

## Kan Plazmasında Satelit-2 Tekrar Elementi DNA Dizilerinin Karakterizasyonu

Emre ÖZGÜR\*, Anıl YILDIZ\*\*, Süleyman BADEMLER\*\*\*, Uğur GEZER\*\*\*\*

### Öz

**Amaç:** Son yıllarda tıp biliminin farklı disiplinlerinde sıkça karşılaşılan kavramlardan biri olan “sıvı biyopsi”, hastaların tanı, prognoz analizi ve tedaviye cevabını değerlendirme gibi konularda girişimsel doku biyopsisi yerine, kan ve çeşitli vücut sıvılarındaki moleküler ve epigenetik biyobelirteçlerin kullanılmasını içerir. Dolaşımda serbest halde dolaşan DNA’da (‘cell-free DNA’, cfDNA) kanser hücrelerine özgü gen mutasyonlarının saptanması, kanser hücrelerinin içeriğinin vücut sıvılarına geçtiğinin kesin kanıtı olarak kabul edilmektedir. cfDNA’nın bileşiminin belirlenmesine yönelik dizileme çalışmaları, perisentrik satelit DNA dizilerinin, cfDNA’da genom oranlarına kıyasla daha fazla oranda temsil edildiğini bildirmiştir. Bu çalışmada, kanser açısından spesifik dizilerin saptanması amacıyla, Sat-2 dizilerinin polimeraz zincir reaksiyonunda (PCR) çoğaltılmaları sonrasında daha detaylı karakterizasyonu amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Çalışmada, sağlıklı ve metastatik meme kanserli hastaların plazmalarından 1. ve 10. kromozoma spesifik Sat-2 dizileri PCR ile çoğaltıldıktan sonra, otomatik elektroforez sisteminde ayrıştırıldılar.

**Bulgular:** Yapılan büyüklük analizinde, iki bölgeden çok sayıda amplicon oluştuğu, bunların yaklaşık %50’ni sırasıyla 143 ve 115 bp uzunluğunda ürünlerin oluşturduğu belirlenmiştir. Bu iki PCR ampliconunun miktarı meme kanserli hastalarda daha yüksek olarak hesaplandı. Onuncu kromozoma özgü 115 bp’lik fargman dışındaki Sat-2 dizileri açısından kontroller ile hastalar arasında önemli farklar olduğu belirlenmiştir.

**Sonuç:** Çalışma kapsamında elde edilen bulgular, Sat-2 tekrar elementine ait DNA dizilerinin sekanslanması sonrası kansere spesifik hedef bölgelerin saptanabileceğini ortaya koymaktadır.

### Özgün Araştırma Makalesi (Original Research Article)

**Geliş / Received:** 18.04.2022 & **Kabul / Accepted:** 16.12.2022

**DOI:** <https://doi.org/10.38079/igusabder.1105142>

\* Arş. Gör., Dr., İstanbul Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü, Temel Onkoloji Anabilim Dalı, Çapa, İstanbul, Türkiye,

E-posta: [emre.ozgur.86@istanbul.edu.tr](mailto:emre.ozgur.86@istanbul.edu.tr) [ORCID https://orcid.org/00000002-4995-4759](https://orcid.org/00000002-4995-4759)

\*\* Dr., İstanbul Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü, Klinik Onkoloji Anabilim Dalı, Çapa, İstanbul, Türkiye,

E-posta: [anilyildiz@live.com](mailto:anilyildiz@live.com) [ORCID https://orcid.org/0000-0002-6402-4445](https://orcid.org/0000-0002-6402-4445)

\*\*\* Doç. Dr., İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Çapa, İstanbul, Türkiye,

E-posta: [sbademler@gmail.com](mailto:sbademler@gmail.com) [ORCID https://orcid.org/0000-0002-0221-7153](https://orcid.org/0000-0002-0221-7153)

\*\*\*\* Prof. Dr., İstanbul Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü, Temel Onkoloji Anabilim Dalı, Çapa, İstanbul, Türkiye,

E-posta: [ugurd@istanbul.edu.tr](mailto:ugurd@istanbul.edu.tr) [ORCID https://orcid.org/0000-0001-8471-5254](https://orcid.org/0000-0001-8471-5254)

**ETİK BİLDİRİM:** Retrospektif özellikte olan çalışma, İstanbul Üniversitesi, Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından 25/02/2022 tarih ve 04 sayılı kararı ile onaylanmış ve Helsinki Bildirgesi’ne uygun olarak yürütülmüş olup önceki çalışmalar kapsamında arşivlenmiş hasta ve kontrol bireylerine ait plazma örnekleri kullanılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Kanser, Sat-2, likit biyopsi.

## Characterization of Satellite-2 Repeat Element DNA Sequences in Blood Plasma

### Abstract

**Aim:** 'Liquid biopsy', which is one of the concepts frequently encountered in different disciplines of medical science in recent years, involves the use of molecular and epigenetic biomarkers in blood and various body fluids instead of interventional tissue biopsy in subjects such as diagnosis, prognosis analysis and evaluation of response to treatment. Detection of gene mutations specific to cancer cells in DNA ('cell-free DNA', cfDNA) circulating freely is accepted as definitive proof that the contents of cancer cells pass into body fluids. Sequencing studies to determine the composition of cfDNA have reported that pericentric satellite DNA sequences are overrepresented in cfDNA compared to genome ratios. In this study, aimed to further characterize Sat-2 sequences after amplification in a polymerase chain reaction (PCR) in order to detect cancer-specific sequences.

**Method:** In the study, the 1st and 10th chromosome-specific Sat-2 sequences from the plasma of healthy and metastatic breast cancer patients were amplified by PCR and separated in an automated electrophoresis system.

**Results:** In the size analysis, it was determined that a large number of amplicons were formed from the two regions, approximately 50% of which were 143 and 115 bp long products, respectively. The amount of these two PCR amplicons was calculated to be higher in patients with breast cancer. It was determined that there were significant differences between controls and patients in terms of Sat-2 sequences, except for the 115 bp fragment specific to the tenth chromosome.

**Conclusion:** The findings obtained within the scope of the study reveal that cancer-specific target regions can be detected after sequencing the DNA sequences of the Sat-2 repeat element.

**Keywords:** Cancer, Sat-2, liquid biopsy.

### Giriş

“Sıvı biyopsi” son yıllarda tıp biliminin farklı disiplinlerinde (özellikle onkoloji, kardiyoloji ve prenatal tanı) sıkça karşımıza çıkan kavramlardan birini oluşturmaktadır. Tanım olarak sıvı biyopsi, hastaların tanı, prognoz analizi ve tedaviye cevabını değerlendirme gibi konularda girişimsel doku biyopsisi yerine, kan ve çeşitli vücut sıvılarındaki moleküler ve epigenetik biyobelirteçlerin kullanılmasını içerir<sup>1</sup>.

Kanın hücre içermeyen kısımlarında, yani serum veya plazmada, DNA'nın varlığı 1940'lardan bu yana bilinmesine karşın, 'hücre dışı' ortamda serbest halde dolaşan DNA'nın (cfDNA, 'cell-free DNA') kökeni ve bileşiminin anlaşılması ve çeşitli patolojik durumlarda minimal invaziv belirteç adayları olarak potansiyelinin gösterilmesi son 20-25 yılda gerçekleşmiştir<sup>2</sup>. Dolaşımda serbest

olarak dolaşan moleküller arasında sadece DNA bulunmaz; mRNA ve kodlamayan RNA'ları da içeren farklı tip RNA'lar da serbest nükleik asitler olarak çeşitli vücut sıvılarında bulunurlar<sup>1</sup>. 1989 yılında, kanserli hastaların plazma örneklerinde, "azalmış zincir stabilitesine" sahip kanser hücresi DNA'sının varlığından yola çıkarak, kanserli hastalarda plazma cfDNA'sının bir bölümünün kanser hücrelerinden köken aldığı gösterilmesi bu konuda bir milat olmuş<sup>3</sup>; bunun akabinde cfDNA'da tümör hücrelerine spesifik gen mutasyonları saptanmıştır<sup>4</sup>. Takip eden yıllardaki sayısız çalışma, kanser hücrelerinin dolaşıma saptanabilir miktarlarda cfDNA saldıgını; daha da önemlisi, cfDNA fragmanlarının bir kısmının, köken aldıkları kanser hücrelerinin genetik ve epigenetik profilini barındırdığını doğrulamıştır<sup>2</sup>. cfDNA'nın bir kısmının kanser hücrelerinden kaynaklandığına dair bu kesin kanıt, kanserin erken saptanması ve diagnozu ve antikanser terapötik stratejilerinin etkinliğinin izlenmesinde umut verici bir biyobelirteç olarak kabul edilen cfDNA ile ilgili araştırmaların artması ile sonuçlanmıştır<sup>5</sup>.

Son 20 yılda DNA dizileme ve biyoinformatik alanında yaşanan gelişmeler cfDNA bileşiminin daha iyi karakterize edilmesini sağlamıştır<sup>6</sup>. Tekrarlayan DNA elementleri (terminal tekrar (LTR) taşıyan retrotranpoze elementler, LTR taşımayan retrotranpoze elementler, çeşitli satellit DNA dizileri vd.), insan genomunun %50'sinden fazlasını oluşturduğundan, cfDNA'nın da büyük bölümünün tekrarlayan dizilerden oluşması beklenebilir. Nitekim bu konuda yapılan birçok dizileme çalışması bunu teyit etmiştir<sup>7-9</sup>. Son yapılan çalışmaların birinde ise<sup>10</sup>, serum/plazmadaki cfDNA bileşimi ile insan genomunun karşılık gelen DNA dizi bileşimi arasında önemli farklılıklar olduğu ortaya konmuştur. İnsan genomundaki oranları ile karşılaştırıldığında, özellikle retrotranspoze elementler ile perisentrik satellit DNA dizilerinin, cfDNA'da daha fazla oranda temsil edildiğini bildirmiştir. Adı geçen çalışmada, insan genomunun %1'inden daha azını oluşturan perisentrik satellitlerin, sağlıklı bireylerin plazma DNA'larında, genomdaki oranlarına göre %2230 kat daha fazla buldukları belirlenmiştir. Diğer taraftan, bu dizilerin cfDNA'daki bu şaşırtıcı özelliğine ek olarak, perisentrik satellitlerin tümör hücrelerinde RNA-kökenli DNA ara ürünleri ('RNA-derived DNA intermediates') aracılığıyla kopya sayısını artırdığı raporlanmıştır<sup>11</sup>. Bu iki durum, yani fizyolojik koşullarda cfDNA'da yüksek oranda temsil edilme ve tümör hücrelerinde kopya sayısındaki genişleme, perisentrik satellitleri, kanserli hastaları içeren sıvı biyopsi çalışmalarında ideal bir belirteç haline getirmektedir.

2021 yılında yayınlanan çalışmada (Özgür et al. 2021)<sup>12</sup>, perisentrik satellitlerden biri olup ATTCC motifini içeren bir dizinin, genomda ardışık tekrarı olan 'insan satellit 2'nin (Sat-2) çeşitli insan kanserlerinden hastaların plazma DNA'larında kontrol bireylerinkine göre önemli ölçüde daha fazla oranda bulunduğu gösterilmiştir. Sunulan çalışmada ise, sağlıklı ve metastatik meme kanserli hastalarda 1. ve 10. kromozoma spesifik Sat-2 dizilerinin polimeraz zincir reaksiyonunda çoğaltılmaları sonrasında daha detaylı karakterizasyonunu amaçladık. Sat-2 tekrar elementinin daha detaylı analizi kanser açısından daha spesifik dizilerin saptanmasına yardımcı olabilecektir.

## **Gereç ve Yöntem**

### **Hasta Örnekleri**

Retrospektif özellikte olan çalışma, İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından 25/02/2022 tarih ve 04 sayılı kararı ile onaylanmış ve Helsinki Bildirgesi'ne uygun olarak yürütülmüş olup önceki çalışmalar kapsamında arşivlenmiş hasta ve kontrol bireylerine ait plazma örnekleri kullanılmıştır. Çalışma, metastatik meme kanserli hastalar (Hasta Grubu) ile sağlıklı kadınları (Kontrol Grubu) içeren bir kohortta yapıldı. Her 2 grup 10'ar bireyden oluşturuldu. Medyan yaşlar, sırasıyla 61 ve 54 idi. Araştırmaya katılmaya gönüllü hastalara bilgilendirilmiş gönüllü olur formu okutulup imzalatılmıştır.

### **Plazmadan DNA İzolasyonu**

Hasta ve kontrollere ait plazma örnekleri -80 °C dondurucudan çıkartılarak buz üzerinde erimeleri sağlandı. DNA izolasyonu için 200 µl plazma kullanıldı; bu amaçla ticari olarak temin edilen 'spin kolon'-temelli kit kullanıldı (NucleoSpin Plasma XS kit, Macherey Nagel, Germany). DNA izolasyonu kitin protokolüne göre gerçekleştirildi. İzole edilen DNA örnekleri -20 °C'de muhafaza edildi.

### **Polimeraz Zincir Reaksiyonu**

Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), kürsümüzde bulunan LightCycler 480 PCR (Roche Diagnostics, Mannheim, Almanya) cihazı ile gerçekleştirildi. SYBR Green floresan boya olarak kullanılarak boya bazlı PCR amplifikasyon reaksiyonu gerçekleştirildi. Bu amaçla ticari olarak temin edilen Power SYBR Green PCR Master Mix (Life Technologies, Carlsbad, CA, ABD) kullanıldı. Amplifikasyon sonrası hedef dizilerin çoğaldığını teyit etmek ve primer dimerleri dışlamak amacıyla erime eğrileri üretildi. PCR koşulları SYBR Green Master kitinin protokolüne göre oluşturuldu. Yapışma ('annealing') sıcaklığı 58 °C olarak ayarlandı. Hedef bölgeleri çoğaltmak için bir önceki çalışmada yararlandığımız primerler kullanıldı<sup>12</sup>.

### **PCR Ürünlerinin Otomatize Elektroforez Sisteminde Analizi**

PCR ürünlerinin otomatize elektroforez sisteminde analizi Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies, Santa Clara, ABD) cihazında gerçekleştirildi. Otomatize elektroforez sistemi, nükleik asitlerin büyüklük analizi, miktar tayini, bütünlük ve saflığının değerlendirilmesi amacıyla, agaroz jellere alternatif olup, hassas ve yüksek çözünürlüklü bir laboratuvar yöntemidir. DNA veya RNA gibi yüklü biyomoleküller, plaka jel elektroforezine benzer bir voltaj gradienti ile elektroforetik olarak yürütülür. Sabit bir kütle-yük oranı ve eleme polimer matrisinin varlığı nedeniyle, moleküller boyutlarına göre ayrışırlar. Ayrışan fragmanlar, lazer kaynaklı floresan ile tespit edilir. Bunun sonunda, veriler jel benzeri görüntülere (bantlar) ve elektroferogramlara (tepeler) dönüştürülür. Bilinen boyut ve konsantrasyonlarda marker yardımıyla, fragman

boyutuna karşı standart bir 'göç süresi eğrisi' çizilir. Böylece hedef numunedeki her bir fragman için ölçülen migrasyon sürelerine göre boyut ya da büyüklük hesaplanır. Bu sistemde, 15 ve 1500 bç uzunluğunda markerlar kullanılarak 25 ve 1000 bç aralığındaki fragmanlar analiz edilebilmektedir.

Çalışmada, PCR ampliconlarının büyük analizi için ticari olarak temin edilen DNA 1200 kiti (Agilent) kullanıldı. Her bir DNA örneğinden 1 µl chip gözeneklerine pipetlenerek cihaza yerleştirildi. Otomatik elektroforez sonrası fragmanlar uygun yazılım ile analiz edildi.

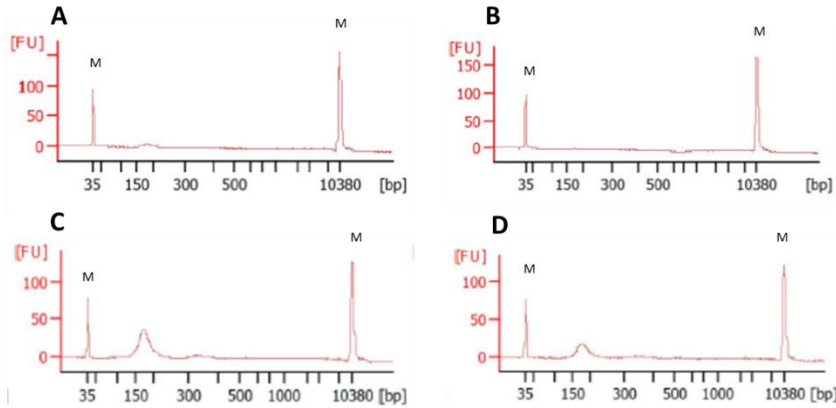
### İstatistiksel Analiz

Çalışmada gruplar arası karşılaştırmalar Mann-Whitney U testi ile yapıldı.  $p < 0,05$  anlamlı olarak kabul edildi.

### Bulgular

Hasta ve kontrol plazma örneklerinden DNA izole edildi. İzole edilen DNA'lar otomatize elektroforezde yürütüldü (Şekil 1). Şekilde, plazma DNA'sının 170-180 bç'lik bölgede yoğunlaştığı görülmektedir. Bu büyüklük aralığı, genomik DNA'nın apoptotik hücre ölümü sürecinde DNaz'lar tarafından yıkılması sonucu oluşan en küçük monomere denk gelmektedir. Beklendiği gibi, metastatik meme kanserli hastalarda (Şekil 1C ve D). Plazma DNA miktarının kontrollerden (Şekil 1A ve B) daha yüksek olduğu görülmektedir.

**Şekil 1.** Çalışma örneklerin plazma DNA'sının otomatik elektroforez ile analizi

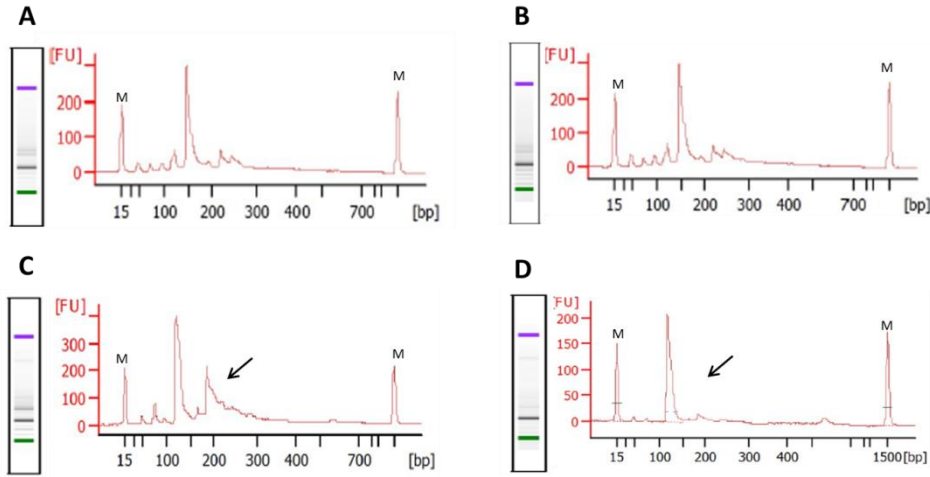


Temin edilen ticari kit yardımı ile plazmadan DNA izole edildi. Her bir örnekten 1 ul otomatik elektroforez sisteminde yürütüldü. A ve B, kontrol örneklerini, C ve D meme kanseri hasta örneklerini temsil etmektedir. M, marker.

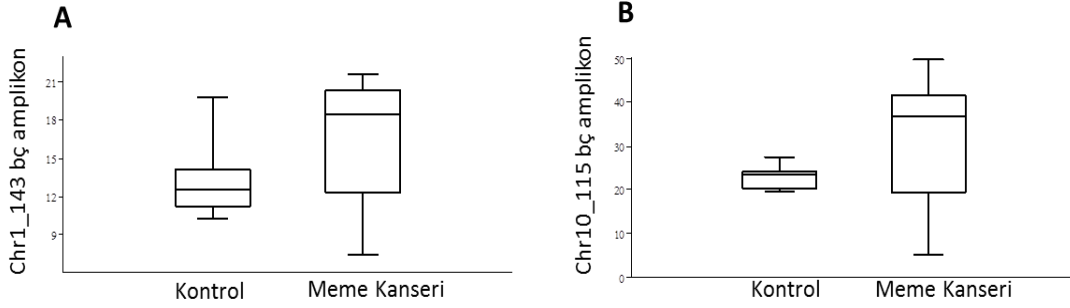
Bir çalışma<sup>13</sup> kapsamında elde edilen dizilerden yola çıkılarak tasarlanılan ve bu çalışmada kanserli hastaların plazmalarında anlamlı düzeyde daha yüksek miktarda bulunduğu gösterilen<sup>12</sup>,

1. ve 10. kromozomun perisentrik bölgesinden Sat-2 spesifik diziler, çalışma örneklerinde çoğaltıldı. Nicel PCR'da elde edilen PCR ürünleri otomatize elektroforez sisteminde büyüklük analizine tabi tutuldu. Şekil 2A ve B, birer sağlıklı ve hasta örneğinde 1. kromozoma özgü Sat-2, Şekil 2C ve D, birer sağlıklı ve hasta örneğinde 10. kromozoma Sat-2 ampliconlarını göstermektedir. Şekilde, 1. kromozomdan çoğaltılan bölgeden, uzunlukları 75 ile 309 bp arasında değişen 10 farklı ampliconun, 10. kromozomdan çoğaltılan bölgeden ise uzunlukları 75 ile 534 bp arasında değişen 14 farklı ampliconun olduğu görülmektedir. Otomatize elektroforez sisteminde yapılan miktar analizi, 1. kromozomdan elde edilen ampliconların yaklaşık %50'sinin 143 bp'lik fragmandan oluştuğunu göstermiştir. Benzer şekilde, 10. kromozomdan çoğaltılan bölgeden ise 115 bp'lik fragmanın, tüm ampliconlarının yaklaşık yarısını oluşturduğu görülmektedir. Adı geçen 2 ampliconun (143 ve 115 bp) kontrol ve hastalarda miktarları karşılaştırıldığında (Şekil 3), her ikisinin miktarının (ng/µl olarak) medyan değerlerinin meme kanserli hastalarda yaklaşık %50 oranında daha yüksek olduğu saptanmıştır. Ancak, muhtemelen örneklem büyüklüğünün küçük olması nedeniyle, istatistiksel anlamlılığa ulaşamamıştır (sırasıyla  $p=0,12$  ve  $p=0,14$ ). Diğer taraftan, 10. kromozomdan çoğaltılan Sat-2 ampliconları içinde, 115 bp'lik fragmana göre daha az miktarlarda olan ve büyüklükleri değişen birçok ampliconun miktarının hasta ve kontroller arasında farklılık gösterdiği ve kanserli hastalarda daha az bulunduğu gözlemlenmiştir (Şekil 2C ve 2D). Bu durum 10 hasta örneğinin 9'unda gözlenmiştir.

**Şekil 2.** Plazma DNA'sından çoğaltılan Sat-2 PCR ürünlerinin otomatik elektroforez ile analizi



Plazma DNA'ları kalıp olarak kullanılarak PCR ile Sat-2 dizleri çoğaltıldı. A ve B, sırasıyla 1. kromozomdan çoğaltılan kontrol ve hasta Sat-2 PCR ürünlerini, C ve D, sırasıyla 10. kromozomdan çoğaltılan kontrol ve hasta Sat-2 PCR ürünlerini temsil etmektedir. M, marker.

**Şekil 3.** Sat-2 PCR ürünlerinde en fazla bulunan fragmanların çalışma örneklerinde miktarları

Birinci ve 10. kromozomdan elde edilen ve miktarları en fazla olan 143 ve 115 bç'lik fragmanların otomatik elektroforez ile belirlenen miktarlarının kontrol ve hasta grubunda 'Box Plot' ile gösterimi. 'Box Plot', verilerin, ortanca değerler ile alt ve üst sınırlarını ve yüzdesel (%75) dağılımlarını göstermektedir.

### Tartışma

Genom dizileme ve biyoinformatik alanında yaşanan gelişmeler hem insan genomunun hem de cfDNA bileşenlerinin daha iyi tanımlanması ile sonuçlanmıştır. Yapılan dizileme çalışmaları, cfDNA'nın önemli bir bölümünün tekrarlayan elementlerden oluştuğunu ortaya koymuştur<sup>7-9</sup>. İlginç bir şekilde, serum/plazmadaki cfDNA bileşiminin, insan genomunun karşılık gelen DNA dizi bileşiminden önemli farklıklar içerdiği; özellikle retrotranspoze elementler ile perisentrik satelit DNA dizilerinin, cfDNA'da daha fazla oranda temsil edildiği bildirilmiştir<sup>10</sup>. Fizyolojik koşullarda cfDNA'da yüksek oranda temsil edilme perisentrik satelitleri kanserli hastaların sıvı biyopsisinde ideal bir belirteç haline getirmektedir. Güncel bir çalışmada, perisentrik satelitlerden biri olan Sat-2'nin çeşitli insan kanserlerinden hastaların plazma DNA'larında kontrol bireylerinkine göre önemli ölçüde daha fazla oranda bulunduğunu gösterdik<sup>12</sup>. Bu çalışmada, plazmadaki Sat-2 tekrar elementi DNA dizilerinden çoğaltılan bölgelerin daha detaylı analizi yapılarak kanser açısından daha spesifik dizilerin saptanması amaçlanmıştır.

Polimeraz zincir reaksiyonunda 1. ve 10. kromozomdan çoğaltılan Sat-2 dizilerinin çok sayıda amplicon ile sonuçlandığı görüldü. Her ne kadar seçilen primerler kendine özgü ('unique') baz dizisinden oluşsa da, bu beklenen bir sonuçtu, zira seçilen dizilerin insan genomunda birden fazla kopyası bulunmaktadır. Seçilen primerler ile elde edilen ampliconların otomatize elektroforez sisteminde analizi, 1. kromozomdan çoğaltılan Sat-2 dizilerinin %50'sinin 143 bç'lik fragmandan, 10. kromozomdan çoğaltılan bölgeden ise 115 bç'lik fargmanın tüm ampliconlarının yaklaşık yarısını oluşturduğu saptanmıştır. Bu ampliconların kontrol ve hastalarda miktarları karşılaştırıldığında her ikisinin miktarının meme kanserli hastalarda daha yüksek olduğu

belirlenmiştir. Kanserli hastalarda plazma DNA'sında Sat-2 dizilerinin miktarının artmış olması, kanserli hastalarda dolaşıma daha fazla DNA salınımı ve kanser hücrelerinde Sat-2 dizilerinin kopya sayısı artışının sonucu olması olasıdır<sup>14,15</sup>.

Onuncu kromozomdan çoğaltılan Sat-2 amplikonları içinde, 115 bç'lik fragmana göre daha az ürün oluşturan ve büyüklükleri değişen birçok amplikonun kanserli hastalarda daha az miktarlarda olduğu belirlenmiştir. İlginç şekilde, 115 bç'lik fragman hasta örneklerinde daha yüksek miktarlarda bulunurken, diğer birçok fragman daha düşük miktarlarda bulunmaktadır. Onuncu kromozomun perisentrik bölgesinde farklı lokalizasyonda bulunan dizilerin bir kısmının kopya sayısı artarken<sup>11</sup> diğer başka bölgelerde kopya sayısı kaybı gerçekleşmiş olabilir. Bu bulgular, bu amplikonların dizilenmesi gerekliliğini ortaya koymaktadır zira elde edilen PCR ürünlerinin dizilenmesi, her bir amplikonun DNA dizi bileşimi ve kromozom lokalizasyonu hakkında bilgi verici olacaktır.

## Sonuç

Kanserli hastalarda cfDNA'dan çoğaltılan Sat-2 dizilerinin daha detaylı analizi, kansere daha spesifik hedef bölgelerin saptanması mümkün kılacaktır. Onkolojide kullanımda olan mevcut biyobelirteçlerden hemen hiçbirinin kanser tarama ve erken saptama açısından yeterli özgüllük ve duyarlılık kriterini sağlamadığı düşünüldüğünde<sup>16,17</sup> Sat-2 temelli plazma biyobelirteçlerinin önemli potansiyel taşıdığını düşünülmektedir. Yukarıda ifade edildiği gibi, Sat-2 tekrar elementine özgü dizilerin plazma DNA'sında daha fazla temsil edilmesi<sup>10</sup> ve ayrıca kanser hücrelerinde kopya sayısının artması<sup>11</sup>, kanser spesifik tarama belirteçlerinin geliştirilmesi açısından önemli bir avantaj sunmaktadır.

Etik Komite Onayı: Bu çalışmanın etik onayı, İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Komitesinden alınmıştır (Tarih: 25.2.2022, karar no: 148).

## KAYNAKLAR

1. González-Masiá JA, García-Olmo D, García-Olmo DC. Circulating nucleic acids in plasma and serum (CNAPS): Applications in oncology. *Onco Targets Ther.* 2013;6:819-32. doi:10.2147/OTT.S44668.
2. Bronkhorst AJ, Ungerer V, Diehl F, et al. Towards systematic nomenclature for cell-free DNA. *Hum Genet.* 2021;140(4):565-578. doi:10.1007/s00439-020-02227-2.
3. Stroun M, Anker P, Maurice P, Lyautey J, Lederrey C, Beljanski M. Neoplastic characteristics of the DNA found in the plasma of cancer patients. *Oncology.* 1989;46(5):318-22. doi:10.1159/000226740.



4. Sidransky D, Von Eschenbach A, Tsai YC, et al. Identification of p53 gene mutations in bladder cancers and urine samples. *Science*. 1991;252(5006):706-9. doi:10.1126/science.2024123.
5. Crowley E, Di Nicolantonio F, Loupakis F, Bardelli A. Liquid biopsy: Monitoring cancer-genetics in the blood. *Nat Rev Clin Oncol*. 2013;10(8):472-84. doi:10.1038/nrclinonc.2013.110.
6. Bronkhorst AJ, Wentzel JF, Ungerer V, et al. Sequence analysis of cell-free DNA derived from cultured human bone osteosarcoma (143B) cells. *Tumour Biol*. 2018;40(9):1010428318801190. doi:10.1177/1010428318801190.
7. Beck J, Urnovitz HB, Riggert J, Clerici M, Schütz E. Profile of the circulating DNA in apparently healthy individuals. *Clin Chem*. 2009;55(4):730-8. doi:10.1373/clinchem.2008.113597.
8. Van der Vaart M, Semenov DV, Kuligina EV, Richter VA, Pretorius PJ. Characterisation of circulating DNA by parallel tagged sequencing on the 454 platform. *Clin Chim Acta*. 2009;409(1-2):21-7. doi:10.1016/j.cca.2009.08.011.
9. Bronkhorst AJ, Wentzel JF, Aucamp J, van Dyk E, du Plessis L, Pretorius PJ. Characterization of the cell-free DNA released by cultured cancer cells. *Biochim Biophys Acta*. 2016;1863(1):157-65. doi:10.1016/j.bbamcr.2015.10.022.
10. Grabuschnig S, Soh J, Heidinger P, et al. Circulating cell-free DNA is predominantly composed of retrotransposable elements and non-telomeric satellite DNA. *J Biotechnol*. 2020;313:48-56. doi:10.1016/j.jbiotec.2020.03.002.
11. Bersani F, Lee E, Kharchenko PV, et al. Pericentromeric satellite repeat expansions through RNA-derived DNA intermediates in cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2015;112(49):15148-53. doi:10.1073/pnas.1518008112.
12. Özgür E, Mayer Z, Keskin M, Yörüker EE, Holdenrieder S, Gezer U. Satellite 2 repeat DNA in blood plasma as a candidate biomarker for the detection of cancer. *Clin Chim Acta*. 2021;514:74-79. doi:10.1016/j.cca.2020.12.008.
13. Gezer U, Ustek D, Yörüker EE, et al. Characterization of H3K9me3- and H4K20me3-associated circulating nucleosomal DNA by high-throughput sequencing in colorectal cancer. *Tumour Biol*. 2013;34(1):329-36. doi:10.1007/s13277-012-0554-5.
14. Ellinger J, Müller SC, Stadler TC, Jung A, von Ruecker A, Bastian PJ. The role of cell-free circulating DNA in the diagnosis and prognosis of prostate cancer. *Urol Oncol*. 2011;29(2):124-9. doi:10.1016/j.urolonc.2009.05.010.

15. Tissot C, Toffart AC, Villar S, et al. Circulating free DNA concentration is an independent prognostic biomarker in lung cancer. *Eur Respir J.* 2015;46(6):1773-80.  
doi:10.1183/13993003.00676-2015.
16. Croswell JM, Kramer BS, Kreimer AR et al. Cumulative incidence of false-positive results in repeated, multimodal cancer screening. *Ann Fam Med.* 2009;7(3):212-22.  
doi:10.1370/afm.942.
17. Prensner JR, Rubin MA, Wei JT, Chinnaiyan AM. Beyond PSA: The next generation of prostate cancer biomarkers. *Sci Transl Med.* 2012;4(127):127rv3.  
doi:10.1126/scitranslmed.3003180.