

# MikroRNA' lar ve mikroRNA' ların biyobelirteç olarak endometriozis ve endometriozis ilişkili epitelyal over kanserlerindeki rolü

MICRORNAS AND THE ROLE OF MICRORNAS AS A BIOMARKER IN ENDOMETRIOSIS AND ENDOMETRIOSIS- ASSOCIATED EPITHELIAL OVARIAN CANCERS

 Canan KELTEN TALU<sup>1</sup>,  Emine ÇAĞNUR ULUKUŞ<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Sağlık Bilimleri Üniversitesi İzmir Tıp Fakültesi, Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

<sup>2</sup> Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

## ÖZ

Bu derlemenin amacı, miRNA'lar ile ilgili genel bir bilgilendirme sağlamak ve insanlarda görülen endometriozis ve endometriozis ilişkili epitelyal over kanserlerinde, birer biyobelirteç olarak miRNA'ların rolünü ortaya koymaktır. MiRNA'lar kısa, tek zincirli, kodlama yapmayan RNA molekülleri olup, posttranskripsiyonel düzeyde gen ekspresyonunun düzenlenmesinde rol oynar. miRNA'lar, neoplastik ve non-neoplastik pek çok hastalığın gelişmesinde etkili olan moleküllerdir. miRNA'lar dokuya spesifik özellik göstermeleri, serum, plazma, idrar, BOS gibi pek çok biyolojik vücut sıvısında kararlı yapılarını korumaları nedeniyle uygun birer biyobelirteç olarak görülmektedir. İdeal bir biyobelirteç, hastalığa spesifik olma, hastalığın erken dönemlerinde saptanabilme, minimal invaziv girişimler ile ulaşılabilir olma ve tekrarlanabilirlik gösterebilmelidir.

Endometriozis, endometrial doku benzeri yapıların uterin kavite dışında saptanmasıdır. Endometriozisli olguların yaklaşık %1'inde bu zeminde epitelyal over kanseri gelişmektedir. MiRNA'ların endometriozis patogeneğinde önemli rolü olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle, endometriozis tanısında gecikmeyi önleyebilecek ve bu tanısal gecikmeye bağlı morbidite ve mortaliteyi azaltabilecek bir biyobelirteç olabilecekleri düşünülmektedir. Şu ana kadar endometriozis ve endometriozis ilişkili epitelyal over kanserlerinde, deneysel ve klinik pek çok çalışmada bazı miRNA'ların etkili olabileceği gösterilmiştir. Her iki klinik durumun erken tanısında kullanılacak bir biyobelirteç olarak henüz rutin kullanıma girmiş bir miRNA bulunmamaktadır. Bununla birlikte bazı miRNA'ların bir panel halinde kullanılabilmesine dair umut verici gelişmeler mevcuttur.

**Anahtar Kelimeler:** MiRNA, Biyobelirteç, Endometriozis, Endometriozis İlişkili Epitelyal Over Kanseri

## ABSTRACT

The aim of this review is to provide general information for miRNAs and to reveal the role of miRNAs as biomarkers in endometriosis and endometriosis-associated epithelial ovarian cancers in humans.

## Canan KELTEN TALU

Sağlık Bilimleri Üniversitesi İzmir Tıp Fakültesi, Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

E-posta: esracanankelten.talu@sbu.edu.tr

 <https://orcid.org/0000-0001-8767-4275>

miRNAs are short, single-stranded, non-coding RNA molecules that play a role in regulating gene expression at the posttranscriptional level. miRNAs are molecules that are effective in the development of many neoplastic and non-neoplastic diseases. miRNAs are considered as appropriate biomarker since they show tissue-specific properties and maintain their stability in many biological body fluids such as serum, plasma, urine, and cerebrospinal fluid. An ideal biomarker should be specific to disease, detectable in the early stages of the disease, accessible with minimally invasive procedures and reproducibility.

Endometriosis is detection of endometrial tissue-like structures outside uterine cavity. Epithelial ovarian cancer develops on this background in approximately 1% of cases with endometriosis. miRNAs are thought to have an important role in the pathogenesis of endometriosis. Therefore, it is thought that they can be a biomarker that can prevent the delay in the diagnosis of endometriosis and reduce morbidity and mortality associated with this diagnostic delay.

Until now, it has been shown that some miRNAs may be effective in endometriosis and endometriosis-associated epithelial ovarian cancers in many experimental and clinical studies. There is no miRNA that has been routinely performed yet as a biomarker that can be used in the early diagnosis of both clinical conditions. miRNA panels may be used as diagnostic, prognostic or predictive biomarkers in endometriosis and ovarian carcinomas in future. However, there are promising developments that some miRNAs can be used as a panel.

**Keywords:** MiRNA, Biomarker, Endometriosis, Endometriosis, Endometriosis-Associated Epithelial Ovarian Cancer

DNA, genetik bilginin saklandığı bir nükleik asittir. DNA'daki bilgi, RNA Polimeraz enzimi aracılığı ile benzer yapıya sahip RNA'ya aktarılır (transkripsiyon). RNA ise, DNA da taşınan genetik bilginin proteine çevirisi (translasyon) ile ilgili süreçlerde yer alır. Epigenetik değişiklikler, DNA dizisinde değişiklik oluşturmadan, hücre ve organizmalarda gen ekspresyonu ve fenotipik özelliklerde değişikliklere yol açan ve kalıtsal olarak da aktarılabilen düzenlemelerdir (1). Epigenetik değişiklikler, gen üzerinde mutasyonlar kadar etkilidir ve kanser oluşumu ve gelişiminden mutasyonlar kadar sorumludur (2). Epigenetik değişiklikler gen ifadesi kontrolünü, transkripsiyon faktörlerinin DNA'ya ulaşmasını engelleyecek 'geri dönüşümlü mekanik değişiklikler' yaratarak sağlar (3-5). Epigenetik mekanizmalar gen ifadesini doğrudan veya dolaylı yoldan kontrol edebilir (6). Gen ifadesini doğrudan kontrol eden mekanizmalar arasında kromatin ve DNA modifikasyonları gelir. Gen ifadesini dolaylı yoldan etkileyen mekanizmalar ise

posttranskripsiyonel düzeyde etki göstererek genin susturulmasını sağlar. Bu durum, RNAi (interferans) adı verilen, hücre içinde yer alan, hangi genlerin aktif olacağını, nasıl aktif hale geleceğini belirleyen yapılar aracılığıyla sağlanır. RNAi aracılı gen susturulması, küçük ve kodlanmayan bir RNA zincirinin mesajcı RNA'ya bağlanması sonucu, mesajcı RNA'nın diziye özgü yıkıma uğraması ya da translasyona girmemesi ile gerçekleşir. Gen susturulmasını sağlayan çeşitli RNAi yolları mevcuttur (7). Bunlar arasında, çoğu ökaryotta bulunan küçük engelleyici RNA (small interfering RNA- siRNA) ve mikroRNA (miRNA'lar) gelir. Bunlar dışında hayvanlarda PIWI proteini ilişkili RNA'lar (PIWI interaction RNA- piRNA), ökaryot ve arkelerde küçük nükleer RNA'lar (snRNA), bitkilerde ise trans-etken siRNA (tasiRNA) lar bulunur (7).

#### **MikroRNA (miRNA, miR)**

21-23 nükleotid uzunluğunda, tek iplikli, DNA'dan transkripsiyonu yapılan ancak proteine çevirisi

yapılmayan (kodlanmayan) bir RNA molekülüdür (8). MiRNA'lar, gen ifadesinin posttranskripsiyonel düzenlenmesinde rol alır. İlk kez 1993 yılında Lee ve ark. tarafından, Ambros laboratuvarlarında *Caenorhabditis elegans* nematodunun gelişimi araştırılırken keşfedilmiştir (9-11). MiRNA terimi ise ilk kez 2001 yılında kullanıma girmiştir. Seks kromozomları dâhil, insan genomunun yalnızca %3-4'ü miRNA'ların kodlanmasında görev alır ve yaklaşık 3000 miRNA kodlanır (12). Bununla birlikte miRNA'lar, insanlarda mesajcı RNA'ların yaklaşık %30'unun işlev düzenlenmesinde rol almaktadır (13). MiRNA'lar protein kodlamamakla birlikte, posttranskripsiyonel düzenlemeler ile hücre bölünmesi, hücre farklılaşması, apoptoz, nöronal gelişim, embriyogenez ve metabolizmanın düzenlenmesi gibi pek çok fizyolojik süreçte etkilidir (14). Bir miRNA, birden fazla hedef mesajcı RNA'yı etkileyebileceği gibi, birden fazla miRNA da aynı hedef mesajcı RNA üzerinde etkili olabilmektedir (15). MiRNA'ların hücre proliferasyonu, büyüme faktörleri ve reseptörlerinin ekspresyonu, apoptoz gibi farklı biyolojik süreçlerde anahtar moleküller olması, onları karsinogenez sürecinde rol almaktan kaçınılmaz hale getirmektedir.

### MiRNA - Kanser İlişkisi

MiRNA'ların karsinogenez ile ilişkili olduğuna dair ilk kanıt, Calin ve ark. (16) tarafından 2001 yılında, Kronik Lenfositik Lösemili (KLL) hastalarında yapılan bir çalışma ile ortaya konulmuştur. Bu çalışma öncesinde, KLL'li hastaların %50'sinden fazlasında görülen homozigot veya heterozigot 13q14 delesyonunun, bu bölge tarafından kodlanan bir tümör süpresör genin kaybına bağlı olduğu düşünülmekte idi (17). Bu çalışmada, ailesel ve sporadik KLL'li hastalarda DNA analizi yapılmış ve 13q14 delesyonuna sahip hastalarda, protein kodlayan genlerde anlamlı bir değişiklik bulunmamıştır. Ancak bu hastalarda 13q14 bölgesinde yaklaşık 30 kb'lık bir delesyon saptanmıştır. Bu delesyona sahip hastalarda, normal dokuya göre miR-15a ve miR-16-1 ekspresyon düzeylerinde anlamlı şekilde azalma ortaya konmuştur. Neticede, delesyona uğrayan bu küçük alanın, bir tümör süpresör geni kodlamaktan ziyade bu iki miRNA'nın kodlandığı gen bölgesi olduğu saptanmıştır (16).

MiRNA'lar, hedef aldıkları mesajcı RNA'nın moleküler özelliklerine göre, tümör süpresör veya onkogenik etki gösterebilir. Bir başka deyişle, miRNA'lar, onkogen ve tümör süpresör genlerin ekspresyonunu etkileyerek tümör gelişimine yol açmaktadır. Bazı miRNA'lar protoonkogen transkripsiyonunu inhibe ederek, onkogenlerin ekspresyonunu kontrol altında tutar. Bu tip miRNA'lar tümör süpresör etki gösterdiği için tümör süpresör miRNA'lar olarak adlandırılır. Tersine, tümör süpresör genlerin transkripsiyonunu inhibe eden miRNA'lar ise onkogenik etki gösterir. Bu tip miRNA'lar ise, onkogenik miRNA'lar olarak adlandırılır (18-19).

Onkogenik miRNA'ların işlevlerinde kısmi veya tam bir artış olması tümör süpresör genlerin etkinliğinde azalmaya yol açarken, tümör süpresör miRNA'ların işlevlerinde kısmi veya tam kayıp olması onkoprotein sentezinde artışa neden olur ve neticede kanser gelişimine yol açar. miRNA'ların birden fazla potansiyel hedefleri olabilir ve hücrenin durumuna göre bir miRNA tümör süpresör ya da onkogenik özellik gösterebilir (20). Bazı miRNA'lar pek çok solid tümörde daha global bir onkogenik veya tümör süpresör etkiye sahiptir. Genel olarak onkogenik etki gösterdiği bilinen miRNA'ların başında miR-21 ve miR-155 gelirken, tümör süpresör etki gösterdiği bilinen miRNA'ların başında miR-let 7 ailesi, miR-200 ailesi ve miR-34 gelmektedir (21). Bir kanser tipinin gelişiminde etkili olan temel genetik değişiklik miRNA ekspresyon profilini değiştirebileceği gibi, miRNA ekspresyon profilinin değişimi de kanser gelişimine yol açabilir (22-25).

MiRNA'lar, yukarıda açıklandığı üzere karsinogenez sürecindeki temel etkilerini, onkogen ve tümör süpresör genlerin ekspresyon düzeylerini etkilemek yoluyla göstermektedir. Bununla birlikte, büyümeyi inhibe eden sinyallere duyarsızlık, büyüme sinyallerinde kendine yeterlilik, apoptozisten kaçınma, sınırsız hücre çoğalması, invazyon, metastaz, anjiogenez ve genomik instabilite gibi karsinogenezin pek çok basamağında etkili oldukları da bilinmektedir (26, 27).

### MiRNA'ların Tanısal, Prognostik ve Tedaviyi Yönlendirici Etkileri

MiRNA'lar etkilerini hücre içinde göstermektedir. Hücre içindeki miRNA'lar hücre dışındaki kompartmanlara da aktarılabilir (28, 29). Hücre dışındaki miRNA'ların farklı kaynakları mevcuttur. Bunlardan biri, hücre parçalanması ya da nekroz sonrası hücre içi miRNA'ların direk hücre dışı alana yayılmasıdır. Diğerleri, hücre içinde sentezlenen miRNA'ların hücre zarıyla çevrili ve boyutlarına göre eksozom (30-100 nm), mikrovezikül (100-1000 nm) ve büyük onkozomlar (1-10 mikrometre) olarak isimlendirilen veziküller içinde hücreden salınmasıdır (30, 31). Hücre dışı veziküller tümör çevresinde meydana gelen ve hücreler arası etkileşimde rol oynayan mediatörlerdir ve karsinogenezin mediatörleri olarak da bilinirler. Hücre dışı veziküller, kanser hücreleri dışında normal hücrelerden de salınabilmektedir. Bununla birlikte kanser hücrelerinden salınan veziküller, içerik ve yüzey belirleyicileri bakımından spesifik bir moleküler profile sahiptir. Bu nedenle normal hücrelerden farklılık gösterir.

Serum ve plazmada, miRNA bakımından en zengin yapı, hücre dışı veziküllerde bulunan miRNA'lar gibi görünmektedir (31). Hücre dışı alanda bulunan miRNA'lar için bir diğer kaynak, Ago protein gibi RNA bağlayıcı proteinler ile birlikte bulunduğu bileşik formdur. MiRNA'lar tek iplikli küçük RNA molekülleri olmasına rağmen, Ago2 proteini ile bileşik halinde iken yapısal olarak kararlıdır ve değişen ortam şartlarından pek etkilenmez (32). Serumdan miRNA ekstraksiyonu yapan bir çalışmada, miRNA ekspresyon seviyelerinin düşük veya yüksek pH düzeyleri, oda ısısında uzun süre bekletilme veya dondurulma gibi süreçlerden etkilenmediği ve kararlı durumlarını koruyabildikleri gösterilmiştir (33).

MiRNA'ların karsinogenezis süreci ile ilişkisinin ortaya konması, ekspresyon seviyelerinin doku ve tümöre özgü olması, değişen ortam koşullarına dirençli ve stabil olmaları, plazma ve seruma geçebilmeleri ve minimal invaziv işlemler ile saptanabilmeleri, birer biyobelirteç olarak kullanılmasını elverişli hale getirmektedir (29, 34-36). Genel olarak kanser tanısı, tedavisi ve/ya prognoz

taayininde kullanılacak ideal bir biyobelirtecin, non-invaziv yöntemlerle saptanabilmesi, fiyat/performans oranının düşük olması, ölçülebilir olması ve tekrarlanan ölçümlerde benzer sonuçları veren, yüksek sensitivite ve spesifite gösteren moleküller olması beklenmektedir. Rutin kanser araştırmalarında tercih edilen biyobelirteçler, öncelikle kanserin erken tanısı, rekürrens tespiti, tedavi şeklinin belirlenmesi ve prognoz tayini gibi nedenler için kullanılmaktadır. Kanser tanısı ve takibinde kullanılan ve çoğu protein kökenli olan birçok biyobelirteç için esas sorun düşük sensitivite ve spesifite göstermesidir. Bunun klasik örneği prostat dokusunda sentezlenen Prostat Spesifik Antijen (PSA)'dır. Prostat kanseri tanısı ve hasta takibinde kullanılan PSA, prostat kanseri dışında, benign prostat hiperplazisi ve prostatın iltihabi lezyonlarında da artmış plazma PSA düzeyleri göstermektedir. Bu bakımdan yüksek PSA değerleri prostat kanseri için spesifik değildir (37,38).

Pek çok insan kanserinde, tanısal amaçlı olması yanı sıra çeşitli klinik-patolojik parametrelerin öngörülmesinde, serum ve/ya plazmada, tek veya çoklu miRNA panelleri halinde miRNA ekspresyon düzeyleri araştırılmıştır. MiRNA ekspresyon düzeylerinin klinikopatolojik veriler ile ilişkisinin araştırıldığı solid kanserlerin başında akciğer, meme, prostat ve kolorektal kanserler gelmektedir (39,40). Akciğer kanserlerinde, kanserin erken tanısı yanı sıra cerrahi ve adjuvan tedavi alan olgularda hastalıksız sağkalım ve toplam sağkalım ile ilişkili olabilecek tanısal ve prognostik değeri olan miRNA'lar bildirilmiştir (39, 40). Benzer şekilde meme kanserinde, erken tanı yanı sıra, meme kanserinin akciğer, kolorektal gibi diğer karsinomlardan ayırımında, neoadjuvan tedaviye yanıtı belirlemede, transtuzumab direncini göstermede, rekürrens olasılığı yüksek meme kanseri olgularının tespitinde, aksiler lenf nodu metastazı yapabilecek meme kanseri olgularını öngörmeye, meme kanseri moleküler alt tip tayininde, meme kanseri progresyonu ve metastazını belirlemede faydalı olabilecek pek çok miRNA tanımlanmıştır (39, 40).

Prostat kanserinde, kanser riski taşıyan olguların belirlenmesinde, prostat kanseri ile benign prostat hiperplazisi ayırımında yol gösterebilecek, ileri evre /metastaz varlığını ortaya çıkarabilecek miRNA'ların

belirlenmesine yönelik çalışmalar bulunmaktadır (39-40). Doku ile plazma / serum miRNA düzeylerini karşılaştıran ilk çalışmalar ise kolorektal karsinomlarda yapılmıştır. miRNA'ların küçük bir RNA molekülü olması, formalinde fikse parafine gömülü dokularda kararlı yapılarını uzun süre korumalarını sağlamaktadır. Kolorektal karsinom hastalarına ait 10 senelik parafin bloklarda miRNA ekspresyon düzeylerinin araştırıldığı bazı çalışmalarda, miRNA ekspresyon düzeylerinin bu süreden minimal etkilendiği gösterilmiştir (41,42). Diğer kanserlere benzer şekilde, kolorektal karsinomlarda da, kanserin erken dönem tanısında, lenf nodu ve uzak metastaz yapan olguların belirlenmesinde, kolorektal karsinomun gastrik kanser ve inflamatuvar barsak hastalıklarından ayırımında yardımcı olabilecek çeşitli miRNA profilleri tanımlanmıştır (39). Tüm bu gelişmelere rağmen, bazı durumlar, dolaşımda bulunan miRNA'ların klinik uygulama alanında kullanımını kısıtlayabilmektedir. Bunların başında bazı miRNA'ların birden fazla kanser tipinde eksprese edilmesi gelir. Bu durum, söz konusu miRNA için testin spesifitesini azaltmaktadır. Örneğin onkogenik etki gösterdiği bilinen miR-21, meme, kolorektal, akciğer ve çeşitli hematolojik malignitelerde yüksek düzeyde eksprese edilebilmektedir. Bu gibi durumlar için, kanser tipine özgü bir panel oluşturacak şekilde miRNA ekspresyon profillerinin belirlenmesi hedeflenmektedir.

Dolaşımdaki miRNA'ların heterojen orjini göz önüne alındığında, tümör kaynaklı bir miRNA'yı, diğer nontümöral hücre kaynaklı (kan hücreleri gibi) miRNA'lardan ayırt etmek sorun oluşturabilir. Bununla birlikte, kanser hücrelerinden salınan miRNA'lar, genellikle hücre dışı veziküller içinde bulunur ve daha önce belirtildiği üzere bu miRNA'lar, içerik ve yüzey belirleyicileri bakımından normal hücrelerden farklı, spesifik bir moleküler profile sahiptir. Dolaşımdaki miRNA'lar ile ilgili bir diğer kısıtlayıcı durum ise, miRNA ekspresyon düzeylerinin yaş, cinsiyet, etnik köken ve örnek tipinden (tam kan, serum, plazma gibi) etkilenebilmesidir. Sevindirici bir gelişme, miRNA'ların doku düzeyinde, PCR dışında yeni gelişen in situ hibridizasyon teknikleri ile de saptanabilmesidir (21). Bu gelişme, dokudaki miRNA ekspresyon paterninin tümör morfolojisi ile birlikte değerlendirilebilmesini mümkün kılmaktadır.

Doku örneklerinde miRNA ekspresyon profillerinin oluşturulması hastalıkların tanı ve alt tiplendirmesi yanı sıra belirli ilaçlar için tedaviye yanıtı öngörmeye yardımcı olabilir. Bu durum, kişiye özgü tedavilerin şekillenmesine de katkı sağlayacaktır. MiRNA'ların karsinogenezis sürecindeki rollerinin açığa çıkarılması, onları potansiyel bir tedavi ajanına dönüştürmektedir. Günümüzde, kimyasal olarak modifiye edilmiş antisense oligonükleotidlerden oluşan, 'antagomiRs' olarak isimlendirilen pek çok sentetik küçük molekül miRNA geliştirilmiştir (21). Bu ajanların tedavi amaçlı kullanılmasında temel yaklaşım, karsinogenezis sürecinde artmış olan miRNA'ların inhibisyonunu (onkogenik etkili miRNA'ların inhibisyonu), azalmış düzeydeki miRNA'ların ise arttırılmasını (tümör süpresör etkili miRNA'ların arttırılması) hedefler (43). Günümüzde miR-16, miR-122, miR-192 ve miR-194'e karşı geliştirilmiş antogomirler bulunmaktadır (21). Hayvan deneylerinde, bu antogomirlerin kullanımı ile KC, AC, böbrek ve over dokularında miRNA düzeylerinin azaltılabildiği gösterilmiştir (21-43). Eksojen olarak transfekste edilen tümör süpresör etkili pre-let7'nin ise, in vitro ve in vivo olarak tümör büyümesini durdurduğu gösterilmiştir (21-43). Son zamanlarda, giderek artan düzeyde bulgu, kanser kök hücrelerinin oluşumu ve epitelyal-mezenşimal transizyonun gerçekleşmesinde, miRNA ekspresyonlarının önemine işaret etmektedir (21). Kanser kök hücreleri ve epitelyal-mezenşimal transizyonun özellikle metastaz ve ilaç direnci ile olan ilişkisi göz önüne alındığında, kişiye özgü tedavilerin ön plana geçtiği günümüzde, miRNA'lar kanser tedavisinin önemli bir komponenti olarak görülmektedir.

Sonuç olarak miRNA'lar, normal doku ve o dokunun neoplastik formunda farklı düzeylerde eksprese edilmeleri nedeniyle güvenli bir tanusal biyobelirteç olarak görünmektedir. Her tümör köken aldığı dokuya özgü miRNA ekspresyon profiline sahip olduğu için ve dokudan dokuya eksprese edilen miRNA'lar farklılık gösterdiği için, primeri bilinmeyen tümörlerin ayırıcı tanısında da yardımcı olabilecek bir biyobelirteçtir. Bu noktada, her tümör dokusu için miRNA ekspresyon profilinin ortaya konması önem kazanmaktadır. Tümör gelişimi, ilerlemesi ve metastazı süreçlerinde miRNA ekspresyonu devam



ettiğinden, hastalık sürecinin serum ve dokuda miRNA düzeyleri ile takip edilebilmesi mümkün görünmektedir. Bunun yanı sıra, pek çok tümörde miRNA ekspresyon profilindeki değişikliklerin, tümör derecesi, evresi, agresif büyüme paterni, vasküler invazyon ve lenf nodu metastazı gibi pek çok parametre ile ilişkisi ortaya konmuştur. Bu bakımdan, tanısal olduğu kadar prognostik değeri de olan bir biyobelirteç olarak görünmektedir. Deneysel çalışmalarda, miRNA temelli tedavilerin etkinliğine dair veriler her geçen gün artmaktadır. Yakın gelecekte, miRNA'ların, insanlarda görülen kanserlerin tanı, takip ve kişiye özgü tedavi sürecinin planlanmasındaki yeri daha da netleşecektir.

### Endometriozis

Endometriozis, endometrial benzeri dokuların (endometrial gland epiteli ve endometrial stromal elemanlar) uterin korpus dışında bir bölgede bulunmasıdır. Endometriozis, reproduktif çağıdaki kadınların %5-15'ini etkiler ve bu olguların yaklaşık %1'inde neoplastik transformasyon görülür (44). Endometriozis patogenezi hala tartışmalı olarak kalsa da, multifaktöriyel olduğuna yönelik görüşler ağır basmaktadır (44). Endometriozis gelişimi için en olası mekanizma, endometrial kavitedeki dokuların, transtubal yayılım ile periton boşluğuna dökülmesi ve peritona implante olabilmesidir. Bu mekanizmayı destekleyen bir bulgu, endometriozisli hastaların ötopik endometriyumlarında, implantasyon kapasitelerini arttıracak ve anjiogenezi uyaracak değişiklikler yanı sıra hücre siklusu düzeninde de değişiklikler saptanmış olmasıdır (45-47). Özellikle overi tutan endometriozis odaklarında monoklonalite saptanmış olması, monoklonalite karsinogenezisin önemli bir özelliği olduğu için önem kazanmaktadır (48-49).

Endometriozis zemininde en sık gelişen ovaryan karsinomlar endometrioid karsinom ve berrak hücreli karsinomdur (44-50). Bu iki karsinomun görülme sıklığı batı ülkeleri ve uzak doğu ülkelerinde farklılık gösterebilmektedir. Endometriozis ilişkili over kanserlerinin az bir kısmı Lynch Sendromu ile ilişkilidir (44). Atipik endometriozis, endometriozis ile endometriozis zemininde gelişen over karsinomları arasında bir geçiş

basamağını oluşturmaktadır (51). Atipik endometriozis odakları, morfolojik, immünohistokimyasal ve içerdikleri moleküler değişiklikler bakımından, endometriozis zemininde gelişmiş tümörde izlenen bulgulara benzerlik göstermektedir (44-51). Endometriozis zemininde gelişmiş en sık iki tümör olan endometrioid karsinom ve berrak hücreli karsinom temel alındığında, bu grup tümörlerde en sık görülen moleküler değişikliklerin başında ARİD1A mutasyonları gelmektedir (44). ARİD1A mutasyonları dışında, PTEN, PIK3CA, CTNNB1, BRCA1/BRCA2, TP53 ve KRAS mutasyonları da görülebilmektedir (52-54). Endometriozis zemininde gelişen ve daha az sıklıkta görülen diğer over tümörleri, serömüsinöz tümörler, adenosarkom, karsinosarkom ve endometrial stromal sarkomlardır (44).

Endometriozisin neden olduğu klinik sorunların başında kronik pelvik ağrı, dismenore ve infertilite gelmektedir (55). Endometriozis odakları, reproduktif çağıdaki kadınların yaklaşık %2-30'unda pelvik bölgede lokalize iken, %4'ten daha azında ekstrapelvik bölgede lokalizedir (56). Pelvik bölgede en sık görüldüğü lokalizasyon overlerdir ve bunu azalan sıklıkta uterin ligamanlar (uterosakral > broad ligaman>inguinal); tuba uterina, periton yüzeyi ve pelvik sınırlar takip eder (56). Pelvik endometriozisli olguların yaklaşık %12'sinde ekstrapelvik bölgede de endometriozis saptanır.

Ekstrapelvik bölgede görülen endometriozis odakları en sık gastrointestinal sistemde saptanır (sigmoid, rektum, ileum, apandiks, çekum). Bunu, üriner traktus (mesane, üreter, böbrek, üretra); diyafram; torasik bölge (plevra, akciğer, perikard); cilt; eksternal genital bölgeler (vagina, perine, vulva) ve diğer daha nadir bölgeler (kas, meme parankimi, beyin vb. izler) (56).

Endometriozis tanısında altın standart günümüzde hala invaziv cerrahi prosedürler ve histopatolojik örneklemeyi içermektedir (57). Bu nedenle endometriozis tanısını koymada ve tedaviye yanıtı değerlendirmede, ölçümü kolay ve gereksiz invaziv yöntemlerin kullanımını önleyecek yeni biyobelirteçlere ihtiyaç bulunmaktadır. Bu amaçla, serum ve/ya plazma düzeyleri değerlendirilen pek çok molekül mevcuttur. Bunlar, başta çeşitli glikoproteinler olmak üzere (Ca125,

Ca19.9, Ca72, transferin, Follistatin, Gremlin-1, IGFBP-3, Haptoglobin, B2-microglobulin), büyüme faktörleri (EGF/EGFR, IGF-1, GMCSF, FGF-2), angiogenezis ilişkili moleküller (VEGF, Angiogenin), apoptozis ilişkili moleküller (Fas, Fas Ligand), çeşitli hormonlar (prolaktin, Leptin, TSH, LH, FSH, E2, Progesterone, Testosterone), inflamatuvar sitokinler (IL, CXCL10, CCR-1, TGF $\beta$ , IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ , MMIF), immunolojik moleküller (T hücreleri, B hücreleri, NK hücreleri, PMN, HLA, CD23, kompleman ve antikolar) ve Amiloid A, TIMP-1, MMP2, Urocortin, cell free DNA, ICAM-1, e-cadherin gibi farklı pek çok molekülü içermektedir (58-59). Bu moleküller arasında rutin pratikte en sık kullanılanı, bir glikoprotein olan Ca125'dir.

Ca125'in tek başına veya diğer biyobelirteçler ile kombine kullanımını

(Ca125+IL8+TNF $\alpha$ , veya Ca125+CCRtype1+mRNA+MCPI, veya Ca125+VEGF+Annexin- V+glycodelin) değerlendiren çeşitli çalışmalar mevcuttur(60–62). Bu çalışmalarda, tekrarlayan ölçümlerde endometriozis için farklı spesifite ve sensitivite düzeyleri bildirilmiştir. Bu durum endometriozis tanısında Ca125'in tek başına veya diğer biyobelirteçler ile birlikte kullanımını sınırlandırmaktadır.

Son zamanlarda endometriozis tanısında kullanılacak diğer non-invaziv yöntemler arasında miRNA'lar, proteomics, metabolomics ve genomics'ler gündeme gelmektedir (8, 59, 63) olacak. Bu yeni yöntemler ile ilgili umut verici gelişmeler olmasına rağmen, yöntemlerin standartizasyonu, maliyet-etkinlik analizi, testin raporlanma süresi gibi pek çok konu başlığının da çözümlenmesi gerekmektedir.

MiRNA, dayanıklı yapıları, vücut sıvılarında stabilitesini koruyabilmeleri ve dokuya özgünlüğünün yüksek olması nedeniyle endometriozis tanısında kullanılacak önemli aday moleküller arasındadır. Endometrioziste tanısal değeri araştırılan pek çok miRNA mevcuttur. Çalışmalar, sadece insanlarda görülen endometrioziste tanısal değeri araştırılan miRNA'lar ile sınırlandırıldığında, sensitivite oranlarının %60-%100, spesifite oranlarının ise %51-%100 arasında değiştiği görülmektedir.

Tablo 1, her bir çalışmada araştırılan miRNA ve/veya miRNA panelleri için sensitivite ve spesifite değerlerini özetlemektedir.

**Tablo 1:** Endometriozis olgularında araştırılan miRNA'lar için sensitivite-spesifite değerleri

Otör, Referans no	Material	miRNA	Sensitivite (%)	Spesifite (%)
Jia SZ, 2013 (81)	Plasma	miR-20a	60	90
		miR-22	90	90
		miR-17-5p	60	80
Wang WT, 2013 (82)	Serum	miR-122	80	76
		miR-141-5p	71.69	96
		miR-145	70	96
		miR-199a	78.33	76
Suryavanshi S, 2013 (77)	Plasma	miR-16+miR-191+miR-195	88	60
Rekker K, 2015 (83)	Plasma	miR-141	71,9	70,8
		miR-200a	90,6	62,5
		miR-200b	90,6	70,8
Cho S, 2015 (84)	Serum	let-7d	83,3	100
Cosar E, 2016 (85)	Serum	miR-125b	100	96
Nisenblat V, 2019 (86)	Plasma	miR-155+miR574-3p+miR139-3p	83	51

Tablo 2 ise kontrol grubuyla karşılaştırıldığında endometriozis olgularında serum/plazma düzeylerinde değişiklik saptanan miRNA'ları özetlemektedir.

**Tablo 2:** Endometriozis olgularında ekspresyon düzeyi değişiklikleri bildirilen miRNA'lar

Otör, Referans no	Materyal	Olgu sayısı	Araştırılan miRNA düzeyleri
Burney RO, 2009 (87)	serum	4 endometriozis ve 3 kontrol	Artmış düzeyde (↑) miR-185-5p, miR-242-5p, miR-296-5p, miR-3127-5p, miR-424-3p, miR-4645-3p, miR-502-3p, miR-542-3p, miR-550a-3p, miR-636
Suryavanshi S, 2013 (77)	plazma	33 endometriozis ve 20 kontrol	Artmış düzeyde (↑) miR-16, miR-191, miR-195
Hsu CY, 2014 (88)	serum	40 endometriozis ve 25 kontrol	Azalmış düzeyde mir-199a-5p (↓)
Cho S, 2015 (84)	serum	24 endometriozis ve 24 kontrol	Azalmış düzeyde let7b, miR-125a (↓)
Wang L, 2016 (89)	serum	30 endometriozis ve 20 kontrol	Artmış düzeyde (↑) miR-185-5p, miR-242-5p, miR-296-5p, miR-3127-5p, miR-424-3p, miR-4645-3p, miR-502-3p, miR-542-3p, miR-550a-3p, miR-636

Epitelyal over kanserlerinde miRNA ekspresyon düzeyindeki değişiklikleri, hücre kültürü, deneysel hayvan çalışmaları ve/ya insan doku/örneklerinde inceleyen çok çeşitli çalışmalar mevcuttur (64–75). Çalışmalar arasında, çalışma dizaynı ve metodolojik yaklaşım farklılıkları bulunmakla birlikte, miR-510, miR-29b ve miR-30a gibi bazı miRNA düzeylerinde benzer bulgular dikkati çekmektedir (68, 69, 71, 72, 74, 75). Bu çalışmalarda, bir veya daha fazla sayıda farklı histolojik alt tipteki epitelyal over kanserinde (yüksek dereceli seröz karsinom, berrak hücreli karsinom ve/ya müsinöz karsinom gibi), çeşitli miRNA ekspresyon düzeyleri incelenmiş ve histolojik alt tipleri

birbirinden ayırt etmede yardımcı oldukları bildirilmiştir. Vilming ve ark. ait bir çalışmada artmış miR-509-3-5p ve miR-509-5p düzeyleri, berrak hücreli karsinomu, HGSOc'den ayırt etmede (68) faydalı bulunmuştur. Bir diğer çalışmada, miR-510 ekspresyonu, HGSOc ve normal over dokusunda, berrak hücreli karsinom ve düşük dereceli seröz over kanserine göre daha düşük düzeyde saptanmış, ayrıca azalmış miR-510 düzeyleri daha kötü prognoz ile ilişkili bildirilmiştir (69). Calura ve ark. ait çalışmada, miR-30a ve miR-30a\* ekspresyon düzeylerinde artış berrak hücreli kanserlerde izlenirken, miR-192/ 194 ekspresyon düzeylerinde artış müsinöz over kanserlerinde



saptanmıştır (74). Çeşitli çalışmalarda, miRNA ekspresyon düzeyi değişiklikleri prognoz ve sürvi ile de ilişkili bildirilmiştir. Yüksek dereceli seröz kanserlerde artmış miR200c-3p ekspresyonu kötü hastalısız sağkalım ve toplam sağkalım ile ilişkili bulunmuştur (68). Benzer şekilde, miR-29b ekspresyon düzeyi bir çalışmada hastalısız sağkalım ile ilişkili bildirilmiş (71), bir diğer çalışmada ileri evre over kanserlerinde ekspresyon düzeylerinde anlamlı şekilde düşüklük saptanmıştır (72). miR-9 gibi diğer bazı miRNA'lar ise artmış epitelyal mezeneşimal transizyon ile ilişkili bulunmuştur (70).

Spesifik bir şekilde endometriozis ile ilişkili over kanserlerinde (EİOK), insan doku ve biyolojik sıvılarında miRNA ekspresyon düzeyi değişikliklerinin araştırıldığı çalışmalar literatürde sınırlıdır. Bu çalışmaların bir kısmında, EİOK ile nontümöral doku örnekleri arasında belirlenen miRNA ekspresyon düzeyleri karşılaştırılırken (76), diğer bir kısmında, sağlıklı kontrol, endometriozis ve EİOK'ni içeren üç ayrı alt grupta miRNA ekspresyon düzeyleri karşılaştırılmıştır (66, 73,77, 78). Serum/plazma miRNA ekspresyon düzeylerinin karşılaştırıldığı bu çalışmaların kısıtlayıcı bir yanı, her grubun farklı hasta popülasyonundan oluşmasıdır. Bir başka deyişle aynı hastaya ait örnekler arasında miRNA ekspresyon düzeyi farklılıkları ortaya konulamamaktadır. miRNA ekspresyon düzeylerinin dokuya özgü olduğu ve kişiye özel faktörlerden (yaş, cinsiyet, hormonal durum vb) etkilendiği göz önüne alındığında bu durum önem kazanmaktadır. Literatürde aynı hastaya ait doku örneklerinde (nontümöral doku / kontrol dokusu; endometriozis ve EİOK alt gruplarında) miRNA ekspresyon düzeylerinin karşılaştırıldığı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Suryavanshi ve ark. (77), endometriozis ve EİOK olgularını sağlıklı kontrol olgularından ayırt etmede kullanılabilecek plazma miRNA'ları belirlemek amacıyla, ilk olarak RT-PCR yöntemi ile 1000 miRNA'yı içeren bir global miRNA profillemesi uygulamış ve bunlar arasından 23 aday miRNA belirlemişlerdir. Bu 23 miRNA ekspresyon düzeyi daha sonra RT-PCR yöntemi ile bu üç ayrı alt grupta incelenmiştir. Buna göre, miR-15b, 16, 21 ve 195 düzeyleri EİOK'de sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek saptanmıştır. Bu çalışmada ayrıca, EİOK'de artışı saptanan miRNA'lar deneysel fare incelemelerinde de

valide edilmiştir. Dong ve ark.(79), önceki çalışmaya benzer şekilde endometriozis, EİOK ve sağlıklı kontrol grubunu oluşturan hastalara ait doku ve serum örneklerinde miR-191 düzeyini RT-PCR yöntemi ile değerlendirmişlerdir. MiR-191 ekspresyon düzeyi endometriozis ve EİOK grubunda sağlıklı kontrol olgularına göre anlamlı olarak daha yüksek saptanmıştır. Ek incelemelerde, miR-19 ekspresyon artışının CRL-11731 hücre kültüründe hücre proliferasyonu ve invazyonunu anlamlı şekilde arttırdığı, miR-191 down regülasyonunun ise hücre proliferasyonu ve invazyonunu azalttığı gösterilmiştir. Bunlara ek olarak miR-191 ekspresyonunun TIMP3 ekspresyonu ile negatif korelasyon gösterdiğini saptayan araştırmacılar, miR-191'nin etkisini TIMP3 regülasyonu üzerinden sağladığını bildirmişlerdir. Tian ve ark. (73) ait başka bir çalışmada da miR-191 ekspresyonu, endometriozis ve EİOK gruplarında sağlıklı kontrol grubuna göre artmış düzeyde bildirilmiştir. Araştırmacılar ek incelemelerinde, miR-191 ile bir apoptozis mediatörü olan DAPK1 arasında ters korelasyon olduğunu, DAPK1 molekülünün TNF $\alpha$  ile tetiklenen hücre ölümünü uyarmak yoluyla etkisini gösterdiğini ortaya koymuşlardır. Bu çalışmada, artmış miR-191 ekspresyonunun TNF $\alpha$  ile uyarılan apoptozisi inhibe ederek endometriozis zemininde malign transformasyona neden olduğu gösterilmiştir. Nakamura ve ark. ait çalışmada, 7 EİOK ve 34 ovarian endometrioma içeren olguya ait serum ve asit sıvısı örneklerinde 5 ayrı miRNA (miR-92a-3p, miR-486-5p, miR-4484, miR-6821-5p ve miR-7108-5p) düzeyi qRT-PCR ile ölçülmüştür (78). Buna göre EİOK olgularına ait serum ve asit sıvılarında endometriozisli olgulara göre sadece miR-486-5p düzeyi anlamlı olarak yüksek saptanmıştır. Buna ek olarak, serum ve asit sıvısı örneklerindeki miR-486-5p ekspresyon düzeyleri endometriozisin şiddeti ile de korele bulunmuştur.

Ek incelemelerde, miR-486-upregülasyonunun endometrioma hücrelerinde proliferasyonu ve migrasyonu arttırdığı, tersine miR-486-5p downregülasyonunun ise endometrioma hücrelerinde proliferasyon ve migrasyonu azalttığını ortaya koymuşlardır. Araştırmacılar bu bulgulara dayanarak, miR-486-5p'in, EİOK'de onkojenik etkili bir miRNA olarak işlev görebileceğini ve overyan endometriomanın şiddetini ölçmede bir biyobelirteç olarak

kullanılabileceğini önermişlerdir. Bu çalışmada olgu sayısı azlığı nedeniyle EİOK'de farklı histolojik alt tiplerde miR-486-5p ekspresyon düzeyleri değerlendirilememiştir.

miRNA'lar arasında miR-15b, miR-16, miR-21, miR-195, miR-191 ve miR-486-5p başı çekmektedir.

Tablo 3'de özetlendiği üzere insanlarda, endometriozis yanı sıra EİOK gelişiminde etkili olan

**Tablo 3:** Endometriozis ve Endometriozis ilişkili over kanseri olgularında (EİOK) miRNA ekspresyon düzeyi değişiklikleri

Otör, Referans no	Materyal	Olgu sayısı	Araştırılan mi-RNA düzeyleri
Suryavanshi S, 2013 (77)	plazma	14 EİOK 33 endometriozis 20 sağlıklı kontrol olguları	Artmış düzeyde (↑) miR-15b, miR-16, miR-21 ve miR-195
Dong M, 2015 (79)	Serum ve doku	12 EİOK 12 endometriozis 12 sağlıklı kontrol olguları	Artmış düzeyde (↑) miR-191
Tian X, 2015 (73)	Doku	10 EİOK 10 ovaryan endometrioma 10 sağlıklı kontrol olguları	Artmış düzeyde (↑) miR-191
Nakamura N, 2020 (78)	Serum ve asit sıvısı	7 EİOK (4 endometrioid Ca + 3 Berrak Hücreli Ca) 34 ovaryan endometrioma	Artmış düzeyde (↑) miR-486-5p

Sheikhvatan ve ark. ait yakın zamanda yayınlanan bir derleme makalede, deneysel çalışmalar, klinik çalışmalar, önceki derlemeler ve olgu serileri kapsamlı bir şekilde gözden geçirilmiş ve biyoinformatik analiz eşliğinde, endometriozisten malign over karsinomuna transformasyon süreci araştırılmıştır (79). Buna göre, bu malign transformasyonda etkili olan miRNA'lar arasında, miR-141 ekspresyonunda artış ile miR-205 ve miR-125b'deki ekspresyon azalmaları önemli saptanmıştır.

Sonuç olarak, günümüzde, endometriozisin erken tanısında, yeterli spesifite ve sensitiviteyi sağlayabilecek miRNA panelleri önerilmekle birlikte, henüz rutin kullanımda yer bulabilmiş değildir. Endometriozisli hangi olgulardan EİOK gelişeceğini öngörebilecek miRNA'ların

belirlenmesinde, insan doku ve biyolojik sıvılarında daha fazla sayıda çalışmaya ihtiyaç görülmektedir.

## KAYNAKLAR

1. Bird A. Perceptions of epigenetics. *Nature*. 2007 May 24;447(7143):396–8.
2. Feinberg AP, Ohlsson R, Henikoff S. The epigenetic progenitor origin of human cancer. *Nat Rev Genet*. 2006 Jan;7(1):21–33.
3. Choi JD, Lee J-S. Interplay between Epigenetics and Genetics in Cancer. *Genomics Inform*. 2013 Dec;11(4):164–73.
4. Holliday R. Epigenetics: a historical overview. *Epigenetics*. 2006 Jun;1(2):76–80.
5. Ducasse M, Brown MA. Epigenetic aberrations and cancer. *Mol Cancer*. 2006 Nov 8;5:60.
6. Lagos-Quintana M, Rauhut R, Lendeckel W, Tuschl T. Identification of novel genes coding for small expressed RNAs. *Science*. 2001 Oct 26;294(5543):853–8.
7. Szymański M, Barciszewska MZ, Zywicki M, Barciszewski J. Noncoding RNA transcripts. *J Appl Genet*. 2003;44(1):1–19.
8. Agrawal S, Tapmeier T, Rahmioglu N, Kirtley S, Zondervan K, Becker C. The miRNA Mirage: How Close Are We to Finding a Non-Invasive Diagnostic Biomarker in Endometriosis? A Systematic Review. *Int J Mol Sci*. 2018 Feb 17;19(2):E599.
9. Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell*. 1993 Dec 3;75(5):843–54.
10. Chalfie M, Horvitz HR, Sulston JE. Mutations that lead to reiterations in the cell lineages of *C. elegans*. *Cell*. 1981 Apr;24(1):59–69.
11. Ambros V. A hierarchy of regulatory genes controls a larva-to-adult developmental switch in *C. elegans*. *Cell*. 1989 Apr 7;57(1):49–57.
12. Krol J, Loedige I, Filipowicz W. The widespread regulation of microRNA biogenesis, function and decay. *Nat Rev Genet*. 2010 Sep;11(9):597–610.
13. Ambros V. The functions of animal microRNAs. *Nature*. 2004 Sep 16;431(7006):350–5.
14. Rupaimoole R, Han H-D, Lopez-Berestein G, Sood AK. MicroRNA therapeutics: principles, expectations, and challenges. *Chin J Cancer*. 2011 Jun;30(6):368–70.
15. Eulalio A, Huntzinger E, Izaurralde E. Getting to the root of miRNA-mediated gene silencing. *Cell*. 2008 Jan 11;132(1):9–14.
16. Calin GA, Dumitru CD, Shimizu M, Bichi R, Zupo S, Noch E, et al. Frequent deletions and down-regulation of micro-RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002 Nov 26;99(24):15524–9.
17. Cuneo A, Bigoni R, Negrini M, Bullrich F, Veronese ML, Roberti MG, et al. Cytogenetic and interphase cytogenetic characterization of atypical chronic lymphocytic leukemia carrying BCL1 translocation. *Cancer Res*. 1997 Mar 15;57(6):1144–50.
18. Kunej T, Godnic I, Horvat S, Zorc M, Calin GA. Cross talk between microRNA and coding cancer genes. *Cancer J Sudbury Mass*. 2012 Jun;18(3):223–31.
19. Cowland JB, Hother C, Grønbaek K. MicroRNAs and cancer. *APMIS Acta Pathol Microbiol Immunol Scand*. 2007 Oct;115(10):1090–106.
20. Di Leva G, Calin GA, Croce CM. MicroRNAs: fundamental facts and involvement in human diseases. *Birth Defects Res Part C Embryo Today Rev*. 2006 Jun;78(2):180–9.
21. Sethi S, Sethi S, Bluth MH. Clinical Implication of MicroRNAs in Molecular Pathology: An Update for 2018. *Clin Lab Med*. 2018 Jun;38(2):237–51.
22. Ota A, Tagawa H, Karnan S, Tsuzuki S, Karpas A, Kira S, et al. Identification and characterization of a novel gene, C13orf25, as a target for 13q31-q32 amplification in malignant lymphoma. *Cancer Res*. 2004 May 1;64(9):3087–95.
23. Croce CM. Causes and consequences of microRNA dysregulation in cancer. *Nat Rev Genet*. 2009 Oct;10(10):704–14.

24. Johnson SM, Grosshans H, Shingara J, Byrom M, Jarvis R, Cheng A, et al. RAS is regulated by the let-7 microRNA family. *Cell*. 2005 Mar 11;120(5):635–47.
25. Lee YS, Dutta A. The tumor suppressor microRNA let-7 represses the HMGA2 oncogene. *Genes Dev*. 2007 May 1;21(9):1025–30.
26. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell*. 2000 Jan 7;100(1):57–70.
27. George GP, Mittal RD. MicroRNAs: Potential biomarkers in cancer. *Indian J Clin Biochem IJCB*. 2010 Jan;25(1):4–14.
28. Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, Fritz BR, Wyman SK, Pogosova-Agadjanyan EL, et al. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008 Jul 29;105(30):10513–8.
29. Chen X, Ba Y, Ma L, Cai X, Yin Y, Wang K, et al. Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases. *Cell Res*. 2008 Oct;18(10):997–1006.
30. Sahebi R, Langari H, Fathinezhad Z, Bahari Sani Z, Avan A, Ghayour Mobarhan M, et al. Exosomes: New insights into cancer mechanisms. *J Cell Biochem*. 2020 Jan;121(1):7–16.
31. Vannini I, Fanini F, Fabbri M. Emerging roles of microRNAs in cancer. *Curr Opin Genet Dev*. 2018 Feb;48:128–33.
32. Arroyo JD, Chevillet JR, Kroh EM, Ruf IK, Pritchard CC, Gibson DF, et al. Argonaute2 complexes carry a population of circulating microRNAs independent of vesicles in human plasma. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011 Mar 22;108(12):5003–8.
33. Turchinovich A, Weiz L, Langheinz A, Burwinkel B. Characterization of extracellular circulating microRNA. *Nucleic Acids Res*. 2011 Sep 1;39(16):7223–33.
34. Foss KM, Sima C, Ugolini D, Neri M, Allen KE, Weiss GJ. miR-1254 and miR-574-5p: serum-based microRNA biomarkers for early-stage non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol Off Publ Int Assoc Study Lung Cancer*. 2011 Mar;6(3):482–8.
35. Zheng D, Haddadin S, Wang Y, Gu L-Q, Perry MC, Freter CE, et al. Plasma microRNAs as novel biomarkers for early detection of lung cancer. *Int J Clin Exp Pathol*. 2011 Aug 15;4(6):575–86.
36. Chen X, Hu Z, Wang W, Ba Y, Ma L, Zhang C, et al. Identification of ten serum microRNAs from a genome-wide serum microRNA expression profile as novel noninvasive biomarkers for nonsmall cell lung cancer diagnosis. *Int J Cancer*. 2012 Apr 1;130(7):1620–8.
37. Shen C, Ipsaro JJ, Shi J, Milazzo JP, Wang E, Roe J-S, et al. NSD3-Short Is an Adaptor Protein that Couples BRD4 to the CHD8 Chromatin Remodeler. *Mol Cell*. 2015 Dec 17;60(6):847–59.
38. Wang S-NT. Prognostic Factors for Overall Survival and Risk Stratification of Prostate Cancer Patients with Biochemical Failure. Electronic Thesis and Dissertation Repository 3223 [Internet]. 2015; Available from: <https://ir.lib.uwo.ca/etd/3223>
39. Chen M, Calin GA, Meng QH. Circulating microRNAs as Promising Tumor Biomarkers. *Adv Clin Chem*. 2014;67:189–214.
40. Cheng G. Circulating miRNAs: roles in cancer diagnosis, prognosis and therapy. *Adv Drug Deliv Rev*. 2015 Jan;81:75–93.
41. Li J, Smyth P, Flavin R, Cahill S, Denning K, Aherne S, et al. Comparison of miRNA expression patterns using total RNA extracted from matched samples of formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) cells and snap frozen cells. *BMC Biotechnol*. 2007 Jun 29;7:36.
42. Xi Y, Nakajima G, Gavin E, Morris CG, Kudo K, Hayashi K, et al. Systematic analysis of microRNA expression of RNA extracted from fresh frozen and formalin-fixed paraffin-embedded samples. *RNA N Y N*. 2007 Oct;13(10):1668–74.
43. Gambari R, Brognara E, Spandidos DA, Fabbri E. Targeting oncomiRNAs and mimicking tumor suppressor miRNAs: New trends in the development of miRNA therapeutic strategies in oncology (Review). *Int J Oncol*. 2016 Jul;49(1):5–32.

44. Matias-Guiu X, Stewart CJR. Endometriosis-associated ovarian neoplasia. *Pathology (Phila)*. 2018 Feb;50(2):190–204.
45. Carvalho L, Podgaec S, Bellodi-Privato M, Falcone T, Abrão MS. Role of eutopic endometrium in pelvic endometriosis. *J Minim Invasive Gynecol*. 2011 Aug;18(4):419–27.
46. May KE, Villar J, Kirtley S, Kennedy SH, Becker CM. Endometrial alterations in endometriosis: a systematic review of putative biomarkers. *Hum Reprod Update*. 2011 Oct;17(5):637–53.
47. Bondza PK, Maheux R, Akoum A. Insights into endometriosis-associated endometrial dysfunctions: a review. *Front Biosci Elite Ed*. 2009 Jun 1;1:415–28.
48. Nilbert M, Pejovic T, Mandahl N, Iosif S, Willén H, Mitelman F. Monoclonal origin of endometriotic cysts. *Int J Gynecol Cancer Off J Int Gynecol Cancer Soc*. 1995 Jan;5(1):61–3.
49. Yano T, Jimbo H, Yoshikawa H, Tsutsumi O, Taketani Y. Molecular analysis of clonality in ovarian endometrial cysts. *Gynecol Obstet Invest*. 1999;47 Suppl 1:41–5; discussion 46.
50. Soong TR, Dinulescu DM, Xian W, Crum CP. Frontiers in the Pathology and Pathogenesis of Ovarian Cancer: Cancer Precursors and 'Precursor Escape'. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2018 Dec;32(6):915–28.
51. Taniguchi F. New knowledge and insights about the malignant transformation of endometriosis. *J Obstet Gynaecol Res*. 2017 Jul;43(7):1093–100.
52. Gaia-Oltean AI, Braicu C, Gulei D, Ciortea R, Miha D, Roman H, et al. Ovarian endometriosis, a precursor of ovarian cancer: Histological aspects, gene expression and microRNA alterations (Review). *Exp Ther Med*. 2021 Mar;21(3):243.
53. Testa U, Petrucci E, Pasquini L, Castelli G, Pelosi E. Ovarian Cancers: Genetic Abnormalities, Tumor Heterogeneity and Progression, Clonal Evolution and Cancer Stem Cells. *Med Basel Switz*. 2018 Feb 1;5(1):E16.
54. Wendel JRH, Wang X, Hawkins SM. The Endometriotic Tumor Microenvironment in Ovarian Cancer. *Cancers*. 2018 Aug 7;10(8):E261.
55. Bulletti C, Coccia ME, Battistoni S, Borini A. Endometriosis and infertility. *J Assist Reprod Genet*. 2010 Aug;27(8):441–7.
56. Oliva E. WHO classifications of tumours Editorial Board. Female genital tumours. Endometriosis and related conditions. In: 5th ed. 2020. p. 169–73.
57. Agarwal SK, Chapron C, Giudice LC, Laufer MR, Leyland N, Missmer SA, et al. Clinical diagnosis of endometriosis: a call to action. *Am J Obstet Gynecol*. 2019 Apr;220(4):354.e1-354.e12.
58. Amalinei C, Păvăleanu I, Lozneau L, Balan R, Giuşcă S-E, Căruntu I-D. Endometriosis - insights into a multifaceted entity. *Folia Histochem Cytobiol*. 2018;1(2):61–82.
59. Anastasiu CV, Moga MA, Elena Neculau A, Bălan A, Scârneciu I, Dragomir RM, et al. Biomarkers for the Noninvasive Diagnosis of Endometriosis: State of the Art and Future Perspectives. *Int J Mol Sci*. 2020 Mar 4;21(5):1750.
60. Mihalyi A, Gevaert O, Kyama CM, Simsa P, Pochet N, De Smet F, et al. Non-invasive diagnosis of endometriosis based on a combined analysis of six plasma biomarkers. *Hum Reprod*. 2010 Mar 1;25(3):654–64.
61. Agic A, Djalali S, Wolfler MM, Halis G, Diedrich K, Hornung D. Combination of CCR1 mRNA, MCP1, and CA125 Measurements in Peripheral Blood as a Diagnostic Test for Endometriosis. *Reprod Sci*. 2008 Nov;15(9):906–11.
62. Vodolazkaia A, El-Aalamat Y, Popovic D, Mihalyi A, Bossuyt X, Kyama CM, et al. Evaluation of a panel of 28 biomarkers for the non-invasive diagnosis of endometriosis. *Hum Reprod*. 2012 Sep 1;27(9):2698–711.
63. Tamaru S, Kajihara T, Mizuno Y, Mizuno Y, Tochigi H, Ishihara O. Endometrial microRNAs and their aberrant expression patterns. *Med Mol Morphol*. 2020 Sep;53(3):131–40.
64. Wu X, Ruan Y, Jiang H, Xu C. MicroRNA-424 inhibits cell migration, invasion, and epithelial mesenchymal transition by downregulating doublecortin-like kinase 1 in ovarian clear cell carcinoma. *Int J Biochem Cell Biol*. 2017 Apr;85:66–74.



65. Hsu C, Hsieh T, Er T, Chen H, Tsai C, Tsai E. MiR-381 regulates cell motility, growth and colony formation through PIK3CA in endometriosis-associated clear cell and endometrioid ovarian cancer. *Oncol Rep* [Internet]. 2018 Oct 9 [cited 2021 Jul 13]; Available from: <http://www.spandidos-publications.com/10.3892/or.2018.6779>
66. Hua F. miR-191 Modulates Malignant Transformation of Endometriosis Through Regulating TIMP3. *Med Sci Monit*. 2015;21:915–20.
67. Sun Y, Hu L, Zheng H, Bagnoli M, Guo Y, Rupaimoole R, et al. MiR-506 inhibits multiple targets in the epithelial-to-mesenchymal transition network and is associated with good prognosis in epithelial ovarian cancer: MiR-506 inhibits EMT through multiple targets in OvCa. *J Pathol*. 2015 Jan;235(1):25–36.
68. Vilming Elgaaen B, Olstad OK, Haug KBF, Brusletto B, Sandvik L, Staff AC, et al. Global miRNA expression analysis of serous and clear cell ovarian carcinomas identifies differentially expressed miRNAs including miR-200c-3p as a prognostic marker. *BMC Cancer*. 2014 Dec;14(1):80.
69. Zhang X, Guo G, Wang G, Zhao J, Wang B, Yu X, et al. Profile of differentially expressed miRNAs in high-grade serous carcinoma and clear cell ovarian carcinoma, and the expression of miR-510 in ovarian carcinoma. *Mol Med Rep*. 2015 Dec;12(6):8021–31.
70. Yanaihara N, Noguchi Y, Saito M, Takenaka M, Takakura S, Yamada K, et al. MicroRNA Gene Expression Signature Driven by miR-9 Overexpression in Ovarian Clear Cell Carcinoma. Guan X-Y, editor. *PLOS ONE*. 2016 Sep 9;11(9):e0162584.
71. Sugio A, Iwasaki M, Habata S, Mariya T, Suzuki M, Osogami H, et al. BAG3 upregulates Mcl-1 through downregulation of miR-29b to induce anticancer drug resistance in ovarian cancer. *Gynecol Oncol*. 2014 Sep;134(3):615–23.
72. Dai F, Zhang Y, Chen Y. Involvement of miR-29b signaling in the sensitivity to chemotherapy in patients with ovarian carcinoma. *Hum Pathol*. 2014 Jun;45(6):1285–93.
73. Tian X, Xu L, Wang P. MiR-191 inhibits TNF- $\alpha$  induced apoptosis of ovarian endometriosis and endometrioid carcinoma cells by targeting DAPK1. *Int J Clin Exp Pathol*. 2015;8(5):4933–42.
74. Calura E, Fruscio R, Paracchini L, Bignotti E, Ravaggi A, Martini P, et al. miRNA Landscape in Stage I Epithelial Ovarian Cancer Defines the Histotype Specificities. *Clin Cancer Res*. 2013 Aug 1;19(15):4114–23.
75. Zhao H, Ding Y, Tie B, Sun Z-F, Jiang J-Y, Zhao J, et al. miRNA expression pattern associated with prognosis in elderly patients with advanced OPSC and OCC. *Int J Oncol*. 2013 Sep;43(3):839–49.
76. Teng Y, Su X, Zhang X, Zhang Y, Li C, Niu W, et al. miRNA-200a/c as potential biomarker in epithelial ovarian cancer (EOC): evidence based on miRNA meta-signature and clinical investigations. *Oncotarget*. 2016 Dec 6;7(49):81621–33.
77. Suryawanshi S, Vlad AM, Lin H-M, Mantia-Smaldone G, Laskey R, Lee M, et al. Plasma MicroRNAs as Novel Biomarkers for Endometriosis and Endometriosis-Associated Ovarian Cancer. *Clin Cancer Res*. 2013 Mar 1;19(5):1213–24.
78. Nakamura N, Terai Y, Nunode M, Kokunai K, Konishi H, Taga S, et al. The differential expression of miRNAs between ovarian endometrioma and endometriosis-associated ovarian cancer. *J Ovarian Res*. 2020 Dec;13(1):51.
79. Dong M, Yang P, Hua F. MiR-191 modulates malignant transformation of endometriosis through regulating TIMP3. *Med Sci Monit Int Med J Exp Clin Res*. 2015 Mar 28;21:915–20.
80. Shekhvatan M, Chaichian S, Moazzami B. A Systematic Review and Bioinformatics Study on Genes and micro-RNAs Involving the Transformation of Endometriosis into Ovarian Cancer. *MicroRNA Shariqah United Arab Emir*. 2020;9(2):101–11.
81. Jia S-z., Yang Y, Lang J, Sun P, Leng J. Plasma miR-17-5p, miR-20a and miR-22 are down-regulated in

- women with endometriosis. *Hum Reprod.* 2013 Feb 1;28(2):322–30.
82. Wang W-T, Zhao Y-N, Han B-W, Hong S-J, Chen Y-Q. Circulating MicroRNAs Identified in a Genome-Wide Serum MicroRNA Expression Analysis as Noninvasive Biomarkers for Endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013 Jan;98(1):281–9.
  83. Rekker K, Saare M, Roost AM, Kaart T, Sõritsa D, Karro H, et al. Circulating miR-200-family microRNAs have altered plasma levels in patients with endometriosis and vary with blood collection time. *Fertil Steril.* 2015 Oct;104(4):938-946.e2.
  84. Cho S, Mutlu L, Grechukhina O, Taylor HS. Circulating microRNAs as potential biomarkers for endometriosis. *Fertil Steril.* 2015 May;103(5):1252-1260.e1.
  85. Cosar E, Mamillapalli R, Ersoy GS, Cho S, Seifer B, Taylor HS. Serum microRNAs as diagnostic markers of endometriosis: a comprehensive array-based analysis. *Fertil Steril.* 2016 Aug;106(2):402–9.
  86. Nisenblat V, Sharkey DJ, Wang Z, Evans SF, Healey M, Ohlsson Teague EMC, et al. Plasma miRNAs Display Limited Potential as Diagnostic Tools for Endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2019 Jun 1;104(6):1999–2022.
  87. Burney RO, Hamilton AE, Aghajanova L, Vo KC, Nezhat CN, Lessey BA, et al. MicroRNA expression profiling of eutopic secretory endometrium in women with versus without endometriosis. *MHR Basic Sci Reprod Med.* 2009 Oct;15(10):625–31.
  88. Hsu C-Y, Hsieh T-H, Tsai C-F, Tsai H-P, Chen H-S, Chang Y, et al. miRNA-199a-5p regulates VEGFA in endometrial mesenchymal stem cells and contributes to the pathogenesis of endometriosis: miRNA99a-5p in endometriosis. *J Pathol.* 2014 Feb;232(3):330–43.
  89. Wang L, Huang W, Ren C, Zhao M, Jiang X, Fang X, et al. Analysis of Serum microRNA Profile by Solexa Sequencing in Women With Endometriosis. *Reprod Sci.* 2016 Oct;23(10):1359–70