



T.C.

**ESKİŞEHİR OSMANGAZI ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
TEMEL TIP BİLİM DALI**

**LONG RNA CCAT2'NİN ÖSTROJEN HORMON DUYARLILIĞI
AÇISINDAN ETKİSİNİN MEME VE OVER KANSER
HÜCRELERİNDE İNCELENMESİ**

İBRAHİM UĞUR ÇALIŞ

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN

PROF. DR. DİDEM TURGUT COŞAN

Eskişehir

2021



T.C.

**ESKİŞEHİR OSMANGAZI ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
TEMEL TIP BİLİM DALI**

**LONG RNA CCAT2'NİN ÖSTROJEN HORMON DUYARLILIĞI
AÇISINDAN ETKİSİNİN MEME VE OVER KANSER
HÜCRELERİNDE İNCELENMESİ**

İBRAHİM UĞUR ÇALIŞ

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN

PROF. DR. DİDEM TURGUT COŞAN

Eskişehir

2021

KABUL VE ONAY SAYFASI

İBRAHİM UĞUR ÇALIŞ'ın Doktora Tezi olarak hazırladığı “**Long RNA CCAT2'nin Östrojen Hormon Duyarlılığı Açısından Etkisinin Meme ve Over Kanser Hücrelerinde İncelenmesi**” başlıklı bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddesi uyarınca değerlendirilerek “**KABUL**” edilmiştir.

Tarih

19/01/2021

Üye: Prof. Dr. Didem TURGUT COŞAN

Üye: Prof. Dr. Hülyam KURT

Üye: Prof. Dr. Selda KABADERE

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Fulya DOĞANER

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Ahu SOYOCAK

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun ... / ... / ... tarih ve ... / ... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Selma METİNTAŞ

Enstitü Müdürü

TEŐEKKÖR SAYFASI

Bu tezin gerçekleştirilmesinde destek ve katkılarından dolayı danıŐmanım Prof.Dr. Didem TURGUT COŞAN'a, çalıŐmalarım sırasında desteklerini esirgemeyen ESOGÖ Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri Prof. Dr. Hülyam KURT ve Doç.Dr. M.Cengiz ÖSTÖNER'e, beni her alanda koŐulsuz destekleyen ruh eŐim Özge Alev Sönmez ÇALIŞ'a, doğduğunda hayatımı yeniden Őekillendiren ve beni baba yapan birtanecik kızım Bernis Lila ÇALIŞ'a ve aileme teŐekkürü bir borç bilirim.

İ.UĞUR ÇALIŞ

OCAK 2021

ÖZET

Kanser, hücrelerde zamanla oluşan genetik değişikliklerin birikmesinin neden olduğu kontrolsüz bölünme ile karakterize edilen bir hastalıktır. Meme kanseri kadınlar arasında en sık görülen kanser tipidir ve kansere bağlı ölümler içinde akciğer kanserinden sonra ikinci sırada yer alır. Yumurtalık (over) kanseri tüm jinekolojik kanserleri arasında en kötü prognoz ve en yüksek ölüm oranına sahiptir. Yumurtalık kanserinin asemptomatik olması, gizli büyümesi ve uygun tarama yöntemlerinde eksiklik olmasından dolayı bu kansere sessiz katil adı verilmiştir.

Östrojenin kadınlarda önemli biyolojik ve fizyolojik işlevlere sahip olmasının yanı sıra kanser oluşumu ve gelişiminde etkili olduğu bilinmektedir. Meme kanserlerinin yaklaşık %80'i, yumurtalık kanserlerinin %40-60'ı östrojen reseptörü (ER) pozitifdir ve östrojen bu kanser türleri için risk faktörü oluşturur.

Kanserde önemli rolü olabileceği düşünülen kodlamayan RNA'lar (ncRNA) hücrenin gelişimi, yaşamsal fonksiyonları ve hücrel bağışıklık gibi çeşitli işlevlere sahiptir. Genel olarak, transkript büyüklüğüne göre 200'den az nükleotid (nt) içeren RNA'lar kısa ncRNA'lar, 200'den fazla nükleotid (nt) içeren RNA'lar uzun ncRNA'lar (lncRNA) olarak sınıflandırılır. Meme, prostat, yumurtalık ve tiroid kanserleri gibi çeşitli endokrin kanserler ile lncRNA'lar ilişkilendirilmiştir. Güncel çalışmalarda kolon kanseri ile ilişkili transkript 2 (CCAT2)'nin, meme kanseri ve yumurtalık kanseri oluşumu ve gelişiminde görev alabilecek potansiyele sahip yeni bir lncRNA olarak bildirilmiştir.

Bu çalışmada östrojen uygulaması yapılan ve yapılmayan ER+/ER- meme ve yumurtalık kanseri hücrelerinde siRNA ile susturulan CCAT2'nin proliferasyon, adezyon, canlılık ve apoptoz açısından etkileri belirlenmiştir. Hücrelerde tripan mavisi boyamasıyla canlılık, XTT yöntemi ile adezyon ve proliferasyon, TUNEL yöntemi ile apoptoz, qPCR ile CCAT2 gen ekspresyonu belirlenmeleri yapıldı.

CCAT2'ye özgü siRNA uygulamaları MCF-7, MDA-MB-231, OVCAR-3 ve UWB1.289 hücrelerinde çoğalma, canlılık ve tutunmayı azaltırken apoptozu artırdığı belirlendi. ER+ meme ve yumurtalık kanseri hücrelerinde çoğalma, canlılık ve apoptoz açısından siCCAT2'nin gösterdiği etkiler ER- meme ve yumurtalık kanseri hücrelerine göre daha azdı. Östrojen uygulanan ER+ meme ve yumurtalık kanseri hücreleri östrojen uygulanmayan ER+ meme ve yumurtalık kanseri hücrelerine göre siCCAT2'den daha az etkilendi.

Östrojen uygulamasının ER+ meme kanseri ve yumurtalık kanseri hücrelerinde CCAT2 gen ekspresyon seviyelerini, proliferasyonu, canlılık ve adezyonu artırırken hücrelerin apoptozunu azalttığı belirlendi. Çeşitli kanserlerde östrojen ve ER'nin CCAT2 ile moleküler etkileşimleri ve hücre sinyal yolları üzerine olan etkisinin keşfedilmesi ile yeni bir terapötik ajan olarak değerlendirilmesinin mümkün olabileceğini düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Östrojen, CCAT2, Östrojen reseptörü, Meme kanseri, Yumurtalık kanseri

SUMMARY

Cancer is a disease characterized by uncontrolled division caused by the accumulation of genetic changes in cells over time. Breast cancer is the most common type of cancer among women and ranks second after lung cancer among cancer related deaths. Ovarian cancer has the worst prognosis and the highest mortality rate among all gynecological cancers. Since ovarian cancer is asymptomatic, latent growth, and lack of appropriate screening methods, this cancer has been called the silent killer.

Estrogen is known to have important biological and physiological functions in women as well as being effective in cancer formation and development. Approximately 80% of breast cancers and 40-60% of ovarian cancers are estrogen receptor (ER) positive and estrogen is a risk factor for these types of cancer.

Non-coding RNAs (ncRNA), which are thought to have an important role in cancer, have various functions such as cell development, vital functions, and cellular immunity. Generally, ncRNAs containing less than 200 nucleotides (nt) are classified as short ncRNAs, RNAs containing more than 200 nucleotides (nt), according to transcript size, as long ncRNAs (lncRNAs). LncRNAs have been associated with various endocrine cancers such as breast, prostate, ovarian, and thyroid cancers. In recent studies, colon cancer-related transcript 2 (CCAT2) has been reported as a new lncRNA that has the potential to be involved in the formation and development of breast cancer and ovarian cancer.

In this study, the effects of CCAT2 silenced by siRNA in terms of proliferation, adhesion, vitality and apoptosis in ER+/ER- breast and ovarian cancer cells with and without estrogen application were determined. Viability of cells by trypan blue staining, adhesion and proliferation by XTT method, apoptosis by TUNEL method, CCAT2 gene expression by qPCR method were determined.

CCAT2 specific siRNA applications were determined to increase apoptosis while decreasing proliferation, viability and adherence in MCF-7, MDA-MB-231, OVCAR-3 and UWB1.289 cells. The effects of siCCAT2 in terms of proliferation, viability and apoptosis in ER + breast and ovarian cancer cells were less than ER- breast and ovarian cancer cells.

It was determined that while estrogen administration increased CCAT2 gene expression levels, proliferation, viability and adhesion in ER+ breast cancer and ovarian cancer cells, it decreased apoptosis of cells. We think that estrogen and ER in various cancers can be evaluated as a new therapeutic agent with the discovery of their molecular interactions with CCAT2 and their effect on cell signaling pathways.

Key Words: Estrogen, CCAT2, Estrogen receptor, Breast cancer, Ovarian cancer

İÇİNDEKİLER

| | |
|--|-----|
| KABUL VE ONAY SAYFASI | ii |
| TEŞEKKÜR SAYFASI | iii |
| ÖZET | iv |
| SUMMARY | vi |
| TABLO DİZİNİ | x |
| ŞEKİL DİZİNİ | xii |
| SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ | xiv |
| 1. GİRİŞ VE AMAÇ | 1 |
| 2. GENEL BİLGİLER | 3 |
| 2.1. Kanser | 3 |
| 2.1.1. Hücre döngüsü (siklusu) ve kanser | 3 |
| 2.1.2. Kanserleşme süreci | 6 |
| 2.2. Meme Kanseri | 8 |
| 2.2.1. Meme kanseri epidemiyolojisi | 10 |
| 2.3. Yumurtalık (Over) Kanseri | 11 |
| 2.3.1. Yumurtalık kanseri epidemiyolojisi | 14 |
| 2.4. Hormon ve Kanser | 16 |
| 2.4.1. Meme kanseri ve östrojen | 17 |
| 2.4.2. Yumurtalık (over) kanseri ve östrojen | 20 |
| 2.5. Kodlamayan RNA'lar (Non-coding RNAs)..... | 22 |
| 2.5.1. Kısa (small) kodlamayan RNA'lar (sncRNA) | 23 |
| 2.5.1.1. MikroRNA (miRNA)..... | 23 |
| 2.5.1.2. Küçük engelleyici RNA (Short İnterfering/Silencing RNA /siRNA)..... | 23 |
| 2.5.1.3. Piwi etkileşimli RNA (piRNA)..... | 24 |
| 2.5.1.4. tRNA'dan türetilmiş küçük RNA (tsRNA) | 24 |
| 2.5.2. Uzun kodlamayan RNA'lar (lncRNA)..... | 24 |
| 2.5.3. Kanser ve ncRNA'lar..... | 28 |
| 2.5.3.1. Kanser ve sncRNA..... | 28 |
| 2.5.3.2. Kanser ve lncRNA'lar..... | 30 |
| 2.6. CCAT2 ve Kanser..... | 34 |
| 2.6.1. CCAT2 ve meme kanseri..... | 35 |
| 2.6.2. CCAT2 ve yumurtalık kanseri | 36 |
| 2.7. Çalışmamızda Kullanılan Hücre Hatları | 37 |
| 2.7.1. MCF-7 hücre hattı..... | 37 |
| 2.7.2. MDA-MB-231 hücre hattı | 37 |
| 2.7.3. OVCAR-3 hücre hattı | 38 |
| 2.7.4. UWB1.289 hücre hattı | 38 |

| | |
|--|----|
| 3. GEREÇ VE YÖNTEMLER | 39 |
| 3.1. Meme Kanseri Hücrelerinin Kültüre Edilmesi | 39 |
| 3.2. Yumurtalık (Over) Kanseri Hücrelerinin Kültüre Edilmesi..... | 40 |
| 3.2. Hücrelerde Standart Eğri Oluşturulması | 41 |
| 3.3. Hücrelerde Proliferasyonun En Yüksek Olduğu Östrojen Miktarlarının Belirlenmesi ... | 41 |
| 3.4. Deney Gruplarının Oluşturulması | 41 |
| 3.5. siRNA ile Gen Susturma İşlemi..... | 42 |
| 3.6. Hücrelerden Total RNA İzolasyonu | 42 |
| 3.7. Elde Edilen Total RNA'lardan cDNA Dönüşümü..... | 43 |
| 3.8. qPCR..... | 43 |
| 3.9. Çoğalma (Proliferasyon) Belirlemeleri | 44 |
| 3.10. Tutunma (Adezyon) Belirlemeleri | 44 |
| 3.11. Canlılık Belirlemeleri..... | 44 |
| 3.12. Apoptoz Belirlemeleri..... | 45 |
| 3.13. İstatiksel Analiz | 46 |
| 4. BULGULAR | 47 |
| 4.1. Standart Eğrileri | 47 |
| 4.2. Hücrelerde Proliferasyonun En Yüksek Olduğu Östrojen Miktarları..... | 49 |
| 4.2.1. MCF-7 hücrelerinde proliferasyonun en yüksek olduğu östrojen miktarları | 49 |
| 4.2.2. MDA-MB-231 hücrelerinde proliferasyonun en yüksek olduğu östrojen miktarları.. | 52 |
| 4.2.3. OVCAR-3 hücrelerinde proliferasyonun en yüksek olduğu östrojen miktarları | 54 |
| 4.2.4. UWB1.289 hücrelerinde proliferasyonun en yüksek olduğu östrojen miktarları | 57 |
| 4.3. Hücrelerde CCAT2 Gen Ekspresyonlarının Belirlenmesi | 59 |
| 4.3.1. MCF-7 hücrelerinde CCAT2 gen ekspresyonlarının belirlenmesi | 59 |
| 4.3.2. MDA-MB-231 hücrelerinde CCAT2 gen ekspresyonlarının belirlenmesi | 59 |
| 4.3.3. OVCAR-3 hücrelerinde CCAT2 gen ekspresyonlarının belirlenmesi..... | 60 |
| 4.3.4. UWB1.289 hücrelerinde CCAT2 gen ekspresyonlarının belirlenmesi..... | 60 |
| 4.4. Hücrelerde Çoğalma (Proliferasyon) Belirlemeleri | 61 |
| 4.4.1 MCF-7 hücrelerinde çoğalma (proliferasyon) belirlemeleri | 61 |
| 4.3.2. MDA-MB-231 hücrelerinde çoğalmanın (proliferasyon) belirlemeleri..... | 64 |
| 4.3.3. OVCAR-3 hücrelerinde çoğalmanın (proliferasyon) belirlemeleri | 67 |
| 4.3.4. UWB1.289 hücrelerinde çoğalmanın (proliferasyon) belirlemeleri | 70 |
| 4.5. Hücrelerde Tutunma (Adezyon) Belirlemeleri | 74 |
| 4.5.1. MCF-7 hücrelerinde tutunmanın (adezyon) belirlemeleri | 74 |
| 4.5.2. MDA-MB-231 hücrelerinde tutunma (adezyon) belirlemeleri | 77 |
| 4.5.3. OVCAR-3 hücrelerinde tutunma (adezyon) belirlemeleri | 80 |
| 4.5.4. UWB1.289 hücrelerinde tutunma (adezyon) belirlemeleri..... | 83 |

| | |
|---|------------|
| 4.6. Hücrelerde Canlılığın Belirlenmesi | 86 |
| 4.6.1. MCF-7 hücrelerinde canlılığın belirlenmesi | 86 |
| 4.6.2. MDA-MB-231 hücrelerinde canlılığın belirlenmesi..... | 88 |
| 4.6.3. OVCAR-3 hücrelerinde canlılığın belirlenmesi..... | 90 |
| 4.6.4. UWB1.289 hücrelerinde canlılığın belirlenmesi..... | 92 |
| 4.7. Hücrelerde Apoptozun Belirlenmesi..... | 95 |
| 4.7.1. MCF-7 hücrelerinde apoptozun belirlenmesi..... | 95 |
| 4.7.2. MDA-MB-231 hücrelerinde apoptozun belirlenmesi | 97 |
| 4.7.3. OVCAR-3 hücrelerinde apoptozun belirlenmesi | 99 |
| 4.7.4. UWB1.289 hücrelerinde apoptozun belirlenmesi | 101 |
| 5. TARTIŞMA..... | 103 |
| 6. SONUÇ VE ÖNERİLER..... | 109 |
| KAYNAKLAR DİZİNİ | 110 |
| ÖZGEÇMİŞ..... | 124 |

TABLO DİZİNİ

| | |
|--|----|
| Tablo 4.1. MCF-7 Hücrelerinde 24. Saat Östrojen Uygulaması Sonrası Hücre Sayıları | 49 |
| Tablo 4.2. MCF-7 Hücrelerinde 48. Saat Östrojen Uygulaması Sonrası Hücre Sayıları | 50 |
| Tablo 4.3. MCF-7 Hücrelerinde 72. Saat Östrojen Uygulaması Sonrası Hücre Sayıları | 51 |
| Tablo 4.4. MDA-MB-231 Hücrelerinde 24. Saat Östrojen Uygulaması Sonrası Hücre S..... | 52 |
| Tablo 4.5. MDA-MB-231 Hücrelerinde 48. Saat Östrojen Uygulaması Sonrası Hücre S..... | 52 |
| Tablo 4.6. MDA-MB-231 Hücrelerinde 72. Saat Östrojen Uygulaması Sonrası Hücre S..... | 53 |
| Tablo 4.7. OVCAR-3 Hücrelerinde 24. Saat Östrojen Uygulaması Sonrası Hücre S..... | 54 |
| Tablo 4.8. OVCAR-3 Hücrelerinde 48. Saat Östrojen Uygulaması Sonrası Hücre S..... | 55 |
| Tablo 4.9. OVCAR-3 Hücrelerinde 72. Saat Östrojen Uygulaması Sonrası Hücre S..... | 56 |
| Tablo 4.10. UWB1.289 Hücrelerinde 24. Saat Östrojen Uygulaması Sonrası Hücre S..... | 57 |
| Tablo 4.11. UWB1.289 Hücrelerinde 48. Saat Östrojen Uygulaması Sonrası Hücre S..... | 57 |
| Tablo 4.12. UWB1.289 Hücrelerinde 72. Saat Östrojen Uygulaması Sonrası Hücre S..... | 58 |
| Tablo 4.13. MCF-7 hücrelerinde 24., 48. ve 72. Saat CCAT2 Ekspresyonu | 59 |
| Tablo 4.14. MDA-MB-231 hücrelerinde 24., 48. ve 72. Saat CCAT2 Ekspresyonu..... | 59 |
| Tablo 4.15. OVCAR-3 hücrelerinde 24., 48. ve 72. Saat CCAT2 Ekspresyonu..... | 60 |
| Tablo 4.16. UWB1.289 hücrelerinde 24., 48. ve 72. Saat CCAT2 Ekspresyonu..... | 60 |
| Tablo 4.17. MCF-7 Hücrelerinde 24. Saat Çoğalma (Proliferasyon) Belirlemeleri..... | 61 |
| Tablo 4.18. MCF-7 Hücrelerinde 48. Saat Çoğalma (Proliferasyon) Belirlemeleri..... | 62 |
| Tablo 4.19. MCF-7 Hücrelerinde 72. Saat Çoğalma (Proliferasyon) Belirlemeleri..... | 63 |
| Tablo 4.20. MDA-MB-231 Hücrelerinde 24. Saat Çoğalma (Proliferasyon) | 64 |
| Tablo 4.21. MDA-MB-231 Hücrelerinde 48. Saat Çoğalma (Proliferasyon) | 65 |
| Tablo 4.22. MDA-MB-231 Hücrelerinde 72. Saat Çoğalma (Proliferasyon) | 66 |
| Tablo 4.23. OVCAR-3 Hücrelerinde 24. Saat Çoğalma (Proliferasyon) | 67 |
| Tablo 4.24. OVCAR-3 Hücrelerinde 48. Saat Çoğalma (Proliferasyon) | 68 |
| Tablo 4.25. OVCAR-3 Hücrelerinde 72. Saat Çoğalma (Proliferasyon) | 69 |
| Tablo 4.26. UWB1.289 Hücrelerinde 24. Saat Çoğalma (Proliferasyon) | 70 |
| Tablo 4.27. UWB1.289 Hücrelerinde 48. Saat Çoğalma (Proliferasyon) | 71 |
| Tablo 4.28. UWB1.289 Hücrelerinde 72. Saat Çoğalma (Proliferasyon) | 72 |
| Tablo 4.29. MCF-7 Hücrelerinde 24. Saat Tutunma (Adezyon)..... | 74 |
| Tablo 4.30. MCF-7 Hücrelerinde 48. Saat Tutunma (Adezyon)..... | 75 |
| Tablo 4.31. MCF-7 Hücrelerinde 72. Saat Tutunma (Adezyon)..... | 76 |
| Tablo 4.32. MDA-MB-231 Hücrelerinde 24. Saat Tutunma (Adezyon) | 77 |
| Tablo 4.33. MDA-MB-231 Hücrelerinde 48. Saat Tutunma (Adezyon) | 78 |
| Tablo 4.34. MDA-MB-231 Hücrelerinde 72. Saat Tutunma (Adezyon) | 79 |
| Tablo 4.35. OVCAR-3 Hücrelerinde 24. Saat Tutunma (Adezyon) | 80 |

| | |
|---|-----|
| Tablo 4.36. OVCAR-3 Hücrelerinde 48. Saat Tutunma (Adezyon) | 81 |
| Tablo 4.37. OVCAR-3 Hücrelerinde 72. Saat Tutunma (Adezyon) | 82 |
| Tablo 4.38. UWB1.289 Hücrelerinde 24. Saat Tutunma (Adezyon) | 83 |
| Tablo 4.39. UWB1.289 Hücrelerinde 48. Saat Tutunma (Adezyon) | 84 |
| Tablo 4.40. UWB1.289 Hücrelerinde 72. Saat Tutunma (Adezyon) | 85 |
| Tablo 4.41. MCF-7 Hücrelerinde 24. Saat % Canlılık | 87 |
| Tablo 4.42. MCF-7 Hücrelerinde 48. Saat % Canlılık | 87 |
| Tablo 4.43. MCF-7 Hücrelerinde 72. Saat % Canlılık | 87 |
| Tablo 4.44. MDA-MB-231 Hücrelerinde 24. Saat % Canlılık | 89 |
| Tablo 4.45. MDA-MB-231 Hücrelerinde 48. Saat % Canlılık | 89 |
| Tablo 4.46. MDA-MB-231 Hücrelerinde 72. Saat % Canlılık | 89 |
| Tablo 4.47. OVCAR-3 Hücrelerinde 24. Saat % Canlılık | 91 |
| Tablo 4.48. OVCAR-3 Hücrelerinde 48. Saat % Canlılık | 91 |
| Tablo 4.49. OVCAR-3 Hücrelerinde 72. Saat % Canlılık | 91 |
| Tablo 4.50. UWB1.289 Hücrelerinde 24. Saat % Canlılık | 94 |
| Tablo 4.51. UWB1.289 Hücrelerinde 48. Saat % Canlılık | 94 |
| Tablo 4.52. UWB1.289 Hücrelerinde 72. Saat % Canlılık | 94 |
| Tablo 4.54. MDA-MB-231 Hücrelerinde % Apoptoz Belirlemeleri | 98 |
| Tablo 4.55. OVCAR-3 Hücrelerinde % Apoptoz Belirlemeleri | 100 |
| Tablo 4.55. UWB1.289 Hücrelerinde % Apoptoz Belirlemeleri | 102 |

ŞEKİL DİZİNİ

| | |
|--|----|
| Şekil 2.1. Hücre Döngüsünün Aşamaları..... | 5 |
| Şekil 2.2. Tümör Gelişim Evreleri..... | 7 |
| Şekil 2.3. Memenin Temel Anatomik Yapısı | 8 |
| Şekil 2.4. Meme Kanserinin Çeşitleri ve Oluştugu Yerler | 9 |
| Şekil 2.5. Kadınlarda Meme Kanserinin Yaşa Özel Hızları | 10 |
| Şekil 2.6. Kadın Üreme Sistemi Anatomisi | 11 |
| Şekil 2.7. Östrojenin Genomik ve Genomik Olmayan Yolakları | 19 |
| Şekil 2.8. Östrojenin Fallop Tüplerinde ve Yumurtalıklarda Tümör Oluşturma Yolları | 21 |
| Şekil 2.9. Lnc RNA'ların Sitoplazma ve Çekirdekdeki İşlevleri | 27 |
| Şekil 2.10. Lnc RNA'ların Kanserdeki Genel Mekanizmaları. | 32 |
| Şekil 3.1. Çalışmamızda Kullanılan Meme Kanseri Hücreleri..... | 39 |
| Şekil 3.2. Çalışmamızda Kullanılan Yumurtalık Kanseri Hücreleri..... | 40 |
| Şekil 4.1. MCF-7 Standart Eğri Grafiği..... | 47 |
| Şekil 4.2. MDA-MB-231 Standart Eğri Grafiği | 48 |
| Şekil 4.3. OVCAR-3 Standart Eğri Grafiği | 48 |
| Şekil 4.4. UWB1-289 Standart Eğri Grafiği..... | 48 |
| Şekil 4.5. MCF-7 24. Saat Östrojen Uygulaması sonrası Hücre Sayıları | 49 |
| Şekil 4.6. MCF-7 48. Saat Östrojen Uygulaması sonrası Hücre Sayıları | 50 |
| Şekil 4.7. MCF-7 72. Saat Östrojen Uygulaması sonrası Hücre Sayıları | 51 |
| Şekil 4.8. OVCAR-3 24. Saat Östrojen Uygulaması Sonrası Hücre Sayıları..... | 54 |
| Şekil 4.9. OVCAR-3 48. Saat Östrojen Uygulaması Sonrası Hücre Sayıları..... | 55 |
| Şekil 4.10. OVCAR-3 72. Saat Östrojen Uygulaması Sonrası Hücre Sayıları..... | 56 |
| Şekil 4.11. MCF-7 Hücrelerinde 24. Saat Çoğalma (Proliferasyon) | 61 |
| Şekil 4.12. MCF-7 Hücrelerinde 48. Saat Çoğalma (Proliferasyon) | 62 |
| Şekil 4.13. MCF-7 Hücrelerinde 72. Saat Çoğalma (Proliferasyon) | 63 |
| Şekil 4.14. MDA-MB-231 Hücrelerinde 24. Saat Çoğalma (Proliferasyon)..... | 64 |
| Şekil 4.15. MDA-MB-231 Hücrelerinde 48. Saat Çoğalma (Proliferasyon)..... | 65 |
| Şekil 4.16. MDA-MB-231 Hücrelerinde 72. Saat Çoğalma (Proliferasyon)..... | 66 |
| Şekil 4.17. OVCAR-3 Hücrelerinde 24. Saat Çoğalma (Proliferasyon)..... | 68 |
| Şekil 4.18. OVCAR-3 Hücrelerinde 48. Saat Çoğalma (Proliferasyon)..... | 68 |
| Şekil 4.19. OVCAR-3 Hücrelerinde 72. Saat Çoğalma (Proliferasyon)..... | 69 |
| Şekil 4.20. UWB1.289 Hücrelerinde 24. Saat Çoğalma (Proliferasyon)..... | 71 |
| Şekil 4.21. UWB1.289 Hücrelerinde 48. Saat Çoğalma (Proliferasyon)..... | 72 |
| Şekil 4.22. UWB1.289 Hücrelerinde 72. Saat Çoğalma (Proliferasyon)..... | 73 |
| Şekil 4.23. MCF-7 Hücrelerinde 24. Saat Tutunma (Adezyon) | 74 |

| | |
|--|-----|
| Şekil 4.24. MCF-7 Hücrelerinde 48. Saat Tutunma (Adezyon) | 75 |
| Şekil 4.25. MCF-7 Hücrelerinde 72. Saat Tutunma (Adezyon) | 76 |
| Şekil 4.26. MDA-MB-231 Hücrelerinde 24. Saat Tutunma (Adezyon)..... | 77 |
| Şekil 4.27. MDA-MB-231 Hücrelerinde 48. Saat Tutunma (Adezyon)..... | 78 |
| Şekil 4.28. MDA-MB-231 Hücrelerinde 72. Saat Tutunma (Adezyon)..... | 79 |
| Şekil 4.29. OVCAR-3 Hücrelerinde 24. Saat Tutunma (Adezyon)..... | 80 |
| Şekil 4.30. OVCAR-3 Hücrelerinde 48. Saat Tutunma (Adezyon)..... | 81 |
| Şekil 4.31. OVCAR-3 Hücrelerinde 72. Saat Tutunma (Adezyon)..... | 82 |
| Şekil 4.32. UWB1.289 Hücrelerinde 24. Saat Tutunma (Adezyon)..... | 83 |
| Şekil 4.33. UWB1.289 Hücrelerinde 48. Saat Tutunma (Adezyon)..... | 84 |
| Şekil 4.34. UWB1.289 Hücrelerinde 72. Saat Tutunma (Adezyon)..... | 85 |
| Şekil 4.35. MCF-7 Hücrelerinde % Apoptoz Belirlemeleri | 96 |
| Şekil 4.36. MDA-MB-231 Hücrelerinde % Apoptoz Belirlemeleri | 98 |
| Şekil 4.37. OVCAR-3 Hücrelerinde % Apoptoz Belirlemeleri | 100 |
| Şekil 4.38. UWB1.289 Hücrelerinde % Apoptoz Belirlemeleri | 102 |

SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

| | |
|-------------------------------|---|
| asRNA | Antisens RNA |
| BRCA1 | Meme Kanseri Duyarlılık Geni 1 |
| BRCA2 | Meme Kanseri Duyarlılık Geni 2 |
| cAMP | Siklik Adenozin Monofosfat |
| CCAT2 | Kolon Kanseri İlişkili Transkript 2 |
| CDK | Siklin Bağımlı Kinaz |
| cDNA | Komplementer DNA |
| circRNA | Dairesel RNA |
| CREB | cAMP Cevap Elemanı Bağlayıcı Protein |
| dH₂O | Distile Su |
| DNA | Deoksiribonükleik Asit |
| E1 | Estron |
| E2 | 17 β -Estradiol/ Estradiol/ Östradiol |
| E3 | Estriol |
| EGF | Epidermal Büyüme Faktörü |
| EGFR | Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü |
| EOC | Epitelyal Yumurtalık Kanseri |
| ER | Östrojen Reseptörü |
| ERK | Hücre Dışı Sinyalle Düzenlenen Kinaz |
| ER-α | Östrojen Reseptörü α |
| ER-β | Östrojen Reseptörü β |
| ESR1 | Östrojen Reseptör 1 |
| GH | Büyüme Hormonu |
| GPER/GPR30 | G Proteinine Bağlı Östrojen Reseptörü 1 |
| HER2 | İnsan Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü 2 |
| HGSOC | Yüksek Dereceli Seröz Yumurtalık Karsinomu |
| IGF-1 | İnsulin Benzeri Büyüme Faktörü 1 |
| lincRNA | Uzun İntergenik Kodlamayan RNA |
| lncRNA | Uzun Kodlamayan RNA |
| MİAT | Miyokardiyal Enfarktüs İlişkili Transkript |
| miRNA | MikroRNA |
| MM | Multiple Miyelom |
| mRNA | Mesajcı RNA |
| ncRNA | Kodlamayan RNA |
| NFκB | Nükleer Faktör Kappa B |
| OATP | Organik Anyon Taşıyıcı Peptid |
| ORF | Açık Okuma Çerçevesi |
| P4 | Progesteron |
| PCAT-1 | Prostat Kanseri İlişkili Traskript 1 |
| PI3K | Fosfatidilinositol 3-Kinaz |
| piRNA | Piwi Etkileşimli RNA |
| PO₄ | Fosfat |
| pRb | Retinoblastoma Protein |
| PRC2 | Polycomb Baskılayıcı Kompleks 2 |
| pS2/TFF1 | Trefoil faktörü 1 |
| PTEN | Fosfataz ve Tensin Homolog |
| PTENP1 | Fosfataz ve Tensin Homolog Psödogen 1 |

| | |
|-----------------|--|
| qPCR | Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu |
| RNA | Ribonükleik Asit |
| rRNA | Ribozomal RNA |
| SHC | SRC homoloji içeren protein |
| SHOT-RNA | Cinsiyet Hormonuna Bağlı tRNA'dan Türetilmiş RNA |
| siRNA | Küçük Engelleyici RNA |
| snoRNA | Küçük Nükleolar RNA |
| SRA | Steroid Reseptörlerin RNA Aktivatörü |
| TP53 | Tümör Proteini p53 |
| tRF/tDR | tRNA'dan Türetilmiş Fragmanlar |
| tRNA | Taşıyıcı/Transfer RNA |
| TSH | Tiroid Uyarıcı Hormon |
| tsRNA | tRNA'dan Türetilmiş Küçük RNA |

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kanser, vücudun herhangi bir dokusundan oluşabilen yapısal ve biyolojik olarak anormal olarak farklılaşmış hücrelerin aşırı ve kontrolsüz büyümesi ve yayılması ile karakterize edilen bir hastalıktır (Tanaka, 2009).

Meme kanseri dünyada en çok rastlanan kanserler arasında akciğer kanserinden sonra ikinci sırada yer alır. Kadınlar arasında görülen en ölümcül kanserlerden birisi olup, kanser ölümlerinin en yaygın beşinci nedenidir (Hutchinson, 2010).

Yumurtalık (over) kanseri, rahim ağzı (serviks) ve rahim (uterus) kanserinden sonra üçüncü sırada bulunan en çok görülen jinekolojik kanserlerden biridir. Tüm jinekolojik kanserler arasında yumurtalık kanseri en kötü prognoz ve en yüksek ölüm oranına sahiptir (Coburn, Bray, Sherman ve Trabert, 2017; Mungenast ve Thalhammer, 2014).

Östrojen, kadın üreme sisteminin işlevlerinden, kemik yoğunluğu, beyin fonksiyonu ve kolesterol metabolizmasının düzenlenmesine kadar geniş fizyolojik aktiviteler gösterir. Östrojenin faydalı etkilerine rağmen, östrojene sürekli maruz kalma, çeşitli kanserler için iyi tanımlanmış bir risk faktörüdür (Liang ve Shang, 2013). Meme kanserlerinin yaklaşık %80'i ve yumurtalık kanserlerinin %40-60'ı östrojen reseptörü (ER) pozitifdir ve östrojen bu kanserler için bir risk faktörüdür (Bardin vd., 2004; Lumachi, Santeufemia ve Basso, 2015). Östrojene bağlı mekanizmalar kanser tedavisinde kemoterapiye direnç ya da yanıtızsızlık gibi engellere neden olmaktadır. Östrojen ve ona bağlı mekanizmaların anlaşılması bu tip kanserlerde tedavi başarısını artıracaktır.

Genomik olarak 8. kromozomun q kolunun 24. bandında bulunan ve eksprese edilen yeni bir uzun (long) kodlamayan RNA olan kolon kanseri ilişkili transkript 2'nin (CCAT2) meme ve yumurtalık kanserlerinde aşırı eksprese edilerek kanser ilerlemesi ve ilaç direncine neden olduğu gösterilmiştir (Cai, He, ve Zhang, 2015; S. Chen vd., 2016; Redis vd., 2013; Xin, Li, Zheng, Chan, ve Ka Kei Wu, 2017).

Bu tezde ulaşılmak istenen hedef, meme ve yumurtalık kanserlerinde CCAT2'nin östrojen bağımlı ve bağımsız kanser hücrelerindeki durumunu ortaya koymaktı. Östrojen reseptörü pozitif meme kanseri "MCF-7" ve yumurtalık kanseri "OVCAR3" ile östrojen reseptörü negatif meme kanseri "MDA-MB-231" ile yumurtalık kanseri "UWB1.289" hücrelerine deneyin ilk aşamasında östrojen uygulaması yapıldı. Östrojen uygulaması sonrası, hücrelerdeki lncRNA CCAT2 spesifik siRNA ile susturuldu. Bu susturma sonrasında hücrelerde canlılık, adezyon, proliferasyon, apoptoz ve CCAT2 gen ekspresyonu belirlemeleri ile lncRNA CCAT2'nin östrojen bağımlı (ER⁺) ve bağımsız (ER⁻) kanser hücrelerindeki işlevi ve kanserlerle ilişkisi ortaya konuldu. Böylece CCAT2'nin östrojen duyarlılığı açısından meme ve yumurtalık kanseri hücrelerinin davranışlarına olan etkileri ve etkileşim mekanizmalarının aydınlatılmasına katkı sağlanabilecektir. Bu sayede moleküler hedefe yönelik spesifik tedavi stratejilerinin geliştirilebilmesinde etkili olup olmayacağı ortaya konarken, diğerk taraftan da diagnostik ve terapötik potansiyelleri konusunda fikir edinilebilecektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kanser

Kanser, anormal hücrelerin kontrolsüz olarak bölündüğü ve diğer dokulara yayılabildiği hastalıklarda kullanılan bir terimdir. Günümüzde yüzden fazla farklı kanser türü tanımlanmıştır (National Cancer Institute, 2012).

Dünya çapında 2018'de 18.1 milyon yeni kanser vakaların gerçekleştiği ve 9.6 milyon insanın bu vakalar sonucu hayatını kaybettiği tahmin edilmiştir. Özellikle az gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde 2025 yılında yirmi milyondan fazla insana yeni kanser teşhisi konulacağı ön görülmektedir. Küresel ölçekte artan kanser vakaları 21. yüzyılın en önemli halk sağlığı sorunlarından biri olarak ele alınmaktadır (Bray vd., 2018; Ferlay vd., 2015).

Kanser, zaman içinde gelişen genetik değişikliklerin neden olduğu kontrolsüz bölünme ile karakterize edilen bir hastalıktır. Kanser hemen hemen vücuttaki tüm doku ve organlarda gelişebilir ve her kanser türü kendine has özelliklere sahip olsa da, kanseri oluşturan temel süreçler hastalığın tüm çeşitlerinde oldukça benzerdir ve hücre döngüsü bozulmuştur (National Cancer Institute, 2012).

2.1.1. Hücre döngüsü (siklus) ve kanser

Hücre döngüsü G_1 , S, G_2 ve M fazı olmak üzere dört aşamada incelenir. DNA replikasyonu, S fazı olarak adlandırılan ara fazın belirli bir bölümünde meydana gelir. S fazından önce, hücrenin DNA sentezi için hazırlandığı G_1 adı verilen bir faz gelir ve bunu, hücrenin mitozaya hazırlandığı G_2 adı verilen bir faz izler. G_1 'deki hücreler, DNA replikasyonuna başlamadan önce G_0 adı verilen bir dinlenme durumuna girebilir. G_0 'daki hücreler, insan vücudundaki büyümeyen, çoğalmayan hücrelerin ana bölümünü oluşturur (Güneş, 2013; Vermeulen, Van Bockstaele ve Berneman, 2003).

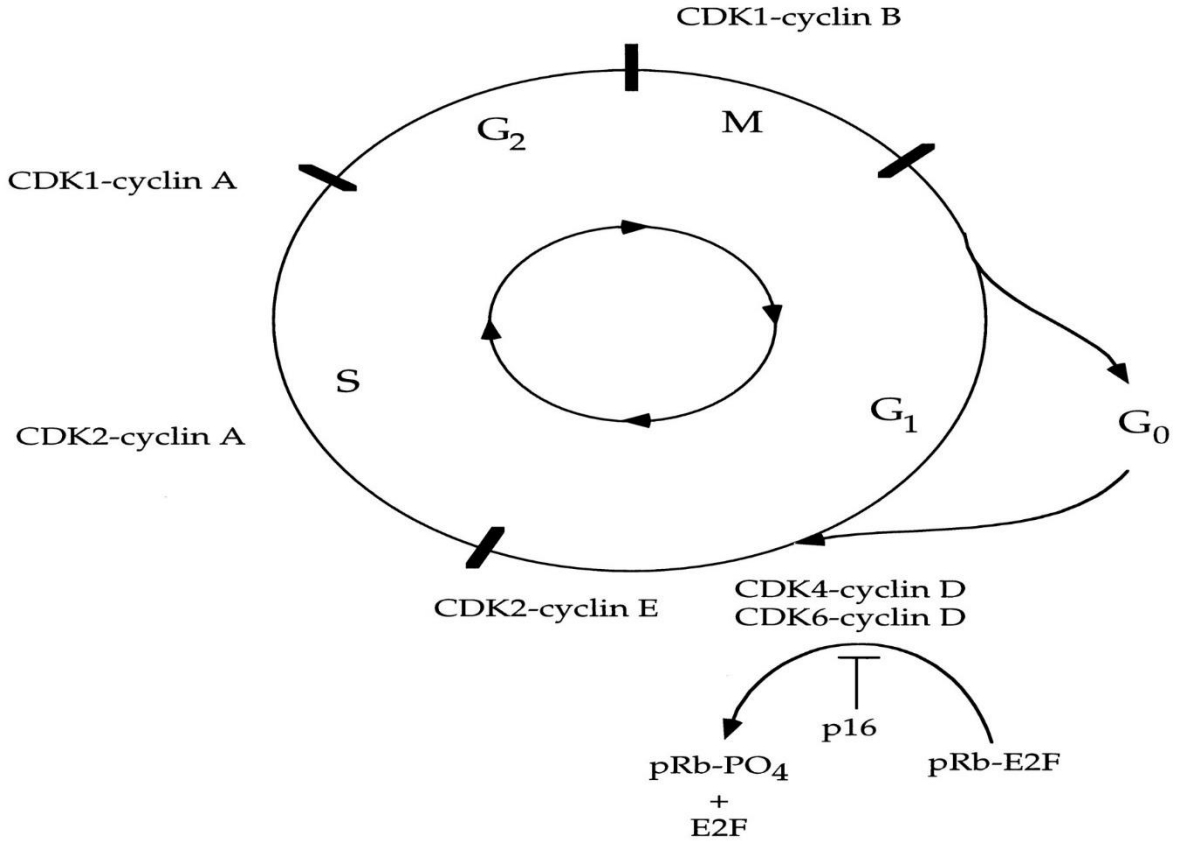
Hücre siklusu iki şekilde düzenlenir. Birincisi, farklı hücresel proteinler tarafından düzenlenen bir hücre döngüsü fazından diğerine geçişin düzenli bir şekilde gerçekleştiği hücre döngüsü aşamasıdır (Güneş, 2013).

Anahtar düzenleyici proteinler, hücre döngüsünün belirli noktalarında aktive olan bir serin/treonin protein kinaz ailesi olan sikline bağımlı kinazlardır (CDK). Şimdiye kadar dokuz CDK tanımlanmıştır ve bunlardan beşi hücre döngüsü sırasında, yani G1 (CDK4, CDK6 ve CDK2), S (CDK2), G2 ve M (CDK1) sırasında aktiftir. Siklin substrat spesifikliğine sahip aktif kompleks oluşturmak için CDK ile birleşir. Düzenleyici fosforilasyon ve defosforilasyon, CDK-siklin komplekslerinin aktivitesini düzenleyerek hücre döngüsü aşamaları arasında iyi tanımlanmış geçişler sağlar (Collins, Jacks ve Pavletich, 1997; Güneş, 2013) (Şekil 2.1).

Hücre siklusu düzenlemesinin ikinci şekli olan kontrol noktası daha denetleyicidir. Hücre siklusu kontrol noktaları, DNA replikasyonu ve kromozom ayrımı gibi kritik olaylardaki kusurları algılar (Collins vd., 1997; Vermeulen vd., 2003).

Hücre siklusu boyunca 3 kontrol noktası tanımlanmıştır:

1. G1 kontrol noktası: DNA'da bir hata olursa döngü G1'de durur.
2. G2 kontrol noktası: DNA sentezi sürecinde bir hata oluşursa ve ortamda çoğalmamış DNA bulunursa döngü G2'de durur.
3. M kontrol noktası: Mitoz sırasında yeni oluşan kromozomlar mitotik ağ üzerinde düzgün olarak sıralanmazsa döngü M evresinde durur (Güneş, 2013).



Şekil 2.1. Hücre Döngüsünün Aşamaları. Düzenleyici CDK/Siklin Komplekslerinin Aktivite Bölgeleri (Collins, Jacks ve Pavletich, 1997)

Genomun stabilitesi kimyasallar ve radyasyon gibi çevresel etmenler normal DNA metabolizmasını tehdit eder. Bu nedenle, kontrol noktaları uygun şekilde kontrol edilmezse hücrelerde, yüksek mutasyon oranları, kromozom dengesizliği ve anöploidi görülebilir ve yıkıcı DNA hasarına maruz kalabilir. Tüm bunlar tümör oluşumuna sebep olabilir. G₁/S fazının ve S fazı kontrol noktalarının düzgün şekilde hareket etmemesi özellikle zararlıdır çünkü doğrudan kromozom anormalliklerine ve zararlı mutasyonların birikmesine neden olabilir, bu da genetik sendromların ve kanser gibi hastalıkların ortaya çıkma olasılığını artırır (Schönthal, 2004).

Kanserde hücre siklusu ve kontrol noktalarının düzenlenmesi bozulmuştur. Bu sistemin bozulması sonucunda hücrelerin kontrolsüz bölünmesine ve sonuç olarak kanserleşmeye giden sürece ilk adım atılmış olur. Bu döngülerin ve kontrol noktalarının iyi işlev görmesi oldukça önemlidir. Kontrol noktalarında oluşacak mutasyonlar ve diğer etmenler bu döngünün kırılmasına yol açarak hücrenin kontrolsüz bölünmelerine neden olur (Schönthal, 2004).

2.1.2. Kanserleşme süreci

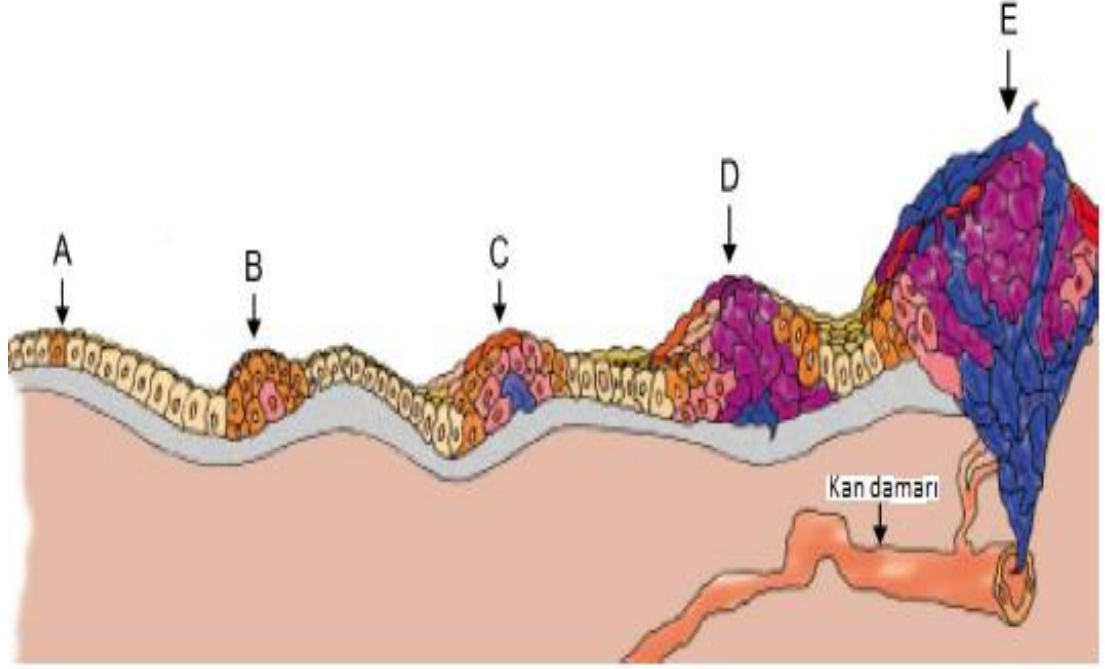
Kanser, bir takım genetik ve moleküler değişim sonucunda hücrenin bazı normal fonksiyonlarını kaybetmesiyle oluşmaktadır. Kanser hücrelerinin bazı temel özellikleri vardır. Bunlar; kanser hücreleri büyüme sinyallerini kendi kendine üretme, büyüme inhibe edici sinyallere karşı cevapsızlık, apoptozdan kaçma, sınırsız bölünme özelliği, damar oluşumu (anjyogenez) gelişmesi, dokulara invazyon ve metastazın gerçekleşmesidir (Seyfried ve Shelton, 2010).

Kanserleşmeye giden süreçte ilk adım hiperplazidir yani kontrolsüz çoğalmadan kaynaklanan çok fazla sayıda hücre meydana gelmektedir ve organik doku miktarı artmaktadır. Mikroskopik olarak hücreler normal hücrelere benzer ancak sayıları artmaktadır. Bazen hücrelerin boyutu da artabilir (hipertrofi). Hiperplazi ise hücre sayısının artması nedeniyle hipertrofiye farklıdır. Hücre döngüsünün kontrolü bozulmuştur.

İkinci adım, hücrelerde anormal değişikliklerin görüldüğü daha fazla büyümeden ve hacim artışından kaynaklanan displazilerdir. Displazi, hücrelerin mikroskop altında ne kadar anormal görüldüğüne ve doku veya organın ne kadarının etkilendiğine bağlı olarak hafif, orta veya şiddetli olabilir.

Üçüncü adım, giderek artan anormalleşmenin gerçekleştiği daha geniş bir doku alanına yayılabilen hücreler ana işlevlerini kaybetmeye başlar ve bu hücrelere anaplastik adı verilir. Bu terim aynı zamanda bir hücredeki olası bir kötü huylu tümöre dönüşüme işaret eden bir grup morfolojik değişikliği (nükleer pleomorfizm, değişmiş nükleer sitoplazmik oran, nükleolus varlığı, yüksek proliferasyon indeksi) ifade eder. Bu aşamada, tümör hala ilk oluştuğu yerde (in situ olarak adlandırılır) bulunduğu ve invazif olmadığı için kötü huylu değildir ancak potansiyel olarak kötü huylu tümöre dönüşme potansiyeline sahiptir.

Son adım, tümördeki hücreler metastaz yaptığında meydana gelir, bu da dolaşım sistemine katılan hücrelerin çevre dokulara sıçrayabilecekleri ve başka yerlere yayılabilecekleri anlamına gelir. Bu en ciddi tümör tipidir (kötü huylu), ancak tüm tümörler bu noktaya kadar ilerleyememektedir. İnvazif olmayan tümörler iyi huylu olarak sınıflandırılmaktadır (Braun ve Anderson, 2007; Eberhart ve Burger, 2003; Rediscovering Biology, 2003; Rubin ve Reisner, 2009) (Şekil 2.2).

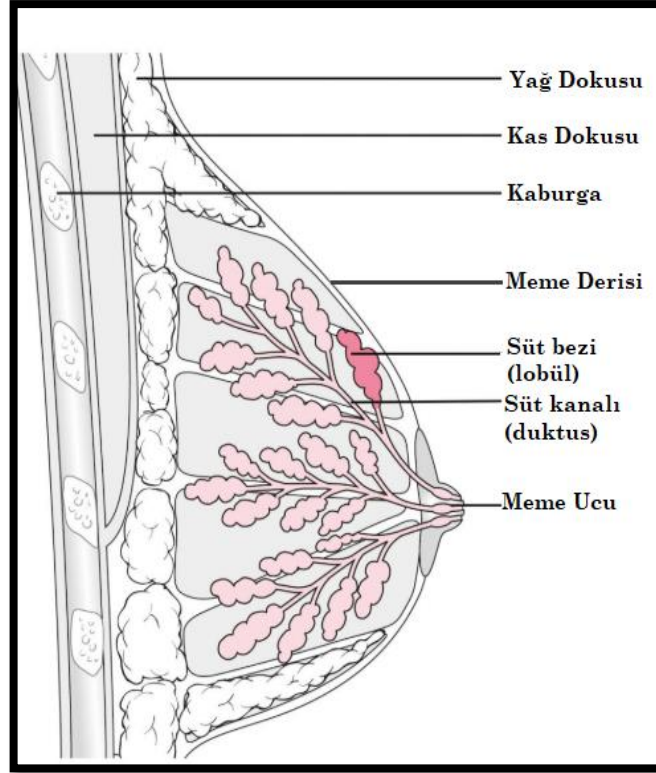


Şekil 2.2. Tümör Gelişim Evreleri **A.** Tümör, tek bir hücrenin mutasyona uğradığında gelişmeye başlar ve mutasyonların birikmesi normal bir hücreyi kanserli bir hücreye dönüştürebilir. **B.** Değişen hücre hızla büyür ve bölünerek hiperplazi denilen bir duruma neden olur. Bir noktada, bu hücrelerden biri, bölünme yeteneğini daha da arttıran başka bir mutasyona uğrar. **C.** Bu hücreden gelenler aşırı bölünür ve displazi denilen anormal doku büyümesine sebep olur. **D.** Bu hücreler büyüme ve görünüm açısından oldukça anormaldir. Bu hücrelerden oluşan tümör hala ilk yerinde ise in situ ya da evre 0 olarak adlandırılır. Oluştığı yerde kanser süresiz olarak kalabilir. **E.** Bazı hücreler, tümörün komşu dokuları istila etmesine ve hücreleri kana veya lenflere dökmesine izin veren ek mutasyonlar yaşarsa, tümörün habis (kötü huylu) olduğu söylenir. Kaçan hücreler vücuttaki diğer yerlerde yeni tümörler (metastazlar) oluşturabilir (National Cancer Institute, 2012).

2.2. Meme Kanseri

Kadınlarda meme, süt üreten bir bezdir. Bu bez yapısal olarak tübüloalveolar bir yapı gösterir. Büyük oranda yağdan oluşur. Meme, lobül ve duktus yapılarının birlikte çalışmasıyla işlev gösterir. Lobül kısmı süt oluşumunu sağlarken duktus kısmı sütün meme ucuna ulaşmasını sağlar. Ağsı kan ve lenfatik damarlar, bağ doku, yağ doku, sinirler ve epitel dokusundan oluşan deri memenin yapısını oluşturur (Aydıntuğ, 2004) (Şekil 2.3).

Meme kanseri, en çok lobül ile terminal duktusun birleştiği bölgede bulunan epitel dokudan türemiş olan bir adenokanser türüdür (Aydıntuğ, 2004). Meme kanseri erkeklerde de nadir olarak görülür. Agresif özelliğe sahiptir. Meme kanseri erkeklerde, tüm meme kanseri vakalarının %1'inden azını oluşturur (Akça, Altun, Apaydın, Polat, ve Aydın, 2006).



Şekil 2.3. Memenin Temel Anatomik Yapısı

(www.embarrassingproblems.com/problem/basic-anatomy-the-breast)

Meme kanseri, histopatolojik, biyolojik ve moleküler olmak üzere üç grup altında sınıflandırılabilir:

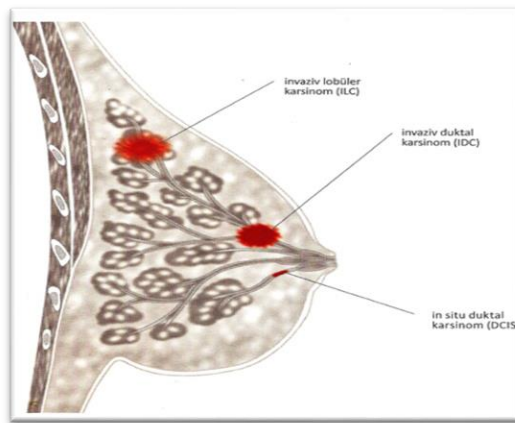
a. Histopatolojik sınıflandırmada, meme kanseri hücreleri, invaziv veya invaziv olmayan hücreler olmak üzere iki kategoride incelenir:

1. İnvaziv kanser; invaziv duktal karsinoma (% 80) ve invaziv lobüler karsinoma (%10) olmak üzere ikiye bölünmüştür ve bunlar 1 (düşük dereceli)'den 3 (yüksek dereceli)'e sınıflandırılmıştır. Bu iki kanserin de metastaz yapma özelliği bulunmaktadır. Bir diğer invaziv meme kanseri formu inflamatuvar (iltihabi) meme kanseridir ve kanserin bu şekli en agresif seyredenidir. Meme kanseri vakalarının % 1 ila % 6'sını teşkil eder (Şekil 2.4).

2. İnvaziv olmayan kanser, lobüler karsinoma in situ ve duktal karsinoma in situ olarak adlandırılır. İn situ kavramı kötü huylu epitel hücrelerin kontrolsüz büyümesinin kendi çevre sınırları içinde olduğu, bazal membranı geçmediği ve stromayı invaze etmediğini gösteren patolojik bir olaydır.

b. Biyolojik sınıflandırma; Biyolojik sınıflandırma östrojen, progesteron ve insan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2 (HER2) gibi hormon reseptörlerinin gen ifadesini gösterir. Bu daha sık olarak sistemik adjuvan çalışmalarında kullanılır.

c. Moleküler sınıflandırma; HER2 güçlendirici, lümen-tipi (alt tip A ve B) ve bazal benzeri olarak üç büyük moleküler kategoriye ayrılır. Bunların hepsi kendine has biyolojik ve klinik özelliklere sahiptirler (Cengiz, 2006; Keskin, 2011; Ng, 2014).



Şekil 2.4. Meme Kanserinin Çeşitleri ve Oluştığı Yerler

(www.memesaglik.com/hastalarimiz-icin-/meme-sagligi-kitapligi/178-meme-kanseri-tipleri.html)

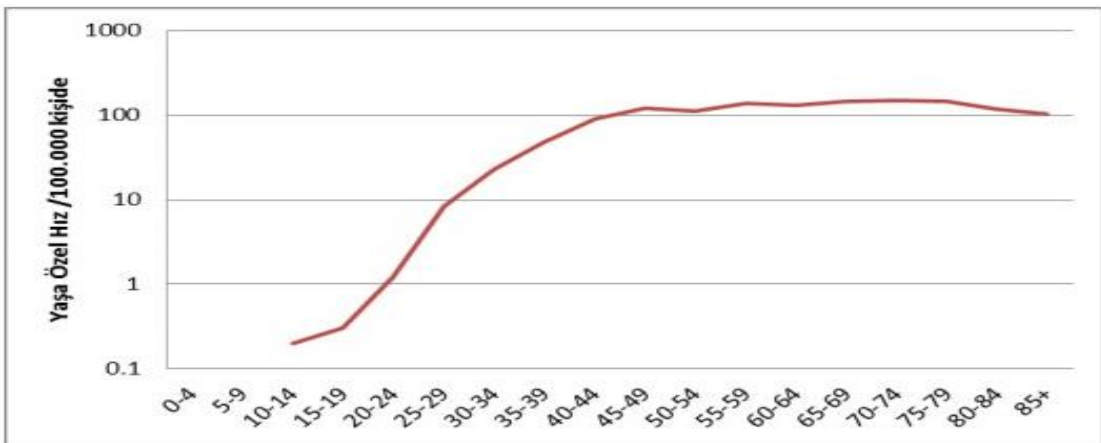
2.2.1. Meme kanseri epidemiyolojisi

Cinsiyet steroid hormonları, kadınlarda uterus, yumurtalık ve meme, erkeklerde prostat gibi üreme organlarında kanserlerin gelişiminde ve ilerlemesinde önemli rol oynamaktadır (S.-M. Ho, 2003; Ni vd., 2011)

Meme kanseri, kadınlarda en sık görülen kanserdir ve genel olarak da akciğer kanserinden sonra en sık görülen ikinci kanserdir. 2018'de 2 milyondan fazla yeni vaka saptanmıştır. Meme kanseri 2018 yılında teşhis edilen toplam yeni vaka sayısının % 25,4'ünü oluşturmuştur (Bray vd., 2018). Meme kanserinin insidansı çoğu ülkede artmaya devam etmektedir ve bu kanseri önlemek için alınan tüm önlemlere rağmen önümüzdeki 20 yılda daha da artması beklenmektedir (Howell vd., 2014).

2050 yılına kadar yılda yaklaşık 3,2 milyon yeni vakaya ulaşılacağı tahmin edilmektedir. Bu rakamlar meme kanseri insidansının büyüklüğünü, dünya çapında toplum üzerindeki etkisini ve tedavi tedbirleri için aciliyet ihtiyacını göstermektedir (Tao vd., 2015).

Türkiye Halk Sağlığı Kurumu'nun 2018 yılında yayınladığı Türkiye Kanser İstatistikleri Raporuna göre 2015 yılında Türkiye'de kadınlar arasında en çok görülen kanser çeşidi meme kanseri olmuştur. Türkiye'de kadınlarda 20'li yaşlardan sonra meme kanserine yakalanma oranı yüksek oranda artmaktadır ve en yüksek risk grubu 50'li yaşlar ve sonrası olarak saptanmıştır (Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, 2018) (Şekil 2.5).

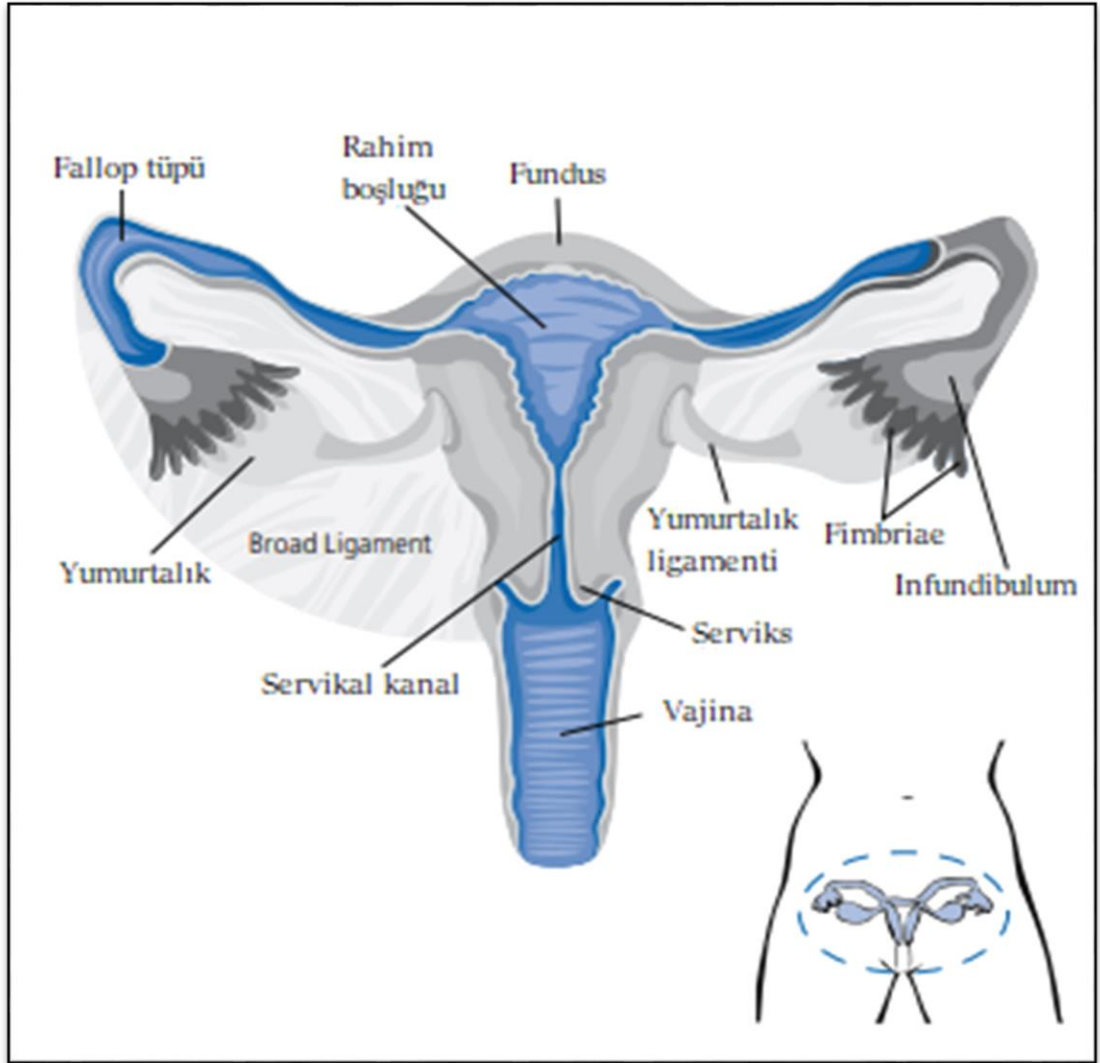


Şekil 2.5. Kadınlarda Meme Kanserinin Yaşa Özel Hızları

(Türkiye Birleşik Veri Tabanı, 2012)

2.3. Yumurtalık (Over) Kanseri

Yumurtalık, dişi üreme sisteminde bulunan ve yumurta üreten bir organdır. Yumurta serbest bırakıldığında, fallop tüpünden uterusu (rahim) doğru ilerler ve burada bir sperm tarafından döllenir. Rahmin her iki tarafında bir yumurtalık bulunur (Şekil 2.6). Premenopozal kadınlarda, yumurtalıklar, kadın üreme sisteminin sağlığını koruyan östrojen ve progesteron hormonlarının birincil kaynağıdır. Ayrıca salgıladığı çeşitli hormonlar nedeniyle bir endokrin bezidir (Colvin ve Abdullatif, 2013; Schönthal, 2004).



Şekil 2.6. Kadın Üreme Sistemi Anatomisi

(www.cancer.org/content/dam/cancer-org/research/cancer-facts-and-statistics/annual-cancer-facts-and-figures/2018/cancer-facts-and-figures-special-section-ovarian-cancer-2018.pdf)

Yumurtalık (over) kanseri, rahim ağzı (serviks) ve rahim (uterus) kanserinden sonra üçüncü sırada bulunan en çok görülen jinekolojik kanserlerden biridir (Momenimovahed, Tiznobaik, Taheri ve Salehiniya, 2019). Genel olarak kadınlarda menopoz sonrası ortaya çıkmaktadır ve tüm vakaların % 80'inden fazlası 50 yaşın üzerindeki kadınlarda görülmektedir (Mungenast ve Thalhammer, 2014).

Çoğu yumurtalık kanseri geç dönemde tespit edilmektedir ve kötü bir prognoza sahiptir. Yumurtalık kanseri meme kanserine göre daha düşük bir prevalansa sahip olmasına rağmen, üç kat daha fazla ölümcüldür. Tümörün asemptomatik ve gizli büyümesi, semptomların gecikmesi ve uygun tarama yöntemlerinin eksikliğinden dolayı ileri evrelerde teşhis edilemediği için 2040 yılına kadar ölüm oranlarının artması beklenmektedir. Tümöre bu özelliklerinden dolayı sessiz katil adı verilmektedir (Momenimovahed vd., 2019).

Yumurtalık kanserli tanısı alan kadınların yaklaşık % 60'ında metastaz görülür çünkü erken evrede hastalık genellikle asemptomatiktir. Yumurtalık kanseri spesifik semptomlara sahip değildir ve kolayca teşhis edilemez (Doubeni, Doubeni ve Myers, 2016; Wentzensen vd., 2016).

Yumurtalık tümörünün oluşumu için sürekli yumurtlama, hormonal stimülasyon ve kronik inflamasyon gibi kanserojen mekanizmaları ortaya konulmuş olsa da yumurtalık kanseri etiyolojisi kısmi heterojen yapısı nedeniyle iyi anlaşılammıştır (Wentzensen vd., 2016).

Yumurtalık kanserinin genetik değişikliklerin birikmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Yumurtalık epitelinde ortaya çıkan TP53, KRAS, BRAF veya PTEN mutasyonlarının yumurtalık kanserinde daha agresif bir yapıya neden oldukları düşünülmektedir (Fehrmann vd., 2007; Wentzensen vd., 2016).

Ailesel meme kanseri riski, yumurtalık kanseri riskinin artmasıyla ilişkilidir (Lux, Fasching ve Beckmann, 2006). Ailesel BRCA gen mutasyonları yumurtalık kanseri vakalarının yaklaşık %10'unda yer alır. BRCA1 ve BRCA2'deki mutasyonlar meme, yumurtalık ve diğer kanserlere sebep olmaktadır. BRCA2'deki polimorfizmlerin meme ve yumurtalık kanserlerinin oluşumu ve gelişiminde önemli rol oynayabileceği ileri sürülmektedir.

Epitelyal yumurtalık kanserleri için bilinen genetik olmayan risk faktörleri arasında artan yaş, menopoz sonrası beş yıldan fazla süren hormon tedavisi ve obezite yer almaktadır (Auranen vd., 2005).

Steroid olmayan antiinflamatuvar ilaçlar, sigara içme ve gebelik önleyici hapların rolleri tartışmalıdır. Uzun süreli gebelik önleyici hap kullanımı (dört yıl veya daha fazla), BRCA mutasyon taşıyıcılarında yumurtalık kanseri riskini yaklaşık %50 azalttığı saptanmıştır. Medroksiprogesteron kullanımı, yumurta kanallarının cerrahi olarak alınması (salpingektomi), tüplerin bağlanması (tubal ligasyon) ve emzirme de yumurtalık kanserine yakalanma riskini azaltır (Auranen vd., 2005; Doubeni vd., 2016).

Yumurtalık kanseri üç büyük grupta incelenir. Bunlar; epitelyal, germ ve özelleşmiş stromal hücre tümörleridir. Yumurtalık kanserlerinin büyük çoğunluğu epitelyal yumurtalık kanseridir (EOC). EOC histolojik olarak Tip I ve Tip II olarak iki ana grup altında incelenir. Tip I'de düşük dereceli seröz, müsinoz, endometrioid ve berrak hücreli karsinomlar bulunur ve yavaş büyürler. Tip II ise yüksek dereceli ve hızlı ilerleyen karsinomlarla karakterizedir. Yüksek dereceli seröz yumurtalık karsinomu (HGSOC) tüm epitelyal yumurtalık kanserinin neredeyse %75'ini oluşturan en yaygın Tip II tümörüdür ve en agresif olanlardan biridir (Matulonis vd., 2016).

Epitel yumurtalık kanseri, dünya çapında kadınlarda üçüncü en yüksek morbidite ve mortalite oranına sahip birincil jinekolojik malign tümördür. EOC hastalarının 5 yıllık hayatta kalma oranı %45'e yakındır ve bu, meme kanseri (yaklaşık % 90), endometriyal kanser (yaklaşık % 80) ve rahim ağzı kanseri (yaklaşık % 68) gibi diğer jinekolojik tümörlerden önemli ölçüde daha düşüktür. Yeterli etkin erken teşhis olmadığı için, EOC hastalarının çoğu daha sonraki aşamalarda teşhis edilir ve çoğu EOC hastasında 16 ay içinde nüks meydana gelir. Erken semptomların olmaması nedeniyle, her zaman pelvik ve abdominalde yaygın metastazlar eşlik eder. EOC teşhis edildiğinde kavite, daha düşük genel sağkalım oranına ve kötü prognoza yol açar (Hua, Li, Chen ve Liu, 2018).

Yüksek dereceli yumurtalık kanseri tümörleri olan hastalarda mutasyona uğramış BRCA1/2 daha agresif bir yapıya ve yüksek dereceli histolojiye sahiptir (Alsop vd., 2012). Düşük dereceli yumurtalık kanserine sahip tüm vakaların %5'inden daha azı epitelyal yumurtalık kanseridir. Düşük dereceli yumurtalık kanserinin iyi huylu serözden geliştiği düşünülmektedir ve nadiren yüksek dereceli seröz yumurtalık kanserine dönüşür (Momenimovahed vd., 2019).

Yüksek dereceli seröz kanserlerin büyük bir kısmı fallop tüpünden kaynaklandığı düşünülmektedir (Kroeger Jr ve Drapkin, 2017; Webb ve Jordan, 2017). Diğer nadir histolojiler arasında orjini bilinmeyen doku kaynaklı küçük hücreli karsinom ve karsinosarkom, ağırlıklı olarak genç kadınlarda görülen agresif seyreden kanserlerdir (Matulonis vd., 2016).

Yumurtalık kanseri 40 yaşın altındaki kadınlarda daha azdır ve 40 yaş altındaki kadınlarda kanserlerin çoğu germ hücreli tümörlerdir. 40 yaş üstünde olan kadınlarda % 90'dan fazlası epitelyal tümörlerdir ve risk yaşla birlikte artarken 70 yaş ve üzerinde en üst seviyeye ulaşır (Webb ve Jordan, 2017).

2.3.1. Yumurtalık kanseri epidemiyolojisi

Tüm jinekolojik kanserler arasında yumurtalık kanseri en kötü prognoz ve en yüksek ölüm oranına sahiptir. Yumurtalık kanserinin görülme sıklığı ve ölüm oranları, ülkelerin gelişim düzeyine ve coğrafik yapısına bağlı olarak değişkenlikler göstermektedir (Coburn vd., 2017).

Yumurtalık kanseri, yılda yaklaşık 239.000 yeni vaka ve dünya çapında 152.000 ölüme yol açmaktadır. En yüksek vakalar Doğu ve Orta Avrupa'da görülmektedir (Reid, Permuth ve Sellers, 2017). Epitelyal yumurtalık kanseri (EOC), tüm kanser ölümlerinin %5'ini teşkil eder ve ABD'deki kadınlar arasında kanser ölümlerinin beşinci nedenidir. Avrupa kökenli Amerikalı kadınlarda insidans Afrika kökenli Amerikalı kadınlara göre biraz daha yüksek olmasına rağmen Avrupa kökenli Amerikalı kadınlar için görece beş yıllık sağkalım %44.3 iken, Afrika kökenli Amerikalı kadınlar için %36.4'dür (Schildkraut, 2016).

İstatistiksel analizler, yumurtalık kanseri insidansının gelişmiş ülkelerde gelişmekte olan ülkelere göre çok daha fazla ortaya çıktığını göstermektedir. Sanayileşmiş ülkelerde doğum oranları gelişmekte olan ülkelere göre daha azdır (Purdie, Bain, Siskind, Webb ve Green, 2003).

Gebelik, emzirme ve doğum kontrol haplarının kullanılması gibi faktörlerin yumurtalık kanserinin oluşumunu engellediğine dair birçok bulgular elde edilmiştir. Her gebelik yumurtalık kanseri gelişme riskini %10-16 oranında azaltır (Purdie vd., 2003; Whiteman, Siskind, Purdie ve Green, 2003). Ayrıca 18 aydan fazla emziren kadınlarda önemli bir koruyucu etki görülmektedir (Whiteman vd., 2003). Doğum kontrol haplarının 3 yıldan fazla kullanılması, yumurtalık kanseri oluşma riskini %30-50 oranında azalttığı bildirilmiştir (Narod vd., 1998).

Türkiye Halk Sağlığı Kurumu'nun 2018 yılında yayınladığı Türkiye Kanser İstatistikleri Raporuna göre 2015 yılında Türkiye'de yumurtalık kanseri 6281 kadında görülmüştür. Türkiye'de kadınlarda yumurtalık kanserine yakalanan bireyler arasında en yüksek risk grubu 70-74 yaşlarındaki kadınlar oluşturmuştur. Ayrıca Türkiye'de 15-49 yaş arası kadınlarda en çok görülen ilk beş kanser tipinden birisidir (Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, 2018).

Türkiye'deki kadınlarda obezite ile ilişkilendirilmiş kanserlerden birisi de over kanseridir. Obezite, over kanser için en önemli risk faktörlerinden birisi olarak görülmüştür (Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, 2018).

2.4. Hormon ve Kanser

Hormonlar, özel hücreler tarafından salgılanan ve vücutta kanda dolaşan doğal olarak oluşan maddelerdir. Hormonlar, yüzeydeki reseptörlere bağlanarak ve hücrelerin metabolizmasını veya davranışını etkileyerek etki eder. İnsan vücudundaki bir dizi dokunun normal büyümesi ve gelişmesi hormonların etkisi altında gerçekleşir (Hormones and cancer, 2020).

Hücre proliferasyonunun aşırı hormonal uyarımı, mutasyon ve ardından mutasyona uğramış hücrelerin klonlarının proliferasyonu riskini artırır. Hormonlar bu nedenle güçlü kanserojen olarak hareket edebilirler ve kanser gelişimini hem başlatma hem de teşvik etme yeteneklerinden dolayı 'tam bir kanserojen' olarak kabul edilirler (Hormones and cancer, 2020).

Meme, yumurtalık, prostat, testis, endometriyum, tiroid ve kemik kanserleri hormonlarla ilişkilendirilmiştir. Endojen ve eksojen hormonlar, rastgele oluşan genetik hataların birikmiş olduğu hücrelerde çoğalma fırsatı oluşturur (Henderson ve Feigelson, 2000).

Büyüme hormonu (GH) çocukluk çağı büyümesi, metabolizması ve ergenlik çağındaki cinsel olgunlaşma ile ilişkili olmasına rağmen, hayvanlarda ve insanlarda tümör gelişimi ve ilerlemesinde önemli bir etken olarak ortaya çıkmıştır. Bugün önemli kanıtlar, birçok kanser türünün patogenezi ve ilerlemesinde GH ve IGF-I'in katkısının olduğu göstermiştir. Fonksiyonel GH eksikliği ile doğan hayvanlarda kanser riski önemli ölçüde azalmıştır. GH/IGF-I genlerindeki polimorfizmler, kansere yatkınlıkla, özellikle de meme kanseriyle ilişkilendirilmiştir (Perry, Liu, Wu, Zhu ve Lobie, 2013).

DeneySEL çalışmalar ve klinik veriler, tiroid hücresi proliferasyonunun tiroid uyarıcı hormona (TSH) bağlı olduğunu ve böylece farklılaşmış tiroid kanseri için TSH'in anahtar görev üstlendiği anlaşılmıştır (Biondi, Filetti ve Schlumberger, 2005).

DeneySEL ve klinik kanıtlar, endojen seks hormonlarının kemik sarkomu oluşumunu etkilediğini göstermektedir. Paratiroid hormonu ile ilgili protein malignite ile ilişkili hiperkalsemiden sorumlu bir faktördür ve meme kanserinin kemiğe metastazında osteoklastik kemik rezorpsiyonunu uyarma kabiliyeti nedeniyle kemikte seçici bir büyüme avantajı sağlayabileceğini göstermiştir (Cooley vd., 2002; Guise, 1997).

Steroid hormonlar, insan prostat kanseri ilerlemesini ve metastazı uyarır. Erkek cinsiyet hormonu testosteron prostat kanserinin gelişiminde rol oynamaktadır. Erkeklerde yaşla birlikte serum androjen seviyeleri azalırken, 17 β -estradiol (Estradiol, Östradiol, E2) artar. Testosteron ile E2'nin kombinasyon halinde sıçanlarda ve farelerde karsinogenezi indüklediği gösterilmiştir (Ricke vd., 2006).

Kadınlarda östrojen endometrial hücrelerin mitotik oranını artırır. Yüksek endojen östrojen seviyeleri, endometrial kanseri risk artışı ile ilişkilidir. Kombine oral kontraseptifler ve depo medroksiprogesteron asetat, artmış invazif rahim ağzı kanseri riski ile ilişkilendirilmiştir. Dietilstilboestrol, rahimde yüksek dozlara maruz kalan kadınlarda vajinada berrak hücreli adenokarsinomaya neden olur (Key, 1995).

Kadınlarda östrojen ve progesteron hormonlarına artan maruziyetin meme ve yumurtalık kanseri riskini artırdığı gösterilmiştir (Key, 1995).

2.4.1. Meme kanseri ve östrojen

Kanserin genellikle bölünen hücreler mutasyona uğradığında ortaya çıktığına inanılır ve bu genetik olarak hasar görmüş hücreler, sınırsız bölünmeye duyarlı hale gelir. Bu nedenle, meme bezinin büyümesini etkileyen kadın hormonları ve diğer hormonlar, meme kanseri için potansiyel risk faktörleridir. Bunun aksine, hamilelik ve emzirme gibi meme bezinde farklılaşmaya neden olan faktörlerin meme kanseri riskini azaltması muhtemeldir (Group, 2004).

Östrojen üreme sisteminin gelişimini, farklılaşmasını ve fizyolojisini düzenler. Östrojen ayrıca meme, endometriyal, prostat ve yumurtalık ve tiroid kanserleri gibi hormona bağlı kanserlerin patolojik süreçlerini de etkiler. Östrojen, birincil kadın cinsiyet hormonları olarak işlev gören bir grup steroid hormon grubudur (G. G. Chen, Zeng ve Tse, 2008).

Östrojen hem erkeklerde hem de kadınlarda bulunurken, üreme çağındaki kadınlarda önemli ölçüde daha yüksektir. Östrojenin kadınlarda daha fazla düzeyde bulunması meme kanserinin kadınlarda görülme riskini erkeklere göre 100 kat daha sık ortaya çıkmasına sebep olur.

Esas olarak adrenal korteks ve yumurtalık tarafından üretilirler. Menopoz öncesi kadınlarda yumurtalık tarafından üretilen E2 en büyük miktarda üretilen östrojendir (G. G. Chen vd., 2008; Santen, Yue ve Wang, 2015).

Steroid hormonu E2, meme kanserinin oluşumu ve ilerlemesinde önemli rol üstlenir. E2 uygulaması çeşitli hayvan modellerinde meme kanserine neden olur ve anti-östrojenler bu etkiyi ortadan kaldırır.

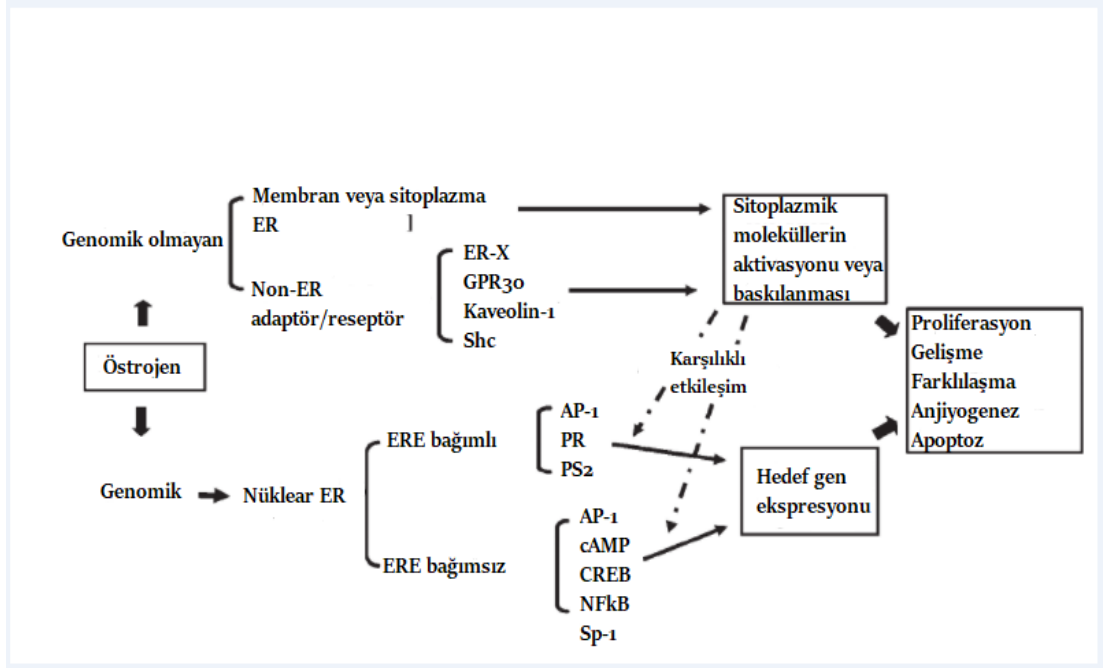
İnsan meme kanserlerinin çoğu östrojene bağımlı olarak başlar ve östrojen reseptörünü (ER) eksprese eder. Östrojenin biyolojik etkilerine, yapısal ve işlevsel olarak farklı iki nükleer ER, ER- α ve ER- β vardır. Bu reseptörlere östrojen bağlanması, bunların nükleusa translokasyonu ile sonuçlanır ve burada transkripsiyon faktörleri olarak hareket ederek gen ekspresyonunun değişmesine yol açar. ER pozitif meme kanserleri tüm meme kanserlerinin %80'ini oluşturur (Bulut ve Altundag, 2015).

BRCA2 mutasyonuna sahip olan kadınlar, BRCA1 mutasyonuna sahip olanlar ve BRCA mutasyonları olmayan kadınlara kıyasla önemli ölçüde daha yüksek E2 seviyesine sahiptir (Kim ve Oktay, 2013).

Erken ergenlik, geç menopoz, yüksek kemik yoğunluğu ve obezite sonucu ortaya çıkan östrojene yüksek maruziyet meme kanseri riskinde artışa neden olur. Çalışmalardan elde edilen veriler, plazma serbest östrojen seviyelerinin bir fonksiyonu olarak meme kanseri riskinin arttığını göstermiştir (Bulut ve Altundag, 2015).

Tamoksifen veya raloksifen gibi ilaçlar ile östrojen etkisinin engellenmesi meme kanseri insidansını azaltır. Yine aromataz inhibitörleri ile E2 sentezinin inhibisyonu veya anti-östrojenlerle etkisinin ortadan kaldırılması, adjuvan tedavi sırasında kontralateral meme kanseri gelişimini önler (G. G. Chen vd., 2008; Murphy, 2011; Saha Roy ve Vadlamudi, 2012; Yue, Yager, Wang, Jupe ve Santen, 2013).

Östrojenin, ER'ye bağlanması, hücre işlevlerinde çeşitli değişikliklere yol açar. Östrojenin etki mekanizması genomik ve genomik olmayan yollar olmak üzere ikiye ayrılır (G. G. Chen vd., 2008) (Şekil 2.7).



Şekil 2.7. Östrojenin Genomik ve Genomik Olmayan Yolakları

(Chen vd.,2008)

Östrojen ve reseptörleri, birçok kötü huylu tümörün gelişiminde etkin rol alır. Bu tümörler genellikle dört gruba ayrılır:

1. Meme ve jinekolojik kanserler (servikal, endometriyal, yumurtalık)
2. Endokrin bezi kanserleri (adrenokortikal, yumurtalık, pankreas, prostat ve tiroid)
3. Sindirim sistemi kanserleri (kolorektal, özofagus, karaciğer ve pankreas)
4. Akciğer karsinomu

Bu tümörlerin çoğu hem ER α hem de ER β 'yi eksprese edebilir. ER α 'nın meme, jinekolojik kanser ve endokrin bezi kanserlerinin çoğalmasını teşvik ettiği, ancak sindirim sistemi kanserlerinin ve akciğer kanserinin çoğalmasını engellediği görülmektedir. ER α 'nın tersine ER β , meme ve yumurtalık kanserini inhibe etmekte iken sindirim sistemi ve akciğer kanserinin çoğalma hızını artırmaktadır (Bardin vd., 2004; G. G. Chen vd., 2008; Lazennec, Bresson, Lucas, Chauveau ve Vignon, 2001).

2.4.2. Yumurtalık (over) kanseri ve östrojen

Üreme döneminde yumurtalıklar progesteron, estron (E1), 17 β -estradiol (E2) ve estriol (E3) üretir ve salgılar. Doğal östrojenlerin en aktif formu olan E2, progesteron (P4) ile birlikte normal uterus fonksiyonu, gebeliğin oluşması ve sürdürülmesinin yanı sıra meme bezi gelişimi için önemlidir (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG), 2014).

Premenopozal kadınlarda aktif östrojenlerin ana kısmı yumurtalıktaki sentezden kaynaklanırken, menopozdan sonra östrojenler karaciğer, beyin ve yağ dokusu gibi çeşitli dokularda lokal olarak oluşur (Secky vd., 2013).

E2 dolaşımdaki androjen ve östrojen öncülerinden üretilir. Bu öncüler, kandaki seks steroid bağlayıcı globülinlere bağlıdır. Organik anyon taşıyan peptidler (OATP'ler) ailesinden taşıyıcılar tarafından yumurtalık epitel hücrelerine taşınırlar (Secky vd., 2013).

Postmenopozal kadınların iç organ yağ dokusunun E2 üretimi için önemi, bu hücrelerdeki yüksek östron-sülfat, 5-androstendion ve dehidroepiandrosteron-sülfat konsantrasyonlarından kaynaklanmaktadır. Lokal konsantrasyonlar serumdakinden 60 kat daha yüksekken, E2 ve testosteron seviyeleri 7 kat artmıştır (Labrie, 2008; Suzuki vd., 2005).

Yumurtalık kanserlerinin %40-60'ı ER ifade eder, hastaların yalnızca küçük bir kısmı (%7-18) klinik olarak anti-östrojen tedavisine yanıt verir (Bardin vd., 2004). Östrojen konsantrasyonlarındaki artış, özellikle postmenopozal kadınlarda yumurtalık kanseri riskinin artmasıyla güçlü bir şekilde ilişkilidir (Pearce, Chung, Pike ve Wu, 2009).

Bilimsel çalışmalar, yumurtalık kanseri hücrelerinin, hormona bağlı meme ve endometriyal kanser gibi östrojen tarafından düzenlenen yolları takip ettiğini gösterdi. (Erickson, Conner ve Landen Jr, 2013).

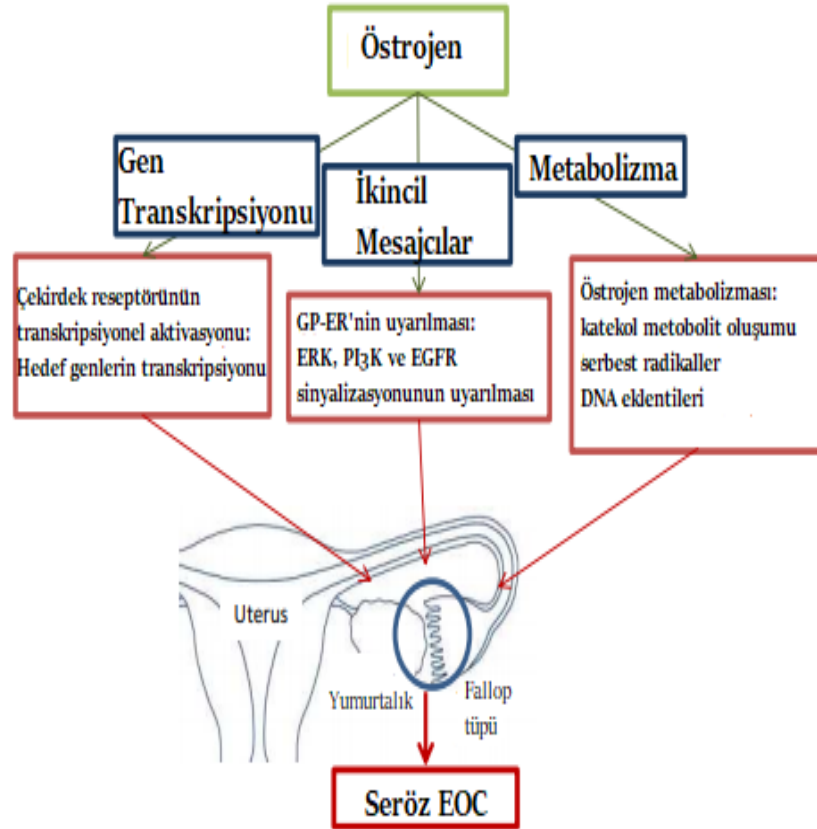
BRCA1 / BRCA2 mutasyonları görülen taşıyıcılar, meme ve yumurtalık kanseri için risk oluşturan yüksek E2 ve P4 seviyelerine maruz kalır (Widschwendter vd., 2013).

Östrojenin fallop tüplerindeki ve yumurtalıklardaki hücrelerde tümör oluşturma yolları 3 şekilde gerçekleşir:

1. Östrojene verilen yanıt çekirdekdeki östrojen reseptörünü (ER- α) aktive eder. Aktive olmuş ER- α hedef genlerin transkripsiyonun gerçekleşmesine ve nihai olarak hücrenin çoğalmasına neden olur.

2. Östrojenin G proteinine bağlı östrojen reseptörü-1 (GPER)'e bağlanması, ikincil mesajcı sistemlerini harekete geçirir. Kanser hücrelerinde, östrojen hücre dışı sinyalle düzenlenen kinazı (ERK), fosfatidilinositol 3-kinaz (PI3K) ve epidermal büyüme faktörü reseptörünü (EGFR) aktive ederek hücre çoğalmasını teşvik eder.

3. Östrojenlerin metabolik süreçleri sonucunda oluşan serbest radikaller mutasyona neden olur. Mutasyonların birikmesi sonucu çoğalan hücrelerde neoplastik görünüm gerçeğeşebilir (Momenimovahed vd., 2019) (Şekil 2.8).



Şekil 2.8. Östrojenin Fallop Tüplerinde ve Yumurtalıklarda Tümör Oluşturma Yolları

(Momenimovahed vd., 2019)

2.5. Kodlamayan RNA'lar (Non-coding RNAs)

Ökaryotik canlıların genom organizasyonu oldukça karmaşıktır. İnsan genomunun neredeyse % 98'i protein kodlamaz. Bu kodlamayan DNA'nın, protein sentezinde hiçbir işlevselliği olmadığı farz edildi ve bu nedenle eskiden "çöp DNA" olarak adlandırılmaktaydı. Ancak, kodlamayan, intergenik DNA'nın daha sonra nükleotid elementler (tekrarlayan, transpozon vb.) şeklinde deşifre edilebilen bir bilgi deposu olduğu keşfedildi (Dhanoa, Sethi, Verma, Arora ve Mukhopadhyay, 2018).

Daha yüksek organizmalarda, transkripsiyonel ürünün çok büyük oranını, rRNA, tRNA, intronlar, 5 've 3' çevrilmemiş bölgeler, transpoze edilebilir elemanlar, intergenik bölgeler ve mikroRNA olarak bilinen geniş bir aileden oluşan kodlamayan RNA'lar (ncRNA'lar) oluşturur (Naeini ve Ardekani, 2009).

Protein kodlamayan RNA molekülleri, kodlamayan RNA'lar olarak adlandırılır. Kodlamayan dizilerin ne kadar işlevsel olduğu hala tartışmalıdır (Dhanoa vd., 2018).

DNA Elementleri Ansiklopedisi (Encyclopedia of DNA elements, ENCODE) tarafından yayınlanan raporlar, genomun yaklaşık %80.4'ünün kromatin yapısı, histon modifikasyonu ve RNA transkripsiyonu vb. gibi birçok biyokimyasal aktiviteye sahip olduğunu ortaya çıkardı (Dhanoa vd., 2018).

Kodlamayan RNA'lar (ncRNA'lar), proteine dönüştürülmeyen RNA molekülleri sınıfıdır. Uzunluklarına bağlı olarak, ncRNA'lar üç kategoride incelenebilir:

1. Ribozomal RNA (rRNA) ve uzun kodlamayan RNA (lncRNA) olmak üzere 200 nükleotidden (nt) daha uzun ncRNA'lar

2. Transfer RNA (tRNA), küçük nükleolar RNA (snoRNA) ve küçük çekirdekli RNA (snRNA) gibi 200 nt'den kısa ancak 40 nt'den uzun ncRNA'lar

3. MikroRNA (miRNA), Küçük Engelleyici RNA (siRNA), piwi-etkileşimli RNA (piRNA) ve tRNA'dan türetilmiş küçük RNA (tsRNA) gibi 40 nt'den kısa ncRNA (Peng, Li ve Zhu, 2019).

2.5.1. Kısa (small) kodlamayan RNA 'lar (sncRNA)

40 nükleotitten küçük protein çevirimi yapılmayan RNA sınıfıdır. miRNA, siRNA, piRNA ve tsRNA gibi kodlamayan RNA'lar bu sınıfta yer alır (Peng vd., 2019).

2.5.1.1. MikroRNA (miRNA)

Lee ve arkadaşları 1993 yılında *Caenorhabditis elegans*'ın (*C. elegans*) larva gelişiminin zamanlamasını kontrol eden bir gen olan lin-4'ü buldular. Bu genin ürünü bir protein kodlamamış onun yerine bir çift küçük RNA kodlamıştır (R. C. Lee, Feinbaum ve Ambros, 1993). Daha sonra yapılan çalışmalar, daha uzun RNA'nın (70 nükleotid), şimdi mikroRNA (miRNA) olarak adlandırılan gen sınıflarının bir üyesi olan daha kısa RNA'nın (22 nükleotid) öncüsü olduğunu gösterdi.

Başlangıçta lin-4 gen ekspresyonunun, diğer türlerle homolojisinin tam benzememesinden dolayı bu ekspresyonun sadece *C. elegans*'da olduğu düşünülüyordu. Daha sonra, 2000 yılında miRNA geninin (let-7) (lin-4 gen öncüsünün ürünü) birçok türde lin-41'i (bir protein kodlama geni) hedeflediği keşfedildi (Pasquinelli vd., 2000). O zamandan beri memelilerde büyük miktarlarda mikroRNA tespit edildi (Naeini ve Ardekani, 2009).

2.5.1.2. Küçük engelleyici RNA (Short İnterfering/Silencing RNA /siRNA)

Küçük engelleyici RNA'ların (siRNA), transkripsiyon sonrası rolleri 1999 yılında bitkilerde keşfedilmiştir (A. J. Hamilton ve Baulcombe, 1999). Daha sonra sentetik siRNA'ların memeli hücrelerinde RNA aracılı gen susturma işlemini yapabileceği gösterildi (Elbashir vd., 2001).

20 ile 25 baz diziliminden oluşan siRNA'lar, çift ipliğe sahip kısa kodlamayan RNA'lardır. 5' - fosfat uç ve 3' - hidroksil uç yapısı mevcuttur. 3' - hidroksil ucunda 2 veya 3 adet baz çıkıntısı görülür. Bu RNA'lar kendi baz dizisine uygun hedef gen bölgelerini spesifik olarak tanıyarak o genin düzenlenmesini kontrol ederler. Transkripsiyondan sonra oluşan hedef mRNA'lara bağlanarak bu mRNA'ların yıkımının gerçekleştirilmesinde rol alırlar (Agrawal vd., 2003).

2.5.1.3. Piwi etkileşimli RNA (piRNA)

Piwi proteinleri, ilk olarak *Drosophila melanogaster*'da germ hattı kök hücrede yer alan faktörler için yapılan bir taramada tanımlandı. Kısa süre sonra diğer organizmalarda da tanımlandı. Eş zamanlı olarak fare ve sıçan germ hücrelerinde de Piwi etkileşimli RNA'ların tanımlandığı bildirilmiştir (Weick ve Miska, 2014).

Piwi etkileşimli RNA'lar (piRNA'lar), çoğunlukla 24–32 nt uzunluğundadır. piRNA ile ilişkili Piwi proteinleri, DNA metilasyonunda ve histon modifikasyon mekanizmasında önemli rollere sahiptir. piRNA'lar yer değiştirebilen genetik elementleri baskılar (Bamezai, Rawat ve Buske, 2012).

2.5.1.4. tRNA'dan türetilmiş küçük RNA (tsRNA)

Pre-tRNA'lar ve olgun tRNA'lar, sitoplazmaya aktarılmadan önce ve sonra kapsamlı modifikasyonlara uğrar ve bu da üç tip tRNA'dan türetilmiş ncRNA'nın üretilmesine neden olur: tRNA'dan türetilmiş küçük RNA'lar (tsRNA'lar), tRNA yarımları (tiRNA'lar) ve tRNA'dan türetilmiş fragmanlar (tRF'ler veya tDR'ler) (Balatti vd., 2017).

Çekirdekte tsRNA'lar, pre-tRNA'nın 3' uç kesilmesinin bir sonucu olarak üretilirken tiRNA'lar, strese yanıt olarak aktive olan sitoplazmik anjiyojenin tarafından olgun tRNA'lardan üretilir. Sitoplazmada olgun tRNA'ların Dicer ile kesilmesi, tRF üretiminin olası bir mekanizması olarak düşünülmektedir. 16-48 nt uzunluğunda tek sarmallı küçük RNA'lar olarak tanımlanan tRF'ler, tRNA'dan türetilmiş dört küçük uzantı ile biter. Çekirdekte biriktiğinde sitoplazmaya geçebilmesi nedeniyle tsRNA'ların farklı seviyelerde gen ekspresyonunu düzenleyebileceği düşünülmektedir (Balatti vd., 2017).

2.5.2. Uzun kodlamayan RNA'lar (lncRNA)

Uzun kodlamayan RNA'lar (lncRNA'lar), açık okuma çerçevesi olmayan (ORF'ler) veya sınırlı olan 200 nt'den uzun transkriptler olarak tanımlanan geniş bir ncRNA ailesidir. lncRNA'lar, gen ekspresyonunun önemli düzenleyicileridir (Kung, Colognori ve Lee, 2013).

Protein kodlayan genlere benzer şekilde, lncRNA'lar, RNA Polimeraz II veya III tarafından transkribe edilir ve mRNA'larda olduğu gibi Cap yapısı eklenme, histon modifikasyonları ve bazı durumlarda poliadenilasyon ile ilişkili değişimlere uğrarlar (Guttman vd., 2009). LncRNA'nın farklı alt grupları genomik konumlarına ve yönelimlerine göre tanımlanmıştır: Sens, antisens, çift yönlü, intronik, intergenik (lincRNA) ve dairesel lncRNA'lar (Burd vd., 2010).

lncRNA moleküllerinin temel özelliklerinden biri, fizyolojik veya patolojik süreçlerde yanıt olarak modüle edilebilen spesifik ekspresyon profilleridir. Dahası, patolojik süreçlere özgü lncRNA ekspresyonunun düzenlenmesi ve bu moleküllerin hücre-hücre iletişimine katılması, vasküler travmalar sırasında biyobelirteçler olarak potansiyel görev yapmaları bu moleküller açısından araştırma ilgisini artırmıştır (Loyer, Vion, Tedgui ve Boulanger, 2014).

İnsan genom topluluğu, 2015 yılında, 15,931 genden 27,817 lncRNA transkripti ortaya çıktığını açıkladı. İnsan genomundaki lncRNA sayısı, protein kodlayan genlerden önemli ölçüde daha fazladır (Rasool vd., 2016). Bununla birlikte, lncRNA'ların proliferasyon, apoptoz ve invazyon gibi kanserin ilerlemesi ile ilişkili çeşitli biyolojik süreçlerde işlev gördüğü bildirilmiştir (Lu, Luo, Wang, Ye ve Wang, 2017).

Uzun kodlamayan RNA'lar mRNA'lara oldukça benzerlik gösterir. Çoğunlukla RNA polimeraz II tarafından kopyalanır, poliadenile edilir. Uzun kodlamayan RNA'lar, protein kodlayan genlerin intronlarında veya genomun genler arası bölgelerinde bulunur. lncRNA'lar gen ekspresyonunda cis ve trans olarak işlev görebilirler (Cheetham, Gruhl, Mattick ve Dinger, 2013).

LncRNA'lar işlevleri açısından şunları içerir:

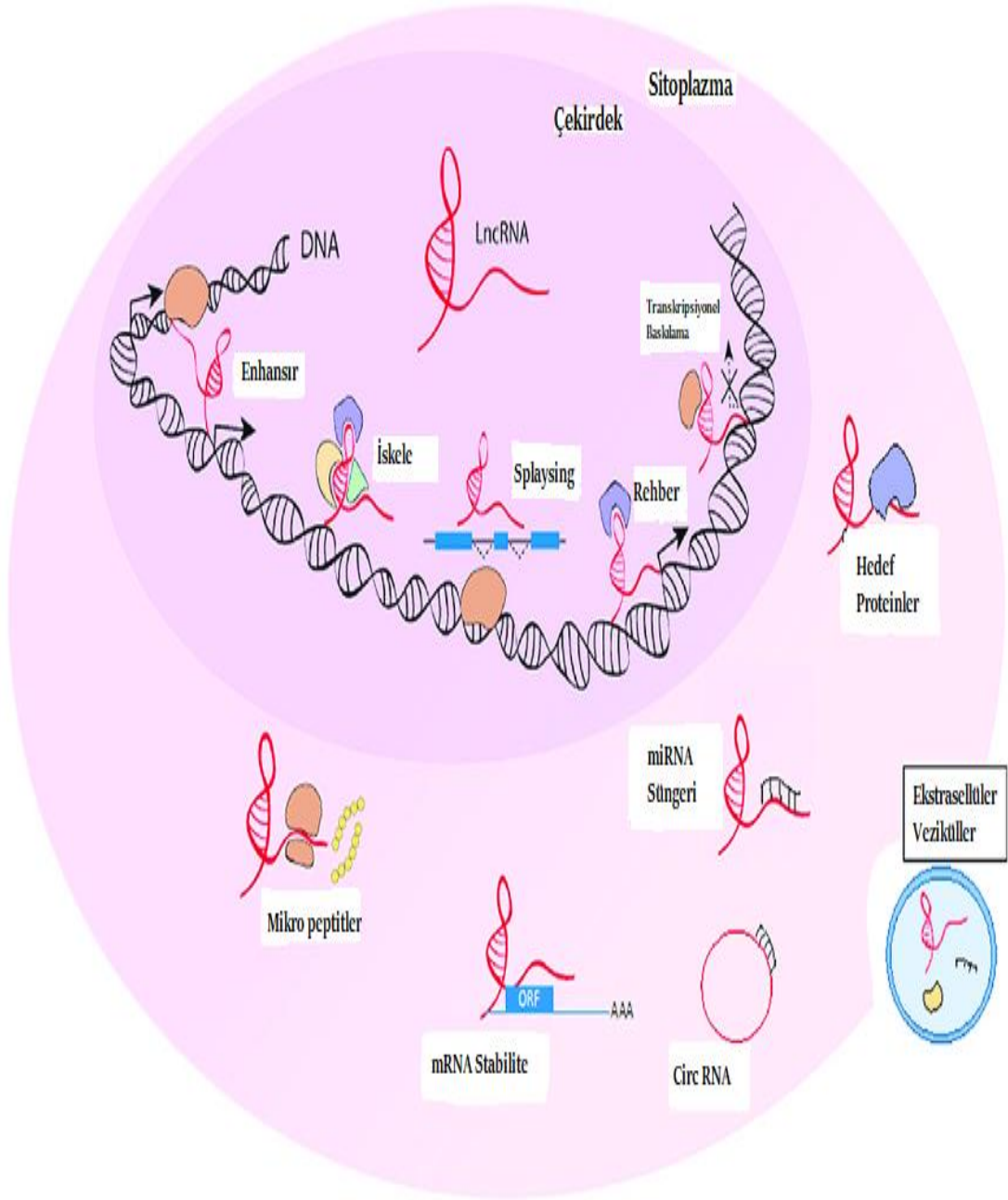
1. İfade edilebilir durumdaki genin baskılanmasını (imprinted genlerin) kontrol eden imprinted lncRNA'lar,
2. Özellikle patofizyolojik koşullarda bol miktarda bulunan hastalıkla ilişkili lncRNA'lar,
3. Ekzojen mikroorganizmalar tarafından üretilen ve düzenlenen patojen kaynaklı lncRNA'lar,
4. Birden fazla role sahip olabilen ve aynı zamanda proteinlere çevrilebilen iki işlevli RNA'lar, miRNA'ların inhibe edici aktivitesine etki eden miRNA süngerleri (Mongelli, Martelli, Farsetti ve Gaetano, 2019) (Şekil 2.9).

Uzun kodlamayan RNA'ların işlevleri: Çekirdekte, lncRNA'lar, kromatini modifiye eden kompleksleri toplayarak veya transkripsiyonel faktörlerin DNA hedeflerine bağlanmasını inhibe ederek spesifik genomik lokusların transkripsiyonunu güçlendirerek veya baskılayarak gen ekspresyonunu düzenleyebilir.

Spesifik transkriptlerin miktarını artırarak veya azaltarak genetik kopyalama sürecini modüle edebilir. Sitoplazmada, proteinler veya diğer ncRNA'lar (mikroRNA'lar ve mRNA'lar) ile etkileşime girerek, transkripsiyon sonrası seviyede gen ekspresyonunu değiştirebilirler.

Birçok lncRNA, aynı moleküler ağlarda yer alan proteinlerin bir araya getirilmesi için yapı iskelesi görevi görebilir. Bazıları, translasyon ve degrade süreçlerinde mRNA'larının fonksiyonlarını etkileyebilir.

LncRNA, mikroRNA'lar için moleküler süngerler gibi davranabilir, böylece hedeflerini bağlama yeteneklerini sınırlar. LncRNA ayrıca mikropeptidler olarak adlandırılan kısa fonksiyonel peptidleri de kodlayabilir. Son zamanlarda, lncRNA, hücre dışı veziküller tarafından hücre dışı ortamda salgılanan hücre-hücre iletişiminin önemli oyuncularını olarak da tanımlanmıştır (Vacante, Denby, Sluimer ve Baker, 2019) (Şekil 2.9).



Şekil 2.9. Lnc RNA'ların Sitoplazma ve Çekirdekteki İşlevleri

(Vacante vd., 2019)

2.5.3. Kanser ve ncRNA'lar

İnsan genom projesi Şubat 2001'de yayınlandığından bu yana, karmaşık insan genomu ve proteomunu aydınlatan birçok yeni bilgi keşfedildi. Geçtiğimiz yıllarda, hastalıkların erken teşhisi için genomik ve proteomik teknolojilerin uygulanması, yumurtalık kanseri, prostat kanseri, lenfatik vasküler sistem ve ilaca bağlı kardiyak toksisitelerin erken teşhisi için kullanılmaya başlanmıştır. Diğer genomik ve proteomik teknolojiler, son yıllarda çeşitli başka hastalıklarda da kullanılmıştır (Ardekani ve Naeini, 2010). Birçok çalışma, kanserlerde lncRNA'ların düzensiz olduğunu bildirmiştir, bu da lncRNA'ların anormal ekspresyonunun kanserde, metastaz ve prognoz ile ilişkili olduğunu düşündürmektedir (Hua vd., 2018).

Kanser başlangıcı ve ilerlemesinin anlaşılması için birçok genomik ve proteomik yaklaşım ortaya konmuştur. Kanserdeki birçok mutasyonun veya kopya sayısı değişikliğinin sıklıkla kodlamayan DNA bölgelerinde bulunduğu belirlenmiştir. İnsan genomundaki DNA'nının çoğu miRNA'lar, siRNA'lar, antisens RNA'lar (asRNA'lar) ve lncRNA'lardan oluşmaktadır. Yapılan çok sayıda çalışmalar, ncRNA'ların kanser başlangıcı, metastazı ve ilaç direnci gibi çeşitli kanser süreçlerinde rol oynadığını gösterir (W.-T. Wang, Han, Sun, Chen ve Chen, 2019).

2.5.3.1. Kanser ve sncRNA

Kanser ve miRNA'lar arasındaki ilişkiyi, 2002'de Calin ve arkadaşları, miR-15 ve miR-16'yı kronik lenfositik lösemi patogeneğinde potansiyel kanser genleri olarak tanımlamıştır. Calin ve arkadaşları, spesifik olarak, kronik lenfositik lösemi ve B hücreli lenfositik lösemili hastaların yarısından fazlasında 13q14.3'te bulunan miR-15a ve miR-16-1 genlerinin ya delesyona uğramış ya da baskılanmış olduğunu göstermişlerdir (Calin vd., 2002).

Kanserde, miRNA'ların hem onkojenik hem de tümör baskılayıcı rollerinin olduğu açığa çıkmıştır. Çoğu kanserde bazı miRNA'ların onkojenik (miR17-92, miR-21, miR-135 gibi) özellikte, bazılarının ise tümör baskılayıcı gen (miR-34, miR126, miR-143 gibi) olarak fonksiyona sahip olması, kanser gelişimi ve metastazında miRNA'ların etkinliğini göstermiştir (Naeini ve Ardekani, 2009).

Kanserde ilaç direnci açısından en çok çalışılan ncRNA'lar miRNA'lardır. Bazı miRNA'lar, çeşitli tümörlerin farklı ilaçlara olan duyarlılığına aracılık etmede çift yönlü etki gösterir. Örnek olarak, çeşitli kanserlerde ilaç tedavisine direnç gösterdiği bildirilen miR-125'tir. Bu miRNA, proapoptotik protein Bcl-2 homologous antagonist/killer ekspresyonunu baskılayarak meme kanseri hücrelerine antikanser ajanı olarak verilen paklitaksele karşı direnç kazandırır (W.-T. Wang vd., 2019).

Karsinogenezde snoRNA'ların önemli etkisi vardır, çünkü bunların ekspresyon seviyeleri, tümör hücrelerinin proliferasyonu ve invazyonu ile pozitif veya negatif olarak ilişkilidir. Örnek olarak, SNORD50'nin prostat kanseri, meme kanseri ve B hücresi lenfomalarında azaldığı gösterilmiştir (Dong vd., 2009; Dong vd., 2008).

SNORA42, birkaç kanserde onkojen rolü oynamaktadır. SNORA, genellikle küçük hücreli dışı akciğer karsinomunda aşırı eksprese edilir ve ekspresyon seviyesi, küçük hücreli dışı akciğer hastalarının sağkalım süresini anlamlı derecede azaltır (Mei vd., 2012).

Bir dizi kanser hücre dizisinde ve solid (katı) tümörlerde piRNA'lar tanımlanmıştır. Multipl miyelom (MM), karaciğer ve meme kanserlerinde piRNA'ların seviyeleri artarken, pankreas, duktal karsinom ve testis germ hücresi tümörlerinde azalmış seviyelere sahiptir. Çeşitli kanserlerde, farklı ekspresyonlara sahip piRNA'ların gösterdikleri etkiler de farklıdır. Örneğin, karaciğer kanserinde piR-Hep1'in susturulması hücre canlılığını, hareketliliğini ve invazivliğini bloke ederken, piR-823'ün mide kanserinde aşırı ekspresyonu hücre büyümesini inhibe ederek tümör baskılayıcı olarak görev yapar (Cheng vd., 2012; Law vd., 2013).

Diğer kısa kodlamayan RNA'lardan olan tRNA'dan türetilen küçük RNA tRF-1001'in, DU145 (prostat), HeLa (serviks) ve HCT116 (kolon) gibi geniş bir kanser hücre dizisinde yüksek oranda eksprese edildiği, ancak dokularda çok daha az eksprese edildiğini göstermiştir (Y. S. Lee, Shibata, Malhotra ve Dutta, 2009). Hücre proliferasyonu, tRF-1001 ile sıkı bir şekilde ilişkilidir. Honda ve arkadaşları SHOT-RNA'ların hormona bağlı hücre kültüründe ve meme kanseri hasta dokularında da meydana geldiğini göstermişlerdir (Honda vd., 2015).

2.5.3.2. *Kanser ve lncRNA'lar*

Moleküler açıdan bakıldığında, kanser, tümör baskılayıcı ve onkojenik genlerin anormal ekspresyonu ve işlevi nedeniyle genetik bir hastalıktır. Proteini kodlayan genlerin yanı sıra, gittikçe daha fazla lncRNA'nın keşfedilmesi ile moleküler yönden yapılan incelemeler sonucu bu lncRNA'ların onkojenik veya tümör baskılayıcı olduğu bulunmuştur. Son zamanlarda, lncRNA'ların rolleri, tümör baskılayıcı veya onkojenik işlevleri açısından meme ve prostat kanseri gibi yaygın görülen kanser türlerinde anlaşılmaya başlanmıştır (Prensner ve Chinnaiyan, 2011).

lncRNA'ların birçoğu farklı dokularda veya spesifik kanser türlerinde benzersiz olarak ifade edilen onbinlerce sayıdadır. lncRNA genlerinin sayısı protein kodlayan genlerden fazladır (Schmitt ve Chang, 2016).

Kanser gelişimi ve ilerlemesinde lncRNA'lar, çeşitli mekanizmalara sahiptir. Epigenetik değişikliklerde lncRNA'lar kromatin düzenleyici komplekslerin bölgeye özel rehberliğini yapar. PRC2'ye (polycomb baskılayıcı kompleks 2) veya kromatini değiştiren CoREST ve SMCX proteinlerine lncRNA'ların en az %38'i bağlanır. Diğerleri tritoraks kromatini aktive eden komplekslere veya aktive edilmiş kromatine bağlanır. ANRIL, XIST, HOTAIR ve KCNQ1OT1 lncRNA'lar, kromatin durumunu yeniden programlamak için epigenetik değiştiricileri spesifik lokuslara toplayabilir. Son çalışmalar, lncRNA'ların hatalı ekspresyonlarını çeşitli kanserlerle ilişkilendirmiştir (ANRIL: prostat kanseri, XIST: kadın kanserleri, HOTAIR: meme kanseri, KCNQ1OT1: kolorektal kanser)(Cheetham vd., 2013).

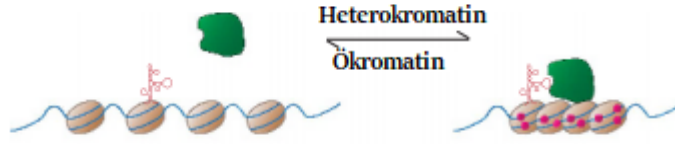
Diğer lncRNA'ların, karsinogenezdeki yeri protein sinyal yollarında anahtar düzenleyici etkilerinin olmasından kaynaklanır. Örneğin bir lncRNA olan lincRNA-p21'in, promotöründe tümör baskılayıcı p53 için bağlanma yerleri mevcuttur ve DNA hasarına yanıt olarak doğrudan p53 tarafından aktive edilir. Bu nedenle, lincRNA-p21, tümör baskılamasında önemli roller oynayabilir (Huarte vd., 2010).

Şimdiye kadar, hücre proliferasyonunu artıran veya inhibe eden birçok lncRNA tanımlanmıştır. Örnek olarak, prostat kanser hücre proliferasyonunu teşvik edebilen PCAT-1'in agresif prostat kanserlerinde oldukça fazla üretildiği bulunmuştur. Bir başka lncRNA türü olan PCGEM1'in, prostat kanserlerinde ekspresyonunun artırılması ile hücre proliferasyonu desteklediğine dair bulgular mevcuttur. Bunun tersine, hücre büyümesini durdurabilen lncRNA GAS5'in meme kanserlerinde inhibe edildiği bulunmuştur. Bu lncRNA'lar, hücre proliferasyon kontrolüne iyi birer örnektir ve bazı lncRNA'ların kanser hücresi proliferasyonuna etkisini ortaya koymaktadır (G. Yang, Lu ve Yuan, 2014).

Kanserde etkili lncRNA'ların bazı önemli örneklerinden olan lncRNA XIST, X kromozomunun inaktivasyonunda da yer alır. XIST, meme, yumurtalık ve rahim ağzı kanseri hücre hatlarında baskılanır (Kawakami vd., 2004). XIST'in farelerde in vivo hematolojik kanseri baskıladığı bildirilmiştir (Yıldırım vd., 2013). KCNQ1OT1'in, kolorektal kanserde miktarı artarak tümör gelişimine neden olur ve kemoterapiye direnç kazandırır (Yongchao Li vd., 2019). HOTAIR, meme kanserinde aşırı ifade edilerek kanser oluşumu ve metastaza teşvik eder (Gupta vd., 2010). H19, mide kanserinde fazla üretilerek hücre çoğalmasını artırır (F. Yang vd., 2012). SRA, steroid reseptörlerin RNA aktivatörü meme tümörü oluşumunda fazla miktarlara sahiptir (Leygue, Dotzlaw, Watson ve Murphy, 1999). TERRA, telomeraza bağlanarak aktivitesini inhibe eder ve birçok insan kanser hücre dizisinde TERRA azalmıştır (Redon, Reichenbach ve Lingner, 2010).

Diğer lncRNA'lar da biyomoleküllerin hücresel işlevlerini yerine getirmelerini engelleyerek tuzak görevi görebilir. Bu mekanizmanın bir örneği, tümör baskılayıcı gen PTEN ve onun psödogeni PTENP1'dir. PTENP1'in 3' UTR'si, PTEN ekspresyonunu azaltan mikroRNA'lara bağlanarak PTEN ekspresyonunu artırabilir. Bu nedenle PTENP1, kanser biyolojisinde önemli bir rol oynar ve tümör baskılayıcı PTEN için bir mikroRNA tuzağı olarak hareket ederek hücre proliferasyonunu kısıtlar (Poliseno vd., 2010) (Şekil 2.10).

A Kromatin Yeniden Düzenlenmesi



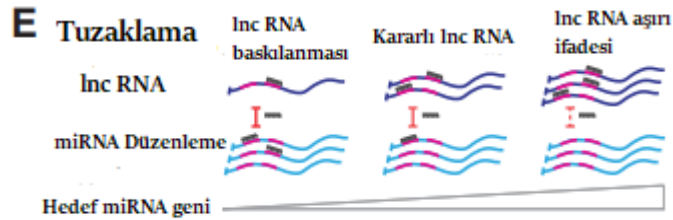
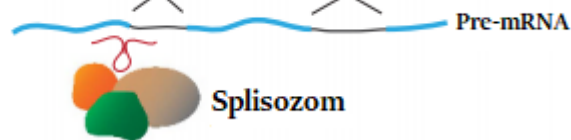
B Transkripsiyonel Aktivasyon veya Baskılama



C Protein İnhibisyonu



D Post-Transkripsiyonel Düzenleme



Şekil 2.10. lnc RNA'ların Kanserdeki Genel Mekanizmaları. (A) Kromatinin yeniden düzenlenmesi, (B) Transkripsiyonel aktivasyon veya baskılama (C) Protein inhibisyonu (D) Post-transkripsiyonel düzenleyiciler (E) Tuzak elementler olarak lncRNA'ların kanserdeki etkileri (Cheetham vd., 2013)

LncRNA'lar anjiyogenezde de rol oynar. MALAT1 kolon, akciğer ve karaciğer kanserlerinde artmıştır. MALAT1'in susturulması, genetik delesyonu veya farmakolojik inhibisyonu, in vivo vasküler büyümeyi azaltırken, tümör baskılayıcı MEG3, anjiyogenezi inhibe edebilir (G. Yang vd., 2014).

LncRNA'lar bazı karsinomların göçü, invazyonu ve metastazında anahtar rollere sahiptir. lncRNA H19 ekspresyonunun, mide kanseri dokularında kansersiz dokulara oranla daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Lnc H19 çoğu fetal dokularda yüksek oranda eksprese edilir, fakat Lnc H19'un ekspresyonu doğumdan sonra büyük oranda azalır. Son çalışmalar, lnc H19'un meme kanseri, mesane kanseri ve servikal karsinomlar gibi çeşitli kanserlerde aşırı eksprese edildiğini göstermiştir. Yapılan bir çalışmada Lnc H19'un mide kanserinin proliferasyonu, göçü, invazyonu ve metastazında etkin rol aldığı bildirilmiştir (H. Li vd., 2014).

Sonuç olarak, lncRNA'ların hatalı ekspresyonu, hücre homeostazının değişmesine ve çeşitli hedef genlerin ekspresyon profillerinin değişmesine yol açabilir (Cheetham vd., 2013).

2.6. CCAT2 ve Kanser

Yakın zamanda, genomik olarak 8. Kromozomun q kolunun 24. bandında bulunan ve kopyalanan 1752 bazlı yeni bir uzun (long) kodlamayan RNA olan kolon kanseri ilişkili transkript 2'nin (CCAT2) keşfi yapıldı. CCAT2 ilk olarak kolorektal kanserde aşırı eksprese edildiği bulundu ve kolorektal kanser hücresi proliferasyonunu ve hareketliliğini destekleyen onkojenik lncRNA olarak tanımlandı. CCAT2'nin genomik lokusu yüksek oranda korunmuştur (S. Chen vd., 2016; Le Wu, Zhang ve Zhang, 2016; Redis vd., 2013).

CCAT2, tümör büyümesini ve metastazını hücre döngüsü ile ilişkili gen ekspresyonunun modülasyonu yoluyla gerçekleştirir ve bir tümör promotörü olarak fonksiyon gösterir (Wu vd., 2017).

CCAT2, transkripsiyon faktörleri, onkojenler ve mikroRNA'lar içeren bir mekanizma ile mikrosatellit stabil kolon kanserinde metastaz ve kromozomal instabiliteyi artırır. CCAT2 kolon, yumurtalık ve prostat kanserine yatkınlıkla ilişkili olduğu gösterilen SNP rs6983267'yi barındırır. Rs6983267 SNP'yi barındıran yüksek oranda korunmuş 8q24 bölgesini kapsayan CCAT2, çeşitli kanser türleri için artan risk ile ilişkilidir (Redis vd., 2013).

CCAT2, hücre proliferasyonunu, metastazları ve kanser metabolizmasını destekleyen çoklu moleküler yolları koordine ettiği bilinen MYC onkojeninin ekspresyon seviyelerinin yanı sıra miR-17-5p ve miR-20a'yı düzenler (Ling vd., 2013). CCAT2 son zamanlarda inflamatuvar (iltihabi) meme kanserinde metastaz yapma riski ile de ilişkilendirilmiştir (Redis vd., 2013).

2.6.1. CCAT2 ve meme kanseri

CCAT2, meme kanseri hücre hatlarında Northern Blot yöntemiyle eksprese edildiği gösterilmiştir. Bunun yanı sıra CCAT2, meme kanseri dokularında da ifade edildiği ve tümör gelişimi olan hastalarda sağlıklı bireylere göre önemli ölçüde ekspresyon seviyelerinin arttığı saptanmıştır (Redis vd., 2013).

CCAT2'nin meme kanserinde rs6983267'den bağımsız bir şekilde hücre göçünü teşvik ettiği ve kemosenitivitenin azalması ile ilişkili bulunmuştur. CCAT2, in vitro hücre büyümesini ve in vivo tümör oluşumunu destekler ve meme kanserinde WNT sinyal yolunu düzenler (Deng, Zhao, Wu ve Song, 2017).

Bu lncRNA, meme kanserinde Wnt/ β -katenin yolunu etkileyerek onkojenik işlevini yerine getirir. CCAT2'nin genomik lokusu, inflamatuvar meme kanserinde metastaz riski ile ilişkili bazı polimorfizmleri içerir. Ek olarak, bu polimorfizmler arasında, rs13281615'in G-allel genotipi, meme kanseri gelişimi için bir risk faktörü olarak kabul edilir. Önceki çalışmalar, CCAT2'nin meme kanseri dokularında aşırı ekspresyonunu ile MYC onkojenin aşırı eksprese edildiği gösterilmiştir (Sarrafzadeh vd., 2017).

Meme kanseri hastalarının yaklaşık üçte ikisinde CCAT2 ekspresyonu aşırı aktive edilmiştir (Redis vd., 2013). CCAT2 ekspresyon seviyeleri, lenf nodu negatif meme kanseri hastalarında en yüksek seviyeye sahiptir. Bunun yanı sıra yüksek CCAT2 ekspresyonu, lenf nodu pozitif meme kanseri olan hastalarda siklofosamid/metotreksat/fluorourasil içeren adjuvan kemoterapide etkinliği azaltmıştır (Cai vd., 2015).

CCAT2 ekspresyonu, komşu tümör olmayan dokulara ve normal fibroblast hücre hattına göre meme kanseri dokularında ve hücre hatlarında aktive edilmiştir. Yüksek CCAT2 ekspresyonu, meme kanseri hastalarında daha kötü prognoz ve daha kısa sağkalım oranı ile ilişkilendirilmiştir. CCAT2'nin susturulması, hem in vitro hem de in vivo olarak hücre proliferasyonunu ve invazyonunu azaltarak tümör oluşumunu engellemiştir. Bunun yanı sıra CCAT2'nin ekspresyonunun engellenmesi sonucu, meme kanseri gelişiminde rol oynayan Wnt/ β -katenin yolağının aktivitesi baskılanmıştır (Xin vd., 2017).

2.6.2. CCAT2 ve yumurtalık kanseri

CCAT2 ekspresyonu, komşu tümör olmayan dokulara ve normal yumurtalık epitel hücre hatlarına kıyasla yumurtalık kanseri dokuları ve hücre hatlarında önemli ölçüde daha yüksektir. CCAT2 ekspresyon seviyeleri aynı zamanda tümör derecesi ile pozitif ilişkilidir (Xin vd., 2017). Daha yüksek CCAT2 ekspresyon seviyeleri, yumurtalık kanseri hastalarında daha kısa bir sağkalımın göstergesi kabul edilmiştir.

CCAT2'nin susturulması, yumurtalık kanserinde hücre çoğalmasını, göçünü ve invazyonunu önemli ölçüde engellemiştir (Xin vd., 2017). Güncel çalışmalarda, epitelyal yumurtalık kanserinde CCAT2'nin aşırı ifade edildiği bildirilmiştir. CCAT2'nin epitelyal yumurtalık kanseri ilerlemesi üzerindeki potansiyel fizyolojik etkileri ve tümör baskılayıcı miR-424 için CCAT2'nin miRNA sünger rolünü oynadığı gösterilmiştir (Hua vd., 2018).

2.7. Çalışmamızda Kullanılan Hücre Hatları

2.7.1. MCF-7 hücre hattı

MCF-7 hücre hattı, 1970 yılında, 69 yaşındaki Kafkas kökenli bir kadından elde edilmiş bir meme kanseri hücre hattıdır. 1973 yılında, Herbert Soule ve arkadaşları ABD'nin Michigan eyaletinin Detroit şehrinde Michigan Kanser Vakfı-7 (Michigan Cancer Foundation-7)'yi kurmuşlardır. MCF-7 hücre hattının ismi bu vakfın kısaltmasından gelmektedir (Soule, Vazquez, Long, Albert ve Brennan, 1973).

MCF-7 östrojen duyarlı, iyi huylu ve adeziv karektare sahip meme kanseri hücre hattıdır. MCF-7 hücreleri in vivo ve in vitro östrojen araştırmalarında model hücre hattı olarak kullanılmaktadır. MCF-7 hücre hattı östrojen reseptörü açısından pozitifdir (ER+). İnsan epitel büyüme faktörü 2 (HER2) reseptörü açısından negatiftir. Farklı MCF-7 alt klonlarının iki katına çıkma süreleri, hızlı döngü yapanlarda tercihen Progesteron reseptörünün (PR) pozitif olduğu, yavaş döngü yapan MCF-7 alt klonlarının PR negatif olduğu bildirilmiştir (Cassanelli, Louis ve Seigneurin, 1995; Holliday ve Speirs, 2011).

2.7.2. MDA-MB-231 hücre hattı

MD Anderson Kanser Enstitüsünde (MD Anderson Cancer Center) izole edilen MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattı bu enstitünün adının kısaltmasını taşır. (Cailleau, Olive ve Cruciger, 1978). Kafkas kökenli 51 yaşındaki bir kadının meme dokusunun metastatik adenokarsinomundan elde edilmiştir.

MDA-MB-231 hücreleri, östrojen reseptör, HER2 ve progesteron reseptörü açısından negatif meme kanseri hücre hattıdır (Holliday ve Speirs, 2011). Adeziv ve metastatik karaktere sahip epitel hücreler olup agresif ve invazivdir (Yin, 2011).

2.7.3. OVCAR-3 hücre hattı

OVCAR-3 (Ovarian Carcinoma Cell Line-3) yumurtalık karsinomu hücre hattı 3'ü ifade eder. Hamilton ve meslektaşları 1982 yılında, yumurtalıkta progresif adenokarsinoma sahip 60 yaşındaki Kafkas kökenli bir kadından OVCAR-3'ü izole etmiştir.

OVCAR-3, östrojen reseptörü pozitif, progesteron reseptörü pozitif ve androjen reseptörü pozitif hücre hattıdır. Adeziv karaktere sahip epitel hücrelerdir (T. C. Hamilton vd., 1983; NIH:OVCAR-3 [OVCAR3]).

2.7.4. UWB1.289 hücre hattı

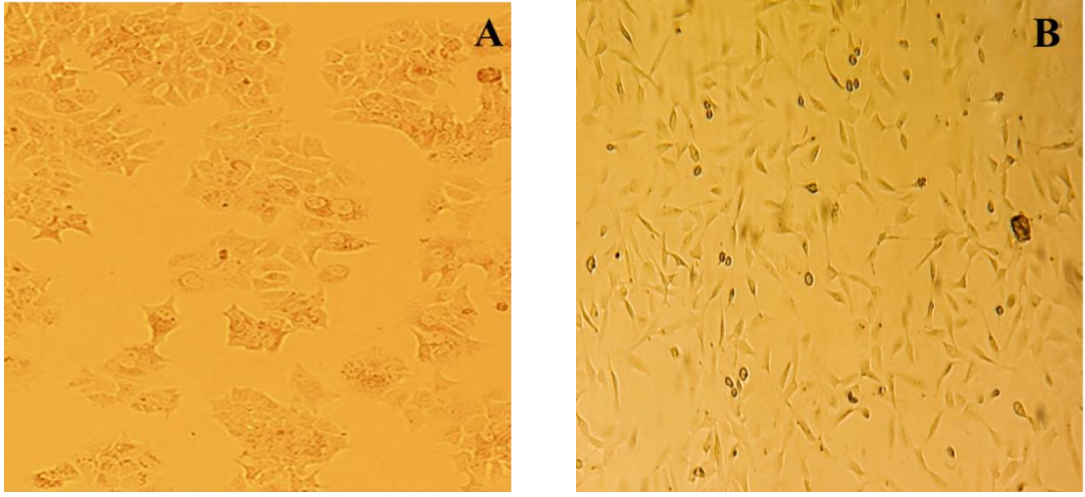
BRCA1 mutasyonu taşıyan ve yabanıl tip alel delesyonuna sahip olan insan yumurtalık kanseri hücre hattı UWB1.289, yumurtalık karsinomunun en yaygın formu olan papiller seröz histoloji tümöründen gelmektedir.

42 yaşında meme kanseri, 54 yaşında yumurtalık kanseri gelişen bir kadın hastadan izole edilmiştir. Adeziv olup epitel benzeri morfolojiye sahiptir. Östrojen reseptörü ve progesteron reseptörü negatiftir (DelloRusso vd., 2007; Mitra vd., 2015; UWB1.289 (ATCC CRL-2945)).

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Meme Kanseri Hücrelerinin Kültüre Edilmesi

Meme kanseri hücreleri MCF-7 (ATCC, HTB-22, Washington, ABD) ve MDA-MB-231 (ATCC, HTB-26, Washington, ABD) laboratuvarımızda, 25 ve 75 cm²'lik flasklarda (Thermo Fisher Scientific, ABD), %10 Fetal Bovin Serum (FBS; Gibco, UK) ve 2 mM L-glutamin ihtiva eden, DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium; Gibco, UK) besiyerinde, %5 CO₂ içeren nemlendirilmiş 37°C'deki inkübatörde (Sanyo, Japonya) kültüre edilerek çoğaltıldı (Şekil 3.1; A ve B).

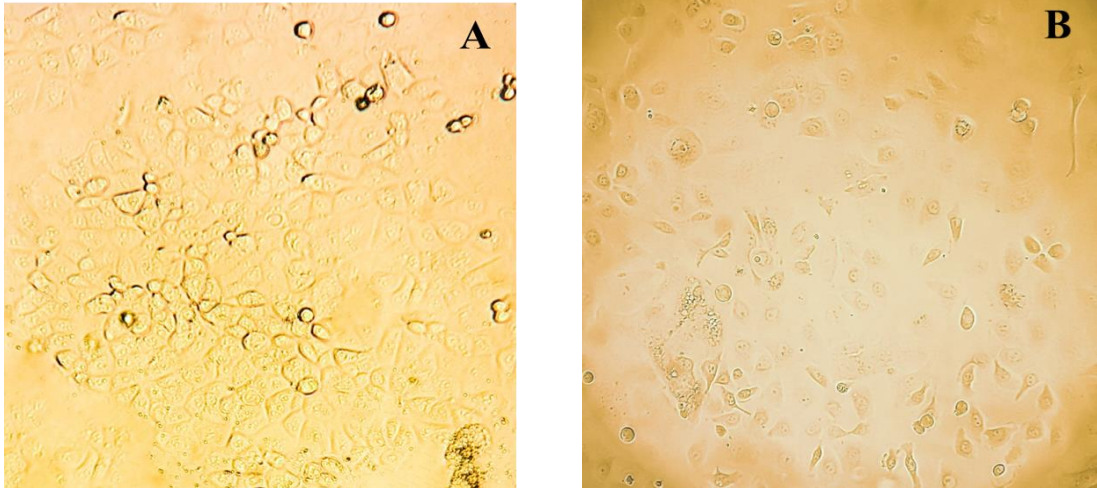


Şekil 3.1. Çalışmamızda Kullanılan Meme Kanseri Hücreleri. A; MCF-7, B; MDA-MB-231

3.2. Yumurtalık (Over) Kanseri Hücrelerinin Kültüre Edilmesi

Yumurtalık kanseri hücresi OVCAR-3 (ATCC, HTB-161, Washington, ABD), laboratuvarımızda, 25 ve 75 cm²'lik flasklarda (Thermo Fisher Scientific, ABD) %20 FBS ve 0.01 mg/ml sığır insülini (Sigma, ABD) ihtiva eden, ATCC-formüle RPMI-1640 (ATCC, Washington, ABD) besiyerinde %5 CO₂ içeren nemlendirilmiş 37°C'deki inkübatörde (Sanyo, Japonya) kültüre edilerek çoğaltıldı (Şekil 3.2; A).

Çalışmamızda kullanılan bir diğer yumurtalık kanseri hücresi UWB1.289 (ATCC, CRL-2945, Washington, ABD), 25 ve 75 cm²'lik flasklarda (Thermo Fisher Scientific, ABD), %3 FBS ihtiva eden %50 ATCC-formüle RPMI-1640 ve %50 MEGM (Mammary Epithelial Growth Medium; Lonza, İsviçre) içeren besiyerinde, % 5 CO₂ içeren nemlendirilmiş 37°C'deki inkübatörde (Sanyo, Japonya) kültüre edilerek çoğaltıldı (Şekil 3.2; B).



Şekil 3.2. Çalışmamızda Kullanılan Yumurtalık Kanseri Hücreleri. A; OVCAR-3, B; UWB1.289

3.2. Hücrelerde Standart Eğri Oluşturulması

Hücreler yeterli sayıya ulaştıktan sonra tripsin (Gibco, UK) ile kaldırıldı. Hücreler neubauer lamında (Marienfeld, Almanya) sayılarak her bir kuyucukta 48×10^3 , 24×10^3 , 12×10^3 , 6×10^3 , 3×10^3 , $1,5 \times 10^3$, 750 ve 0 hücre olacak şekilde 96 kuyucuklu platelelere (Nest, Çin) her biri 7 tekrarlı olacak şekilde dağıtıldı. Daha sonra hücreler 24 saat 37°C 'de %5 CO_2 'li nemlendirilmiş ortamda inkübe edildi. 24 saatlik inkübasyondan sonra karanlık ortamda XTT (Biological Industries, İsrail) yöntemi uygulanıp 2 saat XTT ile reaksiyona bırakıldı. 450 nm'de absorbans değerleri ölçüldü. Bu değerlere göre standart eğriler oluşturulup absorbansa göre hücre proliferasyonları belirlendi.

3.3. Hücrelerde Proliferasyonun En Yüksek Olduğu Östrojen Miktarlarının Belirlenmesi

Hücreler yeterli sayıya ulaşınca tripsin ile kaldırıldı. Hücreler Neubauer lamında sayılarak her bir kuyucuğa 7×10^3 hücre olacak şekilde dağıtıldı. 24 saat 37°C %5 CO_2 içeren nemlendirilmiş inkübatörde tutuldu. Bir sonraki aşamada, uygun östrojen dozunun saptanması için literatürde daha önce yapılan çalışmalar da dikkate alınarak belirli konsantrasyon aralıklarında kanser hücrelerinin tiplerine göre östrojen (E8875, Sigma, St. Louis, USA) hormonu uygulaması gerçekleştirildi. 24, 48. ve 72. saatlerde XTT yöntemiyle ölçüm yapılarak hücrelerde proliferasyonun en yüksek görüldüğü doz ve saat belirlendi.

3.4. Deney Gruplarının Oluşturulması

MCF-7, MDA-MB-231, OVCAR-3 ve UWB1.289 hücreleri için ayrı ayrı 6 deney grubu oluşturuldu. Deney gruplarından biri olan kontrol grubuna sadece transfeksiyon ajanı, non-target siRNA grubuna belirli bir hedefe yönelik olmayan siRNA, siRNA CCAT2 grubuna lncRNA CCAT2'yi susturmaya yönelik siRNA, östrojen kontrol grubuna transfeksiyon ajanı ve hücrelerin en yüksek proliferasyon gösterdiği östrojen dozu, östrojen non-target siRNA grubuna belirli bir hedefe yönelik olmayan siRNA ve hücrelerin en yüksek proliferasyon gösterdiği östrojen dozu, östrojen siRNA CCAT2 grubuna lncRNA CCAT2'yi susturmaya yönelik siRNA ve hücrelerin en yüksek proliferasyon gösterdiği östrojen dozu uygulandı. Transfeksiyon ve hücrelerin en yüksek proliferasyon gösterdiği östrojen dozu işlemlerinden sonraki 24, 48 ve 72. saatlerde hücrelerde belirlemeler yapıldı.

3.5. siRNA ile Gen Susturma İşlemi

MCF-7, MDA-MB-231, OVCAR-3 ve UWB1.289 hücrelerine, lncRNA CCAT2'ye özgü gen susturma işlemi siPORT Transfection kitinin-siRNA Transfection Protokol'ü (Ambion, Carlsbad, ABD) uygulandı. Lnc CCAT2 siRNA (Ambion, Cat#:4392420, ABD) ve non-target siRNA (Ambion, Cat#:4390843, ABD) transfeksiyonlarının ve hücrelerin en yüksek proliferasyon gösterdiği östrojen dozunun hücre davranışlarına etkilerini incelemek için hücrelerde proliferasyon, tutunma, canlılık ve apoptoz belirleme deneyleri yapılmıştır. Kit yöntemine göre uygun konsantrasyonlarda lncRNA CCAT2 siRNA'sı transfeksiyon ajanı ile besiyeri ayrı ayrı 10 dk inkübe edildi. İnkübasyonun sonunda birleştirildi ve üzerine kit prosedürüne uygun miktarda besiyeri ilave edilerek, daha önceden sayılarak ekimi yapılmış hücrelerin bulunduğu kuyucuklara aktarıldı.

3.6. Hücrelerden Total RNA İzolasyonu

Bu aşamanın ilk adımı kültüre edilen hücreler tripsinle flask tabanından kaldırıldı ve sayılarak her bir kuyucukta 5×10^5 hücre olacak şekilde, 6 kuyucuklu (Sarstedt, Almanya) plâtelere ekildi. 24 saat inkübasyondan sonra gruplara uygun işlemlerin ardından 24. 48. ve 72. saatlerinde hücreler tripsinlenerek flask yüzeyinden kaldırıldı. Hücreler 250 xg de Fosfat Buffer Solüsyonu (PBS) ile yıkandı. Sonraki tüm aşamalar total RNA izolasyon kitinde (GeneJET RNA Purification Kit, Thermo scientific, ABD) verilen yöntemle göre gerçekleştirildi. PBS içeren süpernatant atılıp, hücre pelletinin üzerine 600 µl liziz tamponu eklenip 10 saniye hassas bir şekilde vortekslendi. 360 µl %96 etanol (Merck, ABD) eklenip lizat pipetlenerek filtre ve toplama tüpüne aktarıldı. 1 dakika boyunca 12000 xg' de santrifüjlenerek toplama tüpü boşaltıldı. 700 µl yıkama tamponu 1 eklendi ve 1 dakika boyunca 12000 xg' de santrifüjlendikten sonra toplama tüpü boşaltıldı. 600 µl yıkama tamponu 2 eklenerek 1 dakika boyunca 12000 xg' de santrifüjlenerek toplama tüpü boşaltıldı. 250 µl yıkama tamponu 2 eklenerek 2 dakika boyunca 12000 xg' de santrifüjlendi. Filtre RNaz içermeyen steril 1.5 ml tüplere aktarıldı. Üzerine RNaz içermeyen steril 100 µl H₂O eklenerek 1 dakika boyunca 12000 xg' de santrifüjlendi. Filtre atıldı ve elde edilen total RNA miktarları nanodrop cihazında (Multiskan GO, Thermo Scientific, ABD) ölçülüp belirlendikten sonra -80°C derecede saklandı.

3.7. Elde Edilen Total RNA'lardan cDNA Dönüşümü

Hücrelerden elde edilen total RNA'lardan cDNA dönüşümü kit yöntemine uygun olarak (New England Bio-Labs, Beverly, ABD) gerçekleştirildi. Örnek başına 200 ng total RNA, random primer ve nükleaz içermeyen H₂O, 8 µl hacminde olacak şekilde 0,2'lik PCR tüpünde (Thermo Scientific, ABD) pipetlenerek karıştırıldı. Daha sonra reaksiyon mix 10 µl ve enzim mix'ten 2 µl eklenip pipetlenerek toplam hacim 20 µl'ye tamamlandı. Örnekler PCR (Bio-Rad T100, Thermal Cycler, ABD) cihazında 42°C'de 1 saat inkübasyona bırakıldı. 80°C'de 5 dakika enzimlerin inaktivasyonu için bekletildi. Elde edilen cDNA'lar -20°C'de saklandı.

3.8. qPCR

CCAT2 (Hs745578, Thermo Scientific, ABD), GAPDH (Hs02758991_g1, Thermo Scientific, ABD) primer-problar her bir reaksiyon için ayrı ayrı örnek başına 1'er µl olacak şekilde konarak, 200 ng cDNA, 10 µl 2X master mix (Promega, Gotaq Master Mix, Madison, ABD) ve nükleaz içermeyen H₂O karıştırılarak toplam hacim 20 µl'ye tamamlandı. Hücrelerdeki Inc CCAT2 ekspresyon seviyelerini belirlemek üzere 95°C'de 2 dakika ve 95°C'de 15 saniye, 60°C 1 dakika 40 siklus qRT-PCR (Stratagene MX3000P Real time PCR, ABD) cihazında Real Time PCR işlemine tabi tutuldu. Ekspresyon tayininde kontrol grubu kalibratör olarak kullanıldı. Tüm qPCR işlemlerinde normalizatör olarak housekeeping gen olan GAPDH kullanıldı. Real time PCR'a her bir örnek için en az 3 kuyucuk yüklendi. Elde edilen Ct (Cycle threshold, Eşik) değerleri kullanılarak sonuçlar $2^{-\Delta\Delta Ct}$ formülüne göre hesaplandı (Schmittgen ve Livak, 2008).

3.9. Çoğalma (Proliferasyon) Belirlemeleri

XTT (2,3-Bis-2H-Tetrazolium-5-Carboxanilid) yönteminin çalışma prensibi, tetrazolium tuzuna dayalı metabolik olarak aktif olan hücrelerin mitokondri enzimlerinin hücre ölümünden kısa bir süre sonra inaktive olma özelliğine dayalı bir kolorimetrik yöntemdir. XTT yöntemi hücrelerin canlılığının ölçülmesi ve değerlendirilmesini kolaylaştıran bir metottur.

Hücrelerde çoğalmanın belirlenmesi için XTT (Biological Industries, İsrail) kiti kullanıldı. XTT lm için 100 µl aktivasyon solüsyonu içeren 5 ml reaksiyon solüsyonu hazırlanarak hücre gruplarının kuyucuklarının her birine 50 µl eklendi. 2 saat inkübe edildikten sonra hücreler ölçüme alındı. Her grup için deneyler en az 3 kez tekrar edildi. Kit protokolüne uygun şekilde spektrofotometre cihazında (Multiskan GO, Thermo Scientific, ABD) 450 nm dalga boyunda ölçümler yapılarak absorbanslar belirlendi. Ham veriler standart eğrilerinden elde edilen formüllere göre yerine konarak hücreSEL çoğalma belirlendi.

3.10. Tutunma (Adezyon) Belirlemeleri

Hücreler flask tabanından tripsin ile kaldırıldı ve hücreler sayılarak 96'lık flasklara 7×10^3 hücre olacak şekilde her grup için ayrı 7 kuyucuğa aktarıldı. Hücrelerin flask tabanına tutunmaları için 24 saat inkübasyona tabi tutuldu. Adezyon için ayrılan kuyucuklardaki gruplara uygun işlemler yapıldıktan sonra hücreler 3 kez PBS ile yıkanarak 100 µl taze besiyeri eklendi. Daha sonra XTT yöntemi uygulandı. Sonuçlar formülde yerine konarak hücrelerin adezyonu belirlendi.

Formül: $[1 - (\text{yıkınmamış kuyucuk absorbansı} - \text{yıkınmış kuyucuk})] / (\text{yıkınmamış kuyucuk})$

3.11. Canlılık Belirlemeleri

Hücrelerde canlılık belirlemesi için tripan blue boyası kullanıldı. Hücreler tripsinlenerek flask tabanından kaldırıldı ve sonra 10 µl tripan blue (Biological Industries, İsrail) solüsyonuyla 10 µl hücre rneği pipetlenerek karıştırıldı. Karışım slaytlara aktarıldıktan sonra JuLI™ Br (Nanoentek Inc. Seul, Kore) cihazında analiz edilerek sonuçlar % canlı hücreler olarak belirlendi.

3.12. Apoptoz Belirlemeleri

Apoptoz belirlemeleri için her bir flaska (Lab-tek II Chamber Slide w/cover, Nunc, ABD) 2×10^6 hücre ekilerek tabana yapışması sağlandı. Hücrelerin maksimum çoğalma gösterdiği östrojen konsantrasyonu ve saati seçilerek gruplarda Inc siCCAT2 uygulamaları yapıldı. Apoptoz belirlemeleri kit (ApopTag Plus Peroxidase In Situ Apoptosis Detection, Merck, Darmstadt, Almanya) prosedürüne göre gerçekleştirildi.

10 dakika %1'lik paraformaldehit (Roth, Karlsruhe, Almanya) (pH7.4)'de fixe edildi. 5 dakika 2 kez PBS (Biological Industries, İsrail)'de yıkandı. 5 dakika önceden -20 °C'de soğutulmuş etanol (Merck, Darmstadt, Almanya) asetik asit (Riedel-De Haen, Darmstadt, Almanya) (2:1) ilave edildi. 5 dakika 2 kez PBS'de yıkandı. 5 dakika PBS'de %3'lük Hidrojen peroksitte endojen peroksidaz (Panreac, Almanya) bastırıldı. 10 dakika örnekler PBS ile 2 kez beşer dakika yıkandı. Nazikçe fazla sıvı akıtıldı ve dikkatlice kurutma kağıdıyla örneğin etrafından fazla sıvı temizlendi. Direk olarak örnek üzerine $75 \mu\text{l}/5\text{cm}^2$ olacak şekilde Equilibration Buffer uygulandı ve 5 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi. Nazikçe fazla sıvı akıtıldı ve dikkatlice kurutma kağıdıyla örneğin etrafından fazla sıvı temizlendi. Direk olarak örnek üzerine $55 \mu\text{l}/5\text{cm}^2$ olacak şekilde working strength TdT enzimi uygulandı. 1 saat 37 °C'de inkübe edildi. Daha sonra 10 dakika Stop/wash buffurda inkübe edildi. 3 dakika PBS'de 3 defa birer dakika yıkandı. Nazikçe fazla sıvı akıtıldı ve dikkatlice kurutma kağıdıyla örneğin etrafından fazla sıvı temizlendi.

Daha sonra anti-digoxigenin peroksidaz konjugat $65 \mu\text{l}/5\text{cm}^2$ olacak şekilde alanı kaplayacak şekilde ilave edildi ve 30 dakika oda sıcaklığında bekletildi. 8 dakika PBS'de ikişer dakika dört kez yıkandı. Working strength peroksidaz substrat örneği tamamen kaplayacak şekilde 10 dakika oda sıcaklığında bekletildi. 3 dakika üçer kez 1 dakika dH₂O ile yıkandı. 5 dakika dH₂O'da inkübe edildi. 10 dakika %0.5'lik metil yeşilinde (Sigma, Missouri, ABD) boyandı. 3 dakika dH₂O'da yıkandı. 3 dakika %100 N-bütanolde (Merck, Darmstadt, Almanya) 3 kez yıkandı ve dH₂O ile tekrar yıkandı. 6 dakika örneklerden suyu uzaklaştırmak için ikişer dakika 3 kez ksilenden (Sigma-Aldrich, Missouri, ABD) geçirildi ve örneklerin üzeri entellan (Fluka, Almanya) ile kapatılarak mikroskopta (Olympus IX71, Japonya) incelendi ve cellSens Dimension programında görüntüler kaydedilerek her bir örneğin 10 alanı sayıldı.

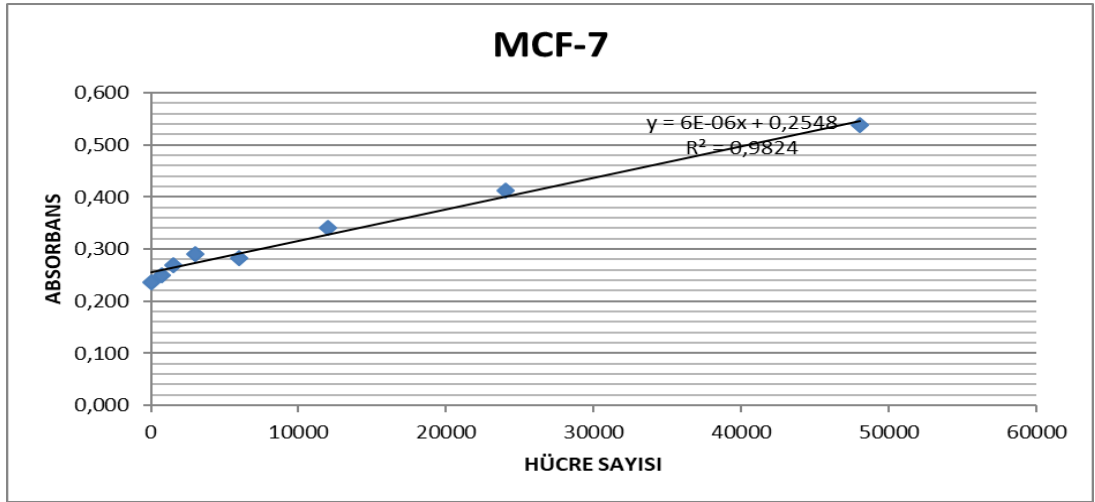
3.13. İstatiksel Analiz

Nicel değişkenlerin normalliği Shapiro Wilk testi kullanılarak gerçekleştirildi. Gruplar arasındaki farklılığa göre normal dağılım gösterenler tek yönlü varyans analizi uygulanarak (OneWay ANOVA) analiz edildi. Çoklu karşılaştırmalar ise Tukey HSD testi ile gerçekleştirildi. İstatistiksel olarak önemli farklılıklar 0.05'ten düşük p değerleri ile doğrulanmıştır. Tablo ve grafiklerde ortalama \pm standart sapma kullanıldı. Tüm analizler IBM SPSS Statistics 21.0 paket programı ile gerçekleştirildi.

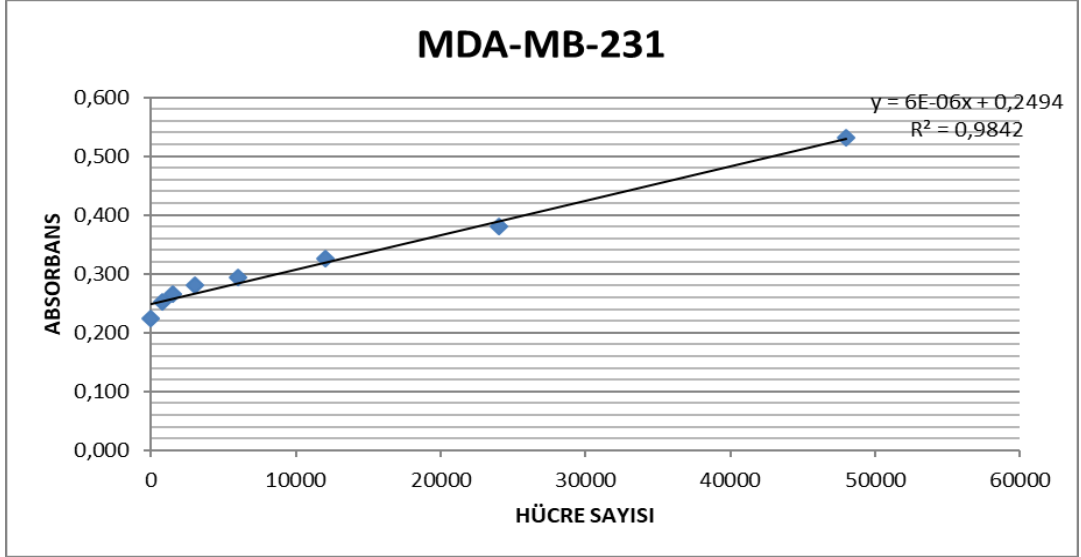
4. BULGULAR

4.1. Standart Eğrileri

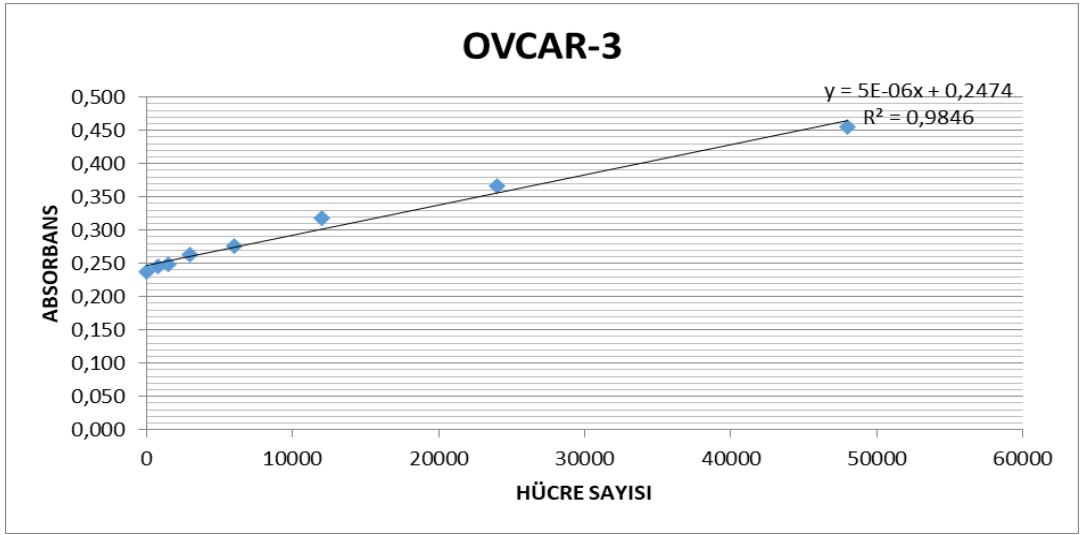
Araştırmanın ilk aşamasında hücrelerde standart eğri oluşturuldu. Bunun için gerekli ölçümler 3 kez tekrarlandı ve her ölçüm için 7 kuyucuk kullanıldı. Elde edilen verilere göre standart eğriler oluşturuldu. MCF-7, MDA-MB-231, OVCAR-3 ve UWB1.289 hücreleri için standart eğriler Şekil 4.1, Şekil 4.2, Şekil 4.3 ve Şekil 4.4’de verildi. Her bir kuyucukta 48000, 24000, 12000, 6000, 3000, 1500, 750 ve 0 hücre konulduktan sonra kolorometrik ölçüm yöntemine dayalı XTT yöntemiyle her grubun absorbansı ölçüldü. Elde edilen absorbans değerleri her hücrenin kendi standart eğri grafiğinden oluşturulan formülde yerine konarak çoğalma (proliferasyon) ve tutunma (adezyon) deneylerinde örneklerin absorbansına karşılık gelen hücre sayıları belirlendi.



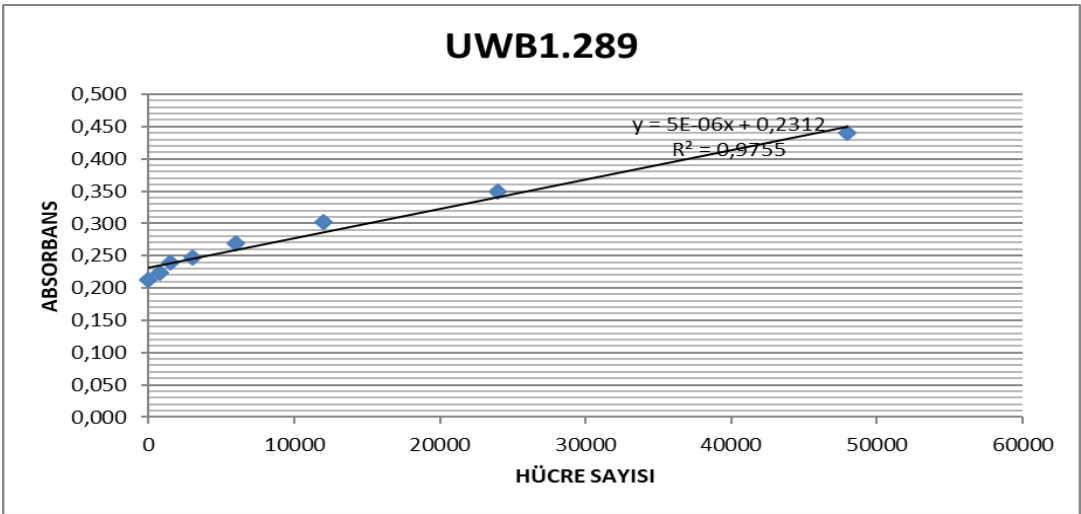
Şekil 4.1. MCF-7 Standart Eğri Grafiği



Şekil 4.2. MDA-MB-231 Standart Eğri Grafiği



Şekil 4.3. OVCAR-3 Standart Eğri Grafiği



Şekil 4.4. UWB1-289 Standart Eğri Grafiği

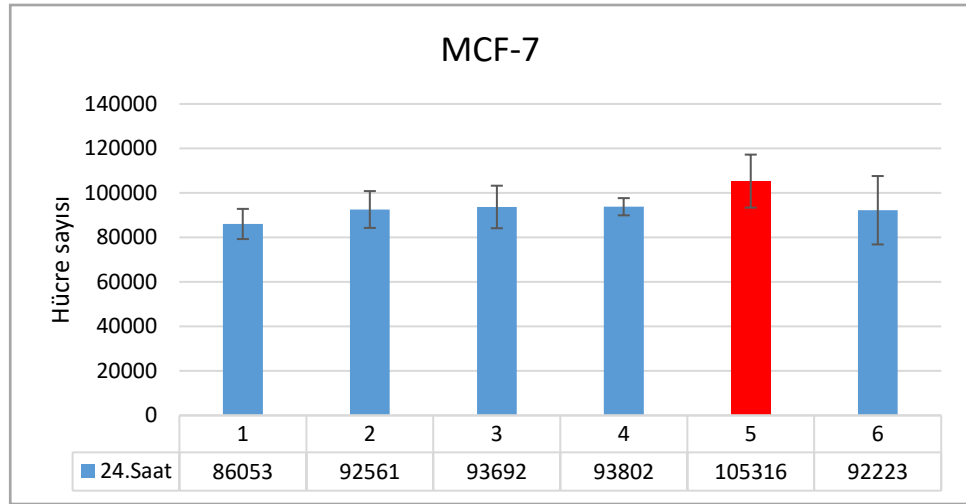
4.2. Hücrelerde Proliferasyonun En Yüksek Olduğu Östrojen Miktarlarının Belirlenmesi

4.2.1. MCF-7 hücrelerinde proliferasyonun en yüksek olduğu östrojen miktarları

MCF-7 hücrelerine 10^{-9} M, 10^{-8} M, 10^{-7} M, 10^{-6} M ve 10^{-5} M östrojen hormonu uygulandı (Ma, Liu, Geng, Qi ve Jiang, 2013). MCF-7 hücrelerinde 24. saatte gruplar arasında istatistiksel olarak fark gözlemlendi ($p < 0.05$) (Tablo 4.1) (Şekil 4.5).

Tablo 4.1. MCF-7 Hücrelerinde 24. Saat Östrojen Uygulaması Sonrası Hücre Sayıları

| SAAT | GRUP NO | GRUP | ORTALAMA±STANDART SAPMA | P DEĞERİ | ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA |
|------|---------|----------------------|-------------------------|----------|---------------------|
| 24 | 1 | Kontrol | 86053±6783 | p<0,05 | 1-5: p<0,05 |
| | 2 | 10^{-9} M Östrojen | 92561±8271 | | |
| | 3 | 10^{-8} M Östrojen | 93692±9564 | | |
| | 4 | 10^{-7} M Östrojen | 93802±3872 | | |
| | 5 | 10^{-6} M Östrojen | 105316±11914 | | |
| | 6 | 10^{-5} M Östrojen | 92223±15370 | | |

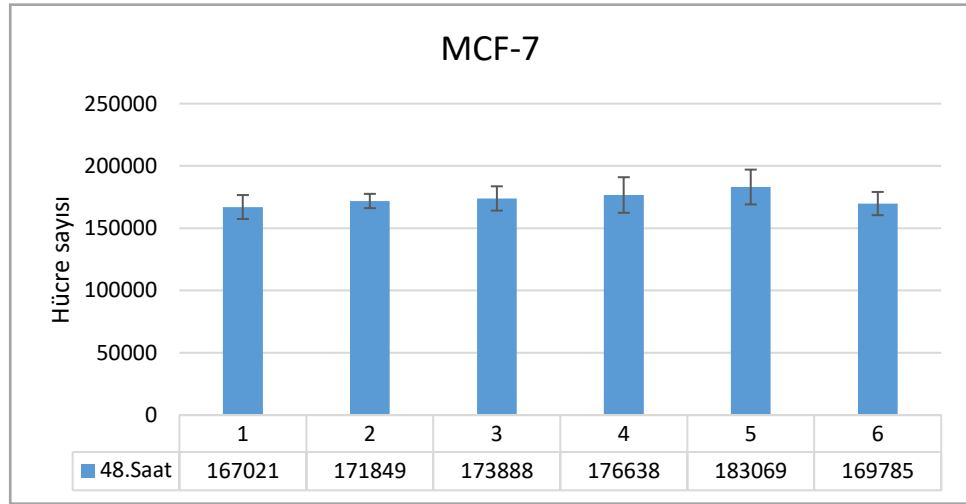


Şekil 4.5. MCF-7 24. Saat Östrojen Uygulaması sonrası Hücre Sayıları

MCF-7 hücrelerinde 48. ve 72. saatlerde gruplar arasında istatistiksel olarak fark gözlenmedi (Sırasıyla, $p=0,119$, $p=0,621$) (Tablo 4.2) (Şekil 4.6) (Tablo 4.3) (Şekil 4.7).

Tablo 4.2. MCF-7 Hücrelerinde 48. Saat Östrojen Uygulaması Sonrası Hücre Sayıları

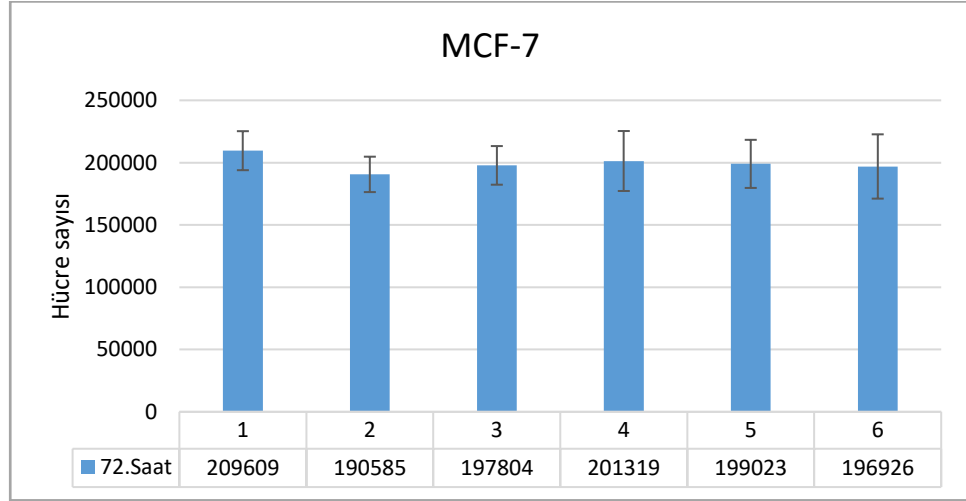
| SAAT | GRUP NO | GRUP | ORTALAMA±STANDART SAPMA | P DEĞERİ | ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA |
|------|---------|----------------------|-------------------------|----------|---------------------|
| 48 | 1 | Kontrol | 167021±9600 | p=0,119 | - |
| | 2 | 10^{-9} M Östrojen | 171849±5730 | | |
| | 3 | 10^{-8} M Östrojen | 173888±9741 | | |
| | 4 | 10^{-7} M Östrojen | 176638±14291 | | |
| | 5 | 10^{-6} M Östrojen | 183069±13970 | | |
| | 6 | 10^{-5} M Östrojen | 169785±9323 | | |



Şekil 4.6. MCF-7 48. Saat Östrojen Uygulaması sonrası Hücre Sayıları

Tablo 4.3. MCF-7 Hücrelerinde 72. Saat Östrojen Uygulaması Sonrası Hücre Sayıları

| SAAT | GRUP NO | GRUP | ORTALAMA±STANDART SAPMA | P DEĞERİ | ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA |
|------|---------|-----------------------------|-------------------------|----------|---------------------|
| 72 | 1 | Kontrol | 209609±15647 | p=0,621 | - |
| | 2 | 10 ⁻⁹ M Östrojen | 190585±14209 | | |
| | 3 | 10 ⁻⁸ M Östrojen | 197804±15497 | | |
| | 4 | 10 ⁻⁷ M Östrojen | 201319±24070 | | |
| | 5 | 10 ⁻⁶ M Östrojen | 199023±19300 | | |
| | 6 | 10 ⁻⁵ M Östrojen | 196926±25799 | | |



Şekil 4.7. MCF-7 72. Saat Östrojen Uygulaması sonrası Hücre Sayıları

Östrojen reseptörü pozitif meme kanseri hücre hattı MCF-7 için proliferasyonun en yüksek görüldüğü östrojen konsantrasyonu 24. saatteki 10⁻⁶ M olduğu saptandı. Hücre proliferasyonundan elde edilen bu veriler göz önüne alınarak 24. saatteki 10⁻⁶ M'lık östrojen hormonu uygulaması proliferasyonun en yüksek görüldüğü doz ve saat olarak belirlendiğinden canlılık, adezyon ve apoptoz deneyleri, bu sonuçlar baz alınarak planlandı.

4.2.2. MDA-MB-231 hücrelerinde proliferasyonun en yüksek Olduğu östrojen miktarları

MDA-MB-231 hücrelerine 10^{-9} M, 10^{-8} M, 10^{-7} M, 10^{-6} M ve 10^{-5} M östrojen hormonu uygulandı (Harrington vd., 2006). MDA-MB-231 24. 48. ve 72. saatlerde hücrelerinde istatistiksel olarak fark gözlenmedi (Sırasıyla, $p=0,167$, $p=0,803$, $p=0,125$) (Tablo 4.4) (Tablo 4.5) (Tablo 4.6).

Tablo 4.4. MDA-MB-231 Hücrelerinde 24. Saat Östrojen Uygulaması Sonrası Hücre Sayıları

| SAAT | GRUP NO | GRUP | ORTALAMA±STANDART SAPMA | P DEĞERİ | ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA |
|------|---------|----------------------|-------------------------|----------|---------------------|
| 24 | 1 | Kontrol | 33798±8153 | p=0,167 | - |
| | 2 | 10^{-9} M Östrojen | 33532±5843 | | |
| | 3 | 10^{-8} M Östrojen | 36179±11914 | | |
| | 4 | 10^{-7} M Östrojen | 35119±3125 | | |
| | 5 | 10^{-6} M Östrojen | 31360±2408 | | |
| | 6 | 10^{-5} M Östrojen | 30065±2457 | | |

Tablo 4.5. MDA-MB-231 Hücrelerinde 48. Saat Östrojen Uygulaması Sonrası Hücre Sayıları

| SAAT | GRUP NO | GRUP | ORTALAMA±STANDART SAPMA | P DEĞERİ | ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA |
|------|---------|----------------------|-------------------------|----------|---------------------|
| 48 | 1 | Kontrol | 82425±6638 | p=0,803 | - |
| | 2 | 10^{-9} M Östrojen | 82163±7417 | | |
| | 3 | 10^{-8} M Östrojen | 84630±7459 | | |
| | 4 | 10^{-7} M Östrojen | 80821±5503 | | |
| | 5 | 10^{-6} M Östrojen | 79963±6635 | | |
| | 6 | 10^{-5} M Östrojen | 79927±8214 | | |

Tablo 4.6. MDA-MB-231 Hücrelerinde 72. Saat Östrojen Uygulaması Sonrası Hücre Sayıları

| SAAT | GRUP NO | GRUP | ORTALAMA±STANDART SAPMA | P DEĞERİ | ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA |
|------|---------|-----------------------------|-------------------------|----------|---------------------|
| 72 | 1 | Kontrol | 115180±9803 | p=0,125 | - |
| | 2 | 10 ⁻⁹ M Östrojen | 111065±10618 | | |
| | 3 | 10 ⁻⁸ M Östrojen | 106114±17128 | | |
| | 4 | 10 ⁻⁷ M Östrojen | 104629±6212 | | |
| | 5 | 10 ⁻⁶ M Östrojen | 106074±3187 | | |
| | 6 | 10 ⁻⁵ M Östrojen | 103409±11410 | | |

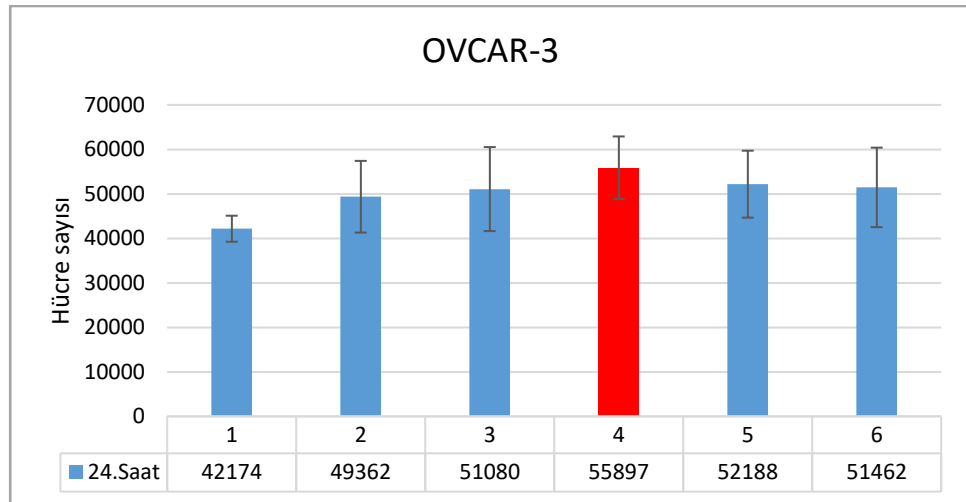
Östrojen reseptörü negatif meme kanseri hücre hattı MDA-MB-231 için proliferasyonun en yüksek görüldüğü östrojen konsantrasyonu 24. saatteki 10⁻⁸ M olduğu saptandı. Hücre proliferasyonundan elde edilen bu veriler göz önüne alınarak 24. saatteki 10⁻⁸ M'lık östrojen hormonu uygulaması proliferasyonun en yüksek görüldüğü doz ve saat olarak belirlendiğinden canlılık, adezyon ve apoptoz deneyleri, bu sonuçlar baz alınarak planlandı.

4.2.3. OVCAR-3 hücrelerinde proliferasyonun en yüksek olduğu östrojen miktarları

OVCAR-3 hücrelerine 10^{-12} M, 10^{-11} M, 10^{-10} M, 10^{-9} M ve 10^{-8} M östrojen hormonu uygulandı (H.-H. Li vd., 2014). OVCAR-3 hücrelerinde 24. saatte gruplar arasında istatistiksel olarak fark gözlemlendi ($p<0.05$) (Tablo 4.7) (Şekil 4.8).

Tablo 4.7. OVCAR-3 Hücrelerinde 24. Saat Östrojen Uygulaması Sonrası Hücre Sayıları

| SAAT | GRUP NO | GRUP | ORTALAMA±STANDART SAPMA | P DEĞERİ | ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA |
|------|---------|-----------------------|-------------------------|----------|---------------------|
| 24 | 1 | Kontrol | 42174±2928 | p<0,05 | 1-4: p<0,05 |
| | 2 | 10^{-12} M Östrojen | 49362±8059 | | |
| | 3 | 10^{-11} M Östrojen | 51080±9442 | | |
| | 4 | 10^{-10} M Östrojen | 55897±7013 | | |
| | 5 | 10^{-9} M Östrojen | 52188±7525 | | |
| | 6 | 10^{-8} M Östrojen | 51462±8934 | | |

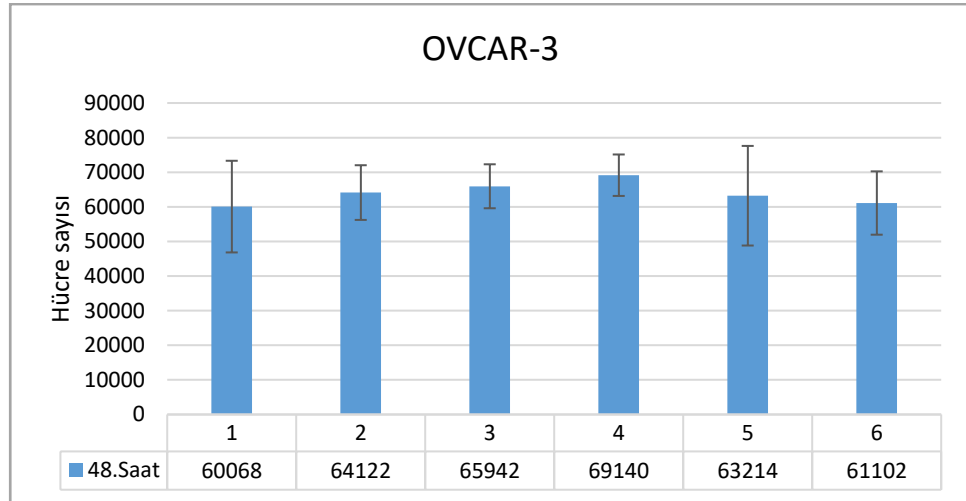


Şekil 4.8. OVCAR-3 24. Saat Östrojen Uygulaması Sonrası Hücre Sayıları

OVCAR-3 hücrelerinde 48. ve 72. saatlerde gruplar arasında istatistiksel olarak fark gözlenmedi (Sırasıyla, $p=0,585$, $p=0,920$) (Tablo 4.8) (Şekil 4.9) (Tablo 4.9) (Şekil 4.10).

Tablo 4.8. OVCAR-3 Hücrelerinde 48. Saat Östrojen Uygulaması Sonrası Hücre Sayıları

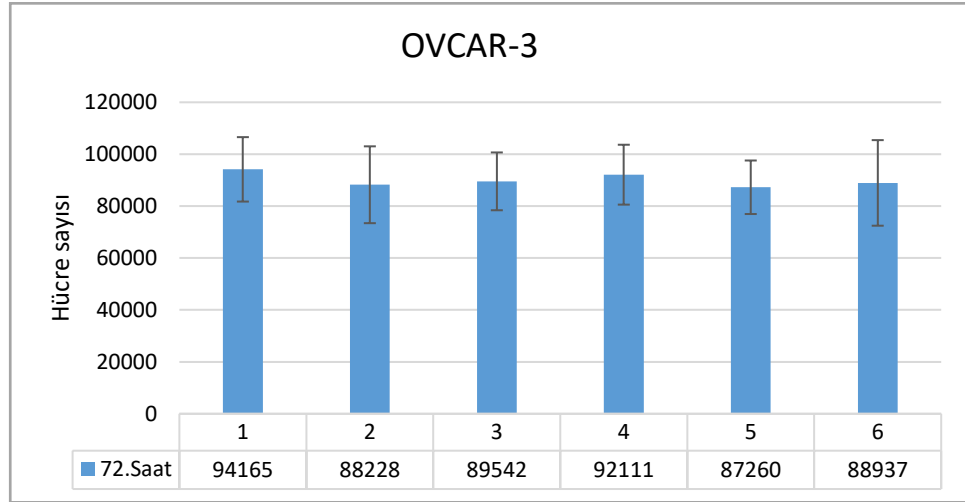
| SAAT | GRUP NO | GRUP | ORTALAMA±STANDART SAPMA | P DEĞERİ | ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA |
|------|---------|-----------------------|-------------------------|----------|---------------------|
| 48 | 1 | Kontrol | 60068±13246 | p=0,585 | - |
| | 2 | 10^{-12} M Östrojen | 64122±7902 | | |
| | 3 | 10^{-11} M Östrojen | 65942±6348 | | |
| | 4 | 10^{-10} M Östrojen | 69140±5989 | | |
| | 5 | 10^{-9} M Östrojen | 63214±14390 | | |
| | 6 | 10^{-8} M Östrojen | 61102±9152 | | |



Şekil 4.9. OVCAR-3 48. Saat Östrojen Uygulaması Sonrası Hücre Sayıları

Tablo 4.9. OVCAR-3 Hücresinde 72. Saat Östrojen Uygulaması Sonrası Hücre Sayıları

| SAAT | GRUP NO | GRUP | ORTALAMA±STANDART SAPMA | P DEĞERİ | ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA |
|------|---------|------------------------------|-------------------------|----------|---------------------|
| 72 | 1 | Kontrol | 94165±12408 | p=0,920 | - |
| | 2 | 10 ⁻¹² M Östrojen | 88228±14803 | | |
| | 3 | 10 ⁻¹¹ M Östrojen | 89542±11139 | | |
| | 4 | 10 ⁻¹⁰ M Östrojen | 92111±11537 | | |
| | 5 | 10 ⁻⁹ M Östrojen | 87260±10308 | | |
| | 6 | 10 ⁻⁸ M Östrojen | 88937±16488 | | |



Şekil 4.10. OVCAR-3 72. Saat Östrojen Uygulaması Sonrası Hücre Sayıları

Östrojen reseptörü pozitif yumurtalık kanseri hücre hattı OVCAR-3 için proliferasyonun en yüksek görüldüğü östrojen konsantrasyonu 24. saatteki 10⁻¹⁰ M olduğu saptandı. Hücre proliferasyonundan elde edilen bu veriler göz önüne alınarak 24. saatteki 10⁻¹⁰ M'lık östrojen hormonu uygulaması proliferasyonun en yüksek görüldüğü doz ve saat olarak belirlendiğinden canlılık, adezyon ve apoptoz deneyleri, bu sonuçlar baz alınarak planlandı.

4.2.4. UWB1.289 hücrelerinde proliferasyonun en yüksek olduğu östrojen miktarları

UWB1.289 hücrelerine 10^{-12} M, 10^{-11} M, 10^{-10} M, 10^{-9} M ve 10^{-8} M östrojen hormonu uygulandı. 24. 48. ve 72. saatlerde UWB1.289 hücrelerinde istatistiksel olarak fark gözlenmedi (Sırasıyla, $p=0,160$, $p=0,112$, $p=0,114$) (Tablo 4.10) (Tablo 4.11) (Tablo 4.12).

Tablo 4.10. UWB1.289 Hücrelerinde 24. Saat Östrojen Uygulaması Sonrası Hücre Sayıları

| SAAT | GRUP NO | GRUP | ORTALAMA±STANDART SAPMA | P DEĞERİ | ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA |
|------|---------|-----------------------|-------------------------|----------|---------------------|
| 24 | 1 | Kontrol | 32674±5782 | p=0,160 | - |
| | 2 | 10^{-12} M Östrojen | 32127±6856 | | |
| | 3 | 10^{-11} M Östrojen | 32467±3746 | | |
| | 4 | 10^{-10} M Östrojen | 37928±3359 | | |
| | 5 | 10^{-9} M Östrojen | 34100±2797 | | |
| | 6 | 10^{-8} M Östrojen | 31859±4054 | | |

Tablo 4.11. UWB1.289 Hücrelerinde 48. Saat Östrojen Uygulaması Sonrası Hücre Sayıları

| SAAT | GRUP NO | GRUP | ORTALAMA±STANDART SAPMA | P DEĞERİ | ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA |
|------|---------|-----------------------|-------------------------|----------|---------------------|
| 48 | 1 | Kontrol | 39847±2775 | p=0,112 | - |
| | 2 | 10^{-12} M Östrojen | 41705±2566 | | |
| | 3 | 10^{-11} M Östrojen | 41478±3511 | | |
| | 4 | 10^{-10} M Östrojen | 41691±3998 | | |
| | 5 | 10^{-9} M Östrojen | 37439±2216 | | |
| | 6 | 10^{-8} M Östrojen | 38142±5519 | | |

Tablo 4.12. UWB1.289 Hücrelerinde 72. Saat Östrojen Uygulaması Sonrası Hücre Sayıları

| SAAT | GRUP NO | GRUP | ORTALAMA±STANDART SAPMA | P DEĞERİ | ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA |
|------|---------|------------------------------|-------------------------|----------|---------------------|
| 72 | 1 | Kontrol | 48191±2952 | p=0,114 | - |
| | 2 | 10 ⁻¹² M Östrojen | 45464±3868 | | |
| | 3 | 10 ⁻¹¹ M Östrojen | 41835±5028 | | |
| | 4 | 10 ⁻¹⁰ M Östrojen | 42622±5767 | | |
| | 5 | 10 ⁻⁹ M Östrojen | 41683±6268 | | |
| | 6 | 10 ⁻⁸ M Östrojen | 42669±4767 | | |

Östrojen reseptörü negatif yumurtalık kanseri hücre hattı UWB1.289 için proliferasyonun en yüksek görüldüğü östrojen konsantrasyonu 24. saatteki 10⁻¹⁰ M olduğu saptandı. Hücre proliferasyonundan elde edilen bu veriler göz önüne alınarak 24. saatteki 10⁻¹⁰ M'lık östrojen hormonu uygulaması proliferasyonun en yüksek görüldüğü doz ve saat olarak belirlendiğinden canlılık, adezyon ve apoptoz deneyleri, bu sonuçlar baz alınarak planlandı.

4.3. Hücrelerde CCAT2 Gen Ekspresyonlarının Belirlenmesi

4.3.1. MCF-7 hücrelerinde CCAT2 gen ekspresyonlarının belirlenmesi

MCF-7 hücrelerinde grupların CCAT2 ekspresyonları RT-PCR'dan elde edilen Ct (Cycle threshold, Eşik) değerleri kullanılarak sonuçlar $2^{-\Delta\Delta Ct}$ formülüne göre hesaplandı. 24.,48. ve 72. saatlerde kontrol grubu 1 olarak alındı. (Tablo 4.13).

Tablo 4.13. MCF-7 hücrelerinde 24., 48. ve 72. Saat CCAT2 Ekspresyonu

| SAAT | KONTROL | NT | siCCAT2 | ÖSTROJEN KONTROL | ÖSTROJEN NT | ÖSTROJEN siCCAT2 |
|------|---------|----------|----------|------------------|-------------|------------------|
| 24 | 1 | 1,189207 | 0,678302 | 3,837056 | 3,810552 | 1,208528 |
| 48 | 1 | 1,214195 | 0,617632 | 3,630077 | 4,500234 | 1,181503 |
| 72 | 1 | 1,356604 | 0,966176 | 1,239708 | 2,17347 | 1,239708 |

4.3.2. MDA-MB-231 hücrelerinde CCAT2 gen ekspresyonlarının belirlenmesi

MDA-MB-231 hücrelerinde grupların CCAT2 ekspresyonları RT-PCR'dan elde edilen Ct (Cycle threshold, Eşik) değerleri kullanılarak sonuçlar $2^{-\Delta\Delta Ct}$ formülüne göre hesaplandı. 24.,48. ve 72. saatlerde kontrol grubu 1 olarak alındı (Tablo 4.14).

Tablo 4.14. MDA-MB-231 hücrelerinde 24., 48. ve 72. Saat CCAT2 Ekspresyonu

| SAAT | KONTROL | NT | siCCAT2 | ÖSTROJEN KONTROL | ÖSTROJEN NT | ÖSTROJEN siCCAT2 |
|------|---------|----------|----------|------------------|-------------|------------------|
| 24 | 1 | 1,22264 | 0,473029 | 1,494849 | 1,547565 | 0,503478 |
| 48 | 1 | 1,125058 | 0,336808 | 1,42405 | 1,06437 | 0,283221 |
| 72 | 1 | 1,049717 | 0,907519 | 1,140764 | 1,07177 | 0,91942 |

4.3.3. OVCAR-3 hücrelerinde CCAT2 gen ekspresyonlarının belirlenmesi

OVCAR-3 hücrelerinde grupların CCAT2 ekspresyonları RT-PCR'dan elde edilen Ct (Cycle threshold, Eşik) değerleri kullanılarak sonuçlar $2^{-\Delta\Delta Ct}$ formülüne göre hesaplandı. 24.,48. ve 72. saatlerde kontrol grubu 1 olarak alındı (Tablo 4.15).

Tablo 4.15. OVCAR-3 hücrelerinde 24., 48. ve 72. Saat CCAT2 Ekspresyonu

| SAAT | KONTROL | NT | siCCAT2 | ÖSTROJEN KONTROL | ÖSTROJEN NT | ÖSTROJEN siCCAT2 |
|------|---------|----------|----------|------------------|-------------|------------------|
| 24 | 1 | 1,028114 | 0,50698 | 2,86791 | 2,313376 | 1,125058 |
| 48 | 1 | 0,790041 | 0,441351 | 2,394957 | 2,313376 | 0,913831 |
| 72 | 1 | 0,972655 | 0,726986 | 1,164734 | 1,140764 | 1,117287 |

4.3.4. UWB1.289 hücrelerinde CCAT2 gen ekspresyonlarının belirlenmesi

UWB1.289 hücrelerinde grupların CCAT2 ekspresyonları RT-PCR'dan elde edilen Ct (Cycle threshold, Eşik) değerleri kullanılarak sonuçlar $2^{-\Delta\Delta Ct}$ formülüne göre hesaplandı. 24.,48. ve 72. saatlerde kontrol grubu 1 olarak alındı (Tablo 4.16).

Tablo 4.16. UWB1.289 hücrelerinde 24., 48. ve 72. Saat CCAT2 Ekspresyonu

| SAAT | KONTROL | NT | siCCAT2 | ÖSTROJEN KONTROL | ÖSTROJEN NT | ÖSTROJEN siCCAT2 |
|------|---------|----------|----------|------------------|-------------|------------------|
| 24 | 1 | 0,959264 | 0,417544 | 1,049717 | 0,946058 | 0,632878 |
| 48 | 1 | 0,835088 | 0,301452 | 0,817902 | 0,907519 | 0,41466 |
| 72 | 1 | 0,702222 | 0,528509 | 1,22264 | 1,239708 | 0,61132 |

E2 uygulaması, ER+ meme kanseri MCF-7 ve ER+ yumurtalık kanseri OVCAR-3 hücrelerinde CCAT2'nin ekspresyon seviyelerini artırdı. siCCAT2 işlemi, hem ER+ hem de ER- meme kanseri ve yumurtalık kanseri hücrelerinde E2'nin varlığında ve yokluğunda CCAT2 ekspresyon seviyelerini azalttı.

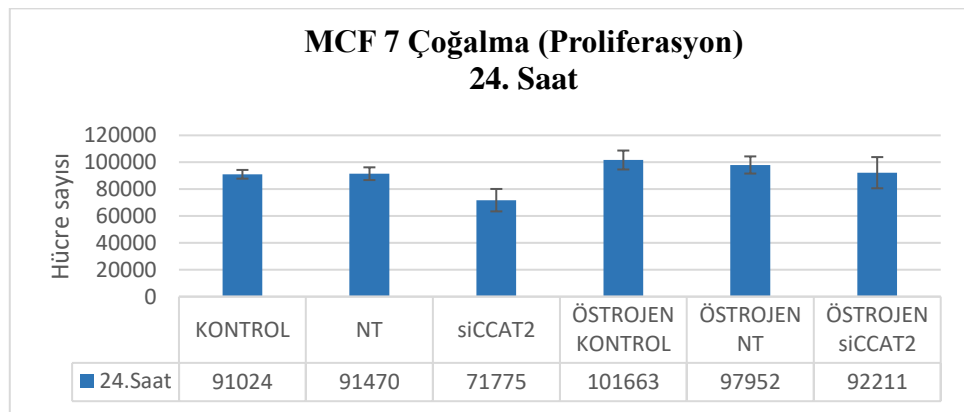
4.4. Hücrelerde Çoğalma (Proliferasyon) Belirlemeleri

4.4.1 MCF-7 hücrelerinde çoğalma (proliferasyon) belirlemeleri

MCF-7 hücrelerinde 24. saatte gruplar arasında istatistiksel olarak fark gözlemlendi ($p<0,001$). Kontrol grubuna (91024 ± 3243) göre siCCAT2 (71775 ± 8349) grubunda azalma gözlemlenirken ($p<0,001$), östrojen kontrol grubunda (101663 ± 7048) istatistiksel olarak anlamlı artış gözlemlendi ($p<0,05$). Nt grubuna (91470 ± 4738) göre siCCAT2 (71775 ± 8349) grubunda azalma gözlemlenirken ($p<0,001$), östrojen kontrol grubunda (101663 ± 7048) istatistiksel olarak anlamlı artış gözlemlendi ($p<0,05$). Östrojen kontrol grubuna (101663 ± 7048) göre siCCAT2 (71775 ± 8349) grubunda istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p<0,001$). Östrojen nt grubuna (97952 ± 6380) göre siCCAT2 (71775 ± 8349) grubunda istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p<0,001$). Östrojen siCCAT2 grubuna (92211 ± 11601) göre siCCAT2 (71775 ± 8349) grubunda istatistiksel olarak anlamlı artış gözlemlendi ($p<0,001$) (Tablo 4.17) (Şekil 4.11).

Tablo 4.17. MCF-7 Hücrelerinde 24. Saat Çoğalma (Proliferasyon) Belirlemeleri

| SAAT | GRUP NO | GRUP | ORTALAMA±STANDART SAPMA | P DEĞERİ | ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA |
|------|---------|------------------|-------------------------|----------|---------------------|
| 24 | 1 | Kontrol | 91024±3243 | p<0,001 | 1-3: p<0,001 |
| | 2 | Nt | 91470±4738 | | 1-4: p<0,05 |
| | 3 | siCCAT2 | 71775±8349 | | 2-3: p<0,001 |
| | 4 | Östrojen Kontrol | 101663±7048 | | 2-4: p<0,05 |
| | 5 | Östrojen Nt | 97952±6380 | | 3-4: p<0,001 |
| | 6 | Östrojen siCCAT2 | 92211±11601 | | 3-5: p<0,001 |
| | | | | | 3-6: p<0,001 |

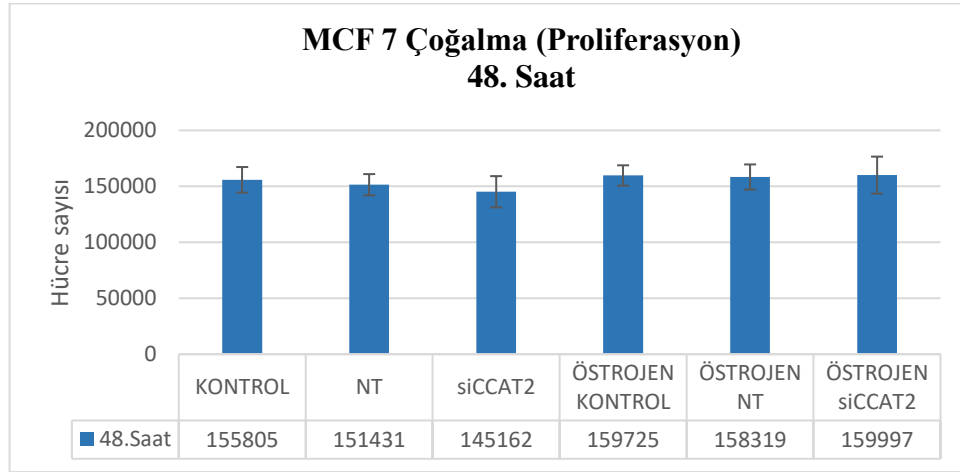


Şekil 4.11. MCF-7 Hücrelerinde 24. Saat Çoğalma (Proliferasyon)

MCF-7 hücrelerinde 48. ve 72. saatlerde gruplar arasında istatistiksel olarak fark gözlenmedi (Sırasıyla, $p=0,161$, $p=0,62$) (Tablo 4.18) (Şekil 4.12) (Tablo 4.19) (Şekil 4.13).

Tablo 4.18. MCF-7 Hücrelerinde 48. Saat Çoğalma (Proliferasyon) Belirlemeleri

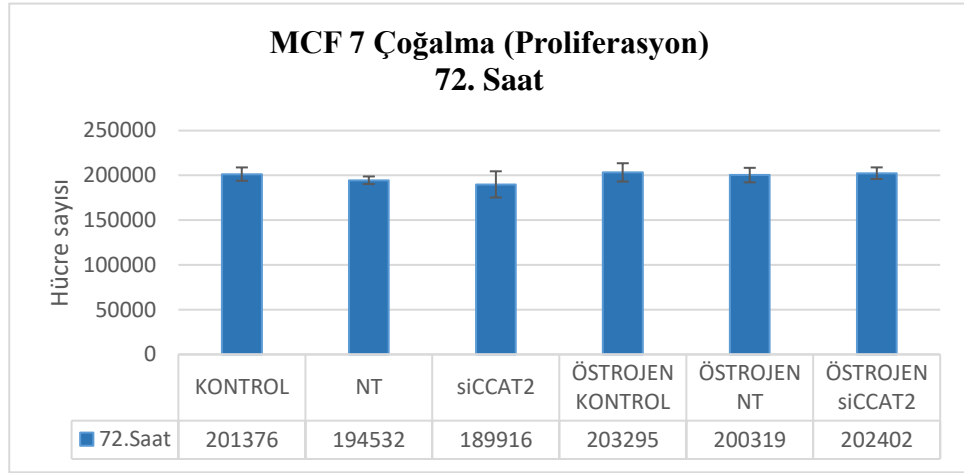
| SAAT | GRUP NO | GRUP | ORTALAMA±STANDART SAPMA | P DEĞERİ | ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA |
|------|---------|------------------|-------------------------|----------|---------------------|
| 48 | 1 | Kontrol | 155805±11458 | p=0,161 | - |
| | 2 | Nt | 151431±9516 | | |
| | 3 | siCCAT2 | 145162±13964 | | |
| | 4 | Östrojen Kontrol | 159725±9059 | | |
| | 5 | Östrojen Nt | 158319±7967 | | |
| | 6 | Östrojen siCCAT2 | 159997±16542 | | |



Şekil 4.12. MCF-7 Hücrelerinde 48. Saat Çoğalma (Proliferasyon)

Tablo 4.19. MCF-7 Hücrelerinde 72. Saat Çoğalma (Proliferasyon) Belirlemeleri

| SAAT | GRUP NO | GRUP | ORTALAMA±STANDART SAPMA | P DEĞERİ | ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA |
|------|---------|------------------|-------------------------|----------|---------------------|
| 72 | 1 | Kontrol | 201376±7477 | p=0,62 | - |
| | 2 | Nt | 194532±4260 | | |
| | 3 | siCCAT2 | 189916±14635 | | |
| | 4 | Östrojen Kontrol | 203295±10231 | | |
| | 5 | Östrojen Nt | 200319±8084 | | |
| | 6 | Östrojen siCCAT2 | 202402±6480 | | |



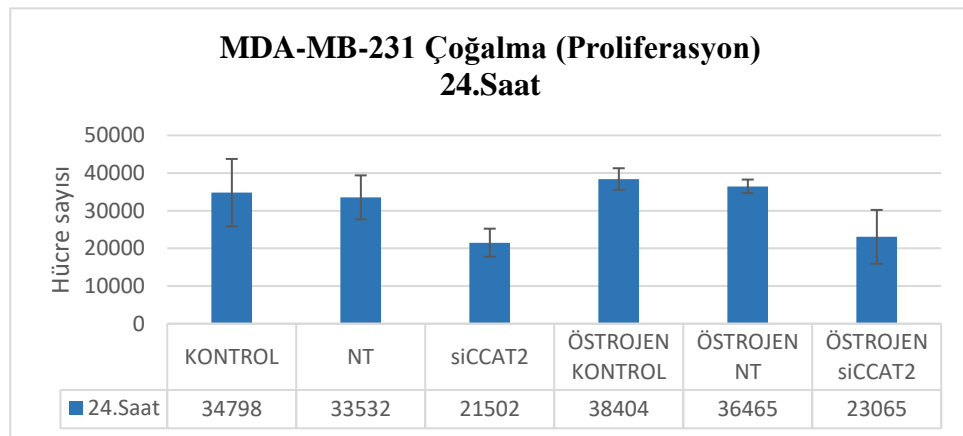
Şekil 4.13. MCF-7 Hücrelerinde 72. Saat Çoğalma (Proliferasyon)

4.3.2. MDA-MB-231 hücrelerinde çoğalmanın (proliferasyon) belirlemeleri

MDA-MB-231 hücrelerinde 24. saatte gruplar arasında istatistiksel olarak fark gözlemlendi ($p<0,001$). Kontrol grubuna (34798 ± 8940) göre siCCAT2 (21502 ± 3727) grubunda istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p<0,001$). Kontrol grubuna (34798 ± 8940) göre östrojen siCCAT2 grubunda (23065 ± 3276) istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p<0,01$). Nt grubuna (33532 ± 5843) göre siCCAT2 (21502 ± 3727) grubu ve östrojen siCCAT2 grubunda (23065 ± 3276) istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p<0,01$). Östrojen kontrol grubuna (38404 ± 2864) göre siCCAT2 (21502 ± 3727) grubu ve östrojen siCCAT2 (23065 ± 3276) grubunda istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p<0,001$). Östrojen nt grubuna (36465 ± 1803) göre siCCAT2 (21502 ± 3727) grubu ve östrojen siCCAT2 (23065 ± 3276) grubunda istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p<0,001$) (Tablo 4.20) (Şekil 4.14).

Tablo 4.20. MDA-MB-231 Hücrelerinde 24. Saat Çoğalma (Proliferasyon)

| SAAT | GRUP NO | GRUP | ORTALAMA±STANDART SAPMA | P DEĞERİ | ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA |
|------|---------|------------------|-------------------------|----------|---|
| 24 | 1 | Kontrol | 34798±8940 | p<0,001 | 1-3: p<0,001 1-6: p<0,01 2-3: p<0,01 2-6: p<0,01 3-4: p<0,001 3-5: p<0,001 4-6: p<0,001 5-6: p<0,001 |
| | 2 | Nt | 33532±5843 | | |
| | 3 | siCCAT2 | 21502±3727 | | |
| | 4 | Östrojen Kontrol | 38404±2864 | | |
| | 5 | Östrojen Nt | 36465±1803 | | |
| | 6 | Östrojen siCCAT2 | 23065±3276 | | |

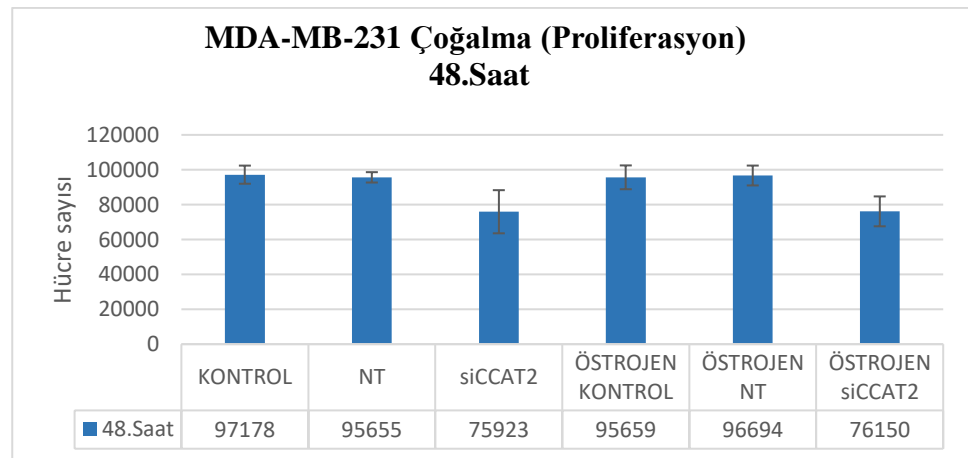


Şekil 4.14. MDA-MB-231 Hücrelerinde 24. Saat Çoğalma (Proliferasyon)

MDA-MB-231 hücrelerinde 48. saatte gruplar arasında istatistiksel olarak fark gözlemlendi ($p<0,001$). Kontrol grubuna (97178 ± 5199) göre siCCAT2 (75923 ± 12366) grubu ve östrojen siCCAT2 grubunda (76150 ± 7143) istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p<0,001$). Nt grubuna (96694 ± 5701) göre siCCAT2 (75923 ± 12366) grubu ve östrojen siCCAT2 grubunda (76150 ± 7143) istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p<0,001$). Östrojen kontrol grubuna (95659 ± 6833) göre siCCAT2 (75923 ± 12366) grubunda istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p<0,001$). Östrojen nt grubuna (96694 ± 5701) göre siCCAT2 (75923 ± 12366) grubu ve östrojen siCCAT2 (76150 ± 7143) grubunda istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p<0,001$). Östrojen kontrol grubuna (95659 ± 6833) göre östrojen siCCAT2 (76150 ± 7143) grubunda istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p<0,001$) (Tablo 4.21) (Şekil 4.15).

Tablo 4.21. MDA-MB-231 Hücrelerinde 48. Saat Çoğalma (Proliferasyon)

| SAAT | GRUP NO | GRUP | ORTALAMA±STANDART SAPMA | P DEĞERİ | ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA |
|------|---------|------------------|-------------------------|----------|--|
| 48 | 1 | Kontrol | 97178±5199 | p<0,001 | 1-3: p<0,001 1-6: p<0,001 2-3: p<0,001 2-6: p<0,001 3-4: p<0,001 3-5: p<0,001 4-6: p<0,001 5-6: p<0,001 |
| | 2 | Nt | 95655±2966 | | |
| | 3 | siCCAT2 | 75923±12366 | | |
| | 4 | Östrojen Kontrol | 95659±6833 | | |
| | 5 | Östrojen Nt | 96694±5701 | | |
| | 6 | Östrojen siCCAT2 | 76150±7143 | | |

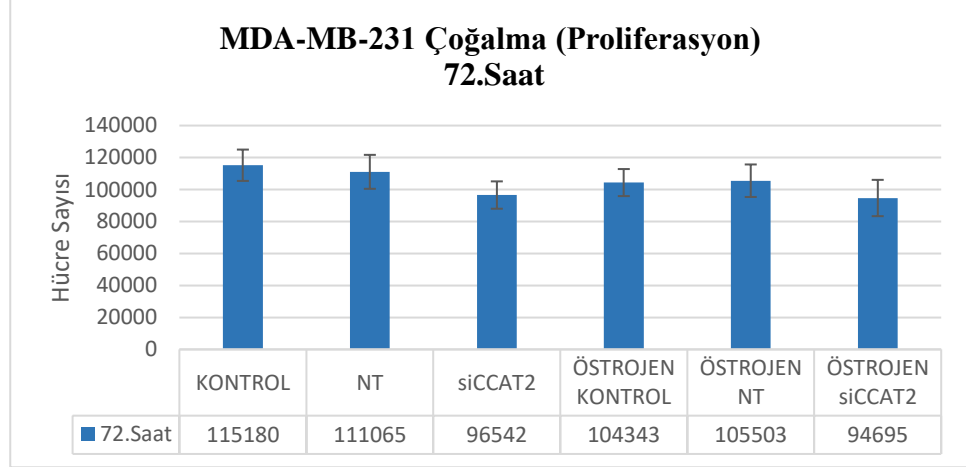


Şekil 4.15. MDA-MB-231 Hücrelerinde 48. Saat Çoğalma (Proliferasyon)

MDA-MB-231 hücrelerinde 72. saatte gruplar arasında istatistiksel olarak fark gözlemlendi ($p<0,001$). Kontrol grubuna (115180 ± 9803) göre siCCAT2 (96542 ± 8555) grubu ve östrojen siCCAT2 grubunda (94695 ± 11349) istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p<0,01$). Nt grubuna (111065 ± 10618) göre siCCAT2 (96542 ± 8555) grubu ve östrojen siCCAT2 grubunda (94695 ± 11349) istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p<0,05$) (Tablo 4.22) (Şekil 4.16).

Tablo 4.22. MDA-MB-231 Hücrelerinde 72. Saat Çoğalma (Proliferasyon)

| SAAT | GRUP NO | GRUP | ORTALAMA±STANDART SAPMA | P DEĞERİ | ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA |
|------|---------|------------------|-------------------------|----------|--|
| 72 | 1 | Kontrol | 115180±9803 | p<0,001 | 1-3: p<0,01 1-6: p<0,01 2-3: p<0,05 2-6: p<0,05 |
| | 2 | Nt | 111065±10618 | | |
| | 3 | siCCAT2 | 96542±8555 | | |
| | 4 | Östrojen Kontrol | 104343±8455 | | |
| | 5 | Östrojen Nt | 105503±10167 | | |
| | 6 | Östrojen siCCAT2 | 94695±11349 | | |



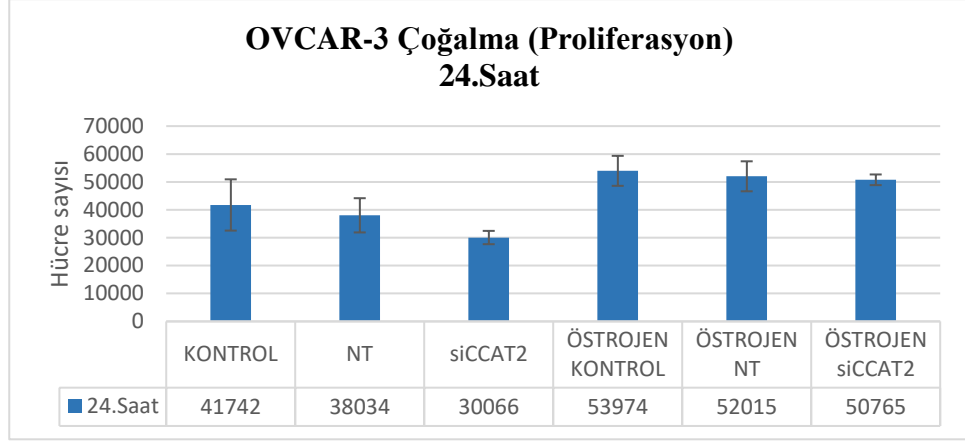
Şekil 4.16. MDA-MB-231 Hücrelerinde 72. Saat Çoğalma (Proliferasyon)

4.3.3. OVCAR-3 hücrelerinde çoğalmanın (proliferasyon) belirlemeleri

OVCAR-3 hücrelerinde 24. saatte gruplar arasında istatistiksel olarak fark gözlemlendi ($p<0,001$). Kontrol grubuna (41742 ± 9186) göre siCCAT2 (30066 ± 2383) grubunda azalma gözlemlenirken ($p<0,01$), östrojen kontrol grubunda (53974 ± 5375) istatistiksel olarak anlamlı artış gözlemlendi ($p<0,01$). Kontrol grubuna (41742 ± 9186) göre östrojen nt grubunda (52015 ± 5373) istatistiksel olarak anlamlı artış gözlemlendi ($p<0,05$). Nt grubuna (38034 ± 6132) göre östrojen kontrol grubunda (53974 ± 5375) artış gözlemlendi ($p<0,001$). Nt grubuna (38034 ± 6132) göre östrojen nt grubunda (52015 ± 5373) istatistiksel olarak anlamlı artış gözlemlendi ($p<0,01$). Nt grubuna (38034 ± 6132) göre östrojen siCCAT2 grubunda (50765 ± 1913) istatistiksel olarak anlamlı artış gözlemlendi ($p<0,01$). Östrojen kontrol grubuna (53974 ± 5375) göre siCCAT2 (30066 ± 2383) grubunda istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p<0,001$). Östrojen nt grubuna (52015 ± 5373) göre siCCAT2 (30066 ± 2383) grubunda istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p<0,001$). Östrojen siCCAT2 grubuna (50765 ± 1913) göre siCCAT2 (30066 ± 2383) grubunda istatistiksel olarak anlamlı artış gözlemlendi ($p<0,001$) (Tablo 4.23) (Şekil 4.17).

Tablo 4.23. OVCAR-3 Hücrelerinde 24. Saat Çoğalma (Proliferasyon)

| SAAT | GRUP NO | GRUP | ORTALAMA±STANDART SAPMA | P DEĞERİ | ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA |
|------|---------|------------------|-------------------------|----------|---|
| 24 | 1 | Kontrol | 41742±9186 | p<0,001 | 1-3: p<0,01 1-4: p<0,01 1-5: p<0,05 2-4: p<0,001 2-5: p<0,01 2-6: p<0,01 3-4: p<0,001 3-5: p<0,001 3-6: p<0,001 |
| | 2 | Nt | 38034±6132 | | |
| | 3 | siCCAT2 | 30066±2383 | | |
| | 4 | Östrojen Kontrol | 53974±5375 | | |
| | 5 | Östrojen Nt | 52015±5373 | | |
| | 6 | Östrojen siCCAT2 | 50765±1913 | | |

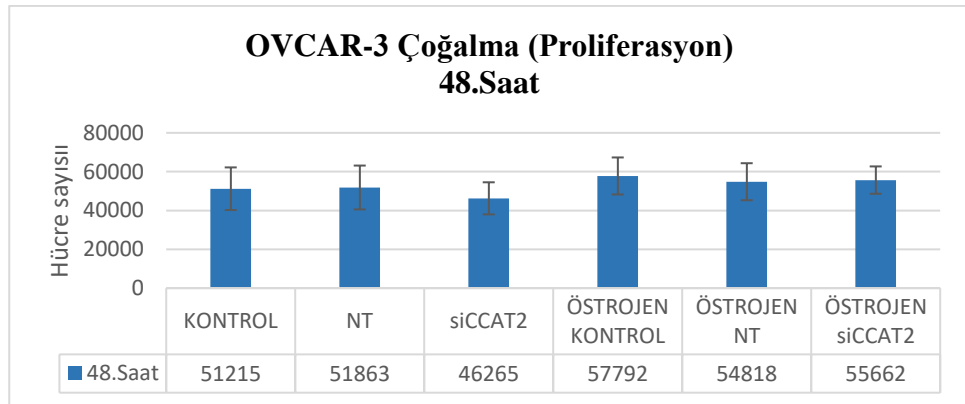


Şekil 4.17. OVCAR-3 Hücrelerinde 24. Saat Çoğalma (Proliferasyon)

OVCAR-3 hücrelerinde 48. ve 72. saatlerde gruplar arasında istatistiksel olarak fark gözlenmedi (Sırasıyla, $p=0,263$, $p=0,197$) (Tablo 4.24) (Şekil 4.18) (Tablo 4.25) (Şekil 4.19).

Tablo 4.24. OVCAR-3 Hücrelerinde 48. Saat Çoğalma (Proliferasyon)

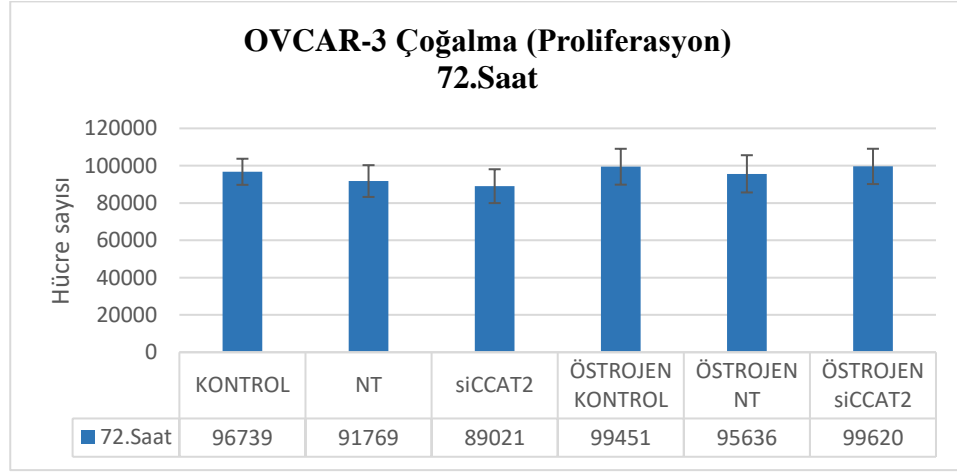
| SAAT | GRUP NO | GRUP | ORTALAMA±STANDART SAPMA | P DEĞERİ | ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA |
|------|---------|------------------|-------------------------|----------|---------------------|
| 48 | 1 | Kontrol | 51215±10978 | p=0,263 | - |
| | 2 | Nt | 51863±11290 | | |
| | 3 | siCCAT2 | 46265±8262 | | |
| | 4 | Östrojen Kontrol | 57792±9534 | | |
| | 5 | Östrojen Nt | 54818±9534 | | |
| | 6 | Östrojen siCCAT2 | 55662±7043 | | |



Şekil 4.18. OVCAR-3 Hücrelerinde 48. Saat Çoğalma (Proliferasyon)

Tablo 4.25. OVCAR-3 Hücrelerinde 72. Saat Çoğalma (Proliferasyon)

| SAAT | GRUP NO | GRUP | ORTALAMA±STANDART SAPMA | P DEĞERİ | ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA |
|------|---------|------------------|-------------------------|----------|---------------------|
| 72 | 1 | Kontrol | 96739±6989 | p=0,197 | - |
| | 2 | Nt | 91769±8519 | | |
| | 3 | siCCAT2 | 89021±9074 | | |
| | 4 | Östrojen Kontrol | 99451±9612 | | |
| | 5 | Östrojen Nt | 95636±9981 | | |
| | 6 | Östrojen siCCAT2 | 99620±9462 | | |



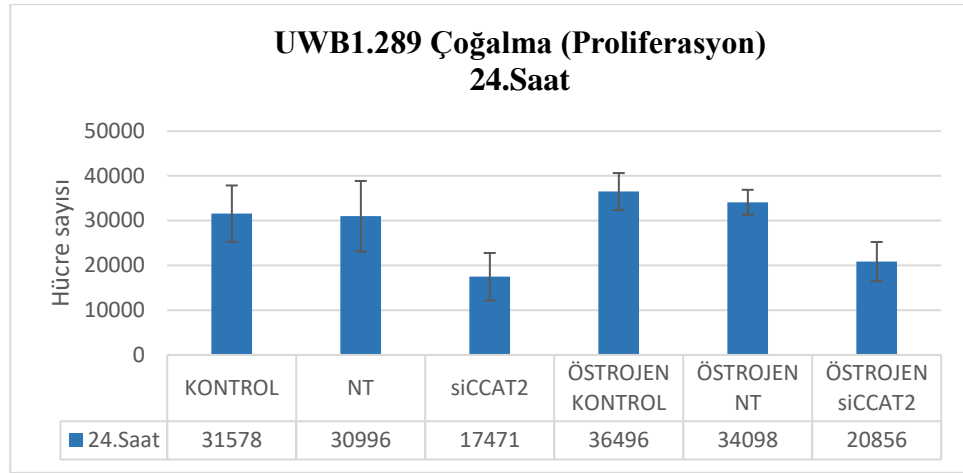
Şekil 4.19. OVCAR-3 Hücrelerinde 72. Saat Çoğalma (Proliferasyon)

4.3.4. UWB1.289 hücrelerinde çoğalmanın (proliferasyon) belirlemeleri

UWB1.289 hücrelerinde 24. saatte gruplar arasında istatistiksel olarak fark gözlemlendi ($p < 0,001$). Kontrol grubuna (31578 ± 6284) göre siCCAT2 (17471 ± 5304) grubunda istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p < 0,001$). Kontrol grubuna (31578 ± 6284) göre östrojen siCCAT2 grubunda (20856 ± 4383) istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p < 0,01$). Nt grubuna (30996 ± 7872) göre siCCAT2 (30996 ± 7872) grubunda istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p < 0,001$). Nt grubuna (30996 ± 7872) göre östrojen siCCAT2 grubunda (20856 ± 4383) istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p < 0,05$). Östrojen kontrol grubuna (36496 ± 4140) göre siCCAT2 (17471 ± 5304) grubunda istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p < 0,001$). Östrojen nt grubuna (34098 ± 2795) göre siCCAT2 (17471 ± 5304) grubu ve östrojen siCCAT2 (20856 ± 4383) grubunda istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p < 0,001$). Östrojen kontrol grubuna (36496 ± 4140) göre östrojen siCCAT2 (20856 ± 4383) grubunda istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p < 0,001$) (Tablo 4.26) (Şekil 4.20).

Tablo 4.26. UWB1.289 Hücrelerinde 24. Saat Çoğalma (Proliferasyon)

| SAAT | GRUP NO | GRUP | ORTALAMA±STANDART SAPMA | P DEĞERİ | ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA |
|------|---------|------------------|-------------------------|----------|--|
| 24 | 1 | Kontrol | 31578±6284 | p<0,001 | 1-3: p<0,001 1-6: p<0,01 2-3: p<0,001 2-6: p<0,05 3-4: p<0,001 3-5: p<0,001 4-6: p<0,001 |
| | 2 | Nt | 30996±7872 | | |
| | 3 | siCCAT2 | 17471±5304 | | |
| | 4 | Östrojen Kontrol | 36496±4140 | | |
| | 5 | Östrojen Nt | 34098±2795 | | |
| | 6 | Östrojen siCCAT2 | 20856±4383 | | |

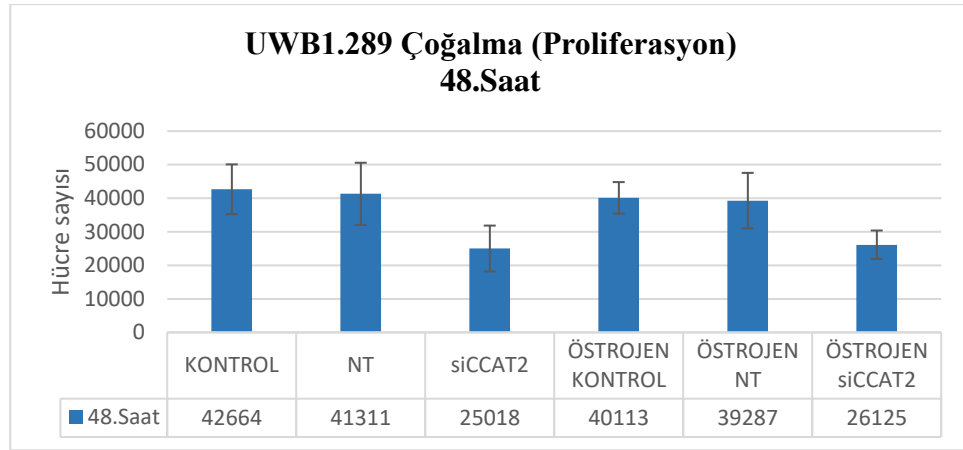


Şekil 4.20. UWB1.289 Hücrelerinde 24. Saat Çoğalma (Proliferasyon)

UWB1.289 hücrelerinde 48. saatte gruplar arasında istatistiksel olarak fark gözlemlendi ($p < 0,001$). Kontrol grubuna (42664 ± 7424) göre siCCAT2 (25018 ± 6828) grubu ve östrojen siCCAT2 grubunda (26125 ± 4248) istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p < 0,01$). Nt grubuna (41311 ± 9261) göre siCCAT2 (25018 ± 6828) grubu ve östrojen siCCAT2 grubunda (26125 ± 4248) istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p < 0,01$). Östrojen kontrol grubuna (40113 ± 4696) göre siCCAT2 (25018 ± 6828) grubunda istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p < 0,01$). Östrojen nt grubuna (39287 ± 8271) göre siCCAT2 (25018 ± 6828) grubu ve östrojen siCCAT2 (26125 ± 4248) grubunda istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p < 0,01$). Östrojen kontrol grubuna (40113 ± 4696) göre östrojen siCCAT2 (26125 ± 4248) grubunda istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p < 0,01$) (Tablo 4.27) (Şekil 4.21).

Tablo 4.27. UWB1.289 Hücrelerinde 48. Saat Çoğalma (Proliferasyon)

| SAAT | GRUP NO | GRUP | ORTALAMA±STANDART SAPMA | P DEĞERİ | ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA |
|------|---------|------------------|-------------------------|----------|---|
| 48 | 1 | Kontrol | 42664±7424 | p<0,001 | 1-3: p<0,01 1-6: p<0,01 2-3: p<0,01 2-6: p<0,01 3-4: p<0,01 3-5: p<0,01 4-6: p<0,01 |
| | 2 | Nt | 41311±9261 | | |
| | 3 | siCCAT2 | 25018±6828 | | |
| | 4 | Östrojen Kontrol | 40113±4696 | | |
| | 5 | Östrojen Nt | 39287±8271 | | |
| | 6 | Östrojen siCCAT2 | 26125±4248 | | |

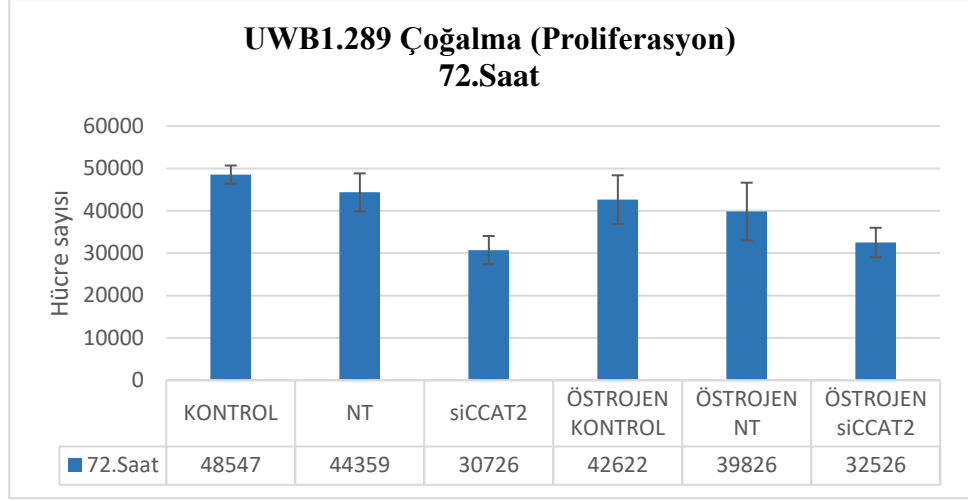


Şekil 4.21. UWB1.289 Hücrelerinde 48. Saat Çoğalma (Proliferasyon)

UWB1.289 hücrelerinde 72. saatte gruplar arasında istatistiksel olarak fark gözlemlendi ($p < 0,001$). Kontrol grubuna (48547 ± 2154) göre siCCAT2 (30726 ± 3330) grubunda istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p < 0,001$). Kontrol grubuna (48547 ± 2154) göre östrojen siCCAT2 grubunda (32526 ± 3469) istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p < 0,01$). Nt grubuna (44359 ± 4481) göre siCCAT2 (30726 ± 3330) grubunda istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p < 0,001$). Nt grubuna (44359 ± 4481) göre östrojen siCCAT2 grubunda (32526 ± 3469) istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p < 0,05$). Östrojen kontrol grubuna (42622 ± 5767) göre siCCAT2 (30726 ± 3330) grubu ve östrojen siCCAT2 (32526 ± 3469) grubunda istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p < 0,001$). Östrojen nt grubuna (39826 ± 6822) göre siCCAT2 (30726 ± 3330) grubunda istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p < 0,001$) (Tablo 4.28) (Şekil 4.22).

Tablo 4.28. UWB1.289 Hücrelerinde 72. Saat Çoğalma (Proliferasyon)

| SAAT | GRUP NO | GRUP | ORTALAMA±STANDART SAPMA | P DEĞERİ | ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA |
|------|---------|------------------|-------------------------|----------|--|
| 72 | 1 | Kontrol | 48547±2154 | p<0,001 | 1-3: p<0,001 1-6: p<0,01 2-3: p<0,001 2-6: p<0,05 3-4: p<0,001 3-5: p<0,001 4-6: p<0,001 |
| | 2 | Nt | 44359±4481 | | |
| | 3 | siCCAT2 | 30726±3330 | | |
| | 4 | Östrojen Kontrol | 42622±5767 | | |
| | 5 | Östrojen Nt | 39826±6822 | | |
| | 6 | Östrojen siCCAT2 | 32526±3469 | | |



Şekil 4.22. UWB1.289 Hücrelerinde 72. Saat oğalma (Proliferasyon)

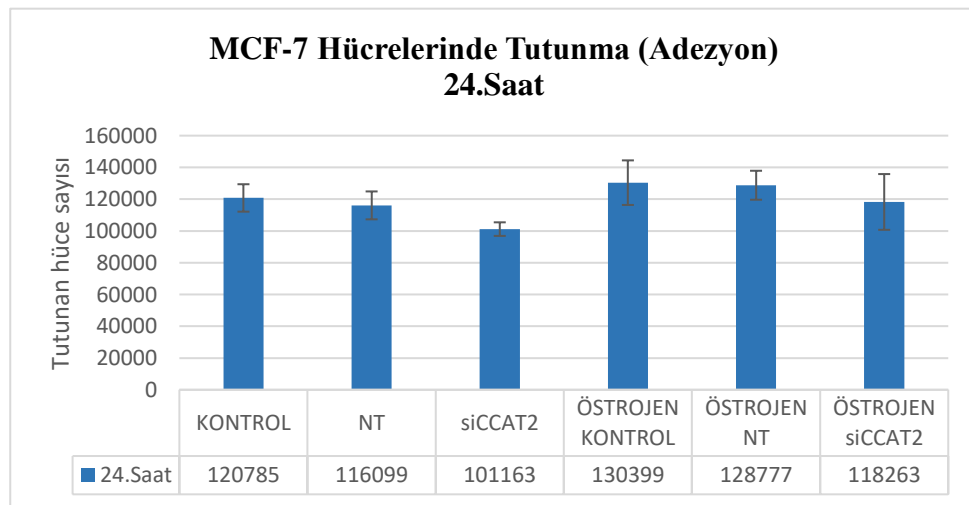
4.5. Hücrelerde Tutunma (Adezyon) Belirlemeleri

4.5.1. MCF-7 hücrelerinde tutunmanın (adezyon) belirlemeleri

MCF-7 hücrelerinde 24. saatte gruplar arasında istatistiksel olarak fark gözlemlendi ($p<0,001$). Kontrol grubuna (120785 ± 8636) göre siCCAT2 (101163 ± 4271) grubunda istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p<0,05$). Nt grubuna (116099 ± 8783) göre siCCAT2 (101163 ± 4271) grubunda istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p<0,05$). Östrojen kontrol grubuna (130399 ± 14025) göre siCCAT2 (101163 ± 4271) grubunda istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p<0,001$). Östrojen nt grubuna (128777 ± 9125) göre siCCAT2 (101163 ± 4271) grubunda istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p<0,01$) (Tablo 4.29) (Şekil 4.23).

Tablo 4.29. MCF-7 Hücrelerinde 24. Saat Tutunma (Adezyon)

| SAAT | GRUP NO | GRUP | ORTALAMA±STANDART SAPMA | P DEĞERİ | ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA |
|------|---------|------------------|-------------------------|----------|---|
| 24 | 1 | Kontrol | 120785±8636 | p<0,001 | 1-3: p<0,05 2-3: p<0,05 3-4: p<0,001 3-5: p<0,01 |
| | 2 | Nt | 116099±8783 | | |
| | 3 | siCCAT2 | 101163±4271 | | |
| | 4 | Östrojen Kontrol | 130399±14025 | | |
| | 5 | Östrojen Nt | 128777±9125 | | |
| | 6 | Östrojen siCCAT2 | 118263±17553 | | |

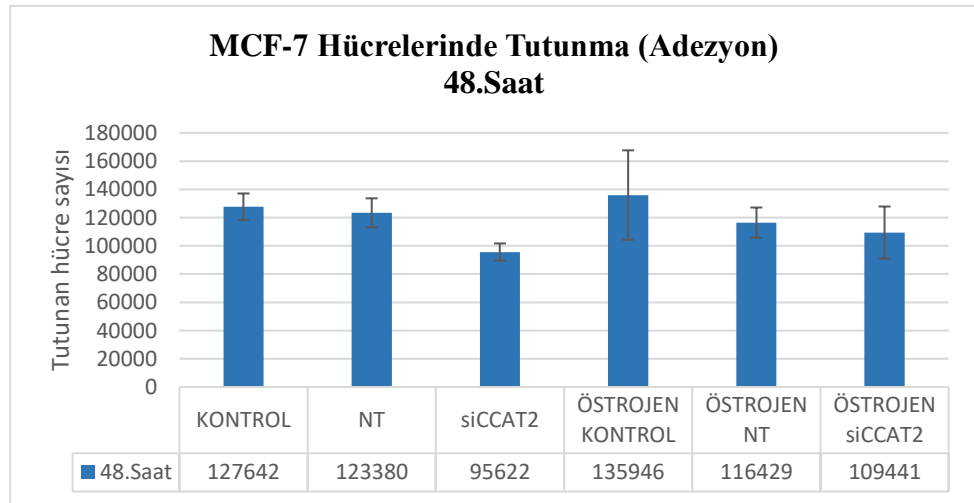


Şekil 4.23. MCF-7 Hücrelerinde 24. Saat Tutunma (Adezyon)

MCF-7 hücrelerinde 48. saatte gruplar arasında istatistiksel olarak fark gözlemlendi ($p<0,01$). Kontrol grubuna (127642 ± 9440) göre siCCAT2 (95622 ± 6092) grubunda istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p<0,05$). Nt grubuna (123380 ± 10267) göre siCCAT2 (95622 ± 6092) grubunda istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p<0,05$). Östrojen kontrol grubuna (135946 ± 31699) göre siCCAT2 (95622 ± 6092) grubunda istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p<0,01$) (Tablo 4.30) (Şekil 4.24).

Tablo 4.30. MCF-7 Hücrelerinde 48. Saat Tutunma (Adezyon)

| SAAT | GRUP NO | GRUP | ORTALAMA±STANDART SAPMA | P DEĞERİ | ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA |
|------|---------|------------------|-------------------------|----------|---|
| 48 | 1 | Kontrol | 127642±9440 | p<0,01 | 1-3: p<0,05 2-3: p<0,05 3-4: p<0,01 |
| | 2 | Nt | 123380±10267 | | |
| | 3 | siCCAT2 | 95622±6092 | | |
| | 4 | Östrojen Kontrol | 135946±31699 | | |
| | 5 | Östrojen Nt | 116429±10713 | | |
| | 6 | Östrojen siCCAT2 | 109441±18428 | | |

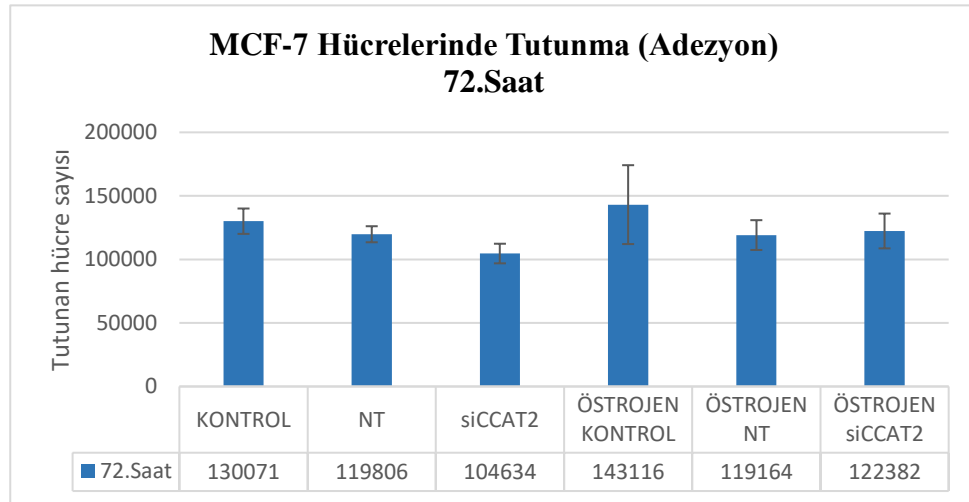


Şekil 2.24. MCF-7 Hücrelerinde 48. Saat Tutunma (Adezyon)

MCF-7 hücrelerinde 72. saatte gruplar arasında istatistiksel olarak fark gözlemlendi ($p<0,01$). Kontrol grubuna (130071 ± 9980) göre siCCAT2 (104634 ± 7706) grubunda istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p<0,05$). Östrojen kontrol grubuna (143116 ± 31038) göre siCCAT2 (104634 ± 7706) grubunda istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p<0,01$) (Tablo 4.31) (Şekil 4.25).

Tablo 4.31. MCF-7 Hücrelerinde 72. Saat Tutunma (Adezyon)

| SAAT | GRUP NO | GRUP | ORTALAMA±STANDART SAPMA | P DEĞERİ | ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA |
|------|---------|------------------|-------------------------|----------|----------------------------|
| 72 | 1 | Kontrol | 130071±9980 | p<0,01 | 1-3: p<0,05 3-4: p<0,01 |
| | 2 | Nt | 119806±6313 | | |
| | 3 | siCCAT2 | 104634±7706 | | |
| | 4 | Östrojen Kontrol | 143116±31038 | | |
| | 5 | Östrojen Nt | 119164±11725 | | |
| | 6 | Östrojen siCCAT2 | 122382±13684 | | |



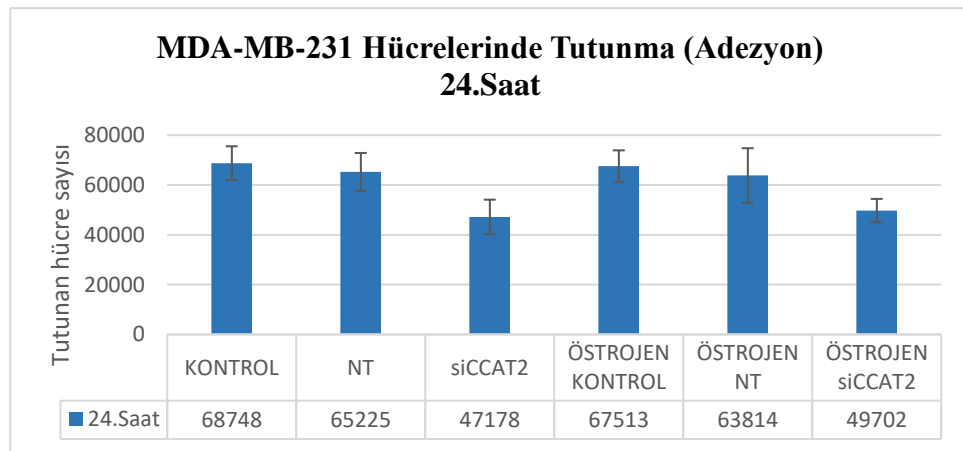
Şekil 4.25. MCF-7 Hücrelerinde 72. Saat Tutunma (Adezyon)

4.5.2. MDA-MB-231 hücrelerinde tutunma (adezyon) belirlemeleri

MDA-MB-231 hücrelerinde 24. saatte gruplar arasında istatistiksel olarak fark gözlemlendi ($p < 0,001$). Kontrol grubuna (68748 ± 6784) göre siCCAT2 (47178 ± 6921) grubu ve östrojen siCCAT2 (49702 ± 4703) grubunda istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p < 0,001$). Nt grubuna (65225 ± 7620) göre siCCAT2 (47178 ± 6921) grubu ve östrojen siCCAT2 (49702 ± 4703) grubunda istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p < 0,01$). Östrojen kontrol grubuna (67513 ± 6386) göre siCCAT2 (47178 ± 6921) grubunda istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p < 0,001$). Östrojen nt grubuna (63814 ± 10936) göre siCCAT2 (47178 ± 6921) grubu ve östrojen siCCAT2 (49702 ± 4703) grubunda istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p < 0,01$). Östrojen kontrol grubuna (67513 ± 6386) göre östrojen siCCAT2 (49702 ± 4703) grubunda istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p < 0,01$) (Tablo 4.32) (Şekil 4.26).

Tablo 4.32. MDA-MB-231 Hücrelerinde 24. Saat Tutunma (Adezyon)

| SAAT | GRUP NO | GRUP | ORTALAMA±STANDART SAPMA | P DEĞERİ | ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA |
|------|---------|------------------|-------------------------|----------|---|
| 24 | 1 | Kontrol | 68748±6784 | p<0,001 | 1-3: p<0,001 1-6: p<0,001 2-3: p<0,01 2-6: p<0,01 3-4: p<0,001 3-5: p<0,01 4-6: p<0,01 5-6: p<0,01 |
| | 2 | Nt | 65225±7620 | | |
| | 3 | siCCAT2 | 47178±6921 | | |
| | 4 | Östrojen Kontrol | 67513±6386 | | |
| | 5 | Östrojen Nt | 63814±10936 | | |
| | 6 | Östrojen siCCAT2 | 49702±4703 | | |

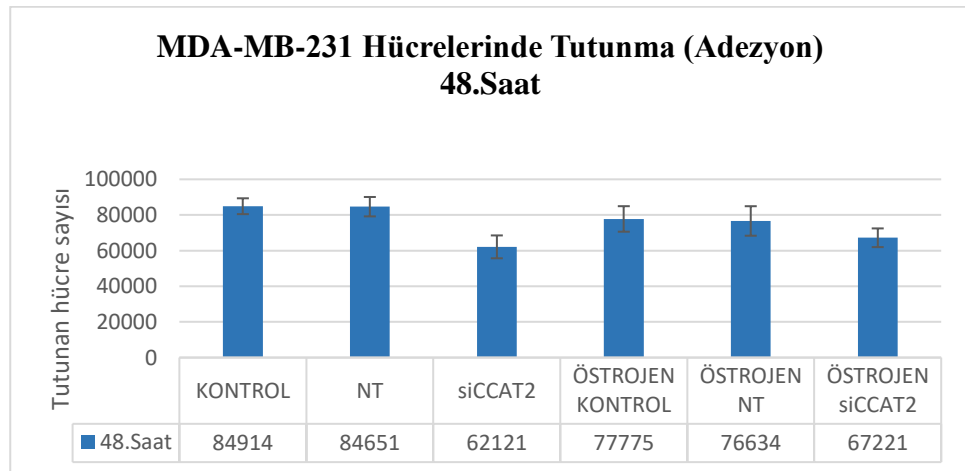


Şekil 4.26. MDA-MB-231 Hücrelerinde 24. Saat Tutunma (Adezyon)

MDA-MB-231 hücrelerinde 48. saatte gruplar arasında istatistiksel olarak fark gözlemlendi ($p<0,001$). Kontrol grubuna (84914 ± 4449) göre siCCAT2 (62121 ± 6412) grubu ve östrojen siCCAT2 (67221 ± 5244) grubunda istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p<0,001$). Nt grubuna (84651 ± 5441) göre siCCAT2 (62121 ± 6412) grubu ve östrojen siCCAT2 (67221 ± 5244) grubunda istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p<0,001$). Östrojen kontrol grubuna (77775 ± 7154) göre siCCAT2 (62121 ± 6412) grubunda istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p<0,01$). Östrojen nt grubuna (76634 ± 8277) göre siCCAT2 (62121 ± 6412) grubu ve östrojen siCCAT2 (67221 ± 5244) grubunda istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p<0,01$). Östrojen kontrol grubuna (77775 ± 7154) göre östrojen siCCAT2 (62121 ± 6412) grubunda istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p<0,01$) (Tablo 4.33) (Şekil 4.27).

Tablo 4.33. MDA-MB-231 Hücrelerinde 48. Saat Tutunma (Adezyon)

| SAAT | GRUP NO | GRUP | ORTALAMA±STANDART SAPMA | P DEĞERİ | ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA |
|------|---------|------------------|-------------------------|----------|--|
| 48 | 1 | Kontrol | 84914±4449 | p<0,001 | 1-3: p<0,001 1-6: p<0,001 2-3: p<0,001 2-6: p<0,001 3-4: p<0,01 3-5: p<0,01 4-6: p<0,01 5-6: p<0,01 |
| | 2 | Nt | 84651±5441 | | |
| | 3 | siCCAT2 | 62121±6412 | | |
| | 4 | Östrojen Kontrol | 77775±7154 | | |
| | 5 | Östrojen Nt | 76634±8277 | | |
| | 6 | Östrojen siCCAT2 | 67221±5244 | | |

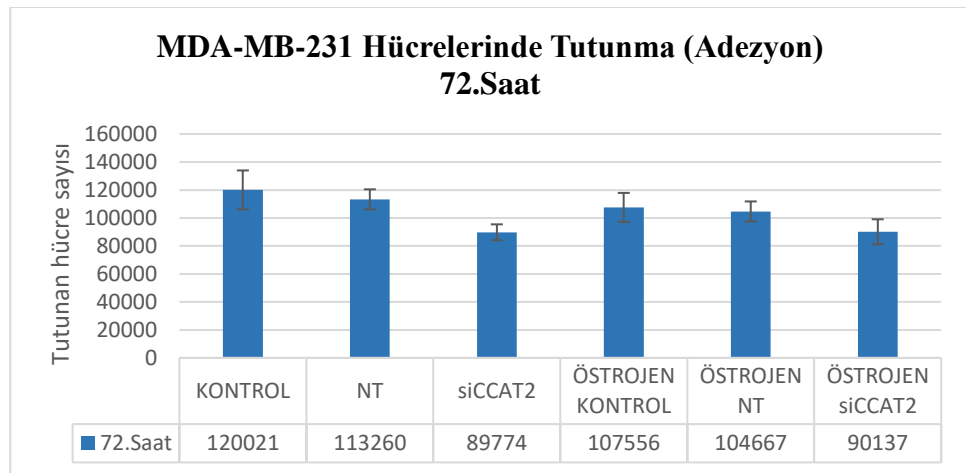


Şekil 4.27. MDA-MB-231 Hücrelerinde 48. Saat Tutunma (Adezyon)

MDA-MB-231 hücrelerinde 72. saatte gruplar arasında istatistiksel olarak fark gözlemlendi ($p<0,001$). Kontrol grubuna (120021 ± 13955) göre siCCAT2 (89774 ± 5669) grubu ve östrojen siCCAT2 (90137 ± 8925) grubunda istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p<0,001$). Nt grubuna (113260 ± 7198) göre siCCAT2 (89774 ± 5669) grubunda istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p<0,001$). Nt grubuna (113260 ± 7198) göre östrojen siCCAT2 (90137 ± 8925) grubunda istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p<0,01$). Östrojen kontrol grubuna (107556 ± 10372) göre siCCAT2 (89774 ± 5669) grubu ve östrojen siCCAT2 (90137 ± 8925) grubunda istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p<0,05$) (Tablo 4.34) (Şekil 4.28).

Tablo 4.34. MDA-MB-231 Hücrelerinde 72. Saat Tutunma (Adezyon)

| SAAT | GRUP NO | GRUP | ORTALAMA±STANDART SAPMA | P DEĞERİ | ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA |
|------|---------|------------------|-------------------------|----------|---------------------|
| 72 | 1 | Kontrol | 120021±13955 | p<0,001 | 1-3: p<0,001 |
| | 2 | Nt | 113260±7198 | | 1-6: p<0,001 |
| | 3 | siCCAT2 | 89774±5669 | | 2-3: p<0,001 |
| | 4 | Östrojen Kontrol | 107556±10372 | | 2-6: p<0,01 |
| | 5 | Östrojen Nt | 104667±7145 | | 3-4: p<0,05 |
| | 6 | Östrojen siCCAT2 | 90137±8925 | | 4-6: p<0,05 |



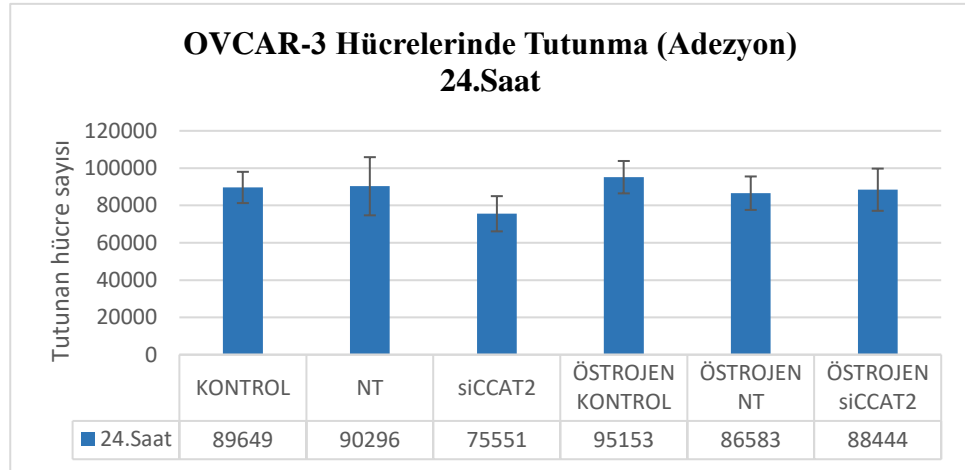
Şekil 4.28. MDA-MB-231 Hücrelerinde 72. Saat Tutunma (Adezyon)

4.5.3. OVCAR-3 hücrelerinde tutunma (adezyon) belirlemeleri

OVCAR-3 hücrelerinde 24. saatte gruplar arasında istatistiksel olarak fark gözlemlendi ($p<0,05$). Östrojen kontrol grubuna (95153 ± 8680) göre siCCAT2 (75551 ± 9436) grubunda istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p<0,05$). Östrojen nt grubuna (86583 ± 8965) göre siCCAT2 (75551 ± 9436) grubunda istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p<0,05$) (Tablo 4.35) (Şekil 4.29).

Tablo 4.35. OVCAR-3 Hücrelerinde 24. Saat Tutunma (Adezyon)

| SAAT | GRUP NO | GRUP | ORTALAMA±STANDART SAPMA | P DEĞERİ | ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA |
|------|---------|------------------|-------------------------|----------|----------------------------|
| 24 | 1 | Kontrol | 89649±8380 | p<0,05 | 3-4: p<0,05 3-5: p<0,05 |
| | 2 | Nt | 90296±15583 | | |
| | 3 | siCCAT2 | 75551±9436 | | |
| | 4 | Östrojen Kontrol | 95153±8680 | | |
| | 5 | Östrojen Nt | 86583±8965 | | |
| | 6 | Östrojen siCCAT2 | 88444±11312 | | |

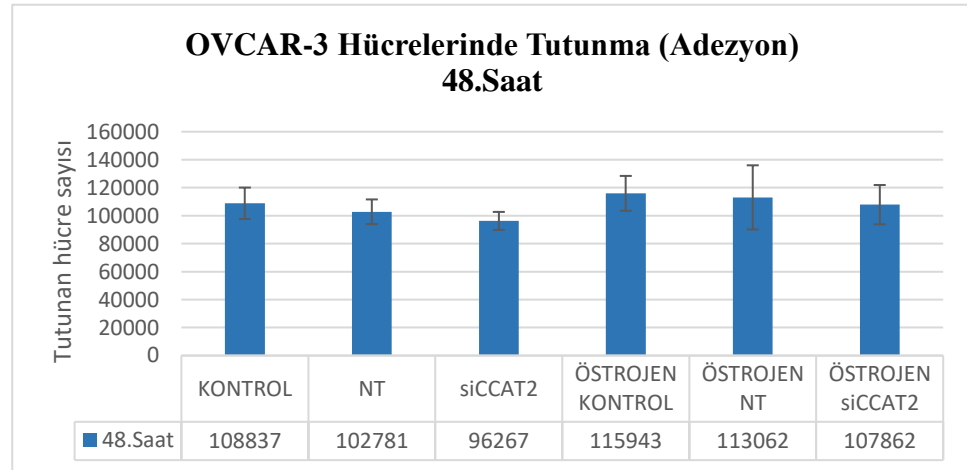


Şekil 4.29. OVCAR-3 Hücrelerinde 24. Saat Tutunma (Adezyon)

OVCAR-3 hücrelerinde 48. ve 72. saatlerde gruplar arasında istatistiksel olarak fark gözlenmedi (Sırasıyla, $p=0,100$, $p=0,865$) (Tablo 4.36) (Şekil 4.30) (Tablo 4.37) (Şekil 4.31).

Tablo 4.36. OVCAR-3 Hücrelerinde 48. Saat Tutunma (Adezyon)

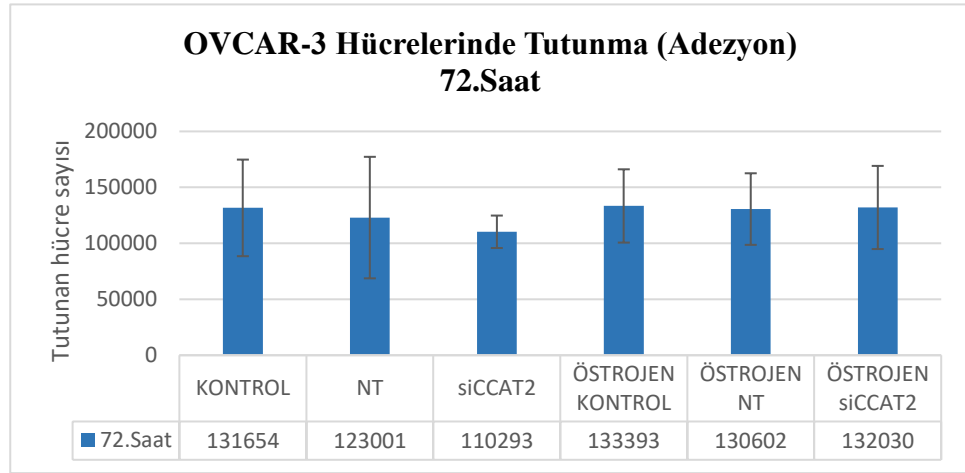
| SAAT | GRUP NO | GRUP | ORTALAMA±STANDART SAPMA | P DEĞERİ | ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA |
|------|---------|------------------|-------------------------|----------|---------------------|
| 48 | 1 | Kontrol | 108837±11233 | p=0,100 | - |
| | 2 | Nt | 102781±8826 | | |
| | 3 | siCCAT2 | 96267±6417 | | |
| | 4 | Östrojen Kontrol | 115943±12462 | | |
| | 5 | Östrojen Nt | 113062±22944 | | |
| | 6 | Östrojen siCCAT2 | 107862±14052 | | |



Şekil 4.30. OVCAR-3 Hücrelerinde 48. Saat Tutunma (Adezyon)

Tablo 4.37. OVCAR-3 Hücrelerinde 72. Saat Tutunma (Adezyon)

| SAAT | GRUP NO | GRUP | ORTALAMA±STANDART SAPMA | P DEĞERİ | ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA |
|------|---------|------------------|-------------------------|----------|---------------------|
| 72 | 1 | Kontrol | 131654±43149 | p=0,865 | - |
| | 2 | Nt | 123001±54293 | | |
| | 3 | siCCAT2 | 110293±14508 | | |
| | 4 | Östrojen Kontrol | 133393±32747 | | |
| | 5 | Östrojen Nt | 130602±31974 | | |
| | 6 | Östrojen siCCAT2 | 132030±37139 | | |



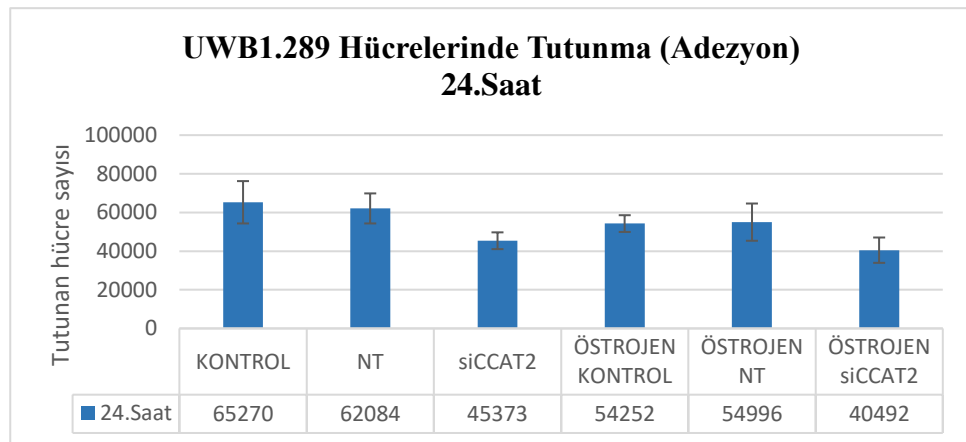
Şekil 4.31. OVCAR-3 Hücrelerinde 72. Saat Tutunma (Adezyon)

4.5.4. UWB1.289 hücrelerinde tutunma (adezyon) belirlemeleri

UWB1.289 hücrelerinde 24. saatte gruplar arasında istatistiksel olarak fark gözlemlendi ($p<0,001$). Kontrol grubuna (65270 ± 10946) göre siCCAT2 (45373 ± 4343) grubu ve östrojen siCCAT2 (40492 ± 6558) grubunda istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p<0,001$). Nt grubuna (62084 ± 7771) göre siCCAT2 (45373 ± 4343) grubu ve östrojen siCCAT2 (40492 ± 6558) grubunda istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p<0,001$). Östrojen kontrol grubuna (67513 ± 6386) göre siCCAT2 (47178 ± 6921) grubunda istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p<0,001$). Östrojen kontrol grubuna (54252 ± 4338) göre östrojen siCCAT2 (40492 ± 6558) grubunda istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p<0,05$). Östrojen nt grubuna (54996 ± 9632) göre östrojen siCCAT2 (40492 ± 6558) grubunda istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p<0,05$) (Tablo 4.38) (Şekil 4.32).

Tablo 4.38. UWB1.289 Hücrelerinde 24. Saat Tutunma (Adezyon)

| SAAT | GRUP NO | GRUP | ORTALAMA±STANDART SAPMA | P DEĞERİ | ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA |
|------|---------|------------------|-------------------------|----------|---|
| 24 | 1 | Kontrol | 65270±10946 | p<0,001 | 1-3: p<0,001 1-6: p<0,001 2-3: p<0,01 2-6: p<0,001 4-6: p<0,05 5-6: p<0,05 |
| | 2 | Nt | 62084±7771 | | |
| | 3 | siCCAT2 | 45373±4343 | | |
| | 4 | Östrojen Kontrol | 54252±4338 | | |
| | 5 | Östrojen Nt | 54996±9632 | | |
| | 6 | Östrojen siCCAT2 | 40492±6558 | | |

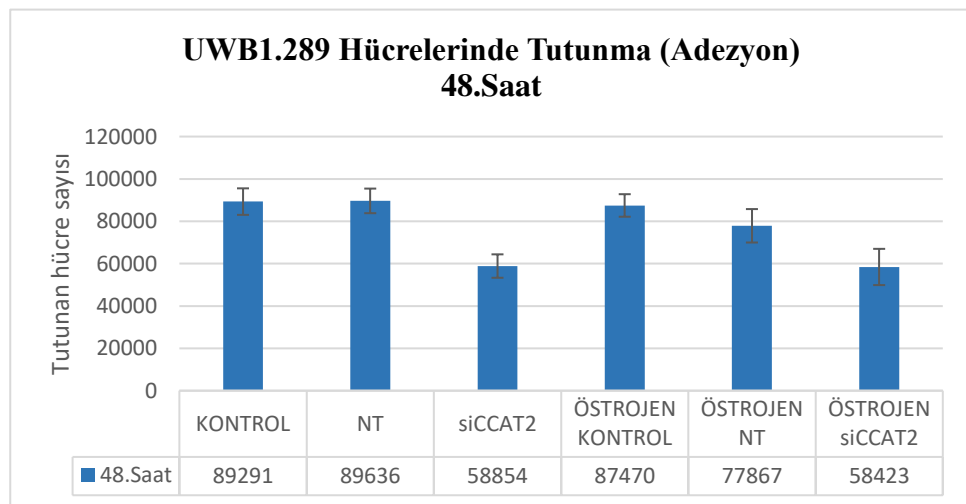


Şekil 4.32. UWB1.289 Hücrelerinde 24. Saat Tutunma (Adezyon)

UWB1.289 hücrelerinde 48. saatte gruplar arasında istatistiksel olarak fark gözlemlendi ($p<0,001$). Kontrol grubuna (89291 ± 6265) göre siCCAT2 (58854 ± 5531) grubu ve östrojen siCCAT2 (58423 ± 8553) grubunda istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p<0,001$). Nt grubuna (89636 ± 5806) göre siCCAT2 (58854 ± 5531) grubu ve östrojen siCCAT2 (58423 ± 8553) grubunda istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p<0,001$). Östrojen kontrol grubuna (87470 ± 5319) göre siCCAT2 (58854 ± 5531) grubu ve östrojen siCCAT2 (58423 ± 8553) grubunda istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p<0,001$). Östrojen nt grubuna (77867 ± 7891) göre siCCAT2 (58854 ± 5531) grubu ve siCCAT2 (58423 ± 8553) grubunda istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p<0,001$) (Tablo 4.39) (Şekil 4.33).

Tablo 4.39. UWB1.289 Hücrelerinde 48. Saat Tutunma (Adezyon)

| SAAT | GRUP NO | GRUP | ORTALAMA±STANDART SAPMA | P DEĞERİ | ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA |
|------|---------|------------------|-------------------------|----------|--|
| 48 | 1 | Kontrol | 89291±6265 | p<0,001 | 1-3: p<0,001 1-6: p<0,001 2-3: p<0,001 2-6: p<0,001 3-4: p<0,001 3-5: p<0,001 4-6: p<0,001 5-6: p<0,001 |
| | 2 | Nt | 89636±5806 | | |
| | 3 | siCCAT2 | 58854±5531 | | |
| | 4 | Östrojen Kontrol | 87470±5319 | | |
| | 5 | Östrojen Nt | 77867±7891 | | |
| | 6 | Östrojen siCCAT2 | 58423±8553 | | |

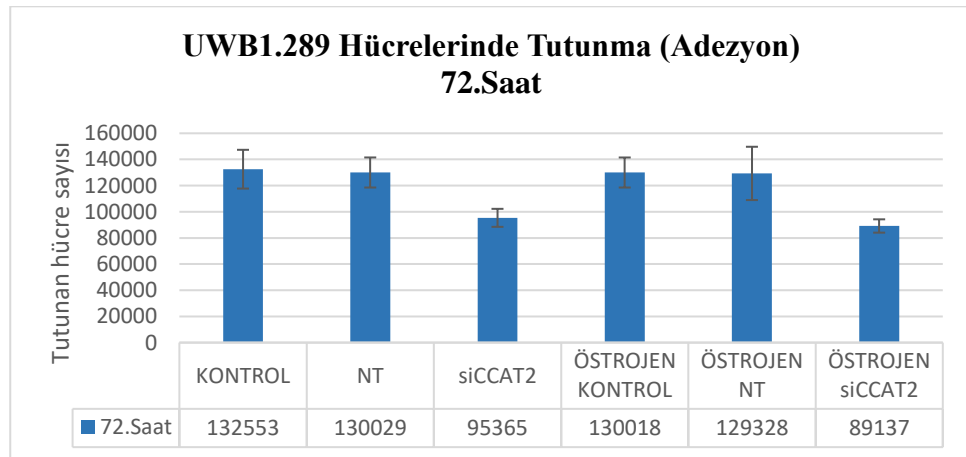


Şekil 4.33. UWB1.289 Hücrelerinde 48. Saat Tutunma (Adezyon)

UWB1.289 hücrelerinde 72. saatte gruplar arasında istatistiksel olarak fark gözlemlendi ($p<0,001$). Kontrol grubuna (132553 ± 14809) göre siCCAT2 (95365 ± 6883) grubu ve östrojen siCCAT2 (89137 ± 5089) grubunda istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p<0,001$). Nt grubuna (130029 ± 11500) göre siCCAT2 (95365 ± 6883) grubu ve östrojen siCCAT2 (89137 ± 5089) grubunda istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p<0,001$). Östrojen kontrol grubuna (130018 ± 11482) göre siCCAT2 (95365 ± 6883) grubu ve östrojen siCCAT2 (89137 ± 5089) grubunda istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p<0,001$). Östrojen nt grubuna (129328 ± 20371) göre östrojen siCCAT2 (89137 ± 5089) grubunda istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p<0,001$) (Tablo 4.40) (Şekil 4.34).

Tablo 4.40. UWB1.289 Hücrelerinde 72. Saat Tutunma (Adezyon)

| SAAT | GRUP NO | GRUP | ORTALAMA±STANDART SAPMA | P DEĞERİ | ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA |
|------|---------|------------------|-------------------------|----------|---------------------|
| 72 | 1 | Kontrol | 132553±14809 | p<0,001 | 1-3: p<0,001 |
| | 2 | Nt | 130029±11500 | | 1-6: p<0,001 |
| | 3 | siCCAT2 | 95365±6883 | | 2-3: p<0,001 |
| | 4 | Östrojen Kontrol | 130018±11482 | | 2-6: p<0,001 |
| | 5 | Östrojen Nt | 129328±20371 | | 3-4: p<0,001 |
| | 6 | Östrojen siCCAT2 | 89137±5089 | | 3-5: p<0,001 |
| | | | | | 4-6: p<0,001 |
| | | | | | 5-6: p<0,001 |



Şekil 4.34. UWB1.289 Hücrelerinde 72. Saat Tutunma (Adezyon)

4.6. Hücrelerde Canlılığın Belirlenmesi

4.6.1. MCF-7 hücrelerinde canlılığın belirlenmesi

MCF-7 hücrelerinde 24. saatte gruplar arasında istatistiksel olarak fark gözlemlendi ($p<0,001$). Kontrol grubuna ($93,9\pm 5,2$) göre siCCAT2 ($70,1\pm 8,8$) grubunda % canlı hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p<0,001$). Nt grubuna ($88,3\pm 4,2$) göre siCCAT2 ($70,1\pm 8,8$) grubunda % canlı hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p<0,001$). Östrojen kontrol grubuna ($95\pm 4,6$) göre siCCAT2 ($70,1\pm 8,8$) grubunda % canlı hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p<0,001$). Östrojen nt grubuna ($91,7\pm 4,8$) göre siCCAT2 ($64,8\pm 8,4$) grubunda % canlı hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p<0,001$). Östrojen siCCAT2 grubuna ($86,1\pm 4,6$) göre siCCAT2 ($70,1\pm 8,8$) grubunda % canlı hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p<0,01$) (Tablo 4.41).

MCF-7 hücrelerinde 48. saatte gruplar arasında istatistiksel olarak fark gözlemlendi ($p<0,01$). Kontrol grubuna ($96,9\pm 2,7$) göre siCCAT2 ($73,6\pm 3,7$) grubunda % canlı hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p<0,01$). Nt grubuna ($88,8\pm 10,5$) göre siCCAT2 ($73,6\pm 3,7$) grubunda % canlı hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p<0,05$). Östrojen kontrol grubuna ($94,9\pm 4,6$) göre siCCAT2 ($73,6\pm 3,7$) grubunda % canlı hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p<0,01$). Östrojen nt grubuna ($89,5\pm 3,2$) göre siCCAT2 ($73,6\pm 3,7$) grubunda % canlı hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p<0,05$) (Tablo 4.42).

MCF-7 hücrelerinde 72. saatte gruplar arasında istatistiksel olarak fark gözlemlendi ($p<0,05$). Kontrol grubuna ($91,5\pm 4,7$) göre siCCAT2 ($78,8\pm 2$) grubunda % canlı hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p<0,01$) (Tablo 4.43).

Tablo 4.41. MCF-7 Hücrelerinde 24. Saat % Canlılık

| SAAT | GRUP NO | GRUP | ORTALAMA±STANDART SAPMA | P DEĞERİ | ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA |
|------|---------|------------------|-------------------------|----------|---|
| 24 | 1 | Kontrol | 93,9±5,2 | p<0,01 | 1-3: p<0,01 2-3: p<0,05 3-4: p<0,01 3-5: p<0,01 3-6: p<0,05 |
| | 2 | Nt | 88,3±4,2 | | |
| | 3 | siCCAT2 | 70,1±8,8 | | |
| | 4 | Östrojen Kontrol | 95±4,6 | | |
| | 5 | Östrojen Nt | 91,7±4,8 | | |
| | 6 | Östrojen siCCAT2 | 86,1±4,6 | | |

Tablo 4.42. MCF-7 Hücrelerinde 48. Saat % Canlılık

| SAAT | GRUP NO | GRUP | ORTALAMA±STANDART SAPMA | P DEĞERİ | ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA |
|------|---------|------------------|-------------------------|----------|--|
| 48 | 1 | Kontrol | 96,9±2,7 | p<0,01 | 1-3: p<0,01 2-3: p<0,05 3-4: p<0,01 3-5: p<0,05 |
| | 2 | Nt | 88,8±10,5 | | |
| | 3 | siCCAT2 | 73,6±3,7 | | |
| | 4 | Östrojen Kontrol | 94,9±4,6 | | |
| | 5 | Östrojen Nt | 89,5±3,2 | | |
| | 6 | Östrojen siCCAT2 | 85,9±9 | | |

Tablo4.43. MCF-7 Hücrelerinde 72. Saat % Canlılık

| SAAT | GRUP NO | GRUP | ORTALAMA±STANDART SAPMA | P DEĞERİ | ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA |
|------|---------|------------------|-------------------------|----------|---------------------|
| 72 | 1 | Kontrol | 91,5±4,7 | p<0,05 | 1-3: p<0,01 |
| | 2 | Nt | 84,3±3,8 | | |
| | 3 | siCCAT2 | 78,8±2 | | |
| | 4 | Östrojen Kontrol | 88,2±1,6 | | |
| | 5 | Östrojen Nt | 87,8±3,7 | | |
| | 6 | Östrojen siCCAT2 | 86,6±4,9 | | |

4.6.2. MDA-MB-231 hücrelerinde canlılığın belirlenmesi

MDA-MB-231 hücrelerinde 24. saatte gruplar arasında istatistiksel olarak fark gözlemlendi ($p < 0,05$). Kontrol grubuna ($92,1 \pm 4,3$) göre siCCAT2 ($69,1 \pm 12,1$) grubunda % canlı hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p < 0,05$). Kontrol grubuna ($92,1 \pm 4,3$) göre östrojen siCCAT2 ($69,9 \pm 9,2$) grubunda % canlı hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p < 0,05$) (Tablo 4.44).

MDA-MB-231 hücrelerinde 48. saatte gruplar arasında istatistiksel olarak fark gözlemlendi ($p < 0,01$). Kontrol grubuna ($90 \pm 3,8$) göre siCCAT2 ($72,3 \pm 2,5$) grubunda % canlı hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p < 0,05$). Östrojen kontrol grubuna ($89,4 \pm 9,1$) göre siCCAT2 ($72,3 \pm 2,5$) grubunda % canlı hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p < 0,05$). Östrojen nt grubuna ($89,3 \pm 9,2$) göre siCCAT2 ($72,3 \pm 2,5$) grubunda % canlı hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p < 0,05$) (Tablo 4.45).

MDA-MB-231 hücrelerinde 72. saatte gruplar arasında istatistiksel olarak fark gözlemlendi ($p < 0,05$). Kontrol grubuna ($90,9 \pm 2,9$) göre siCCAT2 ($72,6 \pm 9$) grubunda % canlı hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p < 0,05$) (Tablo 4.46).

Tablo 4.44. MDA-MB-231 Hücrelerinde 24. Saat % Canlılık

| SAAT | GRUP NO | GRUP | ORTALAMA±STANDART SAPMA | P DEĞERİ | ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA |
|------|---------|------------------|-------------------------|----------|----------------------------|
| 24 | 1 | Kontrol | 92,1±4,3 | p<0,05 | 1-3: p<0,05 1-6: p<0,05 |
| | 2 | Nt | 88,8±7,9 | | |
| | 3 | siCCAT2 | 69,1±12,1 | | |
| | 4 | Östrojen Kontrol | 83,5±7 | | |
| | 5 | Östrojen Nt | 84,3±4,5 | | |
| | 6 | Östrojen siCCAT2 | 69,9±9,2 | | |

Tablo 4.45. MDA-MB-231 Hücrelerinde 48. Saat % Canlılık

| SAAT | GRUP NO | GRUP | ORTALAMA±STANDART SAPMA | P DEĞERİ | ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA |
|------|---------|------------------|-------------------------|----------|--|
| 48 | 1 | Kontrol | 90±3,8 | p<0,01 | 1-3: p<0,05 1-6: p<0,05 3-4: p<0,05 3-5: p<0,05 |
| | 2 | Nt | 88,8±4,3 | | |
| | 3 | siCCAT2 | 72,3±2,5 | | |
| | 4 | Östrojen Kontrol | 89,4±9,1 | | |
| | 5 | Östrojen Nt | 89,3±9,2 | | |
| | 6 | Östrojen siCCAT2 | 73,4±3,4 | | |

Tablo 4.46. MDA-MB-231 Hücrelerinde 72. Saat % Canlılık

| SAAT | GRUP NO | GRUP | ORTALAMA±STANDART SAPMA | P DEĞERİ | ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA |
|------|---------|------------------|-------------------------|----------|---------------------|
| 72 | 1 | Kontrol | 90,9±2,9 | p<0,05 | 1-3: p<0,05 |
| | 2 | Nt | 87,5±11,6 | | |
| | 3 | siCCAT2 | 72,6±9 | | |
| | 4 | Östrojen Kontrol | 83,9±3,5 | | |
| | 5 | Östrojen Nt | 83,8±3,4 | | |
| | 6 | Östrojen siCCAT2 | 75±2,6 | | |

4.6.3. OVCAR-3 hücrelerinde canlılığın belirlenmesi

OVCAR-3 hücrelerinde 24. saatte gruplar arasında istatistiksel olarak fark gözlemlendi ($p < 0,01$). Kontrol grubuna ($87,4 \pm 4,1$) göre siCCAT2 ($65,3 \pm 9,9$) grubunda % canlı hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p < 0,05$). Nt grubuna ($86,8 \pm 5,7$) göre siCCAT2 ($65,3 \pm 9,9$) grubunda % canlı hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p < 0,05$). Östrojen kontrol grubuna ($91,8 \pm 2,17$) göre siCCAT2 ($65,3 \pm 9,9$) grubunda % canlı hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p < 0,01$). Östrojen nt grubuna ($88,1 \pm 9,5$) göre siCCAT2 ($65,3 \pm 9,9$) grubunda % canlı hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p < 0,05$) (Tablo 4.47).

OVCAR-3 hücrelerinde 48. saatte gruplar arasında istatistiksel olarak fark gözlemlendi ($p < 0,05$). Kontrol grubuna ($91,6 \pm 4,1$) göre siCCAT2 ($73,6 \pm 4,6$) grubunda % canlı hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p < 0,05$). Östrojen kontrol grubuna ($94,6 \pm 4,1$) göre siCCAT2 ($73,6 \pm 4,6$) grubunda % canlı hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p < 0,05$) (Tablo 4.48).

OVCAR-3 hücrelerinde 72. saatte gruplar arasında istatistiksel olarak fark gözlemlenmedi ($p = 0,123$) (Tablo 4.49).

Tablo 4.47. OVCAR-3 Hücrelerinde 24. Saat % Canlılık

| SAAT | GRUP NO | GRUP | ORTALAMA±STANDART SAPMA | P DEĞERİ | ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA |
|------|---------|------------------|-------------------------|----------|--|
| 24 | 1 | Kontrol | 87,4±4,1 | p<0,01 | 1-3: p<0,05 2-3: p<0,05 3-4: p<0,01 3-5: p<0,05 |
| | 2 | Nt | 86,8±5,7 | | |
| | 3 | siCCAT2 | 65,3±9,9 | | |
| | 4 | Östrojen Kontrol | 91,8±2,17 | | |
| | 5 | Östrojen Nt | 88,1±9,5 | | |
| | 6 | Östrojen siCCAT2 | 73,7±4,6 | | |

Tablo 4.48. OVCAR-3 Hücrelerinde 48. Saat % Canlılık

| SAAT | GRUP NO | GRUP | ORTALAMA±STANDART SAPMA | P DEĞERİ | ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA |
|------|---------|------------------|-------------------------|----------|----------------------------|
| 48 | 1 | Kontrol | 91,6±4,1 | p<0,05 | 1-3: p<0,05 3-4: p<0,05 |
| | 2 | Nt | 88,1±9,5 | | |
| | 3 | siCCAT2 | 73,6±4,6 | | |
| | 4 | Östrojen Kontrol | 94,6±4,1 | | |
| | 5 | Östrojen Nt | 88,8±3,5 | | |
| | 6 | Östrojen siCCAT2 | 82,5±9,8 | | |

Tablo 4.49. OVCAR-3 Hücrelerinde 72. Saat % Canlılık

| SAAT | GRUP NO | GRUP | ORTALAMA±STANDART SAPMA | P DEĞERİ | ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA |
|------|---------|------------------|-------------------------|----------|---------------------|
| 72 | 1 | Kontrol | 90,2±4,3 | p=0,123 | - |
| | 2 | Nt | 83,7±3,5 | | |
| | 3 | siCCAT2 | 78,8±2,8 | | |
| | 4 | Östrojen Kontrol | 86,5±4,5 | | |
| | 5 | Östrojen Nt | 86,1±5,3 | | |
| | 6 | Östrojen siCCAT2 | 84,9±5,3 | | |

4.6.4. UWBI.289 hücrelerinde canlılığın belirlenmesi

UWB1.289 hücrelerinde 24. saatte gruplar arasında istatistiksel olarak fark gözlemlendi ($p < 0,001$). Kontrol grubuna ($95,8 \pm 4,3$) göre siCCAT2 ($51,7 \pm 14,1$) grubunda % canlı hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p < 0,001$). Kontrol grubuna ($95,8 \pm 4,3$) göre östrojen siCCAT2 (50 ± 5) grubunda % canlı hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p < 0,001$). Nt grubuna ($91,6 \pm 7,6$) göre siCCAT2 ($51,7 \pm 14,1$) grubunda % canlı hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p < 0,01$). Nt grubuna ($91,6 \pm 7,6$) göre östrojen siCCAT2 (50 ± 5) grubunda % canlı hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p < 0,001$). Östrojen kontrol grubuna ($90,3 \pm 6,5$) göre siCCAT2 ($51,7 \pm 14,1$) grubunda % canlı hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p < 0,01$). Östrojen nt grubuna ($90,2 \pm 6,8$) göre siCCAT2 ($51,7 \pm 14,1$) grubunda % canlı hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p < 0,01$). Östrojen kontrol grubuna ($90,3 \pm 6,5$) göre östrojen siCCAT2 (50 ± 5) grubunda % canlı hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p < 0,01$). Östrojen nt grubuna ($90,2 \pm 6,8$) göre östrojen siCCAT2 (50 ± 5) grubunda % canlı hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p < 0,01$) (Tablo 4.50).

UWB1.289 hücrelerinde 48. saatte gruplar arasında istatistiksel olarak fark gözlemlendi ($p < 0,001$). Kontrol grubuna ($92,9 \pm 2$) göre siCCAT2 ($51,7 \pm 14,1$) grubunda % canlı hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p < 0,01$). Kontrol grubuna ($92,9 \pm 2$) göre östrojen siCCAT2 ($47,5 \pm 16,3$) grubunda % canlı hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p < 0,01$). Nt grubuna ($91,6 \pm 7,6$) göre siCCAT2 ($51,7 \pm 14,1$) grubunda % canlı hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p < 0,01$). Nt grubuna ($91,6 \pm 7,6$) göre östrojen siCCAT2 ($47,5 \pm 16,3$) grubunda % canlı hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p < 0,05$). Östrojen kontrol grubuna ($88,5 \pm 10,3$) göre siCCAT2 ($51,7 \pm 14,1$) grubunda % canlı hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p < 0,05$). Östrojen nt grubuna ($90,6 \pm 12,7$) göre siCCAT2 ($51,7 \pm 14,1$) grubunda % canlı hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p < 0,05$). Östrojen kontrol grubuna ($88,5 \pm 10,$) göre östrojen siCCAT2 ($47,5 \pm 16,3$) grubunda % canlı hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p < 0,01$). Östrojen nt grubuna ($90,6 \pm 12,7$) göre östrojen siCCAT2 ($47,5 \pm 16,3$) grubunda % canlı hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p < 0,01$) (Tablo 4.51).

UWB1.289 hücrelerinde 72. saatte gruplar arasında istatistiksel olarak fark gözlemlendi ($p<0,001$). Kontrol grubuna ($92,2\pm 2,5$) göre siCCAT2 ($59,2\pm 8,4$) grubunda % canlı hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p<0,001$). Kontrol grubuna ($92,2\pm 2,5$) göre östrojen siCCAT2 ($54,8\pm 11,9$) grubunda % canlı hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p<0,001$). Nt grubuna ($86,6\pm 2,9$) göre siCCAT2 ($59,2\pm 8,4$) grubunda % canlı hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p<0,01$). Nt grubuna ($86,6\pm 2,9$) göre östrojen siCCAT2 ($54,8\pm 11,9$) grubunda % canlı hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p<0,01$). Östrojen kontrol grubuna ($86,2\pm 2,6$) göre siCCAT2 ($59,2\pm 8,4$) grubunda % canlı hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p<0,01$). Östrojen nt grubuna ($83,8\pm 3,4$) göre siCCAT2 ($59,2\pm 8,4$) grubunda % canlı hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p<0,01$). Östrojen kontrol grubuna ($86,2\pm 2,6$) göre östrojen siCCAT2 ($54,8\pm 11,9$) grubunda % canlı hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p<0,001$). Östrojen nt grubuna $83,8\pm 3,4$ göre östrojen siCCAT2 ($54,8\pm 11,9$) grubunda % canlı hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ($p<0,01$) (Tablo 4.52).

Tablo 4.50. UWB1.289 Hücrelerinde 24. Saat % Canlılık

| SAAT | GRUP NO | GRUP | ORTALAMA±STANDART SAPMA | P DEĞERİ | ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA |
|------|---------|------------------|-------------------------|----------|---|
| 24 | 1 | Kontrol | 95,8±4,3 | p<0,001 | 1-3: p<0,001 1-6: p<0,001 2-3: p<0,01 2-6: p<0,001 3-4: p<0,01 3-5: p<0,01 4-6: p<0,01 5-6: p<0,01 |
| | 2 | Nt | 91,6±7,6 | | |
| | 3 | siCCAT2 | 51,7±14,1 | | |
| | 4 | Östrojen Kontrol | 90,3±6,5 | | |
| | 5 | Östrojen Nt | 90,2±6,8 | | |
| | 6 | Östrojen siCCAT2 | 50±5 | | |

Tablo 4.51. UWB1.289 Hücrelerinde 48. Saat % Canlılık

| SAAT | GRUP NO | GRUP | ORTALAMA±STANDART SAPMA | P DEĞERİ | ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA |
|------|---------|------------------|-------------------------|----------|--|
| 48 | 1 | Kontrol | 92,9±2 | p<0,001 | 1-3: p<0,01 1-6: p<0,01 2-3: p<0,05 2-6: p<0,05 3-4: p<0,05 3-5: p<0,05 4-6: p<0,01 5-6: p<0,01 |
| | 2 | Nt | 85,2±2 | | |
| | 3 | siCCAT2 | 53,7±11,5 | | |
| | 4 | Östrojen Kontrol | 88,5±10,3 | | |
| | 5 | Östrojen Nt | 90,6±12,7 | | |
| | 6 | Östrojen siCCAT2 | 47,5±16,3 | | |

Tablo 4.52. UWB1.289 Hücrelerinde 72. Saat % Canlılık

| SAAT | GRUP NO | GRUP | ORTALAMA±STANDART SAPMA | P DEĞERİ | ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA |
|------|---------|------------------|-------------------------|----------|---|
| 72 | 1 | Kontrol | 92,2±2,5 | p<0,001 | 1-3: p<0,001 1-6: p<0,001 2-3: p<0,01 2-6: p<0,01 3-4: p<0,01 3-5: p<0,01 4-6: p<0,001 5-6: p<0,01 |
| | 2 | Nt | 86,6±2,9 | | |
| | 3 | siCCAT2 | 59,2±8,4 | | |
| | 4 | Östrojen Kontrol | 86,2±2,6 | | |
| | 5 | Östrojen Nt | 83,8±3,4 | | |
| | 6 | Östrojen siCCAT2 | 54,8±11,9 | | |

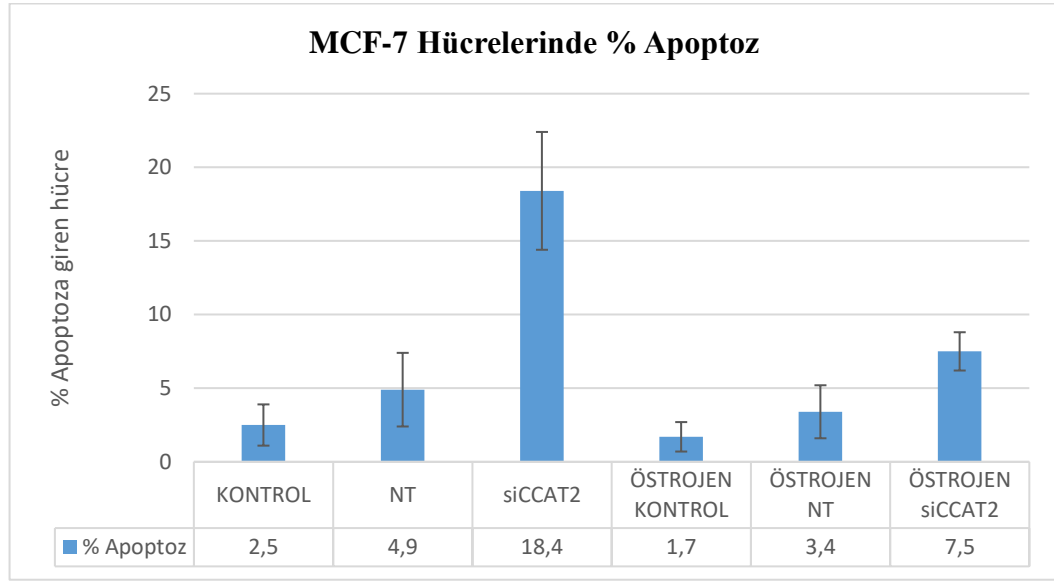
4.7. Hücrelerde Apoptozun Belirlenmesi

4.7.1. MCF-7 hücrelerinde apoptozun belirlenmesi

MCF-7 hücrelerinde gruplar arasında istatistiksel olarak fark gözlemlendi ($p < 0,001$). Kontrol grubuna ($2,5 \pm 1,4$) göre siCCAT2 ($18,4 \pm 4,0$) grubunda % apoptoza giren hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı artış gözlemlendi ($p < 0,001$). Kontrol grubuna ($2,5 \pm 1,4$) göre östrojen siCCAT2 ($7,5 \pm 1,3$) grubunda % apoptoza giren hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı artış gözlemlendi ($p < 0,001$). Nt grubuna ($4,9 \pm 2,5$) göre siCCAT2 ($18,4 \pm 4,0$) grubunda % apoptoza giren hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı artış gözlemlendi ($p < 0,001$). Östrojen kontrol grubuna ($1,7 \pm 1,0$) göre Nt grubunda ($4,9 \pm 2,5$) % apoptoza giren hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı artış gözlemlendi ($p < 0,05$). Östrojen kontrol grubuna ($1,7 \pm 1,0$) göre siCCAT2 ($18,4 \pm 4,0$) grubunda % apoptoza giren hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı artış gözlemlendi ($p < 0,001$). Östrojen nt grubuna ($3,4 \pm 1,8$) göre siCCAT2 ($18,4 \pm 4,0$) grubunda % apoptoza giren hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı artış gözlemlendi ($p < 0,001$). Östrojen siCCAT2 grubuna ($7,5 \pm 1,3$) siCCAT2 ($18,4 \pm 4,0$) grubunda % apoptoza giren hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı artış gözlemlendi ($p < 0,001$). Östrojen kontrol grubuna ($1,7 \pm 1,0$) göre östrojen siCCAT2 ($7,5 \pm 1,3$) grubunda % apoptoza giren hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı artış gözlemlendi ($p < 0,001$). Östrojen nt grubuna ($3,4 \pm 1,8$) göre östrojen siCCAT2 ($7,5 \pm 1,3$) grubunda % apoptoza giren hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı artış gözlemlendi ($p < 0,01$) (Tablo 4.53) (Şekil 4.35).

Tablo 4.53. MCF-7 Hücrelerinde % Apoptoz Belirlemeleri

| GRUP NO | GRUP | ORTALAMA±STANDART SAPMA | P DEĞERİ | ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA |
|---------|------------------|-------------------------|----------|--|
| 1 | Kontrol | 2,5±1,4 | p<0,001 | 1-3: p<0,001 1-6: p<0,001 2-3: p<0,001 2-4: p<0,05 3-4: p<0,001 3-5: p<0,001 3-6: p<0,001 4-6: p<0,001 5-6: p<0,01 |
| 2 | Nt | 4,9±2,5 | | |
| 3 | siCCAT2 | 18,4±4,0 | | |
| 4 | Östrojen Kontrol | 1,7±1,0 | | |
| 5 | Östrojen Nt | 3,4±1,8 | | |
| 6 | Östrojen siCCAT2 | 7,5±1,3 | | |



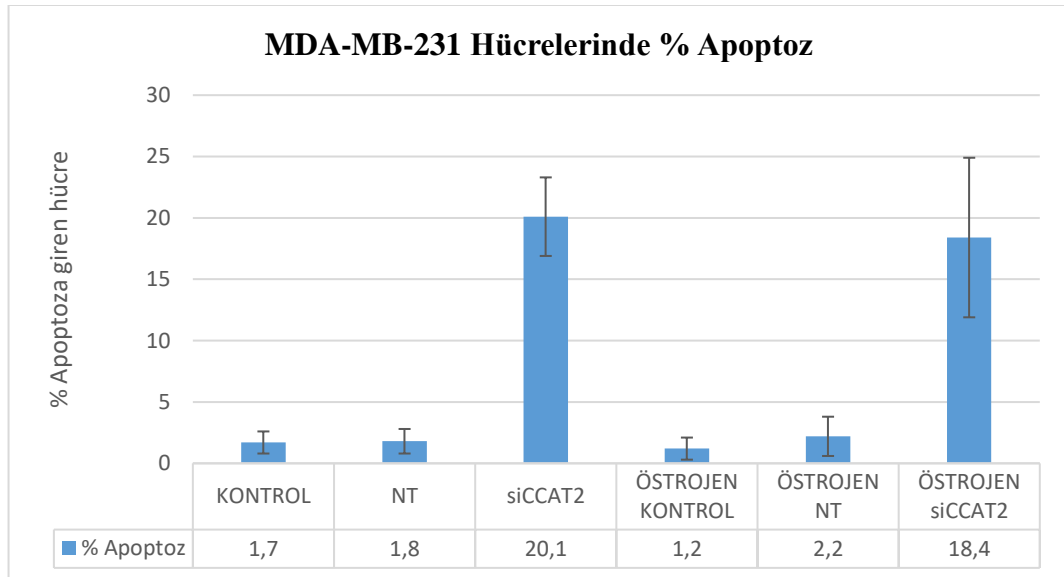
Şekil 4.35. MCF-7 Hücrelerinde % Apoptoz Belirlemeleri

4.7.2. MDA-MB-231 hücrelerinde apoptozun belirlenmesi

MDA-MB-231 hücrelerinde gruplar arasında istatistiksel olarak fark gözlemlendi ($p < 0,001$). Kontrol grubuna ($1,7 \pm 0,9$) göre siCCAT2 ($20,1 \pm 3,2$) grubunda % apoptoza giren hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı artış gözlemlendi ($p < 0,001$). Kontrol grubuna ($1,7 \pm 0,9$) göre östrojen siCCAT2 ($18,4 \pm 6,5$) grubunda % apoptoza giren hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı artış gözlemlendi ($p < 0,001$). Nt grubuna ($1,8 \pm 1,0$) göre siCCAT2 ($20,1 \pm 3,2$) grubunda % apoptoza giren hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı artış gözlemlendi ($p < 0,001$). Nt grubuna ($1,8 \pm 1,0$) göre östrojen siCCAT2 ($18,4 \pm 6,5$) grubunda % apoptoza giren hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı artış gözlemlendi ($p < 0,001$). Östrojen kontrol grubuna ($1,2 \pm 0,9$) göre siCCAT2 ($20,1 \pm 3,2$) grubunda % apoptoza giren hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı artış gözlemlendi ($p < 0,001$). Östrojen nt grubuna ($2,2 \pm 1,6$) göre siCCAT2 ($20,1 \pm 3,2$) grubunda % apoptoza giren hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı artış gözlemlendi ($p < 0,001$). Östrojen kontrol grubuna ($1,2 \pm 0,9$) göre östrojen siCCAT2 ($18,4 \pm 6,5$) grubunda % apoptoza giren hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı artış gözlemlendi ($p < 0,001$). Östrojen nt grubuna ($2,2 \pm 1,6$) göre östrojen siCCAT2 ($18,4 \pm 6,5$) grubunda % apoptoza giren hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı artış gözlemlendi ($p < 0,001$) (Tablo 4.54) (Şekil 4.36).

Tablo 4.54. MDA-MB-231 Hücrelerinde % Apoptoz Belirlemeleri

| GRUP NO | GRUP | ORTALAMA±STANDART SAPMA | P DEĞERİ | ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA |
|---------|------------------|-------------------------|----------|--|
| 1 | Kontrol | 1,7±0,9 | p<0,001 | 1-3: p<0,001 1-6: p<0,001 2-3: p<0,001 2-6: p<0,001 3-4: p<0,001 3-5: p<0,001 4-6: p<0,001 5-6: p<0,001 |
| 2 | Nt | 1,8±1,0 | | |
| 3 | siCCAT2 | 20,1±3,2 | | |
| 4 | Östrojen Kontrol | 1,2±0,9 | | |
| 5 | Östrojen Nt | 2,2±1,6 | | |
| 6 | Östrojen siCCAT2 | 18,4±6,5 | | |



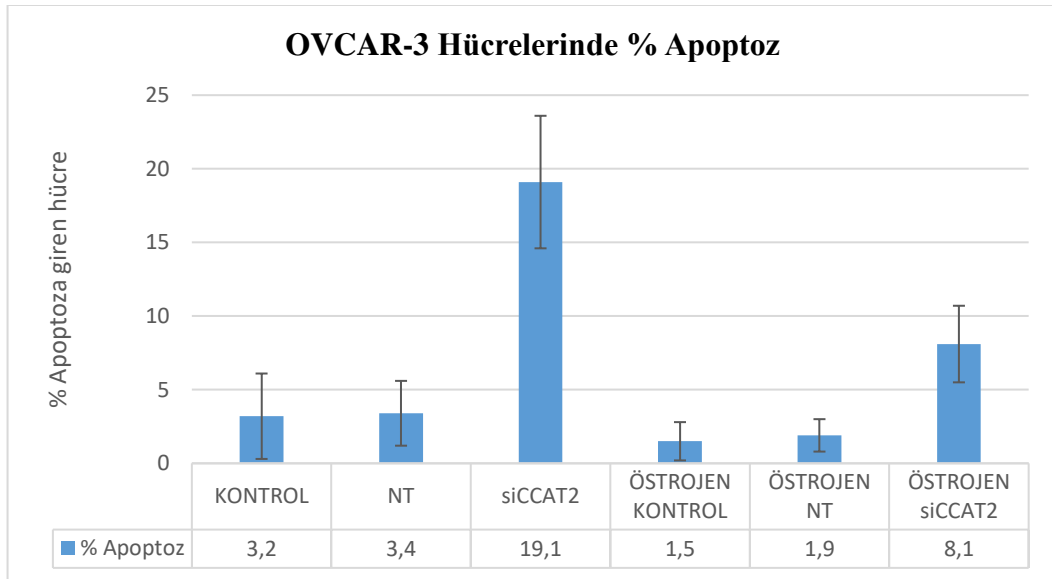
Şekil 4.36. MDA-MB-231 Hücrelerinde % Apoptoz Belirlemeleri

4.7.3. OVCAR-3 hücrelerinde apoptozun belirlenmesi

OVCAR-3 hücrelerinde gruplar arasında istatistiksel olarak fark gözlemlendi ($p < 0,001$). Kontrol grubuna ($3,2 \pm 2,9$) göre siCCAT2 ($19,1 \pm 4,5$) grubunda % apoptoza giren hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı artış gözlemlendi ($p < 0,001$). Kontrol grubuna ($3,2 \pm 2,9$) göre östrojen siCCAT2 ($8,1 \pm 2,6$) grubunda % apoptoza giren hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı artış gözlemlendi ($p < 0,01$). Nt grubuna ($3,4 \pm 2,2$) göre siCCAT2 ($19,1 \pm 4,5$) grubunda % apoptoza giren hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı artış gözlemlendi ($p < 0,001$). Nt grubuna ($3,4 \pm 2,2$) göre östrojen siCCAT2 ($8,1 \pm 2,6$) grubunda % apoptoza giren hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı artış gözlemlendi ($p < 0,01$). Östrojen kontrol grubuna ($1,5 \pm 1,3$) göre siCCAT2 ($19,1 \pm 4,5$) grubunda % apoptoza giren hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı artış gözlemlendi ($p < 0,001$). Östrojen nt grubuna ($1,9 \pm 1,1$) göre siCCAT2 ($19,1 \pm 4,5$) grubunda % apoptoza giren hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı artış gözlemlendi ($p < 0,001$). Östrojen siCCAT2 grubuna ($8,1 \pm 2,6$) siCCAT2 ($18,4 \pm 4,0$) grubunda % apoptoza giren hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı artış gözlemlendi ($p < 0,001$). Östrojen kontrol grubuna ($1,5 \pm 1,3$) göre östrojen siCCAT2 ($8,1 \pm 2,6$) grubunda % apoptoza giren hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı artış gözlemlendi ($p < 0,001$). Östrojen nt grubuna ($1,9 \pm 1,1$) göre östrojen siCCAT2 ($8,1 \pm 2,6$) grubunda % apoptoza giren hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı artış gözlemlendi ($p < 0,01$) (Tablo 4.55) (Şekil 4.37).

Tablo 4.55. OVCAR-3 Hücrelerinde % Apoptoz Belirlemeleri

| GRUP NO | GRUP | ORTALAMA±STANDART SAPMA | P DEĞERİ | ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA |
|---------|------------------|-------------------------|----------|--|
| 1 | Kontrol | 3,2±2,9 | p<0,001 | 1-3: p<0,001 1-6: p<0,01 2-3: p<0,001 2-6: p<0,01 3-4: p<0,001 3-5: p<0,001 3-6: p<0,001 4-6: p<0,001 5-6: p<0,001 |
| 2 | Nt | 3,4±2,2 | | |
| 3 | siCCAT2 | 19,1±4,5 | | |
| 4 | Östrojen Kontrol | 1,5±1,3 | | |
| 5 | Östrojen Nt | 1,9±1,1 | | |
| 6 | Östrojen siCCAT2 | 8,1±2,6 | | |



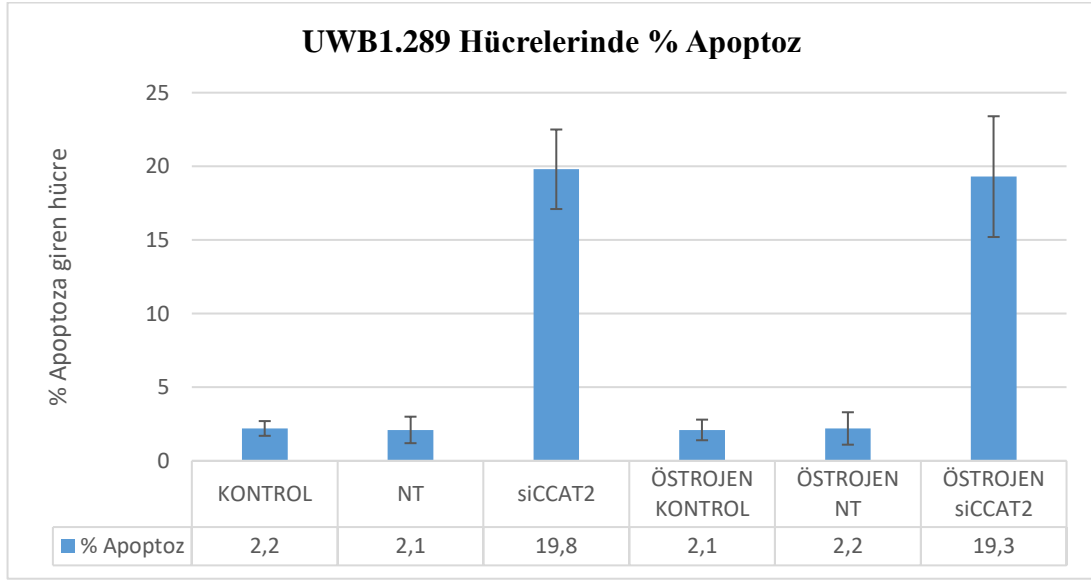
Şekil 4.37. OVCAR-3 Hücrelerinde % Apoptoz Belirlemeleri

4.7.4. UWB1.289 hücrelerinde apoptozun belirlenmesi

UWB1.289 hücrelerinde gruplar arasında istatistiksel olarak fark gözlemlendi ($p < 0,001$). Kontrol grubuna ($2,2 \pm 0,5$) göre siCCAT2 ($19,8 \pm 2,7$) grubunda % apoptoza giren hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı artış gözlemlendi ($p < 0,001$). Kontrol grubuna ($2,2 \pm 0,5$) göre östrojen siCCAT2 ($19,3 \pm 4,1$) grubunda % apoptoza giren hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı artış gözlemlendi ($p < 0,001$). Nt grubuna ($2,1 \pm 0,9$) göre siCCAT2 ($19,8 \pm 2,7$) grubunda % apoptoza giren hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı artış gözlemlendi ($p < 0,001$). Nt grubuna ($2,1 \pm 0,9$) göre östrojen siCCAT2 ($19,3 \pm 4,1$) grubunda % apoptoza giren hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı artış gözlemlendi ($p < 0,001$). Östrojen kontrol grubuna ($2,1 \pm 0,7$) göre siCCAT2 ($19,8 \pm 2,7$) grubunda % apoptoza giren hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı artış gözlemlendi ($p < 0,001$). Östrojen nt grubuna ($2,2 \pm 1,1$) göre siCCAT2 ($19,8 \pm 2,7$) grubunda % apoptoza giren hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı artış gözlemlendi ($p < 0,001$). Östrojen kontrol grubuna ($2,1 \pm 0,7$) göre östrojen siCCAT2 ($19,3 \pm 4,1$) grubunda % apoptoza giren hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı artış gözlemlendi ($p < 0,001$). Östrojen nt grubuna ($2,2 \pm 1,1$) göre östrojen siCCAT2 ($19,3 \pm 4,1$) grubunda % apoptoza giren hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı artış gözlemlendi ($p < 0,001$) (Tablo 4.56) (Şekil 4.38).

Tablo 4.56. UWB1.289 Hücrelerinde % Apoptoz Belirlemeleri

| GRUP NO | GRUP | ORTALAMA±STANDART SAPMA | P DEĞERİ | ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA |
|---------|------------------|-------------------------|----------|--|
| 1 | Kontrol | 2,2±0,5 | p<0,001 | 1-3: p<0,001 1-6: p<0,001 2-3: p<0,001 2-6: p<0,001 3-4: p<0,001 3-5: p<0,001 4-6: p<0,001 5-6: p<0,001 |
| 2 | Nt | 2,1±0,9 | | |
| 3 | siCCAT2 | 19,8±2,7 | | |
| 4 | Östrojen Kontrol | 2,1±0,7 | | |
| 5 | Östrojen Nt | 2,2±1,1 | | |
| 6 | Östrojen siCCAT2 | 19,3±4,1 | | |



Şekil 4.38. UWB1.289 Hücrelerinde % Apoptoz Belirlemeleri

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda meme ve yumurtalık kanser hücrelerinin bulunduğu ortamdaki östrojen varlığı ve yokluğu ile östrojen reseptörü pozitif ve negatif olan hücrelerde siRNA ile susturulan CCAT2'nin proliferasyon, adezyon, canlılık ve apoptoz açısından etkileri belirlenmiştir. Çalışmamızda kullanılan meme ve yumurtalık kanser hücrelerine uygulanacak östrojen konsantrasyonlarını belirlemek için önceden konu ile ilgili yapılmış çalışmalara ulaşılarak çeşitli bilgiler elde edilmiştir. MCF-7 meme kanser hücrelerinde östrojenin hücrelere olan etkisini araştıran çalışmalarda, çeşitli konsantrasyonlarda östrojen hormonu hücrelere uygulanıp hücre çoğalmasına olan etkileri incelenmiştir. Karey ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada 10^{-6} M ile 10^{-15} M konsantrasyonları arasında MCF-7 hücrelerine östrojen hormonu uygulanmış ve en fazla çoğalmanın 10^{-6} M ile 10^{-12} M arasındaki konsantrasyonların olduğunu belirlemişlerdir (Karey ve Sirbasku, 1988). Östrojenin MCF-7 hücrelerine olan etkisinin araştırıldığı başka bir çalışmada Ma ve arkadaşları 10^{-5} M ile 10^{-9} M östrojen konsantrasyonları uygulamasında çoğalmanın en yüksek görüldüğü östrojen miktarını 10^{-6} M olduğunu belirlemişlerdir (Ma vd., 2013). Harrington ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, 10^{-8} ile 10^{-12} M konsantrasyonlarındaki östrojen uygulamaları MDA-MB-231 hücreleri için östrojenin tüm konsantrasyonlarında hücresel çoğalmanın eşit seviyelerde olduğunu ve östrojenin bu hücrelerde etkisinin olmadığını saptamışlardır. Bu yüzden östrojen reseptörü negatif MDA-MB-231 hücrelerinde 10^{-8} M konsantrasyonundaki östrojenin ideal olduğunu düşünmüşlerdir (Harrington vd., 2006). Daha önce yapılan çalışmalar göz önünde bulundurularak MCF-7 ve MDA-MB-231 hücrelerine 10^{-9} M, 10^{-8} M, 10^{-7} M, 10^{-6} M ve 10^{-5} M konsantrasyonlarında östrojen hormonu uygulandı. Östrojen reseptörü pozitif meme kanseri hücre hattı MCF-7 için çoğalmanın en yüksek görüldüğü östrojen konsantrasyonu 24. saatteki 10^{-6} M olduğu belirlendi. Östrojen reseptörü negatif meme kanseri hücre hattı MDA-MB-231 için proliferasyonun en yüksek görüldüğü östrojen konsantrasyonu 24. saatteki 10^{-8} M olduğu belirlendi.

Östrojen reseptörü pozitif yumurtalık kanseri hücre hattı OVCAR-3 için östrojenin hücrelere olan etkisini araştıran çalışmalarda, çeşitli konsantrasyonlarda östrojen hormonu hücrelere uygulanıp hücre çoğalmasına olan etkileri incelenmiştir. Li ve arkadaşları OVCAR-3 hücrelerine uyguladıkları 10^{-11} M, 10^{-10} M, 10^{-9} M, 10^{-8} M ve 10^{-7} M'lık östrojen dozlarında hücrelerde en yüksek çoğalmanın görüldüğü

konsantrasyonu 10^{-10} M olarak belirlemişlerdir (H.-H. Li vd., 2014). Östrojen reseptörü negatif yumurtalık kanseri hücre hattı UWB1.289 için şimdiye kadar östrojenin hücrelere olan etkisini araştıran çalışmalara rastlanmamıştır. Daha önce yapılan çalışmalar göz önünde bulundurularak OVCAR-3 hücrelerine 10^{-12} M, 10^{-11} M, 10^{-10} M, 10^{-9} M ve 10^{-8} M konsantrasyonlarında östrojen hormonu uygulandı. Östrojen reseptörü pozitif yumurtalık kanseri hücre hattı OVCAR-3 için çoğalmanın en yüksek görüldüğü östrojen konsantrasyonu 24. saatteki 10^{-10} M olduğu belirlendi. Östrojen reseptörü negatif yumurtalık kanseri hücre hattı UWB1.289 için proliferasyonun en yüksek görüldüğü östrojen konsantrasyonu 24. saatteki 10^{-10} M olduğu belirlendi.

ESR1 geni ER- α 'yı kodlar. ESR1'in hücre proliferasyonu, hayatta kalma ve farklılaşması ile yakından ilgili olan protein kodlayan genlerin ekspresyonunu düzenlediğine ve dolayısıyla kanser süreçlerine katıldığına inanılmaktadır. ESR1'in aynı zamanda transkripyon regülasyonunda da rol oynadığı gösterilmiştir. ESR1, kanserde bazı lncRNA'ların düzenlenmesinde rol oynar (Liu, Wen, Wang ve Wang, 2018; Zou, Ling, Wu ve Zhang, 2018). Hu ve arkadaşları meme kanserinde tümörejenik etki gösteren uzun intergenik kodlamayan LINC01116'nın ESR1'in aktivasyonuna bunun da meme kanserinin ilerlemesine yol açtığını raporlamışlardır (Hu, Chen ve Ding, 2018) Li ve arkadaşları ER+/- meme kanseri hücreleriyle yaptıkları bir araştırmada ER+ MCF-7 meme kanseri hücrelerinde ER- MDA-MB-231 meme kanseri hücrelerine göre enfarktüsle ilişkili transkript (MIAT)'in daha yüksek seviyelerde olduğunu ve östrojen sinyallemesinin doza ve zamana bağlı olarak MIAT ekspresyon seviyelerinin artmasına neden olduğunu saptamışlardır. Bu araştırmada östrojen sinyallenmesi, ER α bağımlı olan MCF-7 hücrelerinde MIAT'ın yüksek ekspresyonuna sebep olarak hücre çoğalmasını teşvik ettiği sonucuna varılmıştır. (Yuehua Li vd., 2018).

Wang ve arkadaşları yumurtalık kanseri hücreleri CAOV3, OVCAR3, SKOV3, UWB1.289 ile ilgili yaptıkları bir çalışmada CAOV3, OVCAR3, SKOV3 hücrelerinde ESR1'in ifade edildiğini fakat UWB1.289 hücrelerinde ifade edilmediğini bulmuşlardır. Bu çalışmada ESR1'in uzun intergenik kodlamayan RNA LINC00511 ekspresyonunu transkripsiyonel olarak düzenlediğini göstermiştir. ESR1 bu düzenmeyi LINC00511'in geninin promoter bölgesine bağlanarak, CAOV3, OVCAR3, SKOV3 hücrelerinde onkojenik etkisi bilinen LINC00511'in

ekspresyonlarını artırır. Ayrıca E2 uygulamasının da bu hücrelerde LINC00511'in ekspresyon seviyelerini artırdığı tespit edilmiştir. Yine bu çalışmada siLINC00511 transfeksiyonunun E2'nin neden olduğu LINC00511 ekspresyonundaki artışı bloke ettiği bildirilmiştir (K. Wang, Zhu, Bao ve Chen, 2019). Bizim çalışmamızda E2 uygulaması, ER+ meme kanseri MCF-7 ve ER+ yumurtalık kanseri OVCAR-3 hücrelerinde CCAT2'nin ekspresyon seviyelerini artırırken, hem ER+ hem de ER- meme kanseri MDA-MB-231 ve ER- yumurtalık kanseri UWB1.289 hücrelerinde siCCAT2 işlemi CCAT2'nin ekspresyon seviyelerini E2 varlığında ve yokluğunda azalttı.

Günümüzde en popüler düzenleyici faktörlerden birisi lncRNA'lardır. Hücre çoğalması, invazyonu, migrasyonu ve apoptozu gibi kanser patogenezi düzenleyen lncRNA'lar biyolojik ve fizyolojik birçok olayda görev alırlar. Bazı lncRNA'ların insan kanserlerinde önemli roller üstlendiği bildirilmiştir (Zhao vd., 2017).

Xie ve arkadaşları endometriyal kanseri ile ilgili yaptıkları bir araştırmada endometriyal kanseri dokularının komşu normal dokulara göre yüksek oranda CCAT2 eksprese edildiğini ve CCAT2'nin susturulması, HEC-1-A ve RL95-2 hücrelerinin çoğalmasını, canlılığını, migrasyonunu ve invazyonunu inhibe ederken apoptozu indüklediğini göstermişlerdir. CCAT2, PI3K/AKT yolağının bir baskılayıcısı olan miR-216b düzeylerini azaltarak endometriyal kanseri hücre büyümesini ve metastazını destekler (Xie, Cao, Li, Wang ve Cui, 2018).

Meme ve yumurtalık kanseri doku örneklerinde ve hücre hatlarında önemli ölçüde lncRNA CCAT2 gen ekspresyon seviyeleri daha yüksektir. Yüksek CCAT2 ekspresyonu olan hastalar daha kötü prognoza sahiptir.

Deng ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada CCAT2'nin susturulmasıyla MCF-7 ve MDA-MB-231 hücrelerinde çoğalma ve invazyonun azalmasının yanı sıra hücre döngüsünde görev alan CyclinD1, CyclinE1 ve CDK4 ekspresyonlarının inhibe edildiğini ve tümör supressör olan p15 ifadesinin arttığını bildirmişlerdir. Yine bu çalışmada CCAT2'nin tümör gelişimini baskılamaktan sorumlu genleri inhibe eden EZH2 ile bağlanarak p15 ekspresyonunu baskıladığını ortaya çıkarmışlardır (Deng vd., 2017).

Caia ve arkadaşları tamoksifen dirençli MCF-7 ve T-47D meme kanseri hücrelerinde CCAT2 seviyelerinin yüksek olduğunu ve ERK / MAPK sinyal yolunun CCAT2'yi aktive ettiğini belirtmişlerdir (Caia, He ve Zhang, 2016). Cai ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada meme kanserinde, CCAT2'nin susturulmasının, hücre proliferasyonu ve in vitro invazyonunu Wnt/ β -katenin sinyal yolağı yoluyla azalttığını bildirmişlerdir (Cai vd., 2015). Hua ve arkadaşları CCAT2'nin EOC dokusunda aşırı eksprese edildiğini ve EOC'de DCLK1'i inhibe ederek tümör hücresi göçünü, invazyonunu ve epitelyal-mezenkimal geçişi inhibe eden miR-424 için CCAT2'nin miRNA süngerini olarak davrandığını rapor etmişlerdir (Hua vd., 2018). Wang ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada CCAT2'nin susturulmasının yumurtalık kanseri hücrelerinde, hücre proliferasyonu, migrasyonu ve invazyonunu belirgin bir şekilde azalttığını göstermişlerdir (C.-Y. Wang vd., 2015). Bizim çalışmamızda da CCAT2'nin spesifik siRNA ile susturulmasıyla meme ve yumurtalık kanseri hücrelerinde proliferasyonu azaltmıştır. Ancak ER+ meme kanseri MCF-7 ve yumurta kanseri OVCAR-3 hücrelerinde östrojen uygulaması siCCAT2'nin proliferasyon üzerine olan etkisini azaltmıştır. Ayrıca östrojen uygulaması yapılmayan ER+ MCF-7 meme kanseri ve OVCAR-3 yumurtalık kanseri hücrelerine göre östrojen uygulaması yapılan ve yapılmayan ER- meme MDA-MB-231 ve UWB1.289 yumurtalık kanseri hücrelerinde siCCAT2'nin proliferasyonunu azaltması açısından daha fazla etkili olmuştur. Bu veriler göz önüne alındığında hücrelerde ER'nin durumu ile östrojenin ortamda varlığı veya yokluğu siCCAT2'nin hücrel çoğalmaya olan etkilerini değiştirmektedir.

Hücre adezyonu, proliferasyon, göç, farklılaşma ve ölüm olmak üzere dört ana hücrel süreçle sıkı bir şekilde bağlantılı olan önemli bir fizyolojik olaydır. Hücreden hücreye ve hücreden hücre dışı matrikse adezyon, embriyo ve gelişmekte olan hücrelerin sosyal davranışını düzenler. Kanserde, hücre-hücre ve hücre-matriks bağlantı moleküllerinin işlevi ve miktarındaki değişiklikler kanser gelişimi ve metastaz ile ilişkilidir (Thiery, 2003).

Kanser hücrelerinde normal hücelere göre hücre-hücre ve hücre-matris iletişimleri daha düzensizdir (Baba ve Cătoi, 2007). Maynadier ve arkadaşları östrojenlerin, meme kanserinde ER α yoluyla desmozom oluşumunu indükleyerek hücre-hücre tutunmasını artırdığını ileri sürmüşlerdir (Maynadier vd., 2012).

Thompson ve arkadaşları meme kanser hücrelerinde yaptıkları bir çalışmada, östrojen uygulaması yapılan östrojen reseptör negatif MDA-MB-231 hücrelerinde tutunmada bir fark saptayamamışlardır (Thompson vd., 1989). Ptak ve arkadaşları yumurtalık kanseri üzerine yaptığı bir çalışmada östrojeninin N-kaderin ekspresyonunu aktive ettiğini bildirmişlerdir (Ptak, Hoffmann, Gruca ve Barc, 2014). Çalışmamızın sonuçlarına göre östrojen uygulaması ER+ meme kanseri MCF-7 ve yumurtalık kanseri OVCAR-3 hücrelerinde tutunmayı artırırken ER- meme kanseri MDA-MB-231 ve yumurtalık kanseri UWB1.289 hücrelerinde östrojen uygulaması hücre adezyonu açısından bir fark oluşturmadı. Hücrelerde siCCAT2 uygulaması ise adezyonu azalttı.

Meme ve yumurtalık kanserinde CCAT2 ve E2'nin hücrelerde çoğalmayı ve canlılığı önemli ölçüde artırdığı gözlenmiştir (Caia vd., 2016; J.-Y. Ho vd., 2016; Hua vd., 2018; Maleki vd., 2015; C.-Y. Wang vd., 2015). Zhao ve arkadaşlarının küçük hücreli akciğer kanseri üzerine yaptıkları bir araştırmada CCAT2 ekspresyonlarının bu kanser türünde aşırı eksprese edildiğini ve tümör supressör olan p21 ifadesininin azaldığını rapor etmişlerdir. Yine aynı araştırmada CCAT2'nin spesifik siRNA ile susturulmasıyla p21 ifadesinin arttığını, hücre canlılığı ve invazyonunun azaldığını bildirmişlerdir (Zhao vd., 2017). Wu ve arkadaşları CCAT2'nin, rahim ağzı kanseri hücrelerinde canlılığı ve çoğalmayı artırdığını vurgulamışlardır (Le Wu vd., 2016). Meme ve yumurtalık kanserlerinde de CCAT2'nin spesifik siRNA ile susturulması hücre canlılığı azaltır (Cai vd., 2015; Caia vd., 2016).

Çalışmamıza göre ER+ meme ve yumurtalık kanseri hücrelerinde E2 uygulaması canlılığı artırırken, siCCAT2 hem ER+ hem de ER- hücrelerde canlılığı azalttı.

Apoptoza karşı direnç, tümörigenez ile yakından bağlantılıdır ve genel olarak kanserin ilerlemesine neden olan en önemli faktörlerden biri olarak kabul edilir. Östrojen meme kanser hücrelerinde apoptoza karşı direnç kazandırır (J.-Y. Ho vd., 2016). Wang ve arkadaşları yaptıkları çalışmada östrojenin MCF-7 hücrelerinin

apoptoza girmesini engellediğini savunmuşlardır (Wang ve Phang, 1995). Ayrıca Matthew ve arkadaşları tarafından yapılmış bir çalışmada dışarıdan verilen östrojenin MCF-7 hücrelerinin apoptozdan kaçabilmesine yardımcı olabileceğini ileri sürmüşlerdir (Matthew, Tang ve Bridgette, 1999). MDA-MB-231 hücreleri ER- olup hücrelerin çoğalmasında E2'nin önemi yoktur. Teixeira ve arkadaşları MDA-MB-231 hücrelerinde E2'nin varlığında apoptozu düzenleyen Bcl-2 proteinin ekspresyonunda değişim olmadığını saptamışlardır (Perillo, Sasso, Abbondanza ve Palumbo, 2000; Teixeira, Reed ve Pratt, 1995).

Ptak ve arkadaşları E2'nin yumurtalık kanserinde ERK1/2 yolunu aktive ederek kaspaz-3 aktivitesini inhibe ettiğini ve anti- apoptotik etki gösterdiğini açıklamışlardır (Ptak, Rak-Mardyla ve Gregoraszcuk, 2013).

Zhou ve arkadaşları hepatosellüler karsinomada CCAT2'nin aşırı ekspresyonunun, hücre çoğalmasını önemli ölçüde artırdığını ve apoptozu inhibe ettiğini belirlemişlerdir (Zhou vd., 2016).

Wu ve arkadaşları CCAT2'nin meme kanserinde yüksek oranda ifade edildiğini belirtmişlerdir. CCAT2'nin inaktive edilmesi, TGF β sinyal yolunu düzenleyerek meme kanseri hücrelerinde çoğalmayı ve invazyonu inhibe ederken, apoptozu teşvik etmektedir (Wu vd., 2017). Hua ve arkadaşları EOC hücrelerinde CCAT2'nin susturulmasının proliferasyonu azaltırken apoptozu artırdığını rapor etmişlerdir. Bu çalışmada CCAT2'nin tümör supressör olan miR-424 için miRNA süngerisi olarak görev yaptığını bildirmişlerdir (Hua vd., 2018). Çalışmamızdan elde edilen veriler göz önünde bulundurulduğunda östrojenin ER+ MCF-7 ve OVCAR-3 hücrelerinin çoğalmasında ve apoptozunda etkili olduğu gözlemlendi. siCCAT2 hem ER+ hem de ER- hücrelerde apoptoza giren hücre miktarını artırdı.

Bu kısımda sözü geçen çalışmalar göz önüne alınarak, Wnt/ β -katenin, PI3K/ AKT, ERK/MAPK, ERK1/2, TGF β sinyal yolları, tümör supressör genleri ve miRNA ekspresyon seviyelerinin östrojenin ortamda varlığı veya yokluğu ile ER'nin durumunun CCAT2 ile ilişkili olabileceğini düşünmekteyiz. Bu nedenle ER+ ve ER- meme ve yumurtalık kanserinde CCAT2 umut verici terapötik hedef olarak hizmet edebilir. Çalışmamızın sonuçlarına bakılarak CCAT2'nin ER- kanserlerde daha etkili olabileceği kanaatine ulaşılmıştır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

CCAT2'nin meme ve yumurtalık kanserinde aşırı eksprese edilerek kanserin ilerlemesini, metastatik özellik kazanmasını, çoğalmanın artmasını ve hücrelerin apoptozdan kaçmasını sağladığı bilinmektedir. CCAT2'nin susturulması bu etkileşimleri tersine çevirir. Bu tez çalışmasında ER+ ve ER- meme ve yumurtalık kanseri hücrelerine dışarıdan uygulanan östrojenin CCAT2 ekspresyonu üzerine etkisi ve CCAT2 susturulmasının kanser hücrelerinin davranışları üzerine olan etkileri araştırıldı.

Tezin sonuçları maddeler halinde özetlendiğinde;

1. Östrojen uygulamasının ER+ meme kanseri MCF-7 ve yumurtalık kanseri OVCAR-3 hücrelerinde CCAT2'nin gen ekspresyon seviyelerini arttırdığı görüldü.

2. Spesifik siRNA ile susturulan CCAT2'nin gen ekspresyon seviyeleri ER+ ve ER- meme ve yumurtalık kanseri hücrelerinde azaldığı görüldü.

3. Östrojen uygulaması ER+ meme kanseri ve yumurtalık kanseri hücrelerinde çoğalma, canlılık ve adezyonu artırırken hücrelerin apoptozunu azalttığı belirlendi.

4. Östrojen uygulanan ER+ meme ve yumurtalık kanseri hücreleri östrojen uygulanmayan ER+ meme ve yumurtalık kanseri hücrelerine göre siCCAT2'den daha az etkilendi.

5. Östrojen uygulaması yapılan ve yapılmayan siCCAT2'nin susturulduğu ER+ meme ve yumurtalık kanseri hücrelerinde çoğalma, canlılık ve apoptoz açısından siCCAT2'nin gösterdiği etkiler ER- MDA-MB-231 meme ve UWB1.289 yumurtalık kanseri hücrelerine göre daha azdı.

Çalışmamızdan elde edilen sonuçlara göre CCAT2'nin susturulması, östrojen varlığı ile yokluğunun yanı sıra ER'nin hücrelerde bulunup bulunmamasına göre de çoğalma, canlılık ve apoptoz açısından hücrelerde farklılıklara neden oldu. Östrojen duyarlı kanser hücrelerinde östrojen ve ER'nin CCAT2 ile olan moleküler etkileşimlerinin keşfedilmesi için yapılacak detaylı çalışmalara ihtiyaç vardır. CCAT2'nin farklı kanserlerdeki hücre sinyal yollarında ER reseptörünün varlığı ve yokluğuna bağlı davranışlarının aydınlatılması ile yeni bir terapötik ajan olarak değerlendirilmesinin mümkün olabileceğini düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Agrawal, N., Dasaradhi, P., Mohmmmed, A., Malhotra, P., Bhatnagar, R. K., & Mukherjee, S. K. (2003). RNA interference: biology, mechanism, and applications. *Microbiology and molecular biology reviews*, 67(4), 657-685.
- Akça, T., Altun, U., Apaydın, D., Polat, A., & Aydın, S. (2006). Nadir görülen bir lezyon: Erkek meme kanseri: Olgu sunumu. *Meme sağlığı dergisi*, 2(1), 37-39.
- Alsop, K., Fereday, S., Meldrum, C., DeFazio, A., Emmanuel, C., George, J., . . . Stewart, C. (2012). BRCA mutation frequency and patterns of treatment response in BRCA mutation-positive women with ovarian cancer: a report from the Australian Ovarian Cancer Study Group. *Journal of Clinical Oncology*, 30(21), 2654.
- Ardekani, A. M., & Naeini, M. M. (2010). The role of microRNAs in human diseases. *Avicenna journal of medical biotechnology*, 2(4), 161.
- Auranen, A., Song, H., Waterfall, C., DiCioccio, R. A., Kuschel, B., Kjaer, S. K., . . . Whittemore, A. S. (2005). Polymorphisms in DNA repair genes and epithelial ovarian cancer risk. *International journal of cancer*, 117(4), 611-618.
- Aydıntuğ, S. (2004). Meme kanserinde erken tanı. *Sted*, 13(6), 226-228.
- Baba, A., & Cătoi, C. (2007). Bone and joint tumors. *Comparative oncology*. Bucharest, Romania: The Publishing House of the Romanian Academy, 6.1-6.14.
- Balatti, V., Nigita, G., Veneziano, D., Drusco, A., Stein, G. S., Messier, T. L., . . . Liu, C.-g. (2017). tsRNA signatures in cancer. *Proceedings of the national academy of sciences*, 114(30), 8071-8076.
- Bamezai, S., Rawat, V. P., & Buske, C. (2012). Concise review: The Piwi-piRNA axis: pivotal beyond transposon silencing. *Stem Cells*, 30(12), 2603-2611.
- Bardin, A., Hoffmann, P., Boulle, N., Katsaros, D., Vignon, F., Pujol, P., & Lazennec, G. (2004). Involvement of estrogen receptor β in ovarian carcinogenesis. *Cancer Research*, 64(16), 5861-5869.
- Biondi, B., Filetti, S., & Schlumberger, M. (2005). Thyroid-hormone therapy and thyroid cancer: a reassessment. *Nature clinical practice Endocrinology & metabolism*, 1(1), 32-40.
- Braun, C. A., & Anderson, C. M. (2007). *Pathophysiology: functional alterations in human health*: Lippincott Williams & Wilkins.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM EDİYOR)

- Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R. L., Torre, L. A., & Jemal, A. (2018). Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: a cancer journal for clinicians*, 68(6), 394-424.
- Bulut, N., & Altundag, K. (2015). Does estrogen receptor determination affect prognosis in early stage breast cancers? *International journal of clinical and experimental medicine*, 8(11), 21454.
- Burd, C. E., Jeck, W. R., Liu, Y., Sanoff, H. K., Wang, Z., & Sharpless, N. E. (2010). Expression of linear and novel circular forms of an INK4/ARF-associated non-coding RNA correlates with atherosclerosis risk. *PLoS Genet*, 6(12), e1001233.
- Cai, Y., He, J., & Zhang, D. (2015). Long noncoding RNA CCAT2 promotes breast tumor growth by regulating the Wnt signaling pathway. *OncoTargets and therapy*, 8, 2657.
- Caia, Y., He, J., & Zhang, D. (2016). Suppression of long non-coding RNA CCAT2 improves tamoxifen-resistant breast cancer cells' response to tamoxifen. *Molecular Biology*, 50(5), 725-730.
- Cailleau, R., Olivé, M., & Cruciger, Q. V. (1978). Long-term human breast carcinoma cell lines of metastatic origin: preliminary characterization. *In vitro*, 14(11), 911-915.
- Calin, G. A., Dumitru, C. D., Shimizu, M., Bichi, R., Zupo, S., Noch, E., . . . Rai, K. (2002). Frequent deletions and down-regulation of micro-RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. *Proceedings of the national academy of sciences*, 99(24), 15524-15529.
- Cassanelli, S., Louis, J., & Seigneurin, D. (1995). Progesterone receptor heterogeneity in MCF-7 cell subclones is related to clonal origin and kinetics data. *Tumor biology*, 16(4), 222-229.
- Cengiz, A. (2006). İn Situ Meme Kanserinde Cerrahi Tedavi. Paper presented at the İ. Ü. Cerrahpafla Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, İstanbul.
- Cheetham, S., Gruhl, F., Mattick, J., & Dinger, M. (2013). Long noncoding RNAs and the genetics of cancer. *British journal of cancer*, 108(12), 2419-2425.
- Chen, G. G., Zeng, Q., & Tse, G. M. (2008). Estrogen and its receptors in cancer. *Medicinal research reviews*, 28(6), 954-974.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM EDİYOR)

- Chen, S., Wu, H., Lv, N., Wang, H., Wang, Y., Tang, Q., . . . Sun, C. (2016). LncRNA CCAT2 predicts poor prognosis and regulates growth and metastasis in small cell lung cancer. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 82, 583-588.
- Cheng, J., Deng, H., Xiao, B., Zhou, H., Zhou, F., Shen, Z., & Guo, J. (2012). piR-823, a novel non-coding small RNA, demonstrates in vitro and in vivo tumor suppressive activity in human gastric cancer cells. *Cancer letters*, 315(1), 12-17.
- Coburn, S., Bray, F., Sherman, M. E., & Trabert, B. (2017). International patterns and trends in ovarian cancer incidence, overall and by histologic subtype. *International journal of cancer*, 140(11), 2451-2460.
- Collins, K., Jacks, T., & Pavletich, N. P. (1997). The cell cycle and cancer. *Proceedings of the national academy of sciences*, 94(7), 2776-2778.
- Colvin, C. W., & Abdullatif, H. (2013). Anatomy of female puberty: the clinical relevance of developmental changes in the reproductive system. *Clinical anatomy*, 26(1), 115-129.
- Cooley, D. M., Beranek, B. C., Schlittler, D. L., Glickman, N. W., Glickman, L. T., & Waters, D. J. (2002). Endogenous gonadal hormone exposure and bone sarcoma risk. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, 11(11), 1434-1440.
- DelloRusso, C., Welch, P. L., Wang, W., Garcia, R. L., King, M.-C., & Swisher, E. M. (2007). Functional characterization of a novel BRCA1-null ovarian cancer cell line in response to ionizing radiation. *Molecular Cancer Research*, 5(1), 35-45.
- Deng, X., Zhao, Y., Wu, X., & Song, G. (2017). Upregulation of CCAT2 promotes cell proliferation by repressing the P15 in breast cancer. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 91, 1160-1166.
- Dhanoa, J. K., Sethi, R. S., Verma, R., Arora, J. S., & Mukhopadhyay, C. S. (2018). Long non-coding RNA: its evolutionary relics and biological implications in mammals: a review. *Journal of animal science and technology*, 60(1), 25.
- Dong, X.-Y., Guo, P., Boyd, J., Sun, X., Li, Q., Zhou, W., & Dong, J.-T. (2009). Implication of snoRNA U50 in human breast cancer. *Journal of genetics and genomics*, 36(8), 447-454.
- Dong, X.-Y., Rodriguez, C., Guo, P., Sun, X., Talbot, J. T., Zhou, W., . . . Kibel, A. S. (2008). SnoRNA U50 is a candidate tumor-suppressor gene at 6q14.3 with a mutation associated with clinically significant prostate cancer. *Human molecular genetics*, 17(7), 1031-1042.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM EDİYOR)

- Doubeni, C. A., Doubeni, A. R., & Myers, A. E. (2016). Diagnosis and management of ovarian cancer. *American family physician*, 93(11), 937-944.
- Eberhart, C. G., & Burger, P. C. (2003). Anaplasia and grading in medulloblastomas. *Brain pathology*, 13(3), 376-385.
- Elbashir, S. M., Harborth, J., Lendeckel, W., Yalcin, A., Weber, K., & Tuschl, T. (2001). Duplexes of 21-nucleotide RNAs mediate RNA interference in cultured mammalian cells. *Nature*, 411(6836), 494-498.
- Erickson, B. K., Conner, M. G., & Landen Jr, C. N. (2013). The role of the fallopian tube in the origin of ovarian cancer. *American journal of obstetrics and gynecology*, 209(5), 409-414.
- Fehrmann, R. S., Li, X.-y., Van Der Zee, A. G., De Jong, S., Te Meerman, G. J., De Vries, E. G., & Crijns, A. P. (2007). Profiling studies in ovarian cancer: a review. *The oncologist*, 12(8), 960-966.
- Ferlay, J., Soerjomataram, I., Dikshit, R., Eser, S., Mathers, C., Rebelo, M., . . . Bray, F. (2015). Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *International journal of cancer*, 136(5), E359-E386.
- Group, E. C. W. (2004). Hormones and breast cancer. *Human Reproduction Update*, 10(4), 281-293.
- Guisse, T. A. (1997). Parathyroid hormone-related protein and bone metastases. *Cancer: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society*, 80(S8), 1572-1580.
- Gupta, R. A., Shah, N., Wang, K. C., Kim, J., Horlings, H. M., Wong, D. J., . . . Rinn, J. L. (2010). Long non-coding RNA HOTAIR reprograms chromatin state to promote cancer metastasis. *Nature*, 464(7291), 1071-1076.
- Guttman, M., Amit, I., Garber, M., French, C., Lin, M. F., Feldser, D., . . . Cassady, J. P. (2009). Chromatin signature reveals over a thousand highly conserved large non-coding RNAs in mammals. *Nature*, 458(7235), 223-227.
- Güneş, H. V. (2013). *Moleküler Hücre Biyolojisi: İstanbul Tıp Kitabevi*.
- Hamilton, A. J., & Baulcombe, D. C. (1999). A species of small antisense RNA in posttranscriptional gene silencing in plants. *Science*, 286(5441), 950-952.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM EDİYOR)

- Hamilton, T. C., Young, R. C., McKoy, W. M., Grotzinger, K. R., Green, J. A., Chu, E. W., . . . Ozols, R. F. (1983). Characterization of a human ovarian carcinoma cell line (NIH: OVCAR-3) with androgen and estrogen receptors. *Cancer Research*, 43(11), 5379-5389.
- Harrington, W. R., Kim, S. H., Funk, C. C., Madak-Erdogan, Z., Schiff, R., Katzenellenbogen, J. A., & Katzenellenbogen, B. S. (2006). Estrogen dendrimer conjugates that preferentially activate extranuclear, nongenomic versus genomic pathways of estrogen action. *Molecular endocrinology*, 20(3), 491-502.
- Henderson, B. E., & Feigelson, H. S. (2000). Hormonal carcinogenesis. *Carcinogenesis*, 21(3), 427-433.
- Ho, J.-Y., Chang, F.-W., Huang, F. S., Liu, J.-M., Liu, Y.-P., Chen, S.-P., . . . Hsu, R.-J. (2016). Estrogen enhances the cell viability and motility of breast cancer cells through the ER α - Δ Np63-Integrin β 4 signaling pathway. *PloS one*, 11(2), e0148301.
- Ho, S.-M. (2003). Estrogen, progesterone and epithelial ovarian cancer. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 1(1), 73.
- Holliday, D. L., & Speirs, V. (2011). Choosing the right cell line for breast cancer research. *Breast cancer research*, 13(4), 1-7.
- Honda, S., Loher, P., Shigematsu, M., Palazzo, J. P., Suzuki, R., Imoto, I., . . . Kirino, Y. (2015). Sex hormone-dependent tRNA halves enhance cell proliferation in breast and prostate cancers. *Proceedings of the national academy of sciences*, 112(29), E3816-E3825.
- Hormones and cancer. (2020). Retrieved from <https://www.edcan.org.au/edcan-learning-resources/supporting-resources/biology-of-cancer/defining-cancer/hormones>
- Howell, A., Anderson, A. S., Clarke, R. B., Duffy, S. W., Evans, D. G., Garcia-Closas, M., . . . Harvie, M. N. (2014). Risk determination and prevention of breast cancer. *Breast Cancer Research*, 16(5), 446.
- Hu, H., Chen, Q., & Ding, S. (2018). LncRNA LINC01116 competes with miR-145 for the regulation of ESR1 expression in breast cancer. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 22(7), 1987-1993.
- Hua, F., Li, C.-H., Chen, X.-G., & Liu, X.-P. (2018). Long noncoding RNA CCAT2 knockdown suppresses tumorous progression by sponging miR-424 in epithelial ovarian cancer. *Oncology Research Featuring Preclinical and Clinical Cancer Therapeutics*, 26(2), 241-247.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM EDİYOR)

- Huarte, M., Guttman, M., Feldser, D., Garber, M., Koziol, M. J., Kenzelmann-Broz, D., . . . Rabani, M. (2010). A large intergenic noncoding RNA induced by p53 mediates global gene repression in the p53 response. *cell*, 142(3), 409-419.
- Hutchinson, L. (2010). Challenges, controversies, breakthroughs. *Nature reviews clinical oncology*, 7(12), 669-670.
- Karey, K. P., & Sirbasku, D. A. (1988). Differential responsiveness of human breast cancer cell lines MCF-7 and T47D to growth factors and 17 β -estradiol. *Cancer Research*, 48(14), 4083-4092.
- Kawakami, T., Zhang, C., Taniguchi, T., Kim, C. J., Okada, Y., Sugihara, H., . . . Okamoto, K. (2004). Characterization of loss-of-inactive X in Klinefelter syndrome and female-derived cancer cells. *Oncogene*, 23(36), 6163-6169.
- Keskin, S., & Saip, P. (2011). İnflamatuvar meme kanseri. *Türk Onkoloji Dergisi*, 26(2), 94-99. doi:10.5505/tjoncol.2011.422
- Key, T. J. (1995). Hormones and cancer in humans. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 333(1-2), 59-67.
- Kim, J., & Oktay, K. (2013). Baseline E 2 levels are higher in BRCA2 mutation carriers: a potential target for prevention? *Cancer Causes & Control*, 24(3), 421-426.
- Kroeger Jr, P. T., & Drapkin, R. (2017). Pathogenesis and heterogeneity of ovarian cancer. *Current opinion in obstetrics & gynecology*, 29(1), 26.
- Kung, J. T., Colognori, D., & Lee, J. T. (2013). Long noncoding RNAs: past, present, and future. *Genetics*, 193(3), 651-669.
- Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG). (2014). Retrieved from https://www.kegg.jp/dbget-bin/www_bget?hsa04913
- Labrie, F. (2008). Extragonadal synthesis of sex steroids: intracrinology.
- Law, P. T.-Y., Qin, H., Ching, A. K.-K., Lai, K. P., Co, N. N., He, M., . . . Wong, N. (2013). Deep sequencing of small RNA transcriptome reveals novel non-coding RNAs in hepatocellular carcinoma. *Journal of hepatology*, 58(6), 1165-1173.
- Lazennec, G., Bresson, D., Lucas, A., Chauveau, C., & Vignon, F. (2001). ER β inhibits proliferation and invasion of breast cancer cells. *Endocrinology*, 142(9), 4120-4130.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM EDİYOR)

- Le Wu, L. J., Zhang, W., & Zhang, L. (2016). Roles of long non-coding RNA CCAT2 in cervical cancer cell growth and apoptosis. *Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research*, 22, 875.
- Lee, R. C., Feinbaum, R. L., & Ambros, V. (1993). The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *cell*, 75(5), 843-854.
- Lee, Y. S., Shibata, Y., Malhotra, A., & Dutta, A. (2009). A novel class of small RNAs: tRNA-derived RNA fragments (tRFs). *Genes & development*, 23(22), 2639-2649.
- Leygue, E., Dotzlaw, H., Watson, P. H., & Murphy, L. C. (1999). Expression of the steroid receptor RNA activator in human breast tumors. *Cancer Research*, 59(17), 4190-4193.
- Li, H.-H., Zhao, Y.-J., Li, Y., Dai, C.-F., Jobe, S. O., Yang, X.-S., . . . Zheng, J. (2014). Estradiol 17 β and its metabolites stimulate cell proliferation and antagonize ascorbic acid-suppressed cell proliferation in human ovarian cancer cells. *Reproductive Sciences*, 21(1), 102-111.
- Li, H., Yu, B., Li, J., Su, L., Yan, M., Zhu, Z., & Liu, B. (2014). Overexpression of lncRNA H19 enhances carcinogenesis and metastasis of gastric cancer. *Oncotarget*, 5(8), 2318.
- Li, Y., Jiang, B., Wu, X., Huang, Q., Chen, W., Zhu, H., . . . Huang, G. (2018). Long non-coding RNA MIAT is estrogen-responsive and promotes estrogen-induced proliferation in ER-positive breast cancer cells. *Biochemical and biophysical research communications*, 503(1), 45-50.
- Li, Y., Li, C., Li, D., Yang, L., Jin, J., & Zhang, B. (2019). lncRNA KCNQ1OT1 enhances the chemoresistance of oxaliplatin in colon cancer by targeting the miR-34a/ATG4B pathway. *OncoTargets and therapy*, 12, 2649.
- Liang, J., & Shang, Y. (2013). Estrogen and cancer. *Annual review of physiology*, 75, 225-240.
- Ling, H., Spizzo, R., Atlasi, Y., Nicoloso, M., Shimizu, M., Redis, R. S., . . . Guo, Z. (2013). CCAT2, a novel noncoding RNA mapping to 8q24, underlies metastatic progression and chromosomal instability in colon cancer. *Genome research*, 23(9), 1446-1461.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM EDİYOR)

- Liu, X., Wen, J., Wang, H., & Wang, Y. (2018). Long non-coding RNA LINC00460 promotes epithelial ovarian cancer progression by regulating microRNA-338-3p. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 108, 1022-1028.
- Loyer, X., Vion, A.-C., Tedgui, A., & Boulanger, C. M. (2014). Microvesicles as cell–cell messengers in cardiovascular diseases. *Circulation research*, 114(2), 345-353.
- Lu, D., Luo, P., Wang, Q., Ye, Y., & Wang, B. (2017). lncRNA PVT1 in cancer: A review and meta-analysis. *Clin Chim Acta*, 474, 1-7. doi:10.1016/j.cca.2017.08.038
- Lumachi, F., Santeufemia, D. A., & Basso, S. M. (2015). Current medical treatment of estrogen receptor-positive breast cancer. *World journal of biological chemistry*, 6(3), 231.
- Lux, M. P., Fasching, P. A., & Beckmann, M. W. (2006). Hereditary breast and ovarian cancer: review and future perspectives. *Journal of molecular medicine*, 84(1), 16-28.
- Ma, L., Liu, Y., Geng, C., Qi, X., & Jiang, J. (2013). Estrogen receptor β inhibits estradiol-induced proliferation and migration of MCF-7 cells through regulation of mitofusin 2 Corrigendum in/10.3892/ijo. 2016.3695. *International journal of oncology*, 42(6), 1993-2000.
- Maleki, J., Nourbakhsh, M., Shabani, M., Korani, M., Nourazarian, S. M., Dahaghi, M. R. O., & Moghadasi, M. H. (2015). 17 β -estradiol stimulates generation of reactive species oxygen and nitric oxide in ovarian adenocarcinoma cells (OVCAR 3). *Iranian journal of cancer prevention*, 8(3).
- Matthew, E., Tang, Y., & Bridgette, M. (1999). Effect of environmental estrogens on tumor necrosis factor-mediated apoptosis in MCF-7 cell. *Carcinogenesis*, 20(11), 2057-2061.
- Matulonis, U. A., Sood, A. K., Fallowfield, L., Howitt, B. E., Sehouli, J., & Karlan, B. Y. (2016). Ovarian cancer. *Nature Reviews Disease Primers*, 2(1), 1-22.
- Maynadier, M., Chambon, M., Basile, I., Gleizes, M., Nirde, P., Gary-Bobo, M., & Garcia, M. (2012). Estrogens promote cell–cell adhesion of normal and malignant mammary cells through increased desmosome formation. *Molecular and cellular endocrinology*, 364(1-2), 126-133.
- Mei, Y., Liao, J., Shen, J., Yu, L., Liu, B., Liu, L., . . . Jiang, Z. (2012). Small nucleolar RNA 42 acts as an oncogene in lung tumorigenesis. *Oncogene*, 31(22), 2794-2804.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM EDİYOR)

- Mitra, A. K., Davis, D. A., Tomar, S., Roy, L., Gurler, H., Xie, J., . . . Liu, Y. (2015). In vivo tumor growth of high-grade serous ovarian cancer cell lines. *Gynecologic oncology*, 138(2), 372-377.
- Momenimovahed, Z., Tiznobaik, A., Taheri, S., & Salehiniya, H. (2019). Ovarian cancer in the world: epidemiology and risk factors. *International journal of women's health*, 11, 287.
- Mongelli, A., Martelli, F., Farsetti, A., & Gaetano, C. (2019). The dark that matters: long non-coding RNAs as master regulators of cellular metabolism in non-communicable diseases. *Frontiers in Physiology*, 10, 369.
- Mungenast, F., & Thalhammer, T. (2014). Estrogen biosynthesis and action in ovarian cancer. *Frontiers in endocrinology*, 5, 192.
- Murphy, E. (2011). Estrogen signaling and cardiovascular disease. *Circulation research*, 109(6), 687-696.
- Naeini, M. M., & Ardekani, A. M. (2009). Noncoding RNAs and cancer. *Avicenna journal of medical biotechnology*, 1(2), 55.
- Narod, S. A., Risch, H., Moslehi, R., Dørum, A., Neuhausen, S., Olsson, H., . . . Bishop, S. (1998). Oral contraceptives and the risk of hereditary ovarian cancer. *New England Journal of Medicine*, 339(7), 424-428.
- National Cancer Institute. (2012). Cell Biology and Cancer. Retrieved from https://science.education.nih.gov/supplements/nih_cancer.pdf
- Ng, V. V. (2014). Clinical Review: Breast cancer. Retrieved from http://www.gponline.com/clinical-review-breast-cancer/cancer/womens/article/1316469#disqus_thread
- Ni, M., Chen, Y., Lim, E., Wimberly, H., Bailey, S. T., Imai, Y., . . . Brown, M. (2011). Targeting androgen receptor in estrogen receptor-negative breast cancer. *Cancer cell*, 20(1), 119-131.
- NIH:OVCAR-3 [OVCAR3] Retrieved from https://www.lgcstandards-atcc.org/products/all/HTB-161.aspx?geo_country=tr#characteristics
- Pasquinelli, A. E., Reinhart, B. J., Slack, F., Martindale, M. Q., Kuroda, M. I., Maller, B., . . . Müller, P. (2000). Conservation of the sequence and temporal expression of let-7 heterochronic regulatory RNA. *Nature*, 408(6808), 86-89.
- Pearce, C. L., Chung, K., Pike, M. C., & Wu, A. H. (2009). Increased ovarian cancer risk associated with menopausal estrogen therapy is reduced by adding a progestin. *Cancer*, 115(3), 531-539.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM EDİYOR)

- Peng, Y., Li, J., & Zhu, L. (2019). Cancer and non-coding RNAs. In *Nutritional Epigenomics* (pp. 119-132): Elsevier.
- Perillo, B., Sasso, A., Abbondanza, C., & Palumbo, G. (2000). 17 β -Estradiol inhibits apoptosis in MCF-7 cells, inducing bcl-2 expression via two estrogen-responsive elements present in the coding sequence. *Molecular and cellular biology*, 20(8), 2890-2901.
- Perry, J. K., Liu, D.-X., Wu, Z.-S., Zhu, T., & Lobie, P. E. (2013). Growth hormone and cancer: an update on progress. *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity*, 20(4), 307-313.
- Poliseno, L., Salmena, L., Zhang, J., Carver, B., Haveman, W. J., & Pandolfi, P. P. (2010). A coding-independent function of gene and pseudogene mRNAs regulates tumour biology. *Nature*, 465(7301), 1033-1038.
- Prensner, J. R., & Chinnaiyan, A. M. (2011). The emergence of lncRNAs in cancer biology. *Cancer discovery*, 1(5), 391-407.
- Ptak, A., Hoffmann, M., Gruca, I., & Barć, J. (2014). Bisphenol A induce ovarian cancer cell migration via the MAPK and PI3K/Akt signalling pathways. *Toxicology letters*, 229(2), 357-365.
- Ptak, A., Rak-Mardyła, A., & Gregoraszczyk, E. L. (2013). Cooperation of bisphenol A and leptin in inhibition of caspase-3 expression and activity in OVCAR-3 ovarian cancer cells. *Toxicology in Vitro*, 27(6), 1937-1943.
- Purdie, D. M., Bain, C. J., Siskind, V., Webb, P. M., & Green, A. C. (2003). Ovulation and risk of epithelial ovarian cancer. *International journal of cancer*, 104(2), 228-232.
- Rasool, M., Malik, A., Zahid, S., Ashraf, M. A. B., Qazi, M. H., Asif, M., . . . Jamal, M. S. (2016). Non-coding RNAs in cancer diagnosis and therapy. *Non-coding RNA research*, 1(1), 69-76.
- Redis, R. S., Sieuwerts, A. M., Look, M. P., Tudoran, O., Ivan, C., Spizzo, R., . . . Ling, H. (2013). CCAT2, a novel long non-coding RNA in breast cancer: expression study and clinical correlations. *Oncotarget*, 4(10), 1748.
- Rediscovering Biology. (2003). *Cell biology and Cancer*. Retrieved from https://www.learner.org/courses/biology/support/8_cancer.pdf
- Redon, S., Reichenbach, P., & Lingner, J. (2010). The non-coding RNA TERRA is a natural ligand and direct inhibitor of human telomerase. *Nucleic acids research*, 38(17), 5797-5806.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM EDİYOR)

- Reid, B. M., Permuth, J. B., & Sellers, T. A. (2017). Epidemiology of ovarian cancer: a review. *Cancer biology & medicine*, 14(1), 9.
- Ricke, W. A., Ishii, K., Ricke, E. A., Simko, J., Wang, Y., Hayward, S. W., & Cunha, G. R. (2006). Steroid hormones stimulate human prostate cancer progression and metastasis. *International journal of cancer*, 118(9), 2123-2131.
- Rubin, E., & Reisner, H. M. (2009). *Essentials of Rubin's pathology*: Lippincott Williams & Wilkins.
- Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü. (2018). *Türkiye Kanser İstatistikleri 2015*
- Retrieved from [https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/kanser-db/istatistik/Turkiye Kanser Istatistikleri 2015.pdf](https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/kanser-db/istatistik/Turkiye_Kanser_Istatistikleri_2015.pdf)
- Saha Roy, S., & Vadlamudi, R. K. (2012). Role of estrogen receptor signaling in breast cancer metastasis. *International journal of breast cancer*, 2012.
- Santen, R. J., Yue, W., & Wang, J.-P. (2015). Estrogen metabolites and breast cancer. *Steroids*, 99, 61-66.
- Sarrazfadeh, S., Geranpayeh, L., Tasharrofi, B., Soudyab, M., Nikpayam, E., Iranpour, M., . . . Ghafouri-Fard, S. (2017). Expression study and clinical correlations of MYC and CCAT2 in breast cancer patients. *Iranian biomedical journal*, 21(5), 303.
- Schildkraut, J. M. (2016). Abstract IA31: Molecular epidemiology of ovarian cancer. In: AACR.
- Schmitt, A. M., & Chang, H. Y. (2016). Long noncoding RNAs in cancer pathways. *Cancer cell*, 29(4), 452-463.
- Schmittgen, T. D., & Livak, K. J. (2008). Analyzing real-time PCR data by the comparative C T method. *Nature protocols*, 3(6), 1101.
- Schönthal, A. H. (2004). Checkpoint Controls and Cancer. Retrieved from <https://www.cancer.org/content/dam/cancer-org/research/cancer-facts-and-statistics/annual-cancer-facts-and-figures/2018/cancer-facts-and-figures-special-section-ovarian-cancer-2018.pdf>
- Secky, L., Svoboda, M., Klameth, L., Bajna, E., Hamilton, G., Zeillinger, R., . . . Thalhammer, T. (2013). The sulfatase pathway for estrogen formation: targets for the treatment and diagnosis of hormone-associated tumors. *Journal of drug delivery*, 2013.
- Seyfried, T. N., & Shelton, L. M. (2010). Cancer as a metabolic disease. *Nutrition & metabolism*, 7(1), 7.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM EDİYOR)

- Soule, H., Vazquez, J., Long, A., Albert, S., & Brennan, M. (1973). A human cell line from a pleural effusion derived from a breast carcinoma. *Journal of the national cancer institute*, 51(5), 1409-1416.
- Suzuki, T., Miki, Y., Fukuda, T., Nakata, T., Moriya, T., & Sasano, H. (2005). Analysis for localization of steroid sulfatase in human tissues. *Methods in enzymology*, 400, 303-316.
- Tanaka, T. (2009). Colorectal carcinogenesis: Review of human and experimental animal studies. *Journal of carcinogenesis*, 8.
- Tao, Z., Shi, A., Lu, C., Song, T., Zhang, Z., & Zhao, J. (2015). Breast cancer: epidemiology and etiology. *Cell biochemistry and biophysics*, 72(2), 333-338.
- Teixeira, C., Reed, J. C., & Pratt, M. C. (1995). Estrogen promotes chemotherapeutic drug resistance by a mechanism involving Bcl-2 proto-oncogene expression in human breast cancer cells. *Cancer research*, 55(17), 3902-3907.
- Thiery, J. P. (2003). Cell adhesion in cancer. *Comptes Rendus Physique*, 4(2), 289-304.
- Thompson, E. W., Katz, D., Shima, T. B., Wakeling, A. E., Lippman, M. E., & Dickson, R. B. (1989). ICI 164,384, a pure antagonist of estrogen-stimulated MCF-7 cell proliferation and invasiveness. *Cancer Research*, 49(24 Part 1), 6929-6934.
- UWB1.289 (ATCC CRL-2945). Retrieved from https://www.lgcstandards-atcc.org/Products/All/CRL-2945.aspx?geo_country=tr#generalinformation
- Vacante, F., Denby, L., Sluimer, J. C., & Baker, A. H. (2019). The function of miR-143, miR-145 and the MiR-143 host gene in cardiovascular development and disease. *Vascular Pharmacology*, 112, 24-30.
- Vermeulen, K., Van Bockstaele, D. R., & Berneman, Z. N. (2003). The cell cycle: a review of regulation, deregulation and therapeutic targets in cancer. *Cell Proliferation*, 36(3), 131-149.
- Wang, C.-Y., Hua, L., Yao, K.-H., Chen, J.-T., Zhang, J.-J., & Hu, J.-H. (2015). Long non-coding RNA CCAT2 is up-regulated in gastric cancer and associated with poor prognosis. *International journal of clinical and experimental pathology*, 8(1), 779.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM EDİYOR)

- Wang, K., Zhu, G., Bao, S., & Chen, S. (2019). Long Non-Coding RNA LINC00511 Mediates the Effects of ESR1 on Proliferation and Invasion of Ovarian Cancer Through miR-424-5p and miR-370-5p. *Cancer Management and Research*, 11, 10807.
- Wang, W.-T., Han, C., Sun, Y.-M., Chen, T.-Q., & Chen, Y.-Q. (2019). Noncoding RNAs in cancer therapy resistance and targeted drug development. *Journal of hematology & oncology*, 12(1), 1-15.
- Webb, P. M., & Jordan, S. J. (2017). Epidemiology of epithelial ovarian cancer. *Best practice & research Clinical obstetrics & gynaecology*, 41, 3-14.
- Weick, E.-M., & Miska, E. A. (2014). piRNAs: from biogenesis to function. *Development*, 141(18), 3458-3471.
- Wentzensen, N., Poole, E. M., Trabert, B., White, E., Arslan, A. A., Patel, A. V., . . . Adami, H.-O. (2016). Ovarian cancer risk factors by histologic subtype: an analysis from the ovarian cancer cohort consortium. *Journal of Clinical Oncology*, 34(24), 2888.
- Whiteman, D. C., Siskind, V., Purdie, D. M., & Green, A. C. (2003). Timing of pregnancy and the risk of epithelial ovarian cancer. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, 12(1), 42-46.
- Widschwendter, M., Rosenthal, A. N., Philpott, S., Rizzuto, I., Fraser, L., Hayward, J., . . . Gayther, S. A. (2013). The sex hormone system in carriers of BRCA1/2 mutations: a case-control study. *The lancet oncology*, 14(12), 1226-1232.
- Wu, Z., Li, Y., Wu, Y., Wang, Y., Nian, W., Wang, L., . . . Wang, D. (2017). Long non-coding RNA CCAT2 promotes the breast cancer growth and metastasis by regulating TGF-beta signaling pathway. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 21(4), 706-714.
- Xie, P., Cao, H., Li, Y., Wang, J., & Cui, Z. (2018). Knockdown of lncRNA CCAT2 inhibits endometrial cancer cells growth and metastasis via sponging miR-216b. *Cancer Biomarkers*, 21(1), 123-133.
- Xin, Y., Li, Z., Zheng, H., Chan, M. T., & Ka Kei Wu, W. (2017). CCAT 2: A novel oncogenic long non-coding RNA in human cancers. *Cell Proliferation*, 50(3), e12342.
- Yang, F., Bi, J., Xue, X., Zheng, L., Zhi, K., Hua, J., & Fang, G. (2012). Up-regulated long non-coding RNA H19 contributes to proliferation of gastric cancer cells. *The FEBS journal*, 279(17), 3159-3165.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM EDİYOR)

- Yang, G., Lu, X., & Yuan, L. (2014). LncRNA: a link between RNA and cancer. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Regulatory Mechanisms*, 1839(11), 1097-1109.
- Yildirim, E., Kirby, J. E., Brown, D. E., Mercier, F. E., Sadreyev, R. I., Scadden, D. T., & Lee, J. T. (2013). Xist RNA is a potent suppressor of hematologic cancer in mice. *cell*, 152(4), 727-742.
- Yin, K. (2011). The Mesenchymal-Like Phenotype of the MDA-MB-231 Cell Line, Breast Cancer - Focusing Tumor Microenvironment, Stem cells and Metastasis, Prof. Mehmet Gunduz (Ed.) doi:DOI: 10.5772/20666
- Yue, W., Yager, J. D., Wang, J.-P., Jupe, E. R., & Santen, R. J. (2013). Estrogen receptor-dependent and independent mechanisms of breast cancer carcinogenesis. *Steroids*, 78(2), 161-170.
- Zhao, Z., Wang, J., Wang, S., Chang, H., Zhang, T., & Qu, J. (2017). LncRNA CCAT2 promotes tumorigenesis by over-expressed Pokemon in non-small cell lung cancer. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 87, 692-697.
- Zhou, N., Si, Z., Li, T., Chen, G., Zhang, Z., & Qi, H. (2016). Long non-coding RNA CCAT2 functions as an oncogene in hepatocellular carcinoma, regulating cellular proliferation, migration and apoptosis. *Oncology letters*, 12(1), 132-138.
- Zou, M., Ling, J., Wu, Q., & Zhang, C. (2018). Long non-coding RNA PVT1 functions as an oncogene in ovarian cancer via upregulating SOX2. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 22(21), 7183-7188.

ÖZGEÇMİŞ

Bireysel Bilgiler

Adı-Soyadı : İbrahim Uğur ÇALIŞ
Doğum tarihi ve yeri : 06.07.1987 / Denizli
Uyruğu : T.C.
Medeni durum : Evli
İletişim adresleri :Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyoloji AD. 26480Eskişehir/Türkiye
E-mail: ugur0620@gmail.com

Eğitim Durumu

Mezun Olduğu İlköğretim: Tevfik İleri İlköğretim Okulu (1994-2001)

Mezun Olduğu Lise: Ankara Kurtuluş Lisesi (2001-2004)

Mezun Olduğu Üniversite: Ankara Üniversitesi

Mezun Olduğu Fakülte: Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü (2006-2011)

Mezuniyet Derecesi: 3.53/ 89.03

Mezun Olduğu Yüksek Lisans Programı: Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Temel Tıp Bilimleri; Tıbbi Biyoloji A.D. (2013-2016)

Yüksek Lisans Tez Başlığı ve Tez Danışmanı: “Meme Kanserinin Metastazında Sfingozin 1-Fosfat ve Reseptörlerinin Rolü, Doç. Dr. Didem TURGUT COŞAN

Mezuniyet Derecesi: 4.00/100

Yabancı Dil Bilgisi: İngilizce (ÜDS 2010/86.25, YÖKDİL 2018/82.50)

Bilgisayar: İşletmen (2011)

İlkyardım Eğitmeni (2018)

Mesleki Deneyim

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'nda Araştırma Görevlisi (2013- halen)

YAYINLAR :

SCI, SCI-EXPANDED, SSCI VE AHCI KAPSAMINDAKİ DERGİLERDE YAYINLANMIŞ MAKALE:

1. Soyocak A., Kurt H., Turgut Cosan D., Saydam F., **Calis IU.**, Kolac UK, Ozdemir Koroglu Z., Degirmenci I., Mutlu F., Gunes HV. (2019). Tannic Acid Exhibits Anti-Inflammatory Effects on Formalin-Induced Paw Edema Model of Inflammation in Rats. *Human Experimental Toxicology Human and Experimental Toxicology*, 38(11), 1296-1301. Doi:10.1177/0960327119864154
2. **Calis IU.**, Turgut Cosan D., Mutlu F. (2017). Effects of S1P1 and S1P3 in ER+ and ER- Breast Cancer Cells. *Anticancer Research*, 37, 5469-5475. Doi:10.21873/anticancer.11976
3. **Calis IU.**, Turgut Cosan D., Saydam F., Kolac UK., Soyocak A., Kurt H., Gunes HV., Sahinturk V., Mutlu F., Ozdemir Koroglu Z., Degirmenci I. (2016). The Effects of Monosodium Glutamate and Tannic Acid on Adult Rats. *Iranian Red Crescent Medical Journal*, 18(10), 1-7. Doi: 10.5812/ircmj.37912

ALAN ENDEKSLERİ KAPSAMINDAKİ DERGİLERDE YAYINLANMIŞ MAKALE:

1. **Calis IU.**, Soyocak A., Dal A., Kurt H., Colak E., Turgut Cosan D. (2019). Antioxidative effects of tannic acid, cacao oil and st. john's wort oil on the oxidative stress induced by cadmium in packed human erythrocytes. *Biological Diversity and Conservation*, 12(3), 1-6. Doi: 10.5505/biodicon.2019.76486
2. Turgut Coşan D., **Çalış İU**, Güleç G. (2018). Membran Fosfolipidlerinden Sfingozin-1-Fosfat ve Reseptörlerinin Erektıl Disfonksiyondaki Rolü. *Tıp Fakültesi Klinikleri*, 1 (3), 17-21

ULUSLARARASI BİLİMSEL TOPLANTILARDA SUNULAN VE BİLDİRİ KİTAPLARINDA BASILAN SÖZLÜ BİLDİRİLER:

1. **Calis IU.**, Turgut Cosan D. Investigation of Effect of Sphingosine 1-Phosphate Receptors on MCF 7 and MDA MB 231 Breast Cancer Cells Behavior. *Journal of Cellular Neuroscience and Oxidatif Stress*. 2016;8(1):498.
2. **Calis IU.**, Turgut Cosan D., Metcalfe E. Serum S1P Levels in Breast Cancer Development. 3rd International Congress on Applied Biological Sciences. p.18. 09-12 July 2017, Afyon

ULUSLARARASI BİLİMSEL TOPLANTILARDA SUNULAN VE BİLDİRİ KİTAPLARINDA BASILAN POSTER BİLDİRİLER:

1. Turgut Cosan D., **Calis IU.**, Gulec G. The Role of Sphingosin-1-Phosphate and Receptors in Erectile Dysfunction. 4th International Congress on Applied Biological Sciences. p.215. 03-05 May 2018, Eskisehir
2. **Calis IU.**, Tanrikut C., Kolac UK. Burnout Syndrome in Women Healthcare Sector Workers. 1st International Women Research Symposium. p.221. October 13-14, 2017, Eskisehir
3. Kolac UK., **Calis IU.**, Tanrikut C. Exposure to Mobbing in Women Working at Healthcare. 1st International Women Research Symposium p.212. October 13-14, 2017, Eskisehir
4. Tanrikut C., Kolac UK, **Calis IU.** A Review on Women s Theses Published Between 2011-2016 Dependent on the Institute of Health Sciences at the National Center for Theses. 1st International Women Research Symposium p.265. October 13-14, 2017, Eskisehir
5. Turgut Cosan D., **Calis IU.**, Soyocak A., Dal A., Kurt H., Colak E., Gunes HV. Effects of Tannic Acid, Cacao Oil and St. John's Wort Oil on the Oxidative Stress Induced by Cadmium in Packed Human Red Blood Cells 3rd International Congress on Applied Biological Sciences. p.33. 09-12 July, 2017, Afyon
6. Turgut Cosan D., Soyocak A., **Calis IU.**, Oner C., Metcalfe E., Erkasap SM., Mutlu F. Sphingosine-1-Phosphate (S1P) Receptors in Non-Metastatic and Metastatic Breast Cancer Patients. The European Journal of Human Genetics 2018;26:967-968.
7. Turgut Cosan D., **Calis IU.**, Soyocak A. First Findings: Cooperation of Two Different Cell Membrane Proteins in Breast Cancer. European Journal of Cancer, 2017;1(72):18.
8. **Calis IU.**, Turgut Cosan D., Mutlu F. Sphingosine1-Phosphate, Sphingosine1-Phosphate Receptors (S1P1/S1P3) and Cell Behaviors in Breast Cancer Cell. European Journal of Cancer, 2017;1(72):19.

9. Soyocak A., Kurt H., Ozdemir Koroglu Z., Saydam F., **Calis IU.**, Kolac UK., Turgut Cosan D., Degirmenci I., Mutlu F., Gunes HV. The Relationship Between Tannic Acid and Myeloperoxidase Enzyme Activity in the Inflamed Paw Tissue Formed by Formalin Injection in Rats. 5th International Congress on Cell Membranes and Oxidative Stress Focus on Calcium Signaling and TRP Channels (Cell Membranes and Free Radical Research, 6(1): 345), p.345. September 9–12, 2014, Isparta
10. **Calis IU.**, Turgut Cosan D., Saydam F., Kolac UK., Soyocak A., Ozdemir Koroglu Z., Kurt H., Gunes HV., Mutlu F., Degirmenci I. The Effect of Tannic Acid in the Monosodium Glutamate Induced Oxidative Stress in Rats. 5th International Congress on Cell Membranes and Oxidative Stress Focus on Calcium Signaling and TRP Channels (Cell Membranes and Free Radical Research, 6(1): 377), p.377, September 9–12, 2014, Isparta
11. Bozdayi G., Dinc B., Meral M., Altay A., **Calis IU.**, Dallar Y., Dalgic B., Ahmed K. Genotyping Of Rotaviruses By Nested Rt Pcr Method Between 0-5 Years Old Children in Ankara. 15th Annual Meeting of The European Society for Clinical Virology and Joint Meeting with The European Society For Veterinary Virology p. 195. 4-7 September 2012, Madrid, Spain.
12. Dinc B., Altay A., **Calis IU.**, Ekinci O., Ozer Durmuslu A., Leventoglu OS., Dursun A., Ozkan S., Bozdayi G. HPV DNA and HPV Type 16 Detection in Colon Rektum and Rectosigmoid Adenocancers by Real Time PCR. 15th Annual Meeting of The European Society for Clinical Virology and Joint Meeting with The European Society for Veterinary Virology p.189 4-7 September 2012, Madrid, Spain

ULUSAL BİLİMSEL TOPLANTILARDA SUNULAN VE BİLDİRİ KİTAPLARINDA BASILAN SÖZLÜ BİLDİRİLER:

1. **Çalış İU.**, Turgut Coşan D. Meme Kanseri İnvazyonunda Yeni Yaklaşım: Sfingozin 1-Fosfat Reseptörlerinin Hedeflenmesi. 2. Ulusal Uygulamalı Biyolojik Bilimler Kongresi. s.19. 09-12 Temmuz 2017, Afyon

ULUSAL BİLİMSEL TOPLANTILARDA SUNULAN VE BİLDİRİ KİTAPLARINDA BASILAN POSTER BİLDİRİLER:

1. Turan Ç., Yağcı E., Çalış İU., Erginel MS. KOAH'lı Hastalarda MannoZ Bağlayıcı Lektin (MBL) Gen Polimorfizmi. Türk Toraks Derneği 20. Yıllık Kongresi. s.155-156. 5-9 Nisan 2017, Antalya
2. **Çalış İU.**, Turgut Coşan D., Soyocak A., Kurt H., Çolak E., Güneş HV., Değirmenci İ. İnsan Eritrosit Paketinde H₂O₂ ve Kadmiyum ile İndüklenen Oksidatif Streste Tannik Asit Kakao *Theobroma Cacao* ve Sarı Kantaron *Hypericum Perforatum* Yağının Antioksidatif Etkilerinin Muhtemel Rolünün Araştırılması. s.297. XIV. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi, 27-30 Ekim 2015, Fethiye, Muğla
3. Soyocak A., Kurt H., Ozdemir Koroglu Z., Saydam F., **Çalış İU.**, Kolaç UK., Turgut Coşan D., Değirmenci İ., Mutlu F., Güneş HV. Ödem İnhibisyonunda Tannik Asidin Önemi. 22.Ulusal Biyoloji Kongresi s.692. 23-27 Haziran 2014, Eskişehir
4. **Çalış İU.**, Turgut Coşan D., Saydam F., Kolaç UK., Soyocak A., Ozdemir Koroglu Z., Kurt H., Güneş HV., Mutlu F., Değirmenci İ. Oksidatif Hasara Çin Tuzu ve Tannik Asitin Etkileri. 22. Ulusal Biyoloji Kongresi s.742. 23-27 Haziran 2014, Eskişehir
5. **Çalış İU.**, Turgut Coşan D., Saydam F., Kolaç UK., Soyocak A., Özdemir Köroğlu Z., Kurt H., Güneş HV., Mutlu F., Değirmenci İ. Monosodyum Glutamat Kan Glukozu ve Tannik Asit. XIII. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi s.292. 27-30 Ekim 2013 Kuşadası, Aydın
6. Soyocak A., Kurt H., Özdemir Z., Saydam F., **Çalış İU.**, Kolaç U., Coşan DT., Değirmenci İ., Mutlu F., Güneş HV. Formalin İndüklü Pençe Ödeminde Tannik Asidin Miyeloperoksidaz Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi. XIII. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi. s.293. 27-30 Ekim 2013 Kuşadası, Aydın
7. Bozdayı G., Dinç B., Meral M., Altay A., **Çalış U.**, Yıldız BD., Dalgıç B, Kamruddin A. Ankara'da 0-5 Yaş Arası Çocuklarda Nested RT-PCR Yöntemi İle Rotavirus Genotiplerinin Belirlenmesi. 7. Ulusal Moleküler ve Tanısal Mikrobiyoloji Kongresi s.203. 5-8 Haziran 2012, Ankara

8. Altay A., **Çalış İU.**, Ekinci Ö., Durmuşlu AÖ., Leventoğlu S., Dursun A., Özkan S., Bozdayı G. Real Time PCR Yöntemi Kullanılarak Kolon, Rektum ve Rektosigmoid Bölge Tümörlerinde HPV DNA ve HPV Tip 16 DNA'sının Karşılaştırılması. 7. Ulusal Moleküler ve Tanısal Mikrobiyoloji Kongresi s.299. 5-8 Haziran 2012, Ankara
9. **Çalış İU.**, Altay A., Ekinci Ö., Durmuşlu AÖ., Leventoğlu S., Dursun A., Özkan S., Bozdayı G. Kolon, Rektum ve Rektosigmoid Bölge Tümör Gelişmesinde Human Papilloma Virüsün Rolü Var Mıdır? XXXV. Türk Mikrobiyoloji Kongresi s.314. 3-7 Kasım 2012, Kuşadası, Aydın

BİLİMSEL ETKİNLİKLER

ÖDÜLLER:

1. KOAH Çalışma Grubu Poster Ödülü, Türk Toraks Derneği, 2017

PROJELER:

1. Meme Kanseri Metastazında Sfingozin 1-Fosfat Reseptörleri ve Potasyum Kanallarının İlişkisi, Yükseköğretim Kurumları Tarafından Destekli Bilimsel Araştırma Projesi (Proje Yürütücüsü: Doç. Dr. Didem TURGUT COŞAN, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı), Araştırmacı, (Tamamlandı).

Başlama Tarihi: 10.04.2015

Bitiş Tarihi: 29.09.2017

Proje No: 20151103

Bütçe: 94619.00 TL

2. Nikotin Bağımlılığının Neurexin 3 Gen Polimorfizmi ile İlişkisi, Yükseköğretim Kurumları Tarafından Destekli Bilimsel Araştırma Projesi, (Proje Yürütücüsü: Doç. Dr. Gülcan GÜLEÇ, Psikiyatri Anabilim Dalı), Araştırmacı, (Tamamlandı).

Başlama Tarihi: 25.07.2017

Bitiş Tarihi: 21.12.2018

Proje No: 201711D25

Bütçe: 19853.00 TL

3. Prematür Ejakülasyona Moleküler Yaklaşım: S1P ve Reseptörleri, Yükseköğretim Kurumları Tarafından Destekli Bilimsel Araştırma Projesi, (Proje Yürütücü: Prof. Dr. Didem TURGUT COŞAN, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı), Araştırmacı, (Tamamlandı).

Başlama Tarihi: 12.9.2018

Bitiş Tarihi: 06.03.2020

Proje No: 201811D39

Bütçe: 19989.74 TL

4. Erken Boşalma Etiyolojisinde Gen Polimorfizmleri, Yükseköğretim Kurumları Tarafından Destekli Bilimsel Araştırma Projesi, (Proje Yürütücü: Prof. Dr. Gülcan GÜLEÇ, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı), Araştırmacı, (Tamamlandı).

Başlama Tarihi: 21.12.2018

Bitiş Tarihi: 07.02.2020

Proje No: 201811A220

Bütçe: 29999.46 TL

5. Long RNA CCAT2'nin Östrojen Hormon Duyarlılığı Açısından Etkisinin Meme ve Over Kanser Hücrelerinde İncelenmesi, Yükseköğretim Kurumları Tarafından Destekli Bilimsel Araştırma Projesi, (Proje Yürütücü: Prof. Dr. Didem TURGUT COŞAN, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı), Araştırmacı, (Devam Ediyor).

Başlama Tarihi: 26.11.2018

Bitiş Tarihi:

Proje No: 2018-2280

Bütçe: 29974.70 TL

6. Over kanser hücreleri ile aynı ortamda tutulan meme hücrelerinin karakteristik ve gen düzeyindeki değişimlerinin izlenmesi, Yükseköğretim Kurumları Tarafından Destekli Bilimsel Araştırma Projesi ,(Proje Yürütücü: Prof. Dr. Didem TURGUT COŞAN, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı), Araştırmacı, (Devam Ediyor).

Başlama Tarihi: 26.11.2018

Bitiş Tarihi:

Proje No: 2018-2292

Bütçe: 49800.12 TL

7. Kolesteatom Etyopatogenezi ve Alternatif Medikal Tedavi Seçenekleri İçin Bazı Maddelerin Etkilerinin Araştırılması, Yükseköğretim Kurumları Tarafından Destekli Bilimsel Araştırma Projesi, (Proje Yürütücüsü: Prof. Dr. Hamdi ÇAKLI, KBB Anabilim Dalı), Araştırmacı, (Tamamlandı).

Başlama Tarihi: 20.09.2019

Bitiş Tarihi: 28.08.2020

Proje No: 201911034

Bütçe: 87943.30 TL

TOPLANTI VE SEMPOZYUMLAR:

1. Klinik Örnekten Sonuç Raporuna: İdrar Örneklerine Yaklaşım Toplantısı (Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, 26 Nisan 2012, Ankara)
2. II. Ulusal HPV ve Kanser Sempozyumu (Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, 30 Nisan 2012, Ankara)
3. Eleştirel ve Yaratıcı Düşünme Sempozyumu (Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, 1-2 Haziran 2012, Ankara)
4. Batı Nil Virüsü Sempozyumu (Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, 20-21 Eylül 2012, Ankara)
5. Türkiyedeki Zoonoz Hastalıkların Dünü, Bugünü ve Yarını (Gümüşhane Üniversitesi, 27-28 Eylül 2012, Gümüşhane)
6. Lisanüstü Öğrenci Kongresi ve Kök Hücre Sempozyumu (Celal Bayar Üniversitesi, 6-7 Nisan 2013, Çeşme, İzmir)
7. 1st International Women Research Symposium (Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, 13-14 Ekim 2017, Eskişehir)

ULUSLARARASI KONGRELER:

1. 5th International Congress on Cell Membranes and Oxidative Stress Focus on Calcium Signaling and TRP Channels (9-12 Eylül 2014, Isparta)
2. 6th World Congress of Oxidative Stress, Calcium Signaling and TRP Channels (24-27 Mayıs 2016, Isparta)
3. ECCO2017: European Cancer Congress (27 - 30 Ocak 2017, Amsterdam, Hollanda)
4. Human Genetics Conference (27-30 Mayıs 2017, Kopenhag, Danimarka)
5. 3rd International Congress on Applied Biological Sciences (09-12 Temmuz 2017, Afyon)
6. 4th International Congress on Applied Biological Sciences (03-05 Mayıs 2018, Eskişehir)

ULUSAL KONGRELER:

1. 7.Ulusal Moleküler ve Tanısal Mikrobiyoloji Kongresi (Swissotel, 5-8 Haziran 2012, Ankara)
2. XXXV. Türk Mikrobiyoloji Kongresi (Pine Bay Otel 3-7 Kasım 2012, Kuşadası, Aydın)
3. XIII. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi (Pine Bay Otel, 27-30 Ekim 2013 Kuşadası, Aydın)
4. 22. Ulusal Biyoloji Kongresi (Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, 23-27 Haziran 2014, Eskişehir)
5. XIV. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi (Liberty Hotels, Lykia 27-30 Ekim 2015, Fethiye, Muğla)
6. 2. Ulusal Uygulamalı Biyolojik Bilimler Kongresi (İkbal Termal Otel, 09-12 Temmuz, 2017, Afyon)

KURSLAR VE EĞİTİM PROGRAMLARI:

1. İlk Yardım Eğitmeni, Eğitim, ESOGÜ İlk Yardım Eğitici Eğitim Merkezi, 24.01.2018-28.01.2018, Eskişehir (Ulusal)
2. Moleküler Klonlama ve Protein Ekspresyonu Uygulamaları, Moleküler Klonlama ve Protein Ekspresyonu Uygulamaları, Kocaeli Üniversitesi Sürekli Eğitim Araştırma ve Uygulama Merkezi, Kurs, 06.11.2017-08.11.2017, Kocaeli (Ulusal)
3. Temel Hücre Kültürü ve Hücre Ölüm Analiz Yöntemleri Uygulamalı Kursu-IV, Temel Hücre Kültürü ve Hücre Ölüm Analiz Yöntemleri Uygulamalı, Ege Üniversitesi Biyomühendislik, Kurs, 14.06.2017-16.06.2017, İzmir (Ulusal)
4. Bio-Tek Marka ELX-50 Elisa Yıkayıcı Cihazı Operatör Eğitimi, Eğitim, 10.10.2016 (Ulusal)
5. Biyoinformatik Omik Veri Analiz Yöntemleri ve Kişisel Tıp Uygulaması Kursu, Biyoinformatik, Kurs, 26.10.2015-26.10.2015 Ölüdeniz /Fethiye (Ulusal)
6. Electrophysiology Course, Electrophysiology, Süleyman Demirel Üniversitesi, Kurs, 14.09.2014-14.09.2014, Isparta (Uluslararası)
7. Deney Hayvanları Kullanımı ile ilgili B Sınıfı Eğitim Programı, Deney Hayvanları Kullanımı, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Kurs, 24.03.2014-04.04.2014, Eskişehir (Ulusal)
8. Gıda ve Su Kaynaklı Enfeksiyon Etkenleri Eğitim Kursu, Gıda ve Su Kaynaklı Enfeksiyon Etkenleri, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Başkanlığı, Kurs, 03.12.2012-07.12.2012, Ankara (Ulusal)
9. Maldi-TOF-MS, Kurs, 03.11.2012-07.11.2012, Kuşadası, Aydın (Ulusal)
10. Mikoloji Laboratuvarında Tanımlama Kursu, Mikoloji Laboratuvarında Tanımlama, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kurs, 02.11.2012-03.11.2012, İzmir (Ulusal)
11. Real-time PCR(RT) Uygulamaları Kursu, Real-time PCR(RT), Hacettepe Tıp Fakültesi, Kurs, 04.06.2012-05.06.2012, Ankara (Ulusal)
12. İşletmen, Ankara Limit Bilgisayar, Kurs, 20.06.2011-01.07.2011, Ankara (Ulusal)