

TEKNOFEST

HAVACILIK, UZAY VE TEKNOLOJİ FESTİVALİ

BİYOTEKNOLOJİ İNOVASYON YARIŞMASI

PROJE DETAY RAPORU

ÜNİVERSİTE VE ÜZERİ SEVİYESİ SEVİYESİ FİKİR

KATEGORİSİ

TAKIM ADI

EXONOSTIC

PROJE ADI

EKSOZOM TABANLI KARACİĞER KANSERİ (HCC) ÖN

TARAMA KİTİ

BAŞVURU ID

467921

İçindekiler

1. Proje Özeti.....	2
2. Problem/Sorun.....	3
3. Çözüm.....	4
4. Yöntem.....	5
4.1. İş Paketi – Ön Hazırlıklar	5
4.2. İş Paketi – Tasarım, Geliştirme ve İmmobilizasyon Çalışmaları.....	6
4.3. İş Paketi: Doğrulama.....	6
4.4. İş Paketi – Beta Versiyon ve Ürün Geliştirme.....	7
5. Yenilikçi (İnovatif) Yönü.....	8
6. Uygulanabilirlik.....	9
7. Tahmini Maliyet ve Proje Zaman Planlaması.....	10
8. Proje Fikrinin Hedef Kitle (Kullanıcılar).....	13
9. Riskler.....	13
10. Kaynaklar	14

1. Proje Özeti

Hepatoselüler karsinom (HCC, ayrıca birincil karaciğer kanseri olarak da adlandırılır) dünyadaki en yaygın kanser türlerindedir. HCC insidansı 840.000 vaka olup Dünya’da yıllık mortalite oranı yaklaşık 780.000 kişidir (*Cancer Today*, 2022). Cerrahi rezeksiyon, radyoterapi veya kemoterapi, karaciğer transplantasyonu ve konkomitan tedaviler, temel HCC tedavi şemalarıdır. Bununla birlikte, HCC başlangıcı sinsi ve spesifik erken evre belirteçlerinin olmaması nedeniyle çoğu hastaya genellikle cerrahi için uygun olmayan, HCC'nin ileri evrelerinde teşhis koyulur ve hayatta kalma süreleri genellikle 6 aydır.

Bu proje kapsamında, HCC hastaları için erken evrede teşhisin ve kanser taramasının sağlanması amacıyla eksozom tabanlı tarama kiti tasarlanmıştır. Eksozomlar, ekstrasellüler veziküllerin bir alt kümesidir ve hücre iletişimde görev alırlar. Genel olarak tüm vücut sıvılarında bulunurlar ve kendilerine spesifik kanser türünün ön taraması için önemli işaretçiler olarak araştırılmaktadırlar. Bu yapıların özellikle onkojenik sinyalleşmeyi yansıtan biyomolekülleri içermeleri ve vücut sıvılarından kolayca izole edilebilmeleri özellikleri nedeniyle HCC hastalarının vücut sıvılarında bulunan ve proje önerisinin tasarlanması sırasında belirlenen, ayrıntıları bu dokümanın ilgili kısımlarında anlatılan eksozomların tespitinin ve karakterizasyonunun, bu proje fikri kapsamında HCC’nin erken teşhisinde paha biçilmez bir araç olacağı düşünülmektedir.

Tasarlanan kanser tarama kitinin eğitime veya özel ekipmana gerek duyulmadan, kolay bir şekilde uygulanıp hızlı sonuç vermesi planlanmaktadır. Bu projenin çıktısı; erken teşhis, tarama ve etkili tedavide rol alacak, bireysel kullanıma uygun, ucuz ve kolay erişimi olan, yerli ve milli bir tarama kitidir.

Anahtar Kelimeler: Biyobelirteç, eksozom, erken tarama, karaciğer kanseri, tarama kiti.

2. Problem/Sorun

HCC, Dünya’da en sık görülen beşinci kanser türüdür ve kanser mortaliteleri arasında 3.sırada yer almaktadır (Vatansever & Karasu, n.d.) ve obezite, Hepatit B ve C virüsü enfeksiyonları, sigara ve alkol kullanımı, hemokromatozis, siroz veya aflatoksin içeren yiyeceklerin tüketimi karaciğer kanserine yol açabilmektedir (*Liver Cancer / CDC*, n.d.). Her iki cinsiyette de görülen HCC çoğunlukla hem insidans hem de mortalite oranları olarak erkekler arasında kadınlara göre 2-3 kat daha yüksektir. İki bin yirmi yılında 906 bin kişiye HCC teşhisi konmuştur ve bu hastaların yaklaşık 830 bininin hayatını kaybettiği rapor edilmiştir (Sung et al., 2021). Yüksek ölüm oranının sebebi ise büyük ölçüde, hastalığın ancak son evrelerinde semptomlarının fark edilmesi ve HCC tanısının konulmasında geç kalınmasıdır (Liu et al., 2015). Türkiye’de HCC 2020 itibariyle insidansı 11,5/100.000’dir ve tüm kanserler arasında yedinci sırada yer almaktadır, mortalitesi ise 10,6/100.000’dir ve tüm kanser türleri arasında sekizinci sırada yer almaktadır (*Cancer Today*, 2022).

HCC genellikle sessiz bir seyir izleyerek klinik tanıyı zorlaştırır. Sarılık gibi klinik belirtiler ve karaciğer fonksiyon bozukluğunun diğer kanıtları, organın büyük bir kısmında tümör oluşana kadar ortaya çıkmaz. Ayrıca, HCC'ye atfedilebilecek hiçbir patognomonik semptom veya belirti yoktur ve tümörler genellikle hastalığın geç dönemlerinde uzak bölgelere yayılır. Başta bu sebepler nedeniyle HCC'nin prognozu, tanısız gecikme ile güçlü bir şekilde ilişkilidir ve bugüne kadar ideal bir tarama yöntemi geliştirilmemiştir (Attwa & El-Etreby, 2015). HCC için yüksek riskli bireylerin sürveyansı, genellikle ultrasonografi ile birlikte serum belirteci alfa-fetoprotein (AFP) kullanılarak gerçekleştirilir. Teşhis için genellikle çok fazlı kontrast geliştirme yeteneklerine sahip bilgisayarlı tomografi (BT) ve manyetik rezonans görüntüleme (MRG) gibi daha karmaşık görüntüleme yöntemleri kullanılır. Seviyeler belirgin şekilde yükselmişse, tek başına serum AFP de yardımcı olmaktadır. Karaciğer biyopsisi ile doğrulama, HCC tanısının belirsiz kaldığı durumlarda tercih edilmektedir (Bialecki & Di Bisceglie, 2005).

Mevcut tarama yöntemlerindeki başarısızlık esasen tarama testlerinin tedavi edilebilir bir aşamada HCC'yi tespit edememesinden veya tarama testi sonuçlarının uygun şekilde yorumlanamamasından kaynaklanır. Yapılan çalışmalar, HCC çapının 2-2,5 cm arasına ulaştığında kür olasılığının azaldığını göstermektedir, bu nedenle taramanın tespit etmesi gereken hedef lezyon boyutu 2,5 cm'nin altında olmalıdır. Bir tarama testi bu küçük lezyonların çoğunu bulabilmelidir fakat mevcut testlerin yetersiz duyarlılığı, testler arasındaki aralığın çok uzun olması, mikrovasküler invazyon ve/veya metastaz sergileyen agresif kanser gelişimi veya açıkça tanımlanabilir bir lezyon oluşturmayan infiltratif bir tümörün oluşumu gibi sebepler testlerin yetersiz kalmasına sebep olmaktadır (Sherman, 2014). HCC tanısında yararlanılan serolojik tarama testleri; AFP konsantrasyonu, des- γ -karboksi protrombin ve AFP'nin L3 fraksiyonudur. Birçok çalışma, bunların küçük HCC'lerin yaklaşık %60'ında ölçülebilir bir tepki vermediğini, yeterince duyarlı testler olmadığını göstermiştir. Ayrıca, bu testlerin üçü de kötü prognozlu ileri HCC'yi tanımlar; ilerlemiş hastalığı gösteren bir test aynı zamanda erken evre hastalığın bir belirteci olarak kullanılamaz (Sherman, 2014). En sık önerilen tarama yöntemi ultrasondur fakat ultrasonun da duyarlılığı küçük HCC’ler için düşüktür. Ayrıca yağlı karaciğer bu testin duyarlılığını sınırlamaktadır; yağın varlığı ultrason ışınının nüfusunu azaltır,

karaciğerin probdan en uzak kısımları - arka ve üst kısım - iyi görülemez ek olarak birden fazla nodülün varlığı ile siroz da, nodüllerden herhangi birinin HCC için şüpheli olup olmadığını belirlemeyi zorlaştırır (Sherman, 2014). Ayrıca, erken tanı için BT ve MRG de yeterli değildir. Kontrastsız BT taraması ultrasondan daha hassas değildir; en iyi duyarlılık için en az yılda iki kez yapılmalıdır ve uzun yıllar boyunca ise dört fazlı bir BT taraması gereklidir. HCC'si olan hastalarda BT'nin radyasyon dozu daha az önemli olmakla birlikte HCC'si olduğu bilinmeyen hastalarda bu miktarda radyasyon dozu tartışmalıdır. MRG radyasyon içermez fakat hem BT hem de MRG çok maliyetlidir ve maliyet-etkililik oranları bu teşhis yöntemlerini ekonomik olarak olanaksız kılar (Sherman, 2014). Taramanın başarısız olmasının bir başka nedeni de saptanan lezyonların doktorlar tarafından hemen araştırılmaması ve ilerleme durumlarının izlenmesinin tercih edilmesidir, bu durum tahmin edilenden daha sık yaşanmakta ve hastalığın ilerlemesine sebep olup tedavi şansının kaçmasına sebep olabilmektedir (Sherman, 2014).

Ülkemizde HCC'nin rutin taramaları yalnızca hastanelerde yapılmaktadır. Hastalıktan şüphelenen bireylerin, hastanelere başvurup gerekli testleri yaptırması gerekmektedir ancak bireyler çeşitli sebeplerle hastaneye gitmeyi ertelemektedir veya erken evrede semptomların görülmemesi sebebi ile rutin bir tarama yaptırması gerektiğini düşünmemektedir. Bu yüzden de erken evrelerde teşhis edilemeyen HCC, ölümcül sonuçlara yol açmaktadır (Liu et al., 2015). Karaciğer kanseri hakkında farkındalığın artırılmasının ve kontrol merkezine gidilmesine gerek duyulmayan bir tarama kitinin varlığının, hastalığın erken teşhisinde büyük yarar sağlayacağı düşünülmektedir. Ayrıca, HCC'nin erken tanısını şüpheye yol açmadan, kesin bir şekilde ortaya koyan bir tanı kitinin varlığının bu hastalığın sağkalım oranını önemli derecede artıracak bir araç olacağı görülmektedir; kansere spesifik eksozomlar kesin tanının konmasını sağlayacak önemli kaynaklardır. Bu proje çıktısında; cinsiyet ayrımı gözetmeksizin bireysel kullanıcının hastalığı erken safhada fark edip bir an önce hastaneye gitmesini teşvik etmek, tedaviye başlanmasıyla birlikte tedavi başarı oranını yükseltmek, doktora ve hastaya zaman kazandırmak, hastanelerdeki hasta yükünü azaltmak ve farkındalık sağlamak amaçlanmaktadır.

3. Çözüm

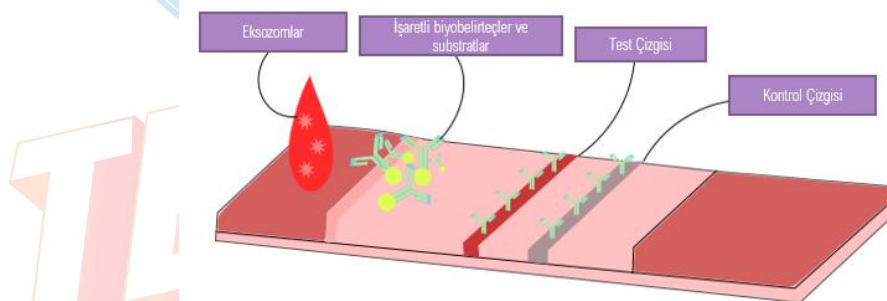
Günümüzde idrar ve kandan alınan eksozomlar, karaciğer hastalıkları da dahil olmak üzere çeşitli hastalıkların erken tespiti ve prognozu için moleküler biyobelirteçlerin non-invaziv (idrar) ve minimal invaziv (kan) kaynakları olarak kabul edilmektedir (Vlassov et al., 2012). Son yıllarda, hem *in vivo* hem de *in vitro* deneyler eksozomların, HCC'nin başlangıcı, prognozu, teşhisi ve tedavisinde anahtar rol oynayabileceğini göstermiştir (Abudoureyimu et al., 2019).

Bu projedeki amacımız, erken evrede teşhisin sağlanabilmesi için eksozomları biyobelirteç olarak kullanarak istenilen ortamda, kişiye kolay bir şekilde HCC için test yapılabilmesini sağlamaktır. Erken teşhisin sağlanabilmesi için hastadan alınan örneklerden kanser hücrelerinin üretmiş olduğu eksozomal içeriklerin tespiti yapılacaktır. Kanser hücrelerinin, kanser hücresi olmayan eşdeğerlerine göre daha fazla sayıda eksozom ürettiği bilinmektedir. Bu nedenle geliştirilecek olan tarama kitinde son zamanlarda büyük ilgi uyandıran eksozomların biyobelirteç olarak kullanılması amaçlanmaktadır. Eksozomlar içeriklerinde canlıya özgü genetik materyal bulundurur, hücre kökenlerinin doğasını ve durumunu yansıtır ve kanser

gelişimiyle ilerlemesinde önemli bir rol oynarlar. Eksozomlar periferik kanda stabil, tümör davranışını karakterize eden ve kanser teşhisi yapmak için umut verici, tümörden türetilmiş materyallerdir bu nedenle izlenebilirler ve erken teşhis için kullanılabilirler. HCC'nin erken teşhisi için bazı özel eksozom membran belirteçleri biyolojik belirteç olarak kullanılmaktadır. Arbelaiz vd., HCC hastalarının ve sağlıklı insanların kanındaki eksozomal proteinlerin ekspresyonunu analiz etmiş ve galektin-3 bağlayıcı protein (G3BP) ve polimerik immünooglobulin reseptörünün (PIGR) eksozomlarda önemli ölçüde yükseldiğini bulmuştur; bu iki proteinin HCC için tahmin etkinliği, yaygın kullanılan AFP'den üstündür (Arbelaiz et al., 2017).

Çözüm önerimizde HCC tespiti için G3BP belirteç olarak belirlenmiştir. Sağlıklı kişiler ile primer sklerozan kolanjit ve kolanjiokarsinom hastaları karşılaştırıldığında HCC hastalarının eksozomlarında G3BP'nin anlamlı olarak daha yüksek olduğu bulunmuştur (Ferrín et al., 2014). Bu nedenle G3BP, HCC'nin gelişimini daha erken gösterebilir ve HCC karaciğer ile ilgili diğer hastalıklardan ayırt edilebilmektedir (Ferrín et al., 2014). Tarama kitimizde kandan alınan numunedeki eksozom oranına da kontrol grubu olarak bakılacaktır. Kandaki eksozom varlığının tespiti için ise spesifik biyobelirteçler olan CD9, CD63 ve CD81 biyobelirteçleri, aralarından seçim yapılarak kullanılacaktır (Ferrín et al., 2014).

Güncel literatür ve bilimsel veri tabanları taranarak hem geriye dönük hem de güncel veriler araştırılmış olup literatür taraması vasıtasıyla gerekli ekipmanlar ve malzemeler belirlenmiştir. Tarama kitimizin tasarımı Şekil 1'de görülmektedir.



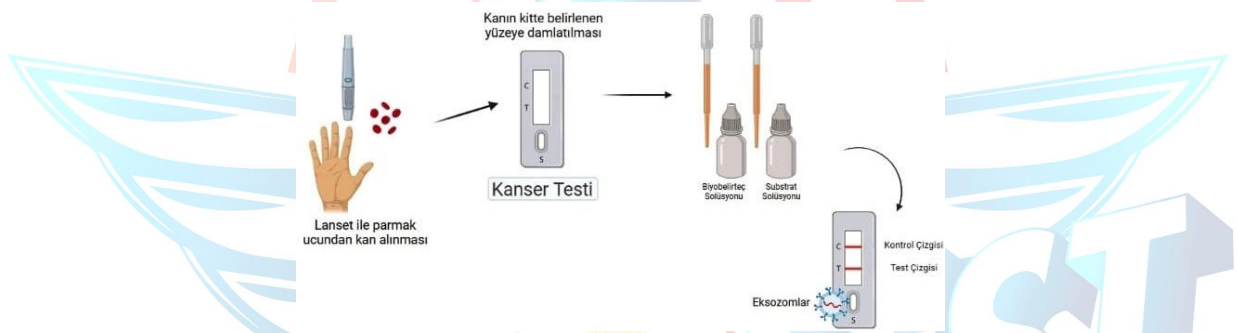
Şekil 1. Test aracının tasarımı

HCC tespiti için kullanılacak olan biyobelirteçler, katı faz üzerine immobilize edilecek ve işaretlenecektir. Sonrasında, yapılan aşamalar ELISA ve presipitasyon yöntemleri ile renk değişimi kontrolünde doğrulanacaktır. Doğrulama basamağının ilk aşamasında, işaretlenmiş biyobelirteçlerin doğru bir şekilde işaretlenip işaretlenmediği ve immobilizasyonları, ELISA ve presipitasyon yöntemleri ile test edilecektir. Doğrulamalar sonucunda elde edilen verilerin analiziyle prototip elde edilecektir.

Tarama kitinin kutu içeriğinde; kanın damlatılacağı şerit şeklinde emici bir ped, kanın alınabilmesi için steril bir kesici/delici alet (lanset), kullanım talimatına göre kullanılacak küçük solüsyon şişeleri, malzemelerin kullanıldıktan sonra atılması için geri dönüşüm poşeti, solüsyonları şişeden alabilmek için bir pipet ve kullanıcıları yönlendirebilmek için kullanım

kılavuzu yer alacaktır. Kullanım senaryosu ise test aracı üzerine gerekli miktarda numune ve solüsyonlar damlatılmasından bir süre geçtikten sonra renk değişimi kılavuz renk modeline göre yorumlanması şeklindedir. Çözüm önerisi olarak sunulan tarama kitinin uygulama adımları Şekil 2’de gösterilmiştir.

Hızlı tarama kitindeki renk değişimi, vücuttaki tümör varlığından kaynaklı eksozomların biyobelirteçler ile etkileşimi sonucu oluşan farklı renkteki ürünlere bağlıdır. Bu renk değişimi ELISA yönteminin çalışma prensibine göre çalışmaktadır. Test kitinin üzerine lanset ile alınmış kan örneği damlatılır ve katı bir faza immobilize edilmiş biyobelirteçlere spesifik moleküller, kan örneğinde bulunan biyobelirteçler ile etkileşime girerek bir kompleks oluşturur. Ortamda bulunan işaretli enzim, kompleks ile etkileşime girer ve bu enzime ait substrat, renkli ürünler oluşturur. Farklı biyobelirteçler için farklı enzimle ya da molekülle işaretlenmiş biyobelirteçlerin kullanımı farklı renk değişimlerini ortaya çıkartır (Altınışık, 2004). Tarama kitimizde kontrol ve test çizgisi bulunacaktır; kontrol çizgisi uygulanan numunedeki eksozom tespit yeterliliğini, test çizgisi ise HCC’nin tespiti için eksozom yoğunluğunu ölçecektir.



Şekil 2. Test aracının uygulama adımları

4. Yöntem

Projemiz 18 aylık bir sürede, 4 iş paketinin gerçekleştirilmesiyle evde ya da her türlü bireysel kullanımda karaciğer kanseri ve diğer farklı tümörlerin varlığını saptamak için bir tarama kiti oluşturulacaktır. İş paketleri, çıktıları ve başarı kriterleri aşağıda sıralandığı gibidir.

4.1. İş Paketi – Ön Hazırlıklar:

Çıktı: Ön Hazırlıklar aşamasının tamamlanması.

Başarı Kriterleri:

- Literatür taraması,
- Malzeme ve ekipmanların temini,
- Etik kurul izin başvurularının gerçekleştirilmesi,
- Patent/faydalı model başvurularının gerçekleştirilmesi.

Ön hazırlıklar aşamasında güncel literatür ve bilimsel veri tabanları taranarak hem geriye dönük hem de güncel veriler araştırılacak bu sayede iş fikrinin ve hazırlanan iş paketlerinin doğruluğunun sağlanması yapılacak, literatür taraması vasıtasıyla gerekli ekipmanlar ve

malzemeler belirlenip temin edilecek, en uygun deney ve kalite kontrol protokolleri seçilerek ön fizibilite çalışmaları gerçekleştirilecektir. Sektörün nabzını yoklayacak nitelikte anketler hazırlanarak KOBİ'lerle, araştırma merkezleriyle ve hastanelerle paylaşılacaktır. Anket sonuçları değerlendirilerek müşteri istekleri göz önünde bulundurulacak ve ürün fikrinin geliştirilmesi sağlanacaktır. Hastalardan kan alınması ve kullanılması kapsamında Etik Kurul başvurusu yapılacak, izin alınacaktır. Bu iş paketinde, deneysel aşama bulunmamaktadır ancak anket sonuçlarının analizi yapılarak hedef kullanıcı profilleri elde edilecektir.

Ön hazırlıklar tamamlanmış olup en güncel literatür, bilimsel veri tabanları taranmış, kullanılacak malzeme ve ekipmanlar tespit edilmiş, sektör ziyaretleri yapılmış, projenin yapılabilirliğini onaylamak ve muhtemel ihlalleri önlemek adına etik kurul izni için gerekli planlamalar yapılmış bulunmaktadır.

4.2. İş Paketi – Tasarım, Geliştirme ve İmmobilizasyon Çalışmaları:

Çıktı: Tasarım, Geliştirme ve İmmobilizasyon Çalışmalarının başarılı bir şekilde tamamlanması.

Başarı Kriterleri:

- Ürün tasarımının 10 gramın altında olacak şekilde gerçekleştirilmesi,
- Katı faz üzerine biyobelirteçlere spesifik moleküllerin immobilize edilmesi,
- Biyobelirteçlere spesifik moleküllerin enzimler ile işaretlenmesi.

Bu iş paketinde hem araştırma hem de laboratuvar çalışmaları bulunmaktadır. Şekil 1'de görüldüğü gibi ikinci iş paketinde; projemizin temel adımları olan biyobelirteçlerin, katı faz üzerine immobilizasyon çalışmalarında polimer matrikste tutuklama metodu ile immobilize edilecektir (Herrmann, 1986; Hürrem & Tükel, 2012; Tağı, 2017). Biyobelirteçlerin işaretleyiciler ile immobilizasyon çalışmalarında ise alkalen fosfotaz, horseradish peroksidaz (HRP), glukoz oksidaz, galaktosidaz gibi enzimler ve fluorokromlar kullanılacaktır (Deveci, n.d.; Önalın et al., 2016).

4.3. İş Paketi: Doğrulama:

Çıktı: Prototip oluşturulması.

Başarı Kriterleri:

- Katı faz üzerine immobilize edilmiş biyobelirteçlere spesifik moleküller ve işaretli biyobelirteçlerin ELISA ve Presipitasyon yöntemleriyle test edilmesi,
- Verilerin analiz edilmesiyle prototipin üretilmesi,
- CE belgesi başvurusunun ve ruhsatlandırma çalışmalarının yapılması.

Bu iş paketinde hem araştırma hem de laboratuvar çalışmaları bulunmaktadır. Doğrulama iş paketinin ilk aşamasında bu işaretlenmiş biyobelirteçlerin doğru bir şekilde işaretlenip işaretlenmediği ve immobilizasyonları ELISA ve Presipitasyon yöntemleri ile test edilecektir (Önalın et al., 2016). ELISA yönteminde enzimlerle doğru şekilde işaretlenmiş biyobelirteçler özgül substratları varlığında renkli kompleksler oluşturacak ve bunun sonucunda hem kolorimetrik olarak kalitatif hem de kantitatif olarak tespit edilecektir. Presipitasyon

yönteminde ise biyobelirteçlerin varlığı çökeltme yöntemi esas alınarak tespit edilecek ve optimum biyobelirteç oranı belirlenecektir. Biyobelirteçlerin katı faz üzerine immobilizasyonu ELISA yöntemindeki renk değişimiyle test edilecektir. Test sonucunda biyobelirteçlerin yüksek kararlılıkta, saflıkta, yüksek konsantrasyonlarda ve güçlü bağlanma ile katı faz üzerinde bulunması beklenmektedir. Testler sonucunda elde edilen verilerin analiziyle prototip elde edilecektir.

Ürünümüzün topluluk içerisinde güvenilirlik, sağlık ve çevre koruma koşullarına uygun olduğunun kanıtlanması için CE belgesi başvurusu ve Sağlık Bakanlığı'na yapılan başvurularla ulusal tıbbi cihaz kayıt çalışmaları sınıf 2B olarak gerçekleştirilecektir.

4.4. İş Paketi – Beta Versiyon ve Ürün Geliştirme

Çıktı: Nihai ürünün oluşturulması.

Başarı Kriterleri:

- Kullanıcı kabul çalışmaları ve saha denemelerinin gerçekleştirilmesi.

Projemizin nihai ürün haline geldiği beta versiyon ve ürün geliştirme başlıklı son iş paketinde prototip hastalardan alınmış numunelerle denenecek, müşteri denemeleri gerçekleştirilecek, bu denemeler sonucu çıkan veriler analiz edilecek ve prototipin geliştirilmesiyle kontrol ve iyileştirme çalışmaları gerçekleştirilecektir.

Son iş paketimizde tarama kitimizin gösterdikleri doğruluk yüzdesi, uygunluk, ölçüm aralığı ve renk değişimi bakımından kalitatif ve kantitatif değerlendirmeler ELISA ve presipitasyon yöntemleriyle yapılacak (B planı olarak yukarıda önerilen testlere başvurulacak) ve performans sonuçlarının analiziyle birlikte nihai ürünün üretimi gerçekleştirilecektir (Önalın et al., 2016). Sonrasında, kit plastik materyali belirlenecek ve kullanım kılavuzunun testi uygulayan herkesin anlayacağı şekilde renk skalaları ve doğruluk analizleri yapılarak kalite çalışmaları gerçekleştirilecek, prototip ve kurumlarla iletişime geçilerek saha denemeleri yapılacaktır. Elde edilen verilere göre performans sonuçları değerlendirilecektir. Analizlerin sonucunda yapılan iyileştirmelerle nihai ürün üretilecektir. Ürünümüzün kutu içeriğinin son tasarımı yapılacaktır. Kullanılacak olan bu yöntemler uzun zamandır çalışılan ve bilinen yöntemler olmakla birlikte yüksek doğruluk ve hassasiyetle istenilen sonuca ulaşılmasını sağlayacaktır.

5. Yenilikçi (İnovatif) Yönü

Sağlıklı bir toplum için hastalıkların teşhisi, takibi ve tedavisine yönelik tarama kitlerinin geliştirilmesi kritik öneme sahip olmakla birlikte teşhis; çok aşamalı, zorlu ve yorucu bir süreçtir. Yukarıdaki tabloda görüldüğü üzere kanserin ön teşhisi amacıyla çeşitli ürünler üretilmiş olup bu ürünlerin hiçbiri bireysel, kolay kullanım ve erişime yönelmemiştir. Bu ürünler laboratuvar ortamında, gen düzeyinde kanser taramasına odaklanmışlardır ya da yurtdışı menşelidirler. Yurt dışında ve ülkemizde HCC'yi erken teşhis etmek için yürütülen kit çalışmalarının çıktıları laboratuvar ortamını kolaylaştıracak olup bireysel kullanıma henüz sunulmamışlardır.

Günümüzde mevcut ürünler ve yöntemler kanser ön teşhisinin hastane dışında yapılmasının imkânını sunmamış, kanser olan ya da kanser olma olasılığı olan kişilerin bireysel olarak bu ürünleri veya yöntemleri kullanmalarına olanak sağlamamıştır. Böyle bir olanağın olmaması da erken teşhiste zaman kaybına neden olmaktadır. İlk kez bu projede HCC'yi odak alan, laboratuvar ortamına gereksinim duymayan, kişilerin bireysel olarak basit bir şekilde yardım almadan her yerde uygulayabilecekleri bir ürün ortaya çıkacaktır. Oluşturulacak nihai ürünün bireysel kullanıma uygun, ucuz, yerli, basit uygulamalı olmasıyla tüm tüketici kitlesine ulaşması, dolayısıyla önceki tekniklerde karşılaşılan sorunları gidermesi planlanmıştır.

Geliştirilecek olan tarama kiti bireysel kullanımda dâhil olmak üzere herkes tarafından her yerde kullanılabilir. Ek olarak, tarama ve tedavi için gerekli olan ilaçlar, kitler, tıbbi cihaz ve malzemelerin yaklaşık %85'i ithal edilmektedir ve bu durum da yüksek fiyatları nedeniyle büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Bu durum, Türkiye'deki tıbbi cihazların üretiminin halen istenen düzeyde olmadığını, ithalat oranının oldukça düşük olduğunu ve büyük ölçüde dışa bağımlı olduğunu göstermektedir. Bu dışa bağımlılığı azaltacak, doğruluğu ve güvenilirliği kanıtlanmış, az maliyetli ve kısa zaman içerisinde sonuç verebilecek kitlerin geliştirilmesi ve sertifikalandırılması ülkemiz ekonomisi bakımından da büyük önem arz etmektedir (Tübitak, 2017, 2013). Bu noktada; tasarlanan kit, bireysel ve eczane gibi dağıtım kanallarından kolay ulaşılabilir olmasıyla diğer ürünlerden farklılık göstermekte ve oluşturulacak nihai ürün bireysel kullanıma uygun, kolay ve ucuz erişim imkânı olan, yerli, basit uygulamalı olup son tüketiciye ulaşan tek kanser ön tarama kiti olma özelliği taşımaktadır.

Proje çıktısı ile bireysel kullanımın sonucunda; yaygın önyargı olan hastaneye gitme korkusu, hastalığın kabullenilememesi, alınması zor olan randevular, hastalığın bireysel olarak teşhisinin zor olmasının önüne geçilerek kanserin ön teşhisi yapıp erken ve etkili tedavi başlangıcının sağlanması, belirtilen zorluklara bağlı olarak doktor ve hastane çalışanlarının iş yükünün azaltılması yönünde gelişmeler, ayrıca yerli üretim sayesinde devlete ekonomik gider ve ihracat olanağı sağlanacaktır.

Ülkemizde ve dünyada, biyobelirteç olarak mutlak potansiyel taşıyan eksozomların yüzey belirteçlerinden yararlanılarak geliştirilmiş tarama kiti mevcut değildir. Eksozomların kullanımı ile elde edilen sonuçların özgüllüğü artacak ve böylece doğru tedavi için gerekli olan sonuçların güvenilirliği sağlanacaktır. Böylelikle yüksek özgüllüğe, duyarlılığa, doğruluğa sahip, maliyet bakımından uygun ve katma değeri yüksek sonuçların elde edilmesi hedeflenmektedir.

Bunun yanı sıra kullanılan biyobelirteçlerin değiştirilmesi sonucunda aynı kit çeşitli kanser türleri ve farklı hastalıklar için de kullanılabilir. Bu da sürdürülebilirlik açısından bizi rakiplerimiz arasında bizi bir adım öne geçirmektedir.

6. Uygulanabilirlik

Hastaların alışageldiği rutin kan istemi gibi tetkikler sıkça kullanılmaktadır. Projemizde

üretmeyi hedeflediğimiz tarama kiti ile bu tetkikler yapılırken hastadan alınan kanla kanser testi yapılacaktır. Hasta bu sayede hasta olma korkusu yaşamadan veya kanser teşhisi için hastaneye gelmeyi ertelemeden basit bir şekilde kanser testimize tabi tutulup erken teşhisin konulmasına yardımcı olacaktır.

Proje fikrinde sunulan kullanım kolaylığı hem doktor hem de hasta açısından önem taşımaktadır. Kullanım kolaylığı ile hasta ve doktor standart tetkik prosedürlerinin stresinden ve sürecinden kurtulacaktır, böylece en küçük şüpheye önerilen test kiti kullanılarak öncesinde semptom göstermediği için tetkik yaptırmayan hastalarda bile erken teşhisin mümkün kılınması sağlanacaktır. Hastaneye geldiğinde yapılan bu işleme ek olarak toplum sağlığı merkezlerinde kanser testi yapılabilecektir. Amacımız düşük maliyetle hızlı ve doğru şekilde kanser teşhisi koyabilmektir. Böylece birçok potansiyel kanser hastasına daha kısa sürede daha güvenilir sonuçlar sunabilmeyi mümkün kılacağız.

Bu tarz kanser ile ilgili son tüketiciye ulaşacak ve hastanelerde kolay kullanılabilir şekilde üretilmiş kitlerin yerel ve ulusal piyasada az bulunması sebebiyle yerli üretimle pazarlanacak bir tarama kitinin iç ve dış pazarda kolaylıkla yer bulabileceği öngörülmektedir. Bu sayede hem hasta yükünün azaltılması hem sağlık alanında ihracatın artırılması hem de kanserin farkındalığı yönünde olumlu gelişmeler sağlanacaktır.

Ayrıca ürün paketinin üzerinde bir QR kod olması ve bu kod ile kullanıcılara yardımcı kullanım videosu sunulması planlanmıştır. Oluşturulması planlanan web sitesi sayesinde HCC takibi olan insanlar için süreç takibi yapılması ve kullanıcıları süreç hakkında bilgilendirerek kontrol zamanlarını hatırlatma hizmeti sunulması sağlanacaktır. Bu hizmet sayesinde mevcut müşterilerin memnuniyetlerini artıracak ve geri bildirimleri sayesinde ürünün gelişmesine katkı sağlayacakları, karşılıklı etkileşim halinde bulunan bir platform oluşacaktır. İlerleyen zamanlarda farklı eklentiler ile bu hizmet uygulama haline getirilebilir.

Proje fikrimizin uygulamaya geçmesi sonrasında piyasa beklentilerinin karşılanması ile patenti alınarak tarama kitimizin ticarileştirilmesi hedeflenmektedir. Proje fikrimizin ön çalışmaları ve pazar araştırmaları yapılmıştır. Yapılan araştırmalar sonucunda proje fikrinin gerçekleşmesinin olumlu sonuçlar getireceği gözlemlenmiştir.

Proje süreci Tablo 2’de görüldüğü gibi 4 sürece ayrılmıştır. Proje fikri için 0. Teknoloji Hazırlık Seviyesinden (THS) başlanmış olup, 1. iş paketinin tamamlanmasıyla 2. THS’ye, 2. iş paketinin tamamlanmasıyla 4. THS’ye, 3. iş paketinin tamamlanmasıyla 6. THS’ye ve son iş paketinin tamamlanmasıyla 9. THS’ye çıkılması planlanmaktadır.

7. Tahmini Maliyet ve Proje Zaman Planlaması

Tablo 1’de projemiz ile benzer amaçlara veya altyapılara sahip, aynı kategorideki teknolojilerin güncel durumu ve proje çıktımız görülmektedir. Tablo 2’de ise proje sürecinin takvimi verilmiştir.

Tablo 1. Proje fikrine eş ürün kategorisindeki ürünler

Şirket/ Firma/Ürün	Ülke Menşei	Çalışma Prensibi	Kullanım Alanı	Donör Tipi	Hastalık Türü	Kullanım Amacı
Onkogen Diagnostik Ltd.	Türkiye	Gen temelli	Laboratuvar ortamı/Klinik kullanım	Tümör dokusu	Meme Kanseri	Triple-negatif meme kanseri gruplarını belirlemek
Multigen Sağlık (Ege Teknopark)	Türkiye	Gen temelli	Laboratuvar ortamı/Klinik kullanım	*	Meme Kanseri	Meme kanserine yatkınlık taraması
Genovan (Van Teknopark)	Türkiye	Gen temelli	Laboratuvar ortamı/Klinik kullanım	*	Kanser	Tedavi yönlendirici ilaç seçimi
Ankara Üniversitesi	Türkiye	Gen temelli	Laboratuvar ortamı/Klinik kullanım	*	Akciğer Kanseri	Moleküler tedavi hedeflerinin saptanması
Tsinghua Üniversitesi	Çin	Protein (Hsp90α) temelli	Klinik kullanım	Kan	Kanser	Kanser teşhisi
The Blue Box	ABD	Metabolit	Evde	İdrar	Meme Kanseri	Meme kanseri kontrolü
23andMe	ABD	Gen temelli	Evde uygula- Gönder	Tükürü k	Meme Kanseri	BRCA1 ve BRCA2 mutasyonlarını belirlemek
Home Health UK	UK	Tek bir tümör belirteci temelli	Bireysel kullanım	Kan	Meme Kanseri	Tümör belirteci seviyesini belirlemek
CellMax Life	ABD	Gen temelli	Evde uygula- Gönder	Tükürü k	Meme Kanseri	Kanser riskini belirlemek
Glycanostics Sweet Spot for Diagnostics	Slovakya	Protein temelli	*	Kan	Meme Kanseri	Erken aşama tarama testi
Proje Çıktısı	Türkiye	Tümör belirteçleri temelli	Her türlü ortam ve bireysel kullanım	Kan	Karaciğer kanseri ve diğer kanseri türleri	Ön kanser teşhisi

Tablo 4. Proje çıktısı tahmini ciro

	1.Yıl	2. Yıl	3. Yıl	4. Yıl
Tahmini Müşteri Sayısı	-	6.000	8.000	10.000
Tahmini Ürün Miktarı	-	5.400	7.200	9.000
Tahmini Ortalama Ürün Fiyatı	-	75 TL	75 TL	85TL
Tahmini Ciro	-	405.000 TL	540.000 TL	765.000 TL

Tablo 5. Proje çıktısı kazanç oranı

Ürün/Hizmet	Maliyet	Satış Fiyatı	Kazanç Oranı
Proje Çıktısı	25	75	3x

ELISA dedektörü, inkübatör, termostatlı ısıtıcı, vakumlu etüv, liyofilizatör cihazları sabit maliyettir. Geri kalan gider kalemleri tüketildikçe yeniden alınacak değişken maliyet giderleridir. Alınan malzemelerin 2 yıl yeterli olacağı hesaba katılarak başabaş noktası hesabına gidilmiştir ve 3820 adet ürün satıldığında başabaş noktasına ulaşılabacaktır. Bu da 2. yılımızda sabit maliyetimizi çıkarıp kâra geçebileceğimiz anlamına gelmektedir.

8. Proje Fikrinin Hedef Kitlesi (Kullanıcılar)

Dünya Sağlık Örgütü'nün verilerine göre kanserin dünyaya yıllık maliyeti 1 trilyon dolar olurken Sağlık Bakanlığı'na göre ise Türkiye'ye maliyeti 2.3 milyar Euro'dur (Gıda Güvenliği Hareketi, n.d.). Kanser büyük bir oranını oluşturduğu tüm hastalıkların tarama ve tedavisi için gerekli olan ilaçlar, kitler, tıbbi cihaz ve malzemelerin yaklaşık %85'i ithal edilmektedir.

Türkiye tıbbi cihaz pazarına bakıldığında pazar büyüklüğü yaklaşık 2 milyon dolar olurken bunun ithalat ile karşılanma oranı %85, Dünya pazarına oranı %0,8 ve büyüme oranı %7,4'tür. Bu dışa bağımlılığı azaltacak, doğruluğu ve güvenilirliği kanıtlanmış, az maliyetli ve kısa zaman içerisinde sonuç verebilecek kitlerin geliştirilmesi ve sertifikalandırılması, ülkemiz ekonomisi bakımından da büyük önem arz etmektedir (Tübitak, 2017, 2013).

Oluşturulacak nihai ürün bireysel kullanıma uygun, kolay ve ucuz erişim imkânı olan, yerli, basit uygulamalı olup son tüketiciye ulaşan tek kanser ön tarama kiti olma özelliği taşımaktadır. Bu sayede yapılacak olan kitin hedef kitlesi sınırlandırılmamış olup öncelikli nihai kullanıcılar,

- 1) Kanser şüphesi olan bireyler ve karaciğer kanseri riskini düzenli olarak kontrol etmesi gereken bireyler.
- 2) Aile öyküsünde karaciğer kanseri ya da kanser vakası olan kişiler: Özellikle 1. derece akrabasında (anne, baba, çocuk, kardeş, kızı) karaciğer kanseri hikâyesi olan bireyler bu müşteri grubuna girmektedir.
- 3) Hastaneler ve sigorta şirketleri: Kanser teşhisi için hastane ve sigorta şirketlerine başvuran yaş ve cinsiyet fark etmeksizin tüm hastalar bu müşteri grubuna girmektedir.

İlaç firmaları, eczaneler, sağlık kurum ve kuruluşları ana satış kanallarını oluşturmaktadır. Bilimsel toplantı, seminer, kongre ve fuarlara katılarak ürün müşterilere sunulacaktır. Ayrıca

sosyal medya, yüz yüze ve telefonla görüşmeler sağlanarak ve web sitesi veya e-posta yoluyla müşterilerle iletişime geçilerek ürün tanıtımı yapılacaktır.

9. Riskler

Proje fikrimizde oluşabilecek riskler ve karşılaşılabilecek durumunda sürece dahil edilecek B planları Tablo 6'da verilmiştir. Tasarlanan B planları ile başarı kriterlerinden ödün verilmeyecektir.

Tablo 6. Proje sürecindeki riskler ve B planları

No	En Büyük Riskler	Risk Yönetimi (B Planı)
1	Kandan test için yeteri miktarda eksozom elde edilememesi	Daha fazla hacimde alımı daha kolay olduğu için kan yerine tükürük ya da idrar sıvılarının kullanılması
2	2. İş paketinde immobilizasyon çalışmaları sırasında immobilizasyon istenen düzeyde sağlanamaması	Kovalent bağlama ve şelat oluşturma yöntemi kullanılarak immobilizasyon işlemi gerçekleştirilmesi
3	3. İş paketinde prototip oluşturma sırasında testlerde istenen başarı sağlanamaması	RIA, FIA ve aglütinasyon yöntemlerinin kullanılması

Proje fikrimiz maliyetli bir çalışma gerektirdiği için ileriki zamanlarda proje sonucundan ödün vermemek ve yeterince destek alınabilmesi adına TÜBİTAK, KOSGEB gibi kuruluşlara başvurulması planlanmaktadır.

Proje fikrimizin pazar payına baktığımızda, kullanımı proje fikrimiz kadar kolay ve herkes tarafından uzmanlık gerektirmeden kullanılan eş değer bir teknoloji bulunmamaktadır. Ayrıca, tarama kitimizde biyobelirteç olarak kullanacağımız eksozomların kullanıldığı bir eş değer teknoloji de bulunmamaktadır. Az maliyetli ve doğru sonuç veren bir tarama kiti olarak pazara girmeyi planlamaktayız böylelikle rakipler arasında bir adım önde yer alabileceğiz.

10. Kaynaklar

Abudoureyimu, M., Zhou, H., Zhi, Y., Wang, T., Feng, B., Wang, R., & Chu, X. (2019). Recent progress in the emerging role of exosome in hepatocellular carcinoma. *Cell Proliferation*, 52(2). <https://doi.org/10.1111/CPR.12541>

Arbelaiz, A., Azkargorta, M., Krawczyk, M., Santos-Laso, A., Lapitz, A., Perugorria, M. J., Erice, O., Gonzalez, E., Jimenez-Agüero, R., Lacasta, A., Ibarra, C., Sanchez-Campos, A., Jimeno, J. P., Lammert, F., Milkiewicz, P., Marziani, M., Macias, R. I. R., Marin, J. J. G., Patel, T., ... Banales, J. M. (2017). Serum extracellular vesicles contain protein biomarkers for primary sclerosing cholangitis and cholangiocarcinoma. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 66(4), 1125–1143. <https://doi.org/10.1002/HEP.29291>

Attwa, M. H., & El-Etreby, S. A. (2015). Guide for diagnosis and treatment of hepatocellular

- carcinoma. *World Journal of Hepatology*, 7(12), 1632. <https://doi.org/10.4254/WJH.V7.I12.1632>
- Bialecki, E. S., & Di Bisceglie, A. M. (2005). Diagnosis of hepatocellular carcinoma. *HPB*, 7(1), 26–34. <https://doi.org/10.1080/13651820410024049>
- Cancer Today*. (2022).
- Deveci, E. (n.d.). *İmmunohistokimya Teknikleri ve Kullanım Alanları*.
- Ferrín, G., Ranchal, I., Llamaza, C., Rodríguez-Perálvarez, M. L., Romero-Ruiz, A., Aguilar-Melero, P., López-Cillero, P., Briceño, J., Muntané, J., Montero-Álvarez, J. L., & De la Mata, M. (2014). Identification of candidate biomarkers for hepatocellular carcinoma in plasma of HCV-infected cirrhotic patients by 2-D DIGE. *Liver International: Official Journal of the International Association for the Study of the Liver*, 34(3), 438–446. <https://doi.org/10.1111/LIV.12277>
- Gıda Güvenliği Hareketi. (n.d.). *Dünya kansere 1 trilyon Türkiye ise 3,1 milyar dolar harcıyor*.
- Herrmann, J. E. (1986). Enzyme-Linked Immunoassays for the Detection of Microbial Antigens and Their Antibodies. *Advances in Applied Microbiology*, 31(C), 271–292. [https://doi.org/10.1016/S0065-2164\(08\)70445-3](https://doi.org/10.1016/S0065-2164(08)70445-3)
- Hürrem, F., & Tükel, S. S. (2012). Katalazın Çapraz Bağlı Enzim Agregatlarını (CLEA) Oluşturma Yöntemiyle İmmobilizasyonu ve Karakterizasyonu. *Ç.Ü Fen ve Mühendislik Dergisi*, 28–4, 95–104.
- Liu, C. Y., Chen, K. F., & Chen, P. J. (2015). Treatment of liver cancer. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 5(9), 1–17. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a021535>
- Liver Cancer | CDC*. (n.d.).
- Önalın, Ş., Çağırın, M., Arabacı, M., & Çağırın, H. (2016). Bakteriyel Balık Patojenlerinin Tanımlanmasında Kullanılan Serolojik Yöntemler. *Anadolu Çevre ve Hayvancılık Bilimleri Dergisi*, 3, 77–82.
- Sherman, M. (2014). Limitations of screening for hepatocellular carcinoma. *Hepatic Oncology*, 1(2), 161–163. <https://doi.org/10.2217/hep.13.22>
- Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., & Bray, F. (2021). Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 71(3), 209–249. <https://doi.org/10.3322/CAAC.21660>
- Tağı, Ş. (2017). İmmunolojik Teknikler, Gıda Mikrobiyolojisinde Uygulamaları. 26.04.2017, 1–10.
- Tübitak. (2017). *Projeleri Destekleme Programı*.
- Tübitak, A. (2013). *SB0102-Tıbbi Tanı Kitleri, Kitlerle İlgili Cihaz, Yazılım ve Referans Materyallerinin Geliştirilmesi*. 1–3.
- Vatansever, S., & Karasu, Z. (n.d.). *Karaciğer Kanseri*.
- Vlassov, A. V., Magdaleno, S., Setterquist, R., & Conrad, R. (2012). Exosomes: Current knowledge of their composition, biological functions, and diagnostic and therapeutic potentials. In *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects* (Vol. 1820, Issue 7, pp. 940–948). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2012.03.017>