

T.C
EGE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ



KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM
ANABİLİM DALI

**FISTIK ÇAMI YAPRAĞI EKSTRAKTININ OVER KANSERİ (SKOV-3,
MDAH-2774) VE MEME KANSERİ (MCF-7) HÜCRE HATLARI
ÜZERİNDEKİ SİTOTOKSİK AKTİVİTESİNİN İNCELENMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Elif Yağmur

ERDEM

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Levent AKMAN

İZMİR

2025

T.C
EGE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ



KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM
ANABİLİM DALI

**FISTIK ÇAMI YAPRAĞI EKSTRAKTININ OVER KANSERİ (SKOV-3,
MDAH-2774) VE MEME KANSERİ (MCF-7) HÜCRE HATLARI
ÜZERİNDEKİ SİTOTOKSİK AKTİVİTESİNİN İNCELENMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Elif Yağmur

ERDEM

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Levent AKMAN

İZMİR

2025

ÖNSÖZ

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'nda uzmanlık eğitimim boyunca desteklerini eksik etmeyen, bilgi ve deneyimlerini bana aktaran, anabilim dalı başkanımız Prof. Dr. İsmail Mete İtil hocam ve tüm hocalarıma sonsuz şükranlarımı sunarım.

Uzmanlık eğitimim ve tez hazırlama sürecimin her anında destek olan ve tezin her aşamasında bana yol gösteren, yardımlarını esirgemeyen başta tez danışmanım saygıdeğer hocam Doç. Dr. Levent Akman'a, yollarımızın iyi ki kesiştiğini düşündüğüm saygıdeğer Prof. Dr. Fazilet Zümrüt Biber Müftüler hocama ve değerli Doktora Öğrencisi Kadriye Büşra Karatay ve Doktora Öğrencisi Duygu Tuğçe Baran'a teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim boyunca her türlü bilgi, deneyim ve tecrübesi ile yolumu aydınlatan çok kıymetli hocalarım Prof. Dr. İsmail Mete İtil'e, Prof. Dr. Erol Tavmergen'e, Prof. Dr. Ege Nazan Göker'e, Prof. Dr. Serdar Özşener'e, Prof. Dr. A. Aydın Özşaran'a, Prof. Dr. Sermet Sağol'a, Prof. Dr. Mert Kazandı'ya, Prof. Dr. Fatih Şendağ'a, Prof. Dr. Fuat Akercan'a, Prof. Dr. Teksin Çırpan'a, Prof. Dr. Murat Ulukuş'a, Prof. Dr. M. Coşan Terek'e, Prof. Dr. A. Mete Ergenoğlu'na, Prof. Dr. A. Özgür Yeniel'e, Doç. Dr. Levent Akman'a, Doç. Dr. Ali Akdemir'e, Doç. Dr. Nuri Yıldırım'a, Doç. Dr. Çağdaş Şahin'e, Doç. Dr. İsmet Hortu'ya, Doç. Dr. Gökay Özçeltik'e, Doç. Dr. Ferruh Acet'e, Doç. Dr. Fırat Ökmen'e çok teşekkür ederim.

Hayatım boyunca yanımda olan, bana desteklerini hiçbir zaman eksik etmeyen, üzerimdeki emeklerinin karşılığını hiçbir zaman ödeyemeyeceğim biricik anneciğim Tuba Erdem ve biricik babacığım Prof. Dr. Ahmet Erdem'e, 11 yıldır aynı evi paylaştığım ve her zaman nazımı çeken canım anneanneciğim Hamide Yıldız'a çok teşekkür ederim.

Dr. Elif Yağmur ERDEM

İZMİR, 2025

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	III
İÇİNDEKİLER.....	I
ÖZET	III
ABSTRACT	V
TABLolar LİSTESİ	VII
ŞEKİLLER LİSTESİ	VIII
KISALTMALAR LİSTESİ	IX
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1 Over Kanseri.....	2
2.1.1 Over Kanseri Risk Faktörleri.....	2
2.1.2 Over Kanseri Taraması ve Klinik Bulgular	6
2.1.3 Over Kanseri Tanısı	8
2.1.4 Over Kanseri Alt Tipleri	11
2.1.5 Over Kanseri Evrelemesi	13
2.1.6 Over Kanserinde Tedavi Yöntemleri.....	15
2.2 Over Kanserini Araştırmak İçin Kullanılan Hücre Hatları.....	18
2.2.1 SKOV-3 İnsan Over Kanseri Hücre Hattı	18
2.2.2 MDAH-2774 İnsan Over Kanseri Hücre Hattı	18
2.3 Meme Kanseri	18
2.3.1 Meme Kanseri Risk Faktörleri	19

2.3.2 Meme Kanseri Taraması ve Klinik Bulgular	22
2.3.3 Meme Kanseri Tanısı	24
2.3.4 Meme Kanseri Alt Tipleri.....	25
2.3.5 Meme Kanserinde Evreleme	26
2.3.6 Meme Kanserinde Tedavi Yöntemleri.....	30
2.4 Meme Kanserini Araştırmak İçin Kullanılan Hücre Hattı	31
2.4.1 MCF-7 İnsan Meme Kanseri Hücre Hattı	31
2.5 Sitotoksosite	32
2.6 Apoptoz	32
2.7 Fıstık Çamı Yapağı	35
2.8 LC/MS-QTF Analizi	36
3. GEREÇ VE YÖNTEM	36
3.1 Herbaryum Analizi.....	36
3.2 Fıstık Çamı Ekstraksiyonu	36
3.3 In vitro Hücre Kültürü Çalışmaları	36
3.4 Sitotoksosite Çalışmaları	37
3.5 Apoptoz Analizi	37
3.6 LC/MS-QTF Analizi	38
3.7 İstatiksel Analizler	38
4. BULGULAR	38
4.1 Sitotoksosite Çalışmalarına Ait Sonuçlar	38
4.2 Apoptoz Analizine Ait Sonuçlar	41
4.3 LC/MS-QTF Analizine Ait Sonuçlar	42
5. TARTIŞMA	46
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	48
7. KAYNAKLAR.....	49

ÖZET

Giriş: Çalışmada, *Pinus pinea* (Fıstık Çamı) yaprağı ekstraktı elde edilerek, eskraktın meme kanseri (MCF-7) hücre hattı ve over kanseri (SKOV-3, MDAH-2774) hücre hatları üzerinde farklı konsantrasyonlarda apoptotik ve sitotoksik etkisi araştırıldı.

Gereç ve Yöntem: Fıstık çamı türünün yaprakları (iğneleri), İzmir/ Türkiye'nin Kemalpaşa bölgesinden toplandı ve Ege Üniversitesi Botanik bölümü tarafından herbaryum analizi gerçekleştirildi. Ardından bitki materyaline ekstraksiyon işlemi yapıldı. Ege Üniversitesi Nükleer Bilimler Enstitüsü'nden insan over kanseri (MDAH-2774 ve SKOV-3) ve meme kanseri (MCF-7) hücre hatları temin edildi. Hücre hatları uygun medyumda ve besiyer ortamında üretildi. Sitotoksisite çalışması için her hücre hattı hazırlandıktan sonra; beş farklı (1, 3, 10, 30, 100, 300 mikrogram/mL) konsantrasyon ile hazırlanan Fıstık Çamı yaprağı ekstraktı içeren çözelti, hücre süspansiyonunu içeren kuyucuklara eklendi ardından % canlılık değerleri belirlendi. Yüzde olarak canlılık değerleri göz önünde bulundurularak Graphpad Prism 8 programında çift yönlü ANOVA analizi ile IC-50 değerleri hesaplandı. Fıstık çamı ekstraktının MCF-7, MDAH-2774 ve SKOV-3 hücre hatları üzerindeki apoptotik etkisinin belirlenmesi için sitotoksite analizinde bulunan IC-50 değerleri uygulandı. Apoptoz analizi için, Annexin VFITC/PI kiti kullanılarak erken apoptotik hücreler, geç apoptotik hücreler ve nekrotik hücrelerin ayrımı yapıldı. BD Acuri- C6 akım sitometri cihazı ile apoptoz analizi gerçekleştirildi. Doz uygulanmayan kontrol grubuna göre apoptoz değişimleri kıyaslandı. Hücre kültürü çalışmaları kapsamında elde edilen verilerin istatistiksel analizleri, GraphPad istatistik program kullanılarak gerçekleştirildi.

Bulgular: Sitotoksisite çalışmasında fıstık çamı yaprağı ekstraktının artan konsantrasyon değerleri ile birlikte MDAH-2774, SKOV-3 ve MCF-7 hücre hatları üzerinde sitotoksik etkilerinin arttığı görüldü. Fıstık Çamı yaprağı ekstraktının en çok SKOV-3 hücre hattında sitotoksik etki gösterdiği belirlendi. Apoptoz analizinde ise MCF-7 hücre hattında, kontrol grubuna kıyasla ekstrakt uygulanan grupta erken apoptoz oranının anlamlı düzeyde arttığı görüldü. MDAH-27724 hücre hattında ise ekstrakt uygulanan grupta geç apoptoz oranının kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu tespit edildi. SKOV-3 hücre hattında, ekstrakt uygulanan grupta kontrol grubuna kıyasla nekroz oranında artış gözlemlendi.

Sonuç: Antikanser tedavide alternatif olarak bitkisel kökenli bileşenlerin sitotoksik açıdan aktif rolünün araştırılması ve kanser tedavisinde yeni ajanlar geliştirilmesi yönünde

yapılan bu çalışmada fıstık çamı yaprağı ekstraktı MCF-7, SKOV-3 ve MDAH-2774 hücre hatlarında hem sitotoksik hem de apoptotik olarak etkili bulundu.

Anahtar Kelimeler: *Pineus Pinea* (Fıstık amı), SKOV-3, MDAH-2774, MCF-7 hücre hatları, apoptoz, sitotoksisite



ABSTRACT

Introduction: In the study, *Pinus pinea* (stone pine) needle extract was obtained and the apoptotic and cytotoxic effects of the extract on breast cancer (MCF-7) cell line and ovarian cancer (SKOV-3, MDAH-2774) cell lines were investigated at different concentrations.

Materials and Methods: Leaves (needles) of stone pine species were collected from Kemalpaşa region of İzmir/Turkey and herbarium analysis was performed by Ege University Botany Department. Then, extraction process was performed on the plant material. human ovarian cancer (MDAH-2774 and SKOV-3) and breast cancer (MCF-7) cell lines were obtained from Ege University Institute of Nuclear Sciences. Cell lines were grown in appropriate medium and culture medium. After each cell line was prepared for cytotoxicity study; solution containing stone pine needle extract prepared with five different concentrations (1, 3, 10, 30, 100, 300 microgram/mL) was added to the wells containing the cell suspension and then % viability values were determined. Considering % viability values, IC-50 values were calculated by two-way ANOVA analysis in Graphpad Prism 8 program. To determine the apoptotic effect of stone pine extract on MCF-7, MDAH-2774 and SKOV-3 cell lines, IC-50 values found in cytotoxicity analysis were used. For apoptosis analysis, early apoptotic cells, late apoptotic cells and necrotic cells were separated using Annexin VFITC/PI kit. Apoptosis analysis was performed with BD Acuri-C6 flow cytometry device. Apoptosis changes were compared with the undosed control group. Statistical analyses of the data obtained within the scope of cell culture studies were performed using GraphPad statistical program.

Results: In the cytotoxicity study, it was observed that the cytotoxic effects of stone pine needle extract on MCF-7, SKOV-3, MDAH-2774 cell lines increased with increasing concentration values. It was determined that stone pine needle extract showed the most cytotoxic effect on SKOV-3 cell line. In the apoptosis analysis, it was determined that the early apoptosis rate increased significantly in the extract-applied group compared to the control group in the MCF-7 cell line. In the MDAH-2774 cell line, it was determined that the late apoptosis rate was higher in the extract-applied group compared to the control group. In the SKOV-3 cell line, an increase in the necrosis rate was observed in the extract-applied group compared to the control group.

Conclusion: In this study, which was conducted to investigate the cytotoxic active role of plant-derived components as an alternative in anticancer treatment and to develop new agents in cancer treatment, stone pine leaf extract was found to be both cytotoxic and apoptotic effective in MCF-7, SKOV-3 and MDAH-2774 cell lines.

Keywords: *Pineus Pinea* (stone pine), SKOV-3, MDAH-2774, MCF-7 cell lines, apoptosis, cytotoxicity



TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1. Over Kanseri Evrelemesi	14
Tablo 2. Meme Kanseri Evrelemesi	26
Tablo 3. Fıstık Çamı ekstraktının MCF-7, MDAH-2774 ve SKOV-3 hücre hatları üzerindeki IC ₅₀ (µg/mL) değerleri	40
Tablo 4. Ekstrakta ait LC/MS-QTF (-) benzen halkası içeren bileşenlerin adı, formülü, kimyasal yapısı, Retention time ve mass değeri	43
Tablo 5. Ekstrakta ait LC/MS-QTF (+) benzen halkası içeren bileşenlerin adı, formülü, kimyasal yapısı, Retention time ve mass değeri	46

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Fıstık çamı ekstraktının farklı konsantrasyonlarda, MCF-7, MDAH-2774 ve SKOV-3 hücre hatları üzerindeki yüzde canlılık değerleri	39
Şekil 2. MCF-7, MDAH-2774 ve SKOV-3 hücre hatları için apoptoz grafikleri	41
Şekil 3. Ekstrakta ait LC/MS-QTF (-) kromatogramı	42
Şekil 4. Ekstrakta ait LC/MS-QTF (+) kromatogramı	43



KISALTMALAR LİSTESİ

ADH: Atipik Duktal Hiperplazi
AFP: Alfa Fetoprotein
ARID1A: AT Açısından Zengin Etkileşimli Alan İçeren Protein 1A
BRCA1: BReast CAncer gene 1
BRCA2: BReast CAncer gene 2
BT: Bilgisayarlı Tomografi
CA125: Serum Kanseri Antijeni 125
DKIS: Duktal Karsinoma İn Situ
EOC: Epitelyal Over Kanseri
ERBB2: İnsan Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü-2
FDA: Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi
FDG: Florodeoksi Glukoz
FIGO: Uluslararası Jinekoloji ve Obstetrik Federasyonu
FR-alfa proteini: Folat Reseptörü alfa (FRalfa)
HCG: İnsan Koryonik Gonadotropin
HE4: İnsan Epididimis Proteini 4
HER2: İnsan Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü 2
HGSOC: Yüksek Dereceli Seröz Over Kanseri
HNPCC: Kalıtsal Polipozis Olmayan Kolorektal Kanseri
HR: Homolog Rekombinasyon
IGF-1: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-1
İDK: İnvaziv Duktal Karsinom
İHC: İmmünohistokimya
İLK: İnvaziv Lobüler Karsinom
KRAS: Kirsten Sıçan Sarkom Virüsü
LCIS: Lobüler Karsinoma in situ
LDH: Laktat Dehidrogenaz
LGSC: Düşük Dereceli Seröz Over Kanseri
LION: Over Kanseri Lenfadenektomi
LN: Lenf Nodu
MLH1: MutL homolog 1
MMR: MisMatch Repair
MRI: Manyetik Rezonans Görüntüleme

MSH2: MutS homolog 2
MSH6: MutS homolog 6
MSI: Mikrosatellit İnstabilitesi
NACT: Neoadjuvan Kemoterapi
NGS: Yeni Nesil Dizileme
NRAS: Nöroblastoma RAS Viral (v-ras) Onkogen Homologu
O-RADS: Yumurtalık-Adneksial Raporlama ve Veri Sistemi
OCCC: Berrak Hücreli Over Kanseri
PARPi: Poli-ADP Riboz Polimeraz (PARP) inhibitörleri
PCOS: Polikistik Over Sendromu
PET/BT: Pozitron Emisyon Tomografisi ve Bilgisayarlı Tomografi
PFI: Platin İçermeyen Ara
PIK3: Fosfoinozotid 3-kinazlar
PMS2: Protein Mismatch repair System component homolog 2
PR: Progesteron Reseptörleri
PTEN: Fosfotaz ve Tensin Homolog Tümör Baskılayıcı Gen
RMİ: Malignite Riski İndeksi
ROMA: Over Malignite Riski Algoritması
RT: Radyoterapi
SLNB: Sentinel Lenf Nodu Biopsisi
TP53: Tümör Protein 53
TVUS: Transvajinal Ultrason
UKTOCS: Birleşik Krallık Over Kanseri Tarama Ortak Çalışması
VEGF: Damar Endoteli Büyüme Faktörü
WHO: Dünya Sağlık Örgütü
WT1: Wilm's Tümörü 1

1. GİRİŞ

Over kanseri mortalitesi, mevcut tedavi yöntemleri ve tanı anındaki kanser evresi ile yakından ilişkilidir. Over kanserinin henüz erken evrede tespit edilmesini sağlayacak rutin bir tarama muayenesi mevcut değildir ve hastaların % 75'inde klinik tespit esnasında kanser over dışına yayılmıştır; bu da over kanserinde hayatta kalma oranının düşük olmasına neden olmaktadır (1). Meme kanseri etyolojisinde birçok genetik ve çevresel faktörün yer aldığı heterojen bir hastalıktır. Meme kanseri hakkında yapılan araştırmaların, tarama ve tedavi yöntemlerinin artmasına rağmen; meme kanserinin görülme sıklığı dünya çapında kadınlar arasında hızla artmaktadır ve meme kanseri kadınlar arasında en sık görülen kanserdir (2). Over kanseri ise meme kanseri kadar yaygın görülmemekle birlikte kadın hayatını önemli derecede etkileyen bir kanser türüdür.

Günümüzde gelişen teknolojiye rağmen over kanserinde standart tedavi ile sağkalım oranlarında anlamlı bir artış elde edilememiştir. İleri evrelerde hastaların yaklaşık yarısında iki yıl içinde nüks izlenmektedir. Hem hastalığın ileri evrelerde karşımıza çıkması hem tedavi ile sağkalımda geçmişe göre anlamlı bir artış elde edilememesi ve yüksek nüks oranları nedeniyle tedavide yeni ajanlara ihtiyaç bulunmaktadır. Bu nedenle yeni tedavi seçenekleri ile ilgili çok sayıda çalışmalar bulunmaktadır. Ayrıca standart tedavi seçeneklerindeki kemoterapinin fazla yan etkileri bulunmaktadır. Bu durum bizi daha az yan etkiye sahip, maliyeti daha düşük, ulaşımı daha kolay ve etkinliği daha yüksek bir tedavi seçeneği aramaya itmektedir.

Bitkiler zengin yapısal çeşitliliğe sahip ve ilgi uyandırıcı kimyasal bileşenler sunan doğal kaynak rezervuarıdır. Bu doğal bileşenler antioksidan, antiinflamatuvar ve antikanser özellikleri ve çeşitli biyolojik aktivitelerinden dolayı geleneksel tedavilerde sıklıkla kullanılmaktadır (3). Çam kabuğu Hipokrat tarafından iltihaplı hastalıkların tedavisinde kullanılırken, Orta Çağ'da ise yara iyileştirici özelliğinden yararlanılmıştır. Ayrıca çam iğnelerinden geleneksel tıpta çeşitli hastalıkların (kardiyovasküler hastalıklar, diyabet ve solunum sistemi hastalıkları gibi) tedavisinde fayda sağlanmıştır (4). Son zamanlarda yapılan yeni araştırmalar çam iğnesi ekstraktlarının sayısız biyolojik etkisini göstermiş olup aynı zamanda antitümöral potansiyel gibi yeni bir etkiyi de ortaya çıkarmıştır. Bu etkinin çam yaprağının flavonoid bileşenler açısından zengin olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Dünya üzerinde yaklaşık 115 tür çam ağacı bulunmaktadır ve günümüzde yapılan son

Çalışmalarda bu am ağaç türlerinin birçoğundan elde edilen am iğnesi ekstraktının çeşitli hücre hatlarında sitotoksik etkisi de gösterilmiştir (5).

Bu amaçla bu tez çalışmasında, Türkiye’de yaygın olarak görülen fıstık amı (*Pinus Pinea*) iğnelerinden elde edilen ekstraktın, over kanseri (SKOV-3, MDAH-2774) ve meme kanseri (MCF-7) hücre hatları üzerindeki sitotoksik aktivitesinin incelenmesi araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Over Kanserİ

Over kanseri, kadın sağlığı için önemli bir tehdit oluşturan en ölümcül jinekolojik kanserdir. Over kanseri her yaşıta ortaya çıkabilir ve genellikle 50 yaşı üstü kadınlarda daha yaygındır. Erken evrelerde belirti vermediği ve asemptomatik seyretmesi nedeniyle çoğu zaman ileri evrelerde teşhis edilir. Over kanserinde tanı sırasındaki medyan yaşı 63 olup, hastaların %70’inden fazlası ileri evre hastalıkla başvurur (6). Hastaların ileri evrede başvurmalarında bir diğer sebep olarak teknoloji ve bilimdeki son gelişmelere rağmen over kanseri için uygun tarama yöntemi bulunmaması gösterilebilir. Son yıllarda bu nedenle over kanseri ‘sessiz katil’ olarak adlandırılmaya başlanmış olup dünya çapında her yıl 150.000’den fazla over kanseri ilişkili ölümün meydana geldiği tahmin edilmektedir (7). Günümüzde, malignite riski puanları serum kanser antijeni 125 (CA 125) seviyeleri, menapoz durumu ve ultrason puanına göre hesaplanmaktadır (8).

Overden kaynaklanan başlıca malign tümörler; epitelyal karsinom, seks kord-stromal tümör, germ hücreli tümör ve Krukenberg tümörü olarak sınıflandırılmaktadır (9). Epitelyal over kanserli kadınlar, paklitaksel ile platin bazlı bir kemoterapi programı alırlar. Mümkün olan en etkili sitoredüktif cerrahinin uygulanmasının ardından bu tedavi uygulanır. Bu kemoterapinin over kanserli hastaların büyük çoğunluğuna karşı etkili olmasına rağmen, hastaların çoğu ilaç direnci ve tekrarlama ile karşı karşıyadır. Sonuç olarak, over kanserinde hasta sonuçlarını iyileştirmek için en yeni sitotoksik tedavi yöntemleri geliştirilmelidir.

2.1.1 Over Kanserİ Risk Faktörleri

Over kanseri ile ilişkilendiren risk faktörlerinin başında yaşı gelmektedir. Over kanserine yakalanma riski, yaşla birlikte artar. Over kanseri tanısı alan kadınların yarısı 63 yaşımdan büyüktür (7).

Over kanseri için bir diğer önemli risk faktörleri de aile gemişı ve ilişkili genetik sendromlardır. Özellikle anne, kız kardeş veya teyzede over kanseri öyküsü bulunan kadınlarda risk artmaktadır. Bir kadının bir akrabasında over kanseri gemişı olması riskini %5’e çıkartır

ve iki akrabada olması riski %7'ye çıkarır. Over kanseri vakalarının yaklaşık %12'si kalıtsal meme ve over kanseri sendromundan kaynaklanır. Over kanseri, belirli gen mutasyonları olan kadınlarda daha yaygındır. Her beş yüz kadından birinde meydana gelen meme ve over kanseri sendromu, BRCA1 veya BRCA2 geninde otozomal dominant bir mutasyon nedeniyle ortaya çıkar. Tümör süpresör özelliklere sahip bu iki gen DNA onarım süreçlerinde kritik rol oynamakla birlikte, yapı ve fonksiyonları bakımından birbirinden ayrılmaktadır (10). Mutasyonlar, bu genlerin normal fonksiyonlarını bozarak hücrelerin DNA hasarını onarma kabiliyetini azaltabilir.

Kalıtsal meme ve over kanseri sendromu, meme, over, pankreas ve prostat kanserlerinin riskini artırır ve yaşam boyu over kanseri riskinin %23 ila %54'ü ile ilişkilidir. Lynch sendromu ise, dördü DNA yanlış eşleşme tamiri (MMR) genlerinden biri olan MLH1, MSH2, MSH6 ve PMS2'de meydana gelen germ hattı mutasyonları ile tanımlanan, otozomal dominant kalıtsal kanser gelişimi riskini ifade eder. Lynch sendromunda en sık rastlanan mutasyonlar, MLH1 ve MSH2 genlerinde bulunur, bu mutasyonlar etkilenen Lynch Sendromu ailelerinin %80-90'ında tespit edilirken, geri kalan %10-20'lik kısım MSH6 ve PMS2 mutasyonlarına sahiptir. Lynch sendromunda kolorektal, endometrial, meme ve over kanserlerinin riski artmıştır. Lynch sendromu, eski ismi ile kalıtsal non-polipozis kolorektal kanser, taşıyıcı kadınlarda kolon kanserinin ardından en sık görülen tümör tipi endometriyal kanserdir ve bu durumun yaşam boyu kümülatif riski, hangi genin mutasyona uğradığına göre %21-71 arasında değişiklik göstermektedir (11). Lynch sendromu taşıyıcılarında yaşam boyu over kanseri riski %12'dir (12). Ayrıca Lynch sendromu taşıyan kadınlarda over kanseri ortalama başlangıç yaşı 46 olup, sporadik vakalarda gözlemlenen başlangıç yaşından 10-15 yıl daha önce gerçekleşmektedir (13). Yüksek kanser riskleri nedeniyle, Lynch sendromu taşıyan kadınlar, bu kanserlerin erken teşhisini sağlamak için düzenli olarak takip edilmektedir. Endometrium kanserinin izlenmesinin etkili olduğu düşünülmeyle birlikte over kanserinin izlenmesi yönetimi tartışmalıdır. Ancak hastaların klinik ve aile öykülerinin yanı sıra, immünohistokimyasal analiz ve DNA yanlış eşleşme tamiri eksikliğini tespit etmek için mikrosatellit instabilitesi testi gibi kombine tarama yaklaşımlarının etkili olduğu gösterilmiştir.

Over kanseri için diğer birçok risk faktörü, adet ve üreme ile ilgili unsurlarla ilişkilidir. Örneğin erken menarş yaşı ve geç menapoz yaşı, over kanseri riskiyle bağlantılı faktörler arasındadır (14). Bu tür hormonal ve adet döngüsü ile ilişkili değişiklikler, kadınların üreme sağlığını ve kanser risklerini etkileyebilir. Özellikle, erken menarşın neden olduğu uzun bir östrojen maruziyeti, over kanseri riskini artırırken, geç menapoz ise hormonal değişimlerin uzun sürmesi sebebiyle benzer bir etki yaratabilir. Ancak, bu faktörlerin etkileri toplum düzeyinde farklılıklar gösterebilir ve bireysel riskin değerlendirilmesi için diğer unsurlarla

birlikte dikkate alınmalıdır. Nulliparite ve düşük parite de over kanseriyle ilişkilidir. Çoğu araştırma, ilk doğumdan sonra gerçekleştirilen term gebelik sayısının artmasıyla birlikte riskin düştüğünü göstermektedir. Bu durum, her doğumun ek bir risk azaltma etkisi sağladığını öne sürmektedir. Multipar kadınlar, over kanseri riskinde yaklaşık %50 oranında bir azalma yaşamaktadır (15).

Ayrıca son yıllarda yapılan bir çalışmada emzirmenin, invaziv over kanseri riskini %24 oranında azalttığı ortaya konmuştur. Pariteden bağımsız olarak, emzirme geçmişine sahip kadınların, tüm invaziv over kanserleri için risk azalması ile ilişkilendirildiği ve bu etkinin özellikle yüksek dereceli seröz ve endometrioid kanserlerde daha belirgin olduğu gözlemlenmiştir. Tek bir emzirme dönemi için, emzirme süresinin 1 ila 3 ay olması %18 oranında bir risk düşüşü ile ilişkilendirilirken, 12 ay veya daha uzun süre emziren kadınların %34 oranında daha düşük bir riskle karşılaştığı bildirilmiştir (16). Uzun süreli emzirmenin, hormonal dengeleri etkileyerek ve ovulasyon sıklığını azaltarak over kanseri riskini azaltabileceği düşünülmektedir (17). Ayrıca, daha yakın tarihlerdeki emzirmenin de risk azalması ile bağlantılı olduğu ve bu etkinin birkaç on yıl boyunca devam ettiği gözlemlenmiştir. Bu bulgular, emzirmenin kadın sağlığı üzerindeki olumlu etkilerini bir kez daha ortaya koymaktadır.

Geçmişte oral kontraseptiflerin kullanımı genel risk ile ilişkilendirilmemiş olsa da, bu yöntemleri hiç kullanmayanlarla karşılaştırıldığında, en az 10 yıl süreyle kullanımın özellikle invaziv over kanserleri açısından riski azalttığı bulunmuştur (18). Bu durum, oral kontraseptiflerin hormon düzeylerini düzenleyerek ovulasyonu inhibe etmesi ve dolayısıyla over kanseri gibi bazı kanser türlerinin gelişim riskini azaltmasıyla açıklanabilir.

Menopoz sonrası östrojeni tek başına veya progesteronla birlikte kullanan kadınların, hormon kullanmamış kadınlarla karşılaştırıldığında over kanserine yakalanma riskinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir (19).

Yapılan araştırmalarda pelvik inflamatuvar hastalık (PID) ve epitelyal over kanseri arasında bir ilişki olduğu da desteklenmiştir (20). Epitelyal over kanserinin tubal kökeni ve kronik inflamasyonun tümör oluşumundaki rol, bu ilişkiyi mantıklı kılmaktadır.

Endometriozisli kadınlar, endometriozis olmayan kadınlarla karşılaştırıldığında 4.2 kat daha yüksek bir over kanseri riski taşımaktadır. Endometrioma ve/veya derin infiltrasyonlu endometriozisi bulunan kadınlar, endometriozis olmayanlara göre 9.7 kat daha yüksek bir risk altındadır. Endometriozis alt tipleri ile over kanseri histotipleri arasındaki ilişkiler, tip I (endometrioid, berrak hücreli, müsinöz ve düşük dereceli seröz) over kanserleri için tip II (yüksek dereceli seröz) over kanserlerine kıyasla çok daha fazladır. Bu bulgular, endometriozis ve over kanseri arasındaki ilişkinin karmaşık doğasını ve özellikle endometriozis alt tiplerinin

risk üzerindeki etkisini vurgulamaktadır. Ayrıca, endometriozis tanısı almış kadınların daha sıkı bir şekilde izlenmesi ve tanı sürecinde sağlık uzmanları tarafından risk faktörlerinin dikkate alınması gerektiğini göstermektedir (21).

Polikistik over sendromu (PCOS), overde çok sayıda kistin varlığıyla karakterize bir metabolik bozukluktur. PCOS hastalarında over stroma dokularının artışı ile over maligniteleri arasında bir ilişki olduğu gözlemlenmiştir (22). Bu durum, PCOS'un hormonal dengesizliklerle ve potansiyel olarak kanser riskiyle ilişkili olduğu anlamına gelmektedir. PCOS'un yönetimi, bu riskleri azaltmak için önemli bir adım olabilir ve hastaların düzenli takip edilmesi önerilmektedir.

Adipozitenin over kanseri riski ile ilişkisini açıklayan mekanizmalar tam olarak net olmasa da, artan inflamatuvar belirteçler ve hormonal faktörler bu ilişkiyi anlamada kritik rol oynayabilir. Özellikle vücut yağ oranının artması, inflamatuvar yanıtları tetikleyerek kanser riskini artırabilir (23). Ayrıca obezitenin over kanseri sonuçları üzerinde olumsuz bir etkisi olduğuna dair başka kanıtların bulunması nedeniyle obezite, yönetim ve tedavi sonuçlarını iyileştirme çabalarında dikkate alınması gereken önemli ve potansiyel olarak geri dönüşümlü bir risk faktörü olmaya devam etmektedir (24).

Biyolojik mekanizmalar açısından, sigaranın müsinöz tümörlerle olan doğrudan ilişkisi, bu neoplazilerin servikal adenokarsinom ve kolorektal kanserle benzerliğinden kaynaklanmaktadır; zira her iki kanser türü de tütün maruziyeti ile doğrudan bağlantılıdır. Endometriyal kanser, sigaranın olası antiöstrojenik etkisi nedeniyle tütün içiminde ters bir ilişki ile ilişkilendirilmektedir. Tütün kullanmanın, over karsinogenezisinin erken evrelerinde güçlü etkileri olabileceği düşünülmektedir. Bu nedenle, müsinöz alt tip için sigara ile ilgili riskin daha belirgin olmasının sebebi, musinöz histotipe benign, borderline ve invaziv hastalıklar arasında bir sürekliliğin bulunmasıdır; oysa seröz over kanserleri genellikle yüksek dereceli olup, borderline tümörlerden kaynaklanmamaktadır. Ayrıca, sigara içmenin somatik KRAS genindeki mutasyonları musinöz borderline over tümörlerinde seröz borderline over tümörlerine göre daha yaygın hale getirdiği bildirilmiştir; borderline tümörlerde ise invaziv kanserle kıyaslandığında daha sık gözlemlenmektedir (25).

Hücrel hasarlar, oksidatif stres ve inflamatuvar medyatörlerin (örneğin, sitokinler ve prostaglandinler) lokal artışı, mutajenik etkiler sergileyebilir ve böylece karsinogenezi teşvik edebilir. Bu hipotezi destekleyen veriler arasında, inflamatuvar medyatörlere ovarian organın maruziyetini önemli ölçüde azaltan histerektomi veya bilateral tüp ligasyonu gibi uygulamaların, over kanseri riskinin azalmasıyla ilişkili olduğu bulunmaktadır.

2.1.2 Over Kanseri Taraması ve Klinik Bulgular

Kalıtsal meme ve over kanseri sendromu, aile geçmişi kriterlerine dayanarak klinik olarak tanımlanmakta ve moleküler düzeyde, klinik olarak doğrulanmış kalıtsal meme ve over kanseri sendromu genlerindeki germ hattı patojenik varyantların tespit edilmesiyle belirlenmektedir (26). Kalıtsal meme ve over kanseri sendromu tanımlandıktan sonra, genetik danışmanlık hem bireylere hem de ailelerine yönelik tıbbi ve olası psikolojik etkileri ele almalıdır. Tıbbi etkiler, mevcut kanserin tedavisi sürecine olan katkısını ve gelecekteki kanserlerin önlenmesi veya erken tespitine yönelik yapılacak müdahaleleri kapsamaktadır. Risklerin değerlendirilmesi, spesifik kanser türleri için risklerin genel nüfus riskleri ile karşılaştırılmasını içermelidir. Mümkünse risk değerlendirmesi kapsamlı ve kişiye öze olmalı; yalnızca belirlenen gen ve varyantı değil, ayrıca bireysel risk faktörlerini, hem genetik dışı (örneğin, yaş, üreme geçmişi) hem de genetik unsurları da göz önünde bulundurmalıdır. Risk azaltma ve tarama ile ilgili öneriler, mevcut olduğunda bilimsel verilere dayalı olmalı ve kişisel durumlar ve tercihler (örneğin, aile geçmişi, aile planlaması ve üreme seçenekleri) hakkında tartışmayı içermelidir.

Kalıtsal meme ve over kanseri sendromu taşıyıcılarında over ve fallop tüpü kanseri taramasıyla ilgili yapılan tüm çalışmalar gözlemsel niteliktedir. Transvajinal ultrason ve kanser antijeni 125 (CA-125) testi temel alınarak gerçekleştirilen taramanın potansiyel faydaları arasında hastalığın evresinde düşüş sağlanması ve cerrahi karmaşıklıkların azalmasıyla birlikte tam rezeksiyon oranlarının artması bulunmaktadır. Ancak, bu taramanın yüksek riskli kadınlarda sağkalım oranlarını artırıp artırmadığı henüz net bir şekilde bilinmemektedir. Kalıtsal meme ve over kanseri sendromu taşıyıcıları için düzenli tarama yapılması düşünülmekle birlikte, potansiyel riskler ve faydaların dikkatlice değerlendirilmesi gerekmektedir.

Son yıllarda over kanseri tarama ve önleme alanında kaydedilen önemli ilerlemeler, bireylerin over kanseri riskini tahmin etmek için genetik ve epidemiyolojik faktörleri bir araya getiren geliştirilmiş araçların, önleyici ve tarama stratejilerini özelleştirmek amacıyla kullanıma sunulmasını sağlayacak gibi görünmektedir. Over kanserinin bir kısmının tüp kaynaklı olduğuna dair artan kanıtlar, genel popülasyonda tüp ligasyonu ve histerektomi sırasında bilateral salpenjektomi uygulamasının desteklenmesini sağlamıştır (27).

Genel popülasyonda, bugüne kadar yapılan en büyük over kanseri tarama denemesi olan Birleşik Krallık Over Kanseri Tarama Ortak Çalışması (UKTOCS), yıllık multimodal tarama sırasında CA125 Risk Algoritması'nın kullanımı ile evre değişiminin gözlemlendiğini ortaya koymuştur; ancak yıllık transvajinal ultrason taramasıyla bu durum tespit edilmemiştir (28). Her iki tarama stratejisinin de tarama dışındaki bireylerle karşılaştırıldığında belirgin bir

mortalite azalması sağladığı gösterilmemiştir. Birleşik Krallık ve ABD'deki yüksek riskli tarama denemelerinde, 3-4 aylık multimodal tarama sırasında evre değişmesi ve optimal sitoreduksiyon oranlarının daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Ancak genel popülasyon için taramanın desteklenmesine dair henüz yeterli kanıt bulunmadığından, yüksek riskli tarama önerileri ülkeler arasında farklılıklar göstermektedir. Tarama denemelerinden elde edilen önemli bir bulgu, CA 125 için tek bir kesme noktası yerine longitudinal algoritmaların daha iyi bir performans gösterdiğidir. Over kanseri biyomarker keşif çalışmaları, hem plazma hem de servikal sitoloji örnekleri gibi yeni örneklerde tümör DNA markerlarını incelemek için büyük bir odak noktası haline gelmiştir.

Laboratuvar testleri çerçevesinde çeşitli tümör biyomarkerleri incelenmiştir. Karbohidrat Antijen 125 (CA125), ilk kez 1980'lerin başında tanımlanmıştır (29). Over kanseri vakalarında serum CA125 seviyeleri yükselme gösterebilir, ancak bu belirtecin over kanserinin erken evrelerinde düşük bir hassasiyeti bulunmaktadır. Yükselmiş CA125 seviyeleri, menstrüasyon dönemi, gebelik, endometriozis ve peritonun inflamatuvar hastalıkları gibi diğer fizyolojik veya patolojik durumlarda da rapor edilmiştir. Over kanserleri için özgüllüğü artırmak amacıyla İnsan Epididimis Proteini 4 (HE4) gibi diğer biyomarkerler geliştirilmiştir. Bu belirteçlerin özgüllüğü oldukça güvenilir olmakla birlikte, hassasiyetleri genellikle çok yüksek değildir. Bu nedenle, bu biyomarkerlerin özelliklerini geliştirmek amacıyla Malignite Riski İndeksi (RMI) ve Over Malignite Riski Algoritması (ROMA) gibi algoritmalar oluşturulmuştur (30).

Bugün, benign over tümörleri şüphesi olan hastalarda over kanseri riskini tahmin etmek için en iyi biyolojik tanı aracının CA125 ve HE4 düzeylerinin kombinasyonu olduğu düşünülmektedir. CA125 ve HE4 seviyeleri yükseldiğinde, malign bir lezyon olasılığı akla gelmeli ve bu durumda anatomopatolojik inceleme için cerrahi müdahale planlanmalıdır. Öte yandan, bu belirteçlerden biri belirtilen kesim değerinin üzerinde, diğeri altında ise basit bir ultrason veya biyolojik izleme seçenekleri değerlendirilebilir. HE4 seviyeleri yaş ile birlikte arttığı için, hastaların yaşını göz önünde bulunduran algoritmalar geliştirmek gereklidir; bu durum menopoz durumu dikkate alınmaksızın geçerlidir. Serum HE4 seviyeleri sigara içenler ve hormonal kontraseptif kullanan bireylerde değişiklik gösterdiğinden, bu bilgilerin her zaman hastanın klinik geçmişine dahil edilmesi büyük önem taşımaktadır. Bununla birlikte, CA125 seviyeleri bu değişkenlerden bağımsız olduğundan, bu iki belirtecin aynı anda ölçülmesi, belirli durumlarda olası sapmaların düzeltilmesine olanak tanımaktadır (30).

Over kanseri, yakın organlara doğrudan tümörün yayılması ve abdominal ekim yoluyla uzak organlara, ayrıca dolaşım ve lenfatik sistem aracılığıyla yayılmaktadır. Hastaların çoğunda, over kanserinin erken evrelerinde belirsiz ve spesifik olmayan karın, pelvis,

gastrointestinal ve adet dönemi ile ilgili belirtilere gözlemlenirken, bazı hastalar ise asemptomatik olabilir (31).

Over kanseri tanısı konmuş 1,709 kadın üzerinde gerçekleştirilen bir ankette, katılımcıların %72'si tanıdan üç ay veya daha uzun bir süre önce bel ağrısı, yorgunluk, karın ağrısı, gaz, kabızlık veya idrar semptomları yaşadıklarını bildirmiştir; %35'i ise altı ay veya daha uzun süre boyunca bu belirtilerin olduğunu belirtmiştir (32).

Bir vaka-kontrol çalışmasında altı maddeden oluşan bir semptom indeksi geliştirilmiştir. Buna göre over kanseri ile önemli ölçüde ilişkili semptomlar arasında pelvik ağrı ya da karın ağrısı, sık idrara çıkmak, artan abdominal çevre ya da karın şişliği, yemek yemenin zorluğu veya doluluk hissi bulunmaktadır; bu semptomlar 1 yıldan daha kısa bir süre içinde ve ayda 12 günden fazla ortaya çıktığında dikkate alınmalıdır. Eğer bu altı semptomdan herhangi biri ayda 12 günden fazla görülüyorsa, ancak 1 yıldan kısa süredir mevcutsa, bu durumda bir semptom indeksi pozitif kabul edilmektedir. Sonuç olarak belirli semptomlar, sıklıkları ve süreleri ile birlikte, over kanseri tanısı olan kadınları tanımlamada etkili olmuştur. Semptom indeksi, risk altında olan kadınları belirlemede faydalı bir araç olarak değerlendirilebilir (33).

Bu semptomların yanı sıra, over kanseri; subakut serebellar dejenerasyon, aniden ortaya çıkan seboreik keratozlar (Leser-Trélat işareti) veya açıklanamayan, spontan, tekrarlayıcı ya da migratuar venöz trombotik olaylar (Trousseau sendromu) gibi paraneoplastik sendromlarla da kendini gösterebilir. İleri evre hastalık, bağırsak ya da üreter tıkanıklığı ve nefes darlığı gibi bölgesel yayılım ya da metastaz belirtileri ile de ortaya çıkabilir. Over kanseri semptomlarının geç görülmesi açısından bir istisna, hormonal belirtiler ile kendini gösterebilen seks kord-stromal tümörlerdir; bu belirtiler erken puberte, anormal uterin kanama ve virilizasyon gibi durumları kapsar. Bu tümörlerin %70'i erken evrede, yani evre I'de teşhis edilmektedir (34).

2.1.3 Over Kanseri Tanısı

Risk faktörleri hakkında bilgi toplamak amacıyla tıbbi geçmiş ve belirtiler sorgulanır. Bu sorgulamaların yanı sıra, over veya abdominal bölgede artan sıvı varlığını kontrol etmek için pelvik muayene de gerçekleştirilmektedir. Eğer belirtilerde ve/veya fizik muayenede over kanserinden şüphelenirse, daha ayrıntılı incelemeler yapmak üzere ek tetkikler talep edilir. Bu süreç, olası tanının doğrulanması ve hastanın doğru şekilde yönlendirilmesi açısından büyük önem taşımaktadır.

Over kanseri tanısında görüntüleme yöntemleri, kitlenin pelvik bölgede bulunup bulunmadığını tespit etmek için kullanılmaktadır. Ancak, bu testler kitlenin kanserli olup olmadığını doğrulamak amacıyla yeterli değildir. Bunun yanı sıra, görüntüleme yöntemleri over

kanserini metastaz açısından değerlendirmede de önemli rol oynamaktadır. Bu tür bilgiler, hastalığın evresi ve tedavi seçenekleri hakkında karar verilmesinde kritik öneme sahiptir.

Pelvik görüntüleme işlemleri, semptomatik hastalar üzerinde uygulanmakta ve bu bağlamda tanısal bir rol üstlenmektedir. Genel olarak, hastalar semptomatik olduğunda ilk klinik tercih olarak transvajinal ultrason (TVUS) tercih edilmektedir. Bir over kisti, obstetrik ultrason veya başka nedenlerle gerçekleştirilen batin manyetik rezonans görüntüleme (MRI) veya batin bilgisayarlı tomografi (BT) sırasında tesadüfen de tespit edilebilir. Ancak, TVUS, pelvik muayene, tümör antijenleri, MRI ve BT ile karşılaştırıldığında daha yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip olduğu için tanıda önemli bir yardımcı yöntem olarak kullanılmaktadır. Düşük maliyeti, diğer tanı yöntemlerine göre önemli bir avantaj sunmaktadır. TVUS, radyasyona maruz bırakmayan ve invaziv olmayan bir teknik olması nedeniyle hastalar tarafından da geniş bir kabul görmekte ve tercih edilmektedir. Bu özellikleri sayesinde, TVUS, over kanserinin erken teşhisinde kritik bir rol oynar ve kadın sağlığı alanında güvenilir bir tanı aracı olarak öne çıkmaktadır (35).

BT görüntülemesinde, over kanseri genellikle septasyonları olan kalın duvarlı kistler olarak görünmektedir. BT raporu, tümörün yeri, boyutu ve çevre yapılar üzerindeki invazyon gibi bilgileri içermelidir. Lenf düğümünün durumunu değerlendirirken, her lenf nodunun boyutu, şekli ve kenarları dikkatlice incelenmelidir. Abdominal lenf nodu durumunu değerlendirirken, malign bir lenf nodunu tespit etmek için genellikle 1 cm'lik kısa eksen kesim sınırı kullanılmaktadır. BT, over kanseri hastalarını evreleme sürecinde en yaygın şekilde kullanılan yöntem olmasına rağmen, manyetik rezonans görüntüleme (MR) ve pozitron emisyon tomografisi (PET/BT), ileri evre vakaların evrelemesi için giderek daha fazla tercih edilmektedir. Bu fonksiyonel görüntüleme teknikleri, tamamlayıcı cerrahi rezeksiyonun mümkün olup olmadığını belirlemede ve ileri tedavi kararlarına yön vermede ek bilgiler sunabilir (36).

MRI'nın tamamlayıcı değeri, ultrasonografinin belirlenemeyen kitlelerini doğru bir şekilde karakterize etme yeteneğinden kaynaklanmaktadır. Over kistlerinin değerlendirilmesini standart hale getirmek amacıyla Avrupa Radyoloji Derneęi, çoğu lezyonu spesifik olarak tanımlamaya yardımcı olan ve hasta yönetimi için bir rehber işlevi gören algoritmik bir yaklaşım önermiştir (37). Beş puanlık bir değerlendirme sistemi, katı dokunun perfüzyonunun zaman yoğunluk eğrisi aracılığıyla değerlendirilmesini içerirken, myometriyum iç referans noktası olarak kullanılmaktadır.

Son dönemde, O-RADS MRI skoru, 1340 kadının dahil olduğu Avrupa merkezli bir araştırmada doğrulanmıştır (38). Elde edilen sonuçlar, radyolojik uzmanlık düzeyinden bağımsız olarak, sonografik olarak tanımlanamayan kitlelerde malign lezyonları saptamada

%93 duyarlılık ve %91 özgüllük ile sağlam bir skoru desteklemektedir. Malign kitleler için mükemmel pozitif olasılıklar sunan bu sistemin değerlendirme puanı 5'tir. Puanı 4 (belirsiz) olarak değerlendirilen kitlelerin %10'unun malign ve benign patolojiler bakımından eşit oranda bulunduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmadan elde edilen veriler, O-RADS MRI risk stratifikasyon skor sistemine dair kanıt sunmakta ve O-RADS ultrason skoru ile kombine edilerek over/adneksal kitlelerin yönetimi ve takibi için kılavuzların geliştirilmesinde küresel bir standardizasyon sağlama hedefine yardımcı olmaktadır (37).

PET/BT ile moleküler görüntüleme, kanserin tanısal görüntülenmesinde önemli bir rol kazanmıştır. PET/BT, duyarlı bir yöntem olarak, anatomik değişiklikler olmadan hastalığın aktivitesini lokalize etme, konvansiyonel görüntülemeden daha küçük lenf nodu (LN) metastazlarını ortaya çıkarma, uzaktaki metastazları tespit etme ve konvansiyonel görüntüleme sonuçlarının belirsiz olduğu durumlarda tedavi sonrası bulguları ayırt etme gibi avantajlar sunmaktadır. Ancak, FDG'nin spesifik olmayan alım mekanizması yanlış pozitif sonuçlara yol açabilir ve hedef kanserin boyutu ile histolojisi de yanlış negatif bulguların nedenleri arasında yer almaktadır.

Bir kitlenin kanser olup olmadığını kesin bir şekilde belirlemenin tek yolu, kitleden parça alarak laboratuvar ortamında incelemektir. Over kanserinde biyopsi genellikle operasyon esnasında tümörün çıkarılmasıyla gerçekleştirilmektedir.

Nadir durumlarda, şüpheli bir over kanserinin teşhisi için laparoskopi operasyonu sırasında veya tümörden direkt bir iğne ile biyopsi alınabilir. Ancak, biyopsinin tümörü yayabileceğine dair endişeler sebebiyle bu işlemler, genellikle ilerlemiş kanseri bulunan ya da ciddi başka tıbbi sorunları olan hastalarda ameliyat yapılmadığında tercih edilmektedir.

Eğer karın içinde sıvı birikmesi söz konusu ise, kanserin teşhisi için parasetez ile sıvı örneği de alınabilir. Bu işlemlerle elde edilen doku veya sıvı, patoloji laboratuvarında, patolog tarafından detaylı bir incelemeye tabi tutulur. Bu inceleme, over kanseri tanısının konulması ve hastalığın evrelemesi için kritik bir aşamadır.

Eritrosit, lökosit ve trombositlerin miktarlarını belirlemek amacıyla kan sayımı testleri yapılır. Ayrıca, karaciğer ve böbrek fonksiyonlarının yanı sıra hastanın genel sağlık durumunu değerlendirmek için de çeşitli kan testleri gerçekleştirilir. Over kanserinden şüphelenilen kadınlarda genellikle CA-125 testi istenir. CA-125 düzeyi yüksek olan kadınlarda jinekolojik kanser olasılığı düşünülmektedir. Ayrıca, bazı germ hücreli kanserler, kandaki AFP, HCG ve/veya LDH düzeylerinin artışına yol açabilir (39). Germ hücreli over tümöründen şüphelenildiğinde bu biyomarkerlere bakılabilir. Bazı over stromal tümörleri ise östrojen, testosteron ve inhibin gibi hormonların kanda yükselmesine yol açarak salgılayabilir. Bu durumlar, hastalığın tanısında önemli ipuçları sunmaktadır.

Bazı over kanserlerinde, hedefe yönelik veya immünoterapik ilaçların kullanımının uygunluğunu belirlemek için spesifik gen veya protein değişikliklerini tespit etmek amacıyla incelemeler yapılmaktadır. BRCA1 ve BRCA2 genleri, DNA onarımında önemli bir rol oynarlar; bu genlerdeki mutasyonlar, hücrelerin kontrolsüz çoğalmasına ve kansere dönüşmesine yol açabilir. BRCA mutasyonlarına sahip over kanserlerinin PARP inhibitörleri adı verilen hedefe yönelik tedavilerle daha iyi yanıt verme olasılığı bulunmaktadır.

Birçok over kanserinde, hücrelerin yüzeylerinde yüksek düzeyde FR-alfa proteini bulunur. Kanser hedefe yönelik ilaçla tedaviye yanıt verme olasılığını değerlendirilmesinde FR-alfa seviyelerinin test edilmesi yardımcı olabilir (40).

Berrak hücreli, müsinöz veya endometrioid over kanseri olan kadınlarda, mikrosatellit kararsızlığı (MSI) olarak bilinen yüksek düzeyde gen değişiklikleri bulunup bulunmadığı kontrol edilebilir. MSI, genellikle Lynch sendromu (HNPCC) taşıyan bireylerde görülür ve epitelyal over kanserlerinin yaklaşık %10'unda bu genlerde değişiklikler saptanabilir. Ayrıca MSI gen değişiklikleri bulunan over kanserleri, kontrol noktası inhibitörleri adı verilen bazı immünoterapik ilaçlarla tedavi edilebilir. Bu, tedavi seçeneklerini genişletir ve hastaların yönetiminde yenilikçi yaklaşımlar sunar (41).

Tüm bu yöntemler, kanserin yayılımını ve ilerlemesini anlamak için kritik bir öneme sahiptir ve tedavi planlamasında büyük rol oynamaktadır.

2.1.4 Over Kanseri Alt Tipleri

Over kanseri sınıflaması, overin üç ana bileşeninden birinin potansiyel kökenine dayanmaktadır: epitel, stroma ve germ hücreleri. Bu nedenle, overden kaynaklanan başlıca malign tümörler; germ hücreli tümör, epitelyal karsinom, seks kord-stromal tümör ve Krukenberg tümörü olarak sınıflandırılmaktadır (9). Bunlar arasında en yaygın olanları epitelyal karsinomlardır; özellikle seröz over karsinomu en sık görülen alt tiptir. Ancak, over kanserinin alt tipleri, hastaların ortaya çıkış yaşına göre farklılık göstermektedir.

Morfolojik ve moleküler çalışmalarda gelişmelere dayanarak, epitelyal over kanserinin iki ana kategoriye ayrıldığı ikili bir sınıflama sistemi geliştirilmiştir: Tip I ve Tip II tümörler (42). Tip 1 tümörlerin over yüzey epiteli ya da kistleri çevreleyen epitelden köken aldığı ve daha yavaş ilerleyen tümörler olduğu düşünülmektedir. Tip 2 tümörlerin ise tubal epitel kökenli olup daha agresif seyrettiği ve daha kötü prognozlu olduğu düşünülmektedir. Fakar ikili sistemin sınırlamaları nedeniyle, histopatolojik özellikler ve grade'e dayanan revize edilmiş bir sınıflama, klinik uygulamalarda güncel standart olarak benimsenmiştir. Epitelyal over kanseri (EOC), etyoloji, patoloji, klinik davranış ve moleküler özellikler açısından farklılık gösteren heterojen bir malign tümör grubunu kapsamaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO)

sınıflamasına göre over karsinomunun 5 alt türü bulunmaktadır: seröz, musinöz, berrak hücreli, endometrioid ve Brenner tümörler.

Bu histolojik tiplerin tanısı, immünohistokimya (İHC) yöntemi ile yapılmakta ve moleküler özellikler bakımından da farklılıklar göstermektedir. Yaygın olarak kullanılan IHC panelleri arasında Wilm's tümörü 1 (WT1), P53, NAPSİN A ve progesteron reseptörleri (PR) yer almaktadır. Bunun yanı sıra, BRCA genindeki germ hattı ya da somatik mutasyon çalışmalarının yanı sıra homolog rekombinasyon (HR) durumu, kalıtsal danışmanlık, tedavi kararlarının alınması ve prognostik karakterizasyon açısından büyük bir önem taşımaktadır.

Yüksek dereceli seröz over kanseri (HGSOC); tüm over kanseri ölümlerinin %70-80'ini oluşturarak, over kanserinin en önemli histolojik alt tipi olarak karşımıza çıkmaktadır. Etiyolojik kökeninde tuba uterina ve periton kanseri olduğu düşünülmektedir. HGSOC için mevcut standart tedavi, tümör debulking cerrahisi ile platin bazlı/paklitaksel kemoterapinin kombinasyonunu içermektedir. HGSOC'nin platin bazlı kemoterapiye karşı gösterdiği derin duyarlılığa rağmen, çoğu hasta nihayetinde bu tedaviye direnç geliştirmekte, bu durum tedavi sürecinde ciddi sorunlar yaratmakta ve platin bazlı kemoterapinin kullanımını kısıtlamaktadır. Ancak, HGSOC'nin moleküler hedefleri hakkında yapılan araştırmaların derinleşmesi ve yeni nesil dizileme (NGS) teknolojisinin ilerlemesi ile birlikte, PARP inhibitörleri (PARPi) gibi birçok yeni hedefe yönelik ilaç geliştirilmektedir (43). Bu ilaçlar, HGSOC hastaları için yeni tedavi seçenekleri sunmaktadır. HGSOC için onaylanmış hedefe yönelik tedaviler arasında bevacizumab ve PARPi yer almaktadır. PARPi, ilk kez BRCA1/2 mutasyonu bulunan over kanseri hastaları için kullanılmış olup, ayrıca ileri evre epiteliyal over kanseri olan tüm platin duyarlı hastalarda (BRCA1/2 mutasyon durumuna bakılmaksızın) tedavide onay almıştır (44).

Düşük dereceli seröz over kanseri (LGSC); düşük dereceli özellikler gösteren invaziv bir seröz tümördür. P53'ün wild tip olması, LGSC'yi yüksek dereceli seröz over kanserinden (HGSOC) ayıran önemli bir özelliktir. Erken evre hastalığın prognozu genellikle iyidir. HGSOC'dan farklı olarak, LGSC'nin kemoterapiye yanıtı oldukça zayıf kalmaktadır (45). LGSC'nin mutasyon spektrumu, KRAS, NRAS, BRAF ve ERBB2 genlerini içermektedir. KRAS mutasyonu, genellikle daha kötü bir prognoz ile ilişkilendirilirken, BRAF mutasyonu daha iyi bir prognoz ile bağlantılıdır. Ayrıca, ER ve PR pozitif tümörler bu tümörlerin ek hormon tedavisine uygun olmasına olanak tanımaktadır. Dikkat edilmesi gereken bir diğer nokta, LGSC'nin genellikle BRCA1/BRCA2 mutasyonu ile ilişkilendirilmediğidir (46).

Borderline over kanserleri; reproduktif yaşta en sık görülen epiteliyal over kanseri olup, epiteliyal over kanserlerinin %10-15'ini oluşturur (47). Borderline over kanserleri, nükleer atipi ve over stromasının bariz invazyonunun olmamasıyla düşük malign potansiyel gösterir. En sık %50-55 seröz ve % 35-45 musinöz alt tipleri görülür (48). Borderline over kanserlerinde lenf

nodu metastazı ya da intraperitoneal yayılım görülse bile malign tümörlerden daha iyi prognoza sahip olduğu bilinmektedir.

Endometrioid over kanseri; epitelyal over kanserlerinin yaklaşık %5-10'unu oluşturarak önemli bir alt grup teşkil etmektedir ve genellikle endometriozis lezyonları ile ilişkilendirilerek geliştiği düşünülmektedir (49). Lynch sendromu taşıyan kadınlar, bu tip kanserin gelişiminde risk faktörü olarak öne çıkmakta ve endometrioid over kanseri geliştirme olasılıkları artmaktadır.(45) Bu türde en yaygın görülen mutasyonlar arasında PIK3CA, ARID1A, KRAS, PTEN ve PPP2R1A bulunmaktadır (50). Endometrioid adenokanser endometrium kanseri ile en çok birliktelik gösteren over tümörüdür. Epitelyal over kanserinin sağkalım oranları, seröz over kanseri ile karşılaştırıldığında daha iyidir.

Berrak hücreli over kanseri (OCCC); over kanserlerinin %5'ten azını oluşturan nadir bir formdur. OCCC'nin patogenezi henüz tam olarak aydınlatılamamış olup, endometriozis ile ilişkilendirildiği düşünülmektedir (45). Berrak hücreli over kanserinde tanımlanan çeşitli moleküler yollar ve değişiklikler mevcuttur; en sık görülen mutasyonlar arasında ARID1A, PIK3 ve PIK3CA bulunmaktadır. Erken evrede tanı konulan hastaların prognozu genellikle olumlu bir seyir izlerken, ileri evre veya nükseden hastalar daha kötü onkolojik sonuçlarla karşılaşabilmektedir (51). Berrak hücreli over kanseri genelde overde sınırlı olup ileri evrede, yüksek dereceli seröz over kanserinden daha kötü seyirli olup platin dirençli olabilir.

Müsinöz over kanseri; epitelyal over kanserinin nadir bir alt türüdür ve epitelyal over kanserlerinin yaklaşık %3'ünü temsil etmektedir (52). Moleküler özellikler açısından, bu hastaların %50'sinde KRAS mutasyonu ve %18'inde HER2 amplifikasyonu bulunur (45). Bununla birlikte, P53 ve BRCA mutasyonlarının genellikle müsinöz kanserlerle ilişkilendirilmediği gözlemlenmektedir. Müsinöz over kanseri genelde tanı anında overde sınırlıdır ve genelde tek taraflı olup en büyük boyutlara ulaşabilen over tümörleridir.

Brenner tümörü; son derece nadir görülen bir epitelyal over kanseri türü olup, seröz kanserin bir varyantı olarak da kabul edilir. Brenner tümörü mesane epiteli gibi transizyonel epitel ile döşelidir. Walthard hücre adacıkları olarak da bilinen, paratubal dokudaki transizyonel hücre metaplazisi bölgelerinden kaynaklandığına inanılmaktadır (53). Genellikle Brenner tümörü verahiden sonra iyi prognoza sahiptir.

2.1.5 Over Kanseri Evrelemesi

Over kanseri evrelemesi günümüzde cerrahi olarak yapılmaktadır. Fallop tüpü ve primer peritoneal kanserler de over kanserleri ile aynı evreleme sistemine sahiptir.

Operasyon sırasında periton yıkama sıvısı alınır, tüm batın ve peritoneal yüzeyler eksplere edilir. Bilateral salpingoofektomi ve total histerektomi uygulanır. Malignite

düşündürecek yerlerden biyopsi alınır. Tümörün bitişiğindeki adezyonlar rezeke edilir ya da biopsi uygulanır. İnfrakolik omentektomi uygulanır, cul-de-sac, mesane peritonu, sağ ve sol pelvik yan duvar, etkililenen kısmın over fossası, sağ ve sol parakolik oluk ve sağ hemidiaframdan da biopsi örneği alınır. Para-aortik ve parakaval lenf nodu diseksiyonu yapılır (54). Ameliyat sonrası tedavi ise kanserin alt evresine bağlı olarak değişmektedir. Evre 1 over kanseri için ilk tedavi tümörü çıkarmak için cerrahi müdahaledir.

Tablo 1. Over Kanser Evrelemesi

Evre 1A	Tümör bir overde sınırlı, kapsül intakt, tümör yüzeye ulaşmamış, batın yıkaması ya da asit negatif
Evre 1B	Her iki overde tümör Evre 1A özelliklerinde
Evre 1C	Tümör 1 ya da 2 overde
Evre 1C1	Cerrahi sırasında rüptür
Evre 1C2	Cerrahi öncesi kapsül rüptüre ve tümör over yüzeyinde
Evre 1C3	Periton sıvısında ya da asit sıvısında malign hücreler var
Evre 2A	Uterus ya da tubalara invaze tümör
Evre 2B	Diğer pelvik organlara yayılım
Evre 3A	Pozitif retroperitoneal lenf nodu ya da pelvis dışında mikroskopik metastazlar
Evre 3A1	Pozitif retroperitoneal lenf nodu
Evre 3A1 (i)	Metastaz ≤ 10 mm
Evre 3A1 (ii)	Metastaz > 10 mm
Evre 3A2	Mikroskopik ekstrapelvik/ peritoneal implantlar
Evre 3B	Makroskopik, 2 cm ya da daha küçük ekstrapelvik/ peritoneal implantlar mevcut (dalak ve karaciğer kapsül tutulumu dahil)
Evre 3C	Makroskopik, 2 cm'den büyük ekstrapelvik/ peritoneal implantlar mevcut (dalak ve karaciğer tutulumu dahil)
Evre 4A	Plevral efüzyonda pozitif sitoloji

Evre 4B	Dalak/ karaciğer parankim tutulumu ya da ekstra abdominal organ ya da lenf nodu pozitifliği
---------	---

Operasyon sonrası adjuvan kemoterapi gerekliliği cerrahi evrelemenin yeterliliği ile yakından ilişkilidir. Adjuvan kemoterapi cerrahi evrelemenin yetersiz olduğu, kalıntı intraperitoneal ya da retroperitoneal tümör yayılım riski taşıyan hastalar için endikedir.

2.1.6 Over Kanserinde Tedavi Yöntemleri

Over kanseri için ilk aşama tedavi yöntemler genellikle ya primer debulking cerrahisi sonrasında platin bazlı kemoterapi ya da neoadjuvan kemoterapi takip eden aralıklı debulking cerrahisi ve cerrahiden sonra ek kemoterapiyi içermektedir. Ayrıca, belirli özel durumlarda tedavi sonrasında poli-ADP riboz polimeraz (PARP) inhibitörleri ile bakım tedavisine geçilebilir. Ancak, bu tedavi yaklaşımları yalnızca sınırlı sayıda hasta üzerinde etkili olmaktadır ve over kanserinin prognozu olumsuz kalmaya devam etmektedir; genel 5 yıllık sağkalım oranı %30 ile %50 arasında değişim göstermektedir (55). Bu durum, over kanserinin erken teşhisinin önemini vurgulamakta ve tedavi yöntemlerinin iyileştirilmesi gerekliliğini ortaya koymaktadır. Çünkü erken teşhis, tedavi seçeneklerini artırabilir ve hastalığın seyrini olumlu yönde etkileyebilir. Ayrıca, hastalığın yönetiminde multidisipliner bir yaklaşımın önemine de dikkat çekilmektedir. Bu tür bir yaklaşım, hastaların tedavi sürecinde farklı uzmanlık alanlarından yararlanarak daha etkili sonuçların elde edilmesini sağlayabilir.

Eksploratif laparotomi ile gerçekleştirilen optimal cerrahi, hastalığın tanısında, evrelemesinde ve debulking (tümör azaltma) işlemlerinde önemli bir rol oynar. Erken evre hastalık durumunda cerrahi evre belirlenmesi, tüm peritoneal boşluğun incelenmesini, asit sıvısı veya peritoneal yıkama sitolojisi yapılmasını, histerektomi, bilateral salpingooforektomi, pelvik ve para-aortik lenfadenektomi, omentektomi ile peritoneal biyopsiyi kapsar. Patolojik inceleme, hastalığın histolojik türünü, derecesini ve FIGO aşamasını değerlendirerek ek tedavi seçeneklerine karar verilmesine yardımcı olur. Makroskopik hastalığın bulunmaması için tüm hastalıklı bölgelerin tamamen çıkarılması önemlidir. Debulking cerrahisi sonrası makroskopik rezidüel hastalığın varlığı, genel hayatta kalım süresi ile ilişkili olarak daha kötü bir prognoz ile bağlantılıdır. Klinik olarak negatif lenf nodlarıyla birlikte yapılan birincil sitoredüksiyon sırasında, LION (Lymphadenectomy In Ovarian Neoplasm) çalışmasına göre sistematik pelvik ve para-aortik lenfadenektominin genel hayatta kalım süresinde anlamlı bir iyileşme sağladığı görülmemiştir (45). Büyümüş lenf nodları ise mutlaka çıkartılmalıdır. İleri evre hastalığı bulunan bireylerin geniş kapsamlı cerrahi sitoredüksiyon için uygun olup olmadığını belirlemek

amacıyla değerlendirilmeleri gereklidir. İleri evre hastalık tedavi stratejileri, birincil debulking cerrahisi veya neoadjuvan kemoterapi (NACT) ardından iki ila üç kür uygulanan aralıklı sitoredüksiyonu kapsar. Nüks durumlarında cerrahinin kapsamı, ikincil veya üçüncül sitoredüksiyonu içerir.

Neoadjuvan kemoterapinin potansiyel avantajları arasında, optimal rezidüel hastalık oranının artması, daha az geniş cerrahinin gerçekleştirilmesi, daha az kan kaybı, morbidite ve hastanede kalış süresi, yaşam kalitesinin iyileşmesi yer almaktadır (56). Platin bazlı kemoterapi, over kanserinin temel tedavi yöntemlerinden biridir. Yeniden teşhis edilen epitelyal over kanseri vakalarının yaklaşık %80'i mevcut platin bazlı kemoterapiye olumlu yanıt vermektedirken, hastaların yaklaşık %70'i nüks yaşamaktadır ve bu hastaların çoğu sonunda platin direncine sahip bir hastalık geliştirmektedir. Platin dirençli nüks, platin içermeyen bir ara (PFI) süresinin 6 aydan daha kısa olması durumunda ortaya çıkmaktadır; PFI, son platin bazlı kemoterapi dozunun ardından kanserin ilerlemesi veya nüksü ile ilgili daha fazla belirti görülmesi arasında geçen süreyi ifade eder. PFI, tekrarlayan over kanseri olan hastalarda platin duyarlılığını ve prognozunu tahmin etmek için kullanışlı ve etkili bir yöntemdir. Platin dirençli nüks yaşayan hastalar için ikincil platin bazlı tedaviye yanıt oranı %10'un altındadır (57). Platin dirençli nüks sonrası mevcut tedavi seçenekleri sınırlı kalmaktadır.

Nüks eden over kanserinin cerrahisi olarak sekonder sitoredüksiyon, hala tartışmalı bir konu olmaya devam etmektedir. Bazı retrospektif ve prospektif çalışmalar, platin içermeyen bir ara dönem geçiren nüks eden over kanseri hastaları için ikincil sitoredüksiyonun hayatta kalım avantajı sağladığını önermektedir (58). Ancak, genel olarak yalnızca tam rezeksiyonun hayatta kalım avantajı ile bağlantılı olduğu bulunmuştur.

Epitelyal over kanseri için; standart kemoterapi rejimi karboplatin artı paklitakseli içermekte olup bu rejim sisplatin artı paklitaksel ile karşılaştırıldığında daha az toksisiteye sahip olmaktadır (59). Bu tedavi ayrıca seçilmiş hastalarda ek hedeflenmiş tedavileri de kapsamaktadır. Ek kemoterapinin uygunluğu, hastanın evresine, histolojisine, rezidüel hastalık varlığına ve moleküler profiline bağlıdır. Erken evre hastalıklarda, nüks riski yüksek olan belirli özelliklere sahip hastalar (evre 1C ve 2, şeffaf hücreli histoloji, yüksek dereceli tümörler) ek platin bazlı kemoterapiden fayda görebilir. Tercih edilen rejim, karboplatin ve paklitakselin altı döngüsünü içermektedir. İleri evre over kanseri tedavisinde; intravenöz paklitaksel ve sisplatin kombinasyonuna göre, intravenöz paklitaksel ile intraperitoneal sisplatin ve paklitaksel kombinasyonunun, optimal debulking uygulanmış evre III over kanseri hastalarında hayatta kalım süresini arttırdığı bulunmuştur (60). HIPEC (Hipertermik intraperitoneal kemoterapi), ise intraperitoneal kemoterapiye daha avantajlı yeni bir yöntem olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu yöntem tüm peritoneal yüzeylerin kemoterapiye maruz kaldığı, komple sitoredüksiyonu

takiben özel bir zamanda uygulanan tek bir doz gerektirmektedir. Ayrıca, kemoterapötik ilaçların sitotoksitesini artırmak için hipertermik etkiden faydalanmaktadır (41-43 °C arasında 30-120 dakika) (61). Ancak iyileşmiş hayatta kalım avantajlarına rağmen, intraperitoneal kemoterapinin kullanım sıklığı, yan etkilerin daha yüksek insidansı nedeniyle azalmıştır. Bu yan etkiler arasında yorgunluk, gastrointestinal, hematolojik, nörolojik ve metabolik toksik etkiler sayılabilir.

Bevacizumab; tümör progresyonu, malign efüzyonlar ve over kanserindeki prognoz ile ilişkili kritik bir anjiogenik faktör olan damar endoteli büyüme faktörü (VEGF) üzerine etkili olan tipik bir ajandır. Bevacizumab, FDA tarafından platin dirençli epitelyal over kanseri için onay almış olup; EOC'da ilk aktif hedefli tedavi olarak kabul edilmektedir (62). Bununla birlikte bevacizumab ve diğer anti-VEGF bileşenlerinin uygulanması sırasında çeşitli toksisiteler tanımlanmıştır. Genellikle hafif olan bu toksisiteler (hipertansiyon, proteinüri ve kanama gibi) kendiliğinden geçebilmektedir veya kontrol altına alınabilmektedir; ancak bazı yan etkiler (yara iyileşme komplikasyonları , arteriyel tromboembolizm ve gastrointestinal perforasyon veya fistüller gibi) nadir görülse de ciddi sonuçlar doğurabilmektedir (63).

Bununla birlikte son yıllarda yapılan bir çalışmada ileri evre over kanseri hastalarında birinci basamak standart tedaviye bevacizumab eklenmesiyle birlikte bakım tedavisi olarak olaparibin eklenmesinin, önemli bir hayatta kalım avantajı sağladığı bulunmuştur (64). Olaparib, en fazla üzerinde çalışma yapılan, birinci sınıf oral PARP inhibitörüdür. PARP inhibitörleri (PARPi) over kanseri tedavisinde en umut verici hedefli tedavi ajanları arasında yer almaktadır. PARPi; homolog rekombinasyon onarım (HRR) yolunu bloke ederek kanser hücresinin ölümünü sağlar. Bu yaklaşım, genetik onarım mekanizmalarını hedef alarak kanser hücrelerinin hayatta kalma yeteneğini azaltmayı amaçlamaktadır ve özellikle platin direnci geliştirmiş hastalarda etkili olabilir. Olaparib, BRCA mutasyonu taşıyan hastalarda, özellikle over kanseri gibi belirli tümör türlerinde önemli bir tedavi seçeneği olarak öne çıkmaktadır (65). Olaparib kullanımında ciddi yan etki olarak karşımıza anemi çıkmaktadır, nadiren akut miyeloid lösemiye ilerleyebilir (66).

Epitelyal over kanseri (EOC), çoğunlukla ileri evrelerde teşhis edilmektedir ve geniş cerrahi sitoreduksiyon ile mevcut sistemik tedavilere rağmen mortalitesi yüksek seyretmektedir. Moleküler özellikler ve over kanserindeki platin direncine dair devam eden araştırmalar, yeni tedavi yöntemlerinin geliştirilmesine öncülük etmektedir. Yeni hedefli tedavi yöntemleri, hem birincil hem de nüks eden durumlar için klinik denemelerde değerlendirilmektedir. Ayrıca, kanser hücrelerine doğrudan hedeflenmiş ilaç taşıyıcı nanopartiküllerin kullanımı, tedavi etkinliğini artırmayı amaçlayan bir araştırma alanı olmaya devam etmektedir.

2.2 Over Kanserini Araştırmak İçin Kullanılan Hücre Hatları

Çalışmamız sürecinde iki farklı over kanseri hücre hattı kullanıldı. Bu iki hücre hattı da over kanserinin farklı alt tiplerini modellemekte ve farklı özelliklere sahip idi.

2.2.1 SKOV-3 İnsan Over Kanseri Hücre Hattı

SKOV-3 over kanseri hücre hattı, 64 yaşında over adenokarsinomu olan bir kadının overinden izole edilen epitelyal morfolojili bir hücre hattıdır. Bu hücreler tümör nekroz faktörüne, sisplatin ve adriamisin gibi sitotoksik ilaçlara dirençlidir. SKOV-3 hücrelerinin immün sistemi baskılanmış farelere intraperitoneal enjeksiyonunun, berrak hücreli adenokarsinom benzeri tümör gelişimine yol açtığı görülmüştür (67).

2.2.2 MDAH-2774 İnsan Over Kanseri Hücre Hattı

MDAH-2774 over kanseri hücre hattı, endometrioid over kanseri olan bir hastanın asit sıvısındaki hücrelerden geliştirilen bir hücre hattıdır. MDAH-2774 hücre hattının büyüme özellikleri ve potansiyeli, endometrioid over adenokarsinomunun klinik özellikleri ile paralellik göstermektedir.

2.3 Meme Kanseri

Meme kanseri; dünya genelinde en yaygın tanı konulan kanser türüdür (68). Ayrıca, meme kanseri, kadınlarda kanserle ilişkili ölümlerin ikinci en önemli nedeni olarak öne çıkmaktadır (69). Bununla birlikte, erken teşhis ve tedavi alanındaki ilerlemeler sayesinde, meme kanserine bağlı ölüm oranları önemli ölçüde azalmaktadır. Daha erken tedavi edilen meme kanserlerinin yaşam kurtarıcı etkisi olduğu, 40-69 yaş arasındaki kadınların katılımıyla gerçekleştirilen organize mamografi taramasıyla ilgili dönüm noktası niteliğindeki bir makalede kanıtlanmıştır. Bu çalışma, tarama programına katılan kadınların, katılmayan kadınlara kıyasla tanıdan sonraki 10 yıl içinde meme kanserinden ölüm riskinin %60 ve 20 yıl içinde %47 daha düşük olduğunu göstermektedir (70). Ayrıca meme kanseri, cerrahi onkoloji, radyasyon onkolojisi ve medikal onkolojiyi içeren multidisipliner bir yaklaşımla tedavi edilmektedir. Bu entegre yaklaşım, farklı disiplinlerin uzmanlıklarını bir araya getirerek, hastaların tedavi süreçlerinde daha etkili sonuçlar elde edilmesine yardımcı olur. Multidisipliner bir tedavi planı, meme kanserine yönelik daha kişiselleştirilmiş ve kapsamlı bir yaklaşım sunar; bu da kanser tedavisinin yanı sıra hastaların genel yaşam kalitelerini yükseltmeyi amaçlar.

Kanserden sonra yıllar boyunca hayatta kalan hastalar, yaşlanmanın getirdiği normal sorunlarla birlikte, kanser ve kanser tedavilerinin uzun vadeli etkileriyle de başa çıkmak durumunda kalmaktadır. Bu durum, hastaların meme kanseri nüksü (genellikle tedaviden sonraki ilk beş yıl içinde fakat yıllar sonra da gelişebilir), yeni primer meme kanseri, diğer kanser türleri ve tedavinin kısa ve uzun vadeli yan etkileri açısından artan risklerle karşı karşıya kalmasına neden olmaktadır.

Hastaların karşılaştığı ek sorunlar, psikolojik kaygılar, genetik faktörler, üreme sağlığı, sosyal etkileşimler ve istihdam ile ilgili kaygıları da içermektedir. Bu durumlar, kanser tedavisi sonrası yaşam kalitesini etkileyebilir ve hastaların genel sağlık ve iyilik halleri üzerinde ek bir karmaşıklık yaratabilir. Kapsamlı bir bakım planı, fiziksel sağlık hizmetlerinin yanı sıra psikolojik destek, sosyal hizmetler ve yaşama dönme konusunda rehberlik sunarak, kanserden kurtulmuş bireylerin yaşam kalitelerini artırabilir.

2.3.1 Meme Kanseri Risk Faktörleri

Meme kanserinin gelişimi, çeşitli hücre tiplerinin etkileşimiyle ortaya çıkan karmaşık ve çok aşamalı bir süreçtir. Bu süreçte genetik faktörler, yaş, cinsiyet, hormonal etkiler, çevresel etmenler ve yaşam tarzı alışkanlıkları gibi birçok unsur rol oynamaktadır.

Yaşın artması, meme kanseri riskini artıran önemli bir faktördür. Kadınlarda meme kanseri en yaygın olarak 55 ile 64 yaş aralığında teşhis edilir. Meme kanserlerinin %5'inden daha azı 40 yaş altındaki kadınlarda görülmektedir ve diğer birçok kanser türünde olduğu gibi, yaş ilerledikçe risk artmaktadır (71) Ancak menopozdan sonra bu riskin artışı yavaşlamaktadır.

Kadın olmak meme kanseri için temel risk faktörü olarak karşımıza çıkmaktadır. Tüm meme kanseri vakalarının %1'den azı erkeklerde görülmektedir.

Ağırlık ve vücut yağı, menopoz sonrası kadınlar için önemli bir sağlık göstergesidir. Obezite, vücut kütle indeksinin (BMI) ≥ 30 kg/m² olarak tanımlanmasıyla, genel hastalık ve ölüm oranlarında bir artışla ilişkilendirilmektedir. Ancak, BMI ile ilişkilendirilen meme kanseri riski menopoz durumuna göre değişkenlik göstermektedir. Menopoz sonrası kadınlarda yüksek BMI, meme kanseri riskini artırabilirken, bu etki menopoz öncesi kadınlarda daha az belirgin olabilir (72). Bu nedenle, menopoz sonrası dönemde kilo yönetimi ve sağlıklı yaşam tarzı seçimleri, meme kanseri riskini azaltmak açısından büyük önem taşımaktadır.

Benign meme hastalıkları, geniş bir patolojik yelpazeyi kapsamaktadır. Bu hastalık grubunda yer alan lezyonlardan özellikle atipik hiperplazi, meme kanseri riskini dört katına kadar artırabilen bir durumdur (73).

Meme dokusunun yoğunluğu, glandüler ve bağ dokusu ile yağ dokusu arasındaki dengeyi gösterir. Mamografik olarak yoğun meme dokusuna sahip kadınlar, genellikle meme

dokusunun %75'inden fazlasının yoğun doku oluşturduğu tanımıyla, benzer yaş grubundaki daha az ya da hiç yoğun dokuya sahip kadınlara göre meme kanseri için daha fazla risk altındadırlar (74).

Kemik, östrojen reseptörleri (ER'ler) bulundurması ve dolaşımdaki östrojen düzeylerine son derece duyarlı olması nedeniyle, kemik mineral yoğunluğu (BMD), uzun süre boyunca endojen ve ekzojen östrojen maruziyetinin bir göstergesi olarak kabul edilmektedir. Farklı araştırmalarda, daha yüksek kemik yoğunluğuna sahip kadınların meme kanseri riskinin arttığı gözlemlenmiştir (75).

Hem premenopozal hem de postmenopozal kadınlarda, yüksek endojen östrojen seviyeleri meme kanseri riskinin artışıyla ilişkilidir. Postmenopozal kadınlarda, yüksek hormon seviyeleri (örneğin, estradiol ve estron) ile meme kanseri riski arasında güçlü ilişki bulunmuştur (76).

Kombine östrojen/progesteron replasmanının, histerektomi geçirmemiş kadınlarda, sonraki ER-pozitif meme kanseri riskini artırdığı kanıtlanmıştır. Öte yandan, daha önce histerektomi geçirmiş kadınlarda, yalnızca östrojen replasmanının meme kanseri riski ile ilişkilendirilmediği, hatta riskin azaldığı gözlemlenmiştir (77).

Kombine oral kontraseptiflerin kullanımının ise meme kanseri riskini geçici olarak artırdığı ve kullanıma son verildiğinde ise beş yıl içinde bu etkinin kaybolduğuna dair veriler bulunmaktadır (78). Ayrıca yüksek androjen seviyeleri (yani testosteron), hem premenopozal hem de postmenopozal dönemlerde meme kanseri riski ile ilişkilendirilmiştir (79).

Yüksek insülin direnci seviyeleri, daha yüksek meme kanseri insidansı ile ilişkilendirilmiştir. Ayrıca IGF-1 (insülin büyüme faktörü-1)'in hem premenopozal hem postmenopozal kadınlarda meme kanseri riski artışı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (80).

Meme kanseri riski, erken menarş ve geç menopoz yaşı ile de ilişkilidir. Ayrıca menarş yaşının her bir yıl daha genç olması, menopoz yaşındaki her bir yıl daha yaşlanmasına göre meme kanseri riskine olan etkisi istatistiksel olarak daha belirgindir (81).

Nullipar kadınlar, doğum yapmış kadınlarla karşılaştırıldığında meme kanseri açısından daha risklidir (82). Ayrıca doğum yapmanın koruyucu etkisi, yıllar sonra bile devam edebilmektedir. Genel olarak üreme faktörleri, çok doğum yapan ve ilk doğum yaşı erken olan kadınlarla, tek doğum yapan ve geç doğum yapan kadınlar karşılaştırıldığında 70 yaşına kadar birikimli insidansı yaklaşık %50 etkileyebilmektedir (83).

İn situ veya invaziv meme kanseri öyküsü, karşı memede invaziv meme kanseri geliştirme riskini artırmaktadır. Bu durum; 30 yaşından küçük tanı alanlar ve ER-negatif kanserleri olanlarda daha sık karşılaşılmaktadır. Ancak, bu oranların zamanla azaldığı, muhtemelen ek tedavi yöntemlerindeki ilerlemeler nedeniyle ortaya çıkmaktadır. Kişisel meme

kanseri öyküsü bulunan bireylerde, ailede meme kanseri varlığı da bu riski artırmaktadır. Akrabanın 40 yaşından önce tanı alması durumunda, bu risk daha da artmaktadır (84).

Meme kanserinde aile öyküsü; meme kanseri olan ve olmayan kadın ilk derece akrabalarının sayısı ve tanı yaşından önemli derecede etkilenmektedir. Etkilenen birinci derece akrabalar arttıkça, meme kanseri için risk oranları da artmaktadır ve risk oranları genç yaşlarda en yüksektir (85).

Meme kanserine yatkınlık sağlayan spesifik genetik mutasyonlar da görülmektedir, meme kanseri vakalarının yaklaşık %6'sı doğrudan BRCA1 ve BRCA2 patojenik varyantlarının kalıtımına bağlanabilir. Bununla birlikte bazı kalıtsal meme kanseri türleri, Li-Fraumeni ve Cowden sendromları gibi diğer nadir görülen kalıtsal sendromlarla bağlantılı olabilir; bu sendromlar, sırasıyla tümör proteini p53 (TP53) ve fosfataz ve tensin homolog tümör baskılayıcı (PTEN) genlerindeki patojenik varyantlarla ilişkilidir. PTEN sendromunda meme, endometrium ve tiroid kanseri riski artmıştır. Peutz-Jeghers sendromu (PJS) ise serin/teronin kinaz 11 genindeki (STK11) patojenik varyantla ilişkili nadir bir hastalıktır. Bu hastalarda mukokutanöz pigmentli lezyonlar görülür ve kolon ve rektum, mide, ince bağırsak ve pankreas kanserleri ile meme ve over kanserleri de görülmektedir. CDH1 (kalıtsal diffüz gastrik kanser sendromu) kadherin1 genindeki patojenik varyantlarla ilişkilidir. Bu hastalarda artmış lobüler meme kanseri gelişimi görülmektedir. BRCA2'nin ortağı ve lokalizatörü PALB2, BRCA2 ile etkileşime giren bir proteini kodlayan bir meme kanseri duyarlılık genidir. PALB2 kadın taşıyıcılar için 80 yaşına kadar kümülatif yaşam boyu meme kanseri riski yaklaşık %53 iken, 50 yaşına kadar kümülatif risk yaklaşık %17'dir, ayrıca over ve pankreas kanseri riskinde de artış izlenmektedir (86).

Alkol tüketimi; östrojen reseptörleri üzerindeki etkisi, östrojen seviyeleri üzerindeki etkisi ve alkol metabolizması yan ürünlerinin etkisi ile meme kanseri gelişiminde risk faktörü olarak rol oynamaktadır. Alkol aromatozu aktive eder ve ayrıca adet döngüsünde değişkenliğe sebep olabilir (2). Ayrıca hem aktif hem pasif sigara içiciliği de meme kanseri riskini artırabilen önemli bir risk faktörüdür.

Ayrıca göğüs/boyun bölgesine radyasyon öyküsü meme kanseri riskini artırmaktadır. Radyasyonun meme kanseri üzerindeki etkisi, büyük ölçüde maruziyet yaşına bağlıdır. 40 yaşından sonraki radyasyon maruziyeti için göreceli risklerin daha düşük olduğu gözlemlenirken, maruziyet yaşı azaldıkça bu riskler artmakta ve özellikle 20 yaşından önceki maruziyet durumunda en yüksek seviyelere ulaşmaktadır (87).

2.3.2 Meme Kanseri Taraması ve Klinik Bulgular

Meme kanseri, kadınlar arasında kanser kaynaklı ölümlerin ikinci en sık nedeni olarak önemli bir sağlık sorunu teşkil etmektedir. Meme kanserinin önlenmesi, dünya genelinde büyük bir zorluk teşkil etmekle birlikte, erken teşhis ve tarama programları bu hastalığın önlenmesinde kritik bir rol oynamaktadır. Erken teşhis sayesinde hastalığın ilerlemeden tespit edilmesi, tedavi şansını artırmakta ve bu durum, hayatta kalım oranlarını önemli ölçüde yükseltebilmektedir. Düzenli mamografi taramaları, özellikle yüksek risk altındaki kadınlar için, erken aşamada kanserin tespit edilmesine olanak tanıyarak tedavi süreçlerini daha etkili hale getirmektedir. Bu bağlamda, toplumda meme kanseri farkındalığını artırmak ve düzenli tarama programlarının önemini vurgulamak, kadınların sağlığını koruma adına hayati öneme sahiptir. Ayrıca, kadınların bireysel risk faktörleri hakkında bilgi sahibi olmaları ve gerektiğinde sağlık profesyonelleriyle görüşmeleri teşvik edilmelidir.

Meme kanserlerinin çoğu, anormal bir tarama çalışması sonucunda teşhis edilirken, önemli bir kısmı da hastalar tarafından kendiliğinden fark edilmektedir. Araştırmalar, mamografi taramasının hem meme kanserinden ölüm riskini azalttığını hem de erken tedaviye erişimi kolaylaştırdığını ortaya koymaktadır. Meme kanseri mortalitesi, 1980'lerden bu yana önemli ölçüde düşmüş olup, bu azalma, tarama yoluyla daha erken teşhis ve tedavideki gelişmelerle ilişkilendirilmektedir.

Meme kanseri taraması için, meme kanseri gelişim riski, tarama kararlarını etkileyebilecek diğer faktörler ve taramanın sağladığı faydalar ile olumsuz etkiler dikkate alınarak öneriler yapılmaktadır. Ayrıca, meme kanserine genetik yatkınlık taşıyan kadınların belirlenmesi ve yönetimi ile geçmişte meme kanseri geçiren kadınların izlenmesi de ayrı bir şekilde detaylandırılmaktadır.

Meme kanseri riskini etkileyen birçok faktör bulunmaktadır; bunlar arasında aile öyküsü, genetik mutasyonlar, hormon seviyeleri, yaşam tarzı ve çevresel etmenler yer almaktadır. Risk değerlendirmesi, bireylerin en uygun tarama stratejilerini belirlemelerine yardımcı olur ve gerektiğinde ek testlerin yapılmasını sağlar. Bu konuda uzman görüşü almak ve risk faktörlerini izlemek, kişiye özgü bir yaklaşım geliştirmek açısından kritik önem taşımaktadır.

Meme kanseri riskini artıran, kanıtlanmış veya şüpheli genetik mutasyonlara sahip olan kadınlar, özellikle BRCA1, BRCA2, PTEN ve TP53 genlerinde mutasyon taşıyanlar yüksek risk altındadır. Örneğin, BRCA1 mutasyonu taşıyan kadınların 70 yaşına kadar meme kanseri geliştirme riski %57, BRCA2 mutasyonu taşıyanlar için meme kanseri riski %49 olarak belirlenmiştir (88).

Kadınların çoğunda yaşam boyu meme kanseri geliştirme riski %15'ten az olup bu ortalama riski göstermektedir. Ancak meme kanseri görülme riski yaşla birlikte arttığı için tarama zamanını belirlemede en önemli faktör yaştır. 40 yaşın altında meme kanseri görülme sıklığı oldukça düşük olmakla birlikte yaş aldıkça bu risk artmaktadır. Mamografinin özgüllüğü ve duyarlılığı ise yaşa bağlı olup, yaşlı kadınlarda gençlere göre daha fazladır. 40 yaşının altında meme kanseri için ortalama riskli kadınlar için tavsiye edilen bir rutin tarama uygulaması bulunmamaktadır. Ortalama riske sahip bu kadınlarda mamografi taramasının 40 yaşında başlanması önerilmektedir. Son yıllarda yapılan bir çalışmada 40 yaşında başlanıp iki yılda bir yapılan mamografi taraması ile meme kanseri ölüm oranlarının azaldığı ve mamografi başına kazanılan yaşam yılının arttığı gösterilmiştir (89). 50 yaş ve üzeri ortalama risk grubundakiler için çoğu uzman düzenli mamografiyi ve en az 74 yaşına kadar taramaya devam etmeyi önermektedir. 75 yaş ve üzerindeki kadınlar için ise yalnızca en az on yıllık yaşam beklentisi ile tarama önerilmektedir.

Mamografi ortalama riskli kadınlarda meme kanseri taramasında birincil modalitedir. Ultrason ve manyetik rezonans görüntüleme (MRI) gibi diğer radyolojik teknikler, mamografi bulgularının daha ileri değerlendirilmesi veya meme kanseri riski daha yüksek olan hastaların taranması için ayrılmıştır. Klinik meme muayenesinin veya hastanın kendi kendine meme muayenesinin mamografiye ek olarak yararlı olup olmadığı tartışmalıdır ve hasta veya klinisyen tarafından yapılan meme muayenesi tek tarama yöntemi olarak önerilmemektedir.

Mamografi, çok sayıda randomize çalışmada gösterildiği üzere meme kanseri ölüm oranını azaltmaktadır ancak en iyi koşullarda bile mamografinin altta yatan meme kanserinin %20'sine kadarını gözden kaçırabileceği bilinmelidir. Mamografinin sıklığı tarama yaptırmak isteyen ortalama riskli hastalarda, hasta tercihine bağlı yıllık ya da iki yılda bir yapılabilir. En uygun sıklık konusunda veriler sınırlı ve karmaşık olsa da, yıllık tarama daha fazla maliyet ve zarar ile ilişkilendirilmiştir ve iki yılda bir tarama ile arasındaki fayda farkı azdır.

Meme kanseri için yaklaşık %15 - %20 yaşam boyu risk taşıyan kadınlara, birinci derece akrabasında meme kanseri aile öyküsü olan ancak bilinen bir genetik sendromu olmayan çoğu birey dahil, taramaya başlama yaşı ve tarama sıklığı ortalama riskli kadınlara yapılan aynı tarama yaklaşımı önerilmektedir.

Yüksek riskli hasta grubunu, bilinen BRCA ve diğer duyarlılık genleri olan, 30 yaşın altında göğüs radyasyonu öyküsü olan, atipik hiperplazi gibi belirli meme hastalığı olan ve meme kanseri geliştirme riski %20'den fazla hesaplanan kişiler oluşturur. Bu riskli grup için mamografiye ek olarak MR ile tarama önerilir. MR'dan geçemeyen yüksek riskli kadınlar için (gadoliniuma karşı şiddetli anaflaktik reaksiyon öyküsü, anksiyolitik tedaviye uygun olmayan klostrofobi) ise ultrason ile tarama önerilmektedir. MR yüksek riskli popülasyonlarda meme

kanserini tespit etmede mamografi veya ultrasona göre daha yüksek duyarlılığa sahip olup, meme kanseri geliştirme riski önemli ölçüde yüksek olan kadınların taranmasında kullanılabilir, ancak MR'ın yüksek riskli kadınlarda diğer görüntüleme yöntemlerine göre daha küçük kanserleri tespit edebildiğine dair kanıtlara rağmen, MR ile taramadan kaynaklanan mortalitede bir azalma veya hastalıksız sağkalımda bir iyileşme olduğuna dair bir kanıt yoktur (90). MR taramasının bir diğer dezavantajı da olası yanlış pozitifliklerdir. MR incelemesi yapılan hastalar için ise ultrason gereksizdir.

Meme kanseri hastalarının çoğu, meme kanseri taramasının yaygın olduğu ülkelerde anormal mamogramlar ile hasta asemptomatik iken teşhis edilir. Ancak kadınların yaklaşık %15'inde, mamogramda tespit edilmeyen klinik belirtiler (örneğin, meme ucu akıntısı, cilt değişiklikleri, memede ele gelen kitle, aksiller adenopati veya diğer meme değişiklikleri) nedeniyle meme kanseri teşhisi konur (mamografik olarak gizli hastalık) ve diğer %30'unda mamogramlar arasında meme kitlesi görülür (interval kanserler).

Kanserli lezyonun klasik özellikleri: sert, hareketsiz ve sınırları düzensiz bir lezyon şeklinde olmasıdır. Ancak, bu özellikler iyi huylu bir tümörü kötü huylu tümörden güvenilir bir şekilde ayırt edemeyebilir. Daha ileri lokal ileri hastalığın belirtileri arasında aksiller adenopati veya üstteki deride eritem, kalınlaşma veya çukurlaşma (portakal kabuğu görünümü) bulguları bulunur ve bunlar inflamatuvar meme kanserini düşündürür.

Metastatik meme kanserinin belirtileri etkilenen organa bağlı değişkenlik gösterir. En yaygın etkilenen bölgelerden kemik; sırt ve bacak ağrısı şeklinde kendini gösterebilir, karaciğer tutulumunda; karın ağrısı, mide bulnatısı ve sarılık görülebilir, akciğer tutulumunda ise nefes darlığı ve öksürük görülmektedir.

Meme kanseri klasik mamografi bulguları arasında yumuşak doku kitlesi ya da mikrokalsifikasyonlar bulunur. En spesifik özellik, yaklaşık %90 invaziv kanseri temsile eden yüksek yoğunluklu bir kitle (BI-RADS 5 lezyonu) olsa da, tanıyı doğrulamak için biyopsi hala gereklidir.

Göğüs ultrasonu genellikle katı ve kistik lezyonları ayırt etmek için kullanılır. Şüpheli sonografik özellikler arasında hipoekojenite, iç kalsifikasyonlar, gölgelenme, genişliğinden daha uzun bir lezyon, sivri uçlu, belirsiz veya açılı kenarlar bulunur. Meme kanseri açısından yüksek risk taşıyan kadınları taramak için kullanılan MR'da meme kanserinin özellikler düzensiz veya spiküler kitle kenarları şeklinde görülebilir (91).

2.3.3 Meme Kanseri Tanısı

Meme kanseri tanısı biopside invaziv kanser hücrelerinin varlığıyla belirlenir. Şüpheli bir mamografi anormalliği (BI-RADS 4 veya 5) veya klinik olarak şüpheli elle muayene

edilebilen meme kitlesi olan hastalara biopsi yapılmalıdır. İlk biopsinin amacı en az invaziv yaklaşım kullanılarak yeterli tanı materyali elde etmektir.

İnce iğne biopsisi mamografi ile tespit edilen mikrokalsifikasyonların değerlendirilmesi için stereotaktik kılavuzluk altında gerçekleştirilir. Stereotaktik rehberliğinde biopsi için mikrokalsifikasyonları olan hastaların çoğu adaydır ancak sıkıştırma sırasında memenin kalınlığı yeterli olmalıdır. Ultrason rehberliğinde biopsi, kalsifikasyonların varlığından veya lezyonun elle muayene edilebilir olmasından bağımsız olarak, sonografik olarak değerlendirilebilen bir kitleye uygulanabilir.

Cerrahi eksizyonel biopsi; kalsifikasyonlar stereotaktik olarak biopsi yapılamayacak kadar belirsiz olduğunda, alternatif görüntü kılavuzluğunda lokalizasyon ile uygulanır.

2.3.4 Meme Kanseri Alt Tipleri

Atipik duktal hiperplazi (ADH), sitonükleer ve mimari atipi ile düşük dereceli duktal karsinoma in situ'ya (DKIS) benzer, ancak DKIS tanısı için küçük boyuta sahiptir ve kanallar kısmen tutulmuştur (92). İnce iğne biopsisi ADH gösteren lezyonlar için cerrahi eksizyon rutin olarak önerilir. Meme görüntülemelerinde atipik duktal hiperplazi (ADH), duktal karsinoma in situ (DKIS) aynı hastalık spektrumundadır; ADH her iki memede de invaziv meme kanseri riskini artıran yüksek riskli bir lezyondur ve DKIS invaziv meme kanseri öncüsüdür (93).

Lobüler karsinoma in situ (LKIS), invaziv karsinom gelişimi için artmış risk taşıyan bir durumdur (94). Memenin terminal kanal lobüllerinde ortaya çıkan, invaziv olmayan bu lezyon; radyolojik özellikler, morfoloji ve biyolojik davranışı ile DKIS'tan ayrılmaktadır. LKIS'ta tanı anında ortalama yaş 44-46 arasında olup vakaların yaklaşık %80'i premenopozal dönemdedir. Bu, premenopozal kadınlarda biyopsi yapılması gereken iyi huylu meme anormalliklerinin artmasıyla ilişkili olabilirken, LKIS'in hormonal etkilerine bağlı olması da muhtemeldir, LKIS hücreleri güçlü bir şekilde östrojen reseptörü (ER) pozitifdir (95).

Mikroinvaziv karsinom, 1mm'den büyük invaziv odak içermeyen, memenin invaziv karsinomu olarak tanımlanmaktadır. En sık duktal karsinoma in situ (DKIS) ortamında görüldüğü için çoğunlukla mikroinvaziv DKIS olarak da adlandırılmaktadır. LKIS ile birlikte veya karsinoma in situ yokluğunda daha nadir görülmektedir. İnsidansı DKIS insidansının artmasına paralel olarak artmış görünmektedir.

İnvaziv meme kanseri, invaziv duktal karsinom (İDK) ve invaziv lobüler karsinom (İLK) olarak alt tiplere ayrılır. İnvaziv duktal karsinom, invaziv meme kanserinin en yaygın türü olup %70 ile %80'ini oluşturur. İnvaziv lobüler karsinom, invaziv duktal karsinomdan sonra ikinci en yaygın invaziv meme kanseridir. İLK; İDK'dan farklı patolojik ve radyolojik özelliklere sahiptir ancak İDK ile tedavi paradigmaları aynıdır.

2.3.5 Meme Kanseri Evreleme

Meme kanseri; cerrahi onkoloji, radyasyon onkolojisini ve medikal onkoloji içeren multidisipliner bir yaklaşımla tedavi edilir ve böylelikle ölüm oranında azalma ile ilişkilendirilmiştir. Tedavi amaçları için meme kanseri tümör, nod, metastaz (TNM) evreleme sistemi kullanılarak sınıflandırılır. Evreleme tümör boyutuna, lenf düğümlerinin tutulumuna ve metastatik hastalığın varlığına dayanmaktadır.

Tablo 2. Meme Kanseri Evrelemesi

Birincil Tümör Sınıflandırılması	
Tx	Birincil tümör değerlendirilemez
T0	Birincil tümör kanıtı yok
Tis	Karsinoma in situ
Tis (DCIS)	Duktal karsinoma in situ
Tis (Paget)	Alta yatan meme parankiminde invaziv karsinom ve/veya DKIS ile ilişkili olmayan meme ucu Paget hastalığı
T1	En büyük boyutu ≤ 20 mm olan tümör
T1mi	Tümör en büyük boyutu ≤ 1 mm
T1a	Tümör >1 mm ancak en büyük boyutu ≤ 5 mm (1,0 ila 1,9 mm ila 2 mm arasındaki herhangi bir ölçümü yuvarlayın)
T1b	Tümör >5 mm ancak en büyük boyutu ≤ 10 mm
T1c	Tümör >10 mm ancak en büyük boyutu ≤ 20 mm
T2	Tümör >20 mm ancak en büyük boyutu ≤ 50 mm
T3	Tümör >50 mm en büyük boyutu
T4	Göğüs duvarına ve/veya cilde doğrudan uzanan herhangi bir boyutta tümör (ülserasyon veya makroskopik cilt nodülleri)
T4a	Göğüs duvarına uzanan, yalnızca pektoralis kası yapışması/invazyonu hariç
T4b	İltihaplı karsinom kriterlerini karşılamayan ülserasyon ve/veya ipsilateral satellit nodüller ve/veya ödem (peau d'orange dahil)
T4c	Her ikisi de (T4a ve T4b)
T4d	İnflamatuvar karsinom
Bölgesel Lenf Düğümleri Klinik Sınıflandırılması	
cNX	Bölgesel lenf düğümleri değerlendirilemez (örneğin, daha önce çıkarılmış).

cN0	Bölgesel lenf düğümü metastazı yok (ne görüntüleme ne de klinik muayene ile)
cN1	Hareketli ipsilateral seviye I, II aksiller lenf düğümlerine metastaz
cN1mi	Mikrometastazlar (yaklaşık 200 hücre, 0,2 mm'den büyük, ancak hiçbirisi 2,0 mm'den büyük değil)
cN2	Klinik olarak sabitlenmiş veya matlaşmış ipsilateral seviye I, II aksiller lenf düğümlerine metastaz; veya klinik olarak belirgin aksiller düğüm metastazları yokluğunda ipsilateral internal meme lenf nodlarına
cN2a	Birbirine sabitlenmiş (matlaşmış) veya diğer yapılara metastaz yapan ipsilateral seviye I, II aksiller lenf düğümlerine metastaz
cN2b	Sadece ipsilateral internal meme nodlarında ve klinik olarak belirgin aksiller nod metastazları yokluğunda metastaz
cN3	Seviye I, II aksiller lenf nodu tutulumu olan veya olmayan ipsilateral infraklaviküler (seviye III aksiller) lenf nodu(lar)ında metastazlar; veya klinik olarak belirgin seviye I, II aksiller lenf nodu metastazları olan ipsilateral internal meme lenf nodu(lar)ında metastazlar; veya aksiller veya internal meme lenf nodu tutulumu olan veya olmayan ipsilateral supraklaviküler lenf nodu(lar)ında metastazlar
cN3a	İpsilateral infraklaviküler lenf nodu(lar)ına metastaz
cN3b	İpsilateral internal meme lenf nodu(lar)ına ve aksiller lenf nodlarına metastaz
cN3c	İpsilateral supraklaviküler lenf nodu(lar)ında metastaz
Bölgesel lenf nodlarının patolojik sınıflandırması	
pNX	Bölgesel lenf düğümleri değerlendirilemez (örneğin, daha önce çıkarılmış veya patolojik çalışma için çıkarılmamış)
pN0	Bölgesel lenf düğümü metastazı yok
pN0(i+)	Bölgesel lenf düğümünde 0,2 mm'den büyük olmayan kötü huylu hücreler (hematoksilen ve eozin boyama veya ITC'ler dahil immünohistokimya ile tespit edildi)
pN0(mol+)	Pozitif moleküler bulgular (ters transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu), ancak histoloji veya IHC ile bölgesel lenf düğümü metastazı tespit edilmedi

pN1	Mikrometastazlar veya bir ila üç aksiller lenf düğümünde metastazlar ve/veya sentinel lenf düğümü biyopsisi ile mikro veya makrometastazlar tespit edilen klinik olarak negatif iç meme düğümleri
pN1mi	Mikrometastazlar (yaklaşık 200 hücre, 0,2 mm'den büyük, ancak hiçbiri 2,0 mm'den büyük değil)
pN1a	En az bir metastazın 2,0 mm'den büyük olduğu, bir ila üç aksiller lenf nodunda metastazlar
pN1b	ITC'ler hariç, ipsilateral internal meme sentinel nodlarında metastazlar
pN1c	pN1a ve pN1b'nin birleşimi
pN2	Dört ila dokuz aksiller lenf nodunda metastazlar veya aksiller lenf nodu metastazları yokken görüntüleme ile pozitif ipsilateral internal meme lenf nodları
pN2a	Dört ila dokuz aksiller lenf nodunda metastazlar (en az bir tümör birikimi 2,0 mm'den büyük)
pN2b	Mikroskopik doğrulama ile veya doğrulama olmaksızın yalnızca klinik olarak tespit edilen internal meme nodlarında metastaz; patolojik olarak negatif aksiller lenf nodları olan
pN3	10 veya daha fazla aksiller lenf nodunda metastazlar; veya infraklaviküler (seviye III aksiller) lenf nodlarında; veya bir veya daha fazla pozitif seviye I, II aksiller lenf nodunun varlığında görüntüleme ile ipsilateral internal meme lenf nodlarında; veya üçten fazla aksiller lenf nodunda ve sentinel lenf nodu biyopsisi ile mikrometastaz veya makrometastaz tespit edilen ancak klinik olarak tespit edilemeyen internal meme lenf nodlarında; veya ipsilateral supraklaviküler lenf nodlarında
pN3a	10 veya daha fazla aksiller lenf nodunda metastazlar (en az bir tümör birikimi 2,0 mm'den büyük); veya infraklaviküler (seviye III aksiller lenf) nodlarına metastazlar.
pN3b	cN2b varlığında pN1a veya pN2a (görüntüleme ile pozitif internal meme nodları); veya pN1b varlığında pN2a
pN3c	İpsilateral supraklaviküler lenf düğümlerinde metastazlar

Uzak metastaz (M)	
M0	Uzak metastazlara dair klinik veya radyografik kanıt yok (patolojik M0 yok; cM0 kategorisini atamak için görüntüleme çalışmaları gerekli değildir)
cM0(i+)	Uzak metastazlara dair klinik veya radyografik kanıt yok, ancak 0,2 mm'den büyük olmayan moleküler veya mikroskopik olarak tespit edilen tümör hücrelerinin birikimleri, metastaz semptomları veya belirtileri olmayan bir hastada dolaşımdaki kanda, kemik iliğinde veya diğer bölgesel olmayan nodüler dokuda mevcuttur
M1	Klasik klinik ve radyografik yöntemlerle belirlenen uzak tespit edilebilir metastazlar ve/veya 0,2 mm'den büyük histolojik olarak kanıtlanmış metastazlar

Meme Kanseri TNM Evrelemesi			
Evre 0	Tis	N0	M0
Evre I	T1	N0	M0
Evre IIA	T0	N1	M0
	T1	N1	M0
	T2	N0	M0
Evre IIB	T2	N1	M0
	T3	N0	M0
Evre IIIA	T0	N2	M0
	T1	N2	M0
	T2	N2	M0
	T3	N1	M0
	T3	N2	M0
Evre IIIB	T4	No	M0
	T4	N1	M0
	T4	N2	M0
Evre IIIC	Her T	N3	M0

Evre IV	Her T	Her N	M1
---------	-------	-------	----

Metastatik olmayan meme kanseri: erken evre ve lokal ilerlemiş olarak ikiye ayrılır. Erken evre meme kanseri: evre I, IIA veya evre IIB hastalığın bir alt kümesi (T2N1) olan hastaları içerir. Lokal ilerlemiş meme kanseri ise evre IIB'nin bir alt kümesi T3N0 ve evre IIIA ile IIIC'yi içerir.

2.3.6 Meme Kanseri Tedavi Yöntemleri

Erken evre meme kanserinde genel olarak, radyoterapi ile veya radyoterapisiz meme ve bölgesel lenf düğümlerine primer cerrahi (lumpektomi veya mastektomi) uygulanır. Adjuvan sistemik tedavi ise kesin lokal tedaviyi takiben, tümör boyutu, derecesi, tutulan lenf düğümü sayısı, epidermal büyüme faktörü 2 (HER2) reseptörünün ekspresyonu, insan östrojen (ER) ve progesteron (PR) reseptörlerinin durumu gibi primer tümör özelliklerine göre önerilebilir.

Ancak erken evre invaziv meme kanseri olanlarda (özellikle HER2 pozitif veya üçlü negatif hastalığı olanlar) neoadjuvan tedavi ile tedavi edilip sonrasında cerrahi uygulanabilir.

Meme koruyucu tedavi, meme koruyucu cerrahi ve RT'den oluşur. Meme koruyucu cerrahinin hedefi mastektomiye eşdeğer sağkalım, tedavi edilen memede düşük nüks oranı ve kozmetik kabul edilebilir bir meme elde etmektir. Randomize çalışmalar opere edilebilir meme kanseri olan kadınlarda, mastektomi ve meme koruyucu tedavi arasında uzun vadeli sağkalım oranının aynı olduğunu göstermiştir (96).

Mastektomi, meme koruyucu tedavi adayı olmayan ve mastektomiyi tercih eden hastalara uygulanır. Mastektomi sonrası radyasyon tedavisi (RT), patolojik olarak tutulan aksiller lenf düğümleri ve derin kenarları tutan kanser gibi lokal tekrarlama riski yüksek olan hastalar için endikedir.

Bölgesel lenf düğümlerinin değerlendirilmesi, ameliyattan önce aksiller tutulumdan şüphelenilip şüphelenilmediğine bağlıdır. Klinik olarak şüpheli aksiller lenf düğümleri olan hastalar için, ultrason ve ince iğne aspirasyonu veya çekirdek biyopsisi, cerrahi yaklaşımı belirlemek ve neoadjuvan tedavinin düşünülüp düşünülmemesi gerektiğini belirlemeye yardımcı olur. Pozitif biyopsi sonucu olan ve doğrudan ameliyat (neoadjuvan tedavi yerine) planlanan hastalar için, meme cerrahisi sırasında aksiller lenf düğümü diseksiyonu yapılmalıdır. Biyopsi sonucu negatif olan hastalarda, ameliyattan önce başka bir çalışma gerekmez. Bu hastalara ameliyat sırasında sentinel lenf nodu biyopsisi (SLNB) yapılmalıdır.

Sistemik tedavi, kemoterapi, endokrin tedavi ve biyolojik tedavi kullanılarak meme kanserinin tıbbi tedavisini ifade eder. Tümörün özellikleri hastanın hangi tedavi türünden fayda göreceğini tahmin etmemize yardımcı olur. Genel olarak hormon reseptörü pozitif meme

kanseri hastaları endokrin tedavi almalıdır. Yüksek riskli erken evre hormon reseptörü pozitif, HER2 negatif kadınlara kemoterapi verilmelidir. Yüksek risk özellikleri yoksa kemoterapiye gerek yoktur. Yüksek riskli, lenf nodu pozitif, ER pozitif, HER2 negatif meme kanseri olan seçilmiş hastalar, siklin bağımlı kinaz 4/6 inhibitörü abemasiklib ile adjuvan tedavi adayıdır. ER/PR ve HER2 negatif hastalığı (üçlü negatif meme kanseri) olan hastalara, tümör boyutu $\geq 0,5$ cm ise genellikle adjuvan kemoterapi uygulanmaktadır. HER2 pozitif ve tümör boyutu >1 cm olan hastalara ise kemoterapi ve HER2 yönlendirmeli tedavi kombinasyonu alırlar. Küçük (≤ 1 cm) HER2 pozitif meme kanserlerinin yönetimi tartışmalıdır. Kemoterapi sonrası hormon reseptörü pozitif olan hastalara ise adjuvan endokrin tedavi verilmelidir.

Neoadjuvan sistemik tedavi, lokal olarak ilerlemiş meme kanseri olan hastaların çoğunda ve erken evre bazı hastalarda (özellikle üçlü negatif veya HER2 pozitifse) verilmektedir. Neoadjuvan tedavi gören hormon reseptörü pozitif olan çoğu hasta için, neoadjuvan endokrin tedavi yerine kemoterapi verilmektedir. Kemoterapinin, daha kısa bir zaman diliminde daha yüksek yanıt oranları ile ilişkili olduğu bulunmuştur. HER2 pozitif olan hastalarda ise kemoterapi rejimine HER2'ye yönelik bir ajan (örneğin, pertuzumab ile birlikte veya pertuzumab olmadan trastuzumab) eklenmelidir. Hormon reseptörü negatif, HER2 negatif olan hastalarda ise neoadjuvan tedaviyi kemoterapi oluşturur, yüksek riskli olan uygun hastalarda ise immünoterapi eklenir. Üçlü negatif bir tümörün neoadjuvan tedaviye tam yanıt vermediği durumlarda, adjuvan kapesitabin uygulanabilir. Tüm hastalar, tam klinik ve/veya radyolojik yanıtları olsa bile, neoadjuvan sistemik tedaviden sonra ameliyata alınmalıdır. Ayrıca, neoadjuvan sistemik tedavi sırasında lokal-bölgesel ilerleme (ancak uzak yayılım değil) yaşayan hastalar, kemoterapi rejimini değiştirmek yerine ameliyat edilmelidir. Ayrıca son çalışmalarda BRCA1/2 mutasyonları ve yüksek riskli erken, HER2 negatif meme kanseri olan seçilmiş hastalar için, poli(ADP-riboz) polimeraz (PARP) inhibitörü olan olaparib ile adjuvan tedavinin hastalıksız sağkalım sonuçlarını iyileştirdiği gösterilmiştir.

2.4 Meme Kanseri Araştırmak İçin Kullanılan Hücre Hattı

2.4.1 MCF-7 İnsan Meme Kanseri Hücre Hattı

MCF-7 insan meme kanseri hücre hattı, tamoksifen duyarlı bir hücre hattıdır. Hem östrojen hem de progesteron reseptörlerine sahiptir. Normalde agresif değildir, düşük metastatik potansiyele sahip olduğu düşünülür ve invaziv değildir (97). MCF-7 hücreleri E-kadherin, sitokeratin 18 (CK18) ve β -katenin gibi epitel belirteçleri pozitif olup farklılaşmış meme epiteli özellikleri gösterir.

2.5 Sitotoksiste

Sitotoksiste canlı hücreler için toksik olma niteliğini ifade eder. Toksik ajanlara örnek olarak toksik kimyasallar, toksik metaller, radyasyon parçacıkları nörotoksinler verilebilir. Hücreleri sitotoksik bileşenler ile tedavi etmek hücrelerin lizis sonucu zar bütünlüğünü kaybedip nekroza uğramasına ya da aktif büyümeyi ve bölünmeyi durdurup kontrollü hücre ölümü (apoptozis)'ne yol açabilir.

Sitotoksiste analizleri, araştırmacılar tarafından hızla büyüyen kanser hücrelerini hedef alan tedavi geliştirmekte ya da bir ilacın istenmeyen sitotoksik etkilerini araştırmak için kullanılabilir. Sitotoksiste testleri, toksik olduğu düşünülen maddenin hücre kültüründe, hücre çoğalma oranı ve hücre üzerindeki toksik etkileri değerlendirilerek yapılan testlerdir. Sitotoksiste tesleri *in vivo* ya da *in vitro* uygulanabilmektedir. *In vitro* araştırmalarda, sitotoksitesi değerlendirilen madde artan konsantrasyonlarda hücrelere uygulanmaktadır. Sitotoksitesi araştırılan maddenin hücre morfolojisi ve hücrelerin yaşama oranları üzerine etkisi değerlendirilir.

2.6 Apoptoz

"Apoptoz" terimi, "düşme" anlamına gelen Yunanca "απο" ve "πτωσις" kelimelerinden türetilmiş olup sonbaharda yaprakların ağaçlardan düşmesi demektir. Nekrozdan farklı olarak, bir hücrenin belirli uyarılar aldıktan sonra aktif olarak ölüme doğru ilerlediği durumu tanımlar. Nekrozda ise kontrolsüz bir hücre ölümü vardır. Apoptozis, fizyolojik ya da patolojik döngülerde meydana gelen bir hücresel süreçtir. Apoptozis birçok hastalığın patogezinde önemli rol oynadığı için altında yatan mekanizmanın anlaşılması önemlidir. Örneğin kanser oluşumunda, apoptozis çok az meydana gelmekte ve ölmeyen kötü huylu hücre çoğalması ile sonuçlanan bir senaryo karşımıza çıkmaktadır. Bazı dejeneratif hastalıklarda ise sorun çok fazla apoptozis olmasıdır. Apoptozis birçok yolu içermektedir ve mekanizması oldukça karmaşıktır. Apoptoziste herhangi bir noktada kusur meydana gelebilir ve bu durum etkilenen hücrenin kötü huylu bir hücreye dönüşümüne, tümörün metastazına ya da antitümöral ilaçta dirence yol açabilir. Hastalığın nasıl tedavi edileceğine dair ipuçlarını anlamak için apoptozu anlamak ve aydınlatmak çok önemlidir. Ayrıca apoptozis birçok kanser tedavi stratejisinde popüler hedef olmaktadır.

Kanserde, hücre bölünmesi ve hücre ölümü arasında bir denge kaybı vardır. Ölmesi için gerekli sinyali alamayan hücrede sorun apoptozis yolunda herhangi bir adımda olabilir. Apoptoziste hem sitoplazmayı hem de çekirdeği ilgilendiren, hücre ölümünün morfolojik değişiklikleri görülmektedir. Apoptoziste psödopodların geri çekilmesi, hücre hacminin

azalması (piknozis), kromatinin yoğunlaşması, çekirdeğin parçalanması (karyoreksis), plazma membranının kabarması ile hücreyi ölüme götüren bir süreç yaşanır (98).

Genel olarak apoptozda 3 ana biyokimyasal değişiklik gözlenebilir: Kaspazların aktivasyonu, DNA ve protein parçalanması ve fagositik hücreler tarafından membran değişiklikleri ve tanınmasıdır. Apoptozisin başlaması kaspazlar olarak bilinen bir dizi sistein-aspartik proteazın aktivasyonuna bağlıdır. Kaspazlar başlatıcı kaspaz ve infazcı kaspazlar olarak ikiye ayrılır. Hücre hasarı tespit edildiğinde, başlatıcı kaspazlar (kaspazlar 8 ve 9) inaktif prokaspazlardan aktive edilir ve infazcı kaspazları (kaspazlar 3, 6 ve 7) aktive etmeye devam eder. İnfazcı kaspazların aktivasyonu ile endonükleazların aktivasyonu, DNA parçalanması, nükleer proteinlerin yıkımı, fagositik hücreler için ligandların ekspresyonu ve apoptotik cisimlerin oluşumuna yol açan olaylar kaskadı başlatılmış olur (99). Apoptozun erken evresinde, hücrenin makrofajlar tarafından tanınmasını sağlamak amacıyla hücre zarının dış katmanında yer alan fosfatidilserin iç katmandan dışarı atılır. Bu olayın ardından ise DNA'nın endonükleazlar tarafından oligonükleozomlara ayrılması gerçekleşir.

Kaspazlar hem başlatıcı hem infazcı olarak apoptozisin merkezinde yer alırlar. Kaspazların yaygın olarak aktive ettiği yollar intrinsik yol (veya mitokondriyal) ve ekstrinsik yol (veya ölüm reseptörü)dur. Ekstrinsik yol; ölüm ligandları bir ölüm reseptörüne bağlandığında başlatılır. Bu nedenle ölüm reseptör aracılı yol olarak da adlandırılmaktadır. Özellikle bağışıklık sisteminde ve homeostazın korunmasında yer almaktadır. Bu yolda en iyi bilinen ölüm reseptörleri: TNFR1 (tümör nekroz faktörü reseptörü-1) ve Fas (CD95) adı verilen proteinlerdir ve ligandlarına sırası ile TNF ve Fas Ligandı (APO-1) denir. Ölüm reseptörü ligandının ölüm reseptörüne bağlanması bir adaptör protein için bağlanma bölgesi oluşumuna neden olur ve bu ligand-reseptör-adaptör kompleksi, ölüme neden olan sinyal kompleksi (DISC) olarak adlandırılır. (100) DISC prokaspaz-8 ve prokaspaz-10 proteininin aktive olmasını sağlar. Aktive kaspaz-8, başlatıcı kaspaz olarak, apoptozu başlatır ve ölüme neden olan sinyal ve diğer prokaspazların aktivasyonunu sağlar (101). Aktive kaspaz-8 ve kaspaz-10, infazcı kaspaz olan kaspaz-3, kaspaz-6 ve kaspaz-7'yi keserek aktive eder.

İntrinsik yol, genellikle DNA hasarı, endoplazmik retikulum stresi, hipoksi, yüksek oksidatif stres gibi hücresel iç uyaranlar ile tetiklenir. Ayrıca bu yol artan mitokondriyal geçirgenliğin ve pro-apoptotik moleküllerin sitoplazmaya salınması sonucudur. İntrinsik apoptotik yolda en önemli Bcl ailesi proteinleri mitokondriyal membranda bulunan, intrinsik apoptotik yolağın anahtarı olarak görev görürler (101). İntrinsik apoptoz, mitokondriden salınan faktörlere bağlı gerçekleştiği için mitokondriyal apoptozis olarak da adlandırılır. Mitokondriyal membranda bulunan Bcl ailesi proteinlerinin aktivasyonu mitokondriyal membranın bozulmasına neden olur ve sitoplazmada sitokrom c serbest kalır. Sitokrom c,

sitoplazmada apoptotik proteaz aktive edici faktör 1 (APAF1) ve prokaspaz-9 ile apoptozom adı verilen bir kompleks oluşturur (102). Apoptozomun oluşumu ile kaspaz kaskadı başlanır ve prokaspaz-9, kaspaz-9'a ayrılır bu da infazcı kaspaz-3,-6 ve -7'yi aktive eder ve hücre apoptozu başlatılır. İntrinsik ve ekstrinsik yollar kaspaz 3'te birleşir ve kaspaz 3 nükleer apoptozdan sorumlu kaspazla aktive edilen deoksiribonükleazın inhibitörünü keser (100). Ayrıca protein kinazların, DNA onarım proteinlerinin, sitoskeletal proteinlerin ve endonükleaz ailesinin inhibitör alt birimleri parçalanır. Böylece apoptozisteki tipik morfolojik değişiklikler gerçekleşir.

Kanser, bir dizi genetik değişiklik sonucu normal bir hücrenin kötü huylu hücreye dönüşmesi olarak görülebilirken, kötü huylu hücreye dönüşümde temel değişikliklerden biri de hücre ölümünün önlenmesidir. 1972'de Kerr ve arkadaşları apoptozu tanımlarken, bu durumu kötü huylu hücrelerin ortadan kaldırılması, tümörün ilerlemesi ve hiperplazi ile ilişkilendirmiştir (103). Apoptoz direnç ya da azalmış apoptoz karsinogeneze neden olan mekanizmalar arasında yer almaktadır. Apoptozun önlenmesi pro-apoptotik ve anti-apoptotik proteinlerin dengesinin bozulması, kaspaz fonksiyonunun azalması ya da ölüm reseptörü sinyalinin bozulması ile gerçekleşebilir.

Hücre ölümünün düzenlenmesinde pro-apoptotik ve anti-apoptotik proteinlerin dengesi önemli rol oynar. Belirli genlerin aşırı ya da yetersiz ekspresyonu kanser hücrelerinde apoptozu azaltır ve bu da karsinogeneze yol açar. Örneğin pro-apoptotik BCL-2 ailesi proteinlerinin anormal azalması sonucu apoptoz inhibe olur ve bu durum çeşitli malignitelerde saptanmıştır. BCL-2 ailesi, hem pro-apoptotik hem de anti-apoptotik üyelerinin apoptozdaki kritik rolü nedeniyle kanser tedavisinde yeni ajanlar geliştirilmesinde cazip bir hedef haline gelmiştir (104). Tümör proteini 53 geni (TP53) diğer adı ile P53 proteini geni, 17. Kromozomun kısa kolunda bulunur ve en önemli tümör baskılayıcı gen olarak kabul edilir (105). P53 proteini bir transkripsiyon faktörü olup hücre döngüsü düzenlenmesinde, DNA onarımı ve apoptozda rol oynamaktadır. TP53 genindeki mutasyonlar meme kansinimleri, sarkimler, beyin tümörleri ve Li-Fraumeni sendromuna yatkınlık oluşturur. Kanserlerin yaklaşık %50'sinde bulunan TP53 tümör baskılayıcı gen mutasyonları yalnızca tümör gelişimine neden olmaz, aynı zamanda kanser hücrelerinin kanser tedavisindeki ilaçlara yanıtını da bozar (106).

Apoptozis proteinlerinin inhibitörü (IAP'ler), apoptozda hem intrinsik hem ekstrinsik yolağı baskılayabilen endojen kaspaz inhibitörleri olarak rol oynamaktadırlar ve immün regülasyon ve hücre bölünmesinde de rol almaktadırlar (107). AIP'ler, baculovirüs'lerin IAP tekrarı (BIR) protein alanın varlığıyla karakterize edilip, tanımlanmış olan sekiz adet IAP mevcuttur. IAP'lerin kaspazları inhibe etmesi kaspazların aktif bölgelerine bağlanarak, kaspazları substratlarından uzak tutarak ya da aktif kaspazların bozunmasını sağlayarak

olmaktadır. Kanser tedavisi ve tanısında Bcl-2 ve IAP ailesi üyelerinin aşırı ekspresyonu yarar sağlamaktadır. Ayrıca IAP proteinleri, birçok kanser türünde kemoterapiye dirençle ilişkilendirilmiş potansiyel terapötik hedeftir. Örneğin IAP inhibisyonuna dayanan anti-tümör stratejilerinde pankres adenokarsinomunu hedeflemede faydalı olabileceği gösterilmiştir (108).

2.7 Fıstık Çamı Yaprağı

Bitkilerin zengin yapısal çeşitliliğe sahip, ilgi çekici bileşenler sunan doğal kaynaklar olduğunu bilmekteyiz. Bu bitki kaynaklı aktif bileşikler antiinflamatuvar, antioksidan ve antikanser özellikleri ve daha birçok biyolojik aktiviteleri sayesinde günümüze kadar çeşitli tedavilerde yaygın olarak kullanılmışlardır. Günümüzde bitkisel bileşikler kanser tedavisinde artan bir hızla geleneksel tedavi seçeneklerine alternatif olarak, hastanın yaşam kalitesini iyileştirmek ve yan etkilerini azaltmak amacıyla araştırmaların hedefi haline gelmiştir.

Pinus (çam) yaklaşık 111 ağaç ve çalı türünden oluşan bir cinstir. Pinus türleri kozalakları kalın pullara sahiptir, *Pinus pinea* hariç hepsi olgunlaştıklarında açılır. Kuzeydoğu Asya'ya özgü Kore çamı (*Pinus koraiensis*), Meksika çamı (*Pinus cembroides*), Sibiry'a'ya özgü çam (*Pinus sibirica*), Japon çamı (*Pinus pumila*), Çin Beyaz çamı (*Pinus armandii*), Batı Himalaya'ya özgü Chilgoza çamı (*Pinus gerardiana*), Bunge çamı (*Pinus bungeana*) ve Colorado çamı (*Pinus edulis*) bilinen türlerdir. Fıstık çamı (*Pinus pinea*) ise, çamgiller (Pinaceae) familyasından Ege, Akdeniz sahilleri, İspanya, İtalya ve Türkiye'de yayılış gösteren çam türüdür (109). *Pinus pinea*'nın iğne yaprakları parlak açık yeşil renkli, 10-20 cm uzunluğunda ve uç kısmı sivridir (110). Çam ağaçlarının iğne, kabuk ve kozalak gibi farklı kısımları besin kaynağı ya da tıbbi amaçlar (örneğin: antioksidan, antimikrobiyal, sitotoksik ve antitümöral aktivite) için kullanılmaktadır (111). Aynı zamanda fıstık çamı, diğer kuruyemışlere benzer şekilde kimyasal bileşim açısından zengin bir besindir. Yüksek yağ ve protein içeriğinin yanı sıra çeşitli mineral ve vitaminlerden zengin olup özellikle B1 vitamin, potasyum ve fosfor kaynağıdır (112). Linoleik asit gibi yüksek miktarda doymamış yağ asitleri içermesi ile koroner kalp hastalığı riskini azalttığı gösterilmiştir. Yapılan son araştırmalarda Pinaceae familyasından bazı türlerin antikanser aktivitesi gösterilmiştir (113).

Örneğin Hoai ve arkadaşları Sarıçam (Scots pine) iğnesi ekstraktının endokrin tedaviye yanıt vermeyen meme kanserleri için kemoterapötik ajan olarak potansiyel sergilediğini ortaya koymuştur (114). Proboningrat ve arkadaşları ise, *Pinus merkusii* çam iğnelerinin etanolik ekstraktının HeLa kanser hücre hatları üzerinde sitotoksik aktivite oluşturduğunu göstermiştir (115). Bitki özleri antikanser ajan olarak daha az zararlı etkilerle daha güvenilir bir tedavi seçeneği olarak görülmektedir.

2.8 LC/MS-QTF Analizi

LC/MS-QTF analizi için Ege Üniversitesi Merkezi Araştırma Test ve Analiz Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi'ne (MATAL) ekstrakt örneği gönderilmiştir. LC/MS sistemleri, sıvı kromatografinin fiziksel ayırma gücü ile kütle spektrometresinin kütle analiz gücünün kombinasyonundan oluşmuş sistemlerdir. QTOF LC/MS sisteminde, örnek, UHPLC cihazında, fiziksel özelliklerine göre ayrılır, iyonlaştırılarak hem quadropol hem de uçuş zamanlı dedektörler ile çok küçük derişimlerdeki örneklerin bile teşhis ve miktar tayini yapılabilir. LC/Q-TOF/MS uygulamaları farmakoloji, adli tıp, toksikoloji ve gıda güvenliği alanında kullanılmaktadır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Herbaryum Analizi

Fıstık çamı türünün yaprakları (iğneleri), İzmir/ Türkiye'nin Kemalpaşa bölgesinden toplandı (38°24'29.1"N; 27°35'23.7"E). Pinaceae familyasına ait *Pinus pinea* türünün herbaryum analizi, Ege Üniversitesi Botanik Bahçesi ve Herbaryum Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde Doç. Dr. Ademi Fahri Pirhan tarafından gerçekleştirildi ve teşhisi yapıldı. Bitki materyali ekstraksiyon işlemi öncesinde oda sıcaklığında kurutuldu ve ince toz haline getirildi.

3.2 Fıstık Çamı Ekstraksiyonu

Fıstık çamı ekstraksiyonu için Karapandzova ve arkadaşlarının uyguladığı yöntem optimize edilerek uygulandı (116). Oda koşulunda kurutulan fıstık çamından 25 g tartıldı ve 250 mL % 70 metanol ortamında 4 saat boyunca 25 °C'de karıştırıldı ardından 30 dakika boyunca ultrasonik banyoda ekstraksiyon işlemi gerçekleştirildi. Ekstraksiyon işlemi sonrasında 250 mL ekstrakt içerisinde bulunan katı parçacıkların ortamdaki uzaklaştırılması amacı ile Whatman filtre kağıdı ile filtrasyon işlemi gerçekleştirildi. Mevcut çözgeni uzaklaştırmak için filtre edilmiş çözelti oda sıcaklığında tamamen kuruyana kadar bekletildi ve daha sonraki deneysel basamaklarda kullanılmak üzere hava almayacak şekilde, +4 °C de saklandı.

3.3 *In vitro* Hücre Kültürü Çalışmaları

In vitro çalışmada MDAH-2774, SKOV-3 ve MCF-7 hücre hatları kullanıldı. Hücre hatları Ege Üniversitesi Nükleer Bilimler Enstitüsü'nden temin edildi ve hücre kültürü çalışmaları Ege Üniversitesi Nükleer Bilimler Enstitüsü'nde yapıldı. MCF-7 ve MDAH-2774

hücre hatları dulbecco's modified medium (Eagle), 1,5 g/L sodium bikarbonat, 1mM sodium pirüvat, 2 mM L-glutamin, 0.1 mM non-esansiyel amino asit ve %10 fetal bovine serum (FBS)'den oluşan medyumda üretildi. SKOV-3 hücre hattı ise McCoy's 5A (Modified) Medium, %10 FBS'den oluşan medyumda üretildi. Tüm hücreler %5 CO₂ ortamında ve 37 °C sıcaklıkta inkübe edildi. 2 günde bir sıklıkla besiyerler değiştirilerek taze besiyer ortamı eklendi. Hücreler flaskların %80'ini kaplayacak kadar üretildikten sonra %0.25 (W/V) Tripsin-EDTA solüsyonu aracılığı ile flasktan ayrılarak sitotoksiste çalışmaları için 96 kuyucuklu plakalara ekilerek çalışma grupları oluşturuldu. Çalışmada kullanılmayacak olan hücreler %5 DMSO içeren medyumların içine koyularak önce -20 °C daha sonra -80 °C'de donduruldu, -190 °C'de sıvı azot içinde saklandı, yapılacak diğer çalışmalar ve karşılaşılabilecek riskler amacıyla stoklandı.

3.4 Sitotoksiste Çalışmaları

MDAH-2774, SKOV-3 ve MCF-7 hücre süspansiyonlarından, 96 kuyucuklu plakaların her bir kuyucuğuna 5×10^4 hücre/mL olacak şekilde hücreler hazırlandı. Oluşturulan her bir kuyucuğa 100 µL hücre süspansiyonu ve kontrol dışındaki kuyucuklara beş farklı (1, 3, 10, 30, 100, 300 µg/mL) konsantrasyonda hazırlanan Fıstık Çamı ekstraktı içeren çözelti eklendi. Negatif kontrol olarak, hücre ve reaktif içermeyen besiyer kullanıldı. Çalışmada her bir parametre üçer tekrarlı olarak çalışıldı. Hücrelerin bulunduğu plakalar 37 °C'de %5 CO₂ ortamında inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonun 24. ve 48. Saatlerinde 1 mL steril fosfat tampon solüsyonu (PBS) içerisine 5 mg MTT ilave edilerek MTT solüsyonu hazırlandı. Hazırlanan MTT solüsyonu kuyu başına 10 µL olacak şekilde eklenerek 4 saat boyunca inkübe edildi. İnkübasyonun sonunda hücreler üzerine 100 µL SDS (0,01 M HCL içerisinde) eklenerek tekrardan inkübasyona bırakıldı. Daha sonra, plakalar spektrofotometre cihazına aktararak 450 nm ve 690 nm dalga boylarında absorbens ölçümleri gerçekleştirildi. Her bir kuyucuğun absorbens değeri (OD), spektrofotometre kullanılarak okundu. Negatif kontrol, sıfır absorbens değeri olarak kabul edilip her bir kuyucuğun net absorbens (Nab) değeri belirlendikten sonra % canlılık değerleri [(ölçülen absorbens değeri / kontrol değeri) x 100] formülü ile hesaplandı.

3.5 Apoptoz Analizi

Fıstık çamı ekstraktının MDAH-2774, SKOV-3 ve MCF-7 hücre hatları üzerindeki apoptotik etkisinin belirlenmesi için, sitotoksiste analizinde bulunan IC-50 değerleri uygulandı. Doz uygulanmayan hücreler kontrol grubu olarak kabul edildi. Apoptotik etki, Annexin VFITC/PI kiti kullanılarak erken apoptotik hücreler, geç apoptotik hücreler ve nekrotik

hücrelerin ayrımı ile gerçekleştirildi. Bunun için, madde uygulanan hücreler inverted mikroskopta kontrol edildikten sonra Tripsin-EDTA ile yüzeyden kaldırıldı. Üzerlerine ortam eklenerek endorf tüpe alındı. İki kez PBS ile yıkanarak hücreler 2000 rpm’de 5 dk santrifüj edildi. Hücreler 500 µL 1× Binding Buffer ile resüspanse edildi. Beş µL Annexin V-FITC ve 5 µl propidyum iyodür (PI) eklendi. Flow sitometride gate almak üzere bir gruba hiç boya uygulanmadı, bir gruba yalnız FITC Annexin V diğer gruba yalnızca PI uygulandı. Boya ile süspanse edilen hücreler karanlıkta oda sıcaklığında 10 dk inkübe edildi. BD Acuri- C6 akım sitometri cihazı ile apoptoz analizi gerçekleştirildi. Doz uygulanmayan kontrol grubuna göre apoptoz değişimleri kıyaslandı.

3.6 LC/MS-QTF Analizi

Elde edilen ekstrakt örneği LC/MS-QTF analizi için Ege Üniversitesi Merkezi Araştırma Test ve Analiz Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi’ne (MATAL) gönderilmiştir. LC/MS-QTF analizi fıstık çamı ekstraktının içeriğinde bulunan bileşenleri analiz etmek amacıyla gerçekleştirildi.

3.7 İstatiksel Analizler

Hücre kültürü çalışmaları kapsamında elde edilen verilen istatistiksel analizleri, GraphPad istatistik program kullanılarak gerçekleştirildi. Farklı parametre seviyelerindeki bağlanma değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farkın olup olmadığına karar vermek amacıyla tek yönlü ANOVA analizi uygulandı. Hücre kültürü çalışmalarına ait istatistikse analiz sonuçları değerlendirilirken ise bağlanma değerleri arasında 0.95 güven düzeyinde anlamlı fark olup olmadığı P değerleri üzerinden değerlendirildi. P değeri 0.05’ten küçük olan sonuçlar anlamlı kabul edildi. Bu analizler, elde edilen verilerin güvenilirliği ve aralarındaki farkların istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar ortaya koyup koymadığını belirlemek ve yorumlamak için önemli rol oynamaktadır.

4. BULGULAR

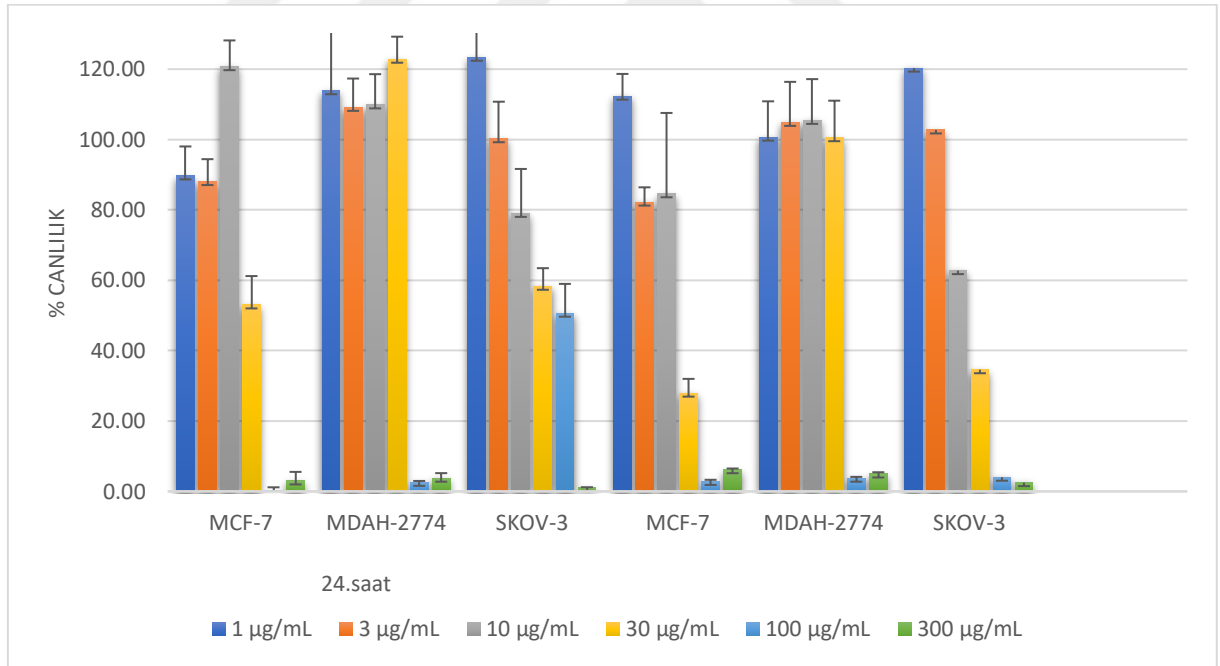
4.1 Sitotoksite Çalışmalarına Ait Sonuçlar

Fıstık çamı ekstraktı MDAH-2774, SKOV-3 ve MCF-7 hücre hatlarına farklı konsantrasyonlarda (1, 3, 10, 30, 100, 300 µg/mL) uygulandı ve % canlılık değerleri belirlendi. Yüzde olarak canlılık değerleri incelendiğinde MCF-7 hücre hattında 24. Saatte hücre canlılığı farklı konsantrasyonlara bağlı olarak sırasıyla $90 \pm 8,36$, $88,06 \pm 6,36$, $120,72 \pm 7,45$, $53 \pm 8,19$, $0,23 \pm 0,93$, $2,98 \pm 2,56$ olarak ölçüldü ve 48. saatte ise hücre canlılıkları

%112 $\pm$ 6,31, % 82,23 $\pm$ 4,19, % 84,58 $\pm$ 25,05, % 27,93 $\pm$ 4,04, % 2,84, $\pm$ 0,45, % 6,16 $\pm$ 0,33'dir. Hücre canlılık değerleri incelendiğinde artan konsantrasyona bağlı olarak MCF-7 hücre hattı üzerinde 24. ve 48. saatlerin sonunda ekstrakt konsantrasyon değeri arttıkça hücreler üzerindeki canlılık değerinin azaldığı görüldü.

MDAH-2774 hücre hattında, 24. Saatte hücre canlılığı farklı konsantrasyonlara (1, 3, 10, 30, 100, 300 μ g/mL) bağlı olarak sırasıyla % 114 $\pm$ 19,56, % 109,14 $\pm$ 8,19, % 109,85 $\pm$ 8,73, % 122,83 $\pm$ 6,39, % 2,58 $\pm$ 0,38, % 3,76 $\pm$ 1,43 olarak ölçüldü, 48. saatte ise % 101 $\pm$ 10,71, % 104,88 $\pm$ 11,51, % 105,44 $\pm$ 11,72, % 100,52 $\pm$ 10,51, % 3,76 $\pm$ 0,37, % 4,95 $\pm$ 0,49 olarak bulundu. Hücre canlılık değerleri incelendiğinde artan konsantrasyona bağlı 24. ve 48 saatlerin sonunda ekstrakt konsantrasyon değeri arttıkça hücreler üzerindeki canlılık değerinin azaldığı görüldü.

Aynı konsantrasyonlarda SKOV-3 hücre hattında 24. saatte hücre canlılığı %123 $\pm$ 14,08, % 100,23 $\pm$ 10,53, % 79,02 $\pm$ 12,62, % 58,30 $\pm$ 5,14, % 50,64 $\pm$ 8,33, % 1,04 $\pm$ 0,14 olarak ve 48. saatte ise % 120,30 $\pm$ 10,86, % 102,73 $\pm$ 12,17, % 62,75 $\pm$ 8,02, % 34,58 $\pm$ 3,55, % 4,03 $\pm$ 1,64, % 2,50 $\pm$ 0,34 olarak bulundu. Sonuçlar doğrultusunda artan konsantrasyon değerleri ile birlikte SKOV-3 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkilerinin arttığı görüldü.



Şekil 1. Fıstık çamı ekstraktının farklı konsantrasyonlarda, MCF-7, MDAH-2774 ve SKOV-3 hücre hatları üzerindeki yüzde canlılık değerleri

Şekil 1 değerlendirildiğinde (1, 3, 10, 30, 100, 300 μ g/mL) konsantrasyonlarındaki Fıstık çamı ekstraktının MCF-7, MDAH-2774 ve SKOV-3 hücre hatları üzerinde 24. ve 48. saatlerdeki yüzde canlılık değerleri görülmektedir. Grafik 1 incelendiğinde Fıstık çamı ekstraktının 100

$\mu\text{g/mL}$ ve $300 \mu\text{g/mL}$ konsantrasyon değerlerinde 24. ve 48. saatlerinde MCF-7, MDAH-2774 ve SKOV-3 hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkilerinin arttığı görülmektedir.

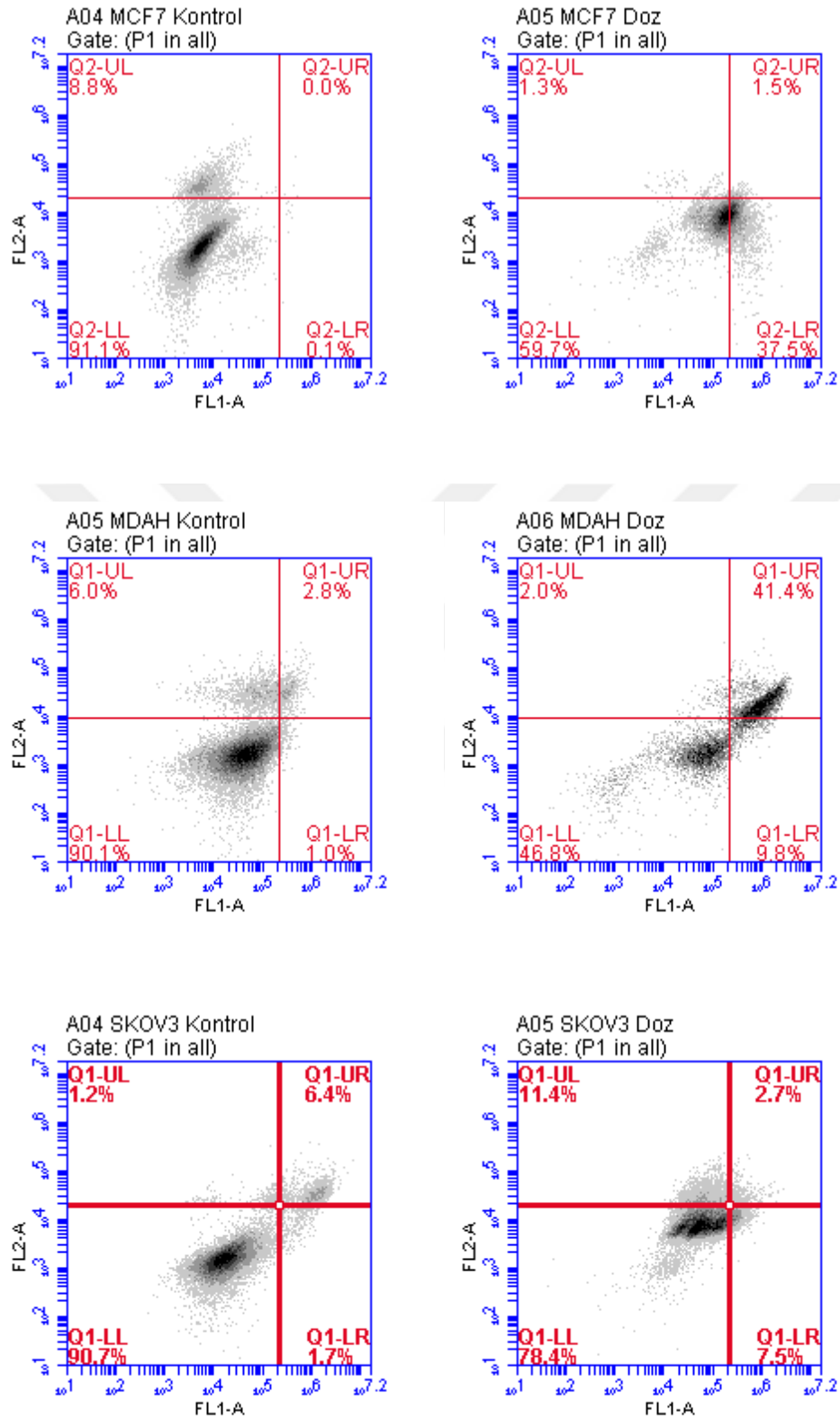
Tüm % canlılık değerlerine bakıldığında kontrol grubuna kıyasla 100'ün üzerinde olan konsantrasyon ve değerlerde hücre proliferasyonunun %10'luk pay ile etkili olduğu düşünülmektedir. % canlılık değerleri göz önünde bulundurularak Graphpad Prism 8 programında çift yönlü ANOVA analizi ile IC_{50} değerleri hesaplanmış olup, tablo 3'de verilmiştir.

Tablo 3. Fıstık Çamı ekstraktının MCF-7, MDAH-2774 ve SKOV-3 hücre hatları üzerindeki IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) değerleri

	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)					
	MCF-7		MDAH-2774		SKOV-3	
	24h	48h	24h	48h	24h	48h
Fıstık Çamı ekstraktı						
Çamı	$30,18 \pm 0,86$	$19,83 \pm 2,31$	$79,39 \pm 6,34$	$75,68 \pm 8,43$	$55,33 \pm 0,17$	$17,37 \pm 4,34$

Tablo 3 incelendiğinde Fıstık çamı ekstraktının 24. saatte en çok MCF-7 hücre hattında sitotoksik etki gösterdiği gözlemlendi. 48. saatler açısından tablo bir bütün olarak incelendiğinde ise Fıstık çamı ekstraktının en çok SKOV-3 hücre hattında sitotoksik etki gösterdiği belirlendi. MDAH-2774 hücre hattının 24. saatteki IC_{50} değeri $79,39 \pm 6,34$ iken 48. saatteki IC_{50} değeri ise $75,68 \pm 8,43$ 'dir. SKOV-3 hücre hattının 24. saatteki IC_{50} değeri $55,33 \pm 0,17$ olarak belirlendi ve 48. saatteki IC_{50} değeri ise $17,37 \pm 4,34$ olarak bulundu. IC_{50} değerleri doğrultusunda over kanseri hücre hatları (MDAH-2774 ve SKOV-3) kendi aralarında değerlendirildiğinde Fıstık çamı ekstraktının MDAH-2774 hücre hattına oranla SKOV-3 hücre hattında daha sitotoksik etki gösterdiği tespit edildi.

4.2 Apoptoz Analizine Ait Sonuçlar

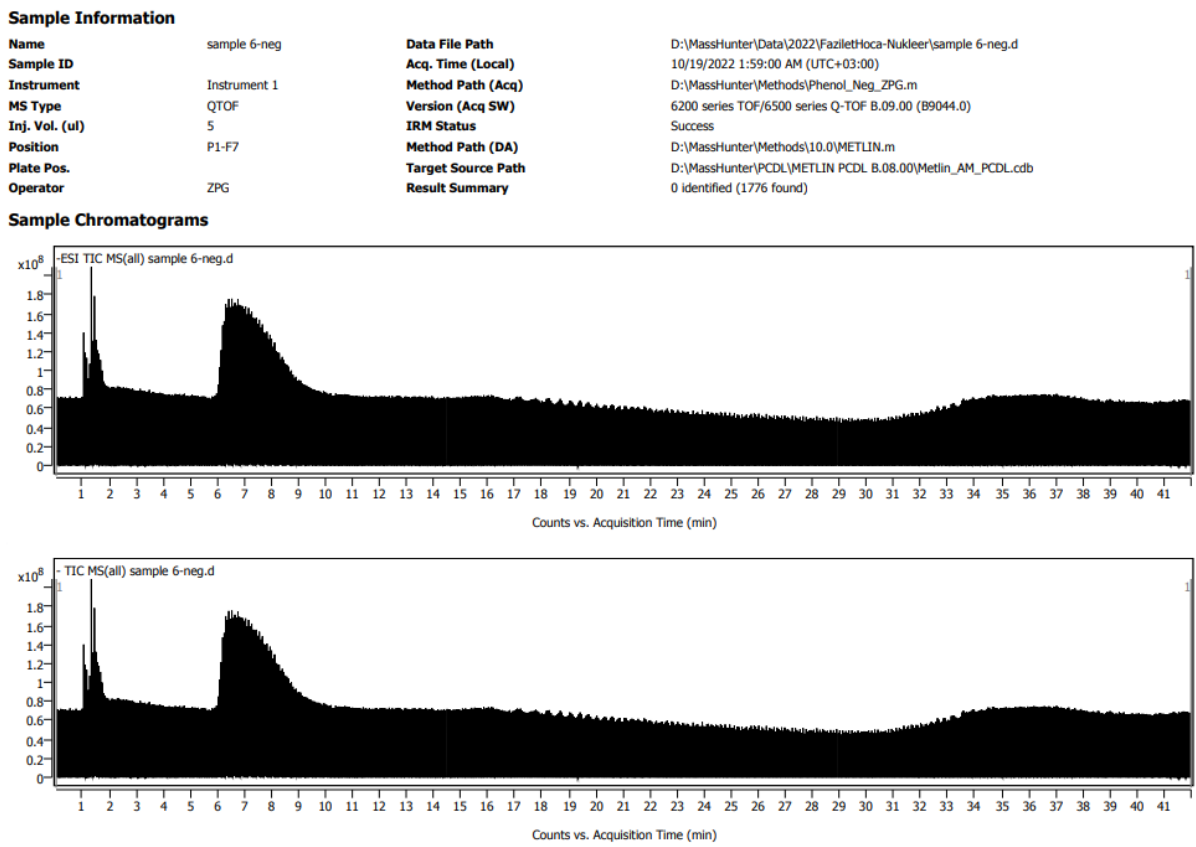


Şekil 2. MCF-7, MDAH-2774 ve SKOV-3 hücre hatları için apoptoz grafikleri

Şekil 2 incelendiğinde MCF-7 hücre hattında, kontrol grubuna kıyasla doz uygulanan grupta erken apoptoz oranının anlamlı düzeyde arttığı belirlendi. MDAH-2774 hücre hattında ise doz uygulanan grupta geç apoptoz oranının kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu tespit edildi. SKOV-3 hücre hattında, doz uygulanan grupta kontrol grubuna kıyasla nekroz oranında artış gözlemlendi. Bu bulgular, doz uygulamalarının hücresel ölüm mekanizmaları üzerinde farklı etkiler oluşturabileceğini göstermektedir.

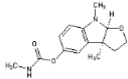
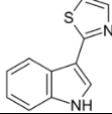
4.3 LC/MS-QTF Analizine Ait Sonuçlar

LC/MS-QTF analizi için Ege Üniversitesi Merkezi Araştırma Test ve Analiz Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi'ne (MATAL) ekstrakt örneği gönderilmiştir. Fıstık çamı ekstraktının içeriğinde bulunan bileşenler analiz edildi. Şekil 3 ve 4'te LC/MS-QTF kromatogramları, tablo 4 ve 5'te de ekstraktı içeren bileşenler yer almaktadır.



Şekil 3. Ekstrakta ait LC/MS-QTF (-) kromatogramı

Bileşen Adı	Formül	Kimyasal Yapı	Retention time (R _t)	Mass Değeri
3,4-Methylenedioxybenzoic acid	C ₈ H ₆ O ₄		0.577	166.0266

Physovenine	C ₁₄ H ₁₈ N ₂ O ₃		0.260	262.1309
Camalexin	C ₁₁ H ₈ N ₂ S		1.277	200.0405

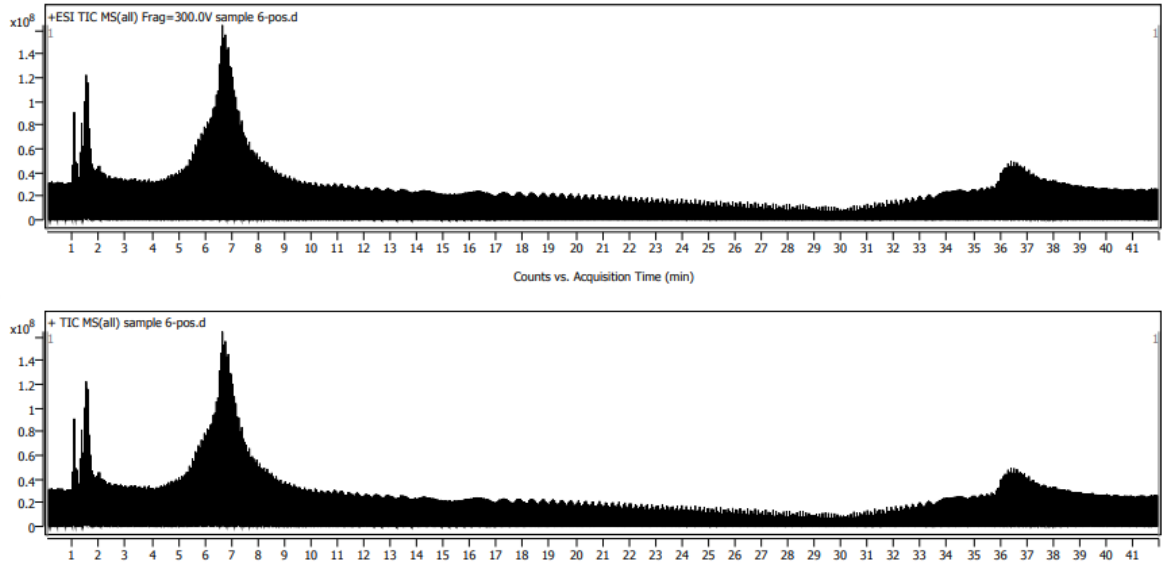
Tablo 4. Ekstrakta ait LC/MS-QTF (-) benzen halkası içeren bileşenlerin adı, formülü, kimyasal yapısı, Retention time ve mass değeri

Tablo 4 incelendiğinde komponentlerden Camalexin'in daha önce yapılan çalışmalarda insan meme kanseri hücre hattına karşı antiproliferatif aktivite gösterdiği görülmüştür (117).

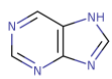
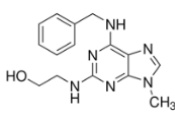
Sample Information

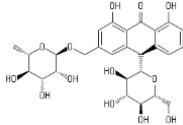
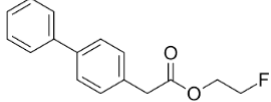
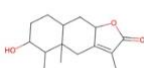
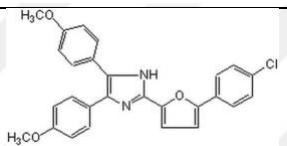
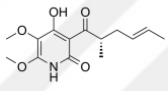
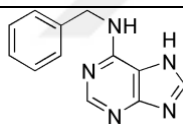
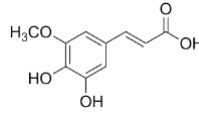
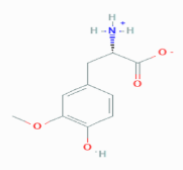
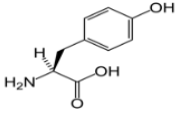
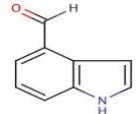
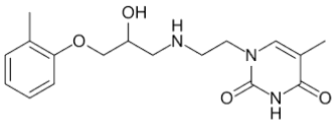
Name	sample 6-pos	Data File Path	D:\MassHunter\Data\2022\FaziletHoca-Nukleer\sample 6-pos.d
Sample ID		Acq. Time (Local)	10/18/2022 9:00:52 PM (UTC+03:00)
Instrument	Instrument 1	Method Path (Acq)	D:\MassHunter\Methods\Phenol_Poz_ZPG.m
MS Type	QTOF	Version (Acq SW)	6200 series TOF/6500 series Q-TOF B.09.00 (B9044.0)
Inj. Vol. (ul)	5	IRM Status	Success
Position	P1-F7	Method Path (DA)	D:\MassHunter\Methods\10.0\METLIN.m
Plate Pos.		Target Source Path	D:\MassHunter\PCDL\METLIN PCDL B.08.00\Metlin_AM_PCDL.cdb
Operator	ZPG	Result Summary	986 identified (1459 found)

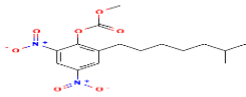
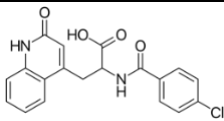
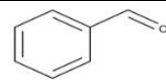
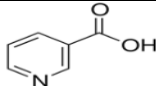
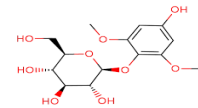
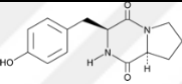
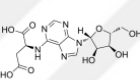
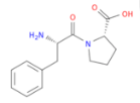
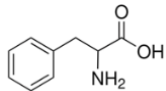
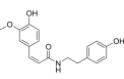
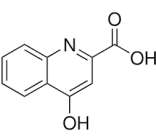
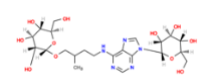
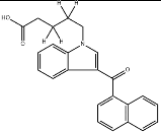
Sample Chromatograms

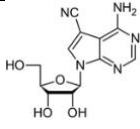
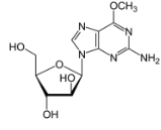


Şekil 4. Ekstrakta ait LC/MS-QTF (+) kromatogramı

Bileşen Adı	Formül	Kimyasal Yapı	Retention time (R _t)	Mass Değeri
Purine	C ₅ H ₄ N ₄		0.562	120.0437
Olomoucine	C ₁₅ H ₁₈ N ₆ O		29.408	298.1533

CAY10562	C8 H8 N O2 S		6.764	182.0275
Aloinoside B	C27 H32 O13		0.327	564.1823
Fluenetil	C16 H15 F O2		24.485	258.1069
(3beta,8beta)-3-Hydroxy-7(11)-eremophilin-12,8-olide	C15 H22 O3		11.440	250.1561
Neurodazine	C27 H21 Cl N2 O3		5.229	456.1238
Harzianopyridone	C14 H19 N O5		29.013	281.1266
6-Benzylaminopurine	C12 H11 N5		1.784	225.1010
5-Hydroxy ferulate	C10 H10 O5		7.194	210.0529
L-4-Hydroxy-3-methoxy-a-methylphenylalanine	C11 H15 N O4		3.749	225.1001
L-Tyrosine	C9 H11 N O3		3.659	181.0732
4-Formyl Indole	C9 H7 N O		19.335	145.0521
Primidolol	C17 H23 N3 O4		23.479	333.1681

Dinocton 6	C16 H22 N2 O7		39.290	354.1424
Rebamipide	C19 H15 Cl N2 O4		6.595	370.0725
Benzaldehyde	C7 H6 O		6.810	106.0416
Nicotinic Acid	C6 H5 N O2		2.631	123.0319
Leonuriside A	C14 H20 O9		4.054	332.1109
Maculosin	C14 H16 N2 O3		16.748	260.1159
Succinyladenosine	C14 H17 N5 O8		11.734	383.1069
L-phenylalanyl-L-proline	C14 H18 N2 O3		0.203	262.1316
DL-Phenylalanine	C9 H11 N O2		8.459	165.0786
1,3-PBIT (dihydrobromide)	C12 H18 N4 S2		20.475	282.0985
Kynurenic acid	C10 H7 N O3		20.938	189.0420
Dihydrozeatin-9-N-glucoside-O-glucoside	C22 H35 N5 O11		1.852	545.2327
JWH 018 N-pentanoic acid metabolite-d4	C24 H17 D4 N O3		10.548	375.1781

Toyocamycin	C12 H13 N5 O4		13.258	291.0965
Nelarabine	C11 H15 N5 O5		12.468	297.1076

Tablo 5. Ekstrakta ait LC/MS-QTF (+) benzen halkası içeren bileşenlerin adı, formülü, kimyasal yapısı, Retention time ve mass değeri

Tablo 5 incelendiğinde komponentlerden Olomoucine'in daha önce yapılan çalışmalarda rabdomyosarkom hücre hatlarının büyümesini inhibe ettiği gösterilmiştir (118). Maculosin'in insan kanseri hücre hatlarına karşı sitotoksik aktivite gösterdiği gösterilmiştir (119). Toyocamycin'in HeLa hücrelerinde RNA sentezini inhibe ettiği gösterilmiştir (120). Nelarabine hücrelerde sitotoksik metabolit ara-G trifosfata (ara-GTP) metabolize edilen arabinofuranosilguaninin (ara-G) antikanser bir ön ilacıdır (121). L-phenylalanyl-L-proline ile ilgili yapılan çalışmalarda ise iyi bir antikanser aktivitesine sahip olduğunu ve ayrıca tedavide ilaç direncini aşma potansiyeline sahip olduğu gösterilmiştir (122).

5. TARTIŞMA

Kanser dünya genelinde önde gelen ölüm nedenlerinden biri olup her altı ölümden birinin nedeni olarak karşımıza çıkmaktadır. Güncel birçok araştırma ve bilimsel ilerlemeye rağmen kanser hala gelişme mekanizması ve tedavi yönetimleri tam olarak aydınlatılamamış bir hastalıktır. Günümüzde yaşam beklentisinin artmasıyla kanser tedavi yönetimi ve hastaların bu süreçteki yaşam kalitesinin artırılması önemli bir araştırma konusu haline gelmiştir. Kanser tedavi yöntemlerinde ameliyat, radyoterapi ve kemoterapi gibi seçenekler hem maliyet açısından hem de ciddi yan etkiler nedeni ile bilim insanlarını yeni tedavi yöntemleri aramaya itmektedir. Günümüzde bu konuda artan çalışmalar yönünü bitki kaynaklı ürünlerin kanser tedavisinde kullanılması ve bu yöntemler ile tedavilerin olumsuz yan etkilerini azaltma amacına yöneltmiştir. Daha önceki yapılan *in vitro* çalışmalarda, bitki ekstraktlarındaki sekonder metabolitlerin apoptoz indükleyici enzim aktivasyonu ile çeşitli kanser hücre dizinlerinde rol oynadığı gösterilmiştir (123).

Bu çalışmada kadınlar arasında en sık görülen kanser olması nedeni ile meme kanseri hücre hattını kullandık. Ayrıca kadınlarda kanserden ölüm nedenleri arasında beşinci sırada yer

alması ve kadın üreme sistemindeki diğer kanserlerden daha fazla ölüme neden olması nedeniyle de over kanseri hücre hatlarını kullandık. Bitki seçiminde ise eski çağlardan beri antimikrobiyal, antioksidan ve sitotoksik aktivitesi ile tıbbi amaçlarda kullanılmış olan çam ağacı iğnesini tercih ettik. Çam ağacı türlerinde daha önce yapılan çalışmalardan örnek olarak *Pinus merkusii* (Sumatra çamı) iğnelerinin etanol ekstraktının HeLa hücreleri üzerinde antiproliferatif etkiye sahip olduğu ve antikanser ilaç adayı olarak potansiyeli gösterilmiştir (115). *Pinus eldarica* (Afgan çamı) kabuğu ve yaprağından elde edilen ekstraktın ve esansiyel yağın HeLa ve MCF-7 hücre hatları üzerinde sitotoksik etkilerini değerlendiren bir çalışmada ise *Pinus eldarica*'dan elde edilen esansiyel yağın konsantrasyona bağlı şekilde hem HeLa hem de MCF-7 hücrelerinin canlılığını önemli ölçüde azalttığı gösterilmiştir (5). Biz de çalışmamızda ülkemizde yaygın yayılım gösteren çam türü olan *Pinus pinea* (Fıstık çamı) ekstraktı kullanmayı tercih ettik. Literatürde *Pinus pinea*'dan elde edilen esansiyel yağın, *J. Oxycedrus* (Katrana ardıcı), *Cedrus libani* (Lübnan sediri) ve *Juniperus excelsa* (Boylu ardıç) meyvesi esansiyel yağları ile çoklu ilaç dirençli lösemi hücrelerine karşı sitotoksik aktivitesi araştırılmış olup, bu hücrelerde ilaca dirençli ve refrakter tümörleri tedavi etmek için yararlı olabileceği gösterilmiştir (124).

Çalışmamızda Fıstık çamı ekstraktının MDAH-2774, SKOV-3 ve MCF-7 hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkisini incelendiğinde; artan konsantrasyona bağlı olarak MCF-7 hücre hattı üzerinde 24. ve 48. saatlerin sonunda ekstrakt konsantrasyon değeri arttıkça hücreler üzerindeki canlılık değerinin azaldığı görüldü. MDAH-2774 hücre hattında hücre canlılık değerleri incelendiğinde 24. Ve 48. saatlerin sonunda artan konsantrasyona bağlı hücreler üzerindeki canlılık değerlerinin azaldığı görüldü. Aynı şekilde SKOV-3 için de artan konsantrasyon değerleri ile birlikte SKOV-3 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkilerinin arttığı görüldü. Ayrıca sonuçlar genel olarak gözlemlendiğinde 100 µg/mL konsantrasyon oranında % canlılık değerlerinde ani bir düşüş görüldü. Fıstık çamı yaprağı ekstraktı 24. saatte en çok MCF-7 hücre hattı üzerinde sitotoksik etki gösterdi. 48. saatte tablo bütün olarak değerlendirildiğinde en çok SKOV-3 hücre hattında sitotoksik etki gösterdi. Over kanseri hücre hatları kendi aralarında değerlendirildiğinde ise sitotoksik etki MDAH-2774 hücre hattına oranlı SKOV-3 hücre hattında daha sitotoksik etki gösterdi.

Apoptoz analizinde ise MCF-7 hücre hattında, kontrol grubuna kıyasla fıstık çamı yaprağı ekstraktı ile erken apoptoz oranının anlamlı düzeyde arttığı görüldü. MDAH-2774 hücre hattında ise, kontrol grubuna göre geç apoptoz oranının daha yüksek olduğu tespit edildi. SKOV-3 hücre hattında ise, kontrol grubuna kıyasla nekroz oranında artış gözlemlendi. Bu bulgular

fıstık çamı yaprağı ekstraktının hücrel ölüm mekanizmaları üzerinde farklı etkiler oluşturabileceğini gösterdi.

Antikanser tedavide alternatif olarak bitkisel kökenli bileşenlerin sitotoksik açıdan aktif rol oynadığı ve kanser tedavisinde yeni ajanlar geliştirilmesi yönünde yapılan bu çalışmada fıstık çamı yaprağı ekstraktı MCF-7, SKOV-3 ve MDAH-2774 hücre hatlarında hem sitotoksik hem de apoptotik olarak etkili bulundu. Bu bitkisel kökenli bileşen ile ileride *in vivo* deneysel çalışmaların da planlanabileceği düşünülmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Kanser hastalarında, son gelişmelere rağmen, ciddi yan etkiler, ilaç direnci nedeni ile sınırlı etkili tedaviler mevcuttur. Bu nedenle alternatif tedavilere ihtiyaç vardır. Bitki kaynaklı tedaviler, düşük toksisite ve yüksek potansiyelleri açısından araştırma konusu olmuştur. Biz de mevcut çalışmamızın sonucunda fıstık çamı yaprağı ekstraktının hem over kanseri (SKOV-3, MDAH-2774) hem de meme kanseri hücreleri (MCF-7) üzerinde hem doza bağımlı şekilde sitotoksik hem de apoptotik etkisini gösterdik. Bu sonuçlar fıstık çamı yaprağı ekstraktının potansiyel antikanser etkisine sahip olduğunu göstermektedir. Bu etkinin fıstık çamı yaprağı ekstraktının flavonoid bileşenler açısından zengin olmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz. Ayrıca ilerleyen dönemlerde ekstraktın antikanser sürecinin altında yatan moleküler mekanizmaları aydınlatıcı ve ekstraktın *in vivo* kullanıldığı çalışmalar planlamaktayız.

Sonuç olarak mevcut çalışma fıstık çamı yaprağı ekstraktının hem over kanseri (SKOV-3, MDAH-2774) hem de meme kanseri hücreleri (MCF-7) üzerinde hem sitotoksik hem de apoptotik etkiye sahip olduğunu gösteren ilk çalışmadır. Bu sonuçlar fıstık çamı yaprağı ekstraktının, antitümör ajanlar elde etmek için daha ileri çalışmalarda potansiyel bir sitotoksik aday olarak değerlendirilebileceğini ve hem over kanseri hem de meme kanserinin tedavisi için yeni bir aday olabileceğini düşündürmektedir.

7. KAYNAKLAR

1. Ali AT, Al-Ani O, Al-Ani F. Epidemiology and risk factors for ovarian cancer. *Prz Menopauzalny*. 2023;22(2):93–104.
2. Kolak A, Kamińska M, Sygit K, Budny A, Surdyka D, Kukielka-Budny B, et al. Primary and secondary prevention of breast cancer. *Ann Agric Environ Med*. 2017;24(4):549–53.
3. Basholli-Saliu M, Schuster R, Hajdari A, Mulla D, Viernstein H, Mustafa B, et al. Phytochemical composition, anti-inflammatory activity and cytotoxic effects of essential oils from three *Pinus* spp. *Pharm Biol* [Internet]. 2017;55(1):1553–60. Available from: <http://dx.doi.org/10.1080/13880209.2017.1309555>
4. LUNGU C, MIHAI C-T, VOCHITA G, GHERGHEL D, MIRON S-D, APROTOSOAIE AC, et al. Cytotoxic activity of *Pinus cembra* L. needle extract: A preliminary study on HeLa cell line. *Rom J Pharm Pract*. 2021;57(2):93–8.
5. Sarvmeili N, Jafarian-Dehkordi A, Zolfaghari B. Cytotoxic effects of *Pinus eldarica* essential oil and extracts on HeLa and MCF-7 cell lines. *Res Pharm Sci*. 2016;11(6):476–83.
6. Fasoulakis Z, Koutras A, Ntounis T, Prokopakis I, Perros P, Chionis A, et al. Ovarian Cancer and Glutamine Metabolism. *Int J Mol Sci*. 2023;24(5):1–10.
7. Wang Y, Duval AJ, Adli M, Matei D. Biology-driven therapy advances in high-grade serous ovarian cancer. *J Clin Invest*. 2024;134(1):1–12.
8. Rooth C. Ovarian cancer: Risk factors, treatment and management. *Br J Nurs*. 2013;22(17 SUPPL.):23–30.
9. Gaona-Luviano P, Adriana L, Medina-Gaona, Magaña-Pérez K. Epidemiology of ovarian cancer. *Chinese Clin Oncol*. 2020;9(4).
10. Dias Nunes J, Demeestere I, Devos M. BRCA Mutations and Fertility Preservation. *Int J Mol Sci*. 2024;25(1).
11. Helder-Woolderink JM, Blok EA, Vasen HFA, Hollema H, Mourits MJ, De Bock GH. Ovarian cancer in Lynch syndrome; A systematic review. *Eur J Cancer* [Internet]. 2016;55:65–73. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejca.2015.12.005>
12. Penny SM. Ovarian cancer: An overview. *Radiol Technol*. 2020;91(6):561–75.
13. Ran X, Jing H, Li Z. The clinical features and management of Lynch syndrome-associated ovarian cancer. *J Obstet Gynaecol Res*. 2022;48(7):1538–45.

14. Vo C, Carney ME. Ovarian Cancer Hormonal and Environmental Risk Effect. *Obstet Gynecol Clin North Am.* 2007;34(4):687–700.
15. La Vecchia C. Ovarian cancer: Epidemiology and risk factors. *Eur J Cancer Prev.* 2017;26(1):55–62.
16. Babic A, Sasamoto N, Rosner BA, Tworoger SS, Jordan SJ, Risch HA, et al. Association between Breastfeeding and Ovarian Cancer Risk. *JAMA Oncol.* 2020;6(6):1–8.
17. Li DP, Du C, Zhang ZM, Li GX, Yu ZF, Wang X, et al. Breastfeeding and ovarian cancer risk: A systematic review and meta-analysis of 40 Epidemiological studies. *Asian Pacific J Cancer Prev.* 2014;15(12):4829–37.
18. Koushik A, Grundy A, Abrahamowicz M, Arseneau J, Gilbert L, Gotlieb WH, et al. Hormonal and reproductive factors and the risk of ovarian cancer. *Cancer Causes Control.* 2017;28(5):393–403.
19. Shi LF, Wu Y, Li CY. Hormone therapy and risk of ovarian cancer in postmenopausal women: A systematic review and meta-analysis. *Menopause.* 2016;23(4):417–24.
20. Paavonen J, Turzanski Fortner R, Lehtinen M, Idahl A. Chlamydia trachomatis, Pelvic Inflammatory Disease, and Epithelial Ovarian Cancer. *J Infect Dis.* 2021;224(Suppl 2):S121–7.
21. Barnard ME, Farland L V, Yan B, Wang J, Trabert B, Doherty JA, et al. Endometriosis Typology and Ovarian Cancer Risk. *JAMA [Internet].* 2024 Aug 13;332(6):482–9. Available from: <https://doi.org/10.1001/jama.2024.9210>
22. Throwba HPK, Unnikrishnan L, Pangath M, Vasudevan K, Jayaraman S, Li M, et al. The epigenetic correlation among ovarian cancer, endometriosis and PCOS: A review. *Crit Rev Oncol Hematol [Internet].* 2022;180(May):103852. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2022.103852>
23. Tworoger SS, Huang T. Obesity and ovarian cancer. *Recent Results Cancer Res.* 2016;208:155–76.
24. Foong KW, Bolton H. Obesity and ovarian cancer risk: A systematic review. *Post Reprod Heal.* 2017;23(4):183–98.
25. Tanha K, Mottaghi A, Nojomi M, Moradi M, Rajabzadeh R, Lotfi S, et al. Investigation on factors associated with ovarian cancer: an umbrella review of systematic review and meta-analyses. *J Ovarian Res [Internet].* 2021;14(1):1–17. Available from: <https://doi.org/10.1186/s13048-021-00911-z>

26. Sessa C, Balmaña J, Bober SL, Cardoso MJ, Colombo N, Curigliano G, et al. Risk reduction and screening of cancer in hereditary breast-ovarian cancer syndromes: ESMO Clinical Practice Guideline ☆. *Ann Oncol* [Internet]. 2023;34(1):33–47. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2022.10.004>
27. Menon U, Karpinskyj C, Gentry-Maharaj A. Ovarian Cancer Prevention and Screening. *Obstet Gynecol*. 2018;131(5):909–27.
28. Menon U, Gentry-Maharaj A, Burnell M, Singh N, Ryan A, Karpinskyj C, et al. Ovarian cancer population screening and mortality after long-term follow-up in the UK Collaborative Trial of Ovarian Cancer Screening (UKCTOCS): a randomised controlled trial. *Lancet* [Internet]. 2021;397(10290):2182–93. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)00731-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(21)00731-5)
29. Bast RC, Feeney M, Lazarus H, Nadler LM, Colvin RB, Knapp RC. Reactivity of a monoclonal antibody with human ovarian carcinoma. *J Clin Invest*. 1981;68(5):1331–7.
30. Dochez V, Caillon H, Vaucel E, Dimet J, Winer N, Ducarme G. Biomarkers and algorithms for diagnosis of ovarian cancer: CA125, HE4, RMI and ROMA, a review. *J Ovarian Res*. 2019;12(1):1–9.
31. Coleman RL, Hennessy BT, Coleman RL, Markman M. Ovarian cancer. *Crit Rev Oncol Hematol* [Internet]. 2023;(June):433–40. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1040842806000643?via%3Dihub>
32. Goff BA, Mandel LS, Melancon CH, Muntz HG. 50. Goff 2004.pdf. 2015;291(22):2705–12.
33. Goff BA, Mandel LS, Drescher CW, Urban N, Gough S, Schurman KM, et al. Development of an ovarian cancer symptom index: Possibilities for earlier detection. *Cancer*. 2007;109(2):221–7.
34. Braat DDM. Diagnosis and management of ovarian disorders. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 1997;72(2):217.
35. Bäuml M, Gallant D, Druckmann R, Kuhn W. Ultrasound screening of ovarian cancer. *Horm Mol Biol Clin Investig*. 2020;41(3):1–6.
36. Article R. FEMALE GENITOURINARY ONCOLOGY SPECIAL FEATURE : Implications of the new FIGO staging and the role of imaging in cervical cancer. 2021;(March):1–10.

37. Forstner R, Thomassin-Naggara I, Cunha TM, Kinkel K, Masselli G, Kubik-Huch R, et al. ESUR recommendations for MR imaging of the sonographically indeterminate adnexal mass: an update. *Eur Radiol*. 2017;27(6):2248–57.
38. Thomassin-Naggara I, Poncelet E, Jalaguier-Coudray A, Guerra A, Fournier LS, Stojanovic S, et al. Ovarian-Adnexal Reporting Data System Magnetic Resonance Imaging (O-RADS MRI) Score for Risk Stratification of Sonographically Indeterminate Adnexal Masses. *JAMA Netw Open*. 2020;3(1):1–14.
39. Aggarwal P, Kehoe S. Serum tumour markers in gynaecological cancers. *Maturitas* [Internet]. 2010;67(1):46–53. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.maturitas.2010.04.017>
40. Mai J, Wu L, Yang L, Sun T, Liu X, Yin R, et al. Therapeutic strategies targeting folate receptor α for ovarian cancer. *Front Immunol*. 2023;14(August):1–11.
41. Marabelle A, Le DT, Ascierto PA, Di Giacomo AM, de Jesus-Acosta A, Delord JP, et al. Efficacy of pembrolizumab in patients with noncolorectal high microsatellite instability/ mismatch repair-deficient cancer: Results from the phase II KEYNOTE-158 study. *J Clin Oncol*. 2020;38(1):1–10.
42. Terada KY, Ahn HJ, Kessel B. Differences in risk for type 1 and type 2 ovarian cancer in a large cancer screening trial. *J Gynecol Oncol*. 2016;27(3):1–8.
43. Tao J, Sun D, Zhou H, Zhu J, Zhang X, Hou H. Next-generation sequencing identifies potential novel therapeutic targets in Chinese HGSOc patients. *Pathol Res Pract* [Internet]. 2022;238(February):154074. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.prp.2022.154074>
44. Moore KN, Pothuri B, Monk B, Coleman RL. PARP inhibition in recurrent ovarian cancer. *Clin Adv Hematol Oncol*. 2020;18(10):647–55.
45. Sambasivan S. Epithelial ovarian cancer: Review article. *Cancer Treat Res Commun* [Internet]. 2022;33(September):100629. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ctarc.2022.100629>
46. Slomovitz B, Gourley C, Carey MS, Malpica A, Shih IM, Huntsman D, et al. Low-grade serous ovarian cancer: State of the science. *Gynecol Oncol* [Internet]. 2020;156(3):715–25. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2019.12.033>
47. Gershenson DM. Management of borderline ovarian tumours. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* [Internet]. 2017;41:49–59. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2016.09.012>

48. Sahin H, Akdogan AI, Smith J, Zawaideh JP, Addley H. Serous borderline ovarian tumours: An extensive review on MR imaging features. *Br J Radiol*. 2021;94(1125).
49. de Nonneville A, Kalbacher E, Cannone F, Guille A, Adelaïde J, Finetti P, et al. Endometrioid ovarian carcinoma landscape: pathological and molecular characterization. *Mol Oncol*. 2024;18:2586–600.
50. Hollis RL, Thomson JP, Stanley B, Churchman M, Meynert AM, Rye T, et al. Molecular stratification of endometrioid ovarian carcinoma predicts clinical outcome. *Nat Commun* [Internet]. 2020;11(1):1–10. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41467-020-18819-5>
51. Gadducci A, Multinu F, Cosio S, Carinelli S, Ghioni M, Aletti GD. Clear cell carcinoma of the ovary: Epidemiology, pathological and biological features, treatment options and clinical outcomes. *Gynecol Oncol* [Internet]. 2021;162(3):741–50. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2021.06.033>
52. Morice P, Gouy S, Leary A. Mucinous Ovarian Carcinoma. *N Engl J Med*. 2019;380(13):1256–66.
53. Review P. Brenner tumors 1 1. 2021;(June):4–9.
54. Trimpos JB. Surgical treatment of early-stage ovarian cancer. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* [Internet]. 2017;41:60–70. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2016.10.001>
55. Xiao Y, Bi M, Guo H, Li M. Multi-omics approaches for biomarker discovery in early ovarian cancer diagnosis. *eBioMedicine*. 2022;79.
56. Vergote I, Van Gorp T, Amant F, Leunen K, Neven P, Berteloot P. Timing of debulking surgery in advanced ovarian cancer. *Int J Gynecol Cancer*. 2008;18(SUPPL. 1):11–9.
57. Liu J, Jiao X, Gao Q. Neoadjuvant chemotherapy-related platinum resistance in ovarian cancer. *Drug Discov Today* [Internet]. 2020;25(7):1232–8. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2020.04.015>
58. Harter P, Sehouli J, Vergote I, Ferron G, Reuss A, Meier W, et al. Randomized Trial of Cytoreductive Surgery for Relapsed Ovarian Cancer. *N Engl J Med*. 2021;385(23):2123–31.
59. Ozols RF, Bundy BN, Greer BE, Fowler JM, Clarke-Pearson D, Burger RA, et al. Phase III trial of carboplatin and paclitaxel compared with cisplatin and paclitaxel in patients with optimally resected stage III ovarian cancer: A Gynecologic Oncology Group study. *J Clin Oncol*. 2003;21(17):3194–200.

60. Jones HW. Intraperitoneal cisplatin and paclitaxel in ovarian cancer: Commentary. *Obstet Gynecol Surv.* 2006;61(4):240–2.
61. Filis P, Mauri D, Markozannes G, Tolia M, Filis N, Tsilidis K. Hyperthermic intraperitoneal chemotherapy (HIPEC) for the management of primary advanced and recurrent ovarian cancer: a systematic review and meta-analysis of randomized trials. *ESMO Open* [Internet]. 2022;7(5):100586. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.esmoop.2022.100586>
62. Monk BJ, Minion LE, Coleman RL. Anti-angiogenic agents in ovarian cancer: Past, present, and future. *Ann Oncol* [Internet]. 2016;27(Supplement 1):i33–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1093/annonc/mdw093>
63. Burger RA. Experience with bevacizumab in the management of epithelial ovarian cancer. *J Clin Oncol.* 2007;25(20):2902–8.
64. Ray-Coquard I, Pautier P, Pignata S, Pérol D, González-Martín A, Berger R, et al. Olaparib plus Bevacizumab as First-Line Maintenance in Ovarian Cancer. *N Engl J Med.* 2019;381(25):2416–28.
65. Pujade-Lauraine E, Ledermann JA, Selle F, GebSKI V, Penson RT, Oza AM, et al. Olaparib tablets as maintenance therapy in patients with platinum-sensitive, relapsed ovarian cancer and a BRCA1/2 mutation (SOLO2/ENGOT-Ov21): a double-blind, randomised, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2017;18(9):1274–84.
66. Moore K, Colombo N, Scambia G, Kim B-G, Oaknin A, Friedlander M, et al. Maintenance Olaparib in Patients with Newly Diagnosed Advanced Ovarian Cancer. *N Engl J Med.* 2018;379(26):2495–505.
67. Shaw TJ, Senterman MK, Dawson K, Crane CA, Vanderhyden BC. Characterization of intraperitoneal, orthotopic, and metastatic xenograft models of human ovarian cancer. *Mol Ther.* 2004;10(6):1032–42.
68. Barzaman K, Karami J, Zarei Z, Hosseinzadeh A, Kazemi MH, Moradi-Kalbolandi S, et al. Breast cancer: Biology, biomarkers, and treatments. *Int Immunopharmacol.* 2020;84(April).
69. Makhoul I, Atiq M, Alwbari A, Kieber-Emmons T. Breast Cancer Immunotherapy: An Update. *Breast Cancer Basic Clin Res.* 2018;12.
70. Tabár L, Dean PB, Chen THH, Yen AMF, Chen SLS, Fann JCY, et al. The incidence of fatal breast cancer measures the increased effectiveness of therapy in women participating in mammography screening. *Cancer.* 2019;125(4):515–23.

71. Rojas K, Stuckey A. Breast Cancer Epidemiology and Risk Factors. *Clin Obstet Gynecol*. 2016;59(4):651–72.
72. Tallon JM, Narciso J, Barros A, Pereira A, Costa AM, Silva AJ. Obesity: Nutrition and Genetics—A Short Narrative Review. *Health (Irvine Calif)*. 2018;10(12):1779–88.
73. Sherman ME, Vierkant RA, Masters M, Radisky DC, Winham SJ, Degnim AC, et al. Benign Breast Disease, NSAIDs, and Postmenopausal Breast Cancer Risk in the CPS-II Cohort. *Cancer Prev Res*. 2023;16(3):175–84.
74. Román M, Louro J, Posso M, Alcántara R, Peñalva L, Sala M, et al. Breast density, benign breast disease, and risk of breast cancer over time. *Eur Radiol*. 2021;31(7):4839–47.
75. Zhang Y, Kiel DP, Kreger BE, Cupples LA, Ellison RC, Dorgan JF, et al. Bone Mass and the Risk of Breast Cancer among Postmenopausal Women. *N Engl J Med*. 1997;336(9):611–7.
76. Key T. Steroid hormone measurements from different types of assays in relation to body mass index and breast cancer risk in postmenopausal women: Reanalysis of eighteen prospective studies. *Steroids* [Internet]. 2015;99(Part A):49–55. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.steroids.2014.09.001>
77. Chlebowski RT, Hendrix SL, Langer RD, Stefanick ML, Gass M, Lane D, et al. Influence of Estrogen Plus Progestin on Breast Cancer and Mammography in Healthy Postmenopausal Women: The Women’s Health Initiative Randomized Trial. *J Am Med Assoc*. 2003;289(24):3243–53.
78. Burchardt NA, Eliassen AH, Shafrir AL, Rosner B, Tamimi RM, Kaaks R, et al. Oral contraceptive use by formulation and breast cancer risk by subtype in the Nurses’ Health Study II: a prospective cohort study. *Am J Obstet Gynecol* [Internet]. 2022;226(6):821.e1-821.e26. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2021.12.022>
79. Dorgan JF, Stanczyk FZ, Kahle LL, Brinton LA. Prospective case-control study of premenopausal serum estradiol and testosterone levels and breast cancer risk. *Breast Cancer Res* [Internet]. 2010;12(6):R98. Available from: <http://breast-cancer-research.com/content/12/6/R98>
80. Key TJ, Appleby PN, Reeves GK, Roddam AW, Helzlsouer KJ, Alberg AJ, et al. Insulin-like growth factor 1 (IGF1), IGF binding protein 3 (IGFBP3), and breast cancer risk:

- Pooled individual data analysis of 17 prospective studies. *Lancet Oncol* [Internet]. 2010;11(6):530–42. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S1470-2045\(10\)70095-4](http://dx.doi.org/10.1016/S1470-2045(10)70095-4)
81. Hamajima N, Hirose K, Tajima K, Rohan T, Friedenreich CM, Calle EE, et al. Menarche, menopause, and breast cancer risk: Individual participant meta-analysis, including 118 964 women with breast cancer from 117 epidemiological studies. *Lancet Oncol* [Internet]. 2012;13(11):1141–51. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S1470-2045\(12\)70425-4](http://dx.doi.org/10.1016/S1470-2045(12)70425-4)
 82. Rosner B, Colditz GA, Willett WC. Reproductive risk factors in a prospective study of breast cancer: The nurses' health study. *Am J Epidemiol*. 1994;139(8):819–35.
 83. Kelsey JL, Gammon MD, John EM. Reproductive Factors and Breast Cancer. 1993;15(1):36–47.
 84. Reiner AS, Sisti J, John EM, Lynch CF, Brooks JD, Møller M, et al. Breast cancer family history and contralateral breast cancer risk in young women: An update from the women's environmental cancer and radiation epidemiology study. *J Clin Oncol*. 2018;36(15):1513–20.
 85. Lancet. Familial breast cancer: collaborative reanalysis of individual data from 52 epidemiological studies including 58,209 women with breast cancer and 101,986 women without the disease. 2009;358:1389–99.
 86. Yang X, Leslie G, Doroszk A, Schneider S, Allen J, Decker B, et al. Cancer risks associated with germline PALB2 pathogenic variants: An international study of 524 families. *J Clin Oncol*. 2020;38(7):674–85.
 87. John EM, Kelsey JL. Radiation and other environmental exposures and breast cancer. *Epidemiol Rev*. 1993;15(1):157–62.
 88. Chen S, Parmigiani G. Meta-analysis of BRCA1 and BRCA2 penetrance. *J Clin Oncol*. 2007;25(11):1329–33.
 89. Trentham-Dietz A, Chapman CH, Jayasekera J, Lowry KP, Heckman-Stoddard BM, Hampton JM, et al. Collaborative Modeling to Compare Different Breast Cancer Screening Strategies: A Decision Analysis for the US Preventive Services Task Force. *Jama*. 2024;331(22):1947–60.
 90. Kok T, Ph D, Peterse H, Tilanus-linthorst MMA, Muller SH, Ph D, et al. new england journal. 2004;427–37.
 91. Macura KJ, Ouwerkerk R, Jacobs MA, Bluemke DA. Patterns of enhancement on breast MR images: Interpretation and imaging pitfalls. *Radiographics*. 2006;26(6):1719–34.

92. Kader T, Hill P, Rakha EA, Campbell IG, Gorringer KL. Atypical ductal hyperplasia: Update on diagnosis, management, and molecular landscape. *Breast Cancer Res.* 2018;20(1):1–11.
93. Miceli R, Mercado CL, Hernandez O, Chhor C. Active Surveillance for Atypical Ductal Hyperplasia and Ductal Carcinoma in Situ. *J Breast Imaging.* 2023;5(4):396–415.
94. Sokolova A, Lakhani SR. Lobular carcinoma in situ: diagnostic criteria and molecular correlates. *Mod Pathol* [Internet]. 2021;34:8–14. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41379-020-00689-3>
95. Bur ME, Zimarowski MJ, Schnitt SJ, Baker S, Lew R. Estrogen receptor immunohistochemistry in carcinoma in situ of the breast. *Cancer.* 1992;69(5):1174–81.
96. Veronesi U, Cascinelli N, Mariani L, Greco M, Saccozzi R, Luini A, et al. Twenty-Year Follow-up of a Randomized Study Comparing Breast-Conserving Surgery with Radical Mastectomy for Early Breast Cancer. *N Engl J Med.* 2002;347(16):1227–32.
97. Comşa Ş, Cîmpean AM, Raica M. The story of MCF-7 breast cancer cell line: 40 Years of experience in research. *Anticancer Res.* 2015;35(6):3147–54.
98. Kroemer G, El-Deiry WS, Golstein P, Peter ME, Vaux D, Vandenabeele P, et al. Classification of cell death: Recommendations of the nomenclature committee on cell death. *Cell Death Differ.* 2005;12:1463–7.
99. D’Arcy MS. Cell death: a review of the major forms of apoptosis, necrosis and autophagy. *Cell Biol Int* [Internet]. 2019;43(6):582–92. Available from: <http://dx.doi.org/10.1002/cbin.11137>
100. Wong RSY. Apoptosis in cancer: From pathogenesis to treatment. *J Exp Clin Cancer Res.* 2011;30(1):1–14.
101. Büyükgöbüz O, Caferler JS. Apoptozis. *Sendrom.* 2001;13(1):102–7.
102. Kashyap D, Garg VK, Goel N. Intrinsic and extrinsic pathways of apoptosis: Role in cancer development and prognosis [Internet]. 1st ed. Vol. 125, *Advances in Protein Chemistry and Structural Biology.* Elsevier Inc.; 2021. 73–120 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/bs.apcsb.2021.01.003>
103. Fadeel B, Orrenius S. Apoptosis: A basic biological phenomenon with wide-ranging implications in human disease. *J Intern Med.* 2005;258(6):479–517.
104. Kaloni D, Diepstraten ST, Strasser A, Kelly GL. BCL-2 protein family: attractive targets for cancer therapy. *Apoptosis.* 2023;28(1–2):20–38.

105. Voskarides K, Giannopoulou N. The Role of TP53 in Adaptation and Evolution. *Cells*. 2023;12(3):1–11.
106. Olivier M, Hollstein M, Hainaut P. TP53 mutations in human cancers: origins, consequences, and clinical use. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2010;2(1):1–18.
107. GÖKHAN A, KILIÇ KD, GÜLLE K, UYANIKGİL Y, ÇAVUŞOĞLU T. Apoptotik Yolaklar ve Hedefe Yönelik Tedaviler. *SDÜ Tıp Fakültesi Derg*. 2020;27(4):565–73.
108. Lopes RB, Gangeswaran R, McNeish IA, Wang Y, Lemoine NR. Expression of the IAP protein family is dysregulated in pancreatic cancer cells and is important for resistance to chemotherapy. *Int J Cancer*. 2007;120(11):2344–52.
109. Abad Viñas R, Caudullo G, Oliveira S, de Rigo D. European Atlas of Forest Tree Species. *Pinus pinea* in Europe: distribution, habitat, usage and threats. 2016;130–1. Available from: forest.jrc.ec.europa.eu/media/atlas/Pinus_pinea.pdf
110. Pine S, Gilman EF, Watson DG. *Pinus pinea*. 1994;(October):1–3.
111. Atmaca H, Camli C, Sert S. Ethanol Extract of *Pinus nigra* ssp. *pallasiana* var. *şeneriana* Inhibits Human Breast Cancer Cell Viability through Induction of Apoptosis. *Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilim Derg*. 2018;14(1):35–40.
112. Yalim N, Namalan Z, Özcan MM. Effect on Human Health Components of Pine Nuts (*Pinus pinea*). *J Agroaliment Process Technol*. 2022;28(3):203–203.
113. Lee MS, Cho SM, Lee M ho, Lee EO, Kim SH, Lee HJ. Ethanol extract of *Pinus koraiensis* leaves containing lambertianic acid exerts anti-obesity and hypolipidemic effects by activating adenosine monophosphate-activated protein kinase (AMPK). *BMC Complement Altern Med* [Internet]. 2016;16(1):1–13. Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s12906-016-1031-2>
114. Hoai N, Duc H, Thao D, Orav A, Raal A. Selectivity of *Pinus sylvestris* extract and essential oil to estrogen-insensitive breast cancer cells *Pinus sylvestris* against cancer cells. *Pharmacogn Mag*. 2015;11(44):290.
115. Proboningrat A, Fadholy A, Agus Sudjarwo S, Abdul Rantam F, Budianto Achmad A. The cytotoxic activity of pine needles ethanolic extract of *Pinus merkusii* on HeLa cell lines . *BIO Web Conf*. 2021;33:03001.
116. Karapandzova M, Stefkov G, Cvetkovikj I, Stanoeva JP, Stefova M, Kulevanova S. Flavonoids and Other Phenolic Compounds in Needles of *Pinus peuce* and Other Pine Species from the Macedonian Flora. *Nat Prod Commun*. 2015;10(6):0–3.
117. Glawischnig E. Camalexin. *Phytochemistry*. 2007;68(4):401–6.

118. Abraham RT, Acquarone M, Andersen A, Asensi A, Bellé R, Berger F, et al. Cellular effects of olomoucine, an inhibitor of cyclin-dependent kinases. *Biol Cell*. 1995;83(2–3):105–20.
119. Paudel B, Maharjan R, Rajbhandari P, Aryal N, Aziz S, Bhattarai K, et al. Maculosin, a non-toxic antioxidant compound isolated from *Streptomyces* sp. KTM18. *Pharm Biol* [Internet]. 2021;59(1):933–6. Available from: <https://doi.org/10.1080/13880209.2021.1946091>
120. Ri M, Tashiro E, Oikawa D, Shinjo S, Tokuda M, Yokouchi Y, et al. Identification of Toyocamycin, an agent cytotoxic for multiple myeloma cells, as a potent inhibitor of ER stress-induced XBP1 mRNA splicing. *Blood Cancer J*. 2012;2(7):1–11.
121. Yamauchi T, Ueda T. Nelarabine. *Chemother Leuk Nov Drugs Treat*. 2017;68(4):241–50.
122. Oktemer TS, Celik S, Ozel AE, Akyuz S, Er A. Vibrational spectroscopic characterization, quantum chemical, molecular docking and molecular dynamics investigations of cyclo(L-phenylalanyl-L-proline), an anticancer agent. *Spectrosc Lett* [Internet]. 2024;0(0):1–19. Available from: <https://doi.org/10.1080/00387010.2024.2432331>
123. Khan T, Ali M, Khan A, Nisar P, Jan SA, Afridi S, et al. Anticancer plants: A review of the active phytochemicals, applications in animal models, and regulatory aspects. *Biomolecules*. 2020;10(1).
124. Saab AM, Guerrini A, Sacchetti G, Maietti S, Zeino M, Arend J, et al. Phytochemical analysis and cytotoxicity towards multidrug-resistant leukemia cells of essential oils derived from lebanese medicinal plants. *Planta Med*. 2012;78(18):1927–31.