



T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

**ENDOMETRİYUM ADENOKARSİNOMA HEC1A HÜCRE
HATTINDA STEROİD RESEPTÖRLERİ ÜZERİNDEN ETKİ
GÖSTEREN BİLEŞİKLERİN PROLİFERASYON VE
MİGRASYONDAKİ ROLÜNÜN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KHAIRAT AL HENNAWI

TIBBİ FARMAKOLOJİ

MERSİN
AĞUSTOS-2021

T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

**ENDOMETRİYUM ADENOKARSİNOMA HEC1A HÜCRE
HATTINDA STEROİD RESEPTÖRLERİ ÜZERİNDEN ETKİ
GÖSTEREN BİLEŞİKLERİN PROLİFERASYON VE
MİGRASYONDAKİ ROLÜNÜN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KHAIRAT AL HENNAWI
ORCID ID: 0000-0001-5821-9556

DANIŞMAN
PROF. DR. İSMAİL ÜN

TIBBİ FARMAKOLOJİ

MERSİN
AĞUSTOS-2021

ETİK BEYAN

Mersin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliğinde belirtilen kurallara uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada,

- Tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlâk kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- Atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak kullandığımı,
- Kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- Bu tezin herhangi bir bölümünü Mersin Üniversitesi veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı,
- Tezin tüm telif haklarını Mersin Üniversitesi'ne devrettiğimi

beyan ederim.

ETHICAL DECLARATION

This thesis is prepared in accordance with the rules specified in Mersin University Graduate Education Regulation and I declare to comply with the following conditions:

- I have obtained all the information and the documents of the thesis in accordance with the academic rules.
- I presented all the visual, auditory and written informations and results in accordance with scientific ethics.
- I refer in accordance with the norms of scientific Works about the case of exploitation of others' works.
- I used all of the referred works as the references.
- I did not do any tampering in the used data.
- I did not present any part of this thesis as an another thesis at Mersin University or another university.
- I transfer all copyrights of this thesis to the Mersin University.

23 /08/ 2021

İmza / Signature



Khairat AL HENNAWI

ÖZET

ENDOMETRİYUM ADENOKARSİNOMA HEC1A HÜCRE HATTINDA STEROİD RESEPTÖRLERİ ÜZERİNDEN ETKİ GÖSTEREN BİLEŞİKLERİN PROLİFERASYON VE MİGRASYONDAKİ ROLÜNÜN ARAŞTIRILMASI

Endometriyum kanseri, dünya çapında kadınlarda altıncı en yaygın kanser türüdür ve gelişmiş ülkelerde en sık görülen jinekolojik kanserdir. Endometriyum kanseri, tip I ve tip II olmak üzere iki alt tipe ayrılmaktadır. Tip II endometriyum kanseri genel insidansın sadece %10'unu oluşturmalarına rağmen, endometriyum kanserden %50 nüks ve ölüme neden olmaktadır. Yüksek endometriyum kanserin insidansı ve tip II'den kaynaklanan yüksek ölüm oranı, onu daha iyi anlama ve dolayısıyla güvenilir ve kişiselleştirilmiş bir tedavi bulma ihtiyacını artırmıştır. Tip II endometriyum kanserde bazı steroid reseptörlerinin ekspresyonu belgelenmiş olmasına rağmen, hastalığın ilerlemesindeki rolleri tam olarak aydınlatılamamıştır. Bu çalışmanın amacı, tip II endometriyum kanser HEC1A hücrelerinde steroid reseptörleri üzerinde etkili olan bileşiklerin rolünü incelemektir. Glukokortikoid ve progesteron reseptör blokleri mifepriston (10^{-8} M), androjen reseptör blokleri bikalutamid (10^{-6} M), GPER östrojen reseptör blokleri G15 (10^{-7} M), östrojen reseptörü β blokleri PHTPP (10^{-7} M), ve iki D vitaminin analogu alfa-kalsidol ve kalsitriol (10^{-10} M) kullandık ve onların HEC1A hücrelerinin migrasyonu ve proliferasyonu üzerindeki etkilerini inceledik. Proliferasyon, gerçek zamanlı hücre analizi (xCELLigence sistemi) ile değerlendirilirken, migrasyon yara iyileşme modeli ile değerlendirildi. Kullanılan konsantrasyonlarda ilaçların hiçbiri HEC1A hücrelerinin proliferasyonunu etkilememiştir. Ancak mifepriston uygulaması ile hücrelerin migrasyonu 24. ve 48. saatte önemli ölçüde artmıştır (sırasıyla $P < 0.05$ ve $P < 0.01$). Bikalutamid de 24. saatte hücre migrasyonunu artırmış ($P < 0.05$), ancak bu etki 48. saatte kaybolmuştur. G15, PHTPP ve D vitamini ise HEC1A hücrelerin migrasyonunu değiştirmemiştir. Bu sonuçlar, glukokortikoid ve/veya progesteron reseptörlerinin, diğer steroid reseptörlerinin aksine, tip II endometriyum kanserin migrasyonunun azaltılmasında önemli bir rol oynayabileceğini ve bu tip kanserin metastazını azaltmak için bir hedef olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Endometriyum adenokarsinom; steroid reseptörleri; D vitamini

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE ROLE OF COMPOUNDS ACTING ON STEROID RECEPTORS IN THE PROLIFERATION AND MIGRATION OF ENDOMETRIAL ADENOCARCINOMA HEC1A CELL LINE

Endometrial carcinoma is the sixth most common cancer in women in the world and the most common gynecological cancer in developed countries. Endometrial cancer is divided into two subtypes, type I and type II. Although type II endometrial cancer accounts for only 10% of overall incidence, it causes about 50% of the total recurrence and death from endometrial cancer. High incidence of endometrial cancer and high mortality rate from its type II have increased the urge to understand it in a better way and therefore find a reliable and personalized treatment. Although expression of some steroid receptors in type II has been documented, their role in disease progression has not been fully elucidated. The aim of this study was to examine the role of compounds acting on steroid receptors in type II endometrial cancer HEC1A cells. We used the glucocorticoid and progesterone receptor blocker mifepristone (10^{-8} M), the androgen receptor blocker bicalutamide (10^{-6} M), the GPER estrogen receptor blocker G15 (10^{-7} M), the estrogen receptor- β blocker PHTPP (10^{-7} M), and two the vitamin D analogs alfacalcidol and calcitriol (10^{-10} M) and studied their effects on migration and proliferation of HEC1A cells. Proliferation was assessed by real-time cell analysis (xCELLigence system), while migration was assessed by wound-healing model. None of the drugs, at the used concentrations, have affected the proliferation of HEC1A cells. However, migration was significantly increased at the 24th and the 48th hour of mifepristone application ($P<0.05$ and $P<0.01$, respectively). Bicalutamide also increased migration at the 24th hour ($P<0.05$), but this effect disappeared at the 48th hour. G15, PHTPP and vitamin D did not change the migration of HEC1A cells. These results suggest that, unlike other steroid receptors, glucocorticoid and/or progesterone receptors might play an important role in reducing the migration of type II endometrial cancer and can be used as a target to reduce the metastasis of this type of cancer.

Keywords: Endometrial adenocarcinoma; steroid receptors; vitamin D

TEŞEKKÜR

Tezimin her aşamasında bilgi birikimi ve tecrübeleri ile bana yol gösterici olan, değerli zamanını ayırıp sabırla bana yardım eden, kıymetli tavsiyeleri sunan ve desteğini esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. İsmail ÜN'e,

Değerli fikirlerini göstermekten kaçınmayan, tecrübesini paylaşan ve sürekli bizi öğrenmeye teşvik eden Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Kansu BÜYÜKAŞAR'a,

Bana hücre kültürü tekniklerini öğreten, faydalı önerilerini sunan ve sorun yaşadığımda bana güler yüzle yardımcı olan Dr. Öğr. Üyesi. Rukiye Nalan TİFTİK'e

Yüksek lisans eğitimime katkı sağlayan ve yardımını esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi. Ahmet Sencer YURTSEVER'e

Her zaman yanımda olan, beni güçlerndiren, karşılıksız sevgi ve desteklerini benden esirgemeyen aileme,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma, Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 2019-3-TP2-3763.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇ KAPAK	i
ONAY	ii
ETİK BEYAN	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
TABLolar DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
KISALTMALAR ve SİMGELER	xiii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMALARI	3
2.1. Kanser	3
2.1.1. Kanserin Tanımı	3
2.1.2. Kanserin Ayırt Edici Özellikleri	4
2.1.3. İyi Huylu ve Kötü Huylu Tümörler	9
2.2. Endometriyum ve Endometriyum Kanseri	11
2.2.1. Uterusun Anatomisi ve Histolojisi	11
2.2.2. Endometriyum Kanseri	13
2.2.3. Endometriyum Kanserinin Epidemiyolojisi	13
2.2.4. Endometriyum Kanserinin Sınıflandırılması	14
2.2.5. Endometriyum Adenokarsinomlarının Histolojik Tipleri	15
2.2.6. Endometriyum Kanserinin Risk Faktörleri	18
2.3. Steroid Hormonları	22
2.3.1. Steroid Hormonlarının Sınıflandırması.	22
2.3.2. Steroid Hormonlarının Sentez Yerleri	23
2.3.3. Steroid Hormonlarının Biyosentezi	25
2.3.4. Steroid Hormonların Sentezinin ve Salıverilmesinin Kontrolü	28
2.3.5. Steroid Hormonların Taşınması	30
2.3.6. Steroid Hormonların İnaktivasyonu ve Katabolizması	31
2.3.7. Steroid Reseptörleri	31
2.3.8. Steroid Hormonların Etki Mekanizmaları	32
2.3.9. Steroid Hormonların Non-genomik Mekanizmaları	33
2.3.10. Steroid Respetorleri ve Endometriyel Kanser	33

	Sayfa
3. MATERYAL ve YÖNTEM	38
3.1. Materyaller	38
3.1.1. Kullanılan Kimyasallar	38
3.1.2. Cihazlar ve Laboratuvar Gereçleri	38
3.2. Yöntem	39
3.2.1. Hücre Kültürü	39
3.2.2. Gerçek Zamanlı Hücre Analiz Sistemi	42
3.2.2.1. Deney Gruplarının Tasarlanması ve Kimyasalların Hazırlanması	44
3.2.2.2. HEC1A Hücrelerinde Steroid Reseptörleri Üzerinden Etki Gösteren Bileşiklerin Proliferasyon Üzerine Etkisinin Gerçek Zamanlı Hücre Analiz Sistemi ile Belirlenmesi	45
3.2.3. Yara İyileşme Modeli	46
3.2.3.1. HEC1A Hücrelerinde Steroid Reseptörleri Üzerinden Etki Gösteren Bileşiklerin Migrasyon Üzerine Etkisinin Yara İyileşme Modeli ile Belirlenmesi	47
3.3. İstatistik Analizleri	49
4. BULGULAR	50
4.1. Endometriyum Adenokarsinom HEC1A Hücrelerinde Steroid Reseptörleri Üzerinden Etki Gösteren bileşiklerin Proliferasyon Üzerine Etkisinin Gerçek Zamanlı Hücre Analizi	50
4.1.1. Endometriyum Adenokarsinom HEC1A Hücrelerinde Etanol ve DMSO'nun Proliferasyon Üzerine Etkisinin Gerçek Zamanlı Hücre Analizi	50
4.1.2. Endometriyum Adenokarsinom HEC1A Hücrelerinde Mifepriston'ün (10^{-8} M) Proliferasyon Üzerine Etkisinin Gerçek Zamanlı Hücre Analizi	50
4.1.3. Endometriyum Adenokarsinom HEC1A Hücrelerinde Bicalutamid'in (10^{-6} M) Proliferasyon Üzerine Etkisinin Gerçek Zamanlı Hücre Analizi	51
4.1.4. Endometriyum Adenokarsinom HEC1A Hücrelerinde G15'in (10^{-7} M) Proliferasyon Üzerine Etkisinin Gerçek Zamanlı Hücre Analizi	52
4.1.5. Endometriyum Adenokarsinom HEC1A Hücrelerinde PHTPP'nin (10^{-7} M) Proliferasyon Üzerine Etkisinin Gerçek Zamanlı Hücre Analizi	52
4.1.6. Endometriyum Adenokarsinom HEC1A Hücrelerinde Alfakalsidol (10^{-10} M) ve Kalsitriol'ün (10^{-10} M) Proliferasyon Üzerine Etkisinin Gerçek Zamanlı Hücre Analizi	53
4.2. Endometriyum Adenokarsinom HEC1A Hücrelerinde Steroid Reseptörleri Üzerinden Etki Gösteren bileşiklerin Migrasyon Üzerine Etkisinin Yara İyileşme Modeli İle Gösterilmesi	54
4.2.1. Endometriyum Adenokarsinom HEC1A Hücrelerinde Etanol ve DMSO'nun Yara İyileşmesine Etkisi	54
4.2.2. Endometriyum Adenokarsinom HEC1A Hücrelerinde Mifepriston'ün (10^{-8} M) Yara İyileşmesine Etkisi	56
4.2.3. Endometriyum Adenokarsinom HEC1A Hücrelerinde Bicalutamid'in (10^{-6} M) Yara İyileşmesine Etkisi	58

	Sayfa
4.2.4. Endometriyum Adenokarsinom HEC1A Hücrelerinde G15'in (10^{-7} M) Yara İyileşmesine Etkisi	60
4.2.5. Endometriyum Adenokarsinom HEC1A Hücrelerinde PHTPP'nin (10^{-7} M) Yara İyileşmesine Etkisi	62
4.2.6. Endometriyum Adenokarsinom HEC1A Hücrelerinde Alfakalsidol'ün (10^{-10} M) Yara İyileşmesine Etkisi	64
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	66
KAYNAKLAR	70
ÖZGEÇMİŞ	88



TABLÖLAR DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 2.1. İyi huylu ve kötü huylu tümörler arasındaki farklılıklar	10
Tablo 2.2. Endometrioid adenokarsinomun FIGO evreleme sistemi	16
Tablo 2.3. Sağlıklı kadınlarda klasik endojen steroid hormonların proteine bağlanma dağılımı	31
Tablo 3.1. Gerçek zamanlı hücre analiz modelinde proliferasyon için E-plate düzeni	44
Tablo 3.2. Proliferasyon için mifepriston, bikalutamat, G15, PHTPP, al fakalsidol ve kalsitriol örneklerinin E-plate’lerde düzeni	45
Tablo 3.3. Yara iyileşme modeli, etanol, DMSO, mifepriston ve bikalutamat 24 well plate düzeneği	48
Tablo 3.4. Yara iyileşme modeli, G15, PHTPP, al fakalsidol ve kalsitriol 24 well plate düzeneği	48

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1. Kanser hücrelerinin kontrolsüz bölünmesi	3
Şekil 2.2. Kanserin ayırt edici özellikleri	4
Şekil 2.3. Normal ve kanser hücreleri arasındaki metabolik farklılıklar	7
Şekil 2.4. İyi huylu ve kötü huylu tümörler	9
Şekil 2.5. Uterusun anatomisi	11
Şekil 2.6. Uterusun histolojisi	12
Şekil 2.7. Endometrioid adenokarsinomun FIGO derecelendirmesi	17
Şekil 2.8. Steroid hormonların kimyasal yapıları	23
Şekil 2.9. Steroidlerin temel yapısal çekirdeği ve kolesterolün yapısı	23
Şekil 2.10. Adrenal korteksin farklı bölgeleri tarafından adrenokortikal hormonların salgılanması	24
Şekil 2.11. İnsan steroid hormonlarının sentezinin temel yolları	25
Şekil 2.12. İnsanlarda D vitamini biyosentezi	28
Şekil 2.13. Hipotalamik-hipofiz-gonadal ekseninin regülasyonu	30
Şekil 2.14. Steroid hormonların etki mekanizması	33
Şekil 3.1. RTCA sisteminin empedans ölçüm prensibi	42
Şekil 3.2. RTCA DP cihazı ve kontrol ünitesi	43
Şekil 3.3. Yara iyileşme testinin prosedürü	46
Şekil 3.4. 24 well-plate	47
Şekil 4.1. Endometriyum adenokarsinom HEC1A hücrelerinde kontrol, etanol ve DMSO grubunun proliferasyon üzerine etkisi	50
Şekil 4.2. Endometriyum adenokarsinom HEC1A hücrelerinde 10^{-8} M mifepriston'un ve 10^{-6} M bikalutamid'in proliferasyon üzerine etkisi	51
Şekil 4.3. Endometriyum adenokarsinom HEC1A hücrelerinde 10^{-6} M bikalutamid'in proliferasyon üzerine etkisi	51
Şekil 4.4. Endometriyum adenokarsinom HEC1A hücrelerinde 10^{-7} M G15'in proliferasyon üzerine etkisi	52
Şekil 4.5. Endometriyum adenokarsinom HEC1A hücrelerinde 10^{-7} M PHTPP'nin proliferasyon üzerine etkisi	53
Şekil 4.6. Endometriyum adenokarsinom HEC1A hücrelerinde 10^{-10} M al fakalsidol'un ve 10^{-10} M kalsitriol'un proliferasyon üzerine etkisi	53
Şekil 4.7. Endometriyum adenokarsinom HEC1A hücrelerinde etanol ve DMSO'nun 0. saatten 48. saat arasındaki yara açıklığı örnek görüntüleri	54
Şekil 4.8. Endometriyum adenokarsinom HEC1A hücrelerinde etanol ve DMSO'nun 24. saatteki yara açıklığı üzerine etkisi	55
Şekil 4.9. Endometriyum adenokarsinom HEC1A hücrelerinde etanol ve DMSO'nun 48. saatteki yara açıklığı üzerine etkisi	55

	Sayfa
Şekil 4.10. Endometriyum adenokarsinom HEC1A hücrelerinde mifepriston'ün (10^{-8} M) 0. saatten 48. saat arasındaki yara açıklığı örnek görüntüleri	56
Şekil 4.11. Endometriyum adenokarsinom HEC1A hücrelerinde 10^{-8} M mifepriston'ün 24. saatteki yara açıklığı üzerine etkisi	57
Şekil 4.12. Endometriyum adenokarsinom HEC1A hücrelerinde 10^{-8} M mifepriston'ün 48. saatteki yara açıklığı üzerine etkisi	57
Şekil 4.13. Endometriyum adenokarsinom HEC1A hücrelerinde bikalutamid'in (10^{-6} M) 0. saatten 48. saat arasındaki yara açıklığı örnek görüntüleri	58
Şekil 4.14. Endometriyum adenokarsinom HEC1A hücrelerinde 10^{-6} M bikalutamid'in 24. saatteki yara açıklığı üzerine etkisi	59
Şekil 4.15. Endometriyum adenokarsinom HEC1A hücrelerinde 10^{-6} M bikalutamid'in 48. saatteki yara açıklığı üzerine etkisi	59
Şekil 4.16. Endometriyum adenokarsinom HEC1A hücrelerinde G15'in (10^{-7} M) 0. saatten 48. saat arasındaki yara açıklığı örnek görüntüleri	60
Şekil 4.17. Endometriyum adenokarsinom HEC1A hücrelerinde 10^{-7} M G15'in 24. saatteki yara açıklığı üzerine etkisi	61
Şekil 4.18. Endometriyum adenokarsinom HEC1A hücrelerinde 10^{-7} M G15'in 48. saatteki yara açıklığı üzerine etkisi	61
Şekil 4.19. Endometriyum adenokarsinom HEC1A hücrelerinde PHTPP'nin (10^{-7} M) 0. saatten 48. saat arasındaki yara açıklığı örnek görüntüleri	62
Şekil 4.20. Endometriyum adenokarsinom HEC1A hücrelerinde 10^{-7} M PHTPP'nin 24. saatteki yara açıklığı üzerine etkisi	63
Şekil 4.21. Endometriyum adenokarsinom HEC1A hücrelerinde 10^{-7} M PHTPP'nin 48. saatteki yara açıklığı üzerine etkisi	63
Şekil 4.22. Endometriyum adenokarsinom HEC1A hücrelerinde alfakalsidol'ün (10^{-10} M) 0. saatten 48. saat arasındaki yara açıklığı örnek görüntüleri	64
Şekil 4.23. Endometriyum adenokarsinom HEC1A hücrelerinde 10^{-10} M alfakalsidol'ün 24. saatteki yara açıklığı üzerine etkisi	65
Şekil 4.24. Endometriyum adenokarsinom HEC1A hücrelerinde 10^{-10} M alfakalsidol'ün 48. saatteki yara açıklığı üzerine etkisi	65

KISALTMALAR ve SİMGELER

Kısaltma/Simgesi	Tanım
µl	Mikrolitre
3βHSD	3beta-hidroksisteroid dehidrojenaz
ACTH	Adrenokortikotropin hormonunun
AR	Androjen reseptörü
ATP	Adenozin trifosfat
CBG	Kortikosteroid bağlayıcı globulin
CI	Hücre indeksi
cm	Santimetre
CRH	Kortikotropin salgılayan hormonun
CTL	Sitotoksik T hücreleri
CYP	Sitokrom P450
DBP	D vitamini bağlayıcı protein
DHC	Dehidrokolesterol
DHEA	Dehidroepiandrosteron
DHT	Dihidrotestosteron
DMSO	Dimetil sülfoksit
DNA	Deoksiribo nükleik asit
DOC	Deoksikortikosteron
DPBS	Dulbecco'nun fosfat-tamponlu tuz
DSÖ	Dünya sağlık örgütü
E1	Estron
E2	Estradiol
E3	Estriol
EDTA	Etilendiamintetraasetik asit
ER	Östrojen reseptörü
ERT	Östrojen replasman tedavisi
ERβ	Östrojen reseptörü beta
FBS	Fetal sığır serumu
FIGO	Uluslararası Jinekoloji ve Obstetrik Federasyonu
FOXO1	Forkhead box protein O1
FSH	Folikül uyarıcı hormonu
GLOBOCAN	Küresel kanser veri tabanı
GnRH	Gonadotropin salgılatıcı hormon
GPÉR	G proteinine bağlı östrojen reseptörü

Kısaltma/Simgesi	Tanım
GR	Glukokortikoid reseptörü
HEC1A	Human endometriyum adenokarsinom 1A
HPA	Hipotalamik-hipofiz-adrenal
HPG	Hipotalamik-hipofiz-gonad
HRE	Hormon yanıt elemanları
HRT	Hormon replasman tedavisi
HSP	Isı şok proteini
IFN	İnterferon
IGF	İnsüline benzer Büyüme Faktörü
kD	Kilodalton
LH	Luteinleştirici hormon
M	Molar
MC2R	Melanokortin-2 reseptörü
ml	Mililitre
MMP	Matriks metaloproteinaz
NK	Doğal öldürücü hücreleri
PCOS	Polikistik over sendromu
PDGF	Trombositten türetilmiş büyüme faktörü
PHTPP	(2-Phenyl-3-(4-hydroxyphenyl)-5,7-bis(trifluoromethyl)-pyrazolo[1,5-a]pyrimidine)
PI3K	Fosfatidilinositol-3-kinaz
PKC	Protein kinaz C
pM	Pikomolar
PR	Progesteron reseptörü
rpm	Dakikadaki devir sayısı
RTCA	Gerçek zamanlı hücre analizi
RTCA DP	Gerçek zamanlı hücre analizi çift-plakalı
SHBG	Seks hormonu bağlayıcı globulin
STAT	Sinyal transduseri ve transkripsiyon aktivatörü
TAM	Tümör ilişkili makrofajlar
TGF- β	Dönüştürücü büyüme faktörü beta
Th1	Yardımcı T1 hücreleri
TSP 1	Trombospondin 1
UV-B	Ultraviyole-B
VDR	D vitaminin reseptörü
VEGF	Vasküler endotelial büyüme faktörü

1. GİRİŞ

Endometriyum kanseri dünyada kadınlarda en sık görülen altıncı kanser türüdür ve gelişmiş ülkelerde en sık teşhis edilen jinekolojik kanserdir [1]. Türkiye’de ise korpus uteri kanseri kadınlarda dördüncü en yaygın kanser olup tüm kanser vakalarının %6’nı oluşturmaktadır [2]. Histolojik ve moleküler özelliklere dayanarak, iki farklı endometriyum kanser tipi vardır. Endometriyum karsinomların %80-90’ını oluşturan ve östrojene bağımlı olan tip I endometriyum kanseri, genellikle premenopozal kadınlarda görülmekte, yavaş büyümektedir ve yayılma olasılığı daha düşüktür. Tip II endometriyum kanser ise, endometriyum kanserlerin %10-20’sini oluşturmaktadır. Bu tip östrojene bağımlı değildir, genellikle postmenopozal kadınlarda görülmekte, daha hızlı büyümektedir ve yayılma olasılıkları daha yüksektir [3, 4]. Her ne kadar tip II endometriyum kanser genel insidansın sadece %10’unu oluştursa da endometriyum kanserden %50 oranında nüks ve ölüme neden olmaktadır [5]. Rahim papiller seröz karsinomları ve berrak hücreli karsinomlar tip II endometriyum kanserin en agresif tipleridir ve en kötü prognoza sahiplerdir [6].

Tip II endometriyum kanserin östrojen bağımsız olarak kabul edilirse de, her iki endometriyum kanser tipinin dolaşımdaki östrojen seviyelerini artıran veya progesteron seviyelerini azaltan risk faktörlerini paylaştığı bulunmuştur. Bu risk faktörleri arasında obezite, hormon replasman tedavisi (HRT), hiç doğum yapmama, östrojen salgılayan yumurtalık tümörleri ve polikistik yumurtalık sendromu gibi yüksek östrojen seviyelerine neden olan tıbbi durumlar ve ilaçlar yer almaktadır. Bu nedenle tip II endometriyum kanser tamamen östrojen bağımsız olmayabilmektedir [3, 4].

Steroid hormon reseptörleri, binlerce geni düzenleyen ligand bağımlı hücre içi transkripsiyon faktörleridir. Steroid hormon reseptörleri tarafından kontrol edilen genler, hücresel çoğalma, hayatta kalma, metabolizma ve farklılaşma dahil olmak üzere birçok fizyolojik süreçte önemli bir rol oynamaktadır [7, 8]. Bu nedenle, steroid reseptörlerin fizyolojik fonksiyonlarındaki bozulma meme kanseri, lösemi ve lenfoma, prostat kanseri, yumurtalık kanseri, akciğer kanseri gibi çeşitli malignitelere yol açabilmektedir [8-14].

Tip II endometriyum kanserin östrojenden bağımsız olmasına rağmen, birçok tip II endometriyum kanser hücrelerinde östrojen reseptörü (ER) ve progesteron reseptörünün (PR) ekspresyonunu belgelemiştir [15-17]. Ek olarak, ER β , GPER, PR ve androjen reseptörü (AR) gibi diğer steroid reseptörlerinin varlığı da bir papiller endometrium adenokarsinom hücre hattını temsil eden İnsan Endometriyum Kanser HEC1A hücrelerinde kanıtlanmıştır [18-20]. Bununla birlikte, tip II endometriyum kanser hücrelerinde steroid reseptörlerinin rolü tam olarak aydınlatılamamıştır.

Çalışmamızda tip II endometrium kanserinin gelişiminde ve ilerlemesinde steroid reseptörlerinin rolü olup olmadığını araştırmayı amaçladık. Bu amaçla, glukokortikoid ve

progesteron reseptör blokeri mifepriston, androjen reseptör bloker bicalutamid, GPER östrojen reseptör bloker G15, östrojen reseptörü β bloker PHTPP (2-Phenyl-3-(4-hydroxyphenyl)-5,7-bis(trifluoromethyl)-pyrazolo[1,5-a]pyrimidine) ve iki D vitaminin analogu alfacalcidol ve kalsitriol kullandık ve onların HEC1A hücrelerinin migrasyonu ve proliferasyonu üzerindeki etkilerini inceledik. Bu bileşiklerin proliferasyon üzerindeki etkisi gerçek zamanlı hücre analizörü ile gösterilirken migrasyon yara iyileşme modeli ile gösterilmiştir. Bu çalışma, glukokortikoid ve/veya progesteron reseptörlerinin, diğer steroid reseptörlerinin aksine, tip II endometriyum kanserin migrasyonunun azaltılmasında önemli bir rol oynayabileceğini ve bu tip kanserin metastazını azaltmak için bir hedef olarak kullanılabileceğini öne sürdüğü için önemlidir.

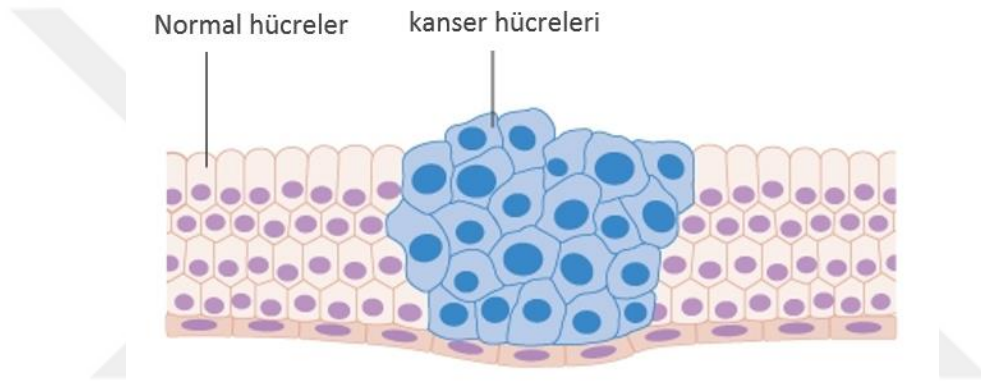


2. KAYNAK ARAŞTIRMALARI

2.1. Kanser

2.1.1. Kanserin Tanımı

Kanser, belirli bir dokudaki hücrelerin, hücrel farklılaşmayı, hayatta kalmayı, çoğalmayı ve ölümü düzenleyen doku içindeki sinyallere tam olarak yanıt vermediği karmaşık bir hastalıktır. Hücre davranışını kontrol eden sinyallere uygun şekilde yanıt vermek yerine, kanser hücreleri kontrolsüz bir şekilde bölünmektedir (şekil 2.1). Sonuç olarak, bu hücreler doku içinde birikerek lokal hasara ve iltihaplanmaya neden olmaktadır ve diğer dokulara ve organlara yayılmaktadır. Kansere bağlı ölümlerin neredeyse %90'ı tümörün yayılmasından (metastaz olarak bilinir) kaynaklanmaktadır [21].



Şekil 2.1. Kanser hücrelerinin kontrolsüz bölünmesi [22].

Kanser vücuttaki herhangi bir hücrede gelişebilmektedir. Vücuttaki farklı hücreleri veya organları etkileyen 200'den fazla kanser türü vardır. Kanser türleri, davranışlarında ve tedaviye yanıtlarında önemli ölçüde değişiklik gösterebilmektedir. Kanserler, kaynaklandıkları hücre türüne göre veya vücutta ilk geliştikleri yere göre sınıflandırılmaktadır. Başladıkları hücre tipine göre kanserler altı ana gruba ayrılmaktadır:

- **Karsinom:** vücudun iç ve dış yüzeylerini kaplayan epitel hücrelerinden kaynaklanan kanserdir. Karsinom, insan kanserlerinin yaklaşık %80 ila %90'ını oluşturan en yaygın kanser türüdür.
- **Sarkomlar:** kas, kemik, kıkırdak ve fibröz doku gibi bağ dokularının katı tümörleridir. Sarkom, insanlarda nadir görülen bir kanser türüdür.
- **Lösemi:** Kemik iliğinin kan oluşturan dokusunda başlayan kanserlerdir.
- **Lenfoma:** lenfositlerde (T hücreleri veya B hücreleri) başlayan kanserdir.

- **Multipl miyelom:** bir tür bağışıklık hücresi olan plazma hücrelerinde başlayan kanserdir. Miyelom hücreleri kemik iliğinde birikir ve vücudun tüm kemiklerinde tümörler oluşturur.
- **Beyin ve omurilik kanserleri:** merkezi sinir sistemi kanserleri olarak bilinirler [23, 24].

2.1.2. Kanserın Ayırt Edici Özellikleri

Her kanser kendine özgü davranış ve büyüme özellikleri sergilemesine rağmen, insan kanserinin çoğu ve belki de tüm türleri tarafından paylaşılan bazı moleküler, biyokimyasal ve hücresel özellikleri vardır. Kanserın ayırt edici özellikleri, kanser hücrelerinin hayatta kalmasına, çoğalmasına ve yayılmasına izin veren kazanılmış fonksiyonel özellikler olarak tanımlanmaktadır. Çoğu kanser hücresi aşağıdaki on ortak özelliği paylaşmaktadır [25, 26]:



Şekil 2.2. Kanserın ayırt edici özellikleri [26].

1. Çoğalma Sinyalinin Sürdürülmesi

Kanser hücrelerinin en temel özelliği, çoğalmalarını sürdürme yetenekleridir. Normal hücreler, hücre homeostazını korumak için hücre büyümesini ve bölünmesini kontrol ederken, kanser hücreleri kontrolsüz bir şekilde çoğalmaktadır. Kanser hücreleri, büyüme faktörlerini kendileri üreterek veya komşu hücrelerde üretimlerini uyarak proliferatif sinyallemeyi sürdürebilmektedir. Ayrıca kanser hücreleri, büyüme faktörü reseptörlerinin sayısını da

artırabilmektedir. Reseptör sayısının artırılması, hücrenin düşük miktarda büyüme faktörüyle bile çoğalmasını sağlamaktadır. Reseptörlerin yapısı da, hücrenin büyüme faktörlerinden bağımsız olarak çoğalmasını sağlamak için değiştirilebilmektedir [25].

2. Büyüme Baskılayıcılarından Kaçınma

Kanser hücreleri, büyüme uyarıcı sinyalleri indüklemeye ve sürdürme kabiliyetine ek olarak, hücre proliferasyonunu önleyen baskılayıcılardan da kaçmaktadır. Hücre büyümesini ve proliferasyonunu inhibe eden TP53, PTEN ve RB dahil olmak üzere birçok baskılayıcı gen keşfedilmiştir. İç veya dış bir uyarıcı bu baskılayıcı genleri aktive ettiğinde, normal hücre döngüsünün durmasına, yaşlanmasına veya hücrenin apoptozisine neden olabilmektedir. Kanser hücrelerinde bu baskılayıcı genler bastırılmaktadır. Bu durum, tümör baskılayıcı genlerin mutasyonları ve/veya inaktivasyonlarından kaynaklanıyor olabileceği düşünülmektedir [25].

3. Hücresel Ölüme Direnç

Apoptoz veya programlanmış hücre ölümü, sürekli varlığı tehdit edecek olan anormal ve eski hücreleri ortadan kaldırmak için doğal bir savunmadır. Apoptoz, pro-apoptotik ve anti-apoptotik proteinleri dengeleyerek kontrol edilmektedir. Tümör hücreleri, TP53 tümör baskılayıcı fonksiyonunun önlenmesi, anti-apoptotik düzenleyicilerin (Bcl-2, Bcl-XL) artırılması, hayatta kalma sinyallerinin (IGF1/2) ekspresyonunun artırılması veya proapoptotik faktörleri (Bax, Bim, Puma) azaltması gibi farklı mekanizmalarla apoptozu önleyebilmektedir [25, 27, 28].

4. Hücresel Replikatif Ölümsüzlüğün Etkinleştirilmesi

Normal hücreler sınırlı sayıda hücre büyümesi ve bölünme döngüsünden geçebilmektedir. Hücre sınırına ulaştıktan sonra, hücre yaşlanma ve kriz aşamalarına girmektedir. Yaşlanma döneminde hücre canlıdır ancak çoğalamamaktadır; kriz ise hücre ölümünü içermektedir [25].

Normal hücrelerde, kromozomların uçlarında yer alan ve hücre bölünme sınırını kontrol eden telomerler, her hücre bölünmesi ile kısılır ve böylelikle hücre bölünme sayısını sınırlamaktadır. Tümör hücreleri ise, telomerleri uzatan bir DNA (Deoksiribo Nükleik Asit) polimeraz olan telomerazı eksprese etmektedir. Böylelikle kanser hücreleri telomerlerin kısalmasına karşı koymaktadır ve hücrelerin daha fazla bölünmesini sağlamaktadır [25, 29].

5. Anjiyogenezin İndüklenmesi

Normal hücreler gibi, kanser hücrelerinin de besinler ve oksijenle beslenmesi ve metabolik atıkları ve karbondioksiti ortadan kaldırması gerekmektedir. Normal hücrelerde, yara

iyileşmesinin bir parçası olarak anjiyogenez (yeni kan damarlarının oluşumu) aktive edilmektedir. Kansere hücreleri ise, ihtiyaç duydukları besinleri ve oksijeni sağlamak için anjiyogenezi sürekli aktif halde tutabilmektedir [25].

Anjiyogenez, anjiyogenezi indükleyen veya inhibe eden faktörlerle yönetilmektedir. Anjiyogenez indükleyicileri ve inhibitörlerinin iyi bilinen prototipleri, sırasıyla vasküler endotelial büyüme faktörü-A (VEGF-A) ve trombospondin-1'dir (TSP-1). VEGF, temel fibroblast büyüme faktörü ve trombositten türetilmiş büyüme faktörü (PDGF) gibi indükleyiciler, anjiyogenezi indüklemek için vasküler endotelial hücrelerdeki hücre yüzeyi reseptörlerine bağlanmaktadır. Hızlı tümör büyümesinden kaynaklanan hipoksi, hipoksi ile indüklenebilir faktör $l\alpha$ 'nın aktivasyonu yoluyla proanjiyojenik faktörlerin üretiminin ana uyarıcısıdır. TSP-1 ve diğer inhibitörler de endotelial hücreler üzerindeki reseptörlere bağlanarak pro-anjiyojenik proteinlerin sinyallerini bastırabilmektedir [25, 30, 31].

6. İnvazyon ve Metastazın Aktivasyonu

Kanser hücreleri vücudun diğer bölgelerine yayılabilmektedir ve yeni alanlarda daha fazla tümör oluşturabilmektedir. İnvazyon ve metastaz, çok aşamalı bir süreçtir ve sıklıkla invazyon-metastaz kaskadı olarak adlandırılmaktadır. İnvazyon-metastaz kaskadı aşağıdaki adımları içermektedir:

- **İnvazyon:** kanser hücrelerinin orijinal tümörden ayrılması ve çevredeki dokulara bulaştırması.
- **İntravazasyon:** kanser hücrelerinin yakındaki kan ve lenfatik damarlara girişi.
- **Ekstravazasyon:** kanser hücrelerinin damardan yeni dokuya geçişi.
- **Mikrometastaz:** küçük kanser hücresi kümelerinin oluşumu.
- **Kolonizasyon:** mikrometastatik kümenin büyümesi [25, 32].

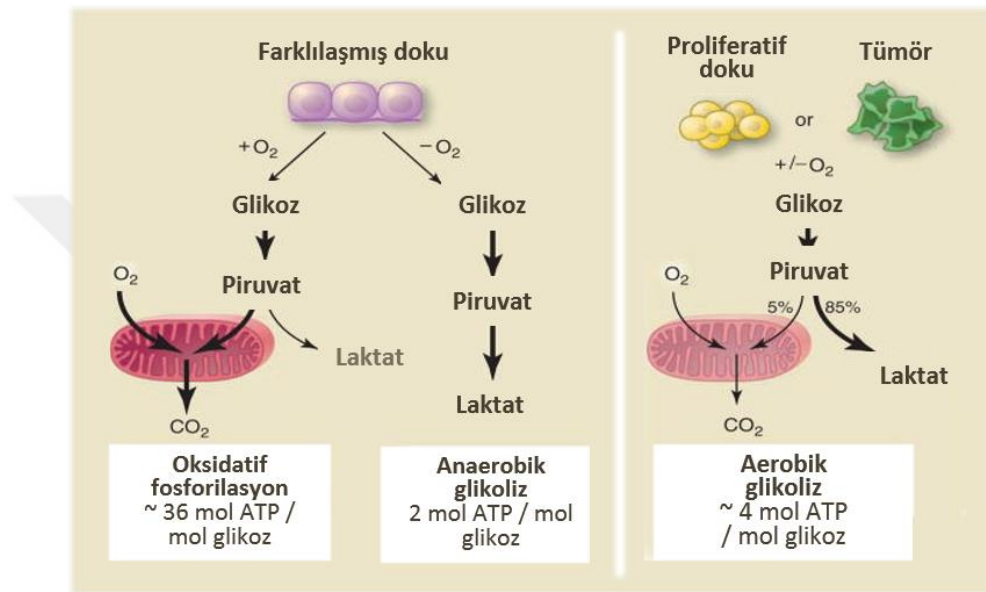
Normal hücreler, bir epitel hücre-hücre yapışması molekülü olan E-cadherin eksprese etmektedir. E-cadherin, epitel hücrelerinin orijinal tümör kitlesinden ilk ayrışmasını önlediği düşünülmektedir E-cadherin fonksiyonunun veya ekspresyonunun kaybı, kanser hücrelerinin çevre dokuları invazyonlarına ve uzak bölgelere göç etmelerine izin vermektedir [25, 33].

7. Enerji Metabolizmasını Değiştirme

Tümöre yeterli besin ve oksijen sağlamak için kanser hücrelerinde enerji metabolizması değiştirilmektedir. Normal hücreler enerjilerinin çoğunu mitokondriyal oksidatif fosforilasyondan alırlar ve anaerobik koşulların varlığında glikolitik yolu kullanmaktadır. Kanser

hücreleri, oksijen varlığında bile glikoliz metabolik yolunun kullanmayı tercih etmektedir (Warburg etkisi) [34].

Glikoliz hızının artırılması, nükleositleri ve amino asitleri oluşturanlar dahil olmak üzere çeşitli biyosentetik yollarda glikolitik ara maddelerin kullanımına izin vermektedir. Böylelikle yeni hücreler oluşturmak için gerekli makromoleküllerin ve organellerin biyosentezini kolaylaştırmaktadır. Glikolizin Ras, MYC gibi aktifleştirilmiş onkogen ve TP53 gibi mutant tümör baskılayıcıları ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [25, 35, 36].



Şekil 2.3. Normal ve kanser hücreleri arasındaki metabolik farklılıklar [37].

8. Bağışıklık Sisteminden Kaçma

Normalde vücudun bağışıklık sistemi anormal ve hasar görmüş hücreleri kansere ve tümörlere dönüşmeden önce yok etmektedir. CD8+ sitotoksik T hücreleri (CTL) ve yardımcı T1 hücreleri (Th1), genellikle interferon (IFN)- γ ve sitotoksin üretimini içeren mekanizmalar yoluyla kanser gelişimini engellemektedir [38]. Kanserli hücreler bağışıklık sisteminden kaçabilirse, hücre büyümesi ve bağışıklık baskılanması arasında bir denge oluşmaktadır. Temel olarak, kanser hücreleri kontrolsüz bir şekilde çoğalamasa da bağışıklık sistemi tarafından da tamamen çıkarılamamaktadır. Bu denge aşamasında, kanser hücreleri adaptasyonlar geliştirebilmektedir ve bağışıklık sisteminden nasıl kurtulacaklarını öğrenebilmektedir. Kanser hücreleri bağışıklık sistemine adapte olabilirlerse, her türlü bağışıklık baskılamasından kaçabilmektedir [26, 39].

Kanser hücreleri, bağışıklık sistemi bileşenlerini inhibe ederek bunlardan kaçabilmektedir. Örneğin, kanser hücreleri, dönüştürücü büyüme faktörü beta (TGF- β) veya

diğer immünoşupresif faktörleri salgılayarak, CTL'leri ve doğal öldürücü hücreleri (NK) inhibe edebilmektedir [40, 41].

9. Etkinleştiren Bir Özellik: Genetik Kararsızlık ve Mutasyonlar

Neredeyse her kanser hücresi genomu, bir veya birkaç büyümeyi düzenleyen genin mutant alellerini taşımaktadır. Aslında daha önce bahsedilen kanser özelliklerinin kazanılması, büyük ölçüde neoplastik hücrelerin genomlarındaki değişikliklere bağlıdır [26].

Vücudun genetik materyali, fizyolojik metabolizma veya çevresel kaynaklı genotoksik maddeler tarafından sürekli olarak maruz kalmaktadır. Ancak, genom bakım sistemi DNA'daki kusurları tespit edip onarabildiği için, normal hücrelerde mutasyon oranı çok düşüktür. Genom bakım sistemi işlevleri, DNA hasar tespiti ve onarımının etkinleştirilmesini, hasarlı DNA'nın onarılmasını ve DNA'ya zarar vermeden önce mutajenik moleküllerin inaktivasyonunu veya inhibisyonunu içermektedir. DNA onarım işlevinde yer alan proteinleri kodlayan genler, "bakıcı genler" olarak adlandırılmaktadır [26, 42, 43].

Çoğu kanser hücresinin genomu genomik değişikliklerle doludur [44]. Kanserlin başlamasının ve ilerlemesinin, orijinal normal hücrelerdeki genomik mutasyonlardan ve bu hücrelerden daha agresif alt klonların seçilmesinden kaynaklandığına inanılmaktadır [45, 46]. Buna ek olarak, kanser hücreleri, genom bakım sistemini zayıflatarak mutasyona uğramış hücrelerin sayısını artırabilmektedir. Pek çok kanser tiplerinde bakıcı genlerini etkileyen çeşitli kusurlar belgelenmiştir [47]. Bu tür genlerdeki mutasyon, hücre hattının genomunda yüksek sıklıkta mutasyonlara neden olmaktadır (genetik kararsızlık)[26, 46] .

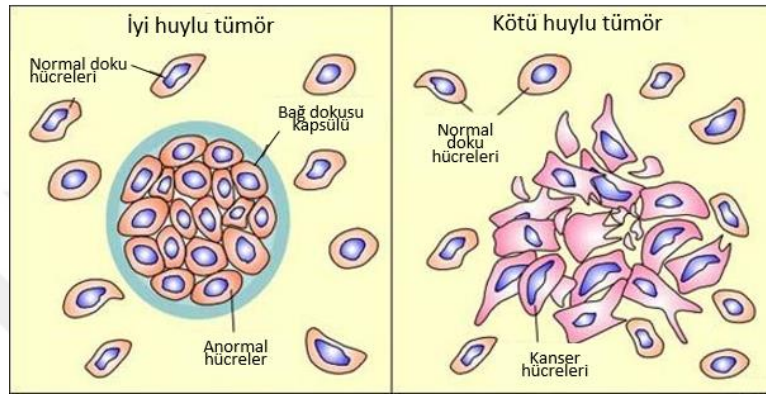
10. Etkinleştiren Bir Özellik: Kanserleşmeyi Destekleyen İnflamasyon

Kanser hücrelerine gelen hücreler arasında çeşitli inflamatuvar fonksiyonlara aracılık eden çeşitli bağışıklık sistemi hücre tipleri bulunmaktadır. Neredeyse tüm neoplastik lezyonlar, çeşitli yoğunluklarda bağışıklık hücreleri içermektedir. Bu tür bağışıklık etkilerinin vücudun tümörü yok etmesine yardımcı olduğu düşünülmektedir. Ancak daha sonra, bu tür bağışıklık etkilerinin kanserin ilerlemesini artırdığı kanıtlanmıştır [26, 48].

Enflamatuvar hücreler, birçok kanser ayırt edici özelliğine katkıda bulunabilmektedir. Örneğin, tümör ilişkili makrofajlar (TAM'ler) büyüme faktörleri salgılayarak kanser hücresi çoğalmasını arttırmaktadır, vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) salgılayarak anjiyogenezi artırmaktadır, matriks metaloproteinazlar (MMP'ler) salgılayarak tümör metastazını ve invazyonunu artırmaktadır ve farklı immünoşupresif sitokinleri salgılayarak adaptif bağışıklığı baskılamaktadır [26, 49].

2.1.3. İyi Huylu ve Kötü Huylu Tümörler

Tümör, hücrelerin aşırı ve anormal çoğalması ile karakterize olan patolojik bir durumdur. Tümörler iyi huylu (benign) veya kötü huylu (malign) olarak ikiye ayrılmaktadır. Tümör hücrelerinin büyümesi menşee yeri ile sınırlı olduğunda ve normal fizikselliğe sahip olduklarında, iyi huylu tümörler olarak değerlendirilmektedir. Hücreler anormal olduğunda ve kontrolsüz bir şekilde büyüdüğü zaman kötü huylu tümörler olarak değerlendirilmektedir (Şekil 2.4) [50]. Aşağıdaki tablo (Tablo 2.1), iki tip tümör arasındaki temel farklılıkları özetlemektedir:



Şekil 2.4. İyi huylu ve kötü huylu tümörler [50].

Tablo 2.1. İyi huylu ve kötü huylu tümörler arasındaki farklılıklar [50, 51].

Özellikler	İyi Huylu Tümörler	Kötü Huylu Tümörler
Büyüme hızı	Çoğu yavaş büyür	Yavaş-Hızlı büyür (düzensiz büyüme hızı)
Kapsül	Genellikle onları saran bir kapsül vardır	Yok
Yerel invazyon	Çevreleyen dokuları istila etmez	Genellikle yakındaki sağlıklı dokuyu çevreleyen bazal membranı istila eder
Metastaz	Vücudun diğer bölgelerine yayılmaz sadece orijinal yerinde büyür	Kan dolaşımını/lenfatik sistemi kullanarak vücudun diğer bölgelerine yayılır
Hücre Morfolojisi	Normal çekirdekler Normal morfoloji Menşe hücreye benzer (iyi farklılaşmış)	Çekirdekleri büyük ve karanlık Anormal morfoloji Menşe hücreye benzemez (iyi farklılaşmamış)
Sistemik Etkiler	Hormon salgılamazlar (istisna: adrenal feokromositomalar)	Yorgunluğa ve kilo kaybına neden olan maddeler salgılayabilir (paraneoplastik sendrom)
Tekrarlama	Tedavi edilirse tekrarlama olasılığı düşüktür	Çıkarıldıktan sonra bazen eski bölgenin dışında başka bölgede tekrarlayabilir
Tedavi	Sağlığı tehdit edici değilse tedavi gerektirmeyebilir	Ameliyat, radyasyon, kemoterapi ve immünoterapi ilaçları dahil agresif tedavi gerektirebilir

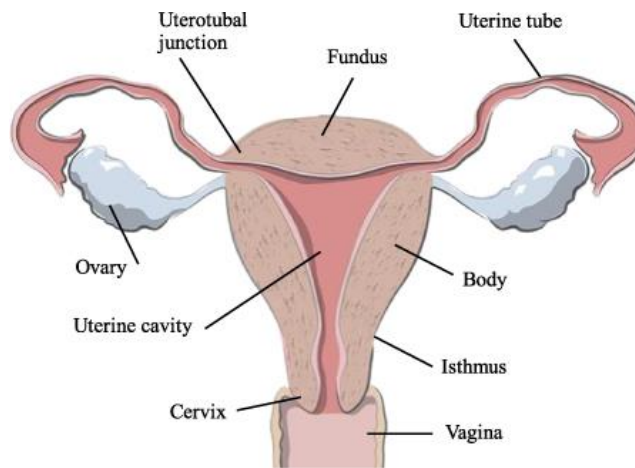
2.2. Endometriyum ve Endometriyum Kanseri

2.2.1. Uterusun Anatomisi ve Histolojisi

Uterus, kadının pelvis boşluğunda, mesanenin arkasında, rektumun önünde ve vajinanın üstünde yer alan, ağırlıklı olarak kaslı bir organdır [52, 53]. Uterus boyutları kadının yaşına ve hormonal durumuna göre farklılık gösterir. Yenidoğan kadınlarda, maternal ve plasental östrojen uyarımı nedeniyle uterus çocukluktan daha büyüktür, kadın yenidoğanda uterusun uzunluğu yaklaşık 4,5 cm olarak bildirilmiştir [54, 55]. Çocukluk döneminde, iki ila altı yaş aralığında, uterus uzunluğu 2,5 cm'ye regrese olmaktadır. Ergenliğin başlangıcından itibaren uterusun ilerleyen bir büyümesi vardır [56, 57]. Yetişkin kadınlarda uterusun uzunluğu 5 ila 8 cm arasında değişir, genişliği yaklaşık 3,5 cm, kalınlığı 1,5 - 3 cm ve ağırlığı 30-40 gramdır. Uterus boşluğunun ortalama hacmi 80 ml ile 200 ml arasındadır [53]. Doğum yapmış olanlarda ise bu ölçümlerde artış görülmektedir [58].

Uterus anatomik olarak üstten aşağıya dört bölüme ayrılmaktadır (şekil 2.5):

- **Fundus:** uterusu fallop tüpüne bağlayan kavisli bir kısımdır.
- **Korpus (rahim gövdesi):** rahmin uterusun esas parçasıdır, fallop tüplerinin seviyesinin hemen altında başlar ve aşağıya doğru devam eder.
- **Isthmus:** 0,5 cm uzunlukta olup serviks ile korpus arasında kalan bölümdür.
- **Serviks (rahim ağzı):** isthmustan aşağı doğru uzanır ve vajinaya açılır [59].

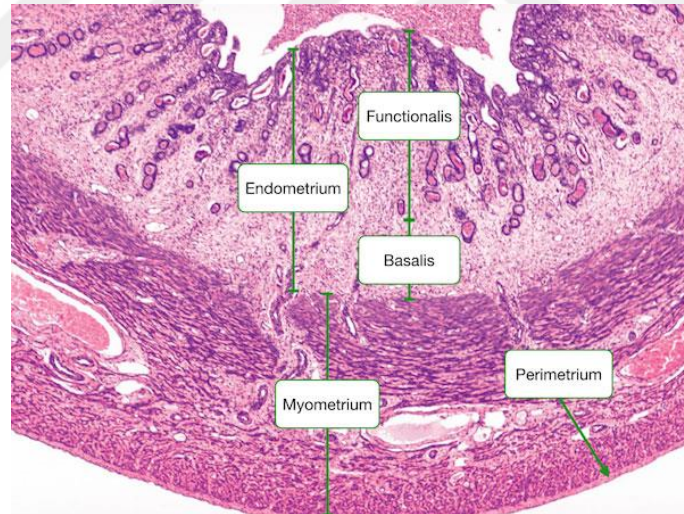


Şekil 2.5. Uterusun anatomisi [60].

Korpus uteri histolojik olarak iç yüzünden dışı doğru üç ana tabakadan oluşmaktadır (şekil 2.6):

- **Endometriyum:** Uterus bezlerinin uzandığı basit kolumnar epitel hücrelerinden oluşmaktadır.
- **Miyometriyum:** Bağ dokusu ile ayrılmış birbirine bağlı düz kas demetlerinden oluşmaktadır.
- **Perimetriyum:** Seroza içeren peritoneal mezotelyum ile kaplı bağ dokusudur [61].

Endometriyum, geçici yüzeysel stratum fonksiyonel ve miyometriyuma bitişik olan kalıcı daha derin stratum bazal olmak üzere iki fonksiyonel tabakaya ayrılır [62]. Yüzeysel stratum fonksiyonel luminal epitel ile kaplıdır, yüzeysel glandüler epitel ve stroma içerir ve aylık adet döngüsü sırasında ve doğumdan sonra tamamen dökülür ve yenilenir [63]. Stratum basalis endometriyum bezlerin terminal bölümünü ve yoğun organize edilmiş stroma içerir ve adet sırasında veya doğum sırasında dökülmez; yumurtalık fonksiyonunun kesilmesinden sonra, atrofik, inaktif bir postmenopozal endometriyum olarak kalır [62]. Kan damarları ve bağışıklık hücreleri her iki tabakada da bulunmaktadır [64].



Şekil 2.6. Uterusun histolojisi [65].

2.2.2. Endometriyum Kanseri

Rahim gövdesinin kanserleri, rahim korpusu kanseri olarak adlandırılır. Ancak, rahim ağzı kanseri ayrı bir kanser türü olduğu için bazen 'uterus kanserleri' genel terimi uterus korpusunun kanserlerini belirtmek için kullanılır. Uterus korpusunun kanserinin iki türü vardır:

- **Endometriyum karsinomları**, epitelden oluşmaktadır ve toplam uterus korpusu kanseri vakalarının yaklaşık %95'ini oluşturmaktadır.
- **Uterus sarkomları**, uterusun kasları ve bağ dokusundan (miyometriyum) kaynaklanmaktadır ve tüm uterus korpusu kanserlerinin %5'ini oluşturmaktadır [66].

2.2.3. Endometriyum Kanserinin Epidemiyolojisi

Uterus kanseri (rahim kanseri, uterus korpusunun kanseri), gelişmiş ülkelerde kadınları etkileyen en yaygın jinekolojik kanserdir ve gelişmekte olan ülkelerde daha yüksek rahim ağzı kanseri oranları nedeniyle, dünya çapında ikinci sıklıkta görülen jinekolojik kanserdir [67]. Rahim kanserlerinin %90'ından fazlası endometriyum kanserdir; diğer %10'u uterus kasında (miyometriyum) veya endometriyumu destekleyen bağ dokusunda (stroma) gelişen uterus sarkomlarıdır [68].

Son yıllarda tüm dünyada endometriyum kanseri teşhisi konulan vaka sayısı artmıştır. Küresel kanser veri tabanı GLOBOCAN kanser istatistiklerine göre, 2018 yılında dünya çapında yaklaşık 382.069 yeni uterus korpus kanseri vakası teşhis edilmiştir ve 89.929 kadın bu hastalık yüzünden ölmüştür. Uterus korpusunun kanseri, tüm kadın kanser vakalarının %4,4'ünü ve kanser ölümlerinin %2,2'ini oluşturmaktadır. Hastalığın oranları ülkeler arasında büyük farklılıklar göstermektedir. Oranlar Kuzey Amerika ve Avrupa'da en yüksek, Hindistan ve Güney Afrika gibi orta gelirli ülkelerde en düşüktür [67].

Türkiye'deki jinekolojik kanserlerin epidemiyolojik verileri Avrupa ve gelişmiş ülkelerdeki verilere benzemektedir. Ülkemizde uterus korpusu kanseri kadınlarda beşinci en yaygın kanser olup tüm kanser vakalarının %6,1'ini oluşturmaktadır [2, 69]. Uterus korpusu kanserinin ortalama insidansı 100.000'de 10,36'dır. Yıllık yaklaşık 3850 yeni rahim kanseri vakası bildirilmekte ve ona bağlı yaklaşık 520 ölüm görülmektedir. Ortalama tanı yaşı 58'dir. Endometriyum tümörleri arasında en yaygın histolojik alt tip endometrioid adenokarsinom (%67,2), ardından seröz (%2,0), skuamöz (%1,9), karışık (%1,86), müsin (%1,6), berrak hücre (%1,5) ve diğer endometriyum kanser tipleri rahim kanserlerinin %13'ünü oluşturur [69].

2.2.5. Endometriyum Kanserinin Sınıflandırılması

Endometriyum kanser tipleri biyolojik, klinik, morfolojik ve genetik olarak farklılık gösterir. Son on yılda hastalığın prognozu iyileştirmeyi ve fonksiyonu öngörmeyi amaçlayan çeşitli sınıflandırmalar önerilmiştir:

Bokhman Dualistik Sınıflaması

Yakın zamana kadar, Bokhman'ın 1983'te kurulan dualist sınıflandırma modeli, hem patologlar hem de klinisyenler tarafından yaygın olarak kullanılmıştır. Bokhman'ın sistemine göre, endometriyum kanserler klinik, demografik ve endokrin özelliklerine göre tip I veya tip II olarak sınıflandırılmaktadır [3, 70]:

- **Tip I endometriyum kanserler;** endometriyum kanserlerin yaklaşık %80 - 90'ını oluşturmaktadır. Vücuttaki aşırı östrojene bağlıdır ve nispeten genç ve premenopozal kadınlarda ortaya çıkmaktadır. Çoğunlukla endometrioid adenokarsinomlardır. Genellikle yavaş büyürler ve yayılma olasılıkları daha azdır.
- **Tip II endometriyum kanserler;** endometriyum kanserlerin %10 - 20'sini oluşturmakta ve genellikle menopoz sonrası kadınların atrofik endometriyumunda ortaya çıkmaktadır. Uterin seröz karsinomları ve berrak hücreli karsinomları içermektedir. Bu kategorideki kanserlerin hormonal olarak bağımsız olduğu düşünülmektedir; ancak, son kanıtlar iki alt tip arasında ortak risk faktörlerini göstermiştir [4]. Bu kanserler genellikle daha hızlı büyür ve yayılma olasılığı daha yüksektir [3, 70].

Bununla birlikte, bu iki tip endometriyum kanser arasında ayırım yapmak morfolojik veya genetik olarak her zaman mümkün değildir. Endometrioid karsinomların %10 ila %19'unun histopatolojik ve moleküler özelliklerinin ne tip 1 ne de tip 2 kategorilerine uymadığı gösterilmiştir [71-73].

DSÖ'nün Sınıflaması

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), endometriyum kanserini neoplastik hücrenin kökeni ve histolojik morfolojiye dayanarak 7 kategoriye ayırmıştır:

1. Epitelyal tümörler

- **Endometrioid adenokarsinom**
 - Villoglandular karsinom
 - Sekretuar endometrioid karsinomu

- Skuamoz diferansiyasyon gösteren karsinom
 - Siliyalı karsinom
 - **Seröz karsinom**
 - **Berrak hücreli karsinom**
 - **Müsinöz karsinom**
 - **Nöroendokrin karsinom**
 - Düşük dereceli nöroendokrin tümörler (karsinoidler)
 - Yüksek dereceli nöroendokrin karsinomlar
 - Büyük hücreli nöroendokrin karsinomlar
 - Küçük hücreli nöroendokrin karsinomlar
 - **Skumöz karsinom**
 - **Karışık tip karsinom**
 - **Farklılaşmamış karsinom**
 - **Geri farklılaşmış karsinomlar**; aynı tümörde düşük dereceli endometrioid karsinom ve farklılaşmamış bir karsinom kombinasyonu.
2. **Mezenkimal tümörler**; örneğin, endometriyum stromal ve düz kas tümörleri.
 3. **Karışık epitelyal ve mezenkimal tümörler**; örn., karsinosarkomlar.
 4. **Gestasyonel trofoblastik hastalıklar ve diğer malign tümörler.**
 5. **Çeşitli tümörler**; örneğin nöroektodermal tümörler.
 6. **Lenfoid ve miyeloid tümörler**; örneğin Lenfomalar.
 7. **İkincil tümörler**; başka bir organdan endometriyuma yayılmıştır.

Bu sınıflandırmanın kısıtlılığı, karsinosarkomun karışık bir epitelyal mezenkimal tümör olduğu düşünülürken, araştırmalar bu bifazik tümörlerin dönüştürülmüş bir epitelyal hücreden klonal olarak türetildiğini göstermiştir. Bu nedenle, bu kısıtlılıkların üstesinden gelmek için alternatif sınıflandırmalar önerilmiştir [65, 74].

2.2.5. Endometriyum Adenokarsinomlarının Histolojik Tipleri

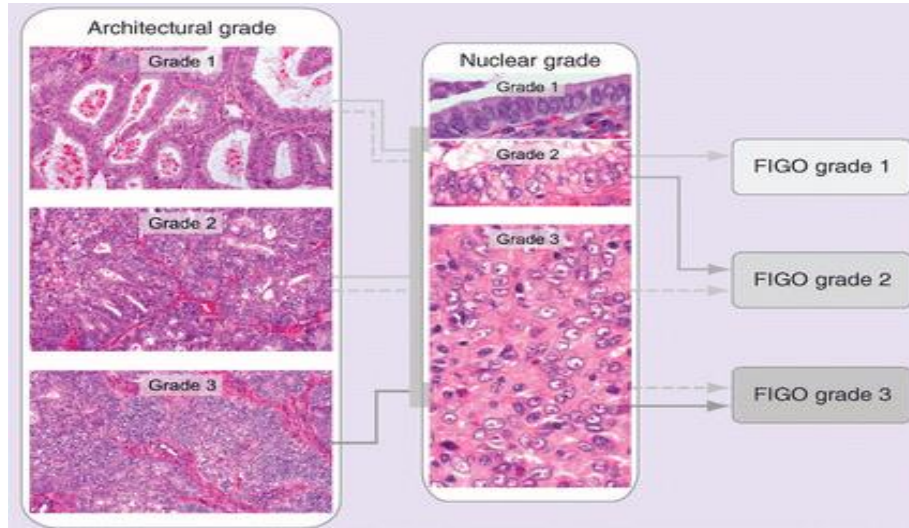
Endometrioid Adenokarsinom

Endometriyum karsinomun en sık görülen tipidir ve tüm vakaların %85'inden fazlasını oluşturmaktadır. Proliferatif fazdaki endometriuma benzediği için endometrioid olarak adlandırılmaktadır. Endometrioid adenokarsinomun iyi farklılaşmış formları, stroma içermeyen küçük, yuvarlak sırt sırta bezlerden oluşmaktadır.

Uluslararası Jinekoloji ve Obstetrik Federasyonu (FIGO) tarafından geliştirilen endometriyum karsinom evreleme sistemi, endometrioid karsinomlu hastalar için en güçlü prognostik parametre olarak kabul edilmiştir. Sisteme göre, endometrioid adenokarsinomlar, tümör paterni ve nükleer morfoloji değerlendirilerek derecelendirilir. (Tablo 2.2). Seröz, berrak hücre, farklılaşmamış karsinom ve karsinosarkom derecelendirilmez ve yüksek dereceli (grade 3) karsinom olarak kabul edilmektedir [75–77].

Tablo 2.2. Endometrioid adenokarsinomun FIGO evreleme sistemi. Derece öncelikle tümör paternine bağlıdır, ancak önemli nükleer atipi, derece 1 tümörü, derece 2'ye ve derece 2 tümörü, derece 3'e değiştirmektedir [65].

Tümörün Paterni			Nükleer Morfolojisi
G1	%5'ten az nonskuamöz nonmorular büyüme paterni	ya da	Oval/uzamış çekirdekler, ince kromatin, küçük nükleoller, az mitoz
G2	%6 ila %50 nonskuamöz nonmorular büyüme paterni	ya da	G1 ve G3 dereceler arasındaki özellikler
G3	%50'den fazla nonskuamöz nonmorular büyüme paterni	ya da	Büyütülmüş / pleomorfik çekirdekler, kalın kromatin, belirgin nükleoller, birçok mitoz



Şekil 2.7. Endometrioid adenokarsinomun FIGO derecelendirmesi [78].

Seröz Endomteryal Karsinom

Seröz karsinom, tüm vakaların yaklaşık %5 ila %10'unu oluşturan nispeten nadir bir endometriyum karsinom türüdür. Özellikle agresif bir tümördür ve hastaların %40-50'si derin miyometriyal invazyon ve vasküler invazyon ile görülmektedir [79]. Seröz karsinomda papiller patern baskındır, ancak glandüler ve katı paternler de görülebilmektedir. Tümörün seröz karsinom olarak nitelendirilebilmesi için belirgin nükleer atipi gereklidir. Seröz karsinomun yayılması genellikle karın içine olmaktadır. Karın içi metastazlar erken dönemde ortaya çıkar ve sıklıkla miyometriyal invazyon yokluğunda tanıda bulunmaktadır bu cümle tam anlaşılmıyor [75-77].

Berrak Hücreli Endometriyum Kanseri

Berrak hücreli karsinom, endometriyum karsinomların yaklaşık %1 ila %5'ini oluşturmaktadır. Kötü bir prognoza sahiptir ve neredeyse sadece menopoz sonrası kadınlarda görülmektedir [80]. Histolojik olarak, genellikle papiller, tübülökistik, glandüler veya solid alt tiplerin karışık konfigürasyonlarını içermektedir. Bol glikojen birikimi nedeniyle, neoplastik hücrelerin sitoplazması genellikle histolojik olarak berrak görünmektedir [75-77].

Karsinosarkom

Karsinosarkomlar, hem malign epitelyal hücreleri (karsinom) hem de malign stromal hücreleri (sarkom) içeren nadir endometriyum karsinomlarıdır (<%5). Genellikle yaşlı postmenopozal kadınlarda görülmektedir, son derece agresiftir ve çok kötü bir prognoza sahiptirler [75-77].

Uterus karsinosarkomları başlangıçta sarkomlar olarak sınıflandırılmıştır, ancak şimdi immünohistokimyasal ve moleküler çalışmalarına göre metaplastik karsinom olarak kabul edilmektedir [75]. Epitel kısmı genellikle yüksek dereceli endometriyum adenokarsinom, genellikle seröz veya berrak hücreli karsinom özelliklerine sahiptir. Sarkomatöz kısmı, karsinomdan veya farklı farklılaşmaya uğrayan bir kök hücreden oluşur. Sarkomatöz kısmı ya homologdur (normalde uterusda bulunan dokulardan oluşur) ya da heterologdur (malign kıkırdak veya iskelet kası gibi normalde uterusda bulunmayan dokulardan oluşur) [75–77].

Nadir Tipler

Endometriyumda nöroendokrin karsinomlar (düşük dereceli ve yüksek dereceli) ve farklılaşmamış endometriyum karsinomları oluşabilmektedir.

Karışık Tümörler

Endometrioid tümör, seröz veya berrak hücre tipi odakları gösterebilmektedir. Yüksek dereceli bir alt tip, tümörün en az %10'unu oluşturduğunda, buna karışık tümör adı verilmektedir. %25'ten fazla veya buna eşit seröz veya berrak bileşen içeren karışık endometrioid tümör, sırasıyla saf seröz veya berrak karsinom gibi davranmaktadır [65].

2.2.6. Endometriyum Kanserinin Risk Faktörleri

Her iki endometriyum kanser türü de aynı risk faktörlerini paylaşır. Bu faktörler genellikle östrojene maruz kalma ile ilişkilidir. Bu nedenle tip II tümörlerin etiyojisi, daha önce düşünüldüğü gibi tamamen östrojenden bağımsız olmayabilmektedir [4]. Risk faktörleri aşağıdaki şekilde kategorize edilebilmektedir:

Endometriyum kanser riskini artıran faktörler

- **Yaş:** Endometriyum kanser riski yaşla birlikte artmaktadır. Örneğin, 40 yaşın altındaki bir kadının hastalığı geliştirme riski 1:1423 iken, 70 yaşından büyük bir kadının 1:81 riski vardır [81]. Endometriyum kanser vakalarının %90'ından fazlası 50 yaşından büyük kadınlarda görülmektedir [82]. Tip I ve tip II'nin ortalama tanı yaşı sırasıyla 62,2 ve 65,6'dır [83].
- **İrk:** Endometriyum kanser insidansının ırk ve etnik kökene göre değiştiği gösterilmiştir. En yüksek oranlar Hispanik olmayan Beyaz kadınlar arasında, en düşük oranlar ise Asyalı kadınlar arasındadır [84].

- **Obezite:** Endometriyum kanseri, obezite ile ilişkili olarak tanınan ilk kanserdir [85]. Endometriyum kanser insidansının yaklaşık %39'ının aşırı vücut ağırlığına bağlı olduğu tahmin edilmektedir [86]. Obezitenin endometriyum kanser gelişme riskini 2,6 ila 4,7 kat arttırdığı gösterilmiştir [87]. Tip I tümörü olan hastaların tip II tümörü olanlara göre daha obez olduğu gösterilmiştir (ortalama vücut kitle indeksleri sırasıyla 34,3 ve 32,2'dir) [83]. Obezite ile endometriyum kanser arasındaki ilişkinin altında yatan mekanizmalar tam olarak anlaşılamamıştır, ancak muhtemelen postmenopozal kadınlarda daha yüksek östrojen seviyeleri, hiperinsülinemi ve kronik inflamatuvar durum içermektedir [88–92]. Östrojenler ve obezite arasındaki bağlantı, yağ dokusunun östrojen sentezleme yeteneğinden kaynaklanmaktadır [93]. Yağ dokusunda, hem adipositler hem de stromal hücreler, androjenleri östrojenlere dönüştürmekten sorumlu olan aromataz enzimini eksprese etmektedir [94, 95]. Yağ dokusu tarafından üretilen aşırı östrojenler, endometriyuma progesteron tarafından karşılanmayan bir büyüme sinyali sağlamaktadır.
- **Menstrüel siklusların sayısının artması:** Menarş ve menopoz arasında gebelik hariç yılların sayısındaki artış, endometriyum risk artışıyla ilişkilendirilmiştir [96]. 12 yaşında veya daha erken yaşlarda menarş olan kadınlarda endometriyum kanser insidansının daha yüksek olduğu bildirilmiştir [96, 97]. Aksine, 52 yaşında veya daha sonra menopoza girenlerin 50 yaşın altındaki menopoza giren kadınlara kıyasla endometriyum kanser gelişme riski iki kat daha fazladır [98].
- **Polikistik Over Sendromu (PCOS):** PCOS'lu kadınlarda endometriyum kanser gelişme riski PCOS'u olmayan kadınlardan 3,8 ila 17 kat daha yüksektir [99–102]. Riski artırmanın ana nedeni, endometriyumun östrojene uzun süre maruz kalmasıdır. Bununla birlikte, PCOS kadınlarında insülin direncinin de endometriyum kanserin gelişiminde rol oynadığı düşünülmektedir [102, 103].
Bu riskin bir kısmı muhtemelen anovülasyon ile ilgilidir. Anovulatuvar kadınlarda, yumurtlama ve corpus luteum üretimi eksikliği progesteron düzeylerini düşük tutmaktadır. Azalmış progesteron, östrojen ile uyarılan endometriyumda belirgin bir büyüme baskılaması uygulayamamaktadır. [104, 105].
- **Endometriyum Polipler:** Endometriyum polip, endometriyum yüzeyinden çıkıntı yapan endometriyum bezlerin ve stromaların aşırı büyümesidir. Endometriyum polipli kadınlarda endometriyum kanser riski yaklaşık %1,3'tür [106]. Anormal vajinal kanama veya menopoz durumunun varlığında da endometriyum kanserin riski artmaktadır. Endometriyum kanseri, endometriyum polipli menopoz sonrası kadınların yaklaşık %5,42'sinde ve semptomatik kanaması olan kadınların %4,15'inde bulunmaktadır [107].

Estradiol ve tamoksifenin endometriyum polip oluşumunun nedenlerinden olduğu düşünülmektedir. Bununla birlikte, endometriyum poliplerin tam patogenezi ve onkogeneze yol açan faktörler henüz aydınlatılamamıştır [106, 108–110].

- **Hormon Replasman Tedavisi (HRT):** Yalnızca östrojen içeren HRT ve tibolon (östrojen, progesteron ve androjen reseptörlerinin bir agonistidir) kullanımının, tedavi 5 yıldan az sürdüğünde bile endometriyum kanser riskini arttırdığı belirtilmiştir [111–113]. Ancak, obez kadınlar arasında, tibolon ve yalnızca östrojen içeren HRT kullanımının insidans üzerinde çok az ek etkisi olmuştur. Bunun nedeni muhtemelen zaten yüksek seviyelerde endojen östrojen bulunmasıdır, böylece eksojen östrojen çok az ek etkiye neden olabilmektedir [114, 115]. Obez kadınlar arasında, hem sürekli hem de döngüsel kombine HRT kullanımı endometriyum kanser insidansını önemli ölçüde azaltmaktadır. Kanser insidansındaki azalma, progestajenlerin günlük kullanımı ile en fazladır. Bu nedenle, kombine HRT'deki progestajenler, hem endojen hem de ekzojen östrojenlerin endometriyum üzerindeki kanserojen etkilerine karşı çıktığı görülmektedir. Aksine, fazla kilolu olmayan arasında, döngüsel kombine HRT kullanımı hiç kullanmayanlara kıyasla endometriyum kanseri insidansını önemli ölçüde artırmaktadır ve sürekli kombine HRT kullanımı hiçbir fayda sağlamamaktadır [115].
- **Tamoksifen:** Uluslararası kanser araştırma ajansı, tamoksifeni endometrial kanserin bir nedeni olarak sınıflandırmıştır. Meme kanseri hücrelerinde, tamoksifen östrojen reseptörü antagonisti olarak çalışmaktadır. Ancak, endometriyum kanser hücrelerinde, tamoksifen östrojenik özelliklere sahiptir ve parsiyal agonist olarak işlev görmektedir [116]. Endometriyum kanser riski günlük tamoksifen dozu ile ilişkili değilken, ancak daha uzun süre ve birikimli kullanım ile ilişkili olarak bulunmuştur [117]. Beş yıl veya daha uzun süre tamoksifen kullanan kadınların, tamoksifen kullanmayanlara göre %59 daha fazla endometriyum kanser riskine sahip olduğu bulunmuştur [118].
- **Diyabet:** Diyabet hastalarında endometriyum kanser riski diyabetli olmayanlara göre daha yüksektir [119, 120]. Ancak, araştırmaların sonuçlarını vücut kitle indeksine göre ayarlandığında, diyabet ile endometriyum kanser riski arasındaki ilişki önemsiz hale gelmektedir. Bu nedenle, diyabet ve endometriyum kanser insidansı arasındaki ilişkinin büyük ölçüde vücut ağırlığı ile karıştırılabileceği öne sürülmektedir. Yine de vücut ağırlığından bağımsız olarak hafif derecede yüksek bir risk olabilmektedir [121].

Düşük endometriyum kanser riski ile ilişkili faktörler

- **Kontraseptifler:** Kombine oral kontraseptiflerin her iki endometriyum kanser tipine karşı koruyucu etkisi iyi belgelenmiştir. Bir meta-analiz çalışması, endometriyum kanser riski ile kombine oral kontraseptiflerin tüketim süresi arasında ters bir ilişki olduğunu bildirmiştir [4, 122]. Her 5 yıllık kullanımda 0,76'lık nispi bir risk azalması ile ilişkilendirilmiştir ve kalıcı olumlu sonuç kombine oral kontraseptiflerin kesilmesinden sonra 30 yıla kadar devam edebileceği bildirilmiştir [122, 123]. Levonorgestrel salan intrauterin sistemin kullanımı da endometriyum kanser riski ile ters ilişkilidir [124, 125].
- **Gebelik:** Hiç doğum yapmamış kadınlar, parus kadınlara kıyasla endometriyum kanser gelişme riskinin %35 ila 42 daha fazladır [4]. Son gebelikte kadınların yaşı, endometriyum kanser riskinin azalması ile ilişkilendirilmiştir. En son 40 yaşında veya daha önce doğum yapan kadınlar, son doğumlarını 25 yaşın altında olan kadınlara göre %44 azalmış bir risk taşımaktadır [126]. Ayrıca, çalışmalar doğum sayısının daha düşük endometriyum kanser riski ile ilişkili olduğunu göstermektedir [127]. Bu muhtemelen hamilelik sırasında progesterona uzun süre maruz kalmaktan ve doğum sırasında premalign ve malign hücrelerin dökülmesinden kaynaklanmaktadır [128, 129].
- **Sigara kullanımı:** Epidemiyolojik çalışmalar, mevcut veya eski sigara içmenin endometriyum kanser riskini hafif ila orta derecede azalmış bir risk ile ilişkili olduğunu göstermektedir [130, 131]. Sigara içmenin çeşitli anti-östrojenik mekanizmalar aracılığıyla endometriyum karsinom riskini azalttığı düşünülmektedir. Birincisi, sigara içenler sigara içmeyenlerden daha zayıf olma eğilimindedir. Ayrıca sigara içmek östrojen metabolizmasının zayıf 2-hidroksiöstrojenlere dönüşmesine, dolaşımdaki progesteronun artmasına ve erken menopoza neden olmaktadır [132–135]. Ancak, sigara içmek meme kanseri gibi östrojene bağlı diğer kanserler için koruyucu değildir [136].
- **Diğer faktörler:** Fiziksel aktivite, turpgillerden sebzeler tüketimi, kahve ve yeşil çay içmek gibi bazı yaşam tarzı ve beslenme faktörlerinin endometriyum kanser riskini azalttığı gösterilmiştir [137–140]. Ancak, kahve ve çay ile endometriyum kanser arasındaki ilişki tartışmalıdır [141].

2.3. Steroid Hormonları

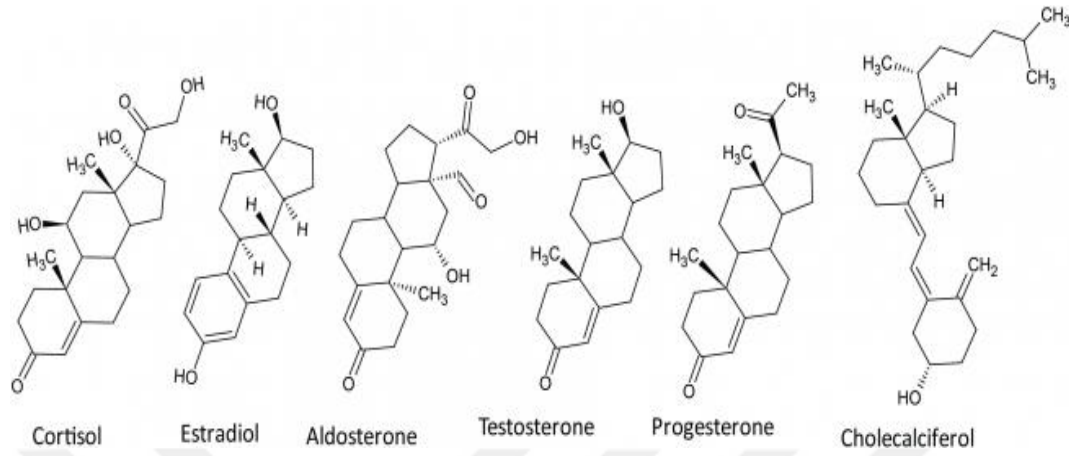
Steroid hormonları, hücrel metabolizma, gelişme ve fizyoloji dahil olmak üzere çeşitli biyolojik işlevlerin düzenleyicileri olarak iyi bilinmektedir. Tüm steroid hormonları ortak öncü olan kolesterolden sentezlenmekte ve yapısal olarak yalnızca halkalardaki kimyasal bağların ve yan zincirdeki modifikasyonların modelinde farklılık göstermektedir [142].

2.3.1. Steroid Hormonlarının Sınıflandırması

Steroid hormonlarının ana bileşenleri kortikosteroidler (mineralokortikoidler ve glukokortikoidler), seks steroidler (androjenler, östrojen ve progesteron), ve sekosteroidler (D vitamini ve metabolitleri). Kimyasal yapılarına ve biyolojik aktivitelerine göre, steroid hormonları altı ana gruba ayrılmaktadır (şekil 2.8):

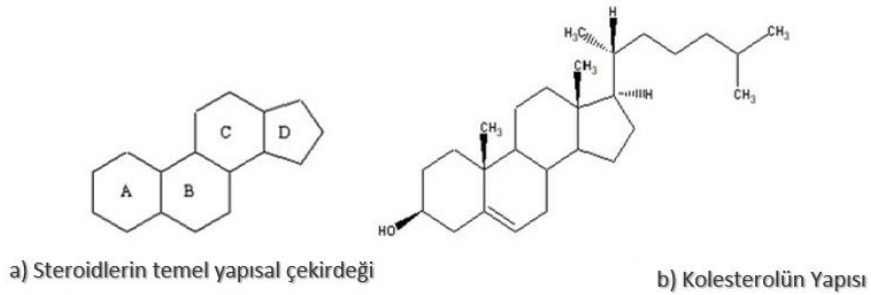
- 1. Mineralokortikoidler:** Su ve elektrolit dengesinin düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır. Mineralokortikoid aktiviteye sahip ana steroid aldosteron'dur.
- 2. Glukokortikoidler:** Glukokortikoidler yaşam için gereklidir ve birçok önemli kardiyovasküler, metabolik, immünolojik ve homeostatik fonksiyonları düzenlemektedir. Kortizol (hidrokortizon) insandaki en önemli glukokortikoiddir.
- 3. Östrojenler:** Östrojen, kadın üreme fonksiyonunun ve ikincil cinsel özelliklerin geliştirilmesinden ve düzenlenmesinden sorumlu olan temel kadın cinsiyet hormonudur. Endojen östrojenlerin üç ana tipi vardır; Birincisi ve en güçlüsü üreme yaşamında baskın olan östradioldür (E2), ikincisi menopozdan sonra baskın olan östrondur (E1) ve üçüncüsü plasenta tarafından üretilen en zayıf olan östrioldür (E3).
- 4. Progestinler:** Progestinlerin işlevi esas olarak uterusu hamileliğe ve memeleri emzirmeye hazırlamaktır. Progesteron vücuttaki en önemli progestojendir.
- 5. Androjenler:** Androjenler, erkek cinsel ve üreme işlevleri için gereklidir. Erkeklerde ikincil cinsel özelliklerin gelişmesinden de sorumludurlar. Ek olarak, bu hormonların üreme sistemi, kemik, ve kas dahil birçok organın işlevini düzenlediğine inanılmaktadır. En önemli androjenler testosteron ve androstenediondur.
- 6. D vitamini:** D vitamini teknik olarak bir vitamin değildir, yani temel bir diyet faktörü değildir; aksine, ciltte 7-dehidrokolesterolden fotokimyasal olarak üretilen bir prohormondur. Araştırmacılar, 1α -25-dihidroksivitamin D3'ün bir steroid hormonu olduğunu düşünmektedir ve diğer steroid hormonlarla aynı şekilde çalıştığına inanmaktadır. D vitamini, kalsiyum ve fosfor seviyelerinin düzenlenmesinde, bağışıklık fonksiyonunda ve kemik, kas ve kalp sağlığının korunmasında rol oynamaktadır [143, 144].

Bunlara ek olarak, safra asitleri yapısal olarak kolesterol ile ilişkilidir ve bu nedenle steroid ailesinin yedinci üyesini oluşturmaktadır [142, 145].



Şekil 2.8. Steroid hormonların kimyasal yapıları [146].

Tüm steroidler bir siklopentanoperhidrofenantren (steran) çekirdeğe sahiptir. Steroid çekirdek yapısı, dört "birleştirilmiş" halka halinde bağlanmış on yedi karbon atomundan oluşur: üç altı üyeli sikloheksan halkası (ilk resimde A, B ve C halkaları) ve bir beş üyeli siklopentan halkası (D halkası) [142].



Şekil 2.9. Steroidlerin temel yapısal çekirdeği ve kolesterolün yapısı [147].

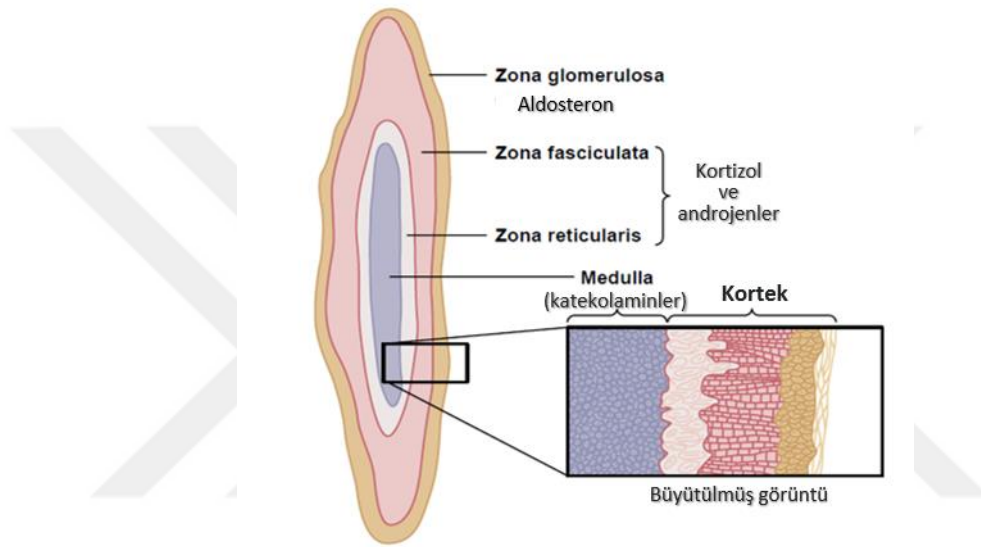
2.3.2. Steroid Hormonlarının Sentez Yerleri

Adrenal korteks, iki ana kortikosteroidin (mineralokortikoidler ve glukokortikoidler) salgılanmasından sorumludur. Aynı zamanda az miktarda seks steroid hormonları (özellikle androjenik hormonları) da salgılanmaktadır. Adrenal korteksin üç ayrı katmanı vardır (Şekil 2.10):

- **Zona glomerulosa:** kapsülün hemen altında yer alan ince bir hücre tabakası, adrenal korteksin yaklaşık yüzde 15'ini oluşturur. Bu hücreler, aldosteron sentezi için gerekli

olan aldosteron sentaz enzimini içerdikleri için önemli miktarda *aldosteron* salgılayabilen böbrek üstü bezindeki tek hücrelerdir.

- **Zona fasciculata:** orta ve en geniş katmandır, adrenal korteksin yaklaşık yüzde 75'ini oluşturmaktadır. *Glukokortikoidleri (kortizol ve kortikosteron)* ve az miktarda adrenal androjen ve östrojen salgılamaktadır.
- **Zona retikularis:** korteksin en derin tabakasıdır. *Adrenal androjenleri (dehidroepiandrosteron (DHEA) ve androstenedion)* salgılamaktadır. Bu hücreler tarafından az miktarda östrojen ve bazı glukokortikoidler de salgılanmaktadır [144].



Şekil 2.10. Adrenal korteksin farklı bölgeleri tarafından adrenokortikal hormonların salgılanması [144].

Kadınlarda, östrojenler, yumurtalıkların granüloza hücreleri ve korpus luteum tarafından sentezlenmektedir. Ayrıca, östrojenler, androjenlerin estron'a periferik aromatisasyonu ile yağ dokusu ve kemik gibi gonadal olmayan bölgelerde de sentezlenmektedir. Progesteron, korpus luteum ve hamilelik sırasında plasenta tarafından sentezlenmektedir. Ayrıca, progesteron, adrenal kortekste androjen ve mineralokortikoid sentezinde bir adım olarak üretilmektedir. Erkeklerde ise, bazı periferik dokularda aromataz dolaşımdaki testosteronu estradiol'e ve androstenedionu estron'a dönüştürmektedir. Ana androjen hormonu olan testosteron, testislerdeki Leydig hücreleri tarafından sentezlenir [144].

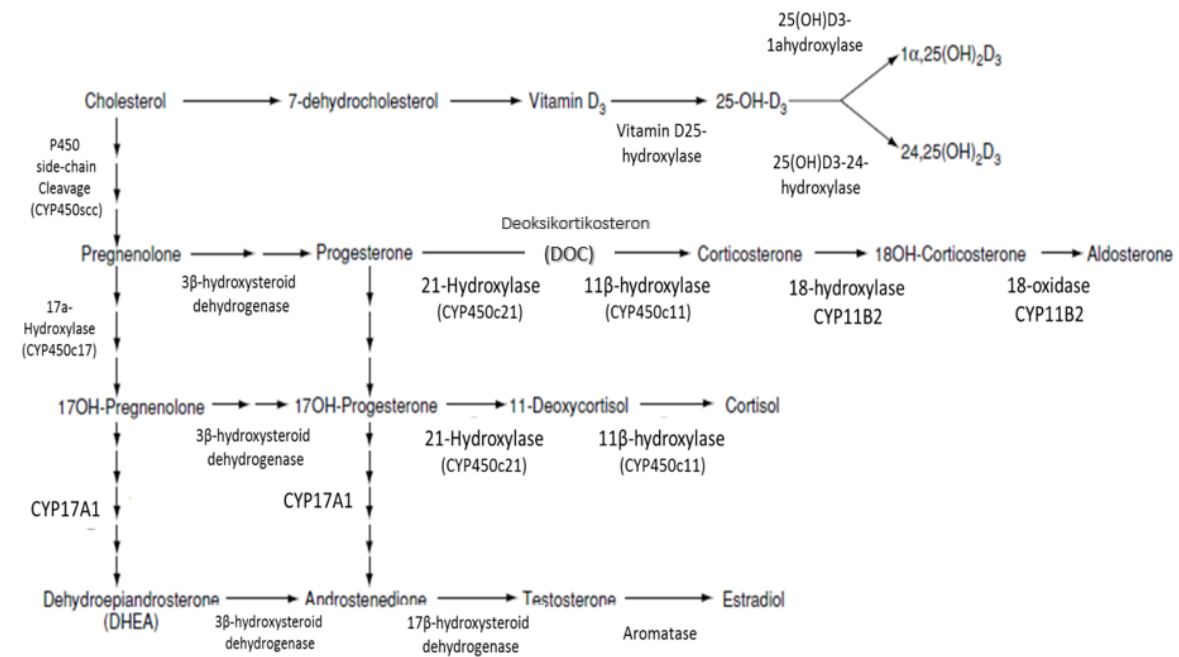
Prohormon D3 vitamini ve metabolitlerinin sentez bölgeleri deri, karaciğer ve böbrektir. Steroidlerin yedinci önemli sınıfı olan safra asitlerinin bilinen hiçbir hormonal aktivitesi yoktur; esas olarak karaciğerde sentezlenmekte ve yağın sindirimine ve emilimine yardımcı olmak için safra kesesinden salgılanmaktadır [145].

Bununla birlikte, önemli sayıda çalışma, beyin, yağ dokusu ve bağırsak dahil olmak üzere birçok organın steroid hormonları üretebildiğini göstermiştir. Bunlara steroid olmayan veya intrakrin dokular denir. İntrakrin dokular, kolesterolü aktif steroid hormonlara dönüştürme kabiliyetine sahip değildir, ancak dokularda bulunan enzimlere bağlı olarak çeşitli steroid öncülerinden aktif steroidler üretilmektedir [148].

2.3.3. Steroid Hormonlarının Biyosentezi

Steroid hormonların biyosentezi, farklı dokularda bulunan çoklu enzim sistemlerini içermektedir. Steroid hormonlar, hidroksilasyon ve dehidroksilasyon-oksidasyon reaksiyonlarını katalize eden dehidrojenazlar ve sitokrom P450 enzimleri tarafından sentezlenmektedir. Ökaryotik sitokromlar P450, steroid sentezleyen dokuların iç mitokondriyal veya endoplazmik retikulum membranlarında eksprese edilen membrana bağlı enzimlerdir.

Şekil 2.11, kolesterolden altı ana steroid hormonunun biyosentez yollarını özetlemektedir. Steroidojenezde ilk ve hız sınırlayıcı adım, kolesterolün zincir bölünme enzimi (P450_{scc}, CYP11A1 geni) tarafından pregnenolona dönüştürülmesidir. Pregnenolon üretildikten sonra, 17- α -hidroksilaz tarafından 17OH-pregnenolona dönüştürülebilmektedir. 17OH-pregnenolon, sonuçta adrenal kortekste aldosteron ve kortizol sentezine, yumurtalık teka ve granüloza hücrelerinde östrojen sentezine ve testislerde testosteron sentezine yol açmaktadır. Pregnenolon 3 β -hidroksisteroid dehidrojenaz (3 β HSD) ile progesterona dönüştürülebilmektedir [149, 150].



Şekil 2.11. İnsan steroid hormonlarının sentezinin temel yolları [142].

Östrojen ve Progesteron Sentezi

Yetişkin kadınlarda en önemli iki steroid hormonu 17β -estradiol (estradiol) ve progesterondur. Ek olarak, iki estradiol metaboliti (estron (E1) ve estriol (E3)) adet döngüsünün belirli aşamalarında ve hamilelik sırasında yüksek seviyelerde dolaşmaktadır. Yumurtalıklar, kadınlarda östrojen biyosentezinin başlıca bölgeleridir ve sistemik estradiolün yaklaşık %95'ini oluşturmaktadır. Ekstragonadal bölgeler arasında menopoza sonra ana östrojen kaynakları olarak görev yapan yağ dokusu, kemik ve beyin bulunmaktadır. Hamilelik sırasında plasenta östrojen sentezine de katkıda bulunmaktadır [151-153]

Doğal olarak oluşan östrojenler, bir fenolik hidroksil ile aromatik bir A halkasına sahip olan 18 karbonlu steroidlerdir; doğal olarak oluşan progestin (progesteron) 21 karbona sahiptir ve hem C-3 hem de C-20 üzerinde ek oksijenasyon (okso) vardır. Yumurtalık östrojen sentezi, normal bir kadının yaşamı boyunca ve adet döngüsünün farklı aşamalarında farklılık göstermektedir. Östrojen sentezinin aşamaları, yumurtalık folikülünün granüloza ve teka hücreleri arasında bölünmektedir. Pregnenolon, teka hücreleri tarafından androstenedion ve testosterona dönüştürülmektedir. Androstenedion ve testosteron bazal membrandan geçip granüloza hücreleri tarafından sırasıyla estron ve estradiole aromatize edilmektedir.

Pregnenolon, 3β -hidroksisteroid dehidrojenaz (3β -HSD) tarafından progesterona dönüştürülmektedir. Yumurtalıkta progesteron, androjen ve östrojen sentezi için bir ara ürün olarak foliküler gelişimin tüm aşamalarında üretilmekte, ancak peri ve postovülatör (luteal) aşamalarda birincil salgı ürünü haline gelmektedir. Korpus luteum tarafından progesteron sentezi, hamileliğin erken döneminde koryonik gonadotropin düzeylerini artırarak uyarılmaktadır. Plasenta, hamilelik sırasında da yüksek düzeyde progesteron salgılamaktadır [145, 154].

Androjen Sentezi

Androjenler öncelikle testislerin Leydig hücreleri, yumurtalıktaki tekal hücreler ve adrenallerin retikülaris bölgesindeki hücreler tarafından sentezlenmektedir. Erkeklerde testosteron üretiminin yaklaşık %95'i testislerin Leydig hücrelerinde ve geri kalan %5'i adrenal bezlerde gerçekleşmektedir. Kan dolaşımındaki androstenedionun yaklaşık %85'i testislerden ve adrenallerden gelirken, geri kalanı DHEA'nın diğer dokularında (yağ, deri, karaciğer) üretilmektedir [155].

Testislerde testosteronun sentezi, 17α -hidroksilaz miktarını artıran luteinleştirici hormonu (LH) tarafından uyarılmaktadır. Hedef dokular tarafından alındıktan sonra, testosteron 5α -redüktaz ile genomik etkiler açısından daha aktif bir androjen metaboliti olan 5α -dihidrotestosterona (5α -DHT) dönüştürülebilmektedir. Ayrıca, testosteron ve androstenedion,

aromatizasyon adı verilen bir işlemle 17 β -estradiol (E2) veya estron gibi östrojenlere dönüştürülebilmektedir. Aromatizasyon, yumurtalıktaki granüloza hücrelerinde, testislerin Leydig hücrelerinde ve plasenta, beyin, hipofiz, karaciğer ve yağ dokusu dahil diğer birçok dokuda eksprese edilen bir sitokrom P450 aromataz enzimi tarafından gerçekleştirilmektedir [142, 145, 154].

Glukokortikoid ve Mineralokortikoid Sentezi

Doğal olarak oluşan kortizol, glukokortikoid ailesinin en yaygın üyesidir ve glukokortikoid reseptörüne sıkıca bağlanmaktadır. Kortizolün en önemli etkisi, kas hücrelerinde, yağ hücrelerinde ve karaciğer hücrelerinde glikoneogenez yoluyla kan glikoz seviyelerini artırmak ve korumaktır. Mineralokortikoidler, tuz ve su dengelerini düzenleyen bir steroid hormon sınıfıdır. Aldosteron, mineralokortikoid aktiviteye sahip ana steroiddir. Glukokortikoidler ve mineralokortikoidler sırasıyla drenal zona fasciculata hücreleri ve zona glomerulosa hücreleri tarafından üretilmektedir.

Bu adrenal bölgelerde progesteron, 21-hidroksilaz (P450c21) tarafından 11-deoksikortikosteron'a dönüştürülmektedir. Hem glukokortikoidlerin hem de mineralokortikoidlerin sentezindeki son adımlar iki protein 11 β -hidroksilaz (P450c11 β , CYP11B1) ve aldosteron sentazın (P450c11AS, CYP11B2) bulunduğu mitokondride gerçekleşmektedir [145].

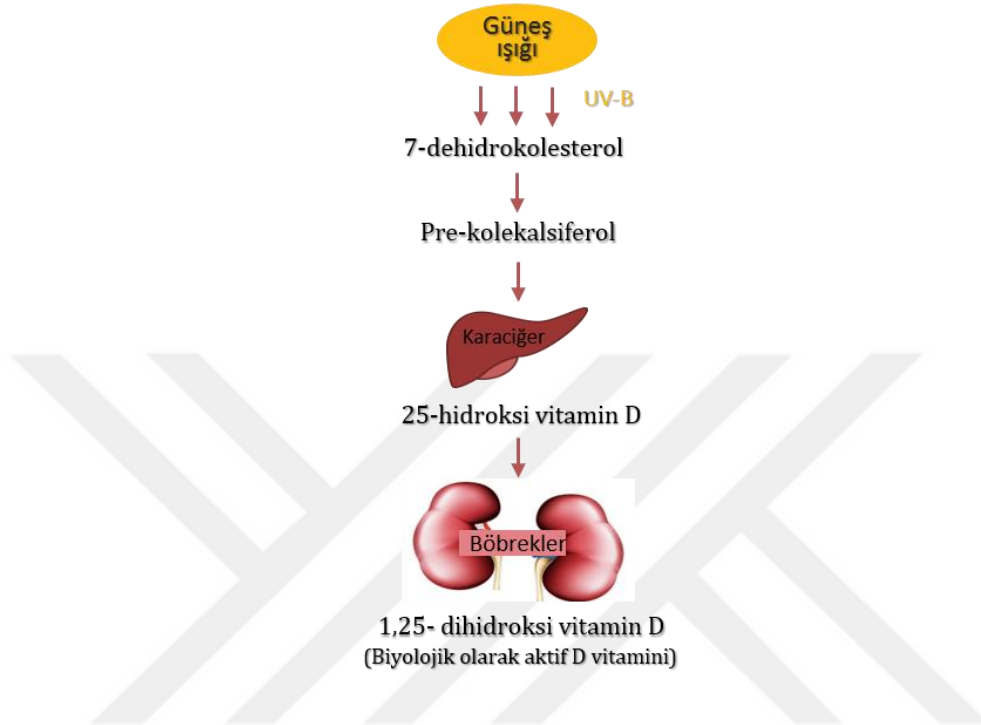
D Vitaminin Sentezi

Kimyasal olarak, D vitamini ve metabolitleri, kolesterolün B halkası açıldığı için sekosteroid olarak kabul edilmektedir (*seco "Latince": kesmek*). İnsanlarda, D vitamininin sadece %10 ila %20'si diyetten elde edilmekte ve kalanı (%80'ı) endojen olarak sentezlenmektedir. Az sayıda gıda doğal olarak önemli miktarda D vitamini içerir. D3 vitamini yağlı balıklarda, balık yağlarında ve yumurta sarısında bulunurken, D2 vitamini yabani mantarlarda, bitkilerde ve mayada bulunmaktadır. Bazı gıda ürünleri yapay olarak D vitamini ile takviye edilmektedir [156].

Endojen D vitamini sentezi, epidermin derin katmanlarında başlamaktadır. Hücre zarının çift lipit tabakasında depolanan öncü 7-dehidrokolesterol (7-DHC), ultraviyole B (UV-B, 270-290nm) radyasyonunun etkisiyle D3 vitaminin öncesine (pre-kolekalsiferol) dönüştürülmektedir. Termal olarak instabil olan previtamin D3, ısı ile indüklenen bir izomerizasyon reaksiyonuna uğrayıp D3 vitaminine (kolekalsiferol) dönüştürülmektedir. Kolekalsiferol, biyolojik olarak inaktif prohormondur.

D vitamininin metabolik aktivasyonundaki ilk ve hız sınırlayıcı aşama, 25 numaralı karbonun hepatik hidroksilasyonudur. D vitamini biyoaktivasyonundaki ikinci aşama, 25-

hidroksivitamin D'den $1\alpha, 25$ -dihidroksivitamin D [$1,25$ - (OH) $2D$] oluşumudur ve esas olarak böbrek proksimal tübülünde gerçekleşmektedir. Deride yeterli miktarda D vitamini sentezlendiğinde (orijinal 7-dehidrokolesterol içeriğinin yaklaşık% 7-10'unda), D3 vitamini öncesi biyolojik olarak inaktif olan taşisterol ve lumisterol'e dönüştürülmektedir [145, 157].



Şekil 2.12. İnsanlarda D vitamini biyosentezi [158][1].

2.3.4. Steroid Hormonların Sentezinin ve Salıverilmesinin Kontrolü

Çoğu hormonun sentezi ve/veya salgılanması, oldukça spesifik homeostatik mekanizmalar tarafından düzenlenmektedir. Hormonun salgılanması veya salıverilmesi, spesifik hormon tarafından üretilen biyolojik yanıtların gerekliliği ile ilgilidir. Steroid hormonların hidrofobik doğası nedeniyle, steroidojenik hücreyi kolayca geçebilmektedirler. Bu nedenle steroid hormonlar depolanmamakta ve gerektiğinde sentezlenmektedirler [159].

Hipotalamik-Hipofiz-Adrenal (HPA) Eksen

Kortizol sentezini kontrol eden endokrin eksen, hipotalamik nöronlardan kortikotropin salgılayan hormonun (CRH) salıverilmesiyle başlamaktadır. 41 amino asitlik peptit olan CRH, kortikotrop hücrelerindeki reseptörlerine hipofiz bezine bağlanıp adrenokortikotropin hormonunun (ACTH) salıverilmesine neden olmaktadır. 39 amino asit peptidi olan ACTH, adrenal

korteksin zona fasikülatasındaki hücrelerde bulunan melanokortin-2 reseptörüne (MC2R) bağlanmaktadır [160].

ACTH'nin MC2R'ye bağlanmasından sonra, hücresel kolesterol hızla mitokondriye taşınmaktadır. Ayrıca ACTH, kortizol üretimi için önemli olan steroidojenik enzimleri (örneğin, P450_{scc} ve 11 β -hidroksilaz) kodlayan genin transkripsiyonunu arttırmaktadır. Kan dolaşımına salınan, kortizol, hem hipotalamik nöronlardan CRH salınımını hem de hipofiz kortikotrop hücrelerinden ACTH salgılanmasını inhibe etmektedir [150].

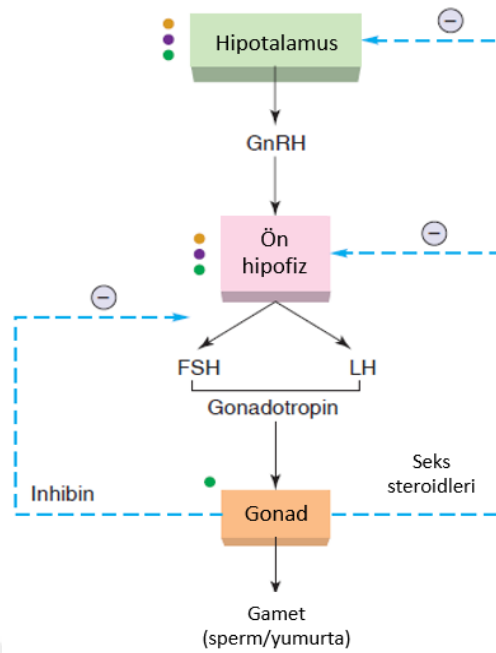
Hipotalamik-Hipofiz-Gonad (HPG) Eksen

Hipotalamik gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH), hipotalamik nöronların salgı granülleri tarafından sentezlenmektedir. GnRH sentezlendikten sonra, hipofiz portal sistemi aracılığıyla anterior hipofize aralıklı (pulsatil) bir şekilde salgılanmaktadır. Yanıt olarak, ön hipofizdeki gonadotropinler gonadotropinleri folikül uyarıcı hormonu (FSH) ve luteinize edici hormonu (LH) sentezlemekte ve salgılamaktadır. GnRH'nin hızlı darbeleri LH oluşumunu ve salgılanmasını uyarırken, yavaş darbeleri FSH oluşumunu ve salgılanmasını uyarmaktadır.

Erkeklerde LH, testiküler Leydig hücrelerine etki ederek androjen sentezini başlatmaktadır. FSH ise sertoli hücreleri üzerindeki yüzey reseptörlerine bağlanarak testislerde spermatogenez düzenlemektedir.

Kadınlarda ise adet döngüsünün foliküler ve luteal olmak üzere iki fazı vardır. Döngünün ilk yarısında (foliküler faz), LH teka hücrelerindeki reseptörlere bağlanarak androjen sentezini başlatmaktadır. Bu androjenler, FSH'nin granüloza hücreleri üzerindeki etkisiyle östrojenlere aromatize edilmektedir. Bu nedenle, kadınlarda östrojen sentezini sağlamak için her iki gonadotropinin (FSH ve LH) uygun miktarlarda salgılanması gerekmektedir. Ovülasyonu takiben folikülün teka ve granüloza hücreleri korpus luteuma dönüştüğünde, yüksek LH seviyeleri progesteron sentezini uyarmaktadır.

Gonadlar tarafından salgılanan seks steroidleri, GnRH'nin ve gonadotropinlerin salgılanması üzerine negatif feed-back döngü oluşturmaktadır. Ayrıca gonadlar, FSH'nin salgılanmasını engelleyen inhibin adı verilen bir polipeptid hormonu salgılayabilmektedir. Inhibin, erkeklerde seminifer tübüllerin Sertoli hücreleri tarafından ve kadınlarda yumurtalık foliküllerinin granüloza hücreleri tarafından salgılanmaktadır (Şekil 2.13) [145, 161].



Şekil 2.13. Hipotalamik-hipofiz-gonadal ekseninin regülasyonu [161]. GnRH: gonadotropin salgılatıcı hormon; FSH: folikül uyarıcı hormon; LH: lüteinleştirici hormon.

D Vitaminin Sentezinin Regülasyonu

Kalsitriolün düzenlenmesi 1α -hidroksilaz ve 24-hidroksilaz aktiviteleri arasındaki dengeye bağlıdır. Her iki enzim de serum kalsiyum, kalsitriol ve fosfat seviyeleri ile düzenlenmektedir. Düşük serum kalsiyumu veya düşük D vitamini seviyeleri koşullar altında paratiroid hormonu, 1α -hidroksilaz sentezini uyararak $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ aktivasyonunun artmasına neden olmaktadır. Yüksek serum kalsiyumunun, D vitaminin veya fosfatın seviyeleri, D vitamininin C-1'de hidroksilasyonunu inhibe ederek ve C-24'te hidroksilasyonu uyararak inaktif D vitamini metabolitinin ($24,25(\text{OH})_2\text{D}$) sentezine yol açmaktadır [162].

2.3.5. Steroid Hormonların Taşınması

Steroid hormonların hidrofobik doğası nedeniyle, taşıyıcı proteinlere bağlanarak kan dolaşımında taşınmaktadır. Tüm steroid hormonlar, düşük afinite ve özgüllikle albümine bağlanır. Albümine ek olarak, her steroid sınıfı için spesifik bir protein vardır:

- Kortikosteroid bağlayıcı globulin (CBG): Glukokortikoidleri ve progesteronu bağlar.
- Seks hormonu bağlayıcı globulin (SHBG): Androjenleri ve östrojenleri bağlar.
- D vitamini bağlayıcı protein (DBP): D3 vitamini ve metabolitlerini bağlar.

Aldosteron, kendisine özgü bir protein olmadığından yalnızca albümine bağlanmaktadır [145, 163]. Tablo 2.3, sağlıklı kadınlarda steroid hormonların bağlanma dağılımını göstermektedir. Her hormonun sadece küçük bir yüzdesi serbesttir. Hormonun serbest fraksiyonu, hedef hücrelerle etkileşime girebilmekte ve fizyolojik olarak aktif hormon görevi görebilmektedir [164].

Tablo 2.3. Sağlıklı kadınlarda klasik endojen steroid hormonların proteine bağlanma dağılımı (Foliküler ve luteal değerlerin ortalaması alınmıştır) [164].

Steroid Hormonu	SHBG'ye bağlı (%)	CBG'ye bağlı (%)	Albümine bağlı (%)	Serbest (%)
Progesterone	.63	17.4	79.5	2.37
Estradiol	37.1	<0.1	60.4	1.81
Estrone	16.2	<0.1	80.1	3.58
Testosterone	65.8	2.23	30.5	1.36
Androstenedione	6.59	1.34	84.5	7.54
Dihydrotestosterone	78.2	.12	21.1	0.47
DHEA	7.83	<0.1	88.1	3.93
Cortisol	.18	89.6	6.4	3.83
Corticosterone	.22	77.8	18.6	3.33
Aldosterone	.23	21.6	41.3	36.9
Deoxycorticosterone	1.91	36.4	59.0	2.63

2.3.6. Steroid Hormonların İnaktivasyonu ve Katabolizması

Serbest steroid fraksiyonu metabolik inaktivasyona uğrayabilmektedir. İnaktivasyon, hidroksil gruplarının keto gruplarına dönüştürülmesi, çift bağların azaltılması ve steroidlerin glukuronid ve sülfat grupları ile konjuge edilmesiyle gerçekleştirilmektedir. Bu süreçler karaciğerde faz I ve faz II biyotransformasyon reaksiyonları yoluyla gerçekleşmektedir. 50'den fazla farklı steroid metaboliti tanımlanmıştır. Bu metabolitlerin yaklaşık %20-30'u safra içine salgılanıp dışkıyla atılmaktadır, kalan kısmı kana ve idrara salınmaktadır. Bu konjuge metabolitler, suda oldukça çözünürdür ve bağlayıcı proteinlere ihtiyaç duymamaktadır [145, 165].

2.3.7. Steroid Reseptörleri

Steroid hormonları hedef dokulara ve hücrelere taşındıktan sonra hormon reseptörlerine bağlanmaktadır. Bu steroid reseptörleri esas olarak hücrenin içinde bulunmaktadır. Ligand tarafından aktive edildikten sonra, çekirdeğe girip hedef gen ekspresyonunu düzenlemek için ligandla aktive edilmiş transkripsiyon faktörleri olarak işlev görmektedir. Bu reseptörlerin küçük bir kısmı, yaklaşık %5-10, plazma zarında bulunmaktadır. Ligand bağlanması, G proteinine bağlı

reseptörleri (GPCR'ler) ve hücre içi sinyal yollarını aktive ederek gen transkripsiyonunun ve fizyolojik etkilerin aktivasyonu veya baskılanmasıyla sonuçlanmaktadır.

Steroid hormon reseptörleri, oldukça korunmuş bir yapı ve gen transkripsiyonunu etkileyen ortak mekanizmaları paylaşan nükleer reseptörler adı verilen bir reseptör ailesine aittir. Reseptör proteinleri, altı alana bölünmüş tek bir polipeptit zincirinden oluşmaktadır. N terminalinden başlayarak, alanlar sırasıyla şunlardır:

- (1, 2) **A/B** veya değişken alanı
- (3) iki çinko parmak içeren **C** veya DNA bağlama alanı
- (4) **D** veya değişken menteşe (hinge) bölgesi
- (5) **E** veya ligand bağlama alanı
- (6) **F** veya değişken alanı

Steroid reseptörlerinin moleküler ağırlığı 50 ile 94 kDa arasında değişmektedir. DNA bağlanma alanları kısadır ve yaklaşık 70 amino asit içermektedir. Nükleer reseptörlerin DNA bağlanma bölgesindeki amino asit dizisine dayanarak, iki alt aileye sınıflandırılabilir:

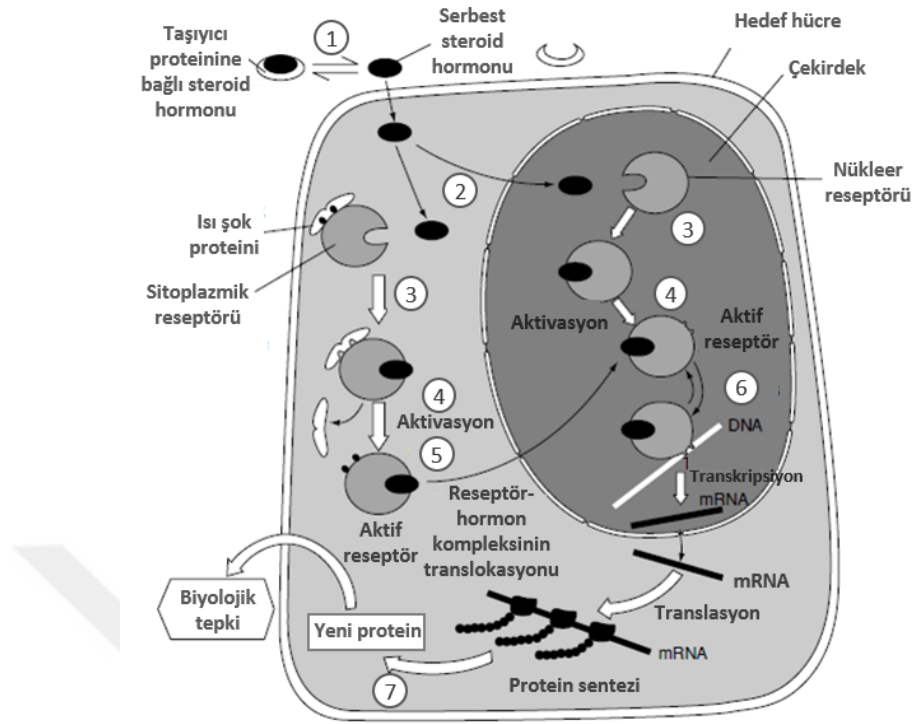
- Glukokortikoid reseptörü, progesteron, androjenler ve mineralokortikoid reseptörleri içeren küçük alt ailenin prototipidir.
- Östrojen reseptörü, D vitamini reseptörlerini, tiroid hormonu reseptörlerini ve retinoik asit reseptörlerini içeren daha büyük alt ailenin prototipidir [142].

2.3.8. Steroid Hormonların Etki Mekanizmaları

Hormonun yokluğunda, östrojen reseptörü (ER), progesteron reseptörü (PR) ve 1,25 (OH) 2D3 reseptörleri (VDR) esas olarak çekirdekte bulunurken, glukokortikoid reseptörü (GR) ve androjen reseptörü (AR) sitoplazmada bulunmaktadır [166]. Aktive edilmemiş glukokortikoid ve androjen reseptörleri, ısı şok proteini (HSP-90) ile kompleks oluşturarak sitoplazmada tutulmaktadır. HSP, hormon yokluğunda reseptörlerin çekirdeğe girmesini önlemektedir.

İlk olarak, hormon plazma taşıyıcı proteinden ayrılmakta ve dış hücre zarından geçerek hedef hücreye girmektedir. Ondan sonra, reseptörün yerine bağlı olarak, hormon ya sitoplazmadaki reseptöre bağlanmakta ya da perinükleer zarı geçerek çekirdekteki reseptöre bağlanmaktadır. Reseptör, HSP-90'ın serbest bırakılmasının ve ligandının bağlanmasının bir sonucu olarak aktive edilmektedir.

Sitoplazmik aktive edilmiş reseptör-ligand kompleksi, nükleo gözenek yoluyla çekirdeğe girmektedir. Reseptör-ligand kompleksi, hormon yanıt elemanları (HRE) adı verilen promoter bölgelerinin spesifik bir DNA dizisine bağlanmaktadır. HRE ile bağlanma, o genin indüksiyonu veya baskılanmasıyla sonuçlanmaktadır ve bu gen tarafından kodlanan mRNA'nın az veya çok olmasına yol açmaktadır [142, 154].



Şekil 2.14. Steroid hormonların etki mekanizması [142].

2.3.9. Steroid Hormonların Non-genomik Mekanizmaları

Steroid hormonlarının en belirgin etkilerine genomik yollarla aracılık edilmesine rağmen, yeni kanıtlar steroidlerin non-genomik mekanizmalar yoluyla saniyeler ila dakikalar içinde hızlı biyolojik etkiler ortaya çıkarabildiğini göstermektedir. Plazma zarı ile ilişkili reseptörlerin, hormonun genomik olmayan etkisinde rol oynadığı düşünülmektedir.

Hızlı biyolojik eylemler, çok çeşitli hücresel ikinci haberci sistemleri aracılığıyla gerçekleşmektedir. Steroid hormonların şu sinyal iletim yollarını aktive ettiği gösterilmiştir: mitojenle aktive olan protein (MAP) kinaz, fosfatidilinositol-3-kinaz (PI3k), sinyal transduseri ve transkripsiyon aktivatörü (STAT), tirozin kinazlar ve fosfatazlar, nitrik oksit sentaz, proteinazlar, epidermal büyüme faktörü reseptörü, protein kinaz C (PKC), adenilil siklaz ve guanozin trifosfat proteinleri [167, 168].

2.3.10. Steroid Respetorleri ve Endometriyel Kanseri

Glukokortikoid Reseptörleri (GR)

Glukokortikoid reseptörü, ilk kez 1966 yılında glukokortikoidin fizyolojik ve farmakolojik etkilerinden sorumlu ana reseptör olarak tanımlanmıştır [169]. İnsandaki GR geni (NR3C1), 5

numaralı kromozomun kısa kolunda bulunmaktadır [170]. GR, vücuttaki hemen hemen tüm hücre tiplerinde eksprese edilmektedir ve transkripsiyonu indükleyerek (transaktivasyon) veya inhibe ederek (transrepresyon) birçok genin ekspresyonunu düzenlemektedir. GR hedef genleri, metabolik, gelişimsel, bilişsel ve bağışıklık süreçleri dahil olmak üzere önemli fizyolojik süreçlerde rol oynamaktadır ve doğumdan sonraki yaşam için gereklidir [171, 172].

GR'nin çok sayıda transkripsiyonel ve translasyonel izoformları vardır. Bu nedenle, GR'nin transkripsiyonel aktivitesi, hücre tipleri arasında büyük ölçüde değişmektedir ve farklı dokularda glukokortikoidin çeşitli ve bazen zıt fizyolojik etkilerine sahip olabilmektedir. GR transkriptinin 3' terminaline yakın alternatif birleştirme, C terminallerinde farklılık gösteren iki izoform (GR α ve GR β) üretmektedir. GR α , tüm GR'lerin %90'ını oluşturan en bol izoformdur ve *in vivo* olarak glukokortikoid etkisinin birincil medyatörü olarak kabul edilmektedir. GR β , kısa bir ligand bağlama alanına (LBD) sahiptir ve glukokortikoidlere bağlanamamaktadır. Bununla birlikte, GR β , transkripsiyonel olarak aktiftir. GR antagonisti mifepriston ona bağlanabilmektedir, ancak endojen ligand şu anda bilinmemektedir. Son zamanlarda, GR γ , GR-A, GR-P, GR δ , GR-S1, GR-NS1, GR-DL1 gibi alternatif birleştirmeden kaynaklanan GR izoformları da tanımlanmıştır [173, 174].

Uterusta, GR esas olarak stromal fibroblastlarda, lenfositlerde ve endotelial hücrelerde bulunmaktadır. Uterusun glandüler epitelindeki GR miktarının çok az olduğuna inanılmaktadır [175, 176]. Endometriyum kanserinde, GR ekspresyonunun agresif hastalık ve kötü prognoz ile ilişkilidir. Ayrıca, son çalışmalar GR ve seks steroid reseptörü aracılı sinyalleşme arasında önemli etkileşimler olduğunu göstermiştir [177]. Vahrenkamp ve arkadaşları, ER eksprese eden endometriyum tümörün, aynı zamanda yüksek miktarda glukokortikoid reseptörüne sahip olması durumunda daha kötü bir prognoza sahip olduğunu göstermiştir [178].

Östrojen Reseptörleri (ER)

Bilinen ilk ER alt tipi olan ER α , 1966'da sıçan rahminde tanımlanmıştır [179]. Bundan yirmi yıl sonra insan östrojen reseptörü α klonlanmıştır [180]. ER α klonlandıktan on yıl sonra, benzer bir gen yapısına sahip, östrojen reseptörü β olarak adlandırılan ikinci bir östrojen reseptörü keşfedilmiştir [181]. 1997 yılında, meme kanseri dokusunda GPER veya GPR30 olarak bilinen başka bir östrojen reseptörü keşfedilmiştir [182].

Östrojenler hem kadınlarda hem de erkeklerde birçok fizyolojik fonksiyondan sorumlu olsa da, ER α , ER β çift nakavt farelerinden elde edilen kanıtlar, E2 eylemi olmadan yaşamın mümkün olduğunu doğrulamaktadır [183–185]. Ayrıca, E2 kadınlarda üreme fonksiyonu için gereklidir, ancak doğurganlığın korunmasında sadece ER α gerekli olduğu görülmektedir. Bu nedenle ER β 'nin ana fonksiyonunun, ER α 'nın aracılık ettiği estradiolün istenmeyen etkilerini önlemek olduğu düşünülmektedir [186]. ER β muhtemelen transkripsiyon faktörlerinin

aktivasyonunun değiştirilmesi ve ER α bozulmasının artmasıyla ER α 'nın etkisini inhibe edebilmektedir [187]. Aksine, ER β ekspresyonu ER α 'nın estradiol tarafından aktivasyonu ile indüklenmektedir ve ER β promotörünün hipermetilasyonu ile bastırılabilir (Rody ve ark., 2005).

Bu reseptörlerin seviyesi endometriyum karsinomda normal endometriyumdan daha düşüktür [188]. Endometriyum kanserinde hem endometriyum bezlerde hem de stromada ER α ekspresyonu azalmaktadır [189, 190]. Tümör derecesi ilerledikçe, ER α 'nın stromal ekspresyonunda daha fazla azalma görülmektedir [191, 192]. Ancak bu bulgular tartışmalıdır. 2018'de yapılan bir çalışma, EC dokularında ER α ekspresyonunun neoplastik olmayan normal dokulardan önemli ölçüde daha yüksek olduğunu göstermiştir. Ek olarak, lenf nodu metastazları olan endometrial kanser dokularında ER α ekspresyonunun daha da yüksek olduğunu göstermiştir [193].

Endometriyum kanserinde ER β 'nin ekspresyonu ve rolü üzerine çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Ancak, Kanser Genom Atlası verilerinin analizi, endometriyum tümörlerde ER α 'nın ER β 'den çok daha yüksek seviyelerde eksprese olduğunu (2,9 kat) göstermektedir [194]. Tamoksifen ile ilişkili endometriyum kanserde ER β ekspresyonu spontan endometriyum kanserlerden daha yüksektir [195].

GPER, endoplazmik retikulumda yer alan G proteinine bağlı bir reseptördür [196]. Estradiol'e (E2) yüksek afinitesi, ancak diğer östrojenlere (estron (E1) ve estriol (E3)) düşük afinitesi vardır [197]. GPER, endometriyum kanser hücrelerinde normal endometriyum hücrelere göre 3 kat daha düşük ekspresyon sergilemektedir [194]. GPER gen ekspresyonu, meme, endometriyum ve yumurtalık kanseri dahil olmak üzere çeşitli hormona bağlı kanserlerde tespit edilmiştir [198–200]. GPER ekspresyonu, endometriyum kanserde normal dokuya göre yaklaşık 6 kat daha düşüktür. [201].

Progesteron Reseptörleri (PR)

Progesteron reseptörü PR ilk olarak 1975 yılında klonlanmıştır [202]. PR-A ve PR-B olmak üzere iki izoform tanımlanmıştır. Her ikisi de tek bir genden ama farklı promotörlerden transkripsiyonla üretilmiştir [203]. PR-B, N-terminalinde ek 164 amino asit ile PR-A izoformundan daha büyüktür [204]. Her iki izoform insan endometriyumunda eksprese edilmektedir ve seviyeleri adet döngüsü boyunca değişmektedir [205]. PR-B progesterona yanıt olarak güçlü bir transaktivatördür, oysa PR-A transkripsiyonel olarak inaktiftir ve çoğu durumda, özellikle seviyesi PR-B'yi aştığında PR-B'yi inhibe etmektedir. PR-A/PR-B oranındaki dengesizlik sıklıkla karsinogenez ile ilişkilendirilmektedir [206]. *In vitro* çalışmalar, PRA'nın progesteron yokluğunda bile endometriyum kanser hücrelerinin çekirdeğinde lokalize olduğunu, ancak PR-B

sitoplazmada daha bol olduğunu ve nükleer translokasyon için ligand gerektirdiğini göstermiştir [207].

Normal endometriyumda, östrojen baskın proliferatif faz sırasında PR ekspresyonu indüklenmektedir. Luteal fazı boyunca, dolaşımdaki progesteron konsantrasyonları maksimum olduğunda, PR'nin aktivasyonu, endometriyum epitelin proliferasyonunun azalmasına ve salgı fenotipine farklılaşmasına neden olmaktadır.

Progesteronun etkileri bozulursa, epitel, karşılanmamış östrojene yanıt olarak hiperplastik hale gelebilmektedir [206]. PR ekspresyonunun endometriyal tümör dokusunda normal dokuya göre daha düşük olduğu kanıtlanmıştır [208]. Ayrıca, endometriyum kanserde PR kaybının artmış proliferasyon, artmış meastaz ve kötü prognoz ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [209]. Endometriyum kanser, progesteronun anti-proliferatif ve immünsüpresif etkilerine aracılık eden forkhead box protein O1 (FOXO1) gibi progesteron/PR'ye duyarlı gendeki mutasyonlarla ilişkilidir [206, 210].

Androjen Reseptörleri (AR)

Androjen reseptörü (AR), 919 amino asitten oluşan ve X kromozomu üzerinde bulunan AR geni tarafından kodlanan bir proteindir [211]. AR, endometriyum dahil olmak üzere kadın üreme dokularında yaygın olarak eksprese edilmektedir [212]. İnsan endometriyumundaki ilk AR ekspresyonu Horie tarafından 1992'de gösterilmiştir [213]. AR'nin iki izoformu vardır; AR-A ve AR-B. En yüksek AR seviyesinin proliferatif fazda, en düşük AR sekretuar (luteal) fazında olduğu gözlenmiştir [212].

Endometriyum kanseri MFE-296 hücre hattında, AR seviyesinin östrojen reseptörü (ER) veya progesteron reseptörü (PR)'den daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, bu hücrelerin çoğalmasının androjenler tarafından inhibe edildiği fark edilmiştir [214] AR'nin endometriyum kanser tümör hücrelerinin %54'ünde eksprese edildiği gösterilmiştir. Bununla birlikte, daha yüksek dereceli endometrioid kanseri, daha düşük AR seviyeleri eksprese etmektedir [215, 216].

D Vitaminin Reseptörü (VDR)

D vitaminin reseptörü (VDR), 427 amino asitten oluşmaktadır ve kromozom 12'nin uzun kolunda bulunmaktadır. VDR'nin varlığının kanıtı ilk olarak 1969'da Haussler ve Norman tarafından sağlanmıştır. Bugüne kadar D vitamini reseptörün tek bir formu tanımlanmıştır [217].

VDR, böbrekler, kemik, iskelet kasları ve jinekolojik organlar dahil olmak üzere 30 farklı dokuda bulunmaktadır. VDR'nin rolünün sadece kalsiyum ve fosfatın metabolizması ile sınırlı olmadığı gösterilmiştir. Birçok *in vivo* ve *in vitro* çalışma, inflamasyonda, insülin benzeri büyüme faktörü sinyalizasyonunda ve östrojene bağlı yollarda VDR'nin bir aracı olarak önemini

göstermiştir [218]. Ayrıca VDR'nin önemli sayıda tümör dokusunda eksprese edildiği ve bu reseptörün kanser etiyolojisinde rol oynayabileceği gösterilmiştir [219].

İnsan endometriyum kanser dokusunda VDR protein ekspresyonu ilk kez Yabushita ve arkadaşları tarafından 1996 yılında immünohistokimya ile tespit edilmiştir [220]. Agic ve arkadaşları endometriyum kanser dokularında VDR mRNA düzeylerinin normal endometriyum dokuya göre anlamlı olarak daha yüksek olduğunu göstermişlerdir [221]. Öte yandan, insan dokularının daha yeni bir immüno boyama analizi, nükleer VDR protein ekspresyon düzeylerinin tümör örneklerinde normal endometriyum örneklerine kıyasla daha düşük olduğunu bulmuştur [222].

D vitamini sentezi ve metabolizmasında yer alan farklı bileşenler endometriyum kanser dokusunda değerlendirilmiştir. 1α -hidroksilaz enziminin, sağlıklı ve kanserli doku arasında benzer bir miktarda eksprese edildiği gösterilmiştir [223]. Agic ve meslektaşları, endometriyum kanser dokusunda sağlıklı kontrol hastalarından alınan dokulara kıyasla önemli ölçüde artmış 24-hidroksilaz mRNA düzeyleri göstermiştir. 24-hidroksilaz enzimi D vitamini katabolizmasından sorumludur ve muhtemelen onun artışı kalsitriolün hücrel etkilerini azaltabilmektedir [221].

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.3. Materyaller

3.1.1. Kullanılan Kimyasallar

- %0,9 Serum Fizyolojik (Eczacıbaşı)
- Alfakalsidol (Sigma 17946)
- Bicalutamide (Sigma B9061)
- Etanol (Alko-kim)
- Fetal bovin serum (Biowest S181T)
- G15 (Calbiochem 371703)
- Kalsitriol (Sigma D1530)
- L-glutamin (Thermo 25030149)
- McCoy's 5A Medium (Thermo 16600082)
- Mifepristone (Sigma M8046)
- Penisilin/streptomisin (Thermo 15140122)
- PHTPP (Sigma SML1355)
- Trypsin-EDTA (Biowest L0930-100)
- Trypan blue (Thermo 15250061)

3.1.2. Cihazlar ve Laboratuvar Gereçleri

- 24-Well Cell Culture Plate (Costar)
- Buzdolabı (+4, -20°C ve -80 °C)
- CO₂ inkübatörü
- E-plate (Acea)
- Falkon tüp
- Flask (15-75'lik)
- Hücre sayım cihazı (Roche)
- İnverted mikroskop
- Laminar akımlı kabin
- Pastör pipeti
- Santrifüj
- Serolojik pipet ve mikropipet
- Smart Slides
- xCELLingence Cihazı

4.1. Yöntem

3.2.1. Hücre Kültürü

Hücre kültürü, kontrollü koşullar altında canlı organizmaların dışında ökaryotik veya prokaryotik hücrelerin yetiştirilmesini sağlayan bir laboratuvar tekniği olarak tanımlanmaktadır [224, 225]. Birincil hücre kültürü, doğrudan dokudan izole edilen hücrelerin kültürüdür; hücre hattı ise, hücre popülasyonunu genişletmek ve yaşam süresini uzatmak için birincil hücre kültüründen alınan hücrelerin kültürüdür. Hücre hatları, sonlu veya sürekli hücre hatları olarak kategorize edilebilmektedir. Sonlu hücre hatları sınırlı sayıda hücre bölünmesine uğrayabilirken, sürekli hücre hatları sınırsız sayıda hücre bölünmesine uğrayabilmektedir (ölümsüz hücre kültürü). Sürekli hücre hatları, genetik mutasyonlar veya yapay modifikasyon yoluyla ölümsüz olma yeteneği kazanmaktadır [226, 227].

Temel olarak hücre kültürünün amacı, hücrenin *in vivo* ortamına benzer bir ortam sağlamaktır. Hücre kültürü inkübatörü, kap ve bsiyeri birlikte bu ortamı *in vitro* olarak oluşturmaktadır. Kültür koşulları, her hücre tipine göre büyük ölçüde değişmektedir. İnkübatör uygun sıcaklık, nem, O₂ ve CO₂ seviyelerini korumaktadır. Besiyeri besinler (karbonhidratlar, vitaminler, amino asitler, mineraller, büyüme faktörleri ve hormonlar gibi) ve fizikokimyasal özellikleri (pH ve hücresel ozmotik basınç gibi) kontrol eden bileşenler içermektedir. Hücrelerin çoğunun plastik veya cam gibi katı bir “substrata” yapışması gerekmektedir (yapışkan kültürü). Bazı hücreler ise, sıvı içinde yüzerken çoğalabilmektedir (süspansiyon kültürü) [225–227].

Endometriyum adenokarsinomu ile ilgili çalışmalar, birincil hücre izolasyonunun zorluğundan dolayı, hücre hatları kullanılarak yapılmaktadır. Bu nedenle, HEC1A, HEC1B, Ishikawa, RL95-2 ve KLE gibi birçok endometriyum kanser hücre hatları kurulmuştur. Çalışmamızda kullanılan HEC1A (Human Endometriyum Cancer1A) hücre hattı, insan endometriyum adenokarsinomdan türetilen ilk hücre hattıdır. Orijinal HEC1A hücresi 71 yaşındaki Japon bir kadının rahminden 1968 yılında elde edilmiştir. HEC1A hücre hattı, tip II papiller endometriyum adenokarsinomunun basitleştirmiş modelini sağlamaktadır [228–230].

Hazır endometriyum adenokarsinom HEC1A hücreleri (ATCC), %10 Fetal sığır serumu (FBS), %2.5 L-glutamin ve %1 penisilin/streptomisin ile desteklenen McCoy's bazal besiyerinde kültürlendi. Deney boyunca HEC1A endometriyum adenokarsinom hücrelerinin ekimi, çoğaltılması, pasajlanması, dondurulması, hücre sayımı ve canlılık kontrolü gibi prosedürler uygulanarak hücre kültürünün ana teknikleri yapıldı.

Dondurulmuş HEC1A hücrelerinin çözündürülmesi aşağıdaki üretici protokolüne göre gerçekleştirildi:

1. HEC1A hücrelerini içeren dondurulmuş vial, -80°C'lik dondurucudan çıkarıldı ve hemen buz üzerine yerleştirildi.
2. Dondurulmuş vial önceden hazırlanmış 37°C'lik su banyosuna kapağını tutularak kondu ve 1-2 dakika beklendi.
3. Vial su banyosundan alınıp çevresi kurulandı, ve alkollenerek steril kabine alındı.
4. Vial içindeki hücre karışımı çekilip 7-9 ml besi yeri içeren falkon tüpüne aktarıldı.
5. Hücreleri içeren falkon tüpü 800 rpm'de 5 dakika boyunca santrifüjlendi.
6. Santrifüjlenmiş tüpün üst kısmındaki süpernatant pastör pipet kullanarak çekilip atıldı.
7. Tüpün alt kısmındaki pellet üzerine besi yeri eklenerek pipetaj yapıldı.
8. Tüpteki hücre ve besi yeri karışımı bir pipet kullanılarak flask içine aktarıldı.
9. Flask mikroskop altında incelendi ve alkollenerek inkübatöre yerleştirildi.

Flask içine ekilen endometriyum adenokarsinom HEC1A hücrelerinin besiyeri, haftada 2-3 kez değiştirildi. Hücreler neredeyse tüm şişeyi kapladıktan sonra (%80-90 konfluent), 1:3 ya da 1:4 oranında pasajlanarak yeni kültür flasklarına aktarıldı ve 37°C'lik %5 CO₂ inkübatörüne yerleştirildi. Endometriyum adenokarsinom HEC1A hücrelerinin pasajlama prosedürü aşağıdaki protokole göre gerçekleştirildi:

1. 80% ila 90% konfluent olan flasklar alkol ile temizlenip steril kabine kondu.
2. Flasktaki tükenmiş besi yeri pipet ile çekilip atıldı.
3. Flasktaki hücreler serum fizyolojik (%0,9 NaCl) kullanılarak 2 kere yıkandı.
4. Yıkanmış hücre üzerine 3 ml tripsin-EDTA eklendi ve inkübatöre yerleştirilip 10 dakika beklendi.
5. Mikroskop altında incelenerek hücrelerin kalktığından emin olunup flask steril kabine geri alındı.
6. Flask içindeki karışım bir pipet kullanılarak 15 ml'lik falkon tüpe aktarıldı ve üzerine 3 ml besi yeri kondu.
7. Falkon tüpü 800 rpm'de 5 dakika boyunca santrifüjlendi.
8. Tüpün üst kısmındaki süpernatant atıldı.
9. Tüpün alt kısmındaki pellet üzerine besi yeri eklenerek pipetaj yapıldı.
10. Aynı anda, canlılık trypan blue kullanılarak kontrol edildi.
11. Pipet yardımı ile tüpteki hücre ve besi yeri karışımı yeni flasklara aktarıldı.
12. Flask, mikroskop altında incelendi ve alkollenerek inkübatöre yerleştirildi.

Pasajlama yaparken, hücrelerin bir kısmı gelecekteki çalışmalarda yeniden kullanılmak için dondurularak saklandı. Endometriyum adenokarsinom HEC1A hücrelerinin dondurulması aşağıdaki protokole göre gerçekleştirildi:

1. 80% ila 90% konfluent olan flasklar, alkol ile temizlenip steril kabine kondu.
2. Flasktaki tükenmiş besi yeri pipet ile çekilip atıldı.
3. Flastaki hücreler serum fizyolojik (% 0,9 NaCl) kullanılarak 2 kere yıkandı.
4. Yıkanmış hücre üzerine 3 ml tripsin-EDTA eklendi ve inkübatöre yerleştirilip 10 dakika beklendi.
5. Mikroskop altında incelenerek hücrelerin kalktığından emin olunduktan sonra flask steril kabine geri alındı.
6. Flask içindeki karışım bir pipet kullanılarak 15 ml'lik falkon tüpe aktarıldı ve onun üzerine 3 ml besi yeri kondu.
7. Falkon tüpü 800 rpm'de 5 dakika boyunca santrifüjlendi.
8. Tüpün üst kısmındaki süpernatant atıldı.
9. Pellet, yaklaşık 5×10^6 - 2×10^7 hücre/ml nihai konsantrasyona ulaşacak şekilde dondurma çözeltisinde (%10 DMSO) süspanse edildi.
10. Aynı anda canlılık trypan blue kullanılarak kontrol edildi.
11. Hücre/dondurma solüsyonu karışımından 1 ml'lik viallere kondu.
12. Vialler 3 saat buzdolabında (+4°C) bekletildikten sonra -20°C dondurucuya aktarılıp 12 saat bekletildi. Son olarak vialler -80°C dondurucuya yerleştirildi.

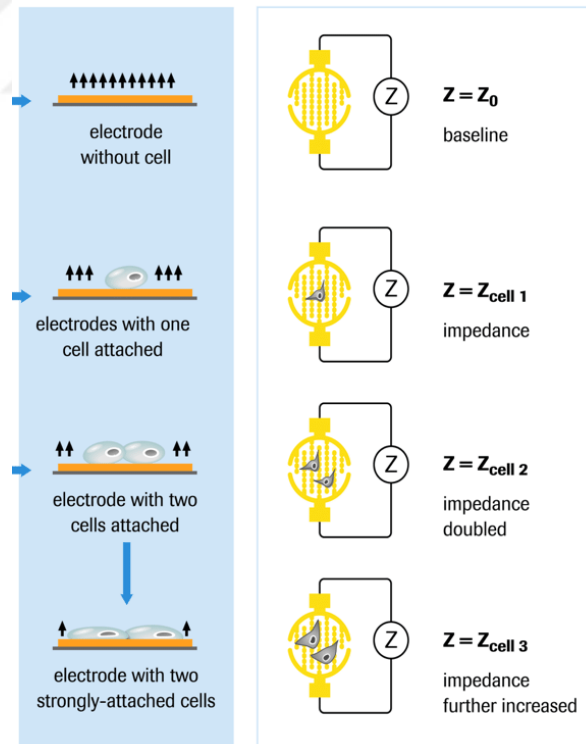
Deney sırasında hücre sayısının belirlenmesi gerektiğinde hücre sayımı yapıldı. Hücre sayma prosedürü aşağıdaki protokole göre gerçekleştirildi:

1. Hücreler tutundukları yüzeyden tripsin-EDTA kullanılarak kaldırıldı ve 15 ml'lik falkon tüpüne aktarıldı.
2. 800 rpm'de 5 dakika boyunca santrifüjlendi.
3. Tüpün üst kısmındaki süpernatant atıldı.
4. Tüpün alt kısmındaki pellet üzerine 1 ml besi yeri eklenerek pipetaj yapıldı.
5. Bu karışımdan 20 µl alınıp eppendorf tüpüne kondu ve üzerine 20 µl trypan blue eklendi (hücreler 1:1 oranında dilüe edildi).
6. Karışım, pipetaj yapılarak homojen hale getirildi.
7. Karışımdan 20 µl Smart Slides adı verilen özel bir slayta kondu.
8. Hücre sayım cihazı açıldı.
9. Slayt cihaza yerleştirilip hücre konsantrasyonu ve canlılığı belirlendi.

3.2.2. Gerçek Zamanlı Hücre Analiz Sistemi

Gerçek zamanlı hücre analiz (RTCA) xCELLigence sistemi, elektriksel empedansı ölçerek hücresel biyolojik süreçlerin sürekli ve kantitatif olarak izlenmesini sağlayan bir teknolojidir. RTCA sistemi, hücrelerin yapışmasını, çoğalmasını, büyümesini ve morfoloji durumlarını izlemek için etiketsiz, invazif olmayan ve gerçek zamanlı bir yöntem sunmaktadır [231, 232].

RTCA sistemi, düzenli aralıklarla özel kuyu-plakalarının (E-plate) altına yerleştirilmiş altın mikroelektronik sensörlerden bir akım geçirerek elektronik empedansı ölçmektedir. Tek bir kuyudaki elektrotlar arasında ölçülen empedans, elektrot şekline, kuyudaki iyonik konsantrasyona ve hücrelerin elektrotlara bağlanmasına bağlıdır. Hücrelerin yokluğunda, elektrot empedansı temel olarak hem elektrot/çözelti arayüzündeki hem de çözeltideki iyonik ortama bağlıdır. Hücrelerin varlığında, elektrot sensör yüzeylerine bağlanan hücreler, elektrot/çözelti arayüzündeki iyonik ortamı değiştirerek empedansı arttırmaktadır. Böylece elektrotlarda ne kadar çok hücre varsa, elektrot empedansındaki değişim o kadar büyük olmaktadır (Şekil 3.1). Ayrıca, empedans değişikliği, hücrenin elektrotlara bağlanma derecesine de bağlıdır. Örneğin, büyük hücreler daha geniş bir hücre/elektrot alanıyla temas ederek empedansta büyük bir değişikliğe neden olmaktadır [231–233].



Şekil 3.1. RTCA sisteminin empedans ölçüm prensibi [232].

Hücrelerin bağlanması nedeniyle olduğu empedanstaki değişiklik, Hücre İndeksi (CI) adı verilen birimsiz bir değer olarak ifade edilmektedir. Hücre indeksini hesaplama için formül 1 kullanılmaktadır. Z_0 : arka plan empedansıdır (sadece ortam ile ölçülen kuyunun empedansı). Z_i : herhangi bir zamanda ölçülen kuyunun empedansıdır.

$$CI = (Z_i - Z_0) / 15 \quad (1)$$

Gerçek zamanlı hücre analizi çift-plakalı (RTCA DP) Analizörü, RTCA Yazılımını kullanarak sensör elektrotlarının empedansını ölçen elektronik bir cihazdır. RTCA DP cihazı, aynı veya farklı zamanlarda çalıştırılabilen üç plaka kızağına sahiptir (şekil 3.2). RTCA DP cihazı standart bir CO2 inkübatörüne yerleştirilmektedir ve bir kablo aracılığıyla RTCA Kontrol Ünitesi ile bağlantı kurmaktadır. RTCA DP analizörü, sensör elektrotları içeren tek kullanımlık 16 kuyulu elektronik plakalar kullanılmaktadır. E-plate 16, hücre proliferasyon deneyleri için, ve CIM-plate 16 hücre invazyon/migrasyon deneyleri için kullanılmaktadır [232].



Şekil 3.2. RTCA DP cihazı ve kontrol ünitesi [232].

RTCA DP cihazı, %80 alkol kullanılarak kendi temizleme kiti ile temizlendi ve 45 dakika laminar kabinde ultra viyole ışığına maruz bırakılarak steril edildi. inkübatöre yerleştirildi. Cihazın güç düğmesi açılıp, yazılım açıldıktan sonra, E-plate'ler cihaz kızıklarına yerleştirildi ve "Message" kısmından kontrol edildi. Deney bilgileri "Experiment Notes" sekmesine ve plate düzeninin girişi "Layout" sekmesine girildi. Deney aşamaları, "Schedule" sekmesinde "Sweeps x Interval" olarak tasarlanmıştır. Sweep x 1 interval, arka plan ölçümü için bir dakika olarak ayarlandı. Sweep x 2 interval ölçümü, 15 dakikalık aralıklarla alınacak şekilde manuel olarak ayarlandı. "Plot" sekmesinden çalışılacak olan kuyular eklendi ve ölçüm başlatıldıktan sonra hücre titrasyon eğrisine "Hücre İndeksi (CI)" sekmesinde izlendi.

3.2.2.1. Deney Gruplarının Tasarlanması ve Kimyasalların Hazırlanması

Endometriyum adenokarsinom HEC1A hücrelerinde steroid reseptörleri üzerinden etki gösteren bileşiklerin proliferasyon üzerine etkisi; mifepriston (10^{-8} M), bikalutamat (10^{-8} M), G15 (10^{-7} M), PHTPP (10^{-7} M), alfakalsidol (10^{-10} M) ve kalsitriol (10^{-10} M) olmak üzere üç farklı deneyde gerçekleştirildi. Deney gruplarının platelere yerleştirme düzeni aynı olacak şekilde tasarlandı. Mifepriston (10^{-8} M), bikalutamat (10^{-8} M), G15 (10^{-7} M), PHTPP (10^{-7} M), alfakalsidol (10^{-10} M) ve kalsitriol (10^{-10} M), E-plate düzeneği tablo 3.1'deki gibidir. Cihazın sınırlı kapasitesi ve başka bir deneyin yürütülmesi nedeniyle proliferasyon parametrelerinin analizi farklı plate'lerde ve zamanlarda yapıldı.

Tablo 3.1. Gerçek zamanlı hücre analiz modelinde proliferasyon için E-plate düzeni. (mifepriston, bikalutamat, alfakalsidol ve kalsitriol %0,05 etanolde; G15 ve PHTPP %0,05 DMSO'da çözülmüştür)

	1	2
A	saline	%0,05 etanol
B	%0,05 DMSO	(Bozuk)
C	10^{-8} M mifepriston	10^{-8} M mifepriston
D	10^{-6} M bikalutamat	10^{-6} M bikalutamat
E	10^{-7} M G15	10^{-7} M G15
F	10^{-7} M PHTPP	10^{-7} M PHTPP
G	10^{-8} M alfakalsidol	10^{-8} M alfakalsidol
H	10^{-8} M kalsitriol	10^{-8} M kalsitriol

Mifepriston (GR ve PR blokeri), bikalutamat (AR blokeri), alfakalsidol ve kalsitriol çözücüsü olan etanol içerisinde çözülmüştür. G15 (GPER blokeri) ve PHTPP (ER- β blokeri) ise dimetil sülfoksit (DMSO) içerisinde çözülmüştür. Bütün bileşikler %0,05 etanol veya DMSO içeren serum fizyolojik çözücüsü içinde hazırlanmıştır, bu durum tüm dozlarda çözücünün konsantrasyonunu eşitlemek içindir. Alfakalsidol, kalsitriol ve G15 doz konsantrasyonları buz üzerinde ve ışıktan korunarak hazırlandı.

3.2.2.2. HEC1A Hücrelerinde Steroid Reseptörleri Üzerinden Etki Gösteren Bileşiklerin Proliferasyon Üzerine Etkisinin Gerçek Zamanlı Hücre Analiz Sistemi ile Belirlenmesi

Endometriyum adenokarsinom HEC1A hücrelerinde, steroid reseptörleri üzerinden etki gösteren bileşiklerin proliferasyon üzerine etkisi, mifepriston (10^{-8} M), bikalutamat (10^{-6} M), G15 (10^{-7} M), PHTPP (10^{-7} M), al fakalsidol (10^{-10} M) ve kalsitriol (10^{-10} M) olmak üzere üç farklı deneyde gerçekleştirildi. Deney her tekrarlandığında tüm ilaçların 2'lik bir numune büyüklüğündeki etkisine bakılarak, 6 civarında bir nihai numune boyutu elde edildi. Deney grupları deney başlamadan önce tasarlandı ve plate düzeni tablo 3.2'deki gibidir.

Tablo 3.2. Proliferasyon için mifepriston, bikalutamat, G15, PHTPP, al fakalsidol ve kalsitriol örneklerinin E-plate'lerde düzeni (her grup için n=6)

	A	B	C	D	E	H	G	H
1	saline	%0,05 DMSO	10^{-8} M mifepriston	10^{-6} M bikalutamat	10^{-7} M G15	10^{-7} M PHTPP	10^{-10} M alfakalsidol	10^{-10} M kalsitriol
	+	+	+	+	+	+	+	+
	hücre	hücre	hücre	hücre	hücre	hücre	hücre	hücre
	+	+	+	+	+	+	+	+
	besi yeri	besi yeri	besi yeri	besi yeri	besi yeri	besi yeri	besi yeri	besi yeri
2	%0,05 etanol	(bozuk)	10^{-8} M mifepriston	10^{-6} M bikalutamat	10^{-7} M G15	10^{-7} M PHTPP	10^{-7} M alfakalsidol	10^{-10} M kalsitriol
	+		+	+	+	+	+	+
	hücre		hücre	hücre	hücre	hücre	hücre	hücre
	+		+	+	+	+	+	+
	besi yeri		besi yeri	besi yeri	besi yeri	besi yeri	besi yeri	besi yeri

RTCA DP programı açıldı ve 3 kızak kapasiteli cihaza sadece 1 adet E-plate yükleneceği ayarlandı (birinci kızak arızalı, diğeri başka bir deneyde kullanıldığı için). Deney adı ve E-plate'in seri numara bilgileri "Experiment Notes" sekmesine ve plate düzeni "Layout" sekmesine girildi. "Schedule" sekmesine planlanan deney aşamaları: "Background" ölçüm süresi otomatik olarak bir dakika olarak ayarlandı (hücresiz besi yerinin empedansını ölçmek için). Aralık ölçümü ilk 24 saat ve 24 saat sonrası 15 dakikalık aralıklarla manuel olarak ayarlandı.

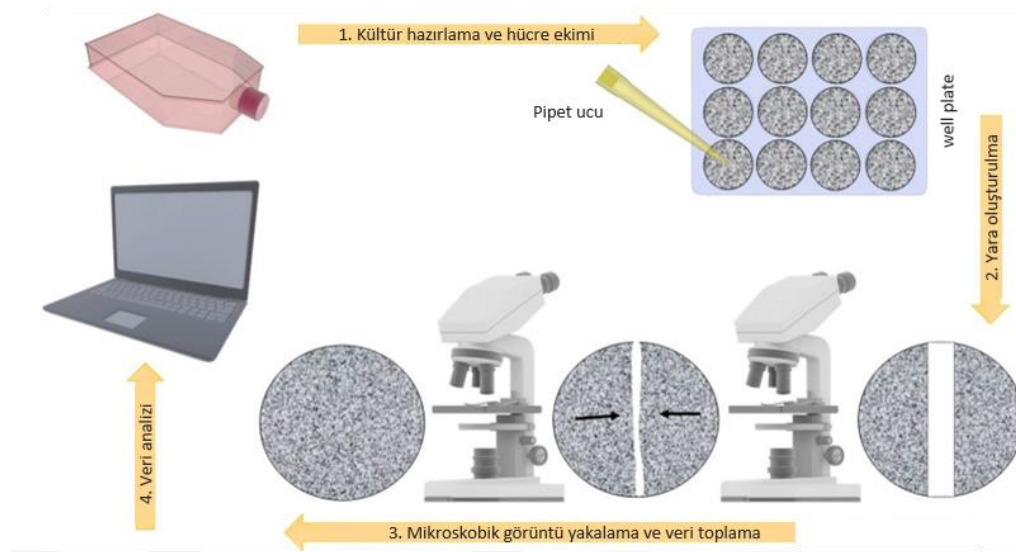
E-plate'in her bir kuyucuğuna 100 µl besi yeri yüklendikten sonra E-plate cihaza yerleştirilip "Back ground" ölçümü alındı. %70-80 konfluent olan flasklardaki hücreler tripsin ile muamele edilip santrifüj edildi. Tüpün dibindeki pellet üzerine 1 ml serumsuz (FBS içermeyen) besi yeri eklenerek resüspanse edildi ve canlı hücreler sayıldı. Her kuyucuğa, hava kabarcığı ve aşırı köpürtme yapılmamasına dikkat ederek 10000 HEC1A hücresi 90 µl besi yeri içerisinde eklendi. Hücrelerin tabana çökmesi ve tutunması için oda sıcaklığında 30 dakika bekletildikten

sonra, E-plate'ler cihaza yerleştirildi. Empedans ölçümü 24 saat boyunca 15 dakika aralıklarla alınacak şekilde ayarlanıp başlatıldı.

İnkübasyon süresi (yaklaşık 24 saat) sonunda mifepriston, bikalutamid, G15, PHTPP, alfakalsidol ve kalsitriol uygulandı. 10 µl hacim içinde ilaç uygulanarak E-plate kuyucuklarının nihai hacmi 200 µl olarak ayarlandı. İlaçlar, kuyucuğa tutunan hücreleri kaldırmamak için pipetaj yapmadan ve hava kabarcığı oluşturmaktan dikkatli bir şekilde eklendi. Kontrol grubu olan A1 kuyucuğuna 10 µl salin konuldu. Etanol çözücü A2 kuyucuğuna ve DMSO B1 kuyucuğuna, 10 µl hacim içerisinde verilerek nihai konsantrasyonları %0,05 olması sağlandı. C1 ve C2 kuyucuklarına 10 µl 10^{-8} M mifepriston; D1 ve D2 kuyucuklarına 10 µl 10^{-6} M bikalutamit; E1 ve E2 kuyucuklarına 10 µl 10^{-7} M G15; F1 ve F2 kuyucuklarına 10 µl 10^{-7} M PHTPP konuldu. Aynı zamanda G1 ve G2 kuyucuklarına 10 µl 10^{-10} M alfakalsidol; H1 ve H2 kuyucuklarına 10 µl 10^{-10} M kalsitriol konuldu. Steroid reseptörleri üzerinden etki gösteren bileşiklerinin E-plate'lerin ilaç yüklenmiş hali tablo 3.2'de gösterilmiştir. Tüm ilaçlar yüklendikten sonra E-plate inkübatör içindeki RTCA cihazına yerleştirilip empedans ölçümü her 15 dakikada bir alınacak şekilde ayarlandı. Logaritmik fazı takiben hücrelerin proliferasyonu plato fazına ulaştığında deney sonlandırıldı.

3.2.3. Yara İyileşme Modeli

Çizilme deneyi olarak da bilinen yara iyileşme modeli, *in vitro* iki boyutlu hücre migrasyonu araştırmak için kullanılan bir tekniktir. Bu yöntemde, birleşen hücrelerin tek tabakasında yapay bir boşluk oluşturulup hücrelerin hareketi mikroskop ile izlenmektedir. Yara iyileşme deneyi, farklı deneysel koşullar altında toplu hücre göçünü değerlendirmek ve ölçmek için uygun, kolay ve ekonomik bir yöntemdir. Ancak diğer yöntemlerle karşılaştırıldığında, deney süresi uzudur. Ayrıca, büyük miktarlarda hücre ve kimyasal madde gerektirdiği için, hücre ve kimyasal miktarının sınırlı olduğu durumlarda pek tercih edilen bir yöntem değildir. Şekil 3.3, yara iyileşme modelinin prosedürü özetlemektedir [234, 235].



Şekil 3.3. Yara iyileşme testinin prosedürü. Testin temel adımları: 1) hücre hazırlanması ve well-plate'lere ekilme; 2) konfluent olan hücrelerde yara oluşturulma; 3) belirli zaman noktalarında mikroskopik görüntü yakalama ve boşluk ölçümü yoluyla veri toplama; ve 4) veri analizi [234].

3.2.3.1. HEC1A Hücrelerinde Steroid Reseptörleri Üzerinden Etki Gösteren Bileşiklerin Migrasyon Üzerine Etkisinin Yara İyileşme Modeli ile Belirlenmesi

Endometriyum adenokarsinom HEC1A hücrelerinde, steroid reseptörleri üzerinden etki gösteren bileşiklerin migrasyon üzerine etkisi, mifepriston (10^{-8} M), bikalutamil (10^{-6} M), G15 (10^{-7} M), PHTPP (10^{-7} M), al fakalsidol (10^{-10} M) ve kalsitriol (10^{-10} M) olmak üzere yara iyileşme modeli ile bakılarak gerçekleştirildi. Tüm deney 2 tane 24 well-plate kullanılarak aynı anda gerçekleştirildi. 24 well plate şekil 3.4'te, ve deney grupları tablo 3.3 ve 3.4'te gösterilmiştir.



Şekil 3.4. 24 well-plate [236].

Tablo 3.3. Yara iyileşme modeli, etanol, DMSO, mifepriston ve bikalutamit 24 well plate düzeni (her grup için n= 4 - 6)

	1	2	3	4	5	6
A	saline	saline	etanol	etanol	etanol	etanol
B	saline	Saline	DMSO	DMSO	DMSO	DMSO
C	10 ⁻⁸ M Mifepriston	10 ⁻⁸ M Mifepriston	10 ⁻⁸ M Mifepriston	10 ⁻⁸ M Mifepriston	10 ⁻⁸ M Mifepriston	10 ⁻⁸ M Mifepriston
D	10 ⁻⁶ M Bikalutamit	10 ⁻⁶ M Bikalutamit	10 ⁻⁶ M Bikalutamit	10 ⁻⁶ M Bikalutamit	10 ⁻⁶ M Bikalutamit	10 ⁻⁶ M Bikalutamit

Tablo 3.4. Yara iyileşme modeli, G15, PHTPP, alfakalsidol ve kalsitriol 24 well plate düzeneği (her bir grup için n= 6)

	1	2	3	4	5	6
A	10 ⁻⁷ M G15	10 ⁻⁷ M G15	10 ⁻⁷ M G15	10 ⁻⁷ M G15	10 ⁻⁷ M G15	10 ⁻⁷ M G15
B	10 ⁻⁷ M PHTPP	10 ⁻⁷ M PHTPP	10 ⁻⁷ M PHTPP	10 ⁻⁷ M PHTPP	10 ⁻⁷ M PHTPP	10 ⁻⁷ M PHTPP
C	10 ⁻¹⁰ M Alfakalsidol	10 ⁻¹⁰ M Alfakalsidol	10 ⁻¹⁰ M Alfakalsidol	10 ⁻¹⁰ M Alfakalsidol	10 ⁻¹⁰ M Alfakalsidol	10 ⁻¹⁰ M Alfakalsidol
D	10 ⁻¹⁰ M Kalsitriol	10 ⁻¹⁰ M Kalsitriol	10 ⁻¹⁰ M Kalsitriol	10 ⁻¹⁰ M Kalsitriol	10 ⁻¹⁰ M Kalsitriol	10 ⁻¹⁰ M Kalsitriol

Önceden pasajlanmış %70-80 konfluent olan endometriyum adenokarsinom HEC1A hücrelerin flasklarına yeterli miktarda tripsin-EDTA eklendi. Hücreler kalktığına flaska aynı miktarda FBS eklenip 800 rpm'de 5 dakika santrifüjlendi. Santrifüjlenmiş tüpün üst kısmındaki süpernatant pastör pipeti yardımı ile çekilip atıldı. Tüpün alt kısmındaki pellet üzerine 1 ml besi yeri ile resüspanse edilip hücrelerin sayımı gerçekleştirildi.

24-well plate'lerin her kuyusuna 400 µl besi yeri konup üzerine 50000 hücre/well içeren 100 µl besi yeri eklenerek, her kuyunun son hacmi 500 µl olarak belirlendi. Well-plate'ler, kuyulardaki hücreler konfluent olana kadar, yaklaşık 48 saat inkübatörde bekletildi. İnkübasyon

sonrası, konfluent olan hücrelerin besi yerini çekilip atıldı ve DPBS (Dulbecco'nun fosfat-tamponlu tuz) ile üç kez yıkandı. Kuyulara 500 µl serumsuz (FBS içermeyen) besi yeri eklendi ve well-plate'ler yeniden 24 saat inkübe edildi.

24 saatlik inkübasyondan sonra, kuyulardaki serumsuz besi yeri çekilip atıldı. Kuyularda 20 µl pipet ucu kullanılarak aynı yönde düz çizgi yapıldı. Pipet ucunun yaklaşık 45 derece eğilmesi ve eşit bir kuvvet uygulanmasıyla yaralar oluşturuldu. Yaralar açıldıktan sonra, kuyular 3 kez DPBS ile yıkandı. Yıkama işlemi tamamlandıktan sonra, kuyulara 475 µl %1 FBS'li besi yeri eklendi ve kuyunun 0. saat görüntüsü alındı. Kuyulara önceden tasarlanmış deney grubuna göre 25µl hacim içerisinde ilaç dozları eklendi. Sıfırıncı saatten itibaren 48. saate kadar her 24 saatte kuyuların görüntüsü alınıp kayıt edildi. Sıfırıncı dakikada alınan yara görüntüsünün yeri işaretlenip sonraki görüntüler hep aynı bölgeden alındı. Yara açıklığı mesafesi µm olarak ölçüldü. Yara iyileşme modelinde hücre migrasyonu kuyulardaki 0. saatteki yara açıklığından, 24. saatteki veya 48. saatteki yara açıklığı çıkarılmasıyla hesaplanarak rölatif hücre motilitesi olarak ifade edildi.

3.3. İstatistik Analizleri

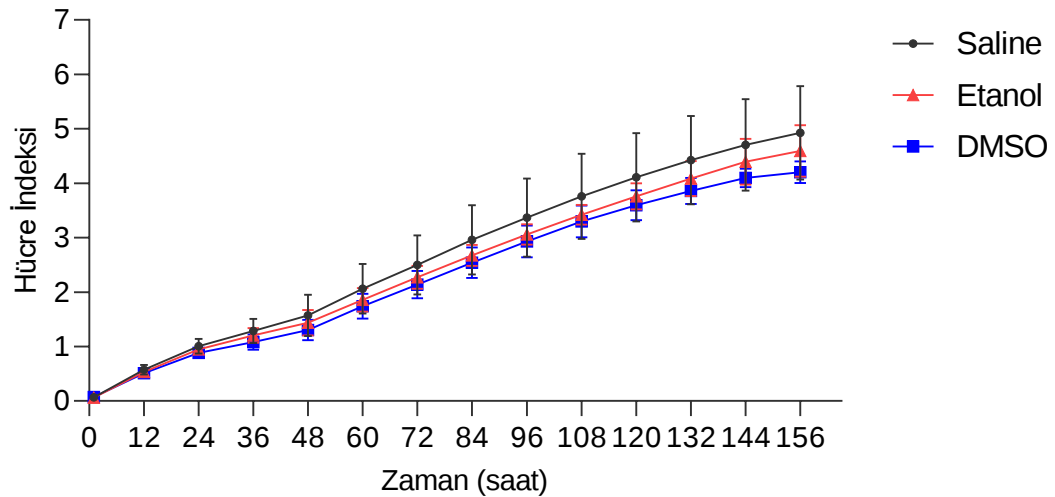
Çalışmada mifepriston, bikalutamid, G15, PHTPP, alfakalsidol ve kalsitriol kullanıldığında endometriyum adenokarsinom HEC1A hücrelerinin proliferasyonundaki değişimler, RTCA sisteminde elektronik empadans oluşturup hücre indeksi olarak elde edildi. Yara iyileşme modelinde hücre migrasyonu kuyulardaki 0. saatteki yara açıklığından, 24. saatteki veya 48. saatteki yara açıklığı çıkarılmasıyla hesaplanarak rölatif hücre motilitesi olarak ifade edildi. HEC1A hücrelerinde mifepriston, bikalutamid, G15, PHTPP, alfakalsidol ve kalsitriol'in proliferasyon ve migrasyon deneylerde elde edilen verilerin eğrileri kontrol grubunun standart eğri ile karşılaştırıldı. Veriler ortalama $\pm$ standart hata (SEM) olarak ifade edildi. İstatistiksel değerlendirilmek için ANOVA ve t-testi kullanıldı ve $P<0,05$ olan değerler anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Endometriyum Adenokarsinom HEC1A Hücrelerinde Steroid Reseptörleri Üzerinden Etki Gösteren Bileşiklerin Proliferasyon Üzerine Etkisinin Gerçek Zamanlı Hücre Analizi

4.1.1. Endometriyum Adenokarsinom HEC1A Hücrelerinde Etanol ve DMSO'nun Proliferasyon Üzerine Etkisinin Gerçek Zamanlı Hücre Analizi

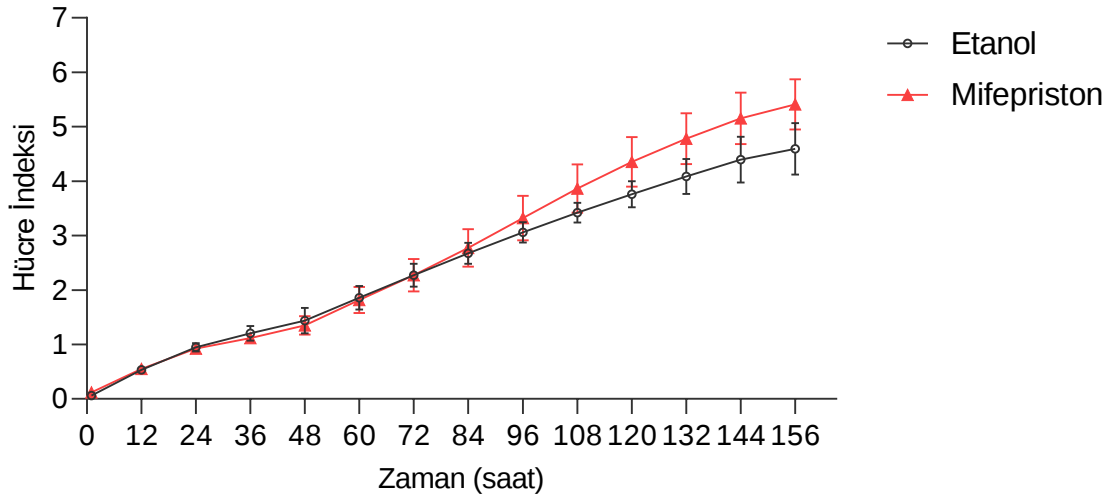
Etanol ve DMSO'nun endometriyum adenokarsinom HEC1A hücrelerinin proliferasyonu üzerindeki etkisi araştırıldı ve kontrol grubu ile karşılaştırıldı (Şekil 4.1). Endometriyum adenokarsinom HEC1A hücrelerinde etanol (n=3) ve kontrol (n=3) grupları arasında proliferasyon açısından anlamlı bir fark bulunmadı ($p > 0,05$).



Şekil 4.1. Endometriyum adenokarsinom HEC1A hücrelerinde kontrol, etanol ve DMSO grubunun proliferasyon üzerine etkisi (n=3) ($p > 0,05$).

4.1.2. Endometriyum Adenokarsinom HEC1A Hücrelerinde Mifepriston'ün (10^{-8} M) Proliferasyon Üzerine Etkisinin Gerçek Zamanlı Hücre Analizi

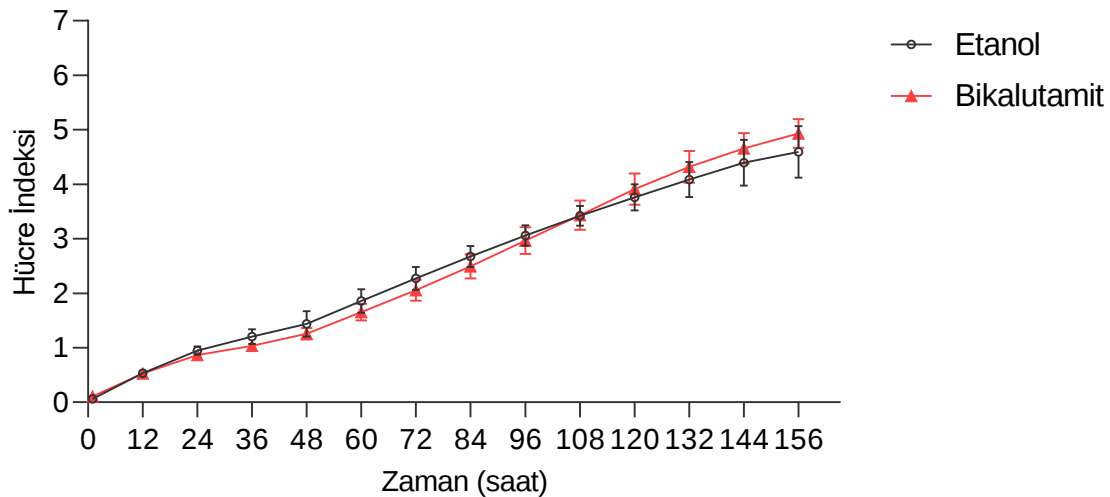
Endometriyum adenokarsinom HEC1A hücrelerinde mifepriston'ün (10^{-8} M) proliferasyon üzerine etkisi araştırıldı (şekil 4.2). Mifepriston'ün bu çalışmada incelediğimiz 156. saate kadar proliferasyon üzerine etkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (n=6; $p > 0,05$).



Şekil 4.2. Endometriyum adenokarsinom HEC1A hücrelerinde 10^{-8} M mifepriston'ün ve 10^{-6} M bikalutamid'in proliferasyon üzerine etkisi (n=6) ($p>0,05$).

4.1.3. Endometriyum Adenokarsinom HEC1A Hücrelerinde Bikalutamid'in (10^{-6} M) Proliferasyon Üzerine Etkisinin Gerçek Zamanlı Hücre Analizi

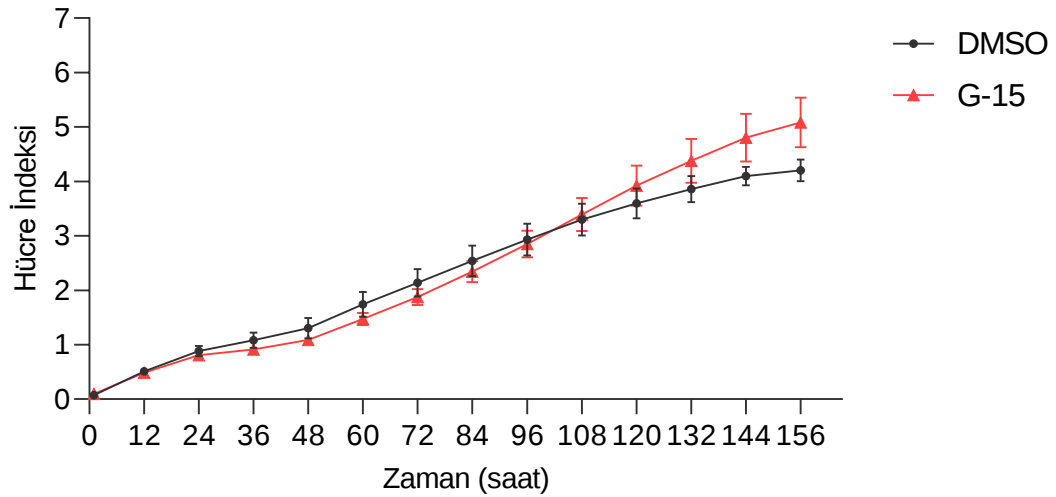
Endometriyum adenokarsinom HEC1A hücrelerinde bikalutamid'in (10^{-6} M) proliferasyon üzerine etkisi araştırıldı (şekil 4.3). Bikalutamid'in 156. saate kadar proliferasyon üzerine etkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (n=5; $p>0,05$).



Şekil 4.3. Endometriyum adenokarsinom HEC1A hücrelerinde 10^{-6} M bikalutamid'in proliferasyon üzerine etkisi (n=5) ($p>0,05$).

4.1.4. Endometriyum Adenokarsinom HEC1A Hücrelerinde G15'in (10^{-7} M) Proliferasyon Üzerine Etkisinin Gerçek Zamanlı Hücre Analizi

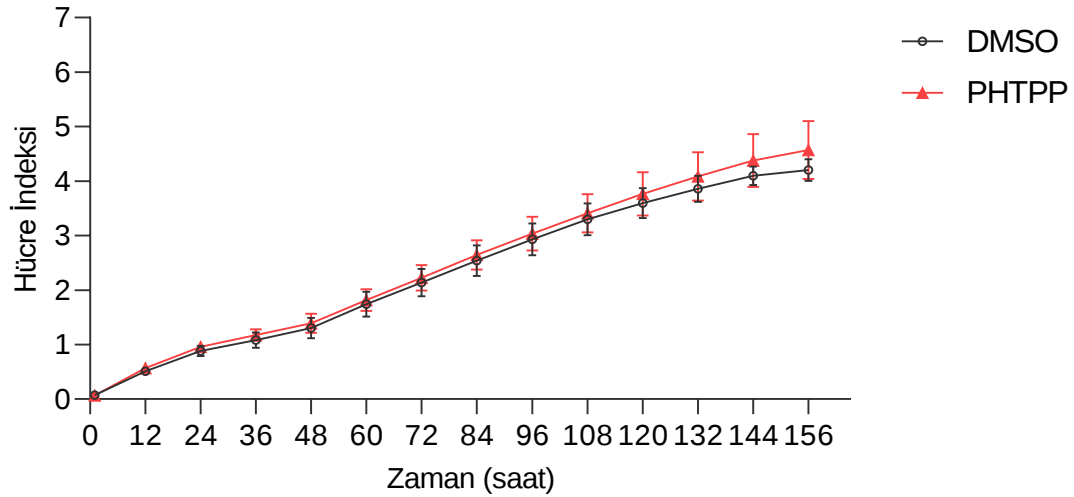
Endometriyum adenokarsinom HEC1A hücrelerinde G15'in (10^{-7} M) proliferasyon üzerine etkisi araştırıldı (şekil 4.4). G15'in 156. saate kadar proliferasyon üzerine etkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($n=6$; $p>0,05$).



Şekil 4.4. Endometriyum adenokarsinom HEC1A hücrelerinde 10^{-7} M G15'in proliferasyon üzerine etkisi ($n=6$) ($p>0,05$).

4.1.5. Endometriyum Adenokarsinom HEC1A Hücrelerinde PHTPP'nin (10^{-7} M) Proliferasyon Üzerine Etkisinin Gerçek Zamanlı Hücre Analizi

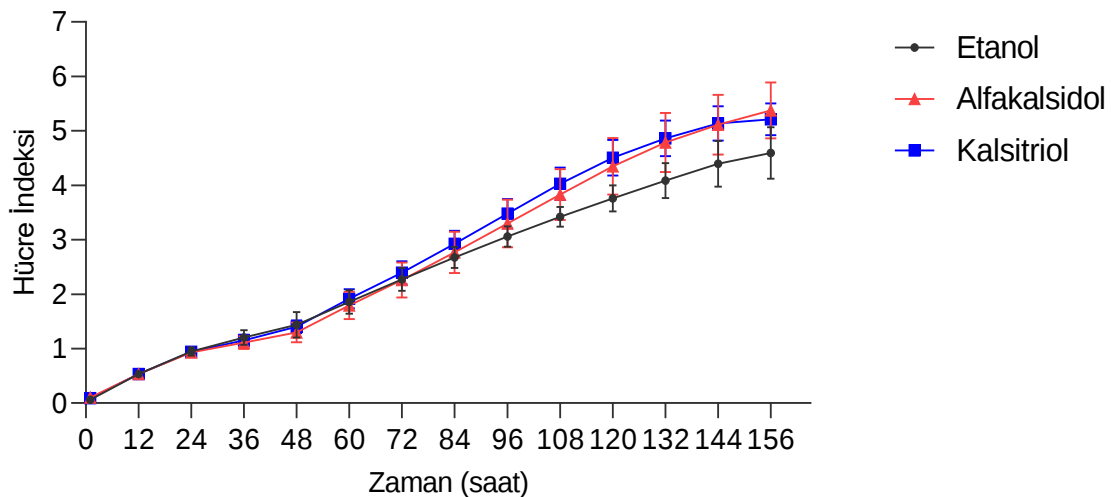
Endometriyum adenokarsinom HEC1A hücrelerinde PHTPP'nin (10^{-6} M) proliferasyon üzerine etkisi araştırıldı (şekil 4.5). PHTPP'nin 156. saate kadar proliferasyon üzerine etkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($n=6$; $p>0,05$).



Şekil 4.5. Endometriyum adenokarsinom HEC1A hücrelerinde 10^{-7} M PHTPP'nin proliferasyon üzerine etkisi (n=6) ($p>0,05$).

4.1.6. Endometriyum Adenokarsinom HEC1A Hücrelerinde Alfakalsidol (10^{-10} M) ve Kalsitriol'ün (10^{-10} M) Proliferasyon Üzerine Etkisinin Gerçek Zamanlı Hücre Analizi

Endometriyum adenokarsinom HEC1A hücrelerinde alfakalsidol'ün (10^{-10} M) ile kalsitriol'ün (10^{-10} M) proliferasyon üzerine etkisi araştırıldı (şekil 4.6). Her iki ilacın 156. saate kadar proliferasyon üzerine etkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (n=4,6; $p>0,05$).

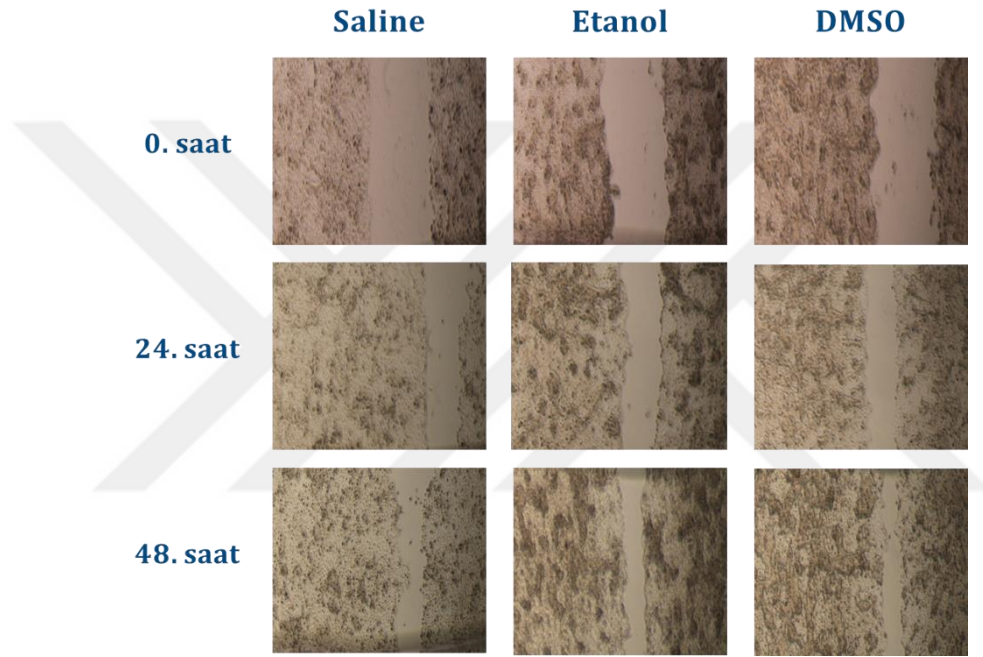


Şekil 4.6. Endometriyum adenokarsinom HEC1A hücrelerinde 10^{-10} M alfakalsidol'ün ve 10^{-10} M kalsitriol'ün proliferasyon üzerine etkisi (n=4-6) ($p>0,05$).

4.2. Endometriyum Adenokarsinom HEC1A Hücrelerinde Steroid Reseptörleri Üzerinden Etki Gösteren bileşiklerin Migrasyon Üzerine Etkisinin Yara İyileşme Modeli İle Gösterilmesi

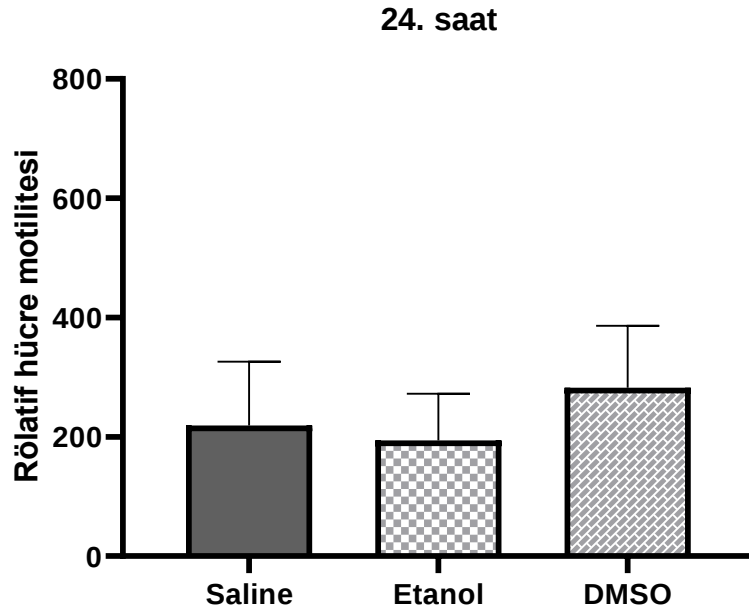
4.2.1. Endometriyum Adenokarsinom HEC1A Hücrelerinde Etanol ve DMSO'nun Yara İyileşme Modeli Üzerine Etkisi

Etanol'ün ve DMSO'nun HEC1A hücrelerinde migrasyon üzerine etkileri, yara iyileşme modeli kullanılarak araştırıldı ve kontrol grubu ile karşılaştırıldı. Bu gruplarda yara açıklığının örnek görüntüleri şekil 4.7'de gösterilmiştir.

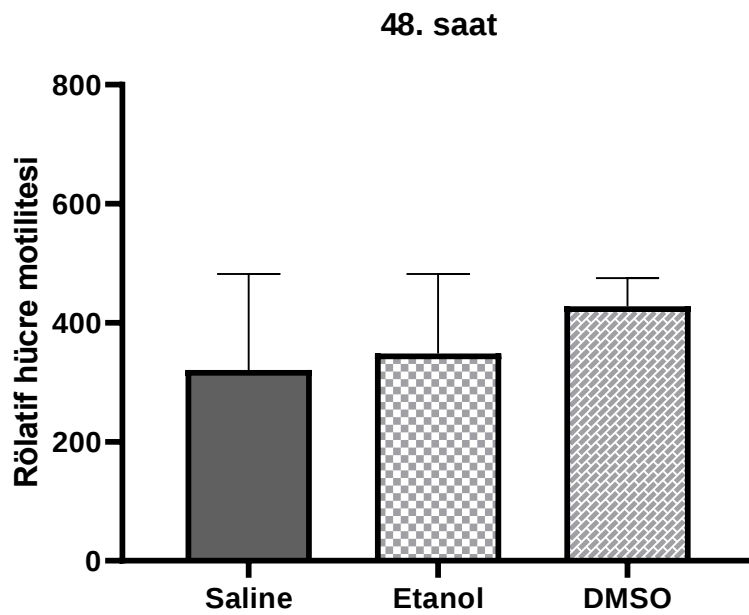


Şekil 4.7. Endometriyum adenokarsinom HEC1A hücrelerinde etanol ve DMSO'nun 0. saatten 48. saat arasındaki yara açıklığı örnek görüntüleri.

24. ve 48. saatlerde bu gruplarda rölatif hücre motilitesinin ölçümlerini sırasıyla şekil 4.8 ve 4.9'da gösterilmiştir. Etanol ve DMSO'nun HEC1A hücrelerinde migrasyon üzerine etkileri, her iki zaman noktasında, istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($n=5$) ($p>0,05$).



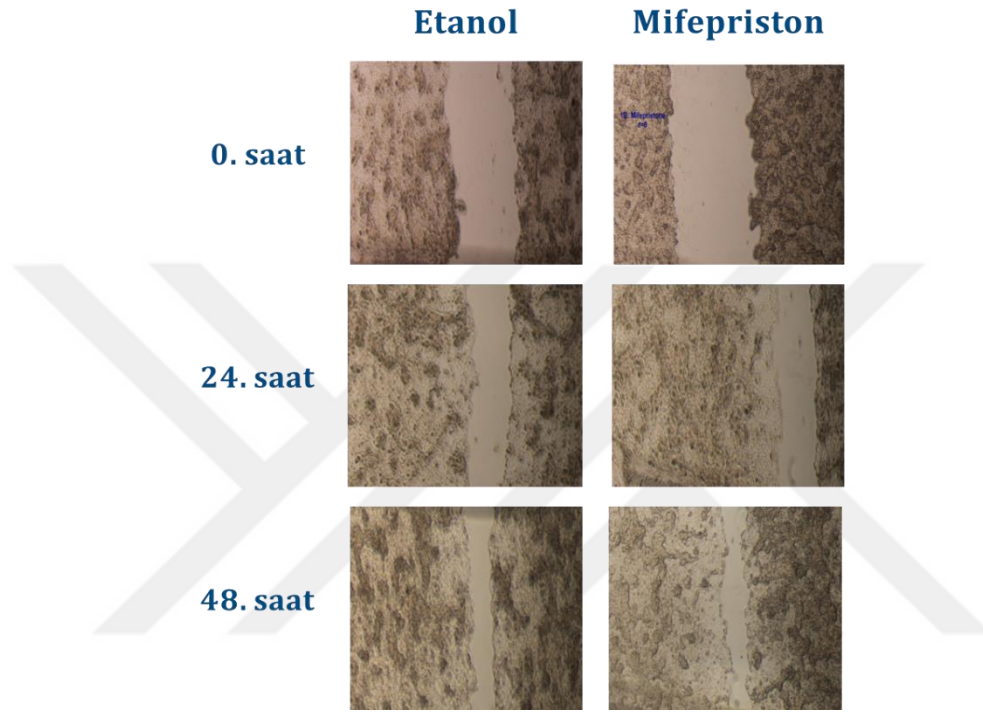
Şekil 4.8. Endometriyum adenokarsinom HEC1A hücrelerinde etanol ve DMSO'nun 24. saatteki yara açıklığı üzerine etkisi (n=3-5) ($p>0,05$).



Şekil 4.9. Endometriyum adenokarsinom HEC1A hücrelerinde etanol ve DMSO'nun 48. saatteki yara açıklığı üzerine etkisi (n=3-5) ($p>0,05$).

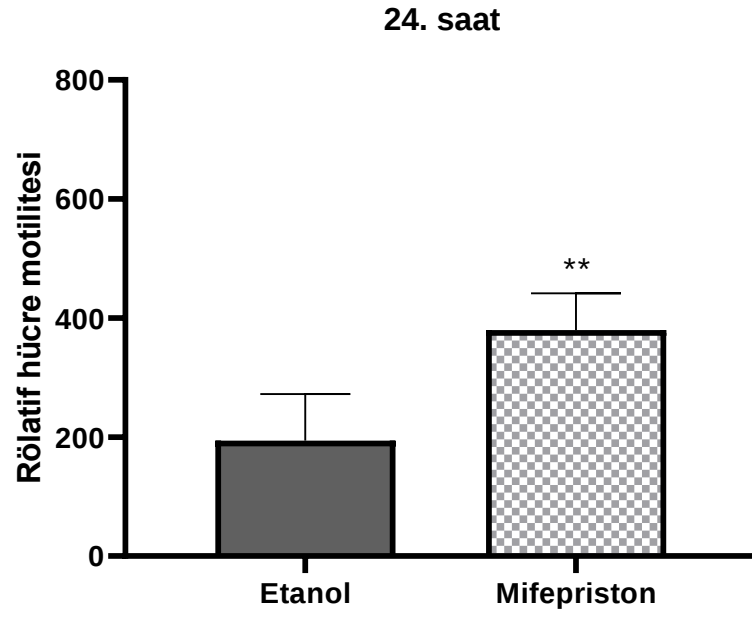
4.2.2. Endometriyum Adenokarsinom HEC1A Hücrelerinde Mifepriston'un (10^{-8} M) Yara İyileşme Modeli Üzerine Etkisi

Mifepriston'un (10^{-8} M) HEC1A hücrelerinde migrasyon üzerine etkisi, yara iyileşme modeli kullanılarak araştırıldı ve çözücüsü olan etanol ile karşılaştırıldı. Bu gruptaki yara açıklığının örnek görüntüleri şekil 4.10'da gösterilmiştir.

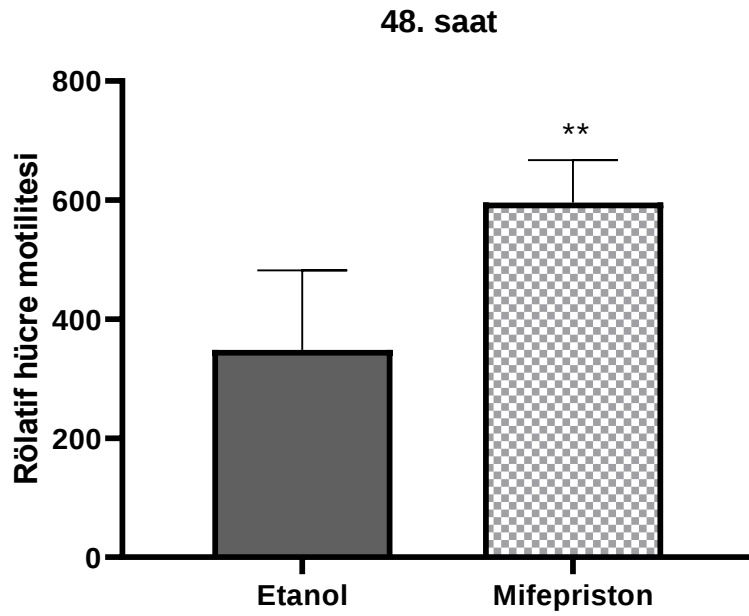


Şekil 4.10. Endometriyum adenokarsinom HEC1A hücrelerinde mifepriston'un (10^{-8} M)) 0. saatten 48. saat arasındaki yara açıklığı örnek görüntüleri.

24. ve 48. saatlerde mifepriston grubundaki rölatif hücre motilitesinin ölçümlerini sırasıyla şekil 4.11 ve 4.12'de gösterilmiştir. Mifepriston (10^{-8} M) endometriyum adenokarsinom HEC1A hücrelerinde 24. ve 48. saatte yara açıklığını azaltmıştır (hücre motilitesini artırmıştır). Bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($n=6$) ($P<0,01$).



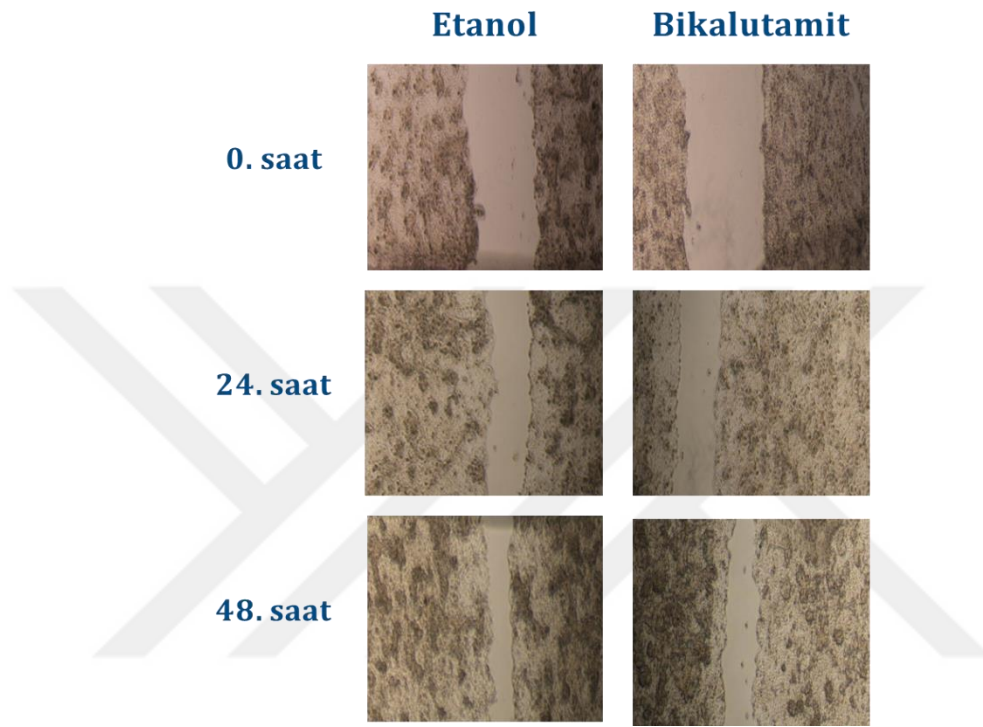
Şekil 4.11. Endometriyum adenokarsinom HEC1A hücrelerinde 10^{-8} M mifepriston'un 24. saatteki yara açıklığı üzerine etkisi (n=6) (**: P<0,01).



Şekil 4.12. Endometriyum adenokarsinom HEC1A hücrelerinde 10^{-8} M mifepriston'un 48. saatteki yara açıklığı üzerine etkisi (n=6) (**: P<0,01).

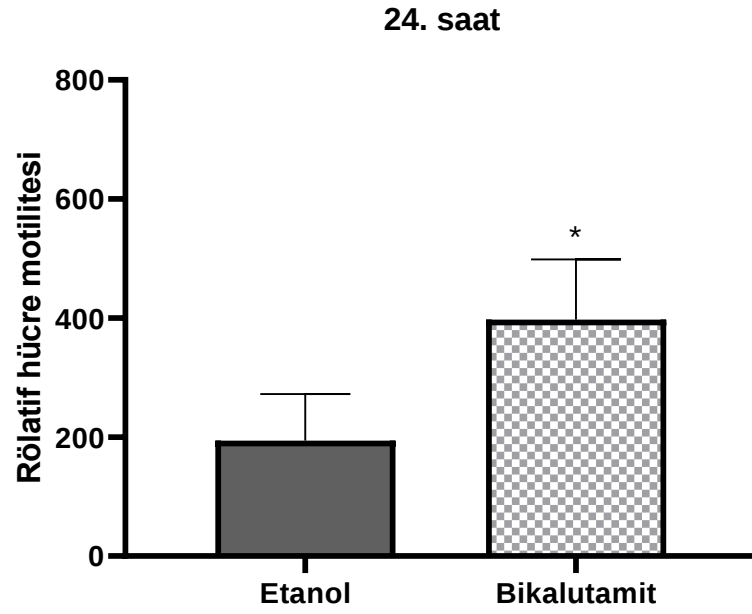
4.2.3. Endometriyum Adenokarsinom HEC1A Hücrelerinde Bikalutamid'in (10^{-6} M) Yara İyileşme Modeli Üzerine Etkisi

Bikalutamid'in (10^{-6} M) HEC1A hücrelerinde migrasyon üzerine etkisi, yara iyileşme modeli kullanılarak araştırıldı ve çözücüsü olan etanol ile karşılaştırıldı. Bu gruptaki yara açıklığının örnek görüntüleri şekil 4.13'te gösterilmiştir.

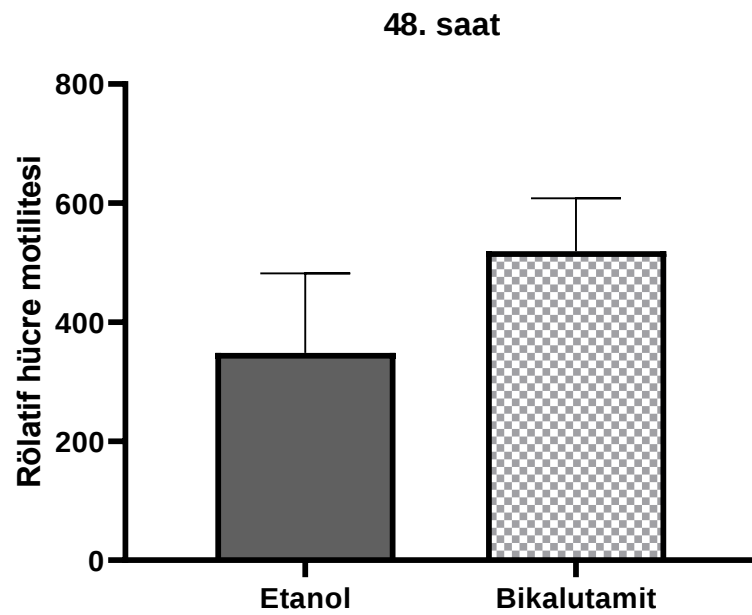


Şekil 4.13. Endometriyum adenokarsinom HEC1A hücrelerinde bikalutamid'in (10^{-6} M) 0. saatten 48. saat arasındaki yara açıklığı örnek görüntüleri.

24. ve 48. saatlerde bikalutamid grubundaki rölatif hücre motilitesinin ölçümelerini sırasıyla şekil 4.14 ve 4.15'te gösterilmiştir. Bikalutamid (10^{-6} M) endometriyum adenokarsinom HEC1A hücrelerinde 24. saatte anlamlı bir şekilde yara açıklığını azaltmıştır ($n=4$; $P<0,05$). Ancak, bu etki 48. saatte istatistiksel olarak anlamsız hale geldi ($P>0,05$).



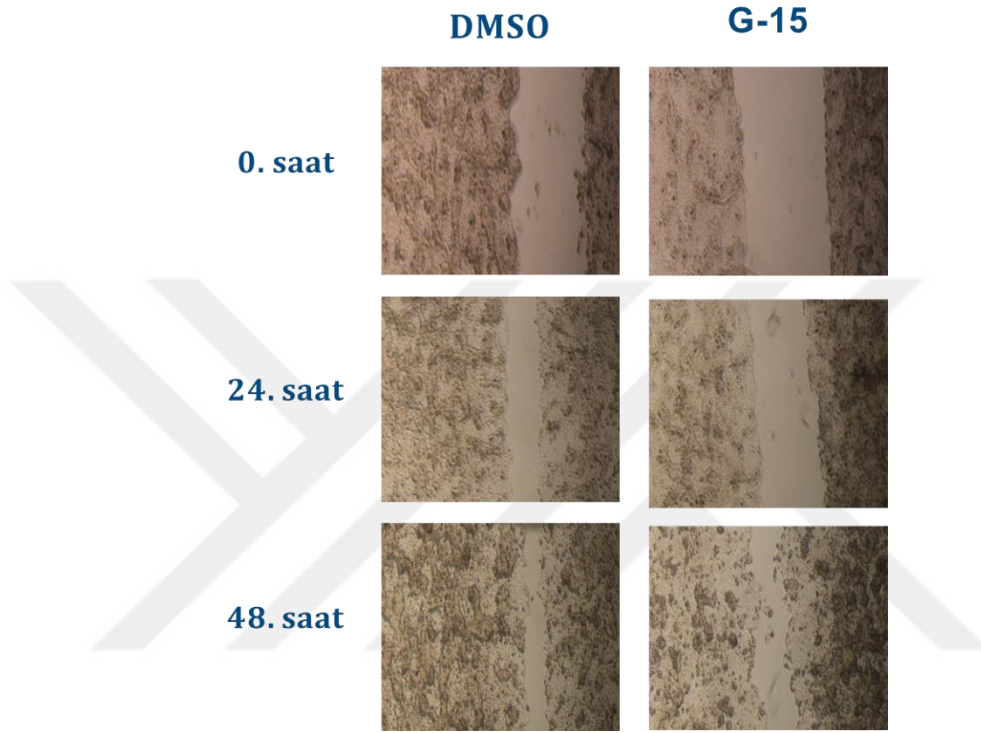
Şekil 4.14. Endometriyum adenokarsinom HEC1A hücrelerinde 10^{-6} M bikalutamid'in 24. saatteki yara açıklığı üzerine etkisi (n=4) (*: P<0,05).



Şekil 4.15. Endometriyum adenokarsinom HEC1A hücrelerinde 10^{-6} M bikalutamid'in 48. saatteki yara açıklığı üzerine etkisi (n=4) (P>0,05).

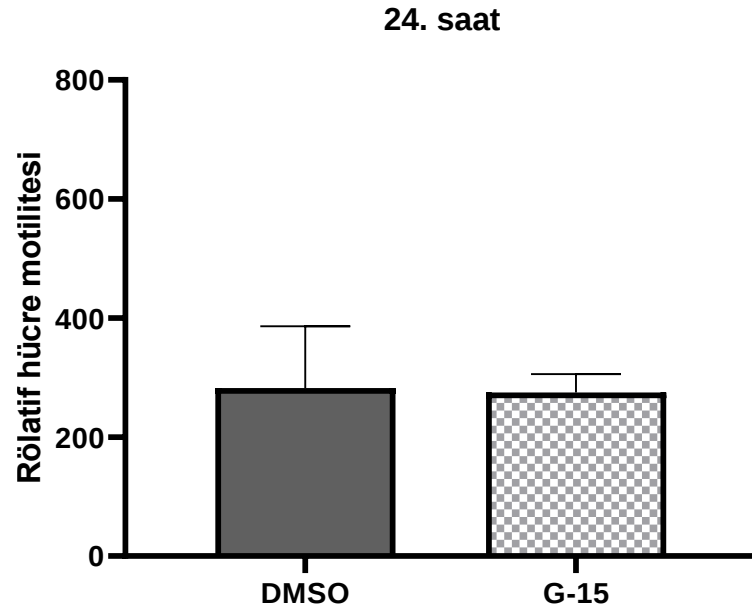
4.2.4. Endometriyum Adenokarsinom HEC1A Hücrelerinde G15'in (10^{-7} M) Yara İyileşme Modeli Üzerine Etkisi

G15'in (10^{-7} M) HEC1A hücrelerinde migrasyon üzerine etkisi, yara iyileşme modeli kullanılarak araştırıldı ve çözücüsü olan DMSO ile karşılaştırıldı. Bu gruptaki yara açıklığının örnek görüntüleri şekil 4.16'da gösterilmiştir.

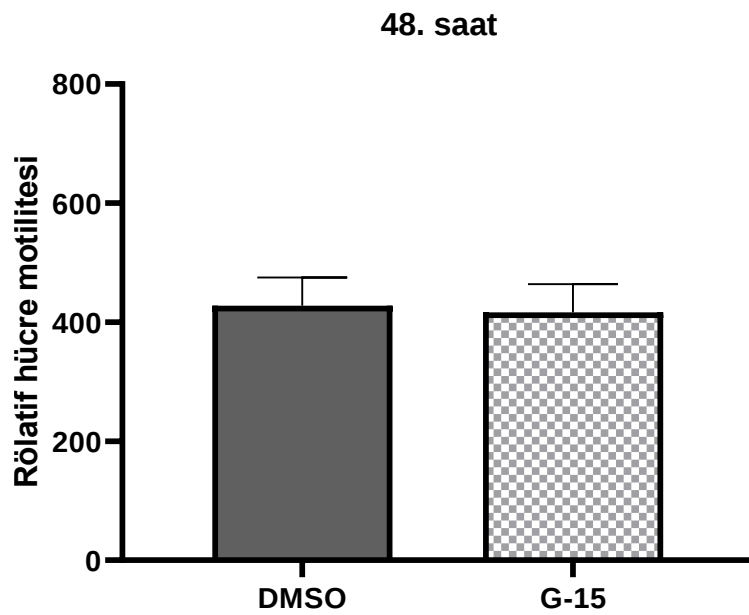


Şekil 4.16. Endometriyum adenokarsinom HEC1A hücrelerinde G15'in (10^{-7} M) 0. saatten 48. saat arasındaki yara açıklığı örnek görüntüleri.

24. ve 48. saatlerde G15 grubundaki rölatif hücre motilitesinin ölçümelerini sırasıyla şekil 4.17 ve 4.18'de gösterilmiştir. G15'in endometriyum adenokarsinom HEC1A hücrelerinde migrasyon üzerine etkisi, her iki zaman noktasında, istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($n=4$) ($p>0,05$).



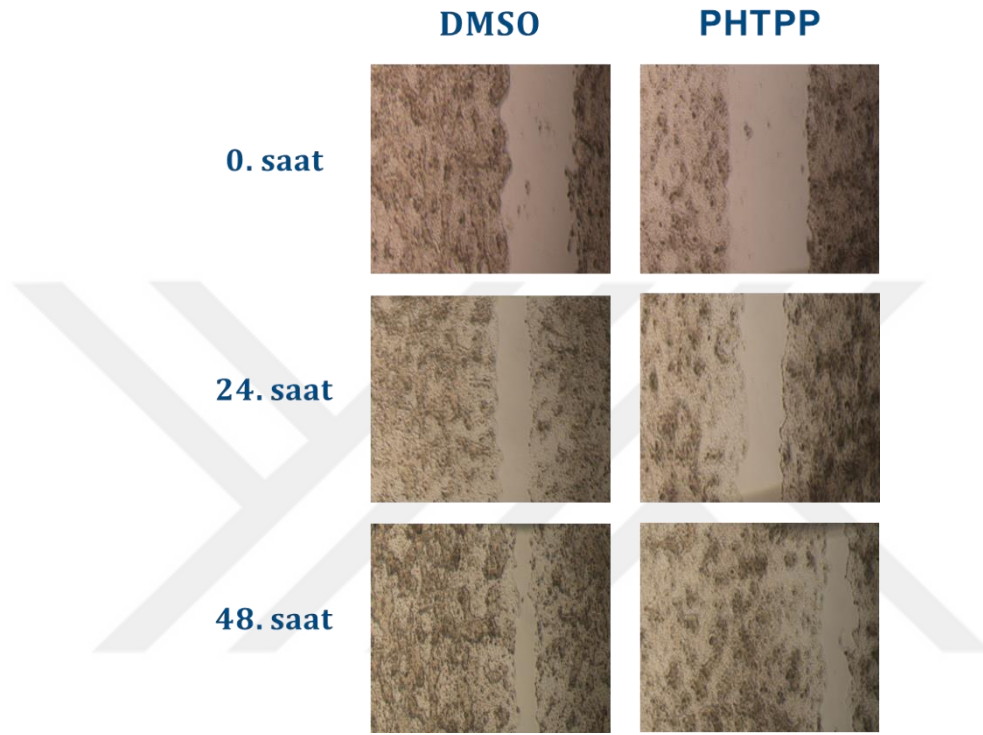
Şekil 4.17. Endometriyum adenokarsinom HEC1A hücrelerinde 10^{-7} M G15'in 24. saatteki yara açıklığı üzerine etkisi (n=4) ($P>0,05$).



Şekil 4.18. Endometriyum adenokarsinom HEC1A hücrelerinde 10^{-7} M G15'in 48. saatteki yara açıklığı üzerine etkisi (n=4) ($P>0,05$).

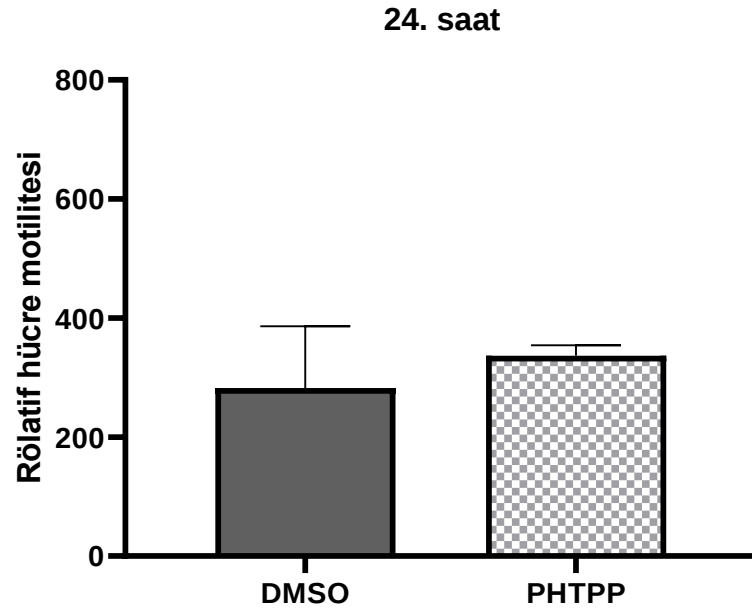
4.2.5. Endometriyum Adenokarsinom HEC1A Hücrelerinde PHTPP'nin (10^{-7} M) Yara İyileşme Modeli Üzerine Etkisi

PHTPP'nin (10^{-7} M) HEC1A hücrelerinde migrasyon üzerine etkisi, yara iyileşme modeli kullanılarak araştırıldı ve çözücüsü olan DMSO ile karşılaştırıldı. Bu gruptaki yara açıklığının örnek görüntüleri şekil 4.19'da gösterilmiştir.

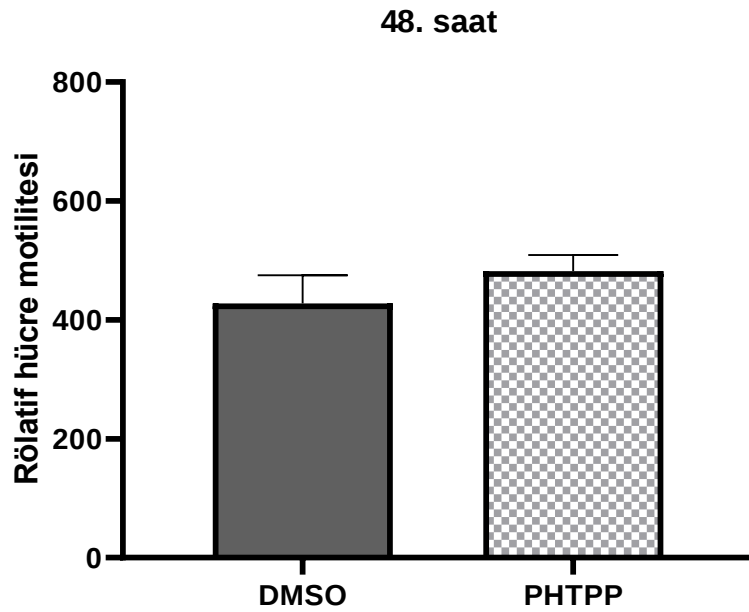


Şekil 4.19. Endometriyum adenokarsinom HEC1A hücrelerinde PHTPP'nin (10^{-7} M) 0. saatten 48. saat arasındaki yara açıklığı örnek görüntüleri.

24. ve 48. saatlerde PHTPP grubundaki rölatif hücre motilitesinin ölçümlerini sırasıyla şekil 4.20 ve 4.21'de gösterilmiştir. PHTPP'nin endometriyum adenokarsinom HEC1A hücrelerinde migrasyon üzerine etkisi, her iki zaman noktasında, istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($n=3$) ($p>0,05$).



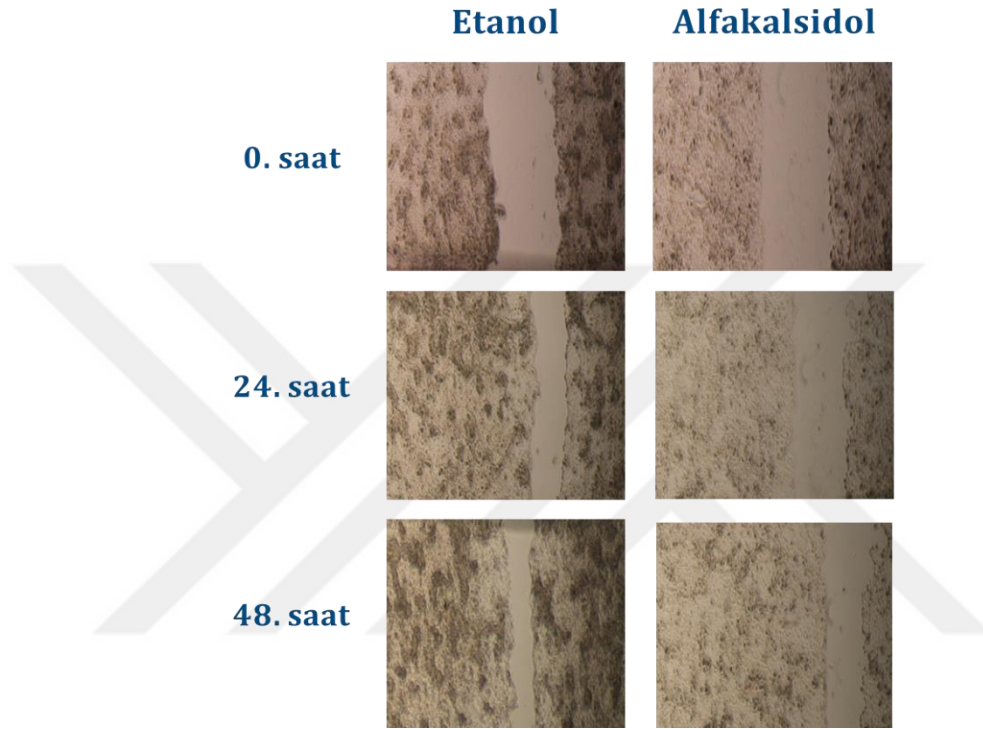
Şekil 4.20. Endometriyum adenokarsinom HEC1A hücrelerinde 10^{-7} M PHTPP'nin 24. saatteki yara açıklığı üzerine etkisi (n=3) ($P>0,05$).



Şekil 4.21. Endometriyum adenokarsinom HEC1A hücrelerinde 10^{-7} M PHTPP'nin 48. saatteki yara açıklığı üzerine etkisi (n=3) ($P>0,05$).

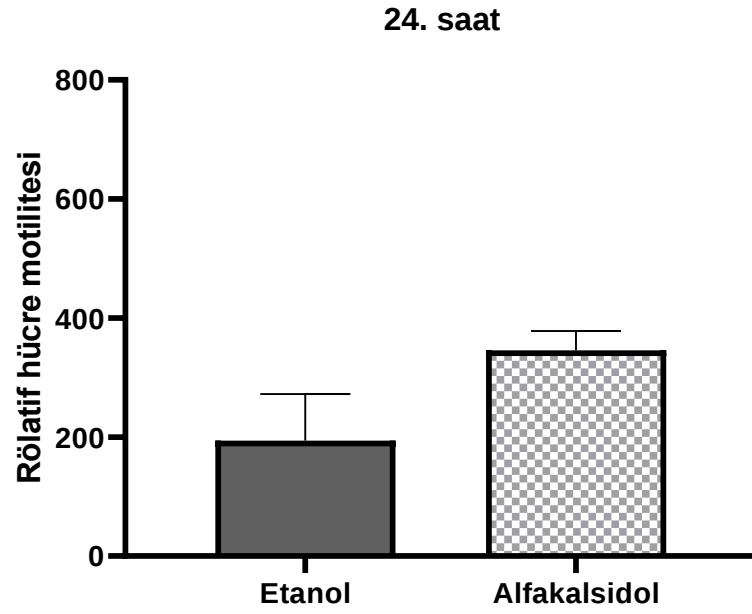
4.2.6. Endometriyum Adenokarsinom HEC1A Hücrelerinde Alfakalsidol (10^{-10} M) İyileşme Modeli Üzerine Etkisi

Alfakalsidol'ün (10^{-10} M) HEC1A hücrelerinde migrasyon üzerine etkisi, yara iyileşme modeli kullanılarak araştırıldı ve D vitaminin çözücüsü olan etanol ile karşılaştırıldı. Bu gruptaki yara açıklığının örnek görüntüleri şekil 4.22'de gösterilmiştir.

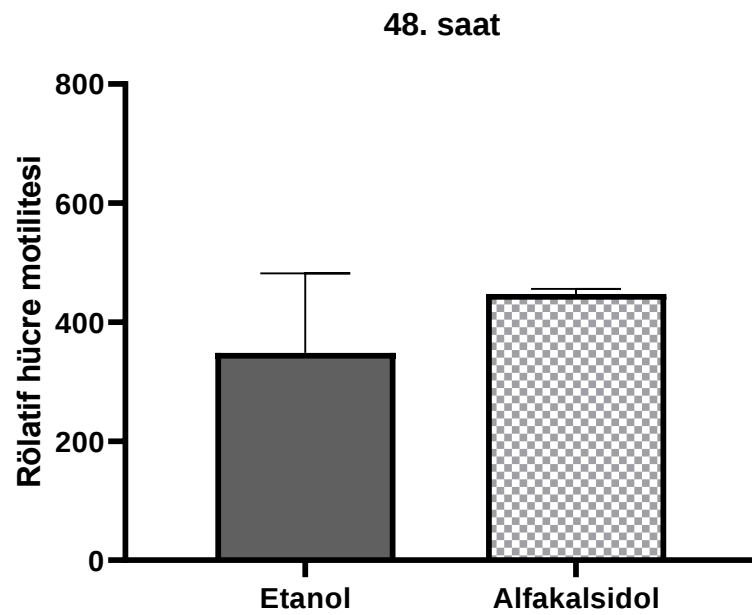


Şekil 4.22. Endometriyum adenokarsinom HEC1A hücrelerinde alfakalsidol'ün (10^{-10} M) 0. saatten 48. saat arasındaki yara açıklığı örnek görüntüleri.

24. ve 48. saatlerde alfakalsidol grubundaki rölatif hücre motilitesinin ölçümelerini sırasıyla şekil 4.23 ve 4.24'te gösterilmiştir. Alfakalsidol'ün endometriyum adenokarsinom HEC1A hücrelerinde migrasyon üzerine etkisi, her iki zaman noktasında, istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($n=3$) ($p>0,05$).



Şekil 4.23. Endometriyum adenokarsinom HEC1A hücrelerinde 10^{-10} M alfakalsidol'ün 24. saatteki yara açıklığı üzerine etkisi (n=4) ($P>0,05$).



Şekil 4.24. Endometriyum adenokarsinom HEC1A hücrelerinde 10^{-10} M alfakalsidol'ün 48. saatteki yara açıklığı üzerine etkisi (n=4) ($P>0,05$).

6. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışmada steroid reseptörleri üzerinden etki gösteren bileşiklerin endometrium adenokarsinom HEC1A hücrelerinde kanserde önemli parametreler olan proliferasyon ve migrasyon üzerinedeki rolünü sırasıyla gerçek zamanlı hücre ve yara modeli ile araştırıldı. Bu amaçla dört farklı steroid reseptör blokerleri; progesteron ve glukokortikoid reseptör blokeri olan mifepriston (10^{-8} M), androjen reseptör blokeri olan bikalutamid (10^{-6} M), G-proteinine bağlı östrojen reseptör (GPER) blokeri olan G15 (10^{-7} M) ve östrojen reseptörü β blokeri olan PHTPP (10^{-7} M); ve D vitaminin iki formu olan alfa-kalsidol ve kalistriol (10^{-10} M) uygulandı. Mifepriston ve bikalutamid, endometriyum adenokarsinom HEC1A hücrelerinde migrasyonu arttırmışken, proliferasyon üzerinde hiçbir etki göstermemişlerdir. Bununla birlikte, bikalutamidin migrasyon üzerindeki etkisi 48. saatte ortadan kalkmıştır. Kullanılan diğer ilaçlar ise proliferasyon ve migrasyonu değiştirmemiştir.

Mifepristonun endometriyum kanseri dahil olmak üzere farklı insan kanser hücreleri üzerindeki etkisini araştıran birçok çalışma bulunmaktadır. Amin ve arkadaşları mifepristonun 10 μ M ve 100 μ M konsantrasyonlarda tip I endometriyum karsinom Ishikawa hücrelerinin proliferasyonunu azalttığını göstermişlerdir [237]. Benzer bir çalışma, 50 ila 100 μ M mifepristonun HUUA endometriyum kanser hücrelerinin proliferasyonunu ve yara iyileşme hızını azalttığını göstermiştir [238]. Ancak bu çalışmalarda kullanılan konsantrasyonlar çok yüksektir ve insan kanser dokusunda elde edilememektedir. Mifepristonun doku konsantrasyonunun, serum konsantrasyonuna eşit veya daha düşük olduğu ve mifepriston dozunun artırılmasıyla serum konsantrasyonunun artmadığı ve 2,5 μ M değerini geçmediği kanıtlanmıştır [239–242]. Sonuçlarımızla uyumlu olarak, bir *in vitro* çalışma klinik olarak makul dozlarda (0,1 - 5 μ M) mifepristonun yumurtalık kanseri KK-1 hücrelerinin proliferasyonunu önemli ölçüde arttırdığını ve sadece çok daha yüksek konsantrasyonların (7,5 - 25 μ M) *in vitro* antitümör etkisini sağladığını göstermiştir [239]. Ek olarak, insanlar üzerinde yapılan klinik deneylerde, birçok kanserin tedavisinde mifepriston kullanımı başarısız olmuştur [243–246]. Bir faz II klinik çalışma mifepriston ile tedavinin PR-pozitif endometriyum kanser hastalarının sadece %25'inde stabil hastalık ile sonuçlandığını ve hastaların %75'inde hastalık ilerlemesini yaşadığını göstermiştir [243].

Bikalutamid, metastatik prostat kanserini tedavi etmek için klinik olarak diğer ilaçlarla kombinasyon halinde kullanılan bir androjen reseptör antagonistidir [247]. Bikalutamidin konsantrasyona bağlı bir şekilde prostat kanseri LNCaP hücrelerinin büyümesini engellediği, proliferasyonunu ve migrasyonunu azalttığı ve apoptozunu indüklediği gösterilmiştir [248–253]. Kullanılan konsantrasyonları 0,1 μ M ila 100 μ M arasında değişmektedir [248–253]. Ek olarak, çalışmalar bikalutamidin diğer kanser tipleri üzerindeki etkisini *in vitro* olarak incelemiştir. Robinson ve arkadaşları, üçlü negatif meme kanseri MDA-MB-231 hücrelerinin büyümesinin 1

μM bikalutamid ile önemli ölçüde azaldığını göstermiştir [254]. Yeni bir çalışma da, bikalutamidin ($25 \mu\text{M}$ ve $100 \mu\text{M}$ konsantrasyonlarda), MDA-MB-231 hücrelerinin proliferasyonunu, invazyonunu ve migrasyonunu doza bağlı bir şekilde azalttığını göstermiştir [255]. Hao ve arkadaşları 2017 yılında bikalutamidi ($50 \mu\text{M}$) mesane kanseri UM-UC-3 hücreleri üzerinde test edip hücrenin apoptozunu indüklediğini göstermiştir [256]. 2021 Bu yılında yayınlanan bir çalışma, $40 \mu\text{M}$ bikalutamidin mide kanseri hücrelerinin apoptoz ve büyüme inhibisyonu ile sonuçlandığını göstermiştir [257]. Hashimoto ve arkadaşları, dihidrotestosteronun estradiol kaynaklı endometriyum kanser HEC1B hücrelerinin proliferasyonunu inhibe ettiğini ve bu inhibitör etkinin $1 \mu\text{M}$ bikalutamidin birlikte uygulanmasıyla önemli ölçüde önlendiğini göstermiştir [19]. Çalışmamızda dihidrotestosteron veya estradiol uygulamadan tek başına $1 \mu\text{M}$ uygulandığında endometriyum kanser HEC1A hücrelerinin proliferasyonu veya migrasyonu etkilenmemiştir. Bu sonuçlar, düşük bikalutamid konsantrasyonunun yalnızca AR'yi bloke edebileceği ve endometriyum kanser hücrelerinin proliferasyonunu ve migrasyonunu etkilemediği anlamına gelebilmektedir.

GPER antagonisti olan G15 yakın zamanda tanımlandığı için, kanser hücreleri üzerindeki etkisini inceleyen az sayıda çalışma bulunmaktadır [258, 259]. 2012 yılında yayınlanan bir araştırma, G15'in tek başına seminom testis kanseri JKT-1 hücre proliferasyonu üzerinde hiçbir etkisinin olmadığını, ancak estradiol kaynaklı proliferasyonu tamamen ortadan kaldırdığını kanıtlamıştır [260]. Lio ve arkadaşları, G15'in ($0,1$, 1 , ve $10 \mu\text{M}$ konsantrasyonlarda) Küçük Hücreli Olmayan Akciğer Kanseri H1793 hücrelerinin estradiol ile uyarılan proliferasyonunu inhibe ettiğini göstermiştir. Bu çalışmada saf etkisine bakmak için G15 tek başına uygulanmamıştır [261]. Ayrıca, G15'in meme kanseri MCF-7, MDA-MB-231 ve Bcap-37 hücrelerinde $0,625 \mu\text{M}$ 'den düşük konsantrasyonlarda sitotoksik etki göstermediği ve daha yüksek konsantrasyonlarda ($1,25$, $2,5$ ve $5 \mu\text{M}$) hücrelerin canlılığını önemli ölçüde azalttığı gösterilmiştir [262]. Luo ve arkadaşları da, G15'in ($1 \mu\text{M}$) ön uygulamasının, estradiolün meme kanseri ile ilişkili fibroblastlar üzerindeki proliferatif etkisini ortadan kaldırdığını göstermiştir [263]. MCF-7 meme kanseri hücrelerinin invazyonunun da, Bustos ve arkadaşları tarafından G15'in ön uygulamasıyla önemli ölçüde azaldığı gözlemlenmiştir [264]. Çalışmamızda estradiol ile G15'in etkisini inceleme imkanımız olmadığı için G15'i tek başına uygulanıldı. Literatürle uyumlu olarak, G15 tek başına HEC1A hücrelerinin proliferasyonu ve migrasyonu etkilememiştir.

PHTPP (2-Phenyl-3-(4-hydroxyphenyl)-5,7-bis(trifluoromethyl)-pyrazolo[1,5-a]pyrimidine), 2005 yılında ER β antagonistik aktiviteye sahip olduğu ve ER β 'ya ER α 'dan 36 kat daha seçici olduğu tespit edilmiştir [265]. O zamandan beri PHTPP, normal ve kanser hücrelerinde ER β 'nın rolünü incelemek için kullanılmıştır [266–269]. 2013 yılında Hsu ve arkadaşları, 10 ve $20 \mu\text{M}$ PHTPP ile tedavi edilen grupta meme kanseri J82, 647v ve T24 hücrelerinin büyümesinin inhibisyonunu ve invazyonun azaldığını gözlemlemiştir [267]. Başka

bir çalışma, artan ER β ekspresyonu ile meme kanseri MDA-MB-231 ve MCF7 hücrelerinin proliferasyonunun 1 μ M PHTPP uygulanarak önemli ölçüde azaldığını göstermiştir [270]. Mendes ve arkadaşları da, 50 μ M PHTPP'nin meme kanseri MDA-MB-231 ve MCF7 hücrelerinin ölümünde önemli bir artışa neden olduğunu tespit etmiştir [271]. Özofagus kanseri hücreleri üzerinde yapılan bir çalışma, PHTPP'nin doza bağlı olarak özofagus kanseri OE33 hücre proliferasyonunu inhibe ettiğini göstermiştir [272]. Buna karşılık, PHTPP'yi daha düşük konsantrasyonlarda kullanan çalışmalar zıt sonuçları ortaya koymuştur. Yumurtalık kanseri hücreleri üzerinde yapılan bir çalışmada 100 ve 1000 pM PHTPP uygulamasının SCOV3 hücrelerinin proliferasyonunu arttırdığı ve ER β agonisti uygulamasının proliferasyonunu önemli ölçüde azalttığı bulunmuştur [273]. Benzer bir şekilde, 1 ve 10 nM PHTPP'nin tip I endometriyum kanser RL95/2 hücrelerinin proliferasyonunu arttırdığı ve uygulamanın üçüncü gününde HEC1A hücrelerinin proliferasyonunu geçici olarak arttırdığını gösterilmiştir [274]. Çalışmamızda 10^{-7} M PHTPP'nin (100 nM) tip II endometriyum kanser HEC1A hücreleri üzerinde herhangi bir etki göstermedi. Bulgularımızdaki bu farklılık kanser türündeki farklılık, uygulanan doz ve diğer deneysel farklılıklara bağlı olabilmektedir.

Kalsitriolün kültür hücrelerinde antikanser etkisini gösteren ilk çalışma 1981 yılında yapılmıştır; Kalsitriolün malign melanom hücrelerinin proliferasyonunu inhibe ettiğini göstermiştir [275]. Aynı yılda Abe ve arkadaşları kalsitriolün HL60 lösemi hücrelerinin makrofajlara farklılaşmasına neden olduğunu bildirmiştir [276]. O zamandan beri kalsitriolün antineoplastik etkileri çeşitli kanser tiplerinde gösterilmiştir. Thill ve arkadaşları, farklı kalsitriol konsantrasyonlarının (0,001 ila 10 μ M) meme kanseri MCF-7 ve MDA-MB-231 hücre hatlarının proliferasyonu üzerindeki etkisini incelemiştir. Kalsitriolün 0,1 μ M ve daha yüksek konsantrasyonda MCF hücrelerinin ve 10 μ M konsantrasyonda MDA-MB-231 hücrelerinin proliferasyonunu azalttığını göstermiştir [277]. Ma ve arkadaşları, kalsitriolün (0-1000 nM) mesane kanseri 253J-BV, TCCSUP, 253J ve T24 hücre hatlarının proliferasyonunu etkilemediğini ancak 500 nM konsantrasyonda 253J-BV ve TCCSUP hücrelerinin invazyonunu ve migrasyonunu azalttığını göstermiştir [278]. Ji ve arkadaşları, 10^{-7} M kalsitriolün, yumurtalık kanseri SKOV3 hücrelerinin çoğalmasını ve migrasyonunu önemli ölçüde inhibe ettiğini göstermiştir [279]. Ayrıca Duman ve arkadaşları, farklı kalsitriol ve alfakalsidiol konsantrasyonlarının endometriyum kanser HEC1A hücreleri üzerindeki etkisini incelemiştir; HEC1A hücrelerinin proliferasyonunun ve migrasyonunun düşük kalsitriol ve alfakalsidiolün konsantrasyonları (10^{-11} - 10^{-9} M) ile azaldığını, ve yüksek konsantrasyonları (10^{-8} - 10^{-6} M) ile ise arttığını göstermişlerdir [280]. Çalışmamızda 10^{-10} M alfakalsidiol ve kalsitriolün endometriyum kanser HEC1A hücrelerinin proliferasyonu ve migrasyonu üzerine etkisi gösterilememiştir. Ancak bu ilaçlar iki yıldan fazla bir süredir laboratuvarındaki dondurucuda saklanmıştır ve muhtemelen etkinliklerini kaybetmişlerdir.

Çalışmamızda, steroid reseptörlerin etkilerini incelemek için her ilacın tek bir konsantrasyonunu kullandık. Bu sonuçların her ilacın farklı konsantrasyonları kullanılarak yinelenen deneylerle doğrulanması gerekmektedir. Ancak bütçe yetersizliği, süre kısıtlılığı ve pandemi şartları gibi nedenlerle deneylerin yinelenme ve farklı konsantrasyonu kullanma imkanı bulunamamıştır.

Bu çalışmanın sonuçlarına göre progesteron, glukokortikoid ve androjen reseptörleri endometrium adenokarsinom HEC1A hücrelerinde migrasyonu engellemek için önemli hedefler olarak ortaya çıkmaktadır. Bununla birlikte bu reseptörleri konu alan daha detaylı çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.



KAYNAKLAR

- [1]. Bray F, Colombet M, Mery L, Piñeros M, Znaor A, Z.R. and F.J. (2018). *Cancer Incidence in Five Continents, Vol. XI*. Lyon: IARC Publication.
- [2]. Şencan İ., K.B. (2016). *Türkiye Kanseri İstatistikleri*. Ankara: Türkiye Halk Sağlığı Kurumu.
- [3]. Felix, A.S., Weissfeld, J.L., Stone, R.A., Bowser, R., Chivukula, M., Edwards, R.P. vd. (2010). Factors associated with Type I and Type II endometrial cancer. *Cancer Causes and Control*, 21 (11), 1851–1856.
- [4]. Setiawan, V.W., Yang, H.P., Pike, M.C., McCann, S.E., Yu, H., Xiang, Y.B. vd. (2013). Type I and II Endometrial Cancers: Have They Different Risk Factors?. *Journal of Clinical Oncology*, 31 (20), 2607–2618.
- [5]. Evans, T., Sany, O., Pearmain, P., Ganesan, R., Blann, A. ve Sundar, S. (2011). Differential trends in the rising incidence of endometrial cancer by type: Data from a UK population-based registry from 1994 to 2006. *British Journal of Cancer*, 104 (9), 1505–1510.
- [6]. Mendivil, A., Schuler, K.M. ve Gehrig, P.A. (2009). Non-endometrioid adenocarcinoma of the uterine corpus: A review of selected histological subtypes. *Cancer Control*, 16 (1), 46–52.
- [7]. Gronemeyer, H., Gustafsson, J.Å. ve Laudet, V. (2004). Principles for modulation of the nuclear receptor superfamily. *Nature Reviews Drug Discovery*, 3 (11), 950–964.
- [8]. Ahmad, N. ve Kumar, R. (2011). Steroid hormone receptors in cancer development: A target for cancer therapeutics. *Cancer Letters*, 300 (1), 1–9.
- [9]. Huang, P., Chandra, V. ve Rastinejad, F. (2009). Structural overview of the nuclear receptor superfamily: Insights into physiology and therapeutics. *Annual Review of Physiology*, 72 247–272.
- [10]. Jerry, D.J., Dunphy, K.A. ve Hagen, M.J. (2010). Estrogens, regulation of p53 and breast cancer risk: A balancing act. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 67 (7), 1017–1023.
- [11]. Surekha, D., Sailaja, K., Rao, D.N., Raghunadharao, D. ve Vishnupriya, S. (2009). Oestrogen receptor beta (ER β) polymorphism and its influence on breast cancer risk. *Journal of Genetics*, 88 (2), 261–266.
- [12]. Brooke, G. ve Bevan, C. (2009). The Role of Androgen Receptor Mutations in Prostate Cancer Progression. *Current Genomics*, 10 (1), 18–25.
- [13]. Ho, S.M. (2003). Estrogen, progesterone and epithelial ovarian cancer. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 1.
- [14]. Pujols, L., Xaubet, A., Ramírez, J., Mullol, J., Roca-Ferrer, J., Torrego, A. vd. (2004). Expression of glucocorticoid receptors α and β in steroid sensitive and steroid insensitive interstitial lung diseases. *Thorax*, 59 (8), 687–693.
- [15]. Wan, J., Gao, Y., Zeng, K., Yin, Y., Zhao, M., Wei, J. vd. (2016). The levels of the sex hormones are not different between type 1 and type 2 endometrial cancer. *Scientific Reports*, 6.
- [16]. Waqar, S., Khan, S.A., Sarfraz, T. ve Waqar, S. (2018). Expression of estrogen receptors (ER), progesterone receptors (PR) and HER-2/neu receptors in endometrial carcinoma and their associations with histological types, grades and stages of the tumor. *Pakistan Journal of Medical Sciences*, 34 (2), 266–271.

- [17]. Shen, F., Gao, Y., Ding, J. ve Chen, Q. (2017). Is the positivity of estrogen receptor or progesterone receptor different between type 1 and type 2 endometrial cancer? *Oncotarget*, 8 (1), 506–511.
- [18]. Zhang, Y., Guo, R., Ge, X. ve Qiao, Y. (2012). Effect of GPER on the activation of PI3K/Akt induced by 17 β -estradiol in endometrial carcinoma cells. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi*, 47 (4), 292–296.
- [19]. Hashimoto, C., Miki, Y., Tanaka, S., Takagi, K., Fue, M., Doe, Z. vd. (2018). 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 2 expression is induced by androgen signaling in endometrial cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 19 (4),.
- [20]. Kamal, A.M. (2016). *Endometrial cancer: involvement of androgens and metastasis inducing proteins*, University of Liverpool, 2016.
- [21]. Cooper, G.M. (2000). *The Development and Causes of Cancer*. Massachusetts: Sinauer Associates.
- [22]. Cancer Research UK. (2021). *What is cancer?*. 20 Mart 2021 tarihinde <https://www.cancerresearchuk.org/about-cancer/what-is-cancer> adresinden erişildi.
- [23]. Cancer Research UK. (2021). *Types of cancer*. 20 Mart 2021 tarihinde <https://www.cancerresearchuk.org/what-is-cancer/how-cancer-starts/types-of-cancer> adresinden erişildi.
- [24]. Carbone, A. (2020). Cancer classification at the crossroads. *Cancers*, 12 (4), 980.
- [25]. Hanahan, D. ve Weinberg, R.A. (2000). The hallmarks of cancer. *Cell*, 100 (1), 57–70.
- [26]. Hanahan, D. ve Weinberg, R.A. (2011). Hallmarks of cancer: The next generation. *Cell*, 144 (5), 646–674.
- [27]. Fernald, K. ve Kurokawa, M. (2013). Evading apoptosis in cancer. *Trends in Cell Biology*, 23 (12), 620–633.
- [28]. Pfeffer, C.M. ve Singh, A.T.K. (2018). Apoptosis: A target for anticancer therapy. *International Journal of Molecular Sciences*, 19 (2), 448.
- [29]. Shay, J.W. ve Wright, W.E. (2011). Role of telomeres and telomerase in cancer. *Seminars in Cancer Biology*, 21 (6), 349–353.
- [30]. Hanahan, D. ve Folkman, J. (1996). Patterns and Emerging Mechanisms of the Angiogenic Switch during Tumorigenesis. *Cell*, 86 (3), 353–364.
- [31]. Ucuzian, A.A., Gassman, A.A., East, A.T. ve Greisler, H.P. (2010). Molecular mediators of angiogenesis. *Journal of Burn Care and Research*, 31 (1), 158–175.
- [32]. Fidler, I.J. (2003). The pathogenesis of cancer metastasis: The “seed and soil” hypothesis revisited. *Nature Reviews Cancer*, 3 (6), 453–458.
- [33]. Na, T.Y., Scheckerson, L., Mendonsa, A.M. ve Gumbiner, B.M. (2020). The functional activity of E-cadherin controls tumor cell metastasis at multiple steps. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 117 (11), 5931–5937.
- [34]. Weinhouse, S., Warburg, O., Burk, D. ve Schade, A.L. (1956). On respiratory impairment in cancer cells. *Science*, 124 (3215), 267–272.

- [35]. Hsu, P.P. ve Sabatini, D.M. (2008). Cancer cell metabolism: Warburg and beyond. *Cell*, 134 (5), 703–707.
- [36]. Jones, R.G. ve Thompson, C.B. (2009). Tumor suppressors and cell metabolism: A recipe for cancer growth. *Genes and Development*, 23 (5), 537–548.
- [37]. Heiden, M.G.V., Cantley, L.C. ve Thompson, C.B. (2009). Understanding the warburg effect: The metabolic requirements of cell proliferation. *Science*, 324 (5930), 1029–1033.
- [38]. Zamarron, B.F. ve Chen, W. (2011). Dual roles of immune cells and their factors in cancer development and progression. *International Journal of Biological Sciences*, 7 (5), 651–658.
- [39]. Vinay, D.S., Ryan, E.P., Pawelec, G., Talib, W.H., Stagg, J., Elkord, E. vd. (2015). Immune evasion in cancer: Mechanistic basis and therapeutic strategies. *Seminars in Cancer Biology*, 35 S185–S198.
- [40]. Shields, J.D., Kourtis, I.C., Tomei, A.A., Roberts, J.M. ve Swartz, M.A. (2010). Induction of lymphoidlike stroma and immune escape by tumors that express the chemokine CCL21. *Science*, 328 (5979), 749–752.
- [41]. Yang, L., Pang, Y. ve Moses, H.L. (2010). TGF- β and immune cells: an important regulatory axis in the tumor microenvironment and progression. *Trends in Immunology*, 31 (6), 220–227.
- [42]. Ciccia, A. ve Elledge, S.J. (2010). The DNA Damage Response: Making It Safe to Play with Knives. *Molecular Cell*, 40 (2), 179–204.
- [43]. Jackson, S.P. ve Bartek, J. (2009). The DNA-damage response in human biology and disease. *Nature*, 461 (7267), 1071–1078.
- [44]. Garraway, L.A. ve Lander, E.S. (2013). Lessons from the cancer genome. *Cell*, 153 (1), 17–37.
- [45]. Wei Dai, Y.Y. (2014). Genomic Instability and Cancer. *Journal of Carcinogenesis & Mutagenesis*, 05 (02), 2157–2518.
- [46]. Negrini, S., Gorgoulis, V.G. ve Halazonetis, T.D. (2010). Genomic instability an evolving hallmark of cancer. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 11 (3), 220–228.
- [47]. Kinzler, K.W. ve Vogelstein, B. (1997). Gatekeepers and caretakers. *Nature*, 386 (6627), 761–763.
- [48]. Qian, B.Z. ve Pollard, J.W. (2010). Macrophage Diversity Enhances Tumor Progression and Metastasis. *Cell*, 141 (1), 39–51.
- [49]. Ma, S., Song, W., Xu, Y., Si, X., Zhang, D., Lv, S. vd. (2020). Neutralizing tumor-promoting inflammation with polypeptide-dexamethasone conjugate for microenvironment modulation and colorectal cancer therapy. *Biomaterials*, 232 (.), 119676.
- [50]. Sinha, T. (2018). Tumors: Benign and Malignant. *Cancer therapy & Oncology International Journal*, 10 (3), 52–54.
- [51]. Newkirk, K.M., Brannick, E.M. ve Kusewitt, D.F. (2017). *Neoplasia and Tumor Biology*. Elsevier Inc.
- [52]. Gray, H. ve Standring, S. (2016). *Gray's anatomy: the anatomical basis of clinical practice*. London: Elsevier.

- [53]. Lessey, B.A. ve Young, S.L. (2019). *Structure, Function, and Evaluation of the Female Reproductive Tract*. Philadelphia: Elsevier Inc.
- [54]. Nussbaum, A.R., Sanders, R.C. ve Jones, M.D. (1986). Neonatal uterine morphology as seen on real-time US. *Radiology*, 160 (3), 641–643.
- [55]. Hata, K., Nishigaki, A., Makihara, K., Takamiya, O., Hata, T. ve Kitao, M. (1989). Ultrasonic evaluation of the normal uterus in the neonate. *Journal of Perinatal Medicine*, 17 (4), 313–318.
- [56]. Sample, W.F., Lippe, B.M. ve Gyepes, M.T. (1977). Gray-scale ultrasonography of the normal female pelvis. *Radiology*, 125 (2), 477–483.
- [57]. Paltiel, H.J. ve Phelps, A. (2014). US of the Pediatric Female Pelvis. *Radiology*, 270 (3), 644–657.
- [58]. Rock, J. ve Jones, H. (2003). *Te Linde'S Operative Gynecology*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- [59]. Sosa-Stanley, J.N. ve Peterson, D.C. (2018). *Anatomy, Abdomen and Pelvis, Uterus*. StatPearls Publishing LLC.
- [60]. Miftahof, R.N. ve Akhmadeev, N.R. (2019). *Soft biological shells in bioengineering*. Bristol: Institute of Physics Publishing.
- [61]. Ovalle, W. ve Nahirney, P. (2013). *Netter's Essential Histology*. Philadelphia: Elsevier.
- [62]. FERENCZY, A. ve BERGERON, C. (1991). Histology of the Human Endometrium: From Birth to Senescence. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 622 (1), 6–27.
- [63]. Ferenczy, A. ve Guralnick, M. (1983). Endometrial Microstructure: Structure-Function Relationships Throughout the Menstrual Cycle. *Seminars in Reproductive Medicine*, 1 (03), 205–219.
- [64]. BULMER, J.N., LONGFELLOW, M. ve RITSON, A. (1991). Leukocytes and Resident Blood Cells in Endometrium. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 622 (1), 57–68.
- [65]. Kurman, R.J., Hedrick Ellenson, L. ve Ronnett, B.M. (2019). *Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract*. New York: Springer International Publishing.
- [66]. Fuller, A., Seiden, M. ve Young, R. (2004). *Uterine Cancer*. London: BC Decker Inc.
- [67]. Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R.L., Torre, L.A. ve Jemal, A. (2018). Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *Cancer Journal for Clinicians*, 68 (6), 394–424.
- [68]. D'Angelo, E. ve Prat, J. (2010). Uterine sarcomas: A review. *Gynecologic Oncology*, 116 (1), 131–139.
- [69]. Gultekin, M., Kucukyildiz, I., Karaca, M.Z., Dundar, S., Boztas, G., Turan, S.H. vd. (2017). Trends of Gynecological Cancers in Turkey: Toward Europe or Asia? *International Journal of Gynecological Cancer*, 27 (7), 1525–1533.
- [70]. Bokhman, J. V. (1983). Two pathogenetic types of endometrial carcinoma. *Gynecologic Oncology*, 15 (1), 10–17.

- [71]. Voss, M.A., Ganesan, R., Ludeman, L., McCarthy, K., Gornall, R., Schaller, G. vd. (2012). Should grade 3 endometrioid endometrial carcinoma be considered a type 2 cancer-A clinical and pathological evaluation. *Gynecologic Oncology*, 124 (1), 15–20.
- [72]. Brinton, L.A., Felix, A.S., McMeekin, D.S., Creasman, W.T., Sherman, M.E., Mutch, D. vd. (2013). Etiologic heterogeneity in endometrial cancer: Evidence from a Gynecologic Oncology Group trial. *Gynecologic Oncology*, 129 (2), 277–284.
- [73]. Bartosch, C., Manuel Lopes, J. ve Oliva, E. (2011). Endometrial carcinomas: A review emphasizing overlapping and distinctive morphological and immunohistochemical features. *Advances in Anatomic Pathology*, 18 (6), 415–437.
- [74]. Kurman, R.J. (2014). *WHO classification of tumours of female reproductive organs*. Lyon: International Agency for Research on Cancer.
- [75]. McCluggage, W.G. (2002). Malignant biphasic uterine tumours: Carcinosarcomas or metaplastic carcinomas? *Journal of Clinical Pathology*, 55 (5), 321–325.
- [76]. Lopez-Garcia, M.A. ve Palacios, J. (2010). Pathologic and molecular features of uterine carcinosarcomas. *Seminars in Diagnostic Pathology*, 27 (4), 274–286.
- [77]. Berton-Rigaud, D., Devouassoux-Shisheboran, M., Ledermann, J.A., Leitao, M.M., Powell, M.A., Poveda, A. vd. (2014). Gynecologic cancer intergroup (GCIG) consensus review for uterine and ovarian carcinosarcoma. *International Journal of Gynecological Cancer*, 24 (9), S55–S60.
- [78]. Bartosch, C., Pires, M., Jerónimo, C. ve Lopes, J.M. (2017). The role of pathology in the management of patients with endometrial carcinoma. *Future Oncology*, 13 (11), 1003–1020.
- [79]. Hendrickson, M., Ross, J. ve Martinez, A. (1982). Uterine papillary serous carcinoma. A highly malignant form of endometrial adenocarcinoma. *American Journal of Surgical Pathology*, 6 (2), 93–108.
- [80]. Christopherson, W.M., Alberhasky, R.C. ve Connelly, P.J. (1982). Carcinoma of the endometrium: I. A clinicopathologic study of clear-cell carcinoma and secretory carcinoma. *Cancer*, 49 (8), 1511–1523.
- [81]. Rajaram, S., Chitrathara, K. ve Maheshwari, A., Ed. (2015). *Uterine Cancer: Diagnosis and Treatment*. Chennai: Springer India.
- [82]. Colombo, N., Preti, E., Landoni, F., Carinelli, S., Colombo, A., Marini, C. vd. (2013). Endometrial cancer: ESMO clinical practice guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology*, 24 (6), vi33–vi38.
- [83]. Feinberg, J., Albright, B., Black, J., Lu, L., Passarelli, R., Gysler, S. vd. (2019). Ten-Year Comparison Study of Type 1 and 2 Endometrial Cancers: Risk Factors and Outcomes. *Gynecologic and Obstetric Investigation*, 84 (3), 290–297.
- [84]. Ehemann, C., Henley, S.J., Ballard-Barbash, R., Jacobs, E.J., Schymura, M.J., Noone, A.M. vd. (2012). Annual Report to the Nation on the status of cancer, 1975-2008, featuring cancers associated with excess weight and lack of sufficient physical activity. *Cancer*, 118 (9), 2338–2366.
- [85]. Calle, E.E. ve Kaaks, R. (2004). Overweight, obesity and cancer: Epidemiological evidence and proposed mechanisms. *Nature Reviews Cancer*, 4 (8), 579–591.
- [86]. Bergström, A., Pisani, P., Tenet, V., Wolk, A. ve Adami, H. (2001). Overweight as an avoidable cause of cancer in Europe. *International Journal of Cancer*, 91 (3), 421–430.

- [87]. Shaw, E., Farris, M., McNeil, J. ve Friedenreich, C. (2016). *Obesity and endometrial cancer*. New York: Springer.
- [88]. Kalliala, I., Markozannes, G., Gunter, M.J., Paraskevaidis, E., Gabra, H., Mitra, A. vd. (2017). Obesity and gynaecological and obstetric conditions: umbrella review of the literature. *BMJ (Clinical research ed.)*, 359 j4511.
- [89]. Khandekar, M.J., Cohen, P. ve Spiegelman, B.M. (2011). Molecular mechanisms of cancer development in obesity. *Nature Reviews Cancer*, 11 (12), 886–895.
- [90]. Kaaks, R., Lukanova, A. ve Kurzer, M.S. (2002). Obesity, endogenous hormones, and endometrial cancer risk: A synthetic review. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*, 11 (12), 1531–1543.
- [91]. Kyrgiou, M., Kalliala, I., Markozannes, G., Gunter, M.J., Paraskevaidis, E., Gabra, H. vd. (2017). Adiposity and cancer at major anatomical sites: Umbrella review of the literature. *BMJ*, 356 j477.
- [92]. Gunter, M.J., Hoover, D.R., Yu, H., Wassertheil-Smoller, S., Manson, J.E., Li, J. vd. (2008). A prospective evaluation of insulin and insulin-like growth factor-I as risk factors for endometrial cancer. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*, 17 (4), 921–929.
- [93]. Hemsell, D.L., Grodin, J.M., Brenner, P.F., Siiteri, P.K. ve Macdonald, P.C. (1974). Plasma precursors of estrogen. II. Correlation of the extent of conversion of plasma androstenedione to estrone with age. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 38 (3), 476–479.
- [94]. Cleland, W.H., Mendelson, C.R. ve Simpson, E.R. (1983). Aromatase activity of membrane fractions of human adipose tissue stromal cells and adipocytes. *Endocrinology*, 113 (6), 2155–2160.
- [95]. Santen, R.J., Brodie, H., Simpson, E.R., Siiteri, P.K. ve Brodie, A. (2009). History of aromatase: Saga of an important biological mediator and therapeutic target. *Endocrine Reviews*, 30 (4), 343–375.
- [96]. McPherson, C.P., Sellers, T.A., Potter, J.D., Bostick, R.M. ve Folsom, A.R. (1996). Reproductive factors and risk of endometrial cancer: The Iowa Women's Health study. *American Journal of Epidemiology*, 143 (12), 1195–1202.
- [97]. Brinton, L.A., Berman, M.L., Mortel, R., Twiggs, L.B., Barrett, R.J., Wilbanks, G.D. vd. (1992). Reproductive, menstrual, and medical risk factors for endometrial cancer: Results from a case-control study. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 167 (5), 1317–1325.
- [98]. Zucchetto, A., Serraino, D., Polesel, J., Negri, E., De Paoli, A., Dal Maso, L. vd. (2009). Hormone-related factors and gynecological conditions in relation to endometrial cancer risk. *European Journal of Cancer Prevention*, 18 (4), 316–321.
- [99]. Chittenden, B.G., Fullerton, G., Maheshwari, A. ve Bhattacharya, S. (2009). Polycystic ovary syndrome and the risk of gynaecological cancer: a systematic review. *Reproductive biomedicine online*, 19 (3), 398–405.
- [100]. Harris, H.R. ve Terry, K.L. (2016). Polycystic ovary syndrome and risk of endometrial, ovarian, and breast cancer: a systematic review. *Fertility Research and Practice*, 2 (1), 14.
- [101]. Barry, J., Azizia, M. ve Hardiman, P. (2014). Risk of endometrial, ovarian and breast cancer in women with polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Human Reproduction updates*, 20 (5), 748–758.

- [102]. Ding, D.C., Chen, W., Wang, J.H. ve Lin, S.Z. (2018). Association between polycystic ovarian syndrome and endometrial, ovarian, and breast cancer: A population-based cohort study in Taiwan. *Medicine (United States)*, 97 (39), e12608.
- [103]. Palomba, S., Falbo, A., Zullo, F. ve Orio, F. (2009). Evidence-based and potential benefits of metformin in the polycystic ovary syndrome: A comprehensive review. *Endocrine Reviews*, 30 (1), 1–50.
- [104]. Kurita, T., Young, P., Brody, J.R., Lydon, J.P., O'Malley, B.W. ve Cunha, G.R. (1998). Stromal progesterone receptors mediate the inhibitory effects of progesterone on estrogen-induced uterine epithelial cell deoxyribonucleic acid synthesis. *Endocrinology*, 139 (11), 4708–4713.
- [105]. Deng, Y., Zhang, Y., Li, S., Zhou, W., Ye, L., Wang, L. vd. (2017). Steroid hormone profiling in obese and nonobese women with polycystic ovary syndrome. *Scientific Reports*, 7 (1), 14156.
- [106]. Wethington, S.L., Herzog, T.J., Burke, W.M., Sun, X., Lerner, J.P., Lewin, S.N. vd. (2011). Risk and predictors of malignancy in women with endometrial polyps. *Annals of Surgical Oncology*, 18 (13), 3819–3823.
- [107]. Lee, S.C., Kaunitz, A.M., Sanchez-Ramos, L. ve Rhatigan, R.M. (2010). The oncogenic potential of endometrial polyps: A systematic review and meta-analysis. *Obstetrics and Gynecology*, 116 (5), 1197–1205.
- [108]. Erdemoglu, E., Güney, M., Karahan, N. ve Mungan, T. (2008). Expression of cyclooxygenase-2, matrix metalloproteinase-2 and matrix metalloproteinase-9 in premenopausal and postmenopausal endometrial polyps. *Maturitas*, 59 (3), 268–274.
- [109]. Bogaert, L.J. Van (1988). Clinicopathologic Findings in Endometrial Polyps. *Obstetrics and Gynecology*, 71 (5), 771–3.
- [110]. Staalduinen, B. van, Stahler, A., Abied, C., Shats, R. ve A. Lakhi, N. (2018). Oncogenic Potential and Clinical Implications of Giant Endometrial Polyps: A Case Report and Literature Review. *Case Reports in Obstetric and Gynecology*, 2018, 6.
- [111]. Sjögren, L.L., Mørch, L.S. ve Løkkegaard, E. (2016). Hormone replacement therapy and the risk of endometrial cancer: A systematic review. *Maturitas*, 91 25–35.
- [112]. Fournier, A., Dossus, L., Mesrine, S., Vilier, A., Boutron-Ruault, M.-C., Clavel-Chapelon, F. vd. (2014). Risks of Endometrial Cancer Associated With Different Hormone Replacement Therapies in the E3N Cohort, 1992–2008. *American Journal of Epidemiology*, 180 (5), 5008–517.
- [113]. Grady, D., Gebretsadik, T., Kerlikowske, K., Ernster, V. ve Petitti, D. (1995). Hormone replacement therapy and endometrial cancer risk: A meta-analysis. *Obstetrics and Gynecology*, 85 (2), 304–313.
- [114]. Crosbie, E.J., Zwahlen, M., Kitchener, H.C., Egger, M. ve Renehan, A.G. (2010). Body mass index, hormone replacement therapy, and endometrial cancer risk: A meta-analysis. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*, 19 (12), 3119–3130.
- [115]. Reeves, G., Austoker, J., Banks, E., Beral, V., English, R., Patnick, J. vd. (2005). Endometrial cancer and hormone-replacement therapy in the Million Women Study. *The Lancet*, 365 (9470), 1543–1551.
- [116]. Gottardis, M.M. ve Robinson, S.P. (1988). Contrasting actions of tamoxifen on endometrial and breast tumor growth in the athymic mouse. *Cancer Research*, 48 (4), 812–5.

- [117]. Bergman, L., Beelen, M.L.R., Gallee, M.P.W., Hollema, H., Benraadt, J. ve Van Leeuwen, F.E. (2000). Risk and prognosis of endometrial cancer after tamoxifen for breast cancer. *The Lancet*, 356 (9233), 881–887.
- [118]. Jones, M.E., van Leeuwen, F.E., Hoogendoorn, W.E., Mourits, M.J.E., Hollema, H., van Boven, H. vd. (2012). Endometrial cancer survival after breast cancer in relation to tamoxifen treatment: Pooled results from three countries. *Breast Cancer Research*, 14 (3), R91.
- [119]. Zhang, Z.H., Su, P.Y., Hao, J.H. ve Sun, Y.H. (2013). The role of preexisting diabetes mellitus on incidence and mortality of endometrial cancer: A meta-analysis of prospective cohort studies. *International Journal of Gynecological Cancer*, 23 (2), 294–303.
- [120]. Starup-Linde, J., Karlstad, Ø., Eriksen, S., Vestergaard, P., Bronsveld, H., Vries, F. vd. (2013). CARING (CAncer Risk and INsulin analogues): The Association of Diabetes Mellitus and Cancer Risk with Focus on Possible Determinants - A Systematic Review and a Meta-Analysis. *Current Drug Safety*, 8 (5), 296–332.
- [121]. Luo, J., Beresford, S., Chen, C., Chlebowski, R., Garcia, L., Kuller, L. vd. (2014). Association between diabetes, diabetes treatment and risk of developing endometrial cancer. *British journal of cancer*, 111 (7), 1432–1439.
- [122]. Collaborative Group on Epidemiological Studies on Endometrial Cancer (2015). Endometrial cancer and oral contraceptives: An individual participant meta-analysis of 27 276 women with endometrial cancer from 36 epidemiological studies. *Cancer Detection and Prevention*, 16 (9), 1061–1070.
- [123]. Cook, L.S., Dong, Y., Round, P., Huang, X., Magliocco, A.M. ve Friedenreich, C.M. (2014). Hormone contraception before the first birth and endometrial cancer risk. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*, 23 (2), 356–361.
- [124]. Soini, T., Hurskainen, R., Grénman, S., Mäenpää, J., Paavonen, J. ve Pukkala, E. (2014). Cancer risk in women using the levonorgestrel-releasing intrauterine system in Finland. *Obstetrics and Gynecology*, 124 (2 PART1), 292–299.
- [125]. Felix, A.S., Gaudet, M.M., La Vecchia, C., Nagle, C.M., Shu, X.O., Weiderpass, E. vd. (2015). Intrauterine devices and endometrial cancer risk: A pooled analysis of the Epidemiology of Endometrial Cancer Consortium. *International Journal of Cancer*, 136 (5), E410–E422.
- [126]. Setiawan, V.W., Pike, M.C., Karageorgi, S., Deming, S.L., Anderson, K., Bernstein, L. vd. (2012). Age at Last Birth in Relation to Risk of Endometrial Cancer: Pooled Analysis in the Epidemiology of Endometrial Cancer Consortium. *American Journal of Epidemiology*, 176 (4), 269–278.
- [127]. Wu, Q.J., Li, Y.Y., Tu, C., Zhu, J., Qian, K.Q., Feng, T.B. vd. (2015). Parity and endometrial cancer risk: A meta-analysis of epidemiological studies. *Scientific Reports*, 5 (1), 1–17.
- [128]. Kvåle, G., Heuch, I. ve Nilssen, S. (1991). Reproductive Factors and Cancers of the Breast and Genital Organs: Are the Different Cancer Sites Similarly Affected? *Cancer Detection and Prevention*, 15 (5), 369–77.
- [129]. Karageorgi, S., Hankinson, S.E., Kraft, P. ve De Vivo, I. (2010). Reproductive factors and postmenopausal hormone use in relation to endometrial cancer risk in the Nurses' Health Study cohort 1976-2004. *International Journal of Cancer*, 126 (1), 208–216.

- [130]. Terry, P.D., Rohan, T.E., Franceschi, S. ve Weiderpass, E. (2002). Cigarette smoking and the risk of endometrial cancer. *The Lancet Oncology*, 3 (8), 470–480.
- [131]. Zhou, B., Yang, L., Sun, Q., Cong, R., Gu, H., Tang, N. vd. (2008). Cigarette Smoking and the Risk of Endometrial Cancer: A Meta-Analysis. *American Journal of Medicine*, 121 (6), 501–508.
- [132]. Michnovicz, J.J., Herschcopf, R.J., Naganuma, H., Bradlow, H.L. ve Fishman, J. (1986). Increased 2-Hydroxylation of Estradiol as a Possible Mechanism for the Anti-Estrogenic Effect of Cigarette Smoking. *New England Journal of Medicine*, 315 (21), 1305–1309.
- [133]. Longcope, C. ve Johnston, C.C. (1988). Androgen and Estrogen Dynamics in Pre- and Postmenopausal Women: A Comparison Between Smokers and Nonsmokers. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 67 (2), 379–383.
- [134]. Mattison, D.R. ve Thorgeirsson, S.S. (1978). SMOKING AND INDUSTRIAL POLLUTION, AND THEIR EFFECTS ON MENOPAUSE AND OVARIAN CANCER. *The Lancet*, 311 (8057), 187–188.
- [135]. Felix, A.S., Yang, H.P., Gierach, G.L., Park, Y. ve Brinton, L.A. (2014). Cigarette smoking and endometrial carcinoma risk: the role of effect modification and tumor heterogeneity. *Cancer Causes & Control*, 25 (4), 479–489.
- [136]. Gaudet, M.M., Gapstur, S.M., Sun, J., Diver, W.R., Hannan, L.M. ve Thun, M.J. (2013). Active Smoking and Breast Cancer Risk: Original Cohort Data and Meta-Analysis. *Journal of the National Cancer Institute*, 105 (8), 515–525.
- [137]. Borch, K.B., Weiderpass, E., Braaten, T., Jareid, M., Gavriluk, O.A. ve Licaj, I. (2017). Physical activity and risk of endometrial cancer in the Norwegian Women and Cancer (NOWAC) study. *International Journal of Cancer*, 140 (8), 1809–1818.
- [138]. Bandera, E. V., Kushi, L.H., Moore, D.F., Gifkins, D.M. ve McCullough, M.L. (2007). Fruits and Vegetables and Endometrial Cancer Risk: A Systematic Literature Review and Meta-Analysis. *Nutrition and Cancer*, 58 (1), 6–21.
- [139]. Lafranconi, A., Micek, A., Galvano, F., Rossetti, S., Del Pup, L., Berretta, M. vd. (2017). Coffee decreases the risk of endometrial cancer: A dose–response meta-analysis of prospective cohort studies. *Nutrients*, 9 (11), 1223.
- [140]. Tang, N.P., Li, H., Qiu, Y.L., Zhou, G.M. ve Ma, J. (2009). Tea consumption and risk of endometrial cancer: a metaanalysis. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 201 (6), 605.e1-605.e8.
- [141]. Yang, T.Y.O., Crowe, F., Cairns, B.J., Reeves, G.K. ve Beral, V. (2015). Tea and coffee and risk of endometrial cancer: Cohort study and meta-analysis. *American Journal of Clinical Nutrition*, 101 (3), 570–578.
- [142]. Norman, A.W. (2003). *HORMONES / Steroid Hormones*. London: Elsevier.
- [143]. Norman, A.W. (2008). From vitamin D to hormone D: Fundamentals of the vitamin D endocrine system essential for good health. *American Journal of Clinical Nutrition*, 88 (2), 491S-499S.
- [144]. HALL, J.E. (2020). *Guyton and hall textbook of medical physiology*. Philadelphia: elsevier Saunders.
- [145]. Acconcia, F. ve Marino, M. (2018). *Steroid Hormones: Synthesis, Secretion, and Transport*. Cham: Springer International Publishing.

- [146]. Kalra N ve Ishmael FT (2014). Cross-talk between vitamin D, estrogen and corticosteroids in glucocorticoid resistant asthma. *OA Inflammation*, 2 (1), 2.
- [147]. WYCLIFFE, T. ve JULIUS, L.B. (2011). Socio-economic setting and potential use of cissus adenocaulis in treatment of gastrointestinal worms in cattle, ntungamo district, south western uganda, *Mbarara University of Science & Technology*, 2011.
- [148]. Van, L.T. (2013). Assessment of steroidogenesis and steroidogenic enzyme functions. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 137 176–182.
- [149]. Miller, W.L. (1988). Molecular biology of steroid hormone synthesis. *Endocrine Reviews*, 9 (3), 295–318.
- [150]. Miller, W.L. ve Auchus, R.J. (2011). The molecular biology, biochemistry, and physiology of human steroidogenesis and its disorders. *Endocrine Reviews*, 32 (1), 81–151.
- [151]. Kacker, R., Traish, A.M. ve Morgentaler, A. (2012). Estrogens in Men: Clinical Implications for Sexual Function and the Treatment of Testosterone Deficiency. *Journal of Sexual Medicine*, 9 (6), 1681–1696.
- [152]. Simpson, E., Rubin, G., Clyne, C., Robertson, K., O'Donnell, L., Davis, S. vd. (1999). Local estrogen biosynthesis in males and females. *Endocrine-Related Cancer*, 6 (2), 131–137.
- [153]. Taves, M.D., Gomez-Sanchez, C.E. ve Soma, K.K. (2011). Extra-adrenal glucocorticoids and mineralocorticoids: Evidence for local synthesis, regulation, and function. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*, 301 (1), E11-24.
- [154]. Melmed, S. ve Conn, P.M. (2005). *Endocrinology: Basic and clinical principles*. New York: Humana Press.
- [155]. Miller, W.L. (2002). Androgen biosynthesis from cholesterol to DHEA. Molecular and Cellular *Endocrinology*, 198 (1–2), 7–14.
- [156]. Powers, H., Cashman, K., Francis, R., Key, T., Lanham-New, S., McArdle, H. vd. (2016). *Vitamin D and Health*. UK: The Scientific Advisory Committee on Nutrition.
- [157]. Holick, M.F., MacLaughlin, J.A. ve Doppelt, S.H. (1981). Regulation of cutaneous previtamin D3 photosynthesis in man: Skin pigment is not an essential regulator. *Science*, 211 (4482), 590–593.
- [158]. ZAHOOOR, I. ve HAQ, E. (2017). *Vitamin D and Multiple Sclerosis: An Update*. Brisbane: Codon Publications.
- [159]. Rosol, T.J. ve Gröne, A. (2016). *Endocrine Glands*. Missouri: Elsevier Inc.
- [160]. Gaffey, A.E., Bergeman, C.S., Clark, L.A. ve Wirth, M.M. (2016). Aging and the HPA axis: Stress and resilience in older adults. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 68 928–945.
- [161]. Fox, S.I. (2011). *Human Physiology*. New York: McGraw-Hill Companies, Inc.
- [162]. Ross, A.C., Taylor, C.L., Yaktine, A.L. ve Valle, H.B. Del (2011). *Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D*. Washington: National Academies Press (US).
- [163]. Hammond, G.L. (2016). Plasma steroid-binding proteins: Primary gatekeepers of steroid hormone action. *Journal of Endocrinology*, 230 (1), R13–R25.
- [164]. Westphal, U. (1986). *Steroid-protein interactions II*. Berlin: Springer.

- [165]. Ferrier, D.R. (2017). *Lippincott's Illustrated Biochemistry*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- [166]. Levin, E.R. ve Hammes, S.R. (2016). Nuclear receptors outside the nucleus: extranuclear signalling by steroid receptors. *Nature reviews Molecular cell biology*, 17 (12), 783.
- [167]. Norman, A.W., Mizwicki, M.T. ve Norman, D.P.G. (2004). Steroid-hormone rapid actions, membrane receptors and a conformational ensemble model. *Nature Reviews Drug Discovery*, 3 (1), 27–41.
- [168]. Lösel, R. ve Wehling, M. (2003). Nongenomic actions of steroid hormones. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 4 (1), 46–55.
- [169]. Munck, A. ve Brinck-Johnsen, T. (1968). Specific and nonspecific physicochemical interactions of glucocorticoids and related steroids with rat thymus cells in vitro. *The Journal of Biological Chemistry*, 243 (21), 5556–5565.
- [170]. Turner, J.D. ve Muller, C.P. (2005). Structure of the glucocorticoid receptor (NR3C1) gene 5' untranslated region: Identification, and tissue distribution of multiple new human exon 1. *Journal of Molecular Endocrinology*, 35 (2), 283–292.
- [171]. Cole, T.J., Blendy, J.A., Monaghan, A.P., Kriegstein, K., Schmid, W., Aguzzi, A. vd. (1995). Targeted disruption of the glucocorticoid receptor gene blocks adrenergic chromaffin cell development and severely retards lung maturation. *Genes and Development*, 9 (13), 1608–1621.
- [172]. Nicolaidis, N.C., Charmandari, E. ve Chrousos, G.P. (2018). *Encyclopedia of Endocrine Diseases*. Cham: Elsevier.
- [173]. Morgan, D.J., Poolman, T.M., Williamson, A.J.K., Wang, Z., Clark, N.R., Ma'ayan, A. vd. (2016). Glucocorticoid receptor isoforms direct distinct mitochondrial programs to regulate ATP production. *Scientific Reports*, 6 (1), 1–10.
- [174]. Vandevyver, S., Dejager, L. ve Libert, C. (2014). Comprehensive overview of the structure and regulation of the glucocorticoid receptor. *Endocrine Reviews*, 35 (4), 671–693.
- [175]. Bamberger, A.-M., Milde-Langosch, K., Löning, T. ve Bamberger, C.M. (2001). The Glucocorticoid Receptor Is Specifically Expressed in the Stromal Compartment of the Human Endometrium. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 86 (10), 5071–5071.
- [176]. Moutsatsou, P. ve Sekeris, C.E. (2003). Steroid receptors in the uterus: Implications in endometriosis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 997 (1), 209–222.
- [177]. Binder, A.K., Winuthayanon, W., Hewitt, S.C., Couse, J.F. ve Korach, K.S. (2015). *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction*. London: Elsevier Inc.
- [178]. Vahrenkamp, J.M., Yang, C.H., Rodriguez, A.C., Almomen, A., Berrett, K.C., Trujillo, A.N. vd. (2018). Clinical and Genomic Crosstalk between Glucocorticoid Receptor and Estrogen Receptor α In Endometrial Cancer. *Cell Reports*, 22 (11), 2995–3005.
- [179]. Toft, D. ve Gorski, J. (1966). A receptor molecule for estrogens: isolation from the rat uterus and preliminary characterization. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 55 (6), 1574–1581.
- [180]. Walter, P., Green, S., Greene, G., Krust, A., Bornert, J.M., Jeltsch, J.M. vd. (1985). Cloning of the human estrogen receptor cDNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 82 (23), 7889–7893.

- [181]. Kuiper, G.G.J.M., Enmark, E., Peltö-Huikko, M., Nilsson, S. ve Gustafsson, J.Å. (1996). Cloning of a novel estrogen receptor expressed in rat prostate and ovary. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93 (12), 5925–5930.
- [182]. Carmeci, C., Thompson, D.A., Ring, H.Z., Francke, U. ve Weigel, R.J. (1997). Identification of a gene (GPR30) with homology to the G-protein-coupled receptor superfamily associated with estrogen receptor expression in breast cancer. *Genomics*, 45 (3), 607–617.
- [183]. Dupont, S., Krust, A., Gansmuller, A., Dierich, A., Chambon, P. ve Mark, M. (2000). Effect of Single and Compound Knockouts of Estrogen Receptors Alpha (ERalpha) and Beta (ERbeta) on Mouse Reproductive Phenotypes. *Development*, 127 (19), 4277–4291.
- [184]. Lubahn, D.B., Moyer, J.S., Golding, T.S., Couse, J.F., Korach, K.S. ve Smithies, O. (1993). Alteration of reproductive function but not prenatal sexual development after insertional disruption of the mouse estrogen receptor gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 90 (23), 11162–11166.
- [185]. Couse, J.F. ve Korach, K.S. (1999). Estrogen receptor null mice: What have we learned and where will they lead us? *Endocrine Reviews*, 20 (3), 358–417.
- [186]. Hall, J.M. ve McDonnell, D.P. (2005). Coregulators in nuclear estrogen receptor action: From concept to therapeutic targeting. *Molecular Interventions*, 5 (6), 343–357.
- [187]. Matthews, J., Wihlén, B., Tujague, M., Wan, J., Ström, A. ve Gustafsson, J.Å. (2006). Estrogen receptor (ER) β modulates ER α -mediated transcriptional activation by altering the recruitment of c-Fos and c-Jun to estrogen-responsive promoters. *Molecular Endocrinology*, 20 (3), 534–543.
- [188]. Li, S., Shiozawa, T., Nakayama, K., Nikaido, T. ve Fujii, S. (1996). Stepwise abnormality of sex steroid hormone receptors, tumor suppressor gene products (p53 and Rb), and cyclin E in uterine endometrioid carcinoma. *Cancer*, 77 (1), 321–329.
- [189]. Jazaeri, A.A., Nunes, K.J., Dalton, M.S., Xu, M., Shupnik, M.A. ve Rice, L.W. (2001). Well-differentiated endometrial adenocarcinomas and poorly differentiated mixed müllerian tumors have altered ER and PR isoform expression. *Oncogene*, 20 (47), 6965–6969.
- [190]. Šmuc, T. ve Rižner, T.L. (2009). Aberrant pre-receptor regulation of estrogen and progesterone action in endometrial cancer. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 301 (1–2), 74–82.
- [191]. Gul, A.E., Keser, S.H., Barisik, N.O., Kandemir, N.O., Cakir, C., Senses, S. vd. (2010). The relationship of cerb B 2 expression with estrogen receptor and progesterone receptor and prognostic parameters in endometrial carcinomas. *Diagnostic Pathology*, 5 (1), 1–7.
- [192]. Swasti (2018). Estrogen and Progesterone Receptors in Endometrial Cancer: Where Are We Today?. *Gynecology & Obstetric*, 8 (2), 1000–1127.
- [193]. Huang, X., Wang, X., Shang, J., Zhaang, Z., Cui, B., Lin, Y. vd. (2018). Estrogen related receptor alpha triggers the migration and invasion of endometrial cancer cells via up regulation of TGF β 1. *Cell Adhesion and Migration*, 12 (6), 538–547.
- [194]. Getz, G., Gabriel, S.B., Cibulskis, K., Lander, E., Sivachenko, A., Sougnez, C. vd. (2013). Integrated genomic characterization of endometrial carcinoma. *Nature*, 497 (7447), 67–73.
- [195]. Negoită, M. ve Mihailovici, M.S. (2011). Expression of hormonal receptors (alpha-estrogen, beta-estrogen, progesteron), Ki-67 and P53 in endometrium of tamoxifen treated breast cancer patients. *Revista medico-chirurgicala a Societatii de Medici si Naturalisti din Iasi*, 115 (3), 834–838.

- [196]. Revankar, C.M., Cimino, D.F., Sklar, L.A., Arterburn, J.B. ve Prossnitz, E.R. (2005). A transmembrane intracellular estrogen receptor mediates rapid cell signaling. *Science*, 307 (5715), 1625–1630.
- [197]. Thomas, P., Pang, Y., Filardo, E.J. ve Dong, J. (2005). Identity of an Estrogen Membrane Receptor Coupled to a G Protein in Human Breast Cancer Cells. *Endocrinology*, 146 (2), 624–632.
- [198]. Poola, I., Abraham, J., Liu, A., Marshalleck, J.J. ve Dewitty, R.L. (2008). The Cell Surface Estrogen Receptor, G Protein- Coupled Receptor 30 (GPR30), is Markedly down Regulated during Breast Tumorigenesis. *Breast Cancer: Basic and Clinical Research*, 1, 65–78.
- [199]. Smith, H.O., Leslie, K.K., Singh, M., Qualls, C.R., Revankar, C.M., Joste, N.E. vd. (2007). GPR30: a novel indicator of poor survival for endometrial carcinoma. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 196 (4), 386.e1-386.e11.
- [200]. Smith, H.O., Arias-Pulido, H., Kuo, D.Y., Howard, T., Qualls, C.R., Lee, S.J. vd. (2009). GPR30 predicts poor survival for ovarian cancer. *Gynecologic Oncology*, 114 (3), 465–471.
- [201]. Skrzypczak, M., Schüler, S., Lattrich, C., Ignatov, A., Ortmann, O. ve Treeck, O. (2013). G protein-coupled estrogen receptor (GPER) expression in endometrial adenocarcinoma and effect of agonist G-1 on growth of endometrial adenocarcinoma cell lines. *Steroids*, 78 (11), 1087–1091.
- [202]. Smith, R.G., Iramain, C.A., Buttram, V.C. ve O'malley, B.W. (1975). Purification of human uterine progesterone receptor. *Nature*, 253 (5489), 271–272.
- [203]. Giangrande, P.H. ve McDonnell, D.P. (1999). The A and B isoforms of the human progesterone receptor: Two functionally different transcription factors encoded by a single gene. *Recent Progress in Hormone Research*, 54, 291–314.
- [204]. Lessey, B.A., Alexander, P.S. ve Horwitz, K.B. (1983). The subunit structure of human breast cancer progesterone receptors: Characterization by chromatography and photoaffinity labeling. *Endocrinology*, 112 (4), 1267–1274.
- [205]. Mote, P.A., Balleine, R.L., McGowan, E.M. ve Clarke, C.L. (1999). Colocalization of Progesterone Receptors A and B by Dual Immunofluorescent Histochemistry in Human Endometrium during the Menstrual Cycle 1. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 84 (8), 2963–2971.
- [206]. Patel, B., Elguero, S., Thakore, S., Dahoud, W., Bedaiwy, M. ve Mesiano, S. (2015). Role of nuclear progesterone receptor isoforms in uterine pathophysiology. *Human Reproduction Update*, 21 (2), 155–173.
- [207]. Leslie, K.K., Stein, M.P., Kumar, N.S., Dai, D., Stephens, J., Wandinger-Ness, A. vd. (2005). Progesterone receptor isoform identification and subcellular localization in endometrial cancer. *Gynecologic Oncology*, 96 (1), 32–41.
- [208]. Yang, S., Jia, Y., Liu, X., Winters, C., Wang, X., Zhang, Y. vd. (2014). Systematic dissection of the mechanisms underlying progesterone receptor downregulation in endometrial cancer. *Oncotarget*, 5 (20), 9783–9797.
- [209]. Tangen, I.L., Werner, H.M.J., Berg, A., Halle, M.K., Kusonmano, K., Trovik, J. vd. (2014). Loss of progesterone receptor links to high proliferation and increases from primary to metastatic endometrial cancer lesions. *European Journal of Cancer*, 50 (17), 3003–3010.

- [210]. Kyo, S., Sakaguchi, J., Kiyono, T., Shimizu, Y., Maida, Y., Mizumoto, Y. vd. (2011). Forkhead transcription factor FOXO1 is a direct target of progestin to inhibit endometrial epithelial cell growth. *Clinical Cancer Research*, 17 (3), 525–537.
- [211]. Lubahn, D.B., Joseph, D.R., Sullivan, P.M., Willard, H.F., French, F.S. ve Wilson, E.M. (1988). Cloning of human androgen receptor complementary DNA and localization to the X chromosome. *Science*, 240 (4850), 327–330.
- [212]. Cloke, B. ve Christian, M. (2012). The role of androgens and the androgen receptor in cycling endometrium. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 358 (2), 166–175.
- [213]. Horie, K., Takakura, K., Imai, K., Liao, S. ve Mori, T. (1992). Immunohistochemical localization of androgen receptor in the human endometrium, decidua, placenta and pathological conditions of the endometrium. *Human Reproduction*, 7 (10), 1461–1466.
- [214]. Hackenberg, R. ve Schulz, K.D. (1996). Androgen receptor mediated growth control of breast cancer and endometrial cancer modulated by antiandrogen- and androgen-like steroids. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 56 (1), 113–117.
- [215]. Kamal, A.M., Bulmer, J.N., Decruze, S.B., Stringfellow, H.F., Martin-Hirsch, P. ve Hapangama, D.K. (2016). Androgen receptors are acquired by healthy postmenopausal endometrial epithelium and their subsequent loss in endometrial cancer is associated with poor survival. *British Journal of Cancer*, 114 (6), 688–696.
- [216]. Zadeh, S.L., Duska, L.R. ve Mills, A.M. (2018). Androgen Receptor Expression in Endometrial Carcinoma. *International journal of gynecological pathology : official journal of the International Society of Gynecological Pathologists*, 37 (2), 167–173.
- [217]. Feldman, D., Pike, J.W. ve Glorieux, F. (2004). *Vitamin D*. London: Elsevier Inc.
- [218]. Valdivielso, J.M. ve Fernandez, E. (2006). Vitamin D receptor polymorphisms and diseases. *Clinica Chimica Acta*, 371 (1–2), 1–12.
- [219]. Vaughan-Shaw, P.G., O’Sullivan, F., Farrington, S.M., Theodoratou, E., Campbell, H., Dunlop, M.G. vd. (2017). The impact of Vitamin D pathway genetic variation and circulating 25-hydroxyVitamin D on cancer outcome: Systematic review and meta-Analysis. *British Journal of Cancer*, 116 (8), 1095–1110.
- [220]. Cermisoni, G.C., Alteri, A., Corti, L., Rabellotti, E., Papaleo, E., Viganò, P. vd. (2018). Vitamin D and endometrium: A systematic review of a neglected area of research. *International Journal of Molecular Sciences*, 19 (8), 2320.
- [221]. Agic, A., Xu, H., Altgassen, C., Noack, F., Wolfler, M.M., Diedrich, K. vd. (2007). Relative expression of 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptor, vitamin D 1 α -hydroxylase, vitamin D 24-hydroxylase, and vitamin D 25-hydroxylase in endometriosis and gynecologic cancers. *Reproductive Sciences*, 14 (5), 486–497.
- [222]. Bergadà, L., Pallares, J., Arcidiacono, M.V., Cardus, A., Santacana, M., Valls, J. vd. (2014). Role of local bioactivation of vitamin D by CYP27A1 and CYP2R1 in the control of cell growth in normal endometrium and endometrial carcinoma. *Laboratory Investigation*, 94 (6), 608–622.
- [223]. Becker, S., Cordes, T., Diesing, D., Diedrich, K. ve Friedrich, M. (2007). Expression of 25 hydroxyvitamin D3-1 α -hydroxylase in human endometrial tissue. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 103 (3–5), 771–775.

- [224]. Lin, Y.H., Pan, T.M. ve Wu, M.H. (2011). *Comprehensive Biotechnology*. Amsterdam: Elsevier Inc.
- [225]. Segeritz, C.P. ve Vallier, L. (2017). *Basic Science Methods for Clinical Researchers*. London: Elsevier Inc.
- [226]. Mather, J.P. ve Roberts, P.E. (2007). *Introduction to Cell and Tissue Culture: Theory and Technique*. California: Springer Science & Business Media.
- [227]. Langdon, S.P. (2004). Basic principles of cancer cell culture. *Methods in molecular medicine*, 88, 3–15.
- [228]. Kozak, J., Wdowiak, P., Maciejewski, R. ve Torres, A. (2018). A guide for endometrial cancer cell lines functional assays using the measurements of electronic impedance. *Cytotechnology*, 70 (1), 339–350.
- [229]. Satyaswaroop, P.G., Fleming, H., Bressler, R.S. ve Gurside, E. (1978). Human Endometrial Cancer Cell Cultures for Hormonal Studies. *Cancer Research*, 38, 4367–4375.
- [230]. Kuramoto, H., Hamano, M. ve Imai, M. (2002). HEC-1 cells. *Human cell: official journal of Human Cell Research Society*, 15 (2), 81–95.
- [231]. Şener, L.T., Albeniz, G., Dinç, B. ve Albeniz, I. (2017). iCELLigence real-time cell analysis system for examining the cytotoxicity of drugs to cancer cell lines. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 14 (3), 1866–1870.
- [232]. ACEA Biosciences (2013). *RTCA DP Instrument Operator's Manual*. San Diego: Roche Diagnostics, ACEA Biosciences, Inc.
- [233]. Keogh, R.J. (2010). New technology for investigating trophoblast function. *Placenta*, 31 (4), 347–350.
- [234]. Grada, A., Otero-Vinas, M., Prieto-Castrillo, F., Obagi, Z. ve Falanga, V. (2017). Research Techniques Made Simple: Analysis of Collective Cell Migration Using the Wound Healing Assay. *Journal of Investigative Dermatology*, 137 (2), e11–e16.
- [235]. Jonkman, J.E.N., Cathcart, J.A., Xu, F., Bartolini, M.E., Amon, J.E., Stevens, K.M. vd. (2014). An introduction to the wound healing assay using live-cell microscopy. *Cell Adhesion and Migration*, 8 (5), 440–451.
- [236]. STEMCELL Technologies Inc. (2021). *Costar® 24-Well Plate, Tissue Culture*. 25 Mayıs 2021 tarihinde <https://www.stemcell.com/costar-24-well-flat-bottom-plate-tissue-culture-treated.html> adresinden erişildi.
- [237]. Li, A., Felix, J.C., Minoo, P., Amezcua, C.A. ve Jain, J.K. (2005). Effect of mifepristone on proliferation and apoptosis of Ishikawa endometrial adenocarcinoma cells. *Fertility and Sterility*, 84 (1), 202–211.
- [238]. Sang, L., Lu, D., Zhang, J., Du, S. ve Zhao, X. (2018). Mifepristone inhibits proliferation, migration and invasion of HUUA cells and promotes its apoptosis by regulation of FAK and PI3K/AKT signaling pathway. *OncoTargets and Therapy*, 11, 5441–5449.
- [239]. Ponikwicka-Tyszko, D., Chrusciel, M., Stelmaszewska, J., Bernaczyk, P., Chrusciel, P., Sztachelska, M. vd. (2019). Molecular mechanisms underlying mifepristone's agonistic action on ovarian cancer progression. *EBioMedicine*, 47, 170–183.

- [240]. Heikinheimo, O., Ranta, S., Grunberg, S., Lähteenmäki, P. ve Spitz, I.M. (1997). Alterations in the pituitary-thyroid and pituitary-adrenal axes - Consequences of long-term mifepristone treatment. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 46 (3), 292–296.
- [241]. Heikinheimo, O., Lähteenmäki, P.L.A., Koivunen, E., Shoupe, D., Croxatto, H., Luukkainen, T. vd. (1987). Metabolism and serum binding of RU 486 in women after various single doses. *Human Reproduction*, 2 (5), 379–385.
- [242]. Heikinheimo, O., Haukkamaa, M. ve Lähteenmäki, P. (1989). Distribution of ru 486 and its demethylated metabolites in humans. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 68 (2), 270–275.
- [243]. Ramondetta, L.M., Johnson, A.J., Sun, C.C., Atkinson, N., Smith, J.A., Jung, M.S. vd. (2009). Phase 2 trial of mifepristone (RU-486) in advanced or recurrent endometrioid adenocarcinoma or low-grade endometrial stromal sarcoma. *Cancer*, 115 (9), 1867–1874.
- [244]. Pak, C.H., Ng, E.H.Y. ve Oi, S.T. (2002). Mifepristone: Contraceptive and non-contraceptive uses. *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology*, 14 (3), 325–330.
- [245]. Rocereto, T.F., Brady, W.E., Shahin, M.S., Hoffman, J.S., Small, L., Rotmensch, J. vd. (2010). A phase II evaluation of mifepristone in the treatment of recurrent or persistent epithelial ovarian, fallopian or primary peritoneal cancer: A gynecologic oncology group study. *Gynecologic Oncology*, 116 (3), 332–334.
- [246]. Rocereto, T.F., Saul, H.M., Aikins, J.A. ve Paulson, J. (2000). Phase II study of mifepristone (RU486) in refractory ovarian cancer. *Gynecologic Oncology*, 77 (3), 429–432.
- [247]. Parker, C., Castro, E., Fizazi, K., Heidenreich, A., Ost, P., Procopio, G. vd. (2020). Prostate cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology*, 31 (9), 1119–1134.
- [248]. Vicentini C, Festuccia C, Angelucci A, Gravina GL, Muzi P, Eleuterio E vd. (2002). Bicalutamide dose-dependently inhibits proliferation in human prostatic carcinoma cell lines and primary cultures - PubMed. *Anticancer Research*, 22 (5), 2917–22.
- [249]. Li, J., Xiang, S., Zhang, Q., Wu, J., Tang, Q., Zhou, J. vd. (2015). Combination of curcumin and bicalutamide enhanced the growth inhibition of androgen-independent prostate cancer cells through SAPK/JNK and MEK/ERK1/2-mediated targeting NF- κ B/p65 and MUC1-C. *Journal of Experimental and Clinical Cancer Research*, 34 (1), 1–11.
- [250]. St John Floyd, M., Teahan, S.J., Fitzpatrick, J.M. ve Watson, R.W.G. (2009). Differential mechanisms of bicalutamide-induced apoptosis in prostate cell lines. *Prostate Cancer and Prostatic Diseases*, 12 (1), 25–33.
- [251]. Sarkar, P.L., Lee, W., Williams, E.D., Lubik, A.A., Stylianou, N., Shokoohmand, A. vd. (2019). Insulin enhances migration and invasion in prostate cancer cells by up-regulation of FOXC2. *Frontiers in Endocrinology*, 10 (JULY), 481.
- [252]. MANGERINI R, ARGELLATI F, PFEFFER U ve BOCCARDO F (2012). Effects of Bicalutamide and 4OH-Tamoxifen on Androgen-regulated Gene Expression in the LNCaP Cell Line. *Anticancer Research*, 32 (12), 5323–5329.
- [253]. BOCCARDO, F., MEDICINA, D., GALMOZZI, F., EMIONITE, L. ve LO CASTO, M. (2005). 4-OH Tamoxifen does not Interfere with Bicalutamide Inhibitory Effects on Human Prostatic Cancer Cells In Vitro. *Anticancer Research*, 25 (6B),.

- [254]. Robinson, J.L.L., MacArthur, S., Ross-Innes, C.S., Tilley, W.D., Neal, D.E., Mills, I.G. vd. (2011). Androgen receptor driven transcription in molecular apocrine breast cancer is mediated by FoxA1. *EMBO Journal*, 30 (15), 3019–3027.
- [255]. Kong, Y., Qu, F., Yuan, X., Yan, X. ve Yu, W. (2020). Effect of Bicalutamide on the proliferation and invasion of human triple negative breast cancer MDA-MB-231 cells. *Medicine*, 99 (17), e19822.
- [256]. Hao, K., Zhao, S., Cui, D., Zhang, Y., Jiang, C., Jing, Y. vd. (2017). Androgen receptor antagonist bicalutamide induces autophagy and apoptosis via ULK2 upregulation in human bladder cancer cells. *International journal of clinical and experimental pathology*, 10 (7), 7603–7615.
- [257]. Liu, B., Zhou, M., Li, X., Zhang, X., Wang, Q., Liu, L. vd. (2021). Interrogation of gender disparity uncovers androgen receptor as the transcriptional activator for oncogenic miR-125b in gastric cancer. *Cell Death and Disease*, 12 (5), 441.
- [258]. Petrie, W.K., Dennis, M.K., Hu, C., Dai, D., Arterburn, J.B., Smith, H.O. vd. (2013). G Protein-Coupled Estrogen Receptor-Selective Ligands Modulate Endometrial Tumor Growth. *Obstetrics and Gynecology International*, 2013, :472720.
- [259]. Dennis, M.K., Burai, R., Ramesh, C., Petrie, W.K., Alcon, S.N., Nayak, T.K. vd. (2009). In vivo effects of a GPR30 antagonist. *Nature Chemical Biology*, 5 (6), 421–427.
- [260]. Chevalier, N., Vega, A., Bouskine, A., Siddeek, B., Michiels, J.F., Chevallier, D. vd. (2012). Gpr30, the non-classical membrane g protein related estrogen receptor, is overexpressed in human seminoma and promotes seminoma cell proliferation. *PLoS ONE*, 7 (4), e34672.
- [261]. Liu, C., Liao, Y., Fan, S., Fu, X., Xiong, J., Zhou, S. vd. (2019). G-protein-coupled estrogen receptor antagonist g15 decreases estrogen-induced development of non-small cell lung cancer. *Oncology Research*, 27 (3), 283–292.
- [262]. Liu, Y., Du, F.Y., Chen, W., Fu, P.F., Yao, M.Y. ve Zheng, S. Sen (2015). G15 sensitizes epithelial breast cancer cells to doxorubicin by preventing epithelial-mesenchymal transition through inhibition of GPR30. *American Journal of Translational Research*, 7 (5), 967–975.
- [263]. Luo, H., Yang, G., Yu, T., Luo, S., Wu, C., Sun, Y. vd. (2014). GPER-mediated proliferation and estradiol production in breast cancer-associated fibroblasts. *Endocrine-Related Cancer*, 21 (2), 355–369.
- [264]. Chen, Y., Hong, D.Y., Wang, J., Ling-Hu, J., Zhang, Y.Y., Pan, D. vd. (2017). Baicalein, unlike 4-hydroxytamoxifen but similar to G15, suppresses 17 β -estradiol-induced cell invasion, and matrix metalloproteinase-9 expression and activation in MCF-7 human breast cancer cells. *Oncology Letters*, 14 (2), 1823–1830.
- [265]. Compton, D.R., Sheng, S., Carlson, K.E., Rebacz, N.A., Lee, I.Y., Katzenellenbogen, B.S. vd. (2004). Pyrazolo[1,5- α]pyrimidines: Estrogen receptor ligands possessing estrogen receptor β antagonist activity. *Journal of Medicinal Chemistry*, 47 (24), 5872–5893.
- [266]. Saleh, M.C., Connell, B.J. ve Saleh, T.M. (2013). Resveratrol induced neuroprotection is mediated via both estrogen receptor subtypes, *ER α* and *ER β* . *Neuroscience Letters*, 548, 217–221.
- [267]. Hsu, I., Chuang, K.L., Slavin, S., Da, J., Lim, W.X., Pang, S.T. vd. (2013). Suppression of ER β signaling via ER β knockout or antagonist protects against bladder cancer development. *Carcinogenesis*, 35 (3), 651–661.

- [268]. Iorga, A., Umar, S., Ruffenach, G., Aryan, L., Li, J., Sharma, S. vd. (2018). Estrogen rescues heart failure through estrogen receptor Beta activation. *Biology of Sex Differences*, 9 (1), 1–11.
- [269]. Weiser, M.J., Wu, T.J. ve Handa, R.J. (2009). Estrogen receptor- β agonist diarylpropionitrile: Biological activities of R- And S-enantiomers on behavior and hormonal response to stress. *Endocrinology*, 150 (4), 1817–1825.
- [270]. Jiang, H., Fan, J., Cheng, L., Hu, P. ve Liu, R. (2018). The anticancer activity of genistein is increased in estrogen receptor beta 1-positive breast cancer cells. *OncoTargets and Therapy*, 11, 8153–8163.
- [271]. Mendes, C., Lopes-Coelho, F., Ramos, C., Martins, F., Santos, I., Rodrigues, A. vd. (2019). Unraveling FATP1, regulated by ER- β , as a targeted breast cancer innovative therapy. *Scientific Reports*, 9 (1), 1–15.
- [272]. Al-Khyatt, W., Tufarelli, C., Khan, R. ve Iftikhar, S.Y. (2018). Selective oestrogen receptor antagonists inhibit oesophageal cancer cell proliferation in vitro. *BMC Cancer*, 18 (1), 121.
- [273]. Chan, K.K.L., Leung, T.H.Y., Chan, D.W., Wei, N., Lau, G.T.Y., Liu, S.S. vd. (2014). Targeting estrogen receptor subtypes (ER α and ER β) with selective ER modulators in ovarian cancer. *Journal of Endocrinology*, 221 (2), 325–336.
- [274]. Treeck, O., Diepolder, E., Skrzypczak, M., Schüler-Toprak, S. ve Ortmann, O. (2019). Knockdown of estrogen receptor β increases proliferation and affects the transcriptome of endometrial adenocarcinoma cells. *BMC Cancer*, 19 (1), 1–11.
- [275]. Colston, K., Colston, M.J. ve Feldman, D. (1981). 1, 25-dihydroxyvitamin D3 and malignant melanoma: The presence of receptors and inhibition of cell growth in culture. *Endocrinology*, 108 (3), 1083–1086.
- [276]. Abe, E., Miyaura, C., Sakagami, H., Takeda, M., Konno, K., Yamazaki, T. vd. (1981). Differentiation of mouse myeloid leukemia cells induced by 1 α ,25-dihydroxyvitamin D3. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 78 (8), 4990–4994.
- [277]. THILL, M., REICHERT, K., WOESTE, A., POLACK, S., FISCHER, D., HOELLEN, F. vd. (2015). Combined Treatment of Breast Cancer Cell Lines with Vitamin D and COX-2 Inhibitors. *Anticancer Research*, 35 (2), 1189–1195.
- [278]. Ma, Y., Luo, W., Bunch, B.L., Pratt, R.N., Trump, D.L. ve Johnson, C.S. (2017). 1,25D3 differentially suppresses bladder cancer cell migration and invasion through the induction of miR-101-3p. *Oncotarget*, 8 (36), 60080–60093.
- [279]. Ji, J., Cheng, X., Wang, W. ve Zhang, J. (2020). Vitamin D regulates cell viability, migration and proliferation by suppressing galectin-3 (Gal-3) gene in ovarian cancer cells. *Journal of Biosciences*, 45 (1), 1–10.
- [280]. Duman, İ., Tiftik, R.N. ve Ün, İ. (2021). Effects of Vitamin D Analogs Alfacalcidol and Calcitriol on Cell Proliferation and Migration of HEC1A Endometrial Adenocarcinoma Cells. *Nutrition and Cancer*, 73 (2), 273–281.

ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı :

Doğum Tarihi :

E-mail :

Öğrenim Durumu

Derece	Bölüm/Program	Üniversite	Yıl
--------	---------------	------------	-----

