

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

TEZİN ADI

**KOLOREKTAL KANSERLERDE ROL OYNAYAN MİKRO
RNA'LARIN BELİRLENMESİ**

**UZMANLIK TEZİ
DR. MERAL MERVE OĞUZ**

**DANIŞMAN
PROF. DR. ARZU YAREN**

DENİZLİ – 2021

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

TEZİN ADI

**KOLOREKTAL KANSERLERDE ROL OYNAYAN MİKRO
RNA'LARIN BELİRLENMESİ**

**UZMANLIK TEZİ
DR. MERAL MERVE OĞUZ**

**DANIŞMAN
PROF. DR. ARZU YAREN**

DENİZLİ – 2021

Prof. Dr. Arzu YAREN danışmanlığında **Dr. Meral Merve OĞUZ** tarafından yapılan “**Kolorektal Kanserlerde Rol Oynayan Mikro Rna'ların Belirlenmesi**” başlıklı tez çalışma jürimiz tarafından **İç Hastalıkları Anabilim Dalı’nda TIPTA UZMANLIK TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

BAŞKAN: Prof. Dr. Arzu YAREN

ÜYE: Prof. Dr. Tuğba YAVUZŞEN

ÜYE: Dr. Öğr. Üyesi Burcu YAPAR TAŞKÖYLÜ

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylım.

/ /

Prof. Dr. Z. Melek BOR KÜÇÜKATAY
Pamukkale Üniversitesi
Tıp Fakültesi Dekanı

TEŞEKKÜR

Tez sürecindeki ilgi, destek, hoşgörü, yardım ve katkıları nedeniyle tez danışmanım Prof. Dr. Arzu YAREN'e,

Hayatımda olduğu sürece ve asistanlık sürecinde her zaman yanımda olan, desteğini esirgemeyen sevgili eşim Dr. İbrahim OĞUZ'a

Asistanlık eğitimim süresince olan destek ve katkıları, sağladıkları çalışma ortamı ve koşullar ile mutlu ve verimli bir asistanlık süresi geçirmemi sağlayan, bana her açıdan sabırla katlanan hocalarıma

Tez çalışmam boyunca yardımlarını esirgemeyen Tıbbi Biyoloji ve Genetik A.D. Öğretim Üyesi Sayın Aydın DEMİRAY hocama ve tüm Tıbbi Biyoloji asistanlarına,

İstatistik bilgilerinden yararlandığım ve hiçbir zaman güler yüzünü eksik etmeyen Hande ŞENOL'a,

Çalışma hastalarını toplamama yardımcı olan başta Gamze DURAL ve tüm Tıbbi Onkoloji Kemoterapi Ünitesi çalışanlarına

Asistanlık sürecinde birlikte yol aldığım tüm asistan arkadaşlarıma teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

| | |
|---|------|
| ONAY SAYFASI | I |
| TEŞEKKÜR..... | II |
| İÇİNDEKİLER | III |
| SİMGELER VE KISALTMALAR..... | IV |
| ŞEKİLLER DİZİNİ..... | V |
| TABLOLAR DİZİNİ | VI |
| ÖZET..... | VII |
| İNGİLİZCE ÖZET..... | VIII |
| 1.GİRİŞ-AMAÇ | 1 |
| 2. GENEL BİLGİLER | 2 |
| 2.1. KOLOREKTAL KANSERLER..... | 2 |
| 2.2. MİKRO RNA | 20 |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEM | 24 |
| 3.1. HASTALARIN ÖZELLİKLERİ..... | 24 |
| 3.2. ÖRNEK TOPLANMASI | 24 |
| 3.3. TOTAL MİRNA İZOLASYONU PROTOKOLÜ..... | 24 |
| 3.4. MİRNA cDNA SENTEZİ | 25 |
| 3.5. REAL-TİME PCR (qRT-PCR) REAKSİYONU | 26 |
| 3.6. İSTATİSTİKSEL ANALİZ | 26 |
| 4. BULGULAR..... | 27 |
| 5. TARTIŞMA | 31 |
| 6. SONUÇ | 46 |
| 7. KAYNAKLAR | 47 |

SİMGELER VE KISALTMALAR

| | |
|----------|---|
| BT | : Bilgisayarlı tomografi |
| CAE | : Karsinoembriyonik antijen |
| CAP | : The College of American Pathologists |
| CAPEOX | : Kapesitabin, Oksaliplatin |
| DNA | : Deoksiribo nükleik asit |
| DSÖ | : Dünya Sağlık Örgütü |
| FAP | : Ailesel adenomatöz polipozis |
| FDA | : United States Food and Drug Administration |
| FOLFOX | : Folinik asit, Fluorourasil, Oksaliplatin |
| HCC | : Hepatoselüler karsinom |
| HNPCC | : kalıtsal polipoz olmayan kolorektal kanser |
| KRK | : Kolorektal kanser |
| miR | : Mikro Ribonükleik asid |
| miRNA | : Mikro Ribonükleik asid |
| mikroRNA | : Mikro Ribonükleik asid |
| MRG | : Manyetik rezonans görüntülemesi |
| PET | : Pozitron emisyon tomografisi |
| RT | : Radyasyon tedavisi |
| TNM | : Tümör, Lenf Nodu, Metastaz evreleme sistemi |
| VEGF-A | : Vasküler endotelyal büyüme faktörü-A |

ŞEKİLLER DİZİNİ

| | | SAYFA NO |
|---------|--|-----------------|
| Şekil 1 | Kolon bölümleri | 3 |
| Şekil 2 | Hasta ve Kontrol gruplarında miRNA düzeyleri | 28 |

TABLolar DİZİNİ

| | | SAYFA NO |
|----------|--|----------|
| Tablo 1 | Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı Tarafından Yayınlanan GLOBOCAN 2020 Verilerine Göre Erkeklerde En Sık Görülen İlk Beş Kanser Türünün Dağılımı | 4 |
| Tablo 2 | Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı Tarafından Yayınlanan GLOBOCAN 2020 Verilerine Göre Kadınlarda En Sık Görülen İlk Beş Kanserlerin Dağılımı | 5 |
| Tablo 3 | Kolon ve rektum karsinomlarının Dünya Sağlık Örgütü sınıflandırması | 13 |
| Tablo 4 | TNM evrelemesi- T değerlendirmesi | 14 |
| Tablo 5 | TNM evrelemesi- N değerlendirmesi | 15 |
| Tablo 6 | TNM evrelemesi- M değerlendirmesi | 15 |
| Tablo 7 | TNM evrelemesi | 16 |
| Tablo 8 | Çalışma grupları özellikleri | 27 |
| Tablo 9 | Çalışma grupları miRNA ekspresyon düzeyleri | 29 |
| Tablo 10 | Çalışma gruplarının serum miRNA ekspresyon düzeylerinin eğri altında kalan alanları, cut-off değerleri, duyarlılık ve seçicilikleri | 30 |

ÖZET

KOLOREKTAL KANSERLERDE ROL OYNAYAN MİKRO RNA'LARIN BELİRLENMESİ

DR. MERAL MERVE OĞUZ

Toplumda sık karşılaşılan kolorektal kanserler genellikle ileri evrelerde tanı aldığı için mortalite ve morbidite oranları yüksektir. Multimodal tedavi seçeneklerine rağmen hastanın prognozu oldukça kötüdür. Bu prognozu belirlemede birçok belirteç tanımlanmıştır. MikroRNA'lar gen ifadesinin düzenlenmesinde rol oynayan kodlanmayan RNA'lardandır. Hücresel düzeyde pekçok fizyolojik ve patolojik durumlarda görev almaktadırlar. Kanserlerde ise hem onkogenik hem de tümör baskılayıcı olarak rol alabilmektedir. MikroRNA'ların kanser hücrelerindeki seviyelerinin normal hücrelerle karşılaştırılması kanserin tanı, takip ve tedavisinde önem kazanmıştır. Son yıllarda işlevlerinin ve kanserdeki rollerinin anlaşılmasına başlanması ile mikroRNA'lar kanserin moleküler patolojisinin anlaşılmasında ve moleküler hedefe yönelik tedaviler geliştirilmesindeki rolü kaçınılmazdır. Bu çalışmamızda kolorektal kanserlerde olası rolleri olan mikroRNA'ların serumdaki ekspresyon düzeylerini tanı anında kontrol grubu ile karşılaştırmayı hedefledik. 36 hasta grubu ve 37 kontrol grubu onamlarını aldıktan sonra uygun şekilde kan örnekleri olarak serum mikroRNA ekspresyon düzeylerini saptadık. İki grubun ekspresyon düzeylerini istatistiki olarak karşılaştırdık. Bizim yaptığımız araştırmada baktığımız 20 adet miRNA'da (miR_10a, miR_19a, miR_22, miR_24, miR_92a, miR_103, miR_106a, miR_107, miR_125a_5p, miR_134, miR_141, miR_150, mir_151_5p, miR_221, miR_320a, miR_495, miR_720, mir_760, let7a, let7e) serum düzeylerinde kontrol grubuna göre anlamlı değişiklik saptadık. Bunun sonucunda bu miRNA'lar kolorektal tümör tanısında daha ileri araştırmalar yapılarak erken tanıda kullanılabilir serum belirteci olabilirler. MikroRNA'ların ekspresyon düzeylerinin tayini ile sağkalım, tedaviye yanıt, kür, nüks değerlendirilmesi yapılabilir ve hatta gelecekte mikroRNA ekspresyon düzeylerine göre tedavi protokolleri seçilebilir.

Anahtar Kelimeler: Kolorektal kanser, mikroRNA

SUMMARY

IDENTIFICATION OF MICRORNAS THAT PLAY A ROLE IN COLORECTAL CANCERS

DR. MERAL MERVE OĞUZ

Colorectal cancers, which are frequently encountered in the community, are usually diagnosed at advanced stages, mortality and morbidity rates are high. Despite the multimodal treatment options, the prognosis of the patient is quite poor. Many markers have been identified in determining this prognosis. MicroRNAs are non-coding RNAs that play a role in the regulation of gene expression. They are involved in many physiological and pathological conditions at the cellular level. It can act as both oncogenic and tumor suppressor in cancers. Comparing the levels of microRNAs in cancer cells with normal cells has gained importance in the diagnosis, follow-up and treatment of cancer. With the understanding of their functions and roles in cancer in recent years, the role of microRNAs in understanding the molecular pathology of cancer and developing molecular targeted therapies is inevitable. In this study, we aimed to compare the serum expression levels of microRNAs, which have a possible role in colorectal cancers, with the control group at the time of diagnosis. After obtaining consent from 36 patient groups and 37 control groups, we determined serum microRNA expression levels by taking blood samples as appropriate. We compared the expression levels of the two groups statistically. In the 20 miRNAs that we looked at in our research (miR_10a, miR_19a, miR_22, miR_24, miR_92a, miR_103, miR_106a, miR_107, miR_125a_5p, miR_134, miR_141, miR_150, mir_151_5p, miR_221, miR_320a, miR_495, miR_720, mir_760, let7a, let7e), we found a significant change in serum levels compared to the control group. As a result, these miRNAs may be serum markers that can be used in early diagnosis by further research in colorectal tumor diagnosis. By determining the expression levels of microRNAs, survival, response to treatment, cure, and recurrence can be evaluated, and even in the future, treatment protocols can be selected according to microRNA expression levels.

Keywords: Colorectal cancers, MicroRNA

1.GİRİŞ-AMAÇ

Kolorektal kanserler yaygın görülen bir kanser türüdür. Genellikle ileri evrelerde tanı almaktadır ve serum tümör belirteçleri tanısal etkinlik açısından kısıtlıdır(1).

Mikro Ribonükleik asid (miRNA) yaklaşık 21-23 nükleotit uzunluğunda tek iplikli RNA molekülü türüdür, gen ifadesinin düzenlenmesinde rol oynar. MiRNA'lar kodlamayan RNA'lardandır, yani deoksiribo nükleik asidten (DNA) transkripsiyonu yapılan ama proteine çevirisi yapılmayan genler tarafından kodlanırlar.

MiRNA'ların özellikle hücre tipinin belirlenmesi ve hücre farklılaşması olmak üzere pek çok fizyolojik olaylarda ve patolojik durumlarda önemli roller aldığı gösterilmiştir. Ayrıca kanserde hem onkogenik hem de tümör baskılayıcı rol oynamaktadırlar.

Gen ekspresyonunu düzenlediği gösterilen miRNA'ların kanser hücrelerindeki seviyelerinin normal hücrelerle karşılaştırılması kanserin tanı, takip ve tedavisinde önem kazanmıştır. Son yıllarda işlevlerinin ve kanserdeki rollerinin anlaşılmasına başlanması ile miRNA'lar kanserin moleküler patolojisinin anlaşılmasındaki ve moleküler hedefe yönelik tedaviler geliştirilmesindeki rolü kaçınılmazdır.

Onkogenik ve tümör baskılayıcı rol oynayan mikroRNA'ların serumdaki ekspresyon seviyeleri analiz edilerek, kolorektal kanserler için olası prognostik ve prediktif potansiyelleri ortaya çıkarılabilir(2).

2.GENEL BİLGİLER

2.1. KOLOREKTAL KANSERLER

2.1.1. Kolorektal Kanser Tanımı ve Tipleri

Kolorektal kanserler (KRK) kolondan ya da rektumdan köken alan malignitelerdir. Kolon kanseri ve rektal kanserlerin birçok ortak özelliği olması nedeniyle birlikte kolorektal kanserler olarak adlandırılmaktadır.

Kolon ve rektum gastrointestinal sistemdeki kalın bağırsakları oluşturan kısımlardır. Toplam uzunluğu yaklaşık 1,5 metredir. Kolon 4 bölgeye ayrılmıştır.

1-Asendan kolon; çekum olarak adlandırılan bir poş ile başlayan, ince bağırsaktan kolona sindirilmemiş besinlerin geçtiği yerdir. Karın sağ tarafında aşağıdan yukarıya doğrudur.

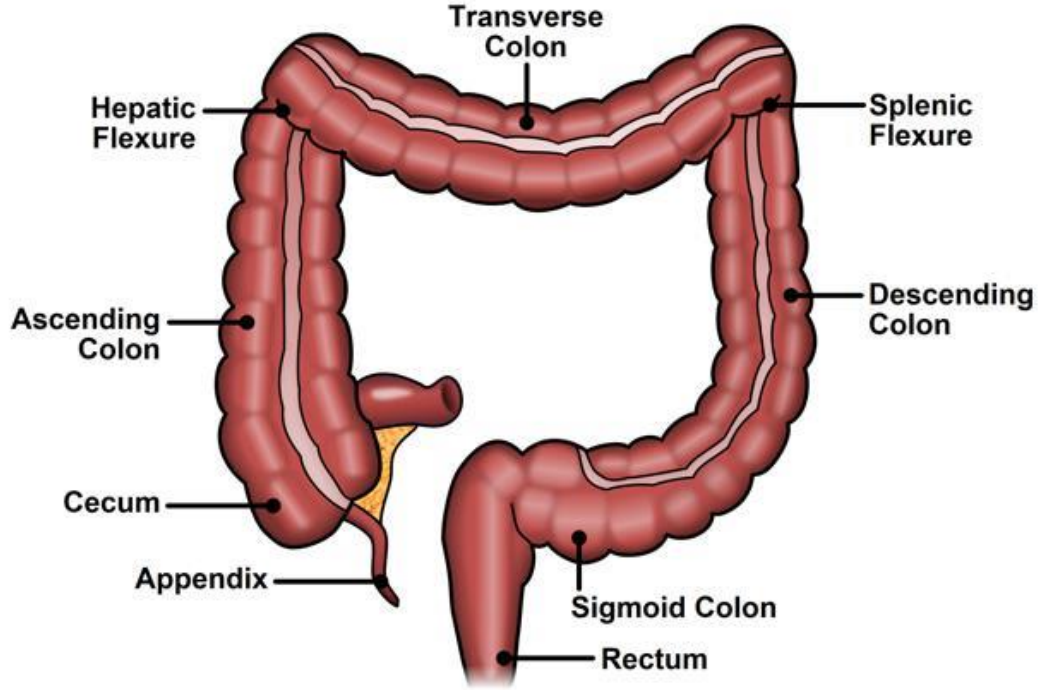
2-Tranvers kolon; Yatay şekilde feçesin sağdan sola geçtiği yerdir.

3-Desendan kolon; karın sağ tarafında pasajın yukarıdan aşağıya devam ettiği yerdir.

4-Sigmoid kolon; S şeklinden dolayı sigmoid diye adlandırılmıştır. Rektum ile devam ederek anüse bağlanır.

Kolorektal kanserler genellikle polip adı verilen mukoza ilişkili oluşumlardan köken alırlar. Polipler genellikle küçük düz yumrular veya küçük mantar benzeri saplar gibi görünen doku büyümeleridir.

Bazı polip çeşitleri yıllar içinde kanserleşebilmektedir. Poliplerin boyutununun 1 cm'den fazla olması, sayısının 3'ten fazla olması ve polipte displazi tespit edilmesi polipin kanserleşmesinde etkili faktörlerdir. Poliplerin kanserleşmesi polip tipine göre değişmektedir.



Şekil 1: Kolon bölümleri(3)

POLİP TİPLERİ(4)

1-Adenomatöz Polipler: bu polipler zamanla kanserleşebildiklerinden dolayı prekanserojen polip olarak da adlandırılabilirler. Tübüler, villöz, tübülovillöz olmak üzere 3 tipi vardır.

2-Hiperplastik Polip ve İnflamatuvar Polip: Sık görülürler ve genellikle prekanserojen değildirler. Özellikle 1cm üzerinde olan hiperplastik polipler kanser açısından daha yakın takip gerektirir.

3-Sesil polipler: Bu polipler de yüksek kolorektal kanser riski taşımaktadır.

KOLOREKTAL KANSER TİPLERİ

1-Adenokarsinom: Kolorektal bölgenin en sık görülen kanseridir. Mukus üreten hücrelerden köken alır. Bazı alt tipleri (taşlı yüzük ve müsinoz gibi) daha kötü prognoza sahiptir.

2-Karsinoid Tümörler: Bağırsaktaki hormon üreten hücrelerden köken alırlar.

3-Gastrointestinal stromal Tümörler: Kolon duvarındaki Kajak hücresi olarak adlandırılan özel hücrelerden köken alırlar. Bazı tipleri benignidir. Bu tümörler sindirim sisteminin herhangi bir yerinde gelişebilir, kolona spesifik değildir.

4-Lenfomalar: İmmün sistem hücrelerinin kanseridir. Genellikle lenf nodlarından başlasa da kolon ve rektumdan da başlayabilir.

5-Sarkomlar: Nadirdir. Kolon ve rektum duvarının kan damarları, kas tabakası veya bağ dokusundan köken alabilir.

2.1.2. Kolorektal Kanser İstatistikleri:

Türkiye’de resmi olarak en son yayımlanan kanser istatistikleri 2017 yılına ait olup hem erkek hem kadın cinsiyette kolorektal kanser sıklığı açısından 3. sıradadır. Sıklığı erkeklerde yüz binde 25.1 iken kadınlarda yüz binde 14.7’ dir Histolojik alt tip olarak değerlendirildiğinde %93.3 oranında adenokarsinom ile karşılaşmıştır(5).

Dünyada kolorektal kanserler görülme sıklığı açısından erkeklerde 3. sırada ve kadınlarda 2. sıradadır.

| | Türkiye | Dünya | Batı Asya | Orta ve Doğu Avrupa | ABD |
|---|------------|------------|------------|---------------------|---------------|
| 1 | Akciğer | Akciğer | Akciğer | Akciğer | Prostat |
| 2 | Prostat | Prostat | Prostat | Prostat | Akciğer |
| 3 | Kolorektal | Kolorektal | Kolorektal | Kolorektal | Kolorektal |
| 4 | Mesane | Mide | Mesane | Mide | Mesane |
| 5 | Mide | Karaciğer | Mide | Mesane | Deri Melanomu |

Tablo 1: Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı Tarafından Yayınlanan GLOBOCAN 2020 Verilerine Göre Erkeklerde En Sık Görülen İlk Beş Kanser Türünün Dağılımı(6)

| | Türkiye | Dünya | Batı Asya | Orta ve Doğu Avrupa | ABD |
|---|----------------|-----------------|----------------|---------------------|----------------|
| 1 | Meme | Meme | Meme | Meme | Meme |
| 2 | Tiroid | Kolorektal | Tiroid | Kolorektal | Akciğer |
| 3 | Kolorektal | Akciğer | Kolorektal | Uterus korpusu | Kolorektal |
| 4 | Akciğer | Uterus serviksi | Akciğer | Akciğer | Uterus korpusu |
| 5 | Uterus korpusu | Tiroid | Uterus korpusu | Uterus serviksi | Deri Melanomu |

Tablo 2: Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı Tarafından Yayınlanan GLOBOCAN 2020 Verilerine Göre Kadınlarda En Sık Görülen İlk Beş Kanserlerin Dağılımı(6)

Kolorektal kanserler tüm dünyada kansere bağlı ölüm sıralamasında 2. sıradadır. Türkiye’de resmi olarak açıklanan veriler değerlendirildiğinde toplam popülasyondaki kanser ölüm sıklıklarında kolorektal kanser 3. Sıradadır(7).

2.1.3. Kolorektal Kanser Nedenleri-Risk Faktörleri:

Risk faktörü, kansere yakalanma şansını artıran herşeydir. Farklı kanserlerin farklı risk faktörleri vardır. Bu risk faktörlerinden bazıları (sigara gibi) değiştirilebilir olduğu gibi, bazıları da (yaş, genetik faktörler gibi) değiştirilemez.

Değiştirilebilir kolorektal risk faktörleri:

Kolorektal kanserler ile ilişkilendirilmiş faktörler genellikle hayat tarzı ile ilgilidir.

- 1- Kilolu veya obez olmak: Hem kadın hem erkek cinsiyette kilolu/obez olmak kolorektal kanser riskini artırmakla birlikte bu risk erkeklerde daha güçlüdür.(8,9)
- 2- Kolesistektomi: Kolesistektomi ile sağ taraflı kolon kanserleri arasında ilişki olduğu birçok çalışma ve metaanaliz ile gösterilmiştir. (10,11)

- 3- Diyet: Veriler tamamen tutarlı olmasa da, uzun süreli kırmızı et veya işlenmiş et tüketimi, özellikle sol taraflı tümörler için artan kolorektal kanser riski ile ilişkili görünmektedir(12). Yüksek sıcaklıkta pişirmenin (örneğin; mangalda, tavada kızartma) riske katkıda bulunduğu, belki de kömürleşme sürecinde proteinlerden üretilen poliaromatik hidrokarbonların ve diğer kanserojenlerin üretimi ile ilişkilendirilmiştir. Yağsız kırmızı et daha az riskle ilişkilendirilebilir(13).
- 4- Sigara: Sigara kolorektal kanserler için artan insidans ve mortalite ile ilişkilendirilmiştir. Yüzaltı gözlemsel çalışmanın meta-analizinde, sigara içenlerde, hiç sigara içmeyenlere kıyasla KKK gelişme riskinin arttığı tespit edilmiştir (RR 1.18, %95 CI 1.11-1.25) (14). Sigara ayrıca tüm kolon polipleri için de bir risk faktörüdür(15,16).
- 5- Alkol: Birçok çalışmada alkol tüketimi ile artan KKK riski arasında bir ilişki gözlemlenmiştir. Yirmiyedi kohort ve 34 vaka kontrol çalışmasının bir meta-analizinde, hiç içmeyenlere kıyasla, orta düzey ve yoğun alkol tüketimi olan kişilerde KKK riskinde önemli bir artış olduğu sonucuna varılmıştır(17).
- 6- Diyabetes Mellitus: Diabetes mellitus, yüksek KKK riski ile ilişkilidir. Ondört çalışmanın meta-analizinde (6 vaka kontrol ve 8 kohort), diyabetikler arasında kolon kanseri riskinin diyabetik olmayanlardan yaklaşık % 38 daha yüksek olduğu ve rektum kanseri için ise % 20 daha yüksek olduğu gösterilmiştir(18).

Bunların yanında birçok risk faktörü araştırılmıştır. Androjen ilaç kullanımı, bazı bakteri ve virüsler ile KKK arasında ilişki gösterilmiştir.

Değiştirilemeyen kolorektal risk faktörleri:

- 1- Yaş: Yaş, sporadik KKK için önemli bir risk faktörüdür. 40 yaşından önce KKK nadirdir; insidans 40 ile 50 yaşları arasında önemli ölçüde artmaya başlar ve sonraki her on yılda yaşa özel insidans oranları artar(19).
- 2- Kolorektal polip/ kanser öyküsü: KKK öyküsü veya kolonun adenomatöz polipleri olan hastalar, gelecekte kolon kanseri gelişimi için risk altındadır. Tek bir segmentte KKK rezeksiyonu uygulanan hastalarda, ameliyat sonrası ilk beş

yıl içinde hastaların %1.5 - 3'ünde metakron primer kanser geliştiği bildirilmektedir(20).

- 3- İnflamatuvar bağırsak hastalığı öyküsü: Kronik ülseratif kolit ve kolon neoplazisi arasında, hastalığın kapsamı, süresi ve aktivitesinin primer belirleyiciler olduğu iyi kanıtlanmış bir ilişki vardır. Çok daha az veri olmasına rağmen, pankolit ile seyreden Crohn hastalığı ile yaygın ülseratif kolitli hastalarda kolon malignitesi gelişme riski açısından benzer olarak görülmektedir.
- 4- Ailede kolorektal kanser/adenomatöz polip öyküsü: Aile öyküsü, tanımlanmış bir genetik yatkınlığı olan sendromların dışında bile önemli bir risk faktörüdür. Birinci derece akrabalarından (ebeveyn, kardeş veya çocuk) birinde KRK olması, KRK riskini genel popülasyona göre yaklaşık iki kat artırır(21). Ailenin her iki tarafında KRK varsa veya birinci derece akrabada 50 yaşın altında KRK teşhisi konulursa risk daha da artar(22).
- 5- Kalıtsal Sendromlar: Çoğu otozomal dominant bir şekilde kalıtılan birkaç özellikli genetik bozukluk, çok yüksek kolon kanseri geliştirme riski ile ilişkilidir. Ailesel adenomatöz polipozis (FAP) ve Lynch sendromu (kalıtsal polipoz olmayan kolorektal kanser [HNPCC]) ailesel kolon kanseri sendromlarının en yaygın olanlarıdır, ancak bu iki durum birlikte KRK vakalarının sadece yaklaşık % 5'ini oluşturur(23,24).

Bunların yanında abdominal radyasyon öyküsü, kistik fibrozis, akromegali, koroner arter hastalığı, endometriyal kanser ve böbrek nakli ile KRK arasında ilişki olduğu bildirilmektedir.

2.1.3. Kolorektal Kanser Belirti ve Bulguları:

KRK 3 şekilde ortaya çıkabilir.

1-Şüpheli bulgu ve belirtilerle

2-Asemptomatik kişilerin rutin taranmasıyla

3-İntestinal obstrüksiyon, perforasyon ve akut gastrointestinal kanama ile acil başvuru ile.

Erken evre kolon kanserli hastaların büyük çoğunluğunda herhangi bir belirti görülmez ve bu hastalara yapılan taramalar sonucunda tanı konur. KRK belirtileri tipik olarak tümörün lümenine veya bitişik yapılara doğru büyümesine bağlıdır ve sonuç olarak belirtiler ortaya çıkınca genellikle ileri evre KRK'yı yansıtır.

Lokal tümör belirtileri: KRK ile ilişkili tipik bulgu ve belirtiler arasında hematokezya, melena, karın ağrısı, başka türlü açıklanamayan demir eksikliği anemisi ve bağırsak alışkanlıklarında değişiklik bulunur(25-27). Daha az görülen belirtiler, obstrüksiyonun göstergesi olan abdominal distansiyon ve bulantı-kusmayı içermektedir.

Semptomatik hastalar arasında, klinik belirtiler de tümörün konumuna bağlı olarak farklılık gösterir. Hematokezya ve tanımlanmamış demir eksikliği anemisi sağ taraflı tümörlere göre rektosigmoid bölge tümörlerinde daha sık görülür. Bağırsak alışkanlıklarında değişiklik sol taraflı tümörlerde daha sıktır. Rektal kanser, tenesmus, rektal ağrı ve dışkı kalibresinde azalmaya neden olabilir.

Kilo kaybı da sistemik belirtiler içinde önemli bir yer tutmakta olup, KRK'nın yaklaşık %20'si metastatik hastalık belirtileri ile ortaya çıkmaktadır. KRK lenfatik ve hematojen yayılımın yanı sıra bölgesel yollarla da yayılabilir. En yaygın metastatik bölgeler lokal lenf düğümleri, karaciğer, akciğer ve peritondur. Hastalar bu alanlardan herhangi birine ait olabilecek belirtilerle başvurabilirler.

2.1.4. Kolorektal Kanseri Taraması

KRK taraması için klinikte gaitada gizli kan taraması, gaita immüno kimyasal tarama, kolonoskopi ve bilgisayarlı tomografik kolonografi yapılmaktadır. Bu yöntemlerin ulaşılabilirliği, fiyatı, özgülüğü ve duyarlılığı farklılık göstermektedir. Herhangi bir anormal sonuç saptanırsa kolonoskopi ile değerlendirilmelidir.

- 1- Gaita immüno kimyasal tarama: Dışkıda hemoglobin aranması yöntemidir. Diyet ve ilaç kısıtlamalarına gerek yoktur. Bağırsak hazırlığı, sedasyon veya zaman gerektirmez. Guaiac bazlı gaitada gizli kan testi için 3 günlük numune gerekirken, immüno kimyasal taramada yalnızca bir numune gerektirir.

- 2- Gaitada gizli kan taraması: Guaiac testi, bir peroksidaz reaksiyonunun sonucu olarak guaiac reaktifi emdirilmiş kâğıdı maviye çevirerek hemoglobini tanımlar. İnvaziv olmaması, bağırsak hazırlığı veya sedasyon gerektirmemesi avantajlarıdır. Gaita örneğini almak, testi gerçekleştirmek ve sonucu yorumlamak için bir klinisyen ziyareti gerekli değildir, bu da kaynak sınırlı ortamlarda testi basitleştirir. Bununla birlikte, test yıllık olarak yapılmalıdır ve numune toplama, ardışık üç numune gerektiğinden gaitada immüno kimyasal taramaya göre daha uzun sürer.
- 3- Kolonoskopi: Endoskopik testler, endoskopun görüş alanı içinde adenomatöz polipleri ve kolorektal kanseri doğrudan görselleştirebilir. Bu, invaziv KRK'ya ilerleyebilecek polipleri çıkarma ve erken evre KRK'yı tanımlama potansiyeli sağlar. Her yöntemin etkinliği ve tarama sıklığı testler arasında farklılık göstermektedir. Kolonoskopi, eğitimli bir klinisyen tarafından rektumun, kolonun ve terminal ileumun bir kısmının doğrudan görüntülenmesi için esnek bir fiberoptik endoskop kullanılarak gerçekleştirilir. Bir tarama testi olarak kolonoskopi, ortalama KRK riski taşıyan bir hasta için genellikle her 10 yılda bir ve daha yüksek risk altındaki bir hasta için daha sık yapılır. Kolonoskopi, kanser öncesi adenomların ve KRK'nın yüksek duyarlılık ve kabul edilebilir özgüllük ile saptanması için kesin testtir. Kolonoskopi, tek bir test sırasında poliplerin ve KRK'nın saptanmasına, biyopsisine ve kanser öncesi poliplerin çıkarılarak tedavi edilmesine olanak tanır. Kolonoskopi öncesi hazırlık gerektirmesi işlemin dezavantajıdır. Kolonoskopi genellikle altın standart test olarak kabul edilirken, lümen içinde gözükmeyen lezyonlar tespit edilemez.
- 4- Bilgisayarlı tomografik (BT) kolonografi: Bilgisayarlı tomografik kolonografisi, çoklu, ince kesitli BT verilerinin elde edilmesini ve bağırsak mukozasının iki ve üç boyutlu görüntülerini oluşturmak için bilgisayarların kullanılmasını ve yorumlanmasını içerir. Genellikle her beş yılda bir yapılır. İşlem öncesi bağırsak temizliği gerekmektedir ancak sedasyon gerekmemektedir.

- 5- Kapsül kolonoskopi: Kolon kapsül endoskopisi ile hasta, kapsül kolondan geçerken görüntü çeken küçük kablosuz video kameralar içeren bir kapsülü yutar. Kolon kapsül endoskopisi, United States Food and Drug Administration (FDA) tarafından, tek başına bir tarama seçeneği olarak değil, yalnızca yetersiz kolonoskopisi olan hastalarda kullanım için onaylanmıştır.

Birçok kılavuz 50 yaşından itibaren tarama önermektedir. Aile öyküsü, batına radyasyon öyküsü, inflamatuvar bağırsak hastalığı olanlarda daha da sık tarama planı yapılmalıdır. Amerikan kanser cemiyeti kolorektal kanserlerin yaş olarak erken görülme sıklığı artması nedeniyle 45 yaşında itibaren tarama önermiştir.

Amerikan Gastroenteroloji Koleji 2021 kılavuzları da ayrıca ortalama risk altındaki tüm yetişkinlerde taramanın 45 yaşında başlatılmasını önermektedir(28).

The Canadian Task Force on Preventive Health Care, American Academy of Family Physicians ve American College of Physicians tarafından ortalama riskli yetişkinler için 50 yaşında taramaya başlanması önerilmektedir(29–31).

2.1.5. Kolorektal Kanser Tanısı

Kolorektal kanser tanısı, genellikle alt gastrointestinal sistem endoskopisi sırasında veya cerrahi bir numunedan alınan biyopsinin histolojik incelemesi ile konur. Histopatolojik olarak kolon ve rektumda ortaya çıkan kanserlerin yüzde 90'ından fazlası adenokarsinomlardır.

Kolonoskopi ile kalın bağırsakta lezyonlar lokalize edilip biyopsi yapılabildiğinden, eşzamanlı neoplazmlar tespit edilebildiğinden ve polipler çıkarılabildiğinden, kolonoskopi KRK için en doğru ve çok yönlü tanı testidir.

Kolonoskopik değerlendirmede kolon ve rektum kanserlerinin büyük çoğunluğu mukozadan kaynaklanan ve lümene doğru çıkıntı yapan endoluminal kitlelerdir. Kitleler ekzofitik veya polipoid olabilir. Nekrotik veya ülserle lezyonlarda kanama görülebilir.

Kolon ve rektum tümörlerinin büyük çoğunluğu adenokarsinomlardır. Diğer histolojik tipler (nöroendokrin neoplazmalar, hamartomlar, mezenkimal tümörler, lenfomalar) nispeten daha azdır.

KRK sıklıkla demir eksikliği anemisi ile ilişkilendirilse de, yokluğu hastalığı güvenilir bir şekilde dışlamaz. Karaciğer metastazlarının saptanması için duyarlılığı olmayan karaciğer fonksiyon testleri de dahil olmak üzere diğer rutin laboratuvar testlerinin tanısal rolü yoktur. Çeşitli serum belirteçleri, özellikle karsinoembriyonik antijen (CEA) olmak üzere KRK ile ilişkilendirilmiştir. Bununla birlikte, CEA dahil tüm bu belirteçlerin, iyi huylu hastalıkla anlamlı örtüşme ve erken evre hastalık için düşük duyarlılık nedeniyle primer KRK'yı saptamak için tanısal gücü düşüktür(32).

KRK'nin erken tespiti veya postoperatif nüksün izlenmesi için kan bazlı testler ile ilgili çalışmalar halen devam etmektedir. Bunlar arasında, metillenmiş dolaşımdaki DNA belirteçleri ve kan bazlı mikroRNA'ların yanı sıra, çoklu kanser erken tespit testleri gibi ortaya çıkan diğer hücre dışı DNA yaklaşımları bulunmaktadır(33–36).

2.1.6. Kolorektal Kanser Patolojisi

Kaba görünüm: Tüm kolorektal kanserler adenomlardan ya da displaziden kaynaklansa da invazyon ve genişleme ile farklı morfolojik paternlere dönüşürler. Proksimal veya sağ kolondaki tümörler genellikle kabaca polipoid veya mantar oluşturan ekzofitik kitleler olarak görünür.

Buna karşılık, distal veya sol kolonu tutan tümörler daha yaygın olarak "elma yeniği" görünümü oluşturan halka şeklinde veya çevreleyen lezyonlardır. Bağırsak lümeni daralır ve bağırsak disfonksiyonu semptomları (kabızlık, ishal veya bağırsak tıkanıklığı) oluşabilir. Klinik bağırsak obstrüksiyonu veya bağırsak duvarında perforasyon varlığı genel olarak prognozu kötüleştirir.

Kaba görünümündeki farklılıklara rağmen, sağ ve sol taraflı kolon kanserleri mikroskopik olarak benzerdir ve lokal-bölgesel hastalık ile ortaya çıktıklarında benzer bir prognoza sahip görünmektedirler(37).

Direkt yayılım veya metastaz nedeniyle olmayan, normal bağırsakla ayrılmış iki veya daha fazla farklı primer tümör olarak tanımlanan senkron kolon kanserleri, KRK'lı hastaların % 3 ile 5'inde görülür(38,39).

Histoloji: Kolon ve rektum tümörlerinin büyük çoğunluğu karsinomdur. Diğer histolojik tipler (nöroendokrin neoplazmalar, hamartomlar, mezenkimal tümörler, lenfomalar) daha nadir görülür. Karsinomların yüzde 90'ından fazlası adenokarsinomdur.

The College of American Pathologists (CAP) ve the American Joint Committee on Cancer /Union for International Cancer Control tarafından KRK için dört kademeli bir derecelendirme sisteminin kullanımını belirlenmiştir(40,41). Bu öncelikle, uzun süredir üç veya dört katmanlı sistemler kullanan Amerika Birleşik Devletleri kanser kayıtlarında kanser derecesinin doğru haritalanmasını sağlamak içindir. CAP, yalnızca bez oluşumunun derecesine dayalı olarak aşağıdaki şekilde derece atamasını önerir(41):

- Derece 1 – İyi derecede farklılaşmış (> yüzde 95 bez oluşumu)
- Derece 2 – Orta derecede farklılaşmış (yüzde 50 ila 95 bez oluşumu)
- Derece 3 – Kötü farklılaşmış (<%50 bez oluşumu)
- Derece 4 – Farklılaşmamış (bez veya müsin oluşumu yok; skuamöz veya nöroendokrin farklılaşması yok).

Buna karşılık, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) Sindirim Sistemi Tümörleri Sınıflandırmasının en son (beşinci) baskısında, DSÖ; iyi ve orta diferansiye olan düşük dereceli ve kötü diferansiye olan yüksek dereceli olmak üzere iki katmanlı bir sistemin kullanılmasını önermektedir(42).

Birçok tümör, hücrelerin içinde kalabilen veya salgılanabilen müsin üretir. Hücre dışına salgılanan müsin, bir tümörün kolon duvarından diseksiyonunu ve penetrasyonunu kolaylaştırabilir(43). Bol miktarda hücre dışı müsin salgılayan tümörler (tümör kütesinin yüzde 50'sinden fazla müsin) müsinöz karsinomlar olarak sınıflandırılır. Bu histolojik tip, tüm KRK'ların yaklaşık % 11 ile 17'sini oluşturur(43–45).

| |
|---|
| Adenokarsinom |
| Kribriform komedo tipi adenokarsinom |
| Medüller karsinom |
| Mikropapiller karsinom |
| Müsinöz (kolloid) adenokarsinom (>%50 müsinli) |
| Serrated adenokarsinom |
| Taşlı yüzük hücreli karsinom (>%50 taşlı yüzük hücreleri) |
| Adenoskuamöz karsinom |
| İğ hücreli karsinom |
| Skuamöz hücreli (epidermoid) karsinom |
| Farklılaşmamış karsinom |

Tablo 3: Kolon ve Rektum Karsinomlarının Dünya Sağlık Örgütü Sınıflandırması

2.1.6. Kolorektal Kanser Evrelemesi

Kolorektal kanser tanısı konulduktan sonra, tedavi planlanması ve prognozu değerlendirmek için hastalığın lokal ve uzak yayılımını belirlemek gerekmektedir. Özellikle kanserli bir polip için klinik evreleme çalışmaları ve cerrahi rezeksiyon ihtiyacı hakkında karar vermeden önce biyopsi örneğinin gözden geçirilmesi önemlidir. Olumsuz histolojik özelliklerden (pozitif sınır, zayıf farklılaşma, lenfovasküler invazyon) yoksun, tamamen çıkarılmış ve negatif invaziv malignite sınırına sahip poliplerin; lenfatik ve uzak metastaz riski düşüktür. Bu tür hastalarda tek başına polipektomi yeterli olabilir.

Birleşik Amerikan Kanseri Ortak Komitesi /Uluslararası Kanseri Kontrol Birliği'nin; Tümör, Lenf Nodu, Metastaz (TNM) evreleme sistemi, KRK için tercih edilen evreleme sistemidir(46). Astler-Coller modifikasyonu da dahil olmak üzere eski Duke sınıflandırması artık kullanılmamaktadır.

TNM evreleme sınıflandırmasının en son (sekizinci baskı, 2017) revizyonu, daha önceki 2010 yedinci baskı (tablo) ile karşılaştırıldığında birkaç değişiklik

içermektedir(47). M1c evresi, peritoneal karsinomatozisi kötü prognostik faktör olarak olarak tanıtılmış ve nodal mikrometastazlar (çapı >0.2 mm olan tümör kümeleri), bu hastalarda kötü prognoz gösteren bir meta-analizin sonuçları göz önüne alınarak artık nod pozitif olarak değerlendirilmektedir(48).

| Primer Tümör (T) | |
|-------------------------|---|
| T kategorisi | T kriteri |
| TX | Primeri değerlendirilemeyen tümör |
| T0 | Saptanmamış primer tümör |
| Tis | Karsinoma in situ, intramukozal karsinom (muskularis mukoza yoluyla uzantısı olmayan lamina propria tutulumu) |
| T1 | Tümör submukoza invazyonu (muskularis mukoza yoluyla ama muskularis propriaya değil) |
| T2 | Muskularis propriaya invazyonu |
| T3 | Muskularis propria yoluyla perikolorektal dokulara invazyon |
| T4 | Tümör visseral peritonu invaze etmiş veya komşu organ veya yapıya invaze olmuş |
| T4a | Viseral periton invazyonu (tümör yoluyla bağırsağın büyük perforasyonu ve enflamasyon alanları yoluyla tümörün visseral periton yüzeyine sürekli invazyonu dahil) |
| T4b | Tümör doğrudan bitişik organlara veya yapılara invaze olur veya yapışır |

Tablo 4: TNM evrelemesi- T değerlendirmesi

| Bölgesel Lenf Nodları (N) | |
|----------------------------------|--|
| N kategorisi | N kriteri |
| NX | Bölgesel lenf düğümleri değerlendirilemez |
| N0 | Bölgesel lenf nodu metastazı yok |
| N1 | 1-3 bölgesel lenf nodu pozitifdir (lenf nodlarındaki tümör ≥ 0.2 mm'dir) veya herhangi bir sayıda tümör birikimi mevcuttur ve tanımlanabilir lenf nodu yoktur |
| N1a | Tek bölgesel lenf nodu pozitifdir |
| N1b | 2-3 bölgesel lenf nodu pozitifdir |
| N1c | Bölgesel lenf nodu pozitifliği yoktur ancak subseroza, mezenter, periton dışı perikolik veya perirektal/mezorektal dokularda tümör birikimleri vardır. |
| N2 | 4 veya daha fazla bölgesel lenf nodu pozitifdir |
| N2a | 4-6 bölgesel lenf nodu pozitifdir |
| N2b | 7 ve üzeri bölgesel lenf nodu pozitifdir |

Tablo 5: TNM evrelemesi- N değerlendirmesi

| Uzak metastaz (M) | |
|--------------------------|--|
| M kategorisi | M kriteri |
| M0 | Görüntüleme yöntemleri ile uzak metastaz saptanmamıştır |
| M1 | Bir veya daha fazla uzak bölgeye veya organa metastaz veya peritoneal metastaz |
| M1a | Peritoneal metastaz olmadan bir bölgeye veya organa metastaz |
| M1b | Peritoneal metastaz olmadan birden fazla bölgeye veya organa metastaz |
| M1c | Peritoneal yüzeye metastaz tek başına veya diğer bölge veya organ metastazları ile |

Tablo 6: TNM evrelemesi- M değerlendirmesi

| Prognostik Evre Grupları | | | |
|---------------------------------|--------|-----|-------|
| T | N | M | Evre: |
| Tis | N0 | M0 | 0 |
| T1, T2 | N0 | M0 | I |
| T3 | N0 | M0 | IIA |
| T4a | N0 | M0 | IIB |
| T4b | N0 | M0 | IIC |
| T1-T2 | N1/N1c | M0 | IIIA |
| T1 | N2a | M0 | IIIA |
| T3-T4a | N1/N1c | M0 | IIIB |
| T2-T3 | N2a | M0 | IIIB |
| T1-T2 | N2b | M0 | IIIB |
| T4a | N2a | M0 | IIIC |
| T3-T4a | N2b | M0 | IIIC |
| T4b | N1-N2 | M0 | IIIC |
| Any T | Any N | M1a | IVA |
| Any T | Any N | M1b | IVB |
| Any T | Any N | M1c | IVC |

Tablo7 : TNM evrelemesi(47)

Ameliyat öncesi klinik evreleme; fizik muayene (özellikle asit, hepatomegali ve lenfadenopati); göğüs, karın ve pelvisin BT ile taraması ve rektum kanseri için pelvisin manyetik rezonans görüntülemesi (MRG) ile gerçekleştirilir. Pozitron emisyon

tomografisi (PET) taramasının, KRK'nın rutin preoperatif evrelemesi için BT taramasına önemli bilgiler eklemediği saptanmıştır(49).

Cerrahi yaklaşımı seçmek ve cerrahi öncesi ilk kemoradyoterapi adayı olan hastaları belirlemek için tedaviden önce rektum içindeki tümörün yerinin ve hastalık kapsamının doğru bir şekilde belirlenmesi gereklidir.

Dijital rektal muayene, rijit sigmoidoskopi, transrektal ultrason, transrektal endoskopik ultrason ve pelvik MRG, lokal eksizyona karşı radikal rezeksiyon ihtiyacının ve hastanın preoperatif tedaviye aday olup olmadığının belirlenmesine yardımcı olabilir.

2.1.7. Kolorektal Kanser Tedavisi

Lokal Hastalık Tedavisi

Yeni teşhis edilen KRK'lar arasında, vakaların yaklaşık %38'i tanı anında lokalizedir(50). Tanı anında lokal KRK'sı olan hastaların % 70 ile 80'i tedavi amaçlı cerrahi için uygundur(51,52). Ek olarak, metastatik hastalıkla başvuran hastaların % 20'si, tedavi amaçlı cerrahi için uygun olabilir; bu büyük olasılıkla sınırlı sayıda izole karaciğer veya akciğer metastazı olanlardır.

Evre I kolon veya rektum kanserinin tedavisi tek başına cerrahi rezeksiyondur.

Lenf nodu negatif (evre II) hastalarda adjuvan kemoterapinin yararları kesin değildir. Bununla birlikte, randomize kontrollü çalışmalardan doğrudan veri olmamasına rağmen, yüksek riskli evre II hastalığı (yetersiz örneklenmiş lenf nodları, T4 primer lezyonu, tümör perforasyonu, lenfovasküler veya perinöral invazyon, zayıf farklılaşmış histoloji) olan hastalara sıklıkla adjuvan kemoterapi önerilir.

Küratif cerrahiye takiben, nod pozitif (evre III) kolon kanserli hastalar için altı aylık adjuvan 5FU bazlı Folinik asit, Fluorourasil, Oksaliptin (FOLFOX) veya Kapesitabin, Oksaliptin (CAPEOX) kemoterapi standart bir yaklaşımdır. Adjuvan kemoterapinin amacı, hastalığın tekrarını azaltan ve iyileşme oranlarını artıran mikrometastazların yok edilmesidir.

Rezeke kolon kanserli hastalarda adjuvan radyasyon tedavisinin (RT) rolü tam olarak tanımlanmamıştır. Bununla birlikte mevcut kılavuzlar, tahmini lokal nüks riski %30 veya daha yüksek olan (T4) veya inen kolonun primer tümörleri veya pozitif rezeksiyon sınırı olan hasta gruplarına adjuvan RT verilmesini önermektedir.

Rektum kanserinde neoadjuvan tedavi preoperatif olarak uygulanabilir. Bu yaklaşımla daha az toksitise ve daha iyi bölgesel kontrol sağlanabilir. Neoadjuvan tedavi ile düşük yerleşimli rektum kanserli bazı hastalarda sfinkter koruma gerçekleştirilebilir.

Kolon kanserinin aksine, rektum kanserleri, özellikle tümör ilerlemişse, tek başına ameliyattan sonra daha yüksek bir lokal başarısızlık oranına sahiptir. Sonuç olarak, postoperatif kemoterapi ve RT kombinasyonu nod pozitif rektum kanserinin rezeksiyonu sonrası ve çoğu durumda transmural nod negatif tümörün rezeksiyonu sonrası standart bir yaklaşımdır.

Kanserlerin yaklaşık %80'i kolon duvarında ve/veya bölgesel düğümlerde lokalizedir. Lokalize kolon kanseri için tek tedavi yöntemi cerrahidir. İnvaziv kanser cerrahisinin amacı, tümörün, majör vasküler pedikülün ve etkilenen kolon segmentinin lenfatik drenaj bölümünün tamamen çıkarılmasıdır. Komplike olmayan kolektomi yapılan hastaların çoğunda primer anastomoz kullanılarak bağırsak devamlılığının restorasyonu gerçekleştirilebilir.

Kolon kanserlerinin çoğu poliplerden (adenomlar) kaynaklanır. Benign adenomların yanı sıra şiddetli displazi veya karsinoma in situ olanlar (invazif kanser kanıtı olmadan submukozaya invazyon), rezeksiyon sınırları kanser içermediği sürece tek başına endoskopik çıkarma (polipektomi) ile etkili bir şekilde tedavi edilebilir. Kötü farklılaşmış histoloji, lenfovasküler invazyon, tümör tomurcuklanması, saplı polipler için, rezeksiyon sınırında kanser, sapsız polipler için, rezeksiyon sınırındaki kanser veya submukozal invazyon derinliği ≥ 1 mm olması durumunda daha yüksek rezidü kanser ve/veya nodal metastaz riskine işaret ettiğinden, radikal cerrahi düşünülmelidir.

Çoklu organ rezeksiyonu, lokal olarak ilerlemiş (yani, bitişik organlara yapışık veya istila eden), potansiyel olarak rezeke edilebilir primer kolon kanserleri için uygun bir seçenektir.

Neoadjuvan (preoperatif) kemoradyoterapi, ilk cerrahiden bağımsız kemoterapili veya kemoterapisiz, randomize çalışmalardan elde edilen verilerle desteklenen lokal ileri rektum kanseri için yaygın bir yaklaşımdır. Klinik uygulamada, küratif rezeksiyon açısından kemoterapi alan hasta sayısını en üst düzeye çıkarmak ve rektum kanserinin evresini azaltmak için ameliyat öncesinde tüm planlı sistemik kemoterapi ve kemoradyoterapiyi kullanan total neoadjuvan tedavi yaklaşımları giderek artan bir şekilde kullanılmaktadır.

Küçük çaplı faz II çalışmaları, DNA yanlış eşleşme-onarım bozukluğu olan kolon kanserinde önceden yapılan neoadjuvan immünoterapi ile heyecan verici sonuçlar vermiştir, ancak şu anda kesin ajanlar ve tedavi süresi bilinmemektedir(53-55).

Küratif rezeksiyon geçirmiş kolon kanserli hastalar için, postoperatif (adjuvan) kemoterapinin amacı, mikrometastazları yok etmek; böylece hastalığın tekrarlama olasılığını azaltmak ve iyileşme oranını arttırmaktır. Adjuvan kemoterapinin faydaları, modern kemoterapi ile hastalığın tekrarlama riskinde yaklaşık % 30 ve mortalitede % 22 ile 32'lik bir azalma olan evre III (nod pozitif) hastalığı olan hastalarda en açık şekilde gösterilmiştir.

Metastatik Hastalık Tedavisi

Yeni teşhis edilen kolon kanserlerinin yaklaşık %20 ile 25'i başvuru sırasında metastatiktir (senkron metastaz). Diğerleri, lokalize hastalığın potansiyel olarak iyileştirici tedavisinden sonra metastatik hastalık geliştirebilir. En yaygın uzak metastatik bölgeler karaciğer, akciğerler, lenf düğümleri ve peritondur.

Cerrahi, ağırlıklı olarak karaciğer ve akciğerde sınırlı metastatik hastalığı olan seçilmiş hastalar için potansiyel olarak iyileştirici bir seçenek sunar. Vakaların yaklaşık yarısında metastazektomi ile uzun süreli sağkalım elde edilebilir ve sistemik kemoterapi ile birlikte hem birincil hem de metastatik bölgelere agresif bir tedavi

verilebilir. Cerrahi müdahalenin zamanlaması özellikle senkron metastatik hastalık ile başvuran hastalarda tartışmalıdır.

2.2. MİKRO RNA

MikroRNA'ların Tarihi ve Genel Özellikleri

İlk mikroRNA (miRNA), 1993 yılında Lee ve çalışma arkadaşları tarafından Victor Ambros laboratuvarında keşfedilmiştir(56). Lin-4 olarak isimlendirdikleri genin hiçbir protein kodlamamasına rağmen 22 nükleotit uzunluğunda küçük bir RNA transkribe ettiğini yayımlamışlardır. MikroRNA terimi 2001 yılından itibaren kullanılmaya başlanmıştır.

MikroRNA'lar gen ekspresyonunun düzenlenmesinde rol oynayan, 18-24 nükleotit uzunluğunda tek iplikçikli bir RNA molekül çeşididir. Pri-miRNA olarak isimlendirilen primer transkriptler işlenerek, önce pre-miRNA adlı kısa sap-ilmik yapılarına, sonra da fonksiyonel miRNA'ya dönüşürler. İnsanlarda miRNA'ları kodlayan yüksek seviyede korunmuş yüzlerce gen bölgesi keşfedilmiştir. Son zamanlarda insan genomunda 1917 adet mikroRNA tanımlanmıştır(57). MiRNA'lar tüm hücre tiplerinde mevcuttur ve bazı dokularda diğerlerine oranla daha fazla eksprese edilirler. Yapılan çalışmalar sonucunda miRNA'ların; hücre gelişimi, farklılaşması, proliferasyonu ve apoptozis ile ilişkisi olduğu gösterilmiştir(58).

MikroRNA'ların Yapısı ve Fonksiyonu

MikroRNA'lar, birbirini takip eden üç basamaklı işlem süreci sonucunda meydana gelir. İlk basamakta miRNA genlerinden primer miRNA (pri-miRNA)'ların transkripsiyonu gerçekleşir. İkinci basamakta nükleus içinde pri-miRNA'lar prekürsör miRNA (pre-miRNA)'lara dönüştürülür. Üçüncü ve son basamakta olgun miRNA'ların sitoplazma içinde oluşumu gerçekleşir. MikroRNA'lar, primer transkript (pri-miRNA) olarak RNA polimeraz II enzimi ile genomik DNA'dan sentezlenir. Pri-miRNA 500-3000 baz uzunluğunda ve "cap" ve "poli A" kuyruğuna sahip sap-ilmik yapısındadır. Nükleusta pri-miRNA, RNAaz III enzim grubunun bir endonükleazı olan Drosha ve kofaktörü Pasha (veya DGCR8) tarafından ortalama 70 nükleotit uzunluğunda olan pre-miRNA'ya dönüştürülür. Pre-miRNA molekülü Exportin 5 ve

nükleer bir protein olan RAN-GTP'ye bağımlı şekilde sitoplazmaya aktarılır ve pre-miRNA'lar sitoplazmada RNAaz III enzim grubundan Dicer adlı endonükleaz ile kesilerek 18-24 nükleotid uzunluğunda çift zincirli miRNA: miRNA dubleksine çevrilir. Dicer, RNA ile tetiklenmiş susturma kompleksi (RNA-induced silencing complex; RISC) oluşumunu da indükler. Dicer, pre-miRNA'nın sap-ilmliğini kestikten sonra, miRNA: miRNA dubleksinden sadece biri RISC'e bağlanır. RISC içinde yer alan bir RNAz olan argonaute'un etkisiyle bu iki iplikten 5' ucu daha kararlı olan seçilip komplekse dahil edilir. Bu iplik rehber iplik olarak adlandırılır. Diğer iplik yolcu iplik olarak adlandırılır ve RISC substratı olarak sindirilir. MikroRNA'lar, aktif RISC kompleksine bağlandıktan sonra, ya argonaute proteinleri yardımıyla mRNA'nın yıkımına ya da protein translasyonunun baskılanmasına neden olurlar(59).

Kodlanan genlerin en önemli düzenleyicilerinden biri olarak tanımlanan miRNA'lar moleküler tıpta yeni tanısal ve hedefe yönelik tedavi edici biyobelirteçlerin belirlenmesinde gelecek vadetmektedir. MikroRNA'lar hedef genleri baskılar ve hücre gelişimi, farklılaşması, çoğalması, hücre ölümü, apoptozis gibi fizyolojik ve patofizyolojik süreçlerde rol oynar(60).

Hedef genlerin ekspresyonunu azaltan mikroRNA'lar protein sentezinin düzenlenmesine katılır. MikroRNA'lar nükleotid dizilerine özel komplimenter hedef genleri tanıma özelliğine sahiptir. MikroRNA'ların her birinin birden çok mRNA'nın ekspresyonunu düzenleyebildiği ve mRNA'ların her birinin de birden çok mikroRNA tarafından hedeflenebildiği gösterilmiştir(61).

Stimülasyon üzerine miRNA ya pre-mRNA'nın bir bileşeni olarak ya da bir polisistronik birincil miRNA transkripti olarak genomdan kopyalanır. Pre-mRNA'nın spliceosome veya mikroişlemci tarafından bölünmesi sonucu miRNA öncü moleküllerinden birisi oluşur: mirtron, pri-miRNA veya premiRNA. Pri-miRNA mikroişlemci kompleksi tarafından pre-miRNA'ya işlenir. Pre-miRNA (ve olasılıkla mirtronlar), Exportin-5/RanGTP yolağı aracılığıyla sitoplazmaya aktarılır. Sitoplazmada pre-miRNA, olgun miRNA ya Dicer tarafından direk olarak çevrilebildiği gibi, indirek yoldan da Dicer, Ago2, TRBP kompleksi ile 2 basamaklı olarak da çevrilebilir.

MikroRNA ve Kanser

Kanser, normal hücrelerin prekanseröz durumlardan invazif kansere doğru kendilerini bir dizi süreç boyunca ilerleten genetik değişiklikler yaşadığı çok aşamalı bir süreçtir. Ortaya çıkan dönüştürülmüş hücre fenotip bazı özellikleri ile hücrelerin otonom bir şekilde aşırı derecede çoğalmasını sağlayan özelliklere sahiptir. Bunlar; büyüme sinyallerinden bağımsız olarak çoğalma, tepki vermeyen engelleyici büyüme sinyalleri, programlanmış hücre ölümünden (apoptoz) kaçış yolları, anjiyogenezin indüklenmesidir(62).

Hücre proliferasyonu ile ilgili genlerin düzensizliği, farklılaşma ve apoptoz kanserlerin başlaması ve ilerlemesi ile ilişkilidir. Kanseri geliştiren genler, onkogenler ve tümör baskılayıcı genlerdir. Onkogen ürünleri işlevlerine göre altı gruba ayrılabilir; transkripsiyon faktörleri, büyüme faktörleri, büyüme faktörü reseptörleri, kromatin yeniden şekillendiriciler, apoptoz düzenleyiciler veya sinyal dönüştürücüler(63). Bu gen ürünlerinin aşırı ekspresyonu tümör gelişimini yönlendirebilecek seçici büyüme sağlar. Onkogenler geni çoğaltan genetik değişikliklerle; gen ekspresyonunu artırmak için promotörleri değiştirerek ya da protein yapısını aktif duruma değiştirerek aktive edilebilir(63). Bunun tersi olarak tümör baskılayıcı genlerin işlev kaybı olması kansere giden işlemleri başlatabilir(64). Son zamanlarda, onkogenlerin ve tümör baskılayıcıların tanımı, klasik protein kodlayan genlerden miRNA'yı içerecek şekilde genişletilmiştir(65). MiRNA'lar özellikle hücre proliferasyonu, farklılaşması ve hayatta kalması ile ilgili yollar da dahil olmak üzere sayısız metabolik ve hücre yolunu düzenlenmesinde hayati bir rol oynarlar(66). MiRNA ekspresyon profillerinin düzensizliği, incelenen çoğu tümörde gösterilmiştir(67). Yine de, miRNA'nın onkogenler veya tümör olarak spesifik sınıflandırması miRNA'ların karmaşık ifade kalıpları nedeniyle zordur. MiRNA'ların ifade kalıpları belirli dokular ve farklılaşma durumları için değişiklik gösterebilmektedir(68,69). MiRNA'nın direkt olarak kansere neden olduğu ya da hücre fenotipindeki değişimle ekspresyon seviyesinde artmaya bağlı kanser gelişimi olduğu her zaman ayırtedilemeyebilir. Tek bir miRNA birden fazla hedefi düzenleyebilir(70). Tek bir miRNA'nın dokuya özgü ekspresyonu bir dokuda tümör baskılayıcı olarak görülürken, diğerinde onkogen olarak görev alabilmektedir.

Kolorektal Kanser ve MikroRNA

MikroRNA'ların keşfi ile özellikle kanserler arasında ilişki araştırılmaya başlanmıştır. Kolorektal kanserlerde mikroRNA ekspresyon düzeylerinin değiştiğini ilk kez gösteren Micheal ve arkadaşlarıdır(71). MiR-143 ve miR-145'in KRK'da azaldığını bildirdiler ve bu mikroRNA'ların tümör baskılayıcılar olduğunu öne sürdüler. O zamandan beri çok sayıda çalışma bu bulguları doğrulamıştır ve miR-143 ve miR-145'in gerçekten de KRK'da tümör baskılayıcı fonksiyonlara sahip olduğu gösterilmiştir(72). KRK'de oldukça alakalı bir başka mikroRNA ise onkojenik mikroRNA, miR-21'dir ve birçok çalışma, miR-21'in KRK'de yüksek olduğunu bildirmiştir. Ayrıca, miR-21'in diğer birçok solid tümörde yükseldiği bulunmuştur(73). KRK'de değişiklik gösteren diğer mikroRNA'lar arasında miR-17-92 kümesi, miR-106a, miR-31, miR-181b, miR-183, miR-135a/b, miR-200a/b/c ailesi, miR-203 ve miR-224 bulunmaktadır(72).

MikroRNA'ların transkripsiyonel düzenlemesi, protein kodlayan genlerin transkripsiyonel düzenlenmesi kadar karmaşık ve çeşitlidir. MikroRNA'ların anormal transkripsiyonu KRK'de sinyal kaskadları, genomik amplifikasyon/kaybın sonucu, genotoksik stres veya inflamatuvar uyaranlar gibi çeşitli onkojenik yollarla aktive olan transkripsiyon faktörlerinin sonucu olabilir. Let-7, miR-34, miR-342, miR-345, miR-9, miR-129 ve miR-137 kolon tümörlerinde sıklıkla hipermetile olur ve bunun sonucunda ekspresyon seviyeleri azaldığı düşünülmektedir. MikroRNA'lar ayrıca epigenetik mekanizmaları da etkiler. Örneğin miR-143, doğrudan DNA metiltransferaz 3A'yı hedefleyen bir tümör baskılayıcı mikroRNA'dır.

MikroRNA ekspresyon paternleri ayrıca doku tiplerini ve tümör tiplerini sınıflandırabilir ve microRNA ekspresyon modelleri, bunun için en az mRNA ekspresyon profilleri kadar iyi performans gösterir. Bu nedenle, mikroRNA ekspresyon paterni farklı sınıflandırmalara yardımcı olabilir.

Şüphesiz, başarılı tedavi için KRK'nin erken tespiti çok önemlidir. Mevcut kemoterapötik rejimler, hastaların genel sağkalımını önemli ölçüde iyileştirirken; kür KRK'nın metastatik yayılımından önce cerrahi olarak çıkarılması ile sağlanabilir.

KRK'da CEA, Ca19,9 gibi pekçok belirteç yaygın olarak kullanılırken miRNA ekspresyon düzeyleri erken tanı, tedavi yanıtı ve progresyon belirlemede kullanılabilir.

3.GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. HASTALARIN ÖZELLİKLERİ

Projede gerçekleştirilen bütün aşamalar Helsinki Bildirgesi'ne uygun olarak gerçekleştirildi ve çalışmaya alınan hastalardan çalışma için gerekli bilgilendirilmiş onam alındı. Çalışmada kullanılan hasta materyalleri Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı'ndaki hasta kayıtlarından sağlandı. Deneysel çalışmalar, Pamukkale Üniversitesi İleri Teknoloji Uygulama ve Araştırma merkezi bünyesinde bulunan Kanser Biyolojisi laboratuvarlarında yapıldı.

Mayıs 2018-Aralık 2019 tarihleri arasında 40-80 yaş aralığında, henüz herhangi bir tedavi almamış histopatolojik olarak kolorektal adenokarsinom tanısı almış 36 hasta ve kanser hastalığı olmayan 37 kişi kontrol grubu olarak çalışmaya dahil edildi.

Araştırma projesi Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul onayına sunulmuş, 11.04.2018 tarih ve 60116787-020/25606 sayılı karar yazısıyla etik kurul onayı alınmıştır.

3.2. ÖRNEK TOPLANMASI

Kolorektal hasta grubundan tedavi öncesi ve kontrol grubundan 1 kez kan alınmıştır. Elde edilen tam kan örnekleri santrifüj edilerek serum örnekleri elde edildi. Serum örnekleri çalışılncaya kadar ependorf tüplerine konularak -80°C'de saklandı. Serumu uygun hacimde trizol eklenerek standart total miRNA izolasyonu protokolü gerçekleştirildi.

3.3. TOTAL MİRNA İZOLASYONU PROTOKOLÜ

1- 1 ml trizol reaktif kullanılarak serum örnekleri toplandı. 2 mL'lik steril tüplerde parçalanarak homojenize edildi. Yani vortex edildi.

2- Örnekler 5 dk oda ısısında bekletilerek nükleoprotein komplekslerinin tamamen ayrışması sağlandı.

- 3- 1 ml trizol reaktifi için 0.2 ml kloroform eklendi. Tüplerin kapakları iyice kapatılıp 15 sn boyunca elle kuvvetlice çalkalanarak karıştırıldı. Örnekler 2-3 dk oda ısısında bekletildi.
- 4- 15 dk 4 °C' de 12000 x g de santrifuj edildi.
- 5- Üstteki sıvı faz yeni bir tüpe aktarılıp homojenizasyonda kullanılan trizolün yarısı kadar isopropil (0,5 ml) alkolle karıştırılarak RNA'nın çökmesi sağlandı. Örnekler oda ısısında 10 dk bekletildi.
- 6- 12000 x g'de 4°C de 10 dk santrifuj edildi. Sıvı kısım atıldı.
- 7- RNA çökeltisi homojenizasyonda kullanılan trizol kadar %75'lik etanol eklenerek örnekler vorteks ile karıştırıldı.
- 8- 5 dk 7500 x g'de 4°C de santrifuj edildi. Etanol uzaklaştırıldı.
- 9- İşlemler sonunda RNA çökeltisi 5-10 dk kurumaya bırakıldı.
- 10- RNA 30-50 uL steril su ile çözüldü ve 10 dk 55-60°C de bekletildi. Uzun süreli kullanım için - 80°C'de saklandı.

3. 4. MİRNA cDNA SENTEZİ

cDNA sentezi abm miRNA cDNA Synthesis with Poly(A) Polymerase Tailing kiti (Kat. No: 903) ile gerçekleştirildi. Bu kitin protokolüne uygun olarak çalışma yapıldı. Elde edilecek toplam miRNA'dan yaklaşık 75 ng alındı. 2 µL 5X Poly(A) Polimeraz Reaksiyon Tamponu, 1,5 µL ATP, 1 µL MnCl₂, 0,5 µL Poly(A) Polimeraz eklenerek, RNase-free su ile 10 µL'ye tamamlandı. 30 dakika 37°C'de inkübe edildi. Bir süre buzda bekletildikten sonra 2 µL miRNA Oligo (dT) adaptör eklendi ve 65°C'de 5 dakika inkübe edildi. Kısaca buzda bekletilerek, üzerine 1 µL dNTP, 4 µL 5X RT Tamponu, 1 µL EasyScript RTase ve 2 µL RNase-free su eklenerek sırayla 15 dakika 42°C'de ve 10 dakika 70°C'de inkübe edildi

3.5. REAL-TİME PCR (qRT-PCR) REAKSİYONU

miRNAların ekspresyon seviyeleri Rotor-Gene 6000 (Corbett Life Science, Avustralya) cihazı kullanılarak tespit edildi. miRNA primerlerinin tamamı abm'den (Kanada) temin edildi. qRT-PCR, EvaGreen miRNA qPCR MasterMix (abm, Kanada) kullanılarak gerçekleştirildi. Reaksiyon koşulları; 1 µL cDNA, 10 µL EvaGreen miRNA Mastermix, 0,7 µL Forward primer, 0,7 µL Reverse Primer, 7,6 dH₂O şeklinde gerçekleştirilecektir. PCR şartları; 95°C'de 10 dakika 1 döngü, [95°C'de 10 saniye / 63°C'de 15 saniye / 72°C'de 5 saniye] 40 döngü, en son 55°C-90°C arası 0,1°C hassasiyette melting curve analizi yapıldı. Normalizasyon için, normal kolon hücre hattı kullanıldı. Real-Time PCR analizleri standart eğri ile kopya sayıları hesaplanarak gerçekleştirildi.

3.6. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Veriler SPSS 25.0 paket programıyla analiz edilmiştir. Sürekli değişkenler ortalama \pm standart sapma, ortanca (en küçük-en büyük değerler) ve kategorik değişkenler sayı ve yüzde olarak verilmiştir. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilk testi ile incelenmiştir. Parametrik test varsayımları sağlandığında bağımsız grup farklılıkların karşılaştırılmasında iki ortalama arasındaki farkın önemlilik testi; parametrik test varsayımları sağlanmadığında ise bağımsız grup farklılıkların karşılaştırılmasında Mann Whitney U testi kullanılmıştır. Ayrıca sürekli değişkenlerin arasındaki ilişkiler Spearman korelasyon analize ve kategorik değişkenler arasındaki farklılıklar ise Ki kare analizi ile incelenmiştir. Yöntem performanslarının incelenmesinde ROC analizi yöntemi kullanılmıştır. ROC analizi sonucunda en uygun kesim noktasının belirlenmesinde Youden Index değeri kullanılmıştır. Youden Index, duyarlılık ve seçicilik değerlerinin toplamından 1 değerinin çıkarılmasıyla elde edilir. En yüksek Youden Index değeri, kestirim gücü en yüksek olan kesim noktasını göstermektedir. Youden Index değerlerinden elde edilen en uygun kesim noktaları ile yapılan incelemeler sonucunda ise duyarlılık ve seçicilik değerleri elde edilerek performans sonuçları incelenmiştir(74).

4. BULGULAR

4.1. ÇALIŞMA GRUPLARININ ÖZELLİKLERİ:

Çalışmamıza kolon kanseri hasta grubunda 10 erkek (%27.8), 26 kadın (%72.2) olmak üzere toplam 35 kişi, kontrol grubuna ise 12 erkek (%32.4) 25 kadın (%67.6) olmak üzere 37 kişi katılmıştır (p=0.11). Hasta grubunun medyan yaşı 58, kontrol grubunun medyan yaşı 56 olup 42-80 yaşları arasındadır ve iki grup yaş açısından benzerdir (p=0.066).

Hasta ve kontrol grubu sigara içicilik oranları sırasıyla %50 ve %40.5 olup istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı (p=0.127).

Hasta ve kontrol gruplarının alkol kullanım oranları karşılaştırıldığında hasta grubunda %27.8 oranıyla kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir.

| | | Kolorektal hasta grubu | Kontrol grubu | Gruplar arası p |
|--------------|-------|------------------------|---------------|-----------------|
| Yaş (medyan) | | 58 | 56 | p=0.066 |
| Cinsiyet | Kadın | 26(%72.2) | 25(%67.6) | p=0.11 |
| | Erkek | 10(%27.8) | 12(%32.4) | |
| Sigara | Var | 18(%50) | 15(%40.5) | p=0.127 |
| | Yok | 18(%50) | 22(%59.5) | |
| Alkol | Var | 10(%27.8) | 1(%2.7) | p=0.003* |
| | Yok | 26(%72.2) | 36(%97.3) | |
| Tip 2 DM | Var | 14 (%38.9) | 16(%43.2) | p=0.705 |
| | Yok | 22(%61.1) | 21(%56.8) | |

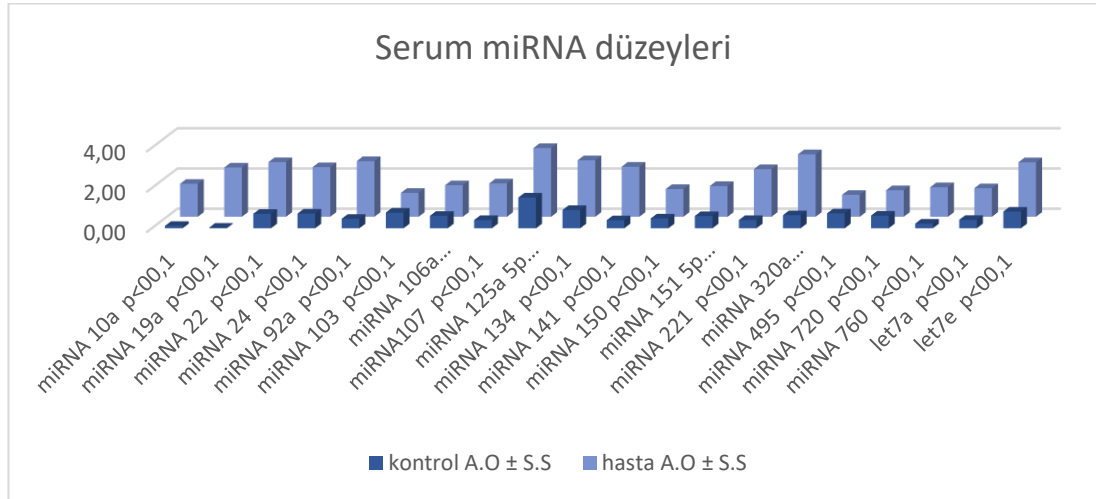
Tablo 8: Çalışma grupları özellikleri

Çalışmaya katılan grupların tip 2 diyabet oranları hasta grubunda %38.9 ve kontrol grubunda %43.2 olarak saptandı ve istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı (p=0.705).

4.2. ÇALIŞMA GRUPLARININ MİRNA EKSPRESYON DÜZEYLERİ

Kolorektal hasta grubunda toplam 36 kişinin ve kontrol grubunda 37 kişinin 20 adet serum miRNA (miR_10a, miR_19a, miR_22, miR_24, miR_92a, miR_103, miR_106a, miR_107, miR_125a_5p, miR_134, miR_141, miR_150, mir_151_5p, miR_221, miR_320a, miR_495, miR_720, mir_760, let7a, let7e) düzeyleri incelenmiştir. Tabloda çalışma gruplarının serum miRNA ekspresyon seviyeleri ve istatistiki değerlendirmeler gösterilmiştir.

Şekilde çalışma gruplarının serum miRNA ekspresyon düzeyleri grafik olarak gösterilmiştir.



Şekil 2: Hasta ve Kontrol gruplarında miRNA düzeyleri

| | Kontrol Grubu | | Kolorektal hasta grubu | | Gruplar arası p |
|-------------|---------------|--------------------|------------------------|---------------------|-----------------|
| | A.O ± S.S | med (min - max) | A.O ± S.S | med (min - max) | |
| miR_10a | 0.12 ± 0.09 | 0.11 (0 - 0.39) | 1.64 ± 1.07 | 1.84 (0 - 3.58) | <0.001 |
| miR_19a | 0.03 ± 0.08 | 0 (0 - 0.3) | 2.45 ± 1.16 | 2.33 (0.18 - 5.93) | <0.001 |
| miR_22 | 0.72 ± 0.8 | 0.44 (0 - 3.77) | 2.72 ± 1.51 | 2.4 (1.17 - 7.47) | <0.001 |
| miR_24 | 0.73 ± 0.31 | 0.62 (0.19 - 1.56) | 2.47 ± 1.55 | 2.29 (0.11 - 10.05) | <0.001 |
| miR_92a | 0.47 ± 0.47 | 0.37 (0.02 - 2.13) | 2.77 ± 1.03 | 2.64 (0.97 - 6.24) | <0.001 |
| miR_103 | 0.78 ± 0.52 | 0.71 (0.1 - 2.33) | 1.19 ± 0.47 | 1.22 (0.04 - 2.58) | <0.001 |
| miR_106a | 0.62 ± 0.69 | 0.26 (0.04 - 2.66) | 1.57 ± 0.83 | 1.65 (0 - 3.84) | <0.001 |
| miR_107 | 0.41 ± 0.48 | 0.21 (0.04 - 2.02) | 1.66 ± 1.54 | 1.34 (0 - 7.81) | <0.001 |
| miR_125a_5p | 1.53 ± 1.15 | 1.24 (0.16 - 3.96) | 3.42 ± 2.17 | 2.96 (1.34 - 12.43) | <0.001 |
| miR_134 | 0.91 ± 0.97 | 0.51 (0.02 - 3.56) | 2.81 ± 0.64 | 2.84 (1.54 - 3.92) | <0.001 |
| miR_141 | 0.4 ± 0.64 | 0.18 (0.01 - 2.78) | 2.49 ± 0.52 | 2.44 (1.09 - 3.52) | <0.001 |
| miR_150 | 0.49 ± 0.64 | 0.32 (0 - 3.51) | 1.38 ± 0.59 | 1.33 (0.4 - 3.52) | <0.001 |
| mir_151_5p | 0.61 ± 0.68 | 0.39 (0 - 2.93) | 1.53 ± 0.79 | 1.35 (0.61 - 4.95) | <0.001 |
| miR_221 | 0.41 ± 0.74 | 0.22 (0.01 - 4.3) | 2.37 ± 0.6 | 2.22 (1.12 - 3.46) | <0.001 |
| miR_320a | 0.65 ± 1.13 | 0.23 (0.02 - 5.51) | 3.11 ± 1.57 | 2.74 (0.74 - 7.37) | <0.001 |
| miR_495 | 0.74 ± 1.28 | 0.24 (0.03 - 7.21) | 1.09 ± 0.56 | 0.94 (0.37 - 2.46) | <0.001 |
| miR_720 | 0.63 ± 0.69 | 0.3 (0.03 - 2.32) | 1.32 ± 0.7 | 1.07 (0.18 - 3.56) | <0.001 |
| mir_760 | 0.23 ± 0.46 | 0.11 (0.01 - 2.68) | 1.47 ± 0.77 | 1.44 (0.1 - 3.82) | <0.001 |
| let7a | 0.42 ± 0.42 | 0.27 (0.01 - 2.01) | 1.42 ± 0.5 | 1.54 (0.23 - 2.53) | <0.001 |
| let7e | 0.83 ± 0.73 | 0.71 (0.04 - 2.69) | 2.71 ± 0.75 | 2.68 (1.26 - 4.46) | <0.001 |

Tablo 9: Çalışma grupları miRNA ekspresyon düzeyleri (A.O: Ağırlıklı ortalama, S.S.: Standart sapma, med: medyan, min: minimum, max: maximum)

Araştırdığımız bütün miRNA'larda (miR_10a, miR_19a, miR_22, miR_24, miR_92a, miR_103, miR_106a, miR_107, miR_125a_5p, miR_134, miR_141, miR_150, mir_151_5p, miR_221, miR_320a, miR_495, miR_720, mir_760, let7a, let7e) kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek seviyede ekspresyon saptadık. Sonrasında Youden indeks ve ROC analizi ile sonuçları değerlendirdik ve prediktif değerlerden cut-off değerinin hesapladık. Tabloda çalışma gruplarının serum miRNA ekspresyon düzeylerinin eğri altında kalan alanları, cut-off değerleri, duyarlılık ve seçicilikleri gösterilmiştir.

| miRNA | Eğri altında kalan alan | Cut-off değeri | Duyarlılık(%) | Seçicilik(%) |
|-------------|-------------------------|----------------|---------------|--------------|
| miR_10a | 0.87 | 0.65 | 77.8 | 100 |
| miR_19a | 1.00 | 0.53 | 97.2 | 100 |
| miR_22 | 0.94 | 1.13 | 100 | 83.8 |
| miR_24 | 0.94 | 1.09 | 94.4 | 89.2 |
| miR_92a | 0.99 | 1.06 | 97.2 | 91.9 |
| miR_103 | 0.76 | 0.92 | 75 | 73 |
| miR_106a | 0.81 | 0.44 | 91.7 | 67.6 |
| miR_107 | 0.81 | 0.61 | 83.3 | 67.1 |
| miR_125a_5p | 0.83 | 1.58 | 97.2 | 67.6 |
| miR_134 | 0.92 | 1.3 | 100 | 75.7 |
| miR_141 | 0.96 | 1.04 | 100 | 91.9 |
| miR_150 | 0.91 | 0.70 | 94.4 | 75.7 |
| mir_151_5p | 0.88 | 0.84 | 94.4 | 81.1 |
| mir_221 | 0.97 | 0.98 | 100 | 94.6 |
| miR_320a | 0.93 | 0.70 | 100 | 83.8 |
| miR_495 | 0.79 | 0.43 | 97.2 | 67.6 |
| miR_720 | 0.79 | 0.63 | 94.4 | 67.6 |
| miR_760 | 0.95 | 0.37 | 94.4 | 89.2 |
| let7a | 0.93 | 0.70 | 94.4 | 83.8 |
| let7e | 0.95 | 1.55 | 97.2 | 83.7 |

Tablo 10: Çalışma gruplarının serum miRNA ekspresyon düzeylerinin eğri altında kalan alanları, cut-off değerleri, duyarlılık ve seçicilikleri

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda, yeni tanı kolorektal kanser hastalarının serumlarında, prediktif ve prognostik değer taşıma potansiyeli gösteren mikroRNA'ları sağlıklı kişiler ile karşılaştırdık. Amacımız mikroRNA'ların kolorektal kanserinin tanısında klinisyenlere yol gösterebilecek non-invaziv biyobelirteçler olduğunu ortaya koymak ve mevcut çalışmalara bu bağlamda katkı sağlamaktır.

Kolorektal kanserler yaygın görülen bir kanser türüdür. Genellikle ileri evrelerde tanı almaktadır ve serum tümör belirteçleri tanısal etkinlik açısından kısıtlıdır. Erken tanı üzerine birçok çalışma devam etmektedir.

MikroRNA'lar, gen ekspresyonunun düzenlenmesinde görev alan endojen, kodlamayan küçük RNA'lardır. MiRNA ekspresyonunun, miRNA genlerinin amplifikasyonu veya silinmesi, miRNA'ların anormal transkripsiyonel kontrolü, düzensiz epigenetik değişiklikler ve miRNA biyogenezi sürecindeki kusurlar dahil olmak üzere çeşitli mekanizmalar yoluyla insan kanserinde düzensiz olduğu gösterilmiştir. MiRNA'lar, belirli koşullar altında onkogenler veya tümör baskılayıcılar olarak işlev görebilir. Düzensiz miRNA'ların, proliferatif sinyalleme sürdürmek, büyüme baskılayıcılardan kaçınmak, hücre ölümüne direnmek, istila ve metastazı aktive etmek ve anjiyogenezi indükleme dahil olmak üzere kanserin ayırt edici özelliklerini etkilediği gösterilmiştir. Artan sayıda çalışma, miRNA'ları insan kanseri teşhisi, prognozu ve terapötik hedefler veya araçlar için potansiyel biyobelirteçler olarak tanımlamıştır ve daha fazla araştırma ve doğrulama gerektirmektedir.

Yaptığımız çalışmada serum miRNA 10a; kontrol grubunda ortalama 0.12 ± 0.09 ve hasta grubunda 1.64 ± 1.07 saptandı. Hasta grubunda istatistiki olarak anlamlı derecede yüksekti ($p < 0.001$). Xiangdong Lu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada bir anti-tümör ilaç olan icaritin alan küçük hücre dışı akciğer kanserlerinde miRNA-10a'nın fazla ekspresyonunun PTEN/AKT/ERT yolakları ile direk olarak PTEN'i hedefleyerek, icaritin anti-tümör etkisi azalttığını saptamışlardır(75). Yan Yan ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada ise miRNA-10a'nın direk olarak MTMR3

proteinini hedefleyerek proliferasyonu artırdığı ve apoptozu azalttığını göstermişlerdir(76). Thi Thanh Vu ve arkadaşlarının 2021 yılında yaptığı çalışmada miRNA-10a'nın MDM2 proteini üzerinden p53 tümör baskılayıcı genine negatif etki ettiğini göstermişlerdir(77). Yapılan çalışmaların çoğunda miRNA-10a'nın onkogen olarak görev aldığı görülmektedir. Natsuhiko Kuratomi ve arkadaşlarının yaptığı araştırmada invazif duktal müsinöz pankreas kanserlerinde, pankreatik sıvı içinde miRNA-10a ekspresyon seviyelerinde artış saptamışlardır(78).

Gustavo Stadthagen ve arkadaşlarının 2013'te yayımladığı makalede yaptıkları hayvan deneyinde çalışmamız ile korele olarak miRNA-10a seviyesinde anlamlı değişiklik saptamışlardır(79). Yankun Liu ve arkadaşlarının 2017 yılında yayımladığı makalede KRK doku ve hücre kültüründe miRNA-10a seviyesinin, metastatik ve lenf nodu hücre kültürüne göre daha yüksek seviyede eksprese edildiğini saptamışlardır(80). Ayrıca, matriks metalloproteinaz 14 ve aktin gama 1, KRK hücrelerinde miR-10a'nın hedef genleri olarak doğrulanmıştır. MMP14 ve actin gama 1'in ektopik ekspresyonu, miR-10a tarafından indüklenen azalmış hücre yapışması ve anoikis direnci aktivitelerine karşı rol aldığı bildirilmiştir. Bu bulgular sadece miR-10a'nın KRK metastazını baskıladığı mekanizmayı açıklamakla kalmayıp, aynı zamanda KRK hastalarında miR-10a'nın potansiyel prognostik ve terapötik değerini de göstermektedir. MiRNA-10a neredeyse bütün çalışmalarda onkogen olarak görev aldığı gösterilmiş olup, bu çalışmada miRNA-10a'nın ayrıca metastazı engelleyebileceği sonucuna varılmaktadır. Bizim çalışmamızda da miRNA-10a seviyeleri hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek saptadık ve bunun sonucunda doku düzeyinde gösterilen bir MİRNA'nın serumdaki ekspresyon seviyesinin yüksekliğini göstermiş olduk. Alicia Romero-Lorca ve arkadaşlarının 2021 yılında yayımladığı makalede metastatik KRK'da bevasizumab plus kemoterapisine yanıt vermeyen hastalarda miRNA 10a ekspresyon seviyelerinin hala yüksek kaldığı ve kötü prognozla ilişkili olduğu gösterilmiştir(81).

Çalışmamızda serum miRNA-19a; kontrol grubunda ortalama 0.03 ± 0.08 ve hasta grubunda 2.45 ± 1.16 saptandı. Hasta grubunda istatistiki olarak anlamlı derecede yüksekti ($p < 0.001$). miR-19 ailesi, doku homeostazını ve organizmaların normal

gelişimini düzenlemede ve sürdürmede önemli bir rol oynamaktadır(82,83). Ayrıca miR-19 ailesinin bağışıklık sisteminin, özellikle lenfositlerin homeostatik bakımına, foliküler yardımcı T hücrelerinin farklılaşmasının düzenlenmesine ve B hücrelerinin gelişiminin modülasyonuna katkıda bulunduğu tezi sürülmektedir(84,85). Ayrıca, miR-19 ailesinin inflamasyon, doku fibrozu, yaşlanma, metabolizma ve tümör oluşumunu düzenlemede rol oynadığı gösterilmiştir. Yudu Yan ve arkadaşlarının yaptığı hayvan deneyinde, miRNA-19a'nın Sika geyiği boynuz hücrelerinin çoğalmasını TGF- β 'yi inhibe ederek belirgin şekilde azalttığı gösterilmiştir(86). Shaoxi Niu ve arkadaşlarının yaptığı bir araştırmada ise miRNA-19a ve miRNA-19b'nin şeffaf hücreli renal kanserde; tümör baskılayıcı olarak görev yapan RhoB'un ekspresyonunu azaltarak kanserleşmeyi artıracaklarını saptamışlardır(87).

Lanlan Huang ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada miRNA 19a ekspresyon düzeylerinin kolorektal kanserlerle ve özellikle lenf nodu metastazıyla arttığı gösterilmiştir(83). Yanqing Liu ve arkadaşlarının yaptığı araştırmada ise miRNA 19a'nın hedefi olan , tümör baskılayıcı olarak görev yapan protein TIA1 proteininin düşük olması ile kolorektal kanserler arasında anlamlı bir korelasyon saptamışlardır(88). Mingxia Zhu ve arkadaşlarının 2017 de yayımladığı makalede miR 19a, miR-21 ve miR-425'in serum ekspresyon seviyeleri bakıldığında çalışmamız ile korele olarak miR19a seviyesinde kolorektal kanser grubunda kontrol grubuna göre anlamlı şekilde yüksek olduğunu saptamışlardır(89). Qi Chen ve arkadaşlarının 2013 te yayımladığı makalede miR19a seviyesinin FOLFOX kemoterapi dirençli ileri evde KRK'lı hastalarda hala yüksek kaldığını göstermişlerdir(90). Böylece miR-19a ekspresyon seviyeleri takibi, tedaviye yanıtın değerlendirilmesinde kullanılabilir bir belirteç olabilecektir.

Serum miRNA 22, kontrol grubunda ortalama 0.72 ± 0.8 ve hasta grubunda 2.72 ± 1.51 saptandı. Hasta grubunda istatistiki olarak anlamlı derecede yüksekti ($p < 0.001$). Yapılan araştırmalar, miR-22'nin yalnızca yaşlanma, enerji kaynağı, anjiyogenez, epitelyal-mezenkimal geçiş, çoğalma, migrasyon, invazyon, metastaz ve apoptoz süreçlerini biyolojik olarak etkilemekle kalmayıp, aynı zamanda genetik veya epigenetik olarak çeşitli kanserlerde onkogen/tümör baskılayıcı olarak, tek nükleotid

polimorfizmleri, metilasyon, asetilasyon ve hatta daha da önemli bir şekilde hidroksimetilasyon yoluyla görev yaptığını göstermektedir. Erken tanı, kanserlerin birincil zorluklarından biridir ve sağkalım süresini etkili bir şekilde uzatmak ve hastanın yaşam kalitesini iyileştirmek için faydalı olacaktır. MiR-22 ekspresyonu farklı kanserlerde farklı olduğundan ve kanser hücresi proliferasyonu, migrasyon, invazyon ve metastazında merkezi bir rol oynadığından, bu durum kanser tanısı, takibi ve prognozuna yansımaktadır. Örneğin, intrahepatik kolanjio-karsinom ve hepatit C virüsüne sahip hepatoselüler kanserli hastaların serumunda miR-22'nin düşük ekspresyonu ve akciğer adenokarsinomlu hastaların malign plevral efüzyonu, bağımsız bir erken tanı biyobelirteç olarak umut verici olabilir(91–93). Aksine, özofagus skuamöz hücreli karsinomu, pankreas kanseri ve metastatik prostat kanseri olan hastaların serumunda sürekli yüksek miR-22 ekspresyonu, arzu edilen duyarlılık ve özgüllük teşhisi ile birlikte kanser teşhisi için güvenilir bir serum biyobelirteç olabilir(94,95).

Yanqing Liu ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada KRK'da HuR proteinini upregüle olarak onkogen olarak tanımlamışlardır. MiR22 ekspresyon seviyelerindeki azalma direk bağlanarak inhibe ettiği HuR proteinini artırarak tümör baskılayıcı olarak görev yaptığı sonucuna varmışlardır (96). Munekazu Yamakuchi ve arkadaşlarının yaptığı araştırmada miR 22 ekspresyon seviyelerini KRK grubunda daha düşük saptamışlardır(97). Bo Li ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada doku düzeyinde miRNA 22'nin artması; inhibe ettiği TIAM1 geninde azalma sağladığını saptamışlardır (98). MiRNA-22'nin artışı, TIAM1'nin azalması KRK hastalarının yaşam süreleri ile korele bulunmuştur. Bu miRNA 22/TIAM1 yolağı kolorektal kanser varlığı veya gelişiminde önemli rol oynayan bir mekanizmadan sorumlu olabilirler ve MiRNA 22'nin bu çalışmada tümör baskılayıcı olarak çalıştığı saptanmıştır. Bizim çalışmamızda KRK hasta grubunda daha yüksek seviyelerde miRNA22 saptadık. Bu konuda geniş çalışmalara ihtiyaç vardır.

İnsan miR-24, insan genomunun 19. kromozomunda bulunur ve miR-23a-27a-24-2 kümesinin bir parçası olarak kopyalanır. MiR-24'ün birçok kanserde görev aldığı bildirilmiştir. Küçük hücre dışı akciğer kanserinde, hepatoselüler karsinomda, meme

kanserinde nazofaringeal kaarsinomda ve kolon kanserlerinde onkogen olarak artış olduğu yapılan çalışmalarda saptanmıştır(99-103).

Serum miRNA 24, kontrol grubunda ortalama 0.73 ± 0.31 ve hasta grubunda 2.47 ± 1.55 saptandı. Hasta grubunda istatistiki olarak anlamlı derecede yüksek saptandı ($p < 0.001$). Zanzi Fang ve arkadaşlarının 2015 te yayımladığı makalede plazma miRNA 24 ekspresyon düzeylerindeki azalma ile kolorektal karsinom, polip ve adenomlar istatistiki olarak anlamlı şekilde düşük saptanmıştır(104). Yang Gao ve arkadaşlarının yine 2015 yılında yayımladıkları bir makelede ise KRK'da miRNA 24 seviyelerinin azalması malign davranış ile ilişkilendirmişlerdir(103). Prasun J. Mishra ve arkadaşlarının 2009 yılında yayımladığı makalede miRNA 24'ün yüksek ekspresyon seviyelerininin p53 ten bağımsız olarak tümörü baskıladığını saptamışlardır(105). Yapılan çalışmalarda miRNA 24'ün hem onkogen hem de tümör baskılayıcı olarak görev yapabildiği gösterilmiş olup, çalışmamızda ise onkogen olarak görev yaptığı sonucuna vardık. Zhiying Gao ve arkadaşlarının editöre gönderdiği mektupta miRNA 24 ekspresyon seviyelerinin ING1 proteinini downregüle ederek KRK gelişimini sağladığını saptamışlardır(106). Bu sonuçlar bizim çalışmamızı desteklemektedir.

Mir-92, 13q31.3 kromozomunda daha büyük bir kümenin parçası olarak bulunmaktadır. Mir-92 şu anda tanımlanmış gen hedefleri, hücre döngüsü düzenlemesi ve hücre sinyalizasyonu ile ilgili olanlar arasında yer almaktadır. Bu nedenle insan gelişiminin tüm aşamalarında gereklidir. miRNA'lar, hedeflerine bağlı olarak onkogenler veya tümör baskılayıcı genler olabilirken, mir-92, lösemi formları AML ve ALL, Hepatosellüler karsinom (HCC) ve bazı kanserde primer olarak ilişkilendirilmiştir. Çalışmamızda serum miRNA 92a ekspresyon düzeylerini kontrol grubunda ortalama 0.47 ± 0.47 ve hasta grubunda 2.77 ± 1.03 saptadık. Hasta grubunda istatistiki olarak anlamlı derecede yüksekti ($p < 0.001$). Qiliang Peng ve arkadaşlarının yaptığı bir meta analizde miRNA 92a nın %76 duyarlılık ve %75 seçicilikle kolorektal kanser ayrımı yapabiliyorken bizim çalışmamızda %97 duyarlılık ve %97 seçicilikle kolorektal kanser ayrımı yapabildiğini saptadık(107). Erfei chen ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada miRNA-92a nın direk Wnt/ β -catenin, PTEN/Akt/FoxO ve BMP/Smadsonkogeni hedef alarak onkomir olarak çalıştığını saptamışlardır(108). Jan

Kral ve arkadaşlarının yaptıkları bir araştırmada miR 92a'nın tedaviye yanıtızsız rektal kanser hastası grubunda daha yüksek olduğunu saptamışlardır(109). Krizelle Mae M. Alcantara ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada miR-92a'nın NF2 tümör baskılayıcı geni inhibe ederek kolorektal kanser ve akciğer kanserinde onkomir olarak görev yaptığını göstermişlerdir. Neredeyse tüm çalışmalar miRNA 92a'nın onkogen olarak görev aldığını bildirmekte ve bizim çalışmamızın sonuçlarını desteklemektedir.

Serum miRNA 103; kontrol grubunda ortalama 0.78 ± 0.52 ve hasta grubunda 1.19 ± 0.47 saptandı. Hasta grubunda istatistiki olarak anlamlı derecede yüksekti ($p < 0.001$). Mir-103 ve mir-107'nin obez farelerde upregüle edildiği saptanmıştır ve insülin duyarlılığında kilit bir role sahip olduğu bulunmuştur. Bu mikroRNA'ların tip 2 diyabet tedavisi için potansiyel hedefler içinde yer almaktadır. Ayrıca mir-103; kronik ağrı ve bağırsak hücre proliferasyonu ile ilişkilendirilmiştir(110,111). Hsin-Yi Chen ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada miRNA 103'in kök hücre benzeri görev alarak kötü prognoz ile ilişkili olduğu gösterilmiştir(112). Jin Ke ve arkadaşlarının yaptıkları bir araştırmada miRNA 103'ün zonula oklüdens-1 proteinini hedef alarak güçlü tümör yapıcı etkisi gösterilmiştir(113). Yong-Bin Zheng ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışma da ise miRNA 103'ün LATS2'yi direk olarak hedefleyerek tümör büyümesi ve metastazına yol açtığı gösterilmiştir(114). Li Geng ve arkadaşlarının 2014 yılında yayımladığı makalede miR 103'ün Dicer ve Pten tümör baskılayıcı proteinlerini hedef alarak onkogenik aktivite sergilediğini göstermişlerdir(115). Çalışmamızda da bu çalışmalarla korele olarak miR 103 ün serum değerlerini KRK'da yüksek olduğunu saptadık.

MiR-106a; çoklu hedef genlerin ekspresyonunu transkripsiyon sonrası düzenleyerek işlevlerini yerine getirmektedir. miR-17, miR-19b, miR-20a, ve miR-106a'nın azalması ile hücre yaşlanması arasında korelasyon saptanmıştır(116). Çalışmamızda serum miRNA 106a hasta grubunda ortalama 0.62 ± 0.69 ve kontrol grubunda 1.57 ± 0.83 saptadık. Hasta grubunda istatistiki olarak anlamlı derecede yüksekti ($p < 0.001$). Bo Feng ve arkadaşlarının 2012 yılında yayımladığı makalede miR106a ekspresyon seviyeleri ile kanser metastaz ve invazyon oranlarının arttığı gösterilmiştir(117). Yuzheng He ve arkadaşlarının 2016 yılında yayımladığı makalede

miRNA 106 seviyelerinin kolorektal adenokarsinomla ilişkili olduğu, daha çok orta-iyi diferansiye tümörlerde saptandığı belirtilmiştir(118). Bizim çalışmamız ile korele sonuçlar gözlenmektedir. Raquel Díaz ve arkadaşlarının 2008 yılında yayımladığı makalede miR106a seviyeleri ne kadar düşük olursa evreden bağımsız olarak prognoz daha iyi olduğu ileri sürülmüştür(119). Bu da miR106a'nın onkormir olarak çalıştığını göstermektedir. Jialu Li ve arkadaşlarının 2015te yayımladığı makalede evre 2-3 KKK hastaların ameliyat öncesi ve sonrası miR106 a seviyeleri karşılaştırılmış olup anlamlı olarak miR106a ekspresyon seviyelerinde azalma tespit etmişlerdir(120). Bunun sonucunda serum miR106a'nın hastanın takibinde ve nüks belirteci olarak kullanılabilmesi mümkün olmaktadır.

MikroRNA 106 ve 107; kıkırdaktaki proteinazları hedef alan yeni endojen düzenleyiciler ve kıkırdakta gen ekspresyonunu farklı şekilde etkileyen DNA metilasyonu ve histon modifikasyonlarını içeren epigenetik değişiklikler yapabildiğinden güncel ilgi konularından bir tanesidir. MirRNA 107 de farklı dokularda hem onkogen hem de tümör baskılayıcı olarak görev alan mikroRNA'lardandır. Huan Xia ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada miR-107'nin BDNF'yi hedefleyerek ve PI3K/AKT sinyal yolunu dolaylı olarak düzenleyerek küçük hücre dışı akciğer kanserinde metastazını baskılayabileceği sonucuna varmışlardır(121). MiRNA-107'nin TGFBR3'ü hedefleyerek pankreas kanserinin malign ilerlemesini arttırdığı saptanmıştır(122). miR-107'nin ilerlemiş meme kanserli hastalardan alınan malign dokularda aşırı ekspresyonu olduğu bildirilmiştir ve ekspresyonu, tümörlerde ve kanser hücre dizilerinde let-7 ekspresyonu ile ters bir korelasyon gösterdiği saptanmıştır. İnsan kanser hücre dizilerinde miR-107'nin fazla bulunması olgun let-7'nin kararsızlaşmasına, let-7 hedeflerinin artışına ve malign fenotiplerin artmasına yol açmıştır(123).

Serum miRNA 107 kontrol grubunda ortalama 0.41 ± 0.48 ve hasta grubunda 1.66 ± 1.54 saptadık. Hasta grubunda istatistiki olarak anlamlı derecede yüksekti. Sonia Molina-Pinelo ve arkadaşlarının 2014 te yayımladığı makalede miR 107 yüksek ekspresyon seviyelerinin progresyonsuz ve toplam yaşam süreleri ile aralarında korelasyon olduğunu saptamışlardır(124). Yuxiang Fu ve arkadaşlarının 2019 yılında

yayımladığı makalede miR107 ekspresyon seviyelerinin KRK de azaldığını göstermişlerdir(125). Hsin-Yi Chen ve arkadaşlarının 2019 da yayımladığı makalede miRNA 107'nin miRNA 103 ile benzer şekilde kök hücre benzeri görev alarak kötü prognoz ile ilişkili olduğu gösterilmiştir(112). Jin Zhang ve arkadaşlarının 2020 yılında yayımladığı makalede miR107'in onkomir olarak görev yaptığı, progresyon ve metastaz ile ilişkili olduğu gösterilmiştir(126). Yapılan çalışmalarda çelişkili sonuçlar çıkmış olup mekanizmaların açığa çıkarılması için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

MicroRNA-125a-5p (miR-125a), ilk keşfedilen mikroRNA olan lin-4'ün omurgalı bir homologudur ve Lin-28 proteinini azaltarak embriyo gelişiminde temel bir rol oynar. MiRNA 125a 5p 19q13.41lokasyonunda yer almaktadır. MiR-125a ayrıca, genellikle membran reseptörlerini veya mitojenik sinyallerin hücre içi transdüktörlerini hedefleyerek antiproliferatif bir faktör olarak hareket etmektedir. MiR-125a ekspresyonu, sirtuin-7, matris metalloproteinaz-11, vasküler endotelial büyüme faktörü-A (VEGF-A), Zbtb7a ve c-Raf1 hedef aldığı hepatoselüler karsinom (HCC) dahil olmak üzere çeşitli tümörlerde azaltır. Vasküler endotelial growth faktör, miRNA 125 a 5p inhibitörü olarak görev yapmaktadır ve miRNA 125a 5 p nin serum seviyesini azaltmaktadır(127,128).

Çalışmamızda serum miRNA 125a 5p kontrol grubunda ortalama 1.53 ± 1.15 ve hasta grubunda 3.42 ± 2.17 saptadık. Hasta grubunda istatistiki olarak anlamlı derecede yüksekti ($p < 0.001$). Meiyuan Yang ve arkadaşlarının 2019 yılında yayımladıkları makalede miR 125a'nın TAZ proteinini hedef alarak KRK büyüme invazyonunu engellediğini göstermişlerdir(129). Jing Wang ve arkadaşlarının 2019 yılında yayımladıkları makale de bizim çalışmamız ile korele olarak erken evre KRK ile serum miR125a ekspresyon seviyelerinin yüksekliği saptanmış olup serum miR125a ekspresyon tayini ile hastalığın tanısında kolaylık sağlanabilir. Yapılan çalışmalarda çelişkili sonuçlar da yer almaktadır. Daha büyük hasta grubu içeren çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

MiR-134 beyne özgü bir mikroRNA'dır. Sıçanlarda özellikle hipokampal nöronlarda lokalizedir ve LIMK1 mRNA ile antisens eşleşmesi yoluyla düzenleyici olarak görev alır(130,131). İnsan beyinde, SIRT1'in miR-134 aracılığıyla CREB proteinine aracılık ettiği ve hafıza oluşumu gibi daha yüksek beyin işlevlerinde rol aldığı düşünülmektedir(132). MiR-134, şizofrenide giderek daha fazla eksprese edilen mikroRNA'lardan birisidir. Dolaşımdaki kandaki miR-134 seviyeleri, bipolar bozukluk için potansiyel olarak periferik bir biyobelirteç olarak kullanılabilir.

Çalışmamızda serum miRNA 134, kontrol grubunda ortalama 0.91 ± 0.97 ve hasta grubunda 2.81 ± 0.64 saptadık. Hasta grubunda istatistiki olarak anlamlı derecede yüksekti ($p < 0.001$). Sherien M. El-Daly ve arkadaşlarının 2016 yılında yayımladığı makalede miRNA134 ün EGFR süpresyonu yaparak kolorektal kanserlerde rol oynadığı gösterilmiştir(133). Jing-YuPan ve arkadaşlarının 2017 yılında yayımladığı makalede, Yinghai Xie ev arkadaşlarının 2015 yılında yayımladıkları makalede miR134'ün tümör baskılayıcı olarak görev aldığını saptamışlardır(134). Bizim çalışmamızın sonucu ile uyum göstermemektedir. MiRNA'nın düzeyini etkileyen pekçok kafa karıştırıcı faktörlerin belirlenmesi için daha fazla hasta sayısının olduğu çalışmalara ihtiyaç vardır.

MiR-141; miR-200a, miR-200b, miR-200c, ve miR-429 ile birlikte miR-200 ailesindedir ve kanser kök hücrelerinin oluşumu ve epitelyal-mezenkimal geçişin düzenlenmesi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Geçtiğimiz on yıllar boyunca, çeşitli insan kanser türlerinde miR-200 aile üyelerinin düzensiz regülasyonu gösterilmiştir. Örneğin, miR-200a/141'in baş ve boyun skuamöz hücreli karsinom, küçük hücreli olmayan akciğer kanseri, kadın üreme kanserleri ve renal hücreli karsinomda migrasyon, istila, proliferasyon ve ilaç direncini inhibe ettiği rapor edilmiştir.

Serum miRNA 141, kontrol grubunda ortalama 0.4 ± 0.64 ve hasta grubunda 2.49 ± 0.52 saptadık. Hasta grubunda istatistiki olarak anlamlı derecede yüksekti ($p < 0.001$). Li Feng ve arkadaşlarının 2016 yılında yayımladığı çalışmada miRNA 141'in MAP4K4 üzerinden etki ettiği, tümör dokusunda yüksek, lenf nodu ve serumda düşük saptamışlardır(135). Ayrıca metastaz olan grup ile metastaz yapmayan grup

karşılaştırıldığında; miRNA 141 ekspresyon seviyeleri metastaz yapmayan grupta daha düşük saptanmıştır. Sebastian Meltzer ve arkadaşlarının 2019 yılında yayımladıkları makalede karaciğer metastazı olan KRK hastalarında miR141 seviyelerinin anlamlı şekilde daha yüksek saptanmıştır(136). Yapılan çalışmalar bizim çalışmamız ile korole sonuçlara ulaşmıştır. Yapılan çalışmalar; miRNA-141 ekspresyon seviyelerindeki artmanın KRK ile ilişkisi olduğunu göstermekle birlikte epitelyal-mezenkimal geçişte önemli yeri olmasından dolayı çok yüksek seviyelerde metastazı da önlediğini düşündürmektedir.

MiR-150 bir dizi kanserle ilişkilendirilmiştir. Mide kanserinde kanser hücresi proliferasyonunu desteklediği düşünülmektedir ve ayrıca osteosarkomda 50 kattan fazla aşırı eksprese edildiği bulunmuştur(137). Kan plazmasındaki miR-150 seviyeleri erken sepsisin göstergesi olabilir; durumu tedavi etmede gelecekte terapötik olarak kullanılabilir(138). Ek olarak miR-150, ekspresyon profili hepatoselüler karsinomun bir biyolojik belirteci olarak kullanılacak bir dizi mikroRNA'dan biridir(139).

Çalışmamızda serum miRNA 150, kontrol grubunda ortalama 0.49 ± 0.64 ve hasta grubunda 1.38 ± 0.59 saptadık. Hasta grubunda istatistiki olarak anlamlı derecede yüksekti ($p < 0.001$). Chen Li ve arkadaşlarının 2018 de yayımladıkları makalede miRNA 150'nin iASPP proteini hedefleyerek kolorektal kanserde proliferasyon ve metastazı önlediğini saptamışlardır(140). Fang Liu ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ise miRNA 150; tümör baskılayıcı olan TP53'ü inhibe ederek tümör gelişimine katkıda bulunduğunu saptamışlardır(141). Sinead T. Ahern ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada dolaşımdaki yüksek miR-34a seviyeleri ve düşük miR-150 seviyeleri, polipli hasta gruplarını ilerlemiş kanserli hastalardan ayırmıştır ve düşük miR-150 seviyeleri, adenomlu hastaları ilerlemiş kanserli hastalardan ayırırında yeterli istatistiki anlamı olabileceğini göstermişlerdir(142). Yapılan çalışmaların birçoğunda tümör baskılayıcı olarak görev aldığı öngörülen miRNA150 az sayıda çalışmada olduğu gibi bizim çalışmamızda da onkogen olarak saptadık. Çalışmamızda da %94 duyarlılık ve %75 seçicilikle miRNA 150'nin kolon kanserini ayırt etme gücü gösterildi.

MiRNA 151-5p metabolizmada birçok rolü vardır. Hafızayla ilgili ilişkilendirilmiş çalışmalar olmakla birlikte aritmi, kanserle ilgili çalışmalar da literatürde mevcuttur. Tom Luedde'nin yaptığı çalışmada miRNA 151-5p'nin hepatoselüler karsinomda (HCC) FAK genini artırarak tümör migrasyonu ve yayılımını artırdığını göstermişlerdir(143).

Araştırmamızda serum miRNA 151 5p, kontrol grubunda ortalama 0.61 ± 0.68 ve hasta grubunda 1.53 ± 0.79 saptadık. Hasta grubunda istatistiki olarak anlamlı derecede yüksekti ($p < 0.001$). Maria Dolores Giraldez ve arkadaşlarının 2013 te yayımladığı makalede miRNA 151-5p düzeylerinin 3.92 kat arttığı ve istatistiki anlamlı olarak kolorektal kanserlerle ilişkisi saptanmıştır(144). Bizim çalışmamızda da miRNA 151-5p düzeyi 2.5 kat artarak kolorektal kanserde yapılan çalışma ile korele olarak anlamlı farklılık saptadık. Roxana Cojocneanu ve arkadaşlarının 2020 yılında yayımladığı makalede miR151 -5p'nin KKK de downregüle olduğu saptanmış olup çelişkili sonuçlar mevcuttur(145). Mir1515-5p'nin KKK'daki rolünün belirlenmesi için büyük çalışmalara ihtiyaç vardır.

MiR-221 ve miR-222, yüksek ekspresyon seviyeleri birçok insan kanser türünde yaygın olarak gösterilmiş olan iki homolog mikroRNA'dır. miR-221/miR-222 fonksiyonları onkogenler veya tümör baskılayıcılar olarak doğrulanmıştır. MiR-221/miR-222'nin insan kanser türlerinin tespiti ve moleküler hedefli kanser tedavisi için umut verici biyobelirteçler olarak karşımıza çıkmaktadır. Endotel hücrelerinde hücre göçünü ve proliferasyonunu önleyen CD117'yi hedefleyerek onkojenik bir miRNA olarak karşımıza çıkmaktadır.

Çalışmamızda serum miRNA 221, kontrol grubunda ortalama 0.41 ± 0.74 ve hasta grubunda 2.37 ± 0.6 saptadık. Hasta grubunda istatistiki olarak anlamlı derecede yüksekti ($p < 0.001$). Xing-xiang Pu ve arkadaşlarının 2010 yılında yayımladıkları makalede 7 yıl boyunca takip ettikleri 103 kolorektal grubu hastada serum miRNA 221 ekspresyon düzeylerinin bizim çalışmamızla korele olarak tanısal test olarak kullanılabilceğini ve ayrıca yapılan korelasyon analizlerinde prognostik faktör olarak kullanılabilceğini saptamıştır(146-148). Çalışma duyarlılığı %86 yüksek iken,

seçicilik oranı%41 olarak düşük saptanmıştır. Bizim çalışmamızda Youden index kullanılarak en yüksek duyarlılık+seçicilik toplamı belirlenmesiyle seçilen cut-off değerinde duyarlılığı %100 ve seçiciliği %94 saptadık. Ayrıca insan dışkısında miR-221 tespiti, kolorektal kanser için invaziv olmayan bir tarama belirteci olabileceği gösterilmiştir(149).

MiRNA 320a aquaporinlerin endojen modülatörü olup serebrovasküler hastalıklarda potansiyel tedavi hedefleri arasındadır. Ayrıca skleroderma da akciğer fibrozisini modüle ettiği bildirilmiştir. Kronik myeloid lösemide BCR/ABL'yi hedefleyen miRNA 320 tümör baskılayıcı olarak görev almaktadır. Lili Zhang ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada miRNA 320a RASSF8'i hedefleyerek epitelyal over kanser hücrelerinde proliferasyonu ve invazyonu artırdığını göstermişlerdir(150). Wei Xiong ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ise miRNA 320a'nın aquaporin 4'ü direk olarak hedefleyerek glioma hücrelerinin invazyon ve göçünü inhibe ettiğini saptanmıştır(151). Atrial fibrilasyon gibi kalp hastalıklarında da miRNA 320a'nın yükseldiği gösterilmiştir(152).

Araştırmamızda serum miRNA 320a kontrol grubunda ortalama 0.65 ± 1.13 ve hasta grubunda 3.11 ± 1.57 saptandı. Hasta grubunda istatistiki olarak anlamlı derecede yüksekti ($p<0.001$). Zanxi Fang ve arkadaşlarının 2015 te yayımladığı makalede plazma miRNA 320a düşük ekspresyon düzeyleri ile kolorektal karsinom, polip ve adenomlarda istatistiki olarak farklılık saptamıştır(104). M.F. Kalady ve arkadaşlarının 2010 yılında yayımladıkları makalede miR320a seviyeleri rektal kanserlerde düşük saptanmıştır(153). Bizim çalışmamız ile karşıt sonuçlar mevcut olup Türk toplumunun farklılıkları nedeniyle bu sonuçlar elde edilmiş olabilir. Mir320a'nın KRK'daki rolünün belirlenmesi için daha fazla hasta sayısının olduğu, uzun izlem süreleri olan çalışmalara ihtiyaç vardır.

MiRNA 495, kök hücre, kıkırdak ve pankreas asiner hücrelerinin gelişiminde rol oynar. DNA metiltransferaz 3a'yı spesifik olarak hedefleyen miR-495, fare embriyoid kök hücrelerinin mezoderm farklılaşmasını destekler. MiR-495 ayrıca insan mezenkimal kök hücrelerinde kondrojenik farklılaşmanın önemli bir düzenleyicisidir.

Ektopik miR-495, solid tümörlerde hücre çoğalmasını, yayılımını, metastazını ve tümör oluşumunu düzenler. MiR-495, solid tümörlerin çoğunda bir tümör baskılayıcı olarak görev yapar.

Çalışmamızda serum miRNA 495, kontrol grubunda ortalama 0.74 ± 1.28 ve hasta grubunda 1.09 ± 0.56 saptandı. Hasta grubunda istatistiki olarak anlamlı derecede yüksekti ($p < 0.001$). Likun Yan ve arkadaşlarının 2017 yılında yayımladıkları makalede miRNA 495 'in FAM83D proteini hedefleyerek kolorektal kanser proliferasyon ve migrasyonunda anlamlı azalma olduğunu göstermişlerdir(154). Naif Alqurashi ve arkadaşlarının 2019 yılında yayımladığı makalede miRNA 495'in mTOR yolağını kullanarak kolorektal kanserde rol aldığını istatistiksel olarak anlamlı şekilde ortaya koymuşlardır(155). Çalışmalarda bizim çalışmamız ile karşıt sonuçlar elde olunmuş olup daha miRNA495'in KRK'daki rolü belirli değildir.

Nöral tüp defekti olan ve olmayan fetüs taşıyan kadınların serum düzeylerinde miR-720 ekspresyonunun değişiklik gösterdiği bulunmuştur(156). MiR-720, çocuk doğumunu takiben önemli ölçüde downregüle edilir, bu nedenle hamilelikte ve plasental olaylarda rol oynadığı düşünülmektedir. MiR-720 miyelodisplastik sendromlarda upregüle olduğu saptanmıştır. Lin-Zi Li ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada miR 720'nin TWIST1'i hedefleyerek tümör invazyon ve göçünü inhibe ettiği saptanmıştır(157). Yunlan Tang ve arkadaşlarının çalışmasında ise miR 720'nin servikal kanser hücrelerinde Rab35'i hedefleyerek invitro hücre göçünü artırdığını saptamışlardır.

Serum miRNA 720, kontrol grubunda ortalama 0.63 ± 0.69 ve hasta grubunda 1.32 ± 0.7 saptandı. Hasta grubunda istatistiki olarak anlamlı derecede yüksekti ($p < 0.001$). Ryoji Nonaka ve arkadaşlarının 2015 yılında yayımladığı makalede miRNA 720'nin kolorektal kanser grubunda, kontrol grubuna göre istatistiki anlamlı olarak yüksek saptanmıştır(158). E Hofslı ve arkadaşlarının 2013 yılında yayımladıkları makalede miR 720 ekspresyon seviyeleriyle KRK korelasyon saptamışlardır(159). Bu sonuçlar bizim çalışmamızın sonuçlarını desteklemektedir.

Yapılan çalışmalar, miR-760 deregölasyonlarının kanser gelişimine katkıda bulunduğunu göstermiştir. Han ve arkadaşları miR-760'ın yüksek ekspresyonunun meme kanseri hücrelerini inhibe ettiğini göstermişlerdir(160). Küçük hücre dışı akciğer kanserinde miR-760'ın tümör dokularında ve hücre dizilerinde downregüle edildiğini gösterilmiştir. MiR-760'ın aşırı ekspresyonunun küçük hücre dışı akciğer kanserinde hücre çoğalması, hücre döngüsü ve göçü bastırdığı sonucuna varılmıştır(161).

Serum miRNA 760, kontrol grubunda ortalama 0.23 ± 0.46 ve hasta grubunda 1.47 ± 0.77 saptandı. Hasta grubunda istatistiki olarak anlamlı derecede yüksekti ($p < 0.001$). Ling Cao ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada miRNA 760'ın BATF3/AP-1/cyclinD1 sinyalin üzerinden etki ederek kolorektal kanser dokusunda istatistiki olarak anlamlı değişiklik gösterdiği saptanmıştır(162). Xiaoyan Li ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada miRNA760'ın Pten/Akt sinyal yolağını hedefleyerek kolorektal kanser hücre çoğalması ve invazyonunu inhibe ettiğini göstermişlerdir(163). Ayrıca Wang ve arkadaşları sağlıklı kontrollere kıyasla kolorektal neoplazide miR-760 plazma ekspresyonunun aşağı regüle edildiğini göstermiştir(164). Xiaoyuan Wang ve arkadaşların yaptığı çalışmada MiR-760 ekspresyonu kolon kanseri dokusunda ve kolon kanseri hücrelerinde önemli ölçüde azalırken, STIM1 ekspresyonu kolon kanseri dokusunda ve kolon kanseri hücrelerinde önemli ölçüde artmıştır(165). Literatürde çelişkili bulguların olması mi760'ın KRK'da kesin rolünü ortaya koyamamıştır.

Bilinen ilk iki mikroRNA (miRNA), lin-4 ve let-7, orijinal olarak nematod *Caenorhabditis elegans*'ta keşfedilmiştir. Kök hücre bölünmesi ve farklılaşmasının zamanlamasını kontrol ettiği saptanmıştır. let-7 daha sonra bilinen ilk insan miRNA'sı olarak bulunmuştur. Let-7 miRNA ailesi, birbiriyle yakından ilişkili 11 genden oluşur. Let-7a geni 22q13.31 kromozomunda bulunur ve CpG adaları ile ilişkilidir. Let-7a-5p, birkaç onkogeni hedefleyerek migrasyon, invazyon ve epitelyal-mezenkimal geçişi engelleyen bir mikroRNA'dır. Ayrıca meme kanseri hücrelerinde let-7a'nın aşırı ekspresyonu indüklendikten sonra hücre proliferasyonunun, koloni oluşumunun ve göçünün azaldığı gösterilmiştir. Bu nedenle miR-let-7a, bir tümör baskılayıcı görevi görür ve birçok kanser türünde downregüle edilir. Akciğer skuamöz karsinomu,

kolorektal kanser, ürotelyal tümörler, lenfomlar, meme kanserinde miR-let-7a-5p'nin düşük seviyeleri bildirilmiştir.

Tümör baskılanmasındaki rolü dışında, miR-let-7a'nın insan hücrelerinde hücre proliferasyon yolunda yer aldığı bildirilmiş, serebrovasküler ve nörodejeneratif hastalıklarla bağlantısı gözlemlenmiştir. miRNA-let-7a'nın beyindeki hücre döngüsü ilerlemesini ve proinflamatuvar sitokin üretimini doğrudan değiştirdiği gösterilmiştir. Enflamasyona yanıt olarak miR-let-7a, nitrit üretiminin azalmasına, indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) ve interlökin-6 ekspresyonuna neden olur. Mikroglia'da beyin kaynaklı inflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunun artmasında rol oynar. Böylece miRNA-let-7a, iltihaplanmada mikroglia fonksiyonunun bir düzenleyicisi olarak hareket edebilir.

Serum miRNA let7a, kontrol grubunda ortalama 0.42 ± 0.42 ve hasta grubunda 1.42 ± 0.5 saptandı. Hasta grubunda istatistiki olarak anlamlı derecede yüksekti ($p < 0.001$). W Fang ve arkadaşlarının araştırmasında 8 hastadan örnekler alınıp değerlendirildiğinde sadece 2 hastada anlamlı derecede düşük let-7a seviyeleri saptanmıştır(166). Bin Li ve arkadaşları yaptıkları çalışmada let-7a'nın direk olarak RTKN'yi hedefleyerek insan kolon kanserinde hücre büyümesi ve metastazı inhibe ettiğini saptamışlardır(167). Weilan Cao ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada Let-7a'nın TGF- β /Smad sinyal yolunu düzenleyerek kolonik müsinöz adenokarsinom hücrelerinin büyümesini ve metastazını inhibe ettiğini saptamışlardır(168). Diğer çalışmaların aksine bizim çalışmamızda let-7a'nın kolon kanserli hastalarda aşırı eksprese edildiğini saptadık. Türk popülasyonunda let-7a ilk defa bizim çalışmamızda değerlendirilmiştir.

Serum miRNA let7e kontrol grubunda ortalama 0.83 ± 0.73 ve hasta grubunda 2.71 ± 0.75 saptandı. Hasta grubunda istatistiki olarak anlamlı derecede yüksek saptandı ($p < 0.001$). Zhenjun Li ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada let-7a, let-7b ve let-7e, kolorektal kanser dokularında aşağı regüle edildiği, let7e ve IGF1/IGF1R nin birbiri üzerinden etki ederek kolorektal kanser hücrelerinde proliferasyon ve migrasyonu modüle ettiğini göstermişlerdir(169). Alisa Khodadadi Kohlan ve arkadaşlarının

yaptığı çalışmada kolorektal kanser hücre serisinde let 7e indüksiyonunun DCLK1 regülasyonu yaparak onkogenik fenotipi zayıflattığını saptamışlardır(170). Bulguların aksine bizim çalışmamızda kolorektal kanser hasta grubunda let 7e ekspresyon seviyeleri daha yüksek saptadık. let7 ailesinin ekspresyonuna yol açan durumlar ayrıntılı şekilde ele alınıp, bu koda daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir.

6. SONUÇ

Serum miRNA düzeyleri Kolorektal kanser başta olmak üzere birçok kanser türünde popüler araştırma konularındandır. Bazı miRNA ların sadece dokuda değil serum örneklerinde de normal popülasyona göre değişiklik gösterdiği yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur. Bizim yaptığımız araştırmada baktığımız 20 adet miRNA'da (miR_10a, miR_19a, miR_22, miR_24, miR_92a, miR_103, miR_106a, miR_107, miR_125a_5p, miR_134, miR_141, miR_150, mir_151_5p, miR_221, miR_320a, miR_495, miR_720, mir_760, let7a, let7e) hasta grubu serum düzeylerinde kontrol grubuna göre anlamlı değişiklik saptadık. Bunun sonucunda bu miRNA'lar kolorektal tümör tansında daha ileri araştırmalar yapılarak erken tanıda kullanılabilir serum belirteci olabilirler. Hatta miRNA'ların takibi ile sağkalm, tedaviye yanıt, kür, nüks durumlarında değerlendirilmesine olanak tanıyabilir. Gelecekte miRNA'lar hedeflenerek tedavi planında yer alabilir.

7. KAYNAKLAR

1. Pan C, Yan X, Li H, Huang L, Yin M, Yang Y, et al.: Systematic literature review and clinical validation of circulating microRNAs as diagnostic biomarkers for colorectal cancer. *Oncotarget*. 2017.
2. Lin J, Chuang CC, Zuo L: Potential roles of microRNAs and ROS in colorectal cancer: Diagnostic biomarkers and therapeutic targets. *Oncotarget*. 2017.
3. The Colon: What it is, What it Does | ASCRS. Available at. <https://fascrs.org/patients/diseases-and-conditions/a-z/the-colon-what-it-is,-what-it-does>.
4. Steele SR, Johnson EK, Champagne B, Davis B, Lee S, Rivadeneira D, et al.: Endoscopy and polyps-diagnostic and therapeutic advances in management. *World J Gastroenterol*. 2013; 19:4277.
5. 2017 Yılı Türkiye Kanser İstatistikleri. Available at. <https://hsgm.saglik.gov.tr/tr/kanser-istatistikleri/yillar/2017-turkiye-kanser-i-istatistikleri.html>.
6. Ferlay J, Ervik M, Lam F, Colombet M, Mery L, Piñeros M, Znaor A, Soerjomataram I BF: Global Cancer Observatory. International Agency for Research on Cancer. 2018.
7. TÜİK - Veri Portalı Ölüm İstatistikleri. Available at. <https://data.tuik.gov.tr/Search/Search?text=ölüm&dil=1>.
8. Karahalios A, English DR, Simpson JA: Weight change and risk of colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis. *Am J Epidemiol*. 2015; 181:832–45.
9. Lauby-Secretan B, Scoccianti C, Loomis D, Grosse Y, Bianchini F, Straif K, et al.: Body Fatness and Cancer--Viewpoint of the IARC Working Group. *N Engl J Med*. 2016; 375:794–98.
10. Lagergren J, Ye W, Ekblom A: Intestinal cancer after cholecystectomy: is bile involved in carcinogenesis? *Gastroenterology*. 2001; 121:542–47.

11. Reid FD, Mercer PM, Harrison M, Bates T: Cholecystectomy as a risk factor for colorectal cancer: a meta-analysis. *Scand J Gastroenterol.* 1996; 31:160–69.
12. Chan DSM, Lau R, Aune D, Vieira R, Greenwood DC, Kampman E, et al.: Red and processed meat and colorectal cancer incidence: meta-analysis of prospective studies. *PLoS One.* 2011; 6:e20456.
13. MacLennan R, Macrae F, Bain C, Battistutta D, Chapuis P, Gratten H, et al.: Randomized trial of intake of fat, fiber, and beta carotene to prevent colorectal adenomas. *J Natl Cancer Inst.* 1995; 87:1760–66.
14. Botteri E, Iodice S, Bagnardi V, Raimondi S, Lowenfels AB, Maisonneuve P: Smoking and colorectal cancer: a meta-analysis. *JAMA.* 2008; 300:2765–78.
15. Wallace K, Grau M V, Ahnen D, Snover DC, Robertson DJ, Mahnke D, et al.: The association of lifestyle and dietary factors with the risk for serrated polyps of the colorectum. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2009; 18:2310–17.
16. Botteri E, Iodice S, Raimondi S, Maisonneuve P, Lowenfels AB: Cigarette smoking and adenomatous polyps: a meta-analysis. *Gastroenterology.* 2008; 134:388–95.
17. Fedirko V, Tramacere I, Bagnardi V, Rota M, Scotti L, Islami F, et al.: Alcohol drinking and colorectal cancer risk: an overall and dose-response meta-analysis of published studies. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol.* 2011; 22:1958–72.
18. Yuhara H, Steinmaus C, Cohen SE, Corley DA, Tei Y, Buffler PA: Is diabetes mellitus an independent risk factor for colon cancer and rectal cancer? *Am J Gastroenterol.* 2011; 106:1911–21; quiz 1922.
19. [No Authors] Colon and Rectum SEER Incidence Rates by Age at Diagnosis, 2014-2018. Available at.
https://seer.cancer.gov/explorer/application.html?site=20&data_type=1&graph_type=3&compareBy=sex&chk_sex_1=1&rate_type=2&race=1&advopt_precision=1&advopt_show_ci=on&advopt_display=2.
20. Atkin WS, Morson BC, Cuzick J: Long-term risk of colorectal cancer after

- excision of rectosigmoid adenomas. *N Engl J Med.* 1992; 326:658–62.
21. Tuohy TMF, Rowe KG, Mineau GP, Pimentel R, Burt RW, Samadder NJ: Risk of colorectal cancer and adenomas in the families of patients with adenomas: a population-based study in Utah. *Cancer.* 2014; 120:35–42.
 22. Taylor DP, Stoddard GJ, Burt RW, Williams MS, Mitchell JA, Haug PJ, et al.: How well does family history predict who will get colorectal cancer? Implications for cancer screening and counseling. *Genet Med.* 2011; 13:385–91.
 23. Lynch HT, Smyrk TC, Watson P, Lanspa SJ, Lynch JF, Lynch PM, et al.: Genetics, natural history, tumor spectrum, and pathology of hereditary nonpolyposis colorectal cancer: an updated review. *Gastroenterology.* 1993; 104:1535–49.
 24. Yurgelun MB, Kulke MH, Fuchs CS, Allen BA, Uno H, Hornick JL, et al.: Cancer Susceptibility Gene Mutations in Individuals With Colorectal Cancer. *J Clin Oncol.* 2017; 35:1086–95.
 25. Majumdar SR, Fletcher RH, Evans AT: How does colorectal cancer present? Symptoms, duration, and clues to location. *Am J Gastroenterol.* 1999; 94:3039–45.
 26. HS S, D K, EO N: Correlation of clinical data, anatomical site and disease stage in colorectal cancer. *East Afr Med J.* 2008; 85.
 27. Hamilton W, Round A, Sharp D, Peters TJ: Clinical features of colorectal cancer before diagnosis: a population-based case-control study. *Br J Cancer.* 2005; 93:399–405.
 28. Shaukat A, Kahi CJ, Burke CA, Rabeneck L, Sauer BG, Rex DK: ACG Clinical Guidelines: Colorectal Cancer Screening 2021. *Am J Gastroenterol.* 2021; 116:458–79.
 29. Wilt TJ, Harris RP, Qaseem A, High Value Care Task Force of the American College of Physicians: Screening for cancer: advice for high-value care from the American College of Physicians. *Ann Intern Med.* 2015; 162:718–25.

30. Canadian Task Force on Preventive Health Care: Recommendations on screening for colorectal cancer in primary care. *CMAJ*. 2016; 188:340–48.
31. Lansdorp-Vogelaar I, von Karsa L, International Agency for Research on Cancer: European guidelines for quality assurance in colorectal cancer screening and diagnosis. First Edition--Introduction. *Endoscopy*. 2012; 44 Suppl 3:SE15-30.
32. Palmqvist R, Engarås B, Lindmark G, Hallmans G, Tavelin B, Nilsson O, et al.: Prediagnostic levels of carcinoembryonic antigen and CA 242 in colorectal cancer: a matched case-control study. *Dis Colon Rectum*. 2003; 46:1538–44.
33. Sun J, Fei F, Zhang M, Li Y, Zhang X, Zhu S, et al.: The role of mSEPT9 in screening, diagnosis, and recurrence monitoring of colorectal cancer. *BMC Cancer*. 2019; 19:450.
34. Song L, Li Y: SEPT9: A Specific Circulating Biomarker for Colorectal Cancer. *Adv Clin Chem*. 2015; 72:171–204.
35. Liu MC, Oxnard GR, Klein EA, Swanton C, Seiden M V, CCGA Consortium: Sensitive and specific multi-cancer detection and localization using methylation signatures in cell-free DNA. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol*. 2020; 31:745–59.
36. Carter J V, Galbraith NJ, Yang D, Burton JF, Walker SP, Galandiuk S: Blood-based microRNAs as biomarkers for the diagnosis of colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis. *Br J Cancer*. 2017; 116:762–74.
37. Weiss JM, Pfau PR, O'Connor ES, King J, LoConte N, Kennedy G, et al.: Mortality by stage for right- versus left-sided colon cancer: analysis of surveillance, epidemiology, and end results--Medicare data. *J Clin Oncol*. 2011; 29:4401–09.
38. Langevin JM, Nivatvongs S: The true incidence of synchronous cancer of the large bowel. A prospective study. *Am J Surg*. 1984; 147:330–33.
39. Passman MA, Pommier RF, Vetto JT: Synchronous colon primaries have the same prognosis as solitary colon cancers. *Dis Colon Rectum*. 1996; 39:329–34.

40. Keung EZ, Gershenwald JE: The eighth edition American Joint Committee on Cancer (AJCC) melanoma staging system: implications for melanoma treatment and care. *Expert Rev Anticancer Ther.* 2018; 18:775.
41. [No Authors] Updated recommendations from the College of American Pathologists for examination of colon and rectum cancer specimens. Available at: <https://documents.cap.org/protocols/cp-gilower-colonrectum-17protocol-4010.pdf>.
42. Ahadi M, Sokolova A, Brown I, Chou A, Gill AJ: The 2019 World Health Organization Classification of appendiceal, colorectal and anal canal tumours: an update and critical assessment. *Pathology.* 2021; 53:454–61.
43. Green JB, Timmcke AE, Mitchell WT, Hicks TC, Gathright JB, Ray JE: Mucinous carcinoma--just another colon cancer? *Dis Colon Rectum.* 1993; 36:49–54.
44. Secco GB, Fardelli R, Campora E, Lapertosa F, Gentile R, Zoli S, et al.: Primary mucinous adenocarcinomas and signet-ring cell carcinomas of colon and rectum. *Oncology.* 1994; 51:30–34.
45. Minsky BD: Clinicopathologic impact of colloid in colorectal carcinoma. *Dis Colon Rectum.* 1990; 33:714–19.
46. Edge SB, Byrd DR, Compton CC et al (Eds): *AJCC Cancer Staging Manual*, 7th ed. New York, Springer. 2010.
47. [No Authors] Jessup JM, Goldberg RM, Aware EA, et al. Colon and Rectum. In: *AJCC Cancer Staging Manual*, 8th ed, Amin MB (Ed), AJCC, Chicago 2017. p.251. Corrected at 4th printing, 2018.
48. Sloothak DAM, Sahami S, van der Zaag-Loonen HJ, van der Zaag ES, Tanis PJ, Bemelman WA, et al.: The prognostic value of micrometastases and isolated tumour cells in histologically negative lymph nodes of patients with colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Surg Oncol.* 2014; 40:263–69.
49. Furukawa H, Ikuma H, Seki A, Yokoe K, Yuen S, Aramaki T, et al.: Positron emission tomography scanning is not superior to whole body multidetector

- helical computed tomography in the preoperative staging of colorectal cancer. *Gut*. 2006; 55:1007–11.
50. Siegel RL, Miller KD, Fuchs HE, Jemal A: Cancer Statistics, 2021. *CA Cancer J Clin*. 2021; 71:7–33.
 51. Meyerhardt JA, Mayer RJ: Follow-up strategies after curative resection of colorectal cancer. *Semin Oncol*. 2003; 30:349–60.
 52. Abulafi AM, Williams NS: Local recurrence of colorectal cancer: the problem, mechanisms, management and adjuvant therapy. *Br J Surg*. 1994; 81:7–19.
 53. Krishnamoorthy M, Lenehan JG, Maleki Vareki S: Neoadjuvant Immunotherapy for High-Risk, Resectable Malignancies: Scientific Rationale and Clinical Challenges. *J Natl Cancer Inst*. 2021; 113:823–32.
 54. Chalabi M, Fanchi LF, Dijkstra KK, Van den Berg JG, Aalbers AG, Sikorska K, et al.: Neoadjuvant immunotherapy leads to pathological responses in MMR-proficient and MMR-deficient early-stage colon cancers. *Nat Med*. 2020; 26:566–76.
 55. Ludford K, Cohen R, Svrcek M, Foo WC, Colle R, Parc Y, et al.: Pathological Tumor Response Following Immune Checkpoint Blockade for Deficient Mismatch Repair Advanced Colorectal Cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2021; 113:208–11.
 56. Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V: The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell*. 1993; 75:843–54.
 57. [No Authors] miRBase. Available at. <https://www.mirbase.org/summary.shtml?org=hsa>.
 58. Esquela-Kerscher A, Slack FJ: Oncomirs - microRNAs with a role in cancer. *Nat Rev Cancer*. 2006; 6:259–69.
 59. Gregory RI, Chendrimada TP, Cooch N, Shiekhattar R: Human RISC couples microRNA biogenesis and posttranscriptional gene silencing. *Cell*. 2005;

- 123:631–40.
60. Bhatt K, Mi Q-S, Dong Z: microRNAs in kidneys: biogenesis, regulation, and pathophysiological roles. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2011; 300:F602-10.
 61. Pillai RS: MicroRNA function: multiple mechanisms for a tiny RNA? *RNA*. 2005; 11:1753–61.
 62. Hanahan D, Weinberg RA: The hallmarks of cancer. *Cell*. 2000; 100:57–70.
 63. Croce CM: Oncogenes and cancer. *N Engl J Med*. 2008; 358:502–11.
 64. Sherr CJ: Principles of tumor suppression. *Cell*. 2004; 116:235–46.
 65. Wu W, Sun M, Zou G-M, Chen J: MicroRNA and cancer: Current status and prospective. *Int J Cancer*. 2007; 120:953–60.
 66. Hwang H-W, Mendell JT: MicroRNAs in cell proliferation, cell death, and tumorigenesis. *Br J Cancer*. 2006; 94:776–80.
 67. Volinia S, Calin GA, Liu C-G, Ambs S, Cimmino A, Petrocca F, et al.: A microRNA expression signature of human solid tumors defines cancer gene targets. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006; 103:2257–61.
 68. Lagos-Quintana M, Rauhut R, Yalcin A, Meyer J, Lendeckel W, Tuschl T: Identification of tissue-specific microRNAs from mouse. *Curr Biol*. 2002; 12:735–39.
 69. Visone R, Croce CM: MiRNAs and cancer. *Am J Pathol*. 2009; 174:1131–38.
 70. Krek A, Grün D, Poy MN, Wolf R, Rosenberg L, Epstein EJ, et al.: Combinatorial microRNA target predictions. *Nat Genet*. 2005; 37:495–500.
 71. Michael MZ, O' Connor SM, van Holst Pellekaan NG, Young GP, James RJ: Reduced accumulation of specific microRNAs in colorectal neoplasia. *Mol Cancer Res*. 2003; 1:882–91.
 72. Luo X, Burwinkel B, Tao S, Brenner H: MicroRNA signatures: novel biomarker for colorectal cancer? *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2011; 20:1272–86.
 73. Lu J, Getz G, Miska EA, Alvarez-Saavedra E, Lamb J, Peck D, et al.:

- MicroRNA expression profiles classify human cancers. *Nature*. 2005; 435:834–38.
74. Youden WJ: Index for rating diagnostic tests. *Cancer*. 1950; 3:32–35.
 75. Lu X, Xue B, Zhang T, Zhou X, Zhang Y: Down-regulation of microRNA-10a mediates the anti-tumor effect of icaritin in A549 cells via the PTEN/AKT and ERK pathway. *Gen Physiol Biophys*. 2019; 38:525–33.
 76. Yan Y, Yan H, Wang Q, Zhang L, Liu Y, Yu H: MicroRNA 10a induces glioma tumorigenesis by targeting myotubularin-related protein 3 and regulating the Wnt/ β -catenin signaling pathway. *FEBS J*. 2019; 286:2577–92.
 77. Vu TT, Stölzel F, Wang KW, Röllig C, Tursky ML, Molloy TJ, et al.: miR-10a as a therapeutic target and predictive biomarker for MDM2 inhibition in acute myeloid leukemia. *Leukemia*. 2021; 35:1933–48.
 78. Kuratomi N, Takano S, Fukasawa M, Maekawa S, Kadokura M, Shindo H, et al.: MiR-10a in Pancreatic Juice as a Biomarker for Invasive Intraductal Papillary Mucinous Neoplasm by miRNA Sequencing. *Int J Mol Sci*. 2021; 22:1–12.
 79. Stadthagen G, Tehler D, Høyland-Kroghsbo NM, Wen J, Krogh A, Jensen KT, et al.: Loss of miR-10a Activates Lpo and Collaborates with Activated Wnt Signaling in Inducing Intestinal Neoplasia in Female Mice. *PLoS Genet*. 2013; 9:e1003913.
 80. Liu Y, Zhang Y, Wu H, Li Y, Zhang Y, Liu M, et al.: miR-10a suppresses colorectal cancer metastasis by modulating the epithelial-to-mesenchymal transition and anoikis. *Cell Death Dis*. 2017; 8:e2739–e2739.
 81. Romero-Lorca A, Novillo A, Gaibar M, Gilsanz MF, Galán M, Beltrán L, et al.: miR-7, miR-10a and miR-143 Expression May Predict Response to Bevacizumab Plus Chemotherapy in Patients with Metastatic Colorectal Cancer. *Pharmgenomics Pers Med*. 2021; Volume 14:1263–73.
 82. Li X, Teng C, Ma J, Fu N, Wang L, Wen J, et al.: miR-19 family: A promising biomarker and therapeutic target in heart, vessels and neurons. *Life Sci*. 2019; 232.

83. Huang L, Wang X, Wen C, Yang X, Song M, Chen J, et al.: Hsa-miR-19a is associated with lymph metastasis and mediates the TNF- α induced epithelial-to-mesenchymal transition in colorectal cancer. *Sci Rep.* 2015; 5:13350.
84. Baumjohann D, Kageyama R, Clingan JM, Morar MM, Patel S, De Kouchkovsky D, et al.: The microRNA cluster miR-17~92 promotes TFH cell differentiation and represses subset-inappropriate gene expression. *Nat Immunol.* 2013; 14:840–48.
85. Lai M, Gonzalez-Martin A, Cooper AB, Oda H, Jin HY, Shepherd J, et al.: Regulation of B-cell development and tolerance by different members of the miR-17~92 family microRNAs. *Nat Commun.* 2016; 7.
86. Yan Y, Chen D, Han X, Liu M, Hu W: MiRNA-19a and miRNA-19b regulate proliferation of antler cells by targeting TGFBR2. *Mammal Res.* 2020; 65:339–48.
87. Niu S, Ma X, Zhang Y, Liu YN, Chen X, Gong H, et al.: MicroRNA-19a and microRNA-19b promote the malignancy of clear cell renal cell carcinoma through targeting the tumor suppressor RhoB. *PLoS One.* 2018; 13:e0192790.
88. Liu Y, Liu R, Yang F, Cheng R, Chen X, Cui S, et al.: miR-19a promotes colorectal cancer proliferation and migration by targeting TIA1. *Mol Cancer.* 2017; 16:53.
89. Zhu M, Huang Z, Zhu D, Zhou X, Shan X, Qi L-W, et al.: A panel of microRNA signature in serum for colorectal cancer diagnosis. *Oncotarget.* 2017; 8:17081–91.
90. Chen Q, Xia H-W, Ge X-J, Zhang Y-C, Tang Q-L, Bi F: Serum miR-19a predicts resistance to FOLFOX chemotherapy in advanced colorectal cancer cases. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2013; 14:7421–26.
91. Kawahigashi Y, Mishima T, Mizuguchi Y, Arima Y, Yokomuro S, Kanda T, et al.: MicroRNA profiling of human intrahepatic cholangiocarcinoma cell lines reveals biliary epithelial cell-specific microRNAs. *J Nippon Med Sch.* 2009; 76:188–97.
92. Zekri ARN, Youssef ASED, El-Desouky ED, Ahmed OS, Lotfy MM, Nassar

- AAM, et al.: Serum microRNA panels as potential biomarkers for early detection of hepatocellular carcinoma on top of HCV infection. *Tumour Biol.* 2016; 37:12273–86.
93. Shin YM, Yun J, Lee OJ, Han HS, Lim SN, An JY, et al.: Diagnostic Value of Circulating Extracellular miR-134, miR-185, and miR-22 Levels in Lung Adenocarcinoma-Associated Malignant Pleural Effusion. *Cancer Res Treat.* 2014; 46:178–85.
 94. Zhang C, Wang C, Chen X, Yang C, Li K, Wang J, et al.: Expression profile of microRNAs in serum: a fingerprint for esophageal squamous cell carcinoma. *Clin Chem.* 2010; 56:1871–79.
 95. Ganepola GA, Rutledge JR, Suman P, Yiengpruksawan A, Chang DH: Novel blood-based microRNA biomarker panel for early diagnosis of pancreatic cancer. *World J Gastrointest Oncol.* 2014; 6:22–33.
 96. Liu Y, Chen X, Cheng R, Yang F, Yu M, Wang C, et al.: The Jun/miR-22/HuR regulatory axis contributes to tumorigenesis in colorectal cancer. *Mol Cancer.* 2018; 17:11.
 97. Yamakuchi M, Yagi S, Ito T, Lowenstein CJ: MicroRNA-22 regulates hypoxia signaling in colon cancer cells. *PLoS One.* 2011; 6:e20291.
 98. Li B, Li B, Sun H, Zhang H: The predicted target gene validation, function, and prognosis studies of miRNA-22 in colorectal cancer tissue. *Tumor Biol.* 2017; 39:101042831769225.
 99. Franchina T, Amodeo V, Bronte G, Savio G, Ricciardi GRR, Picciotto M, et al.: Circulating miR-22, miR-24 and miR-34a as novel predictive biomarkers to pemetrexed-based chemotherapy in advanced non-small cell lung cancer. *J Cell Physiol.* 2014; 229:97–99.
 100. Chen L, Luo L, Chen W, Xu HX, Chen F, Chen L zhou, et al.: MicroRNA-24 increases hepatocellular carcinoma cell metastasis and invasion by targeting p53: miR-24 targeted p53. *Biomed Pharmacother.* 2016; 84:1113–18.
 101. Lu K, Wang J, Song Y, Zhao S, Liu H, Tang D, et al.: miRNA-24-3p promotes cell proliferation and inhibits apoptosis in human breast cancer by

- targeting p27Kip1. *Oncol Rep.* 2015; 34:995–1002.
102. Kang M, Xiao J, Wang J, Zhou P, Wei T, Zhao T, et al.: MiR-24 enhances radiosensitivity in nasopharyngeal carcinoma by targeting SP1. *Cancer Med.* 2016; 5:1163–73.
 103. Gao Y, Liu Y, Du L, Li J, Qu A, Zhang X, et al.: Down-regulation of miR-24-3p in colorectal cancer is associated with malignant behavior. *Med Oncol.* 2015; 32.
 104. Z F, J T, Y B, H L, H Y, H J, et al.: Plasma levels of microRNA-24, microRNA-320a, and microRNA-423-5p are potential biomarkers for colorectal carcinoma. *J Exp Clin Cancer Res.* 2015; 34.
 105. Mishra PJ, Song B, Mishra PJ, Wang Y, Humeniuk R, Banerjee D, et al.: MiR-24 Tumor Suppressor Activity Is Regulated Independent of p53 and through a Target Site Polymorphism. *PLoS One.* 2009; 4:e8445.
 106. Gao Z, Zhou L, Hua S, Wu H, Luo L, Li L, et al.: miR-24-3p promotes colon cancer progression by targeting ING1. *Signal Transduct Target Ther.* 2020; 5:171.
 107. Peng Q, Shen Y, Lin K, Zou L, Shen Y, Zhu Y: Identification of microRNA-92a and the related combination biomarkers as promising substrates in predicting risk, recurrence and poor survival of colorectal cancer. *J Cancer.* 2019; 10:3154–71.
 108. E C, Q L, H W, F Y, L M, J Y: MiR-92a promotes tumorigenesis of colorectal cancer, a transcriptomic and functional based study. *Biomed Pharmacother.* 2018; 106.
 109. Kral J, Korenkova V, Novosadova V, Langerova L, Schneiderova M, Liska V, et al.: Expression profile of miR-17/92 cluster is predictive of treatment response in rectal cancer. *Carcinogenesis.* 2018; 39:1359–67.
 110. Favereaux A, Thoumine O, Bouali-Benazzouz R, Roques V, Papon MA, Salam SA, et al.: Bidirectional integrative regulation of Cav1.2 calcium channel by microRNA miR-103: role in pain. *EMBO J.* 2011; 30:3830–41.

111. Liao Y, Lönnnerdal B: Global MicroRNA Characterization Reveals That miR-103 Is Involved in IGF-1 Stimulated Mouse Intestinal Cell Proliferation. *PLoS One*. 2010; 5:e12976.
112. Chen H-Y, Lang Y-D, Lin H-N, Liu Y-R, Liao C-C, Nana AW, et al.: miR-103/107 prolong Wnt/ β -catenin signaling and colorectal cancer stemness by targeting Axin2. *Sci Rep*. 2019; 9.
113. Ke J, Shao W, Jiang Y, Xu J, Li F, Qin J: MicroRNA-103 regulates tumorigenesis in colorectal cancer by targeting ZO-1. *Mol Med Rep*. 2018; 17:783.
114. Zheng Y Bin, Xiao K, Xiao GC, Tong SL, Ding Y, Wang QS, et al.: MicroRNA-103 promotes tumor growth and metastasis in colorectal cancer by directly targeting LATS2. *Oncol Lett*. 2016; 12:2194–200.
115. Geng L, Sun B, Gao B, Wang Z, Quan C, Wei F, et al.: MicroRNA-103 Promotes Colorectal Cancer by Targeting Tumor Suppressor DICER and PTEN. *Int J Mol Sci*. 2014; 15:8458–72.
116. Hackl M, Brunner S, Fortschegger K, Schreiner C, Micutkova L, Mück C, et al.: miR-17, miR-19b, miR-20a, and miR-106a are down-regulated in human aging. *Aging Cell*. 2010; 9:291.
117. Feng B, Dong TT, Wang LL, Zhou HM, Zhao HC, Dong F, et al.: Colorectal cancer migration and invasion initiated by microRNA-106a. *PLoS One*. 2012; 7:e43452.
118. He Y, Wang G, Zhang L, Zhai C, Zhang J, Zhao X, et al.: Biological effects and clinical characteristics of microRNA-106a in human colorectal cancer. *Oncol Lett*. 2017; 14:830.
119. Díaz R, Silva J, García JM, Lorenzo Y, García V, Peña C, et al.: Deregulated expression of miR-106a predicts survival in human colon cancer patients. *Genes Chromosomes Cancer*. 2008; 47:794–802.
120. Li J, Liu Y, Wang C, Deng T, Liang H, Wang Y, et al.: Serum miRNA expression profile as a prognostic biomarker of stage II/III colorectal adenocarcinoma. *Sci Rep*. 2015; 5:12921.

121. Xia H, Li Y, Lv X: MicroRNA-107 inhibits tumor growth and metastasis by targeting the BDNF-mediated PI3K/AKT pathway in human non-small lung cancer. *Int J Oncol.* 2016; 49:1325–33.
122. Tian T, Yang Q, Zhang C, Li X, Cheng J: MiRNA-107 enhances the malignant progression of pancreatic cancer by targeting TGFBR3. *PLoS One.* 2021; 16:e0249375.
123. Chen PS, Su JL, Cha ST, Tarn WY, Wang MY, Hsu HC, et al.: miR-107 promotes tumor progression by targeting the let-7 microRNA in mice and humans. *J Clin Invest.* 2011; 121:3442–55.
124. Molina-Pinelo S, Carnero A, Rivera F, Estevez-Garcia P, Bozada JM, Limon ML, et al.: MiR-107 and miR-99a-3p predict chemotherapy response in patients with advanced colorectal cancer. *BMC Cancer.* 2014; 14:656.
125. Fu Y, Lin L, Xia L: MiR-107 function as a tumor suppressor gene in colorectal cancer by targeting transferrin receptor 1. *Cell Mol Biol Lett.* 2019; 24:31.
126. Zhang J, Sun J, Liu J, Gu D, Shi X: Correlation between microRNA-107 expression level and prognosis in patients with colorectal cancer. *Int J Clin Exp Pathol.* 2020; 13:2342–47.
127. H C, Z X: Hypermethylation-Associated Silencing of miR-125a and miR-125b: A Potential Marker in Colorectal Cancer. *Dis Markers.* 2015; 2015.
128. Yang X, Qiu J, Kang H, Wang Y, Qian J: miR-125a-5p suppresses colorectal cancer progression by targeting VEGFA. *Cancer Manag Res.* 2018; 10:5839.
129. Yang M, Tang X, Wang Z, Wu X, Tang D, Wang D: miR-125 inhibits colorectal cancer proliferation and invasion by targeting TAZ. *Biosci Rep.* 2019; 39.
130. Schratt GM, Tuebing F, Nigh EA, Kane CG, Sabatini ME, Kiebler M, et al.: A brain-specific microRNA regulates dendritic spine development. *Nat* 2006 4397074. 2006; 439:283–89.
131. Tai HC, Schuman EM: MicroRNA: MicroRNAs Reach out into Dendrites.

Curr Biol. 2006; 16:R121–23.

132. Gao J, Wang WY, Mao YW, Gräff J, Guan JS, Pan L, et al.: A novel pathway regulates memory and plasticity via SIRT1 and miR-134. *Nat* 2010 4667310. 2010; 466:1105–09.
133. El-Daly SM, Abba ML, Patil N, Allgayer H: miRs-134 and -370 function as tumor suppressors in colorectal cancer by independently suppressing EGFR and PI3K signalling. *Sci Rep*. 2016; 6:24720.
134. Pan J-Y, Zhang F, Sun C-C, Li S-J, Li G, Gong F-Y, et al.: miR-134: A Human Cancer Suppressor? *Mol Ther - Nucleic Acids*. 2017; 6:140–49.
135. Feng L, Ma H, Chang L, Zhou X, Wang N, Zhao L, et al.: Role of microRNA-141 in colorectal cancer with lymph node metastasis. *Exp Ther Med*. 2016; 12:3405.
136. Meltzer S, Bjørnestrø T, Lyckander LG, Flatmark K, Dueland S, Samiappan R, et al.: Circulating Exosomal miR-141-3p and miR-375 in Metastatic Progression of Rectal Cancer. *Transl Oncol*. 2019; 12:1038–44.
137. Lulla RR, Costa FF, Bischof JM, Chou PM, Bonaldo MDF, Vanin EF, et al.: Identification of differentially expressed microRNAs in osteosarcoma. *Sarcoma*. 2011; 2011.
138. Vasilescu C, Rossi S, Shimizu M, Tudor S, Veronese A, Ferracin M, et al.: MicroRNA Fingerprints Identify miR-150 as a Plasma Prognostic Marker in Patients with Sepsis. *PLoS One*. 2009; 4.
139. Magrelli A, Azzalin G, Salvatore M, Viganotti M, Tosto F, Colombo T, et al.: Altered microRNA Expression Patterns in Hepatoblastoma Patients. *Transl Oncol*. 2009; 2:157.
140. Li C, Du X, Xia S, Chen L: MicroRNA-150 inhibits the proliferation and metastasis potential of colorectal cancer cells by targeting iASPP. *Oncol Rep*. 2018; 40:252.
141. Liu F, Di Wang X: miR-150-5p represses TP53 tumor suppressor gene to promote proliferation of colon adenocarcinoma. *Sci Reports* 2019 91. 2019;

9:1–7.

142. Aherne ST, Madden SF, Hughes DJ, Pardini B, Naccarati A, Levy M, et al.: Circulating miRNAs miR-34a and miR-150 associated with colorectal cancer progression. *BMC Cancer*. 2015; 15:329.
143. Luedde T: MicroRNA-151 and its hosting gene FAK (focal adhesion kinase) regulate tumor cell migration and spreading of hepatocellular carcinoma. *Hepatology*. 2010; 52:1162–64.
144. MD G, JJ L, G R, E H, L B, A C, et al.: Circulating microRNAs as biomarkers of colorectal cancer: results from a genome-wide profiling and validation study. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2013; 11.
145. Cojocneanu R, Braicu C, Raduly L, Jurj A, Zanoaga O, Magdo L, et al.: Plasma and Tissue Specific miRNA Expression Pattern and Functional Analysis Associated to Colorectal Cancer Patients. *Cancers (Basel)*. 2020; 12.
146. Song Q, An Q, Niu B, Lu X, Zhang N, Cao X: Role of miR-221/222 in Tumor Development and the Underlying Mechanism. *J Oncol*. 2019; 2019.
147. Cai K, Shen F, Cui J-H, Yu Y, Pan H-Q: Expression of miR-221 in colon cancer correlates with prognosis. *Int J Clin Exp Med*. 2015; 8:2794.
148. XX P, GL H, HQ G, CC G, H L, S Y, et al.: Circulating miR-221 directly amplified from plasma is a potential diagnostic and prognostic marker of colorectal cancer and is correlated with p53 expression. *J Gastroenterol Hepatol*. 2010; 25.
149. Yau TO, Wu CW, Dong Y, Tang CM, Ng SSM, Chan FKL, et al.: microRNA-221 and microRNA-18a identification in stool as potential biomarkers for the non-invasive diagnosis of colorectal carcinoma. *Br J Cancer*. 2014; 111:1765.
150. Zhang L, Chen H, He F, Zhang S, Li A, Zhang A, et al.: MicroRNA-320a Promotes Epithelial Ovarian Cancer Cell Proliferation and Invasion by Targeting RASSF8. *Front Oncol*. 2021; 11:200.
151. Xiong W, Ran J, Jiang R, Guo P, Shi X, Li H, et al.: MiRNA-320a inhibits glioma cell invasion and migration by directly targeting aquaporin 4. *Oncol*

- Rep. 2018; 39:1939–47.
152. Zhelankin A V., Vasiliev S V., Stonogina DA, Babalyan KA, Sharova EI, Doludin Y V., et al.: Elevated Plasma Levels of Circulating Extracellular miR-320a-3p in Patients with Paroxysmal Atrial Fibrillation. *Int J Mol Sci.* 2020; 21.
 153. Kalady MF, DeJulius K, Messick C: MicroRNA-320 Expression Is Decreased in Rectal Cancer. *J Surg Res.* 2010; 158:267–68.
 154. Yan L, Yao J, Qiu J: miRNA-495 suppresses proliferation and migration of colorectal cancer cells by targeting FAM83D. *Biomed Pharmacother.* 2017; 96:974–81.
 155. Alqurashi N, Hashimi S, Alowaidi F, Ivanovski S, Farag A, Wei M: miR-496, miR-1185, miR-654, miR-3183 and miR-495 are downregulated in colorectal cancer cells and have putative roles in the mTOR pathway. *Oncol Lett.* 2019; 18:1657–68.
 156. Gu H, Li H, Zhang L, Luan H, Huang T, Wang L, et al.: Diagnostic role of microRNA expression profile in the serum of pregnant women with fetuses with neural tube defects. *J Neurochem.* 2012; 122:641–49.
 157. Li LZ, Zhang CZ, Liu LL, Yi C, Lu SX, Zhou X, et al.: miR-720 inhibits tumor invasion and migration in breast cancer by targeting TWIST1. *Carcinogenesis.* 2014; 35:469–78.
 158. NONAKA R, MIYAKE Y, HATA T, KAGAWA Y, KATO T, OSAWA H, et al.: Circulating miR-103 and miR-720 as novel serum biomarkers for patients with colorectal cancer. *Int J Oncol.* 2015; 47:1097–102.
 159. Hofslie E, Sjursten W, Prestvik WS, Johansen J, Rye M, Tranø G, et al.: Identification of serum microRNA profiles in colon cancer. *Br J Cancer.* 2013; 108:1712–19.
 160. Han M li, Wang F, Gu Y ting, Pei X hong, Ge X, Guo G cheng, et al.: MicroR-760 suppresses cancer stem cell subpopulation and breast cancer cell proliferation and metastasis: By down-regulating NANOG. *Biomed Pharmacother.* 2016; 80:304–10.

161. Yan C, Zhang W, Shi & X, Zheng J, Jin X, Huo J: MiR-760 suppresses non-small cell lung cancer proliferation and metastasis by targeting ROS1.
162. Cao L, Liu Y, Wang D, Huang L, Li F, Liu J, et al.: MiR-760 suppresses human colorectal cancer growth by targeting BATF3/AP-1/cyclinD1 signaling. *J Exp Clin Cancer Res.* 2018; 37.
163. Li X, Ding Y, Liu N, Sun Q, Zhang J: MicroRNA-760 inhibits cell proliferation and invasion of colorectal cancer by targeting the SP1-mediated PTEN/AKT signalling pathway. *Mol Med Rep.* 2017; 16:9692–700.
164. Wang Q, Huang Z, Ni S, Xiao X, Xu Q, Wang L, et al.: Plasma miR-601 and miR-760 Are Novel Biomarkers for the Early Detection of Colorectal Cancer. *PLoS One.* 2012; 7:e44398.
165. Wang X, Zhao Y, Yang Y, Huang D, Su Z, Li K, et al.: Effect of MiR-760 on Colon Cancer Metastasis by Inhibiting the Key Molecules of Calcium Ion Signal. *Chinese J Gastroenterol.* 2020; 25:332–38.
166. WJ F, CZ L, HH Z, J Q, L Z, N X: Detection of let-7a microRNA by real-time PCR in colorectal cancer: a single-centre experience from China. *J Int Med Res.* 2007; 35.
167. Li B, Chen P, Chang Y, Qi J, Fu H, Guo H: Let-7a inhibits tumor cell growth and metastasis by directly targeting RTKN in human colon cancer. *Biochem Biophys Res Commun.* 2016; 478:739–45.
168. CAO W, WANG Q, HUANG C: Let-7a Inhibits Tumor Metastasis by Regulating TGF- β /Smad Signaling in the Colorectal Adenocarcinoma Cell Line LS-174T. *Anticancer Res.* 2021; 41:3801–08.
169. Li Z, Pan W, Shen Y, Chen Z, Zhang L, Zhang Y, et al.: IGF1/IGF1R and microRNA let-7e down-regulate each other and modulate proliferation and migration of colorectal cancer cells. *Cell Cycle.* 2018; 17:1212–19.
170. Khodadadi Kohlan A, Saidijam M, Amini R, Samadi P, Najafi R: Induction of let-7e gene expression attenuates oncogenic phenotype in HCT-116 colorectal cancer cells through targeting of DCLK1 regulation. *Life Sci.* 2019; 228:221–27.