



**T.C.
MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANA BİLİM DALI
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ TEZLİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**KARVAKROLÜN SKOV-3 İNSAN OVER KANSERİ
HÜCRELERİNDE EPİTELİYAL-MEZENKİMAL GEÇİŞE
ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

Ayça YAZICI

MUĞLA-2024

T.C.
MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANA BİLİM DALI
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ TEZLİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KARVAKROLÜN SKOV-3 İNSAN OVER KANSERİ
HÜCRELERİNDE EPİTELYAL-MEZENKİMAL GEÇİŞE
ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

Ayça YAZICI

Tez Danışmanı
Doç. Dr. Gürkan YİĞİTTÜRK

MUĞLA-2024

TEZ ONAYI

Ayça YAZICI tarafından hazırlanan “Karvakrolün SKOV-3 İnsan Over Kanseri Hücrelerinde Epitelyal-Mezenkimal Geçiş Etkilerinin İncelenmesi” başlıklı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Histoloji ve Embriyoloji Tezli Yüksek Lisans Programında, Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı

Doç. Dr. Gürkan YİĞİTTÜRK

(İmza)

Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi

Üye

Doç. Dr. Hülya ELBE

(İmza)

Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi

Üye

Prof. Dr. Yiğit UYANIKGİL

(İmza)

Ege Üniversitesi

Tez savunma tarihi: 30.01.2024

Bu tez Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Histoloji ve Embriyoloji Tezli Yüksek Lisans Programında, Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirmektedir.

Prof. Dr. Müesser ÖZCAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan metinleri sahiplerinden yazılı izin alarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kâğıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Yükseköğretim Kurulu tarafından yayınlanan **“Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge”** kapsamında tezim aşağıda belirtilen koşullar haricinde YÖK Ulusal Tez Merkezi / MSKÜ Açık Erişim Sisteminde erişime açılabilir.

☐ Tezimle ilgili patent başvurusu yapılacağından veya patent alma süreci devam ettiğinden Enstitü Yönetim Kurulu kararı ile tezimin mezuniyet tarihimden itibaren 2 yıl erişime açılmasının ertelenmesini talep ediyorum.

☒ Tezimde yeni teknik, materyal ve metotlar kullanıldığından ve henüz makaleye dönüşmemiş olduğundan Enstitü Yönetim Kurul kararı ile mezuniyet tarihimden itibaren 6 ay tezimin erişime açılmasının ertelenmesini talep ediyorum.

30.01.2024

(İmza)

Ayça YAZICI

ETİK BEYAN

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum “Karvakrolün SKOV-3 İnsan Over Kanseri Hücrelerinde Epitelyal-Mezenkimal Geçiş Etkilerinin İncelenmesi” isimli çalışmada tezin planlanmasından yazımına kadar tüm süreçlerde etik ilkelere bağlı kaldığımı, tezime ilişkin bilgi ve belgeleri akademik ve bilimsel etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, tezimde kullandığım tüm görsel ve yazılı materyallerin kaynağını gösterdiğimi, yararlandığım eserlerin tümünün kaynaklar bölümünde yer aldığını, tezimin Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kılavuzuna göre yazıldığını beyan ederim.

30.01.2024

(İmza)

Ayça YAZICI

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitim sürecimde bilgi ve tecrübelerini benden esirgemeyen, deneyimleriyle bana yol gösteren ve destek olan danışman hocam Doç. Dr. Gürkan YİĞİTTÜRK'e teşekkürlerimi sunarım. Paylaştığı engin bilgi birikimleri ve deneyimleri için sayın ana bilim dalı başkanımız Prof. Dr. Feral ÖZTÜRK'e, deneyim ve bilgilerini benimle paylaşan sayın Doç. Dr. Hülya ELBE'ye, bilgilerini ve desteklerini esirgemeyen sayın Dr. Öğr. Üyesi Gazi CONTUK'a ve yüksek lisans eğitimim boyunca birlikte çalıştığım tüm laboratuvar arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Stresli süreçlerimde hep yanımda olup varlığıyla ve koşulsuz sevgisiyle bana destek olan biricik patili dostum Asil'e ve diğer tüm patili dostlarıma; beni her zaman destekleyen ve tüm zor süreçlerimde yanımda olup, motive eden sevgili arkadaşlarım Eglima MOZAFARY ve Damla KARAGÖZ'e güven, samimiyet ve eşsiz destekleri için teşekkür ederim.

Hayatımın her alanında olduğu gibi yüksek lisans sürecimde de maddi ve manevi olarak desteklerini esirgemeyen, aldığım tüm kararlarda yanımda olan, motive eden ve inandığım değerler için mücadele etmeyi öğreten annem Ayfer YAZICI'ya, babam Ayhan YAZICI'ya ve kardeşim Anıl Arda YAZICI'ya koşulsuz sevgi ve destekleri için teşekkürler ederim.

KARVAKROLÜN SKOV-3 İNSAN OVER KANSERİ HÜCRELERİNDE EPİTELYAL-MEZENKİMAL GEÇİŞ ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

ÖZET

Over kanseri günümüzde en sık görülen jinekolojik kanserlerdendir. Tedavisi, cerrahi ve kemoterapinin entegrasyonuna dayanmaktadır. Tedavisine yönelik yeni ve daha etkili ajanlara ihtiyaç duyulmaktadır. Epitelyal-mezenkimal geçiş (EMT), hücrelerin epitel özelliklerini kaybettiği, mezenkimal fenotipik özellikler kazandığı bir süreçtir. Kanser gelişimi ve yara iyileşmesi gibi fizyolojik ve patolojik olaylarda önemli rolü olduğu düşünülmektedir. Karvakrol, kekik ve kekikgiller ailesinin üyesi olan bitkilerin uçucu yağlarında bulunan fenolik bir monoterpenoiddir. Literatürler incelendiğinde karvakrolün kanser hücre apoptozunu indüklediği gösterilmiştir. Bu çalışmada karvakrolün SKOV-3 insan over kanseri hücrelerinin EMT potansiyeline olan etkilerini belirleyip, vimentin ve TGF- β belirteçleri üzerindeki etkilerini incelemek amaçlanmıştır. Çalışmada ilk olarak WST-1 analizi ile karvakrolün IC₅₀ değeri tespit edilmiştir. EMT ile ilgili analizlerde tespit edilen IC₅₀ değeri (C1 grubu) ve bu değer %10' u (C2 grubu) kullanılarak deney grupları oluşturulmuştur. Ayrıca uygulama yapılmayan kontrol grubu ve DMSO çözücü grubu oluşturulmuştur. Vimentin ve TGF- β belirteçlerinin incelenmesi için immüno floresan boyama gerçekleştirilmiştir. Floresan ışına yoğunlukları “düzeltilmiş total hücre floresanı (CTCF) değeri” olarak hesaplanmıştır. EMT potansiyelinin incelenmesi için in vitro yara modeli oluşturulmuş ve yara alanında hücre çoğalmasına bağlı yüzde (%) kapanma oranı belirlenmiştir. Karvakrol, SKOV-3 hücre canlılığını konsantrasyona bağlı olarak inhibe etmektedir. Yara iyileşme analizinde karvakrol uygulanan gruplarda yara alanlarının kapanma yüzdesi azalmıştır. Anti-vimentin (p<0.05) ve Anti-TGF- β (p<0.01) immüno floresan boyamasında C1 grubu CTCF değerinin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı düşük olduğu görülmektedir. Sonuç olarak, karvakrolün doza bağlı olarak SKOV-3 hücrelerinde EMT inhibisyonuna sebep olabileceği görülmektedir. Bu sebeple çalışmamızın, EMT üzerinden kanser tedavi yaklaşımları sunan araştırmalara katkı sağlama potansiyelinin olduğunu düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: SKOV-3, Over kanseri, EMT, Karvakrol, Vimentin, TGF- β

INVESTIGATION OF THE EFFECT OF CARVACROL ON EPITHELIAL MESENCHYMAL TRANSITION IN SKOV-3 HUMAN OVARIAN CANCER

ABSTRACT

Ovarian cancer is one of the most common gynecologic cancers today. Its treatment is based on the integration of surgery and chemotherapy. New and more effective agents are needed for its treatment. Epithelial-mesenchymal transition (EMT) is a process in which cells lose their epithelial properties and gain mesenchymal phenotypic characteristics. It is thought to play an important role in physiological and pathological events such as cancer development and wound healing. Carvacrol is a phenolic monoterpenoid found in the essential oils of thyme and thyme family members. In the literature, carvacrol has been shown to induce cancer cell apoptosis. In this study, we aimed to investigate the effects of carvacrol on the EMT potential of SKOV-3 human ovarian cancer cells and to examine its effects on vimentin and TGF- β markers. In the study, the IC₅₀ value of carvacrol was first determined by WST-1 analysis. Experimental groups were formed using the IC₅₀ value determined in the analysis related to EMT (C1 group) and 10% of this value (C2 group). In addition, an untreated group (control group) and a solvent group (DMSO group) were formed. Immunofluorescent staining was performed to examine vimentin and TGF- β markers. Fluorescence intensities were calculated as "corrected total cell fluorescence (CTCF) value". In order to examine the overall EMT potential, an in vitro wound model was created and the percentage (%) closure rate due to cell proliferation in the wound area was determined. Carvacrol inhibits SKOV-3 cell viability in a concentration-dependent manner. In wound healing analysis, the percentage of closure of wound areas decreased in the carvacrol-treated groups. Anti-vimentin ($p < 0.05$) and Anti-TGF- β ($p < 0.01$) immunofluorescence staining showed that the CTCF value of C1 group was statistically significantly lower compared to the control group. In conclusion, it appears that carvacrol may cause EMT inhibition in SKOV-3 cells in a dose-dependent manner. Therefore, we think that our study has the potential to contribute to researches that offer cancer treatment approaches through EMT.

Keywords: SKOV-3, Ovarian cancer, EMT, Carvacrol, Vimentin, TGF- β

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	i
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI	ii
ETİK BEYAN	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	ix
ŞEKİLLER VE RESİMLER DİZİNİ.....	xi
TABLolar DİZİNİ.....	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Over Anatomisi	4
2.2. Over Embriyolojisi.....	5
2.2.1 Overlerin İnisi.....	7
2.3 Over Histolojisi	8
2.3.1. Folikül Gelişimi.....	9
2.3.2. Ovulasyon.....	16
2.3.3. Korpus Luteum.....	18
2.4. Over Kanseri	20
2.4.1. Epidemiyoloji	20
2.4.2. Risk Faktörleri	21
2.4.3. Over Kanseri Sınıflandırılması.....	26
2.4.4. Over Kanseri Semptom ve Bulgular.....	27
2.4.5. Over Kanseri Tedavi Yöntemleri	28
2.5. Epitelyal Mezenkimal Geçiş (EMT)	29
2.5.1. Epitelyal ve Mezenkimal Hücre Morfolojisi	30
2.5.2 EMT Sınıflandırmaları	33
2.5.3. EMT'yi Aktive Eden Sinyal Yolakları.....	34
2.5.4. EMT ve Yara İyileşmesi.....	35
2.5.5. EMT, EMT Belirteçleri ve Kanser	36
2.6 Karvakrol.....	41
3. YÖNTEM	43
3.1. Araştırma Modeli	43

3.2. Araştırma Evren ve Örneklemi/Araştırma Materyali.....	43
3.3. Veri Toplama Araçları	44
3.3.1. WST-1 Hücre Canlılık Analizi.....	44
3.3.2. Vimentin ve TGF- β İmmü floresan Boyama	45
3.3.3. İn Vitro Yara Modeli Analizi	46
3.4. Veri Toplama Süreci	46
3.5. Deneysel Kurgu.....	47
3.6. İstatistiksel Analiz.....	47
3.7. Etik Onay	48
3.8. Araştırmanın Sınırlılıkları	48
4. BULGULAR.....	49
4.1. WST Analizi ile Karvakrol IC ₅₀ Bulguları.....	49
4.2 Anti-vimentin ve Anti-TGF- β İmmü floresan Boyama Sonuçları.....	50
4.3.Yara İyileşme Analizi Sonuçları	53
5. TARTIŞMA.....	55
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	61
6.1. Sonuçlar	61
6.2. Öneriler	62
KAYNAKLAR	63
EKLER	72
Ek 1: ETİK KURUL ONAYI	72
Ek 2: KURUM İZİN ONAYI	73
Ek 3: ÖZ GEÇMİŞ.....	74

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

°C	Santigrat Derece
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre
µM	Mikromolar
a.	Arteria
aER	Granülsüz endoplazmik retikuluma
CO₂	Karbondioksit
CTCF	Floresan ışıma yoğunlukları düzeltilmiş total Hücre floresanı
DMSO	Dimetil Sülfoksit
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
E-kadherin	Epitelyal kaderin
ECM	Ekstrasellüler matriks
EGF	Epidermal büyüme faktörü
EMT	Epitelden mezenkime geçiş
EMT-TF	EMT Transkripsiyon faktörleri
EOK	Epitelyal Over Kanser
FGF	Fibroblast büyüme faktörü
FSH	Folikül Stimüle Edici Hormon
gER	Granüllü endoplazmik retikulumun
hCG	İnsan karyonik gonadotropinin
HGF	Hepatosit büyüme faktörü
HGSC	High-grade seröz karsinom
HRT	Hormon replasman tedavisi
kDa	Kilodalton
LGSC	Low-grade seröz karsinom
LH	Luteinizan hormon
lig.	Ligamentum
MET	Mezenkimal epitelyal geçiş
mM	Milimolar

MMP	Matris metalloproteinazlar
N-kaderin	Nöral kaderin
OK	Over kanseri
OMI	Oosit Olgunlaşma İnhibitörü
OVOL	Ovo like transcriptional repressor
PAS	Periyodik asit–Schiff
PBS	Phosphate buffered saline
pH	Power of hydrogen
PID	Pelvik inflamatuvar hastalık
PKOS	Polikistik over sendromu
PRRX	Paired Related Homeobox 1
TDF	Testis belirleyici faktör
TGF-β	Dönüştürücü büyüme faktörü β
TWIST1	Twist-related protein 1
v.	Vena
WHO	World Health Organization
WST	Water soluble tetrazolium
ZEB	Zinc finger E-box binding homeobox
ZP	Zona pellusida

ŞEKİLLER VE RESİMLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Primordiyal folikül.....	10
Şekil 2.2. Primer folikül.....	13
Şekil 2.3. Sekonder folikül.....	14
Şekil 2.4. Tersiyer (Graaf) folikül.....	15
Şekil 2.5. Folikül gelişiminin evreleri, ovulasyon ve ovulasyon sonrası değişikliklerin şematik gösterimi	17
Şekil 2.6. İnsan korpus luteumunun fotomikrografı	19
Şekil 2.7. EMT türleri.....	34
Şekil 2.8. Tümör metastazında EMT'nin Rolü	39
Şekil 3.1. Çalışma planının şema ile gösterimi	47
Şekil 4.1. Karvakrol konsantrasyonuna bağlı (%) SKOV-3 hücre canlılık grafiği ve IC50 hesaplaması	50
Şekil 4.2. Deney gruplarına ait anti-vimentin immünfloresan boyaması. X40	51
Şekil 4.3. Deney gruplarına ait anti-TGF- β immünfloresan boyamaları. X40	52
Şekil 4.4. Yara iyileşme analizi fotoğrafları. Deney gruplarının 0., 6. ve 24. saatlerdeki yara (çizik) alanları. X4	54

TABLolar DİZİNİ

Tablo 4.1. Karvakrol konsantrasyonuna baēlı (%) SKOV-3 hücre canlılığı tablosu	49
Tablo 4.2. Deney gruplarının anti-vimentin ve anti-TGF-β immünfloresan boyalarına ait CTCF deēerleri	53
Tablo 4.3. Deney gruplarının 6. ve 24. saatlerdeki (%) yara alanı kapanma oranları	53

1. GİRİŞ

Kontrolsüz hücre bölünmesi ve çoğalması olarak tanımlanan kanser, genetik ve çevresel koşullardan etkilenen oldukça kompleks bir hastalıktır (Roy ve Saikia,2016). Over kanserinin mevcut tedavisi, cerrahi ve kemoterapinin entegrasyonuna dayanmaktadır. Son yıllarda over kanseri tedavisi için çeşitli ilaçlar geliştirilmiş olmasına rağmen, yeni ve daha etkili ajanlara ihtiyaç duyulmaktadır (Kwiecińska vd., 2012). Over kanseri büyümesi ve metastazı, tümörün etrafında ilerleyen, hücreler arasında yapısal bozulmaya, hücre yapışmasına, hücre göçüne, istilaya, çoğalmaya ve yeni kan damarı oluşumuna yol açan bir dizi olaydan meydana gelmektedir (Ayla, Öktem ve Bilir,2009). Over kanseri tipi, tümörjenik sürecin nerede başladığını belirler. Over kanserine yol açan bu tümörler epitelyal, stromal ve germ hücreli tümörler olarak temelde üç gruba ayrılır. Epitelyal tümörlerde tümörjenik süreç, overin dışını kaplayan doku tabakasında başlar. Stromal tümörlerin tümörjenik süreci over dokusunda başlar. Over dokusu hormon üreten hücreler içerir ve bu tümörler, hormonal sistemin hızlı tepki vermesi nedeniyle sıklıkla diğer over tümörlerinden daha erken teşhis edilebilir (Çolak, Duman ve Yılmaz, 2022). Germ hücreli tümörlerde ise süreç over hücrelerinde başlamaktadır ve daha çok genç yaşlardaki kadınlarda görülmektedir (Reavis ve Drapkin,2020). Dünya Sağlık Örgütü (WHO), epidermal over kanserini seröz, müsinöz, endometrioid, şeffaf hücreli, geçiş hücreli, mix, farklılaşmamış ve sınıflandırılmamış tipler olarak sınıflandırmıştır. Histolojik alt tip ve dereceye göre sınıflandırma prognoz için önemlidir (Luvero,Milani ve Ledermann, 2014).

Epitelyal-mezenkimal geçiş (EMT), hücrelerin epitel niteliklerini kaybettiği ve mezenkimal fenotipik özellikler kazandığı bir süreçtir (Greenburg ve Hay, 1982). Tip 1 EMT; embriyogenez, implantasyon ve organların gelişimi sırasında ortaya çıkar. Organ fibrozu veya malign metastaz ile ilişkili değildir. Tip 2 EMT; yara iyileşme, organlarda görülen fibrozis ve dokuların rejenere olmasında rol oynar. Hasara cevap olarak ortaya çıkar. Onarım süreçlerini destekler, doku onarımı için fibroblastların ve diğer hücrelerin üretimine katılır. Bu tür EMT genellikle enflamasyon ile ilişkilidir ve enflamasyon bitince sona erer. Tip 3 EMT ise metastaz ve kanser progresyonu ile bağlantılıdır. Tip 3 EMT ile üretilen hücreler, kan dolaşımına girme ve metastaz oluşturma yeteneğine sahiptir (Sohal vd., 2013). EMT, kanser hücrelerine metastatik potansiyel verir ve dolaşımdaki tümör

hücreleri EMT özellikleri gösterir. Hedefe vardıklarında, kanser hücreleri uzak organları kolonize etmek için EMT transkripsiyon faktörlerini (Twist1 ve Prrx1) kapatır, mezenkimal-epitelyal geçiş ile epitel özelliklerini yeniden kazanır (Nassar ve Blanpain, 2016). EMT, epitel hücrelerinin apikal ve bazal polaritelerini ve hücre-hücre adezyonlarını kaybederek, migrasyon kabiliyeti artan iç şekilli mezenkimal hücreler haline geldiği ve mezenkimal bir yapıdan epitelyal bir yapıya geri döndüğü geri dönüşümlü bir süreçtir. Bu süreçte, dezmozom stabilizasyonu için önemli olan çeşitli sitokeratinler, sıkı bağlantıların önemli bir bileşeni olan E-kadherin ve okludin, klaudin, Epcam, $\alpha 6 \beta$ gibi bileşenler tarafından inhibe edilir. Aynı zamanda fibronektin, vimentin, N-kadherin, integrinler ($\beta 1$ ve $\beta 3$) ve matriks metalloproteinaz (MMP) seviyeleri artar. Son veriler, kanser hücrelerinin epitel ve mezenkimal hücrelerin özelliklerine sahip bir "göreceli EMT" durumunda da olabileceğini düşündürmektedir (Loret vd., 2019). EMT'nin dolaşımdaki tümör hücrelerine dönüşmek üzere dolaşıma giren hareketli ve invaziv kanser hücrelerinin kaynağı olduğu düşünülmektedir (Remšík vd., 2018). EMT, kanser invazyonu, metastaz ve kemorez direncinde çok önemli bir rol oynadığına inanıldığı için kanserde de kapsamlı bir şekilde çalışılmaktadır (Haensel ve Dai, 2018).

Genel olarak, EMT ile ilgili çalışmalar, süreci tanımlamak için epitelyal (E-kadherin) ve mezenkimal (N-kadherin veya vimentin) belirteçlerin ifadesini incelerken, gerçek mezenkimal hücrenin oluşumu için daha fazla kanıtı ihtiyaç duyulmaktadır (Haensel ve Dai, 2018).

EMT, çeşitli sinyal molekülleri tarafından indüklenir ve bir dizi transkripsiyon faktörü, mikroRNA'lar ve epigenetik faktörler tarafından düzenlenir. EMT'yi indükleyen büyüme faktörleri ve sinyal kaskadları arasında dönüştürücü büyüme faktörü beta (TGF- β), epidermal büyüme faktörü (EGF), fibroblast büyüme faktörü (FGF), hepatosit büyüme faktörü (HGF) bulunmaktadır (Haensel ve Dai, 2018).

TGF- β , EMT'yi indükleyerek tümör invazyonunu ve metastazını desteklediğine yönelik çalışmalar yapılmıştır (Kim vd., 2020). TGF- β yolağı, birkaç farklı doku tipinde EMT'nin indüklenmesinde önemli bir rol oynar. Bu sinyal yolu, üç farklı TGF- β izoformu, iki aktivin ve birkaç kemik morfojenik proteini dahil olmak üzere çok sayıda alternatif ligand tarafından aktive edilir. TGF- β , karsinogenez sırasında ikili bir rol oynar; Başlangıçta, büyümeyi durdurarak ve apoptozu aktive ederek tümörjenezini inhibe eder,

ancak TGF- β 'nin aşırı eksprese edildiği ilerlemiş kanserlerde, EMT'yi uyararak tümörigeneze teşvik eder, bu da tümör hücrelerini daha invaziv yapar ve metastazlara duyarlılıklarını artırır (Heldin, Vanlandewijck ve Moustakas 2012).

Karvakrol, kekik türü bitkilerinin uçucu yağlarında bulunan fenolik bir monoterpenoiddir (Sharifi-Rad vd., 2018). Genellikle güvenli bir gıda katkı maddesi olarak tanınmakta ve unlu mamullerde, tatlılarda, içeceklerde ve sakızlarda tatlandırıcı olarak kullanılmaktadır. Uçucu yağlardan elde edilen biyolojik olarak aktif bileşikler üzerine yapılan araştırmalar, bunların güçlü antibakteriyel, antifungal ve antioksidan maddeler olduğunu kanıtlamıştır. Karvakrol (5-izopropil-2-metilfenol) de, uçucu yağın antimikrobiyal ve antifungal etkilere sahip ana maddelerindendir. Kanser tedavisine yönelik yapılan çalışmalarda hücrelerin apoptoz oranının karvakrol tedavisi ile arttığı gösterilmiştir (Mehdi vd., 2011). Karvakrolün, doza ve zamana bağlı bir şekilde, hücre canlılığını azalttığı, reaktif oksijen türlerinin oranını artırdığı ve mitokondriyal membran potansiyelini bozarak prostat kanseri hücrelerine karşı koruyucu etkiler sergilediği bildirilmiştir (Karam vd., 2019). Karvakrol, insan hastalıklarını iyileştirmek amacıyla yeni terapötik alternatiflerin geliştirilmesi için yüksek bir potansiyel sergilemektedir. Bununla birlikte, karvakrolün potansiyel terapötik etkisini moleküler düzeyde aydınlatmak için, öldürücü dozu, toksisitesine özel referansla uzun süreli insan etkililik denemelerini içeren kapsamlı çalışmalar gereklidir (Imran vd., 2022).

Bu çalışmada karvakrolün SKOV-3 insan over kanseri hücrelerinin EMT potansiyeline olan etkilerini belirleyip, vimentin ve TGF- β belirteçleri üzerindeki etkilerini incelemek amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Over Anatomisi

Ovaryumlar, pelvis minörün yan duvarında bulunan fossa ovarica'ya yerleşmiş, bir çift organdır. Fossa ovarica, arteria iliaca externa ile arteria iliaca interna arasında yer almaktadır. Ovaryumların her biri yaklaşık 4 cm uzunluğunda olup, eni 2 cm ve 0.8 cm kalınlığındadır. Ağırlığı 3- 5 g arasındadır. Facies lateralis ve medialis olmak üzere iki yüzü vardır. Ekstremitas tubaria ve ekstremitas uterina olmak üzere iki ucu, margo liber ve margo mesovacius olmak üzere iki kenarı bulunmaktadır (Arıncı ve Elhan, 2020).

Vena iliaca externaya komşu olan ekstremitas tubaria'ya fimbria ovarika ile ligamentum ovarii suspensorium tutulmaktadır. Ligamentum ovarii suspensorium, iliak damarın ön tarafında yukarı doğru uzanan bir periton plakasıdır ve içinde arteria ve vena ovarica bulunur. Ekstremitas uterina, aşağı pelvis döşemesine doğru yönelmiş haldedir. Bu uç, ligament ovarii proprium aracılığıyla uterusun cornu uterine tutunur. Bu bağ gubernaculumun artığının bir bölümüdür, ligamentum latum uteri içinde bulunur ve biraz da çizgisiz kas lifleri içerir (Arıncı ve Elhan, 2020).

Facies lateralis, fossa ovarica'yı örten parietal peritona oturmuştur. Facies medialis, dış yüze oranla daha konvektir. Bu yüzü infundibulum tubae uterina ile örtülüdür. Arka kenarı, serbest halde olması nedeniyle, margo liber olarak adlandırılır. Bu kenar ön kenara oranla daha konvekt ve künttür, üreter ile komşudur. Ön kenarına, mesovarium tutunmasından dolayı, margo mesovaricus olarak adlandırılır. Arka kenara kıyasla daha ince olan ön kenarda, hilum ovarii bulunmaktadır ve arteria umbilicalisin artığı ile komşudur. Ligamentum latum uterinin bir bölümü olan mesovarium bu kenara tutunur. Mesovariumun iki yaprağı arasında damar ve sinirler bulunmaktadır ve bunlar, hilum ovarii'den ovariuma girer ve çıkarlar. Tube uterina, önce margo mesovaricus üzerinden bir kavis yaparak geçer ve daha sonra ekstremitas tubarianın üzerinden kıvrılarak margo libere ve buradan da facies medialise doğru gelir (Arıncı ve Elhan, 2020).

Ovaryumu en dıştan tek katlı yassı epitel yapısında, düz ve parlak olan bir periton örter. Ancak erişkinlikte ovaryumun peritonunun yapısı değişir ve germinal epitel denilen tek katlı kübik epitel ile kaplanır ve mat-gri renge döner. Erişkinlerde, ovaryumları örten normal bir periton bulunmaz çünkü erişkinlerde de normal periton yapısı korunsaydı ovum, sağlam olan normal peritonu delerek dışarı çıkamazdı. Bu epitel tabakasının altında, tunica albuginea adı verilen kalın bir tabaka bulunur. Bu tabaka yaş ilerledikçe kalınlaşmaktadır. Tunica albuginea içinde ovariumun esas yapısını oluşturan stroma ovarii bulunur. Stroma ovarii, korteks ovarii ve medulla ovarii olarak adlandırılan farklı iki kısımdan oluşur. Korteks ovarii, dış kısımda bulunur ve hilum ovarii hariç, ovaryumun her tarafını bir kabuk gibi sarar. Bu bölüm içindeki bağ dokuları arasında, çeşitli gelişme evrelerinde bulunan folliküller içerir. Medulla ovarii, iç tarafta yer almaktadır ve korteks ovarii'ye oranla daha gevşek bir yapıdadır. Medulla ovarii'den gelen bağ dokusu uzantılar, hilum ovarii'de damarların etrafındaki bağ dokusuyla devam eder. Hilum ovarii'den içeriye giren damarların çoğu, korteks ovarii'de dağılır ve burada gelişen folliküller etrafında kapiller ağlar oluştururlar (Arıncı ve Elhan, 2020).

2.2. Over Embriyolojisi

Embriyonun genetik ve kromozomal cinsiyeti, her ne kadar ovumu dölleyen sperm çeşidiyle, fertilizasyon sırasında belirleniyor olsa da embriyonik 7. haftaya kadar erkek ve dişi morfolojik karakteristikleri gelişime başlamazlar. Erken dönemde genital sistem iki cinste de birbirine benzemektedir. Bu sebeple genital sistemin gelişiminin başlangıç dönemi “seksüel gelişimin farklılanmamış safhası” şeklinde isimlendirilir. Posterior abdominal duvarın mezotel dölşesi (mezodermal epital), altındaki mezenşim (embriyonik bağ dokusu) ve primordial germ hücreleri olmak üzere gonadlar (testisler ve overler), üç kaynaktan köken almaktadırlar (Moore,2016).

Gonodal gelişimin ilk evreleri 5. haftada ortaya çıkar ve mezonefrozun medialinde, mezotelde bir kalınlaşma görölür. Bu epitelin ve altındaki mezenşimin proliferasyonu ile mezonefrozun medialinde bir kabarıklık oluşur. Parmak şeklindeki primer seks kordonları olarak adlandırılan epitelyal kordonlar altındaki mezenşim içerisine doğru kısa zamanda büyürler. şimdi farklılanmamış gonad, dışta yer alan bir korteks ve ite bulunan bir medulla'dan oluşmaktadır. Embriyo XX cinsiyet kromozom kompleksine sahip olursa, farklılanmamış gonadın korteksi overe differensiye olarak

medullası geriler. Embriyo XY seks kromozom kompleksine sahip olursa, medulla testise farklanır ve korteks birtakım kalıntılar dışında gerileyerek dejenere olur (Moore,2016).

Nispeten geniş ve sferikal primitif seks hücreleri 4. haftanın başında yolk kesesi duvarında, allantoisin başlangıcına yakın konumda, endodermal hücrelerin arasında belirir. Embriyonun katlanmaları esnasında, yolk kesesinin dorsal parçası embriyo içerisine katılır. Bu esnada, primordial germ hücreleri, arka barsağın dorsal mezenteri boyunca, gonadal kabartılara doğru göç ederler. 6. hafta esnasında primordial germ hücreleri altındaki mezenşim içerisine girerek primer cinsiyet kordonlarına katılırlar (Moore,2016).

Kromozomal ve genetik cinsiyet fertilizasyonla sağlanır ve X kromozomuna sahip ovum'un X veya Y kromozomuna sahip bir sperm ile döllenmesine bağlıdır. Gelişmekteki gonadlar XX ve XY kromozom kompleksini edinirler. 7. haftadan önce her iki cinste de gonadların görünümü benzemektedir. Bu nedenle "farklılanmamış gonadlar" şeklinde isimlendirilirler. Erkek fenotipinin gelişimi için Y kromozomu gerekmektedir, ancak kromozomun sadece kısa kolu cinsiyet belirleme için önemlidir. Testis belirleyici faktör (TDF) için ihtiyaç duyulan SRY geninin, Y kromozomunun cinsiyet belirleyici bölgesinde konumlandığı tespit edilmiştir. Dişi fenotipinin gelişmesi için ise iki X kromozomuna ihtiyaç vardır. X kromozomunda bulunan bir seri gen ve bölgesinin cinsiyetin belirlenmesinde önemli rolleri vardır (Moore,2016).

Y kromozomunun, farklılanmamış gonadın medullasında testis belirleyici etkisi bulunmaktadır. Y kromozomu ile düzenlenmekte olan testis belirleyici faktör (TDF), testiküler farklılaşmada görev almaktadır. Primer cinsiyet kordonları, bu organizatör faktörün etkisiyle, seminifer tübüllere farklılaşırlar. Y kromozomunun yokluğu over gelişimiyle sonuçlanmaktadır. Sonuçta, cinsiyet kromozom kompleksinin türü, fertilizasyon ile sağlanır. Bu da farklılanmamış gonadın hangi yönde gelişeceğini belirler. Daha sonra dış genitallerde ve genital duktuslarda oluşacak seksüel farklılaşmayı, mevcut olan gonadın türü belirlemektedir. Fetal testislerde üretilen testosteron, erkekliğin belirleyicisidir. Dişide ise primer seksüel farklılaşma hormonlarla ilişkisi yoktur. Overlerin yokluğunda bile dişiliğin oluşabilmesi nedeniyle hormonal etkinin rolü olmadığı görülür (Moore,2016).

Dişi embriyolarında gonad gelişimi yavaş olmaktadır. X kromozomlarında ovarian gelişim için genler bulunur. Ovarian organogenezde otozomal bir genin de görev aldığı belirlenmiştir. Overler histolojik olarak 10. haftaya kadar seçilemezler. Primer cinsiyet kordonları belirgin değildirler. Medulla içerisine doğru girerler, rudimenter bir yapı olan rete ovarii'yi oluştururlar. Oluşan bu yapı ve primer cinsiyet kordonları (kortikal kordonlar), erken fetal periyotta overin yüzey epitelinden köken alarak altta bulunan mezenşimin içerisine girerler. Bu epitel mezotelden köken almaktadır. Primordial germ hücreleri, kortikal kordonların büyüklükleri arttığında onların içlerine girer. Takriben 16. haftada, bahsedilen kordonlar hücre topluluklarına parçalanırlar ve oluşan her bir primordial follikül, primordial germ hücrelerinden köken alan bir oogoniuma sahip olur. Oogoniumlar, primer cinsiyet kordonlarından gelişen, tek tabakalı yassı foliküller hücreleriyle çevrelenmişlerdir. Fetal yaşam esnasında, oogoniumlarda oluşmuş olan aktif miyoz neticesinde, overlerde binlerce primordial folikül oluşur (Moore,2016).

Postnatal dönemde oogonium oluşumu gerçekleşmez. Doğumdan önce çoğunluğu dejenere olsa da doğumdan sonra yaklaşık iki milyon primer oosit kalmaktadır. Doğumdan sonra overin yüzel epiteli düzleşir ve hücreler tek tabakalı duruma geçerler. Over hilumunda, periton mezoteli ile devamlılık kazanırlar. Overin yüzey epiteli, korteksdeki foliküllerden, tunika albuginea olarak isimlendirilen, ince bir fibröz kapsülle ayrılır. Overler, gerileyen mezonefrozdaki ayrılarak, mezenterie sahip mesovarium ile bağlanırlar (Moore,2016).

2.2.1 Overlerin İnisi

Overler, posterior abdominal duvardan pelvise inerler. Organlar pelvis kenarının hemen inferiorunda yerleşirler. Gubernakulum, bu organa tuba uterinaların uterusu bağlanma yerlerine yakın kısmında yapışır. Gubernakulumun, kranial parçası ovarian ligament, kaudal parçası ise uterusun yuvarlak ligamentini (round ligamenti) oluşturur. Yuvarlak ligament ingunial kanallardan geçerek, labia majora içerisinde sonlanır. Dişilerde nispeten daha küçük bir processus vaginalis oluşur ve çoğunlukla da oblitere olarak doğumdan uzun zaman önce kaybolur. Eğer kalıcı olursa “Nuck kanalı” ismini alır (Moore,2016).

2.3 Over Histolojisi

Ovaryumlar, dişi üreme organı ovum ile birlikte progesteron ve östrojen gibi dişi cinsiyet hormonlarının üretiminden sorumludur (Kuruş, 2020). Pembemsi beyaz renkte, 3 cm uzunluğunda, 1,5 cm genişliğinde ve 1 cm kalınlığındadır. Ovaryumlar mezovaryum denilen peritoneal katlantı tarafından, broad ligamentin posterior yüzeyine bağlanır. Ovaryumun süperiyor kutbu, kan damarlarını ve sinirlerini bulunduran suspensor ligament tarafından pelvis duvarına bağlanır. İnferiyor kutbu ise gubernakulumun bir kalıntısı olan ovaryan ligament ile uterusu bağlanır. Gubernakulum gelişmekte olan gonadı pelvisin tabanına bağlamakla görevli embriyonik fibröz bir kordondur (Ross ve Pawlina, 2014). Ovaryumların dış yüzü puberteden önce düz iken puberteden sonra tekrarlanan ovulasyonlar nedeniyle pürüzlü bir görünüme sahip olur (Kuruş, 2020; Ross ve Pawlina, 2014).

Germinal epitel olarak bilinen hücresel tabaka ovaryumun yüzeyini tek katlı kübik bazı yerlerde ise tek katlı yassı epitel ile döşer. Germinal epitel terimi önceden bu bölgenin embriyonik gelişim sırasında germ hücresi oluşum bölgesi olduğunun düşünülmesinden dolayı söylenen bir terimdir. Günümüzde ise, primordiyal germ hücrelerinin (hem dişide hem de erkekte) ekstragonadal kökenli olduğu bilinmektedir. Primordial germ hücreleri embriyonik yolk kesesinden ilerleyerek embriyonik gonadın korteksinin içine göç edip burada farklılaşıp, ovaryumun farklılaşmasını da indükledikleri bilinmektedir. Germinal epitel ile korteksin arasında tunika albuginea yer almaktadır (Ross ve Pawlina, 2014). Ovaryumların dış kısmı periton ile kaplıdır ancak bu periton puberteden itibaren tek katmanlı yassı epitelden kübik epitele kadar değişimlere uğrar. Bu tabakanın hemen altında tunica albuginea adı verilen ve kolajen liflerinden zengin bir tabaka yer alır. Ovaryumun esas dokusu tunika albuginea'nın altında bulunur (Kuruş, 2020). Bu doku dışta korteks ve içte medulla olmak üzere iki kısma ayrılır. Medulla, medullar bölge olarak adlandırılmaktadır ve ovaryumun merkezinde bulunur. Gevşek bağ dokusu, nispeten büyük kıvrımlı kan damarları, lenfatik damarlar ve sinirlere sahiptir. Korteks, kortikal bölge olarak da adlandırılır ve ovaryumun periferinde, çekirdeği çevreleyen bölgede bulunur. Korteks farklı derecelerde gelişim gösteren ovaryum folikülleri ve bunların arasında bulunan zengin bir selüler içerir. Foliküllerin etrafında bulunan stromada dağınık bir şekilde düz kas lifleri yer alır. Medulla ile korteks

arasındaki sınır belirsizdir, kesitlerde belirgin bir çizgiyle ayrılamazlar (Kuruş, 2020; Ross ve Pawlina, 2014).

Ovaryum foliküleri oositleri için uygun bir mikroçevre sağlamaktadır. Çeşitli boyutlarda olan ve her biri tek bir oosit içeren ovaryum foliküleri korteksin stromasına dağılmış halde bulunurlar. Oositin gelişim evresini gösteren ise folikülün boyutudur (Ross ve Pawlina, 2014).

Oogenezin erken evreleri fetal yaşamda gerçekleşir ve mitotik bölünmeler oogonyumların sayısını artırır. Doğumda mevcut olan oositlerin gelişimin ilk mayotik bölünmesi aşamasında duraklamıştır. Foliküller puberteyle birlikte küçük gruplar şeklinde siklik büyümeye ve maturasyona uğrarlar. Menarştan genellikle bir yıl ya da daha fazla süre sonra ilk ovulasyon gerçekleşir. Normalde her menstrual siklusta bir oosit olgunluğa ulaşır ve ovaryumdan bırakılır (Ross ve Pawlina, 2014). Doğum sırasında yaklaşık 1-2 milyon primordiyal folikül ovaryumda bulunur, fakat bunların çoğu olgunlaşmasını tamamlayamaz ve bazıları atreziye uğrar (Gartner, 2017; Ross ve Pawlina, 2014). Erken fetal yaşamın beşinci ayında başlayan bu sürece oositi çevreleyen hücrelerin apoptozu aracılık eder (Ross ve Pawlina, 2014). Menarşta, her iki ovaryumda yaklaşık 400.000 folikül bulunur ve doğurganlık sürecinde yaklaşık 400 tanesi graaf folikül safhasına ulaşabilirken kalan foliküller atreziye uğrayarak dejenere olur. Atreziyle birlikte primer oosit sayısı logaritmik olarak azalır ve fetusta bulunan ve 5 milyon olan oosit sayısının doğumla birlikte %20'sinden azı kalır (Kuruş, 2020).

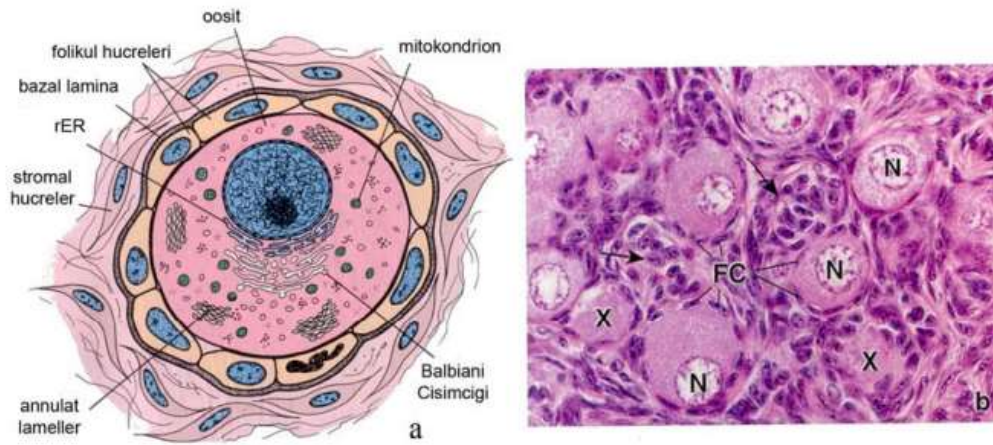
2.3.1. Folikül Gelişimi

Histolojik olarak folikül gelişim evresine göre 3 temel ovaryum folikülü tanımlanmıştır. Bunlar;

- Primordiyal foliküller.
- Primer ve Sekonder (büyümekte olan foliküller)
- Olgun folikül veya Graaf folikülleri

Gonadotropin stimülasyonundan bağımsız bir şekilde gelişen, folikül gelişiminin en erken evresi olan primordiyal foliküller, fetal gelişimin 3.-4. aylarında ortaya çıkar (Eşrefoğlu, 2009; Kuruş, 2020; Ross ve Pawlina, 2014).

Primordiyal foliküller gelişmiş bir ovaryumda korteks stromasında, tunika albugineanın altında bulunurlar. Ovaryum folikülü, bir veya daha fazla folikül hücresi ya da granüloza hücresi katmanıyla çevrelenmiş bir oosite sahiptirler. Oositi yassı folikül hücreleri tek bir tabaka şeklinde çevreler. Folikül hücrelerinin dış yüzeyi bir bazal laminayla çevrilidir (Junqueira ve Carneiro, 2006; Ross, 2014). Oosit ve onu çevrelemekte olan folikül hücreleri birbirlerine sıkıca yaklaşmışlardır (Ross ve Pawlina, 2014). Folikülün içindeki oosit yaklaşık 30 mikron çapında, bir ya da daha fazla nükleoluslu ve ince dağılmış kromatinli hücrelerdir (Eşrefoğlu, 2009; Gartner, 2017; Ross ve Pawlina, 2014). Ooplazma adı verilen oositin sitoplazması golgi membranlarını ve veziküllerinin, lizozomların, endoplazmik retikulumun, birçok mitokondriyonun birlikte oluşturduğu bir küme olan balbiani cisimciği içermektedir. Küre şeklinde, küçük boyutlarda mitokondriyonlarla birlikte çok sayıda küçük vezikül sitoplazmada dağılmış halde bulunan insan oositleri, bir nüklear zarf kesitleri dizisi olan anüler lameller içerirler. Dizideki her tabaka por yapılarına sahiptir ve bunlar da morfolojik olarak nüklear porların yapısıyla aynıdır (Ross ve Pawlina, 2014).



Kaynak: Ross ve Pawlina, 2014. a) Primordiyal folikülün şematik gösterimi. Primordiyal folikül içerisindeki oosit I. mayotik bölünmenin profaz evresinde duraklamıştır. Oosit tek tabakalı ve yassı folikül hücreleriyle sarılmıştır. Hücrelerin dış yüzü bazal laminayla bağ dokudan ayrılmaktadır. b) Primordiyal folikülün fotomikrografı. Oositin yassılaştırmış folikül hücreleriyle (FC) çevrelendiği primordiyal folikül gösterilmektedir. Genellikle oosit nükleusu (N) eksantrik konumlanmıştır. Nükleusun görülmediği oositler (X) belirtilmiştir. Kesit nedeniyle yalnızca folikül hücrelerinin gözüktüğü durumlar da olabilir (oklar). X640.

Şekil 2.1. Primordiyal folikül

Büyümekte olan folikülün gelişimindeki ilk evre, primer folikül evresidir. Folikül büyümesi, hipofizden salgılanmakta olan folikül uyarıcı hormon (FSH) ile uyarılır. Oosit büyümesinin en hızlı olduğu evre, oositin çapı maksimuma (125-150 pm) ulaştığı

foliküler büyümenin birinci evresidir. Primordiyal folikül, büyümekte olan foliküle dönüştüğü zaman oositte, folikül hücrelerinde ve komşu stromada değişimler olur. Bu evrede folikül hücrelerinin kübik hal almasıyla foliküle artık primer folikül denir (Junqueira ve Carneiro, 2006; Kuruş, 2020; Ross ve Pawlina, 2014). Ekstraselüler bir örtü olan zona pellusida, oosit büyürken özel olarak salgılanan proteinlerin bir araya gelmesiyle oluşur. Zona pellusida, oosit ile folikül hücrelerinin arasında yer alır. İnsanlarda bulunan zona pellusida, ZP-1 (80- 120 kDa), ZP-2 (73 kDa), ZP-3 (59-65 kDa) olarak isimlendirilen, sülfatlı üç asidik zona pellusida (ZP) glikoproteinleri sınıfından meydana gelmektedir. Bu glikoproteinler arasında en önemlisi ise spermatozoa-bağlanma reseptörü olan, akrozom reaksiyonu indükleyicisi olarak görev yapan ZP-3'tür (Ross ve Pawlina, 2014). Zona pellusida oosit takriben 50-80 µm çapına eriştiğinde ve etrafı tek tabakalı kübik veya prizmatik folikül hücreleri tarafından çevrelendiğinde görülmeye başlar (Eşrefoğlu, 2009; Ross ve Pawlina, 2014). Zona pellusidanın sentezinde oositlerin ve folikül hücrelerinin görev aldığı düşünülmektedir (Junqueira ve Carneiro, 2006). Folikül hücreleri hızlı bir şekilde mitotik çoğalmayı sürdürür ve oositi çevreleyen çok katlı bir epitel oluştururlar. Bu epitel stratum granulozum (membrana granuloza), folikül hücreleri ise artık granuloza hücreleri olarak adlandırılır (Ross ve Pawlina, 2014). Folikül hücreleri proliferasyon olarak tek katlı kübik hücre katmanı oluştururlar. Bu evredeki foliküle, tek katmanlı primer folikül denilmektedir (Junqueira ve Carneiro, 2006).

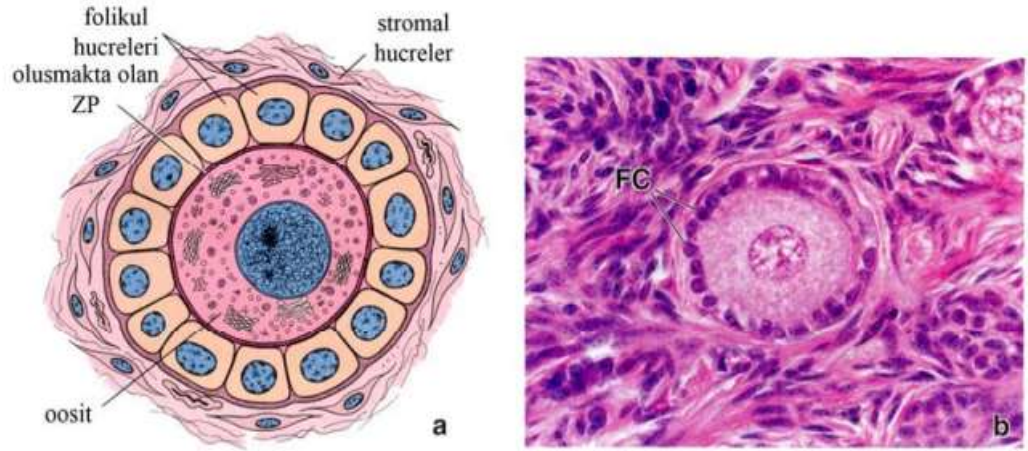
Tek katlı, kübik hücre katmanı oluşturdıkları evredeki folikül, tek katmanlı (ünilaminer) primer folikül olarak isimlendirilir. Folikül hücreleri çoğalmayı sürdürerek çok katlı foliküler epiteli veya granuloza tabakasını oluştururlar. Bu evredeki folikül çok katmanlı (mültilaminer) primer folikül veya preantral folikül şeklinde isimlendirilir (Junqueira ve Carneiro, 2006). Bazal lamina, prizmatik duruma gelmiş olan folikül hücrelerinin en dışındaki tabakasıyla bağ dokusu yapısındaki stroma arasındaki konumunda bulunmaya devam etmektedir. Folikülün büyümesi esnasında granuloza hücrelerinin arasında yaygın gap junction bağlantıları oluşur. Testisteki sertoli hücrelerinde olduğu gibi granuloza hücrelerinin bazal tabakası karmaşık sıkı bağlantılar (zonula okludensler) bulunmamaktadır ve bu durum, kan-folikül bariyerinin olmadığını gösterir. Folikülün ve ovumun gelişiminin sağlanabilmesi için besinlerin ve küçük bilgi makromoleküllerinin kandan folikül sıvısının içine geçmesi gerekir (Ross ve Pawlina, 2014). Granuloza hücrelerinin proliferasyona uğramasıyla folikülün çevresinde bulunan stromal hücreler, bazal laminanın dışında bir bağ dokusu hücreleri kılıfı oluştururlar ve

oluşan kılıf teka folikülü olarak adlandırılır. Teka folikülü daha sonra teka interna ve teka eksterna olarak farklılaşır (Junqueira ve Carneiro, 2006; Ross ve Pawlina, 2014). Teka interna, kan damarlarından zengindir ve kübik salgı hücrelerine, fibroblastlar ve kollajen demetlere sahip olan bir iç tabakadır. Hücreleri çok sayıda luteinizan hormon (LH) reseptörlerine sahiptir ve LH uyarımına cevap olarak, östrojen prekürsörleri olan androjenleri sentezleyip, salgırlar (Ross ve Pawlina, 2014). Sentezlenen bu androjenler granüloza hücrelerine gönderilir ve buradaki hücreler, folikül uyarıcı hormonun etkisiyle östrojene dönüştüren aromataz enzimini salgırlar. Östrojen, folikülü sarmalayan stromaya döner, kan damarlarıyla kana geçerek, tüm vücuda yayılır (Junqueira ve Carneiro, 2006). Teka eksterna, kollajen fiberi demetleri ve temel olarak düz kas hücreleri içeren dış bağ dokusu hücreleri tabakasıdır (Ross ve Pawlina, 2014). Tekanın tabakaları ve teka eksternayla onu çevrelemekte olan stroma arasındaki sınırlar ayırt edilebilir değildir. Buna karşılık hücrelerinin morfolojik açıdan farklı olmasından ve aralarında kalın bir bazal membran bulunması sebebiyle teka interna ve granüloza tabakası arasındaki sınır belirgindir (Junqueira ve Carneiro, 2006; Ross ve Pawlina, 2014).

Oositin olgunlaşması primer folikülde gerçekleşmektedir ve olgunlaştıkça organellerin dağılımı da değişmektedir. Tek bir balbian cisimciğinden köken almış olan çok sayıdaki golgi elementi sitoplazmaya yayılır. Serbest ribozomların, mitokondriyonların, küçük veziküllerin, multiveziküler cisimciklerin sayısı ile granüllü endoplazmik retikulumun (gER) miktarında artış olur. Seyrek lipid damlacıkları ve lipokrom pigment kütleleri de gözlemlenebilir. Memeliler de dahil olmak üzere birçok türün oositleri, oolemmenin (oositin plazma membranı) altında bulunan ve kortikal granül olarak bilinen özelleşmiş salgı vezikülleri bulundurlar. Bu granüller, ovum sperm tarafından aktive edildiğinde ekzositoz ile serbest hale getirilen proteazları içermektedirler (Ross, 2014 ve Pawlina).

Çok sayıdaki düzensiz mikrovillus oositin perivitellin aralığına doğru uzanır. Perivitellin aralık zona pellusida biriktirilirken oositle onu sarmalayan granüloza hücreleri arasında bulunur. Perivitellin boşluk, zona pellusidada biriktirilirken oosit ile onu çevrelemekte olan granüloza hücreleri arasında yer alır. Granüloza hücrelerinde oluşan ince uzantılar oosite doğru uzanır, bazıları oositin mikrovilluslarıyla iç içe geçerken bazıları da oositin plazma membranının içerisine doğru invajine olur. Bu

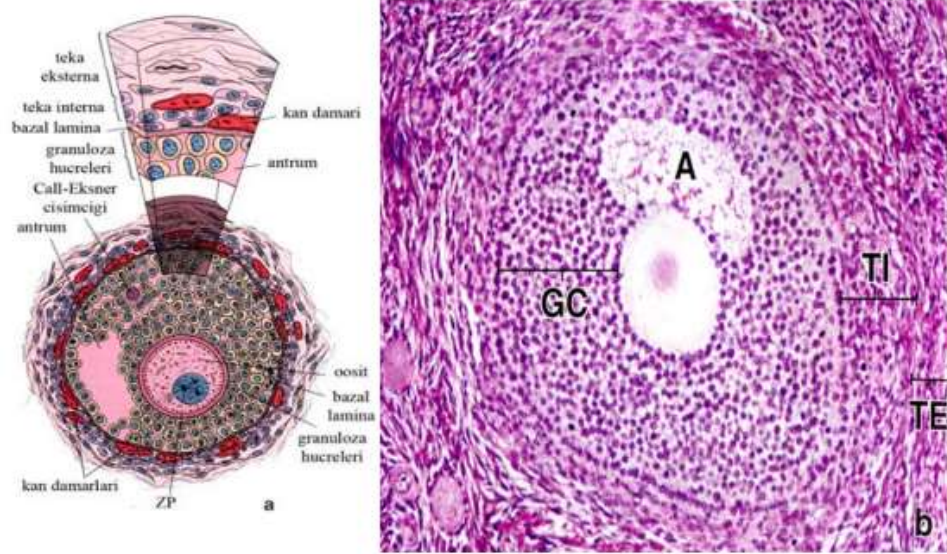
uzantılar plazma membranıyla temas edebilirken hücrelerin arasında sitoplazmik devamlılığı sağlayamazlar (Ross ve Pawlina,2014).



Kaynak: Ross ve Pawlina, 2014. a) Primer folikülün şematik çizimi. Bu evrede oosit ve foliküler hücreler arasında zona pelusida oluşumuna önem verilmelidir. Büyüyen oositi tek tabaka, kübik folikül hücreleri çevrelemektedir. b) Primer folikülün fotomikrografi. Oositi çevreleyen belirgin folikül hücre tabakasına dikkat edilmelidir (FH). X640.

Şekil 2.2. Primer folikül

Stratum granülozum tabakası kalınlaşıp 6-12 hücre tabakası kalınlığına eriştiğinde granüloza hücreleri arasında sıvı dolu boşluklar belirir. Granüloza hücreleri arasında bulunan likör folikülü denen, hyaluronan bakımından zengin bir sıvı olan likör folikülü biriktikçe boşluklar birleşir ve antrum adı verilen tek bir boşluk oluşur. Bu evredeki foliküle ise “sekonder” veya “antral” folikül ismini verilir. Eksantrik olarak yerleşmiş olan oosit büyüyemez, yaklaşık olarak 125 µm çapında kalır. Büyüme inhibisyonu 2 kDa büyüklüğündeki, granüloza hücreleriyle antral sıvıya salgılanan bir peptid olan “Oosit Olgunlaşma İnhibitörü” (OMI) tarafından sağlanır. Sekonder folikülün büyüklüğü ve OMI konsantrasyonu arasında doğrudan bir ilişki bulunmaktadır. Yoğunluk olgun foliküllerde en düşük, küçük foliküllerde ise en yüksektir (Ross ve Pawlina, 2014; Syrop, Willhoite ve Van Voorhis, 1995).



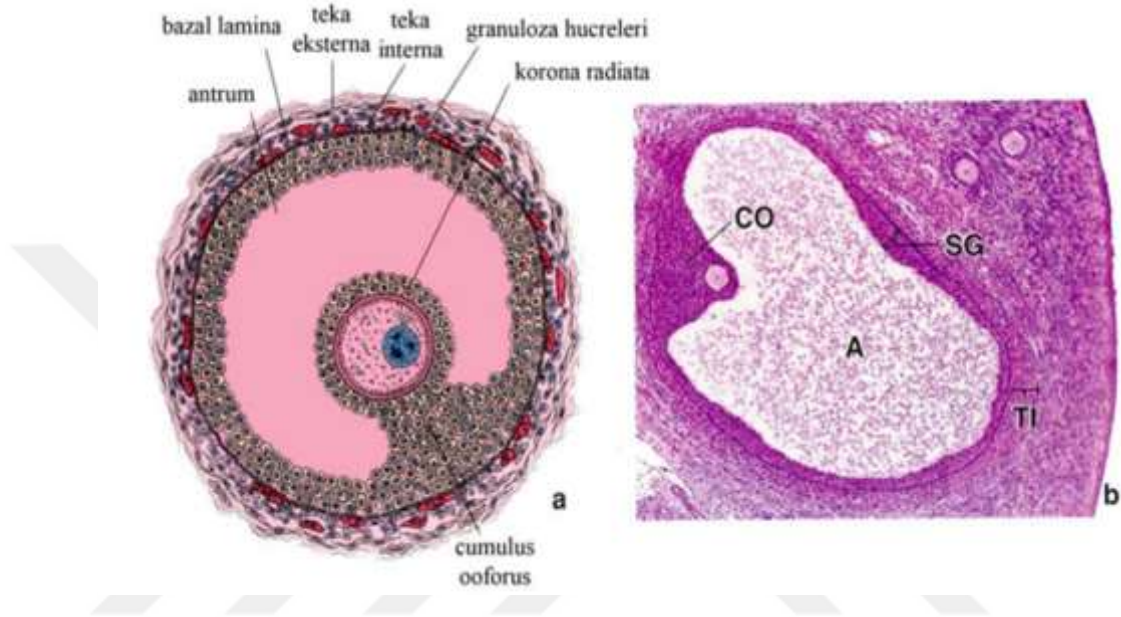
Kaynak: Ross ve Pawlina, 2014. a) Granüloza hücreleri arasında küçük sıvı dolu boşluklarının birleşmesi sonucu ortaya çıkan antral folikülün şematik çizimi. Aktif şekilde büyüyen folikül içerisinde hücre bölünmesi gerçekleştiren birçok folikül hücresi bulunur. Bu evrede Call-Eksner cisimcigi oluşur. Teka interna hücreleri iyi damarlanmış, steroid hormon üreten hücelere dönüşürler. Teka interna, stromal hücrelerden oluşmuş Teka eksterna ile çevrelenmiş durumdadır. b) Sekonder folikülün fotomikrografı. stratum granulosum (GC) içerisinde yer alan ve Folikül sıvısıyla dolu olan antrum (A). X85.

Şekil 2.3. Sekonder folikül

Sekonder folikülün boyutu büyüdükçe antrum da genişler. Stratum granülozum, oositle ilişkili olduğu yere oranla bu bölgenin dışındaki yerlerde nispeten eşit kalınlıktadır. Granüloza hücreleri oosit ile ilişkili olduğu yerde ve antruma doğru çıkıntı oluşturan bir tümsek yaparlar ve bu kumulus ooforus olarak adlandırılır. Oositi kumulus ooforus hücreleri korona radiata olarak adlandırılır. Bu hücreler zona pellusidaya mikrovilluslar gönderirler ve bu mikrovilluslar gap junctionlar aracılığıyla oositin mikrovillusları ile bağlantı sağlarlar. Foliküllerin olgunlaşması sırasında serbest antral yüzeydeki LH reseptör sayısı ile yakından ilişkili olarak granüloza hücrelerinin yüzey uzantılarının sayısında artış olur (Eşrefoğlu, 2009; Ross ve Pawlina, 2014). Granüloza hücrelerinin arasında PAS pozitif, koyu boyanan ve Call-Exner cisimcikleri denilen ekstraselüler materyal görülebilir ve hyaluronan ve proteoglikanlar içermekte olan bu cisimcikler granüloza hücreleri tarafından salgılanır (Ross ve Pawlina, 2014).

Graaf folikülü şeklinde de adlandırılan olgun folikülün çapı yaklaşık 10 mm ya da daha fazla olabilmektedir ve içinde olgun sekonder oositi içermektedir. Boyutundan büyük olması nedeniyle ovaryum korteksinin kalınlığı boyunca uzanır, ovaryumun yüzeyinde çıkıntı yapar. Folikül maksimum büyüklüğe yaklaştıkça granüloza hücrelerinin mitotik aktivitesi azalmaya başlar. Stratum granülozum tabakası antrumun

boyutundaki artışla birlikte incilir (Junqueira ve Carneiro, 2006; Ross ve Pawlina, 2014). Granüloza hücrelerinin arasındaki boşluk genişledikçe oosit ve kumulus hücreleri ile geri kalan granüloza hücreleri arasındaki yakınlık gevşer, ovulasyona hazırlanılır. Oositin çevresinde yer alan kumulus hücreleri korona radiatanın tek hücre tabakasını meydana getirir. Bu hücreler ve onlara gevşekçe bağlı haldeki kumulus hücreleri ovulasyonda oosit ile kalırlar (Ross ve Pawlina, 2014).



Kaynak: Ross ve Pawlina, 2014. a) Kumulus ooforusa gömülmüş haldeki oositi içeren, geniş antruma sahip, olgun Graaf folikülünün şematik çizimi. Kumulus ooforus hücreleri oositin çevresinde bulunmaktadır. Ovulasyon sonrası oositle birlikte kalarak korona radiata şeklinde isimlendirilirler. b) Graaf folikülünün fotomikrografı. Sıvı dolu boşluğun büyümesi (A) ve oositin etrafını sarmış olan kumulus ooforus (CO) hücre varlığı önemlidir. Lümeni saran diğer hücreler granüloza tabakasını oluşturur. X45.

Şekil 2.4. Tersiyer (Graaf) folikül

Teka tabakaları, folikül olgunlaşmasının bu aşamasında daha görünür duruma gelir. Teka interna hücrelerinin sitoplazmalarında lipid damlacıkları belirir. Bu hücreler, steroid üreten hücrelerle aynı ultrastrüktürel özelliklere sahiptirler. İnsanlarda LH, teka internayı androjenleri salgılamak üzere stimüle eder. Androjenlerin bazıları granüloza hücreleri içerisindeki granülsüz endoplazmik retikuluma taşınır. Granüloza hücreleri FSH'a cevap oluşturarak, androjenlerin östrojenlere dönüşümünü katalizler. Östrojenler ise proliferatif olup folikülün büyüklüğünü arttırmak amacıyla granüloza hücrelerini uyarırlar. Adenohipofizden FSH ya da LH salıverilmesindeki artış ovulasyondan yaklaşık 24 saat önce indüklenir. Granüloza hücrelerindeki LH reseptörleri, LH'nin ani artışına cevap olarak azalır, bundan sonra granüloza hücreleri LH'a cevap olarak östrojen

üretmezler. Bu ani artış ile tetiklenen primer oositin birinci mayotik bölünmesi kaldığı yerden devam eder. Bu olay, LH'in ani artışından 2- 24 saat sonra meydana gelir ve sonucunda sekonder oosit ile birinci kutup cisimciğinin oluşur. Granüloza ve teka hücreleri luteinizasyona uğrayarak, progesteron üretirler (Ross ve Pawlina, 2014).

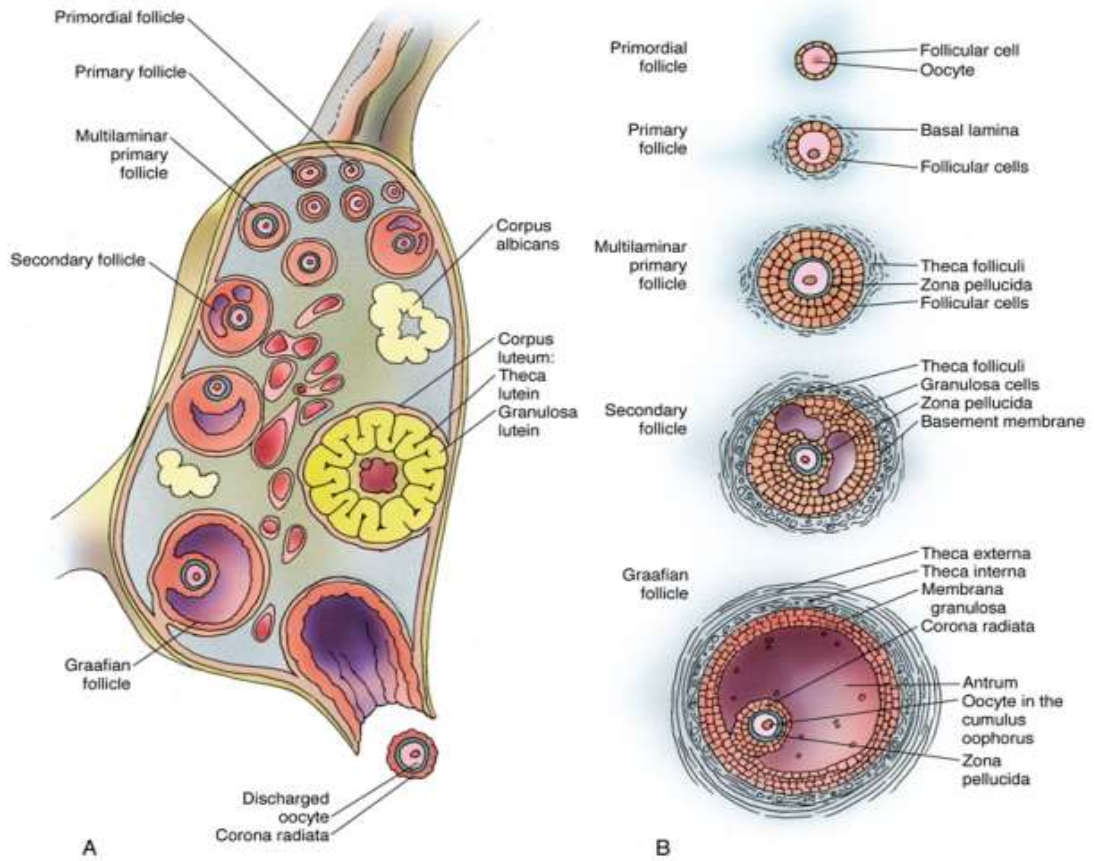
2.3.2. Ovulasyon

Ovulasyon, sekonder oositin graaf folikülünden atıldığı, sekonder bir oositin salınmasına ile sonuçlanan hormon aracılı bir süreçtir. Ovulasyona uğrayacak olan folikül, menstruel siklusun ilk günlerinde birkaç primer oositten oluşmuş olan bir grup içerisinde seçilir. Olgun folikülün gelişmesiyle LH'un pik yapması sonucu primer oosit I. mayozunu tamamlayarak sekonder oosite dönüşür ve ovaryum yüzeyinde stigma noktasından ovulasyonu gerçekleştirir (Junqueira ve Carneiro, 2006; Kuruş, 2020; Ross ve Pawlina, 2014). Oosit, ovulasyon esnasında germinal epitel de dahil olarak tüm foliküler duvarı geçer. Menstruel siklusun ortasında sekonder oositin atılmasında foliküler sıvının basıncı ve hacminde artış, folikül duvarının aktive olan plazminojen tarafından enzimatik proteolizisi, oosit-kumulus kompleksi ile stratum granülozum arasında hormonal bir yönlendirmeye glikozaminoglikanların biriktirilmesi, teka eksterna tabakasında bulunan düz kas liflerinin prostaglandinlerle uyarılarak kasılması gibi hormonal değişiklikler ve enzimatik etkiler sorumludur (Junqueira ve Carneiro, 2006; Ross ve Pawlina, 2014).

Ovulasyon öncesi folikül çıkıntısının üzerinde bulunan ovaryan yüzeyin küçük bir yerinde kan akımı durur. Germinal epitelin makula pellusida ya da foliküler stigma olarak da bilinen bu bölümü yükselir ve rüptüre olur. Korona radiata ve kumulus ooforus hücreleri ile çevrelenmiş olan oosit, rüptüre olan folikülden atılır. Ovulasyon esnasında tuba uterinanın fimbriyaları ovaryumun yüzeyine yaklaşıp oositi içermekte olan kumulus kütlesi fimbriyalar tarafından tuba uterinanın abdominal ostiumuna doğru hareket ettirilir. Kumulus kütlesi fimbriyaya sıkıca tutunarak tuba uterinayı döşeyen silyumlu hücrelerle aktif bir şekilde taşınır. Sekonder oosit ovulasyon sonrasında yaklaşık 24 saat canlı kalır. Bu aşamada fertilizasyonun gerçekleşmediği durumda sekonder oosit tuba uterinadan geçerken dejenere olur (Junqueira ve Carneiro, 2006; Ross ve Pawlina, 2014).

Olgun folikülde redüksiyon bölünmesi tamamlandığında, primer oositin her bir kardeş hücresi eşit miktarda kromatin içerirken kardeş hücrelerden biri daha fazla

sitoplazmaya sahiptir ve sekonder oosit olur. Diğer kardeş hücre ise az miktarda sitoplazma alır ve birinci polar cisim olur (Junqueira ve Carneiro, 2006; Ross ve Pawlina, 2014). Sekonder oosit, birinci mayotik bölünme tamamlandıktan sonra ikinci mayotik bölünmeye başlar ve ovulasyondan hemen önce ikinci mayotik bölünmenin metafazında arreste uğrar. Metafazda arreste uğrayan bu bölünme yalnızca, sekonder oosit bir spermatozoon aracılığıyla penetre edildiğinde tamamlanır. Sekonder oosit, fertilizasyon gerçekleşince ikinci mayotik bölünmeyi tamamlayınca 23 kromozom seti içeren maternal pronükleuslu olgun ovum meydana gelir. Bu bölünme sonucu oluşan diğer hücre ise ikinci polar cisim (ikinci kutup cismi) olarak adlandırılır. İnsanda ovulasyondan sonra birinci polar cisim 20 saatten fazla persiste kalır ve bölünmez. Böylece, fertilize olmuş ovum iki polar cisim olan diploid birinci polar cisim ve haploid ikinci polar cisimin görülmesi ile belirlenebilir (Ross ve Pawlina, 2014).



Kaynak: Gartner, 2007

Şekil 2.5. Folikül gelişiminin evreleri, ovulasyon ve ovulasyon sonrası değişikliklerin şematik gösterimi

2.3.3. Korpus Luteum

Ovulasyondan sonrası kalan, folikülün granüloza ve teka interna hücrelerinden meydana gelen folikül duvarı, derin katlantılar yaparak korpus luteuma (sarı cisim) ya da luteal bez şeklinde isimlendirilen geçici bir içsalgı bezi oluşturmak için tekrar düzenlenir (Junqueira ve Carneiro, 2006; Ross ve Pawlina, 2014). İlk olarak, teka internadaki kapillerlerden folikülün lümenine doğru gerçekleşen kanama, merkezi bir pıhtı oluşturur ve bu korpus hemorojikum olarak adlandırılır. Granüloza ve teka interna tabakasındaki hücreler luteinizasyon denilen bir süreçle birlikte granüloza lutein ve teka lutein hücrelerine farklılaşır. Morfolojik değişiklikler geçiren bu luteal hücrelerin boyutlarında artış meydana gelir ve yağ damlacıkları ile dolarlar (Kuruş, 2020; Ross ve Pawlina, 2014).

İki tip luteal hücre tespit edilmiştir:

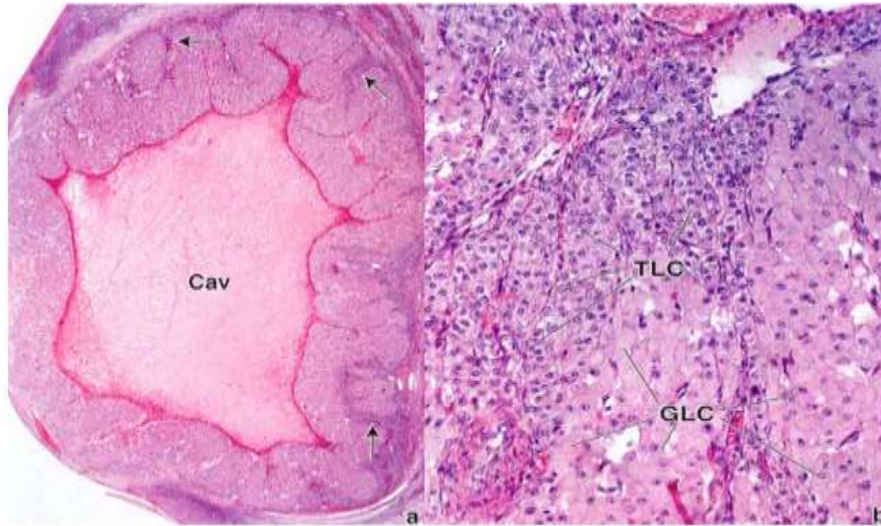
Granüloza lutein hücreleri, hacimce büyümüş olan granüloza hücreleridir. Yaklaşık olarak 30µm çapında ve merkezi yerleşimli hücrelerdir. Granüloza lutein hücreleri büyüktür ve büyük veziküler çekirdeklere sahiptirler. Bu hücreler yağ damlacıklarından dolayı açık renkte boyanır (Eroschenko,2016; Junqueira ve Carneiro, 2006; Ross ve Pawlina, 2014).

Teka lutein hücreleri, yaklaşık 15µm çapında, granüloza hücrelerine göre daha küçük hücrelerdir. Teka interna tabakasının hücrelerinden kaynaklanan, periferik yerleşimli hücrelerdir ve daha koyu boyanırlar (Eroschenko,2016; Junqueira ve Carneiro, 2006; Ross ve Pawlina, 2014).

Korpus luteumun içinde zengin damar ağı oluşturmak üzere teka internadan çıkan kan damarları ve lenf damarları hızlı bir şekilde granülaza tabakasına doğru büyümeye başlar. Ovaryumun korteksinde bulunan, yüksek düzeyde vaskülarize bu yapı progesteron ve östrojenleri salgılama fonksiyonuna sahiptir. Bu hormonlar uterusu döşeyen endometriyumun büyümesinde görev alır. Bununla birlikte salgı aktivitesini uyararak fertilizasyon gerçekleştiğinde, gelişmekte olan zigotun implantasyonu için endometriyumu hazırlarlar. Fertilizasyon gerçekleşirse, korpus luteum büyümeyi sürdürerek progesteron ve östrojen üretmeye devam eder. Korpus luteumun hayatta

kalmasını sağlayan, implante embriyonun trofoblast hücrelerinde üretilmekte olan insan koryonik gonadotropinin (hCG) uyarıcı etkisidir (Junqueira ve Carneiro, 2006; Kuruş, 2020; Ross ve Pawlina, 2014). Oositin fertilizasyonu ve embriyonun implantasyonu gerçekleşirse korpus luteum, gebelik korpus luteumu olarak adlandırılır (Eroschenko,2016; Junqueira ve Carneiro, 2006).

Fertilizasyon ve implantasyon gerçekleşmediği durumlarda korpus luteum, 14 gün aktif kalır. Bu durumda korpus luteum menstruasyon korpus luteumu olarak adlandırılır. Progesteronların ve östrojenlerin salgılanma hızı, insan koryonik gonadotropin (hCG) ve diğer luteotropinlerin yokluğundan azalır. Ovulasyondan yaklaşık 10-12 gün sonra korpus luteum dejenere olmaya başlar (Eroschenko,2016; Junqueira ve Carneiro, 2006; Kuruş, 2020; Ross, 2014). Korpus luteum dejenere olur ve gebelik ya da menstruasyon sonrasında geriler. Hücrelerin boyutları küçülmeye başlar, lipid ile dolar ve otolize uğrarlar. Önceki korpus luteumun dejenere hücrelerinde intraselüler hiyalin materyal birikmesi sonucu korpus albicans meydana gelir. Korpus luteumun dejenere olan luteal hücre kümelerinin yerini stromal bağ dokusu alır. Korpus albicans ovaryumun korteksinin derinlerine doğru gömülerek birkaç ay içerisinde yok olur (Junqueira ve Carneiro, 2006; Kuruş, 2020; Ross ve Pawlina, 2014).



Kaynak: Ross ve Pawlina, 2014. a) Korpus luteum, katlanmış folikül duvarında yer alan granüloza ve teka hücrelerinden meydana gelir. Granüloza lutein hücreleri önceki folikül boşluğuna (Cav) doğru kalın, katlantı yapmış bir tabaka oluşturur. Katlantıların içinde teka interna hücreleri yer alır (oklar). X12 b) Esas hücre kütle granüloza lutein hücrelerinden oluşmuştur (GLC). Bu hücreler büyük, küre şekilli nükleus ve geniş sitoplazmalara sahiptir. Teka lutein hücreleri küresel nükleuslara sahiptir. Hücreler granüloza lutein hücrelerine oranla küçüktür. X240.

Şekil 2.6. İnsan korpus luteumunun fotomikrografi

2.4. Over Kanseri

Over kanseri çok yüksek mortalite oranına sahip jinekolojik bir kanserdir (Altinoz ve Bilir, 2005). Over kanserinin genellikle geç evrede teşhis ediliyor olması bu maligniteyi en ölümcül jinekolojik kanser haline getirir (Huang vd., 2022). Over kanserinin mevcut tedavisi, cerrahi ve kemoterapinin entegrasyonuna dayanmaktadır. Son yıllarda over kanseri tedavisi için çeşitli ilaçlar geliştirilmiş olmasına rağmen, yeni ve daha etkili ajanlara ihtiyaç duyulmaktadır (Patrycja, Erik ve Ewa, 2012).

Over kanseri büyümesi ve metastazı, tümörün etrafında ilerleyen, hücreler arasında yapısal bozulmaya, hücre yapışmasına, hücre göçüne, istilaya, çoğalmaya ve yeni kan damarı oluşumuna yol açan bir dizi olaydan oluşur (Ayla, Öktem ve Bilir, 2009).

2.4.1. Epidemiyoloji

Her yıl Dünya çapında 225.500 yeni over kanseri vakası teşhis edilmekte ve bunların 140.200'ü ölümle sonuçlanmaktadır (Matulonis vd., 2016). Over kanseri (OC), dünyada kadınlar arasında en sık teşhis edilen yedinci kanserdir. Gelişmiş ülkelerde 9.4/100.000 insidansla ve 5.1/100.000 mortaliteyle en yüksek ikinci jinekolojik malignitedir (Güzel vd., 2019).

2020 yılında elde edilmiş olan verilere göre, 313.000'den fazla yeni vaka ve 207.000'den fazla ölümle; ölüm oranı ve insidansı açısından sekizinci sırada bulunmaktadır (Huang vd.,2022; Sung vd., 2021). Over kanserinin dünya çapındaki prevalansı önemli ölçüde değişiklik göstermektedir; en yüksek Batı Avrupa ve Kuzey Amerika'da, orta düzeyde Güney ve Doğu Avrupa ile Güney Amerika'da ve en düşük düzeyde ise Orta Doğu ve Asya'dadır (Ali, Al-Ani ve Al-Ani, 2023). En düşük ölüm oranı Karayipler'de, Doğu Asya'da ve Güney Afrika'da görülmüştür (Huang vd.,2022). ABD'deki kadınlarda over kanseri riski %1.4 oranında ve ortalama tanı yaşı ise 63'tür (Güzel vd., 2019) ve ülkede her yıl 22.000'den fazla over kanseri vakası görülmekte, yılda 14.000'den fazla ölümle sonuçlanmaktadır (Bray vd., 2013). Ülkemizde kadınlarda endometrium kanserinden sonra en çok görülen ikinci jinekolojik malignitedir (Güzel vd., 2019).

2.4.2. Risk Faktörleri

Over kanseri için risk faktörleri arasında ileri yaş, genetik, aile öyküsü, diğer kanser öyküsü, nulliparite, geç menopoz, hormon replasman tedavisi (HRT), tütün kullanımı ve diyet yer alır (Ali, Al-Ani ve Al-Ani, 2023).

Genetik birçok faktör, over kanseri riskinin artmasıyla ilişkilidir. BRCA1/2 mutasyonları over kanseri için bilinen en önemli genetik risk faktörleridir. Bu mutasyonlar hastaların %17'sinde bulunur. BRCA'daki mutasyonlar meme kanseri (BRCA1 ve BRCA2), pankreas kanseri (BRCA2), prostat kanseri (BRCA2), melanom (BRCA2) ve muhtemelen seröz endometriyal kanser (BRCA1) gibi diğer kanserlerde de risk oluşturmaktadır. Bu genlerin kalıtımı ayrıntılı olarak incelenmiş, epitelyal over kanserinin birçok alt türünün germline BRCA mutasyonları ile ilişkili olduğu görülmüştür. En yaygın olanı HGSC'lerdir ve müsinöz alt türler ise nadiren ilişkilidir. BRCA mutasyonunun gen içindeki yeri ve mutasyonun türü over kanseri riskini etkileyebilir. DNA onarımında rol oynayan genlerdeki diğer mutasyonlar olan RAD51C, RAD51D, BRIP1, BARD1 ve PALB2 gibi fanconi anemisi-BRCA yolunun parçası olan genler de over kanseri gelişme riskini artırabilir. CHEK2, MRE11A, ATM, RAD50 ve TP53 gibi DNA onarımında rol oynayan diğer genlerdeki kalıtsal mutasyonlar da over kanseri gelişme riskini artırabilmektedir (Matulonis vd., 2016). BRCA1/2 mutasyonu olan kadınlarda kanser riskinin etkilenen birinci ve/veya ikinci derece akrabaların sayısı arttıkça arttığına dair sonuçlar elde edilmiştir. Bu sonuçlar neticesinde genetik veya diğer aileyle ilişkili faktörlerin BRCA1/2 mutasyonu için kanser risklerini değiştirdiğini düşündürmektedir. BRCA gen mutasyonu sonucu over kanseri tanısı alan hastaların %84'ünün BRCA1 taşıyıcısı, geri kalan %16'lık kısmının BRCA2 taşıyıcısı olduğu belirtilmiştir. BRCA1 gen mutasyonu, BRCA2'ye göre önemli ölçüde daha yüksek over kanseri riskiyle (iki ila üç kat) ilişkilidir (Ali, Al-Ani ve Al-Ani, 2023). Germline BRCA2 mutasyonlar, germline BRCA1 mutasyonlarına göre daha yüksek hayatta kalma ile ilişkili olduğu görülmektedir. Bunun BRCA2 gelişmiş platin duyarlılığına dolayısıyla da kanser hücrelerinin BRCA1'den daha fazla öldürülmesine neden olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (Bolton vd., 2012; Matulonis vd., 2016).

Lynch sendromu gibi diğer kalıtsal bozukluklar over kanseri riskinde artışa neden olabilmektedir. Lynch sendromu kolorektal, endometriyal ve over kanserleriyle

ilişkilidir. Aynı zamanda idrar yolu, mide, ince bağırsak ve safra yolu kanserleriyle de ilişkilendirilmektedir. Bu sendrom MSH2/6, MLH1 ve PMS2'deki mutasyonları sonucu DNA hatalı eşleşme onarımı (MMR) geninin fonksiyon kaybından kaynaklanabilir (Crispens, 2012; PK vd., 2022). Lynch sendromuyla ilişkili over kanseri olan hastaların ortalama başvuru yaşı 48'dir (Lynch sendromu olmayanlarda ortalama yaş ~68 ile karşılaştırıldığında), hastaların ~%50'si evre I kansere sahiptir (Matulonis vd., 2016).

Polikistik over sendromu, endometriozis ve pelvik inflamatuvar hastalık (PID) dahil olmak üzere birçok jinekolojik durum over kanseri için risk faktörleri olarak incelenmiştir. PKOS, sıklıkla obezite, hirsutizm, infertilite ve menstrual düzensizlikler ile karakterize edilen çok faktörlü bir hastalıktır. PKOS'lu kadınların karşılanmayan endojen östrojen ve/veya yüksek androjenler nedeniyle endometriyal kanser riski yüksektir. PKOS ile OK riski arasındaki ilişki, popülasyona dayalı bir vaka kontrol çalışması olan kanser ve steroid hormon çalışmasından elde edilen veriler kullanılarak araştırılmıştır. Sınırlı veriler PKOS'un bir risk faktörü olduğuna dair fikir birliği beyanı için yeterli olmamıştır (Reid, Permuth ve Sellers, 2017).

Endometriozis en sık görülen jinekolojik hastalıklardan biridir ve üreme çağındaki kadınların %10-15'ini etkilemektedir. Benign olarak görülmesine rağmen, endometriozis tıp literatüründe 1925'ten bu yana over kanseri ile ilişkilendirilmektedir. Araştırmacılar sekiz çalışmanın sistematik bir incelemesini yürütmüştür ve over kanseri riskinin arttığını belirtmişlerdir (Reid, Permuth ve Sellers, 2017).

Pelvik inflamatuvar hastalık (PID) endometriyumun, fallop tüplerinin ve ovaryumların iltihaplanmasına neden olur. Pelvik inflamatuvar hastalık ile over riski arasındaki ilişkiyi değerlendiren çalışmalar tutarsız sonuçlar vermiştir. PID geçmişiyle ilişkili riskin invaziv over karsinomlarının histotipine göre değiştiğine dair bir kanıt bulunamamıştır (Reid, Permuth ve Sellers, 2017).

Yapılan çalışmalar sonucu oral kontraseptif kullanımının, germ hattı BRCA1 mutasyonu olan kişilerde ve ayrıca genetik yatkınlığı olmayan kişilerde over kanseri gelişme riskini azalttığı belirtilmiştir. Bir çalışmada ortalama 5 yıl boyunca oral kontraseptif kullanımıyla over kanseri riskinin yaşam boyu %0.54 oranında azaldığını göstermiştir. Oral kontraseptif kullanımının seröz, endometrioid ve şeffaf hücreli

karsinomlarda azalmayla ilişkili olduğunu fakat müsinöz karsinomlarda bu durumla ilişkili olmadığı gösterilmiştir (Matulonis vd., 2016).

Hormon replasman tedavisinin menopoz sonrası kadınlarda over kanseri gelişme riskini arttırdığı gösterilmiştir. Yapılan bir çalışmada, hormon replasman tedavisi kullanan menopozdaki kadınlarda over kanseri, seröz ve endometrioid karsinom gelişme riskinde benzer bir artış olduğunu göstermiş. Başka bir çalışmada hormon replasman tedavisi kullanan kadınlarda şeffaf hücreli kanser riskinin azaldığı da görülmüştür (Matulonis vd., 2016).

Birinci derece akrabalarda over kanseri tanısı konulan ile over kanseri öyküsü olmayan aileler karşılaştırıldığında over kanseri oranının üç ila dört kat daha yüksek olduğunu bildirilmiştir. Bu risk ömür boyu sürececek bir risktir ve ailesel riskin, akrabanın etkilendiği yaş ve risk altındaki kadının yaşı arttıkça azalabileceği görülmüştür. Başka kanser öyküsü bulunan kadınların over kanserine yakalanma riski daha yüksektir. Genel popülasyondaki kadınlarla karşılaştırıldığında, meme kanserini atlatanlarda over kanserine yakalanma riskinin %24 daha fazla olduğu görülmüştür. Daha genç yaşta meme kanseri tanısı alan kadınlarda over kanseri riski daha yüksektir. Ailesinde prostat kanseri öyküsü olanlarla, aile öyküsü olmayanlar karşılaştırıldığında over kanseri riskinde %17'lik bir artış görülmüştür (Ali, Al-Ani ve Al-Ani, 2023).

Çinli kadınlar arasında yapılan bir çalışmada, geç menarş yaşı daha düşük risk gösterirken, başka bir çalışmada ise geç menarş yaşıyla birlikte riskte biraz artış gözlemlenmiştir. Doğal menopoz yaşı ile over kanseri riskine ilişkin veriler tutarsızdır (Reid, Permuth ve Sellers, 2017). Geç başlangıçlı menopoz, 55 yaş ve sonrasında başlamaktadır ve over kanseri riskinde önemli bir artışla ilişkili olduğu yapılan çalışmalar sonucu görülmüştür. Yüksek risk endometrioid ve berrak hücreli tümörleri olan vakalarda görülmektedir. Bir kadının yaşamı boyunca gerçekleşen ovulasyon sayısı, over kanseri riskiyle önemli ölçüde ilişkilidir (Ali, Al-Ani ve Al-Ani, 2023). Hemşire Sağlık Çalışması (NHS) ve NHS II'den alınan bir raporda, doğal menopoz yaşının endometrioid tümör riskindeki artışla ilişkili olduğunu ancak seröz invazif veya müsinöz tümörlerle ilişkili olmadığı sonucuna ulaşmıştır (Reid, Permuth ve Sellers, 2017).

Doğum yapmış kadınların doğum yapmamış kadınlara göre %30-60 daha düşük over kanseri riski olduğu ve her ilave tam süreli gebelik, riski yaklaşık %15 azaldığı görülmüştür. Afro-Amerikan ve Asyalı popülasyonlarda yapılan çalışmalar da benzer sonuçlar elde edilmiştir (Reid, Permuth ve Sellers, 2017). Yine bir çalışmada over kanseri riski, doğum yapmamış kadınlarda tek çocuğu olan kadınlara göre %24 daha yüksek iken, doğum yapmamış kadınlar, birden fazla doğum yapmış olan kadınlarla karşılaştırıldığında riskin 12 kattan fazla olduğu belirtilmiştir (Ali, Al-Ani ve Al-Ani, 2023).

Yapılan çalışmalar sonucu, infertilite kadınlardan oluşan bir kohortta over kanseri riskinde %60'lık bir artış olduğu belirtilmiştir ve bu sonuçlar daha sonraki çalışmalarla da gösterilmiştir. Ancak bu alanda yapılan çoğu çalışma, infertilitenin altında yatan nedenleri, doğurganlık tedavisi için kullanılan ilaçların olası etkilerinden ayırt edememiştir. İnfertilitenin bilinen nedenlerin çoğu, ovulasyonun başarısız olmasına yol açan hormonal dengesizlikleri ve endometriozis veya tubal hastalıklar gibi pelvik ilişkili faktörleri içerebilir ve bu nedenlerin over kanseri ile bağımsız bir ilişkisi olabileceği söylenilmiştir (Ali, Al-Ani ve Al-Ani, 2023).

Emzirme ve over kanseri riski üzerine yapılan birkaç çalışmada, tümör alt tipine göre ilişki araştırılmış ve elde edilen sonuçlarda endometrioid tümörler için risk azalmasını bildirilirken, müsinöz kanserler arasında en güçlü azalma gözlemlenmiştir. Yapılan bir çalışma da emzirme süresi uzadıkça emzirmenin, önemli bir koruyucu etki olduğu bildirilmiştir. Bu nedenle emzirmenin, özellikle uzun süreli olarak epitelyal over kanserine karşı koruma sağladığı söylenilmektedir (Reid, Permuth ve Sellers, 2017).

Aralıksız ovulasyon teorisine göre sürekli gerçekleşen ovulasyon over epiteline zarar vererek over kanserinin gelişim riskini artırabilir. Bundan yola çıkılarak ovulasyonu azaltan bir faktörün over kanserine karşı koruyucu etkisi olabileceği ifade edilmektedir (Fathalla, 1971; Reid, Permuth ve Sellers, 2017).

Çeşitli çalışmalar, obezitenin menopoz sonrası over kanseri için bir risk faktörü olduğunu göstermiştir (Matulonis vd., 2016). Birkaç çalışmadan elde edilen sonuçlarda, obezite postmenopozal over kanseri için risk faktörü olarak bildirilmiştir (Olsen vd., 2013). Obeziteyle over kanseri riski arasındaki ilişki tutarsızdır, çünkü bazı çalışmalar

pozitif ilişki bildirirken diğerleri herhangi bir ilişki bildirmemiştir (Ali, Al-Ani ve Al-Ani, 2023). Diyet faktörleri ile genel popülasyonda over kanseri riski arasındaki ilişki yapılan birçok çalışmada incelemiştir. Süt tüketiminin over kanserine yakalanma açısından önemli bir risk oluşturmadığı belirtilmiştir fakat bir çalışmada, yetişkinlikte yağsız süt ve laktoz alımı ile risk arasında ters bir ilişki olduğuna dikkat çekilmiştir. Bu çalışma laktoz alımı ile endometrioid karsinom riski arasında ters bir ilişki olduğunu da göstermiştir (Matulonis vd., 2016). Bir vaka kontrol çalışmasında, over kanseri riskinin yüksek kolesterol alımıyla ilişkili olduğu söylenmiştir. Bu riskin sebze, vitamin, beta karoten ve B vitamin kompleksi takviyesi ile azaldığı belirtilmiştir (Pan vd., 2004). Flavonoidler ve siyah çayın over kanseri riskinde azalma ile ilişkili olduğu söylenmiştir fakat daha fazla çalışma gerekmektedir (Cassidy, 2014). Çok sayıda yapılan epidemiyolojik çalışmada diyetin over kanseri riskini etkileyip etkilemediği büyük ölçüde çözülmemiştir (Reid, Permuth ve Sellers, 2017).

Yapılan çalışmalardan elde edilen bulgulara göre sigara içenlerde müsinöz over kanseri riskinin kontrollere kıyasla iki katına çıktığını, sigarayı bırakmanın ise daha sonra gözlemlenenlere benzer şekilde riski uzun vadede normale döndürdüğünü göstermiştir (Ali, Al-Ani ve Al-Ani, 2023). Tütün kullanımı müsinöz tümörler için risk faktörü, müsinöz olmayan tümörlere karşı ise koruyucudur. Sigara içmenin şeffaf hücreli karsinom riskini önemli ölçüde azaltırken, müsinöz karsinom riskini artırdığına yönelik bulgular da vardır (Matulonis vd., 2016).

Yaşlarına bakılmaksızın her gün düşük dozda aspirin kullanımı, kadınlarda over kanserine yakalanma riskinin azalmasıyla ilişkilendirilmiştir. Düzenli aspirin kullanımı sonucunda endometrioid ve müsinöz karsinom riskinde azalma ve seröz karsinom riskinde de büyük ölçüde bir azalma görülmüştür. Over kanseri riskinin azaltılması için aspirinin test edildiği hiçbir prospektif çalışma yapılmamıştır (Matulonis vd., 2016).

Radyoterapiye bağlı meme kanseri olan kadınlarda over kanseri riskinin arttığı tespit edilmiştir. Bu bulgu literatürün tamamı olmasa da bir kısmı tarafından desteklenmiştir (Matulonis vd., 2016).

2.4.3. Over Kanseri Sınıflandırılması

Over kanseri, epitelyal (en yaygın), germ hücreli ve seks-kord-stromal olmak üzere 3 tiptir. Germ hücreli ve seks-kord-stromal, tüm over kanserlerinin yalnızca yaklaşık %5'ini oluşturur (Stewart, Ralyea ve Lockwood,2019).

Epitelyal over kanserinin seröz, endometrioid, müsinöz ve berrak hücreli olmak üzere dört ana histolojik alt tipi vardır. Seröz tümörler de iki sınıfa ayrılır; yüksek dereceli seröz karsinomlar (HGSC) veya düşük dereceli ciddi karsinomlar (LGSC). LGSC'ler Epitelyal over kanserinin tüm alt tipleri arasında %5'ten azını oluşturur. Endometrioid, müsinöz ve berrak hücreli alt tipler sırasıyla %10, %3 ve %10'u oluşturmaktadır. Epitelyal over kanserlerinin over, tubal veya pelvisteki diğer epitelyal bölgeler olmak üzere tipik olarak üç başlangıç noktası bulunduğu söylenilmektedir. Epitelyal over maligniteleri iki kategoriye ayrılır. Bunlar; tip I ve tip II tümörlerdir. Tip I tümörler, Tip II tümörlere göre daha az ölümcüldür ve sürekli ovulasyon siklusları, inflamasyon ve endometrioizisten kaynaklandığı düşünülmektedir. Bir kadında endometrioize sahip olmanın over kanseri riskini arttırdığı düşünülmektedir ve tüm epitelyal over kanserlerinin %5 ila %15'i ile ilişkilidir. Tip II tümörler genellikle ölümcül sonuçlar vermektedir. Bu kanserler genellikle daha sonra teşhis edilir ve sıklıkla BRCA genlerindeki genetik mutasyonlar ve başka bir tümör baskılayıcı gen olan p53 mutasyonları ile bağlantılıdır. Bir teoriye göre bu tümörlerin, bu kanserlerin çıkış yeri olan fallop tüplerinden göç ettiği söylenilmektedir (Stewart, Ralyea ve Lockwood,2019). HGSC'ler tüm seröz tümör türlerinin %90'ını ve LGSC'ler %10'unu oluşturmaktadır. LGSC'ler daha iyi bir prognoza sahiptir; beklenen hayatta kalma süresi, HGSC'lerle karşılaştırıldığında önemli ölçüde daha uzundur. Ayrıca HGSC'lerle karşılaştırıldığında, kadınlara genellikle daha genç yaşta LGSC tanısı konur. LGSC'ler overlerden kaynaklanma eğilimindeyken, HGSC'ler overlere veya peritona yayılmayla birlikte fallop tüplerinden kaynaklanma eğilimindedir. HGSC'ler daha ölümcül vakalarla ilişkilendirilmiştir. Kadınların %85'inden fazlasında hastalığın ileri aşamaları görülür ve 10 yıllık ölüm oranı %70'tir (Stewart, Ralyea ve Lockwood,2019).

Endometrioid karsinomların endometrioizisten kaynaklandığına inanılmaktadır, genellikle daha erken evrelerde teşhis edilir ve bu histolojik tipten etkilenen kadınlarda prognozun daha iyi olmasını sağlar. Bunun bir nedeni, bu tip histolojinin kemosensitif olması ve tedaviyi daha başarılı hale getirmesidir (Stewart, Ralyea ve Lockwood,2019).

Berrak hücreli karsinomlar, epitelyal over kanserlerinin %10'unu oluştururlar. Nispeten iyi bir prognoza sahip olmaları açısından endometrioid kanserlere benzer. Bunun nedeni onların da sıklıkla erken evrelerde teşhis edilmesidir. Geç teşhis edilirse veya hastalık ilerledikten sonra prognoz, seröz veya endometrioid tiptekine benzer olacaktır (Stewart, Ralyea ve Lockwood,2019).

Müsinöz karsinomlar epitelyal kanserin en az görülen türüdür ve çoğunlukla evre I' de teşhis edilir. Müsinöz histoloji, gastrointestinal sistemden metastaz ile ilişkilendirilebilir (Stewart, Ralyea ve Lockwood,2019).

Germ hücreli over kanserleri nadir görülmektedir ve tüm over kanseri vakalarının yalnızca % 3'ünü oluşturur. Tipik olarak genç yaşta, ortalama yaşları 10 ila 30 arasında teşhis edilirler. Over germ hücreli tümörlerinin belirli tümör belirteçlerini ürettiği bilinmektedir ve bunlar tedavi planlamasında faydalı olabilir. Dikkat çekici bir şekilde, germ hücreli tümörler genel olarak belirsiz semptomlarla ortaya çıkar (Stewart, Ralyea ve Lockwood,2019).

Seks kord-stromal maligniteler, over neoplazmlarından en az görülenidir ve tüm primer over kanserlerinin % 2'sinden azını kapsar. Sekskord-stromal tümörler nadiren maligntir ve genellikle erken teşhis edilir. Bu tür over kanseri, beyaz kadınlara kıyasla Afro- Amerikalı kadınlarda daha yüksektir ve ortalama tanı yaşı 50 civarındadır (Stewart, Ralyea ve Lockwood,2019). Seks kord-stromal tümörler, teka hücrelerinden, diğer stromal hücrelerden, granüloza hücrelerinden ve bunların testiküler seks kord karşılıkları olan sertoli ve leydig hücrelerinden kaynaklandığına inanılmaktadır. Bu tümörler sıklıkla endokrin belirtilerle ilişkilidir (Chen vd., 2003).

2.4.4. Over Kanserinde Semptom ve Bulgular

Kadınların birçoğu hastalığın başlangıç aşamasında semptomatiktir. Kabızlık, ishal, bağırsak tıkanıklığı, mide bulantısı, reflü ve kusma gibi gastrointestinal işlev bozukluklarına sahiptir (Goff, 2000).

İlk başvurudaki semptomlar içerisinde karında şişkinlik, karında pelvik ağrı, yorgunluk ve nefes darlığı da bulunmaktadır. İlk semptom malign plevral effüzyon sebebiyle ortaya çıkan nefes darlığı olabilir (Goff, 2000). Solunum semptomları

diyaframdaki basıncın sebebi olan pulmoner emboli ve plevral efüzyonlara sebep olan yaygın asitli karın içi kanserlerinden kaynaklanabilir (Sokalska vd., 2009).

2.4.5. Over Kanseri Tedavi Yöntemleri

Over kanseri için geleneksel tedavi, tümör cerrahisini izleyen platin ve taksan bazlı kemoterapi kombinasyonudur (Roett ve Evans, 2009). Evreleme prosedürleri esnasında bilateral salpingo-ooforektomi, omentektomi, biyopsiler ve histerektomi veya etkilenebilecek alanların çıkarılması gibi cerrahi yöntemler uygulanır fakat hastalık sadece overle sınırlı olduğu zaman cerrahi tedavi kullanılır (PK vd., 2022). İnvaziv epitelyal over kanserinin erken evrelerinde lezyonların malignite geliştirme şansı çok düşük olduğu durumlarda tek taraflı salpingo-ooforektomi uygulanır. Bu ameliyatta uterus ve sağlıklı over alınmaz (Zamwar ve Anjankar, 2022).

Yeni teşhis edilmiş olan over kanserine karşı en aktif terapötik ajanlar paklitaksel veya docetaksel ilavesiyle platin analoglarıdır. Yeni teşhis edilen over kanserinin ilk basamak tedavisi için tedavi paradigmaları arasında birincil cerrahi sitoredüksiyon (tümörlerin küçültülmesi amacıyla), sonrasında kombinasyon platin bazlı kemoterapi veya neoadjuvan kemoterapi (NACT; ameliyattan önce kemoterapinin uygulanması), ardından aralıklı cerrahi sitoredüksiyon ve ameliyattan sonra ek kemoterapi yer alır. İleri evre kanser teşhisi konan kadınlarda, başlangıçtaki platin bazlı kemoterapiden sonra kanserin tekrarlaması çok görülmektedir. Bu kadınlarda kanser tedavisinin en güç kısmı, sonunda platin direncinin gelişmesidir (Matulonis vd., 2016).

İleri evre hastalığın tedavisinde primer kitle küçültme cerrahisi, ardından neoadjuvan kemoterapi (NACT) ve sonra aralıklı sitoredüksiyon kullanılır (Siegel vd., 2018; PK vd., 2022).

Tekrarlayan over kanseri tedavisine yönelik yeni terapötiklerdeki ilerlemeler içerisinde anjiyogenez inhibitörleri, poli (ADP-riboz) polimeraz (PARP) inhibitörleri (DNA hasarının onarımını bloke eden) ve immünoterapi ajanları vardır. Hem yeni teşhis edilen hem de nükseden over kanserinin tedavisinde PARP inhibitörlerinin ilk basamak tedavinin bir parçası olarak kullanıldığı stratejilerle bu tedavilerin kombinasyonları üzerine araştırmalar yapılmaya devam etmektedir (Matulonis vd., 2016).

Over kanserinin bireysel histolojik alt türlerinin farklı genomik yapısına dayalı over kanseri tedavisi geliştirilmektedir (Matulonis vd., 2016). Over kanseri için oldukça yeni bir tedavi yöntemi de poli (ADP-riboz) polimeraz (PARP) inhibitörlerinin kullanılmasıdır. PARP proteinleri, hücrelerin hasar gördüklerinde kendi kendini yenileyebilmesine yardımcı olur. Kanser hücreleri de bu proteinleri over kanseri tedavisinde kemoterapiden kaynaklanan hasarı onarmak için kullanır. Bu inhibitörler kanser hücrelerinde yenilenme sürecini durdurarak büyümeyi ve daha büyük tümör oluşumunu engeller. Bu kategorideki olaparib ve rucaparib gibi yeni ilaçlar, kemoterapiyle birlikte kullanıldığında over kanseri tedavisindeki yararlılıkları konusunda önem kazanmaya başlamıştır (Stewart vd., 2019).

2.5. Epitelyal Mezenkimal Geçiş (EMT)

Epitelyal-mezenkimal geçiş (EMT), gelişimin ve hastalığın ilerlemesindeki temel süreçtir. Bir hücrenin farklılaşmış epitel benzeri durumunu kaybetmesine ve daha mezenkimal benzeri bir fenotip kazanmasına sebep olan bir dizi karmaşık biyolojik ve biyokimyasal değişiklikten oluşur (Singh, 2018). EMT, embriyogenez, yara iyileşmesi ve kanser gelişimi gibi fizyolojik ve patolojik olaylarda anahtar rol oynayan önemli bir süreçtir (Marconi, 2021). Epitel hücreleri, vücut kompozisyonunun korunması için gereken hücre-hücre uyumu ve doku bütünlüğü temel alınarak tanımlanabilir (Singh vd., 2018).

1800'li yılların başında hücre bölünmesi kavramı, memelilerde doku genişlemesini ve hücre çoğalmasını açıklamanın bir yolu olarak benimsenmiştir. Bu kavramın temel anlayışı, tek bir hücrenin veya döllenmiş ovumun vücuttaki diğer tüm hücreleri oluşturacağıdır. Gelişim boyunca hücreler farklılaşacaktır, fakat hücreler epitelyal veya mezenkimal fenotip olarak kategorize edilebilir. Gelişimin sonunda bu hücrelerin işlevlerini sürdürmek için terminal olarak farklılaşmış bir durumda kaldıkları varsayılmıştır. Ancak bu düşünce, fenotipik durumların son derece dinamik ve hücre tipine ve çevreye bağlı olduğunu gösteren, terminal olarak farklılaşmış epitelyum içindeki hücrelerin epitelyal veya mezenkimal durumlar arasında geçiş yaptığının gözlemlenmesiyle tartışma konusu olmuştur (Skrypek vd., 2017).

Betty Hay, embriyogenezin erken aşamalarında epitel hücrelerinin mezenkimal hücrelere nasıl dönüştüğünü tanımlamak için EMT terimini kullanan ilk kişidir (Skrypek

vd., 2017). 1968'de Elizabeth Hay, civciv embriyolarının ilkel çizgisindeki hücre göçünü gözlemleyerek epitelial-mezenkimal dönüşümde yer alan çeşitli karmaşık özellikleri tanımlamıştır. O zamandan beri "geçiş" terimi, ters mezenkimal-epitelial geçiş (MET) sürecinde görüldüğü gibi, sürecin geçici durumunu yansıtacak şekilde EMT'de "dönüşüm"ün yerini almıştır ve bu süreç tanımlanmıştır (Singh vd., 2018).

2.5.1. Epitelial ve Mezenkimal Hücre Morfolojisi

Epitel hücreleri apikal ve bazal polariteye sahiptir. Her membranda, farklı aktivitelerin spesifik hücresel bölgelere lokalizasyonuna ve moleküllerin yönlü taşınmasına izin veren farklı protein bileşimleri vardır. Hücre polaritesi karşılıklı etkileşim içinde olan üç kompleks tarafından oluşturulur ve korunur. Sitoplazmik proteinler olan Lgl, Dlg ve Scribble (Scrib), bazolateral polariteyi korumak için bazal alanda lokalize olan SCRIB kompleksini oluşturur ve tümör baskılayıcılar olarak kabul edilir. Apikal alan, sıkı bağlantılarda lokalize olan iki kompleks tarafından korunur. Bunlardan PAR kompleksini PAR3, aPKC ve PAR6 oluşturur. Crumbs kompleksi apikal polariteden sorumludur. Crumbs, apikal alanın oluşumunu kontrol eden Lin-1 (PALS1) ve PALS1 ile ilişkili sıkı bağlantı (PATJ) kompleksi ile ilişkilidir (Singh vd.,2018).

PAR3, plazma zarı içindeki fosfolipitleri ve sıkı bağlantı proteinlerini (JAM-A19) bağlayacak ve bu da PAR3'ün PAR6 ve aPKC'yi almasına izin verecektir. Daha sonrasında CDC42 ile birleşme, aPKC'nin PAR6 aktivasyonunu indükleyecektir. aPKC ve PAR6'nın PAR3 tarafından alımı, PAR3'ün PAR1b fosforilasyonu ile inhibe edilebilir, bu da onun membrandan sitoplazmaya ayrışmasına neden olur. PAR1b'nin aPKC veya PAR6 fosforilasyonu da benzer membran ayrışmasına neden olur. PAR3 ve aPKC'nin Lg2 ile ilişkisi, bunların membrana geçişini desteklerken Lg2'nin aktive edilmiş aPKC tarafından fosforilasyonu, Lg2'nin membrandan ayrışmasına neden olur. PAR kompleksleri Crumb kompleksi aktivitesinin güçlendirilmesine yardımcı olur. PAR ve Scribble kompleksleri antagonisttir. Entegre çok hücreli işlevi sağlamak için, özel integral membran proteinleri, tek tek epitel hücrelerini bir araya getirerek katmanlar oluşturur ve hücreler arası etkileşimleri olan zonula okludensler, adherens bağlantılar, desmozomlar ve gap junctionları etkinleştirir (Singh vd.,2018).

Sıkı bağlantılar veya zonula okludens (ZO), apikal yüzeyin en yakın bölgesinde yer alan, epitel hücrelerini tek tek birbirine bağlayan, hücrelerarası çok az boşluk bırakan,

yan yüz bağlantılarıdır ve integral transmembran proteinler (okludin, klaudin, junctional adezyon molekülleri, kolera toksin proteinleri), periferik proteinler (zonula okludens1,2,3, PAR) ve düzenleyici proteinler (alfa katenin, symplekin)'den meydana gelmektedirler. Zonula okludensler, üç boyutlu bir alanı çevreleyerek epitel tabakalarının bütünlüğünü korur, iyonların ve moleküllerin hücrelerin arasındaki difüzyonunu kontrol eder (Singh vd.,2018).

Zonula Adherens (ZA), zonula okludenslerin altında bulunurlar. Zonula okludense benzer şekilde hücreyi sarmalayarak hücreler arası yapışmayı sağlar. Ayrıca bu bağlantılar hücre gerilimini ve şeklini düzenleyen bağlantılardır fakat zonula okludenslere kıyasla daha geçirgendirler. Bu bağlantılar, kateninlerin (α , β , γ) ve kaderinlerin sitoplazmik alanı ile etkileşimler yoluyla hücre iskeletinin aktin ve miyozin filamentlerine bağlanır. Transmembran glikoproteini olan E-kadherin, sitoplazmik alanını α -katenin ve β -katenin yoluyla hücre iskeletine bağlayarak hücre iskeleti organizasyonunu modüle eder (Singh vd.,2018).

Desmozomlar, iki hücreyi transmembran bağlayıcı proteinler yoluyla birbirine bağlayan, plazma zarının sitozolik yüzeyinde kümelenmiş moleküler komplekslerdir. Desmoglein (DSC1-3) ve desmoglein (DSG1-4) transmembran boşlukta komşu hücrelerle hiper-adeziv bağlantıyı sağlayan heterodimer kadherin proteinleridir. Bitişik iki hücre arasında bulunmakta olan desmoglein ile desmoglein, hücre membranı sitoplazma yüzeyinde plakoglobin ve plakophilin içeren dış yoğun plak ve desmoplakin üzerinden keratin ve vimentin içermekte olan ara filamentlere bağlanırlar. Desmozomlar mekanik desteğe yardımcı olur ve mekanik strese maruz kalan hücrelerde sıklıkla bulunur. Hemidesmozomlar form olarak desmozomlara benzemektedir. Bazal hücre yüzeyinde bulunur, hücreyi altta bulunan bazal laminaya bağlar (Singh vd.,2018).

Gap junctionlar, konneksin proteinleri tarafından oluşturulan bitişik hücrelerin sitoplazmik alanları arasındaki por şeklinde köprülerdir. Bu suyla doludur ve küçük metabolitlerin, iyonların ve hücreler arası sinyallerin taşınmasına izin verir (Singh vd.,2018).

Epitel hücreleri bir bazal membran üzerinde bulunur. İntegrinler, transmembran glikoproteinlerdir ve α ve β alt birimlerinin bileşimine dayalı olarak dört alt gruba

ayrılırlar. Hücre içi aktin filamentlerini fibronektin, vitronektin, laminin ve kollajen IV gibi bitişik hücre dışı matrisin (ECM) bileşenlerine bağlayan bazal membranda lokalize olurlar. Bu bağlantılar hücreyi sabitler ve epiteli altta yatan hücrelerden ayıran, her iki katmana da hücre istilasını önleyen bazal membranı oluşturur. Bu bazal membran mekanik güç kazandırır, gerilme kuvvetlerine karşı koyar. Kandan türetilen küçük moleküller ile gazların geçişini teşvik etmek amacıyla bir difüzyon bariyeri işlevi görür (Singh vd.,2018).

Epitel hücresinin genel şekli düz ve poligonaldır. Hücresel yapı, bir mikrotübül ağı, aktinden oluşan mikrofilamentler ve hücre şeklini oluşturmak amacıyla görev alan ara filamentlerden meydana gelir. Aktin filamentleri, uzun ve ince lifler halinde polimerize olan globula-aktin monomerlerinden oluşur ve hücreye hem mekanik hem de kasılma gücü vermek için transmembran proteinlerine bağlantılar sağlar. Ara filamentler, hücresel sertliği sağlayan keratinler, nükleer zarfın stabilizasyonunu sağlayan nükleer lamininler ve mekanik güç sağlayan vimentinlerden meydana gelmektedir. Bu filamentler birlikte hücrenin şeklini korumak, hücrenin yapısal çerçevesine sertlik ve sağlamlık kazandırmak ve iç hücresel yapıyı ve organelleri düzenlemek amacıyla görev alır. Mikrotübüller, hücreler arası taşımayı ve hareketi desteklemek için içi boş bir tüp şeklinde düzenlenmiş α - ve β -tubulin tarafından oluşturulan protofilamentlerdir. Epitel hücrelerinin hareketi, şekilleri ve yan yüz bağlantılarından dolayı kısıtlanır ve epitel tabakalarının göçüne izin verir (Singh vd.,2018).

Mezenkimal hücrelerin, epitelyal hücrelerin aksine dokulara göç ve invazyonunu sağlayan özellikleri vardır. Tek tip bir bileşime ve hücresel yapışmaya sahip değildirler. Epitel hücrelerindeki gibi apikal bazal polariteden ziyade ön-arka polariteye sahiptirler. Morfolojik olarak mezenkimal hücreler düzensizdir ve iç benzeri bir şekil sergiler. Aktin filamentleri demetler halinde düzenlenir ve çeşitli hareket türlerini ve duyusal alımları sağlayan, aktin açısından zengin yeni membran çıkıntıları meydana getirirler. Ayrıca, hücre iskeletinin gücünü artırmak için keratinler azalır ve vimentinler ise artar, böylece hücre iskeleti daha esnek hale gelerek göç esnasında hasara daha az eğilimli olur (Singh vd.,2018).

2.5.2 EMT Sınıflandırmaları

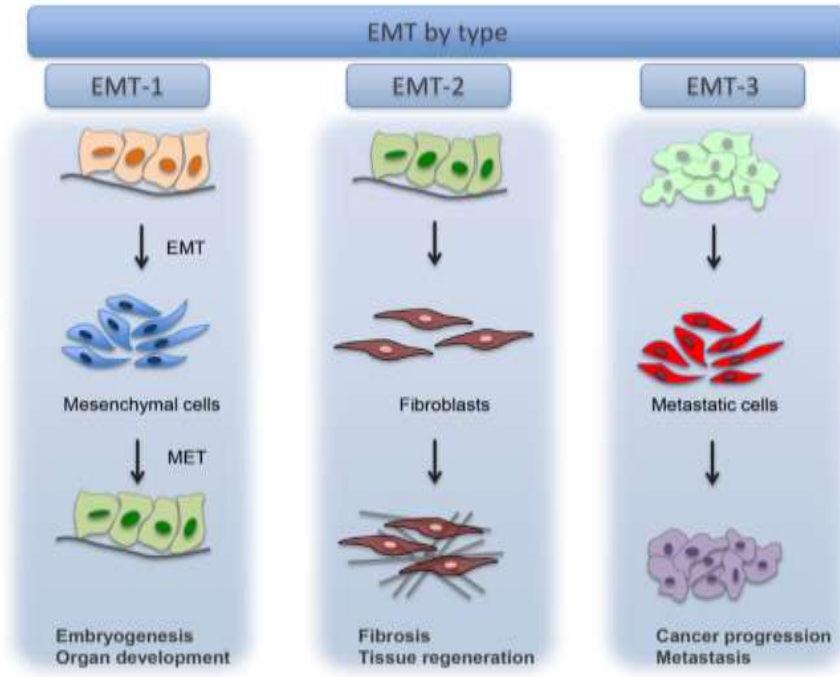
Literatürde, her biri farklı bir biyolojik senaryoda meydana gelmiş, çeşitli fonksiyonel sonuçlar üreten üç farklı EMT türü açıklanmaktadır (Marconi vd., 2021).

Endoderm, ektoderm ve mezoderme yol açan embriyogenez esnasında meydana gelen değişiklikler *tip I EMT* olarak adlandırılır. Tip I EMT, embriyo implantasyonu ve gelişiminin yanı sıra çoklu organ oluşumuyla da ilişkilidir ve ne fibrozisi ne de istilacı bir fenotipi tetikler (Marconi vd., 2021). Embriyonik gelişim sürecinde epitel hücreler polaritelerini kaybederek mezenkimal özellikler kazanırlar. İmplantasyon, embriyogenez ve organogenez sırasında önemlidir. Hücreler, embriyogenez ve organogenezin erken evreleri boyunca büyüme ve farklılaşma sırasında birkaç EMT ve MET süreci geçirecektir (Singh vd., 2018). Biyokimyasal düzeyde, gastrulasyonla ilişkili olan EMT, kanonik Wnt sinyaliyle koordine edilir ve Snail, Eomesodermin (Eomes) ve Mesoderm posterior protein (Mesps) transkripsiyon faktörleri ve ayrıca gastrulasyona bağlı EMT'yi düzenlemek için fibroblast büyüme faktörü (FGF) reseptörleri ile iş birliği yapan Wnts ile düzenlenir. Snail, E-kadherini baskılar ve okludinler ve klaudinler gibi hücre adezyon molekülleri ve Discs large (Dlg) ve Crumbs homolog 3 (Crb3) gibi polarite genleri tarafından aracılık edilen EMT'yi destekler. Embriyonik oluşum sırasında, nöroektodermin epitelyal hücrelerini içermekte olan bir EMT, göçmen nöral krest hücrelerinin kökenini oluşturur (Marconi vd., 2021).

Yara iyileşmesi, doku rejenerasyonu ve organ gelişimi sırasında gerçekleşen, *tip II EMT* olarak adlandırılır (Marconi vd., 2021; Singh vd., 2018). EMT inflamatuvar hücreler ve fibroblastların aracılık ettiği yara iyileşme süreçlerinde de önemli bir rol oynar. Bu hücreler, kollajenler, lamininler, elastin ve tenasinler gibi ekstraselüler matriks (ECM) molekülleri ile etkileşime giren spesifik faktörleri salgılar. Yara iyileşmesi hemostaz, inflamasyon, hücre proliferasyonu ve son olarak doku yeniden yapılanması ile karakterize edilen dört farklı ve birbirini takip eden fazı içerir (Marconi vd., 2021).

Tümör metastazı esnasındaki EMT, *tip III EMT* olarak adlandırılmaktadır. Diğer EMT tiplerinde gözlemlenen yavaş ve kontrollü hareketin aksine, tümör oluşumunda EMT agresif ve kontrolsüzdür. Kanserde hem EMT'nin hem de ters mezenkimal-epitelyal geçiş (MET)'in edinilmesi, metastatik yayılma geçiren tümör hücrelerinin bir

göstergesidir ve kanserin ilerlemesinde merkezi bir öneme sahiptir (Singh vd., 2018). Tip III EMT, genetik ve epigenetik modifikasyonlar yaşayan neoplastik hücrelerde, özellikle lokalize tümörlerin oluşumunu teşvik eden genlerde meydana gelir. Çeşitli çalışmalar, karsinom hücrelerinin mezenkimal fenotip kazanabildiğini ve α -SMA, FSP1, vimentin ve desmin gibi mezenkimal belirteçleri eksprese edebildiğini göstermiştir (Marconi vd., 2021).



Kaynak: Singh vd., 2018.

Şekil 2.7. EMT türleri

2.5.3. EMT'yi Aktive Eden Sinyal Yolakları

EMT, epitel hücreleri, stromal mikroçevrelerini oluşturan hücrelerle salınan spesifik sinyallerle karşılaştığında aktive olan birkaç hücre içi sinyal yolu aracılığıyla indüklenebilir. Stromal orijinli ligandların normal ve neoplastik epitel hücreleri tarafından eksprese edilen aynı kökenli reseptörlere bağlanması sonucu EMT programının aktive edilmesinde birleşen bir dizi hücre içi sinyal olayını tetikler. Dönüştürücü büyüme faktörü- β (TGF- β) yolunun, birkaç farklı doku tipinde, EMT'yi uyarmada merkezi bir rolü vardır. Bu sinyalleme kaskadı, üç farklı TGF- β izoformu, iki aktivin ve çeşitli kemik morfogenetik proteinlerinden (BMP'ler) oluşan geniş bir alternatif ligand grubu tarafından aktive edilir. TGF- β 'ler, TGF- β reseptör tip I TGF- β R1 ve TGF- β R2 komplekslerine bağlanarak, SMAD4 ile kompleksler oluşturmaya devam eden SMAD2 ve SMAD3'ün fosforilasyonuna neden olur. Benzer bir şekilde TGF- β

reseptörlerinin BMP'ler aracılığıyla bağlanması, SMAD4 ile kompleks oluşturabilen SMAD1 ve SMAD5'in aktivasyonuna neden olur. Bu trimerik SMAD kompleksleri (SMAD2-SMAD3-SMAD4 ve SMAD1-SMAD5-SMAD4) oluştuktan sonra çekirdeğe göç ederek mezenkimal bir yapının kazanılması, invazyon, motilite, hücre büyümesi, proliferasyon, anjiyogenez, apoptoz ve yaşlanmayla ilgili genlerin büyük bileşenlerinin ekspresyonunun düzenlenmesinde transkripsiyonel faktörleri gibi işlev görürler. Bu kanonik sinyal yolu, ERK, p38 MAPK, PI3K–AKT ve RHO benzeri GTPazlar gibi birkaç sinyal yolu ile iş birliği yaparak EMT programlarının ifadesine farklı şekillerde katkıda bulunur (Dongre ve Weinberg, 2019).

2.5.4. EMT ve Yara İyileşmesi

Yara iyileşmesi insan vücudunda gerçekleşen normal bir biyolojik süreçtir ve hemostaz, inflamasyon, proliferasyon ve yeniden şekillenme olarak dört aşamada gerçekleşir. Birçok faktör yara iyileşmesinin evrelerini etkileyebilir ve normal yara iyileşmesi sürecinin bozulmasına yol açabilir. Örneğin, yaralar genellikle ertelenmiş, eksik veya koordine olmayan bir iyileşme nedeniyle fibrozisle ilişkili patolojik inflamasyon ve skar gelişimi durumuna girer. Akciğer hastalığında anormal yara iyileşme yanıtlarına yönelik yeni klinik yaklaşımlardaki son gelişmelere rağmen, pulmoner fibrozisin en yaygın formuna yönelik tedaviler etkisizdir ve anormal yara yanıtlarına yol açan patogenetik sinyal yolları henüz tespit edilememiştir. Ayrıca anormal yara iyileşmesinin muhtemelen hipertrofik skarların ve keloidlerin gelişimini artırdığı belirtilmektedir. Hipertrofik skarların ve keloidlerin önlenmesi ve tedavisine yönelik ilerlemeler kaydedilmiş olmasına rağmen, skar ve keloid oluşumunun altında yatan mekanizma tam olarak bulunamamıştır. Bununla birlikte, EMT'nin gelişim, yara iyileşmesi, kök hücre regülasyonu, fibroz ve tümör oluşumundaki rolüne ilişkin çalışmalar, hipertrofik skarlaşma ve keloidlerin patofizyolojisi hakkındaki bilgilere katkı sağlamıştır (Marconi vd., 2021).

Tip II EMT, özel epitelyal hücre popülasyonlarının profibrotik ve proinflamatuvar aktiviteye sahip miyofibroblastlara neden olduğu fibrotik olaylarda ve yara iyileşme süreçlerinde rol alır. Mezenkimal fenotipe geçişin son adımı, α -SMA ve vimentini eksprese eden fakat E-kadherin ve zonula okludens-1 (ZO-1) gibi epitelyal belirteçlerini eksprese etmeyen iğ şeklindeki miyofibroblastın oluşumunu içerir (Marconi vd., 2021).

MikroRNA'lar (miRNA'lar), gen ekspresyonunun transkripsiyon sonrası düzenlenmesinde ve TGF- β sinyali, fibroblast proliferasyonu ve farklılaşması, ECM birikimi ve EMT süreci de dahil olmak üzere cilt fibrozisinin düzenlenmesinde rol alır. Birçok çalışmada, hiperplastik skarlar ve normal cilt arasında miRNA'ların farklı ekspresyon profilleri gösterilmiş ve anormal skarlaşmadaki değiştirilmiş miRNA'ların ekspresyonu, TGF- β sinyallemeyle ilişkilendirilmiştir. Fibrozis sırasındaki EMT süreci, çeşitli sitokinler ve büyüme faktörleri aracılığıyla düzenlenir ve TGF- β 1'in birincil indükleyicilerden biri olarak önemli bir rol oynamaktadır. Ayrıca bu mezenkimal durum göç yeteneği ile ilişkilidir. İnsan diyabetik nefropatisinde TGF- β 1'in renal ekspresyonunun arttığı gösterilmiş ve TGF- β 1'in de böbrek fonksiyonunda bozulma ile ilişkili olduğu bulunmuştur. TGF- β 1 sinyallemesinin hedeflenen bozulması ve inhibisyonunun, EMT'ye karşı koruma sağladığı belirtilmiştir. Fibrozisin histolojik özellikleri ve düzenleyici mekanizmaları farklı organlarda benzerlik göstermektedir. Fizyolojik yara iyileşmesi esnasında, restorasyonun epitelizasyon aşamasına paralel olarak apoptoz yoluyla miyofibroblastlar kaybolur. Bununla birlikte, patolojik skarlaşma esnasında miyofibroblastlar, dokuların yapısını bozan, biyokimyasal ve biyofiziksel mikroçevreyi değiştirerek anormal bir dokuya sebep olan kollajen açısından zengin sert bir skar üretir. Uzun vadede, miyofibroblastların düzensiz aktivitesi doku fonksiyonunu etkiler ve organ bozulmasına yol açar (Marconi vd., 2021).

TGF- β sinyali yara iyileşmesi ve fibroziste çok önemli bir role sahiptir. Yüksek TGF- β düzeyleri, EMT benzeri değişiklikleri teşvik ederek böbrek, hepatik ve pulmoner fibrozise yol açar (Dongre ve Weinberg, 2019).

2.5.5. EMT, EMT Belirteçleri ve Kanser

EMT ile kanser arasındaki ilişki 80'li yılların başında rapor edilmiştir. Benign tümör hücreleri, EMT nedeniyle tümörün ilerlemesi esnasında infiltrate edici ve metastaz yapma özellikleri kazanır. Tümörlerin büyük çoğunluğu, tümörün ilerlemesi sırasında EMT'ye maruz kalır. Epitelden türeyen kanserler, EMT sürecinin belirleyici olduğu kanserlerdir. Bunun tek istisnası, progenitör hücrenin bir arada bulunabilen hem epitelyal hem de mezenkimal kompartmanları geliştirdiği karsinosarkomdur. Karsinosarkomlar, hastaların yaşam süresini kısaltan nadir ve son derece agresif olan tümörlerdir ve hem epitelyal hem de mezenkimal bileşenlerde yüksek malignite derecesi ile karakterize edilir (Ribatti, Tamma ve Annese, 2020). Kanser hastalarında en önemli ölüm nedeni

metastazdır (Davis vd., 2014). Kanser metastazı, lokal invazyon, intravazasyon ve uzak organların kolonizasyonu dahil olmak üzere birçok aşama gerektirir. Her evrenin farklı zorluklarının üstesinden gelmek için kanser hücrelerinin karmaşık ve değişen çevrelerine uyum sağlayabilecek fenotipik esneklik sergilemesi gerekmektedir (Lo ve Zhang, 2018).

Kanser hücrelerinin oldukça proliferatif, nispeten hareketsiz bir epitelyal fenotipten EMT yoluyla daha invazif bir hücre tipine geçişinin, tümör metastazında önemli bir role sahip olduğu giderek daha fazla kabul görmektedir. Metastazın görülme sıklığı ve hastanın prognozu üzerindeki etkisi göz önüne alındığı zaman, metastaz geliştirme riski yüksek olan hastalarda organa sınırlı kanserlerin yayılmasını önlemek, hastalığı daha ileri seviyede olan hastalarda mevcut metastatik hücreleri ortadan kaldırmak için yeni tedavi yöntemleri gerekmektedir. Spesifik kanser türlerinde EMT'nin farmakolojik hedeflemesi, böyle bir stratejiyi temsil edebilir (Davis vd., 2014).

Patolojik EMT sürecinde hücre-hücre adezyonu, hücre-ekstraselüler matriks (ECM) adezyonu çözülmeye ve hücre polaritesini kaybetmeye başlar. Moleküllerde azalış görülürken, mezenkimal hücre adezyon moleküllerinin hücre yüzeyinde ise artış görülür. Mezenkimal-kök hücre görünümlü invazif bir hücreye dönüşüm gerçekleşir. Tümör hücreleri metastazla ilişkili EMT aşamasında bazal membran ve lamina propriayı geçip bağ dokuyu işgal eder ve farklılaşmış olan hücreler farklılaşmamış hücrelere dönüşürler. ECM bağlantısının kaybedilmesiyle birlikte apoptoza giren epitel hücrelerinin tersine tümör hücreleri primer tümörden ayrılmak amacıyla mekanizmalar geliştirirler. Bu evrelerde epitelyal hücre-hücre adezyonunun ana proteini olan E-kaderin Slug, Snai1, Twist ve Zeb-1/-2 gibi transkripsiyon faktörleri azalır, epitelin daha geçirgen olmasına sebep olur. EMT sürecinde kanser hücrelerinde E-kaderin ekspresyonu kaybolur, de novo N-kaderin ekspresyonunda artış gerçekleşir. Kanser hücrelerinin invazif özellik kazanmasında önemli aşamalardan biri EMT sürecindeki bu E-kaderin ekspresyonundaki azalma ve N-kaderin ekspresyonunda artıştır. E-kaderin ekspresyonundaki yok olma epitel hücreleri arasındaki bağlantıların, apiko-bazal hücre polaritesinin ve epitel doku yapısının bozulmasına sebep olur. N-kaderin ekspresyonundaki artışa bağlı olarak ise kanser hücrelerinin primer dokudan serbestleşmesi ve invazif kapasite kazanması kolaylaştırır. Tümörün invazifliği ve kötü prognoz ilişkili olan bu olay “kadherin değişimi” olarak isimlendirilir. Bazal membran, integrin-aracılı hücre-matriks adezyonlarının sinyal iletimi aşamalarında görev alması

sebebiyle invazyonda önemli bir yere sahiptir. ECM degradasyonu sağlamakta olan tümör hücreleri aracılığıyla salgılanan Matriks Metaloproteinaz (MMP) proteinlerinin de süreçte yer almasıyla ECM geçilir ve stromaya gelen tümör hücreleri burada çoğalır (Özkara vd., 2020).

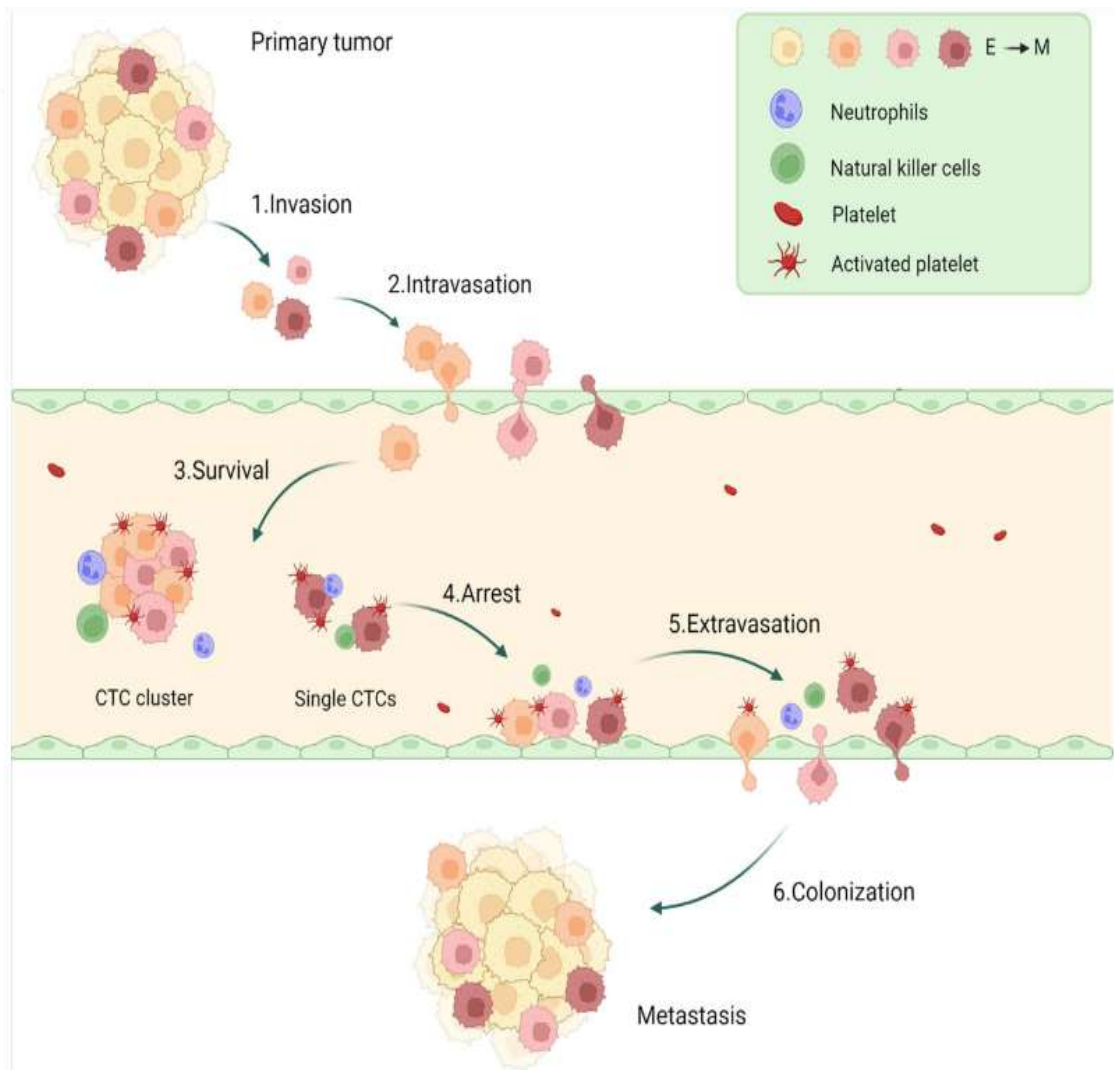
EMT öncelikle epitelyal genleri koordineli bir şekilde baskılayan ve mezenkimal genleri aktive eden bir dizi transkripsiyon faktörü (Snail, Twist ve Zeb1) ve miRNA'lar (miR200 ailesi) ile transkripsiyonel seviyede düzenlenir (Lu ve Kang, 2019). EMT, esas olarak Snai1, Twist ve Zeb ailelerinden olan EMT aktive edici transkripsiyon faktörleri (EMT-TF'ler) tarafından gerçekleştirilir. EMT-TF'ler kanserin başlangıcından birincil aşamasına kadar ilerlemesinin tüm aşamalarında önemli roller alırlar (Brabletz vd., 2018). EMT'nin klasik özellikleri arasında sıkı bağlantı bileşenlerinin kaybı (örneğin, E-kadherin, kladinler), kemorezistans ve kök hücre benzeri özelliklerin kazanılması yer alır. Fakat pratikte EMT'nin biyolojik etkileri çeşitli ve karmaşıktır. Bir tümör hücresinin EMT ile ilişkili olan özellikleri, doku tipine, maligniteye ve mevcut spesifik EMT sinyallerine bağlı olarak değişkenlik gösterebilir (Lo ve Zhang, 2018). Farklı EMT indükleyicilerinin ekspresyonu ve işlevi, farklı kanser türleri arasında büyük ölçüde farklılık gösterir ve EMT'nin kanser ilerlemesindeki kesin işlevi hala aktif olarak tartışılmaktadır (Lu ve Kang, 2019).

EMT'nin prostat, akciğer, karaciğer, pankreas ve meme kanserleri dahil olmak üzere birçok farklı kanserlerin tümör oluşumundaki rolü gösterilmiştir. E-kadherin ve katenin ekspresyonunun azalması veya kaybı, küçük hücreli dışı akciğer kanserinde (NSCLC) olumsuz bir prognostik faktör olarak kabul edilir. Ayrıca vimentin ve Snail küçük hücreli dışı akciğer kanseri (KHDAK)'nin malign fenotipi ile ilişkilendirilmiştir. İnvaziv fenotip prostat kanseri hücresinin, E-kadherin ekspresyonunun azalmasıyla, etkileyici derecede, lokal invazivlikle, kana yayılımla ve tedaviden sonra tümörün nüksetmesiyle ilişkili olduğu gösterilmiştir (Ribatti, Tamma ve Annese, 2020).

EMT, kanser hücrelerinin metastatik yayılımını kolaylaştırmasının yanında bazı kanserlerde tedaviye dirençle ilişkilidir. EMT belirteçleri olan gemsitabin, 5-florourasil ve sisplatine dirençli pankreas kanseri hücre dizilerinde zenginleştirilmiş; 5-florourasile karşı kemorezistans, meme kanseri hücrelerinde mezenkimal belirteçlerin ekspresyonu ile ilişkilidir ve epidermal büyüme faktörü (EGF) veya TGF- β ile EMT'ye tabi tutulmak

üzere indüklenen küçük hücreli dışı akciğer karsinomu hücreleri, sisplatin ve paklitaksele karşı artmış bir direnç göstermektedir. EMT aynı zamanda hepatoselüler ve küçük hücreli olmayan akciğer karsinomlarında tirozin kinaz inhibitörlerine ve meme kanserlerinde hormonal tedaviye dirençle de ilişkilidir (Davis vd., 2014).

EMT'nin kanserde ilk tanımı hücre kültürlerinde olmasına rağmen, in vivo rolüne ilişkin kanıtlar artık daha geniş çapta rapor edilmekte ve aynı zamanda aktif olarak tartışılmaktadır (Brabletz vd., 2018).



Kaynak: Huang vd., 2022

Şekil 2.8. Tumor metastazında EMT'nin Rolü

EMT belirteci olarak vimentin

Vimentin, meme kanseri, prostat kanseri, melanom ve akciğer kanseri dahil olmak üzere birçok epitelyal tümörde yüksek seviyelerde eksprese edilir ve ekspresyonu, tümör büyümesi, invazyonu, kötü prognoz için belirleyicidir ve kanser tedavisi için potansiyel bir hedef olarak hizmet etmektedir (Ribatti, Tamma ve Annese, 2020). Vimentin EMT uygulanan metastatik öncesi hücreler için bir belirteç olarak da kullanılmıştır ve bu nedenle yüksek vimentin ekspresyonu, kanserli hastalarda daha kötü sonuçlarla ilişkilidir (Satelli ve Li, 2011). Meme kanseri modellerinde EMT'nin in vivo ilişkisini araştıran önemli çalışmalar yapılmıştır. Bir çalışmada kombine immün yetmezlik (SCID) farelerine vimentin-negatif MDA-MB-468 meme kanseri hücreleri enjekte ederek in vivo bir meme EMT modeli geliştirmişlerdir. Bu farelerin, vimentin pozitifliğinin heterojen bölgelerini sergileyen primer tümörler geliştirdikleri ve bu vimentin pozitif hücre popülasyonlarının analizi ile diğer mezenkimal genler için zenginleşme gösterdiği görülmüştür. Ek olarak, dolaşımdaki tümör hücrelerinin de EMT belirteçleri ile arttığı bulunmuştur ve bu da spontan EMT olaylarının meme kanseri hücrelerinin in vivo intravazasyonunu ve metastatik yayılımını kolaylaştırabileceğini göstermektedir (Davis vd., 2014).

EMT belirteci olarak TGF- β

EMT'nin aktivasyonundan sonra, tümör epitel hücreleri hücre polaritesini ve hücre-hücre yapışmasını kaybeder, göçmen ve istilacı özellikler kazanarak mezenkimal hücrelere dönüşürler (Ribatti, Tamma ve Annese, 2020).

Karsinomlar açısından değerlendirildiğinde TGF- β 1, mezenkimal fenotipin kazanılmasını, invazyonu ve metastazı destekler. Yapılan in vitro bir çalışmada farklı karsinom hücre hatlarında EMT'nin aktivasyonu için iki SMAD yolunun (SMAD2–SMAD3 ve SMAD1–SMAD5) bir kombinasyonunun gerekli olduğu belirtilmiştir. TGF- β yolu, birkaç farklı mekanizma yoluyla EMT'nin aktivasyonuna neden olmaktadır. TGF- β 'nın indüklediği SMAD kompleksleri, mezenkimal genlerin (vimentin ve fibronektin) yanı sıra Snail, Slug, Zeb1 ve Twist EMT-TF'leri transkripsiyonel olarak aktive eder ve bunlar da E-kadherini baskılar (Dongre ve Weinberg, 2019). TGF- β /Smads yolunun, EMT ile ilişkili transkripsiyon faktörlerinin artışı ile en güçlü EMT indükleyicisi olduğu gösterilmiştir (Ribatti, Tamma ve Annese, 2020).

2.6 Karvakrol

Karvakrol, *Origanum* ve *Thymus* cinsleri dahil olmak üzere *Lamiaceae* familyasının esansiyel yağlarında bulunan doğal biyoaktif bir monoterpenoid fenoldür (Elbe vd., 2020).

Karvakrol, antimikrobiyal, antioksidan ve antikanser aktiviteleri gibi klinik uygulamalar için yararlı olduğu düşünülen geniş bir biyoaktivite yelpazesi vardır. Karvakrol'ün antimikrobiyal aktivitesi, serbest hidroksil grubunun, hidrofobikliğin ve fenol kısmının varlığı nedeniyle uçucu yağlarda bulunan diğer uçucu bileşiklerden daha yüksektir. Karvakrol, lipofilik özellikleri bulunmaktadır. Oda sıcaklığında (25 °C) 0.976 g/ml yoğunluğu vardır. Suda çözünmezken etanol, aseton ve dietil eterde yüksek oranda çözünebilmektedir (Mehdi,2011).

Karvakrol genel olarak güvenli bir gıda katkı maddesi olarak kabul edilmekte ve fırınlanmış yiyeceklerde, tatlılarda, içeceklerde ve sakızlarda tatlandırıcı madde olarak kullanılmaktadır (Mehdi vd., 2011). Karvakrol özellikle tatlandırıcı ve antimikrobiyal aktivitelere sahip olması sebebiyle, doğal bir gıda koruyucusu olarak önerilmiştir. Ayrıca *Zataria multiflora* Boiss, *Satureja hortensis* ve *Origanum vulgare*'den elde edilen bitki ekstraktlarının ana bileşeni olan karvakrol, bağışıklık sistemini iyileştirir ve bu bitkilerin antimikrobiyal, antioksidan, antiinflamatuvar ve antikanser özellikler kazanmasında rol oynar (Mehdi,2011).

İnsan hepatoma hücreleri, insan kolon hücreleri Caco-2 ve akciğer hücreleri V79 kullanılarak gerçekleştirilen çalışmalarda karvakrol ve timol'ün DNA kırılması yapmadığı, hidrojen peroksitle oluşturulan DNA kırıklarına karşı büyük oranda koruma sağladığı tespit edilmiştir (Başer, 2022). Yapılan çalışmalar sonucu, kolon kanseri hücrelerinde antioksidan ve anti-inflamatuvar işlevlere sahip olduğu görülmüştür. PI3K/Akt'ın yanı sıra MAPK yollarını hedef alarak prostat kanseri hücrelerinin malign biyolojik davranışlarını iyileştirdiği tespit edilmiştir (Luo vd., 2016). Önceki çalışmalarda karvakrolün karaciğer, akciğer, kolon ve meme kanseri hücre dizileri üzerinde antiproliferatif bir etkisi olduğu bildirilmiştir (Elbe vd., 2020). Karvakrol'ün Nrf2-Keap1 yolu ile ilişkili proliferasyonu, inflamasyonu ve migrasyonu inhibe ederek anti-OSCC etkileri gösterdiği bildirilmiştir (Liu vd., 2021). Çeşitli çalışmalar, karvakrolün matriks

metaloпротеаз 2 ve 9'un ekspresyonlarını azaltarak malign hücrelere karşı antikanser etkiye sahip olduğu bildirmiştir (Bayır, Kızıltan ve Koçyiğit vd., 2019).

Karvakrol mikroorganizmalar arasında *Escherichia coli*, *Salmonella* ve *Bacillus cereus* gibi gıda kaynaklı patojenlere karşı etki gösterir. Bunların büyümelerini ve toksin üretimini önler. Ayrıca mantarlara karşı da etkilidir ve *Candida* gibi biyofilmlerin oluşumunu engeller. Bu antimikrobiyal aktivite hem sıvı hem de gaz fazda gösterilmiştir. Karvakrolün antioksidan etkileri yalnızca in vitro olarak değil ayrıca pankreatit, hepatotoksisite ve karaciğer kanseri hayvan modellerinde de gösterilmiştir. Çok sayıda çalışma, karvakrolün ayrıca kaspaz-3, PARP ve Bcl-2 gen ekspresyonunun apoptoz mekanizmalarında ifade edilebileceği, esas olarak in vitro olarak güçlü bir antikanser aktivitesi sergileyebileceğini göstermiştir. Ancak hayvan modelleriyle ilgili az sayıda rapor bulunmaktadır ve daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. Biyoyararlanımını değerlendirmek, aktif formlarını ve hedef dokularını anlamak için karvakrol üzerinde insan çalışmalarına ihtiyaç vardır (Mehdi,2011).

3. YÖNTEM

3.1. Araştırma Modeli

Bu çalışma karvakrolün SKOV-3 insan over kanseri hücrelerinin EMT potansiyeline olan etkilerini belirleyip, vimentin ve TGF- β belirteçleri üzerindeki etkilerini incelemek amacıyla yapılmıştır. Çalışma in vitro bir araştırma olarak Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Ana bilim Dalı hücre kültürü laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

3.2. Araştırma Evren ve Örneklemi/Araştırma Materyali

Karvakrolün SKOV-3 hücrelerinde epitelyal- mezenkimal geçiş etkilerini inceleyen bu çalışmada kullanılan hücre hattı, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı hücre stoklarından temin edildi.

SKOV-3 hücre besiyeri olarak; %10 FBS (Fetal Bovin Serum), 100 I.U./mL penicillin-100 μ g/mL streptomycin, 2 mM L-Glutamin ve 25 mM HEPES içeren RPMI 1640 kullanıldı. Hücreler 37°C, %5 CO₂ ve %90 <nem koşullarını sağlayan inkübatör içerisinde kültüre edildi. Kültür kabı tabanına yapışan hücreler % 80-90 konfluent oluncaya kadar iki günde bir besiyerleri değiştirilerek idame ettirildi. Konfluent hale gelen hücrelerin pasajlanması için belirtilen basamaklar sırasıyla gerçekleştirildi. Hücreler % 0.25 Trypsin-EDTA (etilen diamin tetra asetik asit) solüsyonu kullanılarak kültür kabı tabanından ayrıldı. Trypsin-EDTA' nın etkisini nötralize etmek için serumlu besiyeri eklenerek 300 g' de 5 dakika santrifüj edildi. Ardından supernatant atılarak pellet toplandı. Hücre pelletine taze besiyeri eklendikten sonra 5X10³ hücre / cm² yoğunlukta yeni kültür kaplarına ekilerek ve inkübatöre kaldırıldı. Uygun pasaja kadar yeterli miktarda çoğaltılan hücreler dondurulduktan sonra -80°C ultra derin dondurucu ve azot tankı içerisinde stoklandı. Hücreler 9 birim FBS ve 1 birim dimetil sülfoksitten (DMSO) oluşan solüsyon içerisinde donduruldu.

Dört milimolar karvakrol stok solüsyonu hazırlandı. Stok solüsyonu hazırlanırken 54 μ L DMSO üzerine 5 μ L karvakrol eklenip çözündürüldü ve 8 mL besiyeri eklendi. Uygun dozlarda seyreltildi. Kültür kaplarına ekilen hücreler gece boyu (24 saat) inkübe edildi. Sonrasında kontrol ve deney grupları oluşturuldu.

Grup 1: Kontrol grubu: Karvakrol (0 μM): SKOV-3 hücrelerine hiçbir uygulama yapılmadı.

Grup 2: DMSO kontrol grubu: SKOV-3 hücreleri % 0.2 DMSO' lu besiyeri içerisinde 24 saat inkübe edildi.

Grup 3: 50 μM Karvakrol grubu: SKOV-3 hücreleri 50 μM Karvakrol uygulanarak 24 saat inkübe edildi.

Grup 4: 100 μM Karvakrol grubu: SKOV-3 hücrelerinde 100 μM Karvakrol uygulanarak 24 saat inkübe edildi.

Grup 5: 200 μM Karvakrol grubu: SKOV-3 hücrelerinde 200 μM Karvakrol uygulanarak 24 saat inkübe edildi.

Grup 6: 400 μM Karvakrol grubu: SKOV-3 hücrelerinde 400 μM Karvakrol uygulanarak 24 saat inkübe edildi.

Grup 7: 600 μM Karvakrol grubu: SKOV-3 hücrelerinde 600 μM Karvakrol uygulanarak 24 saat inkübe edildi.

Grup 8: 800 μM Karvakrol grubu: SKOV-3 hücrelerinde 800 μM Karvakrol uygulanarak 24 saat inkübe edildi.

Grup 9: 1000 μM Karvakrol grubu: SKOV-3 hücrelerinde 1000 μM Karvakrol uygulanarak 24 saat inkübe edildi.

Yukarıdaki gruplar ile gerçekleştirilen WST analizi sonucunda immünfloresan boyama ve yara iyileşme analizlerinde karvakrolün 24. saatte belirlenen IC_{50} değeri kullanılmıştır. Bunun sebebi karvakrolün dokulardaki tahmini yarı ömrünün 16.9 ila 25 saat arasında (Ferreira vd., 2018) olmasıdır. Ayrıca ikinci karvakrol uygulama grubunda IC_{50} değerinin % 10' u kullanılmıştır. Bunun sebebi ise hücre ölümleri azaldığında EMT belirteçlerinde (TGF- β ve vimentin) nasıl bir değişimin olacağının araştırılmak istenmesidir.

3.3. Veri Toplama Araçları

3.3.1. WST-1 Hücre Canlılık Analizi

Deney grupları oluşturulduktan sonra hücre canlılıklarının kolorimetrik olarak belirlenmesi için WST-1 analizi kullanıldı. Doksan altı kuyucuklu kültür kaplarının her kuyucuğuna 1×10^4 / kuyucuk SKOV-3 hücresi ekilerek, 24 saat SKOV-3 besiyeri ile 37°C , % 5 CO_2 ve % 90 < nem koşullarında kültüre edildi. Ardından her kuyucuğa deney gruplarına uygun besiyerlerinden 100 μl eklenerek deney grupları oluşturuldu. Deneyler

sonlandırıldıktan sonra kültür kabının her kuyucuğuna, 10 µl WST-1 çözeltisi eklendi ve 3 saat 37° C, % 5 CO₂ ve % 90 < nem koşullarında inkübe edildi. İnkübasyon sonunda 450 nm dalga boyunda absorbans ölçümleri gerçekleştirildi. Referans dalga boyu olarak 650 nm kullanıldı. Deneyler 2 tekrarlı olarak çalışıldı. Hesaplamalar için “(Absorbans 450 nm – Absorbans 650 nm) – Absorbans kör” formülü kullanıldı. Değerler pozitif kontrol ile kıyaslanarak yüzde canlılık elde edildi. Microsoft Excel programı yardımı ile uygulanan doz ve % hücre canlılık grafiği oluşturuldu (Li vd., 2021).

3.3.2. Vimentin ve TGF-β İmmü floresan Boyama

Yirmi dört kuyucuklu kültür kabına 12 mm çapında steril yuvarlak lameller yerleştirilerek, hücreler 5x10⁴ hücre/kuyucuk olacak şekilde 12 milimetrelik yuvarlak lameller üzerine ekildi. Yirmi dört saat 37° C, % 5 CO₂ ve % 90 < nem koşullarında kültürasyon sonrasında deney grupları oluşturuldu. Deneyler sonlandırıldıktan sonra kuyucuklar bir defa steril PBS ile yıkanarak % 4’ lük paraformaldehit ile oda sıcaklığında 2 saat fikse edildi. Fiksasyondan sonra 3 kez 5 dakika PBS ile yıkanarak ve % 0.1’ lik Triton-X 100 ile + 4° C’ de 10 dakika inkübe edilerek permeabilizasyon gerçekleştirildi. Yirmi dakika protein blok uygulandıktan sonra, yıkama yapmadan 1/100 dilüsyonda anti-vimentin ve anti-TGF-β antikorları ile +4°C’ de 1 gece inkübe edildi. Ertesi gün 3 defa PBS ile yıkandıktan sonra uygun sekonder antikor-FITC eklenerek +4° C’ de 1 saat bekletildi. Tekrar 3 kez 5 dakika PBS ile yıkandı ve DAPI boyası içeren mounting medium ile kapatılarak Olympus BX 50 (Olympus, Tokyo, Japan) marka floresan mikroskopta görüntülendi. Deneyler birbirinden bağımsız 3 paralel olacak şekilde çalışıldı. Hücreler 10 farklı alanda 40X büyütmede fotoğraflandı ve floresan ışımaya yoğunlukları düzeltilmiş total hücre floresanı (CTCF) değeri olarak hesaplandı (Karam vd., 2019).

CTCF (Düzenlenmiş Total Hücre Floresanı) değerinin hesaplanması

CTFC değeri, 40X büyütmede çekilen floresan mikroskop fotoğraflarından ImageJ Version 1.54g (Wayne Rasband National Institutes of Health, USA) ve Microsoft Excel 2016 (Microsoft®, USA) programları kullanılarak belirlendi.

Formül 1. CTCF hesaplamaları için kullanılan formül

CTCF = Integrated Density- (Area of selected cell x Mean fluorescence of background readings)

Her deney grubundan toplan 6 CTCF değeri ile istatistiksel analizler gerçekleştirildi (Yigitturk vd., 2022).

3.3.3. İn Vitro Yara Modeli Analizi

Altı kuyucuklu kültür kabının kuyucuklarına ekilen SKOV-3 hücreleri gece boyu (24 saat) inkübe edilerek monolayer hücre tabakası elde edildi. Hücre tabakası steril bir pipet ucu (10-100 µl sarı uç) yardımıyla bir baştan diğer başa tek hamlede çizilmesiyle in vitro yara modeli oluşturuldu. Çizme işlemi sırasında yüzeyden kalkan hücreleri uzaklaştırmak için üstteki besiyeri uzaklaştırılarak, steril PBS ile yıkandıktan sonra yeni besiyeri eklenerek deney grupları oluşturuldu. Yara oluşturulan alan invert mikroskopta (Zeiss Primovert), 4X büyütmede görüntülenerek, 0. saat (yara modeli oluşturulduktan hemen sonra), 6. saat ve 24. saatte fotoğraflandı. Her kuyucuktan 3 görüntü alındı. Image J görüntü analiz programı kullanılarak yara alanları pixel^2 olarak hesaplandı.

Formül 2. Yara kapanma oranının hesaplanması için kullanılan formül

$$\text{Yara kapanma oranı} = [(A_{t_0} - A_{t_x}) / A_{t_0}] \times 100$$

A_{t_0} = 0. saatteki yara alanı

A_{t_x} = x. saatteki yara alanı (Yara alanları 6. ve 24. saatlerde ölçüldü)

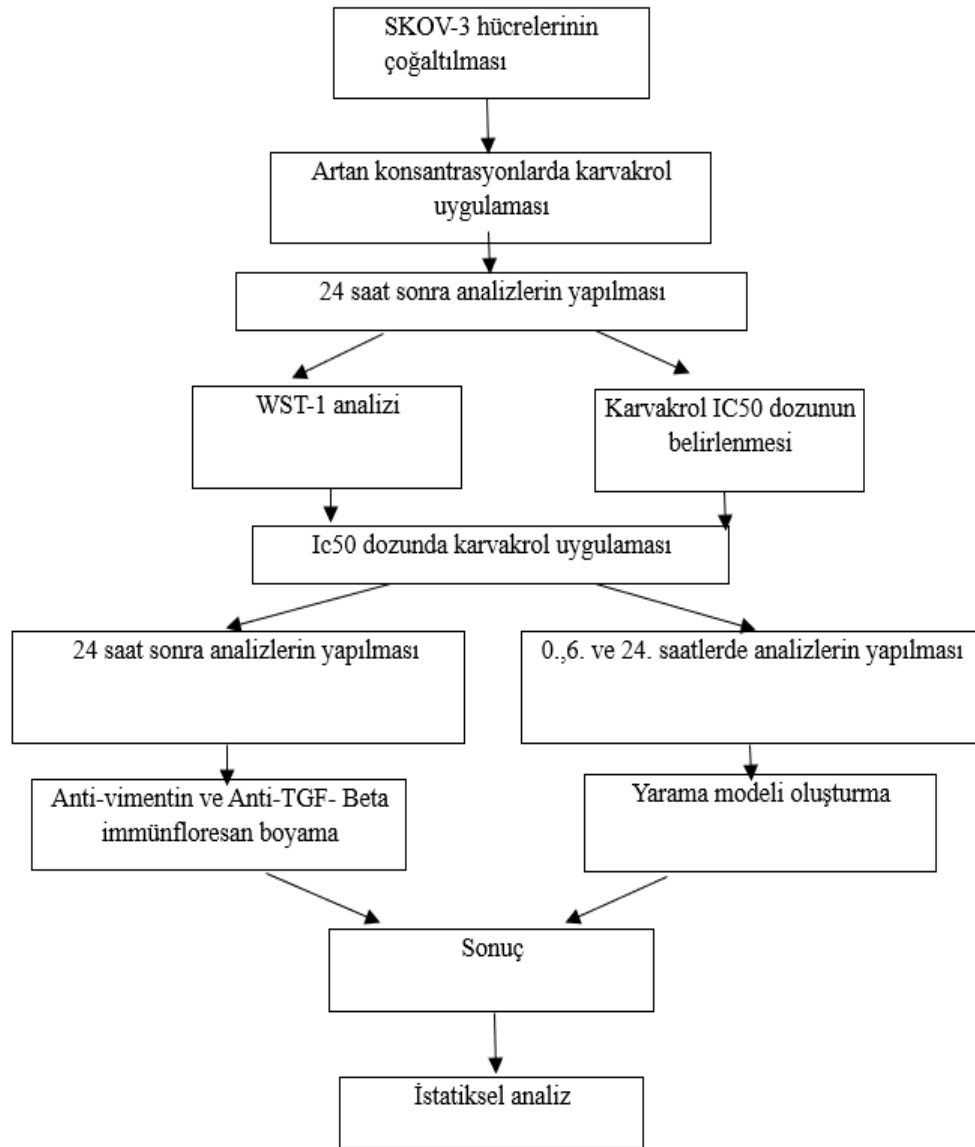
Ölçümler 3 paralelli olarak gerçekleştirilmiş ve elde edilen 3 değerın ortalaması alınmıştır (Felice vd., 2015).

3.4. Veri Toplama Süreci

Çalışma, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı hücre kültürü laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

Çalışmanın laboratuvar deneyleri 40 iş günü sürmüştür. Veriler WST-1 hücre canlılığı analizi, vimentin ve TGF- β immünfloresan boyama ve in vitro yara modeli analizi ile toplanmış ve istatistik analizleri yapılmıştır.

3.5. Deneysel Kurgu



Şekil 3.1. Çalışma planının şema ile gösterimi

3.6. İstatistiksel Analiz

Deney grupları arasındaki hücre canlılıkları karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. Deneyler birbirinden bağımsız 2 tekrar olarak yapıldı. Gruplara ait ortalama hücre canlılığı değerleri Students' t testi kullanılarak karşılaştırıldı. Verilerin kaydedilmesi ve istatistiksel analizler “SPSS 17.0 for Windows” (SPSS Inc., Chicago, Illinois, ABD) yazılımı kullanılarak yapıldı. Veriler aritmetik ortalama $\pm$ standart hata (SE) olarak ifade edildi. İstatistiksel anlamlılık değeri $p < 0.05$ olarak kabul edildi.

3.7. Etik Onay

Çalışmamızda etik onay gerekmemektedir.

3.8. Araştırmanın Sınırlılıkları

Bu çalışmada karvakrol SKOV-3 insan over kanseri hücrelerine uygulayarak vimentin ve TGF- β belirteçleri kullanılarak ve yara alanında hücre çoğalmasına bağlı kapanma oranı ve buna EMT potansiyelini belirlenmiş, karvakrolün SKOV-3 hücre canlılığı üzerindeki etkisini incelenmiştir. Karvakrolün sebep olduğu EMT inhibisyonu direkt olarak TGF- β ve vimentin ifadesindeki azalma ile ilişkilendirilse de farklı sinyal yolları ve moleküllerin etkileri de söz konusu olabilir. Mekanizmanın tam olarak anlaşılabilmesi için geniş ölçekli EMT belirteçleri ile tarama yapılması gerekmektedir. Çalışmamızda incelediğimiz EMT belirteçlerinin kısıtlılığı araştırmanın geliştirilmesi gereken yönüdür. Başta in vivo modeller üzerinden gerçekleştirilecek araştırmalar olmak üzere farklı karvakrol doz ve sürelerinde moleküler düzeyde çalışmaların planlanmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

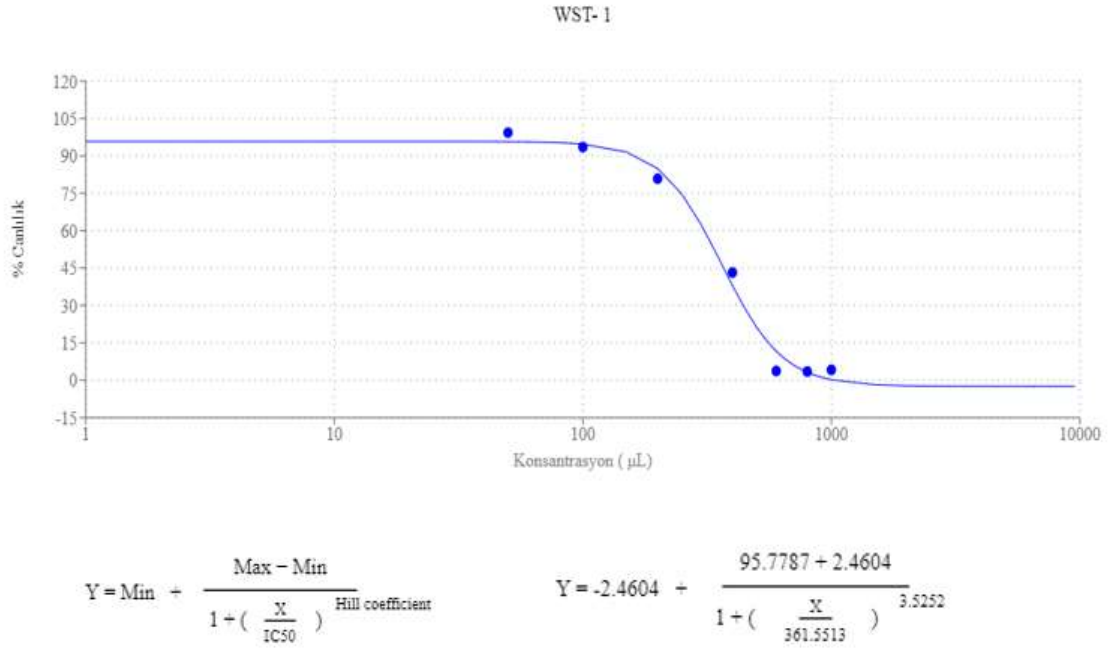
4. BULGULAR

4.1. WST Analizi ile Karvakrol IC₅₀ Bulguları

WST-1 testi ile karvakrol sitotoksitesi absorbans sonuçları değerlendirilmiştir. SKOV-3 insan over kanseri hücrelerine 50, 100, 200, 400, 600, 800 ve 1000 µg/µl karvakrol uygulamasından 24 saat sonra WST-1 analizleri yapıp IC₅₀ dozu belirlenmiştir (Şekil 4.1, Tablo 4.1).

Tablo 4.1. Karvakrol konsantrasyonuna bağlı (%) SKOV-3 hücre canlılığı tablosu

Gruplar	OD	% Canlılık
Kontrol	3.315	100
DMSO	3.261	100
50	3.240	99.34069304
100	3.051	93.56025759
200	2.637	80.86476541
400	1.409	43.20760503
600	0.122	3.725850966
800	0.114	3.495860166
1000	0.136	4.170499847

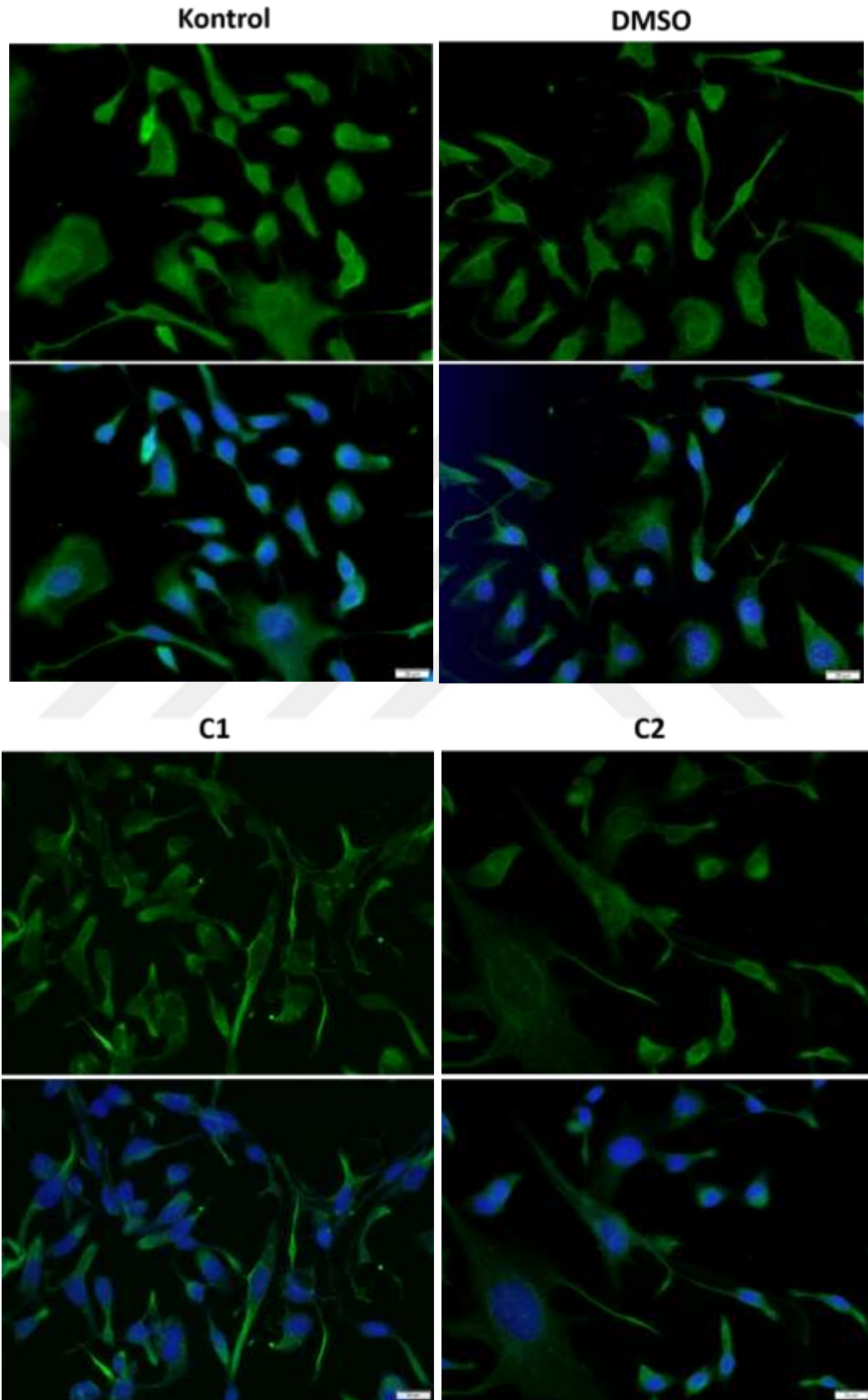


Şekil 4.1. Karvaktrol konsantrasyonuna bağlı (%) SKOV-3 hücre canlılık grafiği ve IC50 hesaplaması

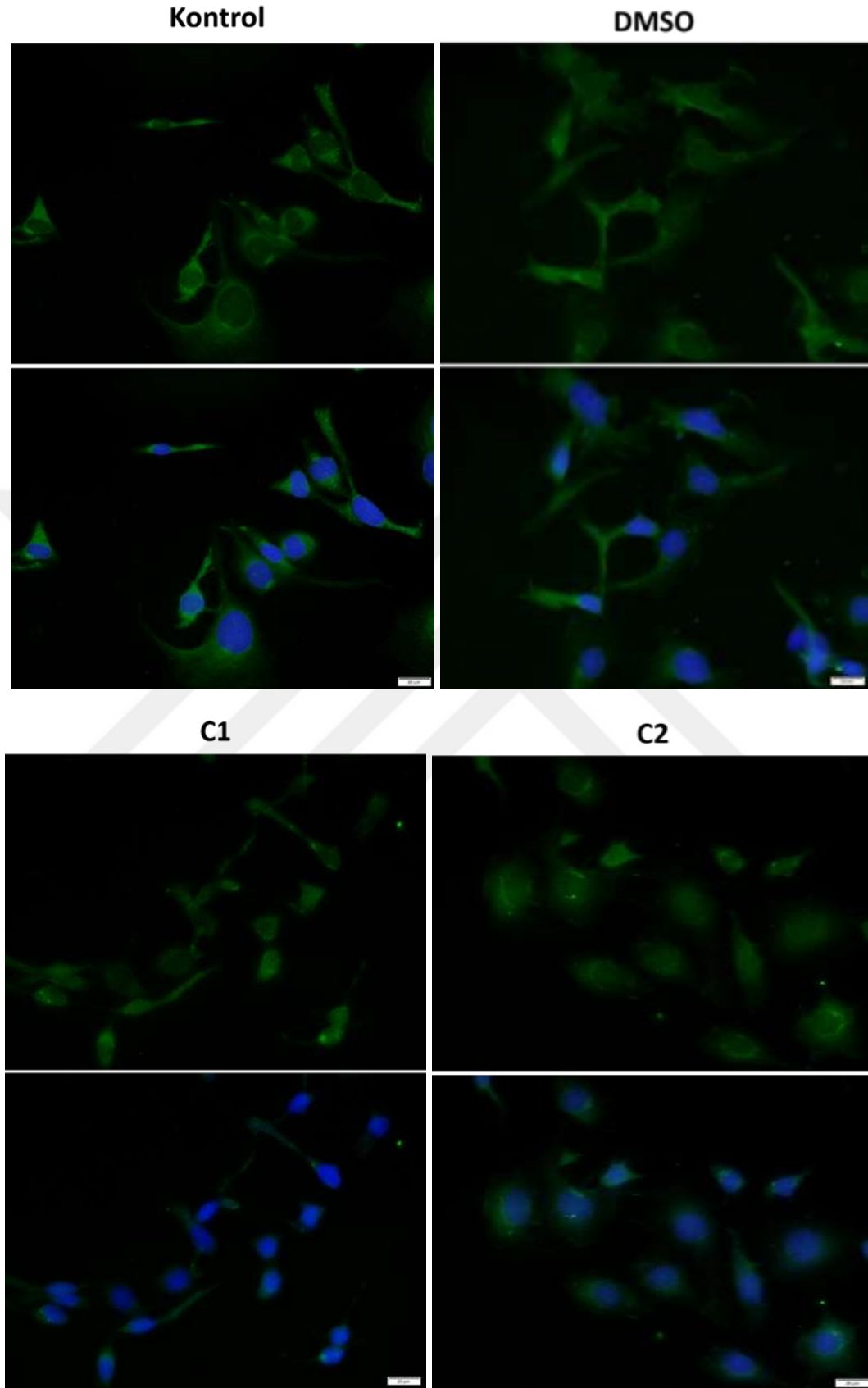
4.2 Anti-vimentin ve Anti-TGF-β İmmünfloresan Boyama Sonuçları

Kontrol, DMSO, C1 ve C2 (IC₅₀ değerinin %10' u) gruplarının 24. saat sonunda anti-vimentin immünfloresan boyaması Şekil 4.2'de gösterilmiştir. Floresan ışımaya yoğunluğu CTCF değeri olarak hesaplanarak Tablo 4.2'te gösterilmiştir. Anti-vimentin boyamasında, floresan ışımaya ağırlıklı olarak SKOV-3 hücrelerinin perinükleer bölgesinde olmak üzere (perinükleer halka) tüm sitoplazmada gözlenmiştir. Kontrol, DMSO ve C2 grupların CTCF değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı fark gözlenmemiştir. C1 grubu CTCF değerinin kontrol grubu (p<0.05) ve DMSO grubu (p<0.01) ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı düşük olduğu izlenmektedir.

Kontrol, DMSO, C1 ve C2 gruplarının 24. saat sonunda Anti-TGF-β immünfloresan boyaması Şekil 4.3'te gösterilmiştir. Floresan ışımaya yoğunluğu CTCF değeri olarak hesaplanarak Tablo 4.2'de gösterilmiştir. Anti-TGF-β boyamasında floresan ışımaya ağırlıklı olarak SKOV-3 hücrelerinin sitoplazma ve nükleusunda gözlenmiştir. Fakat sitoplazmik boyama nükleer boyamada çok daha yoğundur. Floresan ışımaya bölgeleri ağırlıklı olarak granül kümeleri şeklinde gözlenmektedir. Kontrol, DMSO ve C2 grupların CTCF değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı fark gözlenmemiştir. C1 grubu CTCF değerinin kontrol grubu (p<0.05) ve DMSO grubu (p<0.01) ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı düşük olduğu izlenmektedir.



Şekil 4.2. Deney gruplarına ait anti-vimentin immüno Floresan boyaması. X40



Şekil 4.3. Deney gruplarına ait anti-TGF- β immünfloresan boyamaları. X40

Tablo 4.2. Deney gruplarının anti-vimentin ve anti-TGF- β immünfloresan boyalarına ait CTCF değerleri

Gruplar	VİMENTİN	TGF- β
Kontrol	1175994.79 $\pm$ 128720.02	72598133 $\pm$ 92686.31
DMSO	116306350 $\pm$ 92514.03	70755078 $\pm$ 48635.79
C1	60217152 $\pm$ 34971.62 a, b	25800668 $\pm$ 24916.29 a, b
C2	72984331 $\pm$ 28642.37	49096748 $\pm$ 26062.20

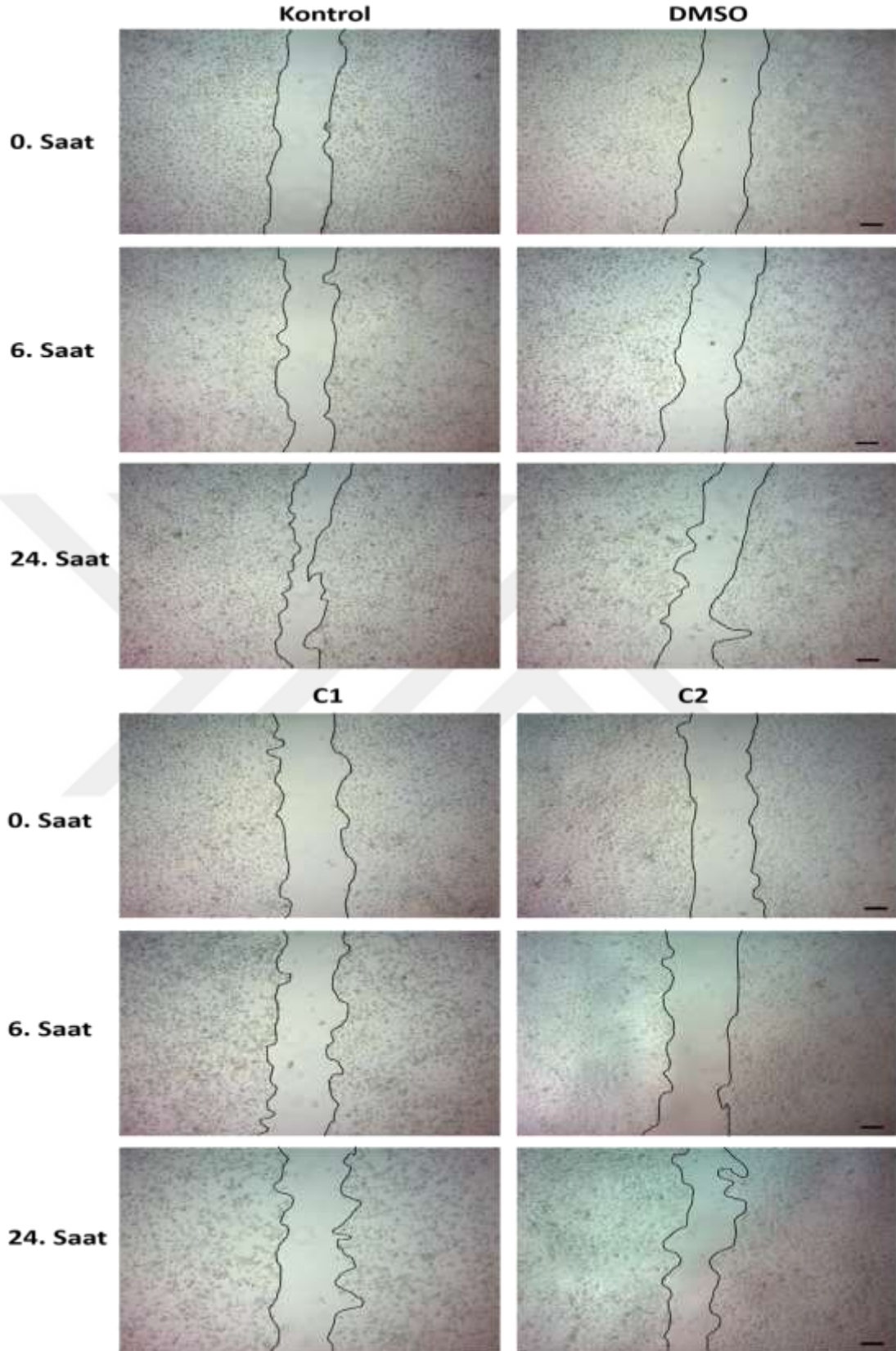
Aritmetik ortalama $\pm$ SEM, ^ap<0.05 Grup 3 vs Grup 1, ^bp<0.01 Grup 3 vs Grup2

4.3.Yara İyileşme Analizi Sonuçları

Kontrol, DMSO, C1 ve C2 gruplarının 0., 6. ve 24. saatlerdeki yara alanları Şekil 4.4'te gösterilmiştir. Bu alanlara ait yara kapanma oranları Tablo 4.3'te verilmiştir. Kontrol grubunda 6. saatte yara kapanma oranı % 15.88 iken 24. saatte % 34.96' dır. DMSO grubunda yara kapanma oranı 6. saatte % 7.41 iken 24. saatte 35.33' dür. Bu iki grupta 24. saatlerde yara kapanma oranları benzer şekilde artmıştır. Karvakrol uygulanan gruplardan C1' de 6. saatte yara kapanma oranı % - 3.51 iken 24. saatte % -7.61'dir. C2 grubunda yara kapanma oranı 6. saatte % -2.25 iken 24. saatte % 19.69' dur. Her iki grupta da gözlenen negatif değerler hücre inhibisyonunu (yara alanının kapanmayıp hücre ölümü sebebi açıldığını) göstermektedir. Negatif yüzdelerde rakam değeri büyüdükçe inhibisyon artmaktadır. En yüksek hücre inhibisyon değeri C1 grubunun 24. saatinde elde edilmiştir.

Tablo 4.3. Deney gruplarının 6. ve 24. saatlerdeki (%) yara alanı kapanma oranları

Gruplar	6. saatte yara kapanma oranı (%)	24 saatte yara kapanma oranı (%)
Kontrol	15.88	34.96
DMSO	7.41	35.33
C1	-3.51	-7.61
C2	-2.25	19.69



Hücre içermeyen yara alanları siyah düz çizgiler arasında kalmaktadır.

Şekil 4.4. Yara iyileşme analizi fotoğrafları. Deney gruplarının 0., 6. ve 24. saatlerdeki yara (çizik) alanları. X4

5. TARTIŞMA

Over kanseri, kadınlarda jinekolojik malign tümörler arasında dünya çapındaki en ölümcül türdür ve her yıl insidansında artış görülmektedir. Bu kanser tipleri kendine özgü biyolojileri ve tedaviye verdikleri yanıtlara göre alt türlere ayrılırlar (Zamwar ve Anjankar, 2022). Epitelyal over kanserlerinin sebepleri tam olarak anlaşılamamakla birlikte, hücresel düzeyde genetik hasarların birikimi sonucunda ortaya çıktığı düşünülmektedir. Fakat bu hasarların ortaya çıkış sebepleri tam olarak tanımlanamamıştır (Ho, 2003).

Araştırmacılar son yıllarda, kanser tiplerine özel yeni ilaçların geliştirilmesi için tıbbi bitkilerin biyolojik olarak aktif olan türevlerine yoğunlaşmışlardır (Singh, Luqman ve Meena, 2023). Bitki kaynaklı maddeler, çok yönlü uygulamaları nedeniyle son zamanlarda büyük ilgi görmeye başlamıştır (Khan vd., 2010). Kekik esansiyel yağlarının in vitro antikarsinojenik özellikleri ile ilgili yapılan çalışmaların sonuçları oldukça dikkat çekicidir. Karvakrolün anti-kanserojen, anti-genotoksik, anti-oksidan ve anti-inflamatuar aktivitelere sahip olduğu gösterilmiştir (Singh, Luqman ve Meena, 2023).

Yapılan bir çalışmada karvakrolün HCT116 ve LoVo kolon kanseri hücre hatları üzerinde antikarsinojenik etkilere sahip olduğunu bildirmiştir (Fan vd., 2015). Karvakrolün, A549 akciğer kanseri hücre hattında 250, 500 ve 1000 molar konsantrasyonlarda hücre büyümesini doza bağlı olarak inhibe ettiği bulunmuştur (Koparal ve Zeytinoğlu, 2003). Karvakrol K562 kronik miyeloid lösemi hücreleri, B16 murin melanoma hücreleri ve MDA-MB 231 insan metastatik meme kanseri hücre hatları üzerinde anti-proliferatif özellikler gösterilmiştir (Arunasree, 2010; Mehdi vd., 2011). Çeşitli raporlar, karvakrolün matriks metaloproteaz 2 ve 9'un ekspresyonunu azaltarak hücre invazyonunu bloke ettiğini ortaya çıkarmıştır (Fan vd., 2015). Mehdi ve ark. çalışmalarında karvakrolün serviks kanseri hücre hatları olan HeLa ve SiHa hücrelerinin proliferasyonunu inhibe ettiğini bildirilmiştir (Mehdi vd., 2011).

H1299 küçük hücreli olmayan akciğer kanseri hücrelerine 25–1000 μM arasında uygulanan karvakrolün hücrelerin canlılığını azalttığı belirtilmiştir. 24 ve 48 saat inkübasyon sonrası elde edilen IC_{50} değerleri sırasıyla 380 μM ve 244 μM olarak tespit

edilmiştir. Karvakrolün sitotoksik ve antioksidan etkiler sergilediği belirtilmiştir (Özkan ve Erdoğan, 2012). Bir diğer çalışmada karvakrolün orta derecede sitotoksikite ile anti-tümöral etkiler gösterdiği belirtilmiştir. B16-F10 melanoma hücrelerinde karvakrolün 24 saatlik IC₅₀ değeri 550 µM olarak bulunmuştur (Satooka, ve Kubo, 2012). HepG2 hepatosellüler karsinoma hücre hattının 24 saatlik IC₅₀ değeri 425 µM olarak bulunmuştur. Karvakrolün apoptozu indüklediği ve kanser hücrelerine karşı anti-tümöral bir molekül olarak kullanılabileceği belirtilmiştir (Melušová, Jantová ve Horváthová, 2015). Farklı bir çalışmada ise HepG2 hepatosellüler karsinoma ve Caco-2 kolorektal adenokarsinoma hücre hatları üzerinde karvakrolün 24 saatlik IC₅₀ değerleri sırasıyla 350 µM ve 600 µM olarak bulunmuştur. Karvakrolün hücre proliferasyonunda azalmaya sebep olduğu anti-proliferatif ve antioksidan etkileri gösterdiği bildirilmiştir (Slamenova vd., 2007). U87 glioblastoma ve MDA-MB 231 meme kanseri hücrelerine karvakrol uygulanıp 24 saat sonra MTT analizi ile IC₅₀ değerleri sırasıyla 322 µM ve 199 µM olarak tespit edilmiştir. Karvakrolün, meme kanseri hücre hattına karşı antikanser ve antiproliferatif aktivite gösterdiği belirtilmiştir (Baranauskaite vd., 2017). Farklı bir çalışmada MDA-MB 231 hücrelerinin IC₅₀ değeri 48. saatte 100 mM olduğu belirlenmiştir (Arunasree, 2010). Yapılan bir çalışmada karvakrol uygulamasının hücre proliferasyonunu, migrasyonunu ve invazyonunu baskılayarak in vitro anti-prostatik etkilere sahip olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada PC-3 ve DU 145 hücrelerine 250-1000 µM konsantrasyonları arasında karvakrol uygulanmış 24 saat inkübasyon sonrası IC₅₀ değerleri sırasıyla 498.3 ± 12.2 µM ve 430.6 ± 21.9 µM olarak bulunmuştur (Luo vd., 2016).

Elbe ve ark. çalışmalarında karvakrolün SKOV-3 over kanseri hücrelerinin canlılığını doza ve zamana bağlı olarak azalttığını göstermiştir. IC₅₀ değeri 322.50 µM olarak bulunmuştur (Elbe vd., 2020). Belirtilen araştırma bizim çalışmamız ile aynı laboratuvar da gerçekleştirilmiştir. Fakat metodolojide farklılıklar bulunmaktadır. Çalışmamızda hücre canlılığı tespitinde WST analizi kullanılırken Elbe ve ark. çalışmasında MTT analizi kullanılmıştır. Buna rağmen karvakrolün 24 saatlik IC₅₀ dozlarının birbirine oldukça yakın olduğu görülmektedir (çalışmamızda bulunan IC₅₀: 361.5 µM). Bulduğumuz IC₅₀ değeri karvakrolün farklı kanser hücrelerindeki IC₅₀ değerlerine göre farklılık göstermektedir. Kanser hücre hatları ile yapılan çalışmaların geneli incelendiğinde, karvakrolün IC₅₀ değerinin 90-125 mM arasında değiştiği görülmektedir (Arunasree, 2010). Farklı hücrelerde birbirinden farklı IC₅₀ değerlerinin

bulunmasının sebebi olarak; her kanser hücresinin sitotoksik moleküllere duyarlılığının kendine özgü olmasından kaynaklandığı düşüncesindeyiz. Bu duyarlılık; i) hücre yüzey reseptörlerinin veya sayısının farklılığından, ii) gen ekspresyonlarının veya epigenetik modifikasyonların farklılığından gerçekleşebilir. Hatta bu mekanizmalar sayesinde ilaç duyarlılıkları aynı kanser tipinde hastadan hastaya veya bir tümör hücre popülasyonu içerisinde hücreden hücreye bile değişkenlik gösterebilmektedir.

Kanser hücrelerinin EMT yoluyla oldukça proliferatif ve nispeten hareketsiz bir epitelyal fenotipten daha invazif bir hücre tipine geçişinin, tümör metastazında önemli bir role sahip olduğu giderek daha fazla kabul edilmektedir (Davis vd., 2014). EMT'nin kanser ilerlemesindeki kesin rolü aktif olarak tartışılmaktadır (Lu ve Kang, 2019). Meme ve cilt kanserlerine yönelik fare modellerini kullanan çalışmalar, EMT yolaklarının aktivasyonunun, primer tümör hücrelerinin akciğerlere yayılması için önemli bir yol olduğunu göstermiştir. Yayılmış hücrelerin daha sonra EMT'yi tersine çevirerek makroskobik tümörler oluşturmak için tekrar epitelyal özellikler kazandığı gösterilmiştir (Ribatti, Tamma ve Annese, 2020). Liu ve ark. karvakrolün, CAL-27 oral skuamöz hücreli karsinoma hücrelerinde çoğalma, invazyon ve EMT yolunu inhibe ettiğini rapor etmiştir (Liu vd., 2021). Bu çalışmada 12.5 μ M karvakrol konsantrasyonu kullanılmıştır. Karvakrol'ün vimentin, N-kadherin ve E-kadherin ekspresyonunu azalttığı görülmüştür. Dolayısıyla karvakrolün, EMT'yi inhibe edebileceği sonucuna varılmıştır.

Vimentinin, kanser hücrelerinin göçünü ve hücre yapışmasını düzenlemesi sebebi ile, kanser progresyonunda önemli bir faktör olduğu bilinmektedir. Aşırı ekspresyonu prostat, gastrointestinal sistem, meme ve diğer birçok kanserde rapor edilmiştir. Vimentin, EMT sırasında meydana gelen hücre iskeletinin yeniden düzenlenmesine katılarak ve EMT ilişkili sinyal yollarını düzenleyerek metastazı teşvik etmektedir (Wu vd., 2018). EMT için kanonik bir mezenkimal belirteç olarak tanınmaktadır. Çeşitli araştırmalar, vimentinin meme kanseri, mide kanseri ve prostat kanseri gibi insan epitelyal kanserlerinde aşırı eksprese edildiğini ve kötü prognoz ile yakından bağlantılı olduğunu göstermiştir (Chaw vd., 2012). Bir çalışmada şiddetli kombine immün yetmezliğe (SCID) sahip farelere vimentin-negatif MDA-MB-468 meme kanseri hücreleri enjekte ederek in vivo tümör modeli oluşturulmuştur. Bu fareler, heterojen vimentin pozitifliği sergileyen primer tümörler geliştirmişlerdir. Ek olarak, dolaşımdaki tümör hücrelerinin de EMT belirteçleri ile zenginleştiği görülmüştür. Bu sonuçlar

EMT'nin meme kanseri hücrelerinin intravazasyonunu ve metastatik yayılımını kolaylaştırabileceğini göstermektedir (Bonnomet vd., 2012). Mezenkimal bir belirteç olan vimentin ekspresyonu arttıkça kanser progresyonu, patolojik evreleri ve bölgesel lenf nodlarına metastazın arttığı görülmüştür. Ayrıca damar invazyonu olan kanserlerde vimentin artışı bildirilmiş, metastaz ve invazyona paralel olarak vimentin artışı ortaya konulmuştur (Niknami, 2020). Geçtiğimiz birkaç yılda, vimentinin primer kanser hücrelerinin sitoplazmasında lokalize olduğu bulunmuştur. Şu anda klinik tümör dokularındaki vimentin çekirdekleri hakkında çok az şey bilinmektedir. Yapılan bir çalışmada glioblastoma multiforme (GBM) hücre hatlarında nükleer bir bileşen olarak vimentinin (vimentin354) lokalizasyonunu immünopresipitasyon ve proteomik analizle tanımlanmıştır (Wang vd., 2010). Ayrıca vimentinin p21 transkripsiyonunu düzenlediğini ve insan nöroblastoma hücre hatlarının nükleusunda eksprese edildiğini bildirmiştir (Mergui vd., 2010). Bir çalışmada vimentinin ağırlıklı olarak tümör hücrelerinin nükleuslarında, özellikle de tümörün invaziv bölgesinde lokalize olduğu, buna karşın tümör hücrelerinin sitoplazmasında ekspresyonun nadiren tespit edildiği (sırasıyla %53.3 ve %13.1) gözlemlendi. Benzer bir çalışmada, vimentin ekspresyonunun ağırlıklı olarak papiller tiroid karsinomu hücrelerinin sitoplazmasının subnükleer ve bazal kısmında olduğu rapor edilmiştir (Liu vd., 2011). Çalışmamızda vimentin floresan boyaması diğer çalışmalara benzer şekilde başta SKOV-3 hücrelerinin perinükleer bölgesi olmak üzere tüm sitoplazmada gözlemlenmiştir.

Çalışmamızda karvakrolün SKOV-3 insan over kanseri hücrelerinde EMT üzerine etkilerini incelemek için kullandığımız belirteçlerden biri de vimentindir. Vimentin seviyesindeki azalış nedeniyle önceki çalışmaya benzer şekilde, karvakrolün EMT potansiyelinde azalmaya neden olabileceğini düşünmekteyiz.

TGF- β , EMT'yi indükleyen dikkat çekici bir belirteçtir (Derynck, Muthusamy ve Saetern. 2014). TGF- β 'nın indüklediği EMT, epitelyal belirteçte (E-kadherin) bir azalma ve mezenkimal belirteçlerde (N-kadherin, fibronektin, vimentin, Slug ve Snail) bir indüksiyonla gösterilmiştir (Kim vd., 2020). TGF- β bağımlı EMT için JAK/STAT3 yolunun gerekli olduğu ve akciğer kanserinde IL-6/JAK/STAT3 ile TGF β /SMAD yollarının sinerjistik olarak EMT'yi uyardıkları bildirmişlerdir (Liu vd., 2014). Yapılan bir çalışmada TGF β 1'in Slug, Snail ve β -kateninin ekspresyonunu ve over kanseri hücrelerinde lokalizasyonlarını artırdığı görülmüştür (Hou vd., 2016). EMT sürecinin

tipik özellikleri arasında, E-kadherin gibi epitelyal belirteçlerin ekspresyonunun azalması, vimentin dahil mezenkimal belirteçlerin artışı ve hücre dışı matrisleri parçaladığı bilinen çeşitli proteazların salgılanması yer alır (Da Silva vd., 2015). Yapılan bir çalışmada karvakrolün, TGF- β sinyal yolunun inhibisyonuna sebep olduğu ve TGF- β gen ekspresyonunu azalttığı gösterilmiştir (Mohseni, vd., 2019).

İmmün boyamalar kullanılmış literatür çalışmalarında, TGF- β 'nin hücrenin hem sitoplazma hem de nükleusunda lokalize olduğu gözlenmiştir (Javle vd., 2014). Wormstone ve ark. ise sadece sitoplazmada yoğun bir boyama tespit etmiştir (Wormstone vd., 2004). Çalışmamızda TGF- β floresan boyaması SKOV-3 hücrelerinin sitoplazma ve nükleusunda izlenmektedir.

Çalışmamızda karvakrol uygulamasının vimentinde olduğu gibi TGF- β boyama yoğunluğunda da azalışa sebep olması nedeniyle EMT potansiyelinde azalmaya neden olabileceğini düşünmekteyiz. Literatürlerde karvakrolün EMT baskılayıcı mekanizmasına bakıldığında Li ve ark.'nın (2021) bu inhibisyonunu Nrf2 (nükleer faktör eritroid 2 ile ilişkili faktör 2) transkripsiyon faktörü blokajı ile ilişkilendirdiği görülmektedir (Liu vd., 2021). Nrf2 inhibitörü kullanılarak veya Nrf2 geni susturularak yapılan deneylerde hücre göçünün azaldığı görülmüştür. Sonuç olarak Nrf2 yıkımı ve/veya karvakrol tedavisinin, göç eden hücrelerin sayısını önemli azalttığı kanıtlanmıştır. Çalışmamızda oluşturulan yara modelinde karvakrolün EMT potansiyelinde azalmaya sebep olduğu sonucu elde edilmiştir. Bu azalmaya sebep olan mekanizma belirttiğimiz araştırmaya benzer şekilde Nrf2 yolu blokajı üzerinden olabilir.

Yaraların yeniden epitelizeasyonu, hasarlı bölge çevresinde ve/veya içinde keratinositlerin toplu göçünü, çoğalmasını ve farklılaşmasını içermektedir (Haensel ve Dai, 2018). Hem in vitro hem de in vivo deneylerde, yara merkezine doğru göçün başlangıcından önce, komşu keratinositlerin travma sonrası uyarıldığı görülmüştür. Bu uyarı ile hücrelerin moleküler yapısı, morfolojisi, hücre iskeleti ve yapışkanlığında değişikliklere sebep olan bir hazırlık aşamasının başladığı tespit edilmiştir. Bu değişikliklerin bazıları EMT esnasında meydana gelen değişikliklere benzemektedir. Böylece yeniden epitelizeasyonunun kısmi bir EMT süreci olduğu yönündeki yaygın görüş desteklenmektedir (Arnoux vd., 2005). Her ne kadar bazı rejeneratif mekanizmalar hala gizemini korusa da EMT'den kaynaklanan mezenkimal hücre fenotipinin varlığı, uygun

doku rejenerasyonu için temel bir ön koşuldur (Marconi vd., 2021). Termal yanık hastalarının akut yaralarına göç eden epitel uzantılarında ve hipertrofik skarlarda, vimentin ve fibroblast spesifik protein 1'in (FSP1) yüksek ekspresyonu bildirilmiştir (Yan ve diğerleri, 2010). İyileşen yaraların epidermisinde proliferasyonun azalması EMT ile hücre çoğalması arasında ters bir korelasyon olduğu için dikkate değerdir. EMT'nin aynı zamanda kendini yenileme ve çoğalma yeteneğini kapsayan kanser kök hücre özelliklerini desteklediği de raporlanmıştır (Haensel ve Dai, 2018). Yaranın yeniden epitelizasyonunun EMT ile ortak sinyal yollarını kullandığı, ancak altta yatan mekanizmaların farklı olabileceği bildirilmiştir (Terao ve ark. 2012; Haensel ve Dai, 2018).

Verilerimiz, karvakrolün doza bağlı olarak SKOV-3 insan over kanseri hücrelerinin çoğalmasını engelleyebileceğini ve sitotoksik etkiler gösterebileceğini ortaya koymaktadır. Çalışmamızın ana amacı olan karvakrol uygulamasının SKOV-3 hücreleri üzerinde EMT ilişkili değişimlere sebep olup olamayacağı değerlendirildiğinde ise; karvakrolün SKOV-3 hücrelerinin EMT potansiyelini ve önemli EMT belirteçlerinden olan TGF- β ve vimentin ifadesini güçlü bir şekilde azalttığı görülmektedir. EMT inhibisyonu direkt olarak TGF- β ve vimentin ifadesindeki azalma ile ilişkilendirilse de farklı sinyal yolları ve moleküllerin etkileri söz konusu olabilir. Mekanizmanın tam olarak anlaşılabilmesi için diğer EMT belirteçleri ve ilişkili yollar taranmalıdır.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

6.1. Sonuçlar

Bu çalışmada SKOV-3 insan over kanseri hücrelerinde karvakrolün EMT üzerindeki etkileri incelenmiştir. WST-1 ile yapılan hücre canlılığı analizi sonucunda SKOV-3 over kanseri hücrelerinde hücre canlılığında, karvakrol uygulaması sonrası konsantrasyona bağlı azalma görülmüştür.

Yirmi dördüncü saatin sonunda kontrol, DMSO, C1 ve C2 gruplarının anti-vimentin ve anti-TGF- β immünfloresan boyaması sonuçları değerlendirildiğinde, floresan ışımının Anti-vimentin boyamasında ağırlıklı olarak SKOV-3 hücrelerinin perinükleer bölgesi olmak üzere tüm sitoplazmada görülmüştür. Kontrol, DMSO ve C2 grupların CTCF değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı fark gözlenemezken, C1 grubu CTCF değerinin kontrol grubu ve DMSO grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşük olduğu bulunmuştur. Anti-TGF- β boyamasında floresan ışıma yoğun olarak SKOV-3 hücrelerinin sitoplazma ve nükleusunda gözlenmekle birlikte sitoplazmik boyamanın nükleer boyamadan çok daha yoğun olduğu izlenmiştir. Floresan ışımın bölgeleri genellikle granüler kümeler şeklindedir. Kontrol, DMSO ve C2 grupların CTCF değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı fark gözlenemezken, C1 grubu CTCF değerinin kontrol ve DMSO grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşük olduğu izlenmiştir. EMT belirteçleriyle elde edilen bu veriler, karvakrolün SKOV-3 hücrelerinin EMT potansiyeli üzerinde azalmaya neden olduğunu göstermiştir.

Yara İyileşme analizi sonuçlarına göre kontrol, DMSO, C1 ve C2 gruplarının 6. ve 24. saatlerdeki yara alanları incelendiğinde en geniş yara alanı C1 grubunun 24. saatinde tespit edilmiştir. Karvakrol uygulamasının EMT kaynaklı yara alanı kapanmasını inhibe ettiği görülmüştür.

Sonuç olarak; karvakrolün SKOV-3 insan over kanseri hücrelerinde i) canlılığını konsantrasyona bağlı olarak azaltabileceği, ii) proliferasyonu engelleyebileceği, iii) TGF- β ve vimentin üzerinden EMT inhibisyonu sağlayabileceği görülmektedir. Elimizdeki veriler, karvakrolün EMT üzerinden over kanseri tedavisini hedef alan çalışmalarda bir araştırma potansiyelinin olabileceğini göstermektedir.

6.2. Öneriler

Karvakrolün sebep olduğu EMT inhibisyonu direkt olarak TGF- β ve vimentin ifadesindeki azalma ile ilişkilendirilse de farklı sinyal yolları ve moleküllerin etkileri de söz konusu olabilir. Mekanizmanın tam olarak anlaşılabilmesi için geniş ölçekli EMT belirteçleri ile tarama yapılması gerekmektedir. Çalışmamızda incelediğimiz EMT belirteçlerinin kısıtlılığı araştırmanın geliştirilmesi gereken yönüdür. Başta in vivo modeller üzerinden gerçekleştirilecek araştırmalar olmak üzere farklı karvakrol doz ve sürelerinde moleküler düzeyde çalışmaların planlanmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

Çalışmamızın, günümüzde yaygın olarak kullanılan karvakrolün over kanseri hücreleri üzerindeki etkilerini belirleyerek toplumun bu konuda bilgilendirilmesini sağladığı düşüncesindeyiz. Literatür araştırmalarımıza göre karvakrolün SKOV-3 insan over kanseri hücrelerinin EMT'si üzerine etkilerini inceleyen çalışmamız oldukça özgündür. Bu sebeple elde edilen veriler literatürlere katkı sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

- Ali AT, Al-ani O, Al-ani F ve Guidozi F (2022). Polycystic ovary syndrome and metabolic disorders: A review of the literature. *African Journal of Reproductive Health*, 26(8), 89-99. DOI: 10.29063/ajrh2022/v26i8.9
- Altinoz MA ve Bilir A (2005). Inflammation, Nonsteroid and Steroid Anti-Inflammatory Agents and Ovarian Cancer. Erişim Adresi: https://www.researchgate.net/publication/260034053_Inflammation_nonsteroid_and_steroid_anti-inflammatory_agents_and_ovarian_cancer.
- Arıncı K ve Elhan A (2020). Anatomi-1. Cilt. Ankara: Güneş Tıp Kitapevleri. Ltd. Şti. s. 337-339
- Arunasree KM (2010). Anti-proliferative effects of carvacrol on a human metastatic breast cancer cell line, MDA-MB 231. *Phytomedicine*, 17(8-9), 581-588. DOI: 10.1016/j.phymed.2009.12.008
- Ayla Ş, Öktem G, Bilir A ve Ayhan Bilir ŞA (2013). MDAH-2774 İnsan Over Kanseri Üç Boyutlu Hücre Kültüründe Farklı İlaç Etkilerinin Nitrik Oksit Sentaz Değişiklikleri ile İncelenmesi. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi*, 40(3), 88-96. DOI: 10.2399/ctd.09.88
- Baranauskaite J, Kubiliene A, Marksa M, Petrikaite V, Vitkevičius K, Baranauskas A, ... Bernatoniene J (2017). The influence of different oregano species on the antioxidant activity determined using HPLC postcolumn DPPH method and anticancer activity of carvacrol and rosmarinic acid. *BioMed research international*, 2017. DOI: 10.1155/2017/1681392
- Başer KHC (2022). KEKİK. *Tabiat ve İnsan*, 1(191), 15-31. Erişim Adresi: <https://dergipark.org.tr/en/pub/tabin/issue/69940/1117599>
- Bayir AG, Kiziltan HS ve Kocyigit A (2019). Plant family, carvacrol, and putative protection in gastric cancer. In Dietary interventions in gastrointestinal diseases. *Academic Press*. 3-18. DOI: 10.1016/B978-0-12-814468-8.00001-6
- Bolton KL, Chenevix-Trench G, Goh C, Sadetzki S, Ramus SJ, Karlan, BY, ... Pharoah PD (2012). Association between BRCA1 and BRCA2 mutations and survival in women with invasive epithelial ovarian cancer. *Jama*, 307(4), 382-389. DOI: 10.1001/jama.2012.20
- Bonnomet A, Syne L, Brysse A, Feyereisen E, Thompson EW, Noël A, ... Gilles C (2012). A dynamic in vivo model of epithelial-to-mesenchymal transitions in circulating tumor cells and metastases of breast cancer. *Oncogene*, 31(33), 3741-3753. DOI: 10.1038/onc.2011.540

- Brabletz T, Kalluri R, Nieto MA ve Weinberg RA (2018). EMT in cancer. *Nature reviews. Cancer*, 18(2), 128–134. DOI: 10.1038/nrc.2017.118
- Bray F, Ren JS, Masuyer E ve Ferlay J (2013). Global estimates of cancer prevalence for 27 sites in the adult population in 2008. *International journal of cancer*, 132(5), 1133-1145. DOI: 10.1002/ijc.27711
- Cassidy A, Huang T, Rice MS, Rimm EB ve Tworoger SS (2014). Intake of dietary flavonoids and risk of epithelial ovarian cancer. *The American journal of clinical nutrition*, 100(5), 1344–1351. DOI: 10.3945/ajcn.114.088708
- Chaw SY, Majeed AA, Dalley AJ, Chan A, Stein S ve Farah CS (2012). Epithelial to mesenchymal transition (EMT) biomarkers–E-cadherin, beta-catenin, APC and Vimentin–in oral squamous cell carcinogenesis and transformation. *Oral oncology*, 48(10), 997-1006. DOI: 10.1016/j.oraloncology.2012.05.011
- Chen VW, Ruiz B, Killeen JL, Coté TR, Wu XC, Correa CN, ... Howe HL (2003). Pathology and classification of ovarian tumors. *Cancer: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society*, 97(S10), 2631-2642. DOI: 10.1002/cncr.11345
- Crispens MA (2012). Endometrial and ovarian cancer in lynch syndrome. *Clinics in colon and rectal surgery*, 25(02), 097-102. DOI: 10.1055/s-0032-1313780
- Çolak B, Cansaran Duman D ve Yılmaz E (2022). The role of molecular mechanisms in targeted therapy strategies in ovarian cancer. *Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology*, 79(1), 153-162. DOI: 10.5505/TurkHijyen.2022.60362
- Da Silva SD, Morand GB, Alobaid FA, Hier MP, Mlynarek AM, Alaoui-Jamali MA, ... Kowalski LP (2015). Epithelial-mesenchymal transition (EMT) markers have prognostic impact in multiple primary oral squamous cell carcinoma. *Clinical and experimental metastasis*, 32, 55-63. DOI: 10.1007/s10585-014-9690-1
- Davis FM, Stewart TA, Thompson EW ve Monteith GR (2014). Targeting EMT in cancer: opportunities for pharmacological intervention. *Trends in pharmacological sciences*, 35(9), 479-488. DOI: 10.1016/j.tips.2014.06.006
- Derynck R, Muthusamy BP ve Saeteurn KY (2014). Signaling pathway cooperation in TGF- β -induced epithelial–mesenchymal transition. *Current opinion in cell biology*, 31, 56-66. DOI: 10.1016/j.ceb.2014.09.001
- Dongre A ve Weinberg RA (2019). New insights into the mechanisms of epithelial–mesenchymal transition and implications for cancer. *Nature reviews Molecular cell biology*, 20(2), 69-84. DOI: 10.1038/s41580-018-0080-4

- Elbe H, Yigitturk G, Cavusoglu T, Baygar T, Ozgul Onal M ve Ozturk F (2020). Comparison of ultrastructural changes and the anticarcinogenic effects of thymol and carvacrol on ovarian cancer cells: which is more effective?. *Ultrastructural pathology*, 44(2), 193-202. DOI: 10.1080/01913123.2020.1740366
- Eroschenko VP (2016). Di Fiore'nin Histoloji Atlası: Fonksiyonel İlişkileriyle. (12. baskıdan çeviri). Ramazan D (Çeviri Editörü). Ankara. Palme Yayıncılık.
- Eşrefoğlu M (2009). Özel Histoloji. Birinci Baskı. Ankara: İstanbul Tıp Kitabevi. s. 219-246
- Eşrefoğlu M (2016). Özel Histoloji. İstanbul: İstanbul Medikal Sağlık ve Yayıncılık Hiz. Tic. Ltd. Şti.
- Fan K, Li X, Cao Y, Qi H, Li L, Zhang Q, ... Sun H (2015). Carvacrol inhibits proliferation and induces apoptosis in human colon cancer cells. *Anti-cancer drugs*, 26(8), 813-823. DOI: 10.1097/CAD.0000000000000263
- Fathalla MF (1971). Incessant ovulation—a factor in ovarian neoplasia?. *The Lancet*, 298(7716), 163. DOI: 10.1016/s0140-6736(71)92335-x
- Felice F, Zambito Y, Belardinelli E, Fabiano A, Santoni T ve Di Stefano R (2015). Effect of different chitosan derivatives on in vitro scratch wound assay: A comparative study. *International journal of biological macromolecules*, 76, 236-241. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2015.02.041
- Ferreira AC, Mostarda CT, Dias CJ, Paixao LC, de Oliveira Pires F ve Rosa E (2018). Clinical Pharmacology and Biopharmaceutics. DOI: 10.4172/2167-065X.1000181
- Gartner LP (2017). Textbook of histology (5th). Elsevier.
- Goff BA, Mandel L, Muntz HG ve Melancon CH (2000). Ovarian carcinoma diagnosis: results of a national ovarian cancer survey. *Cancer: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society*, 89(10), 2068-2075. DOI: 10.1002/1097-0142(20001115)89:10<2068::AID-CNCR6>3.0.CO;2-Z
- Greenburg G ve Hay ED (1982). Epithelia suspended in collagen gels can lose polarity and express characteristics of migrating mesenchymal cells. *The Journal of cell biology*, 95(1), 333-339. DOI: 10.1083/jcb.95.1.333
- Güzel D, Yıldırım N, Besler A, Akman L, Özdemir N, Zekioglu O, ... Özşaran AA (2019). Over kanserinin epidemiyolojisi ve genel sağ kalım özellikleri. *Ege Tıp Dergisi*, 44-49. DOI: 10.19161/etd.669376

- Haensel D ve Dai X (2018). Epithelial-to-mesenchymal transition in cutaneous wound healing: where we are and where we are heading. *Developmental dynamics*, 247(3), 473-480. DOI: 10.1002/dvdy.24561
- Heldin CH, Vanlandewijck M ve Moustakas A (2012). Regulation of EMT by TGF β in cancer. *FEBS letters*, 586(14), 1959-1970. DOI: 10.1016/j.febslet.2012.02.037
- Hou YF, Gao SH, Wang P, Zhang HM, Liu LZ, Ye MX, ... Li BY (2016). 1 α , 25 (OH) 2D3 suppresses the migration of ovarian cancer SKOV-3 cells through the inhibition of epithelial-mesenchymal transition. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(8), 1285. DOI: 10.3390/ijms17081285
- Huang J, Chan WC, Ngai CH, Lok V, Zhang L, Lucero-Prisno III D E, ... NCD Global Health Research Group of Association of Pacific Rim Universities (APRU) (2022). Worldwide burden, risk factors, and temporal trends of ovarian cancer: A global study. *Cancers*, 14(9), 2230. DOI: 10.1186/s13045-022-01281-9.
- Javle M, Li Y, Tan D, Dong X, Chang P, Kar S, ... Li D (2014). Biomarkers of TGF- β signaling pathway and prognosis of pancreatic cancer. *PloS one*, 9(1), e85942. DOI: 10.1371/journal.pone.0085942
- Junqueira LC ve Carneiro J (2006). Temel Histoloji. Yener A. Ve Seyhun S. (Çeviri editörleri). İstanbul: Nobel Tıp Kitapevi.
- Karam L, Roustom R, Abiad MG, El-Obeid T ve Savvaidis IN (2019). Combined effects of thymol, carvacrol and packaging on the shelf-life of marinated chicken. *International Journal of Food Microbiology*, 291, 42-47. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2018.11.008
- Khan A, Ahmad A, Manzoor N ve Khan LA (2010). Antifungal activities of Ocimum sanctum essential oil and its lead molecules. *Natural Product Communications*, 5(2), 1934578X1000500235. DOI: 10.1177/1934578X100050023
- Khan F, Singh VK, Saeed M, Kausar MA ve Ansari IA (2019). Carvacrol induced program cell death and cell cycle arrest in androgen-independent human prostate cancer cells via inhibition of notch signaling. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents)*, 19(13), 1588-1608. DOI: 10.2174/1871520619666190731152942
- Kim BN, Ahn DH, Kang N, Yeo CD, Kim YK, Lee KY, ... Kim SJ (2020). TGF- β induced EMT and stemness characteristics are associated with epigenetic regulation in lung cancer. *Scientific Reports*, 10(1), 10597. DOI: 10.1038/s41598-020-67325-7
- Koparal AT ve Zeytinoglu M (2003). Effects of Carvacrol on a Human Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) Cell Line, A549. *Cytotechnology*, 43(1-3), 149-154. DOI: 10.1023/b:cyto.0000039917.60348.45

- Kuruş M (2020). Histoloji Teknikler-Hücre-Doku-Sistemler Moleküller Laboratuar-Klinik Yönleriyle Yaklaşımlar. Ankara: Akademisyen Kitabevi A.Ş.
- Kwiecińska P, Taubøll E ve Gregoraszcuk EŁ (2012). Comparison of the effects of valproic acid and levetiracetam on apoptosis in the human ovarian cancer cell line OVCAR-3. *Pharmacological Reports*, 64(3), 603-614. DOI: 10.1016/S1734-1140(12)70856-3
- Li A, Zhang T, Huang T, Lin R, Mu J, Su Y, ... Gao J (2021). Iron Oxide Nanoparticles Promote Cx43-Overexpression of Mesenchymal Stem Cells for Efficient Suicide Gene Therapy during Glioma Treatment. *Theranostics*, 11(17), 8254–8269. DOI: 10.7150/thno.60160
- Liang WZ ve Lu CH (2012). Carvacrol-induced $[Ca^{2+}]$ i rise and apoptosis in human glioblastoma cells. *Life sciences*, 90(17-18), 703-711. DOI: 10.1016/j.lfs.2012.03.027
- Liu H, Xu X, Wu R, Bi L, Zhang C, Chen H, ... Yang Y (2021). Antioral squamous cell carcinoma effects of carvacrol via inhibiting inflammation, proliferation, and migration related to Nrf2/Keap1 pathway. *BioMed Research International*, 2021. DOI: 10.1155/2021/6616547
- Liu RY, Zeng Y, Lei Z, Wang L, Yang H, Liu Z, ... Zhang HT (2014). JAK/STAT3 signaling is required for TGF- β -induced epithelial-mesenchymal transition in lung cancer cells. *International journal of oncology*, 44(5), 1643-1651. DOI: 10.3892/ijo.2014.2310
- Lo HC ve Zhang XH (2018). EMT in Metastasis: Finding the Right Balance. *Developmental cell*, 45(6), 663–665. DOI: 10.1016/j.devcel.2018.05.033
- Loret N, Denys H, Tummers P ve Berx G (2019). The role of epithelial-to-mesenchymal plasticity in ovarian cancer progression and therapy resistance. *Cancers*, 11(6), 838. DOI: 10.3390/cancers11060838
- Lu W ve Kang Y (2019). Epithelial-mesenchymal plasticity in cancer progression and metastasis. *Developmental cell*, 49(3), 361-374. DOI: 10.1016/j.devcel.2019.04.010
- Luo Y, Wu JY, Lu MH, Shi Z, Na N ve Di JM (2016). Carvacrol alleviates prostate cancer cell proliferation, migration, and invasion through regulation of PI3K/Akt and MAPK signaling pathways. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2016. DOI: 10.1155/2016/1469693
- Luvero D, Milani A ve Ledermann JA (2014). Treatment options in recurrent ovarian cancer: latest evidence and clinical potential. *Therapeutic advances in medical oncology*, 6(5), 229-239. DOI: 10.1177/1758834014544121

- Marconi GD, Fonticoli L, Rajan TS, Pierdomenico SD, Trubiani O, Pizzicannella J, ... Diomedea F (2021). Epithelial-mesenchymal transition (EMT): the type-2 EMT in wound healing, tissue regeneration and organ fibrosis. *Cells*, 10(7), 1587. DOI: 10.3390/cells10071587
- Matulonis UA, Sood AK, Fallowfield L, Howitt BE, Sehouli J ve Karlan BY (2016). Ovarian cancer. *Nature reviews Disease primers*, 2(1), 1-22. DOI: 10.1038/nrdp.2016.61
- Mehdi SJ, Ahmad A, Irshad M, Manzoor N ve Rizvi MMA (2011). Cytotoxic effect of carvacrol on human cervical cancer cells. *Biol Med*, 3(2), 307-312. DOI: 10.1002/ptr.6103
- Melušová M, Jantová S ve Horváthová E (2014). Carvacrol and rosemary oil at higher concentrations induce apoptosis in human hepatoma HepG2 cells. *Interdisciplinary toxicology*, 7(4), 189-194. DOI: 10.2478/intox-2014-0027
- Mergui X, Puiffe ML, Valteau-Couanet D, Lipinski M, Bénard J ve Amor-Guérét M (2010). p21 Waf1 expression is regulated by nuclear intermediate filament vimentin in neuroblastoma. *BMC cancer*, 10, 1-8. DOI: 10.1186/1471-2407-10-473
- Mohseni R, Karimi J, Tavilani H, Khodadadi I ve Hashemnia M (2019). Carvacrol ameliorates the progression of liver fibrosis through targeting of Hippo and TGF- β signaling pathways in carbon tetrachloride (CCl₄)-induced liver fibrosis in rats. *Immunopharmacology and immunotoxicology*, 41(1), 163-171. DOI: 10.1080/08923973.2019.1566926
- Moore KL, Agur AMR ve Dalley AF (2016). Klinik Yönleriyle İnsan Embriyolojisi (Onuncu Baskı). İstanbul: Nobel Tıp Kitapevi, s. 11-36, 243-280.
- Nassar D ve Blanpain C (2016). Cancer stem cells: basic concepts and therapeutic implications. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*, 11, 47-76. DOI: 10.1146/annurev-pathol-012615-044438
- Niknami Z, Muhammadnejad A, Ebrahimi A, Harsani Z ve Shirkoohi R (2020). Significance of E-cadherin and Vimentin as epithelial-mesenchymal transition markers in colorectal carcinoma prognosis. *EXCLI journal*, 19, 917–926. DOI: 10.17179/excli2020-1946
- Olsen CM, Nagle CM, Whiteman DC, Ness R, Pearce CL, Pike MC, ... Webb PM (2013). Obesity and risk of ovarian cancer subtypes: evidence from the Ovarian Cancer Association Consortium. *Endocrine-related cancer*, 20(2), 251-262. DOI: 10.1530/ERC-12-0395
- Ozkan A ve Erdogan A (2012). A comparative study of the antioxidant/prooxidant effects of carvacrol and thymol at various concentrations on membrane and DNA of parental and drug resistant H1299 cells. *Natural product communications*, 7(12), 1934578X1200701201. DOI: 10.1177/1934578X1200701201

- Özkara G, Öztürk O ve Aydoğan Y. (2020). Kanser ve Metastaz: Hücre Adezyon Molekülleri ve Hücreler Arası Bağlantıların Önemi. *Experimed*, 10(1), 38-48. DOI: 10.26650/experimed.2020.0003
- Pan SY, Ugnat AM, Mao Y, Wen SW, Johnson KC ve Canadian Cancer Registries Epidemiology Research Group (2004). A case-control study of diet and the risk of ovarian cancer. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 13(9), 1521-1527. DOI: 10.1158/1055-9965.1521.13.9
- PK HT, Unnikrishnan L, Pangath M, Vasudevan K, Jayaraman S, Li M, ... Gnanasampanthapandian D (2022). The epigenetic correlation among ovarian cancer, endometriosis and PCOS: A review. *Critical reviews in oncology/hematology*, 180, 103852. DOI: 10.1016/j.critrevonc.2022.103852
- Reavis HD ve Drapkin R (2020). The tubal epigenome—an emerging target for ovarian cancer. *Pharmacology & therapeutics*, 210, 107524. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2020.107524
- Reid BM, Permuth JB ve Sellers TA (2017). Epidemiology of ovarian cancer: a review. *Cancer biology & medicine*, 14(1), 9. DOI: 10.20892/j.issn.2095-3941.2016.0084
- Remšík J, Binó L, Kahounová Z, Kharashvili G, Šimečková Š, Fedr R, ... Souček K (2018). Trop-2 plasticity is controlled by epithelial-to-mesenchymal transition. *Carcinogenesis*, 39(11), 1411-1418. DOI: 10.1093/carcin/bgy095
- Ribatti D, Tamma R ve Annese, T (2020). Epithelial-mesenchymal transition in cancer: a historical overview. *Translational oncology*, 13(6), 100773. DOI: 10.1016/j.tranon.2020.100773
- Ross MH ve Pawlina W (2014). Histoloji Konu Anlatımı ve Atlas: İlişkili Hücre Biyolojisi ve Moleküler Biyoloji ile. (Altıncı baskıdan çeviri). Baykal B (Çeviri Editörü). Ankara. Palme Yayıncılık. s. 830-870
- Roy PS ve Saikia B (2016). Cancer and cure: A critical analysis. *Indian journal of cancer*, 53(3), 441-442. DOI: 10.4103/0019-509X.200658
- Satooka H ve Kubo I (2012). Effects of thymol on B16-F10 melanoma cells. *Journal of agricultural and food chemistry*, 60(10), 2746-2752. DOI: 10.1021/jf204525b
- Sharifi-Rad M, Varoni EM, Iriti M, Martorell M, Setzer WN, del Mar Contreras M, ... Sharifi-Rad J (2018). Carvacrol and human health: A comprehensive review. *Phytotherapy Research*, 32(9), 1675-1687. DOI: 10.1002/ptr.6103

- Siegel RL, Miller KD ve Jemal A (2018). Descriptive Epidemiology. *The American Cancer Society's Principles of Oncology: Prevention to Survivorship*, 1-14. Erişim Adresi: http://125.212.201.8:6008/handle/DHKTTHD_123/13712
- Singh J, Luqman S ve Meena A (2023). Carvacrol as a Prospective Regulator of Cancer Targets/Signalling Pathways. *Current Molecular Pharmacology*, 16(5), 542-558. DOI: 10.2174/1874467215666220705142954
- Singh M, Yelle N, Venugopal C ve Singh SK (2018). EMT: Mechanisms and therapeutic implications. *Pharmacology & therapeutics*, 182, 80–94. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2017.08.009
- Skrypek N, Goossens S, De Smedt E, Vandamme N ve Berx G (2017). Epithelial-to-mesenchymal transition: epigenetic reprogramming driving cellular plasticity. *Trends in Genetics*, 33(12), 943-959. DOI: 10.1016/j.tig.2017.08.004
- Slamenová D, Horváthová E, Sramková M ve Marsáľková L (2007). DNA-protective effects of two components of essential plant oils carvacrol and thymol on mammalian cells cultured in vitro. *Neoplasma*, 54(2), 108–112. Erişim Adresi: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17319782/>
- Sohal SS, Soltani A, Weston S, Wood-Baker R ve Walters H (2013). Intermediate filament vimentin and potential role in epithelial mesenchymal transition (EMT). *Vimentin concepts and molecular mechanisms*, 37, 62. Erişim Adresi: https://figshare.utas.edu.au/articles/chapter/Intermediate_filament_vimentin_and_potential_role_in_epithelial_mesenchymal_transition_EMT_/23055998
- Sokalska A, Timmerman D, Testa AC, Van Holsbeke C, Lissoni AA, Leone FP, ... Valentin L (2009). Diagnostic accuracy of transvaginal ultrasound examination for assigning a specific diagnosis to adnexal masses. *Ultrasound in obstetrics & gynecology: the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*, 34(4), 462–470. DOI: 10.1002/uog.6444
- Stewart C, Ralyea C ve Lockwood S (2019). Ovarian cancer: an integrated review. *In Seminars in oncology nursing*, 35(2), 151-156. DOI: 10.1016/j.soncn.2019.02.001
- Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, ... Bray F (2021). Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: a cancer journal for clinicians*, 71(3), 209–249. DOI: 10.3322/caac.21660
- Syrop CH, Willhoite A ve Van Voorhis BJ (1995). Ovarian volume: a novel outcome predictor for assisted reproduction. *Fertility and sterility*, 64(6), 1167–1171. DOI: 10.1016/s0015-0282(16)57979-5

- Wang L, Zhang J, Banerjee S, Barnes L, Barnes L, Sajja V, ... Yang J (2010). Sumoylation of vimentin354 is associated with PIAS3 inhibition of glioma cell migration. *Oncotarget*, 1(7), 620–627. DOI: 10.18632/oncotarget.101101
- Wormstone IM, Tamiya S, Eldred JA, Lazaridis K, Chantry A, Reddan JR, ... Duncan G (2004). Characterisation of TGF-beta2 signalling and function in a human lens cell line. *Experimental eye research*, 78(3), 705–714. DOI: 10.1016/j.exer.2003.08.006
- Wu S, Du Y, Beckford J ve Alachkar H (2018). Upregulation of the EMT marker vimentin is associated with poor clinical outcome in acute myeloid leukemia. *Journal of translational medicine*, 16(1), 1-9. DOI: 10.1186/s12967-018-1539-y
- Yigitturk G, Erbas O, Karabay Yavasoglu NU, Acikgoz E, Buhur A, Gokhan A, ... Yavasoglu A (2022). The neuro-restorative effect of adipose-derived mesenchymal stem cell transplantation on a mouse model of diabetic neuropathy. *Neurological Research*, 44(2), 156-164. DOI: 10.1080/01616412.2021.1967679
- Zamwar UM ve Anjankar AP (2022). Aetiology, Epidemiology, Histopathology, Classification, Detailed Evaluation, and Treatment of Ovarian Cancer. *Cureus*, 14(10), e30561. DOI: 10.7759/cureus.30561

EKLER**Ek 1: ETİK KURUL ONAYI**

19.07.2023

MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE**

Tez öğrencim olan 2044050001 numaralı Ayça YAZICI “Karvakrolün SKOV-3 İnsan Over Kanseri Hücrelerinde Epitelyal-Mezenkimal Geçiş Etkilerinin İncelenmesi” isimli tezinde ticari hücre hattı kullanacağı için etik kurul belgesi zorunluluğu bulunmamaktadır.

Gereğini bilgilerinize arz ederim.

Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi

Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri

Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı

Doç. Dr. Gürkan YİĞİTTÜRK

Ek 2: KURUM İZİN ONAYI

05.12.2023

T.C.
MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE;

MSKÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Tezli Yüksek Lisans programı öğrencisi 2044050001 numaralı Ayça YAZICI, "Karvakrol'un SKOV-3'ün İnsan Over Kanseri Hücrelerinde Epitelyal-Mezenkimal Geçiş Etkilerinin İncelenmesi" başlıklı tez projesinin laboratuvar çalışmalarını Ağustos 2023 - Ekim 2023 tarihleri arasında MSKÜ Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Araştırma laboratuvarlarında yapmıştır.

Bilgilerinize arz ederim.

Prof. Dr. Feral ÖZTÜRK
Histoloji ve Embriyoloji
Anabilim Dalı Başkanı

Ek 3: ÖZ GEÇMİŞ

Adı Soyadı	: Ayça Yazıcı
Yabancı Dili	: İngilizce
Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)	: Yüksek Lisans Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı 2019-
Lise	: Özel Muğla Teknoloji ve Kültür Anadolu Lisesi, 2015
Lisans	: Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi – Moleküler Biyoloji ve Genetik
Yayınları (SCI ve diğer)	: Sen, A. H., Cetinavci, D., YİĞİTTÜRK, G., Yazici, A., Hülya, E. L. B. E., & ÖZTÜRK, F. Phenformin Inhibits the Proliferation of MCF-7 and MDA-MB-231 Human Breast Cancer Cell Lines. Medical Records, 5(1), 103-6.
Sertifikalar ve Kurslar	: Moleküler Araştırma Yöntemleri Uygulamalı Kursu, 2021