



T.C.
NECMETTİN ERBAKAN
ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



MİR-30c İLE STİMÜLE EDİLMİŞ NK-92
HÜCRELERİNİN PC3 PROSTAT KANSERİ
HÜCRELERİ ÜZERİNDEKİ ETKİSİ

Rabia ÖZDEMİR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Ocak-2026
KONYA
Her Hakkı Saklıdır

TEZ KABUL VE ONAYI

Rabia ÖZDEMİR tarafından hazırlanan “miR-30c ile Stimüle Edilmiş Nk-92 Hücrelerinin Pc3 Prostat Kanseri Hücreleri Üzerindeki Etkisi” adlı tez çalışması 20/01/2026 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Danışman

Prof. Dr. Mehmet KARATAŞ

Üye

Prof. Dr. Muhammad ASIM

Üye

Dr. Öğr. Üyesi Hatice BANU KESKİNKAYA

İmza

.....

.....

.....

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun/.../20.. gün ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Havvanur UÇBEYİAY
FBE Müdürü

Bu tez çalışması Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (BAP) tarafından 24YL15004 nolu proje ile desteklenmiştir.

Dr. Öğr. Üyesi Mohammadreza DASTOURİ bu tez çalışmasının ikinci danışmanıdır.

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

Rabia ÖZDEMİR

25.12.2025

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

miR-30c İLE STİMÜLE EDİLMİŞ NK-92 HÜCRELERİNİN PC3 PROSTAT KANSERİ HÜCRELERİ ÜZERİNDEKİ ETKİSİ

Rabia ÖZDEMİR

NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman: Prof. Dr. Mehmet KARATAŞ

2026, 75 Sayfa

Jüri

Prof. Dr. Mehmet KARATAŞ

Prof. Dr. Muhammad ASİM

Dr. Öğr. Üyesi Hatice Banu KESKİNKAYA

Prostat kanseri, ileri yaş erkeklerde yaygın olarak görülen bir kanser türüdür. Hastalığın tedavisi; hastanın yaşı, kanserin evresi ve genel sağlık durumu gibi faktörlere bağlı olarak belirlenmektedir. Güncel tedavi seçenekleri arasında cerrahi müdahale, radyasyon tedavisi, hormon tedavisi, kemoterapi ve immünoterapi yer almaktadır. Kanser immünoterapisi, immün sistemin kanser hücrelerini tanıma ve yok etme kapasitesini artırmayı amaçlayan yenilikçi bir tedavi yöntemidir. Bu sayede, kanser hücrelerine karşı daha güçlü ve daha spesifik bir immün yanıt oluşturulması hedeflenmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalar, mikroRNA'ların (miRNA'lar) kanser gelişimi, progresyonu ve immün yanıtın düzenlenmesinde kritik rol oynadığını ortaya koymuştur. miRNA'lar, özellikle prostat kanserinin tanı ve tedavisi için önemli bir biyobelirteç ve potansiyel bir immünoterapi aracıdır.

Bu tez çalışmasında, prostat kanseri tedavisi için potansiyel bir immünoterapi stratejisi olarak, miR-30c transfeksiyonu ile stimüle edilmiş NK-92 (sNK-92) hücrelerinin, PNT1A normal prostat hücresi ve PC3 prostat kanseri hücresi üzerindeki etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Çalışma kapsamında sNK-92 hücrelerinin sitotoksik potansiyeli, NK-92 ile karşılaştırmalı olarak analiz edilmiştir. Hedef (PC3/PNT1A) ve Efektör (NK/sNK-92) hücreler 1:8 ve 1:16 oranlarında ko-kültür edilmiş ve WST-1 canlılık testi ile değerlendirilmiştir. WST-1 analizini doğrulamak için İmmün boyama analizi yapılmıştır.

Elde edilen bulgular, özellikle 1:16 oranında kullanılan sNK-92 hücrelerinin, PC3 prostat kanser hücreleri üzerinde kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede yüksek bir sitotoksik etki yarattığını göstermiştir. Aynı konsantrasyondaki sNK-92 hücreleri, PNT1A normal prostat hücreleri üzerinde herhangi bir sitotoksik etki oluşturmamıştır. Sitotoksik etkinin doğrulanması amacıyla gerçekleştirilen immün boyama analizleri, sNK-92 hücreleri ile ko-kültüre edilen PC3 hücrelerinde immün aktivasyon ve hücre ölümü ile ilişkili sinyallerin arttığını ortaya koymuştur. Normal prostat hücrelerinde ise anlamlı bir immün yanıt veya sitotoksiste gözlenmemiştir.

Anahtar Kelimeler: Apoptoz, İmmünoterapi, miR-30c, NK-92 Hücreleri, Prostat Kanseri

ABSTRACT

MS THESIS

THE EFFECT OF miR-30c STIMULATED NK-92 CELLS ON PC3 PROSTATE CANCER CELLS

Rabia ÖZDEMİR

**THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES OF
NECMETTİN ERBAKAN UNIVERSITY THE DEGREE OF MASTER OF
SCIENCE
IN BIOTECHNOLOGY**

Advisor: Prof. Dr. Mehmet KARATAŞ

2026, 75 Pages

Jury

Prof. Dr. Mehmet KARATAŞ

Prof. Dr. Muhammad ASIM

Asst. Prof. Hatice Banu KESKİNKAYA

Prostate cancer is a common type of cancer observed in elderly men. The treatment of the disease is determined based on factors such as the patient's age, the stage of the cancer, and overall health status. Current treatment options include surgical intervention, radiation therapy, hormone therapy, chemotherapy, and immunotherapy. Cancer immunotherapy is an innovative treatment approach that aims to enhance the ability of the immune system to recognize and eliminate cancer cells. In this way, the generation of a stronger and more specific immune response against cancer cells is targeted. Recent studies have demonstrated that microRNAs (miRNAs) play critical roles in cancer development, progression, and the regulation of immune responses. miRNAs are considered important biomarkers and potential immunotherapeutic tools, particularly for the diagnosis and treatment of prostate cancer.

In this thesis study, as a potential immunotherapy strategy for prostate cancer treatment, the effects of NK-92 (sNK-92) cells with enhanced cytotoxic activity through miR-30c transfection on PNT1A normal prostate cells and PC3 prostate cancer cells were investigated. Within the scope of the study, the cytotoxic potential of sNK-92 cells was analyzed comparatively with NK-92 cells. Target (PC3/PNT1A) and effector (NK/sNK-92) cells were co-cultured at ratios of 1:8 and 1:16, and cell viability was evaluated using the WST-1 assay. Immunostaining analysis was performed to validate the WST-1 analysis.

The obtained findings demonstrated that sNK-92 cells used particularly at a 1:16 ratio induced a significantly higher cytotoxic effect on PC3 prostate cancer cells compared to the control group. sNK-92 cells at the equivalent concentration did not induce any cytotoxicity in normal PNT1A prostate cells. Immunostaining analyses performed to validate the cytotoxic effect revealed increased immune activation and signals associated with cell death in PC3 cells co-cultured with sNK-92 cells. In contrast, no significant immune response or cytotoxicity was observed in normal prostate cells.

Keywords: Apoptosis, Immunotherapy, miR-30c, NK-92 Cells, Prostate Cancer

ÖNSÖZ

Yüksek lisans sürecim boyunca bana yol gösteren, desteğini ve ilgisini hiçbir zaman esirgemeyen, değerli danışman hocam Prof. Dr. Mehmet KARATAŞ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarım süresince emeği ve katkısı büyük olan, bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşarak yol gösteren, desteğini her zaman hissettiren değerli eş danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Mohammadreza DASTOURİ'ye içtenlikle teşekkür ederim. Akademik gelişimime sağladığı katkılar ve her aşamada sunduğu rehberlik benim için son derece kıymetlidir.

Dastouri Lab'da birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum, her zaman yanımda olan değerli ekip arkadaşlarım Hümeysra YILMAZ, Mehtap KIZILPINAR ve Esad Furkan ÖZCAN'a destekleri ve katkıları için teşekkür ederim.

Bu süreçte arkadaşlığını ve desteğini esirgemeyen Sümeyye YÜKSEL'e ve fiziksel olarak uzak olsalar da her zaman desteklerini ve yanımda olduklarını hissettiren canım arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Son olarak, hayatım boyunca olduğu gibi yüksek lisans sürecimde de maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, her koşulda yanımda olan hayatımın en kıymetli varlıkları CANIM AİLEME sonsuz teşekkür ederim. Bu çalışma, onların sevgisi ve desteği sayesinde tamamlanmıştır.

Rabia ÖZDEMİR
KONYA-2026

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
ÖNSÖZ	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ	ix
TABLolar LİSTESİ	x
SİMGELER VE KISALTMALAR	xi
1. GİRİŞ.....	1
<i>Araştırmanın Amacı ve Önemi</i>	<i>3</i>
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	4
2.1. Kanser	4
2.2. Kanser Epidemiyolojisi	7
2.3. Prostat Kanseri	10
2.3.1. Prostat Bezi.....	10
2.3.2. Prostat Kanseri Oluşumu	11
2.4. Prostat Kanseri Etiyolojisi ve Epidemiyolojisi	13
2.5. Prostat Kanserinin Risk Faktörleri	13
2.6. Prostat Kanseri Teşhisi İçin Kullanılan Yöntemler	14
2.7. Prostat Kanseri İçin Kullanılan Tedavi Yöntemleri	17
2.8. NK Hücreleri	21
2.9. miRNA'lar.....	26
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	30
3.1. Materyal	30
3.1.1. Kullanılan Hücre Hatları	30
3.1.2. Kullanılan Sarf Malzemeleri ve Özellikleri	31
3.1.3. Kullanılan Alet-Cihaz ve Özellikleri	32
3.2. Yöntem	34
3.2.1. Hücre Kültürü Medyum Hazırlama	35
3.2.2. Hücre Çözdürme ve Hücre kültürü.....	36
3.2.3. PNT1A ve PC3 Hücre Kültürü	36
3.2.4. NK-92 Hücre Kültürü.....	37

3.2.5. PNT1A ve PC3 Hücrelerinin Pasajlanması	38
3.2.6. NK-92 Hücrelerinin Pasajlanması	39
3.2.7. PNT1A ve PC3 Hücrelerinin Dondurulması	39
3.2.8. NK-92 Hücrelerinin Dondurulması	40
3.2.9. Hücre Sayımı	41
3.2.10. miR-30c Transfeksiyonu	41
3.2.11. Transfeksiyon Sonrası İşlem	42
3.2.12. Prostat Hücrelerinin NK-92 / sNK-92 Hücreleri ile Ko-kültür	43
3.2.13. Sitotoksikite Deneyi	44
3.2.14. İmmün Boyama Deneyi	45
3.2.15. İstatistiksel Analiz	46
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA.....	48
4.1. Sitotoksik Assay Sonuçları	48
4.1.1. NK-92 ve sNK-92 Hücrelerinin PNT1A Hücreleri Üzerindeki Sitotoksik Etkisi	48
4.1.2. NK-92 ve sNK-92 Hücrelerinin PC3 Hücreleri Üzerindeki Sitotoksik Etkisi	49
4.2. İmmün Boyama Sonuçları	50
4.2.1. PNT1A ve PC3 Hücrelerinin İmmün Boyama ile Apoptoz Yolağına Ait BAX ve CAS3 Proteinlerinin Görüntülenmesi	50
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	54
5.1 Sonuçlar	54
5.2 Öneriler	54

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. DNA Onarım Mekanizmaları	5
Şekil 2.2. Kanser Risk Faktörleri.....	7
Şekil 2.3. 2022 Yılında Dünyada En Sık Görülen Kanser Türleri.....	9
Şekil 2.4. 2022 Yılında Dünyada Görülen Kanser Kaynaklı Ölüm Oranları.....	9
Şekil 2.5. Prostat Bezi Bölgeleri.....	11
Şekil 2.6. Prostat Kanseri Oluşum Aşamaları.....	12
Şekil 2.7. NK Hücrelerinin Tanıma ve Öldürme Mekanizmaları.....	22
Şekil 2.8. NK ve Kanser Hücrelerinin Yüzeylerinde Bulunan Reseptörler	24
Şekil 2.9. Apoptoz İçsel ve Dışsal Yolak	25
Şekil 2.10. miRNA Sentezi ve İşlevleri.....	27
Şekil 3.1. Tez İş Akış Şeması.....	34
Şekil 3.2. PNT1A ve PC3 Hücrelerinin Mikroskop Görüntüleri (10X)	37
Şekil 3.3. NK-92 Hücrelerinin Mikroskop Görüntüsü (40X)	38
Şekil 3.4. PNT1A ve PC3 Hücrelerinin Sitotoksikite Deneyi.....	44
Şekil 4.1. NK-92 ve sNK-92 Hücrelerinin PNT1A Normal Prostat Hücreleri Üzerindeki Sitotoksik Etkisi	48
Şekil 4.2. NK-92 ve sNK-92 Hücrelerinin PC3 Prostat Kanseri Hücreleri Üzerindeki Sitotoksik Etkisi ..	49
Şekil 4.3. PNT1A Normal Prostat Hücreleri, 6 saat Ko-Kültürden Sonra BAX Proteininin İmmün Boyama ile Görüntülenmesi	50
Şekil 4.4. PC3 Normal Prostat Kanseri Hücreleri, 6 saat Ko-Kültürden Sonra BAX Proteininin İmmün Boyama ile Görüntülenmesi	51
Şekil 4.5. PC3 Prostat Kanseri Hücreleri, 6 saat Ko-Kültürden Sonra CAS3 Proteininin İmmün Boyama ile Görüntülenmesi.....	51
Şekil 4.6. PC3 Prostat Kanseri Hücreleri, 6 saat Ko-Kültürden Sonra CAS3 Proteininin İmmün Boyama Merge Görüntüleri	52
Şekil 4.7. PC3 Prostat Kanseri Hücreleri, 6 saat Ko-Kültürden Sonra BAX ve CAS8 Proteinlerinin İmmün Boyama Merge Görüntüleri.....	52

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 3.1. Tez çalışmasında kullanılan malzeme listesi	31
Tablo 3.2. Tez çalışmasında kullanılan cihazlar ve markaları	32
Tablo 3.3. Hücre Medyumları	35



SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

SİMGELER

cm	Santimetre
µL	Mikrolitre
nM	Nanomolar
nm	Nanometre
ng	Nanogram
mL	Mililitre
g	Gram
dk	Dakika
%	Yüzde
°C	Santigrat derece

KISALTMALAR

AR	Androjen Reseptörü
ADT	Androjen Yoksunluğu Tedavisi
APAF-1	Apoptotik Proteaz Aktive Edici Faktör-1
ATCC	Amerikan Tıp Kültür Koleksiyonu
BAK	BCL-2 Homolog Antagonist Öldürücü
BAX	BCL-2 ile İlişkili X
BCL-2	B Hücreli Lenfoma Geni-2
BCL-X	B hücreli Lenfoma-Ekstra Büyük
CCK-8	Cell Counting Kit-8 / Hücre Canlılık Analizi
CRISPR/Cas9	Düzenli Aralıklı Palindromik Tekrar Kümeleri/Cas9
CRPC	Kastrasyona Dirençli Prostat Kanseri
ddH₂O	Deiyonize Distile Su
DHT	5α-dihidrotestosteron
DMSO	Dimetil Sülfoksit
DNA	Deoksiriboz Nükleik Asit
ECM	Ekstraselüler Matriks
EMT	Epitelyal-Mezenkimal Dönüşüm
FAAD	Fas ile İlişkili Ölüm Alanı
FasL	Fas Ligand
FasR	Fas Reseptörü
FBS	Fetal Sığır Serum
FDA	Amerika Gıda ve İlaç Dairesi
FITC	Floresein İzotiyosiyanat

GLOBOCAN	Küresel Kansere Gözlem Verileri
IFN-γ	İnterferon Gama
IL-2	İnterlökin -2
mRNA	Mesajcı RNA
miRNA	Mikro RNA
mikroRNA	Mikro Ribonükleik Asit
mCRPC	Metastatik Kastrasyona Dirençli Prostat Kanseri
MHC	Majör Doku Uyumsuzluğu
MR	Manyetik Rezonans Görüntüleme
NF-κB	Nükleer Faktör Kappa B
NK	Natural Killer / Doğal Öldürücü Bağışıklık Hücresi
sNK	Stimüle Edilmiş/Uyarılmış NK Hücreleri
mCRPC	Metastatik Kastrasyona Dirençli Prostat Kanseri
PAP	Prostatik Asit Fosfataz
PBS	Fosfat Tamponlu Tuz
PFA	Paraformaldehit
PI3K	Fosfatidilinositol-3-Kinaz
PIN	Prostat Epitelyal İçi Neoplazma
PSA	Prostat Spesifik Antijen
PSAR	Serbest PSA'nın Total PSA'ya oranı (sPSA/tPSA)
PSMA	Prostata Özgü Membran Antijeni
RISC	RNA ile İndüklenen Susturma Kompleksi
RPMI	Roswell Park Memorial Institute/ Besiyeri
TME	Tümör Mikro Çevresi
TNF-α	Tümör Nekroz Faktör Alfa
UV	Ultraviyole
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
7-AAD	7-Aminoaktinomisin D / Çekirdek Boyası

1. GİRİŞ

Kanser, normal hücrelerin genetik ve epigenetik değişiklikler sonucu transformasyon geçirerek kontrolsüz bir şekilde çoğalmasıyla ortaya çıkan, invazyon ve metastaz yeteneğine sahip heterojen bir hastalık grubudur (Çetinkaya ve Şahin, 2020; Hanahan, 2022). (Çetinkaya ve Şahin, 2020; Hanahan, 2022). Kanser hücreleri, çevre dokulara yayılabilme ve uzak organlara metastaz yapabilme özellikleri nedeniyle yüksek mortalite oranlarına sahiptir. Metastatik kanserler genellikle tedaviye dirençli olup, ölümle sonuçlanabilmektedir (Martin vd., 2013; National Cancer Institute, 2015). Günümüzde kanser, dünya genelinde kardiyovasküler hastalıklardan sonra en sık ölüme neden olan ikinci hastalık konumundadır ve görülme sıklığı giderek artmaktadır (Bray vd., 2024; GLOBOCAN, 2022).

Kanser hücreleri, sınırsız çoğalma potansiyeli, apoptozdan kaçış, genom kararsızlığı, metabolik yeniden programlama, anjiyogenez ve bağışıklık sisteminden kaçabilme gibi ayırt edici özellikler kazanarak normal hücrelerden ayrılmaktadır (Bozgeyik, 2020; Hanahan, 2022). Bu özellikler, kanserin heterojen yapısını güçlendirmekte ve uygulanan tedavilere karşı direnç gelişimine yol açmaktadır (Abate-Shen ve Shen, 2000; Rebello vd., 2021). Kanser hücrelerinin telomeraz aktivitesini artırarak sınırsız replikasyon yeteneği kazanması ve apoptoz mekanizmalarını baskılaması, tümör progresyonunda kritik rol oynamaktadır (Hegde vd., 2013; Quazi, 2022; Zhang vd., 1999).

Kanser gelişiminde bağışıklık sistemi ile tümör hücreleri arasında dinamik bir etkileşim bulunmaktadır. Normal şartlarda bağışıklık sistemi, kanser hücrelerini tümör antijenleri aracılığıyla tanıyıp ortadan kaldırabilmektedir. Ancak kanser hücreleri tarafından salgılanan sitokinler ve interferonlar, bağışıklık hücrelerinin fonksiyonlarını baskılayarak immün kaçışa neden olmakta ve tümör gelişimini destekleyen bir mikroçevre oluşturmaktadır (Loose ve Van de Wiele, 2009; Swanton vd., 2024). Bu durum, kanser tedavisinde bağışıklık sistemini hedefleyen yeni yaklaşımların geliştirilmesini zorunlu kılmaktadır.

Prostat kanseri, erkeklerde en sık görülen kanser türlerinden biri olup, yaşla birlikte insidansı belirgin şekilde artmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre

prostat kanseri, erkeklerde en sık görülen ikinci kanser türü ve kanser kaynaklı ölümlerde beşinci sırada yer almaktadır (GLOBOCAN, 2022; Leslie vd., 2024). Prostat kanserlerinin büyük bir kısmı yavaş seyirli olmakla birlikte, ileri evrelerde metastaz yaparak yaşam kalitesini düşürmekte ve mortaliteyi artırmaktadır (Buskin vd., 2023; David ve Leslie, 2025). Hastalığın erken evrede teşhis edilmesi durumunda sağkalım oranları oldukça yüksekken, metastatik evrede bu oran belirgin şekilde düşmektedir (Leslie vd., 2024).

Prostat kanserinin tanı ve tedavisinde PSA gibi biyobelirteçler yaygın olarak kullanılmakla birlikte, bu yöntemlerin özgüllük ve duyarlılık açısından sınırlamaları bulunmaktadır (Rebello vd., 2021; Stephan vd., 2015). Ayrıca cerrahi, radyoterapi, kemoterapi ve hormonal tedaviler gibi konvansiyonel yaklaşımlar, özellikle metastatik ve kastrasyona dirençli prostat kanserinde yetersiz kalmakta ve ciddi yan etkilere yol açabilmektedir (Kwon vd., 2021; Rebello vd., 2021). Bu nedenle, daha selektif, etkili ve güvenli yeni tedavi stratejilerine ihtiyaç duyulmaktadır.

Son yıllarda immünoterapi, kanser tedavisinde umut verici bir yaklaşım olarak ön plana çıkmıştır. İmmünoterapi, hastanın bağışıklık sistemini güçlendirerek veya yeniden programlayarak kanser hücrelerinin tanınmasını ve yok edilmesini hedeflemektedir (Disis, 2014; Powers vd., 2020). Bu kapsamda, doğal öldürücü (Natural Killer) hücreler; antijen bağımsız sitotoksik aktiviteleri, hızlı yanıt verebilme yetenekleri ve tümör hücrelerine karşı yüksek öldürücülükleri nedeniyle dikkat çekmektedir (Caligiuri, 2008; Vivier vd., 2008).

MikroRNA'lar (miRNA'lar), gen ekspresyonunu post-transkripsiyonel düzeyde düzenleyen küçük, kodlamayan RNA molekülleri olup, kanser gelişimi, progresyonu ve bağışıklık yanıtlarının düzenlenmesinde önemli roller üstlenmektedir. Prostat kanserinde miRNA ekspresyon profillerindeki değişikliklerin hem biyobelirteç hem de terapötik hedef olarak kullanılabileceği gösterilmiştir. Özellikle miR-30c'nin, çeşitli kanser türlerinde baskılayıcı rol oynadığı ve NK hücrelerinde sitotoksiteyi engelleyen faktörleri inhibe ederek immün yanıtı güçlendirdiği bildirilmiştir. miRNA'lar aracılığıyla NK hücrelerinin fonksiyonel olarak aktive edilmesi, kanser hücrelerine karşı daha selektif ve güçlü bir immün yanıt oluşturma potansiyeli taşımaktadır (Shimasaki vd., 2020; Adamaki ve Zoumpourlis, 2021; Rafikova vd., 2023).

Araştırmanın Amacı ve Önemi

Bu tez çalışmasının temel amacı, prostat kanseri tedavisine yönelik yenilikçi bir immünoterapötik yaklaşım olarak, miR-30c ile stimüle edilmiş NK-92 hücrelerinin sNK-92) sitotoksik etkinliği araştırmaktır. miR-30c transfeksiyonu ile aktive edilen NK-92 hücrelerinin, PC3 prostat kanseri hücreleri üzerindeki etkilerinin yanı sıra PNT1A normal prostat epitel hücreleri üzerindeki olası sitotoksik etkileri de değerlendirilmiştir. Bu çalışma ile, miRNA temelli NK hücre aktivasyonunun prostat kanserinde selektif, etkili ve güvenli bir immünoterapi stratejisi olarak kullanılabilirliği ortaya konulması amaçlanmıştır.



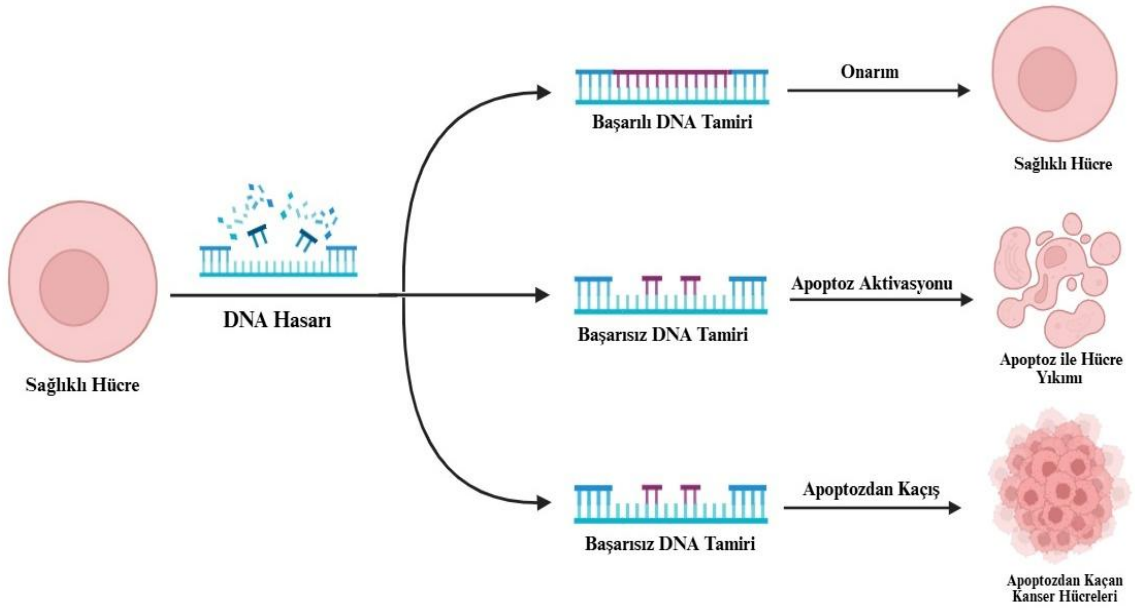
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Kanser

Kanser, normal hücrelerin transformasyon geçirerek kontrolsüz bir şekilde çoğalmasıyla meydana gelen kötü huylu tümördür (Çetinkaya ve Şahin, 2020). Kanser hücreleri, invazyon yeteneği ile çevresindeki sağlıklı hücelere yayılarak etki etmektedir. Ayrıca sadece çevresindeki hücelere değil, uzak dokulara da sıçrayarak metastaz yapmaktadır. Metastatik kanserler tehlikelidir ve genellikle ölümle sonuçlanmaktadır. Kanser hücreleri, anormal ve kontrolsüz bir şekilde bölünerek çoğaldıkları için ölümsüz kabul edilmektedir (Martin vd., 2013; National Cancer Institute, 2015).

İnsan somatik hücreleri bölünerek çoğalmaktadır. Her bölünme sonucunda kromozom uçlarında koruyucu yapılar olarak bulunan telomerler kısalmaktadır. Hücreler belirli sayıda bölünme döngüsü geçirdikten sonra, telomer uzunluğu kritik bir seviyeye ulaşmaktadır. Bu aşamada hücre bölünmesi sona ermektedir. Bu durum, hücrenin ya senesense (yaşlanma) girmesine ya da apoptoza (programlanmış hücre ölümü) uğramasına neden olmaktadır. Telomeraz aktivitesi ile kanser hücreleri arasında korelasyon olduğu tespit edilmiştir. Kanser hücreleri, telomeraz enziminin aktivitesini artırarak sürekli telomer sentezi sağlamaktadır ve böylece kanser hücreleri sınırsız replikasyon ile ölümsüz hale gelmektedir (Hegde vd., 2013; Quazi, 2022; Zhang vd., 1999).

Normal hücrelerde DNA hasarı meydana geldiğinde, hücresel onarım mekanizmaları ile hasar onarılmaktadır. Hasarın onarılamadığı durumda hücreler apoptoza uğramaktadır. Apoptoza uğrayamayan hücreler vücutta birikerek kanser hücrelerinin meydana gelmesini sağlamaktadır. Kanser hücreleri, apoptozdan kaçarak hayatta kalır ve kontrolsüz bir biçimde çoğalmaya devam eder. Bu durum, kanser hücrelerine yüksek proliferasyon özelliğini kazandırmaktadır (Cooper, 2000; C. Kaya vd., 2015).



Şekil 2.1. DNA Onarım Mekanizmaları

Kanser hücreleri ve bağışıklık hücreleri arasında bir etkileşim vardır. Bağışıklık hücreleri, kanser hücrelerini salgıladıkları spesifik antijenler sayesinde kolayca tanıyıp, kanser hücrelerine saldırabilmektedir. Fakat kanser hücreleri tarafından salınan interferonlar ve sitokinler, kan dolaşımına geçerek bağışıklık hücrelerini ve uzak dokuları etkilemektedir. Bu durum, immün baskılayıcı miyeloid hücre (MDSC) miktarının artmasına neden olmaktadır. Sonuç olarak kanser gelişimini destekleyen bir bağışıklık ortamı meydana gelmektedir (Loose ve Van de Wiele, 2009; Swanton vd., 2024). Kanser, halsizlik, ağrı, organ yetmezliği, kaşeksiye neden olmaktadır. Sadece fiziksel olarak değil, psikolojik olarak da etkilemektedir.

Kanserler, meydana geldiği hücrenin tipine göre 3 ana grupta incelenebilmektedir:

1. Karsinomlar, epitel dokularda meydana gelmektedir. En sık görülen kanser tipidir. Kanser çeşitlerinin yaklaşık %90'ını oluşturmaktadır.
2. Sarkomlar, kemik ve kas gibi bağ dokularda meydana gelmektedir.
3. Lösemi veya Lenfomalar, kan ve bağışıklık hücrelerinden meydana gelmektedir.

Normal sağlıklı hücreler, gelişmek ve çoğalmak için büyüme faktörlerine ihtiyaç duymaktadır. Ancak kanser hücreleri, bu büyüme faktörlerine ihtiyaç duymamakla birlikte kendi büyüme faktörlerini meydana getirebilmektedir (Cooper, 2000).

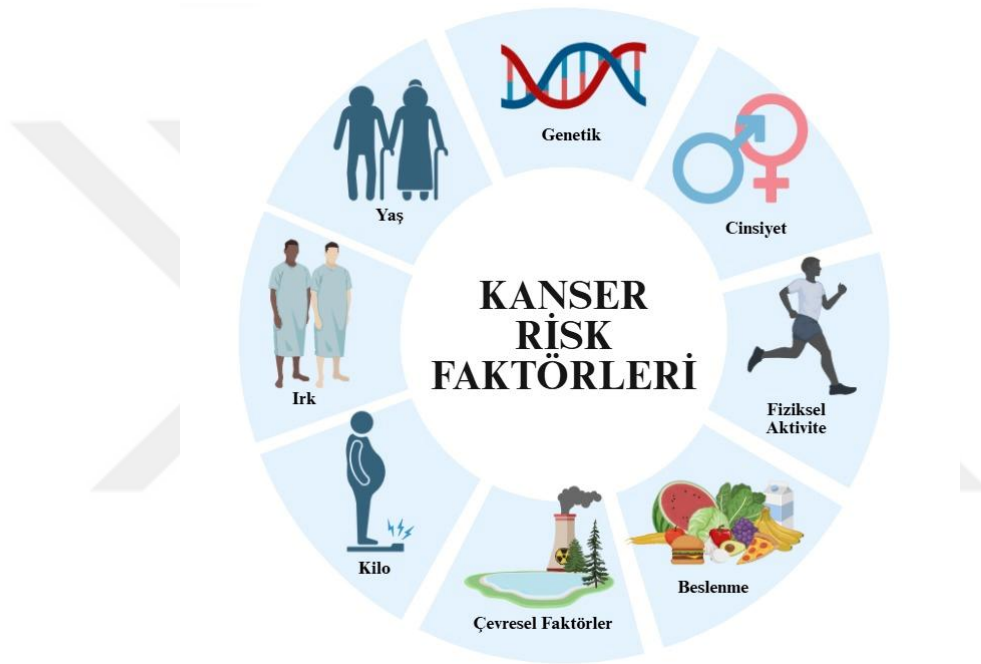
Kanserin toplamda 14 ayırt edici özelliği bulunmaktadır. Bunlar;

1. Bağımsızlık Sisteminden Kaçabilme
2. Hücre Ölümüne “Apoptoza” Karşı Direnç Gösterme
3. Sınırsız Çoğalma Potansiyeli
4. Tümör Oluşumunu Teşvik Eden İnflamasyon
5. Genom Kararsızlığı ve Mutasyon Birikmesi
6. İnvazyon ve Metastazın Aktive Edilmesi
7. Anjiyogenezin Tetiklenmesi
8. Büyüme Baskılayıcı Sinyallerden Kaçış
9. Mutasyona Bağlı Olmayan Epigenetik Yeniden Programlama
10. Yaşlanmış Hücrelerin Tümör Gelişimine Katkısı
11. Polimorfik Mikrobiyomların Etkisi
12. Çoğalma Sinyallerinin Sürekliliği
13. Hücre Metabolizmasının Yeniden Programlanması
14. Fenotipik Plastisite Kazanımı (Bozgeyik, 2020; Hanahan, 2022).

Kanser, heterojen bir hastalıktır ve son yıllarda tanımlanan yeni ayırt edici özellikler, kanserin heterojenliğini desteklemektedir. Kanser heterojenliği, uygulanan tedavilere karşı direnç kazandırmakta ve tedavilerin etkisini düşürmektedir. Bu nedenle, mevcut tedaviler yetersiz kalmaktadır. Dolayısıyla daha etkili yeni tedavi yöntemlerinin geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır (Abate-Shen ve Shen, 2000; Rebello vd., 2021; Wang vd., 2018).

Yaş, ırk ve etnik köken, cinsiyet, kilo, genetik yatkınlık, aile öyküsü, psikoloji, stres, beslenme, fiziksel aktivite ve çevresel faktörler, kanser riskini artırmaktadır. Çevresel faktörler, kanser gelişimini %80 oranında etkilemektedir. Yaş ilerledikçe, kanser riski de artmaktadır. Yapılan araştırmalara göre, kanser teşhisi konulmuş olan hastaların büyük bir çoğunluğu 50 yaş ve üzerindedir (Açıkgöz vd., 2018; Swanton vd., 2024; T.C. Sağlık Bakanlığı, 2025). Cinsiyete bağlı olarak bazı kanser türlerinin görülme

sıklığı farklılık göstermektedir. Örneğin, meme ve yumurtalık kanserleri kadınlarda daha yüksek oranda görülürken, prostat ve mesane kanserleri erkeklerde daha sık görülmektedir. Irk ve etnik köken, bazı kanser türlerinde önemli bir risk faktörüdür. Örnek olarak, Afrika kökenli erkeklerde prostat kanseri görülme olasılığı, Asya kökenli erkeklere kıyasla çok daha fazladır. Kanser, genetik mutasyonlar dışında birçok faktörün meydana getirdiği bir hastalıktır (Bergengren vd., 2023; Siegel vd., 2023; Swanton vd., 2024).



Şekil 2.2. Kanser Risk Faktörleri (BioRender’da Oluşturuldu)

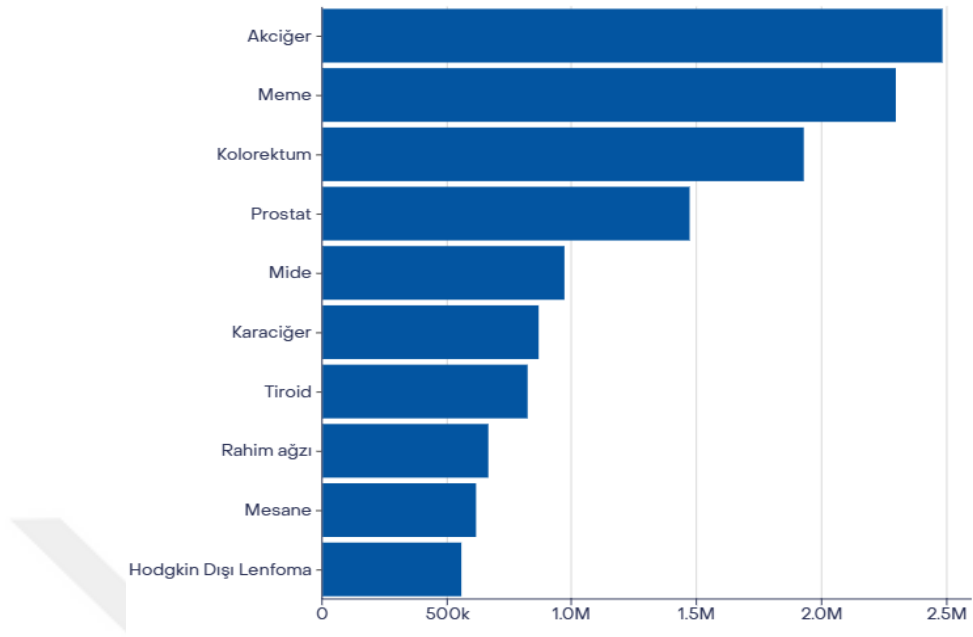
2.2. Kanser Epidemiyolojisi

Kanser, dünyada ve ülkemizde kardiyovasküler hastalıklardan sonra ölüm oranı en yüksek olan ikinci hastalıktır ve bu oran zamanla artış göstermektedir (Çetinkaya ve Şahin, 2020).

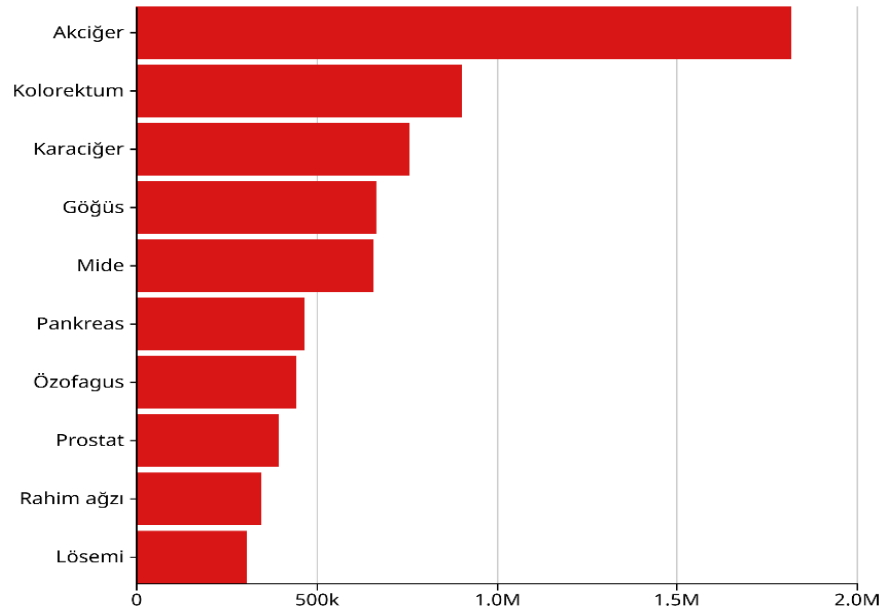
Dünyada en sık görülen ilk 5 kanser türü sırasıyla akciğer, meme, kolorektal, prostat ve mide kanserleridir (Açıkgöz vd., 2018; GLOBOCAN, 2022). Her dört ölümden birinin nedeni kanserdir (Bray vd., 2024). 2023 yılında OECD (Ekonomik Kalkınma ve İş Birliği Örgütü) ülkelerinde gerçekleşen tüm ölümlerin %21’ini kanser oluşturmaktadır.

Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) 2022 yılındaki son verilerine göre; Dünyada yaklaşık olarak 20 milyon yeni kanser vakası tespit edilmiştir ve 10 milyon kişinin kanserden öldüğü ortaya konulmuştur. 2045 yılına kadar yeni vaka sayısının yaklaşık olarak 33 milyona ulaşacağı tahmin edilirken, kanserden dolayı ölen kişi sayısının yaklaşık 17 milyona ulaşacağı tahmin edilmektedir. Bu da şu anki vakaların %74 oranında artacağı anlamına gelmektedir (GLOBOCAN, 2022). Günümüzde ve gelecekte dünya genelinde kanser insidansında artış gözlenmesine rağmen, gelişen erken teşhis ve tedavi yöntemleri sayesinde kanser kaynaklı mortalite oranlarında azalma görülmektedir (Türk Toraks Derneği, 2024).

Türkiye'de ise 2022 yılında toplam 240.013 kanser vakası tespit edilmiş ve 129.672 kişi kanserden dolayı hayatını kaybetmiştir. Erkeklerde en sık görülen ilk üç kanser türü akciğer, prostat ve kolorektal kanserler iken; kadınlarda meme, tiroid ve kolorektal kanserler ön plandadır (GLOBOCAN, 2022; T.C. Sağlık Bakanlığı, 2025). Tütün ürünleri kullanımı ve obezite, kanser riskini artıran en önemli iki faktör olarak tanımlanmaktadır. Kanser vakalarındaki sürekli artış, dünya geneli için ekonomik yük haline gelmektedir. Bu yük, sadece kanser tedavi masraflarından değil, ek olarak kanser teşhisi ve bakımı için yapılan masraflardan da kaynaklanmaktadır. Diğer yandan ise, birçok kanser türü için erken teşhis ve doğru tedaviyle sağkalım oranlarının arttığı da bilinmektedir (Bray vd., 2024; Soerjomataram ve Bray, 2021).



Şekil 2.3. 2022 Yılında Dünyada En Sık Görülen Kanser Türleri (GLOBOCAN, 2022)



Şekil 2.4. 2022 Yılında Dünyada Görülen Kanser Kaynaklı Ölüm Oranları (GLOBOCAN, 2022)

2.3. Prostat Kanseri

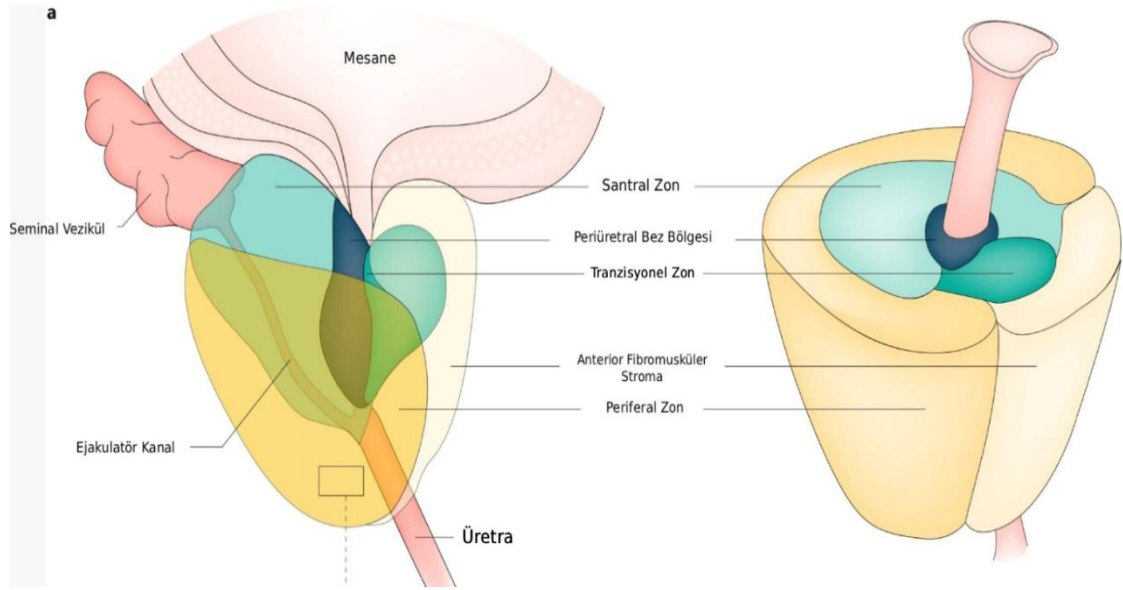
2.3.1. Prostat Bezi

Erkeklerde bulunan prostat bezi, erkek üreme sisteminin önemli bir parçasıdır. İdrar kesesinin hemen altında, rektumun önünde ve penisin tabanında yer almakta olup üretrayı çevrelemektedir. Ergenlikten önceki dönemde testosteron seviyeleri düşük olduğundan dolayı inaktif halde bulunan prostat bezi, yaş ilerledikçe büyümektedir (White vd., 2013). Yetişkin bir erkekte prostat bezi; yaklaşık bir ceviz büyüklüğünde, 3 cm uzunluğunda ve ortalama 18-25 g ağırlığında bulunmaktadır. Şekil olarak ters koniye benzetilmektedir. Prostat bezinin gelişimi, erkeklik hormonu olan androjenlere bağlıdır. En önemli androjen hormonu, testosterondur. Androjen miktarları, ergenlik döneminde hızlı bir artış gösterir ve 20'li yaşlarda dengelenmeye başlamaktadır (Leslie vd., 2024). Prostatın temel işlevi; spermlerin canlılığını ve hareketliliğini sağlayan seminal sıvının yaklaşık %30 kadarlık önemli bir kısmını üretmektir. Asıl görevi, sperm hücrelerini beslemek ve korumaktır. Prostat sıvısında yüksek miktarda sitrat, çinko, asit fosfataz ve Prostat Spesifik Antijen (PSA) bulunmaktadır. PSA, ejakülasyon ile meydana gelen meninin sıvılaşmasında görev almaktadır (Leslie vd., 2024; Prins, 2023; Singh ve Bolla, 2023).

Prostat Bezi 4 bölgeden oluşmaktadır:

- 1. Periferik Bölge:** Prostat bezinin dış kısmında bulunan bölgedir. Prostat kanserlerinin köken aldığı bölgedir ve yaklaşık %70'i bu bölgede gelişmektedir. Santral bölgenin büyük bir kısmını çevrelemektedir.
- 2. Santral Bölge:** Prostat bezinin merkezinde yer almaktadır. Prostat kanserlerinin yaklaşık %10'u bu bölgeden kaynaklanmaktadır. Ejakülatör (boşalma) kanallarını çevrelemektedir.
- 3. Transizyonel Bölge:** Üretrayı çevreleyen geçiş bölgesidir. Prostat kanserlerinin yaklaşık %20'si bu bölgeden köken almaktadır. Yaş ilerledikçe bu bölgenin büyüklüğü de artabilmektedir. İyi huylu prostat hiperplazisi (BPH) bu bölgede gelişir ve bezin nodüler olarak büyümesinden kaynaklanmaktadır. Bu durum üretrayı sıkıştırarak idrar çıkışını kısıtlayabilmektedir.

- 4. Anterior Fibromusküler Stroma (AFMS):** Bezin ön yüzünde yer alan bu bölge tamamen lif ve kas yapıdan oluşmaktadır. Ejakülasyon sırasında bezin kasılmasına yardımcı olmaktadır (Mahadevan vd., 2024; Sathianathen vd., 2018; Singh ve Bolla, 2023; Wang vd., 2018).



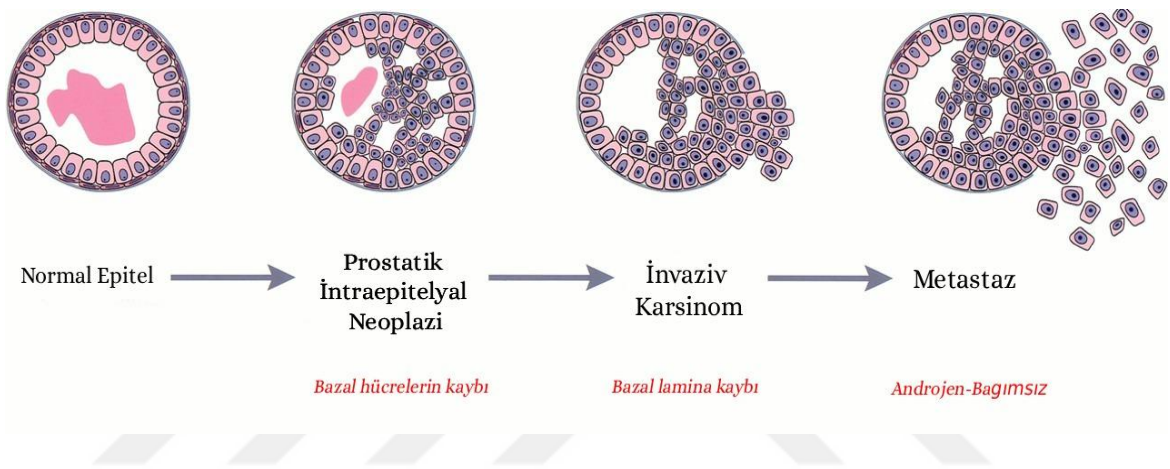
Şekil 2.5. Prostat Bezi Bölgeleri (Rebello vd., 2021)

2.3.2. Prostat Kanseri Oluşumu

Prostat kanseri, normal prostat bezi hücrelerinin kontrolsüz bir şekilde büyümesi ve çoğalması ile meydana gelen bir hastalıktır. Prostat kanseri, erkeklerde akciğer kanserinden sonra ölüm oranı en yüksek ikinci kanser türüdür (Rafikova vd., 2023). Prostat kanseri oluşumu birkaç adımda gerçekleşmektedir:

- 1. Prostat İntraepitelyal Neoplazi (PIN):** Hücreler, anormal şekilde çoğalırlar. Bazal membran sağlamdır. Bu aşamadaki hücreler, apoptoza karşı direnç mekanizması geliştirmektedir.

2. **Prostatik Adenokarsinom:** En sık görülen kanser türüdür. Kanserleşen hücreler, bazal membranı yırtarak bağ dokuya invazyon gerçekleştirmektedir.
3. **Metastaz:** Kanser hücreleri, Epitelyal Mezenkimal Geçiş (EMT) ile hareket edebilme yeteneği kazanarak, kan ve lenf düğümleri aracılığıyla prostattan ayrılır ve başka dokulara metastaz yapar (Archer Goode vd., 2023; Leslie vd., 2024).



Şekil 2.6. Prostat Kanseri Oluşum Aşamaları (Abate-Shen ve Shen, 2000)

Prostat kanseri için en önemli risk, yaş faktörüdür. Hastalık insidansı, özellikle 60 yaş ve üzerindeki erkeklerde belirgin bir şekilde artış göstermektedir. Teşhis konulan vakaların yaklaşık %75'i lokalize prostat kanseridir. Lokalize prostat kanserinde; kanser, sadece prostat kapsülü dışına taşmamış ve çevre dokulara metastaz göstermemiştir (Archer Goode vd., 2023).

Prostat kanserlerinin büyük bir kısmı yavaş gelişim gösterdiğinden dolayı, lokal prostat kanserin önemli semptomlara yol açması genellikle en az 10 yıl sürmektedir. Bu nedenle hastalık, kolay fark edilememektedir. Ancak kanserin ilerleyen evrelerinde hastalarda halsizlik ve kemik ağrıları ortaya çıkabilmektedir. Ek olarak, kemiklere ve lenf düğümlerine metastaz yaparak daha tehlikeli hale gelebilmektedir (David ve Leslie, 2025; Leslie vd., 2024). Prostat kanseri, henüz metastaz yapmadan önce erken evrede teşhis edilirse, sağkalım oranı %100'e yakın olmaktadır. Fakat kanser, metastaz ile başka dokulara yayıldıktan sonra teşhis edilirse, sağkalım oranı yaklaşık %30'a düşmektedir.

Bu oran, metastazın kanserde ne kadar kritik bir durum olduğunu açıkça göstermektedir (Buskin vd., 2023; EdTech, 2019; Leslie vd., 2024).

2.4. Prostat Kanseri Etiyolojisi ve Epidemiyolojisi

Prostat kanseri, Dünya Sağlık Örgütü 2022 yılı verilerine göre, erkeklerde en sık görülen ikinci kanser türüdür. Kanserden kaynaklı ölümlerde ise en yaygın beşinci kanser türüdür. 2022 yılında yaklaşık 1,5 milyon yeni prostat kanseri vakası ve 397.430 kişinin prostat kanserinden öldüğü tespit edilmiştir. Prostat kanseri, dünya ülkelerinin %60'ında en yaygın kanser türüdür (GLOBOCAN, 2022; Leslie vd., 2024).

2022 yılında Türkiye'de prostat kanseri insidansı 17.274 iken, prostat kanserinden ölen kişi sayısı 5.428'dir (T.C. Sağlık Bakanlığı, 2025).

Prostat kanserinde ırk ve etnik köken önemli bir faktördür. Dünyada prostat kanseri insidansı en yüksek Avustralya, Kuzey Amerika ve Avrupa ülkelerinde görülmektedir. Ayrıca Afrika kökenli erkeklerin prostat kanserine yakalanma olasılığı diğer ırklara göre çok daha fazladır (Baran ve Burlükkara, 2020; Leslie vd., 2024; Rebello vd., 2021).

Prostat kanseri için bilinen başlıca risk faktörleri yaş, ırk ve etnik köken, hormonlar, beslenme/obezite, genetik mutasyonlar, çevresel faktörler ve aile geçmişi (Leslie vd., 2024; Sathianathen vd., 2018).

2.5. Prostat Kanserinin Risk Faktörleri

- **Yaş:** Prostat kanseri için önemli bir faktördür. Prostat bezi yaşlandıkça büyüdüğünden dolayı, 50 yaşından sonra prostat kanseri riski belirgin şekilde artmaktadır. Vakaların yaklaşık %85'i, 65 yaşından sonra fark edilmektedir (Patel ve Klein, 2009; Rebello vd., 2021).

- **Aile Geçmişi:** Birinci derece akrabalarında prostat kanseri geçmişi olan kişilerin prostat kanserine yakalanma olasılığının daha fazla olduğu tespit edilmiştir (Bergengren vd., 2023).
- **Hormonlar:** Erkeklerde, androjen ve testosteron gibi hormonların yüksek seviyede olması prostat kanseri riskini artırmaktadır (Bostwick vd., 2004).
- **İrk ve Etnik Köken:** Prostat kanseri insidansı ırklar arasında büyük farklılıklar göstermektedir. Afrika kökenli erkeklerin prostat kanserine yakalanma riski, diğer ırklara kıyasla daha yüksektir (Bostwick vd., 2004; Rebello vd., 2021).
- **Beslenme:** Yüksek yağlı gıdaların tüketimi, aşırı kırmızı et tüketimi ve D vitamini eksikliği ile prostat kanseri riski arasında pozitif bir ilişki bulunmaktadır (Bergengren vd., 2023; Leslie vd., 2024).
- **Çevresel Faktörler:** Alkol ve sigara kullanımı gibi yaşam tarzı faktörleri ve cinsel aktivite, prostat kanseri riskini artırabilmektedir (Patel ve Klein, 2009; Soerjomataram ve Bray, 2021).
- **Genetik Mutasyonlar:** DNA onarım mekanizmalarında görevli olan BRCA1, BRCA2 gibi genlerde meydana gelen mutasyonlar, kanseri tetiklemektedir (David ve Leslie, 2025).

2.6. Prostat Kanseri Teşhisi İçin Kullanılan Yöntemler

Prostat kanseri yavaş bir kanserdir. Kolay kolay belirti vermemektedir. Bu nedenle belirli bir yaştan sonra erkeklerin (45 yaş) kontrol amaçlı muayene olmaları gerekmektedir. Lokalize prostat kanserini teşhis etmek için, ilk olarak PSA seviyesi kontrolü yapılmaktadır. PSA seviyesinin yüksek olması, prostat kanseri teşhisi konulması için yeterli değildir. Bununla birlikte rektal muayene, manyetik rezonans görüntüleme ve biyopsi gibi yöntemlerle desteklenmesi gerekmektedir (Boixareu vd., 2025; Rebello vd., 2021).

PSA Testi

PSA, prostat kanseri tespiti için kullanılabilen bir biyobelirteçtir. Bu antijen, genellikle kan serumunda ve menide bulunmaktadır. Kan serumundaki PSA seviyesi ölçülerek, prostat kanseri teşhisi yapılabilmektedir. PSA seviyesi, prostat kanseri varlığında aşırı yükselmektedir. Prostat kanserinin gelişimi ve ilerlemesi, Androjenler ve

Androjen Reseptörleriyle (AR) ilişkilidir. AR'ler, kanser hücrelerinin proliferasyonunu aktive etmekte ve apoptozu inhibe etmekte rol oynamaktadır. Prostat için en önemli androjen, testosteron hormonudur. Testosteron, 5 α -Redüktaz enzimi aracılığıyla Dihidrotestosteron'a (DHT) dönüştürülür. DHT, testosterona kıyasla daha yüksek bir afinite ile AR'ye bağlanır ve bu bağlanma sonucu AR aktifleşerek, PSA üretimini artırmaktadır (Rebello vd., 2021; Sathianathen vd., 2018; White vd., 2013).

PSA, kandaki proteinlere bağlanmış şekilde ve herhangi bir proteine bağlanmamış serbest şekilde olmak üzere 2 farklı durumda bulunmaktadır. PSA, toplam PSA ve serbest PSA olmak üzere ikiye ayrılır (Sikaris, 2012).

- **Toplam PSA Değeri:** Kandaki tüm PSA miktarını belirtmektedir. Kandaki proteinlere bağlanmış PSA'ların ve Serbest PSA'ların toplamıdır. Prostat kanseri teşhisinde birincil parametredir.
- **Serbest PSA Değeri:** Kanda hiçbir proteine bağlanmamış şekilde dolaşan PSA'lardır. Serbest PSA değerinin düşük olması, prostat kanseri riskini artırırken, yüksek olması BPH ile ilişkilendirilmektedir.

Prostat kanseri teşhisi için genellikle Toplam PSA değerine bakılmaktadır. Toplam PSA değeri üst sınırı 4 ng/mL kabul edilse de yaşla beraber prostat bezi hacmi arttığı için, bu değer de artabilmektedir. Genel olarak 4.0 ile 10.0 ng/mL arasındaki değerler "Gri Bölge" olarak tanımlanmaktadır (Leslie vd., 2024; Stephan vd., 2015).

Yaşa göre belirli PSA üst sınır değerleri vardır;

- 40 Yaş Altı: ≤ 2 ng/mL
- 40-49 Yaş: ≤ 2.5 ng/mL
- 50-59 Yaş: ≤ 3.5 ng/mL
- 60-69 Yaş: ≤ 4.5 ng/mL
- 70-79 Yaş: ≤ 6.5 ng/mL

Yaş aralığına göre Toplam PSA değeri, olması gereken değerden daha yüksek olduğunda veya gri bölgede olduğunda, kanser mi BPH mı olduğunu ayırt edebilmek için, serbest PSA'nın toplam PSA'ya oranı (PSAR) hesaplanır.

$$PSAR = \frac{\text{Serbest PSA}}{\text{Toplam PSA}}$$

PSAR oranı ne kadar yüksek olursa, kanser riskinin de o kadar düşük olduğunu ve bu yüksekliğin BPH kaynaklı olabileceğini düşündürmektedir (David ve Leslie, 2025; Leslie vd., 2024; Prcic vd., 2016; Rebello vd., 2021).

Serumda PSA seviyesine ek olarak, Prostat Asidi Fosfataz (PAP) ve Prostata Özgü Membran Antijeninin (PSMA) analizleri de teşhis için kullanılabilir. Bunların dışında idrar biyobelirteçleri olarak adlandırılan, idrardaki bazı moleküllerin (PCA3 ve sarkozin gibi) kontrol edilmesi ile de teşhis yapılabilir. Ayrıca, serum ve idrarda tespit edilebilen bazı önemli biyobelirteç araçları da bulunmaktadır. Bunlar, DNA metilasyon seviyesi, mesajcı RNA'lar (mRNA'lar) ve mikro RNA'lardır (miRNA'lar). Son zamanlarda yapılan araştırmalarda miRNA'ların, prostat biyobelirteci olarak önemli bir yeri bulunmaktadır. miRNA'lar prostat kanseri için immünoterapide kullanılmaktadır (Adamaki ve Zoumpourlis, 2021; Rafikova vd., 2023; Rebello vd., 2021; Stephan vd., 2015).

Rektal Muayene

Rektal muayenede, doktor direkt olarak el ile prostat bezinin boyutunu ve yapısını kontrol ederek yapmaktadır. Kontrol sonrası herhangi bir şüphe olması durumunda, kesin tanı koyabilmek için biyopsi gerekmektedir (Dunn ve Kazer, 2011; Rebello vd., 2021).

Manyetik Rezonans Görüntüleme

Manyetik Rezonans Görüntüleme (MR), teşhis için tek başına kullanılamamaktadır. Şüpheli lezyonların yerini belirlemek için kullanılmaktadır. Görüntüleme sadece bir işaretleme işlemidir. MR ile görüntüleme yapıldıktan sonra, şüphesinin giderilmesi için biyopsi yapılmaktadır (Archer Goode vd., 2023; David ve Leslie, 2025; Rebello vd., 2021).

Biyopsi

PSA testi sonucu, rektal muayene sonucu ve MR sonucu, prostat kanseri şüphesini desteklemekteyse, kesin teşhis koyabilmek için mutlaka biyopsi yapılması

gerekmektedir. Biyopsi işlemi, patolojik inceleme için vakanın prostat bezinden kesit veya doku örneği alınmasıdır. Bu işlem, Transrektal Ultrason (TRUS) aracılığıyla eş zamanlı görüntüleme ile periferik bölgeden örnek alınarak gerçekleştirilmektedir (Rebello vd., 2021; Sathianathan vd., 2018).

PSA oranı yüksek çıkan ama prostat kanseri olmayan kişiler, PSA seviyesinin yüksekliğinden ve kanser riski ihtimalinden dolayı psikolojik olarak kötü etkilenmektedirler (David ve Leslie, 2025; Leslie vd., 2024; Rebello vd., 2021)

2.7. Prostat Kanseri İçin Kullanılan Tedavi Yöntemleri

Erken evrede teşhis edilen, düşük riskli hastalar için, aktif gözetim, radikal prostatektomi, kemoterapi, brakiterapi, radyoterapi (ışın tedavisi), hormonal tedavide immünoterapi yöntemleri kullanılmaktadır (Leslie vd., 2024; Rebello vd., 2021; Sandhu vd., 2021).

Aktif Gözetim

Erken evredeki hastaların, düzenli sürekli olarak PSA seviyesi kontrol edilmektedir. Teşhis konulduktan 18 ve 24 ay sonra en az bir kere ek biyopsi yapılması gerekmektedir. Fakat düzenli PSA kontrolüne ek olarak MR ile takip etmek, biyopsiye olan ihtiyacı azaltabilmektedir (Leslie vd., 2024; Sandhu vd., 2021).

Radikal Prostatektomi

Radikal prostatektomi, cerrahi bir işlemdir. Hastanın prostat bezi ve çevresindeki dokular tamamen alınmaktadır. Bu işlem geliştirilerek laparoskopik prostatektomi olarak uygulanmaktadır. Laparoskopik prostatektomi, hastanın karın bölgesinde daha küçük kesiler açılarak, minik robot bir kamera ile ekranda izlenerek yapılmaktadır (Leslie vd., 2024; Sathianathan vd., 2018; Teo vd., 2019).

Radyoterapi (Işın Tedavisi)

Radikal prostatektomi sonrasında, PSA seviyesi kontrol edilmektedir. Eğer şüpheli bir PSA belirtisi tespit edilirse ya da herhangi bir kalıntı varsa, hastaya belirli bir

seviyede radyasyon vererek radyoterapi uygulanmaktadır (Leslie vd., 2024). Başlangıçta radyoterapi tek başına kullanılmaktayken, yetersiz olduğu için güncel olarak ADT ile kombine şekilde uygulanmaktadır (Sathianathen vd., 2018).

Kriyoterapi

Prostat içerisine sıvı azot probları yerleştirilerek, 10 dakika boyunca soğutma işlemi yapılarak kanser hücreleri öldürülmektedir. Tedavi sonrası idrar kaçırma, erektil disfonksiyon ve rektal ağrılar meydana gelmektedir (Leslie vd., 2024; Sekhoacha vd., 2022).

Brakiterapi

Yaklaşık pirinç tanesi boyutunda olan küçük radyoaktif tohumların, ultrason eşliğinde cerrahi olarak prostata yerleştirilmesiyle yapılmaktadır. Radyoterapinin etkinliğini artırmaktadır (Leslie vd., 2024; Sathianathen vd., 2018).

Kemoterapi

Kanser hücrelerinin gelişimini engellemek ve tamamen öldürmek için, antikanser ilaçlar kullanılmaktadır. Prostat kanseri için en sık Docetaxel, Cabazitaxel ve Enzalutamide kemoterapi ilaçları kullanılmaktadır (Rebello vd., 2021; Sekhoacha vd., 2022).

Hormonal Tedavi

İleri evre prostat kanseri teşhisinden sonra, genellikle Androjen Yoksunluğu Tedavisi (ADT) uygulanmaktadır. ADT, salgılanan testosteron miktarını ve AR aktivasyonunu azaltarak kanserin ilerlemesini yavaşlatmaktadır. Uygulanan tedaviye olumlu yanıt alınmasına rağmen, bir süre sonra hastaların çoğunda “Kastrasyona Dirençli Prostat Kanseri (CRPC)” meydana gelmektedir. CRPC, uygulanan tedavilere karşı direnç göstererek ve metastaz yaparak “Metastatik Kastrasyona Dirençli Prostat Kanserin (mCRPC)” gelişmesine neden olmaktadır (Adamaki ve Zoumpourlis, 2021; Archer Goode vd., 2023; Buskin vd., 2023; Kwon vd., 2021).

mCRPC hastalarının yaklaşık %90’ında kemiklere metastaz gerçekleşmektedir. mCRPC’nin en belirgin ve önemli özelliklerinden biri, AR sinyalizasyonunu yeniden

aktive etmektir. mCRPC’de en sık görülen mutasyonlar, AR’yi aktive eden genlerin (FOXA1 gibi) artması ve AR’yi inhibe eden genlerin baskılanması veya silinmesidir. mCRPC hastalarının çoğunda, bu mutasyonlar beraber meydana gelmektedir (Buskin vd., 2023; Nguyen-Nielsen ve Borre, 2016; Rebello vd., 2021). Ayrıca hastalığın ilerlemesinde, androjen biyosentezinde görev alan CYP17A1 enzimi de etki etmektedir. Tedavi için, CYP17A1 inhibitörü olan Abirateron Asetat uygulanmaktadır (Rebello vd., 2021).

mCRPC için prostatektomi, kemoterapi, radyoterapi ve ADT gibi tedavi yöntemleri uygulanmasına rağmen yetersiz kalmaktadır. Ek olarak, uygulanan bu tedavilerin yan etkisi çok fazladır ve yetersiz kalmaktadır. Bu nedenle kanser tedavisi için yeni yöntemler geliştirilmektedir. Nanoteknolojik ilaçlar, CRISPR/Cas9 (Kümelenmiş Düzenli Aralıklı Kısa Palindromik Tekrarlar) kullanılmaktadır (Erzurumlu, 2021; Lehrer vd., 2025; Teo vd., 2019).

Son zamanlarda en güncel tedavilerden olan immünoterapi, hem spesifitesinden dolayı hem de kişiye özel tedavi olarak kullanılabilmesinden dolayı, ön plana çıkmaktadır (Erzurumlu, 2021; Kwon vd., 2021). İmmünoterapide FDA tarafından onaylanmış olan kanser aşısı bulunmaktadır. İlk immünoterapötik aşı olan Sipuleucel-T, ilk kullanımlarda başarılı olsa da sonradan istenilen etkiyi göstermediği tespit edilmiştir. Ayrıca PROSTVAC prostat kanser aşısı da Faz-III çalışmalarında kalmıştır (Rebello vd., 2021).

İmmünoterapi

Hastanın, kendi bağışıklık sistemini güçlendirerek veya düzenleyerek yapılan tedavi yöntemidir. Diğer tedavi yöntemlerine kıyasla hem yan etkileri daha azdır hem daha spesifiktir. Kanser immünoterapisinde amaç, bağışıklık sistemini yeniden aktive etmek, güçlendirmek ve kanser hücrelerini tanı hale getirmektir (Powers vd., 2020; Sekhoacha vd., 2022; Wayteck vd., 2014).

Bu tedavi yönteminde, vücudun kendi immün hücreleri kansere karşı daha aktif hale getirilebilmektedir. Kanser hücreleri, kendilerini normal sağlıklı hücrelere benzeterek immün sistemden kaçabilmektedir. Buna ek olarak, kanser hücreleri immün sistemi baskılayarak, immün hücrelerinin sitotoksitesini azaltabilmektedir. Buna karşı

immünoterapide, kanser hücrelerine karşı immün yanıt oluşturabilmek için dışarıdan belirli proteinler veya hücreler kullanılmaktadır. Örneğin, immün sistemin kendi hücreleri olan Doğal Öldürücü (NK) hücreler, T hücreleri, B hücreleri ve makrofajlar gibi hücreler kullanılarak kanser hücreleri direkt olarak hedeflenmektedir (Barbaros ve Dikmen, 2015; Disis, 2014; Wayteck vd., 2014).

İmmünoterapi 4 başlık altında sınıflandırılmaktadır:

1. Monoklonal Antikorlar: Yapay olarak laboratuvarda üretilmektedir. İmmün hücrelerinden klonlanıp, spesifik bir hedefe bağlanmaktadır. İmmünoterapi için üretilen monoklonal antikorların tamamı İmmünoglobülin G (IgG) izotipindedir (Baxevanis vd., 2009; Saeed ve Awan, 2016).

2. Sitokinler: İmmün hücreleri arasındaki iletişimi sağlayan, aktivasyonunu ve proliferasyonunu sağlayan proteinlerdir. İmmün hücrelerinin sitotoksik aktivesini artırarak, kanser hücrelerine karşı etki etmektedir (Baxevanis vd., 2009; Fay ve Graff, 2020).

3. Kanser Aşıları: Hastadan alınan immün hücreleri (Dentritik hücreler), laboratuvar ortamında kanser antijeni ile inkübe edilerek, immün hücrelerinin aktivitesi artırılmaktadır. Aktivitesi ve sitotoksitesi artırılan immün hücreleri tekrar hastaya enjekte edilmektedir (Baxevanis vd., 2009; Disis, 2014; Fay ve Graff, 2020).

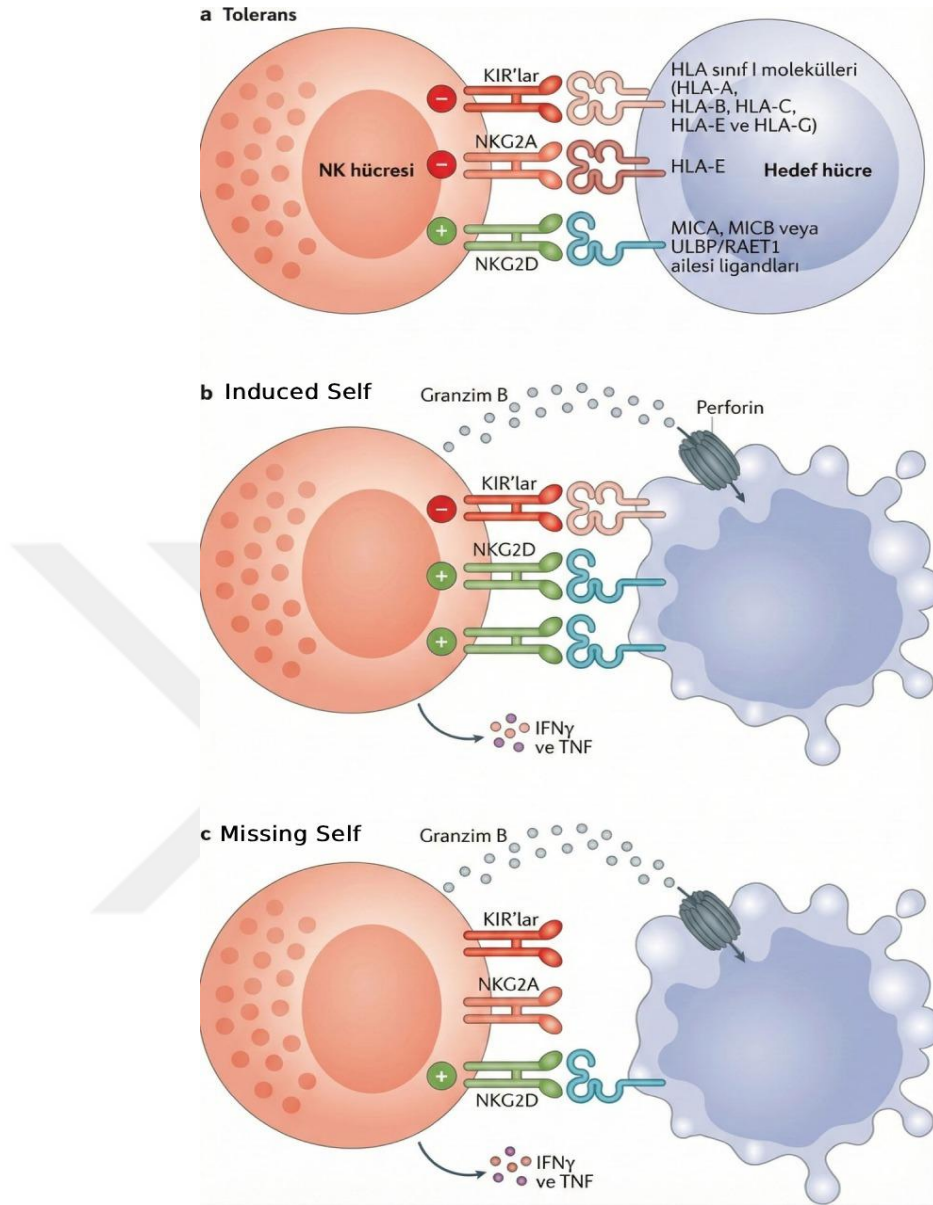
4. Hücresel/Adoptif İmmünoterapi: Hastanın kendi immün hücreleri olan NK hücreleri, T hücreleri ve dentritik hücreler, laboratuvar ortamında çoğaltılarak veya genetiği değiştirilerek hastaya tekrar verilmektedir (Barbaros ve Dikmen, 2015; Baxevanis vd., 2009).

2.8. NK Hücreleri

NK Hücreleri (Natural Killer Cells), doğal öldürücü hücreler olarak adlandırılmaktadır. Kemik iliğinde bulunan hematopoetik kök hücrelerden farklılaşan bu hücreler, belirli bir antijene spesifik olmadan hedef hücreleri tanıyabilme yeteneğine sahiptir (Diniz vd., 2022). Genel olarak yüzeylerinde bulunan reseptörler aracılığıyla, sağlıklı hücreleri enfekte veya kanser hücrelerinden ayırt edebilmektedir. NK hücre aktivasyonu; yüzeylerinde bulunan NKG2D, NKp30, NKp44 gibi aktive edici reseptörler ile KIR gibi inhibitör reseptörler arasındaki hassas dengeye dayanmaktadır. NK hücreleri, bağışıklık sisteminde bulunan özelleşmiş savunma hücreleri olup, kandaki lenfositlerin %10'nunu oluşturmaktadır (Shimasaki vd., 2020; Sun ve Lanier, 2011). Hem doğuştan gelen bağışıklık sisteminde hem kazanılmış bağışıklık sisteminde önemli roller üstlenen bu hücreler, monositlerin ve sitotoksik T hücrelerinin aktivasyonunu sağlarken, dendritik hücrelerin olgunlaşmasında rol almaktadır. Ayrıca, interferon gama (IFN- γ) ve kemokin gibi sitokinler salgılayarak bağışıklık yanıtlarını modüle etmektedir (Bassani vd., 2019; Caligiuri, 2008; Vivier vd., 2008).

NK hücreleri için Büyük Doku Uyumluluk Kompleksi (MHC-I) reseptörünün özel bir önemi bulunmaktadır. NK hücrelerinin hedef hücreyi öldürüp öldürmemesi konusunda karar vermesindeki en önemli etkenlerden biri, hedef hücre yüzeyinde MHC-I reseptörü bulunup bulunmamasıdır. Normalde tüm sağlıklı hücrelerin yüzeyinde MHC-I reseptörü bulunmaktadır. Ancak NK hücreleri yüzeylerinde MHC-I bulunmayan hücreleri tanıyarak öldürmektedir. Kanser hücreleri, MHC-I reseptörlerini inhibe edip aktivitesini engellerken diğer taraftan da NK hücre reseptörlerinin ifadesini artırabilmektedir (Baxevasis vd., 2009; Delves ve Roitt, 2000; Sütü, 2019).

NK hücreleri, hücrel sitotoksiteyi sağlamaktadırlar. Hücrel sitotoksite, NK hücrelerinin hedef hücreyi doğrudan öldürme yeteneğidir. Bu öldürme mekanizması, 3 farklı şekilde gerçekleşmektedir.



Şekil 2.7. NK Hücrelerinin Tanıma ve Öldürme Mekanizmaları (Myers ve Miller, 2021)

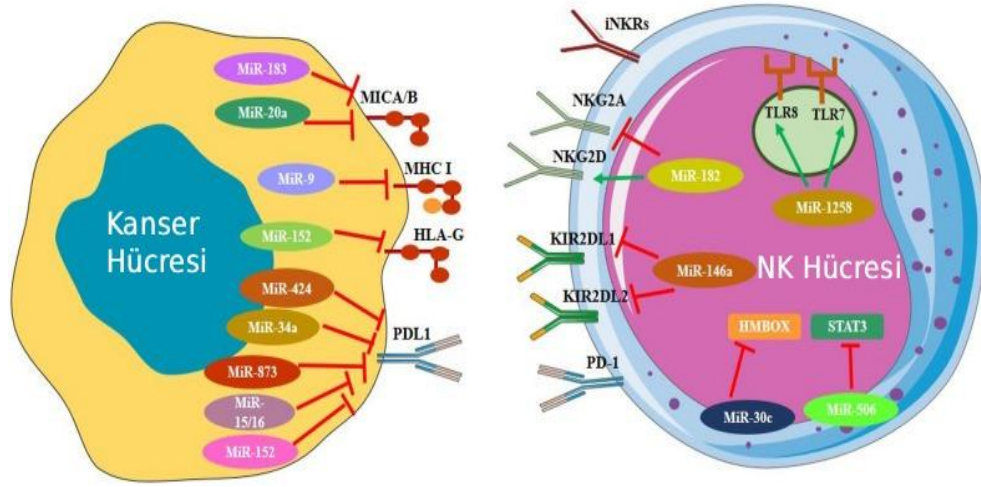
1. Perforin/Granzim Yolu: NK hücrelerinin içerisinde bulunan keseciklerde depolanan perforin, hücre dışına salınarak hedef hücre yüzeyinde por oluşturarak geçirgenliği artırmaktadır. Ardından gönderilen granzim içsel yolak ile apoptoza neden olarak, hücreyi ölüme götürmektedir (Celepli vd., 2020; Rapoport ve Anderson, 2019).

2. Fas/FasL Yolu: Fas reseptörü ve FasL ligandı adı verilen iki molekülün birleşmesi ile hedef hücreye ölüm sinyali verilmektedir. Birkaç saat içerisinde dışsal yolak ile apoptoz gerçekleşmektedir (Celepli vd., 2020; Rapoport ve Anderson, 2019).

3. Sitokin Yolu (Tümör Nekroz Faktörü (TNF) – İnterferon (IFN)): NK hücreleri, salgıladıkları sitokinler ile hedef hücrenin lizozom stabilitesini bozar. Böylece, hedef hücrenin DNA'sı parçalanır. TNF, hücre yüzeyinde bulunan spesifik reseptörlere bağlanarak aktive olur. Daha sonra sinyal iletişimi sağlanarak apoptozun dışsal yolağı tetiklenir ve hücre ölümü gerçekleştirilir (Celepli vd., 2020; Güvenç ve Güvenç, 2017; Rapoport ve Anderson, 2019).

NK hücrelerinin yüzeylerinde bulunan aktivatör ve inhibitör reseptörler de NK Hücre sitotoksitesini etkilemektedir. Bu reseptörlerin arasındaki denge NK sitotoksitesi için önemlidir (H. Kaya vd., 2022; Myers ve Miller, 2021). İnhibitörler ve aktivatörler arasında olan denge NK hücrelerinin sitotoksitesini ayarlamaktadır. NK hücreleri, hedef hücrelerle temasa geçtikten sonra eğer bu denge aktivatör yönünde kayarsa, bu durumda NK hücrelerinin sitotoksitesini artırır ve hedef hücreyi ölüme götürür. Eğer bu denge inhibitör yönünde kayarsa, bu durumda NK hücrelerinin sitotoksitesini inhibe eder (Seydel ve Aksoy, 2011).

İmmünoterapide farklı proteinler kullanılarak, bu dengenin aktivatör yönünde ilerlemesini sağlayıp, NK hücrelerinin hedef hücrelere sitotoksik etki göstermesi tetiklenebilmektedir. Son zamanlarda NK hücrelerinin sitotoksitesini artırmak için, çeşitli metotlar geliştirilmektedir. Bu metotların en önemlilerinden biri, spesifik miRNA'ların kullanılmasıdır. Yapılan çalışmalardan elde edilen verilere göre, bazı miRNA'ların NK hücrelerinin sitotoksik etkisinin artırılmasında önemli bir rol oynadığını göstermektedir (Pesce vd., 2020; Porzycki vd., 2018).



Şekil 2.8. NK ve Kanser Hücrelerinin Yüzeylerinde Bulunan Reseptörler (Charoghdozi vd., 2025)

NK hücrelerinin öldürme mekanizması, genellikle programlı bir hücre ölümü olan apoptoza dayanmaktadır.

Apoptoz

Apoptoz, sitotoksik mekanizmalar aracılığıyla hücrenin kendi kendini yok etmesi, öldürmesi durumudur. Hücreler sürekli bölünerek çoğalmaktadır ve hücre sayısının dengelenmesi için hücre ölümü gerekmektedir. Yaşlanan ve hasar gören hücreler, bağışıklık hücreleri tarafından apoptoza uğramaktadır. Vücudumuzda gerçekleşen apoptoz olayı, dokularımıza herhangi bir yan etki göstermeden gerçekleşmektedir ve bu konuda nekroz ile tamamen ayrılmaktadır. Nekroz ile hücre ölümü ise, dokuda iltihaba neden olup, çevre dokulara zarar vermektedir (Carneiro ve El-Deiry, 2020; Coşkun ve Özgür, 2011; Dunn ve Kazer, 2011; C. Kaya vd., 2015). Vücudumuzda bulunan bazı proteinler apoptozu baskımlarken, bazıları aktivasyonunu artırmaktadır.

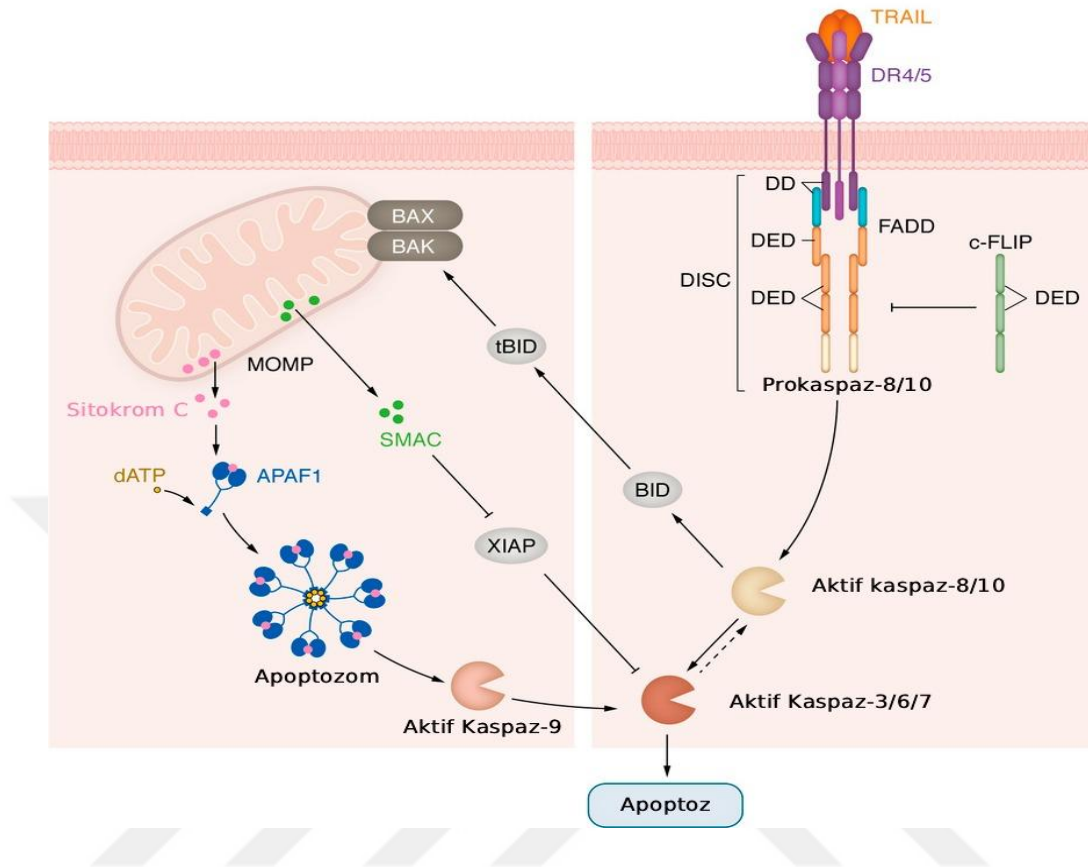
Apoptozu Baskılayan Proteinler: Bcl-2, Bcl-w, Mcl-1 gibi birçok protein.

Apoptozu Tetikleyen Proteinler: Kaspazlar, Bax, Bak, p53 gibi birçok protein (Güleş ve Eren, 2008; C. Kaya vd., 2015).

Apoptoz, içsel ve dışsal yolak olmak üzere 2 şekilde gerçekleşmektedir:

İntrinsik Yolak

Ekstrinsik Yolak



Şekil 2.9. Apoptoz İçsel ve Dışsal Yolak (Tian vd., 2025)

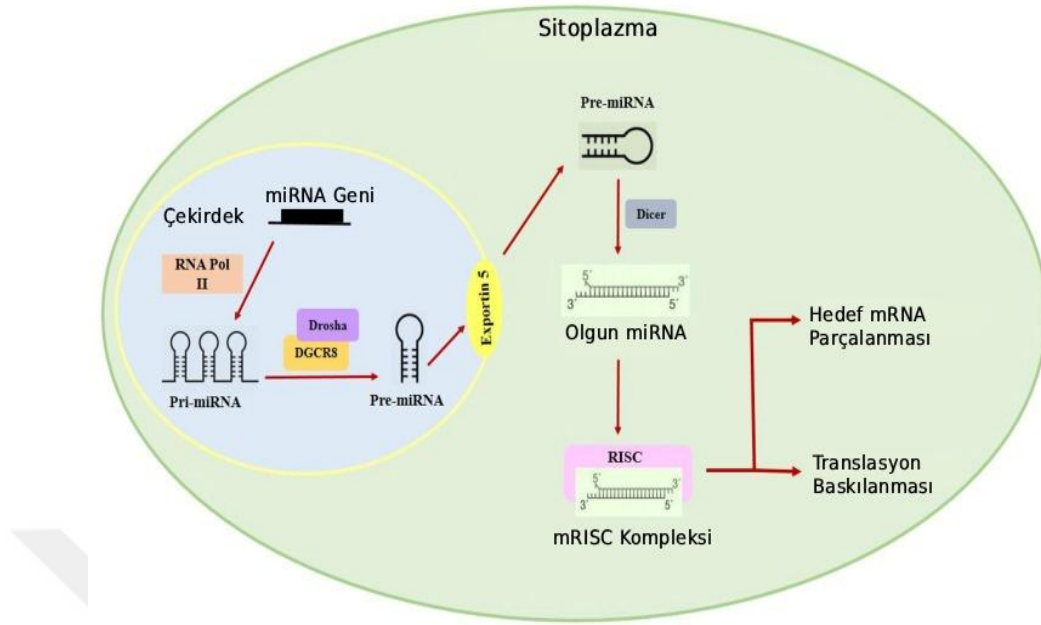
1. **İçsel (İntrinsik) Yolak:** Memeli hücrelerinde en sık kullanılan apoptoz yolağıdır. Mitokondriyal yolak olarak da adlandırılmaktadır (McArthur ve Kile, 2018). Hücrenin içsel yolak apoptozuna girip girmemesi, BCL-2 protein ailesinin dengesine bağlıdır. BCL-2 protein ailesi, pro-apoptotik ve anti-apoptotik proteinler içermektedir. Hücrede bu proteinlerin dengesi, DNA hasarı, radyasyon ve oksidatif stres gibi çeşitli faktörlere bağlı olarak pro-apoptotik tarafa kayabilir ve hücreyi apoptoza yönlendirebilmektedir (Güleş ve Eren, 2008). BCL-2 ailesine ait anti-apoptotik proteinler olan BCL-X ve BCL-2 proteinleri, pro-apoptotik olan BAX ve BAK proteinlerini inhibe etmektedir. BAX ve BAK proteinleri, mitokondri dış membranında por oluşturabilmektedir. Bu porlardan salgılanan sitokrom-c, sitoplazmada bulunan APAF-1 proteinlerine bağlanmaktadır. Bu protein, kaspaz-9 ile birleşerek “apoptozom kompleksi” oluşturmaktadır. Kaspaz-9, diğer kaspaz-9’ları aktive ettikten sonra, apoptozu başlatan son aşamadaki

kaspaz-3, kaspaz-6 ve kaspaz-7'nin aktivasyonunu tetiklemektedir. Bu kaspazlar ise, hücrenin DNA'sını fragmente edip, hücrenin büzüştürerek apoptotik cisimciklere ayrılmasına neden olmaktadır (Carneiro ve El-Deiry, 2020; Jin ve El-Deiry, 2005; Yuan ve Akey, 2013).

- 2. Dışsal (Ekstrinsik) Yolak:** Ölüm ligandlarının (FasL, TNF- α , TRAIL), hücre membranında bulunan ölüm reseptörlerine (FasR, TRAIL-R, TNF-R1) bağlanması ile gerçekleşmektedir (Kashyap vd., 2021; Tian vd., 2025). Bu reseptörler, Kaspaz-8 ve FADD (Fas associated death domain/ Fas ile ilişkilendirilmiş ölüm domaini) varlığında aktif olurlar. İnaktif halde bulunan kaspaz-8 (prokaspaz-8) FADD ile kompleks oluşturarak aktif kaspaz-8'e dönüşür. Kaspaz-8, Kaspaz-9'u uyarır ve aktifleştirir. Kaspaz-9 da son basamak olan kaspaz-3, kaspaz-6 ve kaspaz-7'yi aktifleştirerek, dışsal apoptoz yolağı ile hücre ölümünü gerçekleştirir (Güvenç ve Güvenç, 2017; Özdoğan, 2021; Zingoni vd., 2005).

2.9. miRNA'lar

mikroRNA (miRNA), 19-24 nükleotid uzunluğunda kodlamayan RNA'lardır. Gen ifadesinin düzenlenmesinde rol oynamaktadır. Çok sayıda çalışma miRNA'ların, NK hücrelerinin gelişimi, aktivasyonu, çoğalması, sitotoksitesi ve sitokin üretiminin düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Bu durum, transkripsiyonel ifadeye katılan reseptörleri veya faktörleri hedefleyerek gerçekleşmektedir (Beaulieu vd., 2013; Pesce vd., 2020; Porzycki vd., 2018). miRNA'lar, genomdaki spesifik genlerden ifade edilerek, birincil miRNA transkriptlerini (pri-miRNA'lar) oluşturmaktadır. Bu pri-miRNA'lar çekirdekdeki Drosha enzimi tarafından işlenir ve bunun sonucunda öncü miRNA'lar (pre-miRNA'lar) oluşur. Pre-miRNA'lar sitoplazmaya göç eder ve burada Dicer enzimi tarafından kesilerek 19-24 nükleotid uzunluğunda olgun miRNA'lar oluşturulur (Aydın Acar ve Yeşilot, 2018; Charoghdozi vd., 2025; Ellakwa vd., 2024).



Şekil 2.10. miRNA Sentezi ve İşlevleri

İmmünolojide çeşitli miRNA'lar gen ifadesini kontrol ederek immün hastalıkların başlangıcıyla ilişkili olan lenfositlerin etkilerini düzenleyebilmektedir. Geçtiğimiz birkaç yıldaki araştırmalar, miRNA'ların, hastalıkların erken tespiti ve terapötik hedeflenmesi için biyobelirteçler olarak potansiyele sahip olduğunu ve aynı zamanda sağlıklı ve kanserli dokularda önemli düzenleyici unsurlar olarak hareket ettiğini bildirmiştir (Beaulieu vd., 2013; Ellakwa vd., 2024). miRNA'lar'ın NK sitotoksitesine etkisi üzerine birçok araştırma yapılmıştır. Yapılan bazı çalışmalar:

Cichocki ve ark. 2011'de **miR-181a/b'nin**, NK gelişimini ve olgunlaşmasını teşvik ettiğini bulmuşlardır. miR-181a/b'nin aşırı ekspresyonu, IFN- γ üretimini artırmıştır ve hücreler arası iletişimde önemli bir rol oynayan Notch yolunu düzenleyerek NLK (NLK- Nemo Benzeri Kinaz; Notch sinyalleme sisteminin bir inhibitörüdür) seviyesini azaltmıştır. Böylece NK hücre gelişimini desteklediğini ve IFN- γ üretimini artırdığını gözlemlemişlerdir (Cichocki vd., 2011).

Bian ve ark. 2015'te **miR-152'nin**, hepatoselüler karsinom (HCC) hastalarından alınan dokularda aşağı regüle olduğunu gözlemlemişlerdir. miR-152 ekspresyonu azaldığı için, NK'yı inhibe edebilen HLA-G seviyesini artırmıştır. miR-152 ekspresyonu

arttırıldığında, HLA-G seviyesi azalmıştır. Bu da NK sitotoksitesini artırmıştır (Bian vd., 2016).

Abdelrahman ve ark. 2016'da, **miR-182'nin** NK sitotoksitesini üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Çalışmaları sonucunda, HCC hastalarının NK hücrelerinde miR-182 ekspresyonunu artırdıkça, NKG2D ve NKG2A seviyesinin de arttığını gözlemlemişlerdir. Fakat NKG2D aktive edici reseptörken, NKG2A inhibe edici reseptördür. Bu da NK sitotoksitesini hakkında net bir sonuç vermemektedir. Bunun yerine PRF-1 seviyesi kontrol edilmiştir. HCC hastalarından elde edilen NK'larda miR-182 seviyesi artırıldığı zaman, prf-1 seviyesi ile NK sitotoksitesini de artmıştır (Abdelrahman vd., 2016).

Pesce ve ark. 2018'de **miR-146a-5p**, sağlıklı insanlardan izole ettikleri NK hücrelerini incelemişlerdir. Çalışmaları sonucunda miR-146a-5p'nin, KIR ile ters ilişkili olduğunu tespit etmişlerdir. miR-146a-5p'nin ekspresyonu arttıkça KIR2DL1 ve KIR2DL2 aşağı regüle olmuştur. Bunun da NK sitotoksitesini artırdığını gözlemlemişlerdir (Pesce vd., 2020).

Su ve ark. 2019'da **miR-506'nın**, HCC hastalarının NK hücrelerinde aşağı regüle olduğunu ve STAT-3 seviyesini artırdığını gözlemlemişlerdir. Bu da kötü prognoz ile sonuçlanmaktadır. miR-506 ekspresyonu artırıldığında, STAT-3 seviyesi azalmıştır ve NK sitotoksitesini artmıştır (Su vd., 2019).

Neviani ve ark. 2019'da **miR-186'nın**, Nöroblastoma (NB) hastalarının NK hücrelerinde aşağı regüle olduğunu gözlemlemişlerdir. Bu miRNA'nın, NKG2D ve DNAM-1 ile ilişkili olduğu tespit etmişlerdir. NK'lardan elde edilen eksozomların da miR-186'yı eksprese ettiğini tespit etmişlerdir ve MYCN ile güçlendirilmiş nöroblastoma üzerindeki etkisini incelemişlerdir (Neviani vd., 2019).

Pathania ve ark. 2022'de **miR-15a'nın**, Nöroblastoma hastalarının serumunda aşağı regüle olduğunu ve bunun da PD-L1 ile ilişkili olduğu tespit etmişlerdir. miR-15a'nın ekspresyonunu artırarak, PD-L1 seviyesinin aşağı regüle olduğunu gözlemlemişlerdir. Ek olarak yüksek miR-15a ekspresyonunun, Grz-B, Prf-1 ve CD107a'yı indükleyerek NK sitotoksitesini artırdığını tespit etmişlerdir (Pathania vd., 2022).

Gong ve ark. 2012'de **miR-30c-1'nin**, NKL (NK like) hücresinde etkisini araştırmışlardır. miR-30c-1 ekspresyonu arttıkça, HMBOX1 (NK sitotoksitesini inhibe eden transkripsiyon faktörü) seviyesi azalmıştır ve bu da TNF- α seviyesini artırmıştır. Ayrıca hepatoma hücre hatları SMMC-7721 ve HepG2'ye karşı da NK sitotoksitesini artırmıştır (Gong vd., 2012)

Ma ve ark. 2016'da **miR-30c'nin** NK hücresi üzerindeki etkisini araştırmıştır. Bunun için NKL hücrelerini kullanmışlardır. Yapılan çalışmalar sonucunda, miR-30c'nin yukarı ekspresyonu, NKG2D, FasL ve CD107a seviyesini artırmıştır. Bunu doğrulamak için miR-30c transfer edilmiş NKL hücrelerinin, hepatoma hücre hattı SMMC-7721 üzerindeki etkisini kontrol etmişlerdir. HCC üzerinde de yapılan çalışmalar ile NK sitotoksitesi artmıştır. miR-30c'nin birçok kanser üzerinde baskılayıcı bir miRNA olduğu bilinmektedir (Ma vd., 2016).

Gao ve ark. 2023'te **miR-30c'nin** NK hücresi üzerindeki etkisini araştırmıştır. Akciğer kanseri hastalarının NK hücrelerinde miR-30c ekspresyonunun aşağı regüle olduğunu tespit etmişlerdir. miR-30c'nin aşırı ekspresyonu, TNF-a ve IFN-y seviyesini artırmıştır. miR-30c, GALNT7 protein seviyesini önemli ölçüde inhibe eder. GALNT7'nin inhibisyonu da PI3K/AKT yolunu inhibe ederek NK sitotoksitesini artırmaktadır (Gao vd., 2023).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan Hücre Hatları

Deneylerde kullanılan; PNT1A, PC3 ve NK-92 hücreleri, eş danışmanım MohammadReza DASTOURİ'ye ait hücrelerdir.

PNT1A: Normal Transforme Edilmiş Prostat 1A Hücreleri. PNT1A hücreleri SV40 plasmidi ile ölümsüzleştirilmiş normal prostat hücreleridir.

- “Human Normal Prostate Epithelium Imortalized with SV40., 95012614 | Sigma-Aldrich.”

PC3: Prostat Kanseri Hücreleri. PC3 hücreleri IV. seviye prostat adenokarsinomasının kemikte oluşturdu metastazdan alınmıştır.

- “PC-3- CRL-1435 | ATCC.”

NK-92: Doğal Öldürücü Hücreler.

- CRL-2407 | ATCC

3.1.2. Kullanılan Sarf Malzemeleri ve Özellikleri

Tablo 3.1. Tez çalışmasında kullanılan malzeme listesi

Kullanılan Sarf Malzemesi	Marka	Katalog Numarası
PNT1A	EACC	95012614
PC3	ATCC	CRL-1435
NK-92	ATCC	CRL-2407
Aquaguard 1	Biological Industries	01-867-1B
Aquaguard 2	Biological Industries	01-916-1E
L-glutamine	Serox	SRL-810-100
DMSO	Sigma	1.167.431.000
Trypan blue	Sigma	T8154-100ML
Trypsin-EDTA	Sartorius	03-052-1B
Recombinant Human IL-2	PeproTech, Thermo Fisher	112412 L1624
LipoFectMax	ABP Biosciences	AB220F1
TexMACS™ Medium	Miltenyi Biotec	7240500443
miRNA Mimic Negative Control	Applied Biological Materials	MCH00000
hsa-miR-30c-5p-miRNA Mimic	Applied Biological Materials	MCH01698
RNaseZAP	Sigma	R2020
Nuclease-Free Water	Promega	P1193
Poly-L Lysine	Sigma	P8920-100
PBS with Azide	ChemCruz	SC-296028
Foetal Bovine Serum (FBS)	Biological Industries	04-001-1A
T175 Flask	Sarstedt	833.912.002
Penicilin-streptomycin	Gibco	15140122
RPMI 1640	Gibco	21875034
Neubauer Improved Lam	Marienfeld Superior	0640010
DMEM High Glucose	Biowest	MS00IT1007
CCK-8	Elabscience	E-CK-A362
Lamel	Corning	CLS294875X25
DPBS	Sartorius	2122455
PBS	Sigma	P4417-100TAB
Primer antikor anti-Caspase-3	Abcam	ab13847
Primer antikor anti-Caspase-8	Elabscience	E-AB-63511
Primer antikor anti-Caspase-9	Abcam	ab202068
Primer antikor anti-BAX	Abcam	ab32503
Sekonder antikor FITC	Invitrogen	656111
7-AAD	Molecular Probes	A01310
Kapatma medyası	Abcam	ab104139
50 mL falkon tüp	Sarstedt	62.547.254
15 mL falkon tüp	Sarstedt	62.554.502
Parafilm	Merck	P7543

Tablo 3.1.(devam) Tez çalışmasında kullanılan malzeme listesi

1000µL pipet ucu	Kirgen	KG5333
T75 flask	Sarstedt	833.911.002
100µL pipet ucu	Kirgen	KG5431
10µL pipet ucu	Kirgen	KG5131
10 mL serolojik	SPL	SPL-910-10
Dondurma kutusu	Corning CoolCell®	432138
1.5mL Eppendorf tüp	Eppendorf	30123611
6 kuyucuklu plaka	SPL	30006
96 kuyucuklu plaka	SPL	30096
12 mm yuvarlak coverslip	Lasec	R166.05
Oje	Pastel	
Etanol	Isolab	64-17-5

3.1.3. Kullanılan Alet-Cihaz ve Özellikleri

Tablo 3.2. Tez çalışmasında kullanılan cihazlar ve markaları

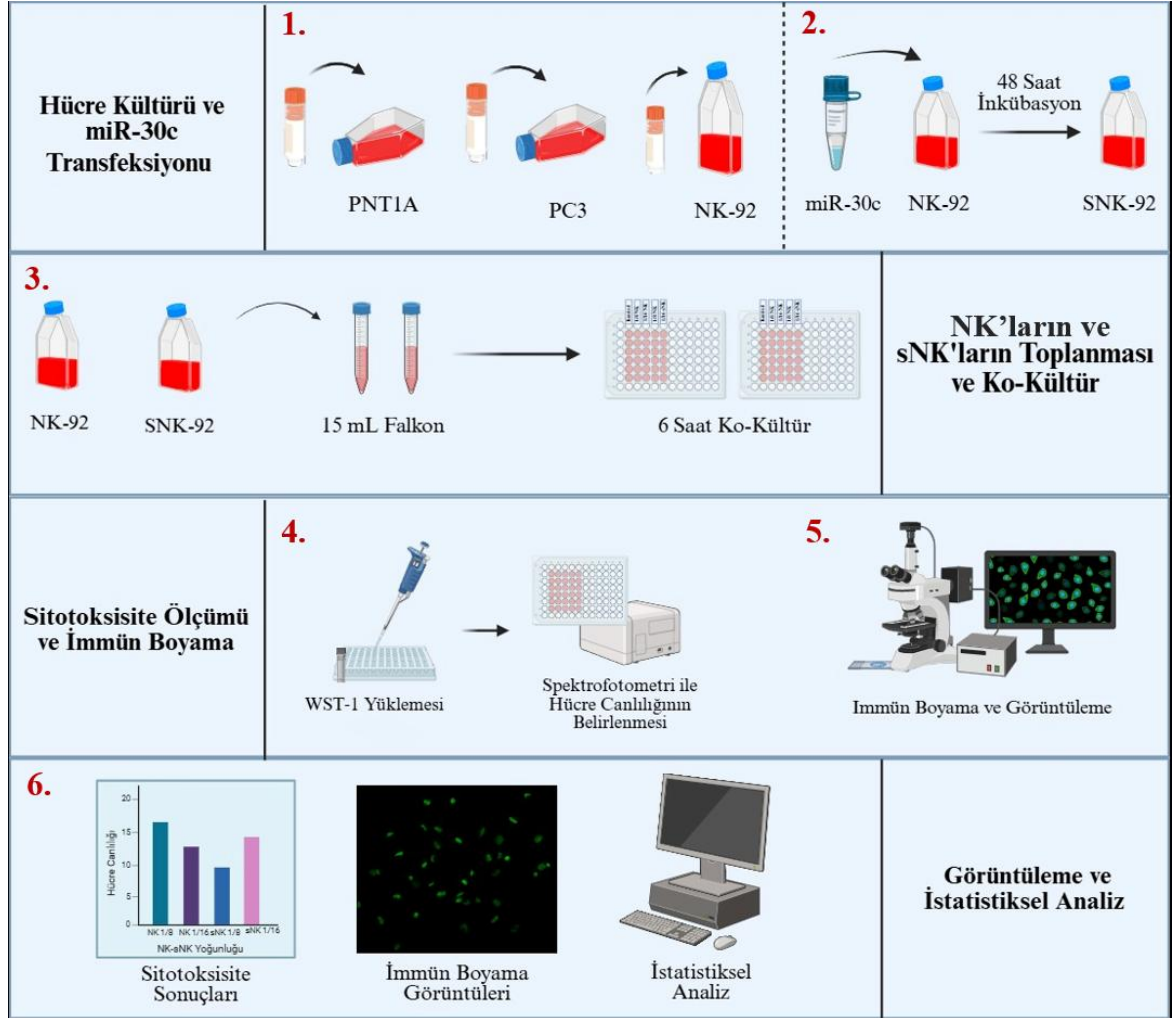
Cihaz	Marka
Laminer kabin	Holten
İnkübatör	Panosonic
Su banyosu	Labline Aquabath
Otomatik pipet	Gilson
Otoklav	Nüve
Distile su cihazı	ELGA
Santrifüj	Beckman Coulter
İnvert optik mikroskop	Leica
-80 Derin Dondurucu	Panosonic
-20 Derin Dondurucu	Sanyo
+4 Buzdolabı	Sanyo
Azot tankıT	Statebourne
Buz makinesi	Scotsman
Nanodrop	Nanodrop
Jel görüntüleme sistemi	SYNGENE
Spektrofotometre	Tecan
Tartım cihazı	Shimadzu
Vorteks	IKA

Tablo.3.2.(devam) Tez çalışmasında kullanılan cihazlar ve markaları

Soğutmalı santrifüj	Hettich
Jel yürütme tankı	Scie-Plas
Güç kaynağı	Labnet
Eppendorf ısıtıcısı	Major Science
Mikrodalga	Arçelik
Fluoresan mikroskop	Zeiss

Bu tez kapsamında Ankara Medipol Üniversitesi Tıp Fakültesi bünyesinde bulunan cihazlar kullanılmıştır.

3.2. Yöntem



Şekil 3.1. Tez İş Akış Şeması

3.2.1. Hücre Kültürü Medyum Hazırlama

Tablo 3.3. Hücre Medyumları

Hücre Hatları	Kültür Ortamı
NK-92	➤ TexMACS Medyum ➤ %20 FBS ➤ %1 Penisilin/Streptomisin ➤ %1 L-Glutamin ➤ 200 IU/mL IL-2
PC3	➤ DMEM High Glucose Medyum ➤ %10 FBS ➤ %1 Penisilin/Streptomisin ➤ %1 L-Glutamin
PNT1A	➤ DMEM High Glucose Medyum ➤ %10 FBS ➤ %1 Penisilin/Streptomisin ➤ %1 L-Glutamin

- PNT1A Normal Prostat Hücreleri ve PC3 Prostat Kanseri Hücreleri için aynı medyum “DMEM High Glucose” kullanıldı.
- 50 mL’lik falkon tüplere, tablo 3.3’te belirlenen oranlarda karıştırılarak hazırlandı.
- Falkon tüplerin kapağı kapatılıp, parafilm ile etrafı sarıldı. Kullanmak için su banyosunda ısıtıldı. Kullanıldıktan sonra +4°C buzdolabına konuldu.
- NK-92 hücre medyumunu 50 mL’lik tüplere, tablo 3.3’te belirlenen oranlarda karıştırılarak hazırlandı.
- +4°C ve -20°C dolapta olan hücre kültürü malzemeleri çıkarıldı ve alkollenerek hücre kültürüne alındı.

- Malzemeler su banyosunda çözdürüldü. Ardından laminar kabine alınarak medyum hazırlandı.

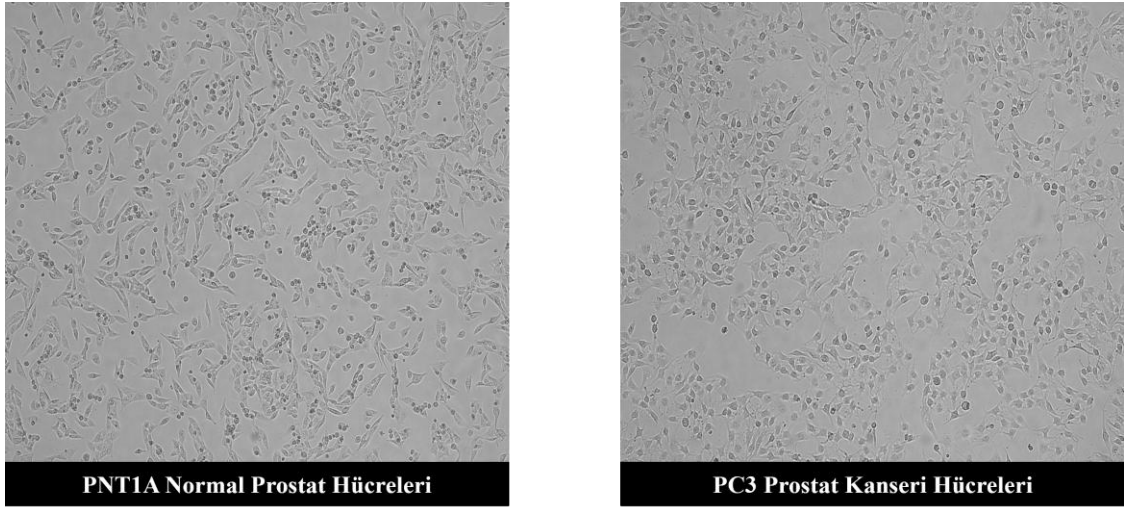
Yapılan tüm işlemler laminar kabin içerisinde steril bir ortamda gerçekleştirildi.

3.2.2. Hücre Çözdürme ve Hücre kültürü

- Öncelikle su banyosu 37°C'ye ayarlandı ve istenilen ısıya geldikten sonra, hücreler azot tankından çıkarıldı.
- Hücrelerin bulunduğu kriyovial tüpler hızlı bir şekilde 37°C su banyosunda 1-2 dakikada hafifçe sürekli hareket ettirerek kontrollü bir şekilde çözdürüldü.
- Daha sonra, hücrelerin bulunduğu tüpler alkollenerek laminar kabine alındı.
- Hücreler 1000 µL pipet ile çekilerek, 15 ml'lik steril bir falkon tüpe aktarıldı.
- Hücrelerin üzerine tüpün duvarına temas ettirerek, çok yavaş ve hassas bir şekilde medyum eklendi.
- Medyum eklendikten sonra tüpün ağzı kapatıldı ve hücrelerle beraber bulunan DMSO'yu uzaklaştırmak için 200xg'de 7 dk boyunca santrifüj edildi.
- Santrifüjden sonra tüp, hassas ve dikkatli alkollenerek kabinin içine alındı.
- Hücreler T25 ve T75 flasklara ekildi.

3.2.3. PNT1A ve PC3 Hücre Kültürü

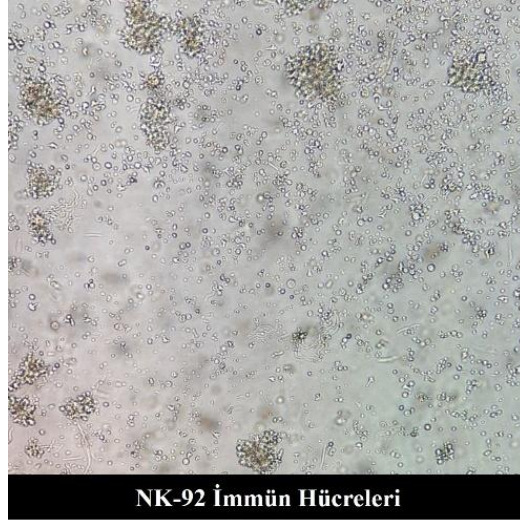
- Santrifüden sonra tüpün içindeki süpernatant, serolojik pipet ile dikkatli bir şekilde pelleti kaldırmadan çekildi ve atıldı.
- Tüpün dibinde kalan pellet üzerine medyum eklendi ve pipetaj yaparak homojenize edildi.
- Homojen hale gelen hücrelerin üzerine medyum eklendi.
- Ekim yapılacak T25 ve T75 flaskların içine de bir miktar medyum eklendi.
- Hücreler serolojik pipetle çekilerek T25 flaska ekimi yapıldı. Hücreler ekildikten sonra mikroskopta incelendi ve hücrelerin temiz olduğu ve sağlıklı bir şekilde tutunmaya başladıkları gözlemlendi.
- Ardından 37°C %5 CO₂'de inkübe edildi ve düzenli bir şekilde her gün kontrol edildi. Yaklaşık %80 konfluensiye ulaştığı zaman yeni flasklara pasaj yapıldı.



Şekil 3.2. PNT1A ve PC3 Hücrelerinin Mikroskop Görüntüleri (10X)

3.2.4. NK-92 Hücre Kültürü

- Tüpün içindeki süpernatant, serolojik pipet ile dikkatli bir şekilde pelleti kaldırmadan çekildi ve atıldı.
- Tüpün dibinde kalan pellet üzerine NK-92 hücreleri için hazırlanan medyum eklendi ve pipetaj yaparak homojenize edildi.
- Homojen hale gelen hücrelerin üzerine medyum eklendi.
- Ekim yapılacak T25 flask içine de 15 ml medyum eklendi. NK-92 hücreleri süspanse hücreler oldukları için, flasklara dikey bir şekilde ekim yapılmaktadır.
- Hücreler T25 flaska ekildi. Hücreler ekildikten sonra mikroskopta incelendi ve hücrelerin temiz olduğu ve sağlıklı bir şekilde çoğalmaya başladıkları gözlemlendi.
- 37°C %5 CO₂'de inkübe edildi ve düzenli bir şekilde her gün kontrol edildi.
- Hücreler kümeleşmeye başladıklarında pipetaj yapılarak, tek hücre haline getirildi.
- Hücreler çok yoğun olduklarında ve gerektiğinde taze medyum eklendi ve yeni T25 flasklara pasajlandı.



Şekil 3.3. NK-92 Hücrelerinin Mikroskop Görüntüsü (40X)

3.2.5. PNT1A ve PC3 Hücrelerinin Pasajlanması

- Öncelikle hücrenin medyumu çekildi ve atıldı.
- Flask içinde kalan kalıntıları, ölü ve yüzen hücreleri temizlemek için 2 defa kalsiyum ve magnezyum içeren PBS ile yıkama yapıldı ve PBS atıldı.
- Ardından hücreleri yüzeyden kaldırmak için 2 ml tripsin eklendi ve 37°C %5 CO₂'de 1.5 dk boyunca inkübe edildi.
- İnkübasyondan sonra hücreler, hızlı bir şekilde mikroskopla kontrol edildi ve hücrelerin kalktığı gözlemlendi.
- Tripsini inhibe etmek için, tripsinin 2 katı kadar medyum eklendi ve serolojik pipetle çekilerek 15 ml'lik falkon tüpe aktarıldı.
- Hücrelerin dibe çökmesi için, 200xg'de 7 dk boyunca santrifüj edildi.
- Santrifüj sonrası hücrelerin kalkmaması için, tüp hassas bir şekilde taşındı ve alkollenerek kabine alındı.
- Hücreler dibe çöktüğü için, süpernatant dikkatli bir şekilde çekildi ve atıldı.
- Dipte kalan pellet üzerine taze medyum eklendi ve hücreleri süspanse hale getirmek için pipetaj yapıldı.
- Süspanse ve tek hücre haline getirilen hücreler, serolojik pipet ile çekildi ve yeni flasklara ekim yapılarak pasajlama yapıldı.

- Stok için ve deneyin ilerleyen aşamalarında herhangi bir sorunla karşılaşıldığı zaman tekrar en başa dönmek yerine kaldığımız pasajdan devam edebilmek için, her pasajda hücreler donduruldu (back up alındı).

3.2.6. NK-92 Hücrelerinin Pasajlanması

- NK-92 hücreleri yeterli konfluensiye (yaklaşık %70-80 yoğunluğa) ulaştığı zaman, tüm medyum toplandı.
- Hücreler 50 ml'lik falkon tüplere aktarıldı. (NK hücreleri süspanse hücreler oldukları için yüzeye yapışıp tutunmazlar. Bu nedenle de tripsin kullanmaya gerek yoktur.)
- Daha sonra 400xg'de 7 dk boyunca santrifüj yapıldı.
- Santrifüj sonrası süpernatant çekildi ve atıldı.
- Dipte kalan pellet üzerine bir miktar taze medyum eklendi. Tüpte bulunan hücreler toplanarak, T75 flaska ekim yapıldı.
- Hücre ekimi yapıldıktan sonra hücre yoğunluğu kontrol etmek için mikroskopta gözlemlendi.
- Sağlıklı durumda olan ve ideal yoğunlukta ekilmiş olan hücreler, 37°C %5 CO₂ inkübatörde inkübe edildi.

3.2.7. PNT1A ve PC3 Hücrelerinin Dondurulması

- 15 ml'lik falkon tüpe Dondurma-Freezing Medyum hazırlandı. (Freezing medyum, %20 DMSO, %40 FBS ve %40 DMEM içermektedir. Hücrenin dondurulması için özel hazırlanmaktadır.)
- Önce flask içindeki hücrelerin medyumunu, serolojik pipetle çekilerek atıldı.
- Kalsiyum ve magnezyum içeren PBS ile yıkama yapıldı ve yıkama yapıldıktan sonra PBS de atıldı.
- Daha sonra flaska tutunmuş olan hücreleri yüzeyden kaldırmak için tripsin eklendi ve flaskın ağzı kapatılarak, 37°C %5 CO₂'de 1.5 dk boyunca inkübe edildi.
- İnkübasyon sonrası mikroskop ile inceleme yapılarak, tüm hücrelerin yüzeyden kalktığı gözlemlendi.

- Tripsini inhibe etmek için 2 katı kadar medyum eklendi ve pipetaj yaptıktan sonra, serolojik pipetle hücreler çekilerek 15 ml'lik falkon tüpe aktarıldı.
- 200xg'de 7 dk boyunca santrifüj edildi. Santrifüjden sonra süpernatant çekilerek atıldı.
- Pelletin üzerine pipet ile 750 µL medyum eklendi ve pipetaj yaparak hücre süspanse hale getirildi.
- Falkon tüpte süspanse hale getirilen hücreler çekilerek, Cooler üzerinde bulunan 2 ml'lik kriyoviallere aktarıldı.
- Hücrelerin üzerine, damla damla çok hassas ve kontrollü bir şekilde 750 µL freezing medyum eklendi.
- Freezing medyum eklendikten sonra, kriyoviallerin ağzı kapatılarak dakikada 1°C soğuma sağlayan CoolCell'e yerleştirildi.
- Son olarak CoolCell 1 gün boyunca -80°C'de bekletildikten sonra -196°C azot tankına yerleştirildi.

3.2.8. NK-92 Hücrelerinin Dondurulması

- Flasklarda bulunan hücreler serolojik pipetle çekilerek toplandı ve 50 ml'lik falkon tüplere aktarıldı.
- 400 xg'de 7 dk boyunca santrifüj edildi. Santrifüjden sonra süpernatant çekilerek atıldı.
- Pellet üzerine pipet ile 750 µL medyum eklendi ve pipetaj yaparak hücre süspanse hale getirildi.
- Falkon tüpte süspanse hale getirilen hücreler çekilerek, Cooler üzerinde bulunan 2 ml'lik kriyoviallere aktarıldı.
- Hücrelerin üzerine, damla damla çok hassas bir şekilde 750 µL freezing medyum eklendi.
- Freezing medyum eklendikten sonra, kriyoviallerin ağzı kapatılarak CoolCell'e yerleştirildi.
- Son olarak CoolCell 1 gün boyunca -80°C'de bekletildikten sonra -196°C azot tankına yerleştirildi.

3.2.9. Hücre Sayımı

- Hücre sayımı, halen standart hücre sayım yöntemi olarak kabul edilen Tripan Blue ile yapıldı.
- Bu metod Tripan Blue'nun membranı hasarlanmış hücrelere girebilme prensibine dayanmaktadır.
- Ölü hücrelerin membranları hasarlı olduğu için Tripan Blue bu hücrelerin içine girip onları boyayabilirken canlı hücrelerin membranını aşamaz (Piccinini vd., 2017).
- Bir eppendorfta 1:1 oranda (50 µL hücre, 50 µL boya) hücre ve boya karıştırıldı.
- Bu karışımdan her kuyucuğa 10 µL olacak şekilde Neubauer New lamına yükleme yapıldı.
- 40X'te yapılan sayımda, canlı hücreler lam üzerinde parlak gözükmürken ölü hücreler içine boya nüfuz ettiği için mavi gözükmemektedir.
- Lamdaki 16 karelik 5 sayım alanında bulunan canlı hücrelerin aritmetik ortalaması alınarak ve 3 sayım tekrarı yapılarak sayım doğrultuldu.
- Elde edilen sayımların sonucunda ortalama hücre sayısı belirtilen formüle yerleştirildi ve 1 mL süspansiyon içerisinde kaç hücre olduğu hesaplandı.

$$\frac{\text{Hücre}}{\text{mL}} = \text{Hücre sayım ortalaması} \times 10^4 \times 2 \text{ (df)}$$

$$df = \text{Dilüsyon Faktörü}$$

3.2.10. miR-30c Transfeksiyonu

- NK-92 hücre hattına, miR-30c'nin ürün protokolüne uygun şekilde transfeksiyon gerçekleştirildi.
- Hücre transfeksiyonu için LipoFectMax kimyasal aracılığı ile gerçekleştirildi.

Transfeksiyon Öncesi Hazırlık: Liyofilize haldeki 2,5 nmol miR-30c mimik, 25 uL ddH₂O'da çözündürüldükten sonra 100 µM ana stok elde edildi.

- Ardından 1 ml'lik 1 µM ara stok oluşturuldu.
- Ana stoktan kalan miktar ve oluşturulan ara stoktan kalan miktarlar, steril PCR tüplerine aliquatlanarak -20°C'de saklandı.

- Ürün protokolüne uygun bir şekilde, ihtiyacımız olanı kadar önce A solüsyonu (miR-30c mimik+ FBS ve antibiyotik içermeyen medyum) hazırlandı.
- Ardından B solüsyonu (Lipofectamine + FBS ve antibiyotik içermeyen medyum) hazırlandı.
- Bu iki solüsyon ayrı ayrı 5'er dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra birbirine karıştırıldı ve 20 dk oda sıcaklığında inkübe edildi.
- Logaritmik büyüme fazındaki 16×10^6 NK-92 hücresi toplandı. Transfeksiyon verimliliğini optimize etmek amacıyla, işlem sırasında antibiyotik ve Fetal Bovine Serum (FBS) içermeyen medyum kullanıldı.
- Daha önceden kültür edilen NK-92 hücreleri sayıldı ve T75 flasklara 32 mL'de 16×10^6 hücre olacak şekilde ekim yapıldı.
- Ardından bu hücreler hazırlanan miR-30c mimik solüsyonu (miR-30c mix) ile inkübe edildi.

İnkübasyon Süreci: 16×10^6 NK-92 hücreleri, hazırlanan miR-30c mimik solüsyonu ile 37°C %5 CO_2 içeren inkübatörde 6 saat inkübe edildi.

Hücre Dışı miRNA'ların Uzaklaştırılması: 6 saatlik inkübasyondan sonra hücre içine girmeyen miR-30c'leri uzaklaştırmak için, $200 \times \text{g}$ 'de santrifüj edildi.

- Santrifüj sonrası süpernatant dikkatli bir şekilde uzaklaştırıldı ve hücre içine girmeyen miR-30c'leri tamamen uzaklaştırmak için pellet PBS ile süspanse edildi. Hücreler tekrar santrifüj edildi.
- Santrifüj sonrası süpernatant atıldı ve pellet medyum ile süspanse edildi.
- Süspanse edilen hücreler yeni flasklara ekildi ve 48 saat inkübasyona bırakıldı.
- Bu aşamada "sNK-92" hücreleri elde edildi.

3.2.11. Transfeksiyon Sonrası İşlem

- Her iki transfeksiyon grubu için, 6 saat sonra hücre süspansiyonu toplanarak $200 \times \text{g}$ 'de 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatant uzaklaştırıldı.
- Hücreler taze TexMACS complete medyumda resüspanse edildi.
- Ardından 48 saat boyunca inkübe edildi.
- 24 saat sonra PNT1A ve PC3 hücreleri 96 kuyucuklu plakalara ekildi.

3.2.12. Prostat Hücrelerinin NK-92 / sNK-92 Hücreleri ile Ko-kültür

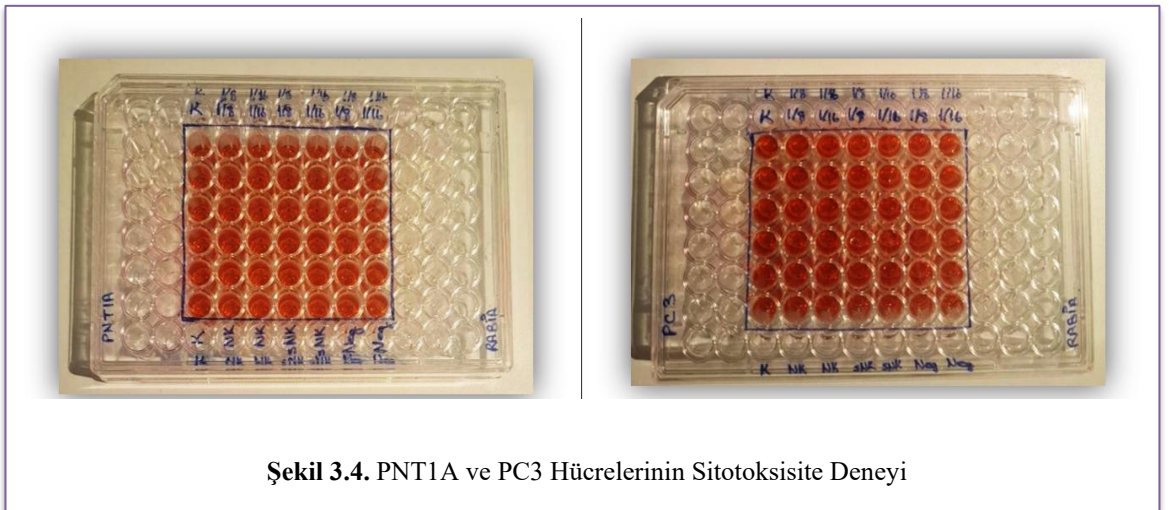
- Ko-kültür deneyleri, NK hücrelerinin prostat hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisini değerlendirmek amacıyla yapıldı.
- Ko-kültür deneyleri sitotoksisite deneyleri için 96 kuyucuklu plakalarda gerçekleştirildi.
- PC3 ve PNT1A hücreleri için ayrı plakalar kullanıldı, her grup için 6 teknik tekrar yapıldı.
- Her grup için ayrı ayrı 15 mL'lik tüplerde belirlenen oranda hücre içerecek şekilde NK-92 ve sNK-92 hücreleri hazırlandı.
- Planlanan dizayna göre, önce hücre sayımı yapıldı.
- Prostat Hücreleri yeterli konfluensiye ulaştıysa, 96 Well'lere ekim yapıldı.
- Ardından 96 kuyucuklu plakaların her kuyucuğuna 100 µL içinde 5 bin hücre olacak şekilde hücre ekimi yapıldı.
- Her kuyucuğa 100 µL prostat hücreleri ekildi.
- Daha sonra her gruba uygun olacak şekilde üzerine 100 µL NK/sNK hücreleri ekildi.
- Hücreler, 37°C, %5 CO₂ inkübatörde 6 saat ko-kültür edildi.

Deney grupları şu şekilde oluşturuldu:

1. Kontrol (sadece prostat hücresi)
 2. Prostat hücresi (PNT1A veya PC3) + NK-92 (1:8 oranı)
 3. Prostat hücresi (PNT1A veya PC3) + NK-92 (1:16 oranı)
 4. Prostat hücresi (PNT1A veya PC3) + sNK-92 (1:8 oranı)
 5. Prostat hücresi (PNT1A veya PC3) + sNK-92 (1:16 oranı)
 6. Prostat hücresi (PNT1A veya PC3) + Negatif Kontrol NK-92 (1:16 oranı)
- İmmün boyama analizi için, 24 kuyucuklu plakalar kullanıldı.
 - İmmün boyama analizinde, sitotoksisite analizinden elde edilen sonuçlara göre en verimli sonucu veren NK-92 ve sNK-92 hücre oranı kullanıldı.

3.2.13. Sitotoksosite Deneyi

- Sitotoksik deneyleri her hücre hattı için 7 grup ve 6 teknik tekrar şeklinde gerçekleştirildi. Hedef ve efektör hücreler için, 1:8 ve 1:16 (Hedef:H: Prostat Hücreleri, / Efektör:E: NK-92 Hücreleri) oranları kullanıldı.
- Öncelikle PNT1A ve PC3 hücreleri için hücre sayımı yapıldı. Ardından 96 kuyucuklu plakanın her kuyucuğuna 100 uL 5×10^3 Prostat hücreleri ekildi.
- %5 CO₂ içeren 37°C inkübatörde 24 saat boyunca inkübe edildi.
- 24 saat sonra, kültür edilmiş NK-92 ve sNK-92 hücreleri santrifüjlendi.
- Süpernatant atıldı ve pellet, 1:1 oranında hazırlanan ortak medyunda (DMEM:TexMacs) süspanse edildi.
- Ardından 100 uL NK-92 ve sNK-92 hücreleri prostat hücreleri ile %5 CO₂ içeren 37°C inkübatörde 6 saat boyunca, 1:8 ve 1:16 oranında birlikte kültür edildi.
- 6 saat sonra, kuyucuklardaki NK-92 ve sNK-92 hücrelerini içeren medyum çekilerek atıldı ve kuyucuklar PBS ile yıkandı.
- Kuyucuklardaki hücrelerin üzerine tekrar 100 uL taze medyum eklendi.
- Son olarak her kuyucuğa 10 µL CCK-8 (Cell Counting Kit- Hücre Sayma Kiti) (Elabscience) eklendi ve %5 CO₂ içeren 37°C inkübatörde 4 saat boyunca inkübe edildi.
- Daha sonra, her hücre hattı için spektrofotometrede (Tecan Infinite 200 PRO) 450 nm'de okumalar alındı. Değerler bir Microsoft Excel dosyasına aktarılarak analiz için kaydedildi.



Şekil 3.4. PNT1A ve PC3 Hücrelerinin Sitotoksosite Deneyi

3.2.14. İmmün Boyama Deneyi

- Sitotoksosite deneylerinde sNK-92 1:16 oranda daha fazla sitotoksik etki gösterdiği için İmmün boyama deneylerinde de 1:16 oranı kullanıldı.
- Her hücre tipi için her protein grubu 3 tekrarlı şekilde yapıldı.
- Öncelikle 24 well plate'in her kuyucuğuna $3,3 \times 10^4$ olacak şekilde PNT1A ve PC3 hücreleri ekildi ve %5 CO₂ içeren 37°C inkübatörde 24 saat boyunca inkübe edildi.
- 24 saat sonra her kuyucuktaki medyum uzaklaştırıldı ve PBS ile yıkama yapıldı. Prostat hücreleri, NK-92 ve sNK-92 hücreleri 1:16 oranında, ortak medyumda (1:1) %5 CO₂ içeren 37°C inkübatörde 6 saat boyunca ko-kültür edildi.
- 6 saat sonra, medyum uzaklaştırıldı ve PBS ile 2 defa yıkama yapıldı. Ardından her kuyucuğa 200 µL %3,5 PFA (Sigma, 158127) eklendi ve oda sıcaklığında 25 dk inkübe edildi.
- İnkübasyondan sonra PFA uzaklaştırıldı ve hücreler, PBS ile 3 defa yıkandı.
- Her kuyucuğa PBS Azid eklendi ve plate'in etrafı parafilm ile kapatılarak, immün boyama yapana kadar +4°C'de saklandı.
- Deneyde kullanılacak primer antikolar, optimize konsantrasyona göre hazırlandı.
- Kaspaz-3 antikoru 1/100, kaspaz-8 antikoru 1/200, kaspaz-9 antikoru 1/300 ve BAX antikoru 1/250 oranlarında sulandırıldı.
- Coverslipler, hücreler yukarıda olacak şekilde pens ile çıkarıldı ve PBS ile 3 defa yıkama yapıldı.
- Fazla PBS bir peçeteye dokundurularak alındı ve coverslipler, cam bir petrinin içerisine yerleştirilmiş parafilm üzerine konuldu.
- Petrinin içerisine, coversliplerin inkübasyon aşamasında kurumasını engellemek için ddH₂O ile ıslatılmış bir peçete iyice kıvrılarak petrinin kenarına doğru yerleştirildi.
- Coverslip üzerine, primer antikordan 10 µL eklendi ve plakanın etrafı parafilm ile kapatıldıktan sonra 4°C'de 24 saat inkübe edildi.
- İnkübasyon sonrasında coverslip tekrar 3 defa PBS'e batırılarak yıkandı ve kurutulup tekrar petri üzerine alındı.
- Bu aşamada loş ışıkta çalışıldı. Coversliplerin üzerine, 10 µL Floresein İzotiyosiyanat (FITC) sekonder antikor eklendi.

- Plakanın etrafı parafilm ve alüminyum folyo ile kapatıldıktan sonra 37 °C’de 2 saat inkübe edildi.
- Ardından, coverslip 3 defa PBS’te yıkandı, fazla su alındı ve coverslip petri üzerine tekrar alındı.
- Çekirdekleri boyamak için, coverslip üzerine 10 µL 7 aminoaktinomis-D çekirdek boyası (7-AAD) (1/100 sulandırılmış) eklendi.
- Plakanın etrafı parafilm ve alüminyum folyo ile kapatıldıktan sonra 37 °C’de 40 dk. inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında, coverslip PBS’e batırılarak yıkandı.
- Lamel üzerine, 4 µL kapatma medyumunu konuldu ve coverslipte hücrelerin bulunduğu taraf medyaya gelecek şekilde kapatıldı.
- Coversliplerin etrafı şeffaf oje ile kapatıldı.
- Oje kuruduktan sonra, görüntüleme yapılana kadar, hiç ışık almayacak şekilde kapalı olan slide klasörü olarak adlandırılan karton bir deftere yerleştirildi.
- Etrafı alüminyum folyo ile sarıldı ve -20 °C’de saklandı.
- Görüntüleme için örnekler önceden çıkarıldı ve ısındıktan sonra floresan mikroskop ile 40X’te görüntülendi. Elde edilen görüntüler ImageJ programı ile analiz edildi.

3.2.15. İstatistiksel Analiz

- Sitotoksisite çalışmaları, Completely Randomized Design (CRD) prensiplerine uygun olarak 6 ana grup ve her grupta 6 teknik tekrar bulunacak şekilde planlandı.
- Grup içi örneklem sayısının belirlenmesinde, klasik istatistiksel hesaplama yöntemlerinin yanı sıra testin gücü de temel bir kriter olarak dikkate alındı.
- Deneyler sonucunda elde edilen kantitatif verilerin istatistiksel değerlendirmeleri GraphPad Prism 9 (GraphPad Software, USA) yazılımı kullanılarak gerçekleştirildi.
- Verilerin normal dağılım sergileyip sergilemediği Shapiro-Wilk ve Kolmogorov-Smirnov testleri ile analiz edildi; normal dağılım gösteren verilerin karşılaştırılmasında parametrik bir yöntem olan Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) tercih edildi.

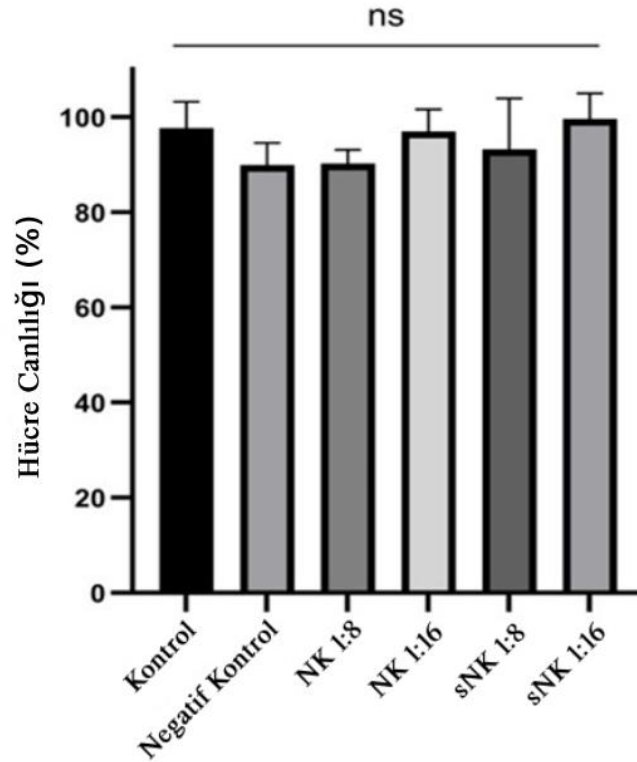
- İki ve üç boyutlu test düzeneklerinden elde edilen kantitatif verilerin istatistiksel analizlerinde ise yine Shapiro-Wilk ve Kolmogorov-Smirnov normallik testlerini takiben, normal dağılım gösteren gruplar için parametrik t-testi yöntemi uygulandı.
- Tüm istatistiksel değerlendirmelerde $p < 0.05$ değeri anlamlılık eşiği olarak kabul edilmiştir.



4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

4.1. Sitotoksik Assay Sonuçları

4.1.1. NK-92 ve sNK-92 Hücrelerinin PNT1A Hücreleri Üzerindeki Sitotoksik Etkisi

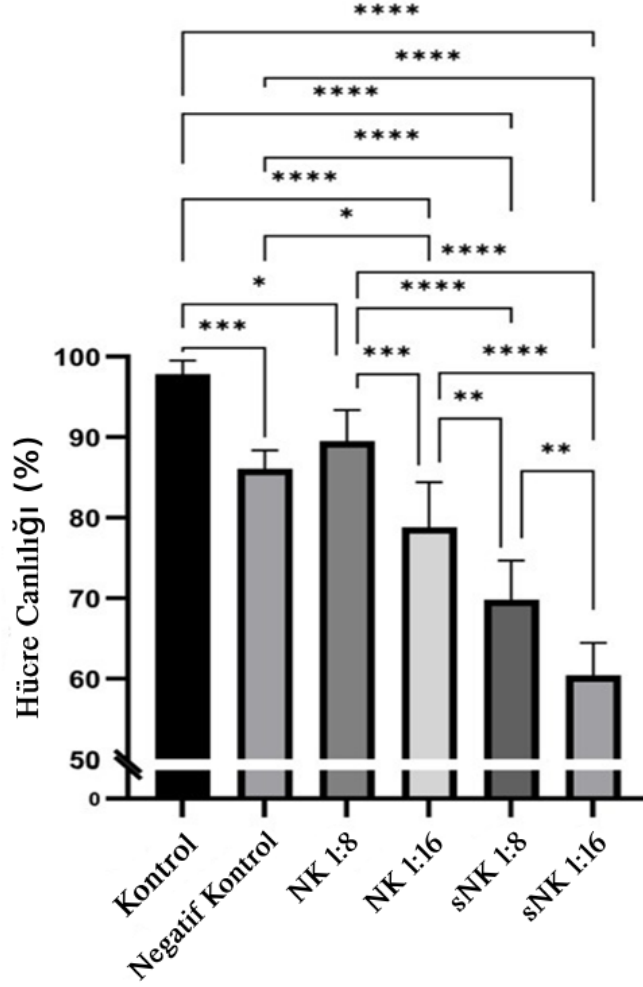


Şekil 4.1. NK-92 ve sNK-92 Hücrelerinin PNT1A Normal Prostat Hücreleri Üzerindeki Sitotoksik Etkisi.

(*p <0.05; **p <0.01; ***p <0.001; ****p <0.0001 ns: istatistiksel olarak anlamlı değil)

NK-92 ve sNK-92 hücrelerinin, PNT1A normal prostat hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisini belirlemek amacıyla CCK-8 testi yapılmıştır. Öncelikle PNT1A prostat hücreleri, 1:8, 1:16 E:H olacak şekilde NK-92 ve sNK-92 hücreleri ile 6 saat ko-kültür edilmiştir. Şekil 4.1.'de görüldüğü üzere, 6 saatlik inkübasyon sonunda tüm deney gruplarında (NK 1:8, 1:16 ve sNK 1:8, 1:16) hücre canlılığı %90'ın üzerinde korunmuştur. Ayrıca kontrol grubu ile kıyaslandığında, istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir.

4.1.2. NK-92 ve sNK-92 Hücrelerinin PC3 Hücreleri Üzerindeki Sitotoksik Etkisi



Şekil 4.2. NK-92 ve sNK-92 Hücrelerinin PC3 Prostat Kanseri Hücreleri Üzerindeki Sitotoksik Etkisi.

(*p < 0.05; **p < 0.01; ***p < 0.001; ****p < 0.0001 ns: istatistiksel olarak anlamlı değil)

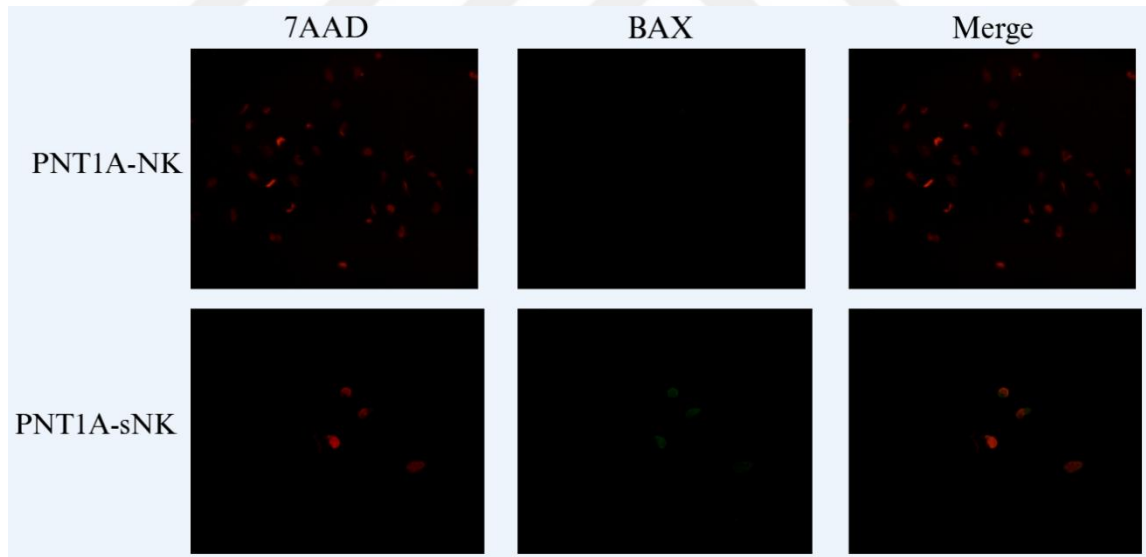
NK-92 ve sNK-92 hücrelerinin, PC3 prostat kanseri hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisini belirlemek amacıyla CCK-8 testi yapılmıştır. Öncelikle PC3 prostat kanseri hücreleri, 1:8, 1:16 E:H olacak şekilde NK-92 ve sNK-92 hücreleri ile 6 saat ko-kültür edilmiştir. Sitotoksikite analizlerinde, NK-92 hücrelerine kıyasla sNK-92

hücrelerinin PC3 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisinin belirgin düzeyde yüksek olduğu gözlemlenmiştir.

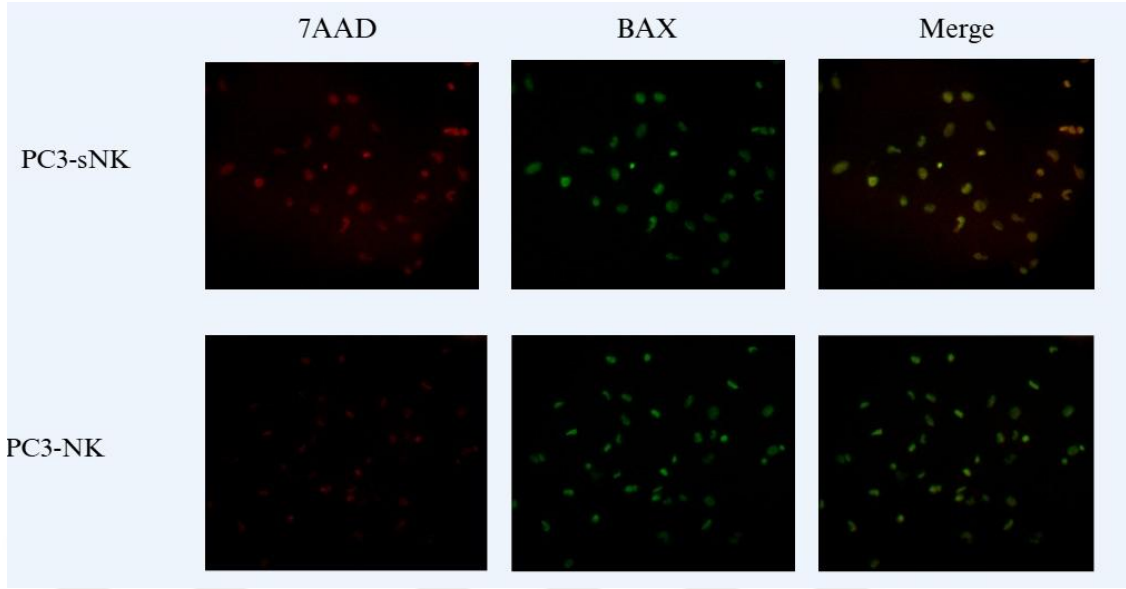
Her iki efektör hücre tipi için de E/T oranı arttıkça sitotoksitenin arttığı görülmektedir. 1/8 oranından 1/16 oranına geçişte canlılık kaybı istatistiksel olarak daha anlamlı hale gelmiştir ($p < 0.001$). Aynı konsantrasyondaki sNK hücrelerinin NK hücrelerine göre çok daha güçlü bir hücre ölümü indüklemiştir. Özellikle sNK 1/16 grubu ile NK 1/16 grubu arasındaki fark belirgin düzeyde saptanmıştır. Maksimum etki ise sNK 1/16 grubunda kaydedilmiştir. Canlılığı yaklaşık %40 oranında azalttığı gözlemlenmiştir.

4.2. İmmün Boyama Sonuçları

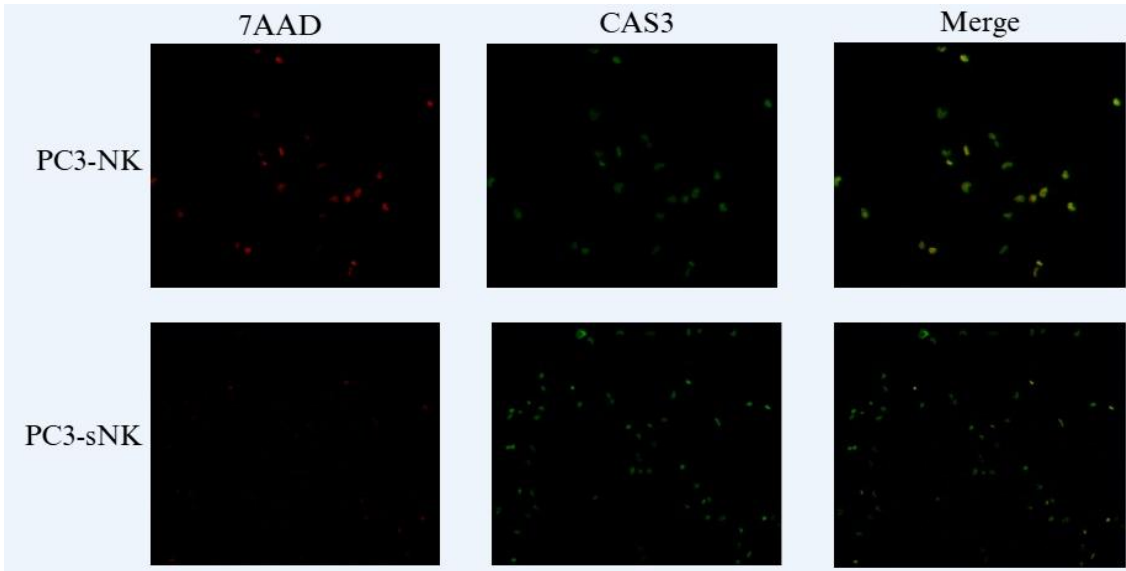
4.2.1. PNT1A ve PC3 Hücrelerinin İmmün Boyama ile Apoptoz Yolağına Ait BAX ve CAS3 Proteinlerinin Görüntülenmesi



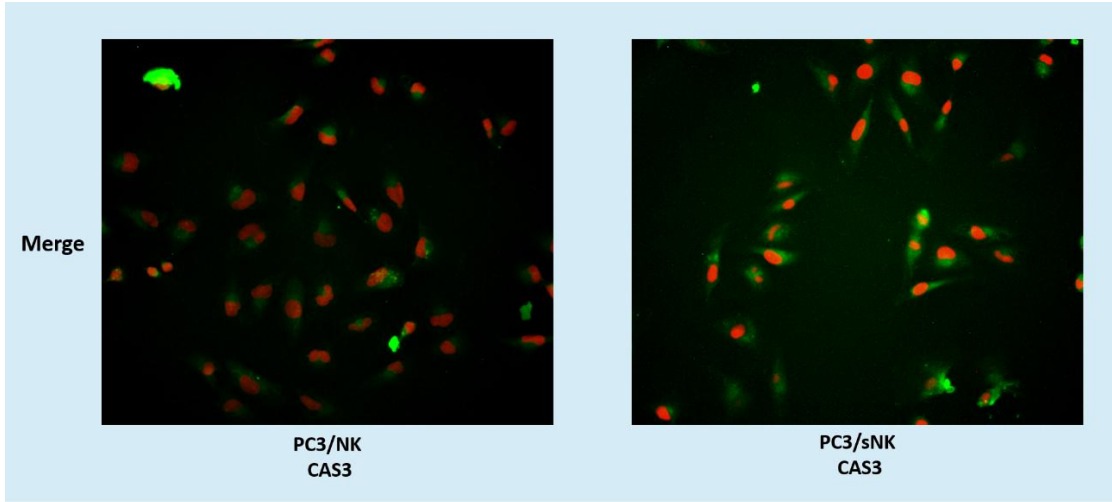
Şekil 4.3. PNT1A Normal Prostat Hücreleri, 6 saat Ko-Kültürden Sonra BAX Proteininin İmmün Boyama ile Görüntülenmesi. Çekirdek Boyası Olarak 7-AAD Kullanılmıştır. BAX Protein Sentezini Görüntülemek İçin FITC İşaretli Sekonder Antikor kullanılmıştır.



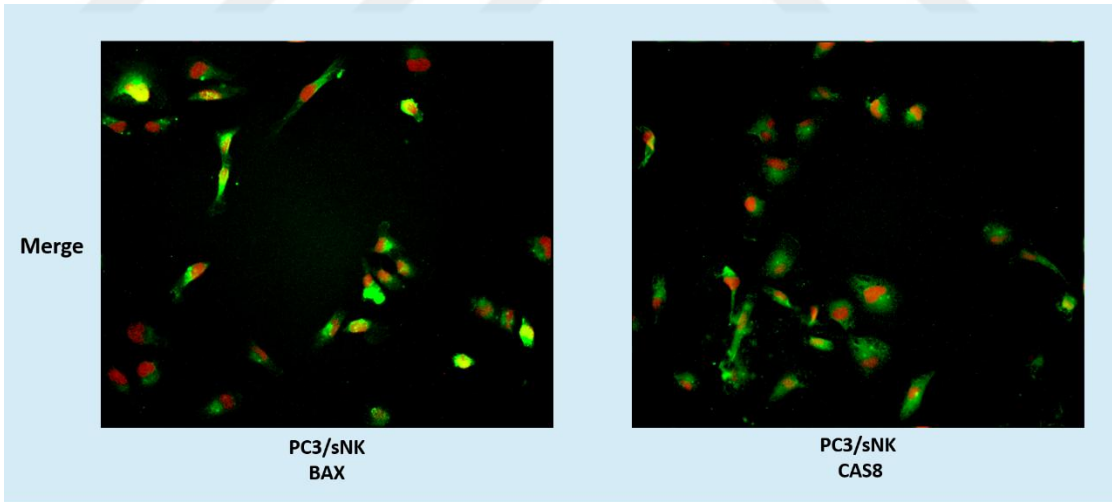
Şekil 4.4. PC3 Normal Prostat Kanseri Hücreleri, 6 saat Ko-Kültürden Sonra BAX Proteininin İmmün Boyama ile Görüntülenmesi. Çekirdek Boyası Olarak 7-AAD Kullanılmıştır. BAX Protein Sentezini Görüntülemek İçin FITC İşaretli Sekonder Antikor kullanılmıştır.



Şekil 4.5. PC3 Prostat Kanseri Hücreleri, 6 saat Ko-Kültürden Sonra CAS3 Proteininin İmmün Boyama ile Görüntülenmesi. Çekirdek Boyası Olarak 7-AAD Kullanılmıştır. CAS3 Protein Sentezini Görüntülemek İçin FITC İşaretli Sekonder Antikor kullanılmıştır.



Şekil 4.6. PC3 Prostat Kanseri Hücreleri, 6 saat Ko-Kültürden Sonra CAS3 Proteininin İmmün Boyama Merge Görüntüleri. Çekirdek Boyası Olarak 7-AAD Kullanılmıştır. CAS3 Protein Sentezini Görüntülemek İçin FITC İşaretli Sekonder Antikor kullanılmıştır.



Şekil 4.7. PC3 Prostat Kanseri Hücreleri, 6 saat Ko-Kültürden Sonra BAX ve CAS8 Proteinlerinin İmmün Boyama Merge Görüntüleri. Çekirdek Boyası Olarak 7-AAD Kullanılmıştır. Protein Sentezini Görüntülemek İçin FITC İşaretli Sekonder Antikor kullanılmıştır.

NK-92 ve sNK-92 hücreleri ile 6 saat muamele edilen PC3 ve PNT1A hücre hatlarında, apoptotik süreç 40X floresan mikroskobu ile analiz edilmiştir. Bu amaçla; hücre çekirdekleri 7-AAD ile işaretlenirken, apoptozda kritik rol oynayan CASP3, CASP8, CASP9 ve BAX proteinlerine özgü primer ve sekonder antikorlar kullanılmıştır.

Yapılan incelemeler sonucunda, NK-92 ve sNK-92 hücreleri ile ko-kültür edilen PNT1A normal prostat epitel hücrelerinde her iki efektör grubunda da apoptotik protein ekspresyonu zayıf veya bazal düzeyde kalmıştır. Buna karşın, NK-92 ve sNK-92 hücreleri ile ko-kültür edilen PC3 prostat kanseri hücrelerinde BAX, CAS3 ve CAS proteinlerinin floresan sinyal intensiteleri belirgin düzeyde tespit edilmiştir. sNK-92 hücreleri ile muamele edilen gruplarda CAS3, CAS8 ve BAX proteinlerine ait floresan sinyal şiddetinin, NK-92 hücrelerinin etkisine kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek olduğu saptanmıştır.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

5.1 Sonuçlar

Bu tez çalışması kapsamında, miR-30c ile genetik olarak modifiye edilen doğal öldürücü hücrelerin (sNK-92), PC3 prostat kanseri ve PNT1A normal prostat epitel hücreleri üzerindeki antikanser etkinliği ve etki mekanizmaları ilk kez kapsamlı bir şekilde ortaya konulmuştur.

Elde edilen bulgular doğrultusunda miR-30c modifikasyonu, NK-92 hücrelerinin PC3 hücrelerini tanıma ve imha etme kapasitesini istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artırmıştır. Özellikle 1:16 E/T oranında sNK-92 hücrelerinin, PC3 hücre canlılığını %40 oranında azalttığı saptanmıştır ($p < 0.0001$).

Modifiye hücrelerin en kritik başarısı, kanser hücrelerini agresif bir şekilde hedef alırken PNT1A normal prostat hücreleri üzerinde anlamlı bir sitotoksite oluşturmamasıdır. Bu durum, miR-30c tabanlı hücre terapilerinin güvenli bir tedavi profili potansiyeli sunduğunu göstermiştir. Gözlemlenen bu güçlü floresan ışımaya, sNK-92 hücrelerinin hedef kanser hücrelerinde hem intrinsik hem de ekstrinsik apoptoz yollarını NK-92 hücrelerine göre çok daha etkin bir şekilde tetiklediğini moleküler düzeyde doğrulamaktadır. Özellikle kaspaz aktivasyonundaki bu belirgin artış ve BAX ekspresyonunun yoğunlaşması, sNK-92 hücrelerinin antitümöral etkinliğinin ve programlı hücre ölümünü indükleme kapasitesinin NK-92 kontrol grubuna göre üstün olduğunu kanıtlar niteliktedir.

Bu çalışmadan elde edilen veriler, prostat kanseri immünoterapisinde yeni bir dönemin kapısını aralamaktadır.

5.2 Öneriler

- Gelecekte sNK hücrelerinin tümör mikroçevresinde (TME) ne kadar süre canlı kaldığını ve tümör hacmini küçültme hızını ölçmek amacıyla ksenograft fare modelleri üzerinde çalışmalar planlanmalıdır.
- sNK-92 hücrelerinin, klinikte kullanılan Trastuzumab veya diğer kemoterapötik ajanlarla sinerjik etkisini optimize edecek yeni dozaj çalışmaları yapılmalıdır.

- miR-30c'nin tek başına etkisinin yanı sıra farklı mikroRNA'lar ile kombine edildiği; birden fazla sinyal yolağını eş zamanlı hedefleyen bir yaklaşımla, NK hücrelerinin sitotoksik kapasitesi ve tümörden kaçış mekanizmalarına direnci üzerindeki etkileri incelenmelidir.

Özetle bu çalışma, prostat kanseri gibi agresif malignitelerde miR-30c ile stimüle edilmiş NK hücrelerinin, sağlıklı dokuya zarar vermeyen "seçici bir immünoterapi ajanı" olarak kullanılabileceğini literatüre kazandırmıştır. Bu bulgular, gelecekteki faz çalışmaları ve klinik uygulamalar için temel bir referans niteliği taşımaktadır.



KAYNAKLAR

- Abate-Shen, C., & Shen, M. M. (2000). Molecular genetics of prostate cancer. *Genes & Development*, 14(19), 2410-2434. <https://doi.org/10.1101/gad.819500>
- Abdelrahman, M. M., Fawzy, I. O., Bassiouni, A. A., Gomaa, A. I., Esmat, G., Waked, I., & Abdelaziz, A. I. (2016). Enhancing NK cell cytotoxicity by miR-182 in hepatocellular carcinoma. *Human Immunology*, 77(8), 667-673. <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2016.04.020>
- Açıkgöz, A., Çımrın, D., & Ergör, G. (2018). Meme, prostat, kolorektal ve akciğer kanserlerinde çevresel risk faktörleri ve risk düzeylerinin belirlenmesi: Olgu-kontrol çalışması. *Cukurova Medical Journal*, 43(2), 411-421. <https://doi.org/10.17826/cumj.345233>
- Adamaki, M., & Zoumpourlis, V. (2021). Prostate Cancer Biomarkers: From diagnosis to prognosis and precision-guided therapeutics. *Pharmacology & Therapeutics*, 228, 107932. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2021.107932>
- Archer Goode, E., Wang, N., & Munkley, J. (2023). Prostate cancer bone metastases biology and clinical management (Review). *Oncology Letters*, 25(4), 163. <https://doi.org/10.3892/ol.2023.13749>
- Aydın Acar, Ç., & Yeşilot, Ş. (2018). Kanserde MikroRNA'lar ve İlaç Yanıtı. *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi*, 25(4), 498-507. <https://doi.org/10.17343/sdutfd.345988>
- Baran, Ö., & Burlukkara, S. (2020). Lokalize Prostat Kanserinde Güncel Tedavi Yöntemleri. İçinde *Scientific Developments for Health and Life Sciences* (Birinci Basım, ss. 457-474). Gece Kitaplığı. https://www.insackongre.org/_files/ugd/e42d97_1dbe5fc680114b1d8fd93648bd11db09.pdf
- Barbaros, M. B., & Dikmen, M. (2015). Kanser immünoterapisi. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Fen Bilimleri Dergisi*, 31(4), 177-182. <https://dergipark.org.tr/en/pub/erciyesfen/issue/25543/269496>
- Bassani, B., Baci, D., Gallazzi, M., Poggi, A., Bruno, A., & Mortara, L. (2019). Natural Killer Cells as Key Players of Tumor Progression and Angiogenesis: Old and Novel Tools to Divert Their Pro-Tumor Activities into Potent Anti-Tumor Effects. *Cancers*, 11(4). <https://doi.org/10.3390/cancers11040461>
- Baxevanis, C. N., Perez, S. A., & Papamichail, M. (2009). Cancer immunotherapy. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, 46(4), 167-189. <https://doi.org/10.1080/10408360902937809>
- Beaulieu, A. M., Bezman, N. A., Lee, J. E., Matloubian, M., Sun, J. C., & Lanier, L. L. (2013). MicroRNA function in NK-cell biology. *Immunological Reviews*, 253(1), 40-52. <https://doi.org/10.1111/imr.12045>

- Bergengren, O., Pekala, K. R., Matsoukas, K., Fainberg, J., Mungovan, S. F., Bratt, O., Bray, F., Brawley, O., Luckenbaugh, A. N., Mucci, L., Morgan, T. M., & Carlsson, S. V. (2023). 2022 Update on Prostate Cancer Epidemiology and Risk Factors—A Systematic Review. *European Urology*, 84(2), 191-206. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2023.04.021>
- Bian, X., Si, Y., Zhang, M., Wei, R., Yang, X., Ren, H., Zheng, G., Wang, C., & Zhang, Y. (2016). Down-expression of miR-152 lead to impaired anti-tumor effect of NK via upregulation of HLA-G. *Tumor Biology*, 37(3), 3749-3756. <https://doi.org/10.1007/s13277-015-3669-7>
- Boixareu, C., Taha, T., Venkadakrishnan, V. B., de Bono, J., & Beltran, H. (2025). Targeting the tumour cell surface in advanced prostate cancer. *Nature Reviews Urology*, 22(9), 569-589. <https://doi.org/10.1038/s41585-025-01014-w>
- Bostwick, D. G., Burke, H. B., Djakiew, D., Euling, S., Ho, S., Landolph, J., Morrison, H., Sonawane, B., Shifflett, T., Waters, D. J., & Timms, B. (2004). Human prostate cancer risk factors. *Cancer*, 101(S10), 2371-2490. <https://doi.org/10.1002/cncr.20408>
- Bozgeyik, E. (2020). Kanserin Ayırt Edici Özelliklerinde Kodlanmayan RNA ların Rolü: Güncel Bir Bakış. *Selcuk Tıp Dergisi*, 4(36), 381-396. <https://doi.org/10.30733/std.2020.01268>
- Bray, F., Laversanne, M., Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Soerjomataram, I., & Jemal, A. (2024). Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 74(3), 229-263. <https://doi.org/10.3322/caac.21834>
- Buskin, A., Scott, E., Nelson, R., Gaughan, L., Robson, C. N., Heer, R., & Hepburn, A. C. (2023). Engineering prostate cancer in vitro: What does it take? *Oncogene*, 42(32), 2417-2427. <https://doi.org/10.1038/s41388-023-02776-6>
- Caligiuri, M. A. (2008). Human natural killer cells. *Blood*, 112(3), 461-469. <https://doi.org/10.1182/blood-2007-09-077438>
- Carneiro, B. A., & El-Deiry, W. S. (2020). Targeting apoptosis in cancer therapy. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 17(7), 395-417. <https://doi.org/10.1038/s41571-020-0341-y>
- Celepli, S., Bigat, İ., Celepli, P., & Karagin, P. H. (2020). *Apoptoz ve Apoptotik Yolların Gözden Geçirilmesi*. 103-111.
- Charoghdozi, K., Balighi, M. J., Amiri, A. M., Dehnavi, S., & Sadeghi, M. (2025). MicroRNA-mediated regulation of natural killer cells development, effector functions, and antitumor responses. *Cancer Cell International*, 25, 429. <https://doi.org/10.1186/s12935-025-04078-1>
- Cichocki, F., Felices, M., McCullar, V., Presnell, S. R., Al-Attar, A., Lutz, C. T., & Miller, J. S. (2011). miR-181 promotes human NK cell development by regulating Notch signaling. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 187(12), 6171-6175. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1100835>

- Cooper, G. M. (2000). The Development and Causes of Cancer. İçinde *The Cell: A Molecular Approach*. 2nd edition. Sinauer Associates. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9963/>
- Coşkun, G., & Özgür, H. (2011). Apoptoz ve Nekrozun Moleküler Mekanizması. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 20(3), 145-158. <https://dergipark.org.tr/tr/pub/aktd/article/29409>
- Çetinkaya, M., & Şahin, S. (2020). KANSER VE ERGOTERAPİ. *Gazi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 5(2), 14-24. <https://dergipark.org.tr/tr/pub/gsbdergi/issue/58382/758495>
- David, M. K., & Leslie, S. W. (2025). Prostate-Specific Antigen. İçinde *StatPearls*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557495/>
- Delves, P. J., & Roitt, I. M. (2000). The Immune System. *New England Journal of Medicine*, 343(1), 37-49. <https://doi.org/10.1056/NEJM200007063430107>
- Diniz, G., Yaşın, Y., Çoban, C., EvciMen, Ş., & Karakayali, M. (2022). Immune System: Is a Trusted Friend, is a Collaborative Enemy? *Forbes Journal of Medicine*, 3(1), 1-9. <https://doi.org/10.4274/forbes.galenos.2021.30974>
- Disis, M. L. (2014). Mechanism of Action of Immunotherapy. *Seminars in Oncology*, 41, S3-S13. <https://doi.org/10.1053/j.seminoncol.2014.09.004>
- Dunn, M. W., & Kazer, M. W. (2011). Prostate Cancer Overview. *Seminars in Oncology Nursing*, 27(4), 241-250. <https://doi.org/10.1016/j.soncn.2011.07.002>
- EdTech. (2019). *EdTech Kitapları*. https://books.byui.edu/bio_381_pathophysiol/1121__benign_prostat
- Ellakwa, D. E.-S., Mushtaq, N., Khan, S., Jabbar, A., Abdelmalek, M. A., Wadan, A.-H. S., Ellakwa, T. E., & Raza, A. (2024). Molecular functions of microRNAs in colorectal cancer: Recent roles in proliferation, angiogenesis, apoptosis, and chemoresistance. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 397(8), 5617-5630. <https://doi.org/10.1007/s00210-024-03076-w>
- Erzurumlu, Y. (2021). Prostat Kanseri: Androjen Reseptörü Sinyal Mekanizması. *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi*, 28(1), 187-198. <https://doi.org/10.17343/sdutfd.726163>
- Fay, E. K., & Graff, J. N. (2020). Immunotherapy in Prostate Cancer. *Cancers*, 12(7). <https://doi.org/10.3390/cancers12071752>
- Gao, F., Han, J., Jia, L., He, J., Wang, Y., Chen, M., Liu, X., & He, X. (2023). MiR-30c facilitates natural killer cell cytotoxicity to lung cancer through targeting GALNT7. *Genes & Genomics*, 45(2), 247-260. <https://doi.org/10.1007/s13258-022-01306-0>
- GLOBOCAN. (2022). *Cancer Today*. <https://gco.iarc.who.int/today/>

- Gong, J., Liu, R., Zhuang, R., Zhang, Y., Fang, L., Xu, Z., Jin, L., Wang, T., Song, C., Yang, K., Wei, Y., Yang, A., Jin, B., & Chen, L. (2012). miR-30c-1* promotes natural killer cell cytotoxicity against human hepatoma cells by targeting the transcription factor HMBOX1. *Cancer Science*, 103(4), 645-652. <https://doi.org/10.1111/j.1349-7006.2012.02207.x>
- Güleş, Ö., & Eren, Ü. (2008). *Apoptozun Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler*.
- Güvenç, D., & Güvenç, T. (2017). Apoptotik Hücre Ölümü ve Toksikolojik Yanıtta Önemi. *Animal Health Production and Hygiene*, 6(2), 499-504. <https://dergipark.org.tr/tr/pub/aduveterinary/article/848615>
- Hanahan, D. (2022). Hallmarks of Cancer: New Dimensions. *Cancer Discovery*, 12(1), 31-46. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-21-1059>
- Hegde, M. V., Mali, A. V., & Chandorkar, S. S. (2013). What is a Cancer Cell? Why does it Metastase? *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 14(6), 3987-3989. <https://doi.org/10.7314/APJCP.2013.14.6.3987>
- Jin, Z., & El-Deiry, W. S. (2005). Overview of cell death signaling pathways. *Cancer Biology & Therapy*, 4(2), 147-171. <https://doi.org/10.4161/cbt.4.2.1508>
- Kashyap, D., Garg, V. K., & Goel, N. (2021). Intrinsic and extrinsic pathways of apoptosis: Role in cancer development and prognosis. İçinde *Advances in Protein Chemistry and Structural Biology* (C. 125, ss. 73-120). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/bs.apcsb.2021.01.003>
- Kaya, C., Çalışkan, Y., & Yönden, Z. (2015). APOPTOZİS. *The Medical Journal of Mustafa Kemal University*, 3(11), 26-37. https://dergipark.org.tr/en/pub/mkutfd/article/209265?issue_id=19592
- Kaya, H., Gültekin, S. K., & Arslan, B. A. (2022). Doğal Öldürücü Hücre Aktivitesinde İmmunomodulator Etki Gösteren Moleküller. *Black Sea Journal of Health Science*, 5(2), 312-317. <https://doi.org/10.19127/bshealthscience.1009193>
- Kwon, J. T. W., Bryant, R. J., & Parkes, E. E. (2021). The tumor microenvironment and immune responses in prostate cancer patients. *Endocrine-Related Cancer*, 28(8), T95-T107. <https://doi.org/10.1530/ERC-21-0149>
- Lehrer, E. J., Khunsriraksakul, C., Garrett, S., Trifiletti, D. M., Sheehan, J. P., Guckenberger, M., Louie, A. V., Siva, S., Ost, P., Goodman, K. A., Dawson, L. A., Tchelebi, L. T., Yang, J. T., Showalter, T. N., Park, H. S., Spratt, D. E., Kishan, A. U., Gupta, G. P., Shah, C., ... Zaorsky, N. G. (2025). Future directions in the evaluation and management of newly diagnosed metastatic cancer. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 208, 104631. <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2025.104631>
- Leslie, S. W., Soon-Sutton, T. L., & Skelton, W. P. (2024). Prostate Cancer. İçinde *StatPearls*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470550/>

- Loose, D., & Van de Wiele, C. (2009). The Immune System and Cancer. *Cancer Biotherapy and Radiopharmaceuticals*, 24(3), 369-376. <https://doi.org/10.1089/cbr.2008.0593>
- Ma, Y., Gong, J., Liu, Y., Guo, W., Jin, B., Wang, X., & Chen, L. (2016). MicroRNA-30c promotes natural killer cell cytotoxicity *via* up-regulating the expression level of NKG2D. *Life Sciences*, 151, 174-181. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2016.03.012>
- Mahadevan, G. S., Arunachalam, V. K., Rajasekaran, S., Kashyap, R., Gunasekaran, K., & Thirumoorthi, S. (2024). Anatomy of the Prostate Gland: Modalities and Techniques for Its Assessment. *Journal of Gastrointestinal and Abdominal Radiology*, 07, 099-105. <https://doi.org/10.1055/s-0044-1785197>
- Martin, T. A., Ye, L., Sanders, A. J., Lane, J., & Jiang, W. G. (2013). Cancer Invasion and Metastasis: Molecular and Cellular Perspective. İçinde *Madame Curie Bioscience Database* [Internet]. Landes Bioscience. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK164700/>
- McArthur, K., & Kile, B. T. (2018). Apoptotic Caspases: Multiple or Mistaken Identities? *Trends in Cell Biology*, 28(6), 475-493. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2018.02.003>
- Myers, J. A., & Miller, J. S. (2021). Exploring the NK cell platform for cancer immunotherapy. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 18(2), 85-100. <https://doi.org/10.1038/s41571-020-0426-7>
- National Cancer Institute. (2015, Mayıs 12). *Metastatic Cancer: When Cancer Spreads - NCI* (nciglobal,ncienterprise) [cgvArticle]. <https://www.cancer.gov/types/metastatic-cancer>
- Neviani, P., Wise, P. M., Murtadha, M., Liu, C. W., Wu, C.-H., Jong, A. Y., Seeger, R. C., & Fabbri, M. (2019). Natural Killer-Derived Exosomal miR-186 Inhibits Neuroblastoma Growth and Immune Escape Mechanisms. *Cancer Research*, 79(6), 1151-1164. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-18-0779>
- Nguyen-Nielsen, M., & Borre, M. (2016). Diagnostic and Therapeutic Strategies for Prostate Cancer. *Seminars in Nuclear Medicine*, 46(6), 484-490. <https://doi.org/10.1053/j.semnuclmed.2016.07.002>
- Özdoğan, P. D. M. (2021). *Provenge (Sipuleucel-T) Nedir? Fda Onayı, Türkiye Ruhsatı Ve Geri Ödeme Durumu*. Prof. Dr. Mustafa ÖZDOĞAN. <https://www.drozdogan.com/provenge-sipuleucel-t-nedir-fda-onayi-turkiye-ruhsati-ve-geri-odeme-durumu/>
- Patel, A. R., & Klein, E. A. (2009). Risk factors for prostate cancer. *Nature Clinical Practice Urology*, 6(2), 87-95. <https://doi.org/10.1038/ncpuro1290>
- Pathania, A. S., Prathipati, P., Olwenyi, O. A., Chava, S., Smith, O. V., Gupta, S. C., Chaturvedi, N. K., Byraredy, S. N., Coulter, D. W., & Challagundla, K. B. (2022). miR-15a and miR-15b modulate natural killer and CD8+T-cell activation and anti-tumor immune response by targeting PD-L1 in neuroblastoma. *Molecular Therapy - Oncolytics*, 25, 308-329. <https://doi.org/10.1016/j.omto.2022.03.010>

- Pesce, S., Greppi, M., Ferretti, E., Obino, V., Carlomagno, S., Rutigliani, M., Thoren, F. B., Sivorì, S., Castagnola, P., Candiani, S., & Marcenaro, E. (2020). miRNAs in NK Cell-Based Immune Responses and Cancer Immunotherapy. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.00119>
- Piccinini, F., Tesei, A., Arienti, C., & Bevilacqua, A. (2017). Cell Counting and Viability Assessment of 2D and 3D Cell Cultures: Expected Reliability of the Trypan Blue Assay. *Biological Procedures Online*, 19, 8. <https://doi.org/10.1186/s12575-017-0056-3>
- Porzycki, P., Ciszkowicz, E., Semik, M., & Tyrka, M. (2018). Combination of three miRNA (miR-141, miR-21, and miR-375) as potential diagnostic tool for prostate cancer recognition. *International Urology and Nephrology*, 50(9), 1619-1626. <https://doi.org/10.1007/s11255-018-1938-2>
- Powers, E., Karachaliou, G. S., Kao, C., Harrison, M. R., Hoimes, C. J., George, D. J., Armstrong, A. J., & Zhang, T. (2020). Novel therapies are changing treatment paradigms in metastatic prostate cancer. *Journal of Hematology & Oncology*, 13(1), 144. <https://doi.org/10.1186/s13045-020-00978-z>
- Prcic, A., Begic, E., & Hiros, M. (2016). Usefulness of Total PSA Value in Prostate Diseases Diagnosis. *Acta Informatica Medica*, 24(3), 156-161. <https://doi.org/10.5455/aim.2016.24.156-161>
- Prins, G. S. (2023). What is the prostate and what are its functions? *The American Society of Andrology*. <https://andrologysociety.org/wp-content/uploads/2023/04/Chapter-20-Prins.pdf>
- Quazi, S. (2022). Telomerase gene therapy: A remission toward cancer. *Medical Oncology*, 39(6), 105. <https://doi.org/10.1007/s12032-022-01702-2>
- Rafikova, G., Gilyazova, I., Enikeeva, K., Pavlov, V., & Kzhyshkowska, J. (2023). Prostate Cancer: Genetics, Epigenetics and the Need for Immunological Biomarkers. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(16), 12797. <https://doi.org/10.3390/ijms241612797>
- Rapoport, B. L., & Anderson, R. (2019). Realizing the Clinical Potential of Immunogenic Cell Death in Cancer Chemotherapy and Radiotherapy. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(4). <https://doi.org/10.3390/ijms20040959>
- Rebello, R. J., Oing, C., Knudsen, K. E., Loeb, S., Johnson, D. C., Reiter, R. E., Gillessen, S., Van der Kwast, T., & Bristow, R. G. (2021). Prostate cancer. *Nature Reviews Disease Primers*, 7(1), 9. <https://doi.org/10.1038/s41572-020-00243-0>
- Saeed, D.-A., & Awan, S. (2016). MOJ Immunology Advances in Monoclonal Antibodies Production and Cancer Therapy. *MOJ Immunology*, 3, 1-5. <https://doi.org/10.15406/moji.2016.03.00099>

- Sandhu, S., Moore, C. M., Chiong, E., Beltran, H., Bristow, R. G., & Williams, S. G. (2021). Prostate cancer. *The Lancet*, 398(10305), 1075-1090. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)00950-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)00950-8)
- Sathianathen, N. J., Konety, B. R., Crook, J., Saad, F., & Lawrentschuk, N. (2018). Landmarks in prostate cancer. *Nature Reviews Urology*, 15(10), 627-642. <https://doi.org/10.1038/s41585-018-0060-7>
- Sekhoacha, M., Riet, K., Motloun, P., Gumenku, L., Adegoke, A., & Mashele, S. (2022). Prostate Cancer Review: Genetics, Diagnosis, Treatment Options, and Alternative Approaches. *Molecules*, 27(17). <https://doi.org/10.3390/molecules27175730>
- Seydel, G. şeyda, & Aksoy, K. (2011). Stresle İndüklenen Ligandların İmmun Yanıttaki Rolü. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 20(1), 1-19. <https://dergipark.org.tr/tr/pub/aktd/article/29416>
- Siegel, R. L., Miller, K. D., Wagle, N. S., & Jemal, A. (2023). Cancer statistics, 2023. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 73(1), 17-48. <https://doi.org/10.3322/caac.21763>
- Sikaris, K. (2012). Prostate cancer screening. *Pathology*, 44(2), 99-109. <https://doi.org/10.1097/PAT.0b013e32834fbb2c>
- Singh, O., & Bolla, S. R. (2023). Anatomy, Abdomen and Pelvis, Prostate. İçinde *StatPearls*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK540987/>
- Soerjomataram, I., & Bray, F. (2021). Planning for tomorrow: Global cancer incidence and the role of prevention 2020–2070. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 18(10), 663-672. <https://doi.org/10.1038/s41571-021-00514-z>
- Stephan, C., Jung, K., & Ralla, B. (2015). Current Biomarkers for Diagnosing of Prostate Cancer. *Future Oncology*, 11(20), 2743-2755. <https://doi.org/10.2217/fon.15.203>
- Su, Z., Ye, X., & Shang, L. (2019). MiR-506 Promotes Natural Killer Cell Cytotoxicity against Human Hepatocellular Carcinoma Cells by Targeting STAT3. *Yonsei Medical Journal*, 60(1), 22-29. <https://doi.org/10.3349/ymj.2019.60.1.22>
- Sun, J. C., & Lanier, L. L. (2011). NK cell development, homeostasis and function: Parallels with CD8+ T cells. *Nature Reviews Immunology*, 11(10), 645-657. <https://doi.org/10.1038/nri3044>
- Sütlü, T. (2019, Mayıs 17). Kanserde hücresel immünoterapi ve TCR-NK hücreleri. *Sarkaç*. <https://sarkac.org/2019/05/kanserde-hucresel-immunoterapi/>
- Swanton, C., Bernard, E., Abbosh, C., André, F., Auwerx, J., Balmain, A., Bar-Sagi, D., Bernards, R., Bullman, S., DeGregori, J., Elliott, C., Erez, A., Evan, G., Febbraio, M. A., Hidalgo, A., Jamal-Hanjani, M., Joyce, J. A., Kaiser, M., Lamia, K., ... Hanahan, D. (2024). Embracing cancer complexity: Hallmarks of systemic disease. *Cell*, 187(7), 1589-1616. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2024.02.009>

- T.C. Sağlık Bakanlığı. (2025). *Türkiye Kanser İstatistikleri 2020*. 1-38. https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/kanser-db/Dokumanlar/Istatistikler/Turkiye_Kanser_Istatistikleri_2020.pdf
- Teo, M. Y., Rathkopf, D. E., & Kantoff, P. (2019). Treatment of Advanced Prostate Cancer. *Annual Review of Medicine*, 70(Volume 70, 2019), 479-499. <https://doi.org/10.1146/annurev-med-051517-011947>
- Tian, X., Srinivasan, P. R., Tajiknia, V., Uruchurtu, A. F. S. S., Seyhan, A. A., Carneiro, B. A., Cruz, A. D. L., Pinho-Schwermmann, M., George, A., Zhao, S., Strandberg, J., Cristofano, F. D., Zhang, S., Zhou, L., Raufi, A. G., Navaraj, A., Zhang, Y., Verovkina, N., Ghandali, M., ... El-Deiry, W. S. (2025, Temmuz 15). *Targeting apoptotic pathways for cancer therapy*. American Society for Clinical Investigation. <https://doi.org/10.1172/JCI179570>
- Türk Toraks Derneği. (2024, Nisan 2). *Türk Toraks Derneği Torasik Onkoloji Çalışma Grubu "1-7 Nisan Kanser Haftası: Farkındalık, Destek ve Umut" Basın Bildirisi*. <https://toraks.org.tr/site/news/12034>
- Vivier, E., Tomasello, E., Baratin, M., Walzer, T., & Ugolini, S. (2008). Functions of natural killer cells. *Nature Immunology*, 9(5), 503-510. <https://doi.org/10.1038/ni1582>
- Wang, G., Zhao, D., Spring, D. J., & DePinho, R. A. (2018). Genetics and biology of prostate cancer. *Genes & Development*, 32(17-18), 1105-1140. <https://doi.org/10.1101/gad.315739.118>
- Wayteck, L., Breckpot, K., Demeester, J., De Smedt, S. C., & Raemdonck, K. (2014). A personalized view on cancer immunotherapy. *Cancer Letters*, 352(1), 113-125. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2013.09.016>
- White, C. W., Xie, J. H., & Ventura, S. (2013). Age-related changes in the innervation of the prostate gland. *Organogenesis*, 9(3), 206-215. <https://doi.org/10.4161/org.24843>
- Yuan, S., & Akey, C. W. (2013). Apoptosome Structure, Assembly, and Procaspase Activation. *Structure*, 21(4), 501-515. <https://doi.org/10.1016/j.str.2013.02.024>
- Zhang, X., Mar, V., Zhou, W., Harrington, L., & Robinson, M. O. (1999). Telomere shortening and apoptosis in telomerase-inhibited human tumor cells. *Genes & Development*, 13(18), 2388-2399. <https://doi.org/10.1101/gad.13.18.2388>
- Zingoni, A., Sornasse, T., Cocks, B. G., Tanaka, Y., Santoni, A., & Lanier, L. L. (2005). NK cell regulation of T cell-mediated responses. *Molecular Immunology*, 42(4), 451-454. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2004.07.025>