62).

2.5.3. Kalıtsal prostat kanserinde biyobelirteç genler

Kalıtım materyalimizde genetik ve epigenetik değişiklikler çok fazla miktarda meydana gelir. Yapılan araştırmalar neticesinde BRCA1 ve BRCA2 geninde bulunan mutasyonların meme ve yumurtalık kanseri oluşumunda yüksek risk meydana getirdiği bulunmuştur. Hem mesane hem de kolorektal kanserde de benzer çalışmalar devam etmektedir (63). Yapılan sitogenetik çalışmalar sonucunda prostat kanserli hastaların yaklaşık %25'inde kromozomal anomaliler olduğu görülmüştür (64). Prostat kanserinde, kromozomal kazanç yerine kromozomal kayıplar yaygındır. 6q, 7q, 8p, 10q, 13q, 16q, 17, ve 18q kromozom kayıpları en yaygın olanlarıdır. Kromozom 8q, 10q, 13q ve 17q heterozigotluğun kaybı, 6q, 7q, 16q ve 18q bölgelerinin delesyonları görülür. Tümör baskılayıcı genlerin sebep

olduğu; mutasyonlar, delesyonlar, yeniden düzenlemeler, hipermetilasyonlar gibi değişimler sıklıkla onkogenik sonuçlar ile ilişkilendirilirler (65). Yapılan çalışmalarda RNASE L (HPC1), PCAP, HPCX, CAPB, HPC20, MSR1, ELAC2, HSD3B, NBS1, CHEK2 gibi prostat kanserine yatkınlık genleri tespit edilmiştir (66).

2.5.3.1. Somatik kopya sayısı değişikliği

Somatik kopya sayısı değişiklikleri, kanser genomunda diğer herhangi bir somatik genetik değişikliğe göre genetik materyalin daha büyük bir kısmını etkileyen kazançlar veya kayıplardır. Bu kayıplar hem onkogenlerin aktivasyonunda hem de tümör baskılayıcı genlerin inaktivasyonunda önemli bir rolü vardır. Prostat kanserinde bu kayıplar yaklaşık %90 oranında görülür. Prostat tümörlerinde sıklıkla 6q, 8p, 10q, 13q kromozomlarında yer alan NKX3-1, PTEN, BRCA2, RB1 genlerini içeren delesyonlar mevcuttur. Bunun tam tersi olarak, kastrasyona dirençli metastatik tümörler sıklıkla X, 7, 8q ve 9q kromozomlarında androjen reseptör ve MYC genlerinin amplifikasyonunu içerir (63).

2.5.3.2. Yapısal düzenlemeler

Replikasyon ve transkripsiyonlar sırasında DNA'nın çift zincirli yapısı açıldığı için kopmalar meydana gelebilir. Bunların yanlış onarımı hem kromozom içi hem de kromozomlar arası yeniden düzenlemelere neden olabilir. TMPRSS2: ERG, prostat kanserinde bunların en iyi örneklerinden bir tanesidir. Chinnaiyan ve arkadaşları tarafından keşfedilen ilk translokasyon TMPRSS2'nin 5' UTR bölgesinin ERG'ye tekrarlayan bir gen füzyonudur. Bu yeniden düzenleme, prostat tümörlerinin yaklaşık %50'sinde görülür. Ayrıca, PTEN inaktivasyonu ile birlikte ERG'nin aşırı ekspresyonu prostat adenokarsinomuna ilerleyen prostatik intraepitelyal neoplaziyi gösterir. Prostat kanserinde ESRP1: CRAF, ETS ailesi ve RAF kinaz gen füzyonları dahil olmak üzere bir diğer yeniden düzenleme tarif edilmiştir. Bu tümörler ERG düzenlemesi olmayan 6q, 16q delesyonu ve 7q amplifikasyonu gösterirler. Prostat kanserinin %1.5' inde delesyona veya

mutasyona uğradığı tespit edilen ETS transkripsiyon faktörü ailesinin üyelerinden bir tanesinde ERF'dir. ERF, ETS2'nin promotörüne bağlanmak için ERG ile rekabet eder. ERF transkripsiyonel bir baskılayıcı olarak rol oynar. Kaybı sonucunda ise prostat kanserinde ERG aktivasyonunun artışı görülür (63, 67).

2.5.3.3.Nokta mutasyonlar

Mutasyon oranı, malign dönüşüm riski olan somatik hücrelerin belirlenmesinde önemli bir faktördür. Prostat kanseri; meme, böbrek ve yumurtalık kanserine benzeyen 1×10^{-6} ve 2×10^{-6} arasında somatik mutasyon oranına sahiptir. Böyle bir oran prostat tümör genlerinde binlerce mutasyona neden olabileceğini, protein fonksiyonu ve stabilitesini etkileyebileceğini gösterir. DNA yanlış eşleşme tamir enzimi olan MSH6'nın mutasyonu, prostat kanserinde 25 kat daha fazla mutasyona neden olabilmektedir. Hem tümör baskılayıcı hem de onkogenlerdeki mutasyonlar, TP53, PTEN, RB1, PIK3CA, KRAS ve BRAF olmak üzere prostat kanserinde tanımlanmıştır. Ayrıca androjen reseptör fonksiyonu, kromatin modifikasyonu ve transkripsiyondaki diğer mutasyonlar da tanımlanmıştır (63).

2.5.3.4.Tek nükleotid polimorfizmi

Riskli olarak görülen SNP'lerin birçoğu genomu kodlamayan bölgelerde bulunur. Bu SNP'lerin gen ekspresyonunu kontrol eden genomun düzenleyici alanlarında yer aldığı düşünülmektedir (68). 2007'den bu yana, 8q24 bölgesinde bazı SNP'lerin prostat kanseri ile bir ilişkisi olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, bazı çalışmalarda 8q24'ün aşağı yönde bulunan proto-onkogen MYC enhancerları kodladığını ve böylece ilişkili bölgelerin MYC düzenlemesine dahil olabileceğini göstermiştir. Bu bölgede iki polimorfizm olan rs4242382 ve rs6983267'nin metastatik prostat kanseri ile ilişkili olduğu bulunmuştur (63).

2.5.3.5.MikroRNA (miRNA)

Son yıllarda kodlayıcı olmayan RNA'lar (ncRNA), gelişim, normal fizyoloji ve birçok farklı hastalık türünde yer alan yeni bir düzenleyici sınıfı olarak ortaya çıkmıştır. MikroRNA'lar (miRNA'lar), kodlanmayan RNA'ların (ncRNA) sınıfını temsil etmekte ve insan genleri ekspresyonun yaklaşık üçte birini kontrol

etmektedir. miRNA'lar, mRNA üzerindeki 3' UTR (untranslated region) bölgesindeki spesifik diziye kısmen bağlanarak, gen ekspresyonunu negatif olarak düzenleyen 19-25 nükleotid uzunluğunda tek sarmallı RNA'lardır. Bir miRNA'nın hedef mRNA'ya bağlanması tipik olarak translasyonel baskıya ve ekzonükleolitik mRNA bozulmasına yol açar, ancak oldukça tamamlayıcı olarak bağlandığı hedefleri endonükleolitik olarak parçalar. Hücrelerin proliferasyonu, farklılaşması, hayatta kalması ve apoptozda miRNA'ların temel rollerini içeren veriler toplandığında, tümör oluşumundaki rollerinin önemli olduğu ve yeni kanser tedavileri için umut verici terapötik hedefler olarak kabul edilmişlerdir. miRNA genlerinin malign ve normal hücreler arasındaki ekspresyon farklılığının nedeni, miRNA genlerinin kromozomal değişiklikleri, DNA nokta mutasyonları, epigenetik mekanizmalar veya miRNA üretiminden sorumlu mekanizmada meydana gelen değişiklikler olmak üzere farklı şekillerde açıklanabilir (69). miRNA'lar insanlarda, hayvanlarda, bitkilerde, protistlerde ve virüslerde bulunan geniş kapsamlı gen ailelerinden birini oluşturur. MiRBase (v22) veritabanının en son sürümünde *Caenorhabditis elegans*'ta 437, *Arabidopsis thaliana*'da 428, *Drosophila melanogaster*'de 469 ve insanda 2654 olgun miRNA olduğu belirlenmiştir. Ancak bu miRNA açıklamalarının çoğunun fonksiyonel önemi henüz belirlenmemiştir (70).

2.5.3.5.1. Tümör supressör ve onkogenik miRNA'lar

Yaklaşık 5.300 insan geninin miRNA'lar tarafından düzenlenmesi, onları en çok düzenleyici gen sınıflarından biri haline getirdi. miRNA, deadenilasyon ile başlatılan translasyon baskılanması, mRNA bölünmesi ve bozunması ile gen ekspresyonunu negatif olarak düzenler. Son çalışmalar, bazı miRNA'ların kanser oluşumunda önemli olan hücre proliferasyonunu ve apoptoz süreçlerini düzenlediğini göstermektedir. Northern blot, real time PCR, mikro array gibi moleküler teknikler kullanılarak akciğer, meme, beyin, karaciğer, kolon kanseri, lösemi ve prostat kanseri de dahil olmak üzere insan kanserlerinde birçok spesifik miRNA'ların ekspresyon seviyelerindeki artış ve düşüşleri ile rol oynadığı bulunmuştur. Kanserde aşırı eksprese olan miRNA'lar, hücre farklılaşması ve apoptozu kontrol eden genleri negatif yönlü düzenleyerek kanser gelişimini teşvik

edebilir. Böylece bu miRNA'lar onkogen veya tümör baskılayıcı olarak işlev görebilir. miR-17-92 gibi kanserlerde aşırı eksprese edilen miRNA'lar, hücre farklılaşmasını ve apoptozu kontrol eden tümör baskılayıcı genleri negatif olarak düzenleyerek kanser gelişiminde onkogenler olarak işlev görebilir. miR-17-92'nin hücre fonksiyonu bilinmemekle birlikte, tümör patolojisinde düşük apoptoz oranları olduğu gösterilmiştir. *Let-7* gibi, çeşitli kanserlerde daha az baskılanmış olan miRNA'lar tümör baskılayıcı genler olarak işlev görürler. Hücre farklılaşmasını, apoptozu kontrol eden onkogenleri ve genleri düzenleyerek kanserleri inhibe edebilir (71-73). miR-19'un tümör baskılayıcı PTEN'i aşağı yönlü regüle ettiği gösterilmiştir. Bu, hayatta kalmayı teşvik eden bir sinyal olarak bilinen PI3K-Akt sinyal yolunun aktif kalmasını sağlamaktadır. Her miRNA için birkaç yüz hedef mRNA'nın olduğu göz önüne alındığında, miR-17-92 kümesinin pek çok karakterize edilmemiş hedefi olması muhtemel görünmektedir. Birçok hedef mRNA'nın baskılanması sonucu hücre sağ kalımını arttırması beklenir. miR-155, lenfomada bir onkogen olarak işlev görmektedir. Bu miRNA lenfoma model sisteminde c-Myc ile işbirliği yaparak hücre çoğalmasını teşvik eder. miR-17-92 ve miR-155 arasında biyolojik bir bağlantı olup olmadığı ise bilinmemektedir. Onkogenik miRNA'ların rolünün daha kapsamlı bir şekilde anlaşılması, yapılacak olan çalışmalarla hedef dizilere spesifikliğin kontrolünü gerektirmektedir (73).

2.5.3.5.2. miRNA ve Prostat Kanseri

miRNA'lar gen ekspresyonunun düzenlenmesinde prostat kanserinde dahil olmak üzere çeşitli kanserlerde, tanı, prognoz ve tedavi alternatiflerinde yol gösterici olarak kullanılmaktadır (74). İnsan kanserinde miRNA rolünün ilk çalışma sonucu, 13q14 kromozomunda karakterize olan kronik lenfositik lösemi (KLL) çalışması ile tespit edilmiştir. KLL'de anormal miRNA ekspresyonu sonucunda, bir dizi miRNA düzensizliğinin çeşitli kanser oluşumu ve ilerlemesinde yakından ilişkili olduğu görülmüştür. miRNA sekanslarının yaklaşık % 50'si, insan genomunda kansere bağlı bölgelerde (kırılma bölgeleri, viral entegrasyon bölgeleri ve sıklıkla heterozigotluk veya amplifikasyon kaybı ile bağlantılı bölgeler dahil) bulunur. Yapılan son çalışmalarda prostat kanserinde miRNA ekspresyon profilinin düzensiz olduğu farklı metodolojiler kullanılarak gösterilmiştir. miRNA ekspresyon

profilleri normal ve tümör dokularında sıklıkla klinik-patolojik parametrelere karşılık gelebilmektedir. miRNA'ların onkogenik veya tümör baskılayıcı fonksiyonları, kanser tedavisi için yeni çözümlere yol gösterebileceğini düşündürmektedir. Kanserde miRNA'ların disregülasyonu çeşitli genomik sapmalara neden olabilir. Bu genomik anomaliler, translokasyon, transkripsiyonel faktörler ile gen ekspresyon seviyesinin değişmesi, epigenetik değişiklikler ve miRNA işlemedeki değişiklikler gibi kromozomal modifikasyonları içerebilir. Çeşitli çalışmalar miR-155'in; TGFB1/Smad, NFKB1 ve AP1 ailesi transkripsiyon faktörlerini (JUN / JUNB / JUND / FOS / FOSB), miR-155 promotörü ile doğrudan transkripsiyon seviyesinde indüklendiğini ortaya koymuştur. Prostat kanserinde onkogenik miRNA'lar siklin bağımlı kinaz inhibitörlerinden p21 ve p27'nin down regülasyonu, E2F familyasına ait transkripsiyon faktörlerinin down regülasyonunu gerçekleştirmesi ile proliferatif fonksiyonu artırabilmektedir. miR-20a özellikle tümörlü prostat dokularında aşırı eksprese edilmesinin yanı sıra, E2F2 ve E2F3'ün down regülasyonu ile prostat kanseri hücrelerinde apoptozu azaltmaktadır. miR-1, miR-21, miR-25, miR-93, miR-106b, miR-125b gibi başlıca miRNA'lar prostat kanserinde aşırı eksprese olmaları nedeniyle tümörenezisde oldukça önemli rol oynamaktadırlar (75).

miR-15a ve miR-16-1'in prostat kanserli dokularda delesyona uğramadığı yada sağlıklı dokulara göre down regüle olduğu, anti-apoptotik genlerden BCL2, CCND1 ve WNT3A genlerini hedef aldığı yapılan çalışmalar sonucunda gösterilmiştir. Yine yapılan çalışmalar ile miR-15a/16'nın VEGF üzerinde etkili olduğu, prostat tümörlerinde miR-17-3p, miR-125b, miR-145 ve let-7c, miR-23, miR-449 ekspresyonunun düşüş gösterdiği, prostat kanserini, BPH karsinomundan ayırmada ve sınıflandırmada, miRNA'ların tanı ve hastalık izleminde kullanılabilecek biyomarkerlar olduğu görüşüne varılmıştır (76).

2.5.3.5.3. miRNA ve Periferik Kan Mononükleer Hücreleri (PKMH)

Tümör gelişimi sürecinde kanser hücreleri apoptoz ve nekroz geçirerek, tümörle ilişkili olan moleküller kan dolaşımına katılırlar. Primer, invaziv veya metastatik tümörlerden köken alan dolaşımdaki ekstraselüler moleküller olan

hücresiz plazma veya serum örnekleri kanser teşhisi için biyobelirteç olarak kullanılabilir. Dolaşımdaki ekstraselüler moleküllerin seviyesi, tümörlerin boyutuna, evresine ve tümörlerin metastazına bağlı olarak büyük ölçüde farklılık gösterir. Erken evre katı tümörler, ileri evre tümörlere kıyasla daha yüksek hücre büyüme potansiyeline sahip olup ve daha az sıklıkla apoptoz ve nekroz işlemlerine maruz kalabilmektedirler. Böylece dolaşımdaki hücre dışı moleküllerin sınırlı bir miktarını verir. Bu nedenle, dolaşımda mevcut ekstraselüler biyobelirteçler genellikle katı tümörlerin erken tespiti için düşük bir doğruluk gösterebilmektedir (77).

Şimdiye kadar, birçok çalışma, serum ve plazma gibi vücut sıvılarındaki miRNA'ların araştırılması üzerine odaklanmıştır. Ancak son zamanlarda miRNA'ların, bağışıklık sistemi düzenleyicileri olarak rolleri göz önüne alındığında, kanser patogenezinde de önemli bir biyobelirteç haline gelmiştir (78). Tümörler, bağışıklık sistemi tarafından tanınırlar. Kanser hücreleri, T hücresi ile indüklenen apoptoza karşı direnç geliştirilmesi veya immün modülatör moleküllerin ve sitokinlerin lokal ekspresyonu dahil olmak üzere çeşitli mekanizmalarla immünolojik sürveyansın denetiminden kaçabilmektedir. Ayrıca, bağışıklık sisteminin baskılanması ve tümör hücrelerinin bu mekanizmadan kaçması, kanser gelişimi ve ilerlemesinde malign bir olay olarak ortaya çıkabilir. Bağışıklık sisteminin kansere karşı ilk savunma hattı olarak hareket eden periferik kan mononükleer hücreleri (PKMH); monositler, T hücreleri, B hücreleri ve doğal öldürücü (NK) hücrelerinden oluşur. PKMH'nin farklı moleküler ekspresyonu ile kanser hücrelerinin immünojenisitesi veya immün sistemden kaçışının preneoplastik lezyonlar kadar erken ortaya çıktığı gösterilmiştir. Yapılan çalışmalar ile de çeşitli tümör tiplerinde erken evre tanısı alan hastalarda PKMH'lerin ayırıcı seviyede moleküler değişiklikleri bulunmuştur. PKMH'lerin moleküler değişiklikleri, mevcut dolaşımdaki ekstraselüler biyobelirteçlerin büyük bir dezavantajı olan tümör yüküne bağlı değildir. Bu nedenle, PKMH'lerin moleküler profilleri malignitelerin erken tespiti için yeni biyobelirteçler olarak kullanılmalarını sağlayabilir. miRNA'lar, mRNA ile proteine dönüştürülecek olan ürünü baskılayabilmekte ve önemli biyolojik süreçlerin düzenlenmesinde anahtar rol oynamaktadır. miRNA'ların anti-tümör T hücrelerinin fonksiyonu üzerinde

önemli etkilerinin olmasının yanı sıra, miRNA'lar immünolojik sürveyanstan kanser hücrelerinin kaçış mekanizmalarını da etkiler (77).

2.5.3.5.4.miRNA'ların Biyogenezi

Yapılan çalışmalar sonucunda kanser hastalıkların seyri ve tedavi sürecinde miRNA'ların önemli bir belirteç olduğu belirtilmiştir. Bunların başında karsinogenezde proliferasyon, anjiyogenez, metastaz ve apoptoz gibi süreçlerin düzenlenmesinde önemli rol oynaması gelmektedir. Kanser hücreleri normal hücrelerden farklı olarak aşırı proliferasyon göstermekte ve apoptoz mekanizması tarafından tespit edilememektedir. Ekspresyon seviyelerinde farklılık gözlenen bu iki hücre tipinde miRNA'nın önemli bir transkripyonel ve post-transkripsiyonel düzenleyici olduğu bilinmektedir. Birçok farklı kanser türünde miRNA'lar onkogen ya da tümör baskılayıcı olarak rol alması gen ekspresyonunda düzenleyici olduklarının bir göstergesidir (79). miRNA'ların biyogenezi nükleusta başlar ve sitoplazmada fonksiyonel olarak görev yapmasına kadar geçen sürede birçok işlem basamağı yer alır.

Çekirdekte, birincil miRNA (pri-miRNA) DNA'dan RNA polimeraz II (Pol II) veya Pol III enzimi tarafından kopyalanır. Uzun pri-miRNA transkripti (~0.5–7kb) tekli veya çoklu saç tokası yapısı, diğer bir deyişle sap ilmek yapısı şeklinde katlanmış halde bulunur. Pri-miRNA, Drosha (nükleer RNaz III) enzimi ve RNA bağlayıcı protein kofaktörü Pasha'dan (DGCR8 olarak da bilinir) oluşan bir mikroişlemci kompleksi tarafından işlenerek pre-miRNA yapısına dönüştürülür. Nükleotit uzunluğu ~60-70 olan pre-miRNA nükleer membran dışına Ran-GTP'ye bağlı nükleer transport molekülü exportin 5 tarafından taşınır. Sitoplazmaya taşınması gerçekleşen pre-miRNA'nın saç toka yapısı çift sarmallı RNaz enzimi olan Dicer tarafından kesilerek uzaklaştırılır. ~ 18-25 nükleotit uzunluğunda ve çift iplikli miRNA yapısı oluşur. Çift iplikten sadece bir tanesi RNA- indükleyici baskılama kompleksinde (RISC) yer alan ve RNaz olarak görev yapan argonaute proteini ile 5' ucu daha kararlı olan kılavuz iplik bu komplekse dahil olur. Diğer iplik ise RISC kompleksinde yer alan substrat ile parçalanarak degrade olur. miRNA-RISC kompleksi, mRNA'nın 3' UTR bölgesine kısmen

bağlanarak mRNA translasyonunu inhibe eder ya da tam komplementeri olarak mRNA'ya bağlanarak parçalanmasını sağlar. Böylece transkripsiyon sonrası gen ekspresyonunun negatif düzenleyicileri olarak bilinirler (80-82).

Ribonükleaz III (RNaz III) protein ailesinin üyelerinin hepsi, ayrı ayrı dsRNA ipliklerini parçalayan Mg^{2+} iyonlarının bağlanmasından sorumlu RNaz III protein alanlarını içerir. DsRNA bağlanma alanı (dsRBD) çoğu RNaz III proteini ve Pasha için ortaktır. RNase III sınıf 3 (Dicer) proteinlerinde bulunan diğer yaygın alanlar arasında PAZ, bilinmeyen bir fonksiyon alanı (DUF) ve bir helikaz bulunur. PAZ alanı, miRNA'nın 3' ucundaki iki nükleotidi tanıyan bir RNA bağlayıcı modüldür. Pasha, metazoan proteomları içindeki diğer dsRNA bağlayıcı proteinlerde nispeten yaygın olan tandem dsRBD alanlarını içerir (83).

2.5.3.5.5. Memelilerde miRNA gen promotörleri ve transkripsiyonel düzenlenmesi

miRNA promotörlerinin tanımlanmasındaki gelişmeler, insan hücrelerinde promotörün tanımlanması için kullanılan kromatin yapılarının karakterizasyonundaki gelişmelerden kaynaklanmıştır. Bu yaklaşımı kullanan araştırmacılar, histon 3 (H3K4me3)'ün Lys 4 trimetilasyonu ve histon 3'ün (H3K9 / 14Ac) Lys 9/14'ünün asetilasyonu, transkripsiyonel olarak aktif promotörlerin değerli belirteçleri olarak çeşitli histon modifikasyonlarını tanımladılar. Daha önce, miRNA promotörü tanımlama yöntemleri, doğal olarak kararsız ve geçici pri-miRNA'nın izole edilmesinde zorlu tekniklere dayanıyordu. Bu işlem aynı zamanda çeşitli dokularda miRNA ekspresyon bilgisinin yetersiz olması ve pri-miRNA formunun 100 kb'ye kadar olabildiği, tam olarak düzenlenmiş olgun miRNA'nın proksimalinde başlangıç bölgelerini belirleme güçlüğü ile de engellenmiştir. Bu engelin üstesinden gelmek için son stratejiler, H3K4me3'ün, insan genomundaki birçok genin transkripsiyonel başlangıç bölgelerinde kaldığı ve bu tür kovalent değişikliklerin transkripsiyon başlatma alanlarıyla sınırlı olduğu gözleminden yararlanmıştır. İlave olarak transkripsiyonel olarak aktif genlerin, transkripsiyonel başlangıç bölgelerini çevreleyen 100 ila 130 baz çifti içinde nükleozom aktivitesinin azaldığı gözlemlenmiştir. Bu gözlemler, transkripsiyonel başlangıç

pri-miRNA'larının transkripsiyonel başlatma bölgelerini ve upstream bölgelerini belirlemek için bir strateji geliştirilmesine yol açmıştır (82).

Son zamanlarda miRNA'ların kendi ekspresyonlarını düzenleyici döngülere katıldıklarını gösteren kanıtlar ortaya çıkmıştır. miR-145'in TP53 aktivasyonuna bağlı pro-apoptotik bir etki yarattığı ve TP53 aktivasyonunun miR-145 ekspresyonunu uyararak hücre ölümünü teşvik eden bir döngü oluşturabildiği tespit edilmiştir. Bu bulgu, miR-145'in göğüs, kolon ve akciğer kanserleri de dahil olmak üzere birçok insan kanserinde yetersiz eksprese edildiği için geniş bir uygulamaya sahiptir. Bu, miR-145 ekspresyonunun meme kanseri tümör derecesi, boyutu ve proliferasyonu ile ters orantılı olduğu bulgusu ile desteklenmiştir. Özellikle, hipoksik strese maruz kalan hücrelerde miR-210'un seviyesinde artış gözlenmektedir. miR-210'un seviyesinin, hipoksi ile indüklenebilir faktörlerin (HIF-1a) etkileşimi neticesinde düzenlendiği gösterilmiştir. HIF-1a'nın, Myc transkripsiyon aktivitesini antagonize ederek hücre döngüsü durdurmasını indüklediği ve hipoksik koşullar altında tümör hücresinin hayatta kalmasını azaltmak için Wnt sinyalini inhibe ettiği açıklanmıştır. HIF-1a indüksiyonunun, prostat kanserinin bir modelinde miR-101 ekspresyonunu değiştirdiği görülmüştür. Burada miR-101 ekspresyonu, prostat kanserinde bir onkogen olan Ezh2'yi down regüle eder. miRNA'ların birden fazla mRNA hedefine sahip olduğu tanımlanmıştır. Bu çalışmaların ortaya çıkmasıyla, birden fazla miRNA üzerinde HIF-1a düzenleyici kontrolünün olduğunu yapılan çalışmalar sonucunda ortaya çıktığını görüyoruz. miRNA'ların ve bu gibi birçok faktörler arasındaki düzenleyici etkileşimin daha fazla incelenmesi, hastalık ilerlemesindeki rollerini göstermeye yardımcı olabilecektir (82).

2.5.3.5.6. miRNA'ların kanser biyobelirteçleri olarak farklı teknolojilerde kullanımı

miRNA'ların insan genomunun yaklaşık % 5'ini kontrol ettiği bilinmektedir. miRNA'lar protein kodlanmasını direkt olarak gerçekleştirmediği, ancak kodlanacak proteinin gen ifadesinin düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığı bilinir (79). miRNA'ların kanser biyobelirteçleri olarak kullanılması, yeni gelişen bir alandır. miRNA temel biyolojisinin açıklığa kavuşturulması için dokuya özgü fonksiyonlar, hedefler, ekspresyonun gelişim süresi, düzenlenmesi ve evrimsel rol

ile ilgili sorular araştırılmaktadır. Özellikle hücre farklılaşması ve doku oluşumu sırasında gen ekspresyon regülasyonundaki anahtar rolleri ile miRNA'lar kanser başlangıcı ve ilerlemesi için kritik öneme sahiptir. Ancak kanser teşhisi ve prognozu için klinik biyobelirteç olarak kullanımına yönelik çalışmalar halen devam etmektedir (80). Farklı verimlilikte miRNA profillemeye teknolojilerinin gelişmesi (Tablo 2.4.), kronik lenfositik lösemi, meme kanseri, akciğer kanseri, tiroid papiller karsinom, pankreas tümörleri, glioblastom, mide kanseri, prostat kanseri, hepatosellüler karsinom dahil olmak üzere çeşitli maligniteler için miRNA ekspresyon profilinin karakterize edilmesine izin vermiştir. Yeni yapılan çalışmalarda miRNA ekspresyon tanımlaması, gen ekspresyon profillemeye çalışmalarına göre daha fazla tercih edilmektedir. Bunun nedenlerinden bazıları, miRNA'ların kısa uzunlukta olmalarından dolayı teknik açıdan çalışması zor olduğu düşünülen formalinle sabitlenmiş numunelerde analizin yapılması, kanser hastalarında kanserli dokunun orijinini miRNA ekspresyonu tanımlama yeteneği ile saptayabilmesidir (69).

Tablo 2.4. miRNA profil oluşturma teknolojileri

Kullanılan teknolojik yöntem	Avantajları	Dezavantajları	Maliyet
Quantitative reverse Transcription PCR	Yüksek hassasiyet ve özgüllük. Düşük miktardaki RNA miktarı için kullanışlıdır.	Yalnızca bilinen miR'ler için kullanışlıdır. Günde işlenebilecek örnek sayısı göreceli olarak düşüktür.	\$\$
miRNA microarray	Bir günde çalışılacak örnek sayısına göre düşük maliyet ve yüksek verimlilik.	qRT-PCR veya RNA sekanslamaya göre daha düşük özgüllükte. Yeni miR çalışmaları için kullanılamaz.	\$
RNA sekanslama	Yeni miR'lerin tespiti için kullanışlıdır. Benzer özellikteki miR'ler arasındaki ayrımı saptamada yüksek hassasiyete sahiptir.	Fiyat açısından yüksek maliyetli. Veri analizlerini değerlendirmek için fazla miktarda hesaplama çalışmaları gereklidir.	\$\$\$

Di Leva ve Croce, (2013)'den modifiye edilmiştir.

Çalışmamızı örnek sayısı, çalışılacak olan miRNA sayısı, verimlilik ve maliyet açısından düşündüğümüz zaman mikroarray yönteminin daha etkin olacağı sonucuna vardık. Çalışmamızı bu yönde tasarlayarak sonuçlara ulaşmak için analizlerimizi gerçekleştirdik.



3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Üroloji polikliniğine başvuran prostat kanseri ve benign prostat hiperplazili (BPH) hastalardan oluşmaktadır. Üriner sistem rahatsızlıkları ile polikliniğe başvuran hastaların PSA değeri 1.18 ile 56.15 ng/dl arasında olan, toplam 40 erkek hasta çalışmaya dahil edildi. Tüm hastalardan örnekler toplanmadan önce aşağıdaki ayrıntılı anamnez bilgilerini içeren sorgulamaları yapıldı:

- Hastanın yaşı,
- İlave hastalıkları (Diabet, Hipertansiyon vb...),
- Eşlik eden başka malignitenin bulunması,
- Akut ve kronik hastalığının bulunması,
- Düzenli ilaç kullanımı bilgisi,
- Daha önce yaptırmış olduğu PSA değer bilgileri,
- Öncesinde PSA ile ilgili tedavi alıp almadığı,
- Prostat rahatsızlığı ile ilgili daha öncesinde herhangi bir operasyon geçirip geçirmediği (prostat biyopsisi, TURP, Açık Prostatektomi vb.),

gibi klinik bilgileri kaydedilmiştir. Çalışma standartlarımıza uygun birinci grup prostat kanseri tanısı almış 55-65 yaşları arasında 20 kişiden, ikinci grup BPH tanısı almış 51-65 yaşları arasında 20 kişiden oluşmaktadır. Her iki grubu oluşturan hastalardan kan ve doku örnekleri alınmış olup, toplamda 80 numune üzerinden çalışmamız devam etmiştir. Operasyon sonucunda alınan doku ve kan örnekleri Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı laboratuvarına getirilmiştir. Daha sonra örnekler hibriden RNA izolasyon kiti kullanılarak total RNA izolasyonu yapılmış olup bu aşamayı takiben Affymetrix GeneChip Microarray sistemi ile entegre edilmiş GeneChip™ miRNA 4.0 Array ile “miRNA ekspresyon profil analizi” çalışmasına geçilmiştir. Çalışmamızda her grup duplike olarak çalışılmıştır. GeneChip™ miRNA 4.0 Array’ı 203 organizmada, 30,424 total olgun miRNA prob seti, insanda 2.578 olgun miRNA, 2.025 pre-miRNA içermektedir.

Çalışmamız için Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başkanlığı'ndan 09.07.2019 tarih ve 212 sayılı kararı ile etik kurulu izni alınmıştır.

3.1.Kan örneklerinden periferik kan mononükleer hücrelerin (PKMH) eldesi ve saklanması

Etilendiamin tetraasetik asit (EDTA)'lı tüplere alınan 2 ml kan örnekleri eşit hacimde (2 ml) fosfat tamponu ile dilue edildi. Dilue edilen kan örnekleri dikkatli bir şekilde histopaque 1077 (SIGMA-ALDRICH) üzerine 1:2 oranında eklendi. 20 dakika boyunca 2000 rpm'de santrifüj işlemi (Hettich universal 32R) gerçekleştirildi ve 3 tabaka elde edildi. Mononükleer hücreler en üstte bulunan plazma ile onun altında yer alan histopaque katmanının arasında sütlü bulanık hücre tabakası şeklinde yer alır. En alt tabakada ise eritrosit ve granülosit hücreleri yer alır. Mononükleer hücreler pastör pipet yardımı ile yeni bir tüpe alınarak fosfat tamponu ile 1:5 oranında dilüe edildi. 1500 rpm'de 5 dakika boyunca santrifüj işlemi gerçekleştirilerek yıkama işlemi yapıldı. Süpernatant atılarak ikinci bir yıkama işlemi daha gerçekleştirildi. Süpernatant kısmın atılması ile periferik kan mononükleer hücreleri elde edildi. İzolasyon gerçekleştirilinceye kadar -80 °C'de saklandı (84).

3.2.Doku örneklerinin eldesi ve saklanması

Operasyon sonucu alınan doku örnekleri, steril ve DNaz, RNaz içermeyen ependorf tüpleri içerisinde çalışma başlayana kadar -80 °C'de saklandı.

3.3.Dokudan ve PKMH'den total RNA izolasyonu

- 1- Yaklaşık 50-100 mg doku için 1 ml HT tamponu kullanıldı ve dokular bu solüsyon içerisinde homojen hale getirildi.
- 2- 250 µL PKMH'ye 1 ml HT tamponu eklendi ve karışım homojen hale gelene dek 30 saniye-1 dakika arasında vortekslendi.

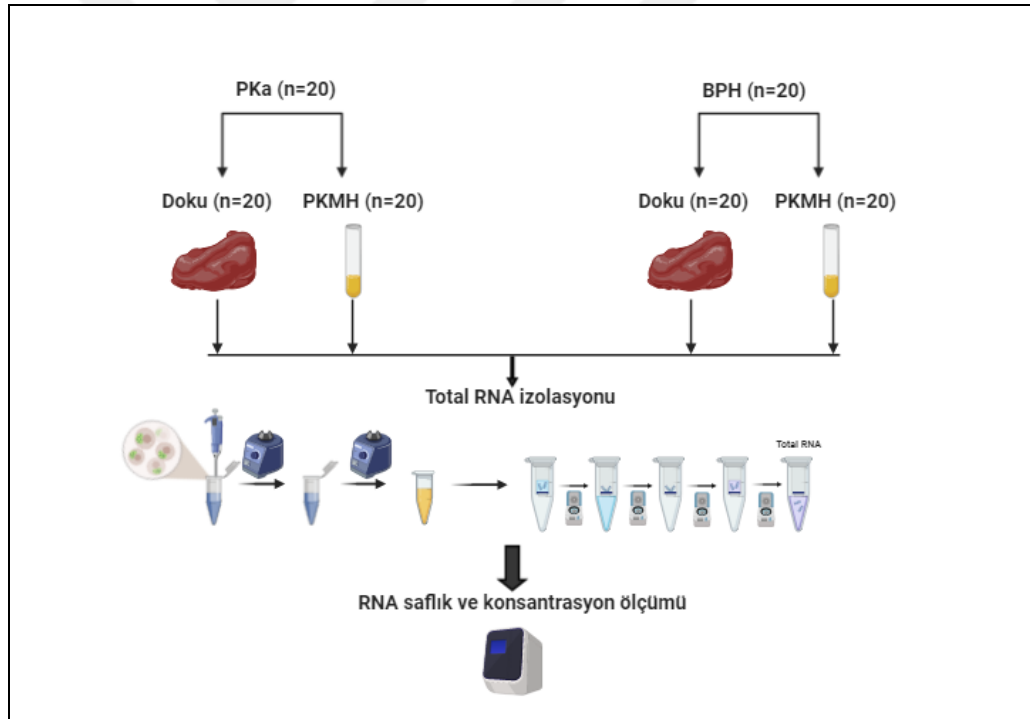
- 3- Nükleoprotein kompleksinin tamamen parçalanması için buz üzerinde 5 dakika inkübasyon yapıldı. Inkübasyon esnasında birkaç defa vorteks ile karıştırıldı.
- 4- Örnekler 4 °C'de 12000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. Supernatant, yeni bir RNaz bulundurmeyen mikrosantrifüj tüpüne aktarıldı. Bu aşama protein, yağ, polisakkarit ve kas fibrillerinden kurtulmayı sağladı.
- 5- 200 µL kloroform eklendi, 15 saniye vortex ile homojen hale gelene kadar karıştırma işlemi yapıldı ve 10 dakika buz üzerinde inkübasyona bırakıldı.
- 6- Örnekler 4 °C'de 12000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi. Santrifüjden sonra tüp içerisinde 3 farklı kısım oluştu. En altta fenol kloroform fazı, bir ara faz ve en üstte RNA içeren renksiz faz. En üstte bulunan renksiz faz (RNA içeren kısım) RNA konsantrasyonunun fazla olması için mümkün olduğunca fazla alınarak yeni bir RNaz içermeyen boş tüpe aktarıldı.
- 7- Alınan renksiz fazın hacmine göre üzerine ½ oranında önceden soğutulmuş %100 etanol eklendi. Karışım vortex ile karıştırıldı. Karıştırılan örnekler spin kolan tüpüne aktarılarak 4 °C'de 12000 rpm'de 30 saniye santrifüj edildi. Alt kısma geçmiş olan sıvı toplama tüpü atıldı.
- 8- Spin kolon tüpüne 500 µL wash RY1 solüsyonundan eklendi. 4 °C'de 12000 rpm'de 30 saniye santrifüj edildi. Alt kısma geçmiş olan sıvı toplama tüpü atıldı.
- 9- Spin kolon tüpüne 500 µL RY2 solüsyonu eklendi. 1 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı. 4 °C'de 12000 rpm'de 30 saniye santrifüj edildi. Alt kısma geçmiş olan sıvı toplama tüpü atıldı. Bu aşama tekrarlandı.
- 10- Spin kolondan solüsyonların uzaklaşması için 12000 rpm'de 2 dakika santrifüj edildi.
- 11- Spin kolon yeni bir RNaz içermeyen mikrosantrifüj tüpüne yerleştirildi. Spin kolona 30-100 µL DEPC ile muamele edilmiş su eklendi. 2 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı. 4 °C'de 12000 rpm'de 2 dakika

santrifüj edildi. Alt kısma geçmiş olan RNA içeren mikrosantrifüj tüpü alındı.

12- Bu işlemler sonucunda purifiye total RNA elde edildi. Pürifiye total RNA çalışmaya kadar -80 °C derecede saklandı.

3.4.Total RNA ölçümü ve havuzlama

Her bir PKMH ve doku örneğine ait total RNA konsantrasyonu ve saflığı Nano-400A Micro Spectrophotometer cihazı kullanılarak belirlendi (OD 260/280 nm). Tüm örneklerin konsantrasyon değerleri elde edildikten sonra, her örneğin konsantrasyonu eşit olacak şekilde hangi örnekten kaç mikrolitre hacimde alınacağı hesaplanarak, her grup için ayrı ependorflara havuzlama işlemi yapıldı. Grupların son konsantrasyon değerleri 200 ng/μl olacak şekilde eşitlendi.



Şekil 3.1. Hasta gruplarına ait örneklerin total RNA izolasyonu ve ölçümü

3.5. FlashTag™ Biotin HSR RNA Etiketleme Prosedürü

- Örneklerin hazırlanması işlemi buz veya soğuk blok üzerinde gerçekleştirildi.
- Örneklerin total RNA miktarları (200ng/μl) eşit olacak şekilde hazırlandı ve toplam hacim moleküler çalışmalara uygun nükleaz içermeyen su ile 8 μL'ye tamamlandı.
- Her örnek üzerine 2 μL RNA Spike Control eklendi.
- ATP mix 1 mM Tris çözeltisi ile 1:500 oranında seyreltilerek hazırlandı.
- Poly A Tailing Master mix hazırlanması nükleaz içermeyen bir tüpte tablo 3.1.'de verilen hacimlerde gerçekleştirildi.

Tablo 3.1. Poly A Tailing Master mix hazırlanması

Bileşenler	Her Örnek için
10X Reaction Buffer (Tüp 1)	1.5 μL
25mM MnCl ₂ (Tüp 2)	1.5 μL
Dilue ATP mix (Önceden Hazırladığımız)	1 μL
PAP Enzyme (Tüp 4)	1 μL

- Bu işlemlere kadar toplam hacim her tüpte 15 μL'ye ulaşmaktadır.
- Örnekler 15 dakika 37 °C'de inkübasyona bırakıldı. Örnekler soğuk blok üzerine alınarak sonraki adıma geçildi.

3.6. FlashTag™ Biotin HSR Ligasyonu

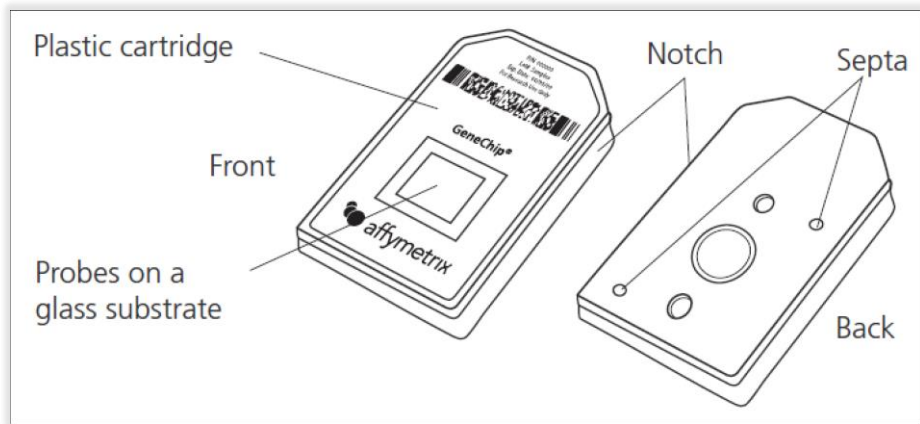
- Soğuk blok üzerinde bulunan her bir örneğe 5X FlashTag Biotin HSR Ligation Mix'ten 4 μL eklendi.
- Ligasyon Karışımı ilave edildikten sonra, her bir örneğe 2 μL T4 DNA Ligaz eklendi. Ligasyon kendiliğinden meydana geldiğinden dolayı, bu adımda herhangi bir karıştırma işlemi yapılmadı.
- Oda sıcaklığında 25 °C'de 30 dakika inkübasyona bırakıldı.

- Her bir örneğe 2.5 µL HSR stop solüsyonu eklenerek reaksiyon durduruldu. Toplamda 23.5 µL hacime ulaşan örnekler karıştırıldı ve mikrosantrifüj edildi. Bu karışımdan toplam 21.5 µL hacim kullanıldı.
- Örnekler bu aşamada buz üzerinde 6 saat ya da -20 °C’de 2 hafta bekletilebilir.

3.7. GeneChip™ miRNA Array Prosedürü

Fırın, Diziler ve Numune Kayıt Dosyalarının Hazırlanması;

- miRNA array kitaplık dosya paketi (önceden gerçekleştirilmediyse), Command Console Kitaplığı Dosyası İçer Aktar sekmesini kullanarak GeneChip™ Command Console™ (AGCC) yazılımına indirildi ve yüklendi.
- Hybridization Oven 645 çalışmaya başlamadan yaklaşık bir saat öncesinde açıldı. Sıcaklık 48 °C, rpm değeri 60 olarak ayarlandı.
- Örnek ve dizi bilgileri (örnek adları, barkod kimlikleri vb.) AGCC'ye yüklendi.
- Array çiplerinin oda sıcaklığına (10-15 dakika) ısınması beklenildi.
- Hibridizasyon kokteyli enjekte edildiğinde uygun havalandırmayı sağlamak için şekil 3.2.’de görülen kartuşta sağ üst septuma 20 µL veya 200 µL pipet ucu (filtresiz pipet ucu) yerleştirilir.



Şekil 3.2. Array kartuşunun görünümü

3.8.Hibridizasyon ve Biyoinformatik Analiz

- 20X ökaryotik hibridizasyon kontrolleri tamamen çözdürüldü. 65°C'de 5 dakika ısıtıldı.
- Aşağıda verilen listedeki (Tablo 3.2.) bileşenlerden, belirtilen hacimlerde her bir örnek için alınarak kokteyl hazırlaması tamamlandı.

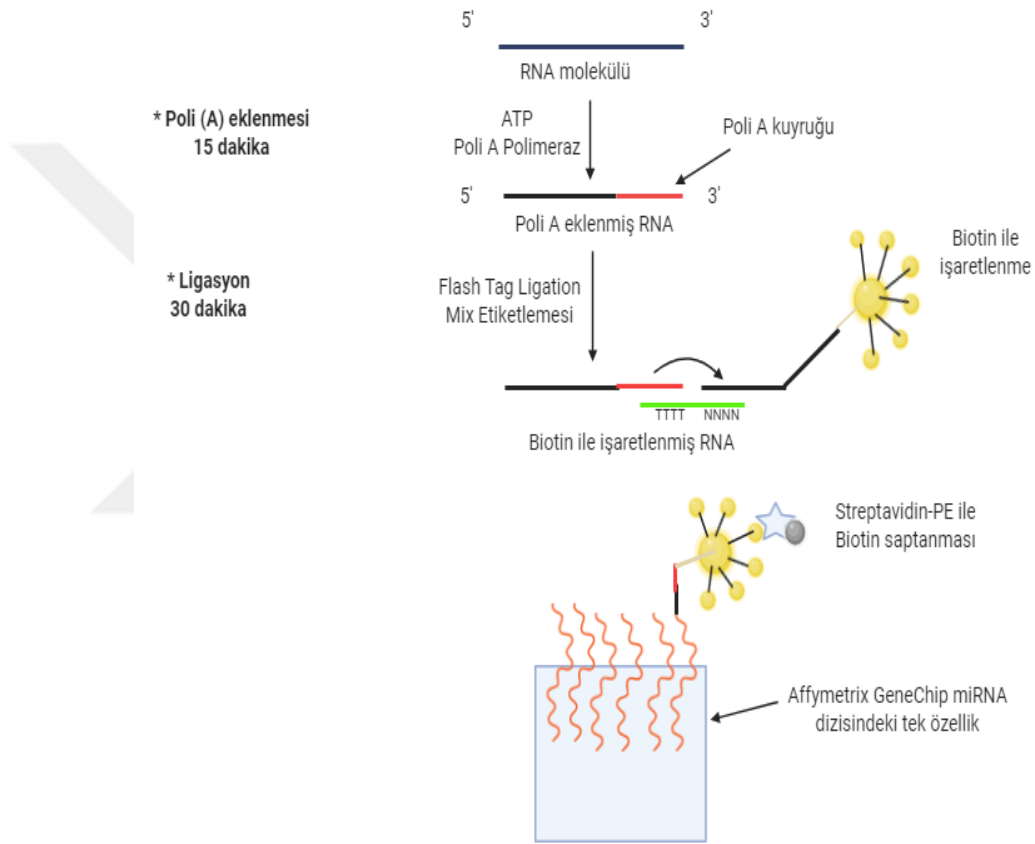
Tablo 3.2. Kokteyl bileşeninin hazırlaması

Bileşenler	1 örnek için
2X Hybridization karışımı	66 µL
27.5% Formamide (Tüp 12)	19,2 µL
DMSO	12,8 µL
20X Hibridizasyon kontrolleri	6,6 µL
Kontrol Oligo B2, 3nM	2,2 µL
Nükleaz içermeyen su	3,7 µL
Toplam hacim	110.5 µL

- Hazırlanan bu karışımdan her örnek üzerine 110.5 µL dağıtılır.
- Vorteks ve spin yapılır.
- 99 °C'de 5 dakika, 45 °C'de 5 dakika ve 45 °C'de sonsuz programında termal döngü cihazı konulur.
- Her array çipi içerisine 130 µL yükleme yapılır.

Arrayler 16 saat ThermoFisher/Affymetrix marka GeneChip cihaz sisteminin parçası olan Hybridization Oven 645'de 48°C ve 60 rpm'de inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda aynı cihaz sisteminin parçası olan Fluidics Station 450'de arrayler boyandı ve yıkandı. Yıkama sonunda yine aynı sistemin üçüncü ve son parçası olan GeneChip Scanner 3000-7G isimli cihaza chipler alınarak yüksek çözünürlükte taramaları yapılarak, miRNA'ların analizi için işlenecek olan ham verilerin dosyaları Affymetrix GeneChip Command Console Software ile *CEL formatında oluşturuldu. Görüntü analizinden sonra elde edilen verilerin normalleştirilmesi ThermoFisher/Affymetrix tarafından sağlanan Transcriptome

Analysis Console (TAC) Software (version 4.0.2.15) ile gerçekleştirildi. Normalized edilmiş dizilerin sinyal yoğunlukları $\log_2$ translasyonundan sonra *t-test*, ANOVA (ebayes) metodu ve mikrodizinin anlamlılık analizi gibi testlerle karşılaştırması yapıldı. İstatistiksel anlamlılık değeri $p < 0.05$, fold change > 2 veya < -2 değerleri aralığında seçilerek PKa ve BPH grupları arasındaki ekspresyon farklılığının en az 2 kat olması belirlendi. Şekilde 3.3’de mikro array çalışma prosedürünün genel şeması verilmiştir.



Şekil 3.3. Mikroarray çalışma prosedür özeti

3.9.miRNA dizilerinin seçimi

Elde edilen analiz sonuçlarına göre olgun miRNA’lar içerisinde ekspresyon düzeyi down regüle olanlar çevrimiçi miRNA dizileri veri tabanına sahip TargetScan (http://www.targetscan.org/cgi-bin/targetscan/vert_72/mirna_families.cgi?db=vert_72&species=Human) web sitesinden büyük oranda korunmuş olan miRNA’ların seçimi yapıldı.

3.10. miRNA genlerinin genomik bölgelerinin belirlenmesi

National Center for Biotechnology Information (NCBI) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) çevrimiçi yazılım veritabanı ve TAC (versiyon 4.0.2.15) yazılımı aracılığı ile elde edilen sonuçlarda miRNA'lara ait kromozom lokasyonlarının belirlenmesi, başlangıç/bitiş bölgelerinin belirlenmesi, bölgelerin hangi ipliğe ait olduğu, accession numaraları belirlenirken, seçilen miRNA'ların hedef genleri belirlemede DIANA-miRPath v.3/TarBase v7.0 (<http://snf-515788.vm.okeanos.grnet.gr/>) çevrimiçi yazılım veritabanları kullanılmıştır.

3.11. miRNA yolak analizi

Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG), genomlar, enzimatik yollar, hastalıklar ve biyolojik kimyasallarla ilgili veri tabanlarının bir koleksiyonudur. KEGG, genomik, metagenomik, metabolomik ve diğer omik çalışmalarda veri analizi, sistem biyolojisinde modelleme, simülasyon ve ilaç geliştirme çalışmalarında biyoinformatik araştırma ve eğitimi için kullanılan veri tabanıdır. miRNA hedef etkileşimleri DIANA-miRPath v.3 (<http://snf-515788.vm.okeanos.grnet.gr/>) sunucusu kullanılarak KEGG veritabanından yolak haritasına erişim sağlandı.

3.12. Fonksiyonel zenginleştirme analizi, tahmin edilen miRNA hedeflerinin tespiti ve etkileşim analizi

FunRich, genlerin ve proteinlerin işlevsel zenginleştirme ve etkileşim ağı analizi için kullanılan bir yazılım aracıdır. PKa ve BPH örneklerinde farklı şekilde ekspresye edilen miRNA'ların hedef genleri, Funrich (versiyon 3.1.3) miRNA zenginleştirme aracı ile hedef genlerin etkileşimi, biyolojik yolak ve biyolojik süreç gibi verilerinin elde edilmesinde kullanıldı.

4. BULGULAR

Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Üroloji Anabilim Dalı çalışma ekibi tarafından yürütülen bu çalışmada toplam 40 hastada, 80 örnek üzerinden çalışma yapılmıştır. Hastalar, PKa ve BPH olmak üzere iki gruptan oluşmaktadır. Her grup kendi içerisinde PKMH ve doku örnekleri olmak üzere 2 gruba ayrılmıştır. Birinci grup, 55-65 yaşları arasında olup prostat kanseri için tanı almış 20 hastadan; ikinci grup, 51-65 yaşları arasında BPH için tanı almış 20 hastadan oluşmaktadır. Prostat kanseri ve BPH tanısıyla klinik izlemi yapılan, bunun neticesinde operasyon kararı verilen hastaların materyallerinin histopatolojik incelenmesi, gleason skorları, PSA değerleri ile korele olarak hastalar çalışmaya dahil edilmiştir. Hastalar ait bilgiler Tablo 4.1.'de listelenmiştir.

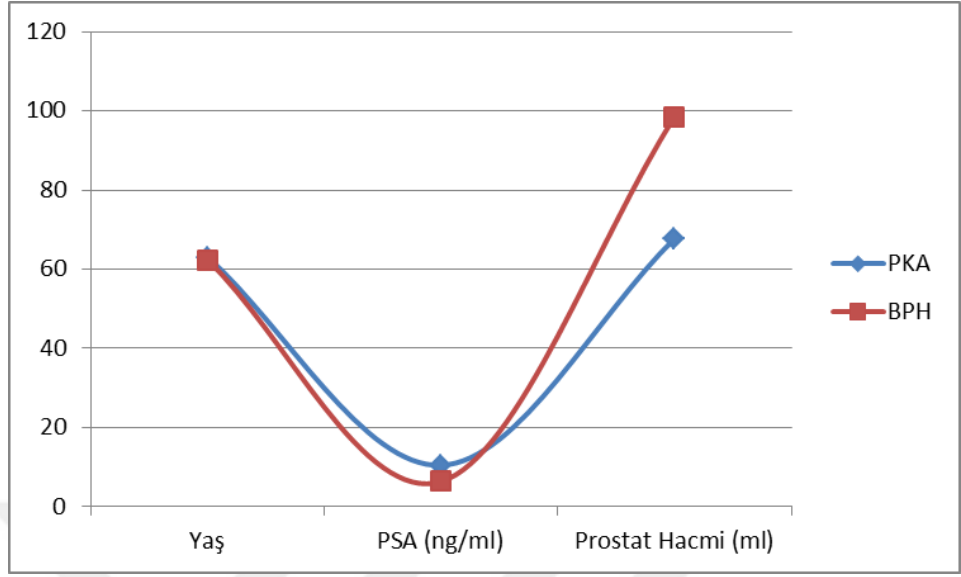
Tablo 4.1. Hasta gruplarına ait klinik bilgiler

Örnek No	Hasta Grubu	Örnek Türü	PSA Değeri ng/ml	Prostat hacmi	TNM Evrelemesi	Gleason Skoru
1	PKa	Doku/PKMH	6.51	90	T1b	3+3
2	PKa	Doku/PKMH	5.02	80	T1a	3+3
3	PKa	Doku/PKMH	4.74	70	T1a	3+3
4	PKa	Doku/PKMH	1.9	50	T1b	3+3
5	PKa	Doku/PKMH	8	50	T1a	3+3
6	PKa	Doku/PKMH	18.94	75	T1a	3+3
7	PKa	Doku/PKMH	8	50	T2b	4+4
8	PKa	Doku/PKMH	16.24	60	T3b	4+4
9	PKa	Doku/PKMH	13.37	100	T1b	5+4
10	PKa	Doku/PKMH	10.94	150	T3b	4+5
11	PKa	Doku/PKMH	1.18	50	T1b	5+4
12	PKa	Doku/PKMH	10.53	50	T2c	3+4
13	PKa	Doku/PKMH	6.6	60	T2a	3+3
14	PKa	Doku/PKMH	4.8	45	T2a	3+3
15	PKa	Doku/PKMH	6.23	75	T2a	3+3
16	PKa	Doku/PKMH	4.91	55	T2a	3+3

Tablo 4.2. Hasta gruplarına ait klinik bilgiler (Devam)

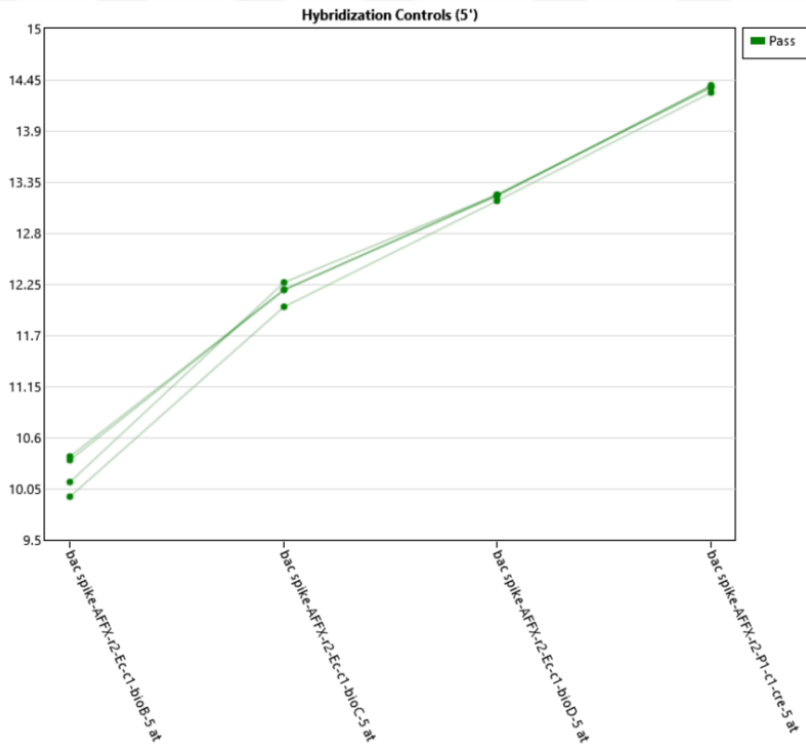
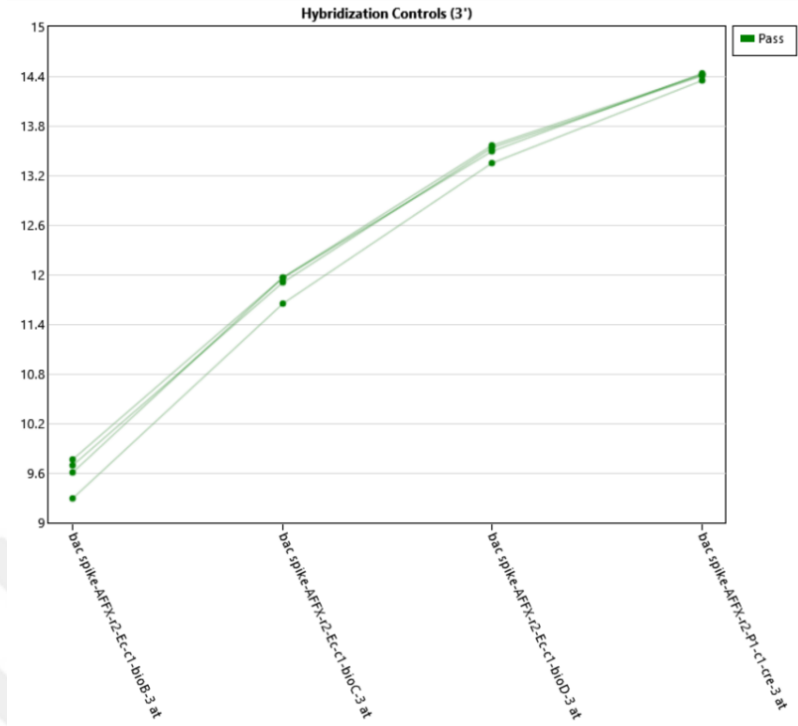
17	PKa	Doku/PKMH	56.15	70	T2c	5+4
18	PKa	Doku/PKMH	5.14	45	T3b	5+5
19	PKa	Doku/PKMH	9.18	50	T2a	3+4
20	PKa	Doku/PKMH	11	80	T1b	4+4
21	BPH	Doku/PKMH	16	115	-	-
22	BPH	Doku/PKMH	9.7	130	-	-
23	BPH	Doku/PKMH	4.78	80	-	-
24	BPH	Doku/PKMH	3.14	150	-	-
25	BPH	Doku/PKMH	3.59	90	-	-
26	BPH	Doku/PKMH	4.49	80	-	-
27	BPH	Doku/PKMH	3.23	60	-	-
28	BPH	Doku/PKMH	3.05	75	-	-
29	BPH	Doku/PKMH	37.22	200	-	-
30	BPH	Doku/PKMH	6.01	180	-	-
31	BPH	Doku/PKMH	1.69	40	-	-
32	BPH	Doku/PKMH	1.58	60	-	-
33	BPH	Doku/PKMH	5.04	100	-	-
34	BPH	Doku/PKMH	2.2	60	-	-
35	BPH	Doku/PKMH	4.44	80	-	-
36	BPH	Doku/PKMH	1.77	120	-	-
37	BPH	Doku/PKMH	1.77	120	-	-
38	BPH	Doku/PKMH	9.4	75	-	-
39	BPH	Doku/PKMH	3.96	45	-	-
40	BPH	Doku/PKMH	4.35	110	-	-

Prostat kanseri grubunda bulunan 20 hastanın yaş ortalaması 63, PSA ortalaması 10,469 ng/ml, prostat hacmi ortalaması 67,75 ml iken, benign prostat hiperplazi grubunda olan 20 hastanın yaş ortalaması 62,25, PSA ortalaması 6,3705 ng/ml, prostat hacmi ortalaması 98,5 ml'dir. Hastalara ait bu bilgiler Şekil 4.1'de gösterilmiştir.

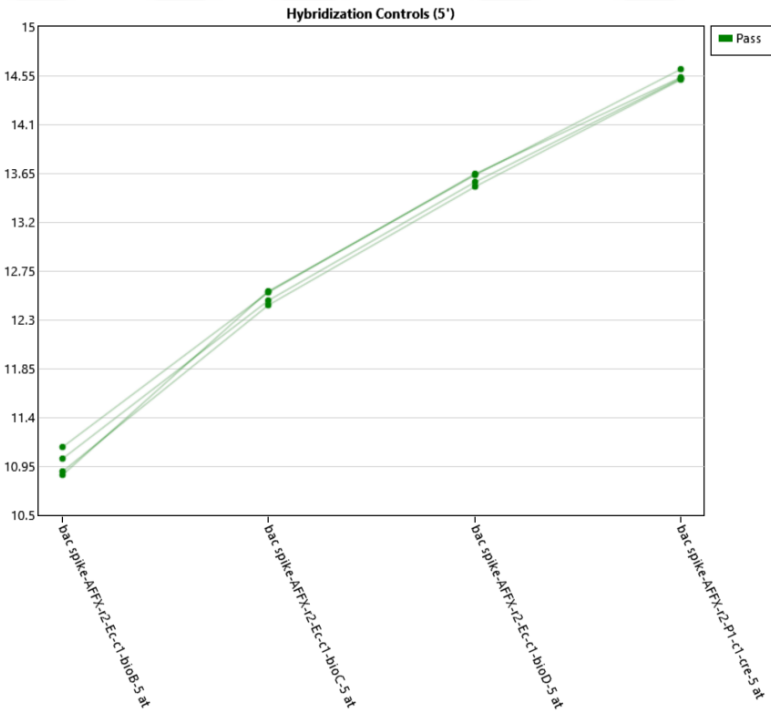
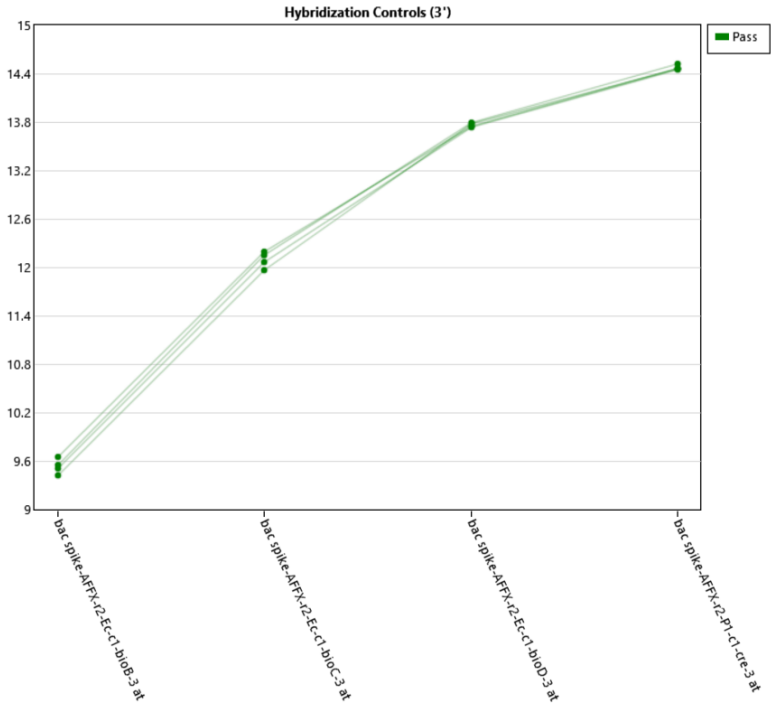


Şekil 4.1. Hastalara ait yaş, PSA ve prostat hacmi ortalamaları.

Gruplar arasındaki ekspresyon farklılıklarını belirlemeden önce hibridizasyon kokteyline eklenen hibridizasyon kontrollerinin (bioB, bioC, bioD ve cre'den) çalışıp çalışmadığı kontrol edildi. Kontrol değerlerimizde herhangi bir sorun olmadığı, uygun değer aralıklarında olduğu görüldü. Şekil 4.2'de dokulara ait, şekil 4.3'te PKMH'lere ait kontrol sonuçları verilmiştir.



Şekil 4.2. PKa ve BPH gruplarının dokularına ait kontrol sonuçları



Şekil 4.3. PKa ve BPH gruplarının PKMH'lerine ait kontrol sonuçları

Kontrol sonuçlarının uygun değer aralıklarında çıkmasının ardından PKa ve BPH gruplarına ait dokularda miRNA ekspresyon karşılaştırması yapılarak miRNA'ların down regülasyonu / up regülasyonu, fold change, p- değerleri, miRNA'ların hedef gen sayıları, erişim numaraları, hangi iplikçikte bulundukları, başlama ve bitiş pozisyonlarına ait bilgiler tablo 4.2.'de, PKa ve BPH gruplarına ait PKMH'lerde miRNA ekspresyon karşılaştırması yapılarak miRNA'ların down regüle / up regüle durumları, fold change, p-değerleri, miRNA'ların hedef gen sayıları, erişim numaraları, hangi iplikçikte bulundukları, başlama ve bitiş pozisyonlarına ait bilgiler tablo 4.3.'te verilmiştir. PKa grubu dokularında BPH grubu dokularına kıyasla 37 adet farklı eksprese olmuş miRNA belirlenmiştir. Bunlardan 24 tanesi down regüle olur iken, 13 tanesi up regüle olmuştur. PKa grubu PKMH'lerinde, BPH grubu PKMH'lerine kıyasla 27 adet farklı eksprese olmuş miRNA belirlenmiştir. Bunlardan 11 tanesi down regüle olur iken, 16 tanesi up regüle olmuştur. İleri analiz için; down regüle olan miRNA'lardan büyük oranda korunmuş olan miRNA'lar TargetScanHuman Release 7.2 (http://www.targetscan.org/vert_71/) veri tabanı kullanılarak belirlenmiştir. Mikroarray analizi ile elde edilen verilerden, büyük oranda korunmuş ve PKa grubunda, BPH grubuna kıyasla down regüle olarak seçilen miRNA'ların 10 tanesi dokulara, 4 tanesi PKMH'lere ait olmak üzere lokasyonlarının ideogramda gösterilmesi Şekil 4.4'te verilmiştir.

Serpilme diyagramı (scatter plot), bir tür kalite diyagramıdır. İki farklı değişkenin arasındaki ilişkiyi belirlemek için kullanılır. İlgili iki değişkenin arasında direkt olarak bir ilişki bulunup bulunmadığı ve bu ilişkinin ne derece güçlü olduğu görülebilir. PKa ve BPH gruplarının doku örneklerine ait scatter plot diyagramı Şekil 4.5.'te, PKMH'lerin scatter plot diyagramı ise Şekil 4.6.'te.'de verilmiştir.

Volkan grafiği (volcano plot), yinelenen verilerden oluşan büyük veri kümelerindeki değişiklikleri hızlı bir şekilde tanımlamak için kullanılan bir tür dağılım grafiğidir. Değişimin büyüklüğüne (kat değişimi) karşı istatistiksel önemi (P değeri) gösteren bir dağılım grafiği türüdür. Bir volkan grafiğinde, up regüle genler sağa doğru, down regüle genler sola doğrudur ve istatistiksel olarak p değeri en küçük genler grafiğin üst kısımlarına doğru yer almaktadır. PKa ve BPH

gruplarının doku örneklerine ait volcano plot diyagramı Şekil 4.7.'da, PKMH'lerin volcano plot diyagramı Şekil 4.8.'de gösterilmiştir.



Tablo 4.3. Doku örneklerinde PKa grubunun, BPH grubuna kıyasla down regüle/up regüle miRNA listesi

Sayı	Transkript Küme Kimliği	Katsayı Değişimi (linear) (PKa vs BPH)	Anova P-değeri (PKa vs BPH) *	Hedef Gen Sayısı	Transkript Kimliği (Dizi Tasarımı)	Erişim Numarası	Kromozom	Kalıp İplik**	Transkripsiyon Başlangıç Noktası	Transkripsiyon Bitiş Noktası
1	20503803	-5.22	0.0296	830	hsa-miR-494-3p	MIMAT0002816	chr14	+	101496018	101496039
2	20515528	-4.06	0.029	56	hsa-miR-3128	MIMAT0014991	chr2	-	178120712	178120734
3	20500723	-3.57	0.0308	1258	hsa-miR-27b-3p	MIMAT0000419	chr9	+	97847787	97847807
4	20500162	-3.46	0.0142	1494	hsa-miR-30a-5p	MIMAT0000087	chr6	-	72113298	72113319
5	20529794	-3.26	0.0181	83	hsa-miR-8084	MIMAT0031011	chr8	+	94041989	94042011
6	20500144	-3.02	0.0037	1004	hsa-miR-22-3p	MIMAT0000077	chr17	-	1617208	1617229
7	20500181	-2.87	0.0004	931	hsa-miR-99a-5p	MIMAT0000097	chr21	+	17911421	17911442
8	20517675	-2.86	0.0077	32	hsa-miR-378c	MIMAT0016847	chr10	-	132760897	132760921
9	20525633	-2.8	0.0043	178	hsa-miR-6780b-5p	MIMAT0027572	chr6	+	43402285	43402307
10	20518834	-2.76	0.0123	54	hsa-miR-4454	MIMAT0018976	chr4	-	164014759	164014778
11	20504396	-2.69	0.0498	73	hsa-miR-642a-3p	MIMAT0020924	chr19	+	46178236	46178257
12	20500183	-2.67	0.0016	1025	hsa-miR-100-5p	MIMAT0000098	chr11	-	122022983	122023004
13	20500148	-2.66	0.0387	1581	hsa-miR-24-3p	MIMAT0000080	chr19	-	13947103	13947124
14	20501312	-2.54	0.02	860	hsa-miR-345-5p	MIMAT0000772	chr14	+	100774213	100774234

Tablo 4.4. Doku örneklerinde PKa grubunun, BPH grubuna kıyasla down regüle/up regüle miRNA listesi (Devam)

15	20524036	-2.47	0.0056	62	hsa-miR-6126	MIMAT0024599	chr16	-	3535422	3535439
16	20518930	-2.38	0.013	34	hsa-miR-4529-3p	MIMAT0019068	chr18	+	53146501	53146521
17	20501287	-2.37	0.0164	906	hsa-miR-151a-3p	MIMAT0000757	chr8	-	141742686	141742706
18	20500444	-2.32	0.0388	1408	hsa-miR-181a-5p	MIMAT0000256	chr1	-	198828237	198828259
19	20500746	-2.29	0.0189	1063	hsa-miR-140-3p	MIMAT0004597	chr16	+	69967045	69967065
20	20519554	-2.26	0.0142	42	hsa-miR-4721	MIMAT0019835	chr16	-	28855248	28855269
21	20501243	-2.25	0.0029	153	hsa-miR-378a-3p	MIMAT0000732	chr5	+	149112430	149112450
22	20500484	-2.15	0.0106	1254	hsa-miR-221-3p	MIMAT0000278	chrX	-	45605608	45605630
23	20500752	-2.14	0.0267	974	hsa-miR-143-3p	MIMAT0000435	chr5	+	148808541	148808561
24	20500159	-2	0.0439	867	hsa-miR-28-3p	MIMAT0004502	chr3	+	188406622	188406643
25	20535911	2.06	0.0035	-	hsa-mir-1282	MI0006429	chr15	-	44085857	44085957
26	20525657	2.12	0.0033	64	hsa-miR-6848-5p	MIMAT0027596	chr8	-	145540951	145540973
27	20519405	2.22	0.0049	83	hsa-miR-4632-5p	MIMAT0022977	chr1	+	12251770	12251792
28	20501237	2.23	0.0092	1253	hsa-miR-375	MIMAT0000728	chr2	-	219866370	219866391
29	20501293	2.23	0.0138	1183	hsa-miR-331-3p	MIMAT0000760	chr12	+	95702256	95702276
30	20505790	2.24	0.0391	929	hsa-miR-885-3p	MIMAT0004948	chr3	-	10436183	10436204
31	20519609	2.57	0.0016	8	hsa-miR-4750-5p	MIMAT0019887	chr19	+	50391434	50391455
32	20506896	2.62	0.0064	110	hsa-miR-664a-5p	MIMAT0005948	chr1	-	220373928	220373951

Tablo 4.2. Doku örneklerinde PKa grubunun, BPH grubuna kıyasla down regüle/up regüle miRNA listesi (Devam)

33	20521786	2.65	0.001	61	hsa-miR-5572	MIMAT0022260	chr15	+	80873520	80873540
34	20515637	2.69	0.0031	22	hsa-miR-3195	MIMAT0015079	chr20	+	60639868	60639884
35	20523007	2.85	0.0287	16	hsa-miR-6075	MIMAT0023700	chr5	-	1510882	1510902
36	20518625	3.34	0.0141	40	hsa-miR-3937	MIMAT0018352	chrX	+	39520530	39520552
37	20517902	3.57	0.0115	30	hsa-miR-3651	MIMAT0018071	chr9	-	95054743	95054766

* İstatistiksel olarak anlamlılık düzeyi, (p-değeri) <0.05 olarak belirlendi. İki kattan fazla değişiklik (fold change), down regüle/up regüle miRNA'lar için analiz edildi.

Gösterilen tabloda toplam 37 miRNA'nın farklı şekilde ifade edildiği bulundu.

** DNA'ya ait 5'-> 3' yönündeki iplik (+), 3'-> 5' iplik (-) olarak ifade edilmektedir.

Tablo 4.5. PKMH örneklerinde PKa grubunun, BPH grubuna kıyasla down regüle/up regüle miRNA listesi

Sayı	Transkript Küme Kimliği	Katsayı Değişimi (linear) (PKa vs BPH)	Anova P-değeri (PKa vs BPH) *	Hedef Gen Sayısı	Transkript Kimliği (Dizi Tasarımı)	Erişim Numarası	Kromozom	Kalıp İplik**	Transkripsiyon Başlangıç Noktası	Transkripsiyon Bitiş Noktası
1	20503803	-3.45	0.0002	830	hsa-miR-494-3p	MIMAT0002816	chr14	+	101496018	101496039
2	20515528	-3.01	0.0054	56	hsa-miR-3128	MIMAT0014991	chr2	-	178120712	178120734
3	20502446	-2.65	0.0004	882	hsa-miR-451a	MIMAT0001631	chr17	-	27188421	27188442
4	20500128	-2.52	0.0105	2288	hsa-miR-16-5p	MIMAT0000069	chr13	-	50623163	50623184
5	20520204	-2.45	0.0025	45	hsa-miR-5004-5p	MIMAT0021027	chr6	+	33406128	33406149
6	20529794	-2.37	0.0175	83	hsa-miR-8084	MIMAT0031011	chr8	+	94041989	94042011
7	20500121	-2.34	0.0019	1401	hsa-let-7e-5p	MIMAT0000066	chr19	+	52196046	52196067
8	20500721	-2.33	0.0005	1164	hsa-miR-23b-3p	MIMAT0000418	chr9	+	97847547	97847567
9	20515646	-2.31	0.0008	37	hsa-miR-3201	MIMAT0015086	chr22	+	48670176	48670192
10	20504554	-2.27	0.022	18	hsa-miR-668-5p	MIMAT0026636	chr14	+	101521601	101521619
11	20504316	-2.01	0.003	1180	hsa-miR-548a-3p	MIMAT0003251	chr6	+	18572075	18572096
12	20500782	2.04	0.0193	1141	hsa-miR-150-5p	MIMAT0000451	chr19	-	50004089	50004110
13	20518788	2.06	0.0148	27	hsa-miR-378f	MIMAT0018932	chr1	+	24255611	24255630
14	20500771	2.07	0.014	761	hsa-miR-127-3p	MIMAT0000446	chr14	+	101349372	101349393

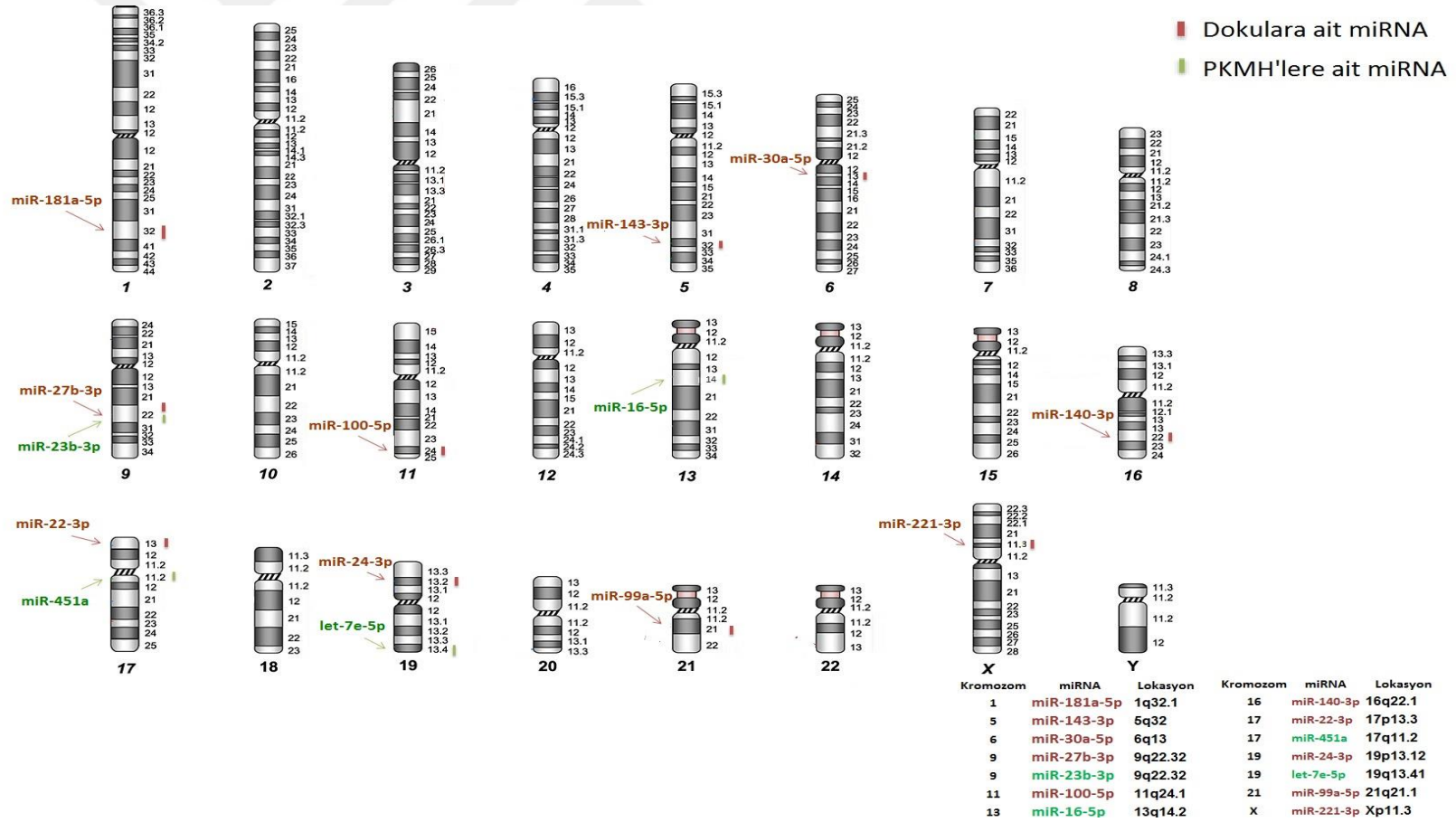
Tablo 4.6. PKMH örneklerinde PKa grubunun, BPH grubuna kıyasla down regüle/up regüle miRNA listesi (Devam)

15	20509237	2.14	0.0005	184	hsa-miR-1915-3p	MIMAT0007892	chr10	-	21785505	21785524
16	20537261	2.15	0.0138	-	hsa-mir-6089-1	MI0020366	chrX	+	2527232	2527295
17	20537862	2.15	0.0138	-	hsa-mir-6089-2	MI0023563	chrY	+	2477232	2477295
18	20525699	2.18	0.0061	107	hsa-miR-6869-5p	MIMAT0027638	chr20	-	1373584	1373605
19	20525553	2.23	0.0069	51	hsa-miR-6796-5p	MIMAT0027492	chr19	+	40875758	40875780
20	20518880	2.23	0.0008	108	hsa-miR-4486	MIMAT0019020	chr11	+	19596861	19596877
21	20519573	2.26	0.0058	15	hsa-miR-4730	MIMAT0019852	chr17	+	78393227	78393249
22	20500761	2.35	0.0006	874	hsa-miR-191-5p	MIMAT0000440	chr3	-	49058105	49058127
23	20519493	2.37	0.0288	38	hsa-miR-4687-3p	MIMAT0019775	chr11	+	3877343	3877363
24	20514163	2.45	0.0134	44	hsa-miR-2861	MIMAT0013802	chr9	+	130548250	130548268
25	20518815	2.48	0.0115	4	hsa-miR-4440	MIMAT0018958	chr2	-	239990525	239990546
26	20517729	2.88	0.0028	142	hsa-miR-4270	MIMAT0016900	chr3	-	15537786	15537805
27	20525561	4.22	0.0004	32	hsa-miR-6800-5p	MIMAT0027500	chr19	+	50335279	50335299

* İstatistiksel olarak anlamlılık düzeyi, (p-değeri) <0.05 olarak belirlendi. İki kattan fazla değişiklik (fold change), down regüle/ up regüle miRNA'lar için analiz edildi.

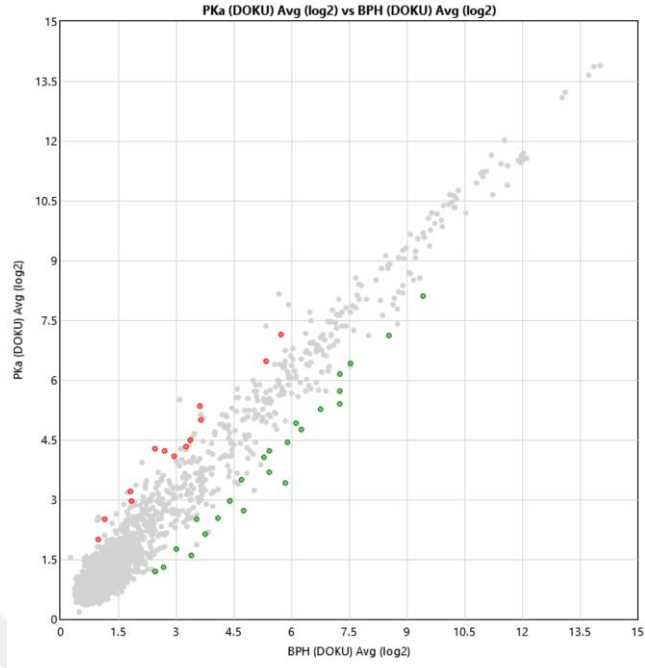
Gösterilen tabloda toplam 27 miRNA'nın farklı şekilde ifade edildiği bulundu.

** DNA'ya ait 5'-> 3' yönündeki iplik (+), 3'-> 5' iplik (-) olarak ifade edilmektedir.

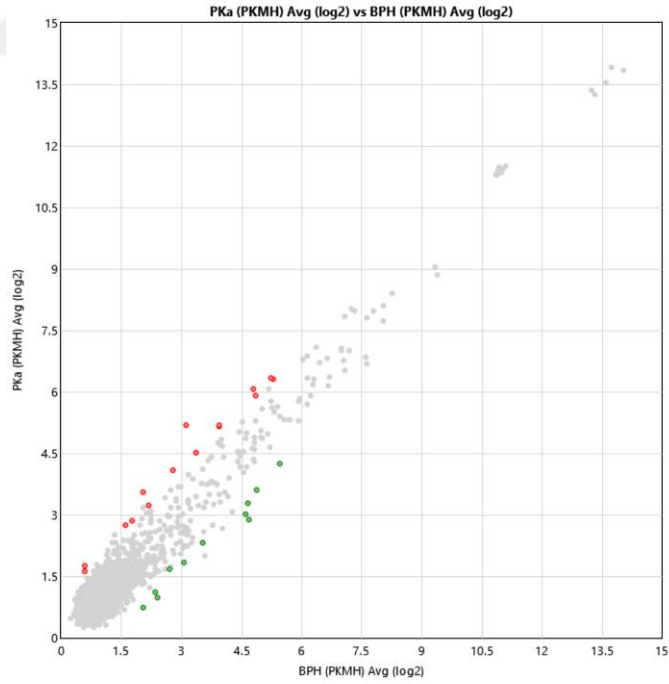


Şekil 4.4. PCa grubunda downregüle olarak ifade edilen, büyük oranda korunmuş doku ve PKMH'lere ait miRNA'ların ideogramda gösterilmesi.

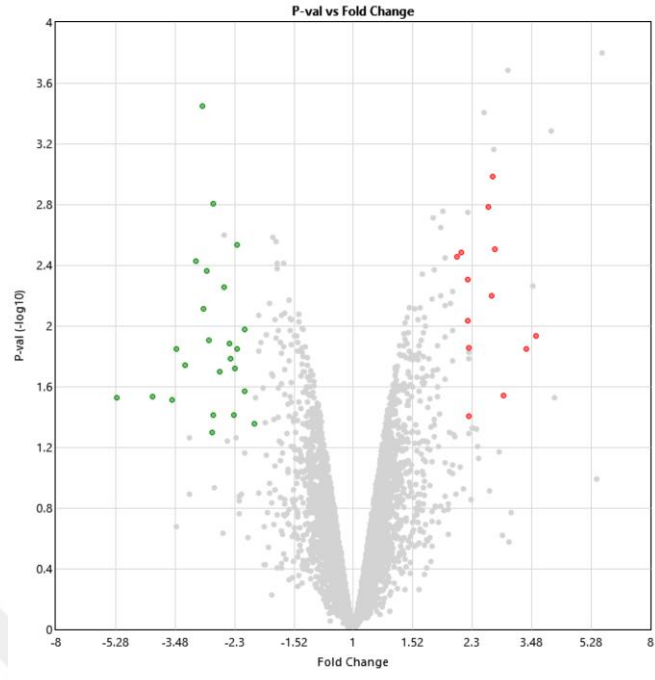
Kırmızı renkler: doku, **yeşil renkler:** PKMH örneklerine ait miRNA'ları göstermektedir.



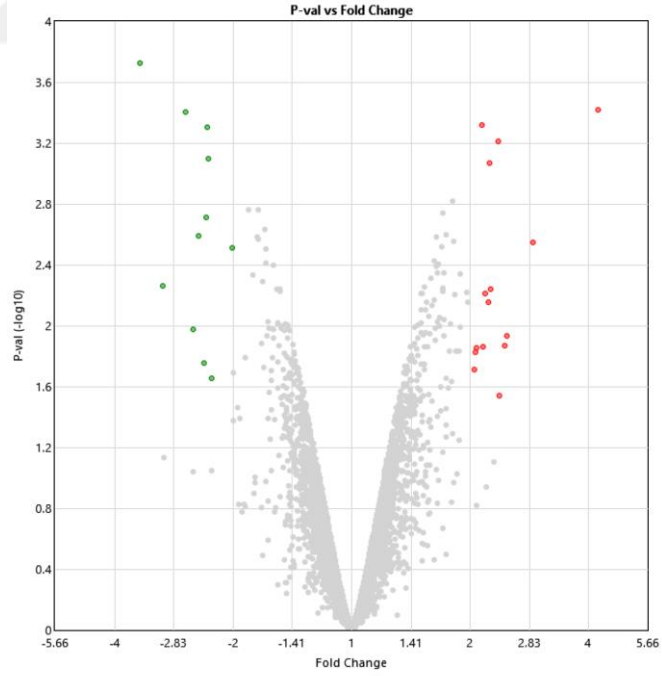
Şekil 4.5. PKa ve BPH gruplarının doku örneklerine ait scatter plot diyagramı



Şekil 4.6. PKa ve BPH gruplarının PKMH örneklerine ait scatter plot diyagramı

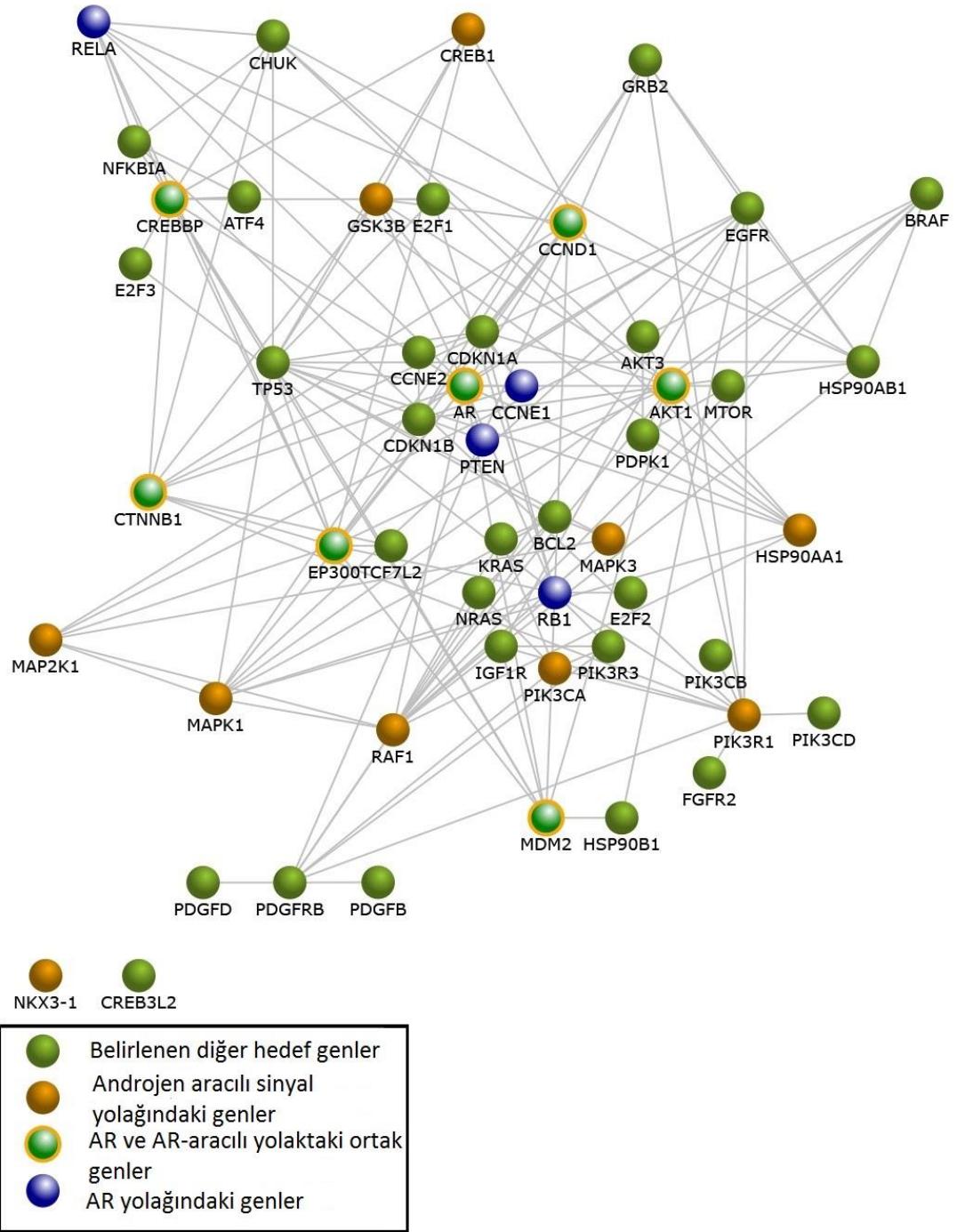


Şekil 4.7. PKa ve BPH gruplarının doku örneklerine ait volcano plot diyagramı



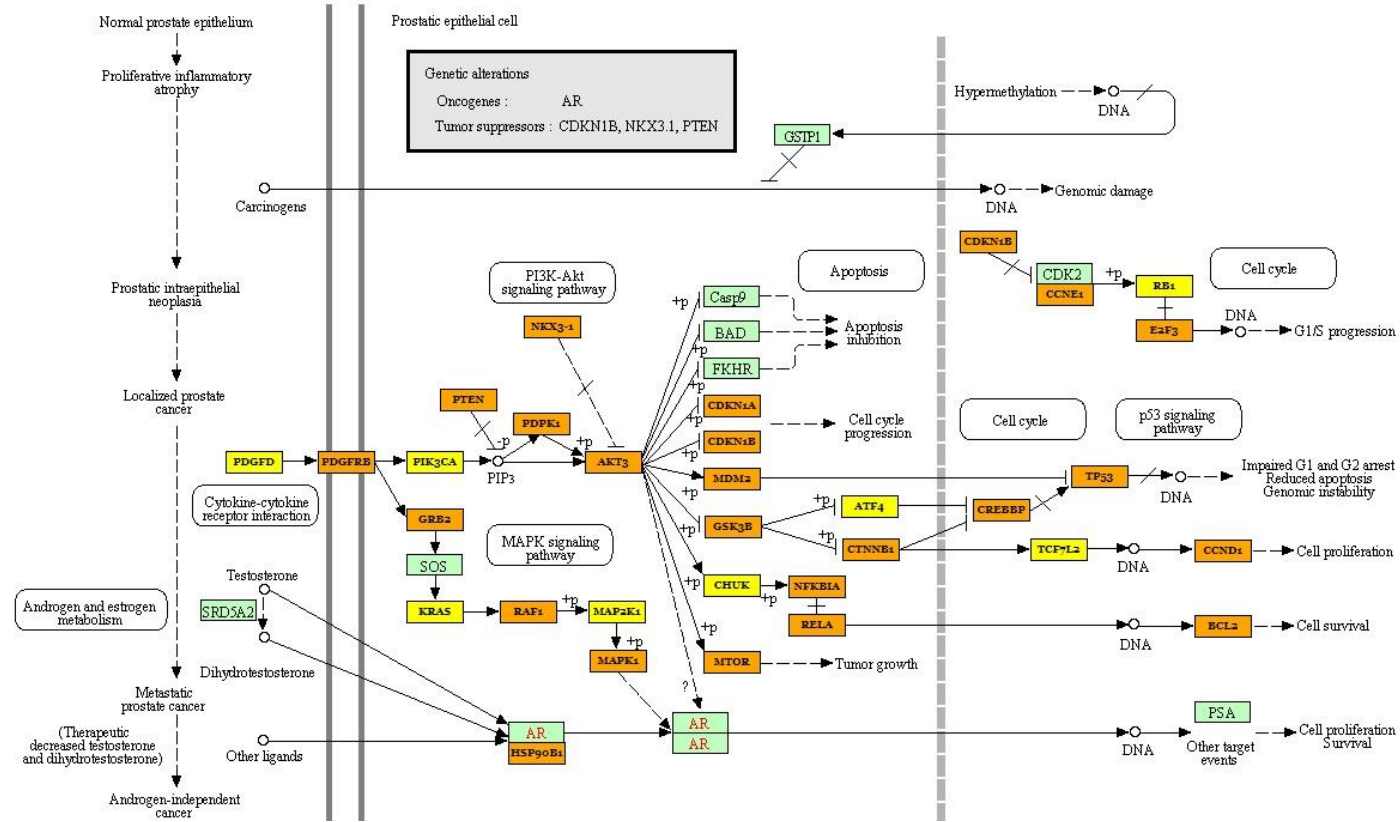
Şekil 4.8. PKa ve BPH gruplarının PKMH örneklerine ait volcano plot diyagramı

Doku örneklerinde PKa grubunun, BPH grubuna karşı kıyaslanması neticesinde down regüle ve büyük oranda korunmuş miRNA'lar; hsa-miR-27b-3p, hsa-miR-30a-5p, hsa-miR-22-3p, hsa-miR-99a-5p, hsa-miR-100-5p, hsa-miR-24-3p, hsa-miR-181a-5p, hsa-miR-140-3p, hsa-miR-221-3p, hsa-miR-143-3p olarak belirlendi. DIANA-miRPath v3 analizi sonucuna göre bu 10 miRNA'nın prostat kanserinde hedeflediği genler; BRAF, GSK3B, E2F1, E2F2, NRAS, PIK3CB, TCF7L2, HSP90AA1, RAF1, CHUK, BCL2, CDKN1B, IGF1R, EGFR, KRAS, TP53, CREB1, AR, PIK3CD, PIK3R3, CCND1, CTNNB1, CCNE2, E2F3, AKT1, PDGFB, HSP90AB1, NFKBIA, PIK3R1, RB1, HSP90B1, MAPK3, EP300, NKX3-1, AKT3, CREB3L2, CCNE1, PDGFD, PIK3CA, CDKN1A, MAP2K1, PDPK1, MTOR, FGFR2, RELA, PTEN, MAPK1, CREBBP, GRB2, MDM2, ATF4, PDGFRB olarak belirlendi. Funrich işlevsel zenginleştirme yazılımı kullanılarak belirlenmiş olan bu genlerin protein-protein etkileşimleri şekil 4.9'da gösterildi. AR yolağında; RELA, CCNE1, PTEN, RB1, AR, CREBBP, CCND1, CTNNB1, EP300, AKT1, MDM2. Androjen aracılı sinyal yolağında; CREB1, GSK3B, MAPK3, HSP90AA1, PIK3CA, PIK3R1, RAF1, MAPK1, MAP2K1, NKX3-1, AR, CREBBP, CCND1, CTNNB1, EP300, AKT1, MDM2. Her iki yolakta ortak olarak rol alan hedef genler ise; AR, CREBBP, CCND1, CTNNB1, EP300, AKT1, MDM2 olarak belirlenmiştir. Prostat kanserinde DIANA-miRPath v.3 web sunucusu tarafından hesaplanan miRNA'ların etkilemiş olduğu genlere, KEGG veri tabanından yolak haritasına erişimi sağlandı ve bu genler renkli olarak şekil 4.10'da gösterildi.



Şekil 4.9. PKa grubunda, dokularda down regüle miRNA'ların etkilediği genler ve protein-protein etkileşiminin Funrich yazılım aracılığı ile gösterilmesi

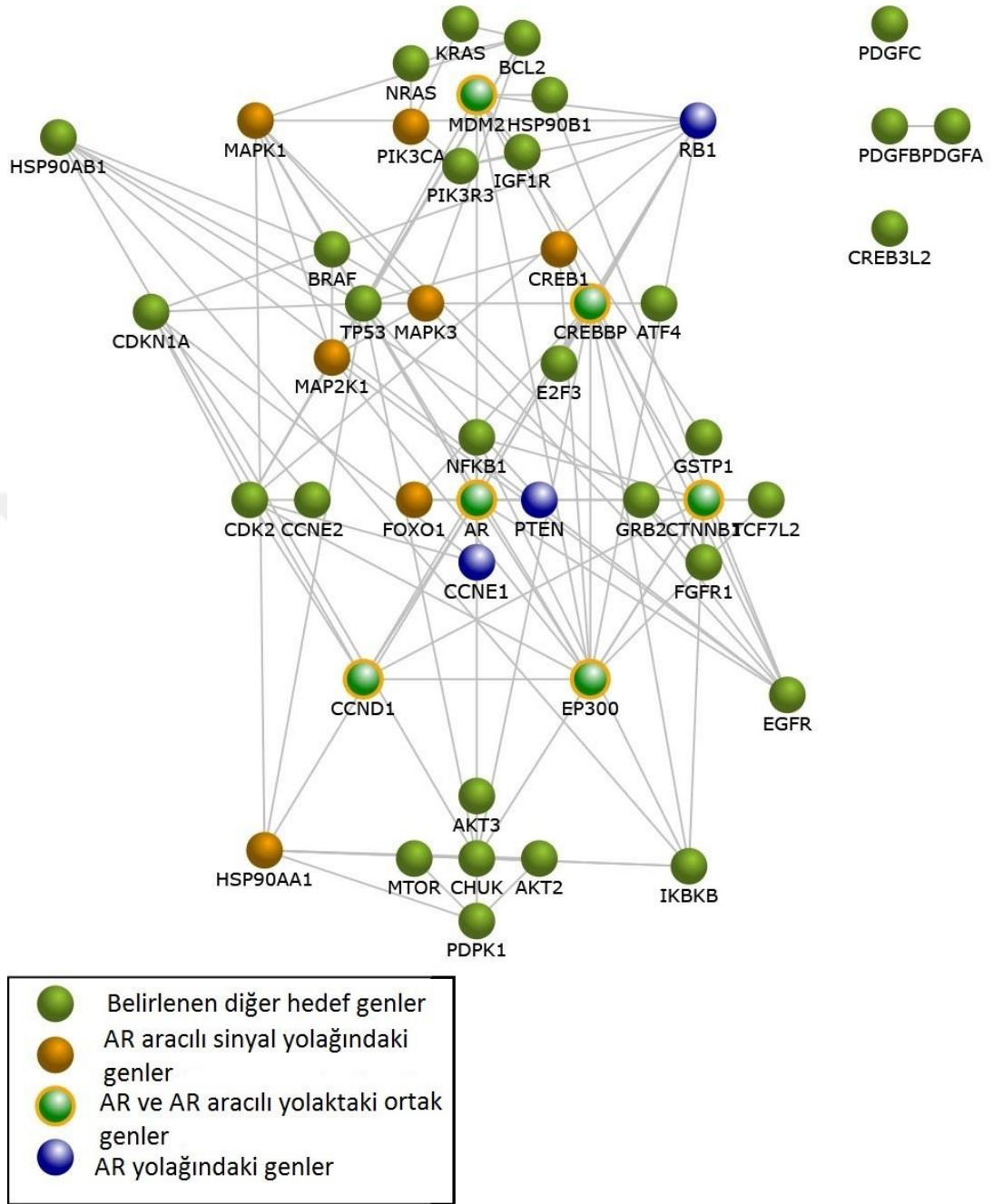
PROSTATE CANCER



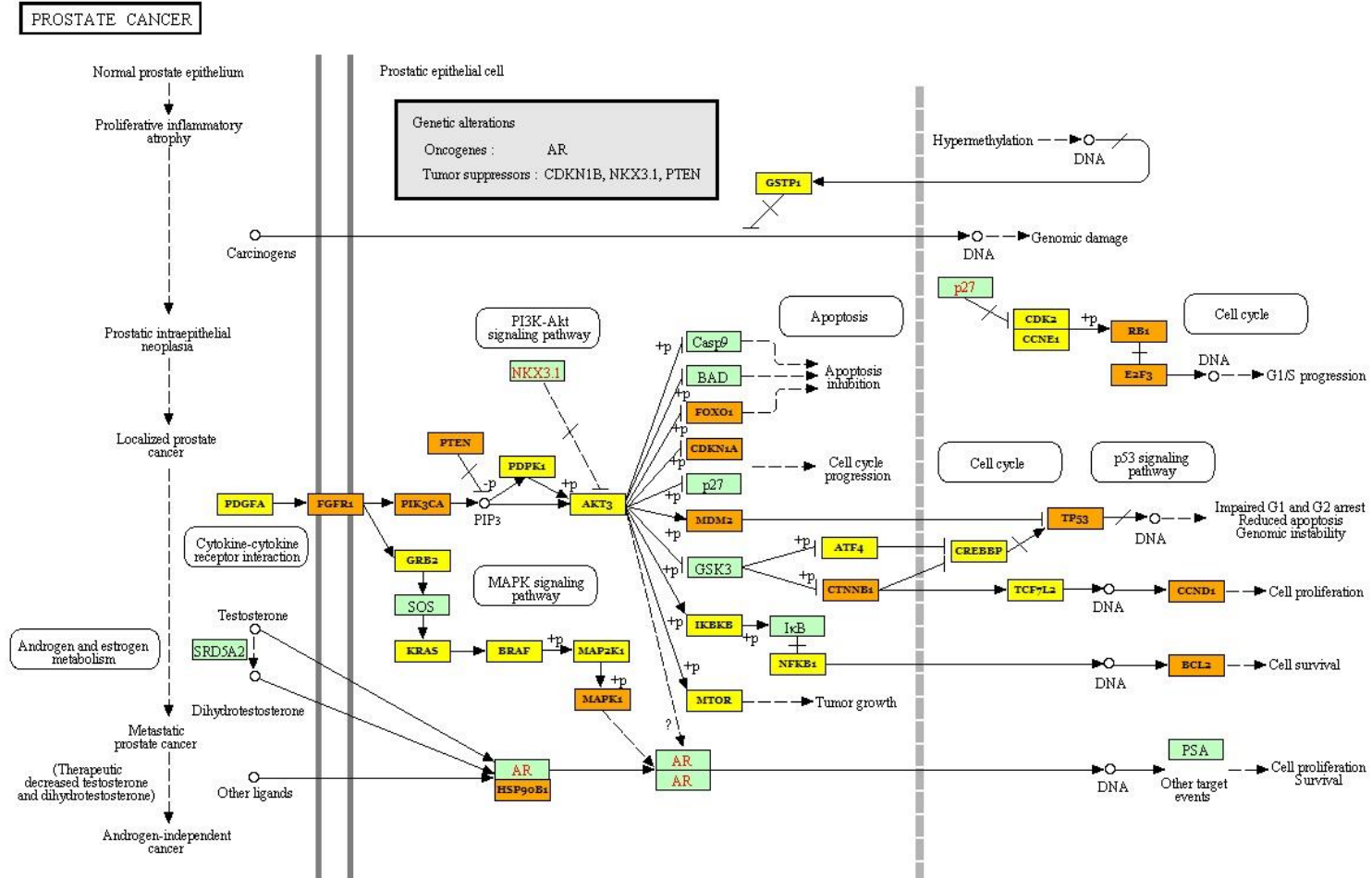
Şekil 4.10. Prostat kanseri yolağında dokularda büyük oranda korunmuş miRNA'ların hedeflediği genler

Yeşil kutular: düzenli genler. **Sarı kutular:** bir miRNA tarafından düzenlenen genler. **Turuncu kutular:** birden fazla miRNA tarafından düzenlenen genler

PKMH örneklerinde PKa grubunun, BPH grubuna karşı kıyaslanması neticesinde down regüle ve büyük oranda korunmuş miRNA'lar; hsa-miR-451a, hsa-miR-16-5p, hsa-let-7e-5p, hsa-miR-23b-3p olarak belirlenmiştir. DIANA-miRPath v3 analizi sonucuna göre bu 4 miRNA'nın prostat kanserinde hedeflediği genler; BRAF, NFKB1, NRAS, TCF7L2, CDK2, HSP90AA1, CHUK, BCL2, IGF1R, EGFR, KRAS, TP53, CREB1, IKBKB, AKT2, AR, PIK3R3, CCND1, CTNNB1, CCNE2, E2F3, PDGFB, HSP90AB1, GSTP1, RB1, HSP90B1, MAPK3, EP300, AKT3, PDGFC, CREB3L2, CCNE1, PIK3CA, CDKN1A, MAP2K1, PDPK1, MTOR, PTEN, FGFR1, FOXO1, MAPK1, CREBBP, GRB2, MDM2, ATF4, PDGFA olarak belirlendi. Funrich işlevsel zenginleştirme yazılımı kullanılarak, belirlenmiş olan bu genlerin protein-protein etkileşimleri şekil 4.11'da gösterilmiştir. AR yolağında; RB1, PTEN, CCNE1, AR, MDM2, CREBBP, CTNNB1, CCND1, EP300. Androjen aracılı sinyal yolağında; MAPK1, PIK3CA, CREB1, MAPK3, MAP2K1, FOXO1, HSP90AA1, AR, MDM2, CREBBP, CTNNB1, CCND1, EP300. Her iki yolakta ortak olarak rol alan genler ise; AR, MDM2, CREBBP, CTNNB1, CCND1, EP300 olarak belirlenmiştir. Prostat kanserinde DIANA-miRPath v.3 web sunucusu tarafından hesaplanan miRNA'ların etkilemiş olduğu genlere, KEGG veri tabanından yolak haritasına erişimi sağlandı ve bu genler renkli olarak şekil 4.12'da gösterildi.



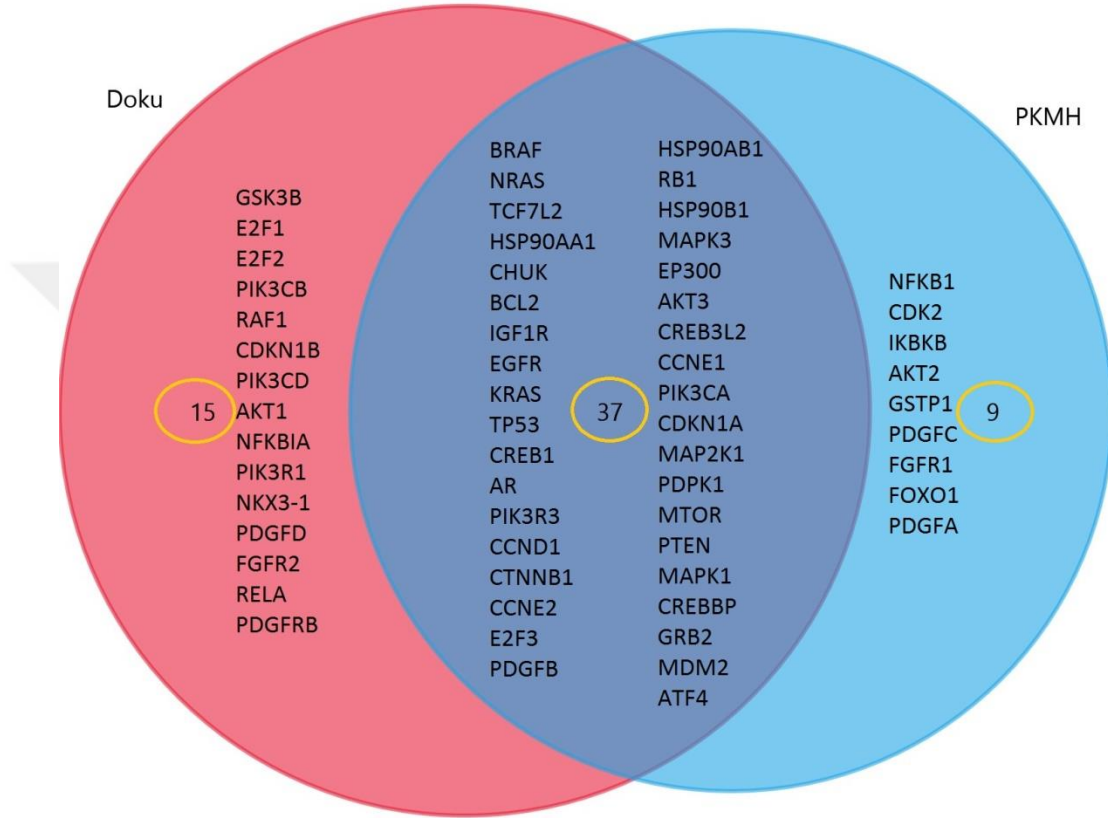
Şekil 4.11. PKa grubunda, PKMH'lerde down regüle miRNA'ların etkilediği genler ve protein-protein etkileşiminin Funrich yazılım aracılığı ile gösterilmesi



Şekil 4.12. Prostat kanseri yolağında PKMH'lerde büyük oranda korunmuş miRNA'ların hedeflediği genler

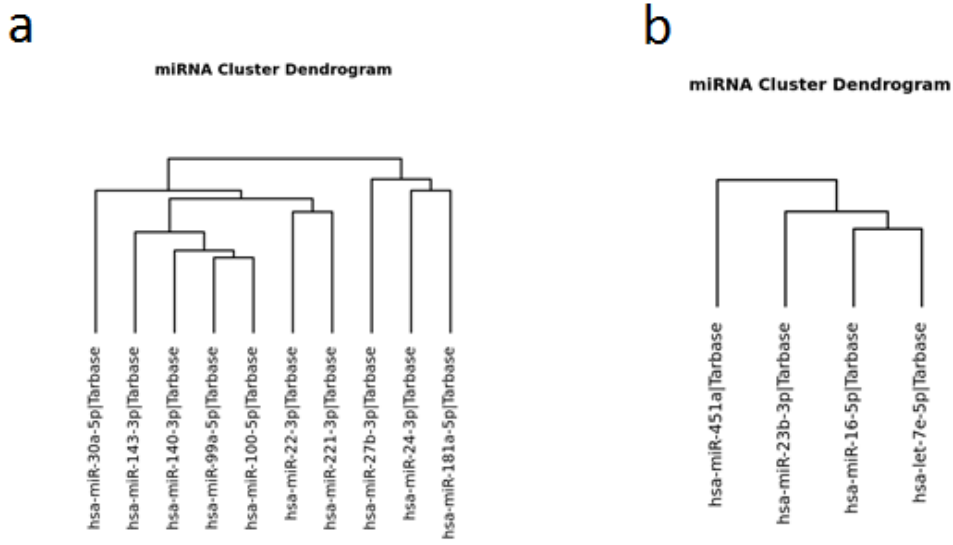
Yeşil kutular: düzenli genler. **Sarı kutular:** bir miRNA tarafından düzenlenen genler. **Turuncu kutular:** birden fazla miRNA tarafından düzenlenen genler

Doku ve PKMH’lerde, PKa grubunda down regüle olmuş ve büyük oranda korunmuş olarak belirlediğimiz miRNA’ların hedeflediği genlerin venn şeması ile gösterimi Şekil 4.13’de verilmiştir. 37 adet genin, doku ve PKMH’lerde ortak olduğu görülmektedir.



Şekil 4.13. Genlerin venn şeması ile gösterimi

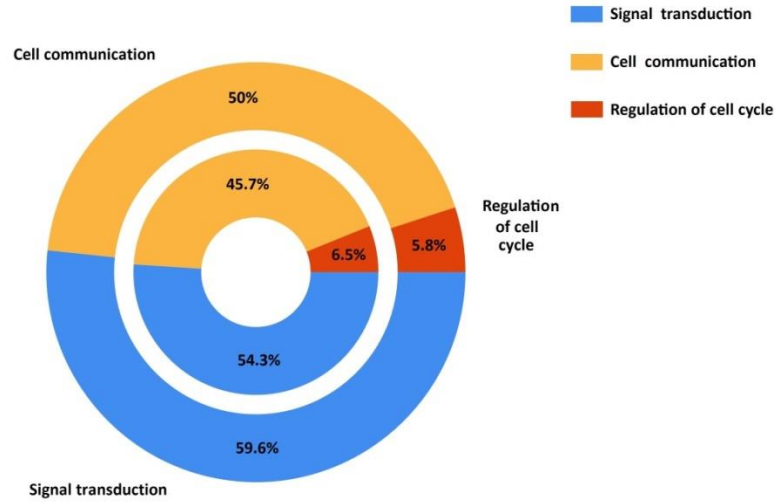
Doku ve PKMH’lerde, PKa grubunda down regüle ve büyük oranda korunmuş miRNA’ların hedefledikleri yolların hiyerarşik küme analizi DIANA-miRPath v.3 ve TarBase v7.0 çevrimiçi yazılım veritabanları kullanılarak elde edilen dendrogramları Şekil 4.14.’de verilmiştir.



Şekil 4.14. miRNA’ların hedefledikleri yolların hiyerarşik küme analizi

a.Dokulara ait dendrogram. **b.** PKMH’lere ait dendrogram.

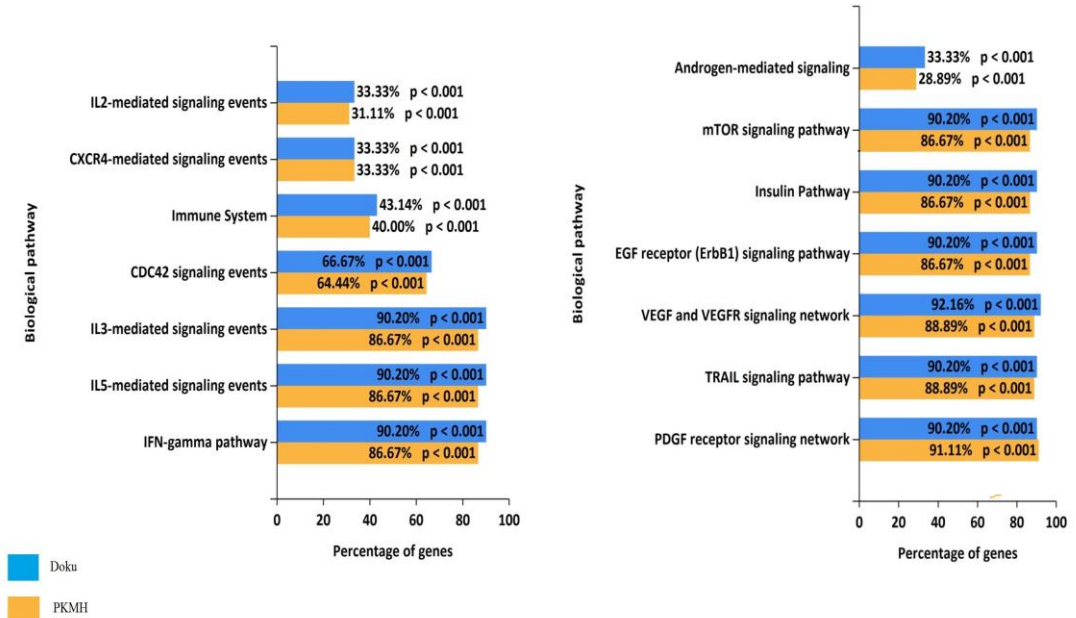
Doku ve PKMH’lerde belirlenen hedef genlerin biyolojik süreçte hücre iletişimi, sinyal iletimi ve hücre döğüsünün düzenlenmesindeki rolleri Şekil 4.15’te Funrich yazılımı kullanılarak gösterilmiştir.



Şekil 4.15. Biyolojik prosesin gösterimi.

Dıştaki halka: dokuların, **içteki halka:** PKMH'lerin gen yüzdeleri vermektedir.

Doku ve PKMH'lerde belirlenen hedef genlerin biyolojik yolaktaki rolleri Şekil 4.16'te Funrich yazılımı kullanılarak gösterilmiştir.



Şekil 4.16. Doku ve PKMH'lere ait hedef genlerin biyolojik yolaktaki etkileri

5. TARTIŞMA

Prostat kanseri dünyadaki en yaygın altıncı kanser türüdür. Avrupa, Kuzey Amerika ve Afrika'nın bazı bölgelerinde erkeklerde en yaygın üçüncü kanser türü olarak görülmektedir. Dünya çapında giderek artan sayıda kişinin prostat kanseri teşhisi alması, bu hastalık hakkında bilgi ve önlem alma açısından önem arz etmektedir. Epidemiyolojik çalışmalar, prostat kanserinin nedeni, beslenme alışkanlıkları ve genetik faktörler hakkında bazı bilgiler sağlamıştır. Bunun yanı sıra prostat kanseri, meme ve akciğer kanseri gibi diğer yaygın kanser türleri ile karşılaştırıldığında nedeni tam olarak anlaşılamamıştır. Etnik popülasyonlar arasında prostat kanseri insidansındaki değişiklik ve hastalığın ailesel olarak görülmesi gibi birkaç önemli konu bu hastalığı anlaşılmasında yardımcı olabilmektedir (85).

Prostat spesifik antijen testi (11), prostat kanseri tanı ve tedavisinde küçük, düşük dereceli ve lokalize tümörlerin tespit edilmesinde kullanılır. PSA testi aynı zamanda tedaviye yanıtın izlenmesinde ve hastalık nüksünün saptanmasında kullanılır. Güncel araştırmaların çoğu, PSA testinin en uygun kullanımlarını belirlemeye ve PSA testini geliştirmek için yöntemler geliştirmeye yönelik olarak gerçekleştirilmektedir (86).

Goonewardene ve ark. (2019), MRI'da belirgin lezyonu olmayan erkeklerde de prostat kanseri riskinin yüksek olduğunu ve PSA ölçümü kullanılarak bu hastaların tanımlanabileceğini ifade etmişlerdir. Ayrıca seçilen PSA yoğunluğu eşik değerinin, biyopsi yapılan popülasyonda kanser riskini ve gerçekleştirilen biyopsi prosedürlerinin sayısını etkileyeceğini de ifade etmişlerdir (87). Erdoğan ve ark. (2019), prostat kanseri hastalarında PSA değerinin 10.1-30 ng / ml arasında olmasının yanı sıra, prostat hacminin de kanserin öngörülmesinde önemli bir rol oynadığını vurgulamışlardır (88). Filella ve ark. (1997), 156 BPH'li ve 74 prostat kanseri olan hastalarda yaptıkları bir çalışmada total PSA ve serbest PSA konsantrasyonlarını ölçmüşlerdir. Serbest / toplam PSA değerlerini, prostat kanserli hastalarda, BPH'li hastaların sonuçlarına oranla anlamlı derece düşük bulmuşlardır (89).

Çalışmamızda total PSA Değerlerini karşılaştırdığımızda PKa hasta grubunda ortalama 10,469 ng/ml, BPH hasta grubunda ortalama 6,3705 ng/ml olarak görmekteyiz. Her iki grupta ortalama değerleri karşılaştırıldığında PKa grubu hastalarında literatürdeki bilgilere benzer şekilde BPH grubu hastalarına göre sonucun yüksek olduğu görülmüştür.

Bütün hastalıklarda olduğu gibi prostat kanseri tedavisinde de başarıyı arttırmak için kanser daha organda sınırlı iken tedaviye başlamak avantaj sağlamaktadır. Serum PSA değeri ileri evrelerde tümör hacmi ve patolojik evre ile ilişkili olmasının yanı sıra hataları elimine edebilmek için yardımcı ek tanımlara ihtiyaç duyulmaktadır. Bunlardan bir tanesi de hastanın doğru olarak evrelenmesinde kullanılan Gleason skorlama yöntemidir.

Camtosun ve Gökçe (2019), transrektal ultrasonografi kılavuzluğunda biyopsi ve radikal prostatektomi patolojilerinde bildirilen Gleason skorları arasında farklılıklar olduğunu, bu farklılıkların yaş ve PSA seviyesi arttıkça, prostat hacminin ise azalması ile daha belirgin hale geleceğini tespit etmişlerdir (90). İnci ve ark.(2016), yaş aralığı 45-71 arasında, 15 hastayı dahil ettikleri bir çalışmada, toplam 2 adet prostat görüntüleme, raporlama ve veri sistemi 3 (PIRADS 3), 8 adet PIRADS 4 ve 5 adet PIRADS 5 ile lezyonu MRI'da saptamışlardır. Histopatolojik değerlendirme sonucunda bir hastanın PIRADS 3 tanılı lezyondan füzyon biyopside benign prostat dokusu sonucu alınmasına rağmen standart biyopsi ile Gleason 3+3 prostat kanseri tanısı almışlardır. Diğer bir hasta da ise PIRADS 4 tanılı lezyondan füzyon ve standart biyopsi sonucunda benign prostat dokusuna ulaşmışlardır. Yine başka bir vakada ise PIRADS 4 lezyondan füzyon biyopsi sonucu benign prostat dokusu sonucu çıkmıştır. Geri kalan vakaların hepsinde Gleason skoru 3+3, 3+4 ve 4+3 prostat kanseri sonuçlarına ulaşmışlardır. Sonuç olarak füzyon biyopsi işleminin standart biyopsi işlemindeki potansiyel örnekleme hatalarını elimine ederek hastaların daha doğru tanı almasına katkı sağlayabileceğini ve böylece prostat kanserli hastaların yönetiminin iyileştirilmesine olumlu katkı sağlayacağını düşünmüşlerdir (91).

Yazıcı ve ark. (2017), transrektal ultrasonografi eşliğinde biyopsi patolojilerinde bildirilen Gleason skorları ile radikal prostatektomi Gleason skorları

arasında farkı karşılaştırdığında özellikle biyopsi Gleason skoru <7 olan hastalarda farkın daha belirgin olduğunu görmüşlerdir. Aktif izlemin hedefi olan bu hasta grubunda, patoloğların bildirdiğı Gleason skorlarının güvenilirliğinin tartışmalı olduğu, kor-tümör oranı, tümör kor sayısı, PSA gibi diğerk değişkenleri de dikkate alınarak karar verilmesi gerektiğini ifade etmişlerdir (92). Özok ve ark. (2010), yaptıkları modifiye Gleason derecelendirme sistemi çalışmasıyla, prostat iğne biyopsisi ve radikal prostatektomi örnekleri arasındaki uyumun arttığını, bu sayede düşük ve yüksek skorlama oranlarındaki hataların engelenebileceğini belirtmişlerdir (93). Günaydın ve ark. (2000), Gleason skorunun doğruluğunun uygulanacak tedaviyi kesin olarak belirleyemediğini görmüşlerdir. Gleason değeriinin yüksek olması kötü prognozu işaret etmekle beraber prostat kanserinde Gleason skoru tek başına cerrahi öncesi prognozu, patolojik evreyi ve lenf nodu metastazlarını belirlemede yetersiz kalmaktadır (94).

Çalışmamızda PKa grubunun Gleason decerelendirmesini incelediğimizde en düşük Gleason değeriinin 6, en yüksek Gleason değeriinin ise 10 olduğunu görmekteyiz. Prostat hacmi değerlerini karşılaştırdığımızda ise; PKa grubunun prostat hacmi ortalaması 67,75 ml iken, BPH grubunun prostat hacmi ortalaması 98,5 ml'dir. BPH grubunda prostat hacminin daha yüksek çıkmasının nedenini; artan yaşla birlikte meydana gelen hormonal değişimlerden kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz.

TNM evreleme sistemine göre hasta sonuçlarımız ise;, PKa hastalarının klinik olarak belirgin tümör dokularının boyutu görüntüleme sistemleri ile belirlenmesinin ardından, T1 ve T2 prostat ile sınırlı (lokalize) kanser dokusunun görüldüğü hastalar ile prostatik kapsülün dışında yayılma olduğunu gösteren T3 kanserli hastadan oluşmaktadır.

miRNA'lar, insan genlerinin %60'ından fazlasının ekspresyonunu düzenlediğı bilinen küçük kodlayıcı olmayan moleküllerdir. Bunların anormal ekspresyonu, insan kanserlerinin patogenezi ve kanser kök hücrelerinin özelliklerinin düzenlenmesi ile ilişkilendirilmiştir. miRNA'ların çeşitli onkogenik sinyal yollarını (Notch, WNT/β-Katenin, JAK/STAT, PI3/AKT, NF-kB gibi çeşitli onkogenik sinyal yolları)

hedefleyerek kanser kök hücrelerinin işleyişini sürdürme ve düzenlenmesindeki rolü kritiktir. Ayrıca kanser tedavisi için büyük bir zorluk oluşturmaktadır (95).

Güzel ve ark. (2014), tarafından yapılan bir çalışmada prostat sekresyon örnekleri alınan 23 prostat kanserli ve 25 BPH'lı hastalar arasında miRNA ekspresyon farklılığı mikro array yöntemi ile ortaya konulmak istenmiştir. Belirlenen dört farklı miR-361-3p, miR-133b ve miR-221'in prostat kanserli hastalarda ekspresyon miktarının düştüğü, miR-203 ekspresyon seviyesinin ise arttığını ifade etmişlerdir (96). Cochetti ve ark. (2016), yaşla birlikte artan PSA düzeyleri ile ilişkili dolaşımda bulunan miRNA panelini, prostat kanseri ve BPH hastaları için karakterize etmek için çalışma gerçekleştirmişler. 64 prostat kanseri, 60 BPH hastası için qRT-PCR kullanarak let-7c, let-7e, let-7i, miR-26a-5p, miR-26b-5p, miR-24-3p, miR-23b-3p, miR-27b-3p, miR-106a-5p, miR-20b-5p, miR-18b-5p, miR-19b-2-5p, miR-363-3p, miR-497, miR-195, miR-25-3p, miR-30c-5p, miR-622, miR-874-3p, miR-346 ve miR-940 karşılaştırması yapmışlar. Let-7c, let-7e, let-7i, miR-26a-5p, miR-26b-5p, miR-18b-5p ve miR-25-3p'nin prostat kanserinde ayırt edici olarak kullanılabileceğini, Gleason skoru ile miRNA ekspresyon seviyeleri arasında bir korelasyon olduğunu; miR-363-3p, miR-26a-5p, miR-26b-5p, miR-106a-5p, miR-18b-5p, miR-25-3p ve let-7i'nin malignitedeki artışla birlikte ekspresyon düzeylerinde azalma olduğunu belirtmişlerdir (16).

Zhıping ve ark. (2017), prostat kanserli hastalarda qRT-PCR ile yaptıkları ekspresyon çalışmasında, miR-181a'nın metastatik prostat kanserli hastalarda primer prostat kanserli hastalara göre daha fazla eksprese olduğunu, bu artışın metastazda önemli bir rol oynayan epitelyal marker olan E-kaderin miktarında azalma, mezenkimal bir marker olan N-kaderin, vimentin ve Snail miktarlarında ise artışa neden olduğunu belirtmişlerdir (97). Guo ve ark. (2019), 88 prostat kanserli ve 84 BPH hastasının doku örneklerinde miRNA-205'in prostat kanserinde ekspresyon seviyesinin BPH hastalarına göre azaldığını bulmuşlardır (98). Fredsøe ve ark. (2020), 753 hastanın plazma örneklerinde erken prostat kanseri tanısı için 92 miRNA üzerinde çalışmış ve miR-375, miR-33a-5p/miR-16-5p, miR-409-3p'nin tanı amaçlı kullanılabileceğini bulmuşlar (99). Nayak ve ark. (2020), 33 prostat kanserli, 30 BPH tanılı hastaların idrar ve biyopsi örneklerinde yaptıkları çalışmada prostat kanserli doku örneklerinde miRNA-182 arttığı, miRNA-187'nin azaldığı, idrar örneklerinde

bir farkın olmadığı, miRNA-187'nin PSA değerlerine oranla ters bir korelasyon gösterdiğini saptamışlar (100).

Prostat kanseri ile yapılan bazı çalışmalarda; Bonci ve ark. (2008), miR-15a/16 (101), Dong ve ark. (2010), let-7a (102), Nadiminty ve ark. (2012), let-7c (103), Patron ve ark. (2012), miR-133b (104), Lin ve ark. (2013), miR-31 (105), Majid ve ark. (2013), miR-34b (106), Shi ve ark. (2013), miR-124 (107), Fu ve ark. (2014), miR-26a (108), Huang ve ark. (2012), Ren ve ark. (2014), Larne ve ark. (2015), miR-143/145 (109-111), Jiang ve ark. (2016), miR-185 (112), Sun ve ark. (2011), Wu ve ark. (2015), Arai ve ark. (2018), miR-99a (113-115), Hua ve ark. (2018), miR-126 (116), Chen ve ark. (2018), miR-203 (117) gibi miRNA'ların ekspresyon düzeylerinde düşüşün görüldüğü, Javala ve ark. (2012), miR-32 (118), Yu ve ark. (2014), Jossion ve ark. (2015), miR-409 (119), Xu ve ark. (2016), miR-96 (120, 121), Yao ve ark. (2016), miR-182-5p (122) Dong ve ark. (2015), Yang ve ark. (2017), miR-21 (123, 124), Selth ve ark. (2017), miR-375 (125) gibi miRNA ekspresyon düzeylerinde ise artışın görüldüğü çalışmalar literatürde yer almaktadır.

Pashaei ve ark. (2017), radikal prostatektomiye takiben prostat kanseri nükseden hastaların, prostat kanseri nüks etmeyen hastalara kıyasla yaptıkları miRNA ekspresyon profili meta-analizi çalışmasında, 6 miRNA ekspresyon veri setinde miR-125A, miR-199a-3p, miR-28-5p, miR-301b, miR-324-5p, miR-361-5p, miR-363*, miR-449a, miR-484, miR-498, miR-579, miR-637, miR-720, miR-874 ve miR-98'nin yaygın olarak up regüle olan miRNA'lar olduğunu, miR-1, miR-133a, miR-133b, miR-137, miR-221, miR-340, miR-370, miR-449b, miR-489, miR-492, miR-496, miR-541, miR-572, miR-583, miR-606, miR-624, miR-636, miR-639, miR-661, miR-760, miR-890 ve miR-939'ün yaygın olarak down regüle olan miRNA'lar olduğu ifade etmişlerdir (126).

Suer ve ark. (2019), prostat kanseri tekrarlayan ve tekrarlamayan 40 hastada çalıştıkları miRNA'lardan miR-424 ve miR-572'in tekrarlayan prostat kanserinde biyo-belirteç olarak kullanılabileceğini (127), Wu ve ark. (2019), prostat kanserinde NOX4 geni down regüle olduğu zaman, microRNA - 137'ninde inhibitör olarak rol oynadığını (128), Urabe ve ark. (2019), 809 prostat kanseri serum örneğinde, 241 negatif prostat biyopsisinde ve 500 diğer kanser türlerinde miRNA ekspresyon

seviyesi analizinde prostat kanseri teşhisinde aday olabilecek 123 miRNA'dan 18 tanesinin prostat kanseri teşhisinde kullanılabileceğini ifade etmişlerdir (129)

Benign prostat hiperplazi ile yapılan bazı çalışmalarda; Zhang ve ark. (2017), miR-4428, miR-106a-5p, miR-96-5p ve miR-1271-5p (130) ekspresyonlarının yüksek, Zhang ve ark. (2017), miR-16-5p, miR-19b-5p, miR-940 ve miR-25 (130), Haj-Ahmad (2014), miR-498 (131) ekspresyonlarının düşük olduğunu ifade etmişlerdir.

Periferik kan mononükleer hücreleri (PKMH), bağışıklık sistemindeki maligniteye karşı ilk savunma hattı olarak hareket ederler. Disfonksiyonları durumunda ise, kanser immünojenitesi veya immün evazyon ortaya çıkabilmektedir. Bu nedenle, PKMH'lerin moleküler profilleri, malignitelerin erken tespiti için yeni biyobelirteçler sağlayabilir (77).

Wang ve ark. (2013), pankreas kanseri ve sağlıklı bireylerde yapmış oldukları PKMH örneklerinde miR-27a-3p seviyesinin kanser hastalarında artış göstermiş olduğunu (132), Ma ve ark. (2015), farklı evrelerde bulunan 84 küçük hücreli olmayan akciğer kanser hastaları ve 69 sağlıklı kontrol grubunu içeren PKMH örnekleri karşılaştırılması için mikroarray ve real time PCR yöntemi kullanarak, miR-19b-3p ve miR-29b-3p ekspresyon seviyelerinin kanser hastalarında yüksek olduğunu (77), Chang ve ark. (2015), periferik kan mononükleer hücrelerinde meme kanseri teşhisinde kadınlarda biyobelirteç olarak kullanılabilmesi için miRNA ekspresyon profillerini yeni nesil sekanslama ile analiz ederek miR-144-3p, miR-451a, miR-144-5p ve miR-183-5p'nin up regüle olduğunu, miR-708-5p'nin down regüle olduğunu (133), Xu ve ark. (2015), 98 prostat kanseri ve 56 sağlıklı bireyin PKMH'lerinde miR-129 ekspresyon düzeyinin karşılaştırmaları sonucunda, prostat kanserli hastalarda azalmış olduğunu (134), Huang ve ark. (2015), 25 tekrarlayan/metastatik prostat kanserli hastalar ile 50 sağlıklı bireyin PKMH'lerinde miR-21 seviyelerini karşılaştırdığında prostat kanserinde yüksek düzeyde eksprese olduğunu (84), Yang ve ark. (2016), 92 prostat kanserli, 85 BPH'lı ve 97 sağlıklı bireyin PKMH'lerinde miR-21 seviyelerini araştırdıklarında prostat kanserli hastalarda anlamlı düzeyde yüksek çıktığını ve biyomarker olarak kullanılabileceğini ifade etmişlerdir (135).

Yapmış olduğumuz çalışmamızda PKa ve BPH grubu doku örneklerinin mikroarray çalışması ile karşılaştırılması sonucunda, büyük oranda korunmuş ve PKa grubunda down regüle olmuş miRNA'lar seçilmiştir. Bu miRNA'lar; hsa-miR-27b-3p, hsa-miR-30a-5p, hsa-miR-22-3p, hsa-miR-99a-5p, hsa-miR-100-5p, hsa-miR-24-3p, hsa-miR-181a-5p, hsa-miR-140-3p, hsa-miR-221-3p, hsa-miR-143-3p olarak belirlenmiştir.

Goto ve ark. (2014), kastrasyona dirençli prostat kanserinde GOLM1 genini merkez alarak yaptıkları bir çalışmada, tümör baskılayıcı miR-27b'nin varsayılan bir hedefi olarak tanımlandığını ve PCa hücrelerinde GOLM1 genini doğrudan düzenlendiğini belirterek, miR-27b'nin prostat kanserli dokularda önemli ölçüde azaldığını belirtmişlerdir (136).

Ekspresyon seviyesi değişmiş miR-143, miR-106, miR-181, miR-21, miR-30a ve miR-16'nın pankreatik, kolorektal, prostat ve meme kanseri dahil olmak üzere birçok kanser türünde rol oynadığı gösterilmiştir (137-139).

miR-22, çeşitli kanser türlerine ve hedef genlerinin tam işlevlerine bağlı olarak bir tümör baskılayıcı ve bazen bir onkogen olarak rapor edilmiştir. Polisen ve ark.(2010), Dhar ve ark. (2017), miR-22'nin PKa hastalarında aşırı eksprese olduğunu, (140, 141), Pasqualini ve ark. (2015), miR-22'nin PKa dokularında, BPH dokularına kıyasla ekspresyon seviyede azalma olduğunu belirtmişlerdir (142).

Sun ve ark. (2011) miR-99a ve miR-100'un prostat kanserli hücrelere transfeksiyonu sonucunda, PSA ekspresyonunu azaltarak, tümör baskılayıcı olarak rol oynadıklarını (114), Sun (2014) miR- 99a'nın, PKa hastalarında androjen ile down regüle olduklarını (143), Ye ve ark. (2020), miR-100-5p'nin prostat kanseri hücrelerinin çoğalmasını, göçünü ve istilasını önlemek için mTOR'u aşağı yönlü düzenlediğini belirtmişlerdir(144).

Li ve ark. (2020) prostat kanseri dokularında miR-24-3p'nin ekspresyon seviyesinin azaldığını (145), Krebs ve ark. (2020), miR-221-3p'nin aşağı regülasyonu ile PKa hastalarında VEGFR2'nin yukarı regülasyon gösterdiğini bildirmişlerdir (146).

Prostat kanseri/BPH doku örnekleri çalışma sonuçlarımızı literatürle karşılaştırdığımız zaman genellikle ekspresyon seviyesinde azalma görülen; miR-

27b-3p, miR-30a-5p, miR-22-3p, miR-99a-5p, miR-100-5p, miR-24-3p, miR-181a-5p, miR-140-3p, miR-221-3p, miR-143-3p ile benzer sonuçlar elde ettiğimizi görmekteyiz.

PKa ve BPH grubu hastalarının PKMH örneklerinin mikroarray karşılaştırması sonucunda, büyük oranda korunmuş ve PKa hastalarında down regüle olmuş miRNA'lar seçilmiştir. Bu miRNA'lar hsa-miR-451a, hsa-miR-16-5p, hsa-let-7e-5p, hsa-miR-23b-3p olarak belirlenmiştir.

Liu ve ark. (2020), hücre hattında yapmış oldukları miR- 451a ile proteazom alt birimi beta 8 (PSMB8) arasındaki ilişkiyi ortaya koyan bir çalışmada; miR-451a'nın aşırı ekspresyonunun, PCa hücrelerinde proliferasyon, koloni oluşumunu inhibe ettiği ve hücre apoptozunu desteklediği, PSMB8'in aşırı ekspresyonunun ise bunların tam tersi etkilere neden olduğunu bildirmişlerdir (147). Li ve ark. (2021) ise PCa hastalarında, sağlıklı kontrol hastalarına kıyasla üriner ekzozomal miR-451a'nın önemli ölçüde yukarı regüle edildiği bulmuştur (148).

Wang ve ark. (2020), miR-16-5p'nin PCa hücrelerinde önemli ölçüde aşağı regüle edildiğini, MTS testi, koloni oluşumu, akış sitometrik analizleri ile miR-16-5p'nin PCa hücrelerinin hayatta kalmasını inhibe ettiğini, hücre döngüsü dağılımını düzenlediğini ve apoptozu indüklediğini gösterdi (149).

Chen ve ark. (2012), 25 prostat kanseri hastasından ve 17 iyi huylu prostat hiperplazisi (BPH) hastasından plazmadaki miRNA ekspresyonunu analiz etmiş ve tanımlanan bu miRNA'ları qRT-PCR ile de ayrıca incelemişlerdir. Daha sonra bu miRNA'ların daha büyük bir bağımsız kohortta (80 CaP, 44 BPH ve 54 sağlıklı kontrol) doğrulama yapılması ile *let-7c*, *let-7e*, miR-30c, miR-622 ve miR-1285 ekspresyonunun farklı olduğunu, *let-7e* and *let-7*'nin PKa hastalarında ekspresyon düzeyinde azalma olduğunu ifade etmişlerdir (150). Guelfi ve ark. (2018), 11 prostat kanseri hastası ve 11 sağlıklı kontrol grubunda idrardan ekstrakte ettikleri total RNA'ları HiSeq2500 Sistemi (Illumina) kullanarak karşılaştırmışlar ve qPCR ile yaptıkları doğrulamada prostat kanserinde *let-7* ailesinin kontrol grubuna göre önemli ölçüde azaldığı sonucuna ulaşmışlardır (151).

Aghaee-Bakhtiari ve ark. (2015), miR-23a ve miR-23b'yi LNCAP ve PC3 hücre hatlarında ve ayrıca prostat kanseri klinik örneklerinde ekspresyonunu analiz

ettiklerinde bu miRNA'ların down regüle olduklarını, miR-23a ve miR-23b'yi LNCAP ve PC3 hücre hatlarında aşırı eksprese ettikleri zaman, bu iki miRNA'nın, kritik bir role sahip olan IL-6R ekspresyonunu azalttığı sonucuna ulaşmışlardır (152). Zhou ve ark. (2020), PKa hastaları ve sağlıklı kontrol grubunun plazma örneklerinde yapmış oldukları miRNA ekspresyon çalışmasında, PKa hastalarında 64 miRNA'nın aşırı eksprese olduğunu ve 30 miRNA'nın ekspresyon seviyesinde azalmada meydana geldiğini, azalma gösteren miRNA'lardan bir tanesinin de miR-23b-3p olduğunu belirtmişlerdir (153).

Yapmış olduğumuz literatür araştırmaları sonucunda prostat kanseri miRNA ekspresyon çalışmalarının çoğunlukla qRT-PCR, Western Blot, Mikroarray yöntemleri kullanılarak yapıldığını ve deneylerin ise doku, idrar, hücre hattı gibi örnekler kullanılarak yapıldığını belirledik. PKa hastalarının PKMH örneklerinde elde etmiş olduğumuz; hsa-miR-451a, hsa-miR-16-5p, hsa-let-7e-5p, hsa-miR-23b-3p miRNA'larının aşağı yönlü ekspresyonunun literatürde ile benzer olduğunu görmekteyiz.

Ayrıca down regüle olarak belirlediğimiz miRNA'ların farklı kanser türlerinde etkileşimde bulunduğu genler ile mekanizmalarına yönelik araştırma yaptığımızda aşağıdaki bilgilere ulaştık;

Conserva ve ark. (2019), diyabetik nefropati (DN) ve membranöz nefropatili diyabetik hastalar ile normal histolojiye sahip kişilerden alınan böbrek biyopsilerinde yaptıkları çalışmada 9 miRNA'nın farklı derecelerde eksprese olduğunu ve bunlardan miR-27b-3p ve miR-1228-3p'nin ubiquitin-konjüge edici E2 enzim varyantı (UBE2v1) ile etkileşim gösterdiğini belirlemişlerdir. UBE2v1'in ise DN böbrek fibrozunda lizin 63'e bağlı ubiquitin zincirlerinin oluşumuna aracılık eden bir mekanizmada yer aldığını göstermişlerdir. Down regüle olan bu iki miRNA'nın DN hastalarında böbrek biyopsisi ve idrar örneklerinde muhtemelen DNA metilasyonundan etkilendiğini belirtmişlerdir (25).

Cheng ve ark. (2020), sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü 3'ün (STAT3), tümör oluşumunda ve kanser kök oluşumunda rol alan bir transkripsiyonel faktör olarak aracılık etmekte kalmadığını, aynı zamanda mikroRNA baskılamasında da rol oynadığını ifade ettikleri kolorektal kanserli hastalarda bir çalışma

gerçekleştirmişlerdir. Bu çalışmada bir kinaz inhibitörü olan regorafenib kullanımı ile kolorektal kanser hücrelerinde (HCT116 ve HT29) STAT3 fosforilasyonunun aktivatörünü arttırdığını, STAT3'ün ise miR-30a-5p'nin down regülasyonuna neden olduğunu göstermişlerdir (154). Chen ve ark. (2020), yapmış oldukları bir diğer çalışmada; miR-30a-5p'nin, akciğer skuamöz hücreli karsinom doku ve hücrelerinde aşağı regüle edilirken, FOXD1'nin yüksek oranda eksprese edildiğini göstermişlerdir. FOXD1'in aşırı ekspresyonunun ise hücre canlılığını, hücrelerin koloni oluşturma kabiliyetini ve hücre göçünü arttırdığını bulmuşlardır (155), Outeiro-Pinho ve ark. (2020), renal hücreli karsinomların doku ve idrar örneklerindeki analizleri sonucunda miR-30a-5p'nin ekspresyonundaki değişimin DNA promoter bölgelerindeki metilasyon ile meydana geldiğini ifade etmişlerdir (156).

Wang ve ark. (2020), dünya çapında milyonlarca insanı görme engelli hale getiren arka kapsül opasifikasyonu (PCO) ve ön subkapsüler kataraktı (ASC) içeren fibrotik kataraktın, tam anlaşılamayan mekanizmasını aydınlatabilmek için lens epitelinin patolojik fibrozunu kontrol eden miR-22-3p ile ilgili bir çalışma gerçekleştirmişler. miR-22-3p'yi, lens fibrozu olan hastaların, lens epitelyal hücrelerinde HDAC6'yı hedefleyen down regüle olmuş bir miRNA olarak belirtmişlerdir. Bu sonuç ile miR-22-3p'nin HDAC6'yı hedef alarak lens fibrotik ilerlemesini önlediğini ve hipotezlerini desteklediğini göstermektedir (157).

Huang ve ark. (2015), anaplastik tiroid kanseri doku örneklerinde miR-99a'nın down regüle olarak düzenlenlendiğini ve yapmış oldukları deneylerle bu miRNA hedefini mTOR olarak belirlemişlerdir. Çalışmalarının sonucunda ise miR-99a'nın bir tümör baskılayıcı olarak ve ATK hücrelerinde mTOR / p4E-BP1 / p-S6K1 yolunu hedefleyerek tümör oluşumunu inhibe etmede önemli bir rol oynadığını tespit etmişlerdir (158), Qin ve Liu (2019), meme kanserinde miR-99a-5p ve CDC25A arasındaki ilişkiyi ve miR-99a-5p'nin meme kanseri üzerindeki düzenleyici mekanizmalarını araştırmaları sonucunda; meme kanseri doku ve hücrelerinde miR-99a-5p ekspresyonunun önemli ölçüde aşağı regüle edilirken, hedefindeki CDC25A'nın yukarı regüle edildiğini ve böylece hücrelerin proliferasyonunu, invazyonunu artırdığını belirtmişlerdir (159).

Yang ve ark. (2017), kronik arsenik tedavisinde, BEAS-2B hücrelerine arsenik tedavisi uygulamaları ile miR-100'ün inaktivasyonunun gerçekleştiği bunun sonucunda, BEAS-2B hücrelerinde in vitro proliferasyon, canlılık, göç ve malign dönüşümde artış meydana geldiğini yapmış oldukları western blot analizi ile epitelyal marker olan E-kaderin protein ekspresyonunda artış, mezenkimal marker olan vimentin, MMP-3 ve MMP-9 gibi proteinlerin ekspresyonunda düşüş olduğunu (160), Chen ve ark. (2019) ise, renal karsinoma hücre hatlarında (CAKI-1 ve ACHN) hsa-circ-0072309'un, rolünü ve düzenleyici mekanizmalarını belirleyebilmek için yaptıkları çalışmada; hsa-circ-0072309'un miR-100'ü hedefleyerek down regüle etmesi, bunun sonucunda da, PI3K / AKT ve mTOR yolağının bloke olması ile anti-tümör olarak rol oynadığını belirlemişlerdir (161).

Wei ve ark. (2019), kardiyomiyositlerde iskemiye, Rosuvastatin'in miR-24-3p'nin ekspresyon düzeyini düşürmesi neticesinde, miR-24-3p ile yakından ilişkili olan UCP2'nin ekspresyonun artmasının hücre canlılığını arttırdığını ifade etmişlerdir (162).

Sedef hastalığı, genetik etiyolojiye sahip, eritematöz skuamöz plaklarla karakterize kronik, hiperproliferatif, inflamatuvar bir deri hastalığıdır. Alataş ve ark. (2020), PSORS1'de bulunan, HLA-Cw6 geni, sedef hastalığı ile önemli ölçüde ilişkilendirildiğini, PSORS1 ve PSORS2 genlerinde, immün hücreleri ve keratinositleri etkileyerek sedef hastalığının gelişiminde değişiklikler gözlemlendiğini ifade etmişler. Sedef hastaları ve kontrol gruplarında miRNA ekspresyon profili çalışmalarında ise hsa-miR-181a-5p'nin down regüle olduğunu belirtmişlerdir (163).

Ntounou ve ark. (2017), serum mikroRNA'ları ile yaptıkları çalışmalarında hsa-miR-140-3p, hsa-miR-33b-3p ve hsa-miR-671-3p'yi potansiyel osteoartrit biyobelirteçleri olarak belirlemişlerdir. Sağlıklı gruba kıyasla osteoartrit hastalarında bu miRNA'ların down regüle olduğunu ve en yaygın hedeflerinin InsR ve IGFR1'in olduğunu belirtmişlerdir (164).

Zhang ve ark. (2018), astımlı hastalarda yaptıkları bir çalışmada epitel, balgam ve plazma miR-221-3p ekspresyonunun önemli ölçüde azaldığını ve anti-enflamatuvar kemokin olan CXCL17 ekspresyonunun epitelyal hücrelerde önemli

ölçüde artış gösterdiğini, CXCL17'in, p38 MAPK yolu aracılığıyla CCL24, CCL26 ve POSTN ekspresyonunu ise inhibe ettiğini bildirmişlerdir (165).

Lu ve ark. (2020), akciğer adenokarsinomu A549 ve H1299 hücre hatlarında circCSNK1G3'ün anormal şekilde eksprese edildiğini, circCSNK1G3'ün ise HOXA10 ekspresyonunu indüklediğini ve tümör süpresör olarak rol oynayan hsa-miR-143-3p'yi baskılayarak A549 ve H1299 hücrelerinin büyümesini ve metastazını desteklediğini göstermişlerdir (166).

Riquelme ve ark. (2016), yapmış oldukları çalışmada miR-101-2, miR-125b-2 ve miR-451a'nın mide kanseri AGS, MKN28, MKN45 hücre hatlarında PI3K / AKT / mTOR yolunu baskılayarak tümör süpresör olarak rol oynadıklarını belirtmişlerdir. Ayrıca miRNA'ların genellikle kanserle ilişkili genomik bölgelerde bulunduğunu, delesyon, mutasyon ve epigenik düzenlenmelerle bu miRNA'ların yapısının değişebileceğine değinmişlerdir (167). Zhao ve ark. (2019), yapmış oldukları çalışmalarında, hepatosellüler kanser hastalarının serumlarından elde ettikleri eksozomlarda miR-451a'nın seviyesinde kontrol grubuna kıyasla düşüş olduğunu göstermişlerdir. Bunu in vivo ve in vitro çalışmaları ile miR-451a'nın ekspresyon seviyesini arttırarak anjiyogenezi düzenleyen LPIN1'i inhibe ettiğini göstermişlerdir. Ayrıca LPIN1'in azalmasının prostat hücrelerinin göçünü de azalttığını ifade etmişlerdir (168).

Herrera-Espejo ve ark. (2019), geç başlangıçlı Alzheimer hastalığında dowregüle olan ve ileri analiz için seçtikleri hsa-miR-16-5p, hsa-miR-107, hsa-miR-132-3p, hsa-miR-181a/c/d-5p ve hsa-miR-212-3p'nin insülin ve MAPK sinyal yolu gibi yolaklarda düzenleyici rol oynadıklarını ifade etmişlerdir (169).

Wang ve ark. (2019), hsa-let-7e-5p'nin, kemokin reseptörü 7'yi hedefleyerek baş ve boyun skuamöz hücreli karsinom hücrelerinin çoğalmasını ve metastazını engellediğini (170), Eroglu ve ark. (2021), alveolar ve kistik ekinokokkoz hastalarında içerisinde hsa-let-7e-5p'nin de olduğu 25 miRNA'nın down regüle, 12 miRNA'nın ise up regüle olduğunu, bu miRNA'ların ekspresyon düzeylerindeki değişiminin T ve B hücrelerinin aktivasyonunu gerçekleştirerek hastalığın altında yatan mekanizmada rol oynayabileceğini ifade etmişlerdir (171).

Sun ve ark. (2020), kemik iliği mezenkimal kök hücrelerinde yaptıkları çalışmalarında hsa-miR-23b-3p'in PI3k / Akt / NF-κB sinyal yolunun engellenmesi ile KLF5'i hedeflediği, böylece Th17/Treg dengesinin sağlandığını gösterdikleri bir çalışma yapmışlardır (172).

Yapılan çalışmaları incelediğimiz de farklı kanser türlerinde farklı/benzer miRNA'ların saptanmasının yanı sıra, bir kanser türünde bir miRNA'nın ekspresyon seviyesinde düşüş meydana gelirken, bir diğer kanser türünde ise aynı miRNA ekspresyon seviyesinde artış gözlenebilmektedir. Bu durum ise miRNA mekanizmasının tam olarak anlaşılabilmiş olmamasından kaynaklanmaktadır. Geniş kapsamlı çalışmalarla bu mekanizmaların anlaşılmasının sağlanması gerekmektedir. miRNA'ların hücre çoğalmasında, invazyon/metastaz, apoptoz gibi mekanizmaların yanı sıra, yaşamsal süreçlerde; immün cevap, insülin salgılanması, nörotransmitter sentezi, sirkardiyen ritim gibi yaşamsal süreçleri oluşturan pek çok mekanizmanın düzenlenmesinde rol üstlendiğini görüyoruz. miRNA'ların ekspresyon seviyesindeki değişimlerin nedenini ise DNA üzerindeki delesyon, mutasyon, CpG metilasyonu ve histon modifikasyonu gibi epigenetik düzenlenmelerden kaynaklandığını, miRNA'ların hedefindeki genlerin ekspresyon düzeyindeki değişimlerinin nedenini ise; miRNA hedef bölgesindeki (UTR bölgesi) SNP, alternatif splicing ve 3' UTR bölgesinde meydana gelen kromozomal translokasyonlar ile protein kodlayan bölgeden ayrılmak üzere değiştiğini söyleyebiliriz.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Prostat kanseri için kullanılan farklı yöntemlerde tümör belirleyici test ve görüntüleme sistemleri mevcut olsa da bazı benign durumlarda sonuçlar değişkenlik gösterebilmekte ve gereksiz uygulanan biyopsilere yol açabilmektedir. Prostat biyopsisi prostat kanseri tanısı konulmasında uygulanan yöntemlerden bir tanesidir. Fakat bazı hastalar biyopsi yapılmasını kabul etmeyebilmektedir. Bunun yanı sıra biyopsi uygulanan kişilerde komplikasyon meydana gelme riski bulunmakta ve hasta açısından zahmetli bir operasyon olmaktadır.

Bağışıklık sisteminin diğer tüm hastalıklarda olduğu gibi, kanser hastalığında da öneminin göz ardı edilemeyeceği gerçeği bilinmektedir. Çünkü bağışıklık sistemimiz kansere karşı ilk savunma hattı olarak rol oynar. Kanser hücrelerinin, immün sistemden kaçışının preneoplastik lezyonlar kadar erken olduğu belirtilmiştir. Bu yüzden monositler, T hücreleri, B hücreleri ve doğal öldürücü (NK) hücrelerinden oluşan PKMH'lerin, prostat kanseri hakkında öncü bilgilendirme yapabilmesi açısından önemli olduğunu düşünerek, doku gruplarına ilave olarak PKMH'lerinde miRNA ekspresyon profili karşılaştırmasının literatüre katkı açısından önemli olabileceğini düşündük.

Çalışmamızda PKa ve BPH gruplarına ait doku örneklerini kendi içerisinde, PKMH örneklerini kendi içerisinde karşılaştırdık. PKa hasta grubunda, BPH hasta grubuna oranla istatistiki açıdan ($p < 0.05$) ve ekspresyon düzeyindeki değişim kat sayısı < 2 veya > 2 olmak üzere, değişim gösteren miRNA'lar olduğunu belirledik. Doku grubunda 37 adet miRNA, PKMH grubunda ise 27 miRNA'nın ekspresyonunda değişim olduğunu belirledik. Büyük oranda korunmuş miRNA'ları belirlememiz sonucunda doku grubunda 10 adet miRNA (hsa-miR-27b-3p, hsa-miR-30a-5p, hsa-miR-22-3p, hsa-miR-99a-5p, hsa-miR-100-5p, hsa-miR-24-3p, hsa-miR-181a-5p, hsa-miR-140-3p, hsa-miR-221-3p, hsa-miR-143-3p), BPH grubunda ise 4 adet miRNA (hsa-miR-451a, hsa-miR-16-5p, hsa-let-7e-5p, hsa-miR-23b-3p) olduğunu ve bunların sırasıyla etkileşimde bulunduğu 52 ve 46 gen olduğunu belirledik. Bu genlerden ise 37 tanesinin (BRAF, NRAS, TCF7L2, HSP90AA1, CHUK, BCL2, IGF1R, EGFR, KRAS, TP53, CREB1, AR, PIK3R3, CCND1, CTNNB1, CCNE2, E2F3, PDGFB, HSP90AB1, RB1, HSP90B1, MAPK3, EP300,

AKT3, CREB3L2, CCNE1, PIK3CA, CDKN1A, MAP2K1, PDPK1, MTOR, PTEN, MAPK1, CREBBP, GRB2, MDM2, ATF4) prostat kanserinde hem doku, hem de PKMH grubunda ortak olarak rol oynadıklarını belirledik.

Sonuç olarak yapmış olduğumuz mikroarray çalışmamızda çok fazla sayıda miRNA çalışabilmemiz ile gruplar arasında karşılaştırma yapılması açısından diğer çalışma yöntemlerine kıyasla daha kapsamlı, daha az maliyetli, daha az iş yüküne sahip olduğu görülmektedir. Literatürde yer alan çalışmaların sonuçları ile çalışmamızdan elde edilen sonuçlar arasında benzer bulgular olduğu gibi farklılar da bulunmaktadır. Çalışmamızda elde ettiğimiz miRNA'ların prostat kanserinin, benign durumların ayırımında tek tek ya da kombine olarak biyobelirteç adayı olarak kullanılabilecek olduklarını görmekteyiz. Spesifik miRNA bulgularımızın tanıdan önce hastalık ile ilişkili olup olmadığını doğrulamak açısından sonraki yapılacak olan yöntem daha fazla PKa hastasında qRT-PCR doğrulanmasının yapılmasıdır. qRT-PCR, aynı anda mikroarray kadar kapsamlı değerlendirme yapmaya elverişli olmasa da, mikroarray'e göre daha hassas olabilmektedir. qRT-PCR'de yapılacak olan çalışma sonuçlarının yapmış olduğumuz çalışmaya benzer olması halinde miRNA'ların hedefledikleri ve etkileşimde bulunduğu genlerden, Western-Blot ile protein düzeyinde ekspresyon çalışması yapılarak sonuçların tekrar doğrulanması sağlanacaktır. Bu doğrulamaların yapılmasının da olumlu olması halinde prostat kanseri hücre hatlarında hedef gen ve belirlediğimiz miRNA'lara spesifik ex vivo, sonrasında ise ratlarda in vivo çalışmaların yapılması planlanmaktadır.

Çalışmamızda biyomarker olarak kullanılabilecek miRNA'ların belirlenmesi ve tanılarının konulmasındaki olumsuzlukların önüne geçmek amacı ile literatüre katkıda bulunmaya çalışılmıştır.

KAYNAKLAR

1. McCormick F. Signalling networks that cause cancer. Trends in Genetics. 1999;15(12):M53-6.
2. Gökçe T. Pankreas kanser tedavisinde kullanılan kemoterapi ajanlarının hücre canlılığı ve cox aktivitesi üzerine in vitro etkisi: Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü; Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir, (Prof.Dr. Selma SİNAN), 2015;1-52.
3. Khorshid L, Güneş ÜY, Zaybak A. Sağlıklı bireylerde kanser risk faktörleri. Ege Üniversitesi Hemşirelik Fakültesi Dergisi.23(2):13-22.
4. " Estimated age-standardized incidence and mortality rates (World) in 2018, Turkey, males, all ages ", International Agency For Research On Cancer, [Internet]. [cited (Ziyaret edilme tarihi :01.02.2021)]. Available from: https://gco.iarc.fr/today/online-analysis-multi-bars?v=2020&mode=cancer&mode_population=countries&population=900&populations=792&key=total&sex=1&cancer=39&type=0&statistic=5&prevalence=0&population_group=4&ages_group%5B%5D=0&ages_group%5B%5D=17&nb_items=10&group_cancer=1&include_nmsc=1&include_nmsc_other=1&type_multiple=%257B%2522inc%2522%253Atrue%252C%2522mort%2522%253Atrue%252C%2522prev%2522%253Afalse%257D&orientation=horizontal&type_sort=1&type_nb_items=%257B%2522top%2522%253Atrue%252C%2522bottom%2522%253Afalse%257D&population_group_list=4,51,31,48,50,64,96,116,160,275,268,356,360,364,368,376,392,400,398,408,410,414,417,418,422,458,462,496,104,524,512,586,608,634,682,702,144,760,762,764,626,792,795,784,860,704,887&population_group_globocan_id=935,
5. Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, Mathers C, Parkin D, Piñeros M, et al. Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018: GLOBOCAN sources and methods. International journal of cancer. 2019;144(8):1941-53.
6. Wong MC, Goggins WB, Wang HH, Fung FD, Leung C, Wong SY, et al. Global incidence and mortality for prostate cancer: analysis of temporal patterns and trends in 36 countries. European urology. 2016;70(5):862-74.
7. Hatcher D, Daniels G, Osman I, Lee P. Molecular mechanisms involving prostate cancer racial disparity. American journal of translational research. 2009;1(3):235.
8. Polat K, Tüzel E, Aktepe F, Akdoğan B, Güler C, Uzun İ. Investigation of the incidence of latent prostate cancer and high-grade prostatic intraepithelial neoplasia in an autopsy series of Turkish males. Turkish Journal of Urology. 2009;35:96-100.
9. Smith DK, Venugopal N, Terris MK, Lokeshwar BL. Abstract 123A: The critical role of interleukin-8 chemokine axis in the development of benign prostatic hyperplasia (BPH). AACR; 2019;80(12):938-949.
10. Jarvis TR, Chughtai B, Kaplan SA. Testosterone and benign prostatic hyperplasia. Asian journal of andrology. 2015;17(2):212-216.

11. Krasanakis T, Nikolouzakakis TK, Sgantzios M, Mariolis-Sapsakos T, Souglakos J, Spandidos DA, et al. Role of anabolic agents in colorectal carcinogenesis: Myths and realities. *Oncology reports*. 2019;42(6):2228-44.
12. Mettlin C, Lee F, Drago J, Murphy GP, Project IotACSNPCD. The American cancer society national prostate cancer detection project. Findings on the detection of early prostate cancer in 2425 men. *Cancer*. 1991;67(12):2949-58.
13. Prestigiacomo A, Stamey T. Clinical usefulness of free and complexed PSA. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*. 1995;55(sup221):32-4.
14. Morote J, Lopez M, Encabo G, De Torres I. Effect of inflammation and benign prostatic enlargement on total and percent free serum prostatic specific antigen. *European urology*. 2000;37(5):537-40.
15. Akbayır S, Muşlu N, Erden S, Bozlu M. Diagnostic value of microRNAs in prostate cancer patients with prostate specific antigen (PSA) levels between 2, and 10 ng/mL. *Turkish journal of urology*. 2016;42(4):247-255.
16. Cochetti G, Poli G, Guelfi G, Boni A, Egidi MG, Mearini E. Different levels of serum microRNAs in prostate cancer and benign prostatic hyperplasia: evaluation of potential diagnostic and prognostic role. *OncoTargets and therapy*. 2016;9:7545-53.
17. Peng Y, Croce CM. The role of MicroRNAs in human cancer. *Signal transduction and targeted therapy*. 2016;1:15004.
18. Sun Q. Identifying FoxA1 interacting partners: Insight into androgenregulated prostatic genes: Vanderbilt University, Doctor of philosophy, (Dr. Robert Matusik, PhD), Nashville, 2010;1-127.
19. G Calleary, Stella RG Smith, and Mark R. Surgical anatomy of the prostate: Radical Prostatectomy from open to robotic, Eds Feneley.Kirby R, Montorsi F, Smith JA, Gontero P. 1, London: CRC Press, 2007:1-10.
20. Bhavsar A, Verma S. Anatomic imaging of the prostate. *BioMed research international*. 2014;2014:728539.
21. Lee F, Torp-Pedersen S, Siders D, Littrup P, McLeary R. Transrectal ultrasound in the diagnosis and staging of prostatic carcinoma. *Radiology*. 1989;170(3):609-15.
22. Burden H, Holmes C, Persad R, Whittington K. Prostatomes—their effects on human male reproduction and fertility. *Human reproduction update*. 2005;12(3):283-92.
23. Toivanen R, Shen MM. Prostate organogenesis: tissue induction, hormonal regulation and cell type specification. *Development*. 2017;144(8):1382-98.
24. Prajapati A, Gupta S, Mistry B, Gupta S. Prostate stem cells in the development of benign prostate hyperplasia and prostate cancer: emerging role and concepts. *BioMed research international*. 2013;2013:107954.

25. Conserva F, Barazzino M, Pesce F, Divella C, Oranger A, Papale M, et al. Urinary miRNA-27b-3p and miRNA-1228-3p correlate with the progression of kidney fibrosis in diabetic nephropathy. *Scientific reports*. 2019;9(1):1-11.
26. Tran CP, Lin C, Yamashiro J, Reiter RE. Prostate Stem Cell Antigen Is a Marker of Late Intermediate Prostate Epithelial Cells1 1 NIDDK (RFA CA-98-013) and a Department of Defense Army Research Grant (DAMD17-98-1-8578) to RER. *Molecular Cancer Research*. 2002;1(2):113-21.
27. Şentürk AB. Prostat Embriyolojisi, Fizyolojisi ve Anatomisi. *Derman Tıbbi Yayıncılık*. 2015:1-4.
28. Krieger JN, Lee SWH, Jeon J, Cheah PY, Liong ML, Riley DE. Epidemiology of prostatitis. *International journal of antimicrobial agents*. 2008;31:85-90.
29. Çek M. Kronik prostatit/kronik pelvik ağrı sendromu (KPAS). *Türk Üroloji Dergisi*. 2005; 31 (4): 569-73.
30. Patel ND, Parsons JK. Epidemiology and etiology of benign prostatic hyperplasia and bladder outlet obstruction. *Indian journal of urology: IJU: journal of the Urological Society of India*. 2014;30(2):170.
31. Barry M. Epidemiology and natural history of benign prostatic hyperplasia. *The Urologic clinics of North America*. 1990;17(3):495-507.
32. de la Rosette JJ, Alivizatos G, Madersbacher S, Perachino M, Thomas D, Desgrandchamps F, et al. EAU Guidelines on benign prostatic hyperplasia (BPH). *European urology*. 2001;40(3):256-63.
33. Committee APG. AUA guideline on management of benign prostatic hyperplasia (2003). Chapter 1: Diagnosis and treatment recommendations. *The Journal of urology*. 2003;170(2):530-47.
34. Kaplan SA, Te AE. Uroflowmetry and urodynamics. *The Urologic clinics of North America*. 1995;22(2):309-20.
35. Roehrborn CG, Bartsch G, Kirby R, Andriole G, Boyle P, De La Rosette J, et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of benign prostatic hyperplasia: a comparative, international overview. *Urology*. 2001;58(5):642-50.
36. Vasanwala FF, Wong MYC, Ho HSS, Foo KT. Benign prostatic hyperplasia and male lower urinary symptoms: A guide for family physicians. *Asian journal of urology*. 2017;4(3):181-4.
37. Shrivastava A, Gupta VB. Various treatment options for benign prostatic hyperplasia: A current update. *Journal of mid-life health*. 2012;3(1):10.
38. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: a cancer journal for clinicians*. 2018;68(6):394-424.
39. Jemal A, Tiwari RC, Murray T, Ghafoor A, Samuels A, Ward E, et al. Cancer statistics, 2004. *CA: a cancer journal for clinicians*. 2004;54(1):8-29.
40. Wingo PA, Tong T, Bolden S. Cancer statistics, 1995. *CA: a cancer journal for clinicians*. 1995;45(1):8-30.

41. Henderson RJ, Eastham JA, Daniel J C, Whatley T, Mata J, Venable D, et al. Prostate-specific antigen (PSA) and PSA density: racial differences in men without prostate cancer. *Journal of the National Cancer Institute*. 1997;89(2):134-8.
42. Crowe FL, Key TJ, Appleby PN, Travis RC, Overvad K, Jakobsen MU, et al. Dietary fat intake and risk of prostate cancer in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *The American journal of clinical nutrition*. 2008;87(5):1405-13.
43. Pischon T, Boeing H, Weikert S, Allen N, Key T, Johnsen NF, et al. Body size and risk of prostate cancer in the European prospective investigation into cancer and nutrition. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*. 2008;17(11):3252-61.
44. Hsing AW, Chokkalingam AP. Prostate cancer epidemiology. *Front Biosci*. 2006;11(5):1388-413.
45. Kiciński M, Vangronsveld J, Nawrot TS. An epidemiological reappraisal of the familial aggregation of prostate cancer: a meta-analysis. *PloS one*. 2011;6(10):e27130.
46. Heidenreich A, Bastian PJ, Bellmunt J, Bolla M, Joniau S, van der Kwast T, et al. EAU guidelines on prostate cancer. Part 1: screening, diagnosis, and local treatment with curative intent—update 2013. *European urology*. 2014;65(1):124-37.
47. Leslie SW, Siref LE. Cancer, Prostate. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021: 29261872.
- 2021 May 4.48. Cheng L, Montironi R, Bostwick DG, Lopez-Beltran A, Berney DM. Staging of prostate cancer. *Histopathology*. 2012;60(1):87-117.
49. Balk SP, Ko Y-J, Bubley GJ. Biology of prostate-specific antigen. *Journal of Clinical Oncology*. 2003;21(2):383-91.
50. Kosova F, Arı Z. Prostat kanseri ve apoptozis ilişkisi. *Journal of Clinical and Experimental Investigations*. 2011;2(1):124-31.
51. Brawer MK, Chetner MP, Beatie J, Buchner DM, Vessella RL, Lange PH. Screening for prostatic carcinoma with prostate specific antigen. *The Journal of urology*. 1992;147(3 Part 2):841-5.
52. Adhyam M, Gupta AK. A review on the clinical utility of PSA in cancer prostate. *Indian journal of surgical oncology*. 2012;3(2):120-9.
53. Acar Ö, Şanlı Ö. PSA: Tarihçe, biyokimyasal ve klinik özellikler ve izoformları. *Türk Urol Sem*. 2012;3:49-54.
54. Sözen S, Gürocak S, Acar C. Prostat kanseri tanısında PSA alt tipleri. *Üroonkoloji Bülteni*. 2004;4:13-8.
55. Dulgur O, Yilmaz M, Tural D, editors. Systemic Therapy in Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer. *Nucl Med Semin*. 2018;4:225-230

56. Wadosky KM, Koochekpour S. Therapeutic rationales, progresses, failures, and future directions for advanced prostate cancer. *International journal of biological sciences*. 2016;12(4):409.
57. Hacibekiroğlu İ, Kodaz H, Türkmen E. Hormonal therapy in advanced stage prostate cancer. *Turkish journal of oncology*. 2015;30(1):25-33.
58. Khoo TK, Yu B, Smith JA, Clarke AJ, Luk PP, Selinger CI, et al. Somatic mutations in salivary duct carcinoma and potential therapeutic targets. *Oncotarget*. 2017;8(44):75893-75903.
59. Yıldızhan M, Gemalmaz H, Ertek MŞ. Metastatik olmayan kastrasyon dirençli prostat kanserinde tedavi yaklaşımları: derleme. *Bull Urooncol*. 2015;14:120-127.
60. Alberti C. Hereditary/familial versus sporadic prostate cancer: few indisputable genetic differences and many similar clinicopathological features. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2010;14(1):31-41.
61. Levin AM, Machiela MJ, Zuhlke KA, Ray AM, Cooney KA, Douglas JA. Chromosome 17q12 variants contribute to risk of early-onset prostate cancer. *Cancer Research*. 2008;68(16):6492-6495.
62. Carter BS, Bova GS, Beaty TH, Steinberg GD, Childs B, Isaacs WB, et al. Hereditary prostate cancer: epidemiologic and clinical features. *The Journal of urology*. 1993;150(3):797-802.
63. Wallis CJ, Nam RK. Prostate cancer genetics: a review. *EJIFCC*. 2015;26(2):79-91.
64. Güneş S, Bağcı H, Sarıkaya Ş. Prostat kanseri genetiği. *O.M.Ü. Tıp Dergisi*. 2003;20(3):152-158.
65. Konishi N, Shimada K, Ishida E, Nakamura M. Molecular pathology of prostate cancer. *Pathology international*. 2005;55(9):531-539.
66. Konaç E, Sözen S. Prostat kanserinin tanı ve tedavisinde moleküler biyolojinin kullanım alanları. *Üroonkoloji Bülteni*. 2014;13:228-35.
67. Wang G, Zhao D, Spring DJ, DePinho RA. Genetics and biology of prostate cancer. *Genes & development*. 2018;32(17-18):1105-40.
68. Zhang P, Xia J-H, Zhu J, Gao P, Tian Y-J, Du M, et al. High-throughput screening of prostate cancer risk loci by single nucleotide polymorphisms sequencing. *Nature communications*. 2018;9(1):2022.
69. Di Leva G, Croce CM. miRNA profiling of cancer. *Current opinion in genetics & development*. 2013;23(1):3-11.
70. Kozomara A, Birgaoanu M, Griffiths-Jones S. miRBase: from microRNA sequences to function. *Nucleic acids research*. 2019;47(D1):D155-D62.
71. Zhang B, Pan X, Cobb GP, Anderson TA. microRNAs as oncogenes and tumor suppressors. *Developmental biology*. 2007;302(1):1-12.
72. Shenouda SK, Alahari SK. MicroRNA function in cancer: oncogene or a tumor suppressor? *Cancer and metastasis reviews*. 2009;28(3-4):369-78.

73. Hammond SM. MicroRNAs as oncogenes. *Current opinion in genetics & development*. 2006;16(1):4-9.
74. Richardsen E, Andersen S, Melbø-Jørgensen C, Rakae M, Ness N, Al-Saad S, et al. MicroRNA 141 is associated to outcome and aggressive tumor characteristics in prostate cancer. *Scientific reports*. 2019;9(1):1-9.
75. Luu HN, Lin H-Y, Sørensen KD, Ogunwobi OO, Kumar N, Chornokur G, et al. miRNAs associated with prostate cancer risk and progression. *BMC urology*. 2017;17:18.
76. Konaç E, Onen I, Sözen S. Üroonkolojide MikroRNA (miRNA)'ların yeri ve önemi. *Üroonkoloji Bülteni*. 2010;1:3-13.
77. Ma J, Lin Y, Zhan M, Mann DL, Stass SA, Jiang F. Differential miRNA expressions in peripheral blood mononuclear cells for diagnosis of lung cancer. *Laboratory Investigation*. 2015;95(10):1197-206.
78. Alunni-Fabroni M, Majunke L, Trapp EK, Tzschaschel M, Mahner S, Fasching PA, et al. Whole blood microRNAs as potential biomarkers in post-operative early breast cancer patients. *BMC cancer*. 2018;18(1):1-12.
79. Yavuzşen HT, Aktaş S, Saatli HB, Altun ZS. Over Kanserde mikro RNA'lar. *Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*. 33(1):93-101.
80. Jeffrey SS. Cancer biomarker profiling with microRNAs. *Nature biotechnology*. 2008;26(4):400-1.
81. Ha M, Kim VN. Regulation of microRNA biogenesis. *Nature reviews Molecular cell biology*. 2014;15(8):509-24.
82. Schanen BC, Li X. Transcriptional regulation of mammalian miRNA genes. *Genomics*. 2011;97(1):1-6.
83. Maxwell EK, Ryan JF, Schnitzler CE, Browne WE, Baxevanis AD. MicroRNAs and essential components of the microRNA processing machinery are not encoded in the genome of the ctenophore *Mnemiopsis leidyi*. *BMC genomics*. 2012;13(714):1-10.
84. Huang W, Kang X-L, Cen S, Wang Y, Chen X. High-level expression of microRNA-21 in peripheral blood mononuclear cells is a diagnostic and prognostic marker in prostate cancer. *Genetic testing and molecular biomarkers*. 2015;19(9):469-75.
85. Grönberg H. Prostate cancer epidemiology. *The Lancet*. 2003;361(9360):859-64.
86. Lilja H, Ulmert D, Vickers AJ. Prostate-specific antigen and prostate cancer: prediction, detection and monitoring. *Nature Reviews Cancer*. 2008;8(4):268-78.
87. Goonewardene SS, Pietrzak P, Albala D. Elevated PSA/Abnormal DRE. *Basic Urological Management*: Springer; 2019. p. 19-22.
88. Erdogan A, Polat S, Keskin E, Turan A. Is prostate volume better than PSA density and free/total PSA ratio in predicting prostate cancer in patients with PSA 2.5–10 ng/mL and 10.1–30 ng/mL? *The Aging Male*. 2020;23(1):59-65.

89. Filella X, Alcover J, Molina R, Rodriguez A, Carretero P, Ballesta A. Clinical evaluation of free PSA/total PSA (prostate-specific antigen) ratio in the diagnosis of prostate cancer. *European Journal of Cancer*. 1997;33(8):1226-9.
90. Camtosun A, Gökçe H. Comparison of prostate biopsy pathology and radical prostatectomy pathologies. *Dicle Tıp Dergisi*. 2019;46(1):133-9.
91. Ercan İ, Palabıyık F, Tuğcu V, Türkay R. Prostat manyetik rezonans-ultrasonografi görüntülüne füzyon biyopsinin etkinliği, ilk deneyimimiz. *Yeni Üroloji Dergisi*. 11(3):34-7.
92. YAZICI CM, TÜRKER P, ŞAHİN MF, ÖZCAN R. Prostat Kanserinde Aktif İzlem Kararı; Biyopsi Gleason Skoru Ne Kadar Güvenli? *Namık Kemal Tıp Dergisi*. 2017;5(2):58-62.
93. Özok HU, Oktay M, Sagnak L, Karakoyunlu N, Ersoy H, Alper M. Prostat kanserinde iğne biyopsi ve radikal prostatektomi örneklerinin Gleason skorlari arasındaki uyum üzerine modifiye Gleason derecelendirme sisteminin etkisi/The effect of modified Gleason grading on the score concordance between the Gleason scores of needle biopsy and radical prostatectomy specimens in prostatic carcinoma. *Turkish Journal of Urology*. 2010;36(4):333-338.
94. Günaydın G, Çağ Ç, Delibaş M, Keskin D, Hekimgil M, Cüreklibatır İ. Tanısal biyopsi ve radikal prostatektomi materyallerinde belirlenen gleason skorlarının uyumu. *Ege Tıp Dergisi*. 2000;39(3):203-7.
95. Khan AQ, Ahmed EI, Elareer NR, Junejo K, Steinhoff M, Uddin S. Role of miRNA-regulated cancer stem cells in the pathogenesis of human malignancies. *Cells*. 2019;8(8):840.
96. Guzel E, Karatas OF, Semercioz A, Ekici S, Aykan S, Yentur S, et al. Identification of microRNAs differentially expressed in prostatic secretions of patients with prostate cancer. *International journal of cancer*. 2015;136(4):875-9.
97. Zhiping C, Shijun T, Linhui W, Yapei W, Lianxi Q, Qiang D. MiR-181a promotes epithelial to mesenchymal transition of prostate cancer cells by targeting TGIF2. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2017;21(21):4835-43.
98. Guo X, Wang F, Liu Y, Gao X, Zhang M, Liu Q, et al. Expression and significance of microRNA-205 in prostate cancer and benign prostatic hyperplasia. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*. 2019;12(8):10739-46.
99. Fredsøe J, Rasmussen AK, Mouritzen P, Bjerre MT, Østergren P, Fode M, et al. Profiling of Circulating microRNAs in Prostate Cancer Reveals Diagnostic Biomarker Potential. *Diagnostics*. 2020;10(4):188.
100. Nayak B, Khan N, Garg H, Rustagi Y, Singh P, Seth A, et al. Role of miRNA-182 and miRNA-187 as potential biomarkers in prostate cancer and its correlation with the staging of prostate cancer. *International Braz j Urol: Official Journal of the Brazilian Society of Urology*. 2020; 46(4): 614–623.

101. Bonci D, Coppola V, Musumeci M, Addario A, Giuffrida R, Memeo L, et al. The miR-15a-miR-16-1 cluster controls prostate cancer by targeting multiple oncogenic activities. *Nature medicine*. 2008;14(11):1271.
102. Dong Q, Meng P, Wang T, Qin W, Qin W, Wang F, et al. MicroRNA let-7a inhibits proliferation of human prostate cancer cells in vitro and in vivo by targeting E2F2 and CCND2. *PloS one*. 2010;5(4):e10147.
103. Nadiminty N, Tummala R, Lou W, Zhu Y, Zhang J, Chen X, et al. MicroRNA let-7c suppresses androgen receptor expression and activity via regulation of Myc expression in prostate cancer cells. *Journal of Biological Chemistry*. 2012;287(2):1527-37.
104. Patron JP, Fendler A, Bild M, Jung U, Müller H, Arntzen MØ, et al. MiR-133b targets antiapoptotic genes and enhances death receptor-induced apoptosis. *PLoS One*. 2012;7(4):e35345.
105. Lin P-C, Chiu Y-L, Banerjee S, Park K, Mosquera JM, Giannopoulou E, et al. Epigenetic repression of miR-31 disrupts androgen receptor homeostasis and contributes to prostate cancer progression. *Cancer research*. 2013;73(3):1232-44.
106. Majid S, Dar AA, Saini S, Shahryari V, Arora S, Zaman MS, et al. miRNA-34b inhibits prostate cancer through demethylation, active chromatin modifications, and AKT pathways. *Clinical Cancer Research*. 2013;19(1):73-84.
107. Shi X-B, Xue L, Ma A-H, Tepper CG, Gandour-Edwards R, Kung H-J, et al. Tumor suppressive miR-124 targets androgen receptor and inhibits proliferation of prostate cancer cells. *Oncogene*. 2013;32(35):4130-8.
108. Fu X, Meng Z, Liang W, Tian Y, Wang X, Han W, et al. miR-26a enhances miRNA biogenesis by targeting Lin28B and Zcchc11 to suppress tumor growth and metastasis. *Oncogene*. 2014;33(34):4296-306.
109. Huang S, Guo W, Tang Y, Ren D, Zou X, Peng X. miR-143 and miR-145 inhibit stem cell characteristics of PC-3 prostate cancer cells. *Oncology reports*. 2012;28(5):1831-7.
110. Ren D, Wang M, Guo W, Huang S, Wang Z, Zhao X, et al. Double-negative feedback loop between ZEB2 and miR-145 regulates epithelial-mesenchymal transition and stem cell properties in prostate cancer cells. *Cell and tissue research*. 2014;358(3):763-78.
111. Larne O, Hagman Z, Lilja H, Bjartell A, Edsjö A, Ceder Y. miR-145 suppress the androgen receptor in prostate cancer cells and correlates to prostate cancer prognosis. *Carcinogenesis*. 2015;36(8):858-66.
112. Jiang C-Y, Ruan Y, Wang X-H, Zhao W, Jiang Q, Jing Y-F, et al. MiR-185 attenuates androgen receptor function in prostate cancer indirectly by targeting bromodomain containing 8 isoform 2, an androgen receptor co-activator. *Molecular and cellular endocrinology*. 2016;427:13-20.
113. Wu D, Zhou Y, Pan H, Qu P, Zhou J. microRNA-99a inhibits cell proliferation, colony formation ability, migration and invasion by targeting

- fibroblast growth factor receptor 3 in prostate cancer. *Molecular medicine reports*. 2015;11(2):1469-75.
114. Sun D, Lee YS, Malhotra A, Kim HK, Matecic M, Evans C, et al. miR-99 family of MicroRNAs suppresses the expression of prostate-specific antigen and prostate cancer cell proliferation. *Cancer research*. 2011;71(4):1313-24.
 115. Arai T, Okato A, Yamada Y, Sugawara S, Kurozumi A, Kojima S, et al. Regulation of NCAPG by miR-99a-3p (passenger strand) inhibits cancer cell aggressiveness and is involved in CRPC. *Cancer medicine*. 2018;7(5):1988-2002.
 116. Hua Y, Liang C, Miao C, Wang S, Su S, Shao P, et al. MicroRNA-126 inhibits proliferation and metastasis in prostate cancer via regulation of ADAM9. *Oncology letters*. 2018;15(6):9051-60.
 117. Chen L, Ding Z, Zhang Y, He S, Wang X. MiR-203 over-expression promotes prostate cancer cell apoptosis and reduces ADM resistance. *European review for medical and pharmacological sciences*. 2018;22(12):3734-41.
 118. Jalava S, Urbanucci A, Latonen L, Waltering K, Sahu B, Jänne OA, et al. Androgen-regulated miR-32 targets BTG2 and is overexpressed in castration-resistant prostate cancer. *Oncogene*. 2012;31(41):4460-71.
 119. Jossen S, Gururajan M, Sung S-Y, Hu P, Shao C, Zhau H, et al. Stromal fibroblast-derived miR-409 promotes epithelial-to-mesenchymal transition and prostate tumorigenesis. *Oncogene*. 2015;34(21):2690-9.
 120. Yu J-J, Wu Y-X, Zhao F-J, Xia S-J. miR-96 promotes cell proliferation and clonogenicity by down-regulating of FOXO1 in prostate cancer cells. *Medical oncology*. 2014;31(4):910.
 121. Xu L, Zhong J, Guo B, Zhu Q, Liang H, Wen N, et al. miR-96 promotes the growth of prostate carcinoma cells by suppressing MTSS1. *Tumor Biology*. 2016;37(9):12023-32.
 122. Yao J, Xu C, Fang Z, Li Y, Liu H, Wang Y, et al. Androgen receptor regulated microRNA miR-182-5p promotes prostate cancer progression by targeting the ARRDC3/ITGB4 pathway. *Biochemical and biophysical research communications*. 2016;474(1):213-9.
 123. Dong B, Shi Z, Wang J, Wu J, Yang Z, Fang K. IL-6 inhibits the targeted modulation of PDCD4 by miR-21 in prostate cancer. *PloS one*. 2015;10(8):e0134366.
 124. Yang Y, Guo J-X, Shao Z-Q. miR-21 targets and inhibits tumor suppressor gene PTEN to promote prostate cancer cell proliferation and invasion: An experimental study. *Asian Pacific journal of tropical medicine*. 2017;10(1):87-91.
 125. Selth LA, Das R, Townley SL, Coutinho I, Hanson AR, Centenera MM, et al. A ZEB1-miR-375-YAP1 pathway regulates epithelial plasticity in prostate cancer. *Oncogene*. 2017;36(1):24-34.

126. Pashaei E, Pashaei E, Ahmady M, Ozen M, Aydin N. Meta-analysis of miRNA expression profiles for prostate cancer recurrence following radical prostatectomy. *PloS one*. 2017;12(6):e0179543.
127. Suer I, Guzel E, Karatas OF, Creighton CJ, Ittmann M, Ozen M. MicroRNAs as prognostic markers in prostate cancer. *The Prostate*. 2019;79(3):265-71.
128. Wu QQ, Zheng B, Weng GB, Yang HM, Ren Y, Weng XJ, et al. Downregulated NOX4 underlies a novel inhibitory role of microRNA-137 in prostate cancer. *Journal of cellular biochemistry*. 2019;120(6):10215-27.
129. Urabe F, Matsuzaki J, Yamamoto Y, Kimura T, Hara T, Ichikawa M, et al. Large-scale circulating microRNA profiling for the liquid biopsy of prostate cancer. *Clinical Cancer Research*. 2019;25(10):3016-25.
130. Zhang N, Li Z, Bai F, Ji N, Zheng Y, Li Y, et al. MicroRNA expression profiles in benign prostatic hyperplasia. *Molecular medicine reports*. 2018;17(3):3853-8.
131. Haj-Ahmad TA. Use of MicroRNAs for Screening and Diagnosis of Prostate Cancer and Benign Prostatic Hyperplasia. *Google Patents*; 2014:0309130A1.
132. Wang W-S, Liu L-X, Li G-P, Chen Y, Li C-Y, Jin D-Y, et al. Combined serum CA19-9 and miR-27a-3p in peripheral blood mononuclear cells to diagnose pancreatic cancer. *Cancer prevention research*. 2013;6(4):331-8.
133. Chang C-W, Wu H-C, Terry MB, Santella RM. microRNA expression in prospectively collected blood as a potential biomarker of breast cancer risk in the BCFR. *Anticancer research*. 2015;35(7):3969-77.
134. Xu S, Yi X-M, Zhou W-Q, Cheng W, Ge J-P, Zhang Z-Y. Downregulation of miR-129 in peripheral blood mononuclear cells is a diagnostic and prognostic biomarker in prostate cancer. *International journal of clinical and experimental pathology*. 2015;8(11):14335-143344.
135. Yang B, Liu Z, Ning H, Zhang K, Pan D, Ding K, et al. MicroRNA-21 in peripheral blood mononuclear cells as a novel biomarker in the diagnosis and prognosis of prostate cancer. *Cancer Biomarkers*. 2016;17(2):223-30.
136. Goto Y, Kojima S, Nishikawa R, Enokida H, Chiyomaru T, Kinoshita T, et al. The microRNA-23b/27b/24-1 cluster is a disease progression marker and tumor suppressor in prostate cancer. *Oncotarget*. 2014;5(17):7748-7759.
137. Su J, Liang H, Yao W, Wang N, Zhang S, Yan X, et al. MiR-143 and MiR-145 regulate IGF1R to suppress cell proliferation in colorectal cancer. *PloS one*. 2014;9(12):e0114420.
138. Xu Y-F, Li Y-Q, Guo R, He Q-M, Ren X-Y, Tang X-R, et al. Identification of miR-143 as a tumour suppressor in nasopharyngeal carcinoma based on microRNA expression profiling. *The international journal of biochemistry & cell biology*. 2015;61:120-8.
139. Zhang G-j, Li J-s, Zhou H, Xiao H-x, Li Y, Zhou T. MicroRNA-106b promotes colorectal cancer cell migration and invasion by directly targeting DLC1. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*. 2015;34(1):73.

140. Dhar S, Kumar A, Gomez CR, Akhtar I, Hancock JC, Lage JM, et al. MTA 1-activated Epi-micro RNA-22 regulates E-cadherin and prostate cancer invasiveness. *FEBS letters*. 2017;591(6):924-33.
141. Poliseno L, Salmena L, Riccardi L, Fornari A, Song MS, Hobbs RM, et al. Identification of the miR-106b~ 25 microRNA cluster as a proto-oncogenic PTEN-targeting intron that cooperates with its host gene MCM7 in transformation. *Science signaling*. 2010;3(117):ra29.
142. Pasqualini L, Bu H, Puhr M, Narisu N, Rainer J, Schlick B, et al. miR-22 and miR-29a are members of the androgen receptor cistrome modulating LAMC1 and Mcl-1 in prostate cancer. *Molecular endocrinology*. 2015;29(7):1037-54.
143. Sun D, Layer R, Mueller AC, Cichewicz MA, Negishi M, Paschal BM, et al. Regulation of several androgen-induced genes through the repression of the miR-99a/let-7c/miR-125b-2 miRNA cluster in prostate cancer cells. *Oncogene*. 2014;33(11):1448-57.
144. Ye Y, Li S-L, Wang J-J. miR-100-5p Downregulates mTOR to Suppress the Proliferation, Migration, and Invasion of Prostate Cancer Cells. *Frontiers in Oncology*. 2020;10:2695.
145. Li X, Han X, Wei P, Yang J, Sun J. Knockdown of lncRNA CCAT1 enhances sensitivity of paclitaxel in prostate cancer via regulating miR-24-3p and FSCN1. *Cancer biology & therapy*. 2020;21(5):452-62.
146. Krebs M, Solimando AG, Kalogirou C, Marquardt A, Frank T, Sokolakis I, et al. miR-221-3p regulates VEGFR2 expression in high-risk prostate cancer and represents an escape mechanism from sunitinib in vitro. *Journal of clinical medicine*. 2020;9(3):670.
147. Liu Y, Yang HZ, Jiang YJ, Xu LQ. miR-451a is downregulated and targets PSMB8 in prostate cancer. *The Kaohsiung journal of medical sciences*. 2020;36(7):494-500.
148. Li Z, Li L-X, Diao Y-J, Wang J, Ye Y, Hao X-K. Identification of Urinary Exosomal miRNAs for the Non-Invasive Diagnosis of Prostate Cancer. *Cancer management and research*. 2021;13:25.
149. Wang F, Wang W, Lu L, Xie Y, Yan J, Chen Y, et al. MicroRNA-16-5p regulates cell survival, cell cycle and apoptosis by targeting AKT3 in prostate cancer cells. *Oncology Reports*. 2020;44(3):1282-92.
150. Chen ZH, Zhang GL, Li HR, Luo JD, Li ZX, Chen GM, et al. A panel of five circulating microRNAs as potential biomarkers for prostate cancer. *The Prostate*. 2012;72(13):1443-52.
151. Guelfi G, Cochetti G, Stefanetti V, Zampini D, Diverio S, Boni A, et al. Next generation sequencing of urine exfoliated cells: an approach of prostate cancer microRNAs research. *Scientific reports*. 2018;8(1):1-8.
152. Aghaee-Bakhtiari SH, Arefian E, Naderi M, Noorbakhsh F, Nodouzi V, Asgari M, et al. MAPK and JAK/STAT pathways targeted by miR-23a and miR-23b in prostate cancer: computational and in vitro approaches. *Tumor Biology*. 2015;36(6):4203-12.

153. Zhou C, Chen Y, He X, Zheng Z, Xue D. Functional Implication of Exosomal miR-217 and miR-23b-3p in the Progression of Prostate Cancer. *OncoTargets and therapy*. 2020;13:11595-11606.
154. Cheng C-C, Yang B-L, Chen W-C, Ho A-S, Sie Z-L, Lin H-C, et al. STAT3 Mediated miR-30a-5p Inhibition Enhances Proliferation and Inhibits Apoptosis in Colorectal Cancer Cells. *International journal of molecular sciences*. 2020;21(19):7315.
155. Chen C, Tang J, Xu S, Zhang W, Jiang H. miR-30a-5p inhibits proliferation and migration of lung squamous cell carcinoma cells by targeting FOXD1. *BioMed research international*. 2020;2020:1-14.
156. Outeiro-Pinho G, Barros-Silva D, Aznar E, Sousa A-I, Vieira-Coimbra M, Oliveira J, et al. MicroRNA-30a-5p me: a novel diagnostic and prognostic biomarker for clear cell renal cell carcinoma in tissue and urine samples. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*. 2020;39:1-11.
157. Wang X, Wang L, Sun Y, Chen B, Xiong L, Chen J, et al. MiR-22-3p inhibits fibrotic cataract through inactivation of HDAC6 and increase of α -tubulin acetylation. *Cell Proliferation*. 2020;53(11):e12911.
158. Huang H-G, Luo X, Wu S, Jian B. MiR-99a inhibits cell proliferation and tumorigenesis through targeting mTOR in human anaplastic thyroid cancer. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 2015;16(12):4937-44.
159. Qin H, Liu W. MicroRNA-99a-5p suppresses breast cancer progression and cell-cycle pathway through downregulating CDC25A. *Journal of cellular physiology*. 2019;234(4):3526-37.
160. Yang J, Chen Z, Wang X, Xu M, Fang H, Li F, et al. Inactivation of miR-100 combined with arsenic treatment enhances the malignant transformation of BEAS-2B cells via stimulating epithelial-mesenchymal transition. *Cancer biology & therapy*. 2017;18(12):965-73.
161. Chen T, Shao S, Li W, Liu Y, Cao Y. The circular RNA hsa-circ-0072309 plays anti-tumour roles by sponging miR-100 through the deactivation of PI3K/AKT and mTOR pathways in the renal carcinoma cell lines. *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*. 2019;47(1):3638-48.
162. Wei W, Peng J, Shen T. Rosuvastatin alleviates ischemia/reperfusion injury in cardiomyocytes by downregulating Hsa-miR-24-3p to target upregulated uncoupling protein 2. *Cellular reprogramming*. 2019;21(2):99-107.
163. Alatas ET, Kara M, Dogan G, Belli AA. Blood microRNA expressions in patients with mild to moderate psoriasis and the relationship between microRNAs and psoriasis activity. *Anais Brasileiros de Dermatologia*. 2020;95(6):702-7.
164. Ntounou E, Tzetis M, Braoudaki M, Lambrou G, Poulou M, Malizos K, et al. Serum microRNA array analysis identifies miR-140-3p, miR-33b-3p and miR-671-3p as potential osteoarthritis biomarkers involved in metabolic processes. *Clinical epigenetics*. 2017;9(1):1-15.

165. Zhang K, Liang Y, Feng Y, Wu W, Zhang H, He J, et al. Decreased epithelial and sputum miR-221-3p associates with airway eosinophilic inflammation and CXCL17 expression in asthma. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*. 2018;315(2):L253-64.
166. Lu T, Qiu T, Han B, Wang Y, Sun X, Qin Y, et al. Circular RNA circCSNK1G3 induces HOXA10 signaling and promotes the growth and metastasis of lung adenocarcinoma cells through hsa-miR-143-3p sponging. *Cellular Oncology*. 2021; 44(2):297-310
167. Riquelme I, Tapia O, Leal P, Sandoval A, Varga MG, Letelier P, et al. miR-101-2, miR-125b-2 and miR-451a act as potential tumor suppressors in gastric cancer through regulation of the PI3K/AKT/mTOR pathway. *Cellular oncology*. 2016;39(1):23-33.
168. Zhao S, Li J, Zhang G, Wang Q, Wu C, Zhang Q, et al. Exosomal miR-451a functions as a tumor suppressor in hepatocellular carcinoma by targeting LPIN1. *Cell Physiol Biochem*. 2019;53(1):19-35.
169. Herrera-Espejo S, Santos-Zorrozuza B, Álvarez-González P, Lopez-Lopez E, Garcia-Orad Á. A systematic review of microRNA expression as biomarker of late-onset Alzheimer's disease. *Molecular neurobiology*. 2019;56(12):8376-91.
170. Wang S, Jin S, Liu M-D, Pang P, Wu H, Qi Z-Z, et al. Hsa-let-7e-5p inhibits the proliferation and metastasis of head and neck squamous cell carcinoma cells by targeting chemokine receptor 7. *Journal of Cancer*. 2019;10(8):1941-1948.
171. Eroglu F, Dokur M, Ulu Y. MicroRNA Profile in Immune Response of Alveolar and Cystic Echinococcosis Patients. *Parasite Immunology*. 2021;43(7):e12817.
172. Sun X, Zheng X, Zhang X, Zhang Y, Luo G. Exosomal microRNA-23b-3p from bone marrow mesenchymal stem cells maintains T helper/Treg balance by downregulating the PI3k/Akt/NF-κB signaling pathway in intracranial aneurysm. *Brain Research Bulletin*. 2020;165:305-15.

EKLER

Ek 2. Etik Kurul Kararı



T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başkanlığı

Sayı : 72867572.050.01.04- 114724
Konu : Etik Kurul Kararı

18-07-2019

Sayın Doç. Dr. Pınar ASLAN KOŞAR
Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

Sorumlu araştırmacı olduğunuz "Prostat Kanseri ve Benign Prostat Hiperplazi (BPH) Hastalarında miRNA Ekspresyon Profiline Belirlenmesi" isimli çalışmanızın kurulumuz tarafından uygun görüldüğüne ilişkin 09/07/2019 tarih ve 212 sayılı Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Kararı yazımız ekinde gönderilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

Prof. Dr. Mekin SEZİK
Başkan

Eki : 1 Adet Etik Kurulu Kararı (2 Sayfa)

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

Araştırmanın Açık Adı Araştırmanın Protokol Kodu	Prostat Kanseri ve Benign Prostat Hiperplazi (BPH) Hastalarında miRNA Ekspresyon Profiline Belirlenmesi. (09.07.2019 tarih ve 212 sayılı karar)
---	---

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başkanlığı - (2012-KA EK-38)			
	AÇIK ADRESİ				
	TELEFON				
	FAKS				
	E-POSTA				
BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Doç. Dr. Pınar ASLAN KOŞAR			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Tıbbi Biyoloji			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı			
	VARSA İDARİ SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI				
	DESTEKLEYİCİ	Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi			
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alanlar için)	Sorumlu : Doç. Dr. Pınar ASLAN KOŞAR Yardımcı : Okan SANCER			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ				
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1 : ☐	FAZ 2 : ☐	FAZ 3 : ☐	FAZ 4 : ☐
		Gözlemsel ilaç çalışması		☐	
		Tıbbi cihaz klinik araştırması		☐	
İn vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları		☐			
İlaç dışı klinik araştırma		☐			
Diğer ise belirtiniz : Deneyisel					
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☒	ÇOK MERKEZLİ ☐	ULUSAL ☒	ULUSLARARASI ☐	
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili	
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐	
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	17.06.2019	01.001	Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐	
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐	
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐	
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama			
	SİGORTA	☐			
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☒	S.D.Ü/B.A.P. Birimine Müracaat Edilecek		
	BİYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	☐			
	İLAN	☐			
	YILLIK BİLDİRİM	☐			
	SONUÇ RAPORU	☐			
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	☐			
	DİĞER	☒	- Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Akademik Kurul Kararı		

Prof. Dr. Mekin SEZİK
Etik Kurul Başkanı

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

Araştırmanın Açık Adı		Prostat Kanseri ve Benign Prostat Hiperplazi (BPH) Hastalarında miRNA Ekspresyon Profiliinin Belirlenmesi.							
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 212		Tarih: 09/07/2019						
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel yönden sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.								
	SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU								
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI		-İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik -İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu							
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:		Prof. Dr. Mekin SEZİK							
Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişkisi		Katılım *		İmza
Prof. Dr. Mekin SEZİK	Kadın Hast. ve Doğum	SDÜ Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Mustafa TÜZ	Kulak Burun Boğaz Hast.	SDÜ Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Buket ARIDOĞAN	Tıbbi Mikrobiyoloji	SDÜ Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Ahmet Nesimi KİŞİOĞLU	Halk Sağlığı	SDÜ Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☒	
Prof. Dr. Mehmet Fahrettin ÖNDER	Hukuk	SDÜ Hukuk Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Doç. Dr. Derya YILDIRIM	Ağız Diş ve Çene Radyoloji	SDÜ Diş Hek. Fak.	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☒	
Doç. Dr. Halil AŞCI	Farmakoloji	SDÜ Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Dr. Öğretim Üyesi Mehtap SAVRAN	Farmakoloji	SDÜ Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Dr. Öğretim Üyesi Derya CEYHAN	Pedodonti	SDÜ Diş Hek. Fak.	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Dr. Öğretim Üyesi Abdullah Meriç ÜNAL	Ortopedi ve Travmatoloji	SDÜ Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Dr. Öğretim Üyesi Giray KOLCU	Aile Hekimliği	SDÜ Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Uzman Dr. Tuğba GÜRSOY KOCA	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	Isparta Şehir Hastanesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☒	
Uzman Dr. Ümmü Gül YILDIZ	Kadın Hast. Ve Doğum	Özel Isparta Hastanesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☒	
Öğr. Gör. Dr. Mehmet Erhan ŞAHİN	Biyomedikal ve Cihaz Teknoloji	ISUBU Teknik Bil. M.Y.O.	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☒	
Osman PARÇAOĞLU	Sivil Üye	Esnaf	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	

* : Toplantıda Bulunma

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı ve Soyadı : Okan SANCER
Doğum Yeri ve Yılı :
Medeni Hali :
Telefon :
Mail :

Eğitim Durumu

Lisans Öğrenimi : Süleyman Demirel Üniversitesi, Biyoloji Bölümü
(2007 – 2011)
Yüksek Lisans Öğrenimi : Süleyman Demirel Üniversitesi, Sağlık Bilimleri
Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı (2013-2016)

Yabancı Dil(ler) ve Düzeyi

İ. İngilizce -Orta

İş Deneyimi

1. Süleyman Demirel Üniversitesi /YETEM /Biyomühendislik Birimi 2019-
Halen /Öğr. Gör.
2. Süleyman Demirel Üniversitesi Hastanesi 2014-2019
Tıbbi Mikrobiyoloji Seroloji Laboratuvarı / Biyolog
3. Süleyman Demirel Üniversitesi Hastanesi 2011- 2014
Tıbbi Genetik Laboratuvarı / Biyolog
4. Süleyman Demirel Üniversitesi Hastanesi 2010-2008
Part time – Biyokimya Laboratuvarı
5. Süleyman Demirel Üniversitesi Hastanesi 2008
Part time –Mikrobiyoloji Laboratuvarı

Bilimsel Yayınlar ve Çalışmalar

1. **Sancer O**, Şirin MC, Arıdoğan B, Sesli-Çetin E, Yiğit A, Tepebaşı MY, Koşar PA. Comparison of DNA damage and proliferative capacities in smear samples of HPV positive and negative patients by micronucleus counting and AgNOR staining. *Biotechnic & Histochemistry*.2020;96(5):354-358.
2. **Sancer O**, Tepebaşı MY, Koşar PA. Investigation of Genotoxic Effect of Escherichia coli in Urinary Tract Epithelial Cells with Micronucleus Assay. *SDÜ Tıp Fak. Derg.* 2018;25(3):298-302 doi:10.17343.
3. Tola EN, Koşar PA, Karatopuk DU, **Sancer O**, Oral B. Effect of DNA damage of cumulus oophorus cells and lymphocytes analyzed by alkaline comet assay on oocyte quality and intracytoplasmic sperm injection success among patients with polycystic ovary syndrome. *J Obstet Gynaecol Res.* 2019;45(3): 609-618. doi: 10.1111/jog.13868.
4. Tepebaşı MY, Şahin Calapoğlu N, Öztürk Ö, **Sancer O**, Gonca T. HLA-DRB1 allele frequency and immunological response in obstructive sleep apnea syndrome in Turkish population. *Clin Respir J.* 2018 Oct;12(10):2505-2512. doi: 10.1111/crj.12945. Epub 2018 Sep 23.
5. Tepebaşı MY, Şahin Calapoğlu N, Öztürk Ö, **Sancer O**, Büyükbayram İH. The Effects of Hypoxia on Oxidative Stress, Inflammation, and DNA in Patients With Severe Sleep Apnea Syndrome. *SDÜ Tıp Fak. Derg.* 2018;25(4):456-461 doi:10.17343/sdutfd.411066.
6. Öztaş S, Kaplan BM, Sancer O, Yiğit B, Bayram AA: Ailevi Akdeniz Ateşi Düşünülen 90 Olguda Mefv Gen Mutasyonlarının İncelenmesi.10. Ulusal Tıbbi Biyoloji Kongresi, Sayfa: 185, 19-23 Aralık 2012, Bursa.
7. Öztaş S, Güney M, Kaplan BM, Sancer O, Yiğit B, Bayram AA: Tekrarlayan Gebelik Kayıpları Olan 81 Hastada Kalıtsal Trombofili Mutasyon Analizi. 10. Ulusal Tıbbi Biyoloji Kongresi, Sayfa: 313, 19-23 Aralık 2012, Bursa.

8. Öztaş S, Kaplan BM, Sancer O, Yiğit B, Bayram AA: Tekrarlayan Gebelik Kayıpları Nedeniyle Başvuran Çiftlerde Sitogenetik İncelemeler. 10. Ulusal Tıbbi Biyoloji Kongresi, Sayfa: 313, 19-23 Aralık 2012, Bursa.
9. Öztaş S, Kaplan BM, Sancer O, Yiğit B, Bayram AA: İnfertilite Nedeniyle Başvuran Çiftlerde Sitogenetik ve Moleküler Genetik Çalışma Sonuçları. 10. Ulusal Tıbbi Biyoloji Kongresi, Sayfa: 314, 19-23 Aralık 2012, Bursa.
10. Öztaş S, Kaplan BM, Sancer O, Yiğit B, Bayram AA: Pediatrik Yaş Grubundaki Hastalarda Klinik Genetik ve Sitogenetik İnceleme Sonuçları. 10. Ulusal Tıbbi Biyoloji Kongresi, Sayfa: 259, 19-23 Aralık 2012, Bursa.
11. Uz E, Bağcı Ö, Yiğit B, Sancer O. FMF Hastalarında MEFV Gen Mutasyonları. Erişkin Yaşta Görülen Genetik Hastalıklar Sempozyumu, Sayfa :22, 09-07 Aralık 2013, İstanbul.
12. Bozkurt E, Bağcı Ö, Yiğit A, Sancer O, Yiğit B, Şahin M, Uz E. Akdenizden Esen FMF. 2. Uluslararası Tıp Öğrenci Kongresi. Sayfa: 82, 9-11 Mayıs 2014.
13. Tan M, Savaş BH, Yiğit A, Yiğit B, Bağcı Ö, Özbaş H, Sancer O, Uz E. A Case Report About Chromosome Anomalies in Recurrent Aborts. 2. Uluslararası Tıp Öğrenci Kongresi. Sayfa:113, 9-11 Mayıs 2014.
14. Akay BM, Yiğit A, Bağcı Ö, Yiğit B, Sancer O, Özbaş H, Uz E. Heteromorfik Kromozom Yapısı Gözlenen Olguların Değerlendirilmesi. 2. Uluslararası Tıp Öğrenci Kongresi. Sayfa: 82, 9-11 Mayıs 2014.
15. Sancer O, Tepebaşı MY, Koşar PA, Öz SZ, Investigation of Genotoxic Effect of Escherichia coli in Urinary Tract Epithelial Cells with Micronucleus Assay. 7th World Congress of Signaling and TRP Channels, 20-23 April 2018. Alanya- Turkey.

16. Tepebaşı MY, Sancer O, Koşar PA, Şahin Calapoğlu N, Öztürk Ö, Gonca T. Malondialdehyde and Myeloperoxidase levels in patients with obstructive sleep apnea syndrome. 7th World Congress of Signaling and TRP Channels, 20-23 April 2018. Alanya- Turkey.
17. Sancer O, Koşar PA, Öz SZ, Tola EN, Togay AV, Ciris IM. Micronucleus Detection in Cervical Smear and Comet Test in Blood Sample of Reproductive and Menopausal Period for DNA Damage Evaluation. VI. International Congress of Molecular Medicine 22-25th of May 2017, Istanbul, Turkey.

