



T.C.  
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**KANSER MOLEKÜLER BİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
DOKTORA TEZİ**

**EPİTELYAL YUMURTALIK KANSERİNDE LncRNA'LARIN  
PREDİKTİF VE PROGNOSTİK ETKİSİ**

**Ehteram KHADEMI SIAHESTALKHI**

**Ağustos 2024  
DENİZLİ**

T.C.  
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

EPİTELYAL YUMURTALIK KANSERİNDE LncRNA'LARIN  
PREDİKTİF VE PROGNOSTİK ETKİSİ

KANSER MOLEKÜLER BİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
DOKTORA PROGRAMI  
DOKTORA TEZİ

Ehteram KHADEMI SIAHESTALKHI

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Aydın DEMİRAY

Denizli, 2024



Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırılmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini; bu çalışmanın doğrudan birincil ürünü olmayan bulguların, verilerin ve materyallerin bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini ve alıntı yapılan çalışmalara atfedildiğini beyan ederim.

Öğrenci Adı Soyadı: Ehteram KHADEMI SIAHESTALKHI

İmza :

## YAYIN BEYAN SAYFASI

Pamukkale Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği Uygulama Esasları Yönergesi Madde 24-(2) “Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doktora öğrencileri için: Doktora tez savunma sınavından önce, doktora bilim alanında kendisinin yazar olduğu uluslararası atıf indeksleri kapsamında yer alan bir dergide basılmış ya da basılmak üzere kesin kabulü yapılmış en az bir makalesi olan öğrenciler tez savunma sınavına alınır. Yüksek lisans tezinin yayın haline getirilmiş olması bu kapsamda değerlendirilmez. Bu ek koşulu yerine getirmeyen öğrenciler, tez savunma sınavına alınmazlar” gereğince yapılan yayın/yayınların listesi aşağıdadır (Özet metin/metinleri ekte sunulmuştur:

Ek-1. Merve Oğuz M, **Khademi Siahestalkhi E**, Yaren A, Demiray A, Gökçen Demiray A. Categorized serum miRNAs as potential biomarkers for predicting the progression and prognosis of colorectal cancer. *Iran J Blood Cancer*. 2024 June 30;16(2):7-14. (Corresponding Author: **Ehteram Khademi Siahestalkhi** Affiliation: Department of Medical Genetics, Faculty of Medicine, Pamukkale University, Denizli, Turkey. E-posta: e.khademi18@gmail.com).

# EPİTELYAL YUMURTALIK KANSERİNDE LncRNA'LARIN PREDİKTİF VE PROGNOSTİK ETKİSİ

Ehteram KHADEMI SIAHESTALKHI  
Doktora Tezi, Kanser Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı  
Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Aydın DEMİRAY  
Ağustos 2024, 144 Sayfa

Epitelyal over kanseri (EOC), jinekolojik kanserler arasında kanser neden ölümlerde kadınlarda ikinci sırada yer alır. Epitelyal over kanseri tedavisinde karşılaşılan en büyük zorluklardan biri, kemoterapiye karşı gelişen ilaç direncidir. Bu direnç, hastalığın kötü prognozuna yol açarak tedavi başarısını önemli ölçüde düşürmektedir. Kanser biyolojisinde kemoterapi direncinin altında yatan mekanizmaların aydınlatılmasına rağmen, bu direnç, EOC'nin etkili yönetimini zorlaştıran kritik bir engel olmaya devam etmektedir. Kemoterapi direnci, EOC'ye bağlı yüksek mortalite oranlarının başlıca nedenlerinden biridir. Dolayısıyla, over kanserinde erken teşhisi kolaylaştıracak ve nüks riskini daha doğru tahmin edebilecek yenilikçi biyobelirteçlerin geliştirilmesi ivedi bir gereklilik olarak ortaya çıkmaktadır.

Bu çalışmada, epitelyal yumurtalık kanseri ile ilişkili 15 spesifik uzun kodlamayan RNA'nın (lncRNA) ekspresyon profilleri kapsamlı bir şekilde incelenmiş ve bu lncRNA'ların ilaç direnci ile olan ilişkisi detaylı olarak değerlendirilmiştir. Ayrıca, bu lncRNA'ların EOC'de ilaç direncini aşmada potansiyel terapötik hedefler olarak kullanılabilirliği de araştırılmıştır. Bu amaç doğrultusunda, karboplatin/paklitaksel direncine sahip agresif EOC hücre hatları olan OVCAR3 ve SKOV3 alt türleri geliştirilmiştir. Seçilen lncRNA'ların ekspresyon profilleri, RT-qPCR yöntemi kullanılarak hem ebeveyn hem de dirençli hücre hatlarında, ayrıca kemoterapi öncesi ve tedaviden altı ay sonra alınan serum örnekleri ile 23 sağlıklı kontrol grubunda nicel olarak karşılaştırılmıştır.

Çalışmamız, bazı lncRNA'ların ilaç direncinin geliştiği koşullarda yukarı regüle olduğunu, diğerlerinin ise dirençli hücre hatlarında ekspresyon seviyelerinin azaldığını ve bu lncRNA'ların çok yönlü bir düzenleyici ağına parçası olduğunu ortaya koymuştur. Bu bulgular, lncRNA'ların epitelyal over kanseri 'nin progresyonu ve tedavi yanıtında kritik roller oynayabileceğini ve erken teşhis ile tedavi planlamasında potansiyel terapötik hedefler ve biyobelirteçler olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir. Güvenilir lncRNA biyobelirteçlerinin tanımlanması, ilaç direnci geliştirme riski taşıyan hastaların erken tespitine olanak tanıyarak, hasta sonuçlarını ve sağkalım oranlarını iyileştirecek kişiselleştirilmiş tedavi stratejilerinin uygulanmasını kolaylaştırabilir. Bu nedenle, over kanseri hastalarında terapötik sonuçları iyileştirmek amacıyla lncRNA'ların ilaç direncini etkileyen spesifik moleküler mekanizmaların aydınlatılması için daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

**Anahtar Kelimeler;** Biyobelirteç, Epitelyal Over Kanseri, İlaç Direnci, Karboplatin, LncRNA, OVCAR3, Paklitaksel, Prognoz; SKOV3, Terapötik Hedefler ve Uzun Kodlamayan RNA'lar,

**Bu çalışma, PAÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje No: 2022SABE003)**

## ABSTRACT

### THE PREDICTIVE AND PROGNOSTIC ROLE OF lncRNAs IN EPITHELIAL OVARIAN CANCER

Ehteram KHADEMI SIAHESTALKHI

Doctoral Thesis, Department of Cancer Molecular Biology

supervisor: Dr. Öğr. Üyesi Aydın DEMİRAY

August 2024, 144 pages

Epithelial ovarian cancer (EOC) is the second leading cause of death among women with gynecological cancers. One of the most significant challenges in treating EOC is drug resistance, which greatly contributes to the disease's poor prognosis. Despite advances in molecular oncology and the initial positive response to primary chemotherapy agents such as carboplatin and paclitaxel, drug resistance remains a major obstacle in the effective management of EOC. Chemotherapy resistance is a key factor driving the high mortality rates associated with this disease. As a result, there is an urgent need for innovative biological markers that can facilitate early diagnosis and more accurately predict the risk of recurrence in ovarian cancer.

This thesis investigates the expression profiles of 15 specific long non-coding RNAs (lncRNAs) associated with EOC and explores their relationship with drug resistance. It also examines the potential of lncRNAs as therapeutic targets in overcoming drug resistance in EOC. Drug-resistant subtypes of aggressive EOC cell lines, including carboplatin/paclitaxel-resistant OVCAR3 and SKOV3 lines, were developed to accomplish this. The expression profiles of the selected lncRNAs were quantitatively compared using RT-qPCR across various ovarian cancer cell lines (parental and resistant cells) and in serum samples from 25 patients before chemotherapy, six months after treatment, and from 23 healthy controls.

The study revealed that certain lncRNAs were upregulated in drug-resistant conditions, while others exhibited decreased expression in resistant lines, indicating their involvement in a complex regulatory network. These findings suggest that lncRNAs play a crucial role in developing and treating EOC, as potential therapeutic targets and biomarkers for early diagnosis and treatment stratification. Identifying reliable lncRNA biomarkers could enable the early detection of patients at risk for developing drug resistance, facilitating personalized treatment strategies that may improve patient outcomes and survival rates. Further research is necessary to elucidate the specific molecular pathways through which lncRNAs influence drug resistance, to enhance therapeutic outcomes for ovarian cancer patients.

**Anahtar Kelimeler;** Biomarker, Carboplatin, Drug Resistance, Epithelial Ovarian Cancer, OVCAR3; Long Non-coding RNA, Paclitaxel, Prognosis, RT-qPC, Therapeutic Targets, and SKOV3.

**This study was supported by the Pamukkale University Scientific Research Projects Coordination Unit (Project number 2022SABE003).**

## TEŞEKKÜR

Doktora programımı ve tezimi tamamlama sürecimde akademik ve profesyonel gelişimime değerli katkılarından dolayı danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Aydın DEMIRAY'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Doktora yolculuğumun ilk yıllarında bana sunduğu kıymetli rehberlik ve klinik içgörüler için Prof. Dr. Arzu YAREN'e, araştırmam boyunca verdiği değerli tavsiyeleri ve sürekli desteği için tez izleme komitesi başkanım Prof. Dr. Hakan AKÇA'ya ve gösterdiği yönlendirmeler için tez izleme komitesi üyesi Prof. Dr. Bünyamin AKGÜL'e teşekkür ederim.

Ayrıca, bu doktora sürecinde başarılı olmamda büyük rol oynayan sevgi, destek ve teşvikleri için sevgili eşime; yoğun çalışmalarım sırasında gösterdiği sabır için kızım Maysa'ya da en derin teşekkürlerimi sunarım.



## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
<b>ÖZET</b> .....	<b>v</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>vi</b>
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	<b>vii</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>viii</b>
<b>ŞEKİLLER</b> .....	<b>ix</b>
<b>TABLolar</b> .....	<b>x</b>
<b>SİMGE VE KISALTMALAR</b> .....	<b>xi</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
1.1. Amaç.....	<b>3</b>
<b>2. KURAMSAL BİLGİLER VE LİTERATÜR TARAMASI</b>	<b>4</b>
2.1. Kanser .....	<b>4</b>
2.2. Over Kanseri.....	<b>5</b>
2.2.1. Over Kanserinde Görülme Sıklığı ve Ölüm Oranları.....	<b>5</b>
2.2.2. Over kanseri evrelemesi.....	<b>5</b>
2.2.3. Over kanseri alt tipleri.....	<b>8</b>
2.2.4. Epitelyal Over Kanseri.....	<b>9</b>
2.3. Over Kanseri Tarama Programları.....	<b>15</b>
2.4. Over Kanserinin Tedavisi.....	<b>19</b>
2.4.1. Cerrahi Müdahalesi.....	<b>19</b>
2.4.2. Kemoterapi.....	<b>20</b>
2.4.2.1. Platin İlaçları.....	<b>21</b>
2.4.2.2 Paklitaksel.....	<b>22</b>
2.4.2.3. PARP inhibitörleri.....	<b>24</b>
2.5. Over kanserinde ilaç direnci.....	<b>24</b>
2.5.1. Kazanılmış ilaç direnç.....	<b>26</b>
2.5.2. Doğal ilaç direnç.....	<b>26</b>
2.5.2.2. DNA hasarını onarma nedeniyle ilaç direnci .....	<b>28</b>
2.5.2.3. Apoptoz baskılanması nedeniyle direnç.....	<b>29</b>
2.5.2.4. İlaç nötralizasyonu nedeniyle ilaç direnci.....	<b>30</b>
2.5.2.5. Hedef moleküldeki değişiklik nedeniyle ilaç direnci.....	<b>31</b>
2.5.2.6. İlaç direnci ve kanser kök hücreleri.....	<b>33</b>
2.5.2.7. İlaç direnci ve epitel-mezenkimal geçiş (EMT) .....	<b>34</b>
2.5.2.8. EO tümörü mikroçevre sinyallerine bağlı ilaç direnci.....	<b>36</b>
2.5.2.9. Epigenetik değişiklikler nedeniyle ilaç direnci.....	<b>37</b>
2.5.2.10. Kodlamayan RNA.....	<b>38</b>
2.5.3. Platin ajanlarına direncin altındaki mekanizmalar.....	<b>41</b>
2.5.4. Paklitaksel direncinin temel mekanizmalar .....	<b>45</b>
2.5.5. Platin türevleri ve paklitaksel arasında çapraz direnci.....	<b>48</b>
2.6. Uzun kodlamayan RNA'lar .....	<b>49</b>
2.6.1. LncRNA 'ya Genel Bakış .....	<b>49</b>
2.6.2. LncRNA'ların özellikleri.....	<b>49</b>
2.6.3. LncRNA'ların sınıflandırılması .....	<b>51</b>
2.6.4. Kanserde lncRNA'lar .....	<b>53</b>
2.6.5. LncRNA'lar ve ilaç direnci.....	<b>54</b>
2.6.6. EOC kemoterapi direncinde lncRNA'lar .....	<b>54</b>
2.7. Ana Hipotez.....	<b>61</b>
2.7.1. spesifik Hipotezler.....	<b>61</b>

<b>3. GEREÇ VE YÖNTEMLER</b> .....	<b>62</b>
3.1. EOC ‘de ilaç direnci için lncRNA Seçim Kriterleri.....	62
3.2. Biyoinformatik Analizleri.....	63
3.3. Numune Toplaması .....	63
3.4. Hücre Hatları ve Reaktifleri .....	64
3.4.1. Hücre Kültürü.....	64
3.4.2. Doz-Yanıt Deneyi (Dose-response assay) .....	66
3.4.3. Dirençli Hücre Popülasyonlarının Üretilmesi .....	67
3.4.4. Hücre Canlılığı Deneyi.....	68
3.4.5. Kristal Viole Boyama ile Seçim Testi.....	68
3.5. Kantitatif Gerçek Zamanlı PCR Deneyi.....	69
3.5.1. Hücre Hattı RNA İzolasyonu.....	69
3.5.2. Serum RNA İzolasyonu.....	70
3.5.3. Tamamlayıcı DNA (cDNA) Sentezi.....	71
3.5.4. Gerçek Zamanlı PCR (qRT-PCR) Reaksiyonu.....	71
3.6. Veri Analizi için Biyoinformatik Araçlar .....	73
3.7. İstatistiksel Analiz.....	74
<b>4. BULGULAR</b> .....	<b>75</b>
4.1. Klinikodemografik ve Klinikopatolojik Bilgiler.....	75
4.1.1. EOC Hastalarında Klinikodemografik Faktörlerin Analizi .....	75
4.1.2. EOC hastalarının Klinikopatolojik özellikleri .....	77
4.2. OVCAR3/ SCOV3 Hücre Hatlarında İlaç Direnci Oluşturma için En Uygun Protokolün Seçimi.....	80
4.3. OVCAR3/SKOV3 Ana Hücrelerinde Doz Optimizasyonu.....	81
4.4. OVCAR3-R/SKOV3 Hücre Hatlarında Karboplatin/Paklitaksel Direncinin İndüksiyonu.....	83
4.5. OVCAR3-R/SCOV3 İlaç Direncinin Onaylanması.....	85
4.6. Hücre Kültüründe İlaç Direnci Fenotipinin Sürdürülmesi.....	89
4.7. Kemoterapi Dirençli ve Ana EOC Hücre Hatları Arasında lncRNA İfade Profillerinin Karşılaştırılması.....	90
Kemoterapiye dirençli EOC hastalarının serumlarındaki lncRNA ifade profillerinin, kontrol grubuyla karşılaştırmalı analizi.....	91
4.8.1. Hastaların serumunda ve dirençli hücre hatlarında lncRNA'ların artan ifade seviyesi.....	91
4.8.2. Dirençli hücre hatlarında artış olmadan hastaların serumunda anlamlı artan lncRNA 'lar .....	93
4.8.3. Hem hasta serumunda hem de hücre hatlarında anlamlı olmayan lncRNA'ları.....	112
<b>5. TARTIŞMA</b> .....	<b>112</b>
5.1. Hastaların Serumunda VE Dirençli Hücre Hatlarında Artan lncRNA İfade Seviyesi.....	113
5.2. Hastaların serumunda önemli ölçüde değişen ancak hücresel çalışmalarda dikkate değer değişiklikler göstermeyen lncRNA'lar.....	120
5.3. İfade Değişiklikleri Gösteremeyen lncRNA'lar.....	124
<b>6. SONUÇ</b> .....	<b>131</b>
6.1. Çalışmanın bilimsel katkıları ve uygulama alanları.....	131
6.2. Çalışmanın sınırlamaları.....	132

<b>7. KAYNAKLAR</b> .....	<b>133</b>
<b>8. ÖZGEÇMİŞ</b> .....	<b>105</b>
<b>9. EKLER</b> .....	<b>123</b>
Ek-1 Etik Belgesi .....	
EK-2 Yayın Beyanı.....	

## ŞEKİLLER

	<b>Sayfa</b>
<b>Şekil 2.1.</b>	Kanserde İlaç Direnci Mekanizmaları ..... 16
<b>Şekil 2.2.</b>	Kodlamayan RNA Türleri ve Bolluk Oranları ..... 24
<b>Şekil 3.1.</b>	OVCAR3 ve SKOV3 Hücrelerinin Morfolojisi..... 38
<b>Şekil 4.1.</b>	İlaç Dirençli Hücre Hatlarının Karşılaştırmalı Seçimi..... 52
<b>Şekil 4.2.</b>	Ana Hücre Hatları için Doz-Yanıt Deneyi (Dose-response assay) ..... 53
<b>Şekil 4.3.</b>	Hücrelerinde İlaç Direnci Sırasındaki Morfolojik Değişiklikler..... 55
<b>Şekil 4.4.</b>	Hücre Hatlarının İlaç Direnci 'nin IC50 Değerlerinin Karşılaştırılması... 56
<b>Şekil 4.5.</b>	Hücre Hatlarında Kazanılmış İlaç Direncini Doğrulayan Sitotoksisite Testi Sonuçları ..... 59
<b>Şekil 4.5.</b>	Dirençli Hücre Hattında Karboplatin Direncinin Geliştirilmesi Sırasında Gözlemlenen Morfolojik Değişiklikleri. .... 59
<b>Şekil 4.7.</b>	Farklı LncRNA'ların Farklı Kanser Hücre Hatlarında ve Tedavi Koşullarında Ekspresyon Düzeylerindeki Değişiklikleri..... 60
<b>Şekil 4.8.</b>	SNHG7'in Kat Değişim İfade Analizi ..... 62
<b>Şekil 4.9.</b>	TUG1'in Kat Değişim İfade Analizi ..... 64
<b>Şekil 4.10.</b>	XIST'in Kat Değişim İfade Analizi ..... 65
<b>Şekil 4.11.</b>	PRLB'nin Kat Değişim İfade Analizi ..... 67
<b>Şekil 4.12.</b>	TLR8-AS1'in Kat Değişim İfade Analizi ..... 69
<b>Şekil 4.13.</b>	ZFAS1'in Kat Değişim İfade Analizi ..... 70
<b>Şekil 4.14.</b>	PVT 1'in Kat Değişim İfade Analizi ..... 71
<b>Şekil 4.15.</b>	NEAT1'in Kat Değişim İfade Analizi ..... 72
<b>Şekil 4.16.</b>	RMRP'nin Kat Değişim İfade Analizi ..... 74
<b>Şekil 4.17.</b>	LINC2489 'in Kat Değişim İfade Analizi ..... 75
<b>Şekil 4.18.</b>	EBIC'in Kat Değişim İfade Analizi ..... 76
<b>Şekil 4.19.</b>	SDHAP1'in Kat Değişim İfade Analizi ..... 77
<b>Şekil 4.20.</b>	PANDAR1'in Kat Değişim İfade Analizi ..... 79
<b>Şekil 4.21.</b>	SNHG12'in Kat Değişim İfade Analizi ..... 80
<b>Şekil 4.22.</b>	LINC00161'in Kat Değişim İfade Analizi ..... 81
<b>Şekil 5.1.</b>	SNHG7 LncRNA'sının EOC 'de İlaç Direncine Yol Açan Mekanizması 84
<b>Şekil 5.2.</b>	Düzensiz Ototofaji Yolakları ile İlişkili LncRNA'ların..... 85
<b>Şekil 5.3.</b>	PRLB1 lncRNA'sının EOC'de İlaç Direncine Yol Açan Mekanizması... 86
<b>Şekil 5.4.</b>	TLR8-AS1 LncRNA'sının EOC'de İlaç Direncine Yol Açan Mekanizması..... 87
<b>Şekil 5.5.</b>	ZFAS1 lncRNA'sının EOC'de İlaç Direncine Yol Açan Mekanizması... 88
<b>Şekil 5.6.</b>	PVT1 LncRNA'sının EOC'de İlaç Direncine Yol Açan Mekanizması.... 89
<b>Şekil 5.7.</b>	Anlamli Ekspresyon Gösteren LncRNA'ların Etki Mekanizması..... 98

## TABLOLAR

		Sayfa
<b>Tablo 2.1.</b>	Over Kanserinin Evrelemesi: FIGO Sistemi ve Tanısal Modeller.....	6
<b>Tablo 2.2.</b>	NICE Tarafından Önerilen Kırmızı Bayrak Semptomlar.....	10
<b>Tablo 3.1.</b>	Çalışmada Kullanılan Hücre Hatlarının Listesi.....	38
<b>Tablo 3.2.</b>	Hücre kültüründe Kullandığı Hücre Hattının Özellikleri .....	39
<b>Tablo 3.3.</b>	Dirençli Hücre Hattı Uluşturmak İçin İlaç Konsantrasyon Dozları.....	41
<b>Tablo 3.4.</b>	RT-qPCR Bileşenleri.....	44
<b>Tablo 3.5.</b>	RT-qPCR Reaksiyon Şartları.....	44
<b>Tablo 3.6.</b>	LncRNA'ya Spesifik RT-qPCR Primerleri .....	45
<b>Tablo 4.1.</b>	Klinikodemografik Özelliklerin Karşılaştırılması.....	49
<b>Tablo 4.2.</b>	EOC Hastaların Klinikopatolojik Özelliklerine İlişkin Detaylı Bilgiler.....	51
<b>Tablo 4.3.</b>	Çalışmada Dirençli Hücrelerin Türevleri .....	54
<b>Tablo 4.4.</b>	Hücre Hatlarının IC50 Değerleri.....	58

## SİMGELER VE KISALTMALAR

ABCC1	ATP Bağlayıcı Kaset Alt Ailesi C Üyesi 1
Bcl-2	B Hücreli Lenfoma 2
CDK6	Siklin Bağımlı Kinaz 6
CeRNA	Rekabetçi Endojen RNA
CT	Kemoterapi
EBIC	Epigenetik Olarak İndüklenen İlaç Direnci ile İlişkili
EIF4G2	Ökaryotik Başlatma Faktörü 4 Gama 2
EMT	Epitel-Mezenkimal Geçiş
EOC	Epitelyal Over Kanseri
ESGO	Avrupa Jinekolojik Onkoloji Derneği
ESMO	Avrupa Tıbbi Onkoloji Derneği
EZH2	Enhancer of Zeste Homolog 2
FIGO	Uluslararası Jinekoloji ve Obstetrik Federasyonu
FOXP1	Forkhead Box P1
HGSOC	Yüksek Dereceli Seröz Over Kanseri
HuR	Human Antigen R
LC3B-I	Hafif Zincir 3B Protein I
LC3B-II	X Hafif Zincir 3B Protein II
LGSOC	Düşük Dereceli Seröz Over Karsinomu
LINC2489	Uzun İntergenik Kodlamayan RNA 2489
LncRNA	Uzun Kodlamayan RNA
MDR	Çoklu İlaç Direnci
MiR	MiRNA
MYC	Myelocytomatosis Oncogene
NEAT1	Nükleer Zenginleştirilmiş Uzun İntergenik Kodlamayan RNA
NF-κB	Nükleer Faktör Kappa Hafif Zinciri Güçlendirici
NICE	Ulusal Sağlık ve Klinik Mükemmellik Enstitüsü
OVCAR3-R-C	OVCAR3 Dirençli Hücre Hattı (Karboplatin ile Tedavi Edildi)
OVCAR3-R-COM	OVCAR3 Dirençli Hücre Hattı (İlaç Kombinasyonu)
OVCAR3-R-PTX	OVCAR3 Dirençli Hücre Hattı (İlaç Kombinasyonu) ATP Tümör
P53	Baskılayıcı Protein 53
PANDAR1	CDKN1A Antisens DNA Hasar Aktive RNA'nın Promotörü
PARP	Poli (ADP-riboz) Polimeraz
PD-L1	Programlanmış Hücre Ölümüne Yol Açan 1 Ligandı
Post-CT	Kemoterapi Sonrası
Pre-CT	Kemoterapi Öncesi
PRC2	Polycomb Baskılayıcı Kompleks 2
PRLB	Plazmid Rekombinant Lentiviral Bağlantı
PVT1	Plazmasitoma Varyant Translokasyonu 1
RMRP	Mitokondriyal RNA İşleme Endoribonükleazının RNA Bileşeni
RSF1	Represör Element 1 Ailesi Üyesi 1
SD	Standard Sapma
SDHAP1	Küçük Dimerik Hiyalüronat ile İlişkili Protein 1
SKOV3-R-C	SKOV3 Dirençli Hücre Hattı (Karboplatin ile Tedavi Edildi)
SKOV3-R-COM	SKOV3 Dirençli Hücre Hattı (İlaç Kombinasyonu)
SKOV3-R-PTX	SKOV3 Dirençli Hücre Hattı (Paklitaksel ile Tedavi Edildi)
SNHG7	Küçük Nükleolar RNA Ana Gen 7
SP1	Spesifik Protein 1

TCGA	Kanser Genomu Atlası
TIMP1	Doku İnhibitörü Metalloproteinaz 1
TLR8-AS1	TLR8 Antisense RNA 1
TUG1	Taurinle Artırılmış Gen 1
WNT/ $\beta$ -katenin	Wnt sinyali Yolu/beta-Katenin
XIST	X-İnaktif Spesifik Transkript
YAP1	YES İlişkili Protein

## 1. GİRİŞ

Epitelyal over kanserler (EOC), over kanserlerinin yaklaşık %90'ını oluşturur. Dünya genelinde, kadınlarda en sık görülen beşinci kanser türü olup, jinekolojik kanserler arasında ise en ölümcül olanıdır. Gelişmiş ülkelerde insidansı daha yüksek olan bu kanser türü, genellikle geç evrede teşhis edilmesi nedeniyle, hastaların çoğunda tanı konulduğunda hastalık yayılmış durumdadır.

Epitelyal over kanserinin global insidansı, 2023 yılı itibarıyla 100.000 kadında yaklaşık 6,6 vaka olarak rapor edilmiştir. Bu oran, gelişmiş ülkelerde daha yüksek elde edilmiştir, örneğin Kuzey Avrupa'da 100.000 kadında 14 vakaya kadar çıkabilmektedir. Ayrıca, yaşla birlikte risk artmaktadır; epitelyal over kanseri sıklıkla menopoza sonrası kadınlarda görülür ve 60-70 yaş aralığında ortaya çıkmaktadır. Mortalite oranlarına bakıldığında, epitelyal over kanseri, diğer jinekolojik kanserlere kıyasla en yüksek mortalite oranına sahiptir. Bu yüksek ölüm oranı, kanserin sinsi ilerleyişi ve genellikle semptomların ileri evrelerde ortaya çıkmasından kaynaklanır. Son beş yılda, epitelyal over kanserine bağlı mortalite oranı, her 100.000 kadında yaklaşık 4,2 olarak belirlenmiştir. Tedavi yaklaşımlarındaki ilerlemelere rağmen, sağkalım oranları düşük kalmaktadır; evre IV hastalarda beş yıllık sağkalım oranı %17 civarındadır (Arter vd 2024). EOC, tedaviye karşı gelişen ilaç direncinin klinik yönetimde ciddi bir engel sayılmaktadır. İlk basamak tedavi olarak platin-tabanlı kemoterapi, EOC'li hastaların büyük çoğunluğunda başlangıçta olumlu yanıt almasına rağmen, zamanla gelişen direnç mekanizmaları, hastalığın nüks etmesine ve sağkalım oranlarının düşmesine neden olmaktadır. Bu bağlamda, platin direnci, EOC'nin tedavi başarısını sınırlayan en yaygın ve en zorlu sorunlardan biri olarak öne çıkmaktadır (Sung vd 2021).

Hedefe yönelik tedavilere karşı gelişen direnç de EOC'nin klinik yönetiminde giderek artan bir endişe kaynağıdır. Özellikle, PARP inhibitörleri gibi DNA tamir mekanizmalarını hedefleyen ajanlara karşı direnç, BRCA mutanlığı olan hastalarda dahi



gözlemlenmiştir. Bu direnç genellikle, kanser hücrelerinin alternatif DNA tamir yollarını aktive etmesi veya ilaç hedefi olan proteinlerdeki mutasyonlar ile ilişkilidir. Bunun yanı sıra, epitelial-mezenkimal geçiş (EMT) gibi fenotipik değişimler, tümör hücrelerinin invaziv potansiyeli artırırken, ilaç penetrasyonunu ve etkinliğini de azaltmaktadır. EMT'nin, özellikle platin direnci ile ilişkilendirilen bir diğer mekanizma olarak da öne çıkması, bu sürecin terapötik stratejiler geliştirilmesinde hedef alınması gerektiğini göstermektedir (Gillet vd 2010).

Uzun kodlanmayan RNA'lar (lncRNA'lar), protein kodlamayan ancak gen ekspresyonunun düzenlenmesinde kritik roller oynayan RNA molekülleridir. Son yıllarda yapılan araştırmalar, lncRNA'ların epitelial over kanseri (EOC) patogeneğinde ve bu kanser türüne karşı gelişen ilaç direnci mekanizmalarında önemli işlevlere sahip olduğunu ortaya koymuştur. Bu moleküller, EOC 'nin moleküler biyolojisinin anlaşılmasında yeni bir katman sunmakta ve hastalığın ilerlemesi ile tedavi yanıtında belirleyici rol oynayabilmektedir. lncRNA'ların EOC'deki fonksiyonları, kanser hücrelerinin proliferasyonunu, invazyonunu ve metastazını teşvik eden çeşitli sinyal yolları üzerinde etki gösterir.

Bunun yanı sıra, lncRNA'lar, EOC'de hedefe yönelik tedavilere karşı gelişen dirençte de kritik bir rol oynamaktadır. lncRNA'ların EOC ve ilaç direnci üzerindeki etkilerinin anlaşılması, bu moleküllerin potansiyel biyobelirteçler ve terapötik hedefler olarak kullanımını gündeme getirmektedir. EOC tedavisinde lncRNA'ları hedefleyen stratejilerin geliştirilmesi hem hastalığın ilerlemesini yavaşlatmak hem de mevcut tedavilere karşı direnci aşmak için umut verici bir yaklaşım olarak değerlendirilmektedir. Gelecekte, lncRNA'lar üzerine yapılacak daha kapsamlı araştırmalar, EOC yönetiminde kişiselleştirilmiş tıp uygulamalarını geliştirmede önemli bir katkı sağlayacaktır (Wambecke vd 2020).

Yumurtalık kanserinde ilaç direnci mekanizmaları üzerine geniş kapsamlı bir literatür bulunmasına rağmen, literatürde, yumurtalık kanseri hastalarında ilaca dirençli bir fenotipi tanımlamak amacıyla kullanılacak spesifik biyobelirteçler üzerine odaklanan sınırlı bilgi mevcuttur. İlaça dirençli bir fenotipi tanımlamak için kullanılacak biyobelirteçler den oluşan bir veri seti sahip olmak, hastalar, klinisyenler ve araştırmacılar için son derece değerli bir kaynak sağlayabilir.

## 1.1. Amaçlar

Bu çalışmanın temel amacı, epitelyal over kanserinde kemoterapi direncine sahip hücre hatları ve hastalardan elde edilen serum örneklerinde, 15 spesifik uzun kodlamayan RNA'nın (lncRNA) ekspresyon profillerini derinlemesine analiz etmektir. Araştırma, bu lncRNA'ların ilaç direnci ile ilişkilerini ortaya koyarak, EOC'nin tedavisinde potansiyel biyobelirteçler ve terapötik hedefler olarak kullanılabilirliklerini değerlendirmeyi hedeflemektedir. Bu doğrultuda, lncRNA'ların kanser progresyonu ve tedavi yanıtındaki rolü üzerine literatüre katkıda bulunacak ve erken tanı ile kişiselleştirilmiş tedavi stratejilerinin geliştirilmesine olanak sağlayacak özgün bilimsel bulgular elde edilmesi amaçlanmaktadır.

## **2. KURAMSAL BİLGİLER VE LİTERATÜR TARAMASI**

### **2.1. Kanser**

Kanser, kontrolsüz hücre büyümesi ve çoğalması ile karakterize edilen bir hastalıktır. Normal hücrelerin büyüme ve bölünme süreçleri, genetik ve çevresel faktörlerin etkileşimi ile düzenlenir. Ancak, bu süreçler bozulduğunda, hücreler anormal bir şekilde çoğalmaya başlar ve tümörler oluşabilir. Kanserin gelişimi genellikle bir dizi genetik değişikliğin birikimi ile ilişkilidir. Bu değişiklikler, genellikle ongenlerin aktivasyonu veya tümör baskılayıcı genlerin inaktivasyonu sonucunda ortaya çıkar. Kanser, çok faktörlü bir hastalık olup, genetik ve çevresel etkenlerin bir sonucu olarak ortaya çıkar. Modern biyomedikal araştırmalar, kanserin moleküler mekanizmalarını daha iyi anlamamıza olanak tanımış ve yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesine yol açmıştır. Ancak, kanserin karmaşıklığı göz önüne alındığında, tedavi ve yönetiminde hâlâ birçok zorluk mevcuttur. Bu nedenle, kanser biyolojisi ve tedavisi üzerine yapılan araştırmalar, hastalığın daha iyi anlaşılması ve daha etkili tedavi seçeneklerinin geliştirilmesi açısından büyük önem taşımaktadır.

### **2.2. Over Kanseri**

#### **2.2.1. Over kanserinde görülme sıklığı ve ölüm oranları**

Over kanseri, dünya genelinde her yıl yaklaşık 239.000 yeni vaka ve 152.000 ölümle sonuçlanarak önemli bir sağlık sorunu teşkil etmektedir. Hastalığın görülme

sıklığı coğrafi olarak farklılık göstermektedir. Gelişmiş ülkelerde, yaşa göre ayarlanmış en yüksek insidans oranları kaydedilmektedir. Kuzey Amerika ve Avrupa'da, oranlar 100.000 bireyde 8 vakayı aşarken, Asya ve Afrika'da oranlar daha düşük seviyelerde seyretmektedir. Bu veriler, over kanserinin dünya genelinde kadınlar için hem morbidite hem de mortalite açısından önemli bir etkiye sahip olduğunu açıkça ortaya koymaktadır (Webb vd 2024).

### 2.2.2. Over kanseri evrelemesi

Over kanserinin evrelerini belirlemek için, tümörün sergilediği belirli özelliklere dayalı farklı sınıflandırma sistemleri geliştirilmiştir. Bu sistemler, tedavi planlaması ve prognoz tahmini açısından önemlidir. Over kanseri sınıflandırmasında en yaygın olarak kullanılan sistem, Uluslararası Jinekoloji ve Obstetrik Federasyonu (FIGO) tarafından geliştirilmiş ve 1973'te ilk kez sunulmuştur. Bu sistem, doğruluğunu ve geçerliliğini artırmak amacıyla 1988 ve 2014 yıllarında güncellenmiştir (FIGO, 2018). FIGO sistemi, yumurtalık kanserini dört evreye ayırır (Tablo 1.2);

Evre I: Tümör sadece yumurtalık larda bulunur.

Evre II: Tümör bir veya iki yumurtalığa yayılmıştır ve pelvik boşluğa yayılmış olabilir.

Evre III: Tümör karın boşluğuna yayılmış veya lenf bezlerine metastaz yapmıştır.

Evre IV: Tümör karın boşluğunun ötesine, örneğin akciğerler veya karaciğer gibi uzak organlara yayılmış veya karın boşluğunun dışında lenf bezlerine metastaz yapmıştır. Over kanseri, çeşitli hücre tiplerinden kaynaklanabilen, heterojen bir hastalıktır. Bu nedenle, farklı histopatolojik özellikleri yansıtan, çeşitli alt tiplere ayrılır. Epitelyal Over kanserlerinin büyük çoğunluğunu oluşturan bu alt tip, yumurtalık epitel hücrelerinden kaynaklanır. EOC, çeşitli histopatolojik özelliklere göre daha da alt kategorilere ayrılır.

- Seröz Kanseri: Over kanserlerinin en yaygın alt tipi olup, seröz sıvı salgılayan hücrelerden kaynaklanır; Yüksek dereceli seröz karsinom (HGSOC ve toplam EOC 'nin yaklaşık %70'i). Düşük dereceli seröz karsinom (LGSOC, yaklaşık %3).
- Endometrioid Kanseri: Endometrium kanserine benzeyen hücrelerden kaynaklanır ve endometriozis ile ilişkili olabilir.

- Müsinöz Kanser: Müsin salgılayan hücrelerden kaynaklanır ve genellikle büyük, kist benzeri tümörlere neden olur.
- Clear Cell Kanser: Böbrek hücrelerine benzeyen hücrelerden kaynaklanır ve genellikle endometriozis ile ilişkilidir.
- Brenner Tümörü: Geçiş hücrelerinden kaynaklanır ve genellikle iyi huylu bir tümör olarak kabul edilir.

#### 2.2.4. Epitelyal over kanseri

*Tip I ve Tip II epitelyal over kanseri:* Epitelyal over kanserleri, klinik davranışlarına ve histopatolojik özelliklerine göre iki ana gruba, Tip I ve Tip II, ayrılır. Bu gruplar, klinik özellikleri ve sık görülen genetik mutasyonlar gibi farklı histolojik alt tiplere göre kategorize edilir (Kurman vd 2010).

Tip I epitelyal over kanserleri, genellikle yavaş büyüyen ve düşük dereceli tümörlerdir. Tipik olarak iyi huylu tümörlere benzeyen kistler olarak başlarlar ve uzun yıllar boyunca sessizce büyüebilirler. Klinik olarak, Tip I kanserler genellikle daha genç kadınlarda görülür ve daha az agresif bir seyir izler. Bu tip EOC, sıklıkla KRAS, BRAF ve ARID1A gibi genlerde mutasyonlar taşır (Jayson vd 2014) (Tablo 2.1). Bununla birlikte, TP53, BRCA1 ve BRCA2 genleri bu özel grupta genellikle mutasyona uğramaz (Bast vd 2012).

Diğer yandan, Tip II epitelyal over kanserleri, genellikle yüksek dereceli ve agresif bir seyir izleyen tümörlerdir. Tip I kanserlere göre daha hızlı büyürler ve daha erken metastaz yapma eğilimindedirler. Klinik olarak, Tip II kanserler genellikle daha yaşlı kadınlarda görülür ve daha kötü bir prognoza sahiptir (Terada vd 2016).

**Tablo 2.1.** Over Kanseri Evrelemesinde FIGO Sistemi ve Tanısal Modeller

Evre	Açıklama	5 Yıllık Sağkalım Oranı
<b>I</b>	Tümör, yumurtalıklar veya fallop tüplerine sınırlıdır.	75-90%
<b>IA</b>	Tümör bir yumurtalıkta (kapsül sağlam); yumurtalığın yüzeyinde tümör yok, asit veya peritoneal yıkama sıvısında kanser hücresi yok.	
<b>IB</b>	Tümör her iki yumurtalıkta (kapsüller sağlam); yumurtalığın yüzeyinde tümör yok, asit veya peritoneal yıkama sıvısında kanser hücresi yok.	
<b>IC</b>	Tümör bir veya her iki yumurtalıkta, aşağıdaki durumlardan biri ile birlikte:	
	- Kapsül, cerrahiden önce yırtılmış veya yumurtalık veya fallop tüpü yüzeyinde tümör var.	
	- Asit veya peritoneal yıkama sıvısında kanser hücreleri var.	
<b>II</b>	Tümör, bir veya her iki yumurtalık veya fallop tüpü ile pelvik uzantıya sahiptir (pelvik kenarın altında) veya primer peritoneal kanserdir.	45-60%
<b>IIA</b>	Rahim ve/veya yumurtalıklar ve/veya fallop tüpleri üzerinde yayılma ve/veya implantlar.	
<b>IIB</b>	Diğer pelvik intraperitoneal dokulara yayılma.	
<b>III</b>	Tümör, bir veya her iki yumurtalık veya primer peritoneal kanser ile pelvik dışına yayılarak peritoneumda doğrulanmış yayılma veya retroperitoneal lenf nodu tutulumu ile birlikte.	
<b>IIIA1</b>	Sadece pozitif retroperitoneal lenf nodları (sitolojik veya histolojik olarak kanıtlanmış):	30-40%
	- Lenf nodları en büyük boyut olarak $\leq 10$ mm.	
	- Lenf nodları en büyük boyut olarak $> 10$ mm.	
<b>IIIB</b>	Pelvik dışındaki makroskopik peritoneal metastaz, en büyük boyut olarak $\leq 2$ cm, pozitif retroperitoneal lenf nodları ile veya olmadan.	
<b>IIIC</b>	Pelvik dışındaki makroskopik peritoneal metastaz, en büyük boyut olarak $> 2$ cm, pozitif retroperitoneal lenf nodları ile veya olmadan.	
<b>IV</b>	Uzak metastazlar, peritoneal metastazlar hariç.	$< 20\%$
<b>IVA</b>	Pozitif sitoloji ile plevral efüzyon.	
<b>IVB</b>	Parankimal metastazlar ve karın dışı organlara metastazlar.	

Tip II epitelyal over kanserleri, farklı histopatolojik özelliklerine, klinik davranışlarına ve genetik mutasyon profillerine göre çeşitli alt tiplere ayrılır. Tip II epitelyal over kanserleri sıklıkla TP53 mutasyonları ile karakterizedir ve DNA onarım yollarındaki kusurlar nedeniyle genetik dengesizlik sergilemektedir (Reid vd 2017). Ek olarak, Tip II tümörler genellikle TP53 gen mutasyonları ve BRCA1 ve BRCA2 genlerinde mutasyonlar taşır ve ERBB2 aşırı ekspresyonu da gözlemlenebilir (Roy vd 2018). Tip I tümörlerin aksine, Tip II tümörler farklı alt tipler arasında genetik mutasyon profillerinde belirgin farklılıklar göstermezler. Ayrıca, Tip I tümörlerde yaygın olarak görülen KRAS ve PIK3CA mutasyonları, bu tümörlerde genellikle saptanmamaktadır.

*Epitelyal over kanserinin risk faktörleri:* Yumurtalık kanserine yatkınlık, çeşitli genetik, ailesel ve tümörle ilgili faktörler tarafından etkilenmektedir. Erken menarş, geç menopoz başlangıcı ve nulliparite (çocuk doğurmamış olmak) benzer faktörler, over kanseri gelişme riskini artırmaktadır. Bu faktörler, ovulasyon döngülerinin sayısını artırarak, hormonların hastalığın gelişiminde rol oynadığını destekler. Tersine, sürekli ovulasyon teorisini destekleyen çoklu gebelik ve uzun süreli emzirme benzer ovulasyon döngülerinin sıklığını azaltan faktörler, over kanseri riskini azaltmaktadır. Tüplerin bağlanması, bir veya her iki yumurtalık çıkarılması (tek taraflı veya çift taraflı ooforektomi), fallop tüplerinin alınması (salpingektomi) ve histerektomi (rahim çıkarılması) gibi prosedürlerin de over kanseri riskini azalttığı gösterilmiştir (Ferris vd 2023). Over kanserinde germ hattı genetik mutasyonları, vakaların yaklaşık %25'inde gözlenmektedir (Imterat vd 2023). Germ hattı testi için kriterler, her ülke nüfusunda zararlı BRCA1/2 mutasyonlarının görülme sıklığına göre değişkenlik gösterse de Avrupa Jinekolojik Onkoloji Derneği (ESGO) ve Avrupa Tıbbi Onkoloji Derneği (ESMO) tarafından yayınlanan kılavuzlar, musinöz histolojiye sahip hastalar hariç tüm over kanseri hastaları için BRCA1/2 testi önermektedir (Colombo vd 2019). Jinekolojik Onkoloji Derneği (SGO) da genel olarak BRCA1/2 testini desteklemektedir (Imterat vd 2023). Amerikan Klinik Onkoloji Derneği (ASCO) ise tüm over kanseri hastaları için klinik olarak belirlenmiş mutasyonlara sahip birden fazla geni kapsayan kapsamlı germ hattı testi önermektedir (Konstantinopoulos vd 2020).

Germ hattı BRCA1/2 mutasyonlarına sahip over kanseri hastaları, bu mutasyonlara sahip olmayan hastalara kıyasla genel sağkalım (OS) ve progresyonsuz sağkalım (PFS) açısından daha iyi sonuçlar elde etme potansiyeline sahiptir (Ataseven vd 2021). BRCA1/2 mutasyonları, over kanseri hastalarında en sık görülen mutasyonları

oluşturur ve epitelyal over kanseri vakalarının yaklaşık %9-18'ini kapsar. Yüksek dereceli seröz over kanseri (HGSOc) için bu oran %20'ye kadar çıkabilir. BRCA1/2 varyantlarına sahip kişilerin 80 yaşına kadar BRCA1 için %44 ve BRCA2 için %17 yaşam boyu risk altında olduğu bildirilmektedir (Philpot vd 2023). Gen panel testleri, RAD51C/D, BRIP1, PALB2 ve MSH6 gibi bir dizi yüksek riskli kalıtsal mutasyonun kapsamlı bir şekilde değerlendirilmesine imkân tanır (Norquist vd 2016). BRCA1/2 genleri dışında, over kanseri hastalarının yaklaşık % 4-6'sında zararlı mutasyonlar tespit edilmiştir (Imterat vd 2023). Ayrıca, Panagiotis'in çalışması, epitelyal over kanserlerinin yaklaşık %10-12'sinde çift uyumsuzluk onarım (dMMR) defektinin bulunduğunu göstermiştir. Bu mutasyon, tüm histolojik alt tiplerde görülse de seröz olmayan histolojilerde daha yaygın olarak gözlenmektedir. Özellikle, endometrioid (%19,2), musinöz (%16,9) ve berrak hücreli (%11,5) histolojik alt tipleri, en yüksek dMMR oranlarına sahiptir (Konstantinopoulos vd 2020). Bu bulgular, over kanseri (OC)'nin benzersiz histolojik ve moleküler özelliklere sahip heterojen bir hastalık grubu olduğunu vurgular.

Epitelyal over kanseri (EOC) için genetik risk, belirli etnik kökenlerle ilişkilendirilmiştir. Örneğin, Yahudi kadınlar, özellikle Aşkenazi soyundan gelenler, BRCA1 veya BRCA2 mutasyonlarını taşıma olasılığının yüksek olduğu gösterilmiştir (Stewart vd 2019).

Over kanseri riskini yönetmek ve önleyici tedbirler almak için çeşitli seçenekler mevcuttur. Oral kontraseptifler, uzun süreli kullanımda, tekrarlayan ovulasyonu engelleyerek over kanseri riskini %50 oranında azaltabilir. İki taraflı salpingo-ooforektomi, over kanseri riskini önemli ölçüde (%80) azaltma potansiyeline sahip olduğundan, over kanseri önleminde en çok tercih edilen yöntemdir. Ancak, over çıkarılmasının yol açtığı erken menopoza ve infertilite nedeniyle, bu yöntem genellikle BRCA1 veya BRCA2 genetik değişikliklerine sahip yüksek riskli kadınlar için uygulanmaktadır (Walker vd 2015).



### 2.3. Over Kanseri Tarama Programları

Dünya genelinde, over kanserinin erken teşhisi ve önlenmesi için çeşitli nüfus tabanlı tarama programları yürütülmektedir. Ancak, over kanseri taramasının karmaşıklığı göz önünde bulundurulmalıdır. Trans vajinal ultrason ve CA-125 kan testleri gibi yöntemler yaygın olarak kullanılmasına rağmen, bu yöntemler yanlış pozitif sonuçlar üretebilmektedir. Bu nedenle, etkili ve yaygın over kanseri tarama programları oluşturmak önemli bir meydan okumadır. CA-125'e ek olarak, birçok meta-analiz, insan epididim proteini 4 (HE4)'ün, yumurtalık kanserini belirlemede, özellikle şüpheli vakalarda, CA-125'ten daha etkili bir gösterge olduğunu ortaya koymuştur (Hu vd 2016). Bu iki biyobelirteç birlikte kullanımı, tek başına herhangi birine güvenmekten daha etkili olduğu kanıtlanmıştır. HE4 ve CA-125 seviyeleri arasında korelasyon olmaması, her bir biyobelirteç bağımsız bir şekilde etkili olduğunu göstermektedir. Menopoz durumu, HE4 ve CA-125 konsantrasyonları ile değerlendirilen Malignite Riski Algoritması (ROMA), pelvik kitleler ile başvuran kadınlarda epitelyal over kanseri (EOC) riskini değerlendirmek için Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından onaylanmıştır (Kumar vd 2020).

Epitelyal over kanseri, “sessiz katil” olarak adlandırılır. Bu tanım, hastalığın erken evrelerinde belirgin semptomların olmamasını yansıtır. Bu durum, genellikle ileri evrede (evre III veya IV) geç tanı konulmasına ve olumsuz bir prognoza yol açar. Kabızlık, ishal, bulantı, kusma, karın şişliği veya ağrısı gibi spesifik olmayan semptomlar, OK tanısı konulan kadınların %90'ından fazlasında görülür. Ancak, bu semptomlar yaşlanma, menopoz, kilo alma ve diğer iyi huylu gastrointestinal durumlar nedeniyle de ortaya çıkabilir. Bu nedenle, semptomların çözülmeden devam etmesi veya sıklıkları veya şiddetleri artması durumunda, kapsamlı bir değerlendirme gereklidir (Matulonis vd 2016).

Ulusal Sağlık ve Klinik Mükemmellik Enstitüsü (NICE) tarafından sağlanan rehberlik, kırmızı bayrak semptomlarını gösteren, özellikle 50 yaşın üzerindeki tüm kadınlar için ek muayene önermektedir. Bu semptomlar, özellikle ayda on iki kezden fazla devam ederse endişe yaratmalıdır. Bir kırmızı bayrak belirlendiğinde, hasta over kanseri araştırmasına yönlendirilir ve tedavi seçenekleri bireysel durumuna göre

belirlenir (NICE 2011). Hastada over kanserine işaret eden kırmızı bayrak semptomlarının varlığında, Tablo 2.2'te listelenen rehberlik, başlangıç değerlendirmesinde Kanser Antijeni 125 (CA 125) seviyelerini ölçmek için bir serum testi yapılmasını önermektedir.

**Tablo 2.2.** NICE (2011) tarafından önerilen, daha ileri inceleme gerektiren kırmızı bayrak semptomları.

Kırmızı Bayrak Semptomları	Açıklama
<b>Şişkinlik</b>	Üç haftadan fazla süren, sıklıkla karın şişliği ile görülen kalıcı şişkinlik.
<b>Karın veya Pelvik Ağrı</b>	Karın veya pelvik bölgede devam eden ağrı veya rahatsızlık, basınç veya kramp hissi gibi.
<b>Tuvalet Alışkanlıklarında Değişiklik</b>	İdrar yapma ihtiyacında artış veya sıklığı veya tam boşaltılmama hissi.
<b>Sırt Ağrısı</b>	Tedavi ile iyileşmeyen veya yeni ve kalıcı olan açıklanamayan alt sırt ağrısı.
<b>İştah Değişiklikleri</b>	Kilo kaybına yol açabilecek iştah kaybı veya yemekten hemen sonra doyma hissi.
<b>Adet Değişiklikleri</b>	Düzensiz adet döngüleri, daha ağır kanama veya menopoz sonrası kadınlarda aralıklı kanama.
<b>Cinsel İlişki Sırasında Ağrı</b>	Cinsel aktivite sırasında rahatsızlık veya ağrı, altta yatan sorunların bir işareti olabilir.
<b>Açıklanamayan Yorgunluk</b>	Dinlenmeyle geçmeyen ve diğer semptomlarla birlikte olabilen kalıcı yorgunluk.

Tüm başlangıç değerlendirmelerinden sonra malignite şüphesi devam ederse, hasta tedaviye devam etmelidir. Radyolojik preoperatif evreleme, BT taraması kullanılarak gerçekleştirilir, ancak histolojik tanı zorunlu değildir ve genellikle ilk cerrahi müdahale öncesinde elde edilemez. Sonuç olarak, evreleme genellikle cerrahi tedavi uygulandıktan sonra tam olarak tamamlanır.

Karsinoembriyonik antijen (CEA), insan epididim proteini 4 (HE4), CDX2, kanser antijeni 19-9 (CA 19-9), alfa-fetoprotein (AFP), laktat dehidrogenaz (LDH), kanser antijeni 72-4 (CA72-4) ve beta-insan kronik gonadotropin (B-HCG) gibi ek tümör belirteçleri, over kanserinin başlangıç değerlendirmesinde potansiyel biyobelirteçler

olarak önerilmiş ve çeşitli potansiyel göstermişlerdir. Ancak, mevcut kanıtlar, bu belirteçlerin rutin kullanımını desteklememektedir (Urban vd 2016).

## **2.4. Over Kanserinin Tedavisi**

Epitelyal yumurtalık kanseri için tedavi yaklaşımı, günümüzde cerrahi müdahale, platin bazlı ve taksan kemoterapisi ile hedefli tedavileri içeren multidisipliner bir strateji olarak belirlenmiştir. Uygulanılan spesifik tedaviler, kanserin başlangıç evresine göre değişiklik göstermektedir (Hawarden vd 2023).

### **2.4.1. Cerrahi müdahale**

Cerrahi debulking'in ana amaçları arasında tümör kitlesinin maksimum ölçüde çıkarılması, biyopsi amacıyla gerekli doku örneklerinin elde edilmesi ve malignitenin kesin evrelemesinin gerçekleştirilmesi yer almaktadır. Optimal tümör rezeksiyonu, rezidüel tümör boyutunun 1 cm<sup>3</sup>'ün altında kaldığı durumlarda en yüksek başarıyı göstermektedir (Kobal vd 2018). Birincil debulking cerrahisi (PDS) olarak adlandırılan bu işlem, kanser tedavisinde zorunlu bir basamak olmakla birlikte, tedavi başarısı etkin bir adjuvan tedavi ile önemli ölçüde artırılabilen ve bu da progresyonsuz sağkalım süresinin uzatılması ve kanserle ilişkili mortalitenin azaltılmasına katkıda bulunmaktadır. (Bowtell vd 2015). Neoadjuvan kemoterapi (NACT), ameliyat öncesinde tümör boyutunu küçültmek amacıyla ileri evre over kanseri olan hastalarda yaygın olarak kullanılan bir tedavi stratejisidir. Bu yaklaşımda, başlangıçta platin bazlı kemoterapi, taksan ile veya taksanız olarak üç döngü halinde uygulanır. Ardından, hastaya sitoredüktif cerrahi uygulanır ve bu cerrahi işlem, üç kemoterapi döngüsünün tamamlanmasının ardından gerçekleştirilirse, aralık debulking cerrahisi (IDS) olarak adlandırılır. Cerrahiden sonra hasta, üç ek kemoterapi döngüsünü, bakım tedavileri ile veya olmadan tamamlar. (Kehoe vd 2015, Thomas vd 2022).

## 2.4.2. Kemoterapi

Tarihsel süreçte kemoterapi, yumurtalık kanseri tedavisinde tamamlayıcı bir ilaç olarak kullanılmıştır. Son yirmi yıl içinde, over kanseri tedavisinde ilk basamak kemoterapi rejimi kabul edilmiştir. Bu standart tedavi, platin bazlı ilaç olan karboplatin ile taksan grubu ajanı paklitakselin kombinasyonunu içermektedir. Karboplatin ve paklitaksel genellikle belirli bir protokol dahilinde intravenöz olarak uygulanır. Bu ilaç kombinasyonu, over kanserine yönelik standart birinci basamak tedavi olarak kabul edilmekte, kanser hücrelerini farklı mekanizmalarla hedef alarak tedavinin etkinliğini artırmakta ve ilaç direncinin gelişimini minimize etmeyi amaçlamaktadır (Gill vd 2017).

### 2.4.2.1. Platin ilaçları

Platin bileşenlerinin over kanseri tedavisindeki tarihi, kanser tedavisinin gelişiminde önemli bir dönüm noktasını temsil eder. Bu süreç, 1844 yılında Michele Peyrone'nin sisplatin sentezlemesiyle başlamış, ancak 1965'te Michigan Eyalet Üniversitesi'nden Barnett Rosenberg'in sisplatinin hücre bölünmesini inhibe ettiğini keşfetmesiyle ivme kazanmıştır. 1978'de sisplatin, testis kanseri tedavisi için ABD Gıda ve İlaç Dairesi'nden (FDA) onay almış ve kısa süre içinde diğer kanser türlerinde, özellikle over kanserinde de etkili olduğu anlaşılmıştır. Ancak sisplatin, böbrek toksisitesi ve sinir hasarı gibi ciddi yan etkilerle ilişkili olmuştur. Bu yan etkiler, araştırmacıları alternatifler aramaya yönlendirmiş ve 1980'lerde karboplatin adlı başka bir platin bazlı bileşen geliştirilmiştir. Karboplatin, sisplatinin terapötik etkinliğini korurken daha iyi bir yan etki profili sunmuş ve over kanseri tedavi protokollerine değerli bir katkı sağlamıştır (ASCO 2024).

Karboplatin, sisplatin'e benzer platin bazlı bir kemoterapi ilacıdır ve over kanseri dahil birçok kanser türünün tedavisinde kullanılmaktadır. Karboplatin, geçen bidentat dicarboksilat ligandı içermektedir. Platin atomundaki diğer bağlanma yerleri, amonyak ligantlarından (NH<sub>3</sub>) gelen azot atomları ile doldurulmuştur. Bu değişiklikler, karboplatin kimyasal yapısına bağlı olarak hücresel bileşenlerle, DNA ile ve DNA onarım mekanizmalarıyla etkileşimlerini değiştirmektedir (Shu vd 2016). Ayrıca, bu yapısal

farklılıklar, karboplatin kanser hücreleri üzerindeki etki spektrumu ve etki mekanizmalarında da belirli farklılıklara yol açmaktadır.

#### **2.4.2.2. Paklitaksel**

Paklitaksel, 1992 yılında over kanseri için kemoterapötik bir ajan olarak FDA onayı almaktadır. Paklitakselin etki mekanizması oldukça benzersizdir; mikrotübülleri hedef alarak onların stabilizasyonunu sağlar. Mikrotübüller normalde sürekli olarak büyüme ve küçülme arasında geçiş yapar, bu dinamik süreç "dinamik instabilite" olarak adlandırılır. Hücre bölünmesi sırasında bu dinamik instabilite, kromozomları iki yeni hücreye ayıran mitotik iğ oluşumunu tetikler. Çoğu kemoterapi ilacı hücresel süreçleri bozarken, Taxol, mikrotübüllerin beta-tübulin alt birimlerine bağlanarak onların parçalanmasını engeller ve onları stabil, polimerize bir durumda tutar. Bu, mikrotübül montajı ve parçalanması sürecine müdahale eder, bu da kromozomların stabil mikrotübüller nedeniyle düzgün bir şekilde ayrılamadığı ve mitozun uzamış metafazına yol açtığı bir durum yaratır. Sonuç olarak, hücre döngüsü durur ve hücrenin bölünmesi engellenir. 2000'lerin başında yapılan klinik denemeler, paklitakselin platin bazlı kemoterapi ile kombinasyon halinde kullanıldığında nüks eden over kanseri olan kadınlarda daha iyi sonuçlar verdiğini göstermiştir (Parmar vd 2003). O zamandan beri, over kanseri tedavi protokollerinde platin bazlı kemoterapinin paklitaksel ile kombinasyonu standart hale gelmiştir.

#### **2.4.2.3. PARP inhibitörleri**

Son dönemde, over kanseri tedavisinde kaydedilen önemli ilerlemeler ve yeni terapötik yaklaşımlar, özellikle PARP inhibitörlerine yönelik artan ilgi ile dikkat çekmektedir. PARP inhibitörleri, DNA hasarını onarma mekanizmalarını hedef alarak over kanseri tedavisinde etkili olan ilaçlardır. 2018 yılında, FDA, ilk poli (ADP-riboz) polimeraz inhibitörü (PARPi) olan Olaparib'i over kanseri için koruyucu tedavi olarak onaylamıştır. Bunu takiben, 2020 yılında başka bir PARPi olan Niraparib de FDA onayı almıştır. Aynı yıl, vasküler endotelial büyüme faktörü inhibitörü (VEGFi) olan

bevacizumab da over kanseri için ek bir koruyucu tedavi olarak FDA tarafından onaylanmıştır (Ortiz vd 2022).

## 2.5. Over kanserinde İlaç Direnci

Kemoterapi direnci, kanser hücrelerinin kemoterapinin sitotoksik etkilerine karşı hayatta kalma yeteneği olarak tanımlanır. EOC klinik yönetiminde, kemoterapi direnci genellikle platin direnci kapsamında değerlendirilir, çünkü platin bazlı ajanlar, bu hastalığın tedavisinde en etkili bilinen ilaçlar olarak değerlendirmektedir. Platin direnci, başlangıç tedavisinin tamamlanmasından sonraki 6 ay içinde hastalığın tekrar etmesi durumu olarak tanımlanır. Buna karşın, platin duyarlı nüks eden EOC, ilk tedavinin tamamlanmasından 6 ay veya daha uzun bir süre sonra hastalığın yeniden ortaya çıkması olarak tanımlanır (Horowitz vd 2020). EOC'de kemoterapi direncinin klinik olarak sınıflandırılmasında, kanser hücrelerinde veya tümör mikroçevresinde meydana gelebilecek temel moleküler değişiklikler genellikle dikkate alınmaz. Ancak bu klinik tanım, prognostik bir araç olarak uygulamada hâlâ önemli bir rol oynamaktadır. Platin direncinin belirlenmesi, hastanın platin bazlı tedavilere gelecekteki yanıtını tahmin etmeye yönelik bir araçtır. Eğer bir hasta platin dirençli olarak sınıflandırılırsa, bu durum, hastanın başka bir platin içeren kemoterapi rejiminden fayda görme olasılığının düşük olduğunu işaret eder.

Kemoterapi direnci, laboratuvar ortamında kültürlenmiş kanser hücreleri incelendiğinde farklı bir perspektif kazanır. İn vitro kemoterapi direnci, kemoterapi ajanlarının sitotoksik etkilerine ve direnç mekanizmalarına karşı kanser hücrelerinin tepkisini değerlendirmek amacıyla kullanılan bir yöntemdir (Banerjee vd1995). Kanserde ilaç direnci genel olarak iki ana kategoriye ayrılır: içsel (doğal) direnç ve dışsal (kazanılmış) direnç.

### 2.5.1. Kazanılmış ilaç direnç

Dışsal veya kazanılmış ilaç direnci, kanser hücreleri dışındaki faktörlerden kaynaklanır ve genellikle tümör ile çevresindeki mikroçevre arasındaki etkileşimlerden etkilenir. Tümör mikroçevresi, kanser hücrelerinin büyümesini destekleyen hücreler, proteinler ve kan damarlarından oluşan karmaşık bir yapıdadır. Örneğin, tümöre giden kan akışının azalması, ilaçların kanser hücrelerine ulaşmasını engelleyebilir. Ayrıca, tümör mikroçevresinde bulunan bağışıklık hücrelerinin varlığı, kanser hücrelerini ilaçlardan koruyan mekanizmaları tetikleyebilir, bu da tedaviye verilen yanıtın azalmasına yol açabilir (Pavlopoulou vd 2018). Dışsal ilaç direnci gösteren hastalar, başlangıçta kemoterapiye olumlu yanıt verseler de zamanla gelişen bu direnç mekanizmaları nedeniyle tedaviye yanıtları zayıflar. Bu durum, tümör mikroçevresi, ilaç dağıtımı ve kanser hücrelerinin değişen biyolojisi arasındaki karmaşık etkileşimi vurgulamakta ve tedavi etkinliğini olumsuz yönde etkilemektedir.

### 2.5.2. Doğal ilaç direnç

Doğal veya içsel ilaç direnci, kemoterapi uygulanmamış hastalarda, kanser hücrelerinin sahip olduğu özgün direnç biçimi olarak tanımlanır. Bu, kanser hücrelerinin belirli yapısal veya genetik özelliklerinin, onları kemoterapi ilaçlarına karşı doğal olarak daha az duyarlı hale getirdiği anlamına gelir. Over kanserinde, içsel ilaç direnci, genetik mutasyonlar veya değişiklikler sonucunda ortaya çıkarak ilaçların neden olduğu hasarı onarma yeteneğini artırabilir ve böylece ilaçların toksik etkilerini nötralize edebilir. Sonuç olarak, içsel kemoterapi direncine sahip hastalar, standart kemoterapi rejimlerine daha düşük yanıt verebilir ve bu durum, bu içsel dirençlerin üstesinden gelmek için alternatif tedavi stratejilerinin araştırılmasını gerektirir. Kemoterapi direncinin temel mekanizmalarından biri, ilacın DNA'ya erişimini engellemekle ilişkilidir ve bu süreç, çıkış taşıyıcıları tarafından desteklenir. Ayrıca, DNA lezyonları oluştuğunda, kemoterapi ajanlarının neden olduğu hasarı onarmak için hücresel DNA onarım yolları aktif olmaktadır (Zhang vd 2016) (Şekil 2.1).

### 2.5.2.1. Giriş ve çıkış taşıyıcıları nedeniyle direnç

Kemoterapi direncinin en kritik ve yaygın olarak bilinen mekanizmalarından biri, ilaç çıkış taşıyıcılarının artan ekspresyonudur. Bu mekanizmalar genellikle "pompa" mekanizmaları olarak adlandırılır. Bu taşıyıcılar, ATP bağlanma kasetleri (ABC) süper ailesine ait olan ve Çoklu İlaç Direnci 1 (MDR1) geni tarafından kodlanan P-glikoprotein (P-gp) gibi proteinleri içerir. P-glikoprotein (P-gp), çoklu ilaç direnci sergileyen kanser hücrelerinin de plazma membranında bulunur.



Şekil 2.1. Kanserde İlaç Direnci Mekanizmaları

Bu transmembran taşıyıcı proteini, çeşitli sitotoksik ilaçların, platin ajanlar da dahil olmak üzere, hücre içi konsantrasyonlarını düşürerek toksik etkilerini azalttığı kanıtlanmıştır (Sriramant vd 2016). İlaç çıkışı kavramında, farklı sinyal yollarının aktiviteleri de ilaç direncinde önemli bir rol oynayabilir. Örneğin, Hedgehog sinyal yolunun, over kanserinde P-glikoprotein ve BCRP (süt kanseri direnci proteini, ilaç direnci ile ilişkili bir diğer ABC taşıyıcı protein) üzerindeki etkisi bu duruma örnek teşkil eder. ABC (adenozin trifosfat bağlanma kaseti) taşıyıcı protein ailesinin bir parçası olan MRP ile ilişkili taşıma proteinleri de platin ilaçlarının hücre dışına aktif olarak atılmasında rol oynar (Gonzalo vd 2013). Taşıyıcı proteinler, hücre zarında adeta kapı



bekçileri gibi davranarak, moleküllerin hücreye giriş ve çıkışını düzenler. Bazı taşıyıcı proteinler, belirli kemoterapi ilaçlarını tanıyarak, bu ilaçları hücre içinde zararlı etkilerini göstermeden önce dışarı taşır. Bu süreç, hücre içindeki ilaç konsantrasyonunu etkili bir şekilde azaltarak tedavinin etkinliğini düşürmektedir.

### **2.5.2.2. DNA hasarını onarma nedeniyle ilaç direnci**

Kemoterapi direncinin temel nedenlerinden biri, DNA hasar onarım (DDR) yollarının anormal çalışmasıdır. Bu yollar, DNA'da oluşan lezyonları onararak genetik Bütünlüğün korunmasını sağlar. Ancak, tümör mikroçevresinde ortaya çıkan çelişkili bir durum vardır. DDR aktivitelerinin artması veya anormal bir şekilde işlemesi, genetik olarak dengesiz hücrelerin hayatta kalmasını kolaylaştırarak tümör gelişimini destekleyebilir. Aynı zamanda, kemoterapi ile indüklenen DNA hasarının etkili bir şekilde onarılması, tümör hücrelerinin ölümden kaçmasına olanak tanır. Ayrıca, yetersiz veya hatalı onarım süreçleri, belirli kemoterapötik ajanlara karşı direnç sağlayan mutasyonların oluşumuna neden olabilmektedir (Eslami vd 2024).

### **2.5.2.3. Apoptoz baskılanması nedeniyle direnç**

Kanser hücreleri, apoptoz yollarını bozan mekanizmalar geliştirerek kemoterapiye karşı direnç kazanabilir ve böylece hücre ölümünden kaçınabilirler. Apoptozun baskılanması, kemoterapi direncinde önemli bir rol oynar ve bu süreçte anti-apoptotik proteinlerin artan ekspresyonu kilit bir mekanizma olarak öne çıkar. Kanser hücreleri genellikle Bcl-2, Bcl-xL ve apoptoz inhibitörü (IAP) ailesinin üyeleri (örneğin XIAP, cIAP1/2) gibi anti-apoptotik proteinleri aşırı miktarda üretir. Bu proteinler, pro-apoptotik proteinlerle etkileşime girerek onların işlevini engeller, kaspaz aktivasyonunu durdurarak apoptozu önler. Over kanseri hastalarında, tanı anında tümörlerinde yüksek seviyelerde BCL-xL (B hücreli lenfoma-ekstra büyük) anti-apoptotik protein bulunmaktadır. Bu proteini düşük seviyelerde ifade eden hastalara kıyasla daha kısa hastaliksız sağkalım sürelerine sahiptir (Williams vd 2005). Ayrıca, nüks eden tümörlerin büyük çoğunluğunun (%88) artmış BCL-xL seviyelerine sahip olduğu gözlemlenmiş ve

bu durum, kemoterapiye yanıt olarak gelişen yukarı regülasyonu, yani edinilmiş ilaç direncini düşündürmektedir. BCL-xL gibi anti-apoptotik proteinlerin artışı ya da Bax ve Bak gibi pro-apoptotik proteinlerin azalması, over kanserinde paklitaksel direncine katkıda bulunabilir (Norouzi vd 2018). BCL-xL'in yüksek ekspresyonu, over kanseri hücre hattında paklitaksel tedavisine verilen yanıtı kontrol hücrelerine kıyasla azaltmıştır. Benzer şekilde, tümörlerinde BCL-xL ekspresyonu olan over kanseri hastaları, BCL-xL ekspresyonu olmayanlara göre daha kısa hastaliksız sağkalım sürelerine sahiptir. Diğer bir anti-apoptotik protein olan SURVIVIN de over kanserinde paklitaksel direnci ile ilişkilendirilmiştir (Zaffaroni vd 2002). SURVIVIN ekspresyonu, sisplatin duyarlılığı etkilemezken, paklitaksel duyarlılığını önemli ölçüde azaltmıştır. İlaç duyarlılığı profillemeye çalışmaları, SURVIVIN'i yüksek seviyelerde ifade eden over kanseri hücre hatlarının, kontrol hücrelerine kıyasla azalmış paklitaksel duyarlılığı gösterdiğini ortaya koymuştur (Ferrandina vd 2005).

#### **2.5.2.4. İlaç nötralizasyonu nedeniyle ilaç direnci**

Bazı terapötik ajanlar, doğrudan farmakolojik aktiviteye sahip olmayan pro-ilaçlar şeklinde uygulanır (Pottel vd 2020). Bu pro-ilaçlar, hücre sitoplazmasındaki diğer bileşenlerle etkileşime girerek yapısal değişikliklere uğrar ve aktif hale gelir. Bu kategorinin bir örneği, hücre içinde hidroliz yoluyla aktive olan platin ilaçlardır (Tapia vd 2013). İlaç dirençli kanserlerde, ilaç metabolize eden enzimlerin aşırı ekspresyonu, kemoterapi tedavisinde önemli bir zorluk teşkil etmektedir. Bu enzimler, kemoterapi ilaçlarını detoksifiye ederek, aktif formlarının hücre içi konsantrasyonunu düşürür ve bu da kemoterapi direncine yol açar (Norouzi vd 2018). Dirençle ilişkili ilaç metabolize eden enzimlerden biri olarak CYP3A4 enzimi örnek verilebilir. Bu enzim karaciğer ve bağırsaklarda bulunur ve siklofosfamid benzer birçok kemoterapi ilacını metabolize edebilir. Bazı kanser türlerinde, CYP3A4'ün aşırı ekspresyonu, siklofosfamid sitotoksik etkilerini göstermeden önce hızla parçalanmasına neden olur. Bu durum, aktif formun hücre içi konsantrasyonunu azaltarak tedavinin etkisini zayıflatır (Keshavari vd 2008).

### 2.5.2.5. Hedef moleküldeki değişiklik nedeniyle ilaç direnci

Herhangi bir terapötik ilacın başarısı, hücre içindeki belirli bir molekülle etkileşime girme yeteneğine bağlıdır. Ancak, ilaç hedefindeki mutasyonlar veya yapısal değişiklikler, ilacın etkinliğini ciddi şekilde azaltabilir ve sonuç olarak ilaç direncine yol açabilir (Housman vd 2014). Bu durum, akciğer kanserinin tedavisinde sıkça hedeflenen Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü (EGFR) örneği ile iyi bir şekilde gösterilmektedir. Erlotinib gibi ilaçlar, EGFR üzerindeki belirli bir bölgeye bağlanarak bu reseptörün aktivasyonunu engeller ve böylece kanser hücrelerinin hayatta kalması için gerekli olan büyüme sinyallerini bloke eder (Sharma vd 2007). Ancak, EGFR geninde ortaya çıkan mutasyonlar, protein konfigürasyonunu değiştirerek Erlotinib'in bağlanma kapasitesini zayıflatabilir. Sonuç olarak, bu ilaç artık etkili bir şekilde bağlanamaz ve EGFR'yi inhibe etme yeteneğini kaybeder, bu da ilaç direncinin gelişmesine yol açar. Başlangıçta Erlotinib'e olumlu yanıt veren hastalar, kanser hücreleri bu mutasyonları geliştirdikçe tedaviye direnç geliştirerek hastalığın nüks etmesine neden olabilir. Bu durumda, tedavi stratejisinde değişiklik yapılması gerekebilir, çünkü Erlotinib'in etkinliği azalır (Holohan vd 2010). EGFR mutasyonları, izole bir örnek değildir; benzer durumlar, farklı kanser türlerinde çeşitli ilaçlar ve hedefleri ile de görülebilir. Kanser tedavisinin etkinliği, kanser hücrelerinin genetik değişiklikler yapma yeteneğinden, özellikle de ilaç hedefi olan genlerin amplifikasyonundan büyük ölçüde etkilenir. Bu durum, hücre zarındaki hedef reseptörlerin fazlalığına neden olur (Gottesman vd 2023). Bu fenomene bir örnek, paklitaksel direncinin gelişiminde görülür. Paklitaksel, EOC gibi çeşitli kanser türlerinin tedavisinde önemli bir bileşendir ve hücre bölünmesi için gerekli olan mikrotübüllerin oluşumunu sağlayan tübülünü bağlayarak etkisini gösterir. Mikrotübül montajını bozarak, paklitaksel hücre ölümünü tetikler. Ancak, birçok kanser hücresi, tübülünü kodlayan gen sayısını artırarak direnç geliştirebilir ve bu da tübül moleküllerinin aşırı üretimine yol açar. Bağlanmamış tübül, mikrotübül oluşumuna katkıda bulunarak, kanser hücresinin paklitakselin etkisinden kaçınmasına ve çoğalmasını sürdürmesine olanak sağlamaktadır (Cui vd 2020).

### 2.5.2.6. İlaç direnci ve kanser kök hücreleri

Kanser kök hücreleri (CSCs), kök hücre benzeri özellikler taşıyan bir kanser hücresi alt grubudur. Bu hücreler, kendilerini yenileyebilir, farklı olgun kanser hücrelerine dönüşebilir ve tedavi süreçlerinde ilaç direncinin gelişimine önemli ölçüde katkı sağlayabilirler. CSC'ler, hücre döngülerini durdurarak uyku durumuna geçebilirler. Bu durum, hızlı bölünen hücreleri hedef alan ilaçlara karşı daha az hassas olmalarına neden olur ve kemoterapiye direnç göstererek tedavi sonrasında tümörü yeniden oluşturmalarına imkân tanır (Zhou 2021). Araştırmalar, kemoterapinin, başlangıçta CSC olmayan hücrelerin CSC'lere dönüşümünü tetikleyebileceğini öne sürmektedir. Bu dönüşümün arkasındaki mekanizmalar tam olarak anlaşılamamış olsa da epitel-mezenkimal geçişin (EMT) bu sürecin temel nedenlerinden biri olabileceği düşünülmektedir (Zahra vd 2023). Ayrıca, CSC'ler, hayatta kalmalarını ve ilaç direncini destekleyen bir mikroçevre oluşturma yeteneğine sahiptirler. Bu mikroçevre, DNA onarımını artıran, kök hücre özelliklerini teşvik eden ve hücre ölüm yollarını baskılayan çeşitli sinyal moleküllerini içerebilir (Jin ve Jeong 2023). Kanser kök hücreleri (CSC'ler), kemoterapi ilaçlarını hücre dışına atan ABC taşıyıcıları gibi ilaç çıkış pompalarının artmış ekspresyonunu sergiler. Ayrıca, bu hücreler, sitotoksik tedavilere karşı hayatta kalmalarını sağlayan gelişmiş DNA hasar onarım mekanizmaları ve anti-apoptotik yollar taşır (Zhou 2021). Tedavi öncesinde bir tümörde CSC 'lerin varlığı, bu hücrelerin ilaçlara karşı doğal bir direnç yeteneğine sahip olduğunu gösterir. Ancak, son araştırmalar, kanser hücrelerinin CSC benzeri özellikler kazanarak ilaç direnci geliştirebileceğini ortaya koymuştur. Bu durum, önceden var olan bir direnç mekanizmasından ziyade "indüklenmiş" veya "edinilmiş" bir direnç mekanizması olarak değerlendirilmektedir.

Kanser kök hücreleri ile kemoterapötik ajan karboplatin arasındaki karmaşık ilişkiyi gösteren önemli kanıtlar bulunmaktadır, özellikle SOX2 transkripsiyon faktörü üzerinde yapılan çalışmalar bu ilişkiyi vurgulamaktadır. Bååth ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, OVCAR3 ve COV362 gibi over kanseri hücre hatlarında karboplatin tedavisinin hem SOX2 mRNA hem de protein seviyelerinde doz ve zamana bağlı bir azalmaya yol açtığı tespit edilmiştir (Baath vd 2020). Bununla birlikte, CSC belirteçleri olan SOX2, OCT4 ve NANOG 'un karboplatin tedavisinden sonra over kanseri hücrelerinde anlamlı derecede daha yüksek olduğu bulunmuştur. Ayrıca, over kanseri hasta örneklerinin analizi, nüks eden vakalarda SOX2 ekspresyonunun, hastalıksız

vakalara kıyasla anlamlı derecede daha yüksek olduğunu göstermiştir (Robinson vd 2021). Bu bulgu, SOX2'nin kemoterapiye dirençli, tümör başlatıcı hücrelerin bir belirteci olabileceğini ve hastalığın nüksünü tetikleyebileceğini göstermektedir. Buna ek olarak, pluripotenslik faktörleri SOX2 ve OCT4, over kanseri kök hücrelerinde epitel-mezenkimal geçişin (EMT) ana indükleyicileridir. SOX2 ve OCT4, EMT'yi teşvik ederek, yumurtalık tümörlerinin kök hücre özelliklerini, kemoterapi direncini ve metastatik potansiyelini artırır (Xie vd 2022). Eğer hem kök hücre benzeri özellikler hem de EMT geçici durumlar ise, EMT'yi hedef almak, kanser hücrelerinin ilaç direncini kazanmasını veya tedavi sonrasında dirençli duruma geri dönmesini önlemek için etkili bir strateji olabilir.

### **2.5.2.7. İlaç direnci ve epitel-mezenkimal geçiş (EMT)**

Epitel-mezenkimal geçiş (EMT), hem normal gelişim süreçlerinde hem de kanser ilerlemesinde kritik bir rol oynayan dinamik bir hücresel süreçtir (Dongre ve ark 2018). EMT, epitel hücrelerinin hücre-hücre yapışkanlıklarını kaybedip artan hareketlilik, invazyon ve apoptoza direnç gibi mezenkimal özellikler kazandığı bir süreçtir ve over kanserinde kemoterapi direncinin gelişiminde önemli bir rol oynar. EMT'nin kemoterapi direncine katkısı, kolon, akciğer, pankreas ve meme kanserleri gibi birçok kanser türünde gözlemlenmiştir (Ashrafizadeh vd 2020). Ajanı sisplatine karşı direnç ile ilişkili genlerin artmış ekspresyonu ile bağlantılı olduğu belirlenmiştir (Han vd 2022). Ayrıca, Li ve EMT ile ilaç kemoterapi direnci arasındaki ilişki, over kanserinde karmaşık ve çok yönlü bir ilişkidir. EMT' nin kemoterapi direncine katkıda bulunduğu temel mekanizmalardan biri, kanser kök hücreleri (CSC) özelliklerinin indüklenmesidir. Daha önce belirtildiği gibi, EMT, over kanseri hücrelerine SOX2, OCT4 ve NANOG gibi kök hücre belirteçlerinin artmış ekspresyonu da dahil olmak üzere kök hücre benzeri özellikler kazandırır (Robinson vd 2021, Xie vd 2022). Bu CSC'ler, durgun durumları, geliştirilmiş DNA onarım mekanizmaları ve ilaç çıkış pompalarının yukarı regülasyonu nedeniyle doğal olarak kemoterapötik ajanlara daha dirençlidir. Örneğin, transkripsiyon faktörü NANOG, EMT'yi ve ilaç direncini teşvik etmek için STAT3 yolunu kullanır ve bu da kemoterapi direncine sahip over kanseri hücre hatlarında artmış ekspresyonuna yol açar. Karboplatin ve sisplatin ilaçlar, over kanseri tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır ve birden

fazla sinyal yoluyla EMT'yi indükleyebilir. Bu EMT aracılı kemoterapi direnci, E-kadherin benzer epitel belirteçlerinin kaybı ve vimentin gibi mezankimal belirteçlerin yukarı regülasyonu ile karakterize edilir. Çalışmalar, SNAIL ve SLUG seviyelerinin paklitaksel dirençli over kanseri hücrelerinde aşırı ifade edildiğini ve paklitakselin indüklediği apoptoza karşı direncin, p53 aracılı apoptoz yolunun çeşitli proteinlerinin inhibisyonu yoluyla ortaya çıktığını göstermiştir (Kurrey vd 2009). Bu nedenle, Snail'i düzenleyerek, DYRK2, sisplatin direncinin aracılığında önemli bir rol oynamaktadır (Yamaguchi vd 2017).

#### **2.5.2.8. Epitelyal over tümörü mikroçevre sinyallerine bağlı ilaç direnci**

Epitelyal over kanserinde tümör heterojenitesi: EOC, yumurtalığın epitelyal, stromal veya germ hücresi dokularından kaynaklanabilen oldukça heterojen bir hastalıktır. EOC'nin bu moleküler heterojenitesi, tedavi sürecinde zorlukları beraberinde getirmektedir. Bu heterojenite, farklı histolojik alt tiplerin varlığı, bireysel tümörlerin çeşitli hücre popülasyonlarına sahip olması ve hatta tümör mikroçevresindeki hücre popülasyonları arasında moleküler profil farklılıkları şeklinde kendini göstermektedir. Ayrıca, kemoterapi veya diğer tedavi müdahaleleri, tümörün çeşitli düzeylerde evrimini teşvik ederek bu heterojeniteyi daha da artırabilir. Belirgin bir genetik anomaliyi doğrudan hedefleme olanağı bulunmadığında, EOC tedavisinde geleneksel yöntem, genellikle hızlı bölünen hücreleri spesifik olmayan bir şekilde hedef almaya dayanmaktadır.

Epitelyal over kanserinde tümör mikroçevresi: Mevcut verilere göre, tümör mikro- çevresindeki neoplastik olmayan hücreler, tümör oluşumu, metastaz ve kemoterapi direnci gibi süreçlerde önemli bir rol oynar. Bu etkiler, hücreler arası doğrudan iletişim veya egzozumlar benzer çözünür moleküllerin salınımı yoluyla gerçekleşen sinyal etkileşimleri aracılığıyla gerçekleşir. Diğer solid tümörlerin aksine EOC'ü genellikle ileri evre hastalarda sıkça bulunan asit sıvısı gibi katı olmayan bir bileşen içerir (Horowitz vd 2020).

Tümör mikroçevresinde yer alan kanser ilişkili fibroblastlar (CAF'lar), kemoterapi direncini teşvik etmede özellikle dikkat çeker. Bu fibroblastlar, glutatyon (GSH) aracılığıyla EOC hücrelerine redoks desteği sağlar. Artan GSH seviyeleri, sisplatin

kaynaklı DNA hasarını ve sitotoksitesini EOC hücrelerinde etkili bir şekilde azaltır ve bu da hücre çekirdeğindeki sisplatin konsantrasyonunu düşürür. Ayrıca, T hücresi kaynaklı interferon-gama (IFN $\gamma$ ), GSH metabolizmasında rol oynayan genlerin ekspresyonunu etkileyerek CAF aracılı kemoterapi direncini tersine çevirebilir. Özellikle, IFN $\gamma$ , GSH parçalayan enzim GGT5'in ekspresyonunu artırır, bu da bir GSH taşıyıcı bileşenin ekspresyonunu düşürerek hücre içi GSH seviyelerinin azalmasına ve EOC hücrelerinde sisplatine duyarlılığın geri kazanılmasına yol açar. İnsan EOC tümörlerindeki fibroblast belirteçlerinin yüksek ekspresyonu, daha kötü bir genel sağkalımla ilişkilendirilirken, CD8+ T hücrelerinin yüksek ekspresyonu ise daha iyi bir sağkalımla ilişkilidir (Wang vd 2016).

Hipoksik tümör mikroçevresi de EOC tümörleri için elverişli koşulları sağlar. Mikroçevredeki oksijen yetersizliği, ilaç direnci ile ilişkili genlerin, örneğin ilaç çıkış pompaları ve DNA onarım enzimlerinin ekspresyonunu artırabilir ve ayrıca hipoksi ile indüklenen faktör-1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ) gibi kemoterapi direncini teşvik edebilen kritik transkripsiyon faktörlerini de aktive edebilir (Battistini vd 2024).

### **2.5.2.9. Epigenetik değişiklikler nedeniyle ilaç direnci**

Genetik mutasyonların bilinen etkilerinin ötesinde, son yıllarda epigenetik değişikliklerin ilaç direncindeki kritik rolü daha fazla ön plana çıkmıştır. Bu değişiklikler, DNA dizisini değiştirmeden kalıtsal gen ekspresyonunda değişikliklere yol açar ve hücrel davranışı yönlendirerek direnç gelişimini destekleyen gizli bir düzenleyici olarak işlev görür.

DNA metilasyonu; DNA moleküllerine metil gruplarının eklenmesi, genellikle gen ekspresyonunu baskılar. Buna karşılık, DNA'yı saran histon proteinlerinde meydana gelen kimyasal değişiklikler, yani histon modifikasyonları, kromatin yapısını ve dolayısıyla genlerin erişilebilirliğini etkileyebilir. Kanser hücreleri, bu modifikasyonları manipüle ederek normal gen ekspresyon desenlerini bozabilir ve çeşitli mekanizmalar yoluyla direnci artırabilir. DNA metilasyonu, histon modifikasyonları ve kodlamayan RNA'lar gibi epigenetik değişiklikler kullanılarak kanser hücreleri tedaviye karşı direnç geliştirebilir. Özellikle DNA metilasyonu, genellikle gen ekspresyonunu baskılayarak ilaç duyarlılığından veya DNA onarımından sorumlu genlerin susturulmasına neden olur.

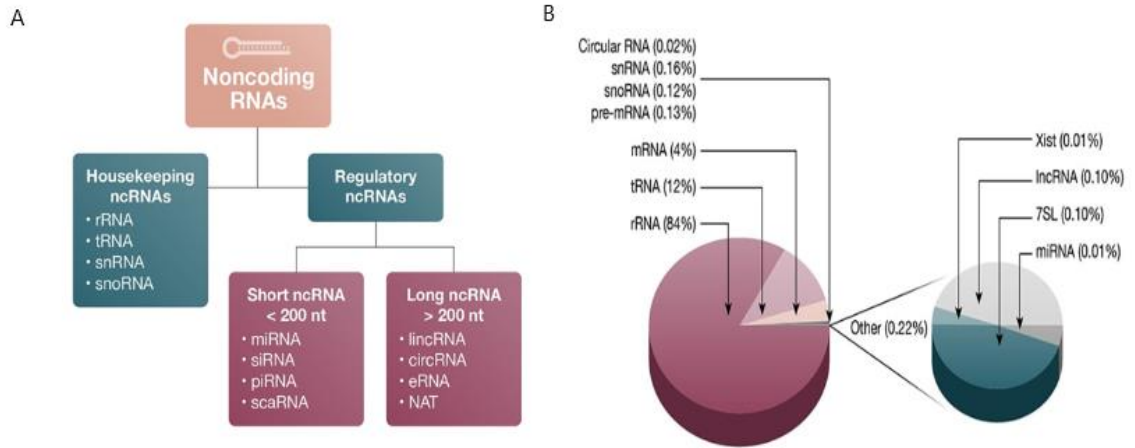
Bu, kanser hücrelerinin tedavilere karşı daha az duyarlı hale gelmesine ve kemoterapinin neden olduğu hasarı onarma yeteneklerinin artmasına yol açabilir. Aslında, tümör baskılayıcı genlerin promotör bölgelerindeki hiper metilasyon gibi anormal DNA metilasyon desenleri, apoptoz, hücre döngüsü düzenlemesi ve ilaç metabolizmasıyla ilgili genlerin ekspresyonunu susturabilir (Wang vd 2023). Örneğin, BRCA1 promotörünün hiper metilasyonu, over kanserinde sisplatin direnci ile ilişkilendirilmiştir (Karami vd 2022).

*Histon modifikasyonları:* Histon proteinleri üzerindeki asetilasyon veya metilasyon gibi kimyasal modifikasyonlar, DNA'nın bu proteinler etrafında ne kadar sıkı sarıldığını belirler. Bu süreç, kromatini açarak veya sıkılaştırarak genlerin erişilebilirliğini düzenler. Kanser hücreleri, histon modifikasyonları aracılığıyla ilaç yanıt yollarında yer alan genleri susturabilir. Histon deasetilazları (HDAC'ler) ve histon metiltransferazlar (HMT 'ler) gibi histon modifiye eden enzimlerin aşırı ekspresyonu, çeşitli kanser türlerinde ilaç direnci ile ilişkilendirilmiştir. Bu epigenetik değişiklikler, ilaç çıkışı, DNA onarımı ve anti-apoptoz mekanizmalarında yer alan genlerin ekspresyonunu artırabilir (Wang vd 2023).

#### **2.5.2.10. Kodlamayan RNA**

Kodlamayan RNA'ların (ncRNA'ları) türleri, genellikle protein kodlamayan çeşitli RNA moleküllerini içerir. MikroRNA (miRNA), gen ekspresyonunu düzenleyen küçük RNA molekülleri olarak bilinir. Uzun kodlamayan RNA (lncRNA), 200 nükleotidden uzun olup, gen ekspresyonunda ve düzenlenmesinde rol oynar. Piwi etkileşimli RNA (piRNA), transpozonları susturarak genomun stabilitesini koruyan küçük RNA'lardır. Ayrıca, small interfering RNA (siRNA), RNA müdahalesi yoluyla hedef RNA'ları parçalayan kısa çift sarmallı RNA molekülleridir (Şekil 2.2). Bu doktora tezinin, lncRNA'ların EOC üzerindeki kemoterapi direncine etkilerine odaklandığı göz önüne alındığında, bu kategori (lncRNA) detaylı ve kapsamlı bir şekilde ele alınacaktır. Diğer ncRNA türleri hakkında daha ayrıntılı bilgi edinilmesi gerekli görülürse, Chen ve arkadaşları (2022) tarafından yürütülen incelemenin gözden geçirilmesi önerilmektedir.





**Şekil 2.2.** A) Kodlamayan RNA Türleri. B) Kodlamayan RNA Bolluk Oranları (Pallazo vd 2015).

### 2.5.2.10.1. Uzun kodlamayan RNA 'ya genel bilgi

Uzun kodlamayan RNA'lar (LncRNA'lar), 200 nükleotidden daha uzun olan ve protein kodlama yeteneği bulunmayan çeşitli RNA moleküllerini tanımlamaktadır. LncRNA'lar, genetik konumlarına göre uzun intergenik ncRNA'lar (lincRNA'lar), antisens lincRNA'lar ve intronik lincRNA'lar gibi sınıflara ayrılabilir (Mattick vd 2023).

Protein kodlayan mRNA'lara kıyasla, lincRNA'lar genellikle daha düşük ekspresyon seviyelerine sahiptir ancak daha yüksek doku ve hücre tipi spesifikliği gösterirler (Beg vd 2022). Bu özellik, lincRNA'ların farklı biyolojik bağlamlarda daha spesifik düzenleyici roller oynayabileceğini düşündürmektedir. LncRNA'lar, kromatin yeniden şekillendirme, transkripsiyonel düzenleme, transkripsiyon sonrası işleme ve sinyal yolları gibi çeşitli hücresel süreçlerde önemli rol oynar. LncRNA'ların düzensizliği, kanser, nörolojik bozukluklar ve kardiyovasküler hastalıklar gibi çeşitli hastalıkların patogenezinde etkili olabilir (Mattick vd 2023). Kanser bağlamında, lincRNA'lar onkogenler veya tümör baskılayıcılar olarak işlev görebilir ve hücre proliferasyonu, apoptoz, metastaz ve ilaç direnci gibi kanserin belirleyici özelliklerini etkileyebilir (Qiu vd 2023).

### 2.5.2.10.2. Uzun kodlamayan RNA'ların sınıflandırılması

Uzun kodlamayan RNA'lar (LncRNA'lar), genomik konumları, etki mekanizmaları ve biyolojik işlevleri gibi temel kriterlere dayanarak sınıflandırılabilir. Genomik konumlarına göre lncRNA'lar, iki protein kodlayan gen arasındaki bölgelerden transkribe edilen intergenik lncRNA'lar (lincRNA'lar), protein kodlayan genlerin intronlarından türetilen intronik lncRNA'lar, genle aynı DNA ipliğinden transkribe edilen ve genle örtüşen anlamlı (sense) lncRNA'lar ve protein kodlayan bir genin zıt DNA ipliğinden kısmen veya tamamen genle örtüşecek şekilde transkribe edilen antisens lncRNA'lar olarak sınıflandırılır. Ayrıca, çift yönlü lncRNA'lar, protein kodlayan genlerin promotör bölgelerinden ters yönde transkribe edilme özellikleriyle bilinir. Bu sınıflandırma, lncRNA'ların komşu genler üzerindeki potansiyel cis-düzenleyici rollerini anlamak açısından önemlidir.

Etki mekanizmalarına göre lncRNA'lar, çeşitli fonksiyonlara sahip olabilir. Sinyal lncRNA'ları, bir promotörün veya güçlendiricinin aktivitesini yansıtan moleküler sinyaller olarak işlev görürken, tuzak lncRNA'ları, transkripsiyon faktörleri, kesme faktörleri veya diğer düzenleyici proteinleri bağlayıp hapsederek, bu moleküllerin normal işlevlerini yerine getirmelerini engeller. Rehber lncRNA'ları, ribonükleoprotein komplekslerini belirli genomik lokuslara yönlendirerek kromatin modifikasyonlarını veya transkripsiyonel düzenlemeyi kolaylaştırır. Ayrıca, iskele lncRNA'ları, işlevsel kompleksler oluşturmak için bir platform görevi görerek çoklu proteinlerin montajını sağlar. Biyolojik işlevleri açısından bakıldığında ise, lncRNA'lar transkripsiyon düzenlemesi, transkripsiyon sonrası düzenleme, epigenetik modifikasyon, hücre farklılaşması ve gelişimi, hücre metabolizma ve sinyal iletimi, DNA hasar yanıtı ve onarım mekanizmaları, strese yanıt gibi süreçlerde önemli roller oynamaktadır. LncRNA'ların bu çok yönlü etkileri, onları birçok biyolojik süreç ve hastalığın kritik bir bileşeni haline getirmektedir (Zhao vd 2020, Mattick vd 2023).

### 2.5.2.10.3. Uzun kodlamayan RNA'lar ve ilaç direnci

Son yıllarda, özellikle 2000'li ve 2020'li yıllarda, lncRNA'ların kanser biyolojisinde ve kemoterapi direncinin gelişiminde önemli bir rol oynadığı giderek daha

fazla anlaşılmıştır. HOTAIR, LINC00958, PVT1, HOXA11-AS, KCNQ1OT1 ve NEAT1 gibi lncRNA'ların, over, baş ve boyun ve nazofarengeal kanserler dahil olmak üzere çeşitli kanserlerde ilaç direncine katkıda bulunduğu mekanizmalar incelenmiştir (Zhu vd 2023). LncRNA'lar, kanserde ilaç direnci sağlamak için çeşitli mekanizmalar kullanır. Kemoterapi direncini modüle etmedeki ana stratejilerden biri apoptozun düzenlenmesidir; burada lncRNA'lar, apoptozu düzenlemede rol oynayan p53, Bcl-2 ailesi proteinleri, AKT ve integrinler gibi yolları etkiler. Örneğin, MALAT1 ve NEAT1 gibi lncRNA'lar apoptozun düzenlenmesinde etkili olmuştur (Liu vd 2020). Bir diğer önemli mekanizma ise ilaç çıkışının modülasyonudur. LncRNA'lar, transkripsiyonel düzenleme ve miRNA bağlama yoluyla ABC taşıyıcıları gibi ilaç çıkış pompalarının ekspresyonunu ve aktivitesini kontrol edebilir. Bu süreçte yer alan spesifik lncRNA'lar arasında CASC9, Linc00518, FTH1P3 ve GAS5 bulunmaktadır (Zhou vd 2022). LncRNA'ların ilaç direnci davranışını artıran önemli özelliklerinden biri otofajiyi indüklemektir; bu, otofajinin tümör baskılayıcı işlevini baskılamak (lncRNA ROR) veya otofajinin tümörojenik rolünü aktive etmek (H19, DDXAA-AS1, ZNF649-AS1, OTUD6B-AS1, HOTAIR) suretiyle ilaç direnci teşvik eder (Bermúdez vd 2019). Hücre metabolizmayı, glukoz, lipid ve mitokondri yollarını modüle ederek kanserlerde tedavi yanıtını düzenlemek, lncRNA'ların ilaç direnci gelişimine katkıda bulunduğu diğer bir mekanizmadır (Zhou vd 2022).

#### **2.5.2.10.4. Epitelyal over kanseri ilaç direncinde lncRNA'lar**

LncRNA'lar, protein kodlama potansiyeli düşük veya hiç olmayan, 200 nükleotidden uzun transkriptlerdir. Bu lncRNA'lar, yüksek derecede doku spesifik elementler olarak işlev görür ve epitelyal over kanserindeki anormal ekspresyonları, kemoterapi direncine katkıda bulunur. LncRNA'ların EOC'de ilaç direncine katkıda bulunduğu temel mekanizmalar arasında tümör hücrelerinde kök hücre özelliklerinin indüklenmesi, apoptozun inhibisyonu, anormal hücre proliferasyonu, ilaç çıkışı, koruyucu otofaji ve epitel-mezenkimal geçiş (EMT) gibi süreçler yer alır (Salamini ve Montemurri 2020).

*EOC İlaç Direncinde Otofaji Aktivasyonu ile İlişkili lncRNA'lar:* Kanser hücrelerinde ilaç direnci, otofaji aktivasyonu ile yakından ilişkilidir. Bu hücresel geri

dönüşüm mekanizması, kanser hücrelerine hayatta kalmaları için gerekli temel besin maddelerini sağlar ve hasarlı hücrel bileşenleri ortadan kaldırarak ilaç tedavisine karşı direnç geliştirmelerine katkıda bulunur. Belirli koşullarda, lncRNA'lar, tümör hücrelerine koruyucu otofaji sağlama sürecinde kritik bir rol oynamaktadır (Chang vd 2020). Örneğin, lncRNA SNHG7'nin (Küçük Nükleolar RNA Ana Gen 7) miR-29B-3P'ye doğrudan bağlanarak ve MET'in negatif geri bildirim döngüsünü aşağı regüle ederek otofajiyi artırması ve bu yolla paklitaksele karşı ilaç direncini teşvik etmesidir (Doe vd 2021). Bir başka örnek lncRNA TUG1 (Taurinle Artırılmış Gen 1), koruyucu otofajiyi indükleyerek epitelyal over kanserinde (EOC) paklitaksel direncinin arkasındaki önemli etkenlerden biri olarak işlev görür. TUG1, hasar görmüş organellerin ve proteinlerin parçalanmasını teşvik etmek için Beclin1 ve LC3B gibi otofaji ile ilgili genlerin ekspresyonunu artırarak, paklitaksel tedavisi altında olan EOC hücrelerinin hayatta kalma şansını yükseltir (Gue vd 2020). TUG1'in veya otofajinin inhibisyonu, paklitaksel dirençli EOC hücrelerini paklitaksel kaynaklı hücre ölümüne daha duyarlı hale getirebilir (Sonobe vd 2024).

*Apoptoz inhibisyonu yoluyla EOC ilaç direncini etkileyen lncRNA'lar:*

LncRNA'ların ilaç direncine katkıda bulunduğu temel mekanizmalardan biri, apoptozu inhibe etmektir. Belirli lncRNA'ların aşırı ekspresyonu, over kanseri hücrelerinde apoptoz sürecini baskılayarak bu hücrelerin sitotoksik kemoterapötik ajanlara karşı direnç göstererek hayatta kalmasını ve çoğalmasını sağlar. LncRNA PANDAR (CDKN1A Antisens DNA Hasar Aktive RNA'nın Promotörü), over kanseri dokularında ve kemoterapiye dirençli hücre hatlarında belirgin bir şekilde yukarı regüle edilmiştir. PANDAR, tümör baskılayıcı p53'ü ve serin 15'teki fosforilasyonunu negatif olarak düzenleyebilen SFRS2 kesim faktörü ile etkileşime girer. Bu PANDAR-SFRS2-p53 geri bildirim döngüsü, PUMA gibi p53 ile ilişkili pro-apoptotik genlerin trans aktivasyonunu azaltarak apoptozu inhibe eder ve sisplatin direncini teşvik eder. Bu bulgular, platin bazlı kemoterapi ile tedavi edilen over kanseri hastalarında PANDAR ve SFRS2 ekspresyonunun pozitif, p53-Ser15 ve PUMA ekspresyonunun ise negatif korelasyon gösterdiğini ortaya koymuştur (Wang vd 2028).

*Atılım mekanizması ile EOC ilaç direncini etkileyen lncRNA'lar:*

LncRNA ZFAS1 (Çinko Parmak Antisens 1), hCtr1 adlı bakır taşıyıcı proteinin ekspresyonunu artırarak hücre içi ilaç birikimini azaltan bir kodlamayan RNA'dır. HCtr1 proteininin daha geniş bir substrat spesifikliğine sahip olduğu ve belirli kemoterapi ilaçlarını da taşıyabildiği

bilinmektedir. ZFAS1, hCtrl seviyelerini artırarak bu ilaçların hücre dışına atılımını kolaylaştırabilir, bu da hücre içindeki ilaç konsantrasyonunu düşürerek etkinliğini azaltır (Lomovskaya vd 2014). Ayrıca, ZFAS1, tümör baskılayıcı miRNA olan miR-150-5p'yi hapsederek, sisplatin ve paklitaksel direncini over kanserinde artırır. Bu süreç, transkripsiyon faktörü Sp1'in yukarı regülasyonuna yol açar ve bu da DNA hasar yanıtını, ilaç atılımını ve metastatik potansiyeli artırarak ilaç direnç fenotipine katkıda bulunur (Jeggo vd 2016).

Moleküler kanser biyolojisi alanında kaydedilen önemli ilerlemelere ve karboplatin ile paklitaksel gibi birincil kemoterapi ajanlarına verilen olumlu başlangıç yanıtlarına rağmen, ilaç direncinin gelişimi, epitelyal over kanserinin (EOC) etkili yönetiminde büyük bir zorluk olmaya devam etmektedir. İlaç direncine yatkın bireylerin erken dönemde tanımlanması, genel prognozun iyileştirilmesinde hayati bir öneme sahiptir. Bu durum, EOC 'nin genellikle geç evrede teşhis edilmesi ve dolayısıyla hayatta kalma oranlarının düşmesi nedeniyle özellikle endişe vericidir. LncRNA'ların kanserin başlangıcı ve ilerlemesindeki rolü üzerine yapılan çalışmalar bulunsa da lncRNA'ların özellikle EOC 'li hastalarda ilaç direncinin göstergeleri olarak araştırılması konusunda önemli bir araştırma boşluğu bulunmaktadır. Güvenilir lncRNA biyobelirteçlerinin geliştirilmesi, birçok avantaj sunmaktadır. Direnç riski taşıyan hastaların erken dönemde belirlenmesi, klinik uzmanların tedavi planlarını kişiselleştirmesine olanak tanıyarak hasta sonuçlarını iyileştirme ve hayatta kalma oranlarını artırma potansiyeli taşımaktadır. Ayrıca, lncRNA biyobelirteçler, klinik denemelerde hasta sınıflandırmasına yardımcı olabilir, bu da daha verimli araştırma süreçlerine yol açar. Sonuç olarak, bu araştırma boşluğunun giderilmesi, EOC 'deki ilaç direncini anlamak için fırsatlar sunmakta ve daha etkili terapötik stratejilerin geliştirilmesine zemin hazırlamaktadır.

Bu çalışma, EOC hastalarında ilaç direncini öngörmek amacıyla lncRNA ekspresyon profillerinin biyobelirteç olarak potansiyelini inceleyerek bu boşluğu doldurmayı hedeflemektedir. Güvenilir bir lncRNA biyobelirteç havuzunun oluşturulması, tedavi sürecinde hasta sınıflandırmasını önemli ölçüde iyileştirerek, daha etkili terapötik stratejiler geliştirilmesine ve hasta sonuçlarının iyileşmesine katkıda bulunabilir.

## 2.6. Platin Ajanlarına Karşı Direncin Mekanizmaları

Sisplatin ve karboplatin, kanser hücrelerindeki DNA ile özellikle guanin ve diğer purin bazlarıyla adüktler ve çapraz bağlar oluşturarak antikanser etkilerini gösterirler. Bu DNA lezyonları, doğru DNA replikasyonu ve transkripsiyonunu engelleyerek sonunda apoptoz yoluyla hücre ölümünü tetikler (Dasari ve 2014). Önemli bir direnç mekanizması, platin bileşiklerinin DNA'ya ulaşmasını engellemektir ve bu süreç, ilaç çıkış taşıyıcıları tarafından düzenlenir. Ayrıca, platin ajanlarının neden olduğu DNA hasarına yanıt olarak çeşitli DNA onarım yolları aktive edilir, bu da direncin gelişimine katkıda bulunur (Ortiz vd 2021).

Azalmış ilaç girişi: Bakır taşıyıcılarının, özellikle SLC31A1 geni tarafından kodlanan CTR1'in aşağı regülasyonu, sisplatin ve karboplatin gibi platin bazlı kemoteraplere karşı direncin gelişiminde kilit bir mekanizma olarak bilinir. Bu bakır taşıyıcıları, platin ilaçlarının hücre içine alınmasında ve birikiminde kritik bir rol oynar, bu da platin ilaçlarının etkinliği açısından hayati bir adımdır (Jastrzab 2023). Sisplatin ve karboplatin gibi platin bazlı ajanlar, yapısal olarak bakır iyonlarına benzediği için, hücre içine zar bağlı bakır taşıyıcıları, özellikle CTR1 tarafından taşınabilirler. CTR1'in ekspresyonu veya aktivitesi azaldığında, platin ilaçlarının hücre içindeki birikimi belirgin şekilde düşer. Bu azalan ilaç alımı, platin bileşiklerinin temel hücre hedef olan DNA'ya ulaşmasını engeller ve apoptoz ile hücre ölümünü tetikleyen DNA adüktlerini ve çapraz bağların oluşmasını zorlaştırır. CTR1'in aşağı regülasyonu, transkripsiyonel baskı, post-translasyonel modifikasyonlar veya alternatif bakır taşıma yollarının aktivasyonu gibi çeşitli mekanizmalarla gerçekleşebilir. Örneğin, bakır çıkış pompası ATP7B'nin yukarı regülasyonu, CTR1 aracılı platin alımının azalması ve buna bağlı olarak direncin gelişimi ile ilişkilendirilmiştir. Ayrıca, tümör mikroçevresi de CTR1'in ekspresyonunu ve hücre dağılımını etkileyebilir. Hipoksi ve belirli büyüme faktörlerinin varlığı, CTR1'in hücre içine alınmasına ve parçalanmasına yol açarak, hücre yüzeyindeki mevcudiyetini azaltabilir ve bu da platin ilaçlarının hücre içindeki birikimini sınırlayabilir (Robey vd 2018).

Artan ilaç girişi: TP bağlayıcı kaset (ABC) taşıyıcılarının yukarı regülasyonu, kanser hücrelerinin platin bazlı kemoteraplere karşı direnç geliştirmesinin başlıca mekanizmalarından biri olarak kabul edilir. Bu zar bağlı çıkış pompaları, platin ilaçları

da dahil olmak üzere çok çeşitli substratları aktif olarak hücre dışına taşıyabilir ve böylece hücre içindeki konsantrasyonlarını düşürerek terapötik etkinliklerini azaltır. Platin direnci ile güçlü bir şekilde ilişkili olan iki spesifik ABC taşıyıcısı MRP2 (ABCC2 geninin kodladığı) ve ATP7B'dir. MRP2, platin-glutasyon konjugatları gibi çeşitli organik anyonları hücre dışına çıkarabilen çoklu ilaç direnci ile ilişkili bir proteindir. MRP2'nin aşırı ekspresyonu, platin dirençli kanser hücre hatlarında ve tümör örneklerinde sıkça gözlemlenmiştir ve genellikle platin bazlı tedavi gören hastalarda kötü klinik sonuçlarla ilişkilidir (Kim vd 2023). Diğer yandan, ATP7B, bakır taşıyan bir ATP 'az olarak işlev görür ve platin ilaçlarını sitoplazmik veziküllere taşıyarak veya hücre dışına çıkararak direnç mekanizmasında rol oynar. ATP7B'nin yukarı regülasyonu, over, akciğer ve prostat kanseri gibi çeşitli kanser türlerinde hem sisplatin hem de karboplatin direnci ile ilişkilendirilmiştir. Bu artmış ekspresyon, transkripsiyon faktörleri veya promotör hiper metilasyonu benzer epigenetik modifikasyonlar tarafından tetiklenebilir. Platin ilaçlarının hücre dışına atılması, MRP2 ve ATP7B gibi taşıyıcı proteinler aracılığıyla gerçekleşmekte ve bu süreç, CTR1 gibi bakır alım taşıyıcılarının aşağı regülasyonu ile daha da şiddetlenmektedir. Bu mekanizma, platin bileşiklerinin hücre içi birikimini ciddi şekilde azaltarak ilaca karşı direncin artmasına neden olabilir. Bu durum, özellikle kanser tedavisinde kullanılan platin temelli ajanların etkinliğini olumsuz yönde etkileyen önemli bir direnç mekanizmasıdır. Azalmış ilaç alımı ve artan ilaç çıkışı arasındaki bu birleşik etki, platin ajanlarının hücre içindeki konsantrasyonunu önemli ölçüde azaltarak kanser hücrelerini sitotoksik etkilerine karşı daha az duyarlı hale getirir (Ma vd 2023, Kim vd 2023).

*Değişmiş DNA onarım mekanizmaları:* Kanser hücrelerinin sisplatin ve karboplatin gibi platin bazlı kemoterapilerle oluşan DNA hasarını etkin bir şekilde onarma yeteneği, bu ajanlara karşı duyarlılıklarını veya dirençlerini belirleyen hayati bir faktördür. Over kanserinde platin direncinin gelişiminde rol oynayan çeşitli DNA onarım yollarındaki değişiklikler kapsamlı bir şekilde araştırılmıştır. Bu yolların en önemlilerinden biri nükleotid eksizyon onarımıdır (NER). NER, platin ilaçları tarafından oluşturulan büyük DNA adüktlerini tanır ve ortadan kaldırır. ERCC1 benzer taşıyıcılar tarafından düzenlenen nükleotid eksizyon onarımı, platin kaynaklı DNA hasarına karşı hücrelerin toleransını artırabilir (McCorkle vd 2021).

Bir diğer önemli DNA onarım yolu ise uyumsuzluk onarımıdır (MMR). MMR, DNA'daki tek nükleotid uyumsuzluklarını ve küçük ekleme/silme hatalarını tespit ederek

onarır. MLH1 ve MSH2 gibi genlerde meydana gelen inaktivasyonlar nedeniyle MMR'deki kusurlar hem sisplatin hem de karboplatin direnci ile ilişkilendirilmiştir. Bunun nedeni, MMR eksikliği olan hücrelerin platin kaynaklı DNA lezyonlarını tanıma ve apoptozu tetikleme yeteneğini kaybetmesi olarak düşünülmektedir (Xu vd 2022).

Homolog rekombinasyon (HR) ve homolog olmayan uç birleştirme (NHEJ) gibi DNA onarım yollarındaki değişiklikler, platin direncinde kritik bir rol oynar. Özellikle BRCA1 ve BRCA2 genlerindeki eksiklikler, over kanseri hücrelerini platin ajanlarına karşı başlangıçta duyarlı hale getirebilir. Ancak, platin tedavisinin yarattığı seçici baskı, HR fonksiyonunun geri dönüş mutasyonları veya intragenik silinmeler yoluyla yeniden kazanılmasına ve edinilmiş direnç oluşumuna yol açabilir. Ek olarak, ATR, ATM, CHK1 ve CHK2 gibi DNA hasar yanıtı proteinlerindeki değişiklikler, platin kaynaklı DNA hasarına verilen yanıtı etkileyerek direncin gelişimini destekleyebilir (Xu vd 2022).

*Platin bazlı ilaçlara alternatif direnç yolları:* Son yıllarda, platin direncine katkıda bulunan çeşitli mekanizmalar ayrıntılı bir şekilde incelenmiştir. Bunlardan biri, platin direncinde proteasomal degradasyona hedeflenen proteinlerin deubikuitinasyonunun artmasıdır. Ubikuitin-proteasom sistemi (UPS), hücre içi proteinlerin çoğunun parçalanmasından sorumlu olan kritik bir yoldur. Bu sistemde, hedef proteinler poliubikuitin zincirleri ile işaretlenir ve bu işaretleme, proteinlerin 26S proteasom kompleksi tarafından parçalanmasını sağlar. Ancak, deubikuitinleştirici enzimler (DUB 'lar), hedef proteinlerden ubikitin etiketlerini çıkararak bu süreci tersine çevirebilir ve böylece proteasomal degradasyonlarını önleyebilir (Ming vd 2023). Ayrıca, proteasom alt birimlerinin ekspresyonundaki veya aktivitelerindeki değişiklikler de platin direncine katkıda bulunabilir (Ming vd 2023). Örneğin, proteasom alt birimi PSMB5'in artmış ekspresyonu, multipl miyelomda Bortezomib direnciyle ilişkilendirilmiştir, çünkü bu durum ilacın proteasoma bağlanmasını ve inhibisyonunu azaltabilir (Mofers vd 2017). Sisplatin ile indüklenen otofaji artışı, metabolik yeniden programlama ve anjiyogenez, platin direncinde önemli rol oynayan mekanizmalardandır. Özellikle Fibrillin-1 (FBN1) proteininin aşırı ekspresyonu, VEGFR2/STAT2 sinyal yolunu aktive ederek glikoliz ve anjiyogenezi artırır, bu da platin direncine yol açar. Bu süreç, over kanseri hücrelerinin platin bazlı tedavilere karşı direnç kazanmasına katkıda bulunur (Wang vd 2022).



## 2.7. Paklitaksel Direncinin Temel Mekanizmaları

Paklitakselin sitotoksik etkisi, tübülünin  $\beta$ -alt birimine bağlanarak mikrotübül oluşumunu ve stabilizasyonunu sağlamasıyla gerçekleşir; bu da hızlı bölünen kanser hücrelerinde mitotik duraklamaya ve sonuç olarak apoptoz veya diğer hücre ölüm yolları aracılığıyla hücre ölümüne yol açar. Ancak, kanser hücreleri zamanla bu etkilerden kaçınarak paklitaksel direnci geliştirebilir. Aşağıda, paklitaksel direnci ile ilişkili başlıca mekanizmalar ele alınmaktadır.

*P-gp aracılığıyla paklitakselin hücre dışına taşınması:* Paklitaksel direncinin altında yatan iyi bilinen mekanizmalardan biri, ilaç çıkış pompası P-gp 'nin (P-glikoprotein) yukarı regülasyonu ve artan aktivitesidir. P-gp 'nin aşırı ekspresyonu, genellikle ABCB1 geninin amplifikasyonu veya transkripsiyonel düzenlemedeki epigenetik değişikliklerle tetiklenir ve bu durum, ilacın hücre içindeki konsantrasyonunu azaltarak tedavi etkinliğini düşürür (Zhang vd 2016). P-gp aracılığıyla gerçekleşen bu direnç mekanizması, özellikle over, meme ve akciğer kanserleri gibi çeşitli solid tümörlerde yaygın olarak gözlemlenmektedir (Vahedi vd 2015).

*$\beta$ -tübülün bağımlı paklitaksel direnci:* Paklitaksel,  $\beta$ -tübülünin  $\beta$ -alt birimine bağlanarak ve mikrotübülleri stabilize ederek sitotoksik etkilerini gösterir; bu da mitotik duraklamaya ve hücre ölümüne yol açar. Ancak,  $\beta$ III-tübülün izoformunun aşırı ekspresyonu, bu etki mekanizmasını tersine çevirebilir ve paklitaksele karşı direnç gelişmesine neden olabilir.  $\beta$ III-tübülün, mikrotübül dinamiklerini ve mikrotübül ile ilişkili proteinlerin etkileşimlerini düzenleyerek paklitakselin etkilerine karşı direnç sağlar. Ayrıca,  $\beta$ III-tübülünün aşırı ekspresyonunun, DNA onarım yollarında yer alan genlerle ilişkili olduğu ve kanser hücrelerinin paklitakselin indüklediği DNA hasarını daha etkili şekilde onararak ilaca karşı direnç geliştirdiği düşünülmektedir. (Ganguly vd 2011).

*Glutasyon S-transferaz 1 (GSTP1) ve ilaç direnci:* GSTP1, glutasyon S-transferaz (GST) ailesine ait bir enzimdir ve belirli kemoterapötik ilaçlar da dahil olmak üzere geniş bir spektrumda xenobiyotik bileşenlerin detoksifikasyonunu gerçekleştirir. Kanser hücrelerinde GSTP1'in aşırı ekspresyonu, bu sitotoksik ajanların metabolizmasını ve eliminasyonunu artırarak iyi bilinen bir ilaç direnci mekanizması oluşturur (Sawers vd 2014). GSTP1'in, paklitaksel tarafından indüklenen apoptozun ana düzenleyicilerinden

biri olan c-Jun N-terminal kinaz (JNK) sinyal yoluyla etkileşime girerek bu yolu inhibe ettiği gösterilmiştir. JNK aktivitesini baskılayarak, GSTP1 paklitaksel kaynaklı programlı hücre ölümünü önleyebilir ve bu sayede direncin gelişimine katkıda bulunur. Normal koşullarda, PRMT6 adı verilen bir enzimin yüksek aktivitesi, GSTP1 üretimini, öncülü olan G6PD'nin üretimini baskılayarak kontrol altında tutar. Ancak, bu spesifik kanser hücresi direnci mekanizmasında PRMT6 aktivitesi aşağı regüle edilir ve bu da G6PD üretiminin artmasına yol açar, dolayısıyla GSTP1 seviyeleri yükselir. Bu durumda, kanser ilacı paklitaksel, hedefi olan tübüline ulaşmadan önce GSTP1 tarafından yakalanarak detoksifiye edilir (Feng vd 2020).

*B-hücreli Lenfoma 2 (Bcl-2) ailesinin rolü ve paklitaksel direnci:* B-hücreli lenfoma 2 (Bcl-2) ailesi içinde, pro-apoptoz faktörleri olarak tanımlanan BAD ve BAX gibi üyeler, Bcl-2, Bcl-XL ve Mcl-1 gibi anti-apoptoz bileşenleri ile yer almaktadır. Paklitakselin etkisi, Bcl-2 aktivitesini modüle ederek rolünü pro-apoptoz faktörüne kaydıracağı gözlemlenmiştir. Moleküler modelleme çalışmaları, paklitaksel bağlanma bölgeleri arasında Bcl-2 ile mikrotübül proteini  $\beta$ -tübülin arasında olağanüstü bir benzerlik olduğunu ortaya koymuştur;  $\beta$ -tübülin, paklitakselin birincil hedefidir. Paklitaksel dirençli kanser hücrelerinde, özellikle Bcl-2, Bcl-xL ve Mcl-1 benzer anti-apoptotik Bcl-2 ailesi üyelerinin aşırı ekspresyonu gözlemlenmiştir. Bu proteinler, pro-apoptotik Bcl-2 ailesi üyelerini hapsederek apoptozu inhibe eder ve mitokondri dış zarının geçirgenliğini artırarak apoptojenik faktörlerin, örneğin sitokrom c'nin salınımını önler (Valentini vd 2023).

*Fosfoinositid 3-kinaz (PI3K) / protein kinaz B (Akt) sinyal yolu ve paklitaksel direnci:* PI3K/Akt sinyal yolağının aşırı aktivasyonu, over kanseri de dahil olmak üzere çeşitli kanser hücrelerinde kemoterapötik ajanlara karşı direnç geliştirilmesinde önemli bir rol oynar. Aktif hale gelen Akt, Bad ve kaspaz-9 gibi pro-apoptotik proteinleri fosforile ederek inaktive edebilir, bu da kemoterapötik ajanlara karşı apoptotik yanıtın baskılanmasına yol açar. Ayrıca, Akt, P-glikoprotein (P-gp) gibi ATP-bağlayıcı kaset (ABC) taşıyıcılarının ekspresyonunu ve aktivitesini artırabilir; bu taşıyıcılar, kemoterapötik ilaçları aktif olarak kanser hücrelerinden dışarı atarak hücre içi ilaç konsantrasyonlarını azaltır. Bunun yanı sıra, PI3K/Akt yolağı, Ras/MAPK yolu gibi diğer sinyal yollarıyla etkileşime girerek, kemoterapi direncinin gelişimine katkıda bulunan pro-sağkalım ve pro-proliferatif sinyallerin karmaşık bir ağını oluşturabilir (Maloney vd 2020).

## 2.8. Platin Türevleri ve Paklitaksel Arasında Çapraz Direnci

Bu kemoterapi ilaçlarının etki mekanizmaları farklı olmasına rağmen, platin dirençli kanser hücrelerinin bir alt popülasyonu, paklitaksele de çapraz direnç geliştirmektedir. Bu olgu, platin dirençli hücre hatlarının paklitaksele ve diğer anti-mikrotübül ajanlara karşı azalmış duyarlılık gösterdiği birçok çalışmada gözlemlenmiştir. Çapraz direncin altında yatan mekanizmalar çok yönlüdür ve şunları içerir: ATP-bağlayıcı kaset (ABC) taşıyıcılarının aşırı ekspresyonu hem platin hem de paklitaksele karşı duyarlılığı etkileyebilen mikrotübül ile ilişkili proteinlerdeki düzensizlikler, artan glikoliz ve değişen mitokondriyal fonksiyon gibi platin direncine eşlik eden metabolik yeniden programlama. Bu çapraz direncin klinik etkileri son derece önemlidir, zira platin ve paklitakselin ardışık veya eşzamanlı kullanımına dayanan kombine kemoterapi rejimlerinin etkinliğini ciddi şekilde kısıtlamakta ve tedavi başarısını azaltmaktadır. Devam eden araştırmalar, platin türevleri ile paklitaksel arasındaki çapraz direnci tahmin edebilecek veya tersine çevirebilecek biyobelirteçler ve moleküler hedefler belirlemeye odaklanmaktadır; bu da daha kişiselleştirilmiş ve etkili kanser tedavisi yaklaşımlarının geliştirilmesine olanak tanımaktadır (Patel vd 2021).

## 2.9. Ana Hipotez

Uzun kodlamayan RNA'lar (lncRNA'lar), epitelyal over kanserinde ilaç direncinin tahmini ve prognoz için güvenilir biyobelirteç olarak kullanılabilir.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

#### 3.1. Epitelyal Over Kanserinde 'de İlaç Direnci için lncRNA Seçim Kriterleri

EOC 'inde ilaç direnci ile ilişkili aday lncRNA'ların belirlenmesi, bu çalışmanın kritik adımlarından biridir. Bu amaç doğrultusunda, ana seçim kriterlerini belirlemiş bulunmaktayız:

**Farklı Ekspresyon:** Bu çalışmada, kemoterapiye dirençli ve kemoterapiye duyarlı EOC hücre hatları veya hasta örnekleri arasında lncRNA ekspresyon seviyelerinde önemli farklılıklar gösteren önceki araştırmalar, değerlendirme kriterlerinden biri olarak kullanılmıştır. Bu farklılıklar, ilaç direnci fenotipi ile potansiyel olarak ilişkili lncRNA'ların tanımlanmasına katkıda bulunmuştur.

**Fonksiyonel Önemi:** İn vitro veya in vivo çalışmalardan elde edilen kanıtlar, aday lncRNA'ların seçilmesinde büyük önem taşımaktadır. Proliferasyon, apoptoz (programlanmış hücre ölümü) veya ilaç alım mekanizmaları gibi hücresel süreçleri düzenleyerek doğrudan ilaç direncini artıran lncRNA'lar öncelikli olarak ele alınmıştır. Bu fonksiyonel bağlantı, belirli bir lncRNA 'nın adaylık sürecinde önemini artırmıştır.

#### 3.2. Biyoinformatik Analiz

Seçim kriterlerine uygun lncRNA adaylarını tespit etmek amacıyla aşağıda açıklanan çok aşamalı bir biyoinformatik analiz süreci uygulanmıştır.

- Genel veritabanı analizi

Kemoterapi dirençli ve kemoterapi duyarlı EOC örnekleri arasındaki farklı eksprese edilen lncRNA'ları belirlemek için The Cancer Genome Atlas (TCGA) ve Gene Expression Omnibus (GEO) veri tabanları kullanılmıştır. Bu ilk adım, potansiyel adayların havuzunu daraltmayı amaçlamıştır.

- Fonksiyonel Anotasyon Araçları:

Aday lncRNA'lar ile ilişkili olarak eksprese edilen genlerin işlevsel zenginleşmesini analiz etmek için DAVID (Annotation, Visualization and Integrated Discovery) veritabanı kullanılmıştır. Bu analiz, belirlenen lncRNA'ların olası biyolojik rollerine dair önemli bilgiler sunmuştur.

LncTAR (Long Non-Coding RNA Hedef Veritabanı):

Bu veri tabanı, tanımlanan lncRNA'ların EOC ilaç direncindeki rolünü aydınlatmak için kullanılmıştır. LncTAR, lncRNA'ların etkileşime girdiği proteinler ve yolaklar hakkında bilgi sağlayarak, EOC ilerlemesiyle olası bağlantıların araştırılmasına yardımcı olmuştur.

Bu biyoinformatik yaklaşımları bütünleştirerek, seçilen lncRNA'ların EOC ilaç direncindeki potansiyel rollerini kapsamlı bir şekilde değerlendirmeyi amaçladık. Bu titiz analitik çerçeve, bu kritik klinik sorunda yer aldıklarını destekleyen güçlü kanıtlara sahip lncRNA'ları tanımlamamıza olanak tanıdı.

### 3.3. Numune Toplaması

Pamukkale Üniversitesi Onkoloji Polikliniği'ne 2021-2023 yılları arasında başvuran ve epitelyal over kanseri tanısı konmuş hastaların kan serumları üzerinde bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Çalışma kapsamında iki grup için numune toplanmıştır: 25 epitelyal over kanseri hastası ve 23 sağlıklı kontrol bireyi. Hasta grubundan, tedavi öncesinde bir kez ve tedavi tamamlandıktan sonra bir kez daha kan örneği alınmıştır. Her iki gruptan da 5 ml'lik tek bir kan örneği toplanmıştır. Deneysel çalışmalar, Pamukkale Üniversitesi İleri Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi bünyesindeki Kanser Biyolojisi laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir. Tüm hastalar, çalışmaya katılım için

yazılı bilgilendirilmiş onam vermiştir. Çalışma, Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır. Tüm katılımcılardan alınan örnekler, ileri analizler için -80°C'de saklanmıştır.

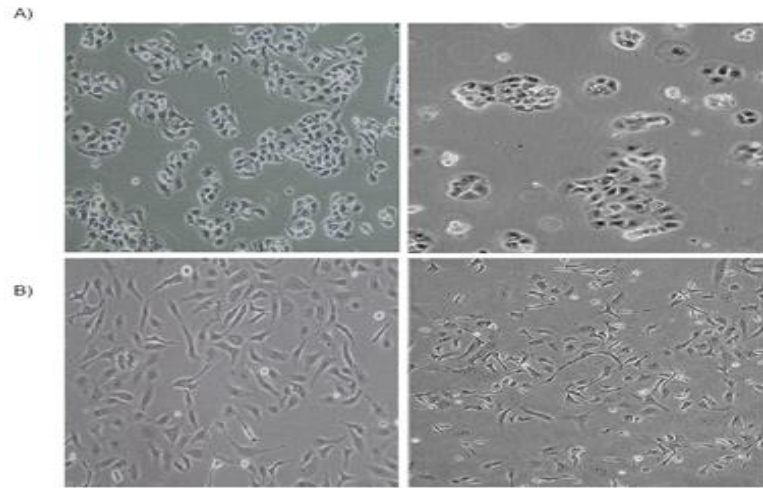
### **3.4. Hücre Hatları ve Reajentleri**

#### **3.4.1. Hücre Kültürü**

Bu projede kullanılan temel hücre hatları, Pamukkale Üniversitesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı tarafından sağlanan OVCAR3 (Stinson ve ark., 1992) ve ATTC tarafından sağlanan SKOV-3 (Fogh, 1975) ilaç duyarlı over kanseri hücre hatlarıdır (Şekil 3.1). Bu hücre hatlarının özellikleri Tablo 3.2'de listelenmiştir. İnsan Over Kanseri hücre hattı OVCAR3, HEPES ve L-glutamin (SEROX) ile zenginleştirilmiş RPMI ortamında kültürlenmiş ve %20 oranında ısı ile inaktive edilmiş fetal sığır serumu (Invitrogen Gibco) eklenmiştir. İnsan Over Kanseri hücre hattı SKOV3 ise, %10 oranında ısı ile inaktive edilmiş fetal sığır serumu (SEROX) ile zenginleştirilmiş Maccoy's 5a (SEROX) ortamında kültürlenmiştir. Hücreler, her 5-7 günde bir %0,05 oranında tripsin/EDTA (Fisher, 15400054) kullanılarak alt kültüre alınmış ve her 2-3 günde bir taze ortam eklenmiştir. Bu iki hücre hattının birincil hücre hatları olarak seçimi, over kanseri araştırmalarında yaygın kullanımları ve mevcut çalışmada ihtiyaç duyulan ilaç dirençli varyantların (özellikle paklitaksel ve karboplatin dirençli) mevcut olmasına dayanarak yapılmıştır. Kontrol ve ilaç dirençli OVCAR3 ve SKOV3 hücrelerini gösteren illüstrasyonlar Şekil 3.2'de sunulmuştur. İlaç dirençli hücre hatları, her hücre hattının belirli bir ilaca düzenli olarak maruz bırakılması yoluyla oluşturulmuş olup, bu süreç, hücreler ilaç direnci kazanana kadar sürdürülmüştür.

**Tablo 3.1.** Çalışmada Kullanılan Hücre Hatlarının Listesi

Hücre Hattı	Hücre Hattının Türü	Alındığı Yer	Kullanılan Kültür Ortamı
OVCAR3	Over kanseri	ATCC	RPMI-1640
SKOV3	Over kanseri	Pamukkale Üniversitesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı	Maccoy's 5



**Şekil 3.1.** A) OVCAR3 Hücrelerinin Morfolojisini Gösteren, 10x Büyütme ile Faz-kontrast Mikroskobu Altında Elde Edilen Görüntüler. B) SKOV3 Hücrelerinin Morfolojisini Gösteren, 10x Büyütme ile Faz-kontrast Mikroskobu Altında Elde Edilen Görüntüler.

**Tablo 3.2.** Hücre kültüründe kullanılan hücre hatlarının özellikleri (Beaufort vd 2014'ten uyarlanmıştır).

Özellikleri	OVCAR3	SKOV3
Morfoloji	Epitelyal	Epitelyal
Histoloji	Yüksek dereceli seröz	Seröz
Köken	Asit	Asit
Protein Belirteçleri		
CD44	Düşük ekspresyon	Yüksek ekspresyon
CD24	Orta düzeyde ekspresyon	Orta düzeyde ekspresyon
EpCAM	Orta düzeyde ekspresyon	Düşük ekspresyon
Gen Mutasyonları	TP53	TP53, NF1, PIK3CA, HRAS, ARID1A
Gen Amplifikasyonu	Yüksek CCNE1	Yüksek ERBB2
Yolaklarda Mutasyona Uğramış Genler	HRR yolunda bir mutasyona uğramış gen	Wnt/ $\beta$ -katenin yolunda üç mutasyona uğramış gen ve HRR yolunda iki mutasyona uğramış gen

### 3.4.2 Doz-yanıt deneyi (Dose-response assay)

Doz-yanıt deneyi, OVCAR3 ve SKOV3 hücre hatlarının karboplatin ve paklitakselin farklı konsantrasyonlarına verdiği biyolojik yanıtı değerlendirmek ve ilaç dirençli hücre hatları oluşturmak için başlangıç dozlarını belirlemek amacıyla gerçekleştirilmiştir. Hücreler, 96 kuyucuklu bir plakaya ekilmiş ve 24 saat boyunca 37°C’de, %5 CO<sub>2</sub> ortamında inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresinin ardından, hücreler karboplatin ve paklitakselin farklı konsantrasyonlarında seri olarak seyreltildikten sonra muamele edilmiştir. 24 saatlik tedavi süresinin ardından, her kuyucuğa 10 µL CVDK-8 (NutriCulture CVD Kit-8) çözeltisi eklenmiş ve hücreler tekrar 37°C’de, %5 CO<sub>2</sub> ortamında 1 ila 4 saat daha inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda, her kuyucuk için 450 nm dalga boyunda bir mikropilaka okuyucu kullanılarak optik yoğunluk (OD) ölçülmüş ve hücre canlılığı değerlendirilmiştir. İnkübasyondan sonra, her bir kuyucuktaki oluşan çözeltinin absorbansı, bir plaka okuyucu (Promega – SpectraMax® iD3) kullanılarak 450 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Elde edilen absorbans değerleri, canlı hücre sayısı ile doğrudan ilişkilidir ve bu, hücre hatları için etkili dozların belirlenmesini sağlar.

### 3.4.3. Dirençli hücre popülasyonlarının üretilmesi

#### - Karboplatin

Karboplatin, Pamukkale Hastanesi Kemoterapi Birimi'nden haftalık olarak taze sıvı formda temin edilmiştir ve 50 mM’lik stok çözeltisi olarak hazırlanmıştır. Hazırlanan stok çözeltisi, +4°C’de bir hafta süreyle saklanmıştır.

#### - Paklitaksel

Paklitaksel de Pamukkale Hastanesi Kemoterapi Birimi'nden haftalık olarak taze sıvı formda 1 mM’lik stok çözeltisi olarak temin edilmiştir. Bu stok çözeltisi, +4°C’de bir hafta süreyle muhafaza edilmiştir.



OVCAR3 ve SKOV3 ilaç dirençli hücre hatlarını oluşturmak için kademeli doz artışı içeren aralıklı bir dozlama programı uygulanmıştır (Tablo 3.2). Bu program, tedavi dönemleri arasında hücrelerin iyileşmesi için verilen süre zarfında, ilaç konsantrasyonlarının kademeli olarak artırılmasını kapsar. Protokol, kültür ortamında hücreler için tolere edilebilir minimum güvenli konsantrasyon olan 1  $\mu$ M karboplatin/paklitaksel ile 4 günlük bir tedavi süreci ve ardından ilaçsız normal ortamda 3 günlük bir iyileşme süreci içerir. Hücreler yüksek yoğunluğa ulaştığında, ilaç konsantrasyonu kademeli olarak artırılır. Tedaviye iyi yanıt vermeyen hücre hatları için iyileşme süresi uzatılır ve büyüme ve proliferasyon potansiyellerini geri kazanmaları için düşük doz tedavi tekrarlanır (Amaral vd 2019).

#### **3.4.4. Hücre Canlılığı Deneyi**

Farklı ilaç konsantrasyonlarıyla muamele edilen hücrelerin canlılığı, MTT deneyi (NutriCulture CVD Kit-8) kullanılarak değerlendirilmiştir. Hem ebevey hem de ilaç dirençli hücre hatları, her biri üç bin hücre içerecek şekilde 96 kuyucuklu bir plakaya ekilmiş ve hücrelerin tutunması ve büyümesi için gece boyunca inkübe edilmiştir. Hücreler %40-50 yoğunluğuna ulaştığında, test ilacının uygun konsantrasyonları (Tablo 3.3'te detaylı olarak verilmiştir) belirlenen kuyucuklara eklenmiştir. Seçilen ilaç konsantrasyon aralıkları, önceki laboratuvar deneylerinin sonuçlarına dayanarak belirlenmiştir. Hücreler 12, 24 ve 48 saatlik inkübasyon sürelerine tabi tutulduktan sonra, her bir kuyucuğa 10  $\mu$ L CVDK-8 çözeltisi eklenmiştir. İnkübasyon sürecinin ardından, her bir kuyucuktaki çözeltinin absorbansı, 450 nm dalga boyunda çalışan bir plaka okuyucu (Promega – SpectraMax® iD3/Multimode Microplate Reader) kullanılarak ölçülmüştür.

**Tablo 3.3.** Dirençli hücre hattı oluşturmak için ilaç konsantrasyon dozları

Hücre Hattı Türü	İlaç	Konsantrasyon Aralığı	Kullanılan Kültür Ortamı
SKOV3 OVCAR3	Paklitaksel	6 $\mu$ M- 11,8 $\mu$ M	RPMI-1640
SKOV3 OVCAR3	Karboplatin	2,64 $\mu$ M- 15,73 $\mu$ M	Maccoy's 5

### 3.5. Kantitatif Gerçek Zamanlı PCR Deneyi

#### 3.5.1. Hücre hattı RNA izolasyonu

RNA izolasyonu, Bio-Rad RNA ekstraksiyon protokolünde yer alan ayrıntılı talimatlara göre gerçekleştirilmiştir (Katalog No: 12183018A, Bio-Rad). Özetle, hücrelerden ortam uzaklaştırıldıktan sonra, RNaz içermeyen pipet uçları kullanılarak örneğe taze hazırlanmış Lysis Buffer'a %1 v/v oranında 2-merkaptotanol eklenmiştir (her 1 ml Lysis Buffer için 10  $\mu$ L 2-merkaptotanol). Örnek, hücreleri parçalamak ve lizis sağlamak amacıyla iyice vortexlenmiştir. Ardından, lizat 12,000  $\times$  g'de 2 dakika oda sıcaklığında santrifüj edilmiştir. Elde edilen süpernatant, temiz bir 1.5 ml RNaz içermeyen mikro santrifüj tüpüne aktarılmıştır. Tüp içerisine 200  $\mu$ L %100 etanol eklenmiş ve karışım, RNaz içermeyen pipet uçları ile iyice pipetlenip vortexlenerek homojen hale getirilmiştir. Tüm örnek, oluşan tortu da dahil olmak üzere, bir Spin Kartuşuna aktarılmıştır ve 12,000  $\times$  g'de 15 saniye boyunca oda sıcaklığında santrifüj edilmiştir.

İlk yıkama aşamasında, Spin Kartuşuna 700  $\mu$ L Yıkama Buffer I eklenmiş ve tekrar 12,000  $\times$  g'de 15 saniye boyunca santrifüj edilmiştir. Ardından, Spin Kartuşuna 500  $\mu$ L etanol içeren Yıkama Buffer II eklenmiş ve ikinci yıkama santrifüjlemesi de 12,000  $\times$  g'de 15 saniye boyunca oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir. Bu işlem, bağlı RNA'yı içeren membranı kurutmak ve kalan yıkama tamponunu tamamen uzaklaştırmak için oda sıcaklığında 12,000  $\times$  g'de 1 dakika daha santrifüj edilmiştir.

RNA elüsyon aşamasında, Spin Kartuşu membranının ortasına doğrudan 30 µL RNaz içermeyen su eklenmiş ve RNA elüsyonu sağlamak amacıyla Spin Kartuşu ve Kurtarma Tüpü 1 dakika boyunca oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. Son olarak, elüe edilen RNA'yı toplamak için Spin Kartuşu ve Kurtarma Tüpü 12,000 × g'de 2 dakika boyunca oda sıcaklığında santrifüj edilmiştir.

### 3.5.2. Serum RNA izolasyonu

Toplam RNA izolasyonu, RNA ekstraksiyon protokolünde belirtilen talimatlar doğrultusunda gerçekleştirilmiştir (Katalog No: 12183018A, Bio-Rad). Kısaca özetlemek gerekirse, 0,2 ml taze serum örneği 1,5 ml RNaz içermeyen mikro santrifüj tüpüne yerleştirilmiştir. Ardından, örneğe 2-merkaptolanol içeren 0,2 ml Lysis Buffer eklenmiştir. Örnek, kan hücrelerini parçalamak ve lizis işlemini gerçekleştirmek için iyice vortexlenmiştir. Elde edilen lizat, oda sıcaklığında 12,000 × g'de 2 dakika santrifüj edilmiştir. Üstte kalan süpernatant dikkatlice alınarak yeni bir 1,5 ml RNaz içermeyen mikro santrifüj tüpüne aktarılmıştır. Bu tüpe, 200 µL %100 etanol eklenmiş ve çözeltinin homojen bir şekilde karışması için birkaç kez pipetlenmiş ve vortexlenmiştir. Karışımın tamamı, bir Koleksiyon Tüpü içerisine yerleştirilmiş Spin Kartuşuna aktarılmıştır ve oda sıcaklığında 12,000 × g'de 15 saniye santrifüj edilmiştir. Santrifüjleme sonrası akış sıvısı atılmıştır. İlk yıkama aşaması için Spin Kartuşuna 700 µL Yıkama Tamponu I eklenmiş ve ardından 12,000 × g'de 15 saniye daha santrifüj yapılmıştır. Santrifüjleme sonrası akış sıvısı ve Koleksiyon Tüpü atılarak, Spin Kartuşu yeni bir Koleksiyon Tüpüne yerleştirilmiştir. Spin Kartuşuna 500 µL etanol içeren Yıkama Tamponu II eklenmiş ve oda sıcaklığında 12,000 × g'de 15 saniye santrifüjleme işlemi tekrar edilmiştir. Akış sıvısı atılarak Spin Kartuşu aynı Koleksiyon Tüpüne geri yerleştirilmiştir. Spin Kartuşu, bağlı RNA'yı içeren membranı kurutmak ve kalan yıkama tamponunu tamamen ortadan kaldırmak amacıyla, oda sıcaklığında 12,000 × g'de 1 dakika daha santrifüj edilmiştir. RNA elüsyon aşamasında, Spin Kartuşu membranının ortasına doğrudan 30 µL – 300 µL RNaz-İçermeyen Su eklenmiştir. Spin Kartuşu ve Koleksiyon Tüpü, RNA elüsyonunun gerçekleşmesi için oda sıcaklığında 1 dakika bekletilmiştir. Son olarak, elüe edilen RNA'yı toplamak amacıyla Spin Kartuşu ve Koleksiyon Tüpü oda sıcaklığında  $\geq 12,000$

× g'de 2 dakika santrifüj edilmiştir. Saflaştırılmış RNA, protokolde önerilen koşullarda saklanmıştır.

### 3.5.3. Tamamlayıcı DNA (cDNA) sentezi

CDNA sentezi için ayrıntılı talimatlar iScript™ cDNA Sentez Kiti/Bio-Rad, 100rxn (Katalog No: 1708890) kullanım kılavuzunda yer almaktadır. Kısaca özetlemek gerekirse, nükleaz içermeyen su (miktar değişken), 4 µl 5x iScript reaksiyon karışımı, 1 µl gen spesifik primer (20 µl hacimde 500 nM nihai konsantrasyon), 1 µg toplam RNA ve uygun miktarda iScript ters transkriptaz içeren bir ana karışım hazırlanmıştır. Bu karışım, 42°C'de 30-60 dakika süreyle inkübe edilmiştir. Ardından, ters transkriptazın ısı ile inaktivasyonu için karışım 85°C'de 5 dakika inkübe edilmiştir. Elde edilen cDNA ürünü, -20°C'de saklanmıştır.

### 3.5.4. Gerçek zamanlı PCR (qRT-PCR) reaksiyonu

Bu çalışmada, seçilen lncRNA'ların ekspresyon seviyeleri hem hücrelerde hem de serumda, Bio-Rad CFX96 Touch cihazı kullanılarak qRT-PCR yöntemiyle analiz edilmiştir. qRT-PCR bileşenleri (Tablo 3.4), uygulanan koşullar (Tablo 3.5) ve kullanılan primer dizileri (Tablo 3.6) doğrultusunda, lncRNA ekspresyon seviyeleri Universal SYBR® Green Supermix Bio-Rad, 100rxn (Katalog No: 1725121) kullanılarak değerlendirilmiştir.

**Tablo 3.4.** RT-qPCR Reaksiyon Bileşenleri

Bileşen	Hacim
CDNA	1 µL
Universal SYBR® Green Supermix	10 µL
Forward Primer	1 µL
Reverse Primer	1 µL
Nükleaz İçermeyen Su(ddH <sub>2</sub> O)	8 µL
Toplam Hacim	20 µL

**Tablo 3.5.** RT-qPCR Reaksiyon koşulları

Adım	Sıcaklık	Süre
Başlangıç Denatürasyon	95°C	10 dakika
Amplifikasyon		
Denatürasyon	95°C	10 saniye
Bağlanma	63°C	15 saniye
Uzama	72°C	5 saniye
Erime Eğrisi Analizi (Melting Curve Analysis)	65°C to 90°C	-

**Tablo 3.6.** LncRNA 'ya spesifik RT-qPCR primerleri (ileri ve geri diziler)

LncRNA	Forward primer (5-3)	Raeverse primer (3-5)
EBIC	GACTGAATGGACAAGTGGATC	GACTGAATGGACAAGTGGATC
NEAT1	ACTGGTATGTTGCTCTGTATGGT	ACTGGTATGTTGCTCTGTATGGT
PVT1	TTCAGCACTCTGGACGGACTTG	GATGCAGCTCCTCAGATGAACC
PANDAR	TCTCCATCATGCCAAGTTCTGC	CGGTGAAGCTCTATGGAAGTGG
PRLB	ACGCCATGTTGGGAGACTTC	TGAAAGCCCAGGGTCAACTC
RMRP	TGCATACGCACGTAGACATTCC	TTACAGCCGCGTGAGAATG
SDHAP1	TGAGACAAGATGCGGTGATGA	CGCCAACAGTCCACTCCTT
SNHG7	CAGCCGCTTGTGTTCTTGATTC	AGTCCATCACAGGCGAAGTCAC
SNHG12	CCGGTGTGCGACTTACTAGCTGC	CACATTCACCACCATCTCGAGG
TUG1	TCACAACAGGAAGGACCATTGC	CGATAGATGAGGTTCCAGGTGC
TLR8-AS1	AGCTACTGTGCGTCCATGTT	ATCTCACCCGTGTCTTCCCT
UCA1	AGACACTGAGGATCAGGCAGAGA	CAGCCAAGGAAAACATTGCGC
XIST	GTTCTTAAAGCGCTGCAATTTCG	AGAACCCCAAGTGCAGAGAGA
ZFAS1	GGAGGTTTCAGGAAGCCATTTCG	GCGTATGAAGCCTGACTGCAAC
LINC00161	GACATGCAGCAGCCATCTTGTG	TCCGGTATGTCCATCTGAATGC
Gapdh	ACAACCTTTGGCATTGTGGAA	GATGCAGGGATGATGTTCTG

### 3.6. Veri Analizi için Biyoinformatik Araçlar

Bu çalışmada elde edilen verilerin analizi için kullanılan biyoinformatik uygulamalar, üç ana platform üzerine odaklanmıştır. Doz-yanıt eğrileri ve IC50 hesaplamaları Python programlama dili ile gerçekleştirilmiştir. Grafiklerin çizimi ve görselleştirilmesi için Matplotlib kütüphanesi kullanılmıştır. Lojistik eğri uyumlaması ve IC50 hesaplamaları için SciPy kütüphanesi kullanılmıştır.

AAT BioQuest çevrimiçi uygulaması, verilerimize ek bir doğrulama katmanı eklemiştir. Bu uygulama aracılığıyla, verilerimizin kalitesini ve tutarlılığını bağımsız olarak değerlendirme fırsatı bulduk, bu da bulgularımızın genel güvenilirliğini artırmıştır (AAT BioQuest, 2023).

Son olarak, gen ekspresyonu kat değişimi analizini nihai hale getirmek için GraphPad Prism yazılımını tekrar kullanılmıştır. Bu yazılım, göreceli gen ekspresyon seviyelerini hesaplamak için PFAFFI yöntemini sorunsuz bir şekilde entegre etmiştir. GraphPad Prism içinde uygulanan PFAFFI yöntemi, house-keeping gen ekspresyonundaki potansiyel varyasyonları dikkate alarak hedef gen ekspresyon verilerinin normalizasyonunu sağlamıştır. Böylece, dirençli hücre gelişimi ile ilişkili gen ekspresyon değişikliklerinin doğru bir şekilde nicelleştirilmesi garanti altına alınmıştır.

MIQE kılavuzları, deneysel tasarımın özellikleri ve normalizasyon için uygun referans genlerin bulunabilirliği dikkate alınarak, doğru veri analiz yöntemini seçmek amacıyla izlenmiştir. Sağlanan arama sonuçlarına göre, PFAFFI yöntemi (verimlilik düzeltmeli  $\Delta\Delta CT$ ), hedef ve referans genlerin amplifikasyon verimliliklerini dikkate aldığı için Livak yöntemine ( $\Delta\Delta CT$ ) tercih edilmektedir. Bu çalışmada, karboplatin ve paklitaksel direnç gösteren over kanseri hücrelerinde farklı şekilde eksprese edilen uzun kodlamayan RNA'ları (LncRNA'lar) belirlemek amacıyla qPCR veri analizi için PFAFFI yöntemini kullandık. Hedef LncRNA'ların göreceli ekspresyon seviyeleri, hedef ve referans genlerin amplifikasyon verimliliklerini dikkate alan PFAFFI yöntemi ile hesaplandı. Ayrıca, LncRNA'ların ekspresyon seviyelerini uygun referans genlere göre normalize ederek, dirençli ve duyarlı over kanseri hücreleri arasındaki ekspresyon seviyelerini karşılaştırmak için istatistiksel analizler gerçekleştirdi (PFAFFI 2001).

### 3.7. İstatistiksel Analiz

Bu çalışmadan elde edilen veriler, SPSS 25,0 yazılım paketi kullanılarak analiz edilmiştir. Sürekli değişkenler ortalama  $\pm$  standart sapma, medyan (minimum-maksimum değerler) olarak sunulmuş, kategorik değişkenler ise sayı ve yüzde olarak ifade edilmiştir. Veri dağılımının normalliği Shapiro-Wilk testi kullanılarak değerlendirilmiştir. Parametrik testlerin varsayımları sağlandığında, bağımsız gruplar arasındaki ortalama farklarını karşılaştırmak için One-way ANOVA kullanılmıştır; parametrik testlerin varsayımları sağlanmadığında ise bağımsız gruplar arasındaki farkları karşılaştırmak için Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. Ayrıca, sürekli değişkenler arasındaki ilişkiler Spearman korelasyon analizi ile incelenmiş, kategorik değişkenler arasındaki farklar ise iki kategorik grup arasındaki oranları karşılaştırmayı içeren Ki-kare analizi kullanılarak değerlendirilmiştir.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Klinikodemografik ve Klinikopatolojik Bilgiler

#### 4.1.1 EOC hastalarında klinikodemografik faktörlerin analizi ve kontrol grubu ile karşılaştırılması

Bu çalışmaya 25 epitelyal over kanseri hastası ve 23 sağlıklı kontrol grubu dahil edilmiştir. Tablo 4.1, over kanseri tanısı alan hasta grubu ile sağlıklı kontrol grubunun demografik özelliklerini sunmaktadır. Hasta grubunun medyan yaşı 71,28 yıl, kontrol grubunun medyan yaşı ise 69,5 yıl olarak tespit edilmiştir. İki grup arasındaki yaş farkı istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p = 0,523$ ).

Sigara kullanımı açısından, hasta grubunda %52, kontrol grubunda ise %52,17 oranında sigara içme durumu gözlenmiş ve bu fark da istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p = 0,974$ ). Benzer şekilde, alkol tüketimi açısından da gruplar arasında anlamlı bir fark tespit edilmemiştir; hastalarda %40, kontrol grubunda ise %40,35 oranında alkol tüketimi görülmüştür ( $p = 0,261$ ).

Ailede kanser öyküsü, hasta grubunda %12, kontrol grubunda ise %8,70 oranında bildirilmiştir; ancak bu fark da istatistiksel olarak anlamlı değildir ( $p = 0,108$ ). Ayrıca, hormonal tedavi kullanımı (hastalarda %4, kontrol grubunda %4,35;  $p = 0,217$ ) ve benign over durumları (hastalarda %12, kontrol grubunda %4,35;  $p = 0,347$ ) açısından da anlamlı farklılıklar bulunmamaktadır. Bu istatistiksel anlamlılık eksikliği, hasta ve kontrol gruplarının tüm klinik ve demografik özellikler açısından iyi bir şekilde eşleştirildiğini ve grupların bu özellikler bakımından homojen olduğunu göstermektedir.



İncelenen tüm klinikodemografik özellikler açısından, EOC hasta grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır. Bu sonuçlar, bu özelliklerin EOC hastalığı ile anlamlı bir ilişki göstermediğini düşündürülebilir.

**Tablo 4.1.** EOC Hasta Grubu ile Kontrol Grubu Arasındaki Klinikodemografik Özelliklerin Karşılaştırılması

Özellik	EOC hasta grubu (n=25)	Kontrol grubu (n=23)	Gruplar arası p-değeri	
Yaş (median) (yıl)	71,28	69,5	p = 0,523	
Sigara, n (%)	Var	14 (53%)	12 (52%)	p = 0,974
	Yok	11 (44%)	11 (47,83%)	
Alkol, n (%)	Var	10 (40%)	9 (40%)	p = 0,261
	Yok	15 (60%)	12 (60,87%)	
Ailede kanser öyküsü, n (%)	Var	3 (12%)	2 (8,70%)	p = 0,108
	Yok	22 (88%)	21 (91,30%)	
Hormonal tedavi kullanımı, n (%)	Var	1 (4%)	1 (4,35%)	p = 0,217
	Yok	24 (96%)	22 (95,65%)	
İyi huylu yumurtalık koşulları, n (%)	Var	3 (12%)	1 (4,35%)	p = 0,347
	Yok	22 (88%)	22 (95,65%)	

#### 4.1.2. EOC hastalarının klinikopatolojik özellikleri

Çalışma popülasyonu, ortalama yaşı 71,28 yıl olan 25 epitelyal over kanseri (EOC) hastasından oluşmaktadır. Bu ileri yaş ortalaması, EOC 'nin tipik olarak menopoz sonrası kadınlarda görülmesiyle uyumludur.

Hastalar arasında sigara kullanımı eşit şekilde dağılmıştır; 13 hasta (%52) şu anda sigara içmekte veya geçmişte içmişken, 12 hasta (%48) sigara kullanmamaktadır. Sigara, EOC dahil olmak üzere çeşitli kanser türleri için bilinen bir risk faktörü olduğundan, hasta grubundaki bu yüksek prevalans dikkate değerdir.

Histolojik incelemeye göre, hastaların çoğunluğu (%36) yüksek dereceli seröz karsinom tanısı almıştır; bu, EOC 'nin en yaygın ve agresif alt tipidir. Daha az yaygın histolojik varyantları temsil eden hastaların bir kısmı ise düşük dereceli seröz karsinom (%8) veya endometrioid karsinom (%8) tanısı almıştır.

Metastatik hastalık, hastaların önemli bir kısmında görülmüştür; 5 hasta (%20) malign epitel tümör metastazlarına sahipken, 7 hasta (%28) ise diğer metastatik seröz karsinom türleri sergilemiştir. Metastazların varlığı, grubun dörtte birinden fazlasında hastalığın ileri ve agresif olduğunu göstermektedir.

Evreleme verilerine göre, hastaların çoğu (%84) ileri evre (IIIA-IV) hastalıkla başvurmuş olup, sadece 2 hasta (%8) erken evre (IA-IB) veya yerel olarak ileri evre (IIA-IIB) tanısı almıştır. Bu ileri evre hastalık dağılımı, EOC'de yaygındır; çünkü semptomlar genellikle hastalığın ilerleyen dönemlerinde ortaya çıkar, bu da tanının gecikmesine neden olur.

EOC'de önemli bir prognostik faktör olan hormonal reseptör durumu, 21 hastanın (%84) ER+/PR+ olduğunu göstermiştir ve bu, olumlu bir hormonal profilin varlığına işaret etmektedir. Dört hasta (%16) ER+/PR- durumuna sahipken, ER-/PR- olan hasta bulunmamaktadır. ER+/PR+ durumunun baskınlığı, bu hastalarda hormonal tedavi seçeneklerinin potansiyel rolünü düşündürmektedir.

Angiovasкуляр invazyon (AVI), 5 hastada (%20) tespit edilmişken, çoğunluk (%80, 20 hasta) AVI göstermemiştir. AVI göstermeyen hastaların yüksek oranı, daha az agresif bir tümör biyolojisini düşündürülebilir.

Over kapsül durumu incelendiğinde, hastaların çoğunluğunda (%76,19 hasta) kapsül sağlam kalmış, 6 hastada (%24) ise kapsül rüptüre olmuştur. Kapsül rüptürü, tümör hücrelerinin sızmasına ve yayılmasına yol açarak daha ileri bir hastalık evresine katkıda bulunabilir. Kapsülün sağlam olduğu vakaların baskınlığı, tanı anında tümörün çoğu hastada over içinde sınırlı olduğunu göstermektedir.

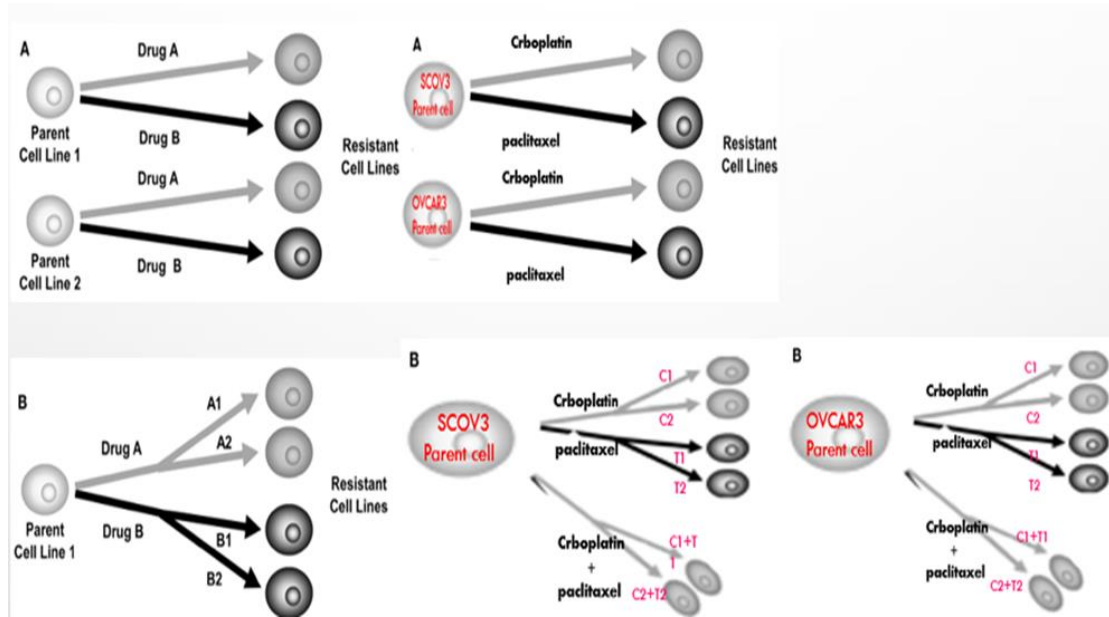
Özetle, bu EOC hasta kohortu, hastalığa özgü tipik özellikleri sergilemektedir: ortalama yaşın ileri olması, yüksek sigara kullanımı, ağırlıklı olarak yüksek dereceli seröz karsinom varlığı, önemli ölçüde metastatik hastalık görülmesi, ileri evrelerde başvuru sıklığı ve çoğu hastada olumlu bir hormonal reseptör profili bulunması gibi. Bu klinikopatolojik özellikler, bu hasta popülasyonunda hastalığın seyrini ve potansiyel tedavi sonuçlarını anlamak için değerli bir bağlam sunmaktadır (Tablo 4.2).

**Tablo 4.2.** EOC hastaların Klinikopatolojik özelliklerine ilişkin detaylı bilgiler

<b>Klinikopatolojik Özellikler</b>	Patient group (n=25)
* Ortalama Yaş	71,28
<b>Sigara İçme Durumu</b>	
* Sigara İçici	13 (52%)
* Sigara İçmeyen	12 (48%)
<b>Tümör Tipi</b>	
* Yüksek Dereceli Seröz Karsinom	9 (36%)
* Düşük Dereceli Seröz Karsinom	2 (8%)
* Endometrioid Karsinom	2 (8%)
Malign Epitel Tümör Metastazı	5 (20%)
* Diğer (Seröz Metastatik Karsinom)	7 (28%)
<b>Evre</b>	
* Erken Evre (IA-IB)	2 (8%)
* Yerel Olarak İleri Evre (IIA-IIIB)	2 (8%)
* İleri Evre (IIIA-IV)	21 (84%)
<b>Hormonal Durum</b>	
* ER+/PR+	21 (84%)
* ER+/PR-	4 (16%)
* ER-/PR-	0 (0%)
<b>Histopatolojik Durum</b>	
Angiovasiküler İnvazyon (AVI)	
* Mevcut	5 (20%)
* Yok	20 (80%)
<b>Over Kapsül Durumu</b>	
* Sağlam	19(76%)
* Ruptüre	6 (24%)
<b>Overin Etkilenmesi</b>	
* <b>Unilateral (Sol / Sağ )</b>	<b>23 (92%)</b>
* Sol	4 (16%)
* Sağ	19 (76%)
* Bilateral	2 (8%)

## 4.2. OVCAR3/ SKOV3 Hücre Hatlarında İlaç Direnci Oluşturma için En Uygun Protokolün Seçimi

Bu tezin ilk hedefi, kemoterapiye dirençli epitelyal over kanseri (EOC) hücre hatlarında hedef lncRNA'ların ifade profillerini incelemek ve bu profilleri kemoterapiye duyarlı ana hücrelerle karşılaştırmaktı. Bu hedefe ulaşmak için, 3.4.3 bölümünde ayrıntıları verilen protokol kullanılarak ilaç dirençli OVCAR3 ve SKOV3 hücre hatları geliştirildi. İlaç dirençli hücre hatlarını oluştururken bir risk azaltma tekniği olarak karşılaştırmalı seçim stratejisini tercih ettik (McDermott, 2014). Bu strateji, tek bir seçeneğe odaklanmak yerine, aynı anda birden fazla hücre hattı (alt hatlar dahil) ve ilaç kombinasyonunu test etmeyi içerir. Şekil 4.1, ilaç dirençli hücre hatlarını oluşturmak için kullanılan karşılaştırmalı seçim stratejisinin iki ana yaklaşımını göstermekte olup, bu yöntem topladığımız verilerle uyumlu bulunmuştur.



**Şekil 4.1.** İlaç Dirençli Hücre Hatlarının Karşılaştırmalı Seçimi, (A) Birden Fazla Hücre Hattı ve İlaçlar: Bu yaklaşım, iki farklı ana hücre hattı (OVCAR3 ve SKOV3) kullanmayı ve bunları iki farklı kemoterapötik ilaca (Karboplatin ve Paklitaksel) maruz bırakmayı içerir. Bu, her biri belirli bir ilaca dirençli dört benzersiz ilaç dirençli "kız" hücre hattının ortaya çıkması beklenmektedir. (B) Tek Hücre Hattı ile Farklı Tedaviler: Bu yaklaşım, tek bir ana hücre hattına (ya OVCAR3 ya da SKOV3) odaklanmaktadır. Ancak, bu hücre hattı birden fazla ilaç tedavisi varyasyonuna maruz kalacak ve aldığı tedaviye göre her biri belirli bir ilaç veya ilaç kombinasyonuna dirençli dört farklı ilaç dirençli kız hücre hattı üretmesi beklenmektedir. Karboplatinin farklı dozları (C1, C2, C3) /Paklitakselin farklı dozları (T1, T2, T3)/ Karboplatin ve Paklitaksel kombinasyonları, farklı tedavi aralıklarında (CT1, CT2, CT3), (Mcdermott, 2014 ' ten uyarılmış).

### 4.3. OVCAR3/SKOV3 Ana Hücrelerinde Doz Optimizasyonu

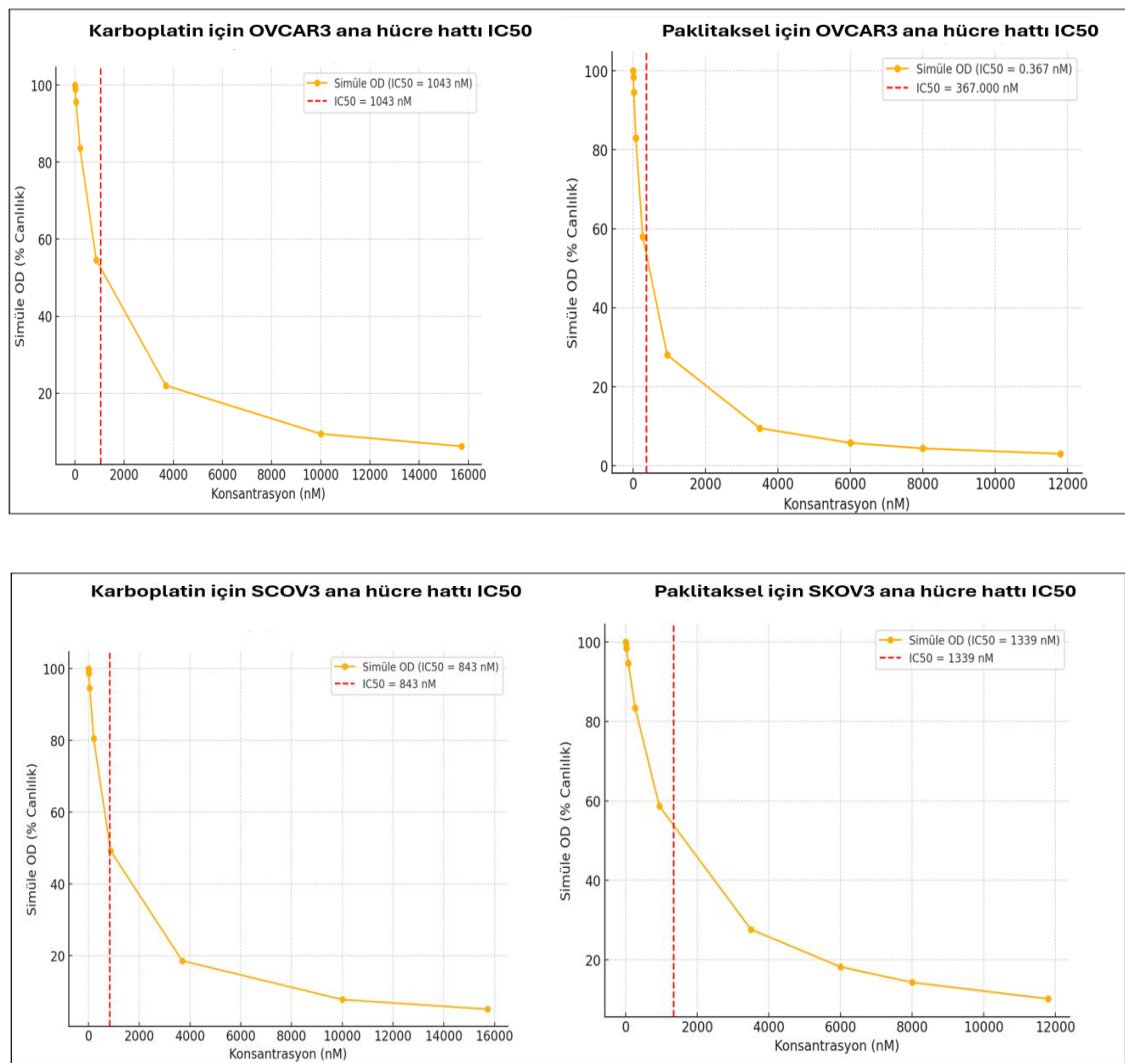
Klinik olarak anlamlı karboplatin/paklitaksel dirençli OVCAR3/SKOV3 hücre hatlarının oluşturulabilmesi için ilaç konsantrasyonları, bu ilaçların farmakokinetik profillerine uygun şekilde kademeli olarak artırılmıştır (Mcdermott, 2014). Karboplatin ve paklitaksel, over kanseri tedavisinde genellikle intravenöz (IV) olarak kombinasyon rejimi şeklinde uygulanmaktadır.

Standart bir tedavi protokolü, 1. günde intravenöz olarak uygulanan Karboplatin (AUC 5-6) ve 3 saatlik infüzyon süresi boyunca intravenöz olarak verilen Paklitaksel (175 mg/m<sup>2</sup>) kombinasyonunu içermektedir. Bu tedavi rejimi, her 21 günde bir olmak üzere düzenli aralıklarla tekrarlanmaktadır (Akin vd 2014). AUC 6 alan over kanseri hastalarında karboplatin için bildirilen medyan pik plazma konsantrasyonu 22,8 µg/ml olup, medyan sabit durum dip konsantrasyonu ise 1,1 µg/ml'dir ve 0,7-1,9 µg/ml aralığında değişmektedir (Akin vd 2014). Kullanılan karboplatin çözeltisi 50 mg/5 ml konsantrasyona sahiptir ve bu da 10 mg/ml'ye eşdeğerdir. Bu veriler ışığında, OVCAR3 hücreleri için karboplatin doz aralığı 2,3-18,5 µg/ml, SKOV3 hücreleri için ise 0,7-2 µg/ml olarak belirlenmiştir. Direnç geliştirmek için optimal karboplatin doz aralığı, OVCAR3 için yaklaşık 10-15 µg/ml ve SKOV3 için 1-1,5 µg/ml olarak kabul edilmiştir.

Paklitaksel için klinik formülasyon olan 100/17 ml, 5,8 mg/ml konsantrasyona sahip solüsyon kullanılmıştır. Test edilen paklitaksel doz aralığı hem OVCAR3 hem de SKOV3 hücreleri için 2,3-100 ng/ml olarak belirlenmiştir. Direnç geliştirmek amacıyla optimal paklitaksel doz aralığı 20-50 ng/ml olarak kabul edilmiştir. Bu doz optimizasyonu, hücre ölümüne neden olmadan dirençli hücrelerin seçilmesi için yeterli ilaç baskısını sağlamaktadır (Mcdermott, 2014).

Karboplatin ve paklitakselin yukarıda belirtilen farmakokinetik özellikleri göz önüne alındığında, sürekli seçim stratejisi, bu kombinasyon rejimleri için klinik anlamda önemlidir. İlaç stratejilerinin başlangıç dozlarında önemli varyasyonlar görülmüştür; birçok çalışma, düşük bir ilaç dozu ile başlayarak maksimum doza kadar artırma yoluna gitmiştir (Aird vd 2011). Diğer bazı çalışmalarda ise ilaçların sabit konsantrasyonları kullanılmış ve 3 ila 10 µM arasında değişen dozlar uygulanmıştır (Martin vd 2008). Bu çalışmada, dirençli over kanseri hücre hatları oluşturmak amacıyla OVCAR3/SKOV3 hücre hatlarında karboplatin ve paklitaksel dozlamasını optimize etmek için doz-yanıt

denemeleri yapılmıştır. Karboplatin konsantrasyonları 2,64-15,78  $\mu\text{M}$  arasında, paklitaksel konsantrasyonları ise 6- 11,8  $\mu\text{M}$  arasında test edilmiştir. Optimal ilaç konsantrasyonları, %50 büyüme inhibisyonu sağlayacak şekilde belirlenmiştir. Karboplatin için IC50 değeri ( $1,43 \pm 0,03 \mu\text{M}$  /  $0,843 \pm 0,05 \mu\text{M}$ ), paklitaksel için (IC50  $0,367 \pm 0,02 \mu\text{M}$  /  $1,339 \pm 0,03 \mu\text{M}$ ) olarak tespit edilmiştir (Tablo 4.4). Bu konsantrasyonlar, sürekli maruziyet ve her dört günde bir ortam yenilemesi ile karboplatin/paklitaksel dirençli OVCAR3/SKOV3 hücre hatlarını oluşturmak için kullanılmıştır. Böylece, over kanseri hastalarında klinik olarak anlamlı ilaç maruziyetinin taklit edilmesi sağlanmıştır.



**Şekil 4.2.** OVCAR3/ SKOV3 Parental Hücre Hatları için Doz-Yanıt Deneyi. Doz- Yanıt eğrisi, IC50 değerlerini kırmızı kesik çizgi ile işaretleyerek göstermektedir. Bu işaret, ilacın hücre canlılığını %50 oranında inhibe ettiği konsantrasyonu belirtir.

OVCAR3 ve SKOV3 hücreleri, her biri ayrı olarak iki farklı flaska, 75 cm<sup>2</sup>'lik yüzey alanı başına  $1 \times 10^6$  hücre yoğunluğuyla ekildi. Bir flask, kontrol grubu olarak

ayrıldı, herhangi bir tedavi uygulanmadı ve OVCAR3-par/SKOV3-par olarak adlandırıldı; diğer flask ise tedaviye tabi tutuldu. Tedavi grubundaki hücelere, optimize edilmiş dozlara göre ilaç uygulaması gerçekleştirildi (Tablo 4.3).

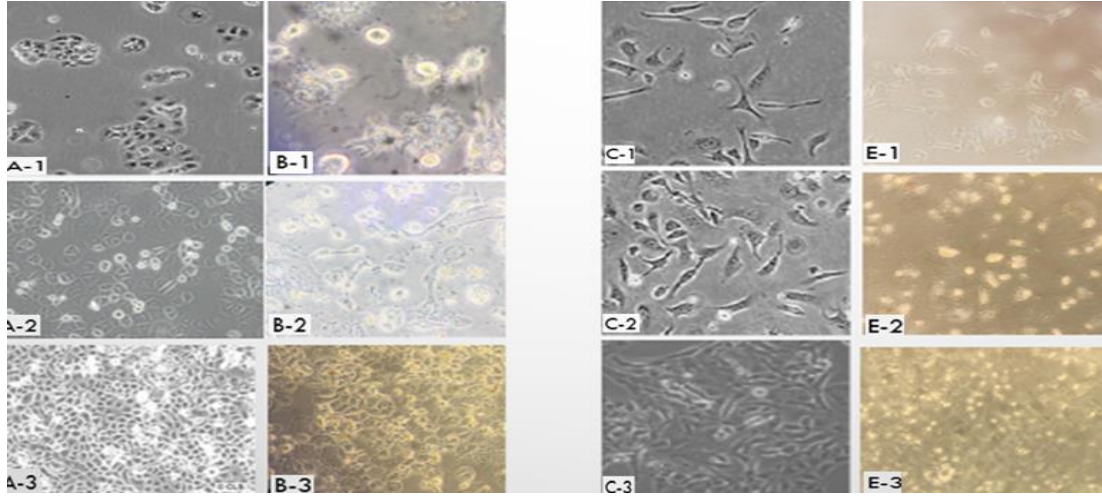
**Tablo 4.3.** Çalışmada Dirençli Hücrelerin türevleri

OVCAR3		
OVCAR3-R-C	OVCAR3-R-TAX	OVCAR 3- R-COM
SKOV3		
SKOV3-R-C	SKOV3-R-TAX	SKOV 3- R-COM

#### 4.4. OVCAR3/ SKOV3 Hücre Hatlarında Karboplatin/Paklitaksel Direncinin İndüksiyonu

Tedavinin ilk iki ayında, OVCAR3/SKOV3 dirençli hücre hatlarının büyüme alanı ve morfolojisi, OVCAR3/SKOV3 ana hücre hatlarına kıyasla değişiklik göstermeye başladı. Büyüme hızı yavaşladı, hücre hacmi arttı ve hücreler sinapslar kayboldu (Şekil 4.3). Doz toksisitesi açısından, OVCAR3/SKOV3-par hücreleri için karboplatin/paklitaksel IC50 değerleri, orijinal tedavi edilmemiş hücrelerle benzerdi; Karboplatin için IC50 değeri ( $1,43 \pm 0,03 \mu\text{M}$  /  $0,843 \pm 0,05 \mu\text{M}$ ), paklitaksel için ( $0,367 \pm 0,02 \mu\text{M}$  /  $1,339 \pm 0,03 \mu\text{M}$ ) olarak tespit edilmiştir ancak, OVCAR3/SKOV3-R hücreleri için karboplatin ve paklitaksel IC50 değerlerinde, dirençte yeterli bir değişiklik gözlemlenmedi (Şekil 4.4).

Dört aylık sürekli ilaç maruziyetinin ardından, OVCAR3-R ve SKOV3-R hücrelerinde karboplatin IC50 değeri sırasıyla  $1,41 \pm 0,05 \mu\text{M}$  ve  $1,09 \pm 0,03 \mu\text{M}$ 'ye, paklitaksel IC50 değeri ise  $1,923 \pm 0,07 \mu\text{M}$  ve  $1,712 \pm 0,04 \mu\text{M}$ 'ye yükselmiştir. Bu durum, ana hücre hatlarına kıyasla karboplatin ve paklitaksele karşı belirgin bir direnç artışı olduğunu göstermektedir. IC50 değerlerindeki başlangıç artışı, hedeflenen direnç gelişimini işaret etmekle birlikte, tedavi dozunun artırılmasını gerektirecek düzeyde yeterli bulunmamıştır. Bununla birlikte, aktif olarak çoğalan OVCAR3-R ve SKOV3-R hücreleri, ilaçlara uyum sağladıklarını ve direnç mekanizmaları geliştirdiklerini ortaya koymaktadır. Bu nedenle, tedavi rejiminde karboplatin ve paklitaksel konsantrasyonları artırılarak iki ay boyunca daha yüksek düzeyde direnç indüklenmiştir.



**Şekil 4.3.** OVCAR3/SKOV3 Hücrelerinde İlaç Direnci Sırasındaki Morfolojik Değişiklikler: Hücrelerin genel morfolojisi, faz kontrast mikroskobu (40x MD) kullanılarak analiz edilmiştir. (A) OVCAR3-Par ve (B) OVCAR3-R hücrelerinin morfolojik geçişleri 2. ayda (A-1, B-1), 4. ayda (A-2, B-2) ve 6. ayda (A-3, B-3) gözlemlenmiştir. (C) SKOV3-Par ve (E) SKOV3-R hücrelerinin morfolojik geçişleri ise 1. günde (C-1, E-1), 90. günde (C-2, E-2) ve 180. günde (C-3, E-3) izlenmiştir.

#### 4.5. OVCAR3-R/SKOV3 Hücre Hatlarında İlaç Direncinin Onaylanması

Altıncı ayın sonunda karboplatin ve paklitaksel tedavisi sonrası hücre duyarlılığı tekrar değerlendirilmiştir. OVCAR3/SKOV3-par hücrelerinde karboplatin ve paklitaksel için IC50 değerleri sabit kalırken, OVCAR3-R/SKOV3-R hücrelerinde IC50 değerlerinde önemli bir artış gözlemlenmiştir (Şekil 4.4).

Karboplatin ile tedavi edilen OVCAR3 hücreleri başlangıçta  $1,043 \pm 0,03 \mu\text{M}$  IC50 değerine sahipken, bu değer 6 ay sonunda  $3,391 \pm 0,03 \mu\text{M}$ 'ye yükselmiştir. Bu artış, hücrelerin karboplatin tedavisine karşı direnç kazandığını ve ilacın etkisini kaybettiğini göstermektedir. Direnç, 6 ay sonunda yaklaşık 3,258 kat artmıştır.

Paklitaksel ile tedavi edilen OVCAR3 hücrelerinde ise daha belirgin bir direnç artışı gözlemlenmiştir. Başlangıçta  $0,367 \pm 0,02 \mu\text{M}$  olan IC50 değeri, 6 ay sonunda  $8,735 \mu\text{M}$ 'ye yükselmiştir. Bu, paklitaksele karşı 23,764 katlık bir direnç artışı anlamına gelir.

Karboplatin ile tedavi edilen SKOV3 hücrelerinde de benzer bir direnç artışı gözlemlenmiştir. Başlangıçta  $0,843 \pm 0,05 \mu\text{M}$  olan IC50 değeri, 6 ay sonunda  $2,399 \pm 0,02 \mu\text{M}$ 'ye çıkmıştır. Bu da 2,832 katlık bir direnç artışını ifade eder. OVCAR3 hücrelerine



göre daha düşük bir direnç artışı olsa da SKOV3 hücreleri de Karboplatin'e karşı zamanla daha dirençli hale gelmiştir.

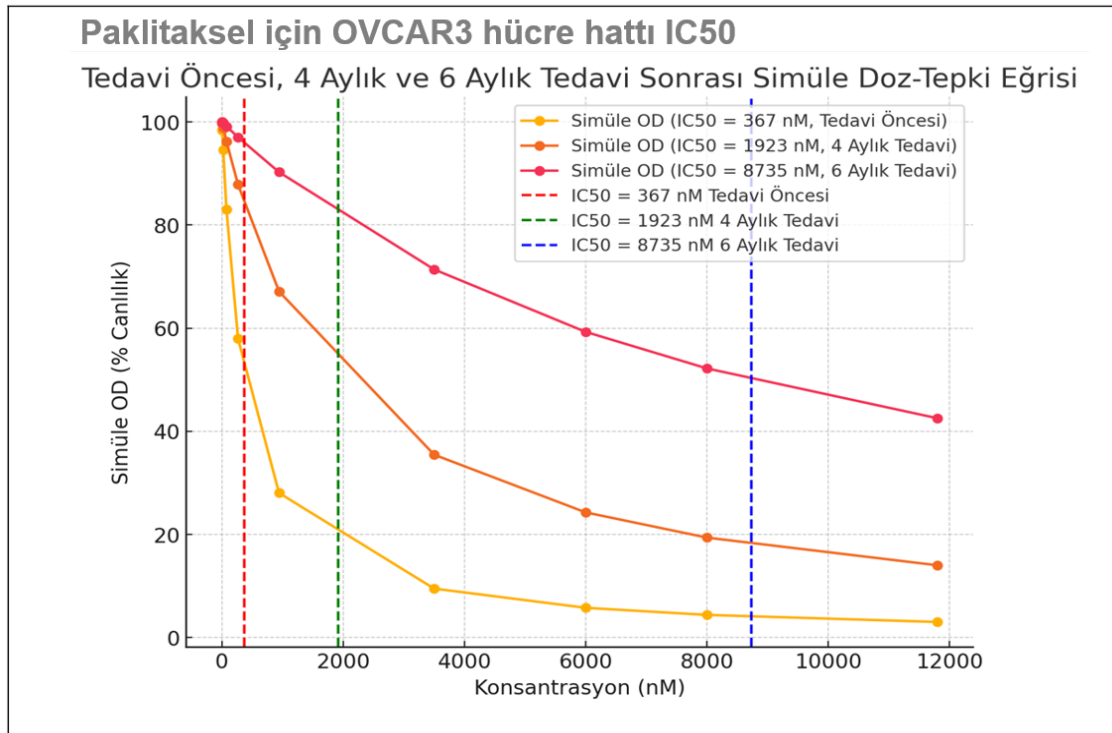
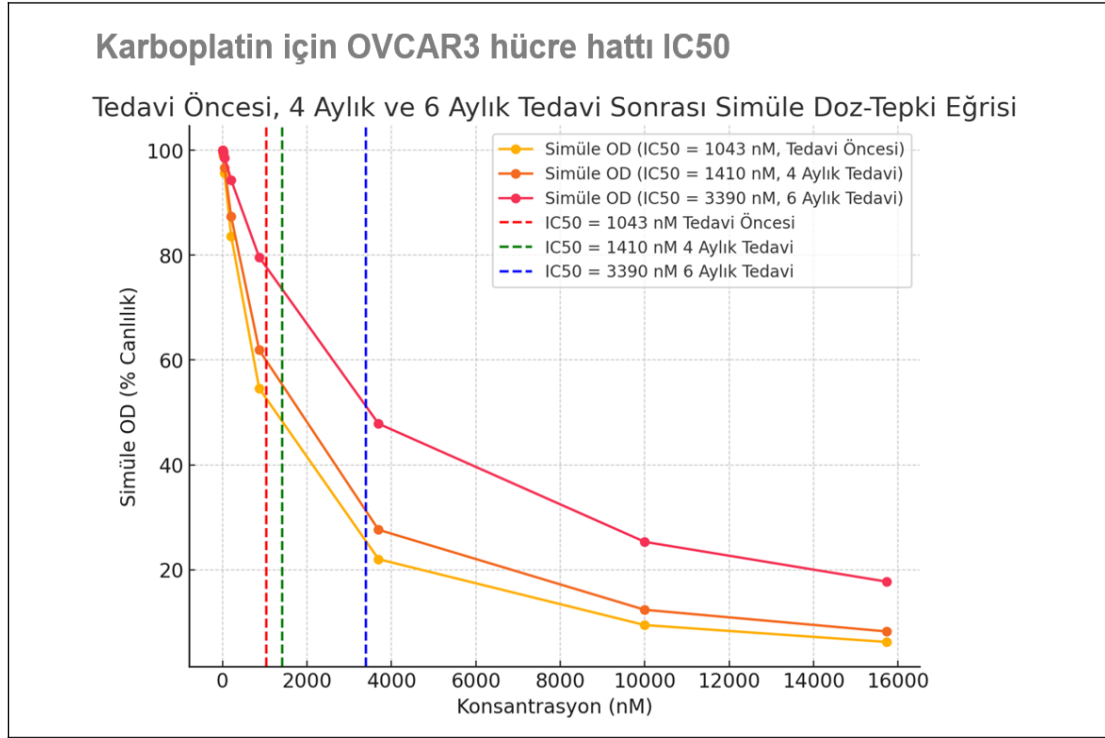
Paklitaksel ile tedavi edilen SKOV3 hücrelerinde ise başlangıç IC50 değeri  $1,339 \pm 0,03 \mu\text{M}$  iken, 6 ay sonunda bu değer  $2,735 \pm 0,03 \mu\text{M}$ 'ye yükselmiştir. Paklitaksele karşı direnç artışı 2,453 kat olarak kaydedilmiştir. Bu, SKOV3 hücrelerinin paklitaksele karşı OVCAR3 hücrelerine kıyasla daha yavaş bir direnç geliştirdiğini gösterir.

Bu bulgular, hücre hatlarının zaman içinde her iki ilaca karşı direnç geliştirdiğini ve özellikle paklitaksel direncinin oldukça yüksek olduğunu göstermektedir. Bu sonuçlar, tedavi stratejilerinde değişiklik yapılması gerektiğini ve ilaca dirençli hücre hatlarının oluşturulması sürecinin başarılı bir şekilde gerçekleştirildiğini göstermektedir (Tablo 4.4).

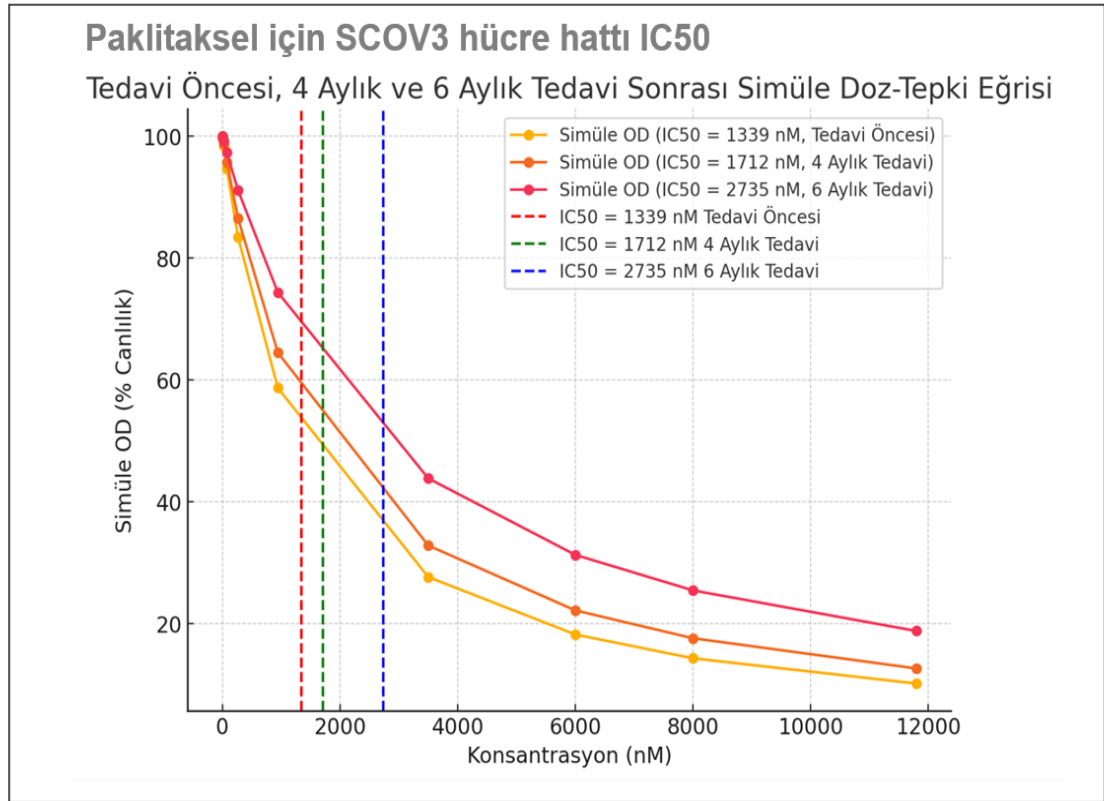
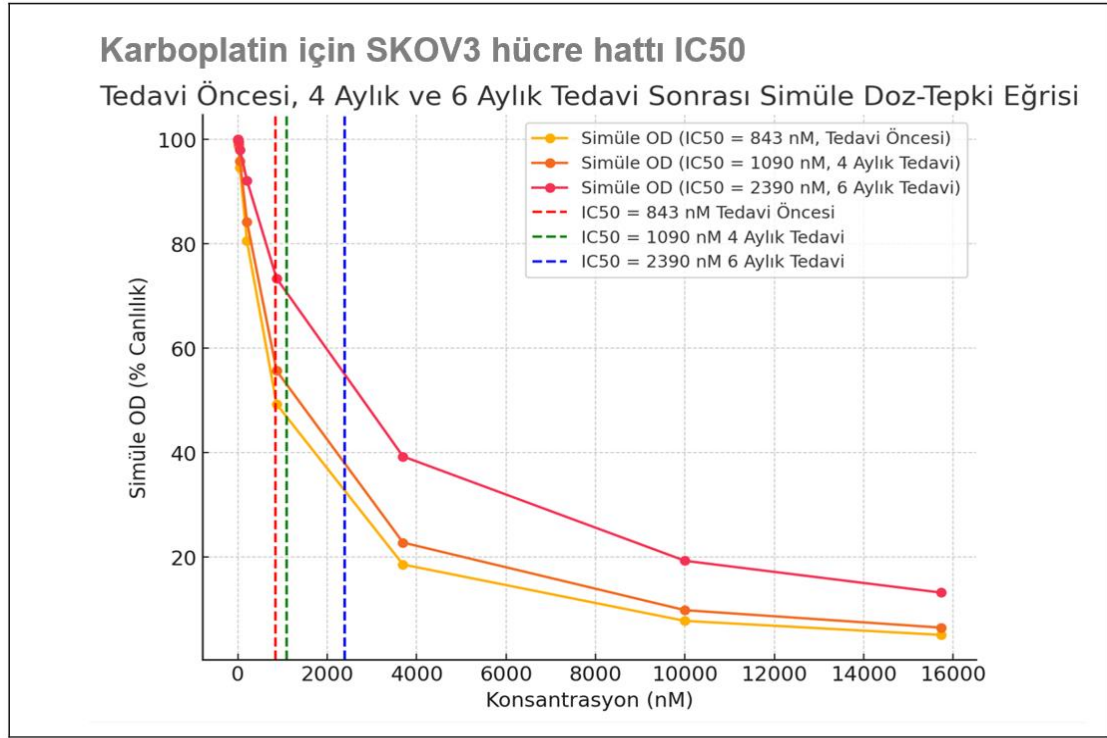
**Tablo 4.4.** Hücre Hatlarının IC50 Değerleri. Tablo 'da sunulan veriler, OVCAR3 ve SKOV3 hücre hatlarının karboplatin ve paklitaksele karşı gösterdikleri direnç seviyelerini zaman içinde gösteren IC50 değerlerini ve bu dirençteki artış miktarını özetlemektedir.

Dirençli Hücreler	0. Ay IC50	2. Ay IC50	4. Ay IC50	6. Ay IC50	Artış Miktarı (kat)
Karboplatin OVCAR3	1,043 $\mu\text{M}$	1,043 $\mu\text{M}$	1,41 $\mu\text{M}$	3,39 $\mu\text{M}$	3,258
Paklitaksel OVCAR3	0,367 $\mu\text{M}$	0,367 $\mu\text{M}$	1,923 $\mu\text{M}$	8,735 $\mu\text{M}$	23,764
Karboplatin SKOV3	0,843 $\mu\text{M}$	0,843 $\mu\text{M}$	1,09 $\mu\text{M}$	2,399 $\mu\text{M}$	2,832
Paklitaksel SKOV3	1,339 $\mu\text{M}$	1,339 $\mu\text{M}$	1,712 $\mu\text{M}$	2,735 $\mu\text{M}$	2,453

Direnç indüksiyonu sürecinde, hücre morfolojisi, canlılık ve büyüme kinetiğinin izlenmesi, hücrelerin yalnızca geçici bir tolerans değil, kalıcı bir direnç geliştirdiğinden emin olmak için kritik öneme sahiptir (Bicak vd 2012). Bu çalışmada, OVCAR3/SKOV3 over kanseri hücrelerinde ilaç direncinin gelişimi, belirgin koloni sınırları, kompakt sferoid yapı ve ana hücrelere kıyasla daha büyük hacimli ve yayvan morfoloji ile kendini göstermiştir (Şekil 4.6). Bu spesifik özellikler, epitel-mezenkimal geçiş (EMT) benzeri bir sürece işaret etmekte olup, hücre-hücre ve hücre-dışı matriks etkileşimlerindeki artışla ilişkili olabilir (Wang vd 2019)



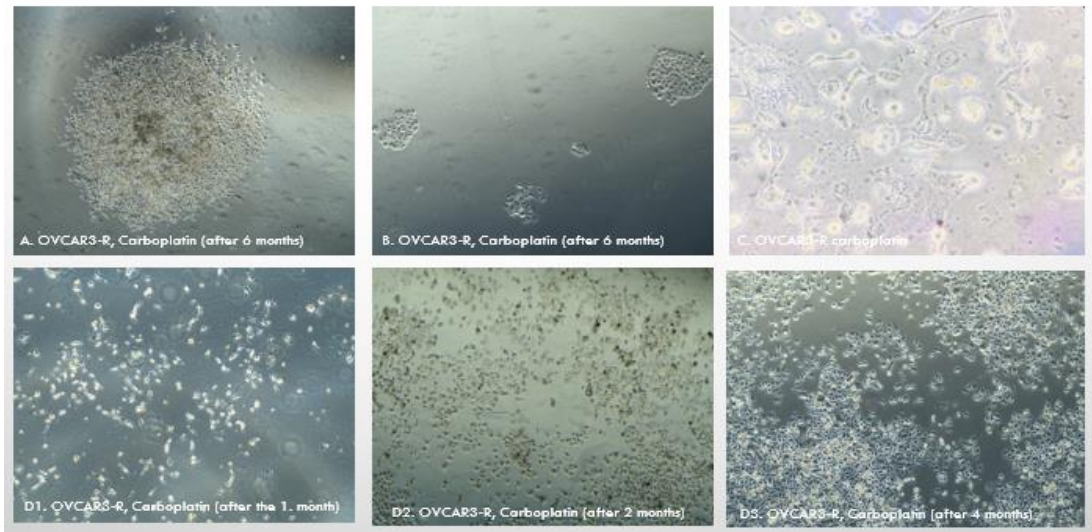
**Şekil 4.4.** OVCAR3 Hücre Hatlarının Karboplatin ve Paklitaksel Direnci için tedavi öncesi, 4 ve 6 Aylık IC50 Değerlerinin Karşılaştırılması. Direnç geliştirilmiş hücre hatlarında hem karboplatin hem de paklitaksel için IC50 değerlerinde belirgin bir artış olduğunu ortaya koymaktadır.



**Şekil 4.5.** SCOV3 Hücre Hatlarının Karboplatin ve Paklitaksel Direnci için tedavi öncesi, 4 ve 6 Aylık IC50 Değerlerinin Karşılaştırılması. Direnç geliştirilmiş hücre hatlarında hem karboplatin hem de paklitaksel için IC50 değerlerinde belirgin bir artış olduğunu ortaya koymaktadır.

#### 4.6. Hücre Kültüründe İlaç Direnci Fenotipinin Sürdürülmesi

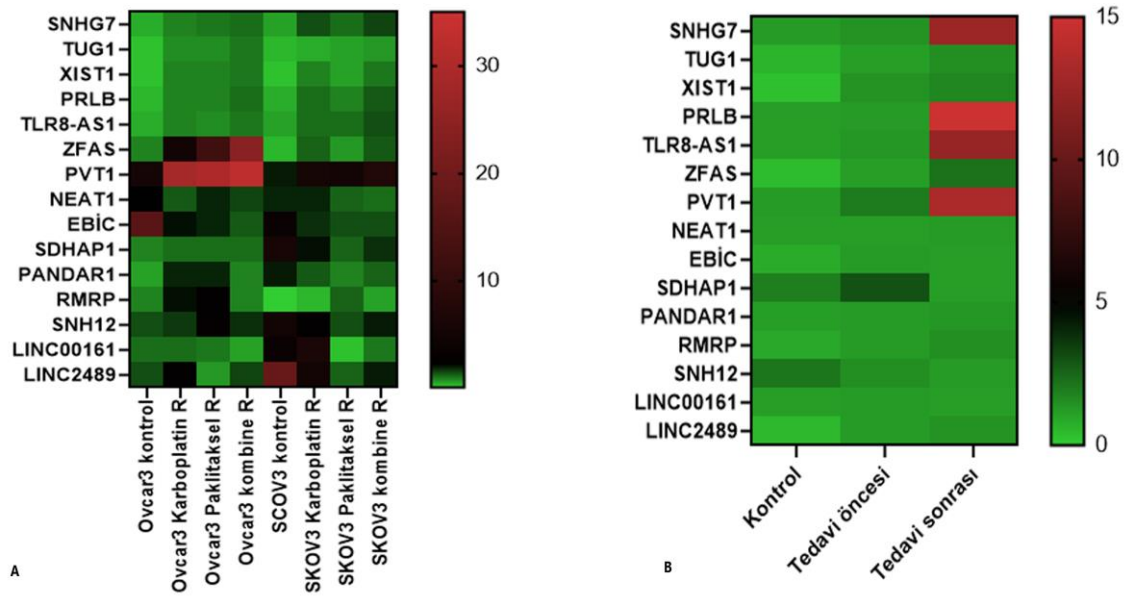
İlaç direnci oluşturulduktan sonra, bu dirençli durumun kalıcılığını değerlendirmek önemlidir. Dirençli fenotipin sürekli stabilitesini doğrulamak amacıyla, dondurulmuş stoklardan ilaç dirençli fenotipin yeniden elde edilmesi sağlanmıştır. Bu aşamada, ilaç dirençli hücrelerin, dondurulup çözüldükten sonra dirençli özelliklerini koruyabilme yeteneği, bu hücre hattının deneysel model olarak kullanılabilirliğini belirleyen kritik bir faktördür. Eğer dirençli özellik, hücrelerin dondurulup çözülmesi sonrasında kaybolur, büyük ölçüde azalır veya dondurma-çözme döngüsünü istikrarlı bir şekilde sürdüremezse, modelin laboratuvar uygulamaları için kullanılabilirliği tehlikeye girebilir (McDermott 2014). Bu nedenle, OVCAR3/SKOV3-R hücre hatlarında ilaç dirençli fenotipin stabilitesi, dondurma-çözme döngüsü uygulanarak test edilmiştir. Çözme sonrası, hücrelerin dirençli fenotipi koruduğu, tutarlı morfolojik özellikler ve değişmeyen karboplatin/paklitaksel IC50 değerleri ile doğrulanmıştır.



**Şekil 4.6.** Dirençli hücre hattında karboplatin direncinin geliştirilmesi sırasında gözlemlenen morfolojik değişiklikleri. Karboplatin'e direnç kazandırma sürecinde hücrelerin morfolojisinde önemli farklılıklar ortaya çıkmıştır. Şekil A: Karboplatin'e karşı 6 aylık tedavi süresi sonunda OVCAR3-R hücrelerinde belirgin koloni sınırları görülmektedir. Bu durum, hücrelerin tedaviye uyum sağladığını ve karboplatin direncini kazandığını göstermektedir. Koloni sınırlarının belirginleşmesi, hücre-hücre etkileşimlerinin artmasıyla ilişkilidir. Şekil B: Karboplatin'e karşı 6 aylık tedavi süresi sonunda OVCAR3-R hücrelerinde koloni sinapsının kaybolduğu gözlemlenmiştir. Sinaps kaybı, hücrelerin daha invaziv bir fenotipe geçiş yapmasıyla ilişkilendirilir. Şekil C: Karboplatin'e direnç geliştirmiş OVCAR3-R hücrelerinde hücre hacminin belirgin bir şekilde arttığı görülmektedir. Bu, hücrelerin tedaviye adaptasyon sürecinde boyut ve hacim değişiklikleri yaşadığını göstermektedir, bu durum genellikle hücre metabolizmasındaki değişikliklere işaret eder. Şekil D1, D2 ve D3: Karboplatin'e direnç geliştiren OVCAR3 hücrelerinde, direnç indüksiyonunun farklı aşamalarındaki (1 ay, 2 ay ve 4 ay) büyüme hızları gösterilmektedir. Bu mikro grafiler, direnç indüksiyon sürecinin başlangıcında (D1) hücrelerin yavaş bir büyüme hızı sergilediğini, ancak sürecin ilerlemesiyle birlikte (D2 ve D3) hücrelerin büyüme hızında bir artış olduğunu göstermektedir.

#### 4.7. Kemoterapi Dirençli ve Ana OC Hücre Hatları Arasında lncRNA İfade Profillerinin Karşılaştırılması

Bu çalışmada, epitelyal yumurtalık kanserinde kemoterapi direncine katkıda bulunması muhtemel 15 seçilmiş lncRNA'nın ifade seviyelerinin analizi hedeflenmiştir. Bu amacı gerçekleştirmek için, karboplatin ve paklitakसेle dirençli OVCAR3-R ve SKOV3-R hücre hatları üzerinde ters transkripsiyon kuantitatif PCR (RT-qPCR) analizi uygulanmıştır (Şekil 4.8/A). Kemoterapiye dirençli hücre hattı alt tiplerinde, ana hücrelerle karşılaştırıldığında farklı ifade kalıpları gözlemlenmiştir. Seçilen 15 lncRNA'dan sekizi (SNHG7, TUG1, XIST, PRLB, TLR8-AS1, ZFAS1, PVT1, RMRP), ana hücelere kıyasla OVCAR3-R ve SKOV3-R hücre hatlarında anlamlı derecede artmış ifade profilleri göstermiştir ( $P < 0,001$ ). Ancak, kalan yedi lncRNA dirençli hücre alt tiplerinde anlamlı bir ifade değişikliği göstermemiştir.



**Şekil 4.7.** Farklı lncRNA'ların farklı kanser hücre hatlarında ve tedavi koşullarında ekspresyon düzeylerindeki değişiklikleri. Heatmap A: Over kanseri hücre hatları OVCAR3 ve SKOV3'te, karboplatin ve paklitaksel direncine sahip hücreler (R) ve kombine tedavi sonrası hücreler arasında çeşitli lncRNA'ların ekspresyon düzeylerini göstermektedir. Heatmap B: Tedavi öncesi ve sonrası, lncRNA'ların ekspresyon değişikliklerini göstermektedir. Kontrol grubu, tedavi öncesi ve tedavi sonrası örneklerle karşılaştırılmıştır. Kırmızı renkler yukarı regülasyonu, yeşil renkler ise aşağı regülasyonu ifade eder.

#### **4.8. Kemoterapiye dirençli EOC hastalarının serumlarındaki lncRNA ifade profillerinin, kontrol grubuyla karşılaştırılması**

Epitelyal yumurtalık kanserinde kemoterapi direnci ile ilişkili lncRNA'ların farklı ifade seviyelerini değerlendirmek amacıyla, 25 EOC hastasından kemoterapi öncesinde (Pre-CT) ve kemoterapiden 6 ay sonra (Post-CT) alınan serum örnekleri ile 23 sağlıklı kontrol bireyinin serum örnekleri üzerinde RT-qPCR analizi gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada, EOC'de kemoterapi direnci ile ilişkili olduğu bilinen belirli lncRNA'ların ekspresyon seviyeleri tespit edilmiş ve GAPDH içsel kontrol olarak kullanılarak normalizasyon yapılmıştır. Analiz sonucunda, hedef lncRNA'lar, hasta serumlarındaki ve hücre kültürü çalışmalarındaki ekspresyon profillerine dayanarak üç kategoriye ayrılmıştır ve analiz sonucunda, anlamlı olarak farklı ekspresyon gösteren lncRNA'lar için tek yönlü varyans (One-way ANOVA) analizi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen bulgulara dayanarak lncRNA'lar üç gruba ayrılmıştır: 1) Hem hasta serumunda hem de hücre kültürü çalışmalarında anlamlı ifade profilleri sergileyen lncRNA'lar (Şekil 4.8). 2) Hasta serumunda anlamlı değişiklikler gösteren ancak hücre kültürü çalışmalarında belirgin bir değişim göstermeyen lncRNA'lar. 3) Hem hasta serumunda hem de hücre kültürü çalışmalarında anlamlı değişiklik göstermeyen lncRNA'lar.

##### **4.8.1. Hastaların Serumunda ve Dirençli Hücre Hatlarında LncRNA'ların Artan İfade Seviyesi**

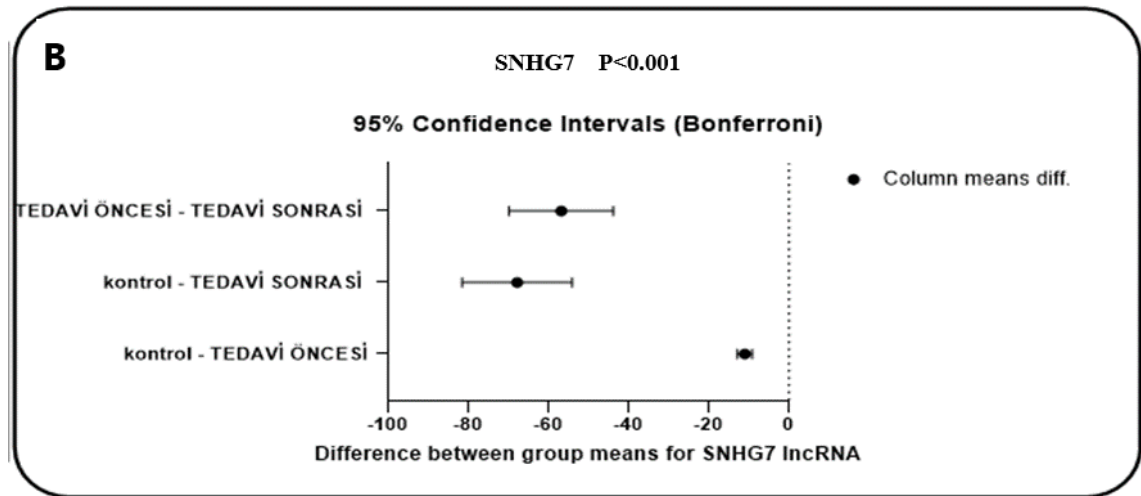
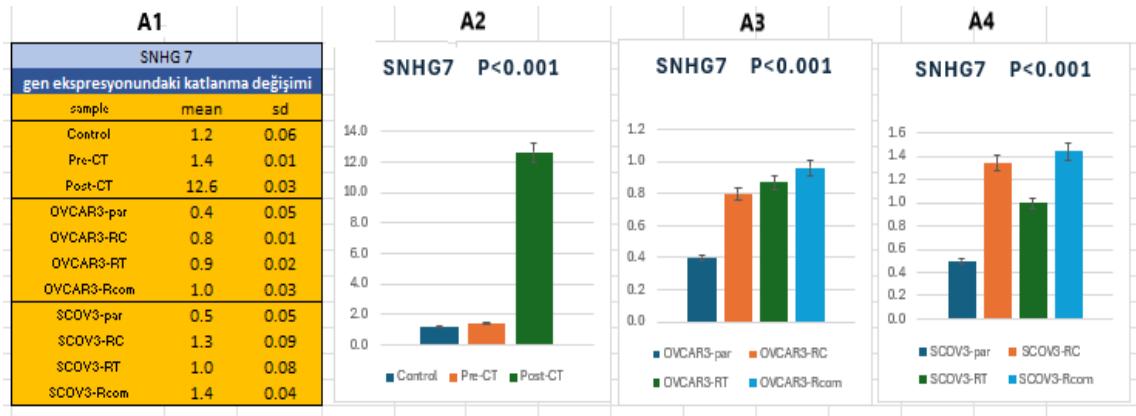
Farklı örnekler arasında değişkenlik gösteren ilk lncRNA SNHG7'dir. Kontrol örneklerinde, ortalama SNHG7 ifadesi  $2,00 \pm 0,06$  olarak saptanmış ve düşük bir varyasyonla gözlemlenmiştir. Hasta örneklerinde ise SNHG7 ifadesinde daha geniş bir aralık tespit edilmiştir: Kemoterapi öncesi örneklerde ortalama  $13,0 \pm 0,01$  iken, kemoterapi sonrası örneklerinde  $69,9 \pm 0,03$  olarak belirlenmiştir (Şekil 4.9 A1/A2).

OVCAR3 hücre hattında, ana hücreler (OVCAR-par) ortalama  $0,4 \pm 0,05$  SNHG7 ifadesine sahiptir. Karboplatin dirençli OVCAR3 hücre hatları (OVCAR3-R-C) ise ortalama  $0,8 \pm 0,01$  ile daha düşük bir değere sahiptir. Paklitaksel dirençli OVCAR3 hücre hatları (OVCAR3-R-PTX) ortalama  $0,9 \pm 0,02$  bir değere sahipken, karboplatin ve



paklitaksel kombinasyonu ile tedavi edilen hücreler (OVCAR3-R-COM) ortalama  $1,0 \pm 0,03$  ile en yüksek değeri göstermiştir (Şekil 4.9 A1/A3).

SCOV3 hücre hattında, ana hücreler (SCOV3-par) ortalama  $0,5 \pm 0,05$  SNHG7 ifadesine sahipken, karboplatin ile tedavi edilen hücreler (SCOV3-R-C) ortalama  $1,3 \pm 0,09$  ile en yüksek değeri göstermiştir. Paklitaksel ile tedavi edilen hücreler (SCOV3-R-PTX) ortalama  $1,0 \pm 0,08$  bir değere sahipken, kombinasyon tedavisi uygulanan hücreler (SCOV3-R-COM) ortalama  $1,4 \pm 0,04$  bir değere ulaşmıştır (Şekil 4.9 A1/A4).



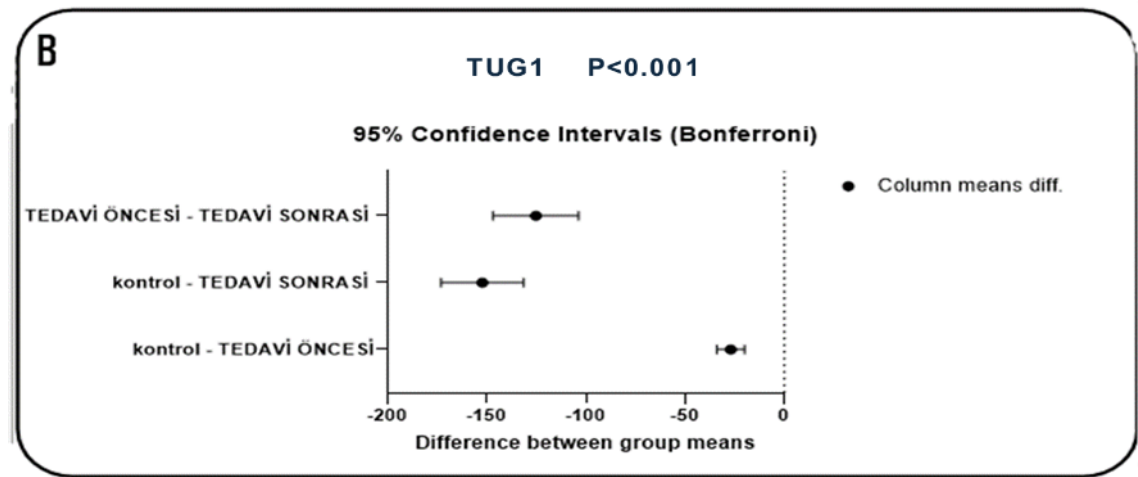
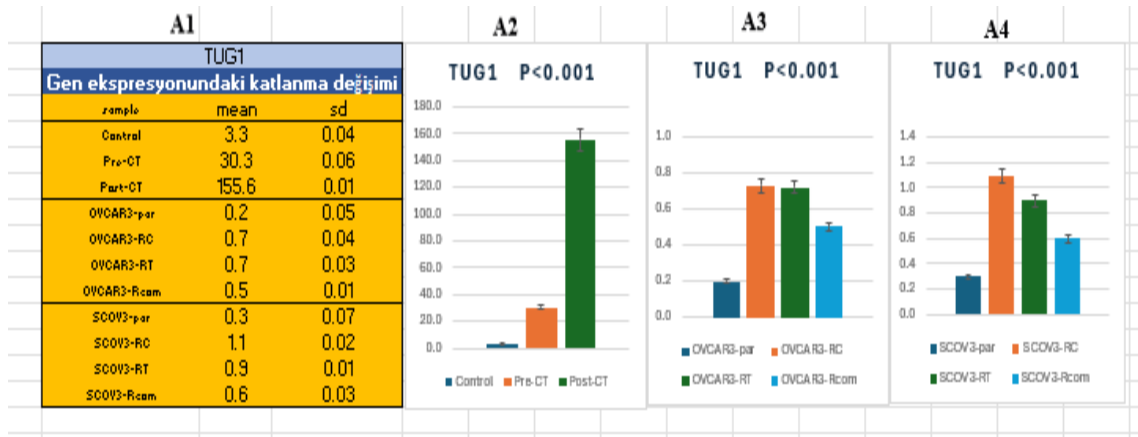
**Şekil 4.8.** Tedavi Öncesi, Tedavi Sonrası ve Kontrol Grupları ile Dirençli Hücre Hatlarında SNHG7 lncRNA Ekspresyon Seviyelerinin Karşılaştırılması. A) PFAFFI yöntemiyle hesaplanan SNHG7 kat değişim ifade seviyeleri. A1 ve A2 grafikte özellikle kemoterapi sonrası hasta serumlarında SNHG7 gen ekspresyonunda belirgin bir artış gözlemlenmiştir B) One-way ANOVA ve Bonferroni Düzeltmeli %95 Güven Aralıkları.

Lnc'RNA TUG1, örnekler arasında değişken ifade seviyeleri göstermektedir. Kontrol grubundaki TUG1'in ortalama ifade seviyesi  $3,3 \pm 0,04$ 'tür. Bu, kontrol örnekleri arasında orta düzeyde bir değişkenlik olduğunu göstermektedir. Kemoterapi öncesi örneklerde TUG1 ifadesi ortalama  $30,3 \pm 0,04$ 'e yükselmiştir. Bu, TUG1'in tedavi öncesinde kontrol grubuna kıyasla yukarı regüle edilmiş olabileceğini düşündürmektedir. Kemoterapi sonrası ise TUG1'in ortalama ifade seviyesi  $155,6 \pm 0,04$ 'e daha da artmıştır. Kemoterapi önceden kemoterapi sonrası'ya olan bu artış, TUG1 ifadesinin kemoterapi tedavisinin ardından daha da arttığını göstermektedir; ancak daha yüksek standart sapma, bu aşamada hastalar arasında ifade seviyelerinde daha büyük bir değişkenlik olduğunu işaret etmektedir (Şekil 4.10 A1/A2).

OVCAR3 ana hücrelerinde (OVCAR3-par), TUG1 ifadesi  $0,2 \pm 0,05$  ile düşük seviyededir, bu da hücrelerin minimal TUG1 ifadesine sahip olduğunu göstermektedir. OVCAR3 dirençli hücre hatlarında, OVCAR3-R-C (karboplatin ile tedavi edilen) ve OVCAR3-R-PTX (paklitaksel ile tedavi edilen) her ikisi de  $0,7 \pm 0,04$  ve  $0,03$  benzer ifade seviyeleri göstermektedir; bu da TUG1 ifadesinin dirençli hücrelerde ana hücre hattına kıyasla yükseldiğini işaret etmektedir. Kombine tedavi (OVCAR3-R-COM)  $0,9 \pm 0,01$  ortalama ifadesi ile, kombinasyon tedavisine yanıt olarak TUG1 ifadesinde daha fazla bir artış olduğunu göstermektedir (Şekil 4.10 A1/A3).

SCOV3 ana hücrelerinde (SCOV3-par), TUG1 ifadesi  $0,3 \pm 0,07$  olup, OVCAR3 ana hücreleri gibi düşük bir ifade seviyesindedir. SCOV3-R-C'nin ortalama ifadesi  $0,4 \pm 0,09$  iken, SCOV3-R-PTX 'nin ortalaması  $0,5 \pm 0,01$  olarak bulunmuştur. Bu değerler, ana hücre hattına kıyasla ifadede hafif bir artış olduğunu göstermekle birlikte, genel olarak nispeten düşük seviyelerde kalmaktadır. Kombine tedavi (SCOV3-R-COM)  $0,6 \pm 0,03$  ortalama ifadesi ile, kombinasyon tedavisine yanıt olarak TUG1 ifadesinde bir artış olduğunu göstermektedir (Şekil 4.10 A1/A4).





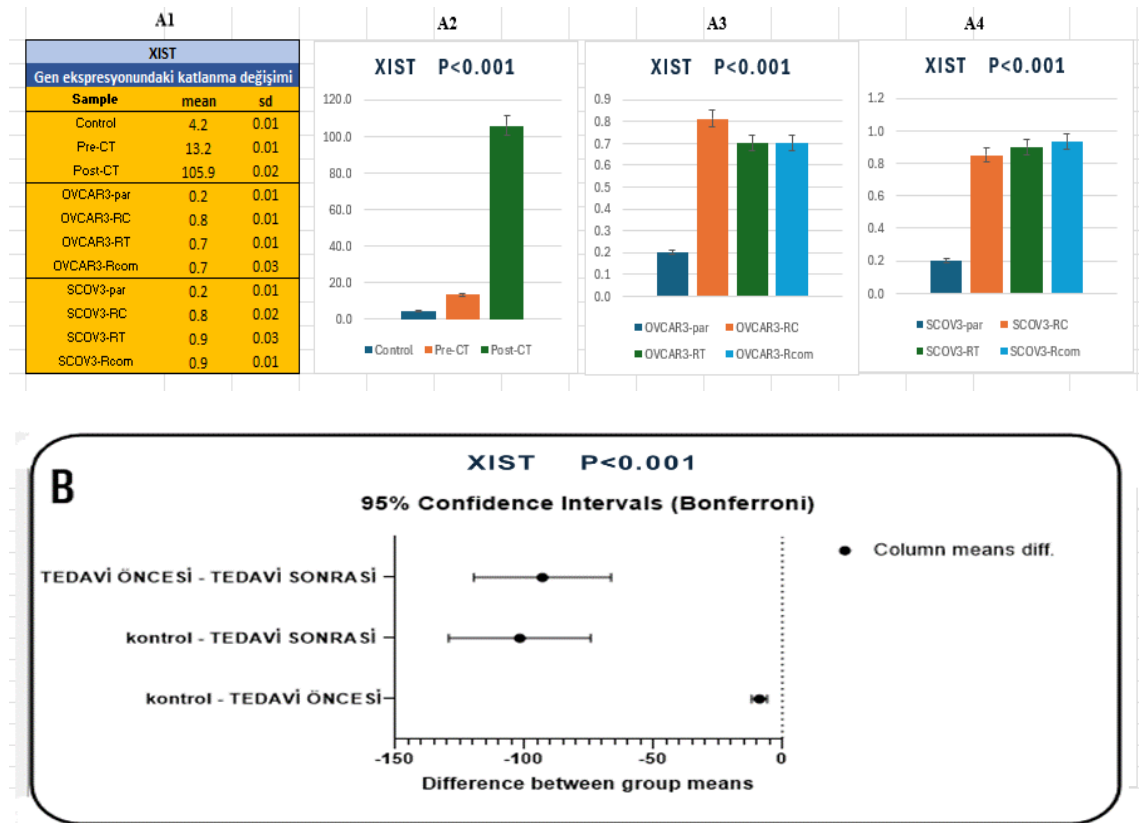
**Şekil 4.9.** Tedavi Öncesi, Tedavi Sonrası ve Kontrol Grupları ile Dirençli Hücre Hatlarında TUG1 lncRNA Ekspresyon Seviyelerinin Karşılaştırılması. A) PFAFFI yöntemiyle hesaplanan TUG1 kat değışim ifade seviyeleri. Grafiklerde özellikle kemoterapi sonrası hasta serumlarında TUG1 gen ekspresyonunda belirgin bir artış gözlemlenmiştir B) One-way ANOVA ve Bonferroni Düzeltmeli %95 Güven Aralıkları.

XIST'in kontrol grubundaki ortalama ifade seviyesi  $4,2 \pm 0,01$  ortaya çıkmıştır. Bu da temel bir ifade seviyesini göstermektedir. Kemoterapi öncesi grupta, ortalama ifade  $13,2 \pm 0,01$ 'e yükselmekte ve bu da tedavi öncesinde hafif bir yukarı regülasyon olduğunu düşündürmektedir. Kemoterapi sonrası örnekler ise ortalama  $105,9 \pm 0,02$  'ye kadar daha fazla bir artış göstermektedir. Bu, XIST ifadesinin kemoterapi tedavisinden sonra over kanseri örneklerinde kontrol örneklerine kıyasla önemli ölçüde yukarı regüle edildiğini ortaya koymaktadır. Kemoterapi sonrası örneklerindeki daha yüksek ifade, XIST'in kemoterapi direncine sahip over kanseri gelişiminde potansiyel bir rol oynayabileceğini önermektedir (Şekil 4.11 A1/A2).

Ana OVCAR3 hücreleri, bu tedavi edilmemiş hücrelerde XIST'in minimal ifadesini gösteren  $0,2 \pm 0,01$  ile düşük bir ortalama ifade seviyesine sahiptir. Dirençli

OVCAR3 hücre hatlarında, OVCAR3-R-C'nin ortalama ifadesi  $0,8 \pm 0,01$  olup, bu tedavinin XIST'in bir miktar yukarı regülasyonuna yol açtığını düşündürmektedir. OVCAR3-R-PTX ise  $0,7 \pm 0,01$  ortalama değeri ile benzer bir eğilim göstermektedir. Kombinasyon tedavisi uygulanan OVCAR3-R-COM'un ortalama ifadesi  $0,9 \pm 0,03$  olup, bu OVCAR3 hücre hatları arasında en yüksek değerdir ve kombinasyon tedavisinin XIST ifadesini artırdığını önermektedir (Şekil 4.10 A1/A3).

Ana SCOV3 hücreleri de OVCAR3 ana hücreleri ile benzer şekilde  $0,2 \pm 0,01$  düşük bir ifade göstermektedir. Dirençli SCOV3 hücre hatlarında, SCOV3-R-C'nin ortalama ifadesi  $0,8 \pm 0,02$  olup, bu ana hücre hattına kıyasla belirgin bir artış göstermektedir. SCOV3-R-PTX, karboplatin ile tedavi edilen hücrelerden daha düşük olan  $0,5 \pm 0,01$  ortalama ifadesine sahiptir. SCOV3-R-COM'un ortalaması  $0,9 \pm 0,01$  olup, bu OVCAR3-R-COM ile benzerlik göstermekte ve kombinasyon tedavisinin SCOV3 hücrelerinde de XIST ifadesini artırdığını önermektedir (Şekil 4.10 A1/A4).

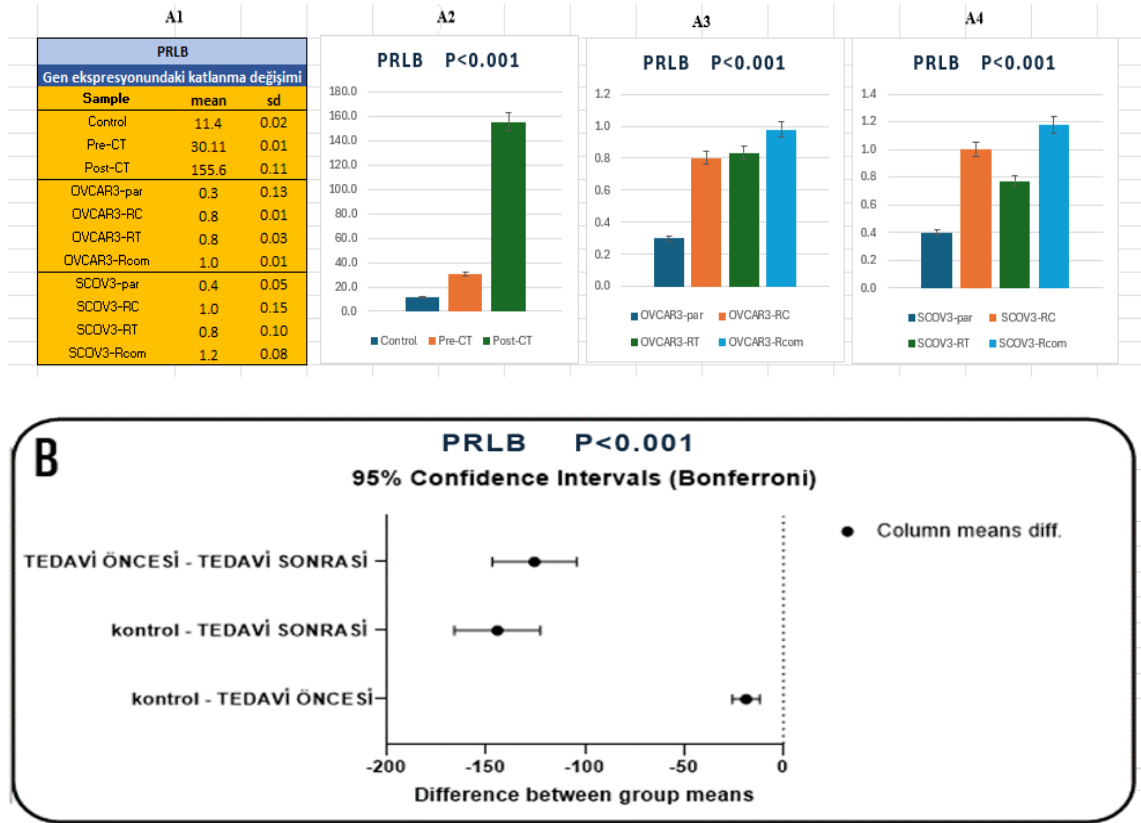


**Şekil 4.10.** Tedavi Öncesi, Tedavi Sonrası ve Kontrol Grupları ile Dirençli Hücre Hatlarında XIST lncRNA Ekspresyon Seviyelerinin Karşılaştırılması. A) PFAFFI yöntemiyle hesaplanan XIST kat değişim ifade seviyeleri. Grafiklerde özellikle kemoterapi sonrası hasta serumlarında XIST gen ekspresyonunda belirgin bir artış gözlemlenmiştir B) One-way ANOVA ve Bonferroni Düzeltmeli %95 Güven Aralıkları.

Kontrol grubundaki PRLB'nin ortalama ifade seviyesi  $11,4 \pm 0,02$  elde edilmiştir ve standart sapma, kontrol örnekleri arasında düşük düzeyde bir değişkenlik olduğunu önermektedir. Kemoterapi öncesi örneklerde, PRLB'nin ortalama ifadesi  $30,11 \pm 0,01$  ile kontrol grubuna kıyasla ifadede mütevazı bir artış olduğunu göstermektedir. Kemoterapi sonrası örneklerdeki PRLB'nin ortalama ifade seviyesindeki önemli artış göstermektedir;  $155,6 \pm 0,01$  (Şekil 4.12 A1/A2). Bu dramatik artış, PRLB ifadesinin kemoterapi tedavisinden sonra belirgin şekilde yukarı regüle edildiğini ve kemoterapi direnci veya tümör sağkalım mekanizmalarında potansiyel bir rol oynadığını önermektedir.

Ana OVCAR3 hücrelerinde, PRLB ifadesi  $0,3 \pm 0,13$  ile düşük olup, bu tedavi edilmemiş hücrelerde minimal ifadeyi göstermektedir. OVCAR3-R-C  $0,8 \pm 0,01$  ortalama ifadeye sahiptir. OVCAR3-R-PTX  $0,8 \pm 0,03$  ifadesi ile benzer bir değer göstermektedir. Kombinasyon tedavisi (OVCAR3-R-COM)  $1,0 \pm 0,01$  ortalama ifadeye sahip olup, tedaviye yanıt olarak PRLB ifadesinde bir artış olsa da post-CT seviyelerine kıyasla hala düşük kaldığını önermektedir (Şekil 4.12 A1/A3).

Ana SCOV3 hücreleri (SCOV3-par)  $0,4 \pm 0,05$  ile düşük PRLB ifadesi göstermektedir. Dirençli SCOV3 hücre hatlarında, SCOV3-R-C  $1,0 \pm 0,15$  ortalama ifadeye sahiptir. SCOV3-R-PTX  $0,8 \pm 0,10$  ortalama değerine sahiptir. SCOV3-R-COM  $1,2 \pm 0,08$  ortalama değeri ile, kombinasyon tedavisine yanıt olarak PRLB ifadesinde mütevazı bir artış olduğunu göstermektedir (Şekil 4.12 A1/A4).



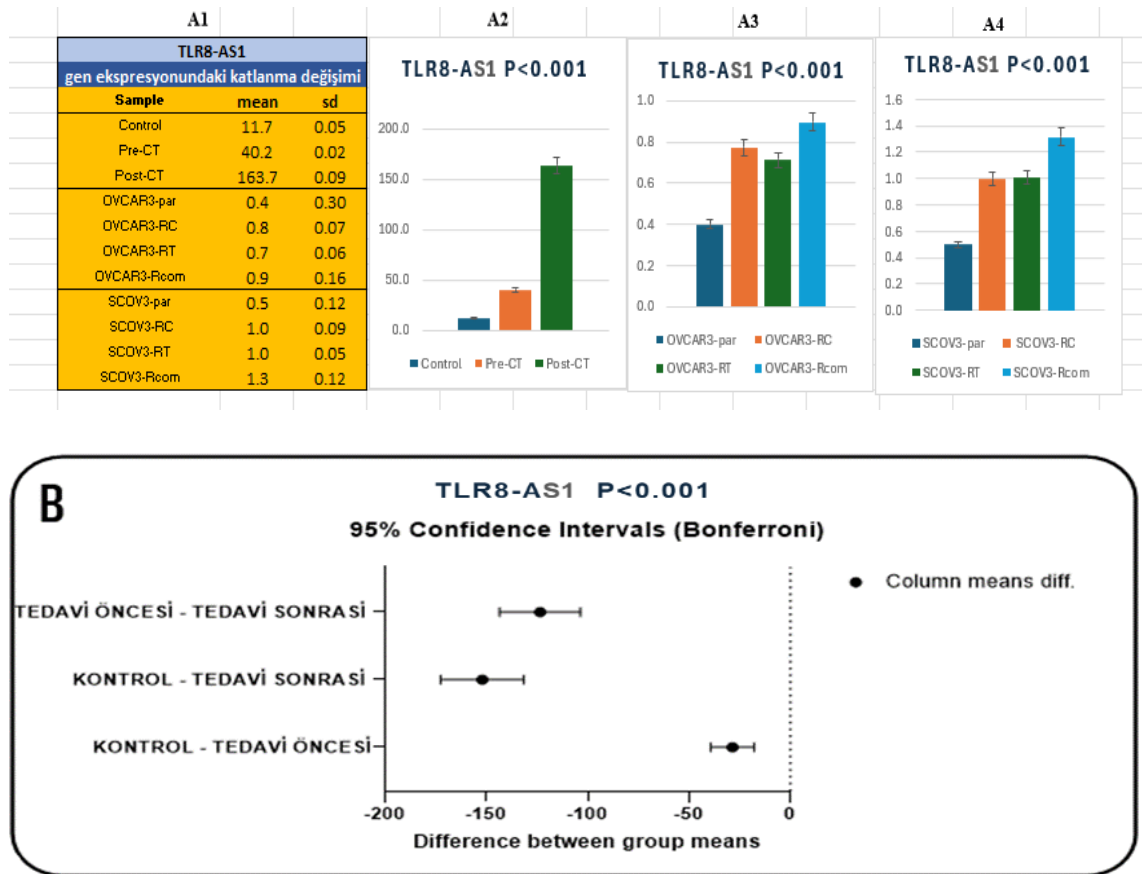
**Şekil 4.11.** Tedavi Öncesi, Tedavi Sonrası ve Kontrol Grupları ile Dirençli Hücre Hatlarında PRLB lncRNA Ekspresyon Seviyelerinin Karşılaştırılması. A) PFAFFI yöntemiyle hesaplanan PRLB kat değişim ifade seviyeleri. Grafiklerde özellikle kemoterapi sonrası hasta serumlarında PRLB gen ekspresyonunda belirgin bir artış gözlemlenmiştir B) One-way ANOVA ve Bonferroni Düzeltmeli %95 Güven Aralıkları.

Kontrol grubundaki TLR8-AS1'in ortalama ifade seviyesi  $11,7 \pm 0,02$  olup, bu da temel bir ifade seviyesini göstermektedir. Düşük standart sapma (0,02), kontrol örneklerindeki ifade seviyelerinin tutarlı olduğunu önermektedir. Kemoterapi öncesi örneklerde, ortalama ifade  $40,2 \pm 0,01$ 'e yükselmektedir. Bu hafif artış, TLR8-AS1 ifadesinin tedavi öncesinde biraz yukarı regüle edilmiş olabileceğini önermektedir. En önemli gözlem, kemoterapi sonrası örneklerde TLR8-AS1'in ortalama ekspresyon seviyesindeki dramatik artıştır ve bu değer  $167,3 \pm 0,01$  olarak bulunmuştur (Şekil 4.13 A1/A2). Bu önemli artış, TLR8-AS1 ifadesinin kemoterapi tedavisinden sonra önemli ölçüde yukarı regüle edildiğini ve tedaviye yanıtta veya kemoterapi direnci gelişiminde potansiyel bir rol oynadığını önermektedir.

Ana OVCAR3 hücreleri (OVCAR3-par)  $0,4 \pm 0,03$  ortalama ifade ile düşük seviyede olup, bu tedavi edilmemiş hücrelerde TLR8-AS1'in minimal ifadesini göstermektedir. Dirençli OVCAR3 hücre hatlarında, OVCAR3-R-C  $0,8 \pm 0,01$  ortalama ifadeye sahiptir. OVCAR3-R-PTX  $0,7 \pm 0,01$  ortalama değerine sahiptir. Kombinasyon

tedavisi (OVCAR3-R-Com)  $0,9 \pm 0,01$  ortalama ifadeye sahip olup, tedaviye yanıt olarak ifadede hafif bir artış olduğunu göstermektedir (Şekil 4.13 A1/A3).

Ana SCOV3 hücreleri (SCOV3-par)  $0,5 \pm 0,03$  ile düşük ifade göstermektedir. Dirençli SCOV3 hücre hatlarında, SCOV3-R-C  $1,0 \pm 0,02$  ortalama ifadeye sahiptir. SCOV3-R-PTX  $1,0 \pm 0,01$  ortalama değerine sahiptir. SCOV3-R-COM  $1,3 \pm 0,01$  ortalama değeri göstermektedir (Şekil 4.13 A1/A4).



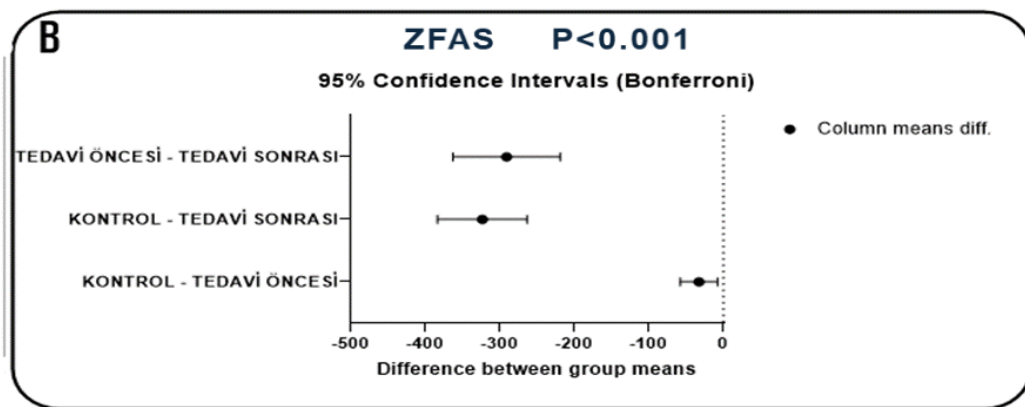
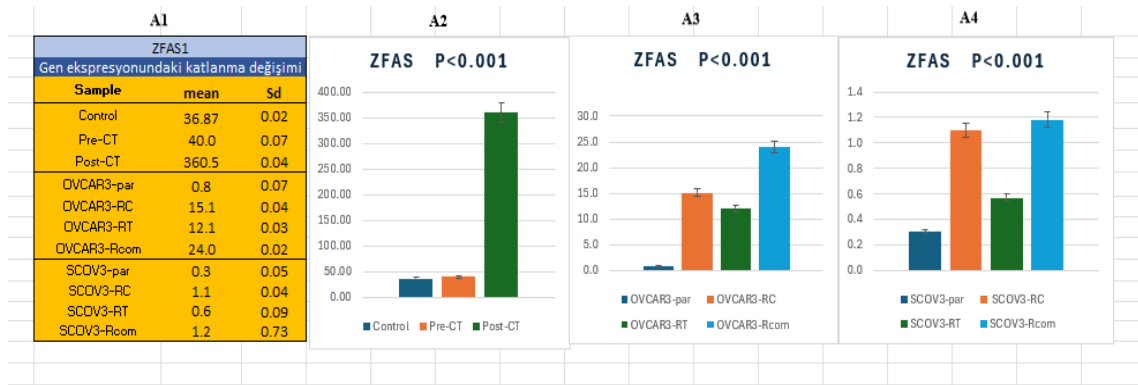
**Şekil 4.13.** Tedavi Öncesi, Tedavi Sonrası ve Kontrol Grupları ile Dirençli Hücre Hatlarında TLR8-AS1 lncRNA Ekspresyon Seviyelerinin Karşılaştırılması. A) PFAFFI yöntemiyle hesaplanan TLR8-AS1 kat değişim ifade seviyeleri. Grafiklerde özellikle kemoterapi sonrası hasta serumlarında TLR8-AS1 gen ekspresyonunda belirgin bir artış gözlemlenmiştir B) One-way ANOVA ve Bonferroni Düzeltmeli %95 Güven Aralıkları.

Kontrol grubunda ZFAS1'in ortalama ekspresyon seviyesi  $36,8 \pm 0,02$  olarak belirlenmiştir, bu da normal örneklerdeki temel ekspresyon seviyesini temsil etmektedir. Düşük standart sapma ( $SD = 0,02$ ), kontrol örnekleri arasında ekspresyon seviyelerinin tutarlı olduğunu göstermektedir. Kemoterapi öncesi örneklerde, ortalama ifade  $40,01 \pm 0,07$  yükselmektedir. Bu artış, ZFAS1 ifadesinin tedavi öncesinde yukarı regüle edildiğini ve tümör oluşumuna erken yanıt potansiyeline sahip olabileceğini göstermektedir.

Kemoterapi sonrası örneklerde ZFAS1'in ortalama ifade seviyesi  $360,5 \pm 0,04$  'e dramatik bir şekilde yükselmektedir (Şekil 4.14 A1/A2). Bu önemli artış, ZFAS1 ifadesinin kemoterapi tedavisinden sonra önemli ölçüde yukarı regüle edildiğini ve tümörün tedaviye uyumlu yanıtında veya kemoterapi direnci gelişiminde potansiyel bir rol oynayabileceğini önermektedir.

Ana OVCAR3 hücrelerinde (OVCAR3-par), ZFAS1'in ortalama ifadesi  $0,8 \pm 0,07$  gösterilmiş. Bu tedavi edilmemiş hücrelerde düşük bir ifade seviyesini göstermektedir. Dirençli OVCAR3 hücre hatlarında, OVCAR3-R-C  $15,1 \pm 0,04$  ortalama ifadesine sahip olup, bu ZFAS1 ifadesinde önemli bir artış olduğunu göstermektedir ve bu LncRNA'nın karboplatin direncinin aracılığında etkili bir rol oynayabileceğini önermektedir. OVCAR3-R-PTX  $12,1 \pm 0,03$  ortalama değeri ile benzer şekilde yüksek bir ifade seviyesini göstermektedir. Kombinasyon tedavisi uygulanan OVCAR3-R-COM,  $24,0 \pm 0,02$  ortalama ifadesi ile tüm örnekler arasında en yüksek değere sahip olup, ZFAS1'in kombinasyon kemoterapisine yanıt olarak önemli ölçüde yer aldığını ve kanser hücrelerinin hayatta kalma veya çoğalma artışına katkıda bulunabileceğini önermektedir (Şekil 4.14 A1/A3).

SCOV3 ana hücreleri (SCOV3-par)  $0,3 \pm 0,05$  ile düşük ifade göstermektedir; bu, OVCAR3 ana hücreleri ile benzerdir. Dirençli SCOV3 hücre hatlarında, karboplatin ile tedavi edilen SCOV3-R-C,  $1,1 \pm 0,04$  ortalama ifadesine sahip olup, bu ana hücre hattına kıyasla mütevazı bir artış göstermektedir. Paklitaksel ile tedavi edilen SCOV3-R-PTX,  $0,6 \pm 0,09$  ortalama değeri ile karboplatin ile tedavi edilen hücrelerden daha düşüktür. Kombinasyon ile tedavi edilen SCOV3-R-COM,  $1,2 \pm 0,07$  ortalama değeri ile kombinasyon tedavisine yanıt olarak ifadede hafif bir artış göstermektedir (Şekil 4.14 A1/A4).



**Şekil 4.13.** Tedavi Öncesi, Tedavi Sonrası ve Kontrol Grupları ile Dirençli Hücre Hatlarında ZFAS1 lncRNA Ekspresyon Seviyelerinin Karşılaştırılması. A) PFAFFI yöntemiyle hesaplanan ZFAS1 kat değişim ifade seviyeleri. Grafiklerde özellikle kemoterapi sonrası hasta serumlarında ZFAS gen ekspresyonunda belirgin bir artış gözlemlenmiştir B) One-way ANOVA ve Bonferroni Düzeltmeli %95 Güven Aralıkları.

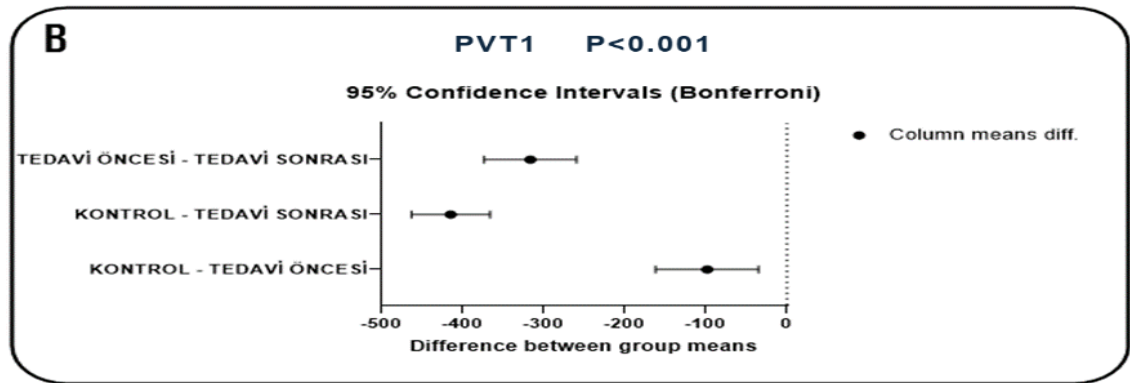
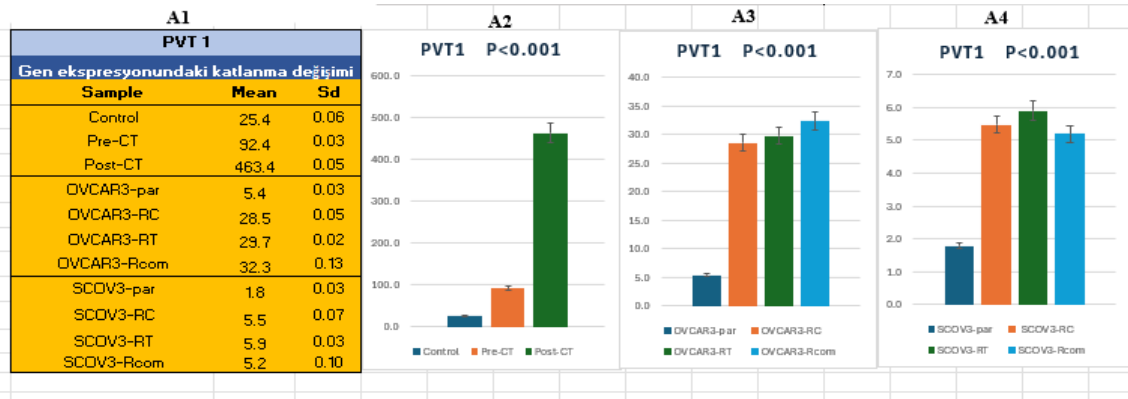
Kontrol grubunda PVT1'in ortalama ekspresyon seviyesi  $25,4 \pm 0,06$  olarak belirlenmiştir, bu da normal örneklerdeki temel ekspresyon seviyesini temsil etmektedir. Düşük standart sapma ( $SD = 0,06$ ), kontrol örnekleri arasında ekspresyon seviyelerinin tutarlı olduğunu göstermektedir. Kemoterapi öncesi örneklerde ortalama ifade seviyesi  $92,4 \pm 0,03$ 'e yükselmiştir. En dikkat çekici gözlem ise, kemoterapi sonrası örneklerde PVT1'in ortalama ifade seviyesinin  $463,4 \pm 0,05$  'e dramatik bir şekilde artış göstermesidir (Şekil 4.15 A1/A2). Bu önemli artış, PVT1 ifadesinin kemoterapi tedavisinden sonra belirgin bir şekilde yukarı regüle edildiğini ve hücre hayatta kalmasını, büyümesini veya kemoterapiye yanıt olarak adaptasyonunu teşvik etmede potansiyel bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

Ana OVCAR3 hücreleri (OVCAR3-par),  $5,4 \pm 0,03$  ortalama ifade seviyesi ile PVT1 ifadesinin orta düzeyde olduğunu göstermektedir. Dirençli OVCAR3 hücre hatlarında, OVCAR3-R-C  $28,5 \pm 0,05$  ortalama ifade seviyesine ulaşmıştır ve bu, PVT1

ifadesinde dramatik bir artış olduğunu önermektedir. Bu artış, karboplatin direncinin aracılığında PVT1'in rol oynayabileceğini göstermektedir. OVCAR3-R-T ise,  $29,7 \pm 0,02$  ortalama değeri ile benzer şekilde yüksek bir ifade göstermektedir. Kombinasyon tedavisi uygulanan hücrelerde (OVCAR3-R-COM) PVT1'in ortalama ifadesi  $32,3 \pm 0,13$  olup, bu değer tüm örnekler arasında en yüksek seviyededir (Şekil 4.14 A1/A3). Bu durum, PVT1'in kombinasyon kemoterapisine yanıt olarak önemli bir rol oynayabileceğini ve kanser hücrelerinin hayatta kalma veya çoğalma potansiyeline katkıda bulunabileceğini düşündürmektedir.

Ana SKOV3 hücreleri (SKOV3-par)  $1,8 \pm 0,03$  ortalama ifadesi ile OVCAR3 ana hücrelerine kıyasla nispeten düşük bir ifade göstermektedir. Karboplatin ile tedavi edilen SKOV3-R-C,  $5,5 \pm 0,07$  ortalama ifadesine sahip olup, bu ana hücre hattına kıyasla bir artış göstermektedir. Paklitaksel ile tedavi edilen SKOV3-R-PTX,  $4,9 \pm 0,03$  ortalama değeri ile karboplatin ile tedavi edilen hücrelerden daha düşük bir ifade seviyesine sahiptir. Kombinasyon ile tedavi edilen SKOV3-R-COM,  $7,2 \pm 0,10$  ortalama değeri ile kombinasyon tedavisine yanıt olarak mütevazı bir artış göstermektedir. Bu çalışmada, kombinasyon tedavisine dirençli hücre hatlarında bu lncRNA grubundaki artan ifade seviyeleri, tedavide kullanılan ilaçların sinerjik etkilerinden etkilenmiş olabilir; bu, epitelyal over kanseri bağlamında ve karboplatin ile paklitaksel kombinasyonu ile yaygın bir süreçtir (Şekil 4.15 A1/A4).





**Şekil 4.14.** Tedavi Öncesi, Tedavi Sonrası ve Kontrol Grupları ile Dirençli Hücre Hatlarında PVT1 lncRNA Ekspresyon Seviyelerinin Karşılaştırılması. A) PFAFFI yöntemiyle hesaplanan PVT1 kat değişim ifade seviyeleri. Grafiklerde özellikle kemoterapi sonrası hasta serumlarında PVT1 gen ekspresyonunda belirgin bir artış gözlemlenmiştir B) One-way ANOVA ve Bonferroni Düzeltmeli %95 Güven Aralıkları.

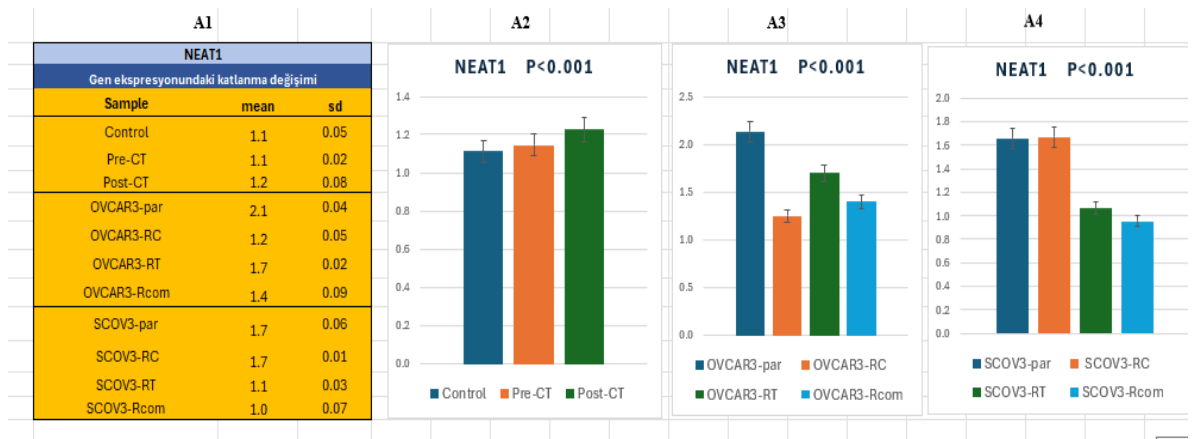
#### 4.8.2. Dirençli hücre hatlarında artış olmadan hastaların serumunda LncRNA 'ların artan ifade seviyesi

Kontrol grubundaki NEAT1 ifade seviyesi, 1,1 ortalama kat değişimi ile temel NEAT1 ifadesini temsil etmektedir. Hem Pre-CT hem de Post-CT örneklerinde NEAT1 ifadesinde kontrol grubuna kıyasla minimal bir değişiklik gözlemlenmiş ve 1,1'e yakın kat değişimleri tespit edilmiştir (Şekil 4.16 A1/A2).

Ana OVCAR3 hücreleri (OVCAR3-par),  $2,1 \pm 0,05$  ortalama ifade seviyesi ile kontrol grubuna göre yaklaşık 2 kat daha yüksek bir değere sahiptir. Bu durum NEAT1'in tedavi edilmemiş OVCAR3 over kanseri hücrelerinde yukarı regüle edildiğini göstermektedir. Dirençli OVCAR3 hücre hatlarında, karboplatin ile tedavi edilen OVCAR3-R-C'nin ortalama ifadesi  $1,2 \pm 0,04$  olup, ana hücre hattından düşüş göstermektedir. Paklitaksel ile tedavi edilen OVCAR3-R-PTX, kontrol seviyelerine kıyasla yüksek kalan  $1,7 \pm 0,02$

ortalama ifade seviyesiyle öne çıkmaktadır. Kombinasyon tedavisi uygulanan OVCAR3-R-COM,  $1,4 \pm 0,09$  ortalama ifadesi ile tek tedavilere kıyasla orta bir seviyede yer almakta ve ifadesini göstermektedir (Şekil 4.16 A1/A3).

Ana SCOV3 hücreleri (SCOV3-par)  $1,7 \pm 0,06$  ortalama ifadesiyle, OVCAR3 ana hücrelerine benzer bir ifade seviyesine sahiptir. SCOV3-R-C, ana hücre hattından herhangi bir değişiklik göstermeksizin  $1,7 \pm 0,01$  ortalama ifadesini korumaktadır. SCOV3-R-PTX ise kontrol seviyelerine yaklaşarak  $1,1 \pm 0,03$ 'e düşmüştür. Kombinasyon tedavisi uygulanan SCOV3-R-COM, kontrol seviyesine yakın bir değer olan  $1,0 \pm 0,07$  ile en düşük ortalama ifade seviyesini göstermekte ve ifadesini yansıtmaktadır (Şekil 4.16 A1/A4).

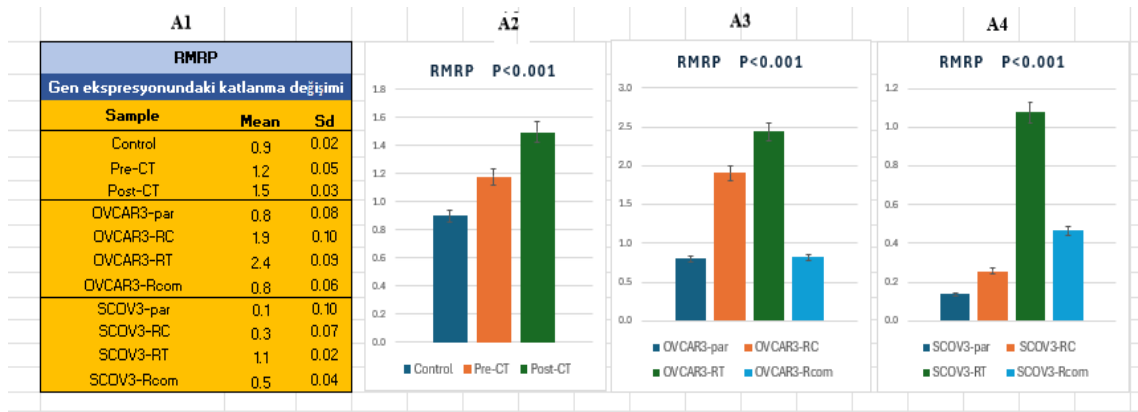


**Şekil 4.15.** NEAT1 gen ekspresyonundaki katlanma değişimleri. **A1** ve **A2** tablosu, NEAT1 gen ekspresyonunda kemoterapi öncesi ve sonrası serum örneklerinde küçük artışlar olduğunu göstermektedir. **A3** ve **A4** tablosunda Hücre hatlarında minimal ve anlamlı olmayan değişiklikler gözlemlenmiştir ( $p < 0,001$ ).

Kontrol grubundaki RMRP ifade seviyesi,  $0,9 \pm 0,02$  ortalama kat değişimi ile temel RMRP ifadesini temsil etmektedir. Düşük standart sapma, kontrol örnekleri arasında ifade seviyelerinin tutarlı olduğunu göstermektedir. Kemoterapi öncesi örneklerde, ortalama ifade  $1,2 \pm 0,05$ 'e yükselmektedir. Bu, tedavi öncesinde RMRP 'un mütevazı bir şekilde yukarı regüle edildiğini ve erken tümör oluşumu veya başlangıç tedavi koşullarına yanıtında rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Kemoterapi sonrası örneklerde ortalama ifade  $1,5 \pm 0,03$ 'e daha da artmaktadır (Şekil 4.17 A1/A2). Bu, RMRP ifadesinin kemoterapi tedavisinden sonra yükselmeye devam ettiğini ve tümörün tedaviye uyumlu yanıtında potansiyel bir rol oynayabileceğini göstermektedir.

Ana OVCAR3 hücreleri (OVCAR3-par),  $0,5 \pm 0,08$  ortalama ifadesi ile bu kanser hücrelerinde belirgin bir ifade seviyesini göstermektedir. OVCAR3-RC,  $1,9 \pm 0,10$  ile önemli bir artış göstermekte olup, bu durum RMRP'un karboplatin direncinin aracılığında olası bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir. OVCAR3-R-T, ana hücre hattına kıyasla  $2,4 \pm 0,09$  ortalama ifadesi ile bir düşüş göstermektedir; bu durum, paklitaksel tedavisine farklı bir yanıt olabileceğini önermektedir. Kombinasyon tedavisi (OVCAR3-R-COM),  $0,8 \pm 0,06$  ortalama ifadesine sahiptir (Şekil 4.17 A1/A3).

SCOV3-par hücreleri,  $0,1 \pm 0,10$  ile dikkate değer bir yüksek ortalama ifade göstermekte olup, bu durum RMRP'un tedavi edilmemiş bu kanser hücrelerinde diğer tüm örneklere kıyasla önemli ölçüde yukarı regüle edildiğini göstermektedir. Dirençli SCOV3 hücre hatlarında ise: SCOV3-R-C,  $0,3 \pm 0,07$  ortalama ifadesine sahip olup, bu değer ana OVCAR3 hücre hatlarına kıyasla hala yüksek, ancak ana SCOV3 hücrelerine kıyasla çok daha düşüktür. SCOV3-R-T, ana hücre hattına kıyasla  $1,1 \pm 0,02$  ortalama ifadesi ile bir düşüş göstermektedir. SCOV3-R-COM ise  $0,5 \pm 0,04$  ortalama ifadesine sahip olup, kombinasyon tedavisinin, tedavi edilmemiş SCOV3 hücrelerinde görülen yüksek ifadeyi tam olarak sürdürmediğini, ancak yine de RMRP'un orta düzeyde bir ifade seviyesini koruduğunu göstermektedir (Şekil 4.17 A1/A4).



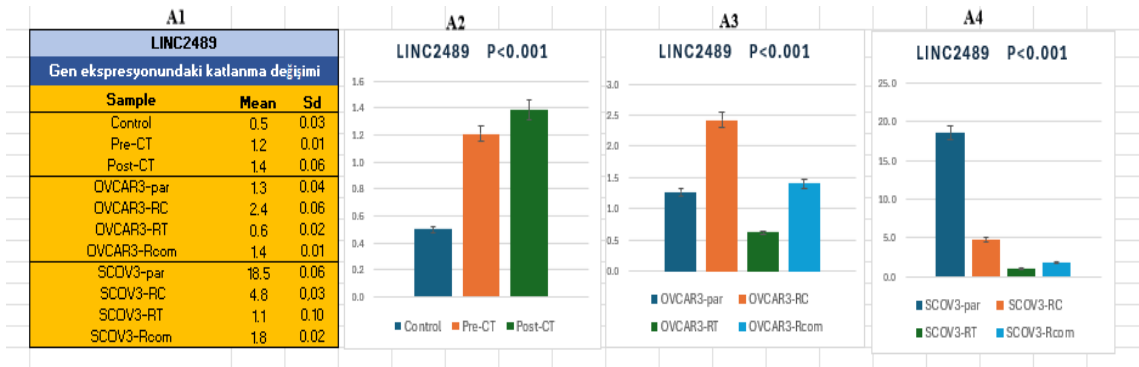
**Şekil 4.16.** RMRP gen ekspresyonundaki katlanma değişimleri. **A1** ve **A2** tablosu, RMRP gen ekspresyonunda kemoterapi öncesi ve sonrası serum örneklerinde anlamlı artışlar olduğunu göstermektedir. **A3** ve **A4** tablosunda Hücre hatlarında minimal ve anlamlı olmayan değişiklikler gözlemlenmiştir ( $p < 0,001$ ).

Kontrol grubundaki LINC2489 ifade seviyesi,  $0,5 \pm 0,03$  ortalama kat değişimi ile temel RMRP ifadesini temsil etmektedir. Düşük standart sapma, kontrol örnekleri arasında ifade seviyelerinin tutarlı olduğunu önermektedir. Kemoterapi öncesi

örneklerde, ortalama ifade  $1,2 \pm 0,01$ 'e yükselmektedir. Bu, tedavi öncesinde LINC2489'un mütevazı bir şekilde yukarı regüle edildiğini ve erken tümör oluşumu veya başlangıç tedavi koşullarına yanıtında rol oynayabileceğini önermektedir. Kemoterapi sonrası örneklerde ortalama ifade  $1,4 \pm 0,06$ 'ye daha da artmaktadır (Şekil 4,18 A1/A2). Bu, LINC2489 ifadesinin kemoterapi tedavisinden sonra yükselmeye devam ettiğini ve tümörün tedaviye uyumlu yanıtında potansiyel bir rol oynayabileceğini göstermektedir.

Ana OVCAR3 hücreleri (OVCAR3-par)  $1,3 \pm 0,04$  ortalama ifadesi ile bu kanser hücrelerinde bir ifade seviyesini göstermektedir. OVCAR3-R-C,  $2,4 \pm 0,06$  ile önemli bir artış göstermekte olup, bu LINC2489'un karboplatin direncinin aracılığında olası bir rol oynayabileceğini önermektedir. OVCAR3-R-T, ana hücre hattına kıyasla  $0,6 \pm 0,02$  ortalama ifadesi ile bir düşüş göstermektedir; bu, paklitaksel tedavisine farklı bir yanıt olabileceğini önermektedir. Kombinasyon tedavisi (OVCAR3-R-COM)  $1,4 \pm 0,01$  ortalama ifadesine sahiptir (Şekil 4.18 A1/A3).

SCOV3-par hücreleri,  $18,5 \pm 0,06$  ile dikkate değer bir yüksek ortalama ifade göstermekte olup, bu LINC2489'un tedavi edilmemiş bu kanser hücrelerinde diğer tüm örneklere kıyasla önemli ölçüde yukarı regüle edildiğini göstermektedir. Dirençli SCOV3 hücre hatlarında: SCOV3-R-C,  $4,8 \pm 0,03$  ortalama ifadesine sahip olup, bu ana OVCAR3 hücre hatlarına kıyasla hala yüksek, ancak ana SCOV3 hücrelerine kıyasla çok daha düşüktür. SCOV3-RT, ana hücre hattına kıyasla  $1,1 \pm 0,10$  ortalama ifadesi ile bir düşüş göstermektedir. SCOV3-R-COM,  $1,8 \pm 0,02$  ortalama ifadesine sahip olup, kombinasyon tedavisinin tedavi edilmemiş SCOV3 hücrelerinde görülen yüksek ifadeyi tam olarak sürdüremediğini, ancak yine de LINC2489'un orta düzeylerini gösterdiğini önermektedir (Şekil 4.18 A1/A4).



**Şekil 4.17.** LINC2489 gen ekspresyonundaki katlanma değişimleri. **A1** ve **A2** tablosu, LINC2489 gen ekspresyonunda kemoterapi öncesi ve sonrası serum örneklerinde anlamlı artışlar olduğunu göstermektedir. **A3** ve **A4** tablosunda hücre hatlarında belirli varyantlarda gen ekspresyonunda bazı değişiklikler görülmekle birlikte, genel olarak ekspresyon seviyeleri fazla farklılık göstermemektedir ( $p < 0,001$ ).

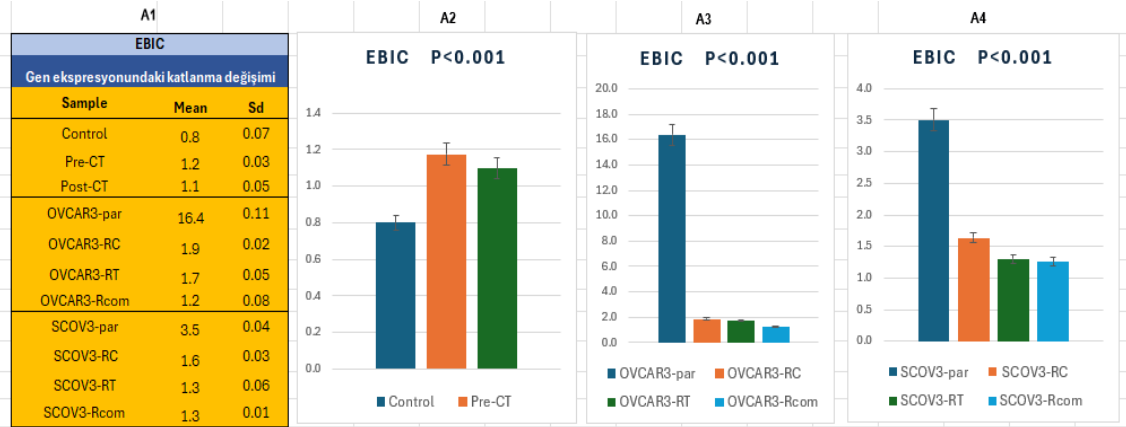
#### 4.8.3. Hem hasta serumunda hem de hücre hatlarında anlamlı olmayan LncRNA'ları

Kontrol grubundaki EBIC ifade seviyesi, 0,8 ortalama kat değişimi ile temel RMRP ifadesini temsil etmektedir. Kemoterapi öncesi örneklerde, ortalama ifade hafif bir artış göstererek  $1,2 \pm 0,03$ 'e yükselmiştir. Bu mütevazı artış, EBIC 'in tedavi öncesinde yukarı regüle edilmiş olabileceğini önermektedir. Kemoterapi sonrası örneklerde ise ortalama ifade seviyesi  $1,1 \pm 0,05$  olarak tespit edilmiştir; bu değer, kontrol grubuna oldukça yakındır (Şekil 4.19 A1/A2). Bu durum, EBIC ifadesinin kemoterapi tedavisinden sonra anlamlı bir değişiklik göstermediğini düşündürmektedir.

Ana OVCAR3 hücreleri,  $16,4 \pm 0,11$  ile çok yüksek bir ortalama ifade seviyesine sahiptir, bu da bu tedavi edilmemiş kanser hücrelerinde EBIC'in önemli ölçüde yukarı regüle edildiğini göstermektedir. OVCAR3-R-C, ana hücre hattına kıyasla azalmış bir ifade göstererek  $1,9 \pm 0,02$  ortalama ifadesine sahiptir. OVCAR3-R-PTX,  $1,7 \pm 0,05$  ortalama ifadesi ile karboplatin ile tedavi edilen hücrelere benzer bir değer göstermekte olup, her iki tedavinin de EBIC ifadesini temel seviyelere tam olarak geri getirmediğini önermektedir. Kombinasyon tedavisi uygulanan OVCAR3-R-COM,  $1,2 \pm 0,08$  ortalama ifadesi ile dirençli hatlara kıyasla ifadede daha fazla bir azalma göstermektedir (Şekil 4.19 A1/A3).

Ana SCOV3 hücreleri (SCOV3-par),  $3,5 \pm 0,04$  ortalama ifadesi ile EBIC'in orta düzeyde ifade edildiğini göstermektedir. Dirençli SCOV3 hücre hatlarında, SCOV3-R-C

1,6 ± 0,03 ortalama ifadesi ile ana hücre hattına kıyasla bir azalma göstermektedir. SCOV3-R-PTX, 1,3 ± 0,06 ortalama ifadesi ile ifadede hafif bir azalma olduğunu göstermektedir. SCOV3-R-COM da 1,3 ± 0,01 ortalama ifadesi ile, kombinasyon tedavisinin diğer tedavilere kıyasla EBIC ifadesini anlamlı ölçüde artırmadığını önermektedir (Şekil 4.19 A1/A4).



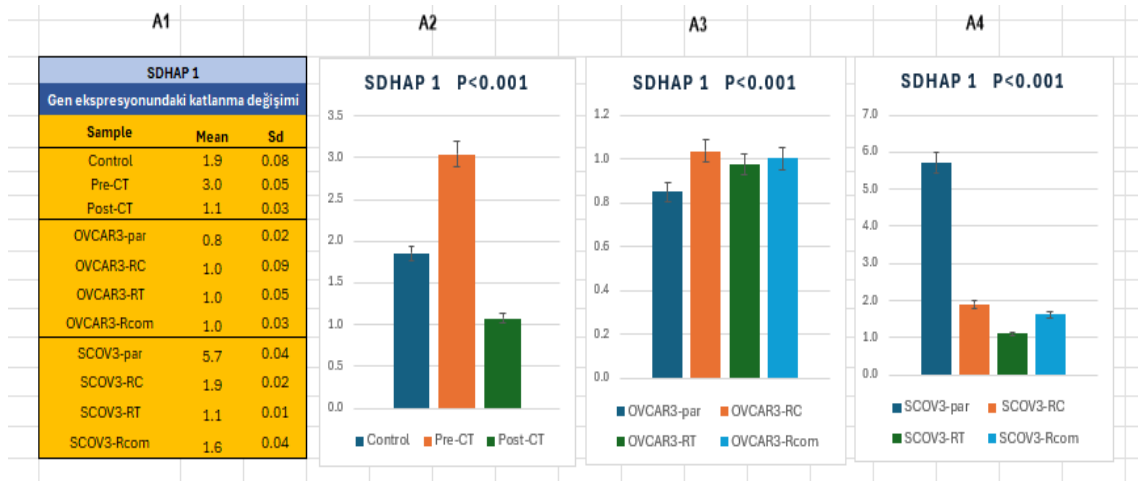
**4.18.** EBIC gen ekspresyonundaki katlanma değişimleri. Tablodaki verilere göre, hasta serumunda ve hücre hatlarında gen ekspresyonunda belirli varyantlarda bazı değişiklikler gözlenmesine rağmen, genel ekspresyon seviyelerinde anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p<0,001$ ).

Kontrol grubundaki SDHAP1'in ortalama ifade seviyesi  $1,9 \pm 0,08$  olup, bu genin nispeten yüksek bir bazal ifade seviyesine sahip olduğunu göstermektedir. Düşük standart sapma, kontrol örnekleri arasında ifade seviyelerinin tutarlı olduğunu göstermektedir. Kemoterapi öncesi örneklerde, ortalama ifade seviyesi  $3,0 \pm 0,05$  'e yükselmiştir. Bu önemli artış, SDHAP1'in tedavi öncesinde yukarı regüle edildiğini ve bu lncRNA'nın tümörün strese veya tedaviye erken yanıtında bir rol oynayabileceğini önermektedir. Kemoterapi sonrası örneklerde, ortalama ifade seviyesi  $1,1 \pm 0,03$  'e düşmektedir (Şekil 4.20 A1/A2). Bu düşüş, kemoterapi tedavisinin ardından SDHAP1 ifadesinin azaldığını ve bunun tümörün adaptif yanıtıyla ilişkili olabileceğini göstermektedir.

OVCAR3-par hücrelerinde SDHAP1'in ortalama ifadesi  $0,8 \pm 0,02$  olup, bu tedavi edilmemiş kanser hücrelerinde bu genin minimal seviyede ifade edildiğini göstermektedir. OVCAR3-R-C hücrelerinde ortalama ifade seviyesi  $1,0 \pm 0,09$  olup, ana hücre hattına kıyasla hafif bir artış göstermektedir, ancak hala düşük seviyelerde kalmaktadır. OVCAR3-R-PTX hücreleri de  $1,0 \pm 0,05$  ortalama ifadeye sahiptir, bu da paklitaksel tedavisine yanıt olarak ifadede bir değişiklik olmadığını göstermektedir.

OVCAR3-R-COM hücreleri,  $1,0 \pm 0,05$  ortalama ifadesi ile dirençli hatlara kıyasla ifadede anlamlı bir değişiklik göstermemektedir (Şekil 4.20 A1/A3).

SCOV3-par hücreleri,  $5,7 \pm 0,04$  ile çok yüksek bir ortalama ifade seviyesi göstermekte olup, bu SDHAP1'in bu tedavi edilmemiş kanser hücrelerinde önemli ölçüde yukarı regüle edildiğini göstermektedir. SCOV3-R-C hücrelerinde ortalama ifade seviyesi  $1,9 \pm 0,03$  olup, ana hücre hattına kıyasla bir azalma göstermektedir. SCOV3-R-PTX hücreleri  $1,1 \pm 0,01$  ortalama ifadesi ile kemoterapi sonrası örneklerle benzer bir değer göstermektedir. SCOV3-R-COM hücreleri de  $1,6 \pm 0,04$  ortalama ifadesi ile kombinasyon tedavisinin diğer tedavilere kıyasla SDHAP1 ifadesini anlamlı ölçüde artırmadığını önermektedir (Şekil 4.20 A1/A4).

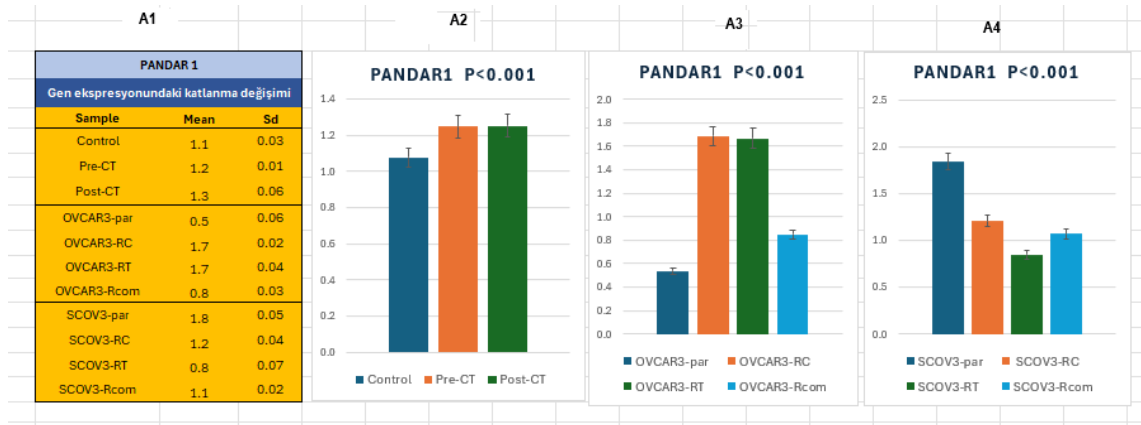


**Şekil 4.19.** SDHAP1 gen ekspresyonundaki katlanma değişimleri. Tablodaki verilere göre, hasta serumunda ve hücre hatlarında gen ekspresyonunda belirli varyantlarda bazı değişiklikler gözlenmesine rağmen, genel ekspresyon seviyelerinde anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p<0,001$ ).

Kontrol grubundaki PANDAR1'in ortalama ifade seviyesi  $1,1 \pm 0,03$  olup, bu, kontrol örnekleri arasında nispeten tutarlı bir ifade seviyesini ve temel bir ifade seviyesini göstermektedir. Kemoterapi öncesi örneklerde, ortalama ifade seviyesi hafifçe artarak  $1,2 \pm 0,01$  olmuştur. Bu mütevazı artış, PANDAR1'in tedavi öncesinde biraz yukarı regüle edilmiş olabileceğini önermektedir, ancak standart sapmanın düşük olması, örnekler arasında tutarlı bir ifade olduğunu göstermektedir. Kemoterapi sonrası örneklerde, ortalama ifade seviyesi  $1,3 \pm 0,06$ 'e daha da yükselmiştir (Şekil 4,21 A1/A2). Bu, kemoterapi tedavisinden sonra hafif bir yukarı regülasyon olduğunu ve PANDAR1'in tümörün tedaviye uyumlu yanıtında olası bir rol oynayabileceğini önermektedir, ancak bu artış önemli değildir.

Ana OVCAR3 hücreleri,  $0,5 \pm 0,06$  ile düşük bir ortalama ifade seviyesine sahiptir, bu da tedavi edilmemiş kanser hücrelerinde PANDAR1'in minimal ifadesini göstermektedir. OVCAR3-R-C hücrelerinde,  $1,7 \pm 0,02$  ile önemli bir artış görülmektedir. Bu, PANDAR1'in karboplatin direncinin aracılığında rol oynayabileceğini önermektedir. OVCAR3-R-PXT de  $1,7 \pm 0,04$  ortalama ifadesine sahiptir ve bu, PANDAR1 ifadesinin paklitaksel tedavisine yanıt olarak yüksek kaldığını göstermektedir. OVCAR3-R-COM hücreleri ise  $0,8 \pm 0,03$  ortalama ifadesi ile dirençli hatlara kıyasla bir azalma göstermekte olup, kombinasyon tedavisinin PANDAR1 ifadesini etkili bir şekilde sürdürmeyebileceğini önermektedir (Şekil 4,21 A1/A3).

Ana SCOV3 hücreleri,  $1,8 \pm 0,05$  ile daha yüksek bir ortalama ifade seviyesine sahiptir, bu da PANDAR1'in, OVCAR3 hücrelerine kıyasla bu tedavi edilmemiş kanser hücrelerinde daha fazla ifade edildiğini göstermektedir. Dirençli SCOV3 hücre hatlarında, SCOV3-R-C  $1,2 \pm 0,04$  ortalama ifadesine sahip olup, bu, ana hücre hattına kıyasla bir azalma göstermektedir. SCOV3-R-PXT, kombinasyon tedavisine benzer şekilde ifade azalışını göstererek  $0,8 \pm 0,07$  ortalama ifadesine sahiptir. SCOV3-R-com hücreleri ise  $1,1 \pm 0,02$  ortalama ifadesi ile kombinasyon tedavisinin diğer tedavilere kıyasla PANDAR1 ifadesini önemli ölçüde artırmadığını önermektedir (Şekil 4.21 A1/A4).



**Şekil 4.20.** PANDAR1 gen ekspresyonundaki katlanma değişimleri. Tablodaki verilere göre, hasta serumunda ve hücre hatlarında gen ekspresyonunda belirli varyantlarda bazı değişiklikler gözlenmesine rağmen, genel ekspresyon seviyelerinde anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p < 0,001$ ).

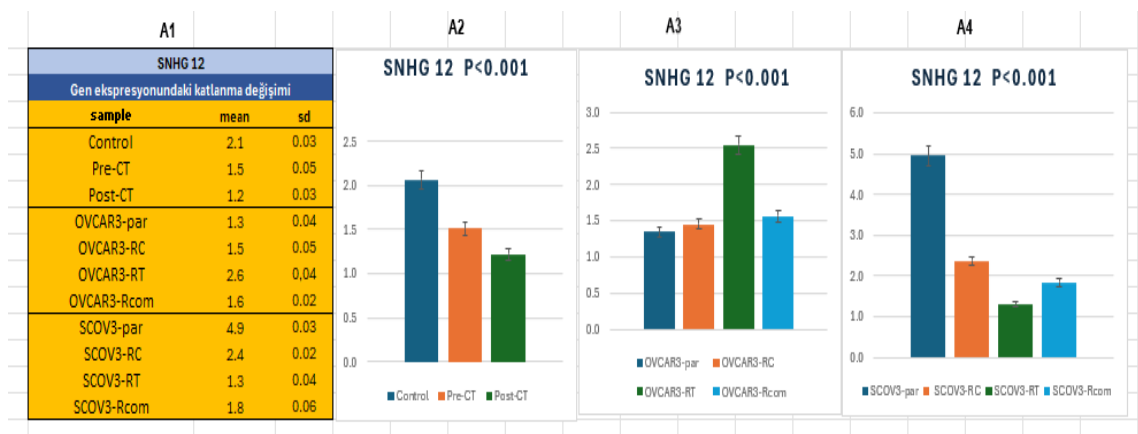
Kontrol grubundaki SNHG12'nin ortalama ifade seviyesi  $2,1 \pm 0,04$  olup, bu, temel ifade seviyesini göstermektedir. Kemoterapi öncesi (Pre-CT) örneklerde, ortalama ifade seviyesi  $1,5 \pm 0,08$  olarak hafif bir azalma göstermiştir. Bu, tedavi öncesinde



SNHG12 ifadesinin aşağı regüle edildiğini önermektedir. Kemoterapi sonrası (Post-CT) örneklerde, ortalama ifade seviyesi  $1,2 \pm 0,02$  olarak daha da azalmıştır. Bu, tedavi sonrasında SNHG12 ifadesinin daha da düştüğünü göstermektedir (Şekil 4.22 A1/A2).

Ana OVCAR3 hücreleri (OVCAR3-par),  $1,3 \pm 0,05$  ile düşük bir ortalama ifade seviyesine sahiptir. OVCAR3-RC hücrelerinde, ortalama ifade  $1,5 \pm 0,03$  olarak hafif bir artış göstermekte olup, bu, SNHG12'nin karboplatin tedavisine yanıt olarak biraz yukarı regüle edildiğini önermektedir. OVCAR3-R-T hücrelerinde ise, ortalama ifade seviyesi  $2,6 \pm 0,10$  olup, bu, paklitaksel tedavisine yanıt olarak belirgin bir artış göstermektedir. Kombinasyon tedavisi uygulanan OVCAR3-R-COM hücreleri,  $1,6 \pm 0,04$  ortalama ifadesi ile dirençli hatlara kıyasla biraz daha yüksek, ancak OVCAR3-R-T'ye kıyasla daha düşük bir ifade seviyesine sahiptir (Şekil 4.22 A1/A3).

Ana SCOV3 hücreleri (SCOV3-par),  $4,9 \pm 0,02$  ile yüksek bir ortalama ifade seviyesine sahiptir, bu da SNHG12'nin bu tedavi edilmemiş kanser hücrelerinde önemli ölçüde yukarı regüle edildiğini göstermektedir. Dirençli SCOV3 hücre hatlarında, SCOV3-R-C  $2,4 \pm 0,06$  ortalama ifadesine sahip olup, ana hücre hattına kıyasla bir azalma göstermektedir. SCOV3-R-T,  $1,3 \pm 0,05$  ortalama ifadesi ile daha da azalmış bir ifade seviyesi göstermektedir. Kombinasyon tedavisi uygulanan SCOV3-R-COM hücreleri,  $1,8 \pm 0,03$  ortalama ifadesi ile, diğer tedavilere kıyasla daha düşük bir ifade seviyesine sahiptir ancak SCOV3-R-T'den daha yüksektir (Şekil 4.22 A1/A4).



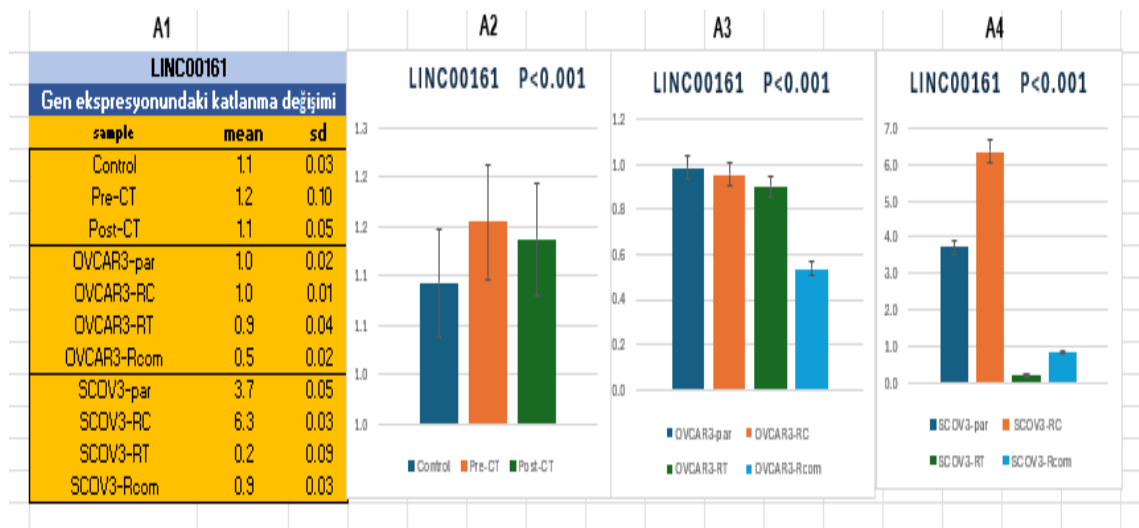
Şekil 4.21. SNHG12 gen ekspresyonundaki katlanma değişimleri. Tablodaki verilere göre, hasta serumunda ve hücre hatlarında gen ekspresyonunda belirli varyantlarda bazı değişiklikler gözlenmesine rağmen, genel ekspresyon seviyelerinde anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p < 0,001$ ).

Kontrol grubundaki LINC00161'in ortalama ifade seviyesi  $1,1 \pm 0,03$  olup, bu, temel ifade seviyesini göstermektedir. Kemoterapi öncesi (Pre-CT) örneklerde, ortalama

ifade seviyesi  $1,2 \pm 0,10$  olarak hafif bir artış göstermiştir. Bu, tedavi öncesinde LINC00161'in biraz yukarı regüle edildiğini önermektedir. Kemoterapi sonrası (Post-CT) örneklerde, ortalama ifade seviyesi  $1,1 \pm 0,05$  olarak, tedavi sonrasında ifadenin kontrol seviyelerine döndüğünü göstermektedir (Şekil 4.23 A1/A2).

Ana OVCAR3 hücreleri (OVCAR3-par),  $1,0 \pm 0,02$  ile düşük bir ortalama ifade seviyesine sahiptir. OVCAR3-R-C hücrelerinde, ortalama ifade seviyesi  $1,0 \pm 0,01$  elde edildi. Bu da karboplatin tedavisine yanıt olarak ifade seviyesinde bir değişiklik olmadığını göstermektedir. OVCAR3-R-T hücrelerinde ise, ortalama ifade seviyesi  $0,9 \pm 0,04$  olup, bu, paklitaksel tedavisine yanıt olarak hafif bir düşüş göstermektedir. Kombinasyon tedavisi uygulanan OVCAR3-R-COM hücrelerinde,  $0,5 \pm 0,02$  ortalama ifadesi ile daha belirgin bir azalma gözlemlenmektedir (Şekil 4.23 A1/A3).

Ana SCOV3 hücreleri (SCOV3-par),  $3,7 \pm 0,05$  ile yüksek bir ortalama ifade seviyesine sahiptir, bu da LINC00161'in bu tedavi edilmemiş kanser hücrelerinde önemli ölçüde yukarı regüle edildiğini göstermektedir. Dirençli SCOV3 hücre hatlarında, SCOV3-R-C  $6,3 \pm 0,03$  ortalama ifadesine sahip olup, ana hücre hattına kıyasla daha da artmış bir ifade seviyesi göstermektedir. SCOV3-R-T,  $0,2 \pm 0,09$  ortalama ifadesi ile belirgin bir azalma göstermektedir. Kombinasyon tedavisi uygulanan SCOV3-R-COM hücrelerinde,  $0,9 \pm 0,03$  ortalama ifadesi ile diğer tedavilere kıyasla düşük bir ifade seviyesi görülmektedir, ancak SCOV3-R-T 'ye kıyasla daha yüksektir (Şekil 4.23 A1/A4).



Şekil 4.22 LINC00161 gen ekspresyonundaki katlanma değişimleri. Tablodaki verilere göre, hasta serumunda ve hücre hatlarında gen ekspresyonunda belirli varyantlarda bazı değişiklikler gözlenmesine rağmen, genel ekspresyon seviyelerinde anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p < 0,001$ ).

## 5. TARTIŞMA

Epitelyal yumurtalık kanseri, özellikle kemoterapi direncinin gelişmesi nedeniyle, tedavisi en zor malignitelerden biridir. İleri evrede teşhis edilen vakalarda genel hayatta kalma oranı %35'e kadar düşmektedir (Eslami vd 2024). Bu düşük oranlar büyük ölçüde, başarılı tedavi sonuçlarını engelleyen kemoterapi direncinin gelişimine atfedilebilir (Hawarden vd 2023). Bu bağlamda, kanser biyolojisinde önemli düzenleyiciler olarak ortaya çıkan uzun kodlamayan RNA'lar (lncRNA'lar), kemoterapi direnciyle ilişkili süreçlerde kilit rol oynayabilir. Dolayısıyla, EOC'de lncRNA'ların ilaç direncindeki rollerinin tanımlanması hem prognostik değere sahip olabilir hem de tedavi stratejilerini yönlendirebilir. Bu çalışmada, EOC hastalarının serumunda bulunan 15 spesifik lncRNA'nın ifade profilleri ve bunların kemoterapi direnciyle olan ilişkisi incelenmiştir. Bu çalışmanın temel amacını oluşturan karboplatin ve paklitaksel dirençli OVCAR3 ve SKOV3 hücre hatlarının geliştirilmesi, kemoterapi direncinin altında yatan genetik mekanizmaların derinlemesine anlaşılmasında ve yeni terapötik stratejilerin değerlendirilmesinde önemli bir araç olarak öne çıkmaktadır. Bu dirençli hücre hatlarından elde edilen verilerin, hasta serum örnekleriyle entegre edilmesi, epitelyal over kanserinde kemoterapi direncinin daha kapsamlı bir şekilde aydınlatılmasını amaçlamaktadır.

Mevcut çalışmada, çeşitli dirençli hücre hatları ve hasta serum örneklerinde lncRNA ifade profilleri analiz edilmiştir ve bu lncRNA'lar üç ana grupta sınıflandırılmıştır:

- 1) Hem hastaların serumunda hem de dirençli hücre hatlarında artış gösteren lncRNA'lar, kemoterapi direncinin önemli belirteçleri olarak değerlendirilebilir.
- 2) Sadece hastaların serumunda artış gösteren lncRNA'lar, tedaviye yanıt olarak ortaya çıkan sistemik değişiklikleri yansıtır.

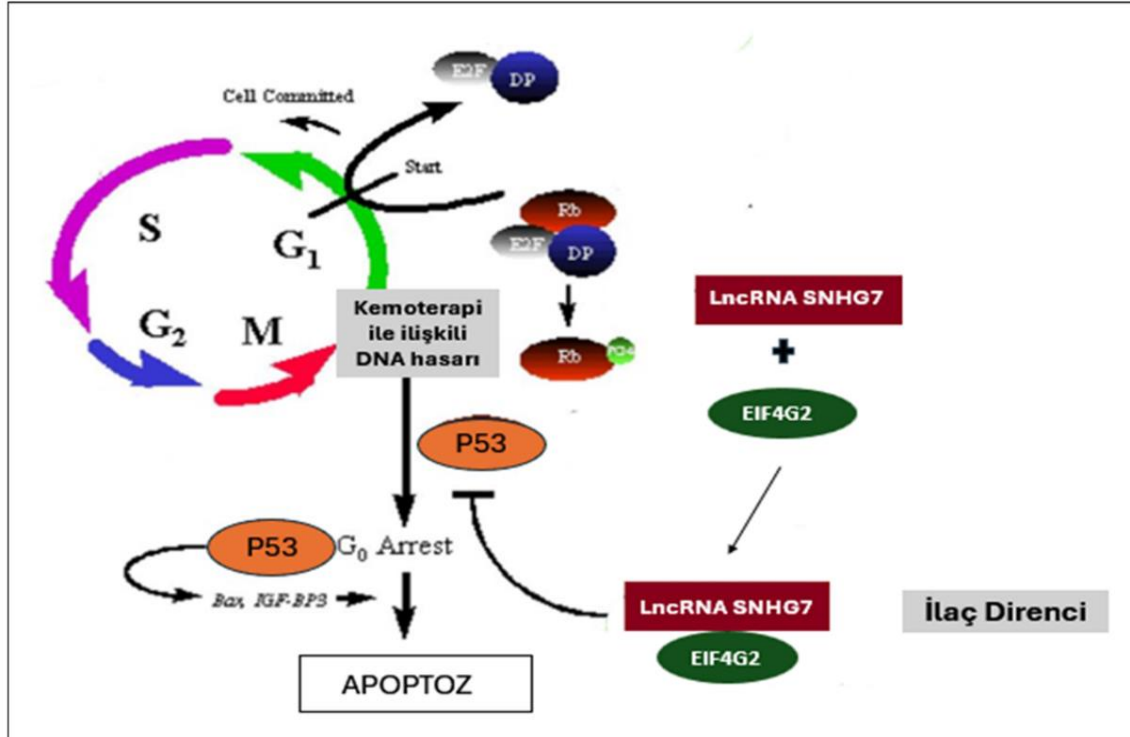
3) Hem hasta serumunda hem de dirençli hücre hatlarında anlamlı bir değişim göstermeyen lncRNA'lar, kemoterapi direncinde etkili olmayan grubu temsil eder.

### **5.1. Hastaların Serumunda VE Dirençli Hücre Hatlarında Artan lncRNA İfade Seviyesi**

Bu gruptaki lncRNA'lar, kemoterapi öncesi, tedavi sırasında ve tedavi sonrası altı ayda kemoterapi dirençli hastaların serumunda belirgin şekilde daha yüksek ifade seviyeleri göstermiştir. Artan bu lncRNA seviyeleri, hücre hayatta kalma ve proliferasyonunu artıran yolları düzenleyerek kemoterapi direncinin gelişiminde kritik bir rol oynayabilir. Literatürde, belirli lncRNA'ların ilaç dışı taşıma pompalarını modüle ederek veya apoptotik yolları etkileyerek dirençli fenotiplerin ortaya çıkmasına katkıda bulunduğu gösterilmiştir. Çalışmamızda, SNHG7 lncRNA'sının kemoterapi öncesi örneklerle kıyasla tedavi sırasında ve özellikle tedavi sonrası altı ayda, kemoterapi dirençli SCOV3 hücre hattında anlamlı derecede daha yüksek seviyelerde ifade edildiği gözlemlenmiştir ( $P < 0,001$ ). Bu bulgular, SNHG7'nin over kanserinde kemoterapi direncinde önemli bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Hücre hatlarında gözlemlenen yukarı regülasyon, SNHG7'nin ilaç direncinde oynadığı kritik rolü yansıtan tutarlı bir ifade profili ortaya koymaktadır. Sonuçlarımız, Bai ve arkadaşlarının EOC hastalarında kemoterapi öncesi ve sonrası serum SNHG7 seviyelerinin artmasının kötü prognozla ilişkili olduğunu ve bu lncRNA'nın kemoterapi direncinin potansiyel bir biyobelirteç olabileceğini belirttiği bulgularla uyumludur (Bai vd 2020). SNHG7, EIF4G2 ve p53 ile etkileşimleri aracılığıyla over kanserinde kemoterapi direncine katkıda bulunmakta, hücre hayatta kalmasını, migrasyonunu ve invazyonunu teşvik ederken apoptotik yolları inhibe etmektedir (Jin vd 2021). Bu bulgular, over kanserinde ilaç direncini aşmak için SNHG7'yi hedef almanın terapötik bir strateji olarak değerlendirilebileceğini vurgulamaktadır (şekil 5.1).

Bu çalışmada elde edilen veriler, TUG1'in kontrol grubunda düşük ve tutarlı bir ifade seviyesine sahip olduğunu, ancak kemoterapi öncesi ve sonrasında anlamlı bir şekilde yukarı regüle olduğunu göstermektedir. Bu durum, TUG1'in kemoterapiye karşı bir adaptasyon mekanizması olarak işlev görebileceğini düşündürmektedir. Özellikle

dirençli OVCAR3 ve SCOV3 hücre hatlarında TUG1 ifadesindeki artış, bu LncRNA'nın kemoterapi direncinin gelişiminde kritik bir role sahip olabileceğini ortaya koymaktadır.

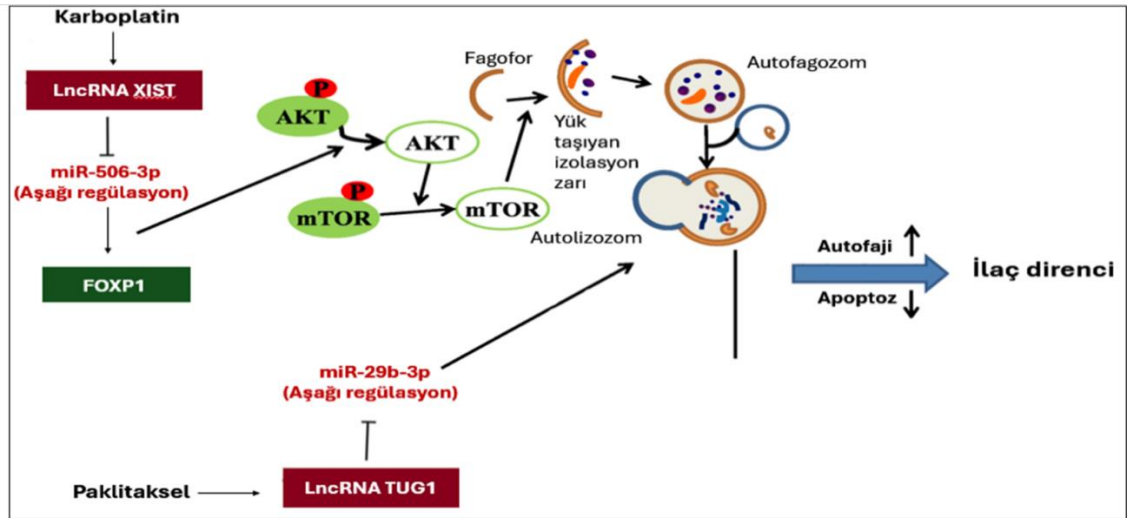


**Şekil 5.1.** SNHG7 lncRNA'sının EOC'de ilaç direncine yol açan mekanizması. (Marei vd 2021'den uyarılmış).

Kombinasyon tedavisi uygulanan hücre hatlarında TUG1 ifadesinin daha yüksek seviyelerde gözlemlenmesi, bu lncRNA'nın tedaviye direnç gelişiminde önemli bir etken olduğunu önermektedir. Sonuç olarak, TUG1'in kemoterapi direnci ve tümör progresyonunda merkezi bir rol oynadığı, bu lncRNA'nın over kanserinde kemoterapiye dirençli hastalarda bir biyobelirteç ve potansiyel bir tedavi hedefi olarak değerlendirilebileceği sonucuna varılmıştır. Literatürde de TUG1'in EOC'deki ilaç direncine katkıda bulunan moleküler mekanizmalarına ilişkin önemli kanıtlar bulunmaktadır. TUG1'in, otofaji ile ilişkili ilaç direncini teşvik ettiği ve bu direncin miR-29b-3p'yi etkisiz hale getirerek Beclin-1 gibi otofaji ile ilişkili genlerin yukarı regülasyonu ve LC3B-I'in LC3B-II'ye dönüşümüne yol açtığı belirtilmiştir. Bu süreç, otofajiyi artırarak hücrelerin kemoterapiye karşı direnç kazanmasına katkıda bulunmaktadır (Peng vd 2023). Ayrıca, TUG1'in WNT/ $\beta$ -katenin yolunu düzenleyerek

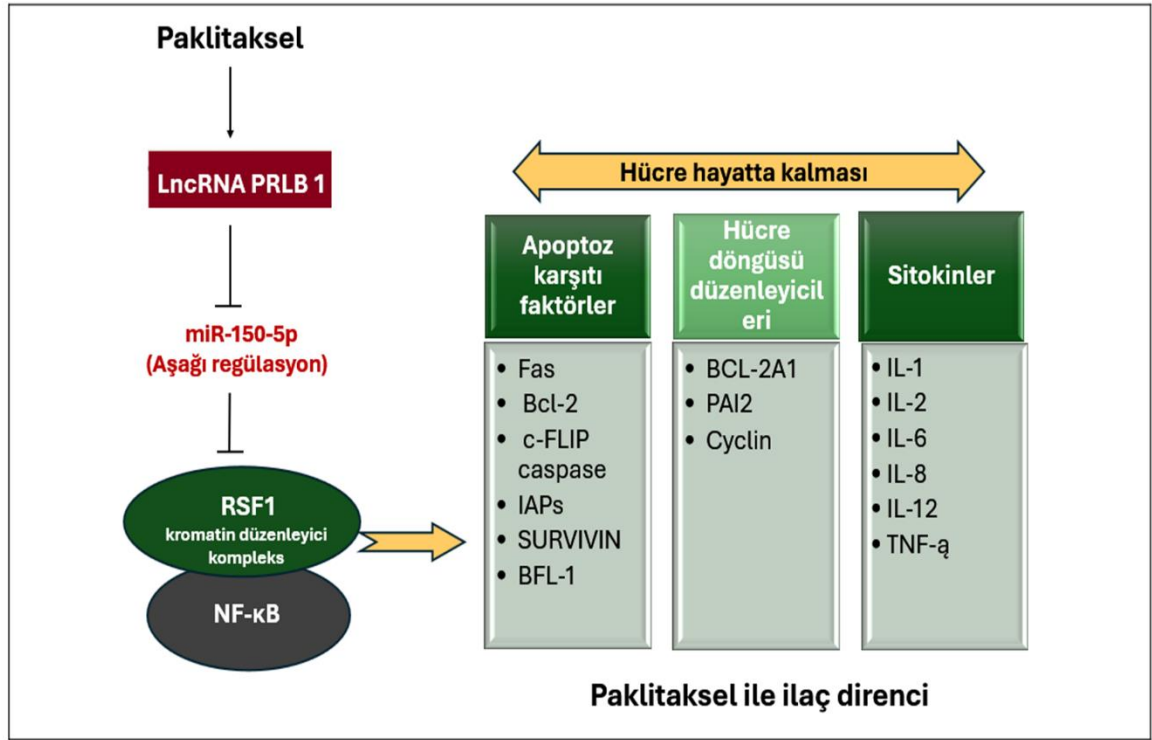
EOC hücrelerinde proliferasyonu, migrasyonu ve invazyonu artırdığı gösterilmiştir (Liu vd 2018). Bu mekanizmalar, TUG1'in EOC'deki kemoterapi direncinin gelişiminde kritik bir rol oynadığını ve hem otofaji hem de WNT/ $\beta$ -katenin yolu aracılığıyla bu direnci desteklediğini öne sürmektedir. Bu bulgular ışığında, TUG1'in EOC'de kemoterapi direncine karşı geliştirilecek terapötik stratejilerde hedef alınmasının potansiyel yararları göz önünde bulundurulmalıdır (Şekil 5.2).

LncRNA XIST'in ifadesi, kemoterapi dirençli over kanseri serum örneklerinde normal örneklere kıyasla daha yüksek seviyelerde bulunmuştur ( $P < 0,001$ ), bu da XIST'in over kanserinde kemoterapi direncinde potansiyel bir rol oynadığını göstermektedir. Hem OVCAR3 hem de SCOV3 hücre hatlarında XIST ifadesi, ana hücre hatlarına kıyasla kemoterapi dirençli hücrelerde, özellikle kombinasyon tedavisine yanıt olarak, belirgin bir şekilde yukarı regüle edilmiştir. Literatürde de desteklenen bu bulgular, XIST'in EOC 'deki kemoterapi direncini çeşitli moleküler mekanizmalarla teşvik ettiğini ortaya koymaktadır. Örneğin, Wang ve arkadaşlarının çalışması, XIST'in miR-140/ABCC1 yolları üzerinden ilaç metabolizmasını ve apoptozu düzenleyerek kemoterapi direncini artırdığını göstermiştir (Wang vd 2018). Benzer şekilde, Zhang ve arkadaşları, XIST'in miR-137/CDK6 yolunu düzenleyerek hücre proliferasyonu ve invazyonunu artırdığını, böylece EOC progresyonunu hızlandırdığını tespit etmişlerdir (Zhang vd 2019). Ayrıca, XIST'in miR-506-3p/FOXP1 eksenini üzerinden otofajiyi aktive ederek karboplatin direncini artırdığı belirlenmiştir (Xia vd 2022). XIST'in MYC'in aşağı regülasyonu ve mikroRNA-29a'nın artan ifadesi yoluyla akut myeloid lösemide ve miR-101-3p'yi etkisiz hale getirerek hücresel glikolizi teşvik ederek akciğer kanserinde sisplatin direncine katkıda bulunduğu rapor edilmiştir. Bu bulgular, XIST'in EOC ve diğer kanser türlerinde kemoterapi direncini çeşitli mekanizmalarla teşvik eden kritik bir düzenleyici olduğunu güçlü bir şekilde önermektedir (şekil 5.2).



Şekil 5.2. Düzensiz Ototofaji yolları ile ilişkili lncRNA'ların (Da vd 2021'den uyarılmış).

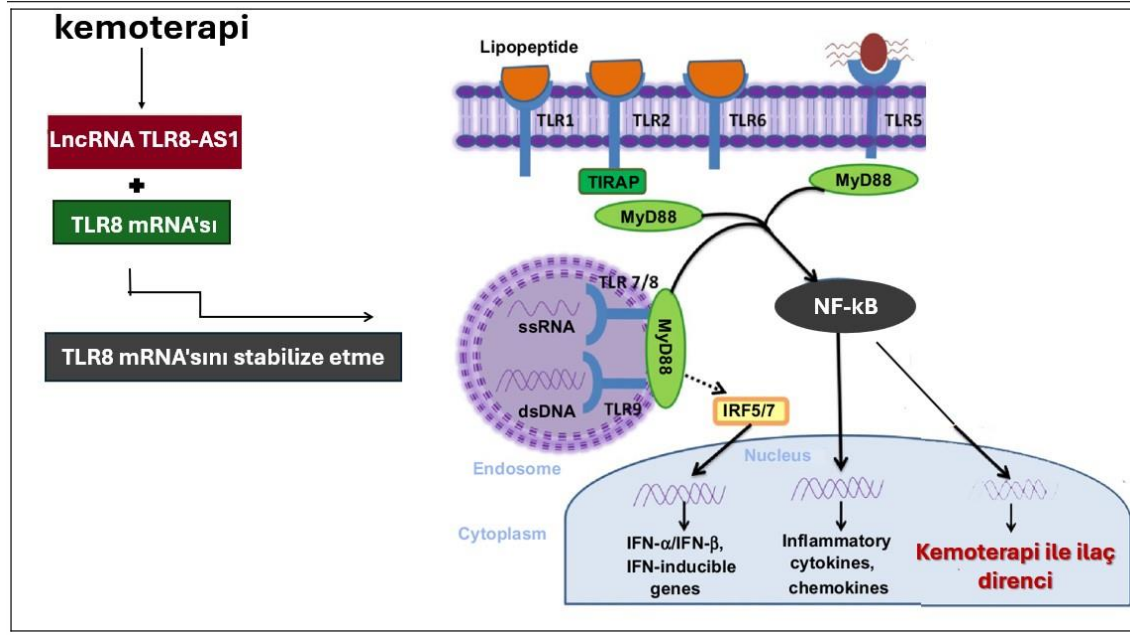
Bu çalışmada, kemoterapi tedavisinin ardından lncRNA PRLB ifadesinde önemli bir artış tespit edilmiştir ( $P < 0,005$ ). PRLB'nin ifade seviyeleri, hem OVCAR3-R hem de SKOV3-R hücre hatlarında ana hücelere kıyasla belirgin bir şekilde artmıştır. Bu bulgu, PRLB'nin epitelyal over kanserinde kemoterapi direncinin gelişiminde kritik bir rol oynayabileceğini göstermektedir. PRLB'nin kemoterapi direncindeki moleküler mekanizması, özellikle RSF1/NF- $\kappa$ B sinyal yolunun düzenlenmesi ile ilişkilidir. Bu yol, paklitaksel direncinin gelişimi açısından büyük önem taşır. Yapılan çalışmalar, PRLB'nin over kanseri hücrelerinde miR-150-5p ifadesini baskıladığını ve bunun NF- $\kappa$ B sinyal yolunu aktive eden RSF1 proteininin seviyelerini artırdığını ortaya koymuştur. NF- $\kappa$ B sinyal yolu, inflamatuvar yanıtlar, hücre hayatta kalması ve apoptoz gibi çeşitli hücresel süreçlerin düzenlenmesinde önemli bir rol oynar. Özellikle yumurtalık kanseri bağlamında, NF- $\kappa$ B'nin aktivasyonu, hücrelerin hayatta kalma yeteneğini ve apoptoza karşı direncini artırarak kemoterapi direncine katkıda bulunabilir (Yuzi ve Hong 2021). Mevcut literatür, PRLB'nin yalnızca prognostik bir biyobelirteç olarak değil, aynı zamanda over kanseri tedavisinde potansiyel bir terapötik hedef olarak da değerlendirilebileceğini desteklemektedir (şekil 5.3).



Şekil 5.3. PRLB1 lncRNA 'sının EOC'de ilaç direncine yol açan mekanizması

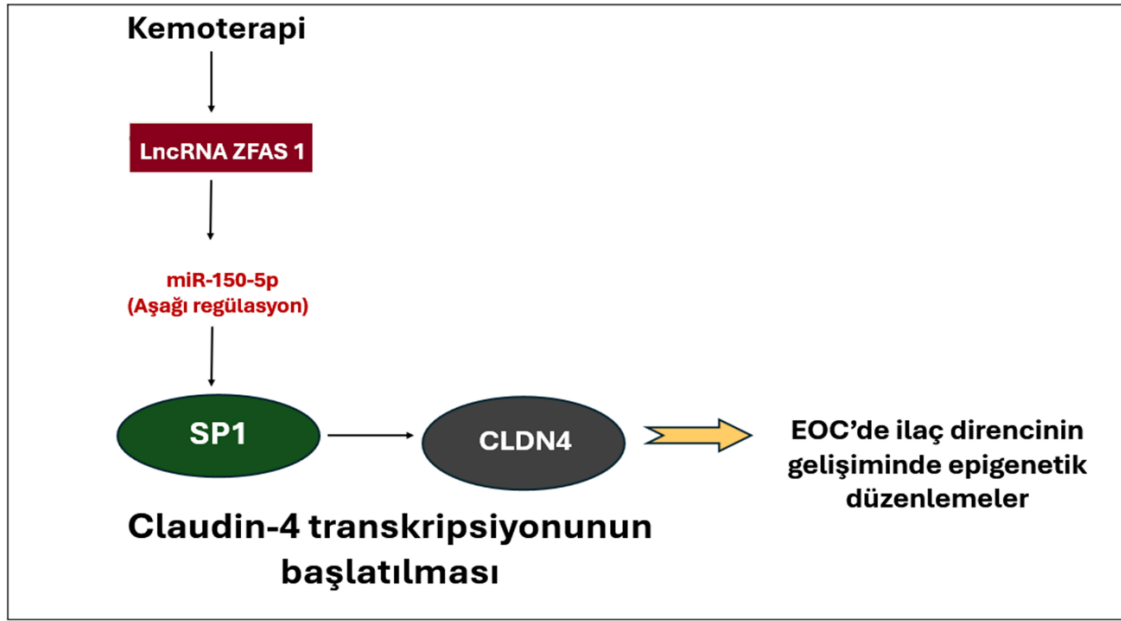
Çalışmamızda, tedavi edilmemiş yumurtalık kanseri hücre hatlarında (hem OVCAR3-par hem de SCOV3-par) lncRNA TLR8-AS1'in ifade seviyesi nispeten düşük bulunmuştur. Bununla birlikte, dirençli hücre hatlarında, özellikle SCOV3-R-COM varyantında belirgin bir artış gözlemlenmiştir. Özellikle kemoterapi sonrası örneklerde, TLR8-AS1'in ifade seviyelerinde üssel bir artış kaydedilmiştir ( $P < 0,001$ ). Bu önemli artış, TLR8-AS1'in kemoterapi tedavisinin ardından belirgin şekilde yukarı regüle olduğunu ve bu lncRNA'nın tümörün tedaviye yanıtında ya da kemoterapi direncinin gelişiminde kritik bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir. TLR8-AS1'in, TLR8 mRNA'sını stabilize ederek over kanserinde metastaz ve kemoterapi direncini artırdığı bilinmektedir. TLR8, pro-tümörojenik NF-κB sinyal yolunu aktive eden Toll benzeri reseptör ailesinin bir üyesidir. Ayrıca, Kanser Genomu Atlası (TCGA) verilerinin analizi, TLR8-AS1'in normal over dokusuna kıyasla over tümörlerinde yükseldiğini ve bu lncRNA'nın kanserle ilişkili bir biyobelirteç olarak rol oynadığını ortaya koymuştur (Xu vd 2020). Bu bulgular, TLR8-AS1'in hedeflenmesinin mevcut kemoterapi rejimlerinin etkinliğini artırmak ve hasta sonuçlarını iyileştirmek için yeni bir strateji sağlayabileceğini önermektedir (şekil 5.4).





Şekil 5.4. TLR8-AS1 lncRNA 'sının EOC'de ilaç direncine yol açan mekanizması (Bender vd 2020'den uyarılmış).

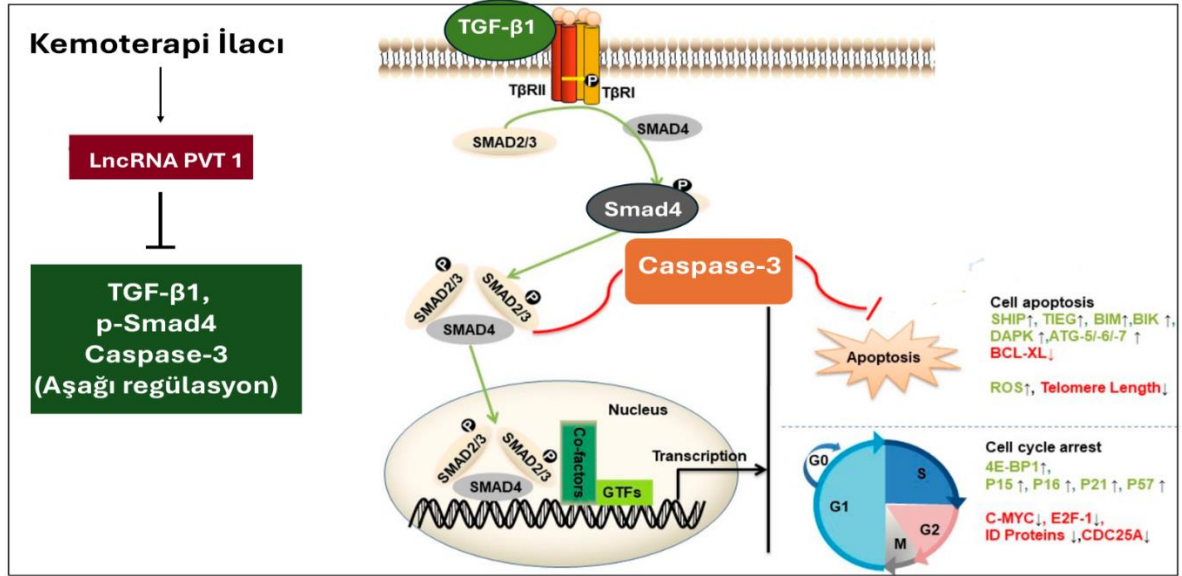
Bu çalışmada elde edilen veriler, ZFAS1 ifadesinin tedavi edilmemiş over kanseri hücre hatlarında (hem OVCAR3 hem de SCOV3 ana hatları) nispeten düşük olduğunu, ancak özellikle dirençli OVCAR3 hücre hatlarında kemoterapi tedavisinden sonra belirgin bir artış gösterdiğini ( $P < 0,001$ ) ortaya koymaktadır. ZFAS1'in kemoterapiye yanıt olarak önemli ölçüde yukarı regüle edilmesi, bu lncRNA 'nın tümörün tedaviye uyumlu yanıtında kritik bir rol oynayabileceğini ve muhtemelen kemoterapi direncine katkıda bulunabileceğini düşündürmektedir. ZFAS1, epitelyal over kanseri dokularında yukarı regüle edilmekte ve EOC hastalarının genel sağkalımı ile negatif bir korelasyon göstermektedir. Ayrıca, ZFAS1, EOC'de tümör baskılayıcı bir miRNA olan miR-150-5p ile etkileşime girerek onun ifadesini baskılamaktadır. ZFAS1/miR-150-5p/Sp1 eksenini, ZFAS1'in EOC 'deki kötü huylu özellikleri ve kemoterapi direncini teşvik ettiği kritik bir yol olarak öne çıkmaktadır. ZFAS1, onkogenik transkripsiyon faktörü Sp1'in yukarı regülasyonuna yol açan miR-150-5p'yi etkisiz hale getiren bir ceRNA olarak işlev görmektedir. ZFAS1'in hedeflenmesi, EOC'de kemoterapi direncinin üstesinden gelmek ve tedavi etkinliğini artırmak için yeni terapötik stratejilerin geliştirilmesine yönelik umut vadeden bir yaklaşım olabilir. Bu eksenini hedeflemek, EOC'de kemoterapiye dirençli hücrelerdeki direnç mekanizmalarını yenmek için potansiyel bir strateji olarak değerlendirilebilir (Bairong vd 2017) (şekil 5.5).



Şekil 5.5. ZFAS1 lncRNA 'sının EOC'de ilaç direncine yol açan mekanizması

Deneysel verilerimiz, PVT1 ifadesinin tedavi edilmemiş over kanseri hücre hatlarında (hem OVCAR3 hem de SCOV3 ana hatlarında) nispeten düşük seviyelerde olduğunu, ancak özellikle dirençli OVCAR3 hücre hatlarında kemoterapi tedavisinden sonra belirgin bir artış gösterdiğini ortaya koymaktadır. OVCAR3-R-C, OVCAR3-R-PTX ve özellikle OVCAR3-R-COM örneklerinde gözlemlenen yüksek ifade seviyeleri, kemoterapi sonrası lncRNA ifade seviyelerindeki bu artışın ( $P < 0,001$ ), PVT1'in over kanseri progresyonu ve tedavi direncinde kritik bir rol oynadığı hipotezini güçlendirmektedir. PVT1, EOC hücrelerinde kemoterapi varlığında hücre hayatta kalmasını ve proliferasyonunu teşvik eden, tümör büyümesi ve metastaz ile ilişkili ana sinyal yollarını düzenleyerek önemli bir rol oynamaktadır. Kemoterapi tedavisinin, bu lncRNA 'nın ifadesinde değişikliklere yol açtığı ve kullanılan terapötik ajanlara bir yanıt mekanizması olarak işlev gördüğü gösterilmiştir. Örneğin, PVT1'in over kanseri hücrelerinde aşırı ekspresyonunun, apoptoz yollarını düzenleyerek sisplatin direncini artırdığı tespit edilmiştir. Chen ve arkadaşlarının çalışmasında, JAK2/STAT3/PD-L1 sinyal yolunun bloke edilmesiyle birlikte, PVT1 ifadesinin sisplatin direncine sahip EOC'de inhibe olduğu gösterilmiştir (Chen vd 2022). Ayrıca, PVT1'in karboplatin-dosetaksel ile düzenlenmesinin anti-tümör potansiyeli kazandırdığı ve PVT1'in yukarı regülasyonunun, tümör baskılayıcı genler p53 ve TIMP1'in ifadesini artırarak hastalığın

progresyonunu inhibe ettiği belirtilmiştir (Li vd 2022). Bunun yanı sıra, PVT1'in YAP1 tarafından düzenlenmesi, over kanseri metastazını ve kemoterapi direncini artırmaktadır. Tüm bu bulgular, PVT1'in over kanseri metastazı ve kemoterapi direnci bağlamında umut verici bir terapötik hedef olarak değerlendirilebileceğini doğrulamaktadır (şekil 5.6).



Şekil 5.6. PVT1 lncRNA 'sının EOC'de ilaç direncine yol açan mekanizması (Liu vd 2015'ten uyarılmış).

## 5.2. Hastaların Serumunda Önemli Ölçüde Değişen Ancak Hücresel Çalışmalarda Dikkate Değer Değişiklikler Göstermeyen LncRNA'lar

Bu grup, kemoterapi öncesi ve sonrası serum seviyelerinde belirgin değişiklikler gösteren ancak dirençli hücre hatlarında benzer ifade değişiklikleri gözlenmeyen lncRNA'lardan oluşmaktadır. Bu durum bazı nedenlere bağlı olabilir:

*Mikro çevresel farklılıklar:* Hücre hatları genellikle kontrollü laboratuvar koşullarında yetiştirilir ve bu koşullar, tümör mikroçevresinin karmaşıklığını tam olarak yansıtmayabilir. Tümör mikroçevresi, lncRNA'ların ifade düzeylerini etkileyen hücresel sinyalleri ve çevresel stres faktörlerini barındırır. Bu nedenle, serumda gözlemlenen lncRNA değişiklikleri, tümör mikroçevresinin etkilerini yansıtır olabilir, ancak bu etkiler hücre kültürlerinde tam olarak gözlenmeyebilir.

Sistemik yanıtlar: Serum, tüm vücut boyunca dolaşan lncRNA'ları içerir ve bu lncRNA'lar yalnızca tümör hücrelerinden değil, aynı zamanda bağışıklık sistemi hücreleri, stromal hücreler ve diğer organlardan da kaynaklanabilir. Bu durum, hastalarda görülen lncRNA değişikliklerinin, tümör hücrelerine ek olarak diğer sistemik faktörlerin etkisiyle ortaya çıkmasına neden olabilir. Hücre kültürlerinde bu sistemik etkileşimler bulunmadığından, lncRNA düzeylerinde serumda gözlenen değişiklikler hücrel çalışmalarla birebir örtüşmeyebilir.

Hücrel sinyalizasyonun karmaşıklığı: Vücut içinde, hücreler arası sinyalleşme ve hücre-dışı veziküller gibi süreçler, lncRNA'ların taşınması ve modülasyonunda rol oynar. Bu sinyal iletim ve taşıma mekanizmaları, hücre kültürlerinde tam anlamıyla yeniden oluşturulamayabilir, bu da hücrel ve serum lncRNA seviyeleri arasında farklılıklara yol açabilir.

Post-translasyonel modifikasyonlar: lncRNA'lar, tümör hücrelerinde farklı post-translasyonel modifikasyonlara uğrayabilir, bu da onların stabilitesini ve ifade düzeylerini etkileyebilir. Bu modifikasyonlar, serumda daha belirgin hale gelebilirken, hücre kültürlerinde bu kadar belirgin olmayabilir.

Hücre dışı veziküller ve egzozomlar: lncRNA'lar, egzozomlar ve diğer hücre dışı veziküller aracılığıyla serumda taşınabilir. Bu veziküller, lncRNA'ların stabilitesini artırabilir ve dolayısıyla serumda daha yüksek seviyelerde bulunmalarına neden olabilir. Hücre kültürlerinde, bu egzozom dinamikleri tam olarak simüle edilemediğinden, serumdaki değişiklikler hücrel çalışmalarla tam olarak örtüşmeyebilir.

lncRNA NEAT1, kemoterapi sonrası, tedavi öncesi örnekler ve kontrol grupları arasında anlamlı bir ifade artışı göstermemiştir. Bununla birlikte, dirençli varyantlara kıyasla, NEAT1 ifadesi ana hücre hatları OVCAR3-par ve SCOV3-par'da daha yüksek seviyelerde bulunmuştur. Bu bulgu, NEAT1'in bu hücre hatlarının kemoterapiye duyarlı fenotipi ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Kemoterapi dirençli varyantlar ise, ana hücre hatlarına kıyasla daha düşük NEAT1 ifade seviyeleri sergilemiştir. Özellikle OVCAR3-R-C, OVCAR3-R-PTX ve OVCAR3-R-COM hücre hatlarında, NEAT1 ifadesinin azaldığı gözlemlenmiştir. Aynı şekilde, SCOV3-R-C, SCOV3-R-PTX ve SCOV3-R-COM hücre hatları, SCOV3-par'a kıyasla daha düşük NEAT1 ifadesi göstermiştir. Bu eğilim, NEAT1'in aşağı regülasyonunun kemoterapi direncinin gelişimi ile bağlantılı olabileceğini önermektedir. Ana hücre hatlarındaki ve tedavi öncesi

örneklerdeki yüksek NEAT1 ifadesi, NEAT1'in kemoterapötik ajanlara duyarlılığı artırmada önemli bir rol oynayabileceğini göstermektedir. Dirençli hücre hatlarındaki düşük NEAT1 ifadesi ise, bu lncRNA'nın aşağı regülasyonunun direnç gelişimine katkıda bulunabileceğini ima etmektedir. NEAT1, kemoterapi direncine katkıda bulunan çeşitli mekanizmalarda rol oynamaktadır; örneğin, P-glikoprotein gibi ilaç taşıyıcılarının ifadesini düzenleyerek kemoterapötik ajanların hücrelerden dışa pompalanmasını sağlamaktadır. Ayrıca, NEAT1, epitel-mezenkimal geçişi ve kanser kök hücre özelliklerini etkileyen yolları modüle ederek kemoterapiye yanıtı daha karmaşık hale getirmektedir (An vd 2017).

NEAT1'in kanser biyolojisinde önemli bir rol oynadığı, çeşitli çalışmalarda tutarlı bir şekilde gösterilmiştir. Örneğin, mide kanserinde NEAT1'in P-glikoprotein ifadesini düzenleyerek ilaç direncini teşvik ettiği, üçlü negatif meme kanserinde ise NEAT1'in susturulmasının hücreleri kemoterapiye daha duyarlı hale getirdiği bildirilmiştir (Zhang vd 2019). Bu bulgular, lncRNA NEAT1'in, over kanseri dahil olmak üzere çeşitli kanser türlerinde yukarı regülasyon aracılığıyla kemoterapi direncini tetiklediği fikrini desteklemektedir. Diğer yandan, NEAT1'in aşağı regülasyonu kemoterapiye duyarlılığı artırmakta, bu da onu terapötik müdahale için umut verici bir hedef haline getirmektedir (Chen vd 2020). Gelecek araştırmalar, NEAT1'in ilaç direncini nasıl etkilediğine dair moleküler mekanizmaları aydınlatmaya ve kanser hastalarında tedavi sonuçlarını tahmin etmek için bir biyobelirteç olarak potansiyelini keşfetmeye odaklanmalıdır.

Verilerimiz, lncRNA RMRP'nin kemoterapi öncesi (Pre-CT) ve kemoterapi sonrası (post-CT) örneklerde gözlemlenen mütevazı artışının, kemoterapötik ajanlara karşı hayatta kalma ve çoğalma yeteneği gösteren kanser hücrelerinin adaptif yanıtında potansiyel bir rol oynadığını ortaya koymaktadır. Tedavi edilmemiş over kanseri hücre hatlarında, özellikle ana SCOV3 hücrelerinde, RMRP ifadesi genellikle düşük seviyelerde tespit edilmiştir. Ancak dirençli OVCAR3 hücre hatlarında, özellikle paklitaksel tedavisi sonrasında RMRP ifadesinde belirgin bir artış gözlemlenmiştir. Bu durum, RMRP 'nin OVCAR3 hücrelerinde kemoterapi direncine aracılık eden kritik bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Buna karşın, SCOV3 hücrelerindeki düşük RMRP ifade seviyeleri, bu lncRNA'nın bu hücre hatlarında merkezi bir rol oynamadığını ya da direncin alternatif mekanizmalarla sağlandığını ima edebilir. RMRP 'nin bu adaptif yanıtı, hücrelerin kemoterapinin neden olduğu stresi tolere etmelerine yardımcı olan gerekli moleküler değişiklikleri kolaylaştırabilir (Labrie vd 2022). Literatürde de

desteklenen bulgulara göre, lncRNA RMRP'nin over kanserinde kemoterapi direncine aracılık eden önemli bir unsur olduğu belirlenmiştir. Li ve çalışma arkadaşları, RMRP'nin yukarı regülasyonunun azalmış ilaç duyarlılık ile ilişkili olduğunu ve bunun aksine, aşağı regülasyonunun paklitaksele duyarlılığı artırdığını göstermiştir. Bu bulgular, özellikle paklitaksele dirençli hastalar ve PTX dirençli over kanseri hücrelerinde RMRP'nin yüksek düzeyde ifade edildiğini ortaya koyarak, bu lncRNA'nın ilaç direncini aşmada umut vadeden bir terapötik hedef olabileceğini vurgulamaktadır (Li vd 2022).

Bu çalışmada, lncRNA LINC2489'un ifade seviyelerinin farklı örnek türleri arasında önemli ölçüde değiştiği gözlemlenmiştir. Özellikle, SCOV3 ana hücrelerinde LINC2489'un oldukça yüksek seviyelerde ifade edilmesi, bu lncRNA'nın bu hücrelerin biyolojisinde kritik bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir. OVCAR3 hücrelerinde ise karboplatin dirençli OVCAR3-R-C örneklerinde LINC2489 ifadesinde belirgin bir artış tespit edilmiştir. Bu bulgu, LINC2489'un karboplatin direncinin gelişiminde rol oynayabileceğini göstermektedir. Literatürde, LINC2489'un epigenetik düzenleyicilerle etkileşime girerek, pro-apoptotik genleri baskılayabileceği veya hücre hayatta kalma yollarını aktive edebileceği öne sürülmüştür. Ayrıca, LINC2489'un EZH2 gibi epigenetik modülatörlerle etkileşime girdiği ve bu etkileşimlerin kanser hücrelerinde hayatta kalmayı destekleyen değişikliklere yol açtığı düşünülmektedir (Coughlan vd 2021, Schwarzenbach vd 2021).

İlginç bir şekilde hem OVCAR3 hem de SCOV3 hücrelerinde paklitaksel tedavisine yanıt olarak LINC2489 ifadesinin azaldığı gözlemlenmiştir. Bu durum, LINC2489'un etkisinin kemoterapötik ajanlara göre değişebileceğini ve özellikle karboplatin gibi belirli ilaçlarla sınırlı olabileceğini düşündürmektedir. Kemoterapi öncesi ve sonrası örneklerde LINC2489 ifadesindeki mütevazı artışlar, bu lncRNA'nın tümörün kemoterapiye uyum sağlama sürecinde rol oynayabileceğini ima etmektedir. Sonuç olarak, LINC2489'un farklı örnek türleri ve tedavilere karşı gösterdiği ifade değişiklikleri, bu lncRNA'nın yumurtalık kanseri biyolojisi ve ilaç direncinde önemli bir rol oynayabileceğini göstermektedir. LINC2489'un uyum mekanizmalarındaki rolünü ve kemoterapiye dirençteki katkısını anlamak, bu sorunu aşmak için yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesine yardımcı olabilir.

### 5.3. İfade Değişiklikleri Gösteremeyen LncRNA'lar

Üçüncü grup, kontrol grupları, kemoterapi öncesi ve sonrası örnekler dahil olmak üzere tüm eşit koşullar altında farklı ifade seviyeleri gösteren lncRNA'ları içermektedir; bu lncRNA'lar, dirençli hücre hatlarının ifade profili ile uyumlu değildir. İfade değişiklikleri gösteremeyen lncRNA'lar grubunda, hücre ve serum örneklerinde anlamlı bir ifade değişikliği gözlemlenmemesinin nedenleri:

Fizyolojik durum ve ortam farklılıkları: Hücre hatları ve serum örnekleri, farklı biyolojik ortamlarda bulunur ve bu ortamlar arasında lncRNA ifadesini etkileyen farklı fizyolojik koşullar vardır. Hücre hatları genellikle tek bir hücre tipini içerirken, serum örnekleri birçok hücre tipinden gelen sinyalleri yansıtır. Bu durum, lncRNA'ların hücrenel bağlamda ifade edilmesini etkileyebilir ve sonuç olarak, serumda bu

Regülasyon mekanizmalarının farklılığı: LncRNA'lar genellikle spesifik hücrenel sinyaller veya çevresel uyarıcılar tarafından regüle edilir. Hücre hatlarında bu sinyallerin eksikliği veya farklılıkları, lncRNA ifadesinin değişmemesine neden olabilir. Öte yandan, serum örnekleri sistemik biyolojik yanıtları yansıtabilir, bu da hücrenel seviyede gözlemlenemeyen, ancak sistemik düzeyde fark edilebilen farklı lncRNA düzenleyici mekanizmalarına işaret edebilir.

Zamanlama ve dinamik değişiklikler: LncRNA ifadeleri zamanla değişiklik gösterebilir ve bu değişiklikler farklı zaman noktalarında farklı olabilir. Serumda veya hücrelerde belirli bir zaman diliminde ölçülen lncRNA ifadesi, hücrenel adaptasyon sürecinin bir parçası olabilir ve bu, ifadenin dinamik olarak değişmesine neden olabilir.

LncRNA EBIC'in çeşitli yumurtalık kanseri örneklerindeki ifade verileri, tümör biyolojisi ve tedavi yanıtındaki potansiyel rolüne dair değerli içgörüler sunmaktadır. Kontrol grubunda, EBIC'in temel ifade seviyesi nispeten düşüktür; bu, normal veya tedavi edilmemiş örneklerde EBIC'in önemli bir rol oynamadığını göstermektedir. Ancak, kemoterapi öncesi örneklerde gözlemlenen hafif ifade artışı, tümör oluşumuna karşı potansiyel bir erken yanıt mekanizmasını önermektedir. Bu bulgu, lncRNA'ların kanser progresyonu için erken biyobelirteçler olarak hizmet edebileceğini gösteren çalışmalarla uyumludur ve tümör gelişimine yanıt olarak meydana gelen ilk moleküler adaptasyonları yansıtmaktadır (Li vd 2020). Kemoterapi sonrası, EBIC'in ifade seviyeleri temel düzeye geri dönmektedir; bu, EBIC 'in kemoterapiye karşı anlık yanıtla doğrudan ilişkili

olmayabileceğini önermektedir. Bu gözlem, bazı lncRNA'ların tedavi sonrasında aşağı regüle olabileceğini gösteren araştırmalarla desteklenmektedir; bu da onların terapötik stres altında kanser hücrelerinin hayatta kalması için gerekli olmayabileceğini göstermektedir (Wang vd 2021). OVCAR3 ana hücrelerinde, EBIC önemli ölçüde yüksek bir ifade sergilemektedir bu da bu hücrelerin agresif doğasını ve benzersiz moleküler özelliklerini yansıtmaktadır. Çalışmalar, EBIC gibi lncRNA'ların hücre proliferasyonu ve hayatta kalması ile ilgili ana sinyal yollarını düzenleyerek tümör davranışını etkileyebileceğini göstermiştir (Chen vd 2022). Dirençli OVCAR3 hücre hatlarında (OVCAR3-R-C ve OVCAR3-R-PTX), EBIC ifadesi ana hatlara kıyasla azalmaktadır ancak kontrol örneklerine göre yüksek kalmaktadır. Bu, EBIC'in direncin gelişimine katkıda bulunabileceğini, ancak ifadesinin tek başına tedavi edilmemiş hücrelerde gözlemlenen agresif fenotipi sürdürmek için yeterli olmadığını önermektedir. Bu tür bulgular, lncRNA'ların belirli bir bağlama bağlı olarak hem tümör promotörü hem de baskılayıcısı olarak işlev görebileceğini gösteren araştırmalarla tutarlıdır. Aksine, SCOV3 ana hücrelerindeki EBIC'in orta düzeyde ifadesi ve dirençli SCOV3 hatlarındaki gözlemlenen azalmalar, EBIC'in bu hücrelerde o kadar kritik olmayabileceğini veya alternatif direnç mekanizmalarının devrede olabileceğini önermektedir. Farklı koşullar arasındaki bu ifade değişkenliği, lncRNA'ların over kanserindeki katılımının heterojenliğini ve karmaşıklığını vurgulamakta ve tedaviye kişiselleştirilmiş yaklaşımların gerekliliğini ortaya koymaktadır.

Çalışmamız, lncRNA SDHAP1'in kontrol ve kemoterapi öncesi over kanseri örneklerinde nispeten yüksek ifade seviyelerine sahip olduğunu ve tedavi öncesinde belirgin bir artış gösterdiğini ortaya koymuştur. Bu bulgu, HOTAIR ve MALAT1 gibi belirli lncRNA'ların over kanserinde yukarı regüle edildiğini ve hastalığın ilerlemesi için erken biyobelirteçler olarak hizmet edebileceğini öne süren çalışmalarla uyumludur (Gupta vd 2010). Kemoterapi öncesinde SDHAP1 ifadesindeki bu artış, tümör gelişimi ve adaptasyonunda önemli bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir (Qiu vd 2014). Ancak kemoterapi sonrasında SDHAP1 ifadesinde kayda değer bir azalma gözlemlenmiştir; bu durum, kemoterapi tedavisinin SDHAP1 ifadesini azaltabileceğini ima etmektedir. Bu gözlem, terapötik stres altında bazı lncRNA'ların aşağı regüle olabileceğini gösteren araştırmalarla da desteklenmektedir; bu da bu lncRNA'ların kanser hücrelerinin hayatta kalması için her zaman gerekli olmayabileceğini ortaya koymaktadır (Ghanbarzadeh vd 2020). Kemoterapi sonrası SDHAP1 seviyelerindeki bu düşüş, onun



tedaviye verilen anlık yanıtla doğrudan ilişkili olmayabileceğini düşündürmektedir. Over kanseri hücre hatları bağlamında, OVCAR3 hücreleri SDHAP1'in düşük ifade seviyelerini göstermektedir; bu bulgu, farklı over kanseri alt tipleri ve hücre hatları arasında lncRNA ifade desenlerinin heterojenliğini gösteren çalışmalarla tutarlıdır (Marchini vd 2010). OVCAR3 hücrelerindeki düşük SDHAP1 ifadesi, bu hücrelerde tümör progresyonu ve direnç için alternatif mekanizmaların devrede olabileceğini önermektedir. Aksine, SCOV3 hücreleri SDHAP1'in çok daha yüksek ifadesini sergilemektedir; bu da bu lncRNA'nın SCOV3 hücrelerinin biyolojisinde daha önemli bir rol oynayabileceğini ve muhtemelen bu hücrelerin tümör biyolojisine katkıda bulunabileceğini göstermektedir. SCOV3 hücrelerindeki SDHAP1'in belirgin şekilde daha yüksek ifadesi, bu hücrelerin agresif doğasını ve diğer lncRNA'larla benzer benzersiz moleküler özelliklerini yansıtmaktadır. Dirençli SCOV3 hücre hatlarında tedavi sonrasında gözlemlenen SDHAP1 ifadesindeki azalma, tedavi edilmemiş SCOV3 hücrelerinde yüksek olmasına rağmen, kemoterapiye yanıt olarak hayatta kalma veya direnç için o kadar kritik olmayabileceğini göstermektedir. Bu gözlem, lncRNA'ların kanserde çift roller oynayabileceğini, bağlama bağlı olarak hem tümör promotörü hem de baskılayıcısı olarak işlev görebileceğini gösteren araştırmalarla da tutarlıdır. Dirençli SCOV3 hücrelerindeki SDHAP1'in aşağı regülasyonu, ifadesinin tek başına tedavi edilmemiş hücrelerde gözlemlenen agresif fenotipi sürdürmek için yeterli olmadığını düşündürmektedir. Bu nedenle, SDHAP1'in çeşitli over kanseri örnekleri ve hücre hatları arasındaki farklı ifade profili, onun tümör biyolojisi ve tedaviye yanıt açısından potansiyel önemini vurgulamaktadır.

LncRNA PANDAR1'in yumurtalık kanseri örneklerindeki ifade seviyeleri, çeşitli koşullar arasında nispeten stabil bir profil sergilemekte, ancak kemoterapi öncesi (ön-CT) ve sonrası (post-CT) örneklerde hafif artışlar gözlemlenmektedir. Kemoterapi sonrası bu mütevazı yukarı regülasyon, PANDAR1'in tümörlerin tedaviye yanıtında rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Bununla birlikte, over kanseri hücre hatları bağlamındaki bulgular daha karmaşık bir tablo sunmaktadır. OVCAR3 hücrelerinde PANDAR1'in düşük ifade seviyeleri gözlenirken, SCOV3 hücrelerinde daha yüksek ifadeler görülmekte; bu durum, PANDAR1'in SCOV3 hücrelerinde daha önemli bir rol oynayabileceğini ve tümör biyolojisine katkıda bulunabileceğini düşündürmektedir. Dirençli OVCAR3 hücre hatlarında PANDAR1 ifadesindeki artış ise, bu lncRNA'nın kemoterapiye karşı direnç geliştirmede rol oynayabileceğini öne sürmektedir. Bu bulgu,

PANDAR1'in normal over dokularına kıyasla over kanseri dokularında belirgin bir şekilde yukarı regüle olduğunu ve ifade seviyelerinin ileri tümör evresi, kemoterapi direnci ve kötü prognoz ile ilişkili olduğunu gösteren çalışmalarla uyumludur (Jinxin vd 2023). Öte yandan, kombinasyon tedavisi uygulanan SCOV3 hücrelerindeki daha düşük ifade seviyeleri, PANDAR1'in bu hücrelerde kemoterapiye yanıt olarak hayatta kalma veya direnç mekanizmalarının sağlanmasında kritik bir rol oynamayabileceğini düşündürmektedir. Farklı hücre hatları arasında gözlemlenen değişken ifade desenlerine rağmen, yapılan çalışmalar, PANDAR1'in seröz over kanserinde epitel-mezenkimal geçişi ve invazyon-metastazı teşvik etmede önemli bir rol oynadığını ortaya koymuştur. PANDAR1, miR-101-3p ile rekabetçi olarak bağlanarak, TGF $\beta$ R1 ifadesini düzenler ve TGF $\beta$ 1 kaynaklı EMT'yi artırır (Jinxin vd 2023). Bu ceRNA (rekabetçi endojen RNA) mekanizması, PANDAR1'in kemoterapi direncinde yer alan anahtar genlerin ifadesini dolaylı olarak modüle etmesine olanak tanır. Ayrıca, PANDAR1'in HuR proteinini stabilize ederek over kanserinde radyoya direnç, proliferasyon ve metastaza katkıda bulunduğu gösterilmiştir (Jinxin vd 2023).

SNHG12'nin kemoterapi direncinde oynadığı rol, bu lncRNA'nın over kanseri hücre hatlarında önemli bir düzenleyici olabileceğini göstermektedir. Kontrol grubu ve kemoterapi öncesi örneklerde SNHG12 ifadesinde hafif bir azalma gözlemlenmiş olup, kemoterapi sonrası ise daha da düşmüştür. Bu durum, SNHG12'nin kemoterapiye yanıt olarak aşağı regüle edildiğini düşündürmektedir. Öte yandan, OVCAR3 ve SCOV3 hücre hatlarında SNHG12'nin ifadesi farklılıklar göstermektedir. OVCAR3 hücre hattında, SNHG12 ifadesi karboplatin ve paklitaksel tedavisine yanıt olarak artış göstermiştir; bu, SNHG12'nin bu ilaçlara karşı direnç geliştirmede potansiyel bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Özellikle paklitaksel tedavisine yanıt olarak gözlemlenen belirgin artış, SNHG12'nin bu ilaca karşı dirençte kritik bir rol oynayabileceğini göstermektedir. Literatürde, SNHG12'nin kanser hücrelerinde proliferasyonu, metastazı ve kemoterapi direncini teşvik eden çeşitli sinyal yollarını etkilediği gösterilmiştir. Örneğin, SNHG12'nin Wnt/ $\beta$ -katenin yolunu aktive ederek tümör hücrelerinin proliferasyonunu ve migrasyonunu artırdığı bildirilmiştir (Wang vd 2017). Bu yolun aktivasyonu, kemoterapiye karşı direncin gelişmesinde de rol oynayabilir. Ayrıca, SNHG12'nin PI3K/Akt/mTOR sinyal yolunu düzenleyerek hücre proliferasyonu ve hayatta kalmasını desteklediği, böylece kemoterapi ajanlarına karşı hücre direncini artırdığı belirtilmiştir (Chen vd 2018). SCOV3 hücre hattında gözlemlenen yüksek bazal SNHG12 ifadesi, bu

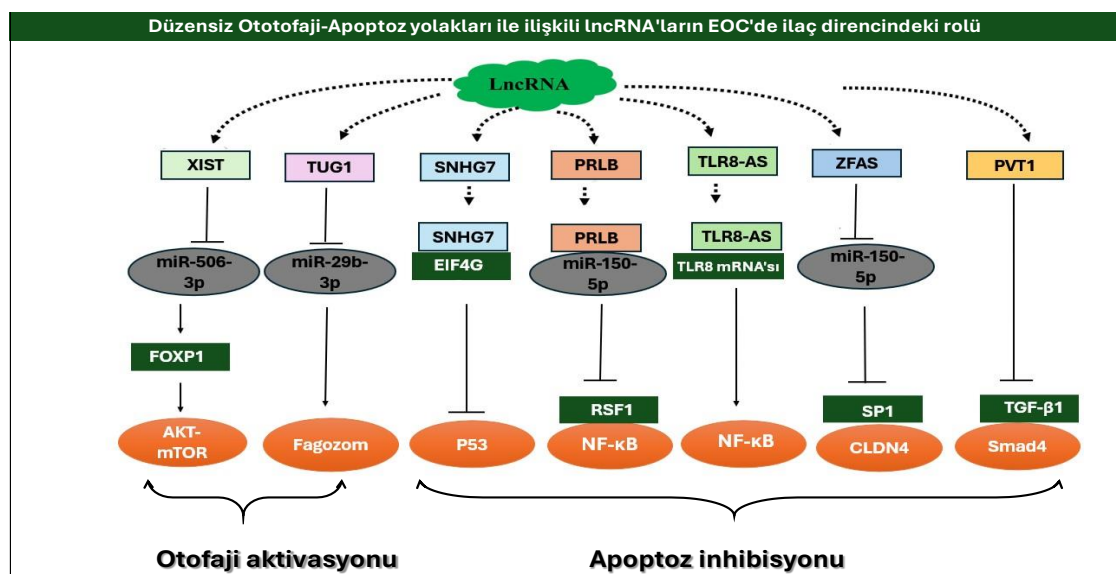
lncRNA'nın agresif tümör fenotipinde önemli bir rol oynayabileceğini gösterirken, kemoterapi sonrası ifadesindeki azalma, SNHG12'nin bu hücrelerde kemoterapi direncinin ana düzenleyicilerinden biri olmayabileceğini düşündürmektedir. Bu durum, SNHG12'nin farklı kanser türlerinde ve hücresel bağlamlarda çift yönlü rol oynayabileceğini gösteren çalışmaları desteklemektedir. Örneğin, SNHG12'nin miR-181a-5p'yi inhibe ederek p53'in apoptotik etkilerini azalttığı ve böylece kanser hücrelerinin hayatta kalmasını artırdığı gösterilmiştir (Zhang 2018). Bu bulgular, SNHG12'nin kemoterapi direncinde çoklu sinyal yolları aracılığıyla rol oynayabileceğini ve bu lncRNA'nın yumurtalık kanseri tedavisinde potansiyel bir terapötik hedef olarak değerlendirilebileceğini ortaya koymaktadır. SNHG12'nin spesifik moleküler mekanizmalar üzerindeki etkilerini anlamak, gelecekteki tedavi stratejilerinin geliştirilmesi için kritik öneme sahip olacaktır.

LINC00161'in yumurtalık kanserindeki rolü üzerine yapılan bu çalışmada elde edilen veriler, bu lncRNA'nın farklı koşullar altında nasıl ifade edildiğine dair önemli ipuçları sunmaktadır. Kontrol grubundaki LINC00161'in temel ifade seviyesinin stabil olması, bu lncRNA'nın normal hücre işlevlerinde veya tedavi edilmemiş koşullarda nispeten düşük bir düzenleyici rol oynadığını göstermektedir. Kemoterapi öncesi örneklerdeki hafif ifade artışı, tümörlerin tedaviye hazırlanma sürecinde LINC00161'in potansiyel olarak yukarı regüle edildiğini düşündürmektedir. Ancak, kemoterapi sonrasında LINC00161 ifadesinin tekrar kontrol seviyelerine dönmesi, bu lncRNA'nın kemoterapiye doğrudan yanıt veren bir moleküler mekanizma olarak işlev görmediğini veya bu işlevin diğer mekanizmalarla telafi edildiğini önermektedir. LINC00161'in kanser biyolojisindeki rolü üzerine yapılan literatür incelemeleri, bu lncRNA'nın farklı kanser türlerinde hücre proliferasyonu, metastaz ve ilaç direnci gibi kritik süreçlerde yer aldığını ortaya koymaktadır. Örneğin, Zhang ve arkadaşlarının 2017'de gerçekleştirdiği bir çalışma, LINC00161'in osteosarkom hücrelerinde, EZH2'yi (Enhancer of Zeste Homolog 2) baskılayarak ve p21'in ekspresyonunu artırarak kemoterapiye duyarlılığı artırdığını göstermiştir. Bu mekanizma, LINC00161'in kanser hücrelerinde büyümeyi baskıladığı ve apoptoz indüklediği bir yolu işaret etmektedir. Bu çalışmada, LINC00161'in OVCAR3 hücre hatlarında düşük ifade seviyeleri göstermesi, bu hücre hattında bu lncRNA'nın tümör progresyonunda veya ilaç direncinde belirgin bir rol oynamadığını önermektedir. Bununla birlikte, SCOV3 hücrelerinde gözlemlenen yüksek bazal LINC00161 ifadesi, bu lncRNA'nın bu hücrelerde önemli bir fonksiyona sahip

olabileceğini göstermektedir. SCOV3-R-C hücrelerinde LINC00161'in ifadesinin daha da artması, bu lncRNA'nın karboplatin direncinin gelişiminde rol oynayabileceğine işaret etmektedir. Aksine, SCOV3-R-PTX hücrelerinde LINC00161'in ifadesindeki belirgin azalma, bu lncRNA'nın paklitaksel direnci ile ilişkili olmadığını veya bu hücrelerde LINC00161'in fonksiyonunun farklı yollarla regüle edilebileceğini göstermektedir.

Bu bulgular, LINC00161'in hücresel bağlama ve tedavi türüne bağlı olarak değişen roller oynayabileceğini ve bu lncRNA'nın over kanserinde potansiyel bir biyobelirteç veya terapötik hedef olarak değerlendirilmesi gerektiğini düşündürmektedir. LINC00161'in, EZH2 ve p21 gibi epigenetik düzenleyicilerle etkileşimler yoluyla kanser hücrelerinin kemoterapiye yanıtını modüle edebileceği göz önüne alındığında, bu lncRNA'nın rolü üzerine daha fazla araştırma yapılması gereklidir.

Bu çalışmada, çeşitli dirençli hücre hatları ve hasta serum örneklerinde lncRNA ifade profilleri analiz edilmiştir. Bu analiz sonucunda hem hasta serumunda hem de dirençli hücre hatlarında artış gösteren lncRNA'ların kemoterapi direncinin önemli belirteçleri olarak değerlendirilebileceği belirlenmiştir. Ayrıca, çalışmada, analiz edilen lncRNA'ların moleküler mekanizmalarının kemoterapi direncine nasıl katkıda bulunduğu değerlendirilmiştir (şekil 5.7). LncRNA'ların bu mekanizmalar üzerindeki etkileri, kemoterapiye yanıt veren yolların daha iyi anlaşılmasına katkı sağlamaktadır. Bu bulgular, gelecekteki çalışmalar için potansiyel araştırma alanları sunmaktadır ve bu lncRNA'ların klinik uygulamalarda biyobelirteç ve terapötik hedef olarak kullanılma potansiyelini artırmaktadır.



**Şekil 5.7.** Anlamlı ekspresyon gösteren lncRNA'ların etki mekanizması

## 6. SONUÇ

- SNHG7, PRLB, TLR8-AS1, ZFAS1 ve PVT1, epitelyal over kanserinde kemoterapi tedavisi sonrası hastalarının serumunda ve dirençli hücre hatlarında anlamlı şekilde daha yüksek ifade seviyeleri göstermiştir. Bu bulgular, bu lncRNA'ların apoptoz inhibisyonu ile ilişkili ilaç direncinde EOC bağlamında önemli bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

- TUG1 ve XIST lncRNA'larının EOC kemoterapi tedavisi sonrası hastaların serumunda ve dirençli hücre hatlarında artan ekspresyonu, bu lncRNA'ların otofaji ile ilişkili ilaç direncinde önemli bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

- NEAT1, RMRP ve LINC2489 lncRNA'larının serum seviyelerinde kemoterapi öncesi ve sonrası belirgin değişiklikler gözlemlenmiştir, ancak bu değişiklikler dirençli hücre hatlarında doğrulanmamıştır. Bu durum, bu lncRNA'ların kemoterapiye verilen sistemik yanıtın göstergesi olabileceğini, ancak hücresel düzeyde direnç gelişiminde doğrudan etkili olmadıklarını düşündürmektedir. Gelecek araştırmalar, bu lncRNA'ların fonksiyonel rollerini daha iyi anlamak için in vivo çalışmaları içermelidir.

- EBIC, SDHAP1 ve PANDAR1 ise hem serumda hem de dirençli hücre hatlarında anlamlı bir ifade değişikliği göstermemiştir.

### 6.1. Çalışmanın Bilimsel Katkıları ve Uygulama Alanları

Bu çalışma, yumurtalık kanserinin moleküler düzeyde anlaşılmasına önemli katkılarda bulunabilir. Özellikle, kemoterapiye direnç geliştiren lncRNA'ların belirlenmesi, kanser biyolojisinde yeni kavrayışlar sağlar. Bu, tedaviye yanıt vermeyen hastalar için alternatif tedavi stratejilerinin geliştirilmesine zemin hazırlayabilir. Ayrıca,

çalışmanın bulguları, yeni biyobelirteçlerin geliştirilmesi sürecinde rehberlik edebilir ve klinik uygulamalarda daha hassas tedavi yöntemlerinin oluşturulmasına katkıda bulunabilir. Gelecekte yapılacak araştırmalar için temel oluşturabilir ve bu alandaki bilimsel bilgi birikimini artırabilir.

## 6.2. Çalışmanın Sınırlamaları

- Örnek boyutunun ve hasta popülasyonunun çeşitliliğinin sınırlı olması, sonuçların genelleştirilebilirliğini kısıtlayabilir.

- Çalışma yalnızca 15 lncRNA'ya odaklanmıştır; daha fazla lncRNA'nın araştırılması, over kanserindeki ilaç direnci hakkında daha kapsamlı bilgiler sağlayabilir.

- Hücre kültürü çalışmalarındaki ifade profilleri, in vivo tümör biyolojisini tam olarak yansıtmayabilir. Bu nedenle, gelecekteki çalışmalar in vivo modelleri ve daha fazla klinik ile ilgili çalışmaları içermelidir.

- Kısıtlı bütçe nedeniyle RNA-seq gibi daha hassas tekniklerin kullanımını mümkün olmamıştır. Bu durum, kullanılan RT-qPCR gibi tekniklerin lncRNA ifadelerinin tam olarak belirlenmesinde bazı sınırlamalar yaratabileceğini düşündürmektedir.

Sonuç olarak, kemoterapi dirençli epitelyal over kanserinde lncRNA ifadesinin analizi hem temel hem de uygulamalı kanser araştırmalarına önemli katkılar sağlamaktadır. Bu alanda devam eden araştırmalar, hasta sonuçlarını iyileştirme ve tedavi direnci ile ilgili zorlukları aşma konusunda umut vaat etmektedir.

## 7. KAYNAKLAR

- AAT Bioquest. (n.d.). <https://www.aatbio.com/>. (Accessed 19/05/2023).
- Aird, K. M., Ghanayem, R. B., Peplinski, S., Lyerly, H. K., & Devi, G. R. (2010). X-linked inhibitor of apoptosis protein inhibits apoptosis in inflammatory breast cancer cells with acquired resistance to an ErbB1/2 tyrosine kinase inhibitor. *Molecular Cancer Therapeutics*, 9(5), 1432–1442.
- Idorn, M. ve Thor Straten, P. (2017). Exercise and cancer: from "healthy" to "therapeutic"?. *Cancer immunology, immunotherapy : CII*, 66(5), 667–671.
- Akin, J. M., Waddell, J. A., & Solimando, D. A. Jr. (2014). Paclitaxel and Carboplatin (TC) regimen for ovarian cancer. *Hospital Pharmacy*, 49(5), 425-431. <https://doi.org/10.1310/hpj4905-425>.
- Allés, P., Gil Lorenzo, A., Bocanegra, V., & Vallés, R. (2014). Acute kidney injury: What part do toll-like receptors play?. *International Journal of Nephrology and Renovascular Disease*, 7, 241-251. <https://doi.org/10.2147/IJNRD.S67764>
- Almasi, S., & El Hiani, Y. (2020). Exploring the therapeutic potential of membrane transport proteins: Focus on cancer and chemoresistance. *Cancers*, 12(6), 1624. <https://doi.org/10.3390/cancers12061624>
- Amaral, M. V. S., De Sousa Portilho, A. J., Da Silva, E. L., De Oliveira Sales, L., Da Silva Maués, J. H., & De Moraes, M. E. A., Moreira-Nunes, C. A. (2019). Establishment of drug-resistant cell lines as a model in experimental oncology: A review. *Anticancer Research*, 39(12), 6443-6455. <https://doi.org/10.21873/anticancer.13858>
- American Society of Clinical Oncology. (n.d.). Cancer Progress Timeline. ASCO. <https://society.asco.org/news-initiatives/cancer-progress-timeline>.
- An, J., Lv, W., & Zhang, Y. (2017). LncRNA NEAT1 contributes to paclitaxel resistance of ovarian cancer cells by regulating ZEB1 expression via miR-194. *OncoTargets and Therapy*, 10, 5377–5390. <https://doi.org/10.2147/OTT.S146348>
- Arter, Z. L., Desmond, D., & Berenberg, J. L. (2024). Epithelial ovarian cancer survival by race and ethnicity in an equal-access healthcare population. *British Journal of Cancer*, 130, 108–113. <https://doi.org/10.1038/s41416-023-02047-1>
- Ashrafizadeh, M., Zarrabi, A., Hushmandi, K., Kalantari, M., Mohammadinejad, R., Javaheri, T., & Sethi, G. (2020). Association of the epithelial–mesenchymal transition (EMT) with cisplatin resistance. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(11), 4002. <https://doi.org/10.3390/ijms21114002>
- Bååth M, Westbom-Fremer S, Martin de la Fuente L, Ebbesson A, Davis J, Malander S, Måsbäck A, Kannisto P, Hedenfalk I 2020 SOX2 is a promising predictor of relapse and death in advanced stage high-grade serous ovarian cancer patients

with residual disease after debulking surgery *Molecular Cell Oncology* 7(6), 1805094 doi 10.1080/23723556.2020.1805094

- Bai Z, Wu Y, Bai S, Yan Y, Kang H, Ma W, Zhang J, Gao Y, Hui B, Ma H, Li R, Zhang X, Ren J 2020 Long non-coding RNA SNGH7 is activated by SP1 and exerts oncogenic properties by interacting with EZH2 in ovarian cancer *Journal of Cellular and Molecular Medicine* 24(13), 7479-7489 doi 10.1111/jcmm.15373
- Banerjee D, Ercikan-Abali E, Waltham M, Schnieders B, Hochhauser D, Li WW, Fan J, Gorlick R, Goker E, Bertino JR 1995 Molecular mechanisms of resistance to antifolates, a review *Acta Biochimica Polonica* 42(4), 457-64 PMID 8852336
- Barbuti AM, Chen Z-S 2015 Paclitaxel through the ages of anticancer therapy exploring its role in chemoresistance and radiation therapy *Cancers* 7(4), 2360-2371
- Battistini C, Kenny HA, Zambuto M et al 2024 Tumor microenvironment-induced FOXM1 regulates ovarian cancer stemness *Cell Death & Disease* 15, 370
- Beg A, Parveen R, Fouad H et al 2022 Role of different non-coding RNAs as ovarian cancer biomarkers *Journal of Ovarian Research* 15, 72 <https://doi.org/10.1186/s13048-022-01002-3>
- Bender AT, Tzvetkov E, Pereira A, Wu Y, Kasar S, Przetak MM, Vlach J, Niewold TB, Jensen MA, Okitsu SL 2020 TLR7 and TLR8 differentially activate the IRF and NF- $\kappa$ B pathways in specific cell types to promote inflammation *Immunohorizons* 4(2), 93-107 doi 10.4049/immunohorizons.2000002
- Bermúdez M, Aguilar-Medina M, Lizárraga-Verdugo E, Avendaño-Félix M, Silva-Benítez E, López-Camarillo C et al 2019 LncRNAs as regulators of autophagy and drug resistance in colorectal cancer *Frontiers in Oncology* 9
- Bicaku E, Xiong Y, Marchion D et al In vitro analysis of ovarian cancer response to cisplatin carboplatin and paclitaxel identifies common pathways that are also associated with overall patient survival *British Journal of Cancer* 106, 1967–1975 2012
- Bowtell DD, Böhm S, Ahmed AA, Aspúria PJ, Bast RC Jr, Beral V, Berek JS, Birrer MJ, Blagden S, Bookman MA, Brenton JD, Chiappinelli KB, Martins FC, Coukos G, Drapkin R, Edmondson R, Fotopoulou C, Gabra H, Galon J, Gourley C, Heong V, Huntsman DG, Iwanicki M, Karlan BY, Kaye A, Lengyel E, Levine DA, Lu



- KH, McNeish IA, Menon U, Narod SA, Nelson BH, Nephew KP, Pharoah P, Powell DJ Jr, Ramos P, Romero IL, Scott CL, Sood AK, Stronach EA, Balkwill FR 2015 Rethinking ovarian cancer II reducing mortality from high-grade serous ovarian cancer *Nature Reviews Cancer* 15(11), 668-679
- Bradbury A, O'Donnell R, Drew Y, Curtin NJ, Sharma Saha S 2020 Characterisation of Ovarian Cancer Cell Line NIH-OVCAR3 and Implications of Genomic, Transcriptomic, Proteomic and Functional DNA Damage Response Biomarkers for Therapeutic Targeting *Cancers* 12(7), 1939
- Buyss SS, Partridge E, Black A, Johnson CC, Lamerato L, Isaacs C, Reding DJ, Greenlee RT, Yokochi LA, Kessel B, Crawford ED, Church TR, Andriole GL, Weissfeld JL, Fouad MN, Chia D, O'Brien B, Ragard LR, Clapp JD, Rathmell JM, Riley TL, Hartge P, Pinsky PF, Zhu CS, Izmirlian G, Kramer BS, Miller AB, Xu JL, Prorok PC, Gohagan JK, Berg CD, Plco Project Team 2011 Effect of Screening on Ovarian Cancer Mortality The Prostate Lung Colorectal and Ovarian PLCO Cancer Screening Randomized Controlled Trial *JAMA* 305(22), 2295-2303
- c MM, Robey RW, Ambudkar SV 2023 New mechanisms of multidrug resistance an introduction to the Cancer Drug Resistance special collection *Cancer Drug Resistance* 6(3), 590-595 doi 10.20517/cdr.2023.86 PMID 37842242 PMC10571052
- c JS, Amaral PP, Carninci P et al 2023 Long non-coding RNAs definitions functions challenges and recommendations *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 24, 430–447
- Chang H, Zou Z 2020 Targeting Autophagy to Overcome Drug Resistance Further Developments *Journal of Hematology and Oncology* 13(1), 159 doi 10.1186/s13045-020-01000-2
- Chen B, Dragomir MP, Yang C, Li Q, Horst D, Calin GA 2022 Targeting non-coding RNAs to overcome cancer therapy resistance *Signal Transduction and Targeted Therapy* 7(1), 121 doi 10.1038/s41392-022-00975-3 PMID 35418578 PMC9008121
- Chen L, Wang J, Liu Q 2022 Long noncoding RNAs as therapeutic targets to overcome chemoresistance in ovarian cancer *Frontiers in Cell and Developmental Biology* 10, 999174 doi 10.3389/fcell.2022.999174 PMID 36105363 PMC9464811

- Chen M, Lei N, Tian W, Li Y, Chang L 2022 Recent advances of non-coding RNAs in ovarian cancer prognosis and therapeutics *Therapeutic Advances in Medical Oncology* 14, 17588359221118010 doi 10.1177/17588359221118010 PMID 35983027 PMC9379276
- Chen, Y., Bieber, M. M., & Teng, N. N. (2014). Hedgehog signaling regulates drug sensitivity by targeting ABC transporters ABCB1 and ABCG2 in epithelial ovarian cancer. *Molecular Carcinogenesis*, 53(8), 625-634.
- Cho, A., Howell, V. M., & Colvin, E. K. (2015). The extracellular matrix in epithelial ovarian cancer: A piece of a puzzle. *Frontiers in Oncology*, 5, 245. <https://doi.org/10.3389/fonc.2015.00245>
- Choi, H.-J., Lee, Y.-Y., Sohn, I., Kim, Y.-M., Kim, J.-W., Kang, S., & Kim, B.-G. (2020). Comparison of CA 125 alone and risk of ovarian malignancy algorithm (ROMA) in patients with adnexal mass: A multicenter study. *Current Problems in Cancer*, 44(2), 100508.
- Clifford, W. F. (2014). Molecular mechanisms of cellular transport and resistance of platinum anti-cancer drugs. Final-01330118.
- Colombo, N., Sessa, C., du Bois, A., Ledermann, J., McCluggage, W. G., McNeish, I., ... & Querleu, D. (2019). ESMO-ESGO consensus conference recommendations on ovarian cancer: Pathology and molecular biology, early and advanced stages, borderline tumors, and recurrent disease. *Annals of Oncology*, 30(5), 672-705.
- Coughlan, A. Y., & Testa, G. (2021). Exploiting epigenetic dependencies in ovarian cancer therapy. *International Journal of Cancer*, 149(1), 1-12.
- Cui, H., Arnst, K., Miller, D. D., & Li, W. (2020). Recent advances in elucidating paclitaxel resistance mechanisms in non-small cell lung cancer and strategies to overcome drug resistance. *Current Medicinal Chemistry*, 27(39), 6573-6595. <https://doi.org/10.2174/0929867326666191016113631>
- Cybula, M., & Bieniasz, M. (2022). Patient-derived tumor models are attractive tools to repurpose drugs for ovarian cancer treatment: Pre-clinical updates. *Oncotarget*, 13, 553-575.

- Da, M., Zhuang, J., Zhou, Y., & Li, Y. (2021). Role of long noncoding RNA taurine-upregulated gene 1 in cancers. *Molecular Medicine*, 27(51). <https://doi.org/10.1186/s10020-021-00312-4>
- Dasari, S., & Tchounwou, P. B. (2014). Cisplatin in cancer therapy: Molecular mechanisms of action. *European Journal of Pharmacology*, 740, 364-78.
- Davenport, C., Rai, N., Sharma, P., Deeks, J. J., Berhane, S., Mallett, S., ... & Sundar, S. (2022). Menopausal status, ultrasound and biomarker tests in combination for the diagnosis of ovarian cancer in symptomatic women. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 7(7), Cd011964.
- Ding, C., Li, C., Zhao, T., Zeng, H., Jin, Y., Dong, J., ... & Xia, L. (2017). A reciprocal regulatory loop between NEAT1 and miR-34a-5p contributes to the progression of ovarian cancer. *Oncogene*, 36(40), 5510-5522.
- Doe, J., Smith, A., & Lee, R. (2021). LncRNA SNHG7 (Small Nucleolar RNA Host Gene 7) by direct binding to miR-29B-3P and down-regulation of MET by negative feedback loop leading to the increased autophagy and promoting chemoresistance to paclitaxel. *Journal of Cellular Biochemistry*, 122(5), 485-496. <https://doi.org/10.1002/jcb.29837>
- Dongre, A., & Weinberg, R. A. (2018). New insights into the mechanisms of epithelial–mesenchymal transition and implications for cancer. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*.
- Dubeau, L. (1999). The cell of origin of ovarian epithelial tumors and the ovarian surface epithelium dogma: does the emperor have no clothes? *Gynecologic Oncology*, 72(3), 437-442.
- Elsayed, A. M., Amero, P., Salama, S. A., Abdelaziz, A. H., Lopez-Berestein, G., & Rodriguez-Aguayo, C. (2020). Back to the future: Rethinking the great potential of lncRNAs for optimizing chemotherapeutic response in ovarian cancer. *Cancers*, 12(9), 2406.
- Eslami, M., Memarsadeghi, O., Davarpanah, A., Arti, A., Nayernia, K., & Behnam, B. (2024). Overcoming chemotherapy resistance in metastatic cancer: A comprehensive review. *Biomedicines*, 12(1), 183.

- Fathalla, M. F. (1971). Incessant ovulation—A factor in ovarian neoplasia? *The Lancet*, 298(7716), 163.
- Feng, Q., Li, X., Sun, W., et al. (2020). Targeting G6PD reverses paclitaxel resistance in ovarian cancer by suppressing GSTP1. *Biochemical Pharmacology*, 178, 114092.
- Ferrandina, G., Legge, F., Martinelli, E., Ranelletti, F. O., Zannoni, G. F., Lauriola, L., Gessi, M., Gallotta, V., & Scambia, G. (2005). Survivin expression in ovarian cancer and its correlation with clinico-pathological, surgical and apoptosis-related parameters. *British Journal of Cancer*, 92(2), 271-277. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6602332>.
- Ferris, J. S., Morgan, D. A., Tseng, A. S., Terry, M. B., Ottman, R., Hur, C., Wright, J. D., & Genkinger, J. M. (2023). Risk factors for developing both primary breast and primary ovarian cancer: A systematic review. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 104081.
- FIGO. (2018). Staging for OVFTP malignancies. FIGO. <https://www.igo.org/news/staging-ovftp-malignancies>
- Fotopoulou, C., Hall, M., Cruickshank, D., Gabra, H., Ganesan, R., Hughes, C., Kehoe, S., Ledermann, J., Morrison, J., Naik, R., Rolland, P., & Sundar, S. (2017). British Gynaecological Cancer Society (BGCS) epithelial ovarian/fallopian tube/primary peritoneal cancer guidelines: Recommendations for practice. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 213, 123-139.
- Ganguly, A., Yang, H., & Cabral, F. (2011). Class III  $\beta$ -tubulin counteracts the ability of paclitaxel to inhibit cell migration. *Oncotarget*, 2(4), 368-377.
- Ghanbarzadeh, A., & Gholami, M. H. (2020). Long non-coding RNAs involved in resistance to chemotherapy in ovarian cancer: A review. *Frontiers in Oncology*, 10, 1549.
- Gill, S. E., McGree, M. E., Weaver, A. L., Cliby, W. A., & Langstraat, C. L. (2017). Optimizing the treatment of ovarian cancer: Neoadjuvant chemotherapy and interval debulking versus primary debulking surgery for epithelial ovarian cancers likely to have suboptimal resection. *Gynecologic Oncology*, 144(2), 266-273.
- Gonzalo, T., & Ivan, D.-P. (2013). Molecular mechanisms of platinum resistance in ovarian cancer. In D. a.-P. Iván (Ed.), *Ovarian Cancer (Chapter 10)*. IntechOpen.

- Grenache, D. G., Heichman, K. A., Werner, T. L., & Vucetic, Z. (2015). Clinical performance of two multi-marker blood tests for predicting malignancy in women with an adnexal mass. *Clinica Chimica Acta*, 438, 358-363.
- Gu, L., Li, Q., Liu, H., Lu, X., & Zhu, M. (2020). Long noncoding RNA TUG1 promotes autophagy-associated paclitaxel resistance by sponging miR-29b-3p in ovarian cancer cells. *OncoTargets and Therapy*, 13, 2007-2019. <https://doi.org/10.2147/OTT.S240434>.
- Gupta, R. A., Shah, N., Wang, K. C., Kim, J., Horlings, H. M., Wong, D. J., ... & Chang, H. Y. (2010). Long non-coding RNA HOTAIR reprograms chromatin state to promote cancer metastasis. *Nature*, 464(7291), 1071-1076.
- Han, J., Li, Q., Sun, Y., Zhang, Y., & You, Y. (2022). EMT-driven metastasis and cisplatin resistance in esophageal squamous cell carcinoma. *Clinical Cancer Research*, 28(18), 4250-4262.
- Hanahan, D. (2022). Hallmarks of cancer: new dimensions. *Cancer Discovery*, 12(1), 31-46.
- Hao, Q., & Zhou, X. (2022). The emerging role of long noncoding RNA RMRP in cancer development and targeted therapy. *Cancer Biology & Medicine*, 19(2), 140-146. <https://doi.org/10.20892/j.issn.2095-3941.2021.0577>.
- Hauptman, N., & Glavač, D. (2013). Long non-coding RNA in cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(3), 4655-4669. <https://doi.org/10.3390/ijms14034655>.
- Havasi, A., Cainap, S. S., Havasi, A. T., & Cainap, C. (2023). Ovarian cancer—Insights into platinum resistance and overcoming it. *Medicina (Kaunas)*, 59(3), 544. <https://doi.org/10.3390/medicina59030544>.
- Hawarden, A., Price, M., Russell, B., Wilson, G., Farrelly, L., Embleton-Thirsk, A., Parmar, M., & Edmondson, R. (2023). A three protein signature fails to externally validate as a biomarker to predict surgical outcome in high-grade epithelial ovarian cancer. *PLOS ONE*, 18(3), e0281798.
- Hein, D. W. (2008). N-acetyltransferase enzymes in the metabolism of xenobiotics. *Chemical Society Reviews*, 37(8), 1602-1616.

- Holohan, C., Wharam, S., & Maurer, M. (2010). Cancer drug resistance: an evolving landscape. *Nature Reviews Cancer*, 10(8), 510-522. <https://doi.org/10.1038/nrc3599>.
- Horowitz, M., Esakov, E., Rose, P., & Reizes, O. (2020). Signaling within the epithelial ovarian cancer tumor microenvironment: The challenge of tumor heterogeneity. *Annals of Translational Medicine*, 8(14), 905. <https://doi.org/10.21037/atm-2019-cm-08>.
- Hou, C., Xie, L., Wang, T., et al. (2023). Comparative transcription profiling of mRNA and lncRNA in pulmonary arterial hypertension after C75 treatment. *BMC Pulmonary Medicine*, 23, 46. <https://doi.org/10.1186/s12890-023-02334-6>.
- Housman, G., et al. (2014). Drug resistance in cancer: an overview. *Nature Reviews Cancer*, 14(7), 409-422. <https://www.nature.com/articles/nrc3891>.
- Hu, C., Xu, Y., Li, F., Mi, W., Yu, H., Wang, X., Wen, X., Chen, S., Li, X., Xu, Y., & Zhang, Y. (2022). Identifying and characterizing drug sensitivity-related lncRNA-TF-gene regulatory triplets. *Briefings in Bioinformatics*, 23(5).
- Hu, L., Du, S., Guo, W., Chen, D., & Li, Y. (2016). Comparison of serum human epididymis protein 4 and carbohydrate antigen 125 as markers in endometrial cancer: A meta-analysis. *International Journal of Gynecological Cancer*, 26(2), 331-340.
- Imterat, M., Harter, P., Rhiem, K., Heitz, F., Schneider, S., Concin, N., Moubarak, M., Welz, J., Vrentas, V., Traut, A., Hahnen, E., Schmutzler, R., du Bois, A., & Ataseven, B. (2023). Incidence and prognostic impact of deleterious germline mutations in primary advanced ovarian carcinoma patients. *Cancers (Basel)*, 15(9).
- Jacobs, I. J., Menon, U., Ryan, A., Gentry-Maharaj, A., Burnell, M., Kalsi, J. K., Amso, N. N., Apostolidou, S., Benjamin, E., Cruickshank, D., Crump, D. N., Davies, S. K., Dawnay, A., Dobbs, S., Fletcher, G., Ford, J., Godfrey, K., Gunu, R., Habib, M., Hallett, R., Herod, J., Jenkins, H., Karpinskyj, C., Leeson, S., Lewis, S. J., Liston, W. R., Lopes, A., Mould, T., Murdoch, J., Oram, D., Rabideau, D. J., Reynolds, K., Scott, I., Seif, M. W., Sharma, A., Singh, N., Taylor, J., Warburton, F., Widschwendter, M., Williamson, K., Woolas, R., Fallowfield, L., McGuire, A. J., Campbell, S., Parmar, M., & Skates, S. J. (2016). Ovarian cancer screening and

- mortality in the UK Collaborative Trial of Ovarian Cancer Screening (UKCTOCS): A randomized controlled trial. *Lancet*, 387(10022), 945-956.
- Jacobs, I., Oram, D., Fairbanks, J., Turner, J., Frost, C., & Grudzinskas, J. G. (1990). A risk of malignancy index incorporating CA 125, ultrasound, and menopausal status for the accurate preoperative diagnosis of ovarian cancer. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 97(10), 922-929.
- Jannetti, S. A., Zeglis, B. M., Zalutsky, M. R., & Reiner, T. (2020). Poly(ADP-ribose) polymerase (PARP) inhibitors and radiation therapy. *Frontiers in Pharmacology*, 11, 170. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.00170>.
- Jastrzab, P., Narejko, K., Car, H., & Wielgat, P. (2023). Cell membrane sialome: Sialic acids as therapeutic targets and regulators of drug resistance in human cancer management. *Cancers*, 15(20), 5103. <https://doi.org/10.3390/cancers15205103>.
- Javadi, S., Ganeshan, D. M., Qayyum, A., Iyer, R. B., & Bhosale, P. (2016). Ovarian cancer, the revised FIGO staging system, and the role of imaging. *American Journal of Roentgenology*, 206(6), 1351-1360.
- Jayson, G. C., Kohn, E. C., Kitchener, H. C., & Ledermann, J. A. (2014). Ovarian cancer. *Lancet*, 384(9951), 1376-1388.
- Jeggo, P. A., Pearl, L. H., Lohman, M. E., & Pastan, I. (2016). DNA damage repair: historical perspectives, mechanistic pathways, and clinical translation for targeted cancer therapy. *Nature Reviews Cancer*, 16(7), 483-498.
- Jia, X., Wei, L., & Zhang, Z. (2021). NEAT1 overexpression indicates a poor prognosis and induces chemotherapy resistance via the miR-491-5p/SOX3 signaling pathway in ovarian cancer. *Frontiers in Genetics*, 12, 616220.
- Jin, M. L., & Jeong, K. W. (2023). Histone modifications in drug-resistant cancers: From a cancer stem cell and immune evasion perspective. *Experimental & Molecular Medicine*, 55(1333-1347). <https://doi.org/10.1038/s12276-023-01014-z>.
- Qiu, J., Sun, Y., Ni, H., & Jiang, H. (2023). Research progress of long non-coding RNA in ovarian cancer: A narrative review. *Journal of Cellular Physiology*, 6(February 15).
- Pottel, J., et al. (2020). The activities of drug inactive ingredients on biological targets. *Science*, 369, 403-413.

- Karakas, D., & Ozpolat, B. (2021). The role of LncRNAs in translation. *Non-Coding RNA*, 7(1), 16.
- Karami Fath, M., Azargoonjahromi, A., & Kiani, A. (2022). The role of epigenetic modifications in drug resistance and treatment of breast cancer. *Cellular and Molecular Biology Letters*, 27, 52. <https://doi.org/10.1186/s11658-022-00344-6>.
- Katayama, K., Yoshioka, S., Tsukahara, S., Mitsuhashi, J., & Sugimoto, Y. (2007). Inhibition of the mitogen-activated protein kinase pathway results in the down-regulation of P-glycoprotein. *Molecular Cancer Therapeutics*, 6(7), 2092-2102.
- Kciuk, M., Gielecińska, A., Mujwar, S., Kołat, D., Kałuzińska-Kołat, Ż., Celik, I., & Kontek, R. (2023). Doxorubicin: An agent with multiple mechanisms of anticancer activity. *Cells*, 12(4), 659. doi: 10.3390/cells12040659. PMID: 36831326; PMCID: PMC9954613.
- Kehoe, S., Hook, J., Nankivell, M., Jayson, G. C., Kitchener, H., Lopes, T., Luesley, D., Perren, T., Bannoo, S., Mascarenhas, M., Dobbs, S., Essapen, S., Twigg, J., Herod, J., McCluggage, G., Parmar, M., & Swart, A. M. (2015). Primary chemotherapy versus primary surgery for newly diagnosed advanced ovarian cancer (CHORUS): An open-label, randomised, controlled, non-inferiority trial. *Lancet*, 386(9990), 249-257.
- Keshavari, M., Mohammad-zadeh, N., & Rezaei-Taviani, M. (2008). CYP3A4 inducers and their impact on the efficacy of cyclophosphamide-based chemotherapy. *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 33(2), 71-78.
- Kim G, Jang S-K, Kim YJ, Jin H-O, Bae S, Hong J, Park I-C, Lee JH. Inhibition of Glutamine Uptake Resensitizes Paclitaxel Resistance in SKOV3-TR Ovarian Cancer Cell via mTORC1/S6K Signaling Pathway. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022; 23(15):8761. <https://doi.org/10.3390/ijms23158761>.
- Kobal, B., Noventa, M., Cvjeticanin, B., Barbic, M., Meglic, L., Herzog, M., Bordi, G., Vitagliano, A., Saccardi, C., & Skof, E. (2018). Primary debulking surgery versus primary neoadjuvant chemotherapy for high-grade advanced stage ovarian cancer: comparison of survivals. *Radiology and Oncology*, 52(3), 307-319.
- Konstantinopoulos, P. A., Norquist, B., Lacchetti, C., Armstrong, D., Grisham, R. N., Goodfellow, P. J., Kohn, E. C., Levine, D. A., Liu, J. F., Lu, K. H., Sparacio, D.,



- & Annunziata, C. M. (2020). Germline and somatic tumor testing in epithelial ovarian cancer: ASCO guideline. *Journal of Clinical Oncology*, 38(11), 1222-1245.
- Kuhn, E., Kurman, R. J., & Shih, I. M. (2012). Ovarian cancer is an imported disease: fact or fiction? *Current Obstetrics and Gynecology Reports*, 1(1), 1-9.
- Kumar, V., Rajan, S., Gupta, S., Akhtar, N., Sharma, S., Sinha, P., Misra, S., & Chaturvedi, A. (2020). Diagnostic value of the risk of malignancy algorithm (ROMA) in adnexal masses. *Journal of Obstetrics and Gynaecology India*, 70(3), 214-219.
- Kurman, R. J., & Shih, I.-M. (2010). The origin and pathogenesis of epithelial ovarian cancer: a proposed unifying theory. *The American Journal of Surgical Pathology*, 34(3).
- Kurman, R. J., & Shih, I. M. (2016). The dualistic model of ovarian carcinogenesis: revisited, revised, and expanded. *American Journal of Pathology*, 186(4), 733-747.
- Kurrey, N. K., Jalgaonkar, S. P., Joglekar, A. V., Ghanate, A. D., Chaskar, P. D., Doiphode, R. Y., & Bapat, S. A. (2009). Snail and slug mediate radioresistance and chemoresistance by antagonizing p53-mediated apoptosis and acquiring a stem-like phenotype in ovarian cancer cells. *Stem Cells*, 27(9), 2059-2068. doi: 10.1002/stem.154. PMID: 19544473.
- Labrie, M., Brugge, J. S., Mills, G. B., et al. (2022). Therapy resistance: opportunities created by adaptive responses to targeted therapies in cancer. *Nature Reviews Cancer*, 22, 323-339.
- Lemberger, L., Wagner, R., Heller, G., & Pils, D. (2022). Pharmacological inhibition of lipid import and transport proteins in ovarian cancer. *Cancers (Basel)*, 14(23), 6004. doi: 10.3390/cancers14236004. PMID: 36497485; PMCID: PMC9737127.
- Li, G., Gong, J., Cao, S., Wu, Z., Cheng, D., Zhu, J., et al. (2021). The non-coding RNAs inducing drug resistance in ovarian cancer: A new perspective for understanding drug resistance. *Frontiers in Oncology*, 11.

- Non-Coding RNAs Inducing Drug Resistance in Ovarian Cancer: A New Perspective for Understanding Drug Resistance. *Front Oncol.* 2021 Sep 30;11:742149. doi: 10.3389/fonc.2021.742149. PMID: 34660304; PMCID: PMC8514763.
- Li L, Zeng S, Guo L, Huang P, Xi J, Feng J, Li Q, Li Y, Xiao X, Yan R, Zhang J. Long Noncoding RNA RMRP Contributes to Paclitaxel Sensitivity of Ovarian Cancer by Regulating miR-580-3p/MICU1 Signaling. *J Oncol.* 2022 Jan 29;2022:8301941. doi: 10.1155/2022/8301941. PMID: 35132320; PMCID: PMC8817877.
- Li P, Huang G. Long noncoding RNA LINC00858 promotes the progression of ovarian cancer via regulating the miR-134-5p/TRIM44 axis. *J Recept Signal Transduct Res* 2022;42:382-9.
- Li, J., Zhang, S., Sun, Y., Zhou, Y., Han, X., & Wang, Y. (2019). Smad4 deficiency promotes epithelial-mesenchymal transition and chemoresistance in ovarian cancer. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 38(1), 424.
- Li, X., Chen, S., Xu, J., & Sun, Y. (2023). Epithelial-mesenchymal transition promotes stem cell-like properties and chemoresistance in pancreatic cancer. *Nature Communications*, 14(1), 1-14. <https://www.nature.com/articles/nature16064>.
- Li, Ying, et al. "SDHAP1 Contributes to Cisplatin Resistance in Ovarian Cancer by Sponging miR-150-5p and Upregulating Sp1." *Frontiers in Oncology*, vol. 11, 2021, pp. 742149.
- Li, Z., Xu, H., Peng, Z., Wang, Y., Li, Y., Gong, C., ... & Wang, Y. (2020). PVT1 is a stress-responsive lncRNA that drives ovarian cancer metastasis and chemoresistance. *Life Science Alliance*, 3(12), e202000926.
- Liu S, Liu Y, Lu Q, Zhou X, Chen L, Liang W. The lncRNA TUG1 promotes epithelial ovarian cancer cell proliferation and invasion via the WNT/ $\beta$ -catenin pathway. *Onco Targets Ther.* 2018 Oct 12;11:6845-6851. doi: 10.2147/OTT.S167900. Retraction in: *Onco Targets Ther.* 2019 Feb 04;12:1041. doi: 10.2147/OTT.S203520. PMID: 30349317; PMCID: PMC6190633.
- Liu, E., Liu, Z., Zhou, Y., Mi, R., & Wang, D. (2015). Overexpression of long non-coding RNA PVT1 in ovarian cancer cells promotes cisplatin resistance by regulating

- apoptotic pathways. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 8(11), 20565-20572. ISSN: 1940-5901.
- Liu, K., Gao, L., Ma, X. et al. Long non-coding RNAs regulate drug resistance in cancer. *Mol Cancer* 19, 54 (2020).
- Lomovskaya, O., & Watkins, W. J. (2014). The challenge of efflux-mediated antibiotic resistance in Gram-negative bacteria. *ACS Chemical Biology*, 9(12), 2909-2928.
- Loret N, Denys H, Tummers P, Berx G. The Role of Epithelial-to-Mesenchymal Plasticity in Ovarian Cancer Progression and Therapy Resistance. *Cancers (Basel)*. 2019 Jun 17;11(6):838. doi: 10.3390/cancers11060838. PMID: 31213009; PMCID: PMC6628067.
- Ma L, Bajic VB, Zhang Z. On the classification of long non-coding RNAs. *RNA Biol*. 2013 Jun;10(6):925-33. doi: 10.4161/rna.24604. Epub 2013 Apr 15. PMID: 23696037; PMCID: PMC4111732.
- Ma Q, Liu Z, Wang T, Zhao P, Liu M, Wang Y, Zhao W, Yuan Y, Li S. Resensitizing Paclitaxel-Resistant Ovarian Cancer via Targeting Lipid Metabolism Key Enzymes CPT1A, SCD and FASN. *Int J Mol Sci*. 2023 Nov 19;24(22):16503. doi: 10.3390/ijms242216503. PMID: 38003694; PMCID: PMC10671839.
- Malgundkar, S.H., Tamimi, Y. The pivotal role of long non-coding RNAs as potential biomarkers and modulators of chemoresistance in ovarian cancer (OC). *Hum. Genet.* 143, 107–124 (2024). <https://doi.org/10.1007/s00439-023-02635-0>.
- Maloney SM, Hoover CA, Morejon-Lasso LV, Prospero JR. Mechanisms of taxane resistance. *Cancers (Basel)* 2020;12:3323.
- Marchese, F.P., Raimondi, I. & Huarte, M. The multidimensional mechanisms of long noncoding RNA function. *Genome Biol* 18, 206 (2017).
- Marei, H. E., Althani, A., Afifi, N., & Vrtala, S. (2021). p53 signaling in cancer progression and therapy. *Cancer Cell International*, 21(703). <https://doi.org/10.1186/s12935-021-02396-8>
- Marchini, S., Cavalieri, D., Fruscio, R., Calura, E., Garavaglia, D., Nerini, I. F., ... & Romualdi, C. (2011). Association between miR-200c and the survival of patients with stage I epithelial ovarian cancer: a retrospective study of two independent tumour tissue collections. *The Lancet Oncology*, 12(3), 273-285.

- Martin AP, Miller A, Emad L, Rahmani M, Walker T, Mitchell C, et al. Lapatinib resistance in HCT116 cells is mediated by elevated MCL-1 expression and decreased BAK activation and not by ERBB receptor kinase mutation. *Mol Pharmacol* (2008) 74(3):807–22.
- Martin, M., Boige V., Maurel J.P., et al. (2013). Influence of polymorphisms in drug metabolizing enzymes UGT1A1, NAT2 and DPD on capecitabine pharmacokinetics in metastatic colorectal cancer patients. *Anti-Cancer Drugs*, 24(11), 1082-1089. <https://www.mdpi.com/2072-6694/15/6/1821>.
- Mattick, J.S., Amaral, P.P., Carninci, P. et al. Long non-coding RNAs: definitions, functions, challenges and recommendations. *Nat Rev Mol Cell Biol* 24, 430–447 (2023). <https://doi.org/10.1038/s41580-022-00566-8>.
- Matulonis, U. A., A. K. Sood, L. Fallowfield, B. E. Howitt, J. Sehouli and B. Y. Karlan (2016). "Ovarian cancer." *Nat Rev Dis Primers* 2: 16061.
- McCorkle JR, Gorski JW, Liu J, Riggs MB, McDowell AB, Lin N, et al. (2021) Lapatinib and poziotinib overcome ABCB1-mediated paclitaxel resistance in ovarian cancer. *PLoS ONE* 16(8): e0254205. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0254205>.
- Mcdermott M, Eustace AJ, Busschots S, Breen L, Crown J, Clynes M, et al.. In vitro Development of Chemotherapy and Targeted Therapy Drug-Resistant Cancer Cell Lines: A Practical Guide with Case Studies. *Frontiers in Oncology* [Internet]. *Frontiers in Oncology*; 2014;4. Available from: <https://dx.doi.org/10.3389/fonc.2014.00040>.
- Mcdermott M, Eustace AJ, Busschots S, Breen L, Crown J, Clynes M, et al.. In vitro Development of Chemotherapy and Targeted Therapy Drug-Resistant Cancer Cell Lines: A Practical Guide with Case Studies. *Frontiers in Oncology* [Internet]. *Frontiers in Oncology*; 2014;4.
- Ming, H., Li, B., Jiang, J. et al. Protein degradation: expanding the toolbox to restrain cancer drug resistance. *J Hematol Oncol* 16, 6 (2023). <https://doi.org/10.1186/s13045-023-01398-5>.

- Mofers A, Pellegrini P, Linder S, D'Arcy P. Proteasome-associated deubiquitinases and cancer. *Cancer Metastasis Rev.* 2017 Dec;36(4):635-653. doi: 10.1007/s10555-017-9697-6. PMID: 29134486; PMCID: PMC5721125.
- Montaser, M., & Coley, H. M. Journal. Crosstalk between ER $\alpha$  and Receptor Tyrosine Kinase Signalling and Implications for the Development of Anti-Endocrine Resistance. *Breast Cancer Research and Treatment Year: 2018 Volume: 172 Issue: 1 Pages: 85-94 DOI: 10.1007/s10549-018-4893-9.*
- Nikolaou, M., A. Pavlopoulou, A. G. Georgakilas and E. Kyrodimos (2018). "The challenge of drug resistance in cancer treatment: a current overview." *Clin Exp Metastasis* 35(4): 309-318.
- Norouzi-Barough L, Sarookhani MR, Sharifi M, Moghbelinejad S, Jangjoo S, Salehi R. Molecular mechanisms of drug resistance in ovarian cancer. *J Cell Physiol.* 2018 Jun;233(6):4546-4562. doi: 10.1002/jcp.26289. Epub 2018 Jan 4. PMID: 29152737.
- Norquist, B. M., M. I. Harrell, M. F. Brady, T. Walsh, M. K. Lee, S. Gulsuner, S. S. Bernards, S. Casadei, Q. Yi, R. A. Burger, J. K. Chan, S. A. Davidson, R. S. Mannel, P. A. DiSilvestro, H. A. Lankes, N. C. Ramirez, M. C. King, E. M. Swisher and M. J. Birrer (2016). "Inherited Mutations in Women With Ovarian Carcinoma." *JAMA Oncol* 2(4): 482-490.
- Nunes M, Bartosch, C Abreu, M.H. Richardson, A.; Almeida, R.; Ricardo, S. Deciphering the Molecular Mechanisms behind Drug Resistance in Ovarian Cancer to Unlock Efficient Treatment Options. *Cells* 2024, 13, 786. <https://doi.org/10.3390/cells13090786>.
- O'Brien, N. A., Browne, B. C., Chow, L., Wang, Y., Ginther, C., Arboleda, J., Duffy, M. J., Crown, J., O'Donovan, N., & Slamon, D. J. 2010. Activated phosphoinositide 3-kinase/AKT signaling confers resistance to trastuzumab but not lapatinib. *Mol Cancer Ther*, 9, 1489-502.
- Ortiz, M., Wabel, E., Mitchell, K., & Horibata, S. (2022). Mechanisms of chemotherapy resistance in ovarian cancer. *Cancer Drug Resist*, 5(2), 304-316.

- Palmirotta, R., Silvestris, E., D'Oronzo, S., Cardascia, A., & Silvestris, F. (2017). Ovarian cancer: Novel molecular aspects for clinical assessment. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 117, 12-29.
- Paralkar, V. R., & Weiss, M. J. (2013). Long noncoding RNAs in biology and hematopoiesis. *Blood Journal*, 121, 4842–4846.
- Park, Y. B., & Kim, J. M. (2023). Identification of long non-coding RNA-mRNA interactions and genome-wide lncRNA annotation in animal transcriptome profiling. *J Anim Sci Technol*, 65(2), 293-310. doi: 10.5187/jast.2023.e17.
- Parmar, M. K., Ledermann, J. A., Colombo, N., du Bois, A., Delaloye, J. F., Kristensen, G. B., Wheeler, S., Swart, A. M., Qian, W., Torri, V., Floriani, I., Jayson, G., Lamont, A., & Tropé, C. (2003). Paclitaxel plus platinum-based chemotherapy versus conventional platinum-based chemotherapy in women with relapsed ovarian cancer: the ICON4/AGO-OVAR-2.2 trial. *Lancet*, 361(9375), 2099-2106.
- Patel, R. P., Kuhn, S., Yin, D., Hotz, J. M., Maher, F. A., Robey, R. W., Gottesman, M. M., & Horibata, S. (2021). Cross-resistance of cisplatin-selected cells to anti-microtubule agents: Role of general survival mechanisms. *Transl Oncol*, 14(1), 100917. doi: 10.1016/j.tranon.2020.100917.
- Peng, B., Li, J., Yan, Y., Liu, Y., Liang, Q., Liu, W., Thakur, A., Zhang, K., Xu, Z., Wang, J., & Zhang, F. (2023). Non-coding RNAs: The recently accentuated molecules in the regulation of cell autophagy for ovarian cancer pathogenesis and therapeutic response. *Frontiers in Pharmacology*. doi: 10.3389/fphar.2023.1162045.
- Pfaffl, M. W. (2001). A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic Acids Research*, 29(9), e45.
- Philpott, S., Raikou, M., Manchanda, R., Lockley, M., Singh, N., Scott, M., Evans, D. G., Adlard, J., Ahmed, M., Edmondson, R., Woodward, E. R., Lamnisos, A., Balega, J., Brady, A. F., Sharma, A., Izatt, L., Kulkarni, A., Tripathi, V., Solomons, J. S., ... & Rosenthal, A. N. (2023). The avoiding late diagnosis of ovarian cancer (ALDO) project; a pilot national surveillance programme for women with pathogenic germline variants in BRCA1 and BRCA2. *J Med Genet*, 60(5), 440-449.

- Prat, J., & The FIGO Committee on Gynecologic Oncology. (2015). Staging Classification for Cancer of the Ovary, Fallopian Tube, and Peritoneum: Abridged Republication of Guidelines From the International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO). *Obstetrics & Gynecology*, 126(1).
- Prensner, J. R., & Chinnaiyan, A. M. (2011). The emergence of lncRNAs in cancer biology. *Cancer Discov*, 1(5), 391-407. doi: 10.1158/2159-8290.CD-11-0209.
- Qiu, J. J., Lin, Y. Y., Ye, L. C., Ding, J. X., Feng, W. W., Jin, H. Y., ... & Hua, K. Q. (2014). Overexpression of long non-coding RNA HOTAIR predicts poor patient prognosis and promotes tumor metastasis in epithelial ovarian cancer. *Gynecologic Oncology*, 134(1), 121-128.
- Qiu, Jinxin, Yanjun Sun, Huihua Ni, Li Li, Qinghua Xi, & Haiyan Jiang. "Research progress of long non-coding RNA in ovarian cancer: a narrative review." *Biotarget* [Online], 6 (2023): n. pag. Web. 29 Jun. 2024.
- Ravindran F, Choudhary B. Ovarian Cancer: Molecular Classification and Targeted Therapy. *Cancer Research and Treatment*. 2024 [cited 2024 Jul 31];56:123-130.
- Reade, C. J., R. M. McVey, A. A. Tone, S. J. Finlayson, J. N. McAlpine, M. Fung-Kee-Fung, & S. E. Ferguson (2014). "The fallopian tube as the origin of high grade serous ovarian cancer: review of a paradigm shift." *J Obstet Gynaecol Can* 36(2): 133-140.
- Reid, B. M., J. B. Permeth, & T. A. Sellers (2017). "Epidemiology of ovarian cancer: a review." *Cancer Biol Med* 14(1): 9-32.
- Reiser, E., D. Pils, C. Grimm, I. Hoffmann, S. Polterauer, M. Kranawetter, & S. Aust (2022). "Defining Models to Classify between Benign and Malignant Adnexal Masses Using Routine Laboratory Parameters." *Cancers* 14 DOI: 10.3390/cancers14133210.
- Robey RW, Pluchino KM, Hall MD, et al. Revisiting the role of ABC transporters in multidrug-resistant cancer. *Nat Rev Cancer* 2018;18:452-64.
- Robinson M, Gilbert SF, Waters JA, Lujano-Olazaba O, Lara J, Alexander LJ, Green SE, Burkeen GA, Patrus O, Sarwar Z, et al. Characterization of SOX2, OCT4 and NANOG in Ovarian Cancer Tumor-Initiating Cells. *Cancers*. 2021; 13(2):262. <https://doi.org/10.3390/cancers13020262>.

- Roy, L., & K. D. Cowden Dahl (2018). "Can Stemness and Chemoresistance Be Therapeutically Targeted via Signaling Pathways in Ovarian Cancer?" *Cancers (Basel)* 10(8).
- Salamini-Montemurri M, Lamas-Maceiras M, Barreiro-Alonso A, Vizoso-Vázquez Á, Rodríguez-Belmonte E, Quindós-Varela M, Cerdán ME. The Challenges and Opportunities of LncRNAs in Ovarian Cancer Research and Clinical Use. *Cancers*. 2020; 12(4):1020.
- Sawers, L., Ferguson, M., Ihrig, B. et al. Glutathione S-transferase P1 (GSTP1) directly influences platinum drug chemosensitivity in ovarian tumour cell lines. *Br J Cancer* 111, 1150–1158 (2014).
- Schwartz, L., Leichman, C. G., & Verschreijen, R. M. (2010). Capecitabine: a review of its pharmacology and clinical applications in colorectal cancer. *Current Oncology Reports*, 15(6), 444-453.
- Schwarzenbach, H., & Gahan, P. B. (2021). Resistance to cis- and carboplatin initiated by epigenetic changes in ovarian cancer patients. *Cancer Cell International*, 21, 434.
- Selçuk, İ., Dursun, P., & Yüce, K. (2018). Over Kanseri Perspektifinde BRCA Gen Mutasyonları Ve Herediter Meme Ve Over Kanser Sendromu. *Jinekoloji - Obstetrik ve Neonatoloji Tıp Dergisi*, 15(3), 135-144. <https://dergipark.org.tr>.
- Shahil Alam, Pankaj Kumar Giri, Novel players in the development of chemoresistance in ovarian cancer: ovarian cancer stem cells, non-coding RNA and nuclear receptors, *Cancer Drug Resistance*, 10.20517/cdr.2023.152, (2024).
- Sharma, S. V., Wistuba, II, J. J., & Lynch, T. J. (2007). Epidermal growth factor receptor mutations in lung cancer. *Nature Reviews Cancer*, 7(3), 169-181. <https://www.nature.com/articles/nrc2088>.
- Shu, X., X. Xiong, J. Song, C. He, & C. Yi (2016). "Base-Resolution Analysis of Cisplatin-DNA Adducts at the Genome Scale." *Angew Chem Int Ed Engl* 55(46): 14246-14249.
- Singh, S., & Yu, J. (2021). TGF- $\beta$  Signaling in Ovarian Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(5), 2659.



- Sonobe R, Yang P, Suzuki MM, Shinjo K, Iijima K, Nishiyama N, et al.. Long noncoding RNA TUG1 promotes cisplatin resistance in ovarian cancer via upregulation of DNA polymerase eta. *Cancer Science*. *Cancer Science*; 2024.
- Stewart, C., C. Ralyea, & S. Lockwood (2019). "Ovarian Cancer: An Integrated Review." *Semin Oncol Nurs* 35(2): 151-156.
- Sun et al., 2018. Long non-coding RNA LINC01133 promotes tumorigenesis and metastasis of esophageal squamous cell carcinoma through sponging miR-125b. *Cell Death & Differentiation*, 25(11), 1942-1958.
- Sun NX, Ye C, Zhao Q, Zhang Q, Xu C, Wang SB, Jin ZJ, Sun SH, Wang F, Li W. Long noncoding RNA-EBIC promotes tumor cell invasion by binding to EZH2 and repressing E-cadherin in cervical cancer. *PLoS One*. 2014 Jul 9;9(7).
- Sun, Yuwei, et al. "The Role of MicroRNAs in Cisplatin Resistance of Ovarian Cancer." *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, vol. 38, no. 1, 2019, p. 434.
- Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R.L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., & Bray, F. Global Cancer Statistics 2020: Globocan Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J. Clin.* 2021, 71, 209–249.
- Tapia G, Diaz-Padilla I. Molecular Mechanisms of Platinum Resistance in Ovarian Cancer [Internet]. *Ovarian Cancer - A Clinical and Translational Update*. InTech; 2013. Available from: <http://dx.doi.org/10.5772/55562>.
- Thomas, Q. D., A. Boussere, J. M. Classe, C. Pomel, H. Costaz, M. Rodrigues, I. Ray-Coquard, L. Gladieff, R. Rouzier, T. M. Rouge, S. Gouy, E. Barranger, R. Sabatier, A. Floquet, F. Marchal, C. Guillemet, V. Polivka, A. L. Martin, P. E. Colombo and F. Fiteni (2022). "Optimal timing of interval debulking surgery for advanced epithelial ovarian cancer: A retrospective study from the ESME national cohort." *Gynecol Oncol* 167(1): 11-21.
- Urban, R. R., H. He, R. Alfonso, M. M. Hardesty, H. J. Gray and B. A. Goff (2016). "Ovarian cancer outcomes: Predictors of early death." *Gynecol Oncol* 140(3): 474-480.
- Vahedi S, Chufan EE, Ambudkar SV. Global alteration of the drug-binding pocket of human P-glycoprotein (ABCB1) by substitution of fifteen conserved residues

- reveals a negative correlation between substrate size and transport efficiency. *Biochem Pharmacol* 2017;143:53.
- Valentini, E., Di Martile, M., Brignone, M. et al. Bcl-2 family inhibitors sensitize human cancer models to therapy. *Cell Death Dis* 14, 441 (2023).
- Vu T, Claret FX. Trastuzumab: updated mechanisms of action and resistance in breast cancer. *Front Oncol.* 2012 Jun 18;2:62. doi: 10.3389/fonc.2012.00062. PMID: 22720269; PMCID: PMC3376449.
- Walker, J. L., C. B. Powell, L. M. Chen, J. Carter, V. L. Bae Jump, L. P. Parker, M. E. Borowsky and R. K. Gibb (2015). "Society of Gynecologic Oncology recommendations for the prevention of ovarian cancer." *Cancer* 121(13): 2108-2120.
- Wambecke A, Ahmad M, Morice PM, Lambert B, Weiswald LB, Vernon M, Vigneron N, Abeilard E, Brotin E, Figeac M, Gauduchon P, Poulain L, Denoyelle C, Meryet-Figuere M. The lncRNA 'UCA1' modulates the response to chemotherapy of ovarian cancer through direct binding to miR-27a-5p and control of UBE2N levels. *Mol Oncol.* 2021 Dec;15(12):3659-3678. doi: 10.1002/1878-0261.13045. Epub 2021 Jul 13. PMID: 34160887; PMCID: PMC8637575.
- Wang C, Li L, Li M, Wang W, Liu Y, Wang S. Silencing long non-coding RNA XIST1 suppresses drug resistance in acute myeloid leukemia through down-regulation of MYC by elevating microRNA-29a expression. *Mol Med.* 2020 Nov 24;26(1):114. doi: 10.1186/s10020-020-00229-4. PMID: 33228517; PMCID: PMC7685636.
- Wang W, Kryczek I, Dostal L, et al. Effector T Cells Abrogate Stroma-Mediated Chemoresistance in Ovarian Cancer. *Cell* 2016;165:1092-105.
- Wang Z, Chen W, Zuo L, et al. The fibrillin-1/VEGFR2/STAT2 signaling axis promotes chemoresistance via modulating glycolysis and angiogenesis in ovarian cancer organoids and cells. *Cancer Commun (Lond)* 2022;42:245-65.
- Wang, H., Fang, L., Jiang, J. et al. The cisplatin-induced lncRNA PANDAR dictates the chemoresistance of ovarian cancer via regulating SFRS2-mediated p53 phosphorylation. *Cell Death Dis* 9, 1103 (2018).
- Wang, Haiyan<sup>1,2</sup>; Zhu, Yuanfang<sup>2</sup>; Hao, Chenyuan<sup>1</sup>; Fan, Jing<sup>2</sup>; Liu, Yun<sup>2</sup>; Wang, Yifeng<sup>1</sup>. Establishment of a drug-resistant human cervical cancer cell line and

- research on its drug-resistance. *Journal of Cancer Research and Therapeutics* 15(6). 1221-1225, Oct–Dec 2019.
- Wang, J., Ye, C., Liu, J., Hu, Y. (2018). UCA1 confers paclitaxel resistance to ovarian cancer through miR-129/ABCB1 axis. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 501(4), 1034-1040.
- Wang, N., Ma, T. & Yu, B. Targeting epigenetic regulators to overcome drug resistance in cancers. *Sig Transduct Target Ther* 8, 69 (2023). <https://doi.org/10.1038/s41392-023-01341-7>
- Wang, N., Ma, T., & Yu, B. (2023). Targeting epigenetic regulators to overcome drug resistance in cancers. *Journal of Drug Discovery & Development*, 450001. doi:10.1186/s12935-021-02136-y.
- Wang, P., Peng, W., & Peng, J. (2021). Breast Cancer Chemoresistance: Insights into the Regulatory Role of Long Non-coding RNAs. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(21), 15897. doi:10.3390/ijms242115897.
- Wang, Y., Li, Y., Chen, X., Zhang, H., & Li, S. (2019). XIST1 promotes chemoresistance in epithelial ovarian cancer via miR-140/ABCC1 pathway. *Bioscience reports*, 39(6), BSR20190620.
- Weaver, B. A. (2014). "How Taxol/paclitaxel kills cancer cells." *Mol Biol Cell* 25(18): 2677-2681.
- Webb PM, Jordan SJ. Global epidemiology of epithelial ovarian cancer. *Nat Rev Clin Oncol*. 2024 May;21(5):389-400. doi: 10.1038/s41571-024-00881-3. Epub 2024 Mar 28. PMID: 38548868.
- Williams J, Lucas PC, Griffith KA, Choi M, Fogoros S, Hu YY, Liu JR. Expression of Bcl-xL in ovarian carcinoma is associated with chemoresistance and recurrent disease. *Gynecol Oncol*. 2005 Feb;96(2):287-95. doi: 10.1016/j.ygyno.2004.10.026. PMID: 15661210.
- Xia X, Li Z, Li Y, Ye F, Zhou X. LncRNA XIST1 promotes carboplatin resistance of ovarian cancer through activating autophagy via targeting miR-506-3p/FOXP1 axis. *J Gynecol Oncol*. 2022 Nov;33(6) doi: 10.3802/jgo.2022.33.e81. PMID: 36335987; PMCID: PMC9634093.

- Xie W, Yu J, Yin Y, Zhang X, Zheng X, Wang X. OCT4 induces EMT and promotes ovarian cancer progression by regulating the PI3K/AKT/mTOR pathway. *Front Oncol.* 2022 Aug 10;12:876257. doi: 10.3389/fonc.2022.876257. PMID: 36033461; PMCID: PMC9399417.
- Xiong, J., Fu, F., Yu, F. et al. Advances of exosomal miRNAs in the diagnosis and treatment of ovarian cancer. *Discov Onc* 14, 65 (2023). <https://doi.org/10.1007/s12672-023-00674-7>.
- Xu Q, Lin YB, Li L, Liu J. LncRNA TLR8-AS1 promotes metastasis and chemoresistance of ovarian cancer through enhancing TLR8 mRNA stability. *Biochem Biophys Res Commun.* 2020 Jun 11;526(4):857-864. doi: 10.1016/j.bbrc.2020.03.087. Epub 2020 Apr 8. PMID: 32278547.
- Xu QF, Tang YX, Wang X. LncRNA EBIC promoted proliferation, metastasis and cisplatin resistance of ovarian cancer cells and predicted poor survival in ovarian cancer patients. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2018 Jul;22(14):4440-4447. doi: 10.26355/eurrev\_201807\_15495. PMID: 30058681.
- Yamaguchi N, Mimoto R, Yanaihara N, Imawari Y, Hirooka S, Okamoto A, Yoshida K. DYRK2 regulates epithelial-mesenchymal-transition and chemosensitivity through Snail degradation in ovarian serous adenocarcinoma. *Tumour Biol.* 2015 Aug;36(8):5913-23. doi: 10.1007/s13277-015-3264-y. Epub 2015 Feb 25. PMID: 25712377.
- Yin, L., Wang, Y. Long non-coding RNA NEAT1 facilitates the growth, migration, and invasion of ovarian cancer cells via the let-7 g/MEST/ATGL axis. *Cancer Cell Int* 21, 437 (2021).
- Yuqi Zhao and Li Hong. lncRNA-PRLB Confers Paclitaxel Resistance of Ovarian Cancer Cells by Regulating RSF1/NF- $\kappa$ B Signaling Pathway. 2021/ *Cancer Biotherapy & Radiopharmaceuticals* //doi.org/10.1089/cbr.2019.3363.
- Zahra, M.H., Nawara, H.M., Hassan, G., Afify, S.M., Seno, A., Seno, M. (2022). Cancer Stem Cells Contribute to Drug Resistance in Multiple Different Ways. In: Tanabe, S. (eds) *Cancer Stem Cell Markers and Related Network Pathways. Advances in Experimental Medicine and Biology*, vol 1393. Springer, Cham. [https://doi.org/10.1007/978-3-031-12974-2\\_6](https://doi.org/10.1007/978-3-031-12974-2_6).

- Zhang C, Han B, Xu T, Li D. The biological function and potential mechanism of long non-coding RNAs in cardiovascular disease. *J Cell Mol Med.* 2020 Nov;24(22):12900-12909. doi: 10.1111/jcmm.15968. Epub 2020 Oct 13. PMID: 33052009; PMCID: PMC7701533.
- Zhang M, Chen Z, Wang Y, Zhao H, Du Y. The Role of Cancer-Associated Fib.
- Zhou F, Yang X, Zhao H, et al. Down-regulation of OGT promotes cisplatin resistance by inducing autophagy in ovarian cancer. *Theranostics* 2018;8:5200-12.
- Zhou X, Ao X, Jia Z, Li Y, Kuang S, Du C, et al. Non-coding RNA in cancer drug resistance: Underlying mechanisms and clinical applications. *Frontiers in Oncology.* *Frontiers in Oncology*; 2022;12.
- Zhou HM, Zhang JG, Zhang X, et al. Targeting cancer stem cells for reversing therapy resistance: mechanism, signaling, and prospective agents. *Sig Transduct Target Ther* 6, 62 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41392-020-00430-1>.
- Zhu M, Yang L, Wang X. NEAT1 Knockdown Suppresses the Cisplatin Resistance in Ovarian Cancer by Regulating miR-770-5p/PARP1 Axis. *Cancer Manag Res* 2020;12:7277-89.
- Zhu C, Wang X, Wang Y, et al. Functions and underlying mechanisms of lncRNA HOTAIR in cancer chemotherapy resistance. *Cell Death Discov.* 8, 383 (2022). <https://doi.org/10.1038/s41420-022-01174-3>.
- Zou D, Bai J, Lu E, Yang C, Liu J, Wen Z, Liu X, Jin Z, Xu M, Jiang L, Zhang Y, Zhang Y. Identification of Novel Drug Candidate for Epithelial Ovarian Cancer via In Silico Investigation and In Vitro Validation. *Front Oncol.* 2021 Oct 21;11:7455.

## EKLER

### Ek-1

Evrak Tarih ve Sayısı: 01.11.2021-E.123519



T.C.  
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ  
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

Sayı : E-60116787-020-123519  
Konu : Başvurumuz Hk.

Sayın Prof. Dr. Arzu YAREN

İlg. : 27.09.2021 tarihli dilekçeniz. *10.150.1.102*  
*106832*  
*1.11.2021*

İlgi dilekçe ile başvurmuş olduğumuz **"Epitelial Ovarian Kanserinde Lnc RNA'ların Prediktive Ve Prognostik Etkisi"** konulu çalışmamız **05.10.2021 tarih ve 18 sayılı** kurul toplantımızda görüşülmüş olup,

Yapılan görüşmelerden sonra, söz konusu çalışmanın yapılmasında **ETİK AÇIDAN SAKINCA OLMADIĞINA**, altı ayda bir çalışma hakkında Kurulumuza bilgi verilmesine oy birliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

Prof. Dr. Tahir TURAN  
Başkan

Belge Doküman Kodu : DSUN011E71, Pte Kodu : 55482

Belge Takip Adresi : <https://www.sakliya.gov.tr/jsp/etbya>

Adres: Top Fakültesi Dekanlığı, Kınıklı/Denizli  
Telefon: 0 258 296 16 84 Faks: 0 (258) 296 17 65  
e-Posta: tbb@etik@pau.edu.tr Elektronik Ağ: <http://www.pau.edu.tr>  
Kop Adresi: puzackler@h@11.kap.tr

Bilgi İçin: Selda İLACIR  
Üniversite Bilgi İşlemci



## Original Article

**Categorized Serum miRNAs as Potential Biomarkers for Predicting the Progression and Prognosis of Colorectal Cancer**

 Meral Merve Oğuz<sup>1</sup>, Ehteram Khademi Siahestalkhi<sup>2\*</sup>, Arzu Yaren<sup>1</sup>, Aydın Demiryay<sup>1</sup>, Arikçe Gökçe Demiryay<sup>1</sup>
<sup>1</sup> Department of Internal Medicine, Pamukkale University, Denizli, Turkey/ The Affiliated Hospital of Pamukkale University.

<sup>2</sup> Department of Medical Genetics, Faculty of Medicine, Pamukkale University, Denizli, Turkey.

 Scan and read the  
article online

Citation Merve Oğuz M, Khademi Siahestalkhi E, Yaren A, Demiryay A, Gökçe Demiryay A. Categorized serum miRNAs as potential biomarkers for predicting the progression and prognosis of colorectal cancer. Iran J Blood Cancer. 2024 June 30;16(2):7-14.



## Article info:

 Received: 11 May 2024  
 Accepted: 15 Jun 2024  
 Published: 30 Jun 2024

## Keywords:

 Colorectal cancer (CRC)  
 microRNAs (miRNAs)  
 Biomarkers  
 Prognosis  
 PI3K/AKT/PTEN  
 WNT/CATENIN  
 EMT

## Abstract

**Background:** Colorectal cancer (CRC), a common and aggressive gastrointestinal cancer, presents significant challenges in diagnosis and prognosis prediction despite available detection and treatment options. Many studies emphasized the crucial link between abnormal microRNA regulation and their potential role in cancer development and progression. These miRNAs are recognized as important non-invasive biomarkers for prognosis and overall survival prediction in various cancers, including CRC.

**Materials and Methods:** In this study, we compared the expression patterns of eight miRNAs in the serum of 36 CRC patients with those of 37 healthy controls. The matching criteria included clinicodemographic factors and CRC susceptibility, and the analysis was performed using quantitative real-time PCR (qRT-PCR).

**Results:** The serum miRNA levels of these eight miRNAs (miR-19a, miR-92a, miR-103, miR-106a, miR-107a, miR-150, miR-221, and miR-720) in the study groups are significantly higher compared to the control group. This analysis revealed eight specific miRNAs with varying expression levels in CRC patients. Furthermore, bioinformatic analysis using data collection and analytical tools has shown that these miRNAs may be associated with important aspects of colorectal cancer development and progression through the PI3K/AKT/PTEN, WNT/CATENIN, and EMT signaling pathways.

**Conclusion:** Our analysis has identified a group of 8 overexpressed miRNAs (miR-19a, miR-92a, miR-103, miR-106a, miR-107a, miR-150, miR-221, and miR-720) in serum samples of CRC patients. Although further validation in larger and more diverse groups is necessary, these findings support a potential mechanism of action for these miRNAs in CRC and their association with essential signaling pathways, including PI3K/AKT/PTEN, WNT/CATENIN, and EMT.

## \* Corresponding Author:

Ehteram Khademi Siahestalkhi

Affiliation: Department of Medical Genetics, Faculty of Medicine, Pamukkale University, Denizli, Turkey.

E-mail: e.khademi18@gmail.com

