



T.C.

**KIRŞEHİR AHI EVRAN ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK**  
**ANABİLİM DALI**



**MEME VE OVARYUM HÜCRE**  
**HATLARINDA KLORAMBUSİL VE**  
**TAMOKSİFEN'İN ETKİSİNİN**  
**İNCELENMESİ**

**DURMUŞ BURAK DEMİRKAYA**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**KIRŞEHİR**

**2023**



T.C.

KIRSEHİR AHI EVRAN ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK  
ANABİLİM DALI



**MEME VE OVARYUM HÜCRE  
HATLARINDA KLORAMBUSİL VE  
TAMOKSİFEN'İN ETKİSİNİN  
İNCELENMESİ**

**DURMUŞ BURAK DEMİRKAYA**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN**

**Prof.Dr. Serap YALÇIN AZARKAN**

**KIRSEHİR**

**2023**

**KIRŞEHİR AHİ EVRAN ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**YÜKSEK LİSANS TEZ ÇALIŞMASI**  
**ETİK BEYANI**

Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesini okuduğumu ve anladığımı ve Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde ve ortaya çıkan sonuçlarda herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Tez olarak sunduğum bu çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda bu konuda hakkımda yapılacak tüm yasal işlemleri ve aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarımı kabullendiğimi beyan ederim. 03/07/2023

Durmuş Burak DEMİRKAYA

# İÇİNDEKİLER DİZİNİ

Sayfa No

İÇİNDEKİLER DİZİNİ .....	I
TEŞEKKÜR .....	VI
ÖZET .....	VII
TABLO LİSTESİ .....	IX
ŞEKİLLER LİSTESİ .....	X
SİMGE VE KISALTIMA LİSTESİ .....	XIII
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
1.1. Amaç .....	3
1.2. Kanser Biyolojisi.....	3
1.3. Meme Kanseri .....	8
1.3.1. Meme Kanseri Epidemiyolojisi .....	10
1.3.2. Meme Kanseri Türleri .....	11
1.4. Rahim Ağzı Kanseri .....	14
1.4.1. Rahim Ağzı Kanseri Epidemiyolojisi .....	14
1.5. Metastaz ve İnvazivite .....	17
1.5.1. Meme Kanseri Metastazı .....	18
1.5.2. Rahim Ağzı Kanseri Metastazı .....	20
1.6. Tedavi Yöntemleri.....	22
1.6.1. Cerrahi Tedavi .....	23
1.6.2. Radyoterapi .....	23
1.6.3. Kemoterapi.....	24
1.6.4. Hormonal Tedavi .....	25
1.6.5. İmmünoterapi .....	26
1.7. Tamoksifen .....	27
1.7.1. Tamoksifen Yan Etkisi.....	30
1.8. Klorambusil .....	30
1.8.1. Klorambusil Yan Etkisi.....	32
1.9. VEGFA .....	32
1.9.1. VEGFA Hedefleri ve Tedavi Yöntemleri .....	34

1.10 MMP2 .....	36
<b>2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....</b>	<b>41</b>
<b>3. MATERYAL ve METOT.....</b>	<b>43</b>
3.1. Materyal.....	43
3.1.1. Hücre Hatları .....	43
3.1.2. Kimyasal ve Reaktifler .....	43
3.1.3. Makine ve Teçhizat .....	44
3.2. Metod.....	45
3.2.1. Hücre Kültürü .....	45
3.2.1.1. HeLa ve MDA-MB-231 Hücresini İki Boyutlu Geliştirme.....	45
3.2.1.2. Hücrelerin Pasajlanması .....	45
3.2.1.3. Tripan Mavisini ile Hücre Sayımı.....	46
3.2.1.4. HeLa ve MDA-MB-231 Hücresini Üç Boyutlu Geliştirme.....	47
3.2.2. Hücre Motilitesinin Tespit Edilmesi.....	48
3.2.2.1. HeLa ve MDA-MB-231 Hücre Hattı Motilite Testi.....	48
3.2.3. HeLa ve MDA-MB-231 Hücre Hattı İnvazyon Testi.....	48
3.2.4. Tamoksifen ve Klorambusilin Hazırlanması .....	49
3.2.4.1. Tamoksifen ve Klorambusilin 2B ve 3B Doz Hazırlanması.....	49
3.2.4.1.1. 2B Tamoksifen ve Klorambusilin Doz Hazırlanması .....	49
3.2.4.1.2. 3B Tamoksifen ve Klorambusilin Doz Hazırlanması .....	49
3.2.4.1.3. Tamoksifen ve Klorambusilin Ara Stok Kombinasyonlarının Üç Boyutlu Deney İçin Hesaplanması .....	50
3.2.5. HeLa ve MDA-MB-231 Hücre Hattı Sitotoksikite Analizi.....	50
3.2.6. Ters Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyonu(ing. Reverse Transkriptaz) .....	51
3.2.6.1. HeLa ve MDA-MB-231 Hücre Hattı RNA İzolasyonu.....	52
3.2.6.2. Nanodrop İle İzole Edilen RNA'nın Ölçülmesi .....	52
3.2.6.3. cDNA Sentezi ve Gen İfade Analizi.....	52
<b>4. BULGULAR ve TARTIŞMA.....</b>	<b>55</b>
4.1. MDA-MB-231 Hücre Hattı Sitotoksikite Sonuçları .....	55
4.1.1. 5 µM Tamoksifen Sonuçları.....	56
4.1.2. 10 µM Tamoksifen Sonuçları.....	56
4.1.3. 25 µM Tamoksifen Sonuçları.....	56
4.1.4. 50 µM Tamoksifen Sonuçları.....	57
4.1.5. 75 µM Tamoksifen Sonuçları.....	57
4.1.6. 100 µM Tamoksifen Sonuçları.....	58

4.1.7. 10 µM Klorambusil Sonuçları.....	58
4.1.8. 25 µM Klorambusil Sonuçları.....	59
4.1.9. 50 µM Klorambusil Sonuçları.....	59
4.1.10. 75 µM Tamoksifen + 10 µM Klorambusil Sonuçları.....	60
4.1.11. 75 µM Tamoksifen + 25 µM Klorambusil Sonuçları.....	60
4.1.12. 75 µM Tamoksifen + 50 µM Klorambusil Sonuçları.....	61
4.1.13. 100 µM Tamoksifen + 10 µM Klorambusil Sonuçları.....	61
4.1.14. 100 µM Tamoksifen + 25 µM Klorambusil Sonuçları.....	62
4.1.15. 100 µM Tamoksifen + 50 µM Klorambusil Sonuçları.....	62
4.2. MDA-MB-231 Hücre Hattı Migrasyon Sonuçları.....	63
4.2.1. 75 µM Tamoksifen Sonuçları.....	63
4.2.2. 100 µM Tamoksifen Sonuçları.....	64
4.2.3. 10 µM Klorambusil Sonuçları.....	64
4.2.4. 25 µM Klorambusil Sonuçları.....	65
4.2.5. 50 µM Klorambusil Sonuçları.....	65
4.2.6. 75 µM Tamoksifen + 10 µM Klorambusil Sonuçları.....	66
4.2.7. 75 µM Tamoksifen + 25 µM Klorambusil Sonuçları.....	66
4.2.8. 75 µM Tamoksifen + 50 µM Klorambusil Sonuçları.....	67
4.2.9. 100 µM Tamoksifen + 10 µM Klorambusil Sonuçları.....	67
4.2.10. 100 µM Tamoksifen + 25 µM Klorambusil Sonuçları.....	68
4.2.11. 100 µM Tamoksifen + 50 µM Klorambusil Sonuçları.....	68
4.3. MDA-MB-231 Hücre Hattı İnvazyon Sonuçları.....	69
4.3.1. 75 µM Tamoksifen Sonuçları.....	69
4.3.2. 100 µM Tamoksifen Sonuçları.....	69
4.3.3. 10 µM Klorambusil Sonuçları.....	70
4.3.4. 25 µM Klorambusil Sonuçları.....	70
4.3.5. 50 µM Klorambusil Sonuçları.....	71
4.3.6. 75 µM Tamoksifen + 10 µM Klorambusil Sonuçları.....	71
4.3.7. 75 µM Tamoksifen + 25 µM Klorambusil Sonuçları.....	72
4.3.8. 75 µM Tamoksifen + 50 µM Klorambusil Sonuçları.....	72
4.3.9. 100 µM Tamoksifen + 10 µM Klorambusil Sonuçları.....	73
4.3.10. 100 µM Tamoksifen + 25 µM Klorambusil Sonuçları.....	73
4.3.11. 100 µM Tamoksifen + 50 µM Klorambusil Sonuçları.....	74
4.4. MDA-MB-231 Hücre Hattı 3B Sonuçları.....	74
4.4.1. 75 µM Tamoksifen Sonuçları.....	75

4.4.2. 100 $\mu$ M Tamoksifen Sonuçları.....	75
4.4.3. 10 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları.....	76
4.4.4. 25 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları.....	76
4.4.5. 50 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları.....	77
4.4.6. 75 $\mu$ M Tamoksifen + 10 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları.....	77
4.4.7. 75 $\mu$ M Tamoksifen + 25 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları.....	78
4.4.8. 75 $\mu$ M Tamoksifen + 50 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları.....	78
4.4.9. 100 $\mu$ M Tamoksifen + 10 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları.....	79
4.4.10. 100 $\mu$ M Tamoksifen + 25 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları.....	79
4.4.11. 100 $\mu$ M Tamoksifen + 50 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları.....	80
4.5. HeLa Hücre Hattı Sitotoksisite Sonuçları.....	80
4.5.1. 75 $\mu$ M Tamoksifen Sonuçları.....	81
4.5.2. 100 $\mu$ M Tamoksifen Sonuçları.....	81
4.5.3. 10 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları.....	82
4.5.4. 25 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları.....	82
4.5.5. 50 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları.....	83
4.5.6. 75 $\mu$ M Tamoksifen + 10 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları.....	83
4.5.7. 75 $\mu$ M Tamoksifen + 25 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları.....	84
4.5.8. 75 $\mu$ M Tamoksifen + 50 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları.....	84
4.5.9. 100 $\mu$ M Tamoksifen + 10 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları.....	85
4.5.10. 100 $\mu$ M Tamoksifen + 25 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları.....	85
4.5.11. 100 $\mu$ M Tamoksifen + 50 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları.....	86
4.6. HeLa Hücre Hattı Migrasyon Sonuçları .....	86
4.6.1. 75 $\mu$ M Tamoksifen Sonuçları.....	87
4.6.2. 100 $\mu$ M Tamoksifen Sonuçları.....	87
4.6.3. 10 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları.....	87
4.6.4. 25 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları.....	88
4.6.5. 50 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları.....	88
4.6.6. 75 $\mu$ M Tamoksifen + 25 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları.....	88
4.6.7. 75 $\mu$ M Tamoksifen + 50 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları.....	89
4.6.8. 100 $\mu$ M Tamoksifen + 25 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları.....	89
4.6.9. 100 $\mu$ M Tamoksifen + 50 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları.....	90
4.7. HeLa Hücre Hattı İnvazyon Sonuçları.....	90
4.7.1. 75 $\mu$ M Tamoksifen Sonuçları.....	90
4.7.2. 100 $\mu$ M Tamoksifen Sonuçları.....	91

4.7.3. 25 µM Klorambusil Sonuçları.....	91
4.7.4. 50 µM Klorambusil Sonuçları.....	91
4.7.5. 75 µM Tamoksifen + 25 µM Klorambusil Sonuçları.....	92
4.7.6. 75 µM Tamoksifen + 50 µM Klorambusil Sonuçları.....	92
4.7.7. 100 µM Tamoksifen + 25 µM Klorambusil Sonuçları.....	93
4.7.8. 100 µM Tamoksifen + 50 µM Klorambusil Sonuçları.....	93
4.8. HeLa Hücre Hattı 3B Sonuçları.....	94
4.8.1. 75 µM Tamoksifen Sonuçları.....	94
4.8.2. 100 µM Tamoksifen Sonuçları.....	94
4.8.3. 25 µM Klorambusil Sonuçları.....	95
4.8.4. 50 µM Klorambusil Sonuçları.....	95
4.8.5. 75 µM Tamoksifen + 25 µM Klorambusil Sonuçları.....	95
4.8.6. 75 µM Tamoksifen + 50 µM Klorambusil Sonuçları.....	96
4.8.7. 100 µM Tamoksifen + 25 µM Klorambusil Sonuçları.....	96
4.8.8. 100 µM Tamoksifen + 50 µM Klorambusil Sonuçları.....	92
4.9. MMP2 ve VEGFA Gen İfadesi Sonuçları.....	97
4.10. Tartışma.....	101
<b>5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....</b>	<b>107</b>
<b>6. KAYNAKLAR.....</b>	<b>109</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>117</b>



## TEŞEKKÜR

Lisans dönemimden itibaren; bilgisi, kültürü ve verdiği meslek ahlakıyla bana yol gösteren, yüksek lisansa baŐlamamda ve yüksek lisans ders sürecinde kendisini tanıdığım günden bu yana gösterdiği sakin ve sabırlı hali ile her zaman bana örnek olmasının yanı sıra bir bilim insanının nasıl çalışması gerektiğini kendisinden öğrendiğim, değerli danıŐmanım Prof. Dr. Serap YALÇIN AZARKAN'a büyük bir içtenlikle teşekkür eder saygılarımı sunarım.

Bu zorlu süreçte beni asla yalnız bıraktıran, her sıkıntıda beni dinleyen en yakın arkadaŐlarım Tuncay Can ve Ramazan Demir'e teşekkür eder ve minnettarlığımı sunarım.

Tezimi, ailem başta olmakzere özellikle Annem, kardeŐim, Babam ve Tuğba Temirel'e ithaf ederim.

Temmuz, 2023

Durmuş Burak Demirkaya

## ÖZET

### YÜKSEK LİSANS TEZİ

# MEME VE OVARYUM HÜCRE HATLARINDA KLORAMBUSİL VE TAMOKSİFEN'İN ETKİSİNİN İNCELENMESİ

**Durmuş Burak DEMİRKAYA**

**KIRŞEHİR AHI EVRAN ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ  
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI**

**Danışman:** Prof. Dr. Serap YALÇIN  
AZARKAN  
Yıl: 2023 Sayfa: 117

**Jüri:** Doç.Dr. Nevin ÇANKAYA  
Dr. Öğr. Üyesi Selin  
ÖZKAN KOTİLOĞLU

Bu çalışma MDA-MB-231 ve HeLa hücre hatlarında Tamoksifen ve Klorambusil'in sitotoksik, morfolojik ve moleküler etkisinin incelenmesini hedeflemekte olup ve ileri çalışmalarda kanser ilaçlarının geliştirilmesinde ön çalışma niteliği taşımaktadır. Kanser, dünyada en sık görülen kalp hastalıklarından sonra ölüme yol açan ikinci hastalık grubunda yer almaktadır. Kanser tedavisinde ameliyat, kemoterapi ve radyoterapi gibi çeşitli tedavi yöntemlerinden yararlanılmaktadır. Ancak tedavilerde meydana gelen yan etkiler göz önüne alındıklarında hali yeni ilaç tedavileri geliştirmek önem kazanmaktadır. Tamoksifen, anti-östrojenler grubundan nonsteroidal ilaçtır. Son yıllarda, Tamoksifen hem meme kanseri tedavisinde hem de kemoprevensiyonunda kullanılmaktadır. Klorambusil ilacı ise kemik iliğinin çok fazla sayıda anormal beyaz kan hücresi ürettiği Kronik Lenfositik Lösemi (KLL)'de, lenf sistemi hücrelerinden kaynaklanan kanser çeşidi olan hodgkin lenfoma hastalığında, B-lenfosit akyuvar hücrelerinin aşırı miktarda çoğaldığı ve kanda anormal protein serbestleşmesine neden olduğu Waldenströmün makroglobulinemisi tedavisinde, yumurtalık, meme ve testis kanserini tedavi etmek için kullanılır. Bu hipotezle yola çıkarak çalışmada MDA-MB-231 ve HeLa hücre hattı üzerinde Tamoksifen ve Klorambusil ilaçlarının etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. İlaçların hücreler üzerindeki toksik etkisini belirlemek için belli doz aralıklarında optimizasyon çalışmaları yapılmıştır. Bu tezde yapılan deneylerde tamoksifen tek başına uygulandığında hücreler üzerinde etkili olduğu fakat üç boyutlu MDA-MB-231 ve HeLa model hücre hatları üzerindeki etkileri literatürdeki çalışmalara göre etkisinin daha az olduğu görülmüştür. Klorambusilin ise kendine özgü toksik etkisinin tamoksifene göre daha güçlü olduğu gözlemlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** MDA-MB-231, HeLa, Kanser, Tamoksifen, Klorambusil

## ABSTRACT

### MSc THESIS

#### INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF CLORAMBUCIL AND TAMOXIFEN ON BREAST AND OVARIUM CELL LINES

DURMUŞ BURAK DEMİRKAYA

KIRŞEHİR AHİ EVRAN UNIVERSITY  
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES  
DEPARTMENT OF MOLECULAR BIOLOGY AND GENETIC

**Supervisor:** Prof. Dr. Serap YALÇIN  
AZARKAN  
Year: 2023, Pages: 117  
**Juries:** Doç. Dr. Nevin ÇANKAYA  
Assist. Prof. Dr. Selin ÖZKAN  
KOTİLOĞLU

This study aims to examine the cytotoxic, morphological and molecular effects of Tamoxifen and Chlorambucil on MDA-MB-231 and HeLa cell lines and is a preliminary study in the development of cancer drugs in further studies. Cancer is in the second group of diseases that cause death after the most common heart diseases in the world. Various treatment methods such as surgery, chemotherapy and radiotherapy are used in cancer treatment. However, considering the side effects of the treatments, it is important to develop new drug treatments. Tamoxifen is a non-steroidal drug from the group of anti-estrogens. In recent years, Tamoxifen has been used for both breast cancer treatment and chemoprevention. Chlorambucil drug is used in Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL), where the bone marrow produces too many abnormal white blood cells, in Hodgkin's lymphoma, a type of cancer originating from lymphatic system cells, in Waldenström's macroglobulinemia in which B-lymphocyte white blood cells proliferate excessively and cause abnormal protein release in the blood. It is used to treat ovarian, breast and testicular cancer. Based on this hypothesis, it was aimed to investigate the effects of Tamoxifen and Chlorambucil drugs on MDA-MB-231 and HeLa cell lines. Optimization studies were carried out at certain dose intervals to determine the toxic effects of drugs on cells. In the experiments conducted in this thesis, it was observed that tamoxifen was effective on cells when applied alone, but its effects on 3D MDA-MB-231 and HeLa cell lines were less than studies in the literature. On the other hand, it has been observed that the specific toxic effect of chlorambucil is stronger than tamoxifen.

**Key Words:** MDA-MB-231, HeLa, Cancer, Tamoxifen, Chlorambucil

## TABLolar DİZİNİ

	Sayfa No
<b>Tablo 3.1:</b> Çalışmalarda Kullanılan Kimyasallar Ve Reaktifler .....	43
<b>Tablo 3.2:</b> Çalışmalarda Kullanılan Makineler Ve Techizatlar .....	44
<b>Tablo 3.3:</b> 3B Hücelere Verilen İlaç Dozlarının Hesaplanması .....	50
<b>Tablo 3.4:</b> LD50 Değerlerini Belirlemek İçin Hücelere Verilen İlaç Dozları .....	51
<b>Tablo 3.5:</b> Real-Time PCR İşleminde Kullanılan Primerler .....	53
<b>Tablo 3.6:</b> Örneklerin Nanodrop Sonuçları .....	53
<b>Tablo 3.7:</b> Real-Time PCR Reaksiyonunda Kullanılan Bileşikler ve Değerler .....	54
<b>Tablo 3.8:</b> Real-Time PCR Döngü ve Sıcaklık Değerleri .....	54
<b>Tablo 4.1:</b> MDA-MB-231 Hücre Hattına Verilen İlaç Dozları .....	55
<b>Tablo 4.2:</b> HeLa Hücre Hattına Verilen İlaç Dozları.....	80

## ŞEKİLLER DİZİNİ

### Sayfa No

Şekil 1.1. Kanser Hücrelerinin Anormal Şekilde Çoğalımı .....	4
Şekil 1.2. Kanser Hücrelerinin Doku Ve Organlara Yayılım Metastazı .....	7
Şekil 1.3. Meme Kanseri Etkili Olan Risk Faktörleri.....	10
Şekil 1.4. Kadın Meme Kanseri 2020 Molarite Ve Bölgeye Özgü İnsidans.....	11
Şekil 1.5. Yerinde Dutkal Karsinoma İn Situ Ve Yerinde Lobüler Karsinoma İn Situ Görüntüsü.....	12
Şekil 1.6. Who Uluslararası Kanser Araştırma Verileri.....	15
Şekil 1.7. Kanser Süreci Metastaz Modeli.....	18
Şekil 1.8. Metastatik Meme Kanseri Hücrelerinin Karaciğerde Yayılımı Ve Çoğalımı .....	20
Şekil 1.9. Rahim Ağzı Kanseri Yayılım Süreci .....	21
Şekil 1.10. Tamoksifenin Moleküler Yapısı Ve Sistemik Adı.....	28
Şekil 1.11. Tamoksifen Etki Mekanizmasının Şematik Gösterimi .....	30
Şekil 1.12. Klorambusil Moleküler Yapısı. ....	31
Şekil 1.13. VEGF Gen Ailesi ve Reseptörleri. ....	33
Şekil 1.14. Meme Kanseri Hücrelerinde VEGFA gen seviyesi.....	34
Şekil 1.15. Rahim Ağzı Kanseri Hücrelerinde VEGFA gen seviyesi.....	34
Şekil 1.16. VEGF Hedefleri ve VEGFA İlaçları.....	35
Şekil 1.17. Jelatinazların Yapısı.....	37
Şekil 1.18. Meme Kanseri Hücrelerinde MMP2 gen seviyesi.....	39
Şekil 1.19. Meme Kanseri Hücrelerinde MMP2 gen seviyesi.....	39
Şekil 3.1. MDA-MB-231 ve Hela Hücrelerin İki Boyutlu Geliştirilmesi.....	45
Şekil 3.2. Thoma Lamının Şematik Gösterimi .....	46
Şekil 3.3. MDA-MB-231 ve Hela Hücrelerin Üç Boyutlu Geliştirilmesi.....	47
Şekil 4.1. İki Boyutlu Olarak Geliştirilen MDA-MB-231 Hücre Hattı.....	55
Şekil 4.2. MDA-MB-231 5 µM Tamoksifen Görüntüleri.....	56
Şekil 4.3. MDA-MB-231 10 µM Tamoksifen Görüntüleri.....	56
Şekil 4.4. MDA-MB-231 25 µM Tamoksifen Görüntüleri.....	56
Şekil 4.5. MDA-MB-231 50 µM Tamoksifen Görüntüleri.....	57
Şekil 4.6. MDA-MB-231 75 µM Tamoksifen Görüntüleri.....	57
Şekil 4.7. MDA-MB-231 100 µM Tamoksifen Görüntüleri.....	58
Şekil 4.8. MDA-MB-231 10 µM Klorambusil Görüntüleri.....	58
Şekil 4.9. MDA-MB-231 25 µM Klorambusil Görüntüleri.....	59
Şekil 4.10. MDA-MB-231 50 µM Klorambusil Görüntüleri.....	59
Şekil 4.11. MDA-MB-231 75 µM Tamoksifen + 10 µM Klorambusil Görüntüleri.....	60
Şekil 4.12. MDA-MB-231 75 µM Tamoksifen + 25 µM Klorambusil Görüntüleri.....	60
Şekil 4.13. MDA-MB-231 75 µM Tamoksifen + 50 µM Klorambusil Görüntüleri.....	61
Şekil 4.14. MDA-MB-231 100 µM Tamoksifen + 10 µM Klorambusil Görüntüleri.....	61
Şekil 4.15. MDA-MB-231 100 µM Tamoksifen + 25 µM Klorambusil Görüntüleri.....	62

Şekil 4.16. MDA-MB-231 100 µM Tamoksifen + 50 µM Klorambusil Görüntüleri .....	62
Şekil 4.17. MDA-MB-231 Migrasyon Kontrol Görüntüleri .....	63
Şekil 4.18. MDA-MB-231 Migrasyon 75 µM Tamoksifen Görüntüleri.....	63
Şekil 4.19. MDA-MB-231 Migrasyon 100 µM Tamoksifen Görüntüleri.....	64
Şekil 4.20. MDA-MB-231 Migrasyon 10 µM Klorambusil Görüntüleri.....	64
Şekil 4.21. MDA-MB-231 Migrasyon 25 µM Klorambusil Görüntüleri.....	65
Şekil 4.22. MDA-MB-231 Migrasyon 50 µM Klorambusil Görüntüleri.....	65
Şekil 4.23. MDA-MB-231 Migrasyon 75 µM Tamoksifen + 10 µM Klorambusil Görüntüleri.....	66
Şekil 4.24. MDA-MB-231 Migrasyon 75 µM Tamoksifen + 25 µM Klorambusil Görüntüleri.....	66
Şekil 4.25. MDA-MB-231 Migrasyon 75 µM Tamoksifen + 50 µM Klorambusil Görüntüleri.....	67
Şekil 4.26. MDA-MB-231 Migrasyon 100 µM Tamoksifen + 10 µM Klorambusil Görüntüleri.....	67
Şekil 4.27. MDA-MB-231 Migrasyon 100 µM Tamoksifen + 25 µM Klorambusil Görüntüleri.....	68
Şekil 4.28. MDA-MB-231 Migrasyon 100 µM Tamoksifen + 50 µM Klorambusil Görüntüleri.....	68
Şekil 4.29. MDA-MB-231 İnvazyon 75 µM Tamoksifen Görüntüleri .....	69
Şekil 4.30. MDA-MB-231 İnvazyon 100 µM Tamoksifen Görüntüleri .....	69
Şekil 4.31. MDA-MB-231 İnvazyon 10 µM Klorambusil Görüntüleri .....	70
Şekil 4.32. MDA-MB-231 İnvazyon 25 µM Klorambusil Görüntüleri .....	70
Şekil 4.33. MDA-MB-231 İnvazyon 50 µM Klorambusil Görüntüleri .....	71
Şekil 4.34. MDA-MB-231 İnvazyon 75 µM Tamoksifen + 10 µM Klorambusil Görüntüleri .....	71
Şekil 4.35. MDA-MB-231 İnvazyon 75 µM Tamoksifen + 25 µM Klorambusil Görüntüleri .....	72
Şekil 4.36. MDA-MB-231 İnvazyon 75 µM Tamoksifen + 50 µM Klorambusil Görüntüleri .....	72
Şekil 4.37. MDA-MB-231 İnvazyon 100 µM Tamoksifen + 10 µM Klorambusil Görüntüleri.....	73
Şekil 4.38. MDA-MB-231 İnvazyon 100 µM Tamoksifen + 25 µM Klorambusil Görüntüleri.....	73
Şekil 4.39. MDA-MB-231 İnvazyon 100 µM Tamoksifen + 50 µM Klorambusil Görüntüleri.....	74
Şekil 4.40. MDA-MB-231 3B Kontrol Görüntüleri .....	74
Şekil 4.41. MDA-MB-231 3B 75 µM Tamoksifen Görüntüleri.....	75
Şekil 4.42. MDA-MB-231 3B 100 µM Tamoksifen Görüntüleri.....	75
Şekil 4.43. MDA-MB-231 3B 10 µM Klorambusil Görüntüleri.....	76
Şekil 4.44. MDA-MB-231 3B 25 µM Klorambusil Görüntüleri.....	76
Şekil 4.45. MDA-MB-231 3B 50 µM Klorambusil Görüntüleri .....	77
Şekil 4.46. MDA-MB-231 3B 75 µM Tamoksifen + 10 µM Klorambusil Görüntüleri.....	77
Şekil 4.47. MDA-MB-231 3B 75 µM Tamoksifen + 25 µM Klorambusil Görüntüleri.....	78
Şekil 4.48. MDA-MB-231 3B 75 µM Tamoksifen + 50 µM Klorambusil Görüntüleri.....	78
Şekil 4.49. MDA-MB-231 3B 100 µM Tamoksifen + 10 µM Klorambusil Görüntüleri.....	79
Şekil 4.50. MDA-MB-231 3B 100 µM Tamoksifen + 25 µM Klorambusil Görüntüleri.....	79
Şekil 4.51. MDA-MB-231 3B 100 µM Tamoksifen + 50 µM Klorambusil Görüntüleri.....	80
Şekil 4.52. HeLa 2B Kontrol Görüntüleri .....	80
Şekil 4.53. HeLa 75 µM Tamoksifen Görüntüleri .....	81
Şekil 4.54. HeLa 100 µM Tamoksifen Görüntüleri .....	81
Şekil 4.55. HeLa 10 µM Klorambusil Görüntüleri .....	82

Şekil 4.56. HeLa 25 µM Klorambusil Görüntüleri .....	82
Şekil 4.57. HeLa 50 µM Klorambusil Görüntüleri .....	83
Şekil 4.58. HeLa 75 µM Tamoksifen + 10 µM Klorambusil Görüntüleri.....	83
Şekil 4.59. HeLa 75 µM Tamoksifen + 25 µM Klorambusil Görüntüleri.....	84
Şekil 4.60. HeLa 75 µM Tamoksifen + 50 µM Klorambusil Görüntüleri.....	84
Şekil 4.61. HeLa 100 µM Tamoksifen + 10 µM Klorambusil Görüntüleri.....	85
Şekil 4.62. HeLa 100 µM Tamoksifen + 25 µM Klorambusil Görüntüleri.....	85
Şekil 4.63. HeLa 100 µM Tamoksifen + 50 µM Klorambusil Görüntüleri.....	86
Şekil 4.64. HeLa Migrasyon 75 µM Tamoksifen Görüntüleri.....	87
Şekil 4.65. HeLa Migrasyon 100 µM Tamoksifen Görüntüleri.....	87
Şekil 4.66. HeLa Migrasyon 10 µM Klorambusil Görüntüleri.....	87
Şekil 4.67. HeLa Migrasyon 25 µM Klorambusil Görüntüleri.....	88
Şekil 4.68. HeLa Migrasyon 50 µM Klorambusil Görüntüleri.....	88
Şekil 4.69. HeLa Migrasyon 75 µM Tamoksifen + 25 µM Klorambusil Görüntüleri .....	88
Şekil 4.70. HeLa Migrasyon 75 µM Tamoksifen + 50 µM Klorambusil Görüntüleri.....	89
Şekil 4.71. HeLa Migrasyon 100 µM Tamoksifen + 25 µM Klorambusil Görüntüleri.....	89
Şekil 4.72. HeLa Migrasyon 100 µM Tamoksifen + 50 µM Klorambusil Görüntüleri.....	90
Şekil 4.73. HeLa İnvazyon 75 µM Tamoksifen Görüntüleri .....	90
Şekil 4.74. HeLa İnvazyon 100 µM Tamoksifen Görüntüleri.....	91
Şekil 4.75. HeLa İnvazyon 25 µM Klorambusil Görüntüleri.....	91
Şekil 4.76. HeLa İnvazyon 50 µM Klorambusil Görüntüleri .....	91
Şekil 4.77. HeLa İnvazyon 75 µM Tamoksifen + 25 µM Klorambusil Görüntüleri.....	92
Şekil 4.78. HeLa İnvazyon 75 µM Tamoksifen + 50 µM Klorambusil Görüntüleri.....	92
Şekil 4.79. HeLa İnvazyon 100 µM Tamoksifen + 25 µM Klorambusil Görüntüleri.....	93
Şekil 4.80. HeLa İnvazyon 100 µM Tamoksifen + 50 µM Klorambusil Görüntüleri.....	93
Şekil 4.81. HeLa 3B 75 µM Tamoksifen Görüntüleri .....	94
Şekil 4.82. HeLa 3B 100 µM Tamoksifen Görüntüleri .....	94
Şekil 4.83. HeLa 3B 25 µM Klorambusil Görüntüleri .....	95
Şekil 4.84. HeLa 3B 50 µM Klorambusil Görüntüleri .....	95
Şekil 4.85. HeLa 3B 75 µM Tamoksifen + 25 µM Klorambusil Görüntüleri.....	95
Şekil 4.86. HeLa 3B 75 µM Tamoksifen + 50 µM Klorambusil Görüntüleri.....	96
Şekil 4.87. HeLa 3B 100 µM Tamoksifen + 25 µM Klorambusil Görüntüleri.....	96
Şekil 4.88. HeLa 3B 100 µM Tamoksifen + 50 µM Klorambusil Görüntüleri.....	97
Şekil 4.89. B-Actin Real Time Pcr Sonuçları.....	97
Şekil 4.90. MMP2 Real Time Pcr Sonuçları.....	98
Şekil 4.91. VEGFA 2B MDA-MB-231 Gen İfadesi Sonuçları.....	98
Şekil 4.92. VEGFA 3B MDA-MB-231 Gen İfadesi Sonuçları.....	99
Şekil 4.93. VEGFA 2B HeLa Gen İfadesi Sonuçları.....	100
Şekil 4.94. VEGFA 3B HeLa Gen İfadesi Sonuçları.....	100

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b>Simgeler</b>	<b>Açıklama</b>
$\mu\text{L}$	: Mikrolitre
$\mu\text{M}$	: Makromolar

<b>Kısaltmalar</b>	<b>Açıklama</b>
<b>ADCC</b>	: Antikora Bağımlı Hücrel Sitotoksiste
<b>BCLM</b>	: Meme Kanseri Karaciğer Metastazi
<b>BM</b>	: Bazal Membran
<b>BRCA</b>	: Meme Kanseri İlgili Geni
<b>DCIS</b>	: Dudkal Karsinoma İn Situ
<b>DNA</b>	: Deoksiribonükleik Asit
<b>ECM</b>	: Ekstra Selüler Matriks
<b>EMT</b>	: Epiteryal Mekankimal Geçiş
<b>EMVİ</b>	: Ekstramural Venöz İnvazyon
<b>ER</b>	: Östrojen
<b>EDTA</b>	: Etilen Diaminetetraasetik Asit
<b>ERT</b>	: Östrojen Replasman Tedavi
<b>FDA</b>	: Gıda Ve İlaç İdaresi
<b>FBS</b>	: Fetal Bovin Serum
<b>HER2</b>	: İnsan Epidermal Büyüme Faktörü 2
<b>HPV</b>	: Human Papiloma Virüs
<b>HRT</b>	: Hormon Replasman Tedavi
<b>KIDEM</b>	: Kanser İzleme ve Denetleme Merkezi
<b>LCIS</b>	: Lobüler Karsinome İn situ
<b>LD<sub>50</sub>, IC<sub>50</sub></b>	: Ortalama Öldürücü Doz, Inhibition Concentration % 50
<b>LND</b>	: Lenf Doku Diseksiyonu
<b>PR</b>	: Progesteron
<b>SERMs</b>	: Selektif Östrojen Modülatöröleri
<b>TAM</b>	: Tümörle İlişkisi Makrofaj
<b>TCNF</b>	: Negatif Meme Kanseri
<b>TME</b>	: Tümör Mikroçevresi
<b>TNBC</b>	: Üçlü Negatif Meme Kanseri
<b>WHO</b>	: Dünya Sağlık Örgütü
<b>RPMI-1640</b>	: Roswell Park Memorial Institute-1640
<b>ing.</b>	: İngilizce Anlamı
<b>2B, 2D</b>	: İki Boyutlu, Two Dimensional
<b>3B, 3D</b>	: Üç Boyutlu, Three Dimensional



**PBS** : Phosphate Buffered Saline  
**DMSO** : Dimetil Sülfoksit  
**RPMI-1640** : Roswell Park Memorial Institute-1640





## 1. GİRİŞ

Kanser, somatik hücrelerde meydana gelen bir hastalıktır. Somatik hücreler, vücudun diğer hücreleriyle aynı genetik bilgiye sahip olan normal hücrelerdir. Kanser, bu hücrelerin DNA'sında meydana gelen genetik değişiklikler sonucunda kontrolsüz bir şekilde büyüme ve bölünme yeteneği kazanır. Kanser, dünya genelinde ölüme yol açan en yaygın ikinci hastalık grubudur. Kalp hastalıklarından sonra ikinci sırayı almaktadır. Ancak, öngörülere göre kanser vakaları hızla artış göstermekte ve 2030 yılına gelindiğinde en sık görülen hastalık olabilir. 2012 yılında dünya genelinde tespit edilen yeni kanser vakaları 14.1 milyon olarak raporlanmıştır. Bu duruma bağlı olarak kanserden kaynaklanan ölümler ise 8.2 milyon olarak gerçekleşmiştir. Kanser vakalarının artış hızına bağlı olarak, 2025 yılında dünya nüfusuyla orantılı olarak tahminen 193 milyon yeni kanser vakası beklenmektedir. Bu veriler, kanserin dünya çapında ciddi bir sağlık sorunu olduğunu ve önemli bir halk sağlığı önceliği olduğunu göstermektedir. Bu nedenle kanserle mücadelede erken teşhis, önleyici tedbirler, etkili tedavi yöntemleri ve sağlıklı yaşam tarzı seçimleri gibi faktörler büyük önem taşımaktadır (Aygün *ve ark.*, 2017).

Kanser, DNA'da meydana gelen anormalliklerin sonucunda ortaya çıkan bir hastalıktır. Bu anormallikler, genlerdeki mutasyonlardan kaynaklanabilir. Kanser kalıtsal olabileceği ihtimali, genetik faktörlere bağlıdır. Günümüz verilerine göre, kanserlerin yaklaşık %10-15'i ebeveynlerden gelen genetik mutasyonlar sonucu kalıtsal olarak ortaya çıkar. Bu durum, ailelerde kanser geçmişi olan kişilerde kanser riskinin daha yüksek olabileceğini gösterir. Ancak çoğu kanser vakası, DNA'daki değişikliklerin çevresel faktörler veya mutajenlere maruz kalma sonucu meydana gelir. Sigara içmek, zararlı kimyasallara maruz kalmak, radyasyona maruz kalma, sağlıksız beslenme, obezite, virüs enfeksiyonları gibi çevresel faktörler, DNA'da mutasyonlara neden olabilir ve kansere yol açabilir. Kanser hücrelerinin oluşumunda, normal hücrelerdeki büyüme ve çoğalma kontrol mekanizmalarının bozulması önemli bir rol oynar. Mutasyonlar, hücrelerin normal büyüme sinyallerini algılamamasına veya hücre döngüsünün düzenli bir şekilde ilerlemesini engellemesine neden olabilir. Bu durumda, hücreler anormal bir şekilde bölünmeye başlar ve hızla çoğalır. Sonuç olarak, kanserli hücrelerin oluşumuyla kanser gelişebilir.

Kanserin karmaşık bir hastalık olduğunu ve birçok farklı faktörün bir araya gelerek kanser riskini etkilediğini belirtmek önemlidir. Hem genetik faktörler hem de çevresel faktörler kanserin oluşumunda rol oynar. Bu nedenle, kanserin önlenmesi ve tedavisi için hem genetik yatkınlığın belirlenmesi hem de sağlıklı yaşam tarzı seçimleri yapılması önemlidir (Yokuş *ve ark.*, 2012).

Kanser, genetik mutasyonlar ve hasarlar sonucunda hücrelerin kontrolsüz bir şekilde büyümesi ve yayılmasıyla ortaya çıkar. Bu mutasyonlar genellikle onkogenlerin aşırı aktivasyonuna veya tümör baskılayıcı genlerin işlevlerinin bozulmasına neden olur. Aynı zamanda DNA onarım mekanizmalarının etkisiz hale gelmesi de kanser gelişiminde rol oynayabilir.

Günümüzde kanser tedavisi için çeşitli yaklaşımlar bulunmaktadır:

1. Sitotoksik kemoterapi: Kanser hücrelerini öldürmek veya büyümelerini durdurmak amacıyla kullanılan ilaçlardan oluşan bir tedavi şeklidir. Bu ilaçlar, hızla bölünen hücreleri hedef alırken, sağlıklı hücrelere de zarar verebilir.
2. Cerrahi: Kanserli tümörün çıkarılması amacıyla yapılan operasyondur. Bu yöntem, kanserin yerine, boyutuna ve yayılma durumuna bağlı olarak kullanılır.
3. Radyoterapi: Yüksek enerjili ışınlar kullanarak kanser hücrelerini yok etmeyi amaçlayan bir tedavi şeklidir. Radyoterapi, kanserli bölgeye odaklanırken sağlıklı dokulara mümkün olduğunca az zarar vermeye çalışır.
4. İmmünoterapi: Bağışıklık sistemini kanserle savaşmaya teşvik etmek için kullanılan bir tedavi şeklidir. Bu tedavide, vücuttaki immün sistem hücreleri kanser hücrelerini tanımak ve hedef almak için uyarılır.
5. Hormonal tedavi: Hormonların kanser hücrelerinin büyümesini ve yayılmasını etkilediği kanser türlerinde kullanılır. Bu tedavi, hormonları bloke etmek veya hormonal düzeyleri değiştirmek yoluyla kanserle mücadele etmeyi hedefler.
6. Hedefe yönelik akıllı ilaç sistemleri: Kanser hücrelerinin belirli hedeflere yönelik olarak tasarlanmış ilaçlarla hedef alınmasını sağlar. Bu ilaçlar, kanser hücrelerindeki özel proteinlere veya moleküllere bağlanarak etki gösterir.

Bu tedavi yöntemleri, kanser türüne, evresine ve hastanın bireysel durumuna bağlı olarak kullanılabilir. Ayrıca, kanser tedavisi alanında sürekli olarak araştırma ve geliştirme çalışmaları devam etmektedir, bu nedenle yeni tedavi seçenekleri de ortaya çıkmaktadır (Herrero *ve ark.*, 2015).

Hedefe yönelik kanser tedavisi olarak adlandırılan yaklaşım, kanser hücrelerine yönelik daha spesifik ve hedefli bir tedavi sunmayı amaçlayan birçok farklı yöntemi kapsayabilir. Bu tedaviler genellikle kanser hücrelerinin büyümesini ve bölünmesini hedef alarak, sağlıklı

hücrelere minimal zarar verme amacını taşırlar. Hedefe yönelik kanser tedavileri arasında immünoterapi, hedefe yönelik ilaç tedavileri, genetik temelli tedaviler ve radyoterapi gibi yöntemler yer alabilir. Bu tedaviler genellikle tümör büyümesini kontrol etmeyi ve kanserin yayılmasını engellemeyi hedeflerken, yan etkileri azaltmaya yönelik geliştirilmektedir. Yan etkilerin azaltılması, hedefe yönelik kanser tedavilerinin geliştirilmesi sürecinde önemli bir hedef olmuştur. Geleneksel kanser tedavileri, sağlıklı hücrelere de zarar verebileceği için yan etkileri daha fazla olabilir. Hedefe yönelik tedaviler ise kanser hücrelerini daha spesifik bir şekilde hedef alarak, sağlıklı hücrelere minimum zarar vermeyi hedeflemektedir. Bu nedenle, yan etkilerin azaltılmasıyla hasta yaşam kalitesi artırılmaya çalışılır. Ayrıca, hedefe yönelik kanser tedavileri bazı kanser alt tiplerinde olumlu sonuçlar gösterebilir. Bu tedavilerin kanserin ilerlemesini geciktirme ve bazı durumlarda iyileşme sağlama potansiyeli vardır. Ancak, her kanser türü ve her hasta farklı olduğu için, tedaviye verilen yanıt ve iyileşme oranı da bireysel olarak değişebilir. Bu nedenle, her hasta için en uygun tedavi seçenekleri, kanserin türü, evresi ve diğer bireysel faktörlere bağlı olarak belirlenmelidir. Hedefe yönelik kanser tedavileri, kanser tedavisi alanında önemli bir ilerleme sağlamış olsa da, kesin bir tedavi yöntemi olmayabilir. Bu nedenle, kanser tanısı konan hastaların tedavi seçenekleri konusunda uzman doktorlarıyla iletişim kurmaları ve bireysel durumlarına en uygun tedavi planını oluşturmaları önemlidir ( Kumar, 2020).

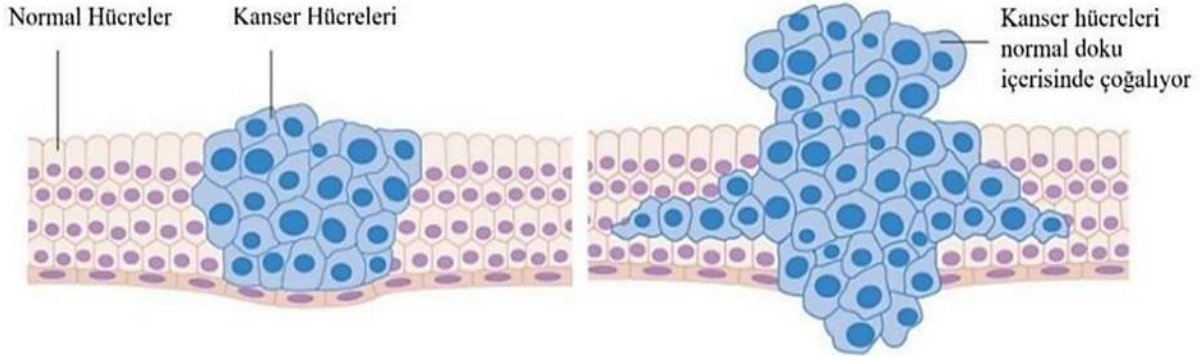
### **1.1 Amaç**

1. Tamoksifen ve klorambusil ilaçlarının ayrı ayrı iki boyutlu(2D) ve üç boyutlu(3D) meme kanseri ve rahim ağzı kanseri üzerindeki metastatik ve sitotoksik etkisinin araştırılması amaçlanmaktadır.
2. Tamoksifen ve klorambusil ilaçlarının birlikte iki boyutlu(2D) ve üç boyutlu(3D) meme kanseri ve rahim ağzı kanseri üzerindeki metastatik ve sitotoksik etkisinin araştırılması amaçlanmaktadır.
3. Tamoksifen ve klorambusilin iki boyutlu(2D) ve üç boyutlu(3D) meme kanseri ve rahim ağzı kanseri üzerinde *VEGFA* gen ifadesi üzerindeki etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

### **1.2. Kanser Biyolojisi**

Kanser hücrelerinin temel özelliği, büyüme yetenekleri ve çoğalma üzerindeki kontrollere yanıtın verilmemesi ile apoptozdan kaçmaktır. Kanser hücreleri telomer sınırlamasına sahip değildir. Ek olarak besin ve oksijen kaynağı sağlamak için kan

damarlarının oluşumunu uyarılır ve anjiyogeneze (damar oluşumu) neden olur. Normal dokuları istila edip bu dokularda normal süreçleri bozulur (Cree, 2011).



**Şekil 1.1.** Kanser Hücrelerinin Anormal Şekilde Çoğalımı (Alberts *ve ark.*, 2007).

Kanser hücrelerinin genotipinde, malign tümör hücrelerinin fizyolojisinde altı temel değişiklik gözlemlenebilir. Bu değişiklikler kanser hücrelerinin kontrolsüz büyümesine, yayılmasına ve diğer dokulara invazyon yapmasına neden olur. Bu değişikliklerin açıklamaları:

1. Büyüme sinyallerinde kendi kendine yeterlilik: Normal hücreler belirli büyüme faktörleri tarafından düzenlenir ve büyüme sinyalleri alarak çoğalırlar. Ancak kanser hücreleri, bu büyüme faktörlerine bağımlı olmadan kendi büyüme sinyallerini üretebilir ve böylece kontrolsüz bir şekilde çoğalabilirler.
2. Büyümeyi önleyici sinyallere karşı duyarsızlık: Normal hücrelerin büyüme süreci dengelenir ve büyümeyi önleyici sinyaller tarafından kontrol edilir. Ancak kanser hücreleri, bu büyümeyi önleyici sinyallere karşı direnç geliştirerek büyüme fren mekanizmalarını devre dışı bırakır.
3. Programlanmış hücre ölümünün engellenmesi (apoptozdan kaçma): Normal hücreler, yaşlanma, DNA hasarı veya diğer nedenlerle bozulduklarında programlanmış hücre ölümü (apoptoz) sürecine girerler. Ancak kanser hücreleri, apoptozu engelleyen mekanizmalar geliştirir ve bu sayede hücre ölümünden kaçabilirler.
4. Sınırsız replikasyon potansiyeli: Normal hücrelerin replikasyonu sınırlıdır ve belirli bir sayıda bölünme sonrasında yaşlanır veya ölürler. Bununla birlikte, kanser hücreleri telomer adı verilen koruyucu bölgeleri uzatarak sınırsız replikasyon potansiyeline sahip olurlar ve sürekli olarak çoğalabilirler.
5. Sürekli anjiyogeneze (damar oluşumu): Tümörler büyüdükçe, kendi kan damarlarını oluşturarak kan ve besin kaynağına ihtiyaç duyarlar. Kanser hücreleri anjiyogeneze

adı verilen süreci uyararak yeni kan damarlarının oluşumunu teşvik eder ve böylece tümörün büyümesi ve beslenmesi sağlanır.

6. Doku invazyonu ve metastaz: Kanser hücreleri normal doku sınırlarını ihlal ederek çevre dokulara invaze olabilirler. Metastaz ise kanser hücrelerinin başka vücut bölgelerine yayılması anlamına gelir (Weinberg, 2000).

Edinilmiş Yetenek: Büyüme Sinyallerinde Kendi Kendine Yeterlilik, Çoğu kanserin ortak özelliği olan aşırı hücre çoğalması durumudur. Normal hücrelerde büyüme sinyalleri protoonkogenler ile kontrol edilirken, protoonkogenlerde meydana gelen mutasyon veya dolaylı etkilerle artması sonucu onkogenler oluşarak kanser gelişimine katkıda bulunur. Ve onkogenlerin çoğu normal büyüme büyüme sinyalini taklit ederek hareket ederler (Pehlivanoğlu ve ark., 2019).

Edinilmiş Yetenek: Büyüme Karşıtı Sinyallere Duyarsızlık, Tümör baskılayıcı genler büyüme durduran proteinleri kodlarken, onkogenler hücre büyümesini uyaran proteinleri kodlar. Tümör baskılayıcı genlerin aktivasyonu ile oluşan büyüme baskılayıcı sinyaller hücreleri G0 fazında kalmaya ya da mitotik faza geçişini zorlayarak çoğalmayı durdurur (Pehlivanoğlu ve ark., 2019).

Edinilmiş Yetenek: Apoptozdan Kaçınma, Kanser hücrelerinin apoptoz (programlı hücre ölümü) kaçarak hayatta kalması ve yaşamını devam ettirmesi gerekir (**Memiş, 2021**). Apoptozun önemli aracı olan proteaz enzim grubuna ait kaspazlar, hücre morfolojik değişimine ve hücre yaşamı için önemli proteinlerin kesilmesini sağlar. Bunun sonucunda hücre parçacıkları denilen apoptotik cisimlerin son durakları başka hücrelerin lizozomlarıdır (Arslan ve ark., 2011).

Tümör gelişimi sonucu apoptozun engellenmesi durumunda metastaz oluşur. Ve tümör hücresi metastaz yapıp yayılım gösterebilmesi için kan dolaşımında yaşayarak diğer dokulara gitmesi gerekir (Şen, 2015).

Neoplastik (normal dışı büyüyen) hücreler, zararlı yani invaziv hale gelmedikleri sürece iyi huylu benignant tümör olarak etki gösterir. Ve sonucunda bir tedaviye bağlı olarak ortadan kaldırılabirler. Bir tümör kanser oluşturabilmesi için yayılım ve işgal yetenekleri fazla olan malignant tümörlere dönüşmesi gerekir (Alberts B, Johnson ve ark., 2008). Kanser hücrelerinin önemli özelliklerinden biri invaziv olmalarıdır. İnvaziv oluşları ile bu hücreler vücudun diğer bölgelerinde ikincil tümör oluşumlarını kan veya lenf damarları yoluyla yapabilirler. Bu sürece metastaz denir (Alberts B, Johnson ve ark., 2008).

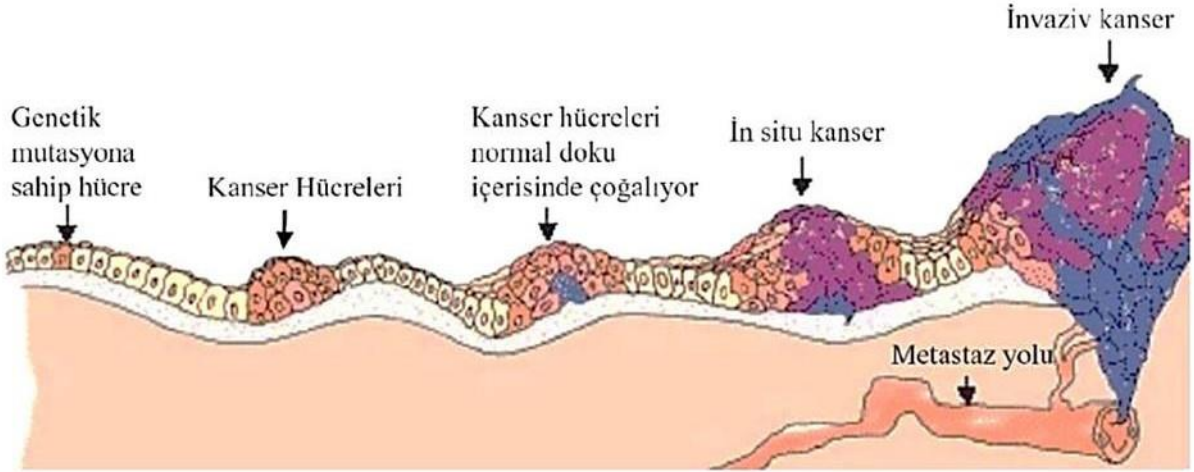
Tek bir hücre bölünmesinden köken alan primer tümör, bir takım değişikliklere maruz kalarak hızlı büyüme, hızlı bölünme ve uzun yaşama kabiliyetine sahip olurlar (Alberts B, Johnson ve ark., 2008).

Edinilmiş Yetenek: Sınırsız Tekrarlama Potansiyeli, Tümörü oluşturan hücreler sınırsız çoğalma ve bölünme yeteneğine bağlıdır. Yaşlanma ve mitotik krizden kaçabilmenin yanı sıra kendini yenileyerek bölünme potansiyeli gösterirler (Pehlivanoğlu ve ark., 2019).

Edinilmiş Yetenek: Sürekli Anjiyogenez, Kanser hücreleri, normal hücreler gibi besin ve oksijen almak için kan kaynağına ihtiyaç duyarlar. Bunun için de anjiyogenezi, yani yeni kan damarlarının oluşumu sürecini uyarırlar. Normalde, vücutta yeni kan damarları oluşumu kontrollü bir şekilde gerçekleşir. Ancak kanser hücreleri, bu mekanizmayı manipüle ederek kendi büyümelerini ve yayılmalarını desteklemek için anjiyogenezi teşvik ederler. Bu süreç, kanser hücrelerinin büyüebilmesi ve yayılabilmesi için önemli bir adımdır. Kanser hücreleri, anjiyogenezi uyararak yakınlarındaki normal hücreleri etkiler. Bunun sonucunda, yeni kan damarları kanser hücreleri tarafından beslenmek üzere büyür ve kanser tümörüne doğru yönelir. Bu yeni kan damarları, kanser hücrelerinin besin ve oksijen ihtiyaçlarını karşılar ve ayrıca kanser hücrelerinin vücudun diğer bölgelerine yayılmasını kolaylaştırır. Anjiyogenezi, kanser tedavisi ve araştırmalarında da önemli bir konudur. Kanser tedavisinde, anjiyogenezi inhibe eden ilaçlar kullanılabilir. Bu ilaçlar, kanser hücrelerinin kan damarlarına olan bağımlılığını azaltarak tümör büyümesini kontrol etmeyi hedefler. Ayrıca, anjiyogenezi araştırmaları kanserin daha iyi anlaşılmasına ve yeni tedavi yöntemlerinin geliştirilmesine yardımcı olur (Fidler, 2003).

Edinilmiş Yetenek: Doku İnvazyonu ve Metastaz, Normal hücreler daima vücutta buldukları lokasyonları korur. Bunun aksine kanser hücreleri başka doku ve organlara göç ederler. Metastaz olarak açıklanan bu durumda, malign tümörler diğer dokulara giderek arada ikincil tümör oluşumu sağlarlar. Bu durum ölümle sonuçlanabilir (Gupta, 2006).





**Şekil 1.2.** Kanser hücreleri doku ve organlara yayılım-metastazı (Alberts, Johnson, Lewis, 2002).

Kanserleşme üç gen grubundaki mutasyonlar sonucunda oluşur. Proto-onkogenlerin görevi, hücre canlılığını korur ya da hücrelerin çoğalmasını teşvik ederek etki göstermektedir. Fakat Proto-onkogenlerde oluşan mutasyonlar sonucunda onkogenler oluşarak büyümenin teşviğine ve genin aşırı aktif olarak ifade (ekspresyonu) seviyesinin artmasına böylece kanser oluşumuna sebep olmaktadır. Tümör baskılayıcı genlerin görevi hücrenin canlılığını ya da hücrenin çoğalmasını engelleyerek apoptozu teşvik eden proteinleri, hücre döngüsü ilerlemesini engelleyen inhibitörleri ya da inhibitör sinyal yolağı bileşenlerini üretir. Tümör baskılayıcı genlerde oluşan mutasyon sonucunda kontrolsüz hücre çoğalması ve yaşamasına izin verilerek kanser oluşumu gözlemlenir. Son gen grubu olan koruyucu genler, genomun bütünlüğünü koruyarak DNA hasarı ya da onarımından sorumludur. Bu genlerin ürünleri DNA tamir enzimleridir. Ve bu genlerde oluşan mutasyonlar sonucunda mutasyonların birikimi ile kanserleşme evresi başlamış olur.

**Hücre Döngüsü ve Hücre Döngüsüne Etki Eden Faktörler;** Hücre döngüsü, hücrenin yaşamı boyunca meydana gelen olaylar sırasıdır. Bu olay ökaryotik hücrelerde olur. Çok uzun süren İnterfaz ve kısa süren mitotik faz olarak iki ana evreden oluşan bu döngüde, interfaz evresi G<sub>0</sub>, G<sub>1</sub>, S, G<sub>2</sub> aşamalarından oluşarak hücre büyümesini gerçekleştirir. Mitozda ise hücre bölünmesi gerçekleştirilerek hücreler belli görevli proteinler ve faktörler ile yaşamını bu evrelerde sürdürür. Hücre döngüsünde kontrol noktaları mevcut. Bu kontrol noktalarında görev alan bazı proteinler, onkogenler ve tümör baskılayıcı genler olarak bilinmektedir. İnterfaz evresi aşamalarına bakıldığında, öncelikle G<sub>1</sub> evresi ile, organel sayısı ve protein sayılarının arttığı böylelikle S fazına hazırlığın olduğu evredir. Bölünmesi

duran hücreler G bir evresinden G sıfıra geçip dinlenme evresine geçmiş olurlar. G bir evresinden, sentez evresine geçildiğinde DNA replikasyonu gerçekleşir. Buradan G2 evresine geçilerek sentez devam eder ve mitoz aşamasına hazırlık başlar (Hanahan *ve ark.*, 2000). Mitoz evresinde, mitoz ve sitokinez gerçekleşerek hücreler bölünmüş ve tekrar döngünün devam etmesi için G1 evresine geçerek döngü devam eder. Hücre döngüsü kontrolünde, kontrol noktaları vardır ve bu kontrol noktalarında işlev gören proteinler düzeni sağlamış olur. Hücre büyümesini büyüme proteinleri uyarır. Protoonkogenler, mutasyona uğrayıp onkogene dönüşür ve kansere neden olurlar. Örneğin P53 tümör baskılayıcı genidir. P53 tümör baskılayıcı geni doğrudan DNA'ya bağlanarak P21 gibi hücre bölünmesini engelleyen proteinler üretir.. Yani kanseri baskılamak için önemli bir işlev gören protein olup hücre bölünmesi kontrol altında tutularak hücrelerin gereksiz bölünmelerinden kaçınılır.

### 1.3 Meme Kanseri

Dünyada'da kadınlarda görülen meme kanseri, tüm kanserler içinde  $\frac{1}{4}$  oranında gözlemlenerek kanserlerin en başında yer almaktadır. Erkek ve kadınlar birlikte değerlendirildiğinde ise, akciğer kanserini geride bırakarak ilk sırada meme kanseri gelmektedir. İstatistik verilerde kanser ölüm nedenlerine bakıldığında ise ilk sıralarda meme kanseri gelmektedir (Espie *ve ark.*, 2013).

Hem erkeklerin hem de kadınların göğsü vardır (Akram *ve ark.*, 2017). Meme kadınlarda, farklılaşan ve süt üretimi için gerekli olan bir ter bezidir. İlk olarak süt üreten bir lobül sistemi ve bunu meme başına aktaran duktus sisteminin birleşimi ile oluşmaktadır. Sekonder bir seks organı olması ve aynı zamanda memeye şeklini veren yapılar, deri, yağ dokusu sinirler, bağ doku, zengin kanlanma ve lenfatik yapıdır. Meme kanseri gelişmeden önce belli aşamalardan geçer ve bu durum on yıllarca sürebilmektedir. Bunlar, duktus epiteli, atipik duktal hiperplazi, duktal karsinoma insitudur ve sonunda meme kanseri gelişir. Meme kanseri erkeklerde de görülmektedir. Fakat bu durum ender olarak kadınlara oranla klinikte az sayıda gözlemlenir. Bir erkek meme kanserine karşılık olarak, 100-200 kadın meme kanseri ile karşılaşılır. Genel olarak meme kanseri, 40 yaş ve üzeri kadınlarda ağırlıklı görülmektedir (Aydınтуğ, 2004). Meme kanseri, meme bezlerinde ortaya çıkan farklı malignitelerin bir toplu ifadesidir. Meme kanserlerinin çoğunluğunu karsinomlar oluştururken, filloid tümörler ve anjiyosarkomlar gibi sarkomlar nadiren görülmektedir (Yixia *ve ark.*, 2018). Meme kanserinde, çevresel faktörlerin etkisi büyük bölümünü oluşturmaktadır. Meme kanserinin etiyolojisinde yer alan çevresel faktörler; radyasyon, viral

enfeksiyonlar, elektromanyetik alanlardır. Çevresel kimyasalların işlevi, DNA'da hasar oluşturarak tümör oluşturur ve gelişimini tetikler. Aynı zamanda meme bezinin gelişimini değiştirerek etki gösterir ve bu sayede duyarlılığı arttırmış olur. Tekrar etiyojoloji açısından bakıldığında meme kanseri üzerinde etkili çevresel kimyasallar, östrojen taklidi yapanlardır. Buna örnek olarak kadminyum verilebilir. Özellikle 20 yaş altında radyasyona kalım sonucunda meme kanseri riski artmaktadır (Brenner *ve ark.*, 2003).

Çevresel faktörler olarak; sigara, alkol, beslenme, obezite, hormon replasman tedavisi, aile öyküsü ve genetik yatkınlık ile meme kanseri üzerindeki etkileri 6 başlık altında ele alınabilir.

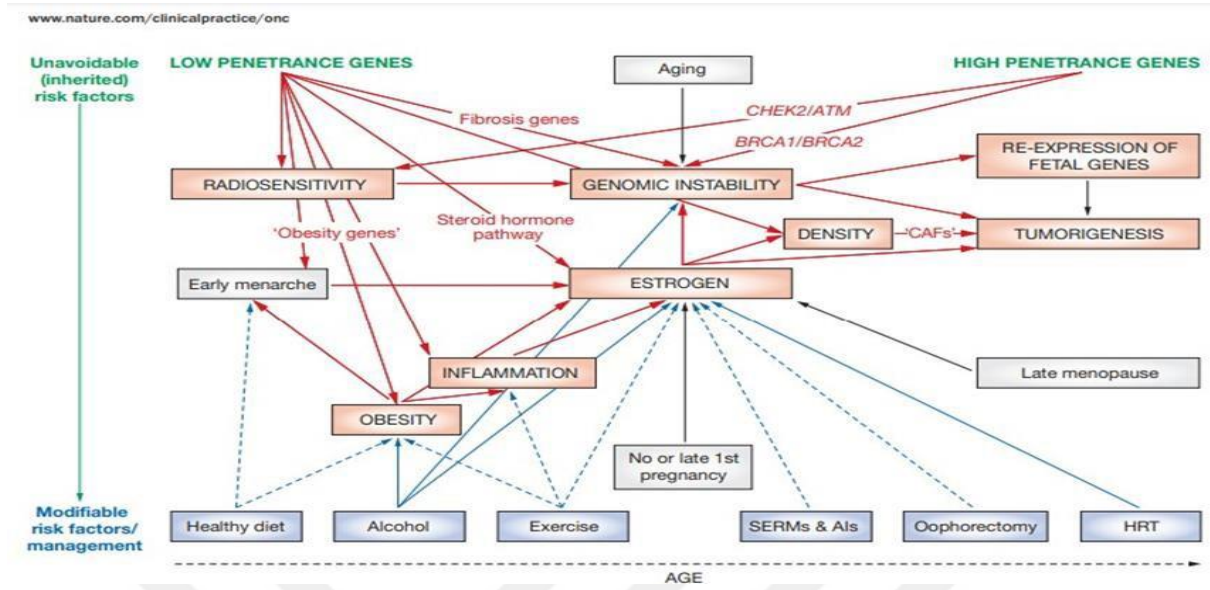
**Sigara**, meme kanseri üzerinde etkisi Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı'na göre, deney hayvanları üzerinde sigara dumanında 60'tan fazla karsinojen bulunmaktadır. Çok fazla ve devamlı sigara kullanan kadınların meme dokularında, *P53* gen mutasyonu ve DNA hasarlarının sigara içmeyenlere göre daha fazla olduğu gözlemlenmiş ve buna göre veriler elde edilmiştir. Ailesinde de kansere genetik yatkınlığı olan bireylerde, buna ek olarak sigara içiminde meme kanseri riskini arttırdığı gözlemlenmiştir (Şen *ve ark.*, 2014). Beslenmenin meme kanseri üzerine etkileri baz alındığında, bazı besinlerde yağ ve şeker oranlarının fazla oluşu aynı zamanda kızarmış yiyecekler meme kanseri üzerinde olumsuz sonuçlar doğurmaktadır ve riski artırır. Meyve, sebze, balık tüketimlerinin antikanserojenik etkilerinden dolayı meme kanseri riskini azalttığı gözlemlenmiştir (Marzbani *ve ark.*, 2019).

**Alkolün** meme kanseri üzerindeki risk etmeni, özellikle yetişkin kadınların günlük alkol tüketimi neticesinde, meme kanseri riski %8-10 artmaktadır. Diğer organlara oranla meme alkolün karsinojen etkilerine daha fazla maruz kalan bir organdır. Hatta hafif alkol tüketimi bile meme kanseri riskini %4-10 oranında etkilemektedir. Alkol kullanımı kadınlarda östradiyol seviyeyi arttırarak meme yapısı yoğunluğunda artış ve farklılık saptamaktadır (Freudenheim *ve ark.*, 2020).

**Obezite**, meme kanseri ilerlemesinde büyük risk faktörüdür. Diğer faktörlerden biri de **hormon replasman tedavisidir**. Bu tedavi genellikle menopoz semptomlarını azaltmak amacıyla kullanılır. Olumlu etkileri olduğu gibi olumsuz etkileri de meme kanseri riskini arttırmasıdır. Sadece östrojen içeren bir tedavi olmasından dolayı uzun süreli kullanımı meme kanserinde risk oluşturmaktadır (Azam *ve ark.*, 2018).

**Aile öyküsü ve genetik yatkınlık** faktörünün meme kanseri risk ölçütünde büyük yeri vardır. Günümüzde kalıtsal olarak meme kanseri genleri saptanmıştır. Bunlardan biri de *BRCA1* ve *BRCA2* genlerindeki mutasyonlardır. Özellikle bu genlerdeki mutasyonlar meme ve

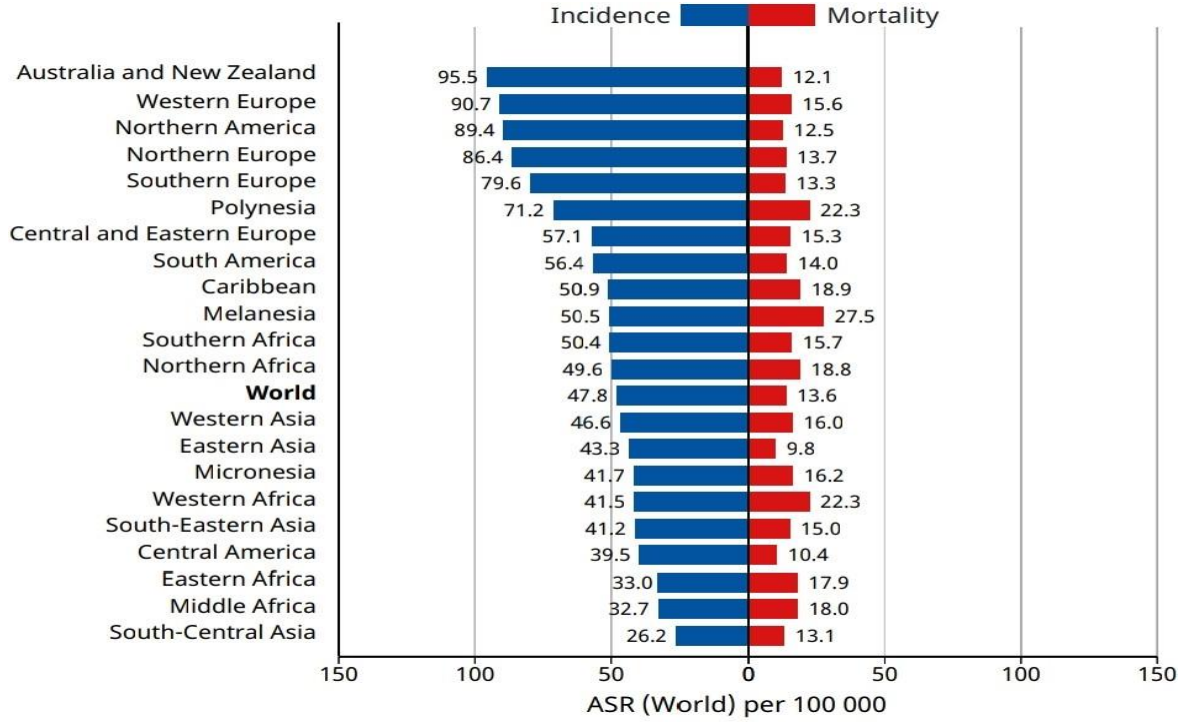
yumurtalık kanserinde büyük ölçütlerde risk oluşturabilir (Angeli ve ark., 2020).



Şekil 1.3. Meme kanserinde etkili olan risk faktörleri (Howell ve ark., 2014).

### 1.3.1 Meme Kanseri Epidemiyolojisi

Meme kanseri, en sık kadınlarda görülen ve %30'unu oluşturan kanser türüdür. Kadınlarda kanser sebebi ile gelişen ölümlerin en başında %15 olarak meme kanseri yer almaktadır. Dünyada gelişmekte olan ülkelerde, meme kanseri oranları yüksek ve orantısız artışlar göstermektedir. Son 20 yıl içerisinde istatistiklere göre yeni tanı alınmış vakaların %55'i, ölüm oranlarının ise %58'inde artış olduğu tahmin edilmektedir. Ülkemizde yapılan araştırmalara göre, 4300 kadının meme kanserine bağlı olarak 2019 yılında öldüğü gözlemlenmiş ve bildirilmiştir. Kadınlarda özellikle erken yaşlara düşen meme kanserinde, tanı koyulan her dört kadının birinde meme kanseri tanı ve teşhisi görülmektedir (Köksal, 2022). WHO verilerine göre, 2020 yılında yeni tanısı konulan hastalarda 2.3 milyon meme kanseri ve buna bağlı molaritesi ise 627 bin olduğu açıklanmıştır. Çevresel faktörlerin etkisi ile dünyanın her yerinde farklı molarite, sağkalım, insidans önemli ölçülerde farklılık gösterir. Bu çevresel ve genetik faktörler; yaşam tarzı, nüfus yapısı, beslenme tarzı ve aile öyküleri olarak karşımıza çıkmaktadır (Momenimovahed ve ark., 2019).



**Şekil 1.4.** Kadın Meme Kanseri 2020 Molarite ve Bölgeye Özgü İnsidans (Sung ve ark., 2020).

Türkiye’de meme kanseri görülme sıklığının batı ve doğu bölgelerinde araştırılması üzerine oluşturulan bir çalışmada, batıda, doğuya göre iki kat fazla meme kanseri tanısı konulmuştur. Bu durumda bölgeye göre farklılık gösteren kadınların beslenme ve yaşam tarzı farkı, hormon replasman tedavisi kullanımları, laktasyon sürelerinin farklı oluşu durumundan kaynaklandığı gösterilmiştir. Meme kanseri riskini arttıran gen mutasyonları, aile öyküsü, yaş, reproduktif öykünün olması, meme yapı farklılığı, cinsiyet gibi meme kanseri risk faktörleri, bireyin kontrolü dışında gelişmektedir. Fakat bu kişilerin, sağlıklı yaşam ve beslenme düzeni, aynı zamanda düzenli kanser taramaları ile destekleyerek kanser gelişiminin önlenmesi veya erken tanı olasılığının artmasını sağlamaktadır (Köksal, 2022)

### 1.3.2 Meme Kanseri Türleri

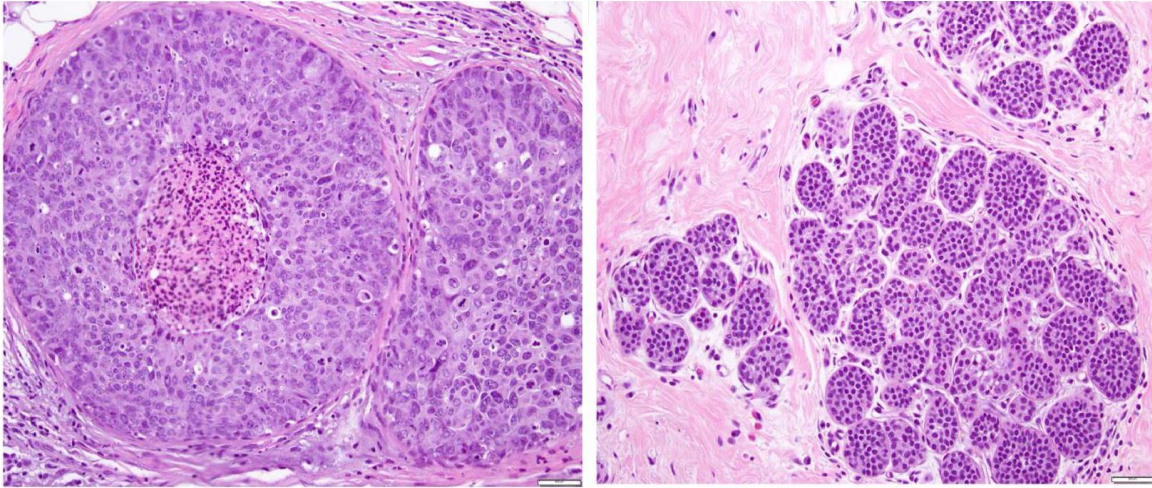
Meme kanseri, biyolojik davranışına ve ışık mikroskopik görünümüne göre ikiye ayrılmaktadır; invaziv ve in situ (veya non-in vaziv) meme kanseri, kanallar, arkadaki dokular veya lobüller olarak memenin farklı bölümlerinde çıkabilir ve buna göre ayrılmaktadır. Meme kanserinin tipi etkilenen hücrelere bağlı olarak gelişir. Hücre kaynağının hangisinin dahil olduğu duruma göre meme kanseri, malignant tümörlerin geniş alanında karsinomlar ve sarkomalar olarak iki geniş sınıfa ayrılır. Karsinomalar, terminal kanalları kaplayan hücrelerden ve süt yapımından sorumlu lobülleri kaplayan hücrelerden oluşan epitel bileşenlerden



kaynaklanan meme kanseri türüdür. Sarkomalar ise, memenin fibroblastları ve kan damarı hücrelerini içeren stromal bileşenlerden kaynaklanan nadir görülen meme kanseri türüdür. Çoğu meme kanseri karsinom türüdür. Büyük olan karsinom grubunda, primer tümör bölgelerine ve invaziv oluşlarına göre ayrılırlar (Feng ve ark., 2018).

#### 1.3.2.1 Non-invaziv (in situ) meme kanseri;

Bu tür invaziv olmayan meme kanseri, bulunduğu kanal veya lobüllerden uzağa yayılarak etki gösterir. İn situ meme kanseri iki gruba ayrılmaktadır: Yerinde Lobüler karsinoma in situ (LCIS) ve Yerinde Duktal karsinoma in situ (DCIS) Yerinde Duktal karsinoma in situ (DCIS), en yaygın meme kanseri türlerindedir. Önceden var olan ve normal kanalların içinde gelişen DCIS, invaziv olmayan kanser türüdür (Feng ve ark., 2018). Bu kanser hücreleri, yağlı meme dokusuna veya vücudun herhangi bir bölgesine yayılım göstermez. Yalnızca memedeki süt kanalları ile sınırlı kalmaktadır (Rosen ve ark., 1998). Yerinde Lobüler Karsinoma İn Situ (LCIS), bu tip meme kanseri, meme lobüllerine dönüşerek etki göstermektedir. Bilinen non-invaziv meme kanseri türüdür. Lobülün iç tabakasında başlayarak, lobülün dışına yani bazal membrana çıkamamıştır. Meme kanseri üzerinde risk taşımaktadır (Akram ve ark., 2017).



**Şekil 1.5.** Yerinde duktal karsinoma in situ ve yerinde lobüler karsinoma in situ mikroskopgörüntüsü ( Brogi, 2017).

### 1.3.2.2 İnvaziv meme kanseri

Meme kanserlerinin çoğu invaziv tiptedir. İnvaziv olan meme kanser hücrelerinde, memenin çevresindeki yağ ve bağ dokularına yayılımları kanal ve lobüler duvarı geçerek gerçekleşir. Meme kanserinde invaziv form teşhisi kadınların 50-55 yaş üzeri olduğu istatistiksel olarak yorumlanmıştır. İnvaziv form meme kanseri, vücudun lenf düğümlerine, diğer bölgelerine yayılma özelliği göstermektedir. Bu nedenle invaziv meme kanseri türü metastatik grupta yer almaktadır (Feng *ve ark.*, 2018). Meme kanserinin belirli sayıda alt tipleri ve dağılımları mevcuttur. Bunlar, Luminal A, Luminal B, Üçlü negatif benzeri meme kanseri, HER2 ile zenginleştirilmiş meme kanseridir.

**Luminal A:** Luminal A tümör hücrelerinde progesteron reseptörü pozitif, östrojen reseptörü ise negatiftir. Fakat, HER-2 için negatiftir. Luminal tümör hücreleri %70 oranla en iyi

prognoza sahip hücrelerdir ve meme kanallarını kaplayan iç hücrelerin bulunduğu yapılarda oluşurlar. Diğer tip hücrelere göre ise geç ve yavaş büyüme eğilimi gösterirler.

**Luminal B:** Luminal B tümör hücreleri kanserin kısmen %20'sini oluşturmaktadır. Luminal B hücreleri için progesteron reseptörü ve östrojen reseptörü pozitiftir. Fakat, HER-2 hem pozitif hem de negatif olabilir. Daha kötü prognoza sahip bu hücreler, kadınlarda daha genç yaşta tespit edilmiştir. Diğer hücrelere göre hızlı büyürler.

**HER-2 ile zenginleştirilmiş:** HER-2 ile zenginleştirilmiş tümör hücrelerinde progesteron ve östrojen reseptörü negatiftir. Fakat HER-2 pozitiftir. Meme kanserinin %10-15 alanını kapsamaktadır. Bunların prognozu kötüdür ve metastaza fazla eğilimli yapılardır. Diğer gruplara göre ise, hızlı büyüme gerçekleştirirler. Luminal A ve Luminal B tümörlerine sahip kadınlardaki yaş sınırlarından çok daha genç yaşta ortaya çıkmaktadır.

**Üçlü Negatif/Bazal Benzeri meme kanseri (TNBC):** Üçlü negatif meme kanseri progesteron (PR), östrojen (ER) ve HER-2 için negatif etki gösterir. Bu sebepten dolayı hedefe yönelik tedavilerde antihormonel tedaviye yanıt veremezler. Bu yüzden sitotoksik ilaçlar kullanılabilir. Meme kanserinin yaklaşık olarak %15-20'sini oluşturmaktadır. Üçlü negatif bazal benzeri meme kanserinde BRCA1 genindeki mutasyona sahip kadınlar 40 yaşından küçük olduğu gözlemlenmiştir. Ve bu kansere sahip olan ülke çoğunlukla Afrika-Amerika kadınlarında görülmektedir. Negatif meme kanseri TCNF, diğer meme kanseri hücrelerine göre daha kısa ve daha kısa prognoza sahiptirler (Fragmoni *ve ark.*, 2018).

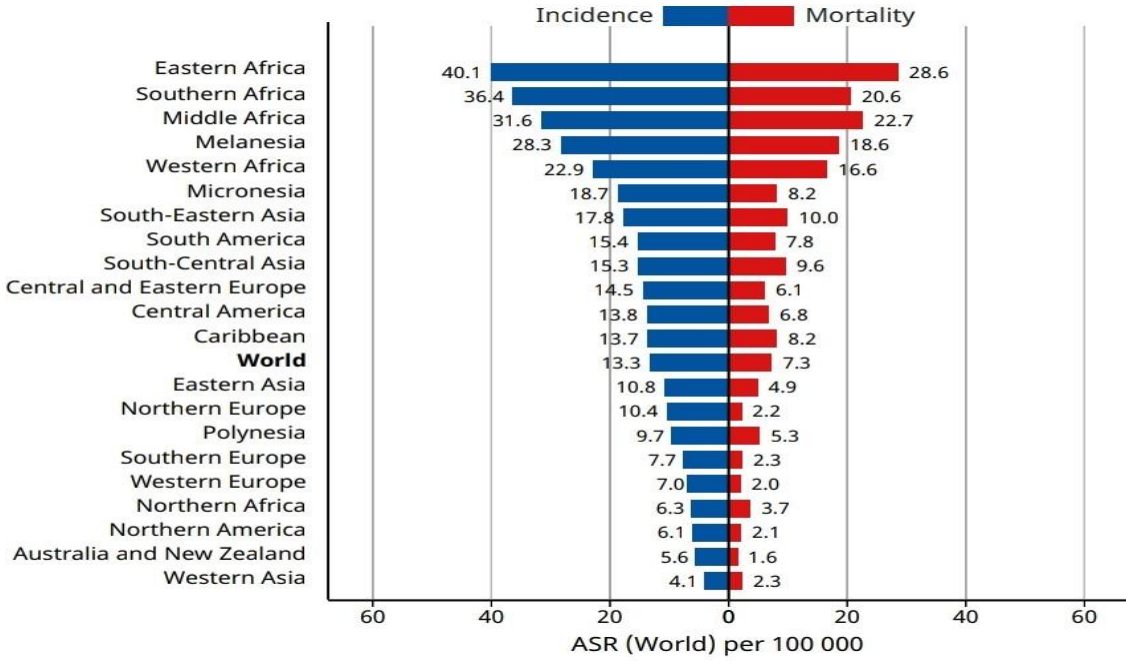
## **1.4 Rahim Ağzı Kanseri**

Jinekolojik kanser, kadın genital sistem kanserlerinden birisidir. Ve bu kanserler kadın genital organının kötü huylu (malignant) hastalıklarıdır. Jinekolojik kanser, genellikle kadın kanserlerinin tümünde 1/5 oranı saptarlar. Kadın sağlığı üzerinde olumsuz etkilerinin fazla olduğu gözlemlenen jinekolojik kanser, vulva, vajina, endometrium, serviks, over kanserlerinden oluşur. Ele alacağımız serviks kanseri, jinekolojik kanser arasında yer alan bir rahim ağzı kanseridir (Bekar, 2010). Kadında serviks rahim ile vagenin birleştiği bölge kadın üreme organı olan rahim ağzı organıdır ve rahmin alt bölümünde yer alır. Rahim ağzı organından dolayı oluşan kansere, 'serviks kanseri' denilir. Dünyada meme kanserinden sonra ikinci sırada gelen serviks kanseri geri kalmış veya gelişmemiş ülkelerde ölüm nedeni olmaktadır. Gelişmekte olan ülkelerde serviks kanseri, halen gelişmemiş yeni teknoloji sıkıntısı olması nedeniyle düzenli bir tarama olmaması sonucu büyük bir sorun teşkil etmektedir. Bunların neticesinde serviks kanserinin tanı ve evreleme teşhislerinde, görülme sıklıklarında, risk faktörlerini belirlemede, koruma ve aynı zamanda tedavi yöntemleri büyük önem taşımaktadır. Gelişmekte olan ülkelerde, ciddi sorun teşkil eden rahim ağzı-serviks kanseri, gelişmiş ülkelerde ise ölüm oranlarının ve çoğalımının önemli ölçüde azaldığı gözlemlenmiştir. Fakat yine de tıbbi yetersizlikte olan ülkelerde risk olarak fazla ölümlere sebep olmaktadır (Güner ve Taşkiran 2017).

### **1.4.1 Rahim Ağzı Kanseri Epidemiyolojisi**

Rahim ağzı kanseri, Amerika Birleşik Devletleri'nde meme kanseri ve cilt kanserinden sonra sıklıkla kadınlarda üçüncü sırada görülmektedir. Bu durum gelişmekte olan ülkelerde, kadınlarda en sık görülen kanserlerden biri olduğu ve tüm kanserlerin %25'ini oluşturduğu gözlemlenmektedir. Fakat dünya genelinde kadınların kanserden ölümlerinin başlıca nedeni meme kanseri türüdür (Burd, 2003).





**Şekil 1.6.** WHO Uluslararası Kanser Arştırma Verileri Ajansı 2020

Serviks (rahim ağzı) kanseri, dünyada bir zamanlar kanser sebepli ölümlerin en sık nedenlerinden biri olarak kadınlarda görülmekteydi. Uluslararası veri insidansına göre, 2018 yılı Türkiye’de 2500 kadına yaklaşık olarak rahim ağzı kanseri tanısının konulduğu ve yaklaşık olarak yine 1200 kadının da rahim ağzı kanserinden öldüğü tahmin edilmekte ve analiz sonucu ile verilendirilmiştir. Kadınların rahim ağzı kanserine erken dönemde yakalanması sonucu, tanı konulması ardından 5 yıllık yaş süreleri %85 üzerinde olabilmektedir. Yaklaşık olarak %25 oranda 65 yaş üzeri kadınlarda teşhis edilen rahim ağzı kanseri, 30-50 yaş aralığına sahip kadınları daha çok etkileyeceği düşünülmektedir. Serviks kanserinin 40 yaş altı kadınlarda en sık üçüncü kanser tipi olduğu bilinmektedir. Adenokarsinom ve skuamoz hücreli karsinom olarak iki ana tipe ayrılan rahim ağzı kanserinde, adenokarsinom serviks kanalında bulunan glandüler hücrelerden köken alırken; skuamoz karsinom hücreleri ise, serviks dış yüzeyinde bulunan skuamoz epitel hücrelerden kök olarak etki göstermektedir (Durmaz ve ark., 2021). Rahim ağzı kanserine yönelik farklı taramalar mevcuttur ve kadınlarda rahim ağzı kanserinin azalmasını destekleyen bu taramalara rağmen, halen günümüzde kadınlar rahim ağzı kanseri nedeni ile ölmektedir. Bu sebeple, rahim ağzı kanserinin tanısına yönelik tutumlar ve bu tutumları etkileyen risk faktörleri bilinmelidir (Sivri ve ark., 2015). Rahim ağzı kanseri, eksternal bir genital organdır ve bu nedenle özellikle karsinogenezi hakkında bilgi edinilmesi kolay olmaktadır. Bu kansere özgü erken tanı tedavi sağlanması ve etkin tedavi yöntemlerinin oluşu, rahim ağzı kanserinin preinvaziv evresinin olmasından kaynaklanmaktadır (Kanbur ve

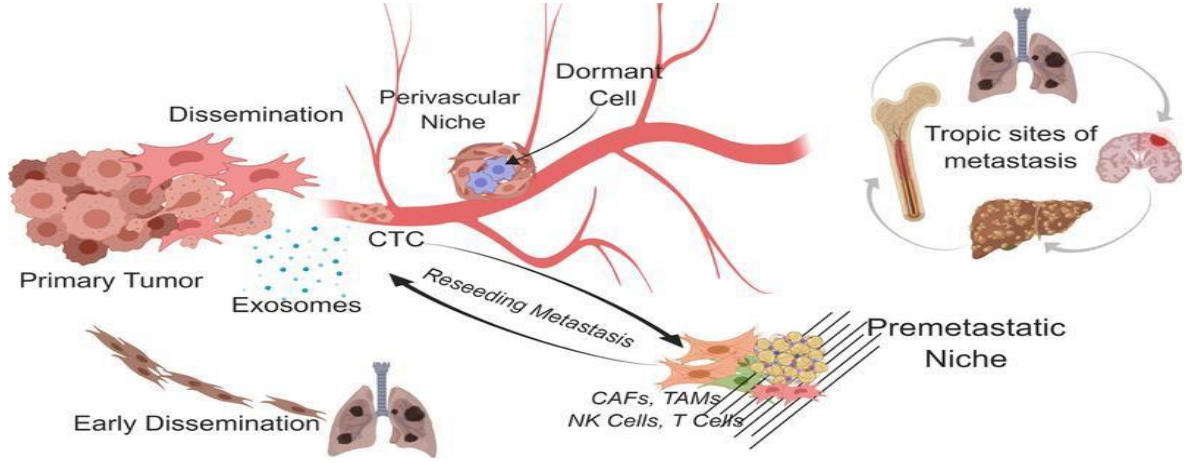
ark., 2011). Rahim ağzı kanserinin riskini arttıran farklı faktörler; viral enfeksiyonlar, cinsel öykü, doğum sayısı, sigara kullanımı, oral kontraseptif kullanımı, kötü genital hijyen alışkanlığı, sosyo- ekonomi durumu olarak ayrılabilir.

**Viral enfeksiyonlar**, genital olan HPV ve rahim ağzı kanser ilişkisi ilk olarak, 1980 yıllarının başında Alman virolog Harold Hausen tarafından incelenmiş ve ortaya çıkmıştır. 1996 yılında ise Dünya Sağlık Örgütü, Avrupa Genital Enfeksiyon Araştırma Örgütü tarafından HPV'nin rahim ağzı kanserinde en önemli risk etmeni olduğu kabul edildi (Burd, 2003). Rahim ağzı kanseri inatçı ve uzun süren risk etmeninde büyük rol oynayan, HPV (human papilloma virüsü)'nün enfeksiyonu sonucunda oluşmaktadır. Rahim ağzı kanserine yol açan yaklaşık olarak 15 HPV (human papilloma virüsü) yüksek riskli olarak tanımlanmıştır. HPV tip 16 ve HPV tip 18 Türkiye'de en sık görülen ve rahim ağzı kanserine yol açan yüksek risk grubu HPV tipleridir. Genellikle cinsel aktivite sırasında gerçekleşen olayda, HPV bazal hücre tabakalarına yerleşerek çoğalmı gösterir ve sonucunda çekirdek içersinde replikasyon göstererek çoğalmı gerçekleşir. Hücre iç kısımlarına ilerleyen virüsün parçacıkları birer enfeksiyon halinde ortaya çıkmaktadır. Bu durum özellikle cinsel yönden aktif kadınların %60-70'inde ortaya çıkarak etki göstermektedir (Ceyhan ve ark., 2012). 40 yaşından küçük kadınlarda, adenokarsinomlarında %90'ında yüksek oranda HPV bulunuyorken, 60 yaş ve üzeri kadınlarda ise yaklaşık olarak %43'ünde HPV saptanmıştır. HPV virüsün bulaşımı, öncelik olarak cilt-cilt teması sonucu gerçekleşir. Isıya ve korumaya karşı çok dirençli olan HPV, kontamine giysilerin ortak kullanımı sonucunda da cinsel olmayan yol ile bulaşma olasılığı yüksektir. HPV virüs bulaşımının yüksek risk etmenleri arasında; genital siğil, penis kanser öyküsü, erken yaş cinsel aktivitesi, kişide cinsel yolla bulaşan hastalık etmeni, korunmayan enfekte anal dokular olarak sıralanabilir (Burd, 2003). Günümüzde rahim ağzı kanseri gelişiminde mutlaka HPV virüsünün etkisi olmaktadır. Diğer risk faktörleri ile karşılaşıldığında ise kanser gelişim sürecinin hızlandığı gözlemlenmektedir. Human Papilloma Virüs'ünün önlenmesine karşılık koruyucu aşılar keşfedilmiştir ve kullanılmaya hazır hale gelecektir. Bu sayede rahim ağzı kanserinin önemli ölçüde azalması beklenmektedir. **Cinsel öykü**, cinsel ilişkiye girme yaşının erken olması, ilk doğumun erken olması ve birden fazla cinsel ilişkiye girme maruziyeti sonucunda rahim ağzı kanseri riski artmaktadır. Cinsel ilişki esnasında kullanılan kondom bu riski azaltabilir. Diğer risk faktörlerinden biri ise, menstrasyon döngüsünün erken yaşta olmasıdır. Olgunlaşma yaşı yaklaşık olarak 25 olan rahim ağzı hücrelerinin bu sebeple gençlerde HPV enfeksiyonunun gelişimine sebep olabilmektedir (Haberal ve ark., 2007). **Doğum sayısı**, doğum öncesi ve sonrası stres ve travmalar, gebe kadınlardaki hormon değişimleri, meydana gelebilecek olan HPV enfeksiyonları ya da üç ve üzerinde doğum sayısı karsinogenezi

hızlandırır ve bu sayede rahim ağzı kanseri risk faktörlerinden biri haline gelmektedir. **Sigara kullanımı**, aktif sigara kullanan kadınların rahim ağzı kanserine yakalanma riski kullanmayan kadınlara oranla daha fazladır. Halen mekanizması bilinmeyen, sigara ve HPV etkileşimi sonucunda birincil kötü huylu hücrelerin gelişimi olduğu söylenmektedir. Sigara içimi doğrultusunda invaziv gelişimin arttığı gözlemlenmiştir. Bu sebeple büyük bir risk faktörüdür (Türkdemir *ve ark.*, 2003). **Oral kontraseptif kullanım**, HPV virüsü olan kişilerde oral kontraseptif kullanımı sonucu rahim ağzı kanseri riski artışı gözlemlenmiştir. Yapılan bir çalışmada HPV pozitif kadınların oral kontraseptif kullanımı rahim ağzı kanseri 4 kat arttırdığını ortaya çıkarmaktadır. Bırakılması doğrultusunda ise risk etkeninin azalmaya başladı gözlemlenmektedir (Türkdemir *ve ark.*, 2003). **Genital hijyen alışkanlığının kötü olması**, menstrasyon ve genital hijyenin kötü olması durumunda kadınlarda rahim ağzı kanseri risk artışı gözlemleniyor. Hijyenik olmayan ped kullanımları veya vajinal temizlik uygulanmasının doğru olmadığı durumda enfeksiyon artışı ve vajinal bakterilerin gelişimin artması sonucu ile kanser riski büyük oranda saptanabilmektedir (Altuntaş, 2007). **Sosyo-ekonomik durum**, özellikle gelişmemiş ülkelerde sosyo-ekonomik durumun az olduğu saptanmış ve buna bağlı olarak rahim ağzı kanserinin görülme sıklığı artmıştır (Altuntaş, 2007).

### 1.5 Metastaz ve İnvazivite

Tümör metastazları, kansere bağlı ölümlerin yaklaşık %90'ından sorumludur (Kowalski *ve ark.*, 2015). Bir tümör hücrelerinin başarılı bir şekilde metastaz yapması farklı olaylara bağlıdır. Bu olaylara 'metastatik kaskad' adı verilmektedir. Aslında bu süreç doğrultusunda kanser hücreleri ve diğer hücreler arasında hücre-hücre ve hücre-matriks yapışmasındaki değişikliklerle süreç takip edilir. Metastaz gelişimi, primer kanser hücrelerinin bölgelerini terk eder ve kan dolaşımında kan dolaşımında yer edinerek kan damarlarına basınç doğrultusuna bağlı olarak ilerleyiş göstermektedir. Gelmiş olduğu ikincil yani sekonder bölgedeki yeni hücresel ortama adaptasyon sağlayarak, bağışıklık hücreleriyle mücadele etmesi kanser hücrelerinin metastaz yapma eğiliminin kaçınılmaz ilk basamağıdır (Fares *ve ark.*, 2020).



**Şekil 1.7.** Kanser süreci metastaz modeli (Sühail ve ark., 2019).

Metastatik kaskad, genel olarak üç ana süreçte etki göstermektedir: İstila, intravasyon ve ekstravasyon başlıkları altında incelenir. Hücre-hücre ayrımındaki yapışma kapasitesi azaldığında malignant hücrelerin primer yani birincil tümör kitlesinden ayrılmasını sağlar. Hücre-matriks etkileşimleri arasındaki değişimler sayesinde, hücreyi çevreleyen stromanın istila olması sağlanarak bazal membran ve hücre dışı matriks (ekstraselüler matriks) yapıyı bozmak için belirli maddelerin salgılanması sağlanır. İlk olarak, kötü huylu tümör hücreleri anjiyogenez (damar oluşumu)'nu uyararak metastazı başlatırlar. Sonrasında komşu hücrelerle olan bağlarını koparırlar ve primer yani birincil tümör dokusundan ayrılmış olurlar. Daha sonra tümör hücreleri ekstraselüler matrikse geçerek burada ilerleyip ya çevredeki dokulara ulaşım sağlarlar ya da dolaşım sistemine geçerek uzaktaki doku ve organları işgal ederler. Bu sayede yaşam ve çoğalmalarını sürdürerek yayılım göstermiş olurlar (Fares ve ark., 2020).

### 1.5.1 Meme Kanseri Metastazı

Meme kanserinin metastatik duruma geçişi 4 evreden oluşmaktadır;

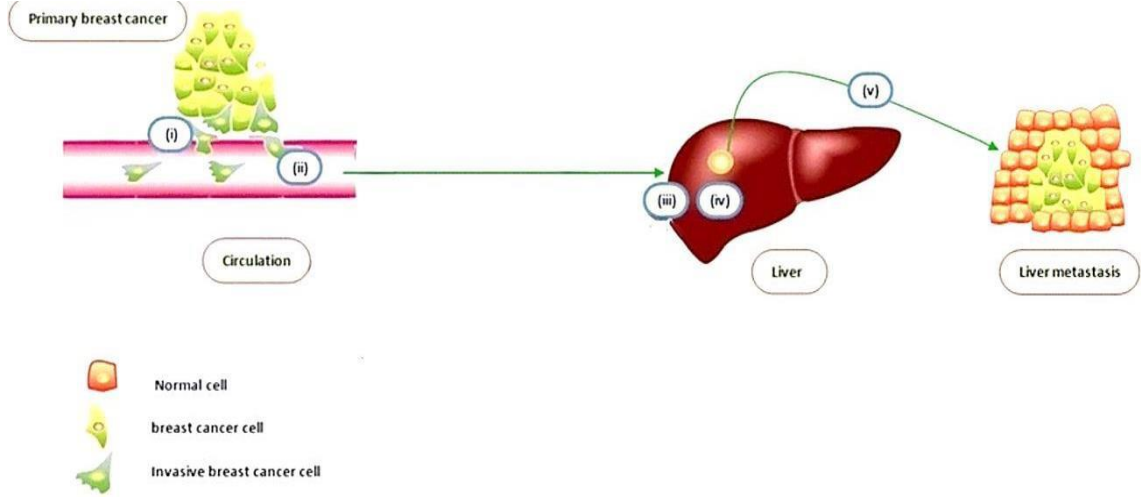
**Evre I:** Koltuk altı kısmında bulunan lenf bezinin büyümediği ve memede bulunan tümör dokunun çapının 2 cm'den küçük olması durumudur. Bu evrede tümörün başka organlara yayılımı gerçekleşmez.

**Evre II:** Lenf bezlerinde büyümenin görüldüğü bu evrede, memede tümör doku çapının 2 cm'den büyük olması ve 5 cm'den küçük olduğu evredir.

**Evre III:** Memede tümör doku çapının 5 cm'yi aşması ve komşu hücrelere yayılım gösterdiği evredir.

Evre IV: Meme kanserinin metastaz yapması ve vücutta farklı organlara sıçramış olduğu evredir.

Metastaz karmaşık bir süreçtir. İlk olarak primer tümörden bölünen ve ayrılan hücreler sırasıyla, istila, bağışıklık hücrelerinden kaçınma, doku mikroçevre düzenlenmesi olarak bir çok hücrel mekanizmayı içermektedir. Metastatik bir kanserin teşhisi genel olarak kanser türlerinde son aşamada belirlenir. Meme kanseri genellikle evre IV metastaz aşamasında keşfedilir veya teşhisi konulmaktadır. Lokal bir hastalık olarak başlayan meme kanserinin prognozu kötüdür. Bunun en büyük nedeni ise, lenf düğümlerine ve uzak organlara yayılabilir olması meme kanseri tedavisinde büyük ölçüde engel yaratabilmektedir. Metastatik meme kanser hücreleri, birçok yol ile agresif özellik kazanarak yayılım gösterebilmektedir. Bunlar, epitelyal mezenkimal geçiş (EMT) ve epigenetik düzenleme mekanizmaları yolu ile (TME) tümör mikro ortamından agresif özellikler kazanarak geçebilir. Meme kanserinde metastaz aşamasının başlaması için, hücreler arası kohezyonun kbolduğu ve epitel hücre polaritesinin kaybolduğu bir olgu olan epitelyal mezenkimal geçişi (EMT) gereklidir (Parkı ve ark., 2022). Meme kanseri metastazına katkıda bulunan diğer hücreler ise, bağışıklık hücreleri ve tümör mikroçevresi (TME) olabilir. Tümörle ilişkili makrofajlar olan TAM'ler farklı mikroçevresel sinyallerinde rol oynayarak etki gösterebilir. Meme kanserinde, CD4+T hücrelerinin salgılamış olduğu IL+4'ler tarafından aktive edilen bir makrofaj alt tipi M2 olan TAM'lar büyük ölçüde etki göstermektedir. İnflamatuar faktörler, kemokinler ve çeşitli büyüme faktörleri dahil olmak üzere TAM salgılayan sitokinler, (ECM) ekstraselüler matriksde adhezyonu arttırarak güçlü bir şekilde metastaz oluşumunu sağlar (Parkı ve ark., 2022). Meme kanseri metastazı, başka organlara yayılım yapabilir. Dolaşım yoluyla esas olarak, karaciğer, akciğerler, beyin ve kemik isteketine metastaz yaparak yayılım gösterirler. Meme kanseri için üçüncü en yaygın bölge olan karaciğer, katı kanserler için yaygın bir metastatik organdır. Meme kanseri karaciğer metastazı (BCLM) tedavi edilmediği sürece, hayatta kalma süresi yaklaşık olarak 4-8 ay olarak nitelendirilebilir (Ma ve ark., 2015).

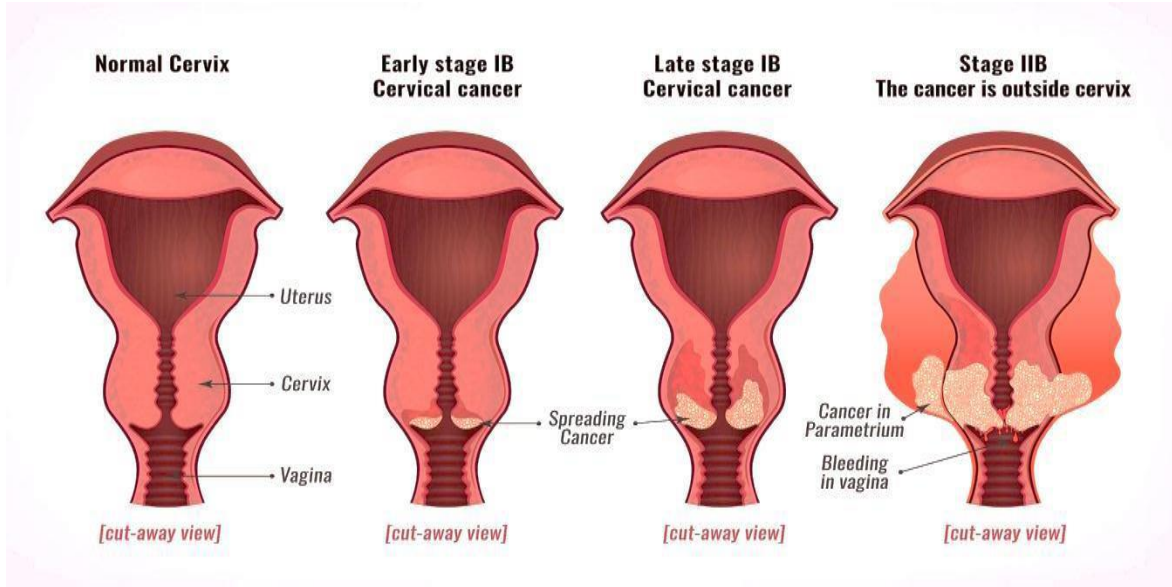


**Şekil 1.8.** Meme kanseri hücrelerinin karaciğerde yayılımı ve çoğalımı (Ma ve ark., 2015).

Metastatik meme kanserinin karaciğer organına yayılımı için belli aşamalardan geçmesi gerekir; tümör kan damarı endoteli boyunca istila ederek dolaşıma giren istilacı meme kanseri hücresi, kan damarlarında yaşamını sürdürmeye devam eder. Sirküle eden meme kanser hücreleri, adhezyon moleküllerine tutunarak endotel hücreye yapışır ve karaciğer bölgesinde yoğunlaşırlar. Sinüzoidal endotel hücresinin duvarını istilasını sağlayan göç eden meme kanseri hücreleri, karaciğerde çoğalırlar. Meme kanseri hücreleri hayatta kalarak apoptozdan kaçınır ve karaciğerde yaşamı tehdit eden bir odak oluştururlar (Ma ve ark., 2015).

### 1.5.2 Rahim Ağzı Kanseri Metastazı

Rahim ağzı kanseri ölümlerinin çoğuna metastaz neden olmaktadır. Günümüzde rahim ağzı kanseri metastazı altında yatan nedenlerin mekanizması tam olarak tanımlanamamaktadır. Bu durum sonucunda, rahim ağzı kanseri metastazını inhibe etmek veya önlemeye yönelik herhangi bir tedavi yöntemi bulunamamaktadır (Zhong ve ark., 2020).



**Şekil 1.9.** Rahim ağzı kanseri evreleme.

**Evre I:** Tümörün yalnızca servikste görüldüğü evredir. Evre IA1 ve IA2 yalnızca mikroskopik inceleme ile tanı konulur.

**Evre IA:** 7mm'den geniş olmayan tümörün mikroskopik inceleme sonucu ile görüldüğü evredir.

**Evre IB:** Evre IA'dan daha büyük prelinik lezyonlar içerir. 4cm'den küçük veya büyük klinik lezyonlar bulunur.

**Evre II:** Bu evrede serviks dışına çıkan tümör halen pelvis duvarına ulaşmamıştır. 1/3 alt vajen tutulumu olabilir. Bu evrede rahim ağzı kanseri hastalarda radyoterapi, kemoterapi, ameliyat bir tedavi seçeneği olabilir.

**Evre IIA:** Bu evrede tümör boyutu 4cm'den büyük yapıya sahiptir. Belirgin halde parametrial infiltrasyon yoktur. Bu grup hastalarda ameliyat şans olanağı fazladır.

**Evre IIB:** Rahim ağzını aşan tümör, belirgin parametrial infiltrasyon olduğu halde pelvise ulaşmamıştır. Bu evrede, rahim ağzı kanseri hastasında ameliyat şansı kalmamıştır.

**Evre III:** Rahim ağzı dokusunun dışına taşan tümör, vajenin 1/3'ünü tutan tümör pelvis duvara ulaşmıştır. Bu evrede tümör bazı durumlarda ise böbrek tüplerini tıkaması sonucu böbreğin şişmesine neden olabilir. Evre III rahim ağzı kanseri hastası için ameliyat uygun bir tedavi seçeneği değildir. Ancak kemoterapi ve radyoterapi tedavileri uygulanabilir.

**Evre IIIA:** Bu evrede tümör pelvis duvara ulaşmamıştır fakat, alt vajenin 1/3'ünü tutmuştur.

**Evre IIIB:** Pelvis duvarına ulaşan tümörlü hastada, hisronefroz ya da nonfonksiyone böbrek



bulguları vardır.

**Evre IV:** Gerçek pelvisin dışına yayılan tümör uzak metastaz aşamasına gelmiştir.

**Evre IVA:** Bu evrede tümör komşu yakın pelvik organlara yayılım gösterir. Bu organlar genellikle, barsak ve idrar kesesi olabilir. Tedavi olarak radyoterapi ve eş zamanlı kemoterapi uygundur.

**Evre IVB:** Bu evrede tümör uzak organlara yayılım gösterir. Bu organlar, akciğer, karaciğer, kemik, lenf bezleri, beyin, karın bölgesi olabilir. Tedavi olarak ise, kemoterapi yanı sıra hedefe yönelik akıllı ilaç tedavisi uygulanabilmektedir.

## **1.6 Tedavi Yöntemleri**

Meme kanseri tedavileri genellikle lokal ve sistemik tedavi olmak üzere iki ana gruba ayrılır. Lokal tedavi, kanserli hücreleri sadece bir bölgede etkilemeyi hedeflerken, sistemik tedavi vücuttaki kanser hücrelerini hedefler. Lokal tedavi yöntemleri arasında cerrahi ve radyoterapi bulunur. Cerrahi tedavi, kanserli meme dokusunun cerrahi olarak çıkarılmasını içerir. Bu, tümöre bağlı olarak meme koruyucu cerrahi (lumpektomi) veya mastektomi (meme tamamen çıkarılması) olarak yapılabilir. Radyoterapi ise kanser hücrelerini öldürmek veya büyümelerini durdurmak için yüksek enerjili ışınların kullanılmasıdır. Radyoterapi, ameliyat sonrası veya ameliyata ek olarak uygulanabilir. Sistemik tedavi ise vücuttaki kanser hücrelerini hedefler. Kemoterapi, kanser hücrelerini öldürmek veya büyümelerini durdurmak için kullanılan ilaçların kullanılmasıdır. Hedefe yönelik tedavi, kanser hücrelerinin büyümesini ve yayılmasını hedefleyen belirli moleküllerin hedef alındığı tedavi yöntemidir. Hormonoterapi ise östrojen veya progesteron hormonlarına duyarlı olan meme kanseri tiplerinde kullanılan ilaçların kullanılmasıdır. Hormonoterapi, hormonların kanser hücrelerinin büyümesini teşvik etmesini engelleyerek çalışır. Tedavi genellikle bir kombinasyon halinde uygulanır ve lokal ve sistemik tedavi yöntemleri birlikte veya ardışık olarak kullanılabilir. Tedavi seçenekleri, meme tümörünün özelliklerine (boyutu, evresi, histopatolojik özellikleri vb.) ve yerleşim bölgesine bağlı olarak belirlenir. Tedavi planı, bir onkolog tarafından hastanın durumu ve kanserin özellikleri göz önünde bulundurularak belirlenir.



### 1.6.1 Cerrahi Tedavi

**Meme kanseri hastalarında cerrahi tedavi**, erken evrede (Evre 0-I-II) yapılan bir tedavi seçeneğidir. Tedavinin genel olarak amacı, tümöre yayılım göstermeden müdahale edilmesi ve çıkarılmasıdır. Meme kanseri hastalarına iki şekilde tedavi seçeneği sunulur, ilki etrafındaki sağlam meme dokusu ile çıkarılan tümör tedavisi ile meme koruyucu ameliyatı; ya da meme dokusunun tamamının alındığı meme mastektomi cerrahidir. Meme koruyucu cerrahi tedavide iki yöntem uygulanır. lumpektomi cerrahisi ile yalnızca memedeki kitle ve çevre dokuları alınırken, kadronektomi cerrahisi ile memenin dörtte birini almak mümkündür. Mastektomi cerrahi, kişi üzerinde kayıp duygusu yaratabilir ve çeşitli kaygılara yol açabilir. Kişinin özgüvenini, işlevini, psikolojik durumunu ve çevre ilişkilerini olumsuz yönde etkileyebilir (Schain, 1991, Fisher *ve ark.*, 2002). **Rahim ağzı kanserinde cerrahi tedavide**, hastalık evresinde göre farklı tedavi yöntemleri uygulanmaktadır. Radikal histerektomi, uterus ile kardinal, broad ligament gibi parametrial dokuların ve vajen bölgesinin ½'sinin birlikte tek parça halinde kesip çıkarılma işlemidir. Lenf nodu diseksiyonu (LND) cerrahi işlemi, IBI ve IBII evrelerinde önerilen lenf nodu metastaz bölgelerinin cerrahi işlem ile eksizyonudur. Son olarak Radikal trakelektomi cerrahi işlemi, tümör boyutunun 2 cm'den küçük olduğu hasta gruplarında, vajinal veya abdominal yoldan operasyon ile parametrial doku ve vajenin bir kısmının kesip çıkarılma işlemidir. Bunlara ek olarak, konizasyon cerrahisi ile serviksten koni şeklinde doku parçasının çıkarılması veya ileri yaş IAI evre hastalarına ekstrasfasiyal histerektomi tedavi seçeneği uygulanabilir (Başer *ve ark.*, 2008). **Kolon kanserinde cerrahi tedavi**, operasyon, karın boşluğundan başlanarak sistemik inceleme ile devam eder. Bu sayede tümörün büyümesi, çoğalması ve hareketinin etraftaki komşu organlarla ilişkisine, bölgesel olarak karın duvarındaki lenf bezlerinin durumuna bakılır ve incelenir. Metastaz durumu incelenilerek, karaciğer, akciğer, periton, yumurtalıklar bu açıdan incelenmiş olur. Cerrahin bu konuda iyileştirici mi yoksa palyatif bir tedavi mi olduğu konusunda net olarak ameliyat durumunu belirlemesi gerekir (Nesbakken ve Gaard, 2007).

### 1.6.2 Radyoterapi

**Meme kanserinde radyoterapi**, olası kanser hücrelerinin öldürülmesi hedeflenen ve genellikle meme kanseri hastalarında cerrahi tedavi sonrasında uygulanan radyoterapi, yüksek enerjili X ışınları veya gama ışınlarının kullanıldığı ışın tedavisidir. Özellikle meme koruyucu cerrahisi ardından memenin kalan dokusunu korumak amaçlanır. Erken evre meme kanseri hastalarında uygulanan bu tedavi yöntemi, ileri evre hastalarında da palyatif tedavi veya ağrı riskini azaltımı amacıyla uygulanabilmektedir. Radyoterapinin en büyük dezavantajı, hücre

bölünmesini olumsuz etkilemesi ve sağlıklı hücrelerin DNA'sı üzerinde olumsuz etkiler yaratmasıdır (Baba *ve ark.*, 2007). **Rahim ağzı kanserinde radyoterapi**, ileri evrelerde tercih edildiği gibi erken evre olgularında da tercih edilebilir. Serviks içine internal veya pelvik duvara eksternal olarak iki şekilde radyasyon tedavisi uygulanabilmektedir. Radyoterapide tedaviye ek olarak mitomisin-C, 5-FU, sisplatin gibi birçok kemoterapötik ajan kullanılarak etkinliği arttırmıştır. Rahim ağzı kanserlerinde kemoradyoterapi uygulamasının, tek başına radyoterapiye oranla yüksek yanıt sağlandığı ve üstün olduğu kabul edilebilir bir tedavi yöntemi olarak tercih edilmektedir (Yetmen *ve ark.*, 2012). **Kolon kanserinde radyoterapi**, özellikle rektum kanseri tümör tedavisinde tercih edilmektedir. Kolon kanserinde kullanımı çok fazla yaygın olmayan radyoterapi, ameliyattan önce tümörü küçültmeyi amaçlayarak veya ameliyat sonrasında kanserin iç organa yapışma olanağında geride kalabilecek tümör kanser hücrelerini öldürmek amacıyla kullanılabilir. Ayrıca bazı yüksek riskli gruplarda kullanılan hareketsiz bölgelere yerleşen tümör, lokal perforasyon ve T3-T4 evrelerinde görülmektedir (Board *ve ark.*, 2020).

### 1.6.3 Kemoterapi

Meme kanserinde kemoterapi, etki mekanizmasına göre üçe ayrılır, tümör küçültme amaçlı ameliyat öncesi uygulanan neoadjuvan kemoterapi, hastalıkta tekrarlama riskini ortadan kaldırma amaçlı ameliyat sonrasında uygulanan adjuvan kemoterapi ve ileri evrede yaşam süresi ve kalitesini arttıran kemoterapi uygulanabilir. Özellikle tümörlerin büyümesini engellemek ve metastazın önlenmesini, kanser hücrelerinin öldürülmesini, çoğalan hücrelere karşı öldürücü etkide olan biyolojik ajanların, kimyasalların, veya hormonlarla yapılan bir tedavi biçimidir. Meme kanserini tedavi etmek için çeşitli kemoterapi ilaçları geliştirilmiştir. Bunlardan bazıları: Bleomisin, Adriamisin, Tamoksifen, Paklitaksel, Docetaxel, Doxorubicin, Siklofosfamid, Mitoxantrone, Cytarabine, 5-Fluorourasil, Vinblastine, Gemcitabine ve Epirubicin'dir. Bazı hap ya da şurup şeklinde olan kemoterapi ilaçlarının yanı sıra, el ya da koldaki damarlara uygulanan iğneler veya vücut içi araçlar yardımı ile vücuda verilimi sağlanır. Sistemik bir tedavi şekli olan kemoterapi, kan dolaşımı aracılığı ile vücudun tüm bölgelerine yayılarak tüm doku ve organları etkilemiş olur (Pizzo *ve ark.*, 1997). **Rahim ağzı kanserinde kemoterapi**, ileri evre hastalar için uygun bir tedavi yöntemidir. Kemoterapinin amacı, radyoterapi ya da histerektomi öncesinde tümör boyutunun küçülmesinin sağlamaktır. Radyoterapi ile kombine edilen kemoterapi, kemoradyoterapi şeklinde de uygulanmaktadır (Taşkın, 2016). **Kolon kanserinde kemoterapi**, üç şekilde incelenmektedir. Neoadjuvan kemoterapi tedavisi ile kitle küçültülüp ameliyatın kolaylaştırılması sağlanmaktadır. Adjuvan

kemoterapi tedavisi ile, ameliyat sonrasında nüks gelişimi önlenir. İleri evre kanserde kemoterapi tedavisi ile, karaciğer başta olmak üzere akciğer ve diğer organlarda metastazik tümörleri küçültme hedeflenmiş ve buna özgü terapötikler kullanılmıştır. Sıklıkla kullanılan terapötikler, oksaliplatin, 5-Flourourasil, Capecitabine, Setuksimab'dır (Büyüğünal, 2010).

#### 1.6.4 Hormonal Tedavi

Endokrin (hormonal) tedavi, hormon reseptörü pozitif meme kanserlerinin tedavisinde kullanılan en yeni tedavi yöntemlerinden biridir. Hormon reseptörü pozitif meme kanserleri, meme kanseri hücrelerinde östrojen veya progesteron reseptörlerinin bulunması anlamına gelir. Bu reseptörler, kanser hücrelerinin büyümesi ve çoğalması için gerekli sinyalleri alır. Hormonal tedavi, östrojen hormonunun kanser hücrelerindeki etkisini azaltarak veya engelleyerek çalışır. Bu sayede, östrojen hormonunun kanser hücrelerinin büyümesini teşvik etmesini önler. Hormonal tedavi genellikle ilaçlar yoluyla yapılır ve farklı ilaç grupları kullanılabilir.

1. Aromataz İnhibitörleri: Bu ilaçlar, vücutta östrojen üretimini engelleyen enzim olan aromataz'ı inhibe eder. Bu şekilde, östrojenin kanser hücrelerinde üretilmesi ve etkili olması engellenir.
2. Selektif Östrojen Modülatörleri (SERMs): SERMs, östrojen reseptörlerine bağlanarak östrojenin etkisini bloke eder veya azaltır. Östrojenin bazı etkilerini taklit ederken diğerlerini engelleyerek çalışır.
3. LHRH Analogları: LHRH (Luteinizing Hormone-Releasing Hormone) analogları, hipofiz bezindeki LH salınımını azaltarak östrojen üretimini engeller. Bu da östrojen seviyelerini düşürür.
4. Antiandrojenler: Bazı meme kanseri hücreleri, östrojenin yanı sıra androjen adı verilen diğer hormonlara da reseptörleri vardır. Antiandrojenler, androjenlerin bu reseptörlere bağlanmasını engelleyerek östrojenin etkisini azaltır. Hormonal tedavi, yüksek risk taşıyan hastalarda kanser riskini azaltmak, invaziv olmayan meme kanseri (DCIS) olan hastalarda nüks riskini azaltmak, cerrahi, kemoterapi ve radyoterapi tedavilerinden sonra tekrarlama riskini azaltmak ve ileri evre meme kanserinde kullanılabilir.

Hormonal tedavi genellikle diğer tedavilerle birlikte kullanılır ve birçok kadının tedaviye olumlu yanıt verdiği gözlemlenmiştir. Ancak her hasta farklı olduğu için tedavinin etkinliği ve yan etkileri kişiden kişiye değişebilir (Kaklamani ve ark., 2017). **Rahim Ağzı kanserinde hormonal tedavisinde**, progesteron benzeri ilaçlar kullanılarak radyoterapi sonrası yumurtalıkların bastırılması veya yumurtalıkların alınması ile rahim ağzı kanseri hastasında

östrojen miktarının azaltılması sağlanır. Bu sayede kanser hücrelerinin büyümesi önlenir veya azaltılır (KDB, 2017). **Kolon kanserinde hormonal tedavi**, Östrojen replasman tedavisi (ERT), menopoz sonrası hastalarda kolon kanserine karşı veya kolon adenomlarına karşı koruyucu bir etkiye sahip olduğu desteklenmiştir. Hormon replasman tedavisi (HRT) kolon kanseri için düşünülebilir. Hormon replasman tedavisi kullanan hastalarda kolon kanser riskinin azaldığı gözlemlenmektedir. Ancak kesin çalışmalara hala ihtiyaç duyulmaktadır (Anna ve ark., 2010).

### 1.6.5 İmmünoterapi

**Meme kanserinde immünoterapi**, tedavi aşamaları ve hastalığın seyrine bağlı olarak 3 farklı yöntemlere ayrılır. Bunlar, meme kanseri aşuları, monoklonal antikorlar ve kontrol noktası inhibitörleri olarak ayrılmaktadır. **Aşılar**, DNA aşuları, hücre bazlı aşular, rekombinant viral veya bakteriyel vektörler, tümörle ilişkili protein aşuları olabilir. Örneğin uzak bölgedeki tümörlere erişim sağlayabilen ve kemoterapik ajanlara duyarlı olmama özelliği sayesinde bakteriyel vektörler immünoterapik aşı tedavisinde tercih edilebilir. Diğer bir yöntem olan **monoklonal antikorlar**, kanser hücreleri tarafından kullanılan anjiyogenez sinyal yollarını aktive eden faktörlere bağlanıp inhibe ederek, tümör hücrelerinin apoptozuna neden olarak (ADCC mekanizması), monoklonal antikorlar hedef hücredeki membran yüzey antijene bağlanarak lizise uğratarak (CDC mekanizma) 3 etki mekanizma şekline sahiptir. **Kontrol noktası inhibitörlerinde**, inhibitör reseptörleri aşırı ekspresyonu olduğu tedavi yöntemidir. Meme kanserinden Programlanmış hücre ölümü (PD-1)'in aşırı ekspresyonu tümör boyutu artışına sebep olmaktadır. Buna karşın geliştirilen inhibitörler T hücre aktivasyonunu engeller ve bu kontrolsüz bağışıklığın önlenmesine neden olarak immünoterapötik bir tedavi oluşturur (Sert ve ark., 2022). **Rahim ağzı kanseri immünoterapi**, anormal büyüyen kanser hücrelerini tanıyabilen ve yok etmek için bağışıklık hücrelerini uyaran kanser aşuları da immünoterapötik yöntem çeşitlerindedir. FDA onayı almış koruyucu aşı kategorisinde yer alan HPV aşısı olan, rahim ağzı kanseri hastalarında klinik olarak kullanılmaya başlanılan aşular Gardasil ve Cervarix'tir. Karsinojen özelliklerine göre düşük ve yüksek risk gruplarına ayrılan HPV aşısında, yüksek risk grubu vulva, vajina, penis ve rahim ağzında skuamöz kaynaklı karsinoma neden olan HPV 16 ve HPV 18 yer alırken; düşük risk grubunda genital siğillere ve servikal lezyonlara sebep olan HPV 6 ve HPV 11 yer almaktadır (Erkal ve ark., 2018). **Kolon kanserinde immünoterapi**, kanserle savaşmak için hastaların bağışıklık sistemini kullanan bu tedavi yönteminde, kontrol noktası inhibitörü olan pembrolizumab, PD-1'i (tümör hücre reseptörü) hedefler ve böylece tümör hücrelerinin bağışıklık sistemi hücrelerinden saklanması

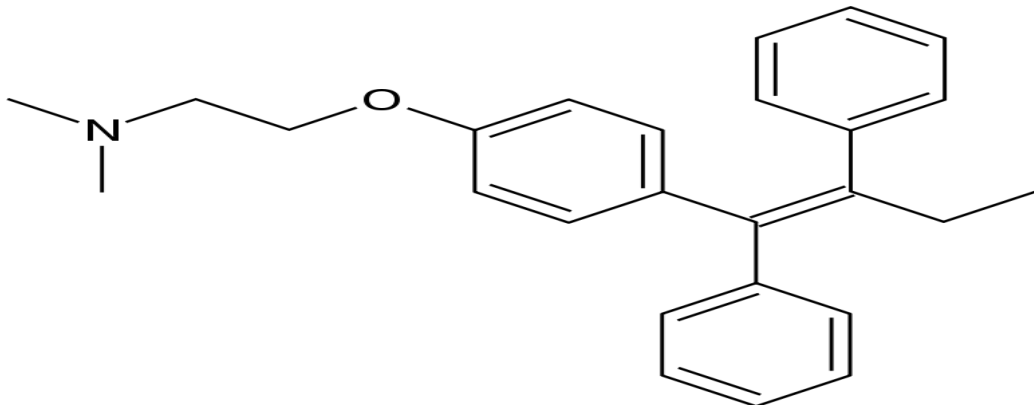
önlenir. Böylelikle metastatik kolon kanser tedavisinde kullanımı amaçlanır. Yine kontrol noktası inhibitörleri olan ipilimumab ve nivolumab kombinasyonu, kolon kanseri hastalarının kemoterapi sonrasında büyüyen ve yayılan tümör hücre tedavisinde kullanılmaktadır (Ganesh ve ark., 2019). **Meme kanserinde hedefe yönelik tedavi**, günümüzde radyoterapi, cerrahi tedavi ve kemoterapi ile kombine olarak kullanılan spesifik olarak hücre içi hedeflere etki eden ajanlar doğrultusunda kullanılan tedavi yöntemidir. Özellikle araştırmacıların ilgisini çeken ve son yıllarda kullanımı artan hedefe yönelik tedavinin yan etkileri daha az ve sağ kalımı arttırarak büyük avantaja sahiptir. Hedefe yönelik tedavinin amacı, mutant yolaklar üzerinden hedef belirleyerek ve bu hedefe yönelik ilaç uygulanarak kanser hücrelerini diğer hücrelerden ayıran genetik mutasyonu saptar ve mutasyonlu hücrelerin büyüme ve çoğalmasını engeller.

HER2/neu proteini, meme kanserlerinin %30'unda görülmektedir ve HER2 pozitif tümörler hızlı büyüme ve tekrarılma gibi özelliklere sahip proteinlerdir. Özellikle son yıllarda, HER2 genini hedef alan tedaviler geliştirilmiştir. HER2 pozitif meme kanserinde, erken veya geç evrelerde kemoterapi ile kombine hedefe yönelik tedavi ajanı Herceptin anti-HER2 antikoru olan trastuzumab verilerek daha etkin tedavi uygulanmaktadır (Akyolcu ve ark., 2018).

### **1.7 Tamoksifen (Tam)**

Östrojen hormonu bir büyüme faktörüdür ve meme kanseriyle ilişkili olan östrojen reseptörlerine bağlanarak normal meme hücrelerinin büyümesini sağlar. Meme kanserinde ise, hücre yüzeyinde bulunan östrojen reseptörleri kanser hücrelerinin büyümesini ve çoğalmasını teşvik eder. Meme kanseri tümör hücreleri, zarlarındaki östrojen reseptörlerinin sayısını artırarak östrojene bağımlı hale gelir ve bu durum büyümelerini teşvik eder. Tamoksifen, meme kanseri tedavisinde kullanılan bir ilaçtır. Tamoksifen, meme kanseri hücre yüzeyinde bulunan östrojen reseptörlerine bağlanarak östrojen hormonunun bu reseptörlere bağlanmasını engeller. Bu şekilde, tamoksifen kanser hücrelerinin büyümesini durdurucu etkiye sahip olur. Tamoksifen, östrojene bağımlı meme kanseri vakalarında tercih edilen bir tedavi yöntemidir ve hastalığın ilerlemesini önleyebilir veya geriletebilir. Ancak tamoksifenin bazı yan etkileri olabilir ve kullanımı doktor tarafından belirlenmelidir. Tamoksifen gerçekten de bir anti-östrojen ilacıdır. Östrojen reseptörüne bağlanarak östrojenin hücrelere etkisini engeller ve bu şekilde östrojen bağımlı tümörlere karşı etkili olur. Tamoksifen, meme kanseri tedavisinde ve meme kanserini önlemede kullanılan bir SERM (selektif östrojen reseptör modülatörü) olarak kabul edilmektedir. Meme kanseri tedavisinde, tamoksifen östrojen reseptör pozitif (ER+) meme

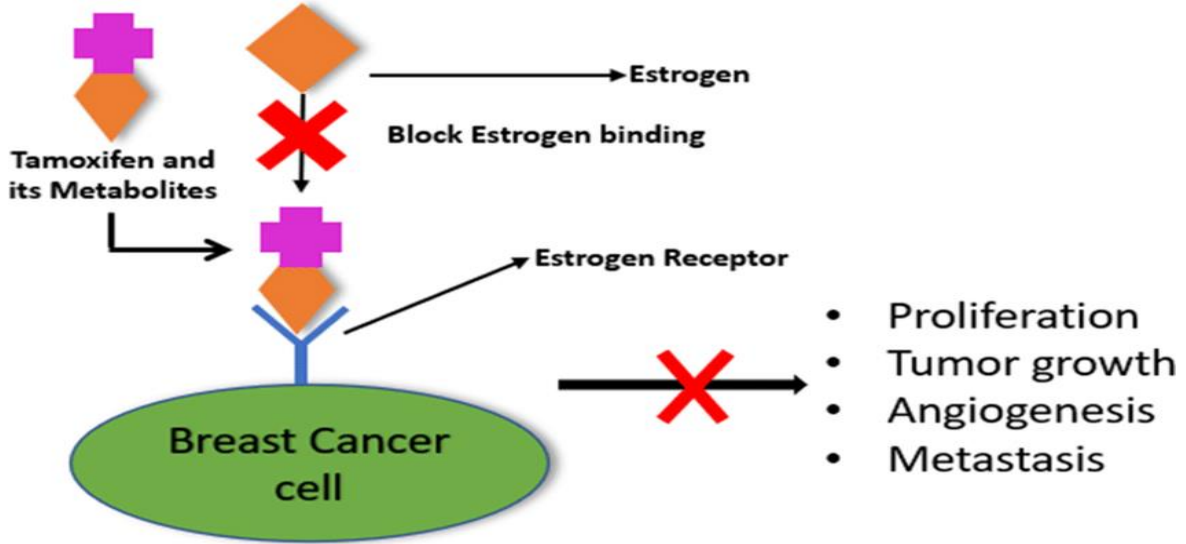
kanseri olan kadınlarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu tür kanserlerde, kanser hücreleri östrojen reseptörlerine bağlanarak büyüme sinyallerini alır. Tamoksifen, östrojen reseptörüne bağlanarak bu sinyallerin iletilmesini engeller ve kanser hücrelerinin büyümesini durdurur veya yavaşlatır. Ayrıca, tamoksifen meme kanserini önlemede de kullanılmaktadır. Yüksek meme kanseri riskine sahip kadınlar için kemoprevensiyon adı verilen bir strateji olarak kullanılır. Tamoksifen, yüksek riskli kadınlarda meme kanseri gelişme olasılığını azaltabilir. Tamoksifenin yan etkileri arasında sıcak basması, vajinal kuruluk, adet düzensizlikleri, cilt döküntüleri, sindirim sorunları ve nadir durumlarda endometrial kanser riskinin artması gibi etkiler bulunabilir. Tedavi sürecinde hastaların bu yan etkileri izlemesi ve doktorlarıyla iletişimde kalması önemlidir. Sonuç olarak, tamoksifen östrojen reseptörü üzerinde etkili olan bir anti-östrojen ilacıdır. Meme kanseri tedavisinde ve kemoprevensiyonunda yaygın olarak kullanılan bir SERM olarak kabul edilir. Ancak ilacı kullanmadan önce, bir sağlık uzmanına danışmanız ve uygun bir tedavi planı belirlemeniz önemlidir (Shagufta ve Ahmad, 2018). Seçici bir östrojen reseptör modülatörü olan tamoksifen, ER'ler ile rahimde proöstrojen olarak etki ederken, memede anti-östrojen olarak etki göstermektedir. Östrojen reseptörlerine bağlanarak, östrojenin bağlanmasını engeller. Tamoksifen reseptör kompleksinin nukelusa taşınması aynı zamanda nükleik asit fonksiyonlarını etkilemektedir. Tümör DNA sentezi yavaşlayarak, tümör tarafından uyarılan büyüme faktörlerinin azaldığı gözlemlenir. Bu sayede hücre proliferasyonu inhibisyonu sağlanır. Non-steroid selektif östrojen reseptör modülatörü (SERM) olan tamoksifen, Hormonal kontraseptif amaçlı 1960'lı yıllarda ilk üretimi gerçekleştirilmiştir. 1998'de yüksek riskli meme kanseri hastalarında profilaktik tedavide kullanılmıştır. 2013 yılında ise, premonopozol ve postmonopozol dönemde meme kanseri olgularında adjuvan hormonal tedavi amaçlı kullanımı başlamıştır. Diğer bir kullanım alanı olan, kemofilaktik olarak yüksek riskli meme kanseri hastalarında kullanılabilir. Dünyada en çok kullanılan antikanser ilacı olmasının temel nedeni, düşük toksisite, yüksek etkinlik gösterebilen ve kolayca uygulama ve ulaşım sağlanabilen bir ilaç olmasından kaynaklanmaktadır (Güleç ve ark., 2021).



**Şekil 1.10.** Tamoksifenin moleküler yapısı ve sistemik adı.

Cis ve trans izomerlerine sahip olan Tamoksifenin, cis izomeri östrojenik aktiviteye sahipken; trans izomeri antiöstrojenik aktiviteye sahiptir. Zayıf östrojenik aktiviteye sahip olan tamoksifenin, hormonal ortama bağlı olarak değişen östrojen agonistik ve antiagonistik etkilere sahiptir. Premenopozal kadınlarda, hipofiz bezinde östrojenik etki gösterir ve plazma östrojen düzeyini artırırken gonadotropin düzeyi etkilenmez. Postmenopozal kadınlarda ise, gonadotropin düzeylerini düşürerek etki gösterir. Son yıllarda metastatik meme kanseri tedavisinde kullanılan tamoksifen, yan etkilerinin az olması nedeniyle birinci seçenek olarak kullanılmaktadır (Jordan ve ark., 1991). Tamoksifen dozajı, ileri evre meme kanserinde ve adjuvan tedavilerde kullanımı 10 mg olarak günde iki kez ağızdan alınmalıdır. Eğer bu durumda yanıt alınmazsa günde iki kez dozu 20 mg'a çıkarılmaktadır. Tamoksifen hamilelik sırasında kullanıma uygun değildir (Buckley ve Goa, 1989). Tamoksifen, memede östrojen reseptörünün inhibisyonunu sağlayarak proliferasyonu engellemektedir. Kadın genital sistemde, farklı dönem ve dokulara bağlı olarak farklı etkilere sahiptir. Premenopozal dönemde, tamoksifenin endometrium üzerinde antiöstrojenik etkisi hakimken, postmenopozal dönemde endojen östrojen seviyesinin düşük olması nedeniyle agonistik etkisi hakimdir böylelikle endometrial proliferasyon yapmaktadır. Bu etkide;

1. MAP kinaz yolağını aktive ederek,
2. Östrojen reseptör-alfa ve membran ilişkili östrojen reseptörü-G proteinine bağlı reseptör 30 (GPR30) ekspresyonlarını değiştirirerek
3. Src sinyalleri ve ERK ile hücre migrasyonunu etkileyerek
4. DNA hasarı oluşturarak
5. Pro-katlanmamış protein yanıtı (UPR) yolağında yukarı regülasyon değişikliklere bağlı olabileceği düşünülmektedir. Ancak henüz yeterli bilgi bulunamamaktadır.
6. Pre-menopozal ve post-menopozal hastaların tamoksifen kullanımı sonucunda, K-RAS mutasyonlarının %45-70 oranında artış gözlemlenmektedir (Güleç ve ark., 2021).



Şekil 1.11. Tamoksifen etki mekanizmasının şematik gösterimi

### 1.7.1 Tamoksifen Yan Etkileri

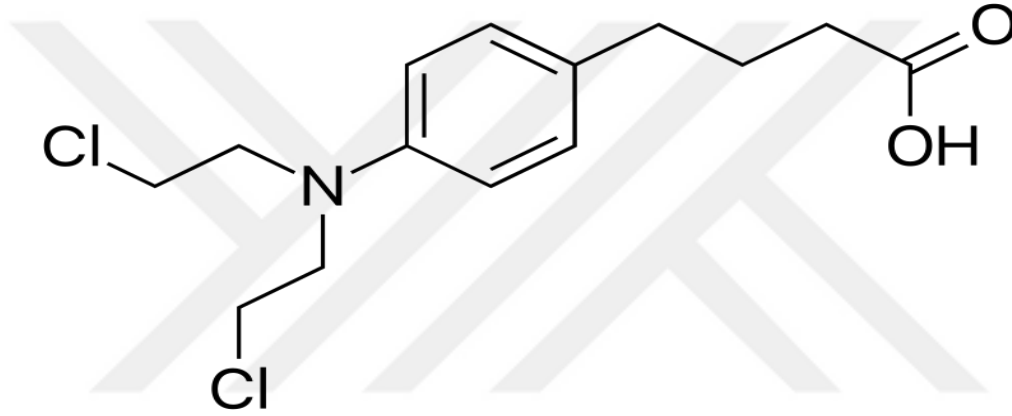
Tamoksifen kullanımının yan etkiler sebebiyle tedavinin kesilmesi nadiren gerekli olabilir. En sık görülen yan etkiler, mide bulantısı, ateşlenme, kusma, vajinal akıntı veya kanama yanı sıra menopoz öncesinde hastalarda görülen menstrual bozukluklar meydana gelebilir. Tedavi ile ilişkisi belirsiz olan trombositopeni ve lökopeni gibi hematolojik değişiklikler nadir de olsa görülebilir. Baş dönmesi, depresyon, uyuşukluk gibi merkezi sinir sistemi hastalıkları da görülebilmektedir. Bunlara ek olarak, kas ağrıları, sıcaklama, gece terlemeleri görülme olasılığı yüksektir (Buckley ve Goa, 1989). En iyi bilinen yan etkisi, menopozal semptomların görülmesidir. Ek olarak, atrofik ürtirit ve artralji yapabilmektedir. Özellikle ilk yıllarda kullanımında belirgin olan erin ven trombozu ve pulmoner tromboemboli riskini arttırabilir. Bu nedenle hastanın öyküsüne yönelik kullanımı öyküde risk görülmesi durumunda tamoksifen kullanılmaması gereklidir. Aynı zamanda arteriyel tromboz riskinde artış gözlemlenmektedir. Olumlu etkilere bakıldığında ise; LDL değeri, total kolesterol seviyesini düşürmesi, osteoporotik ve osteopeni kemik kırık riskinin azaldığı gözlemlenmektedir (Güleç ve ark., 2021).

### 1.8 Klorambusil (Leukeran)

Bileşiminde Leukeran, klorambusil adlı etken maddeyi içeren bir ilaçtır. klorambusil, kanser hücrelerinin büyümesini ve çoğalmasını engelleyerek çalışır. Leukeran, çeşitli kanser türlerinin tedavisinde kullanılan bir kemoterapi ilacıdır. Kronik Lenfositik Lösemi (KLL),



kemik iliğinde çok fazla sayıda anormal beyaz kan hücresi üretilmesine neden olan bir kan kanseri türüdür. Leukeran, KLL'nin tedavisinde kullanılan bir seçenek olabilir. Hodgkin Lenfoma, lenf sistemi hücrelerinden kaynaklanan bir kanser türüdür. Leukeran, Hodgkin Lenfoma'nın tedavisinde bazen kullanılabilir, ancak genellikle daha yaygın olarak kullanılan diğer kemoterapi ilaçlarıyla birlikte kombinasyon halinde kullanılır. Waldenstrom'un Makroglobulinemisi, B-lenfosit akyuvar hücrelerinin aşırı miktarda çoğaldığı ve kanda anormal proteinin serbestleşmesine neden olan bir kanser türüdür. Leukeran, bu hastalığın tedavisinde kullanılan seçeneklerden biri olabilir. Ayrıca, Leukeran bazen yumurtalık kanseri, meme kanseri ve testis kanserinin tedavisinde tek başına veya diğer kemoterapi ilaçlarıyla kombinasyon halinde kullanılabilir.



**Şekil 1.12.** Klorambusil moleküler yapısı.

Kronik Lenfositik lösemi (KLL) hastaları, çoğalma yeteneğini kaybetmiş olgun ve ufak lenfositlerin, kemik iliği, kan, dalak ve lenf bezlerinde birikmeleri sonucunda oluşan heterojen hastalık grubu olarak nitelendirilmektedir. İlk kez Dameshek ve Galton tarafından tanımlanan bu hastalık, erişkinlerde oldukça yaygındır. Aynı zamanda batıda en sık görülen lösemi türü olmakla birlikte, hastaların %90'ı 50 yaş üzeri ve erkeklerde sıklıkla rastlanmaktadır (Aktuğlu, 2005).

Kronik lenfositik lösemi hastalığında başlangıç tedavisi olarak tercih edilen alkilleyici ajan klorambusil (leukeran)'dır. Uzun yıllardır kronik lenfositik lösemi (KLL) tedavisinde kullanılmasına rağmen klorambusilin kesin etki mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Klorambusil (CLB); proteinler, membranlar, RNA, DNA gibi çeşitli hücre yapılara bağlanarak etki ettiği çoğalan tümör sistem modellerinde gözlemlenmiştir. Aynı zamanda bu tümör modellerinde, artan ilaç metabolizması ve farklı mekanizmalar CLB direncine katkı sağlamaktadır. Bunlar, Glutasyon S-transferaz ve glutasyon (GSH) ile DNA onarımı sağlama ve

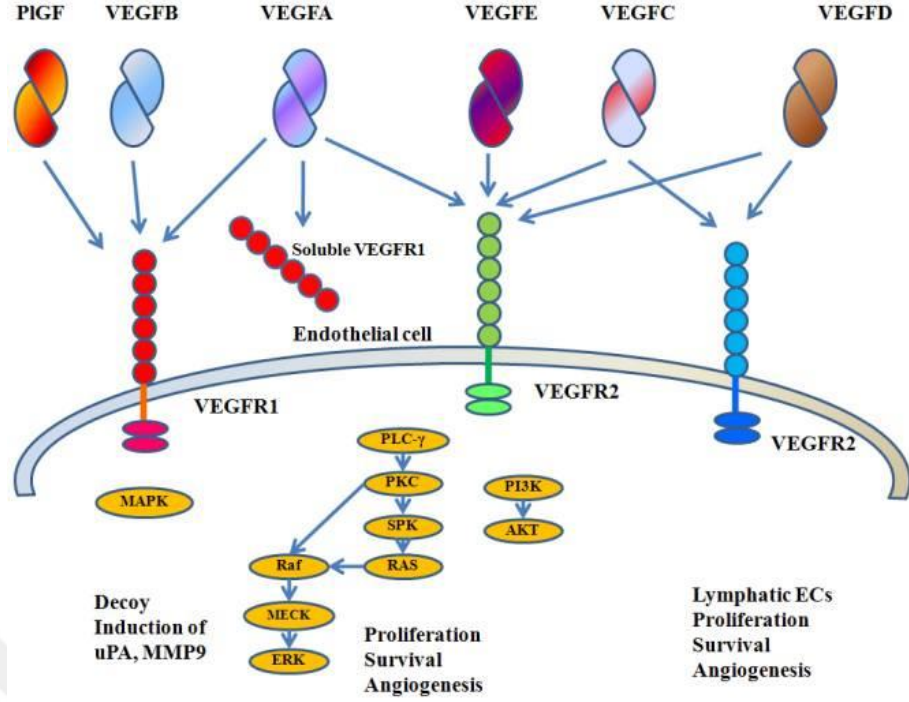
CLB detoksifikasyonu sağlamaktadır. CLB, kronik lenfosittik lösemi hücrelerinde apoptozu indüklemektedir. Apoptozu kontrol eden p53 geni, mdm-2, bax, bcl-2 gibi genlerdeki değişiklikler ilacın direncine sebep olabilir. P53 geninde meydana gelen mutasyon veya delesyonlar, kronik lenfosittik lösemi hastalarının %10-15'inde görülmektedir. Bu sayede CLB'ye zayıf yanıt gösterilebilmektedir. CLB, yüksek ilaç konsantrasyonu ile p53'ten bağımsız olarak hücre ölümü gerçekleştirebilir. Kronik lenfositik lösemi hücrelerindeki mRNA ve mdm-2 seviyeleri ilaç duyarlılığının yararlı bir sonucu olmamaktadır. Kronik lenfosittik lösemi hücrelerinde yüksek bulunan bax ve bcl-2 genleri, ilaç konsantrasyonunda oranı önemli değildir. Bu genlerin oranları lösemide ilaç duyarlılığını belirlemektedir. CLB analogları, p53'e bağlı bir yolla kronik lenfositik lösemi'de hücre ölümü gerçekleştirmektedir (Begleiter ve ark., 1996).

### **1.8.1 Klorambusil Yan Etkileri**

Kemik iliği baskılanması, kromozom kollarında hasar oluşturma, ciltte döküntü, deride kabarcıklar, boğaz ağrısı, ağız yarası, idrar problemleri, bulantı ve kusma, ishal, ağız ülseri, iştah kaybı görülmektedir.

## **1.9 VEGFA**

VEGF-A, vasküler endotel büyüme faktörü-A'nın kısaltmasıdır. İnsan *VEGFA* geni, 6p21.3 kromozom bölgesinde bulunur ve sekiz ekzona (protein kodlayıcı bölgeler) ayrılmış yedi intron içerir. Bu genin alternatif ekzon birleştirme sürecinde, sinyal sekansı bölündükten sonra dört farklı izoform üretilir (Tischer, 1991). Bu izoformlar *VEGFA* 121, *VEGFA* 165, *VEGFA* 189 ve *VEGFA* 206 olarak adlandırılır. İzoformlar farklı uzunluklarda amino asit dizilerine sahiptir: *VEGFA* 121 121 amino asit, *VEGFA* 165 165 amino asit, *VEGFA* 189 189 amino asit ve *VEGFA* 206 206 amino asit içerir. Bu alternatif ekzon birleştirme süreci, farklı biyolojik etkilere ve doku özelliklerine sahip izoformların oluşmasını sağlar (Vincenti ve ark., 1996).



Şekil 1.13. *VEGF* gen ailesi ve reseptörleri (Sa-Nguanraksa ve ark., 2012).

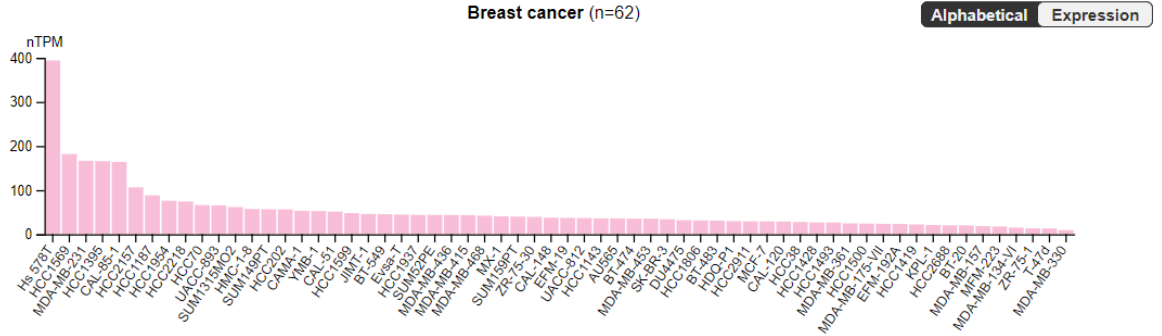
*VEGFA*, özellikle damar endotel hücrelerinde (kan damarlarının iç astar hücreleri) sentezlenir ve etkilerini hücre yüzeyinde bulunan *VEGF* reseptörleri ile iletişim kurarak gerçekleştirir. Bu reseptörlerin en iyi bilinenleri *VEGFR-1* (VEGF reseptör-1) ve *VEGFR-2* (VEGF reseptör-2) olarak adlandırılır.

*VEGFA* 'nın ana işlevleri şunlardır:

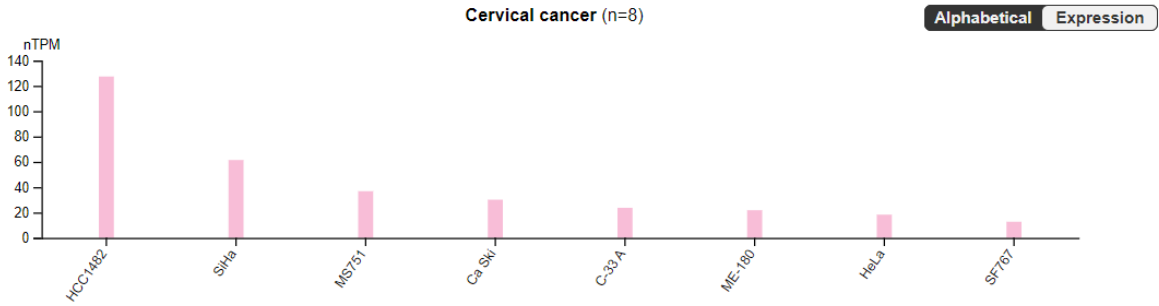
1. **Anjiyogenez (kan damarlarının oluşumu):** *VEGFA*, yeni kan damarlarının oluşumu ve büyümesinde kritik bir rol oynar. Bu süreçte, *VEGFA*, endotel hücrelerinin bölünmesini ve göç etmesini uyarır, bu da yeni kan damarlarının oluşmasını sağlar.
2. **Vasküler permeabilite (damar geçirgenliği):** *VEGFA*, kan damarlarının geçirgenliğini artırarak kan plazmasının doku arasına sızmasına neden olabilir. Bu, özellikle yara iyileşmesi ve inflamasyon gibi süreçlerde önemli bir faktördür.
3. **Hücre proliferasyonu ve sağkalımı:** *VEGFA*, hücrelerin büyümesini, bölünmesini ve hayatta kalmasını etkileyerek dokuların gelişiminde ve rejenerasyonunda önemli bir rol oynar.

4. **Hücre göçü:** *VEGFA*, hücrelerin bir yerden başka bir yere göç etmesini sağlayarak doku gelişiminde ve onarımında rol oynar.

Bu biyolojik etkiler, *VEGFA* 'nın normal vasküler gelişim, doku iyileşmesi ve bazı hastalıkların patogeneğinde önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Ayrıca, *VEGFA* 'nın tümör büyümesi ve metastaz gibi patolojik süreçlerde de kritik bir faktör olduğu bilinmektedir.



Şekil 1.14. Meme kanseri hücrelerinde *VEGFA* gen ifade seviyeleri (Protein Atlas, 2023).

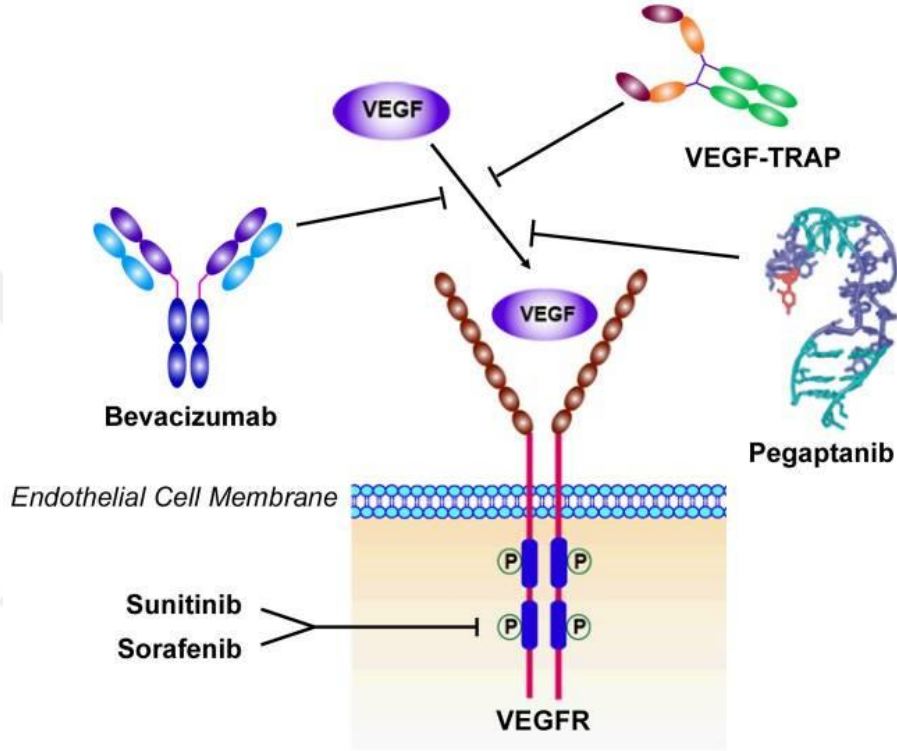


Şekil 1.15. Rahim ağzı kanser hücrelerinde *VEGFA* gen ifade seviyeleri. (Protein Atlas, 2023).

### 1.9.1 *VEGFA* Hedefleri ve Mekanizmaları

Dr. Judah Folkman, tümör büyümesinin vaskülarite (kan damarlarının oluşumu) ile ilişkili olduğunu fark etti ve bu gözlemine dayanarak anti-anjiyogenezin kanser tedavisi için etkili bir strateji olabileceğini öne sürdü (Folkman, 1971). Bu fikir, tümörlerin büyümesini ve yayılmasını engellemek için tümörlerin ihtiyaç duyduğu kan damarlarının oluşumunu hedefleyen tedaviler geliştirmeyi amaçlamıştır. *VEGF* (Vascular Endothelial Growth Factor) yolunun anjiyogenezin ana düzenleyicisi olarak tanınması, *VEGF-A*'nın reseptörlerine bağlanmasını engelleyen maddelerin (örneğin, *VEGF*'in anti-VeGF-antikorunu) ve *VEGFR-2*'yi

doğrudan bloke eden antikorların geliştirilmesine yol açmıştır (Ciardiello *ve ark.*, 2003). Ayrıca, *VEGFR-2'nin* kinaz aktivitesini inhibe eden küçük moleküller de (örneğin, tyrosine kinase inhibitörleri), büyüme faktörü sinyallerini bloke ederek anti-anjiyogenez etkisi gösterebilir.



**Şekil 1.16.** *VEGF* hedefleri ve anti-*VEGF* ilaçları (Niu *ve ark.*, 2010).

*VEGF*'nin bloke edilmesi, anti-anjiyogenez etkisi aracılığıyla birkaç mekanizma ile ilişkilendirilir: Damar Gerilemesi ve Tümör Hücresi Ölümü: *VEGF*'nin bloke edilmesi, mevcut kan damarlarının gerilemesine ve tümör hücrelerinin ölümüne yol açabilir. *VEGF*, endotel hücreler için bir hayatta kalma faktörüdür ve *VEGF*'nin bloke edilmesi, tümör endotel hücrelerinin ölümünü tetikleyebilir. Bu durumda, yeni damar oluşumu engellenir (Niu *ve ark.*, 2010). Anjiyogenezin Önlenmesi: *VEGF*'nin bloke edilmesi, yeni damar oluşumunu önler. *VEGF*, kan damarlarının büyümesini uyarır ve bu da tümörlerin büyümesi ve metastazı için önemlidir. *VEGF*'nin bloke edilmesiyle anjiyogenez inhibe edilir ve tümörlerin kan damarlarına beslenme sağlama yeteneği azalır. Klinik çalışmalardan elde edilen sonuçlar, *VEGF*-hedefli

tedavilerin sitostatik etkiye (tümör büyümesinin duraklaması) sahip olduğunu göstermektedir. Bu tedaviler genellikle tümör büyümesini geciktirir, ancak tümörün küçüldüğüne dair sınırlı kanıtlar vardır. Bu durum, VEGF-hedefli tedavilerin anti-anjiyogenik etki yoluyla kan damarı büyümesini durdurduğunu gösteren dolaylı kanıtlar sağlamaktadır (Ciardiello *ve ark.*, 2003).

### 1.10 MMP2

Matriks metalloproteinazlar (MMP'ler), kalsiyum ve çinko gibi iyonlara bağımlı olan proteolitik enzimlerdir. Bu enzimler, ekstraselüler matriks (ESM) adı verilen hücre dışı matriks bileşenlerini parçalayarak düzenlerler (Scherer *ve ark.*, 2010). ESM, hücreler arasında iletişimi ve hücre-ESM etkileşimini sağlayan bir yapıdır. MMP'ler, ESM'nin yeniden Şekillenmesinde önemli bir rol oynarlar (Zivkovic *ve ark.*, 2007). Bu enzimler, ESM'nin yapısını ve bileşimini düzenleyerek matrikste bulunan proteinleri parçalarlar. *MMP*'lerin en önemli işlevlerinden biri, büyüme faktörlerinin üretimini ve işlevini düzenlemektir. Büyüme faktörleri, hücre büyümesi, proliferasyon, doku onarımı, inflamasyon ve angiogenez gibi birçok biyolojik süreçte rol oynayan aktif moleküllerdir (Bode *ve ark.*, 1999). *MMP*'ler, bu büyüme faktörlerinin etkinliğini ve sinyal yollarını düzenleyerek hücre fonksiyonlarını etkilerler. *MMP*'lerin aşırı aktivitesi veya düzensiz düzenlenmesi, bazı patolojik durumlarla ilişkilendirilmiştir. Örneğin, kanser invazyonu ve metastazında *MMP*'lerin aşırı aktivitesi rol oynayabilir. Ayrıca, inflamasyon, doku hasarı, kalp hastalıkları ve eklem hastalıkları gibi durumlar da *MMP*'lerin düzensiz düzenlenmesiyle ilişkilendirilmiştir (Nagase *ve ark.*, 1999). *MMP*'ler, biyolojik sistemlerde önemli bir role sahip olan ve hücre-ESM etkileşimi ve sinyalizasyon süreçlerinde anahtar oyuncular olarak kabul edilen enzim ailesidir.

Matrix metalloproteinazlar (MMP'ler), ekstraselüler matriksin (ESM) parçalanmasında önemli rol oynayan enzimlerdir. İnsanlarda 23 farklı MMP bulunmaktadır ve bunlar çeşitli dokularda ve hücre tiplerinde ifade edilir. *MMP*'ler genellikle zimojen (uyarılmamış) formda sentezlenir ve daha sonra aktif hale geçerler (Murphy *ve ark.*, 2008).

*MMP*'lerin ESM'ye bağlandıkları substratlar üzerindeki spesifik etkilerine bağlı olarak, yedi farklı gruba ayrılırlar:

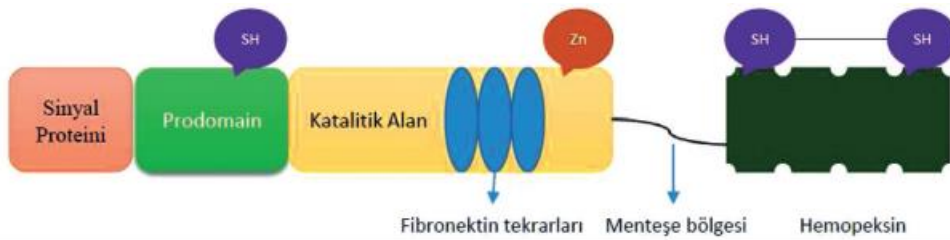
**Kollajenazlar (*MMP-1*, *MMP-8* ve *MMP-13*):** Bu *MMP*'ler kollajen adı verilen proteinlerin parçalanmasında etkilidir. Kollajen, kemikler, kıkırdak, tendonlar ve deri gibi dokularda bulunan bir yapı proteindir.

**Jelatinazlar (*MMP-2* ve *MMP-9*):** Jelatinazlar, jelatin adı verilen bir proteinin parçalanmasında etkilidir. Jelatin, kollajenin hidrolizinden elde edilen bir üründür.

**Stromelisinler (*MMP-3*, *MMP-10* ve *MMP-11*):** Bu *MMP*'ler, bazal membran ve ekstraselüler

matrikste bulunan birçok proteinin parçalanmasında rol oynar. Stromelinler, inflamasyon, doku onarımı ve embriyonik gelişim gibi süreçlerde önemli bir rol oynar.

**Matrilisinler (MMP-7 ve MMP-26):** Matrilisinler, bazal membran ve ekstraselüler matrikste proteinlerin parçalanmasında etkilidir. Aynı zamanda hücreler arası iletişimi düzenleyen bazı proteinlerin aktivasyonuna da katkıda bulunurlar ( Gill ve ark., 2010). MMP'lerin zimojen formdan aktif forma geçmesi, N-terminal propeptidin proteolitik olarak uzaklaştırılmasıyla gerçekleşir. Bu süreçte, serin proteaz plazminin yanı sıra bazı MMP'ler ve diğer proteinazlar da rol oynayabilir. Aktive edilen MMP'ler daha sonra ESM bileşenlerini parçalayarak hücre hareketi, doku yenilenmesi, inflamasyon ve kanser metastazı gibi süreçlere katkıda bulunurlar (Pei ve ark., 1996). MMP'lerin temel yapısı üç bölümden oluşmaktadır. Sinyal peptidi MMP'lerin olgun aktif formunu oluşturmaktadır, hücre içinde sentezlendikten sonra hızla bölünen bir sinyal peptidi içerir. Bu bölge, hücreden salınan MMP'nin dışarı çıkmasını sağlar. İkinci bölge olan prodomain, katalitik bölgeyle etkileşime giren bir peptid dizisini içerir. Bu bölge, gizli formdaki enzimatik aktiviteyi korur. Prodomain, MMP'nin inaktif (zimojen) formda kalmasını sağlar. Katalitik bölge, aktif enzimatik aktiviteyi barındırır. Bu bölge, substratları parçalayacak proteolitik aktiviteye sahip olan kritik amino asit kalıntılarını içerir. Katalitik bölgenin aktivasyonu, çinko atomunun proteolitik salınımı ile gerçekleşir. Bu bölge aynı zamanda 3 histidin kalıntısı tarafından tutulan bir çinko atomu içerir. Bazı MMP'lerde, substrat tanınması ve bağlanması için gerekli olan ek bir alan olan hemopeksin domaini bulunur. Bu alan, hemopeksin ailesine ait bir yapıya sahiptir ve MMP'nin spesifik substratları tanınmasına yardımcı olur. Bu bölgeler MMP'lerin işlevini aktivasyonunu düzenleyen bölgeler olarak işlev göstermektedir (Taşkan ve ark., 2020).



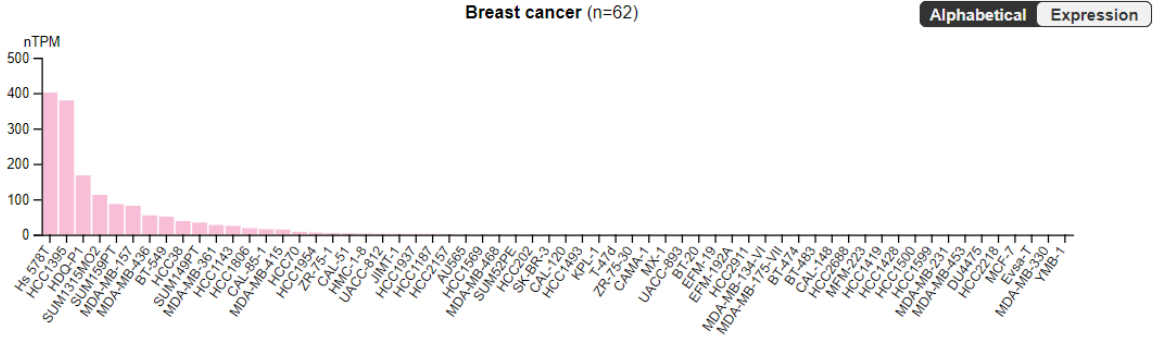
Şekil 1.17. Jelatinazların yapısı (Cathcart ve ark., 2015).

MMP-2 genellikle fibroblastlar, endotel hücreleri ve osteoblastlar gibi hücreler tarafından sentezlenir. Bu MMP, ekstraselüler matrikste jelatinin parçalanmasında önemli bir rol oynar. Jelatin, kollajenin hidrolizinden elde edilen bir protein olduğu için MMP-2, kollajenin parçalanmasında da dolaylı olarak etkili olabilir. MMP-9 ise inflamatuvar hücreler, tümör

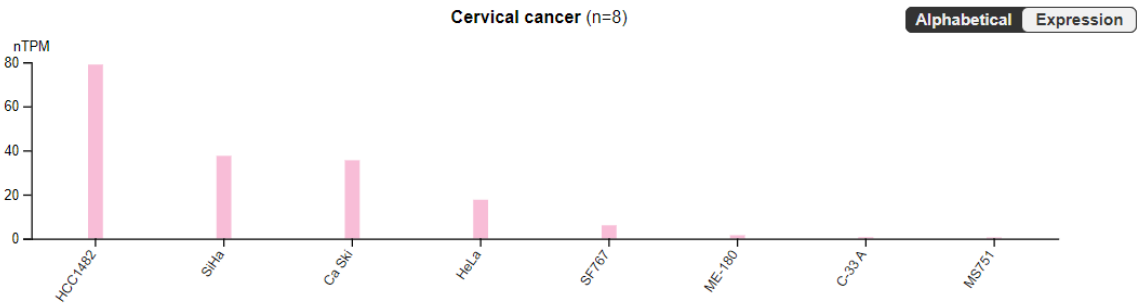
hücreleri, keratinositler ve bazı epitel hücreleri tarafından üretilir (Rounet-Benzineb ve ark., 1999).

*MMP-2 ve MMP-9'un* ekspresyonu, nükleer faktör-kappa B (NF- $\kappa$ B) adı verilen bir transkripsiyon faktörünün hiperaktivasyonu ile düzenlenir. *NF- $\kappa$ B*, inflamasyon ve bağışıklık yanıtlarında önemli bir rol oynayan bir moleküldür. Hiperaktivasyonu, *MMP-2 ve MMP-9'un* artmış sentezine ve salınımına yol açarak invazyon sürecinde kritik bir rol oynar. Bu nedenle, *MMP-2 ve MMP-9*, kanser metastazı gibi invazyon odaklı patolojik durumlarda önemli bir rol oynayabilirler (Rounet-Benzineb ve ark., 1999). Meme kanseri hücreleri, invazyon ve metastaz sürecinde MMP'lerin önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. *MMP*'ler, ekstraselüler matriksin (ESM) yapısını parçalayarak hücre migrasyonu ve invazyonunu kolaylaştırırlar. *MMP-2*, meme kanseri hücrelerinde migrasyon, invazyon, anjiyogenez (yeni kan damarlarının oluşumu) ve metastaz gibi süreçlerde etkili olan önemli bir enzimdir. İnsan *MMP-2* geni 16q21 kromozomunda bulunur. *MMP-2*, inaktif *pro-MMP-2* olarak hücreden salınan çözünür bir protein şeklinde bulunur ve biyolojik aktivitesi için hücre dışında posttranslasyonel bölünme gerektirir. Membran tip 1 MMP (MT1-MMP), *pro-MMP-2*'yi aktif *MMP-2*'ye, aynı zamanda aktif *MMP-2* de *pro-MMP-9*'u aktif *MMP-9*'a dönüştürebilen bir enzimdir. Aktive olan *MMP-2*, doku inhibitörü olan metalloproteinaz-2 (TIMP-2) veya *MT1-MMP* ile kompleks oluşturur. Bu kompleks, ESM'yi bozarak meme kanseri hücrelerinin metastazını kolaylaştırır. Yüksek düzeyde aktif *MMP-2* ekspresyonu gösteren kanserli dokuların metastaz riski taşıdığı gösterilmiştir. Bu nedenle, *pro-MMP-2* ve aktif *MMP-2'nin* aktivasyon hızı, tümör metastazının bir göstergesi olarak kullanılmaktadır. *MMP-2'nin* aktivasyonu ve fonksiyonu, meme kanseri hücrelerinin invazyon ve metastaz potansiyelini etkileyen önemli faktörlerden biridir. Meme kanserinde *MMP-2* seviyelerinin ve ifadesinin daha kötü genel hayatta kalma ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Örneğin, *MMP-2* ve onun yakından ilişkili *MMP-9* gibi MMP ailesi üyelerinin mRNA seviyeleri, MDA-MB-231 ve MCF-7 gibi meme kanseri hücre hatlarında normale kıyasla önemli ölçüde daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca, düşük *MMP-2* ve *MMP-9* mRNA seviyelerinin meme kanseri hastalarında daha iyi genel sağkalım ile ilişkili olduğu gözlemlenmiştir. Yani, *MMP-2* ve *MMP-9* seviyelerinin yüksek olması, daha kötü bir prognoz ve hastalık sürecinde artmış ölüm riski ile ilişkilendirilebilir. Bu bağlamda, *MMP-2* pozitifliği takip edilen ilk 10 yıl içinde artmış ölüm riski (1.8 kat daha yüksek) ile ilişkilendirilmiştir. Bu bulgular, *MMP-2'nin* meme kanseri hastalarında agresif tümör fenotipi ve metastaz potansiyeli ile ilişkili olabileceğini göstermektedir. Bu veriler, *MMP-2* seviyelerinin meme kanseri prognozu hakkında değerli bir prognostik belirteç olabileceğini ve daha yüksek *MMP-2* seviyelerinin kötü klinik sonuçlarla ilişkili olduğunu düşündürmektedir.





Şekil 1.18. Meme kanseri hücrelerinde *MMP2* gen ifade seviyesi (Protein Atlas, 2023).



Şekil 1.19. Rahim ağzı kanser hücrelerinde *MMP2* gen ifade seviyesi (Protein Atlas, 2023).



## 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Mevcut tez çalışması ile ilgili daha önce yapılan çalışmalar geçmişten günümüze incelenmiş ve elde edilmiş bulgu ve sonuçlar araştırılan konu etrafında yeniden değerlendirilmesi yapılmıştır.

### 2.1. Tamoksifenin MCF-7 Hücre Hatları Üzerine Yapılan Çalışmalar

Hassan ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmalar, tamoksifenin MCF-7 hücre hatlarında doza bağımlı bir şekilde etkisinin arttığını ve belirli dozlarda sitotoksik etkisi olduğunu göstermiştir. Yani, yüksek dozlarda tamoksifenin hücreleri öldürme yeteneği daha güçlü olmuştur. Ayrıca, bu çalışmalarda tamoksifenin hücrelerdeki Cas9 geninin ekspresyonunu önemli ölçüde arttırdığı tespit edilmiştir. Cas9, bir gen düzenleme aracı olarak kullanılan bir enzimdir (Hassan ve ark., 2018).

### 2.2. Tamoksifen ve Normannakantal Kombinasyonunun Kanser Hücreleri Üstünde Yapılan Çalışmalar

Subramani ve arkadaşları tarafından yapılan çalışma, meme kanseri hücrelerinde tamoksifen (TAM) ve nordamnacantal (NDAM) adlı maddelerin birleştirildiği yeni bir kombinasyon tedavisini araştırmıştır. Bu tedavi yöntemi MCF-7 hücreleri üzerinde test edilmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre, TAM ve NDAM ile tedavi edilen MCF-7 hücreleri, tedavi edilmeyen kontrol hücreleri veya yalnızca TAM veya NDAM ile tedavi edilen hücelere kıyasla önemli ölçüde azalmış hücre canlılığı ve artmış apoptoz (hücre ölümü) göstermiştir. Bu etkilerin doza bağımlı olduğu belirtilmiştir, yani kullanılan doz arttıkça etkinin daha belirgin olduğu gözlenmiştir. Bu bulgular, TAM ve NDAM kombinasyon tedavisinin meme kanseri hücrelerinde olumlu bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Kombinasyon tedavisinin, tek başına TAM veya NDAM tedavisine kıyasla daha güçlü bir etki sağladığı ve hücre canlılığını azaltarak apoptozu4 artırdığı görülmüştür (Subramani ve ark., 2014).



### 3.MATERYAL VE METOD

#### 3.1 Materyal

##### 3.1.1 Hücre Hatları

HeLa ve MDA-MB-231 hücre hattı Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Tıbbi Farmakoloji ARGE laboratuvarından temin edilmiştir.

##### 3.1.2 Kimyasal ve Reaktifler

**Tablo 3.1.** Çalışmada Kullanılan Kimyasal ve Reaktifler

Kullanım Amacı	Kimyasal ve Reaktif	Ürün Firma Adı
Hücrelerin Rutin Bakımı	RPMI-1640 Medium Fetal	Biological Industries, İsrail
	Bovin Serum (FBS)	Biological Industries, İsrail
	Gentamisin	Biological Industries, İsrail
	Trypsin-EDTA Phosphate	Biological Industries, İsrail
	Buffered Saline (PBS)	Biological Industries, İsrail
	Dimetil Sülfoksit (DMSO)	Amresco®, ABD
Hücre İnvazyon Analizi	Matrigel	BD Biosciences, ABD
	Giemsa Çözeltilisi	Merck, Almanya
	Metanol (% 100), Formaldehit (% 37)	Tekkim, Türkiye
Çalışmada Kullanılacak İlaçlar	Tamoksifen	Merck, Almanya
	Klorambusil	Merck, Almanya
Migrasyon Deneyi	Giemsa Mavisi	Merck, Almanya
	Metanol	Merck, Almanya
	Formaldehit	Merck, Almanya
Ticari Kitleler	Cdna Sentez Kiti	GeneAll, Kore
	Memeli RNA Sentez Kiti	GeneAll, Kore

### 3.1.3 Makine ve Teçhizat

**Tablo 3.2.** Çalışmada Kullanılan Makine ve Teçhizat

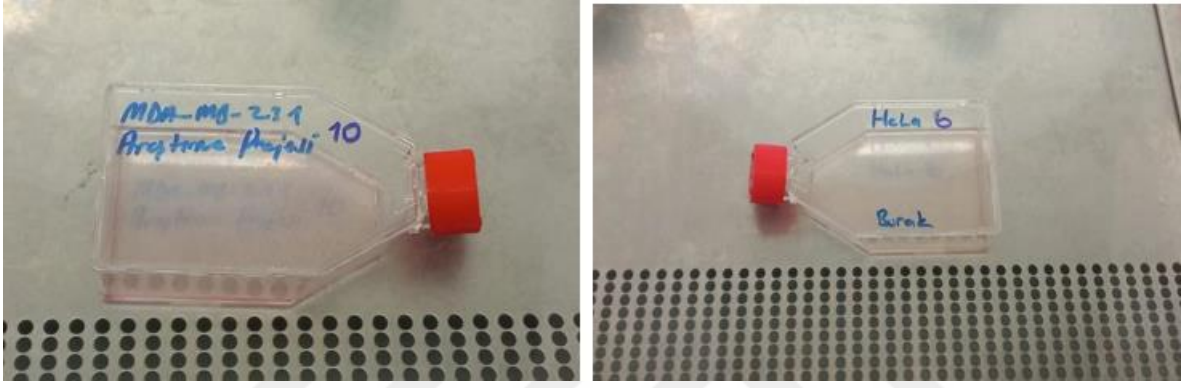
Kullanım Amacı	Makine ve Teçhizat	Ürün Firma Adı
<b>Hücreyel Çalışma</b>	CO <sub>2</sub> İnkübatör	Nüve EC 160, Türkiye
	Laminar Akımlı Kabin	Nüve MN 090, Türkiye
	İnverted Mikroskop	BAB, Türkiye
	Mikroskop Kamerası	Leica, Almanya
	Stereo Mikroskop	Leica, Almanya
<b>Moleküler Çalışma</b>	PCR Cihazı	Thermo Hybaid, ABD
	Vorteks	IKA® Vortex, ABD
	Mini Santrifüj Cihazı	Nüve NF 024, Türkiye
	Santrifüj Cihazı	Nüve NF 400, Türkiye
	Nanodrop Cihazı	Mecasys Obtizen NanoQ, Kore
	ELISA Okuyucusu	BIOTEK ELX808, ABD
	Jel Yükleme Cihazı	Thermo Scientific, ABD
Jel Görüntüleme Cihazı	BIO-RAD, ABD	
<b>Malzeme Depolanması</b>	Buzdolabı (+4 °C)	Vestel, Türkiye
	Buzdolabı (-20 °C)	Vestel, Türkiye
	Masa Üstü Bilgisayar	Hewlett Packard (Hp), ABD

## 3.2 Metod

### 3.2.1 Hücre Kültürü

#### 3.2.1.1 HeLa ve MDA-MB-231 Hücre Hattının İki Boyutlu Olarak Geliştirilmesi

HeLa ve MDA-MB-231 kanser hücre hattı % 10 (v/v) Fetal Bovin Serum eklenmiş % 1 (v/v) Gentamisin içeren % 88 (v/v) RPMI-1640 besiyerinde 37 °C'de % 5 karbondioksit inkübatör içerisinde 75 cm<sup>2</sup>'lik flasklarda üretilmiştir. Flask içerisine 12 mL taze medium ilâve edilmiştir. Flask yüzeyinin % 80'i hücreler tarafından kaplandıkça, hücreler tripsin-EDTA kullanılarak pasajlanmıştır.



Şekil 3.1. MDA-MB-231 ve HeLa Hücrelerin İki Boyutlu Geliştirilmesi

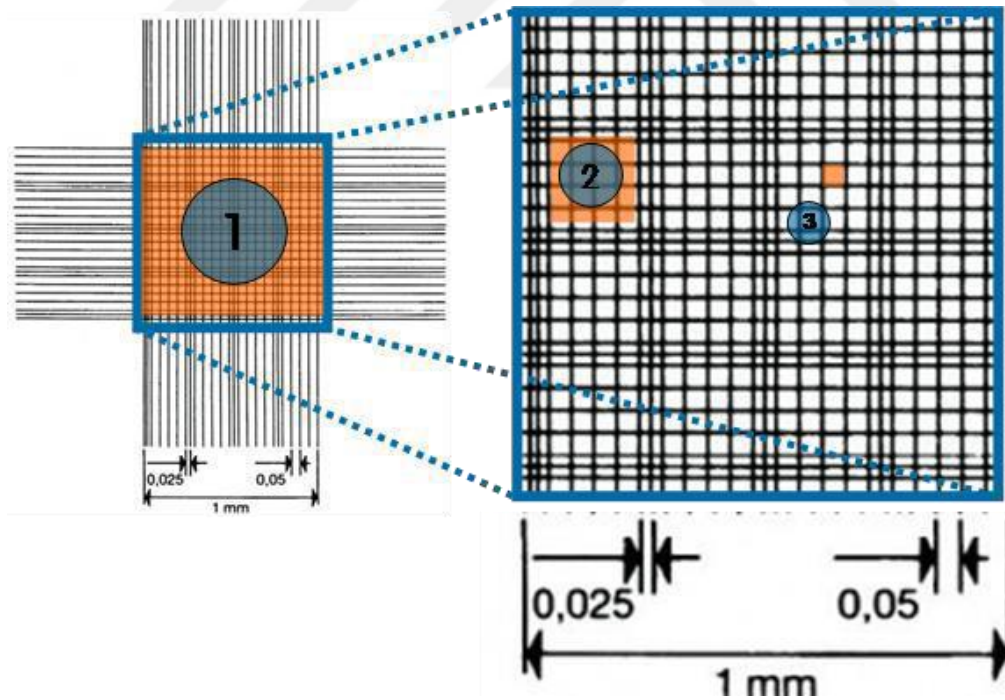
#### 3.2.1.2 Hücrelerin Pasajlanması

Flask içerisinde büyütülen ve geliştirilen hücreler flask tabanını doldurmaya başladıktan sonra hücreler yanlarındaki hücreler ile yapışık hale gelmektedirler ve bu durum hücrelerin ameboid uzantılarının yavaşlamasını ve hücrelerin büyümesini yavaşlatan bir olayı tetikler bu olaya da kontakt inhibisyon olayı denilmektedir. Hücrelerin pasajlanması hücre sayısının yarıya indirilerek hücrelerin büyüme yeteneklerinin ve çoğalma yeteneklerinin stabil durumda bırakılması olarak tanımlanmaktadır (Phelan, 2015). Bu durum için hücreler yapıştığı flask tabanından bir substrat ile ayrılması ve daha sonra hücrelerin ayrı flasklara bölünerek hücre sayısının azaltılması gerekmektedir. Hücreler tabana yapışık halden kaldırılması için Tripsin-EDTA denilen bir enzim ile kaldırılmalıdır ve bu olaya da *tripsinizasyon* denilmektedir (Phelan, 2015). Bu işlem göz önüne alınarak, öncelikle hücreler mikroskop altında incelenmiştir ve % 80 flask tabanını kapladığı (*ing.* konfluent) gözlenmiştir. Flask içerisindeki 12 mL hücre mediumu çekilip, 5 mL Phosphate-buffered saline tamponu (*ing.* PBS) ile yıkanmıştır. Hücrelerin üzerine 1 mL tripsin-EDTA ilâve edilip hücreler flask tabanından ayrılana kadar 37 °C'de 2 dakika inkübe edilmiştir. Hücreler flask tabanından ayrıldıktan sonra tripsinin hücreler

üzerindeki toksik etkisini inhibe etmek için 4 mL hücre mediumu ilâve edilip gerekli sayıda hücre yeni bir kültür şişesine aktarılmıştır.

### 3.2.1.3 Tripan Mavisi ile Hücre Sayımı

Tripan mavisi boyasının aktivitesi, kromoforun negatif yüklü olduğu ve membran hasar görmediği sürece hücre ile etkileşime girmediği duruma bağlıdır. Bu nedenle ölü hücreler maviye boyanır ve ölü olmayan hücreler tripan boyası ile boyanmaz. Tripsin-EDTA ile kaldırılan hücreler ilk olarak bir endorf içerisine 250  $\mu$ L hücre solüsyonu eklenir daha sonra üzerine 10:1 oranında boya eklenmelidir bu oran göz önüne alındığında, 25  $\mu$ L tripan mavisi solüsyonu ile karıştırılıp hemositometri (Thoma Lamı) üzerine 5 dk bekletildikten sonra 10  $\mu$ L hücre ve boya solüsyonu eklenmelidir. Daha sonra lamın üzerinde sayım yapılmaktadır bu sayım thoma lamının Şekil 3.1 de gösterildiği Şekilde 1 numaralı bölgedeki hücrelerin sayısının sayılmasını kapsamaktadır burada sayılan hücreler hesaplama formülü ile hesaplanarak flask içerisindeki hücrelerin ortalama kaç tane hücreye denk geldiğini göstermektedir.



Şekil 3.1: Thoma lamının şematik gösterimi (Gulati ve ark., 2002).

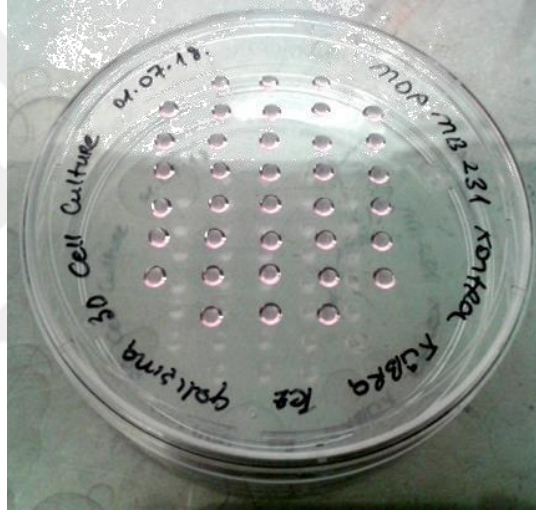


$$1 \text{ mL 'deki H\u00fccre Sayısı} = \text{Karelerdeki H\u00fccre Sayısı} \times \text{Seyreltme Fakt\u00f6r\u00fc} \times 4 \times 10^6$$

[Denklem 3.1:]

#### 3.2.1.4 HeLa ve MDA-MB-231 H\u00fccre Hattının \u00dc\u00e7 Boyutlu Olarak Geli\u015ftirilmesi

H\u00fccre hatları \u00fc\u00e7 boyutlu *asılı damla y\u00f6ntemi* kullanılarak sferoid formda \u00e7o\u011faltılm\u0131\u015ftir. H\u00fccreler flask tabanından kaldırıktan sonra bir 15 ml'lik falcon i\u00e7erisine alınıp hazırlandıktan sonra [Şekil 3.2.]'de g\u00f6sterildi\u011fi gibi pipet yardımıyla 10  $\mu\text{L}$  ( $\approx 10.000$  h\u00fccre) h\u00fccre s\u00fcsansiyonu petrinin \u00fcst tabanına ekimi yapılmaktadır. Nem kontrol\u00fcn\u00fc sa\u011flamak i\u00e7in petrinin alt tabanına 5 mL PBS eklenmi\u015ftir. Ardından h\u00fccreler 37  $^{\circ}\text{C}$ 'de % 5 karbondioksitli ink\u00fcbat\u00f6rde \u00fcretilmi\u015ftir (Foty, 2011).



Şekil 3.2. MDA-MB-231 ve HeLa H\u00fccrelerin \u00dc\u00e7 Boyutlu Geli\u015ftirilmesi

H\u00fccre hatlarının asılı damla y\u00f6nteminde k\u00fcresel olarak etkin bir şekilde b\u00fcy\u00fcmeye sa\u011flaması i\u00e7in her g\u00fcn kuyucuklara 5  $\mu\text{L}$  taze besiyeri gerek duyulan kuyucuklara bırakılmı\u015ftır. HeLa h\u00fccre hattı bir g\u00fcn, MDA-MB-231 h\u00fccre hattı iki g\u00fcn\u00fcn sonunda k\u00fcresel \u015fekil alıp 200-300 mikron boyutuna ula\u015fmı\u015ftır. H\u00fccreler 3B yapılarına ula\u015ftıktan sonra h\u00fccrelerin \u00fczerlerine LD50 de\u011ferleri belirlenen doz miktarları 10  $\mu\text{L}$  \u015eklinde verilmi\u015ftir. Bu 10  $\mu\text{L}$  verilen her ila\u00e7 dozu LD50 de\u011ferine hesaplanarak verilmi\u015ftir (Tablo 3.1).

### 3.2.2 Hücre Motilitesinin Tespit Edilmesi

#### 3.2.2.1 HeLa ve MDA-MB-231 Hücre Hattı Motilite Testi

Metastatik kabiliyeti belirlemek için *hücre göç analizi* yapılmıştır. İlk olarak, 12'li kuyucuklu bir plaka içerisinde her kuyucuğa yaklaşık  $2 \times 10^5$  hücre ilâve edilmiştir. Bir günün sonunda, hücrelerin % 80 flask tabanını kapladığı gözlenmiştir. 10 µL pipet ucu (beyaz renkte) yardımıyla, tek tabaka halinde hızlı bir şekilde dikey bir yara oluşturulmuştur.

Daha sonra oluşturulan yaradan kaynaklı plaka içindeki hücreler ölü hücrelerden temizlenmek için 1 ml PBS içerisinde yıkanmıştır ve daha sonra taze besiyeri üzerine eklenerek ilaçlar üzerlerine eklenmiştir. 24.48 ve 72 saat fotoğrafları alınarak ilaçların hücreler üzerindeki göç yeteneğini etkilemesi belirlenmiştir.

#### 3.2.3 HeLa ve MDA-MB-231 Hücre Hattı İnvazyon Testi

Hücrelerin verilen ilaçlara etkisinin daha iyi şekilde görülmesi ve çekirdek kısmındaki değişikliklerin anlaşılması için giemsa boyama deneyi yapılmıştır. Hücreler kuyucuklara %80 kaplayacak şekilde ekilmiş ve üzerlerine 1 ml besiyer eklenilerek 1 gün inkubatöre kaldırmıştır. 1 gün sonra hücreler tabana yapıştığı ve kapladığında hücrelere ilaç dozları verilmiştir (Tablo 3.1). 1 gün sonra hücrelerdeki kirli besiyer çekilerek uzaklaştırmıştır üzerlerine 250 µL formaldehit %36 eklenmiştir ve 2 dk hücreler formaldehit ile muamele edilerek hücrelerin tabana yapışmaları sağlanmıştır. Bu aşamadan sonra hücreler 2 defa PBS ile yıkanarak formaldehit uzaklaştırılmıştır. Daha sonra hücrelere 500 µL etanol eklenmiş ve bu sayede hücre zarının daha geçirgen bir şekilde olması sağlanmıştır ve 20 dakika hücreler etanol ile muamele edilmiştir ve tekrardan 2 defa PBS ile yıkanarak hücreler metanolden arındırılmıştır. Son aşamada hücrelere 250 µL Giemsa mavisini eklenmiş ve üzerleri alüminyum folyo ile kapatılmıştır ve ışığa maruz kalması engellenmiş ve boyanın yapısının bozulması engellenmiş ve 20 dakika beklenmiştir. Boya 20 dakika sonunda kuyucuklardan çekilip son olarak iki kez PBS ile yıkama işlemi gerçekleştirilmiştir. Kuyucukların mikroskopta net gözükmesi için steril swap yardımıyla kuyucuk içerisinde birikebilecek olan PBS kalıntıları swap ucu hücre tabanına değdirilmeden swap ucundaki pamuk yardımı ile toplanmıştır. Boyama işleminde her gün için ayrı çekilmesi gerekmektedir ve bu işlem her bir kuyucuk için 3 gün boyunca yapılmaktadır. Her boyama işleminin bitmesiyle 24,48 ve 72.saat boyama fotoğrafları çekilerek deney tamamlanmıştır.

### 3.2.4 Tamoksifen ve Klorambusilin Hazırlanması

Tamoksifen ve Klorambusil ticari olarak satılan kapsüller şeklinde satın alınmıştır. Daha sonra molaritesi hesaplanmış ve 10 ml içerisinde 6 ml DMSO 4 ml distile su içerisinde çözülerek kullanılmıştır.

0,04 gram

563.638 mol = 3548,7µM

0,02 Litre

TAMOKSİFEN  
ANA STOK  
MOLARİTESİ

0,001 gram

304,212 mol = 328,7µM

0,01Litre

KLORAMBUSİL  
ANA STOK  
MOLARİTESİ

#### 3.2.4.1 Tamoksifenin 2B ve 3B Dozlarının Hesaplanması

##### 3.2.4.1.1 2B Tamoksifen ve Klorambusilin Doz Hesaplanması

#### **Tamoksifen**

3448. x = 5µM.1000µL = 1.4µL ilaç + 999,6 µL medium

3448. x = 10µM.1000µL = 2.8µL ilaç + 997,2 µL medium

3448. x = 25µM.1000µL = 5.6µL ilaç + 993,4 µL medium

3448. x = 50µM.1000µL = 14µL ilaç + 996 µL medium

3448. x = 75µM.1000µL = 21.1µL ilaç + 928,9 µL medium

3448. x = 100µM.1000µL = 28µL ilaç + 972 µL medium

#### **Klorambusil**

328.7. x = 10µM. 1000µL = 30.4µL ilaç + 969,6 µL medium

328.7. x = 25µM. 1000µL = 76µL ilaç + 928 µL medium

328.7 x = 50µM. 1000µL = 152µL ilaç + 848 µL medium

#### 3.2.4.1.2 3B Tamoksifen ve Klorambusil Hesaplamaları

#### **Tamoksifen**

3448. x = 150µM. 500µL = 21.7µL ilaç + 478,3 µL medium

3448. x = 200µM. 500µL = 29µL ilaç + 471 µL medium

## Klorambusil

328.7 x = 20µM. 500µL = 30.4µL ilaç + 469,1 µL medium

328.7 x = 50µM. 500µL = 76.2µL ilaç + 424 µL medium

328.7 x = 100µM. 500µL = 152µL ilaç + 348 µL medium

Bu hesaplama modelinde 3B hücelere normal şartlar altında 10 µL de uygun dozların verilmesi için gerekli doz miktarı çok düşük dozlara tekabül etmesi sebebi ile 3B doz hesaplamalarında 10 µL ekilen hücre üzerinde tekrardan 10 µL ilaç eklenmesi ve bu toplam oluşak 20 µL hacmin içerisindeki doz miktarının her iki ilaın belirlenen dozlarna denk gelmesi öngörölmüştür.

### 3.2.4.1.3 İlaçların Ara Stok Kombinasyonlarının Üç Boyutlu Hesaplanması

3B hücelere 2B hücelere verilen ilaç karışımlarının 10 µl dozlarına denk gelecek olan dozların ilaç karışımlarının hazırlanmasının tablosu 2.4 de verilmiştir. Bu hazırlanan dozlardan 10 µl alıp verilmiştir.

**Tablo 3.3.** 3B hücelere verilen ilaç kombinasyonlarının hazırlanması

Tamoksifen/Klorambusil	Klorambusil 10 µM	Klorambusil 25 µM	Klorambusil 50 µM
<b>Tamoksifen 75 µM</b>	60.9 Klorambusil + 42.2 Tamoksifen + 928 Medium	152 Klorambusil + 42.2 Tamoksifen + 836 Medium	304 Klorambusil + 42.2 Tamoksifen + 684 Medium
<b>Tamoksifen 100 µM</b>	60.9 Klorambusil + 56 Tamoksifen + 884 Medium	152 Klorambusil + 56 Tamoksifen + 792 Medium	304 Klorambusil + 56 Tamoksifen + 640 Medium

### 3.2.5 HeLa ve MDA-MB-231 Hücre Hattı Sitotoksik Analizi

İki boyutlu ve üç boyutlu hücre kültüründe büyütölen HeLa ve MDA-MB-231 hücre hattında, Tamoksifen ve Klorambusilin hücelere üzerindeki sitotoksik etkisini ve hücelere uygulanacak ilaçların dozunu belirlemek için *sitotoksik analizi* yapılmıştır. Hüceler 12 kuyucuklu well plate içerisinde tabanın %80 kaplayacak şekilde ekimi yapılmıştır ve hücelerin tabana yapışmaları için 1 gün beklenmiştir. Daha sonra iki farklı ilaç için farklı dozlar hesaplanmış ve well plate içerisindeki hücelere bu ilaç dozları verilmiştir. Hücelerin 24,48 ve 72. Saatlerdeki fotoğrafları çekilerek hücelerin morfolojik ve sitotoksik etkileri belirlenerek LD50 değerleri belirlenecektir.

**Tablo 3.4.** LD50 değerlerini belirlemek için hücelere verilen ilaç dozları

<b>Tamoksifen</b>	<b>Klorambusil</b>
5 µM	10 µM
10 µM	25 µM
25 µM	50 µM
50 µM	75 µM
75 µM	100 µM
100 µM	

### **3.2.6 Ters Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyonu (ing. Revers Transkriptaz)**

#### **3.2.6.1 HeLa ve MDA-MB-231 Hücre Hattı RNA İzolasyonu**

RNaz inaktivasyonu için tüm materyaller, dietil karbonat (DEPC) ile işlenmiş damıtılmış su ile muâmele edilmiştir. Üreticinin protokolüne göre toplam RNA izolasyonu için GeneAII® Hybrid-R™ RNA izolasyon kiti kullanılmıştır. Yaklaşık  $1 \times 10^6$  ilâ  $5 \times 10^6$  arasında değişen iki boyutlu ve üç boyutlu HeLa ve MDA-MB-231 hücrelerinin üzerine 1 mL RiboEx™ ilâve edilip 5 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. Hücreler liziz olduğunda üzerine 200 µL kloroform eklenip 12.000 g'de 15 dakika santrifüj edilmiştir. (+4 °C) Kolonun üst fazındaki 500 µL şeffaf süpernatant temiz bir ependorfa alınmıştır ve 500 µL RBI Tampon ilâve edilmiştir. Pipetaj yapıldıktan sonra karışım spin kolona (yeşil) aktarılmıştır ve 10.000 g'de 30 saniye santrifüj edilmiştir. Santrifüj tüp yenisi ile değiştirilmiştir. Spin kolon üzerine 500 µL SWI Tampon ilâve edilip 10.000 g'de 30 saniye santrifüj edilmiştir. Santrifüj tüp yenisi ile değiştirilmiştir. Spin kolon üzerine 500 µL RNW Tampon ilâve edilip 10.000 g'de 30 saniye santrifüj edilmiştir. İçerisinde herhangi bir tampon kalmaması için 10.000 g'de 1 dakika boş santrifüj yapılmıştır. 1,5 mL etiketlenmiş ependorflara spin kolonlar aktarılmıştır. Son olarak 50 µL DNaz ve RNaz içermeyen distile su ilâve edilip 10.000 g'de 1 dakika santrifüj yapılmıştır. İzole edilen RNA'nın saflığı ve konsantrasyon durumu NanoDrop ve Agaroz Jelde belirlendikten sonra cDNA sentezi ile deneye devam edilmiştir.

### 3.2.6.2 NanoDrop ile İzole Edilen RNA'ların Ölçülmesi

Optik yoğunlukta, izole edilmiş toplam DNA ve RNA örneklerin konsantrasyonunun ve saflığının belirlenmesi için 260 nm ve 280 nm'de verdiği absorbans değerleri oranlanır. ( $A_{260}/A_{280}$ ) 260 nm'de DNA ve RNA maksimum absorbans değeri (veya dalga boyu) gösterecektir. İdeal DNA saflık oranı yaklaşık 1.8 ve ideal RNA saflık oranı ise yaklaşık 2.0 olmalıdır. Toplam RNA saflığının nicelleştirilmesi için kullanılan denklem:

$$[RNA] = A_{260} \times \text{Seyreltme Faktörü} \times \text{RNA'nın Ortalama Ekstinksiyon Katsayısı (40.0)}$$

#### [Denklem 3.2:]

RNA saflığı ve konsantrasyon değeri NanoDrop cihazı kullanılarak ölçülmüştür. İzole edilen iki boyutlu ve üç boyutlu HeLa ve MDA-MB-231 RNA örneklerinden 2 µL kadar alınıp cihaza yüklenmiştir. Cihazın verdiği konsantrasyon ve saflık değerleri gözlenmiştir.

### 3.2.6.3 cDNA Sentezi ve Expresyon Analizi

İzole edilen tek zincirli mRNA'nın, çift zincirli komplementer DNA'ya yani cDNA'ya çevrilmesi gerekmektedir. Bunun için cDNA sentezi yapılır. Üreticinin protokolüne göre toplam cDNA sentezi için abm® OneScript® Plus cDNA Synthesis Kit kullanılmıştır. Bütün cDNA sentezi süreci boyunca kullanılan malzemeler DEPC'li ve otoklavlıdır.

10 pg ve 500 ng arasında total RNA için gerekli hacimler kit protokolü çerçevesinde hesaplanmıştır. Bu hesaplama her bir örnek için; 1 µL random dNTP hazırlanmıştır. Belirlenen RNA hacimleri üzerine bu karışım ilâve edilmiştir ve üzerine nükleaz free water (DNA ve RNA içermeyen su) ilâve edilmiştir. PCR cihazında 5 dakika 65 °C'de inkübe edilip ardından 1 dakika buz blok üzerinde bekletilmiştir. Böylece cDNA ilk zincir sentezi gerçekleşmiştir.

cDNA ikinci zincir sentezi için ayrı bir ependorf içerisinde; 2 µL RTaz Reaksiyon Tamponu (10x), 2 µL DTT (0.1 M), 1 µL HyperScript™ Reverse Transkriptaz ve 1 µL ZymAll™ RNaz inhibitör karışımı hazırlanmıştır. Bu karışım cDNA ilk zincir sentezinde elde edilen karışım ile birleştirilmiştir. PCR cihazında; 55 °C'de 60 dakika, 85 °C'de 5 dakika inkübe edilmiştir. Nihâf inkübasyondan sonra cDNA ürünleri ekspresyon analizi için -20 °C'de muhafâza edilmiştir.

Elde edilen cDNA'ların gen ifade düzeyini (*ing.* ekspresyon analysis) belirlemek için hizmet alımı kapsamında revers transkriptaz polimeraz zincir reaksiyon (RT-PCR) düzeneği kurulmuştur. Revers transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu yardımıyla mRNA ekspresyonunun kantitasyonu; kompetitif polimeraz zincir reaksiyonu ve real-time polimeraz zincir reaksiyonu olarak iki ana basamakta gerçekleştirilmiştir. Revers transkriptaz polimeraz zincir reaksiyon muhtemel basamakları düzeneğinde gösterilmiştir.

**Tablo 3.5.** Real Time Pcr İşleminde Kullanılan Primerler

• <i>VEGFA</i> F;
• 5'-GAAGAAGCAGCCCATGACAG-3'
• 59= T <sub>m</sub>
• <i>VEGFA</i> R;
• 5'-CTCACACACACACAACCAGG-3'
• 59= T <sub>m</sub>
• <i>MMP2</i> F;
• 5'-AATCCCACCAACCCTCAGAG-3'
• 59= T <sub>m</sub>
• <i>MMP2</i> R;
• 5' GTGCCCTCTTGAGAGACAGTCT-3'
• 59= T <sub>m</sub>
• B-ACTİNF;
• 5'-CACCAACTGGGACGACAT-3'
• 56= T <sub>m</sub>
• B-ACTİNR;
• 5'-ACAGCCTGGATAGCAACG-3'
• 36= T <sub>m</sub>

**Tablo 3.6.** Örneklerin Nanodrop Sonuçları

<b>MDA-MB-231</b>		<b>HeLa</b>	
Kontrol	130	Kontrol	200
75 µM T + 25 µM C	75	75 µM T + 25 µM C	89
75 µM T	103	75 µM T	160
25 µM C	158	25 µM C	190

**Tablo 3.7.** Real-Time Pcr Reaksiyonunda Kullanılan Bileşimler ve değerleri

<b>Bileşimler</b>	<b>Değer</b>
2X SuYBRGreen qPCR Mastermix	10 µl
Forward primer (10 µM)	1 µl
Reverse primer (10 µM)	1 µl
Sample cDNA	2 µl
Nuclease-free water	6 µl
<b>TOTAL</b> Volume	<b>20 µl</b>

**Tablo 3.8.** Real Time Pcr Döngü Ve Sıcaklık Değerleri

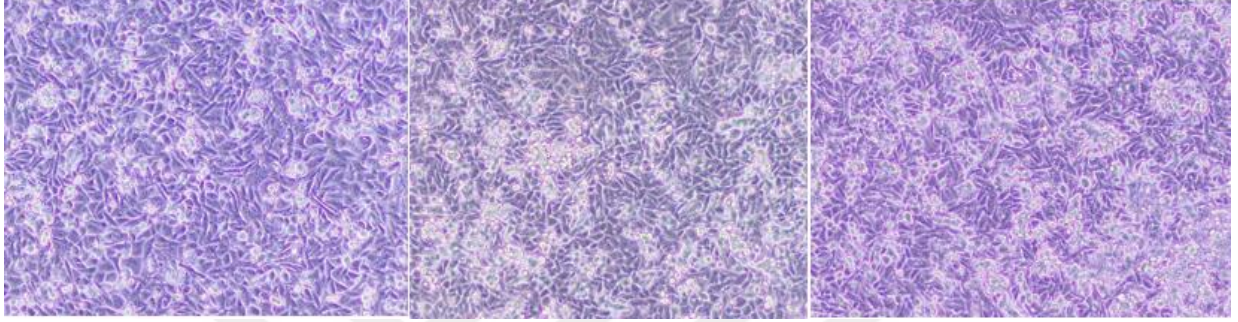
<b>Adım</b>	<b>Sıcaklık</b>	<b>Zaman</b>	<b>Döngü</b>
<b>HotStart Activation</b>	95 °C	5 min	1
<b>Amplification</b>	95 °C	15 sec	40
	55* °C	30 sec data collection	



## 4. BULGULAR ve TARTIŞMA

### 4.1 MDA-MB-231 Hücre Hattı Xtt Sonuçları

Yaklaşık 500.000 kontrol MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattı, 3 gün boyunca 10x mikroskop lensi altında incelenmiştir. Kontrol hücreleri MDA-MB-231 72. Saatte % 80 flask tabanını kapladığı anda, Tripsin-EDTA ile kaldırılıp XTT analizi için 12'li wellere ekimleri yapılmıştır.



**Şekil 4.1.** İki Boyutlu Olarak Geliştirilen MDA-MB-231 Hücre Hattı

MDA-MB-231 hücre hattının 12'lik wellere ekiminde kontrol grubunun 24 (sağ), 48(orta), 72(sol) 4X mikroskop görüntüleri.

**Tablo 4.1.** MDA-MB-231 Hücre Hattına Verilen İlaç Dozları

<b>Tamoksifen</b>	<b>Klorambusil</b>
5 $\mu$ M	10 $\mu$ M
10 $\mu$ M	25 $\mu$ M
25 $\mu$ M	50 $\mu$ M
50 $\mu$ M	
75 $\mu$ M	
100 $\mu$ M	

12'li wellere ekilen hücreler tabanın %80 oranında ve daha fazla oranda kapladıktan sonra belirtilen molaritelerde ilaçlar 1 ml besiyer içine hesaplanmış şekilde ilaçlar eklenmiş ve daha sonra 24,48 ve 72 saat fotoğrafları alınarak hücre morfolojilerindeki ve hücre ölümlerinin kayıtları alınmıştır.

#### 4.1.1 5 $\mu$ M Tamoksifen Sonuçları

5  $\mu$ M tamoksifen uygulanmış MDA-MB-231 hücre hatlarının 24,48,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.



Şekil 4.2. MDA-MB-231 hücre hattının 12'lik kuyucuklara ekiminde kontrol grubunun 24(A), 48(B), 72(C) 10X mikroskop görüntüleri.

#### 4.1.2 10 $\mu$ M Tamoksifen Sonuçları

10  $\mu$ M tamoksifen uygulanmış MDA-MB-231 hücre hatlarının 24,48,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.



Şekil 4.3. MDA-MB-231 hücre hattının 12'lik kuyucuklara ekiminde kontrol grubunun 24(A), 48(B), 72(C) 10X mikroskop görüntüleri.

#### 4.1.3 25 $\mu$ M Tamoksifen Sonuçları

25  $\mu$ M tamoksifen uygulanmış MDA-MB-231 hücre hatlarının 24,48,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.

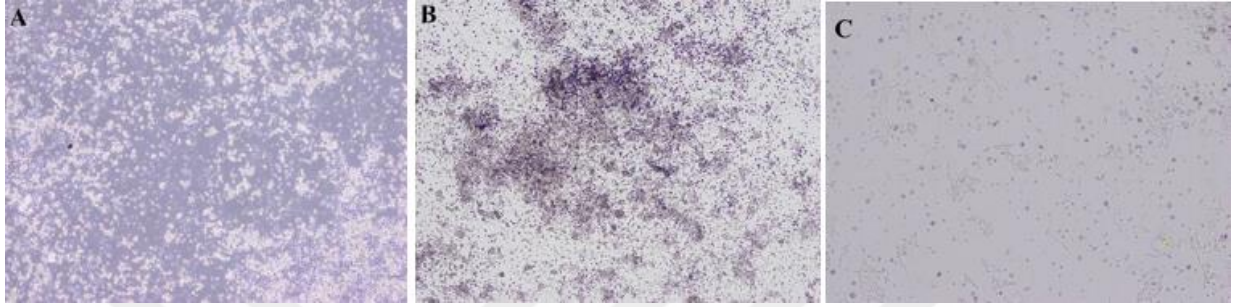




**Şekil 4.4.** MDA-MB-231 hücre hattının 12'lik kuyucuklara ekiminde kontrol grubunun 24(A), 48(B), 72(C) 10X mikroskop görüntüleri.

#### 4.1.4 50 µM Tamoksifen Sonuçları

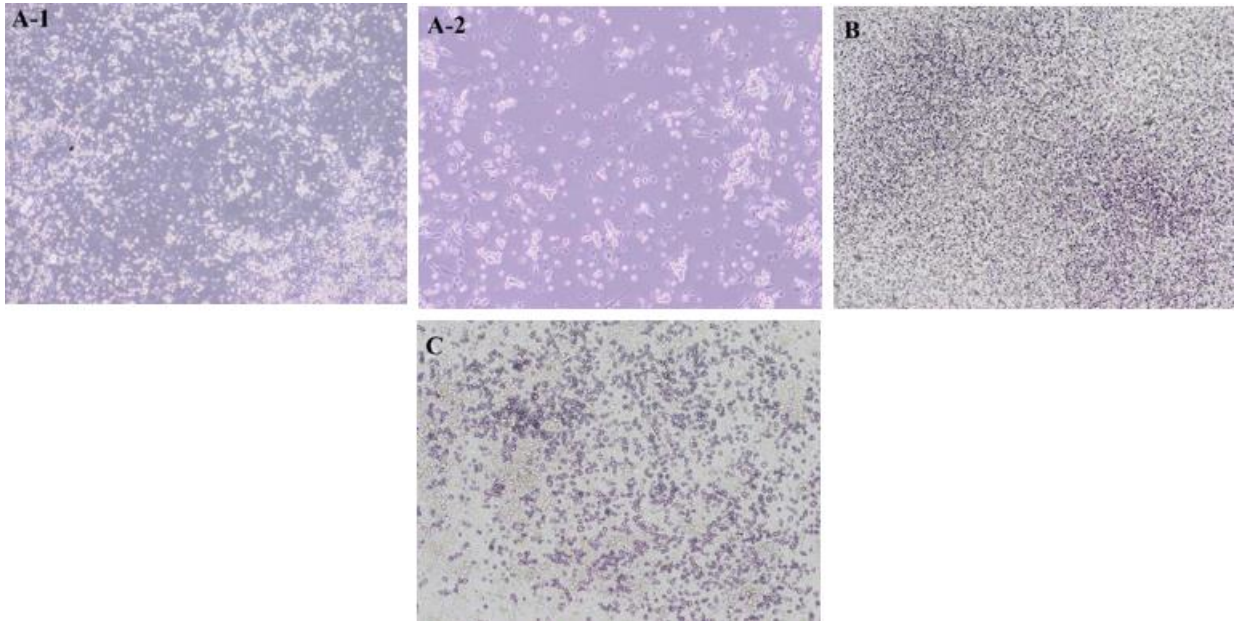
50 µM tamoksifen uygulanmış MDA-MB-231 hücre hatlarının 24,48,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.



**Şekil 4.5.** MDA-MB-231 hücre hattının 12'lik kuyucuklara ekiminde kontrol grubunun 24(A), 48(B), 72(C) 10X mikroskop görüntüleri.

#### 4.1.5 75 µM Tamoksifen Sonuçları

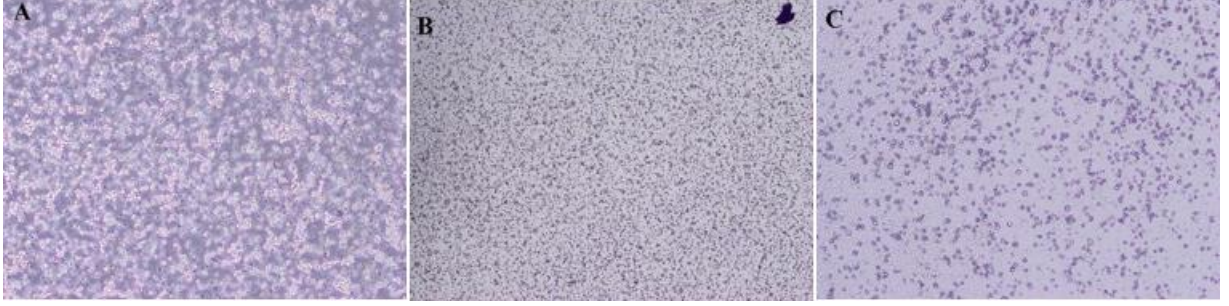
75 µM tamoksifen uygulanmış MDA-MB-231 hücre hatlarının 24,48,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.



**Şekil 4.6.** MDA-MB-231 hücre hattının 12'lik kuyucuklara ekiminde kontrol grubunun 24(A1/2), 48(B), 72(C) 10X mikroskop görüntüleri.

#### 4.1.6 100 $\mu$ M Tamoksifen Sonuçları

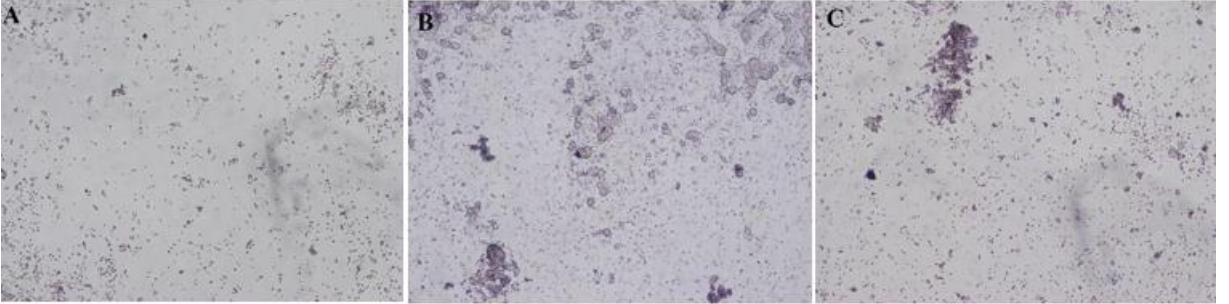
100  $\mu$ M tamoksifen uygulanmış MDA-MB-231 hücre hatlarının 24,48,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.



**Şekil 4.7.** MDA-MB-231 hücre hattının 12'lik kuyucuklara ekiminde kontrol grubunun 24(A), 48(B), 72(C) 10X mikroskop görüntüleri.

#### 4.1.7 10 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları

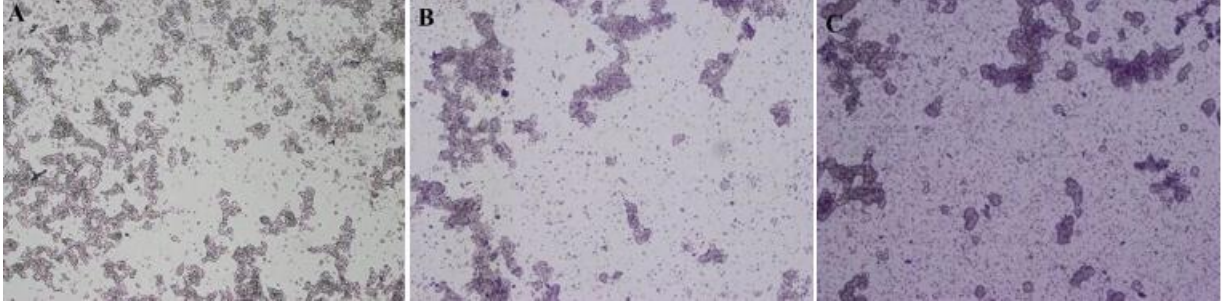
10  $\mu$ M klorambusil uygulanmış MDA-MB-231 hücre hatlarının 24,48,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.



**Şekil 4.8.** MDA-MB-231 hücre hattının 12'lik kuyucuklara ekiminde kontrol grubunun 24(A), 48(B), 72(C) 10X mikroskop görüntüleri.

#### 4.1.8 25 µM Klorambusil Sonuçları

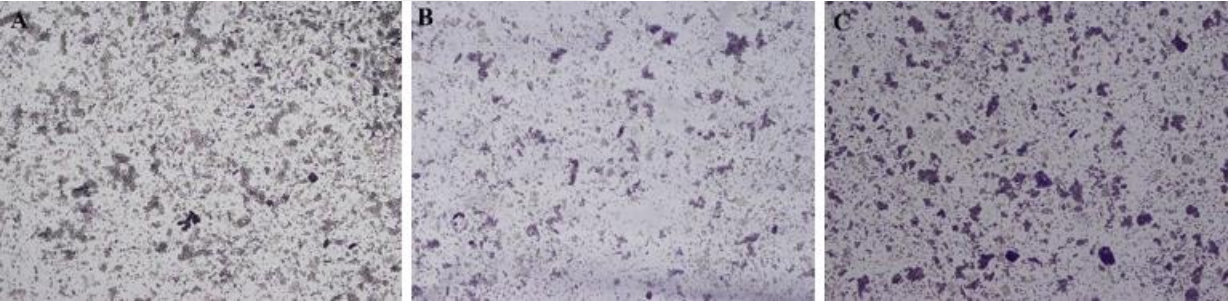
25 µM klorambusil uygulanmış MDA-MB-231 hücre hatlarının 24,48,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.



Şekil 4.9. MDA-MB-231 hücre hattının 12'lik kuyucuklara ekiminde kontrol grubunun 24(A), 48(B), 72(C) 10X mikroskop görüntüleri.

#### 4.1.9 50 µM Klorambusil Sonuçları

50 µM klorambusil uygulanmış MDA-MB-231 hücre hatlarının 24,48,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.

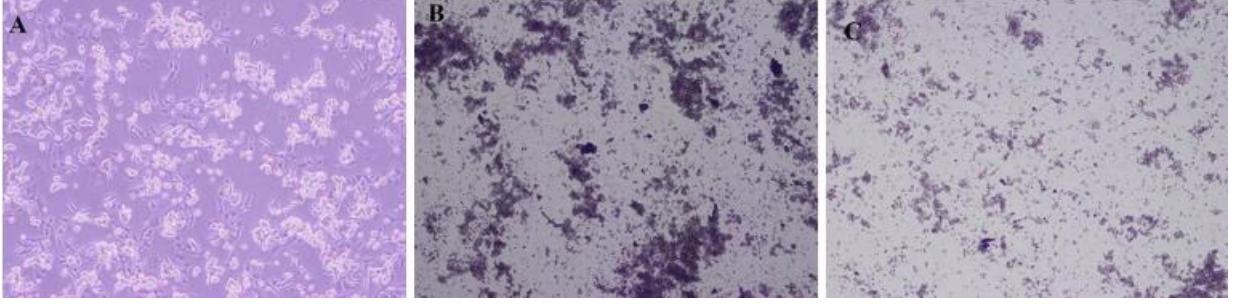


Şekil 4.10. MDA-MB-231 hücre hattının 12'lik kuyucuklara ekiminde kontrol grubunun 24(A), 48(B), 72(C) 10X mikroskop görüntüleri.



#### 4.1.10 75 $\mu$ M Tamoksifen + 10 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları

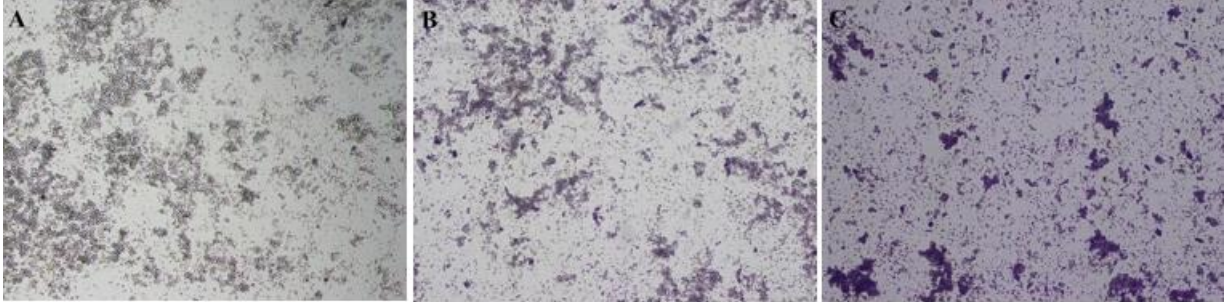
75  $\mu$ M tamoksifen + 10  $\mu$ M klorambusil uygulanmış MDA-MB-231 hücre hatlarının 24,48,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.



**Şekil 4.11.** MDA-MB-231 hücre hattının 12'lik kuyucuklara ekiminde kontrol grubunun 24(A), 48(B), 72(C) 10X mikroskop görüntüleri.

#### 4.1.11 75 $\mu$ M Tamoksifen + 25 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları

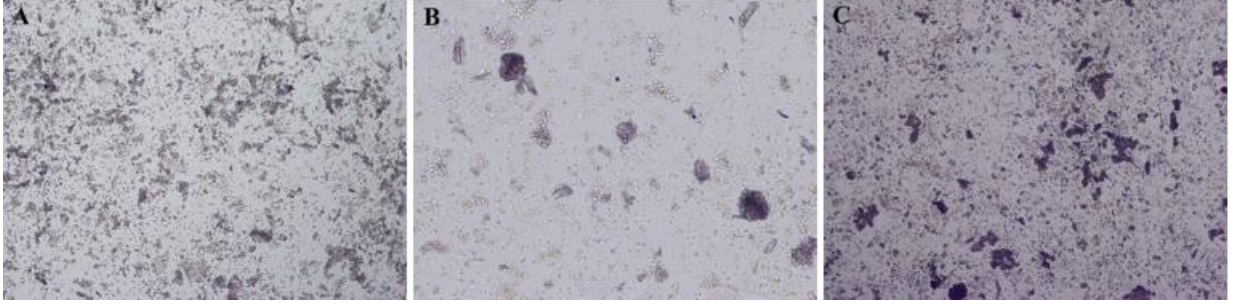
75  $\mu$ M tamoksifen + 25  $\mu$ M klorambusil uygulanmış MDA-MB-231 hücre hatlarının 24,48,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.



**Şekil 4.12.** MDA-MB-231 hücre hattının 12'lik kuyucuklara ekiminde kontrol grubunun 24(A), 48(B), 72(C) 10X mikroskop görüntüleri.

#### 4.1.12 75 $\mu$ M Tamoksifen + 50 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları

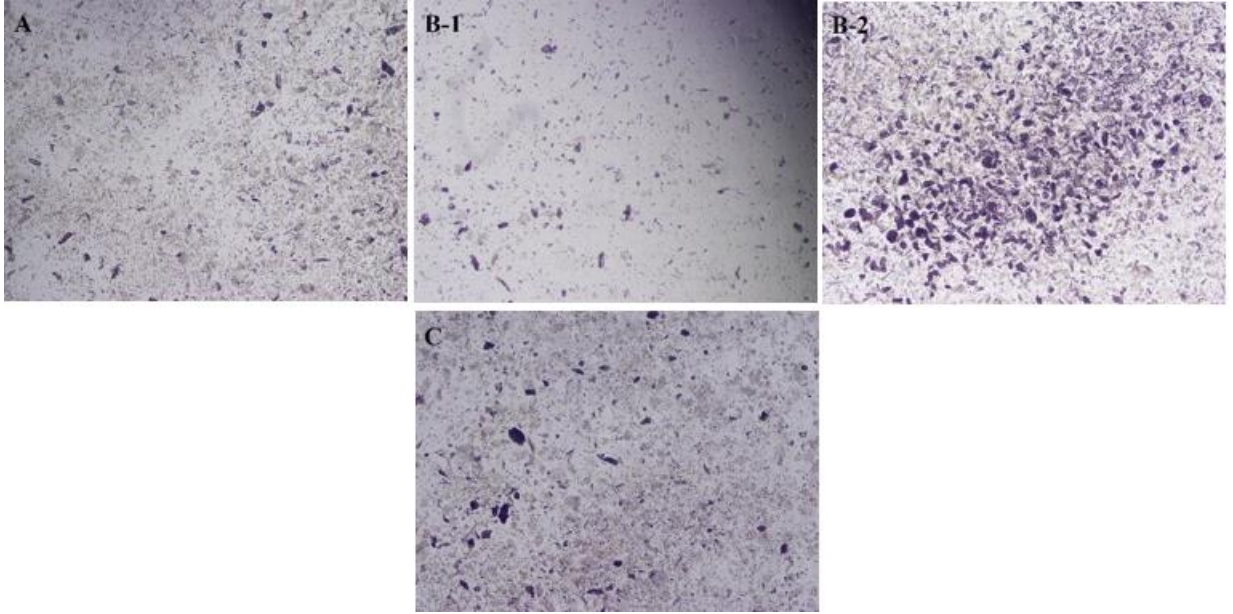
75  $\mu$ M tamoksifen + 50  $\mu$ M klorambusil uygulanmış MDA-MB-231 hücre hatlarının 24,48,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.



**Şekil 4.13.** MDA-MB-231 hücre hattının 12'lik kuyucuklara ekiminde kontrol grubunun 24(A), 48(B), 72(C) 10X mikroskop görüntüleri.

#### 4.1.13 100 $\mu$ M Tamoksifen + 10 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları

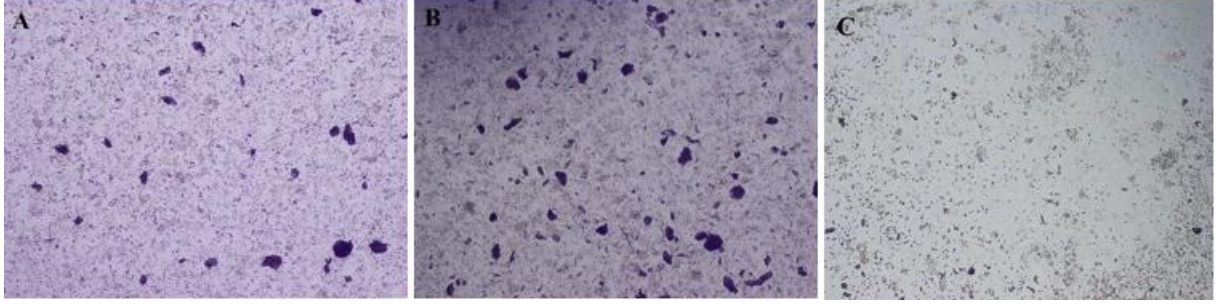
75  $\mu$ M tamoksifen + 25  $\mu$ M klorambusil uygulanmış MDA-MB-231 hücre hatlarının 24,48,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.



**Şekil 4.14.** MDA-MB-231 hücre hattının 12'lik kuyucuklara ekiminde kontrol grubunun 24(A), 48(B), 72(C) 10X mikroskop görüntüleri.

#### 4.1.14 100 $\mu$ M Tamoksifen + 25 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları

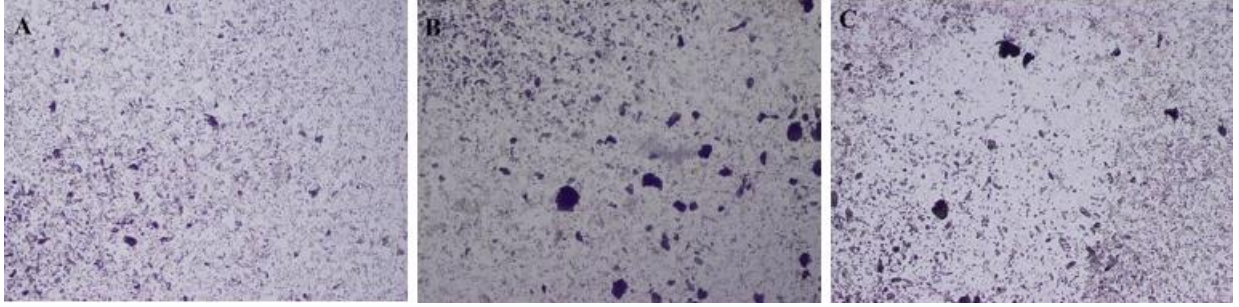
100  $\mu$ M tamoksifen + 25  $\mu$ M klorambusil uygulanmış MDA-MB-231 hücre hatlarının 24,48,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.



**Şekil 4.15.** MDA-MB-231 hücre hattının 12'lik kuyucuklara ekiminde kontrol grubunun 24(A), 48(B), 72(C) 10X mikroskop görüntüleri.

#### 4.1.15 100 $\mu$ M Tamoksifen + 50 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları

100  $\mu$ M tamoksifen + 50  $\mu$ M klorambusil uygulanmış MDA-MB-231 hücre hatlarının 24,48,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.



**Şekil 4.16.** MDA-MB-231 hücre hattının 12'lik kuyucuklara ekiminde kontrol grubunun 24(A), 48(B), 72(C) 10X mikroskop görüntüleri.



## 4.2 MDA-MB-231 Hücre Hattı Migrasyon Sonuçları

Yaklaşık 200.000 kontrol MDA-MB-231 kanser hücre hattı, 24 saat sonra % 80 oranında 12'li kuyucuk plaka tabanını kapladığı gözlenmiştir ve yara açılmıştır. Yaranın açıldığı an 0. Saat olarak belirlenmiştir. Daha sonra 6. Ve 12. Saat aralıklarında 10x mikroskop lensi altında aynı bölgedeki yara fotoğraflanmıştır.



**Şekil 4.17.** MDA-MB-231 hücre hattının 12'lik kuyucuklara ekiminde kontrol grubunun 24(A), 48(B), 72(C) 10X mikroskop görüntüleri.

### 4.2.1 75 $\mu$ M Tamoksifen Sonuçları

75  $\mu$ M tamoksifen uygulanmış MDA-MB-231 hücre hatlarının 24,48,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.



**Şekil 4.18.** MDA-MB-231 hücre hattının 12'lik kuyucuklara ekiminde kontrol grubunun 24(A), 48(B), 72(C) 10X mikroskop görüntüleri.

#### 4.2.2 100 µM Tamoksifen Sonuçları

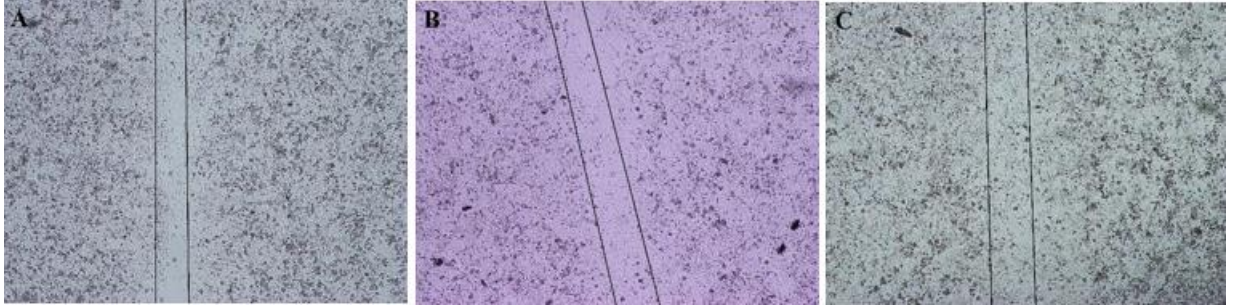
100 µM tamoksifen uygulanmış MDA-MB-231 hücre hatlarının 24,48,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.



**Şekil 4.19.** MDA-MB-231 hücre hattının 12'lik kuyucuklara ekiminde kontrol grubunun 24(A), 48(B), 72(C) 10X mikroskop görüntüleri.

#### 4.2.3 10 µM Klorambusil Sonuçları

10 µM klorambusil uygulanmış MDA-MB-231 hücre hatlarının 24,48,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.



**Şekil 4.20.** MDA-MB-231 hücre hattının 12'lik kuyucuklara ekiminde kontrol grubunun 24(A), 48(B), 72(C) 10X mikroskop görüntüleri.

#### 4.2.4 25 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları

25  $\mu$ M klorambusil uygulanmış MDA-MB-231 hücre hatlarının 24,48,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.



**Şekil 4.21.** MDA-MB-231 hücre hattının 12'lik kuyucuklara ekiminde kontrol grubunun 24(A), 48(B), 72(C) 10X mikroskop görüntüleri.

#### 4.2.5 50 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları

50  $\mu$ M klorambusil uygulanmış MDA-MB-231 hücre hatlarının 24,48,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.



**Şekil 4.22.** MDA-MB-231 hücre hattının 12'lik kuyucuklara ekiminde kontrol grubunun 24(A), 48(B), 72(C) 10X mikroskop görüntüleri.



#### 4.2.6 75 $\mu$ M Tamoksifen + 10 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları

75  $\mu$ M tamoksifen + 10  $\mu$ M klorambusil uygulanmış MDA-MB-231 hücre hatlarının 24,48,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.



**Şekil 4.23.** MDA-MB-231 hücre hattının 12'lik kuyucuklara ekiminde kontrol grubunun 24(A), 48(B), 72(C) 10X mikroskop görüntüleri.

#### 4.2.7 75 $\mu$ M Tamoksifen + 25 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları

75  $\mu$ M tamoksifen + 25  $\mu$ M klorambusil uygulanmış MDA-MB-231 hücre hatlarının 24,48,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.



**Şekil 4.24.** MDA-MB-231 hücre hattının 12'lik kuyucuklara ekiminde kontrol grubunun 24(A), 48(B), 72(C) 10X mikroskop görüntüleri.

#### 4.2.8 75 $\mu$ M Tamoksifen + 50 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları

75  $\mu$ M tamoksifen + 50  $\mu$ M klorambusil uygulanmış MDA-MB-231 hücre hatlarının 24,48,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.



**Şekil 4.25.** MDA-MB-231 hücre hattının 12'lik kuyucuklara ekiminde kontrol grubunun 24(A), 48(B), 72(C) 10X mikroskop görüntüleri.

#### 4.2.9 100 $\mu$ M Tamoksifen + 10 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları

100  $\mu$ M tamoksifen + 10  $\mu$ M klorambusil uygulanmış MDA-MB-231 hücre hatlarının 24,48,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.



**Şekil 4.26.** MDA-MB-231 hücre hattının 12'lik kuyucuklara ekiminde kontrol grubunun 24(A), 48(B), 72(C) 10X mikroskop görüntüleri.

#### 4.2.10 100 µM Tamoksifen + 25 µM Klorambusil Sonuçları

100 µM tamoksifen + 25 µM klorambusil uygulanmış MDA-MB-231 hücre hatlarının 24,48,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.



Şekil 4.27. MDA-MB-231 hücre hattının 12'lik kuyucuklara ekiminde kontrol grubunun 24(A), 48(B), 72(C) 10X mikroskop görüntüleri.

#### 4.2.11 100 µM Tamoksifen + 50 µM Klorambusil Sonuçları

100 µM tamoksifen + 50 µM klorambusil uygulanmış MDA-MB-231 hücre hatlarının 24,48,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.



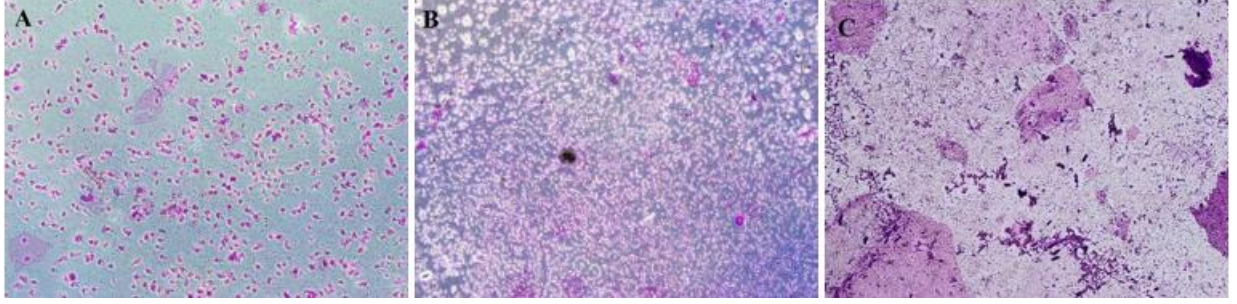
Şekil 4.28. MDA-MB-231 hücre hattının 12'lik kuyucuklara ekiminde kontrol grubunun 24(A), 48(B), 72(C) 10X mikroskop görüntüleri.



### 4.3 MDA-MB-231 Hücre Hattı İnvazyon Sonuçları

#### 4.3.1 75 µM Tamoksifen Sonuçları

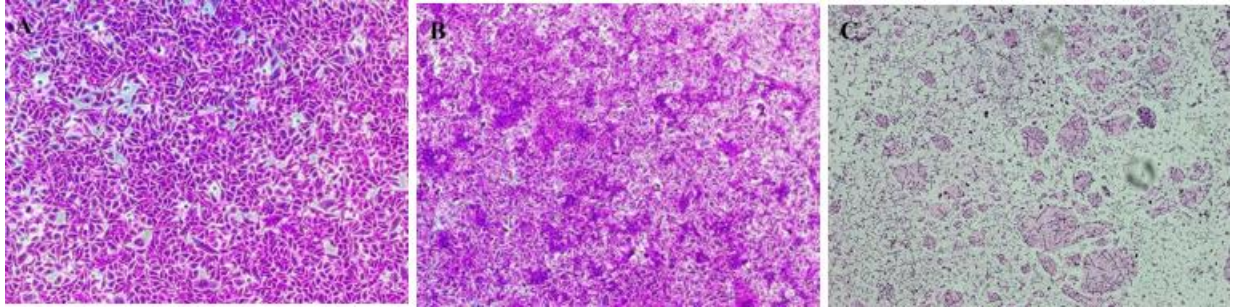
75 µM tamoksifen uygulanmış MDA-MB-231 hücre hatlarının 24,48,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.



**Şekil 4.29.** MDA-MB-231 hücre hattının 12'lik kuyucuklara ekiminde kontrol grubunun 24(A), 48(B), 72(C) 10X mikroskop görüntüleri.

#### 4.3.2 100 µM Tamoksifen Sonuçları

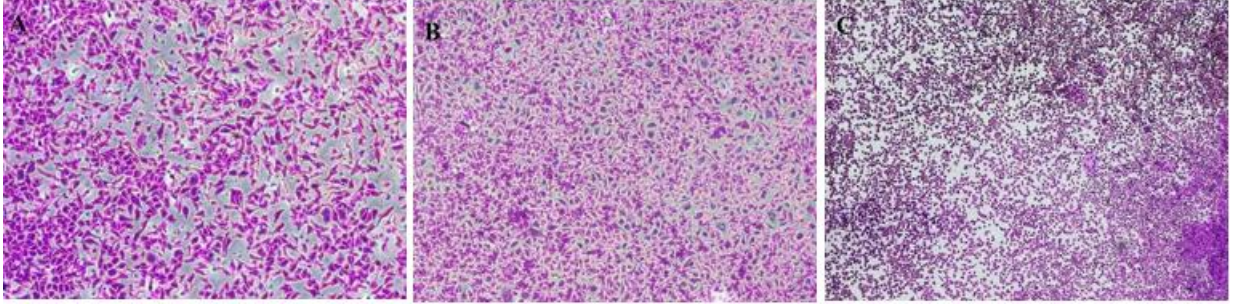
100 µM tamoksifen uygulanmış MDA-MB-231 hücre hatlarının 24,48,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.



**Şekil 4.30.** MDA-MB-231 hücre hattının 12'lik kuyucuklara ekiminde kontrol grubunun 24(A), 48(B), 72(C) 10X mikroskop görüntüleri.

#### 4.3.3 10 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları

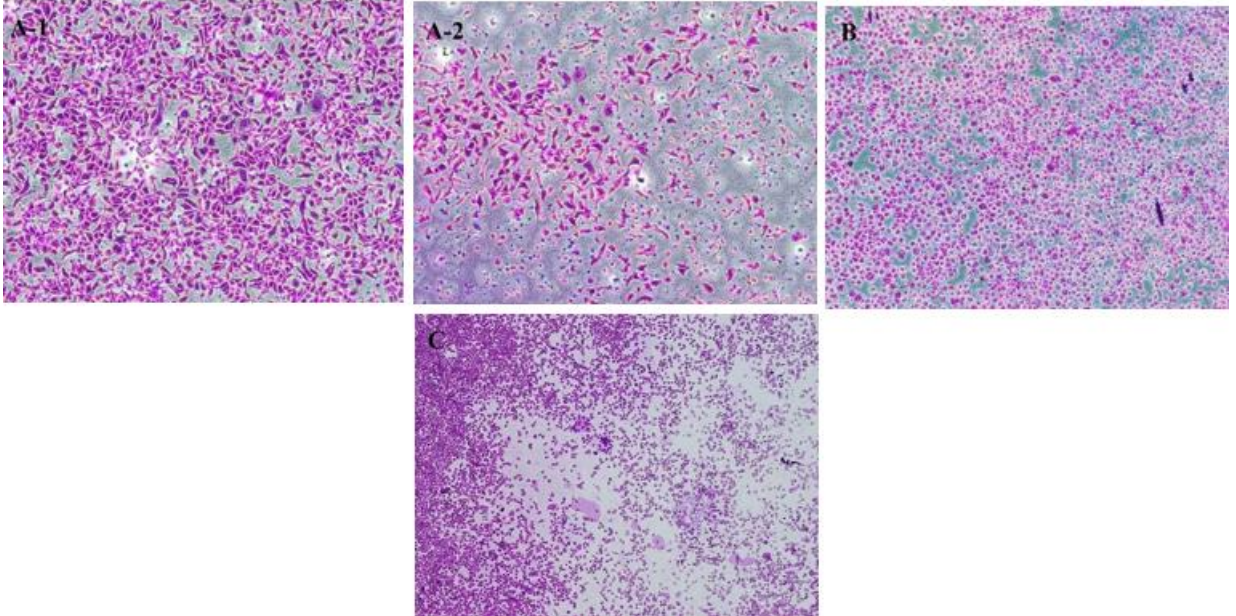
10  $\mu$ M klorambusil uygulanmış MDA-MB-231 hücre hatlarının 24,48,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.



**Şekil 4.31.** MDA-MB-231 hücre hattının 12'lik kuyucuklara ekiminde kontrol grubunun 24(A), 48(B), 72(C) 10X mikroskop görüntüleri.

#### 4.3.4 25 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları

25  $\mu$ M klorambusil uygulanmış MDA-MB-231 hücre hatlarının 24,48,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.

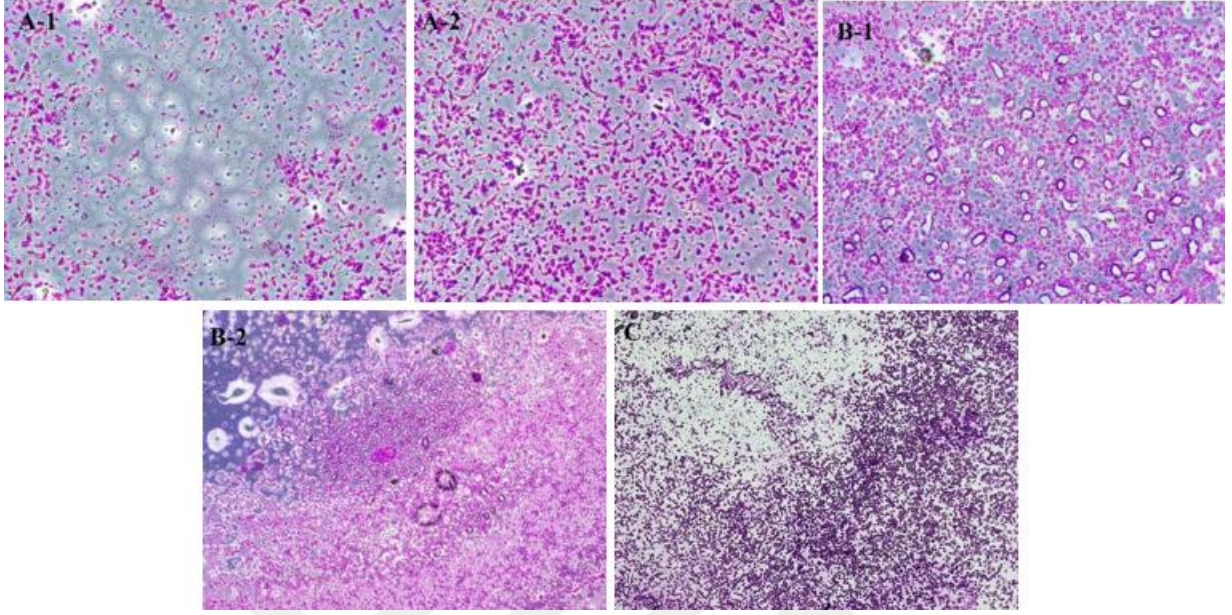


**Şekil 4.32.** MDA-MB-231 hücre hattının 12'lik kuyucuklara ekiminde kontrol grubunun 24(A1/2), 48(B), 72(C) 10X mikroskop görüntüleri.



#### 4.3.5 50 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları

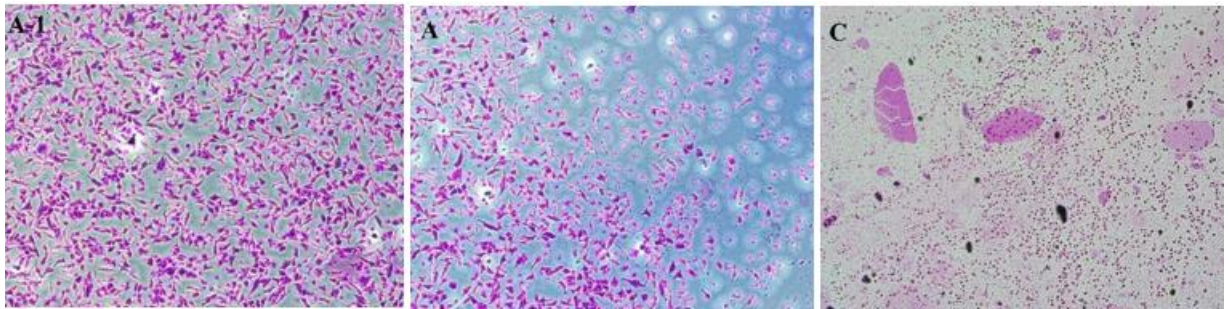
50  $\mu$ M klorambusil uygulanmış MDA-MB-231 hücre hatlarının 24,48,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.



**Şekil 4.33.** MDA-MB-231 hücre hattının 12'lik kuyucuklara ekiminde kontrol grubunun 24(A1/2), 48(B1/2), 72(C) 10X mikroskop görüntüleri.

#### 4.3.6 75 $\mu$ M Tamoksifen + 10 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları

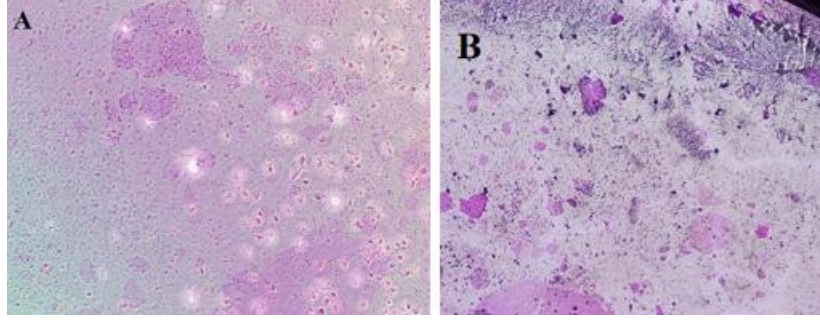
75  $\mu$ M tamoksifen + 10  $\mu$ M klorambusil uygulanmış MDA-MB-231 hücre hatlarının 24,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.



**Şekil 4.34.** MDA-MB-231 hücre hattının 12'lik kuyucuklara ekiminde kontrol grubunun 24(A), 48(B), 72(C) 10X mikroskop görüntüleri.

#### 4.3.7 75 µM Tamoksifen + 25 µM Klorambusil Sonuçları

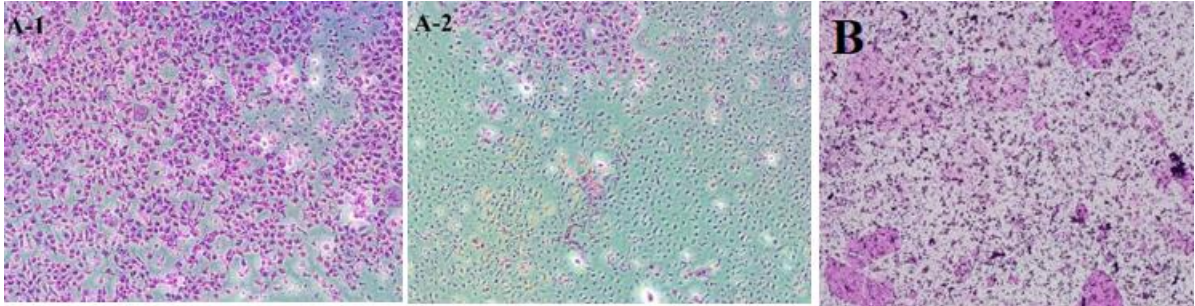
75 µM tamoksifen + 25 µM klorambusil uygulanmış MDA-MB-231 hücre hatlarının 24, 72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.



Şekil 4.35. MDA-MB-231 hücre hattının 12'lik kuyucuklara ekiminde kontrol grubunun 24(A), 72(B) 10X mikroskop görüntüleri.

#### 4.3.8 75 µM Tamoksifen + 50 µM Klorambusil Sonuçları

75 µM tamoksifen + 50 µM klorambusil uygulanmış MDA-MB-231 hücre hatlarının 24, 72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.

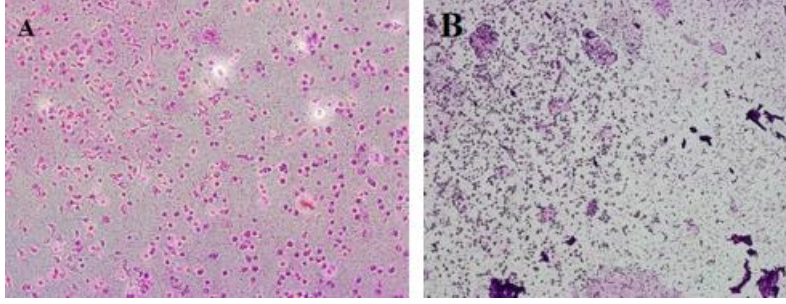


Şekil 4.36. MDA-MB-231 hücre hattının 12'lik kuyucuklara ekiminde kontrol grubunun 24(A1/2), 72(B) 10X mikroskop görüntüleri.



#### 4.3.9 100 µM Tamoksifen + 10 µM Klorambusil Sonuçları

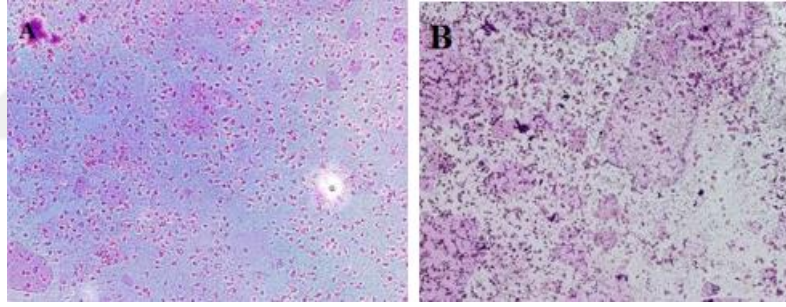
100 µM tamoksifen + 10 µM klorambusil uygulanmış MDA-MB-231 hücre hatlarının 24, 72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.



Şekil 3.37. MDA-MB-231 hücre hattının 12'lik kuyucuklara ekiminde kontrol grubunun 24(A), 72(B) 10X mikroskop görüntüleri.

#### 4.3.10 100 µM Tamoksifen + 25 µM Klorambusil Sonuçları

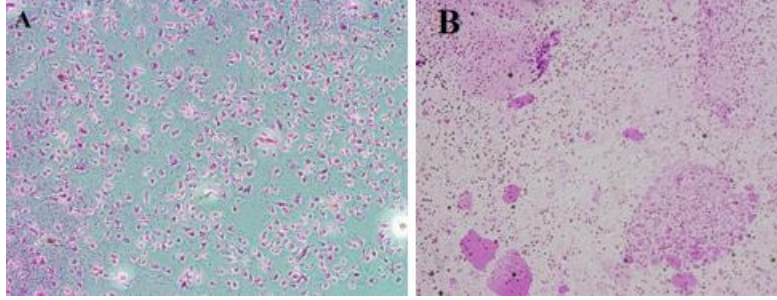
100 µM tamoksifen + 25 µM klorambusil uygulanmış MDA-MB-231 hücre hatlarının 24, 72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.



Şekil 4.38. MDA-MB-231 hücre hattının 12'lik kuyucuklara ekiminde kontrol grubunun 24(A), 72(B) 10X mikroskop görüntüleri.

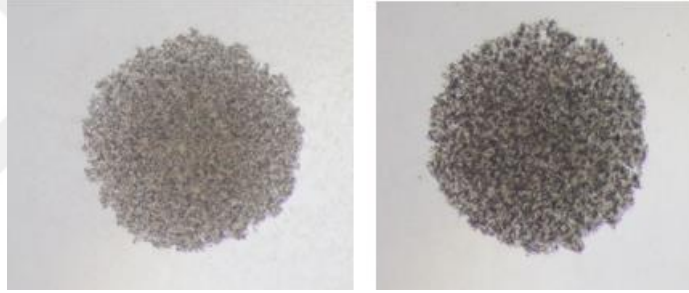
#### 4.3.11 100 $\mu$ M Tamoksifen + 50 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları

100  $\mu$ M tamoksifen + 50  $\mu$ M klorambusil uygulanmış MDA-MB-231 hücre hatlarının 24, 72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.



**Şekil 4.39.** MDA-MB-231 hücre hattının 12'lik kuyucuklara ekiminde kontrol grubunun 24(A), 72(B) 10X mikroskop görüntüleri.

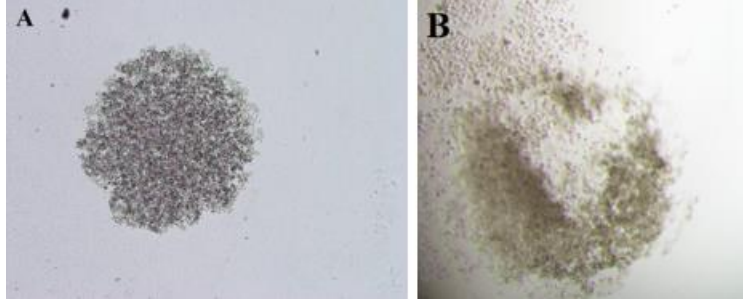
#### 4.4 MDA-MB-231 Hücre Hattı 3B Sonuçları



**Şekil 4.40.** MDA-MB-231 hücre hattının asılı damla yöntemi ile ekiminde kontrol grubunun 24(A), 72(B) 10X mikroskop görüntüleri

#### 4.4.1 75 $\mu$ M Tamoksifen Sonuçları

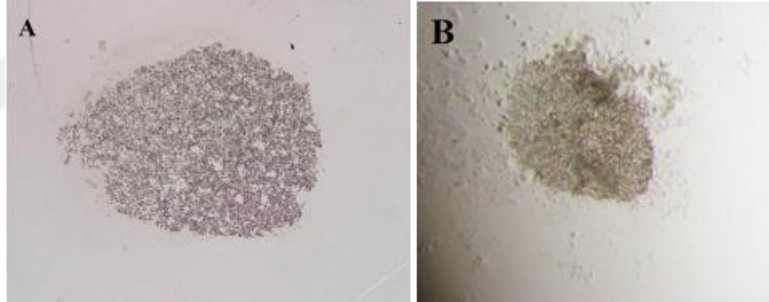
75  $\mu$ M tamoksifen uygulanmış MDA-MB-231 hücre hatlarının 24,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.



**Şekil 4.41.** MDA-MB-231 hücre hattının asılı damla yöntemi ile ekiminde kontrol grubunun 24(A), 72(B) 10X mikroskop görüntüleri

#### 4.4.2 100 $\mu$ M Tamoksifen Sonuçları

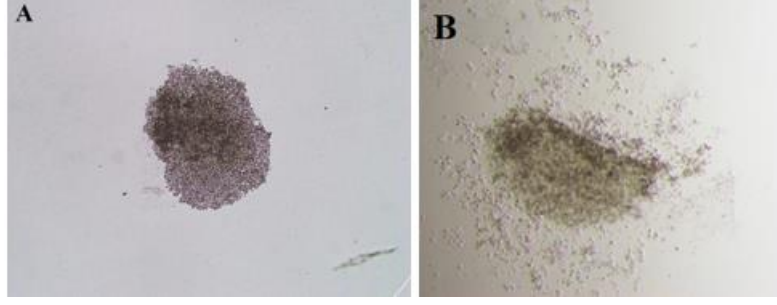
100  $\mu$ M tamoksifen uygulanmış MDA-MB-231 hücre hatlarının 24,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.



**Şekil 4.42.** MDA-MB-231 hücre hattının asılı damla yöntemi ile ekiminde kontrol grubunun 24(A), 72(B) 10X mikroskop görüntüleri.

#### 4.4.3 10 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları

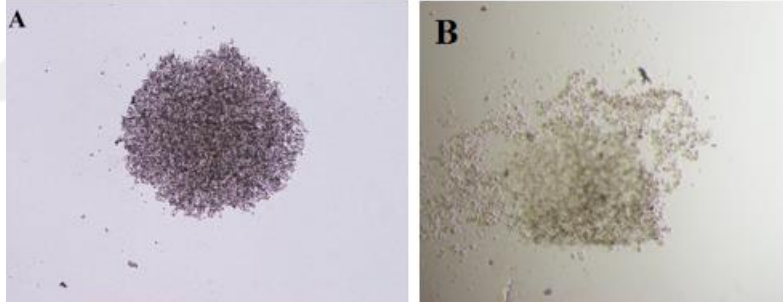
10  $\mu$ M klorambusil uygulanmış MDA-MB-231 hücre hatlarının 24,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.



Şekil 4.43. MDA-MB-231 hücre hattının asılı damla yöntemi ile ekiminde kontrol grubunun 24(A), 72(B) 10X mikroskop görüntüleri.

#### 4.4.4 25 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları

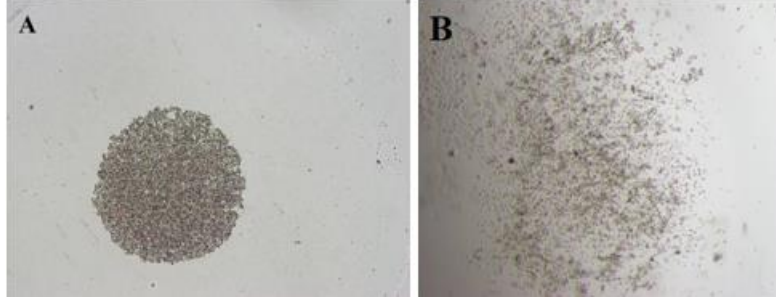
25  $\mu$ M klorambusil uygulanmış MDA-MB-231 hücre hatlarının 24,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.



Şekil 4.44. MDA-MB-231 hücre hattının asılı damla yöntemi ile ekiminde kontrol grubunun 24(A), 72(B) 10X mikroskop görüntüleri.

#### 4.4.5 50 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları

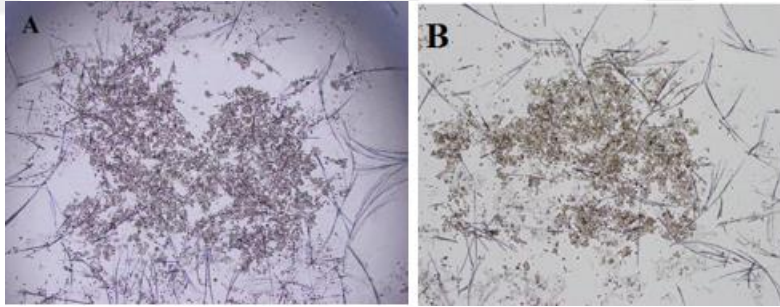
50  $\mu$ M klorambusil uygulanmış MDA-MB-231 hücre hatlarının 24,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.



**Şekil 4.45.** MDA-MB-231 hücre hattının asılı damla yöntemi ile ekiminde kontrol grubunun 24(A), 72(B) 10X mikroskop görüntüleri.

#### 4.4.6 75 $\mu$ M Tamoksifen + 10 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları

75  $\mu$ M tamoksifen + 10  $\mu$ M klorambusil uygulanmış MDA-MB-231 hücre hatlarının 24,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.

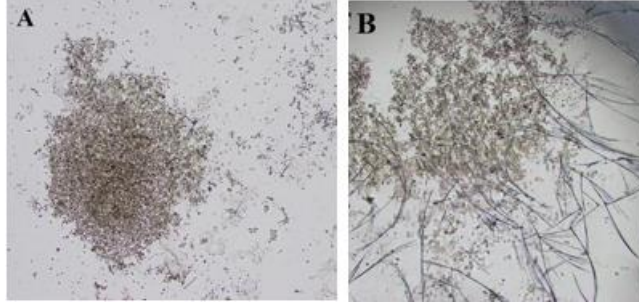


**Şekil 4.46.** MDA-MB-231 hücre hattının asılı damla yöntemi ile ekiminde kontrol grubunun 24(A), 72(B) 10X mikroskop görüntüleri.



#### 4.4.7 75 µM Tamoksifen + 25 µM Klorambusil Sonuçları

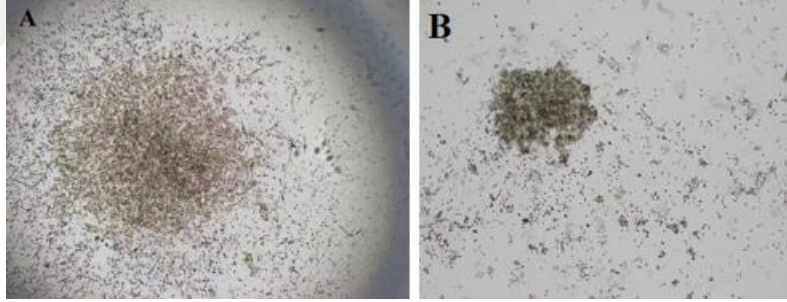
100 µM tamoksifen + 25 µM klorambusil uygulanmış MDA-MB-231 hücre hatlarının 24,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.



**Şekil 4.47.** MDA-MB-231 hücre hattının asılı damla yöntemi ile ekiminde kontrol grubunun 24(A), 72(B) 10X mikroskop görüntüleri.

#### 4.4.8 75 µM Tamoksifen + 50 µM Klorambusil Sonuçları

75 µM tamoksifen + 50 µM klorambusil uygulanmış MDA-MB-231 hücre hatlarının 24,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.

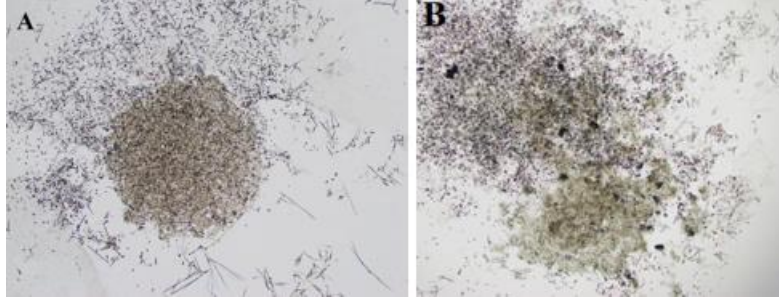


**Şekil 4.48.** MDA-MB-231 hücre hattının asılı damla yöntemi ile ekiminde kontrol grubunun 24(A), 72(B) 10X mikroskop görüntüleri.



#### 4.4.9 100 $\mu$ M Tamoksifen + 10 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları

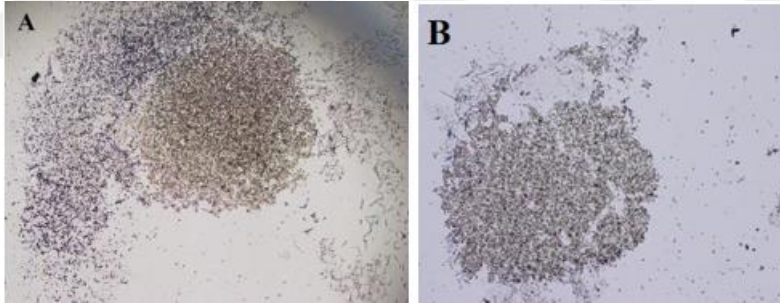
100  $\mu$ M tamoksifen + 10  $\mu$ M klorambusil uygulanmış MDA-MB-231 hücre hatlarının 24,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.



**Şekil 4.49.** MDA-MB-231 hücre hattının asılı damla yöntemi ile ekiminde kontrol grubunun 24(A), 72(B) 10X mikroskop görüntüleri.

#### 4.4.10 100 $\mu$ M Tamoksifen + 25 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları

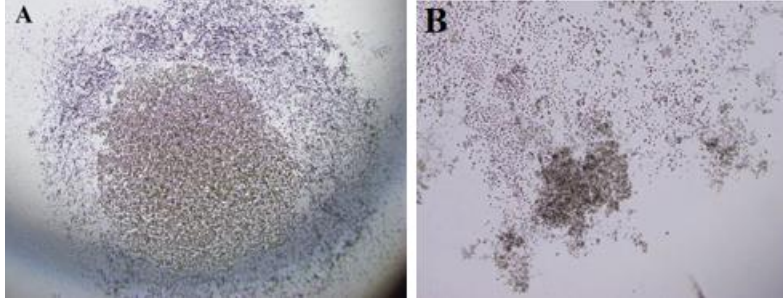
100  $\mu$ M tamoksifen + 25  $\mu$ M klorambusil uygulanmış MDA-MB-231 hücre hatlarının 24,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.



**Şekil 4.50.** MDA-MB-231 hücre hattının asılı damla yöntemi ile ekiminde kontrol grubunun 24(A), 72(B) 10X mikroskop görüntüleri.

#### 4.4.11 100 $\mu$ M Tamoksifen + 50 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları

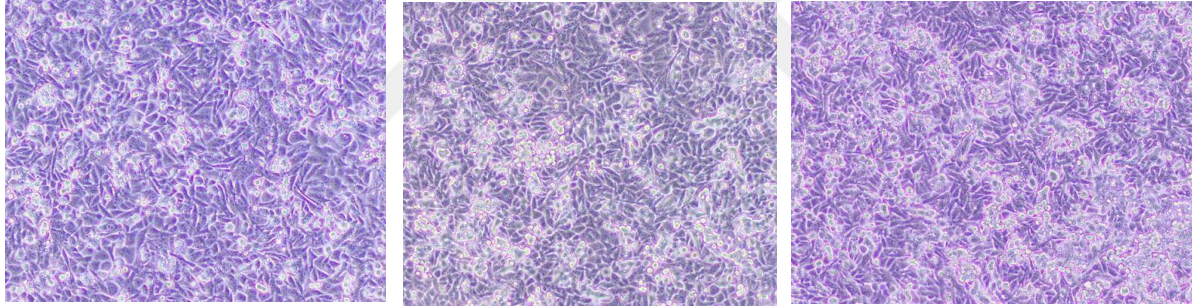
100  $\mu$ M tamoksifen + 50  $\mu$ M klorambusil uygulanmış MDA-MB-231 hücre hatlarının 24,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.



Şekil 4.51. MDA-MB-231 hücre hattının asılı damla yöntemi ile ekiminde kontrol grubunun 24(A), 72(B) 10X mikroskop görüntüleri.

#### 4.5 HeLa Hücre Hattı Sitotoksosite Sonuçları

HeLa hücre hattının 12'lik kuyucuklara ekimin de kontrol hücre görüntüsü.



Şekil 4.52. İki Boyutlu Olarak Geliştirilen HeLa Hücre Hattı

Yaklaşık 500.000 kontrol HeLa rahim ağzı kanseri hücre hattı, 3 gün boyunca 10x mikroskop lensi altında incelenmiştir. Kontrol HeLa hücreleri 72. saatte % 80 flask tabanını kapladığı anda, Tripsin-EDTA ile kaldırılıp XTT analizi için 12'li wellere ekimleri yapılmıştır.

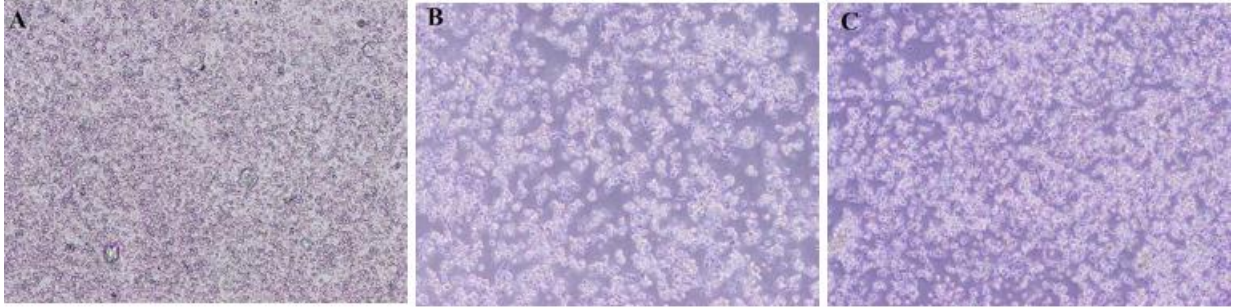
**Tablo 4.2:** HeLa Hücre Hattına Verilen İlaç Dozları

Tamoksifen	Klorambusil
75 $\mu$ M	10 $\mu$ M
100 $\mu$ M	25 $\mu$ M
	50 $\mu$ M

12'li wellere ekilen hücreler tabanın %80 oranında ve daha fazla oranda kapladıktan sonra belirtilen molaritelerde ilaçlar 1 ml besiyer içine hesaplanmış şekilde ilaçlar eklenmiş ve daha sonra 24,48 ve 72 saat fotoğrafları alınarak hücre morfolojilerindeki ve hücre ölümlerinin kayıtları alınmıştır.

#### 4.5.1 75 $\mu$ M Tamoksifen Sonuçları

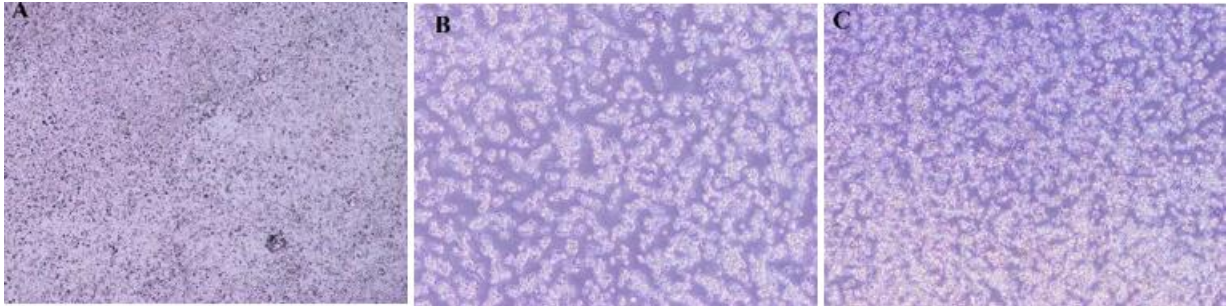
75  $\mu$ M tamoksifen HeLa hücre hatlarının 24,48,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.



**Şekil 4.53.** HeLa hücre hattının 12'li kuyucuklara ekiminde kontrol grubunun 24(A), 48(B), 72(C) 10X mikroskop görüntüleri.

#### 4.5.2 100 $\mu$ M Tamoksifen Sonuçları

100  $\mu$ M tamoksifen HeLa hücre hatlarının 24,48,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.

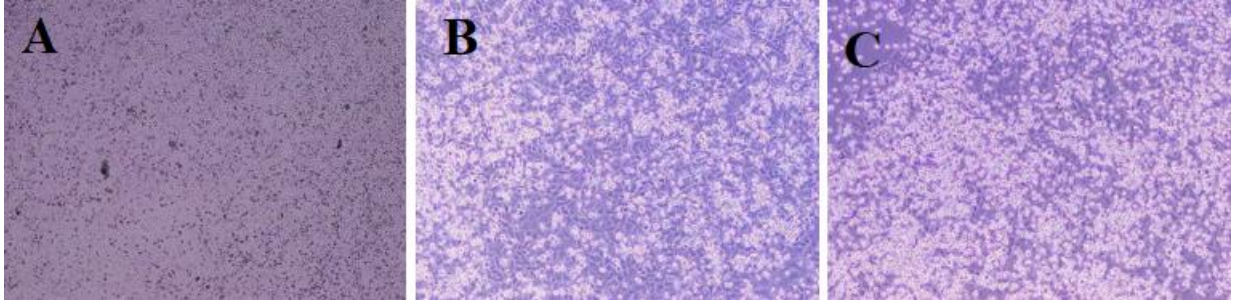


**Şekil 4.54.** HeLa hücre hattının 12'li kuyucuklara ekiminde kontrol grubunun 24(A), 48(B), 72(C) 10X mikroskop görüntüleri.



#### 4.5.3 10 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları

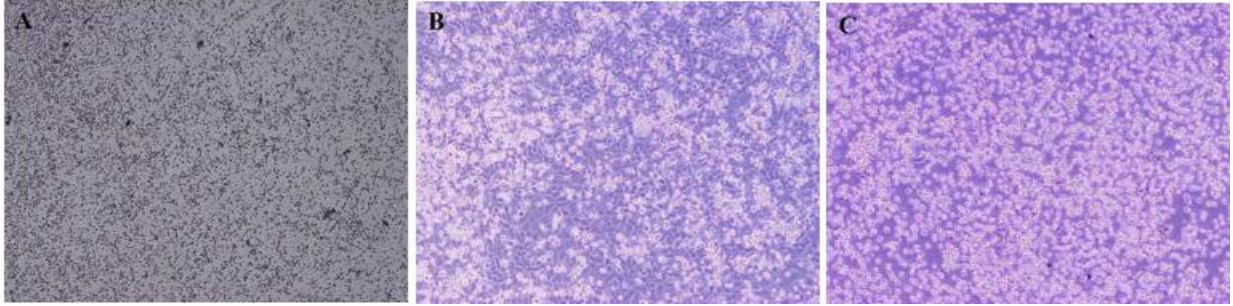
10  $\mu$ M klorambusil HeLa hücre hatlarının 24,48,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.



Şekil 4.55. HeLa hücre hattının 12'li kuyucuklara ekiminde kontrol grubunun 24(A), 48(B), 72(C) 10X mikroskop görüntüleri.

#### 4.5.4 25 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları

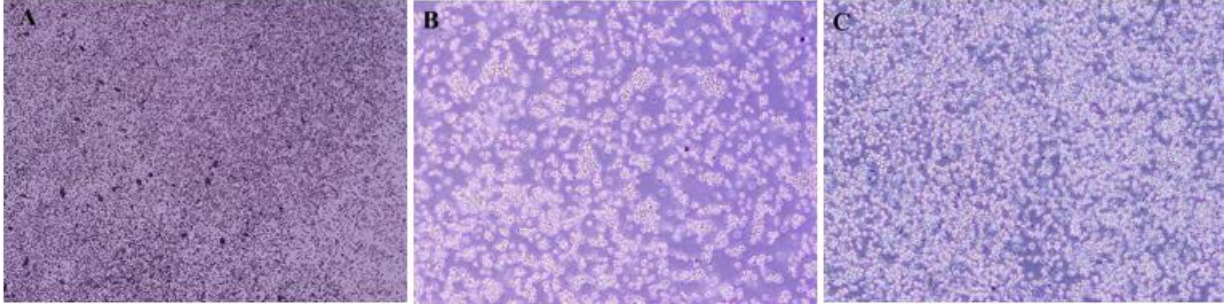
25  $\mu$ M klorambusil HeLa hücre hatlarının 24,48,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.



Şekil 4.56. HeLa hücre hattının 12'li kuyucuklara ekiminde kontrol grubunun 24(A), 48(B), 72(C) 10X mikroskop görüntüleri.

#### 4.5.5 50 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları

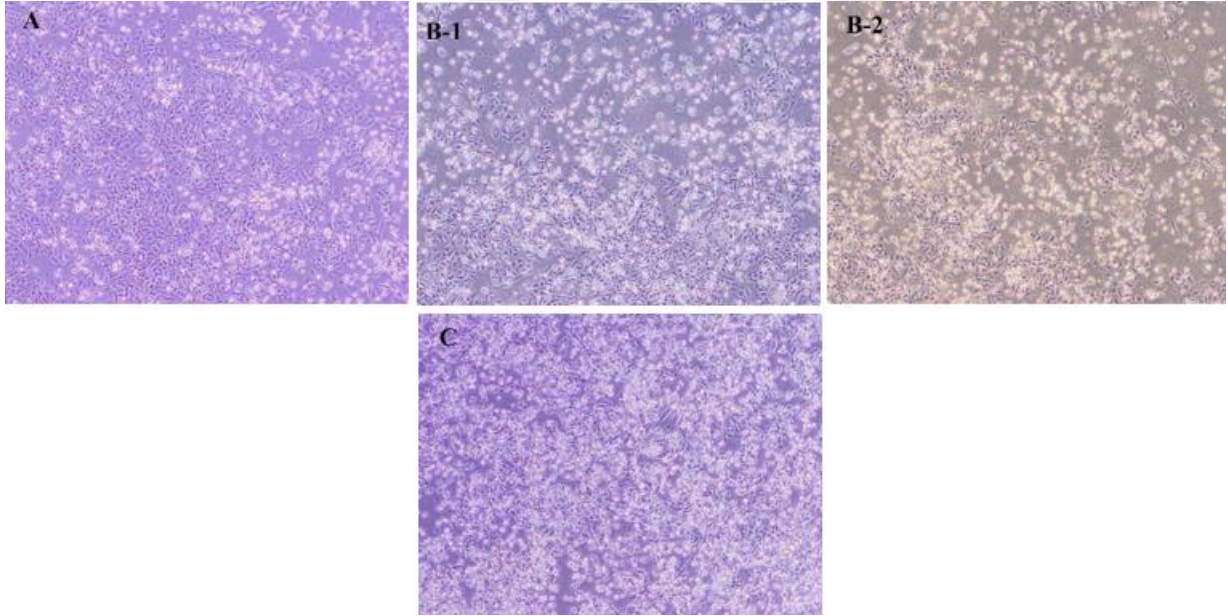
50  $\mu$ M klorambusil HeLa hücre hatlarının 24,48,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.



Şekil 4.57. HeLa hücre hattının 12'li kuyucuklara ekiminde kontrol grubunun 24(A), 48(B), 72(C) 10X mikroskop görüntüleri.

#### 4.5.6 75 $\mu$ M Tamoksifen + 10 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları

75  $\mu$ M tamoksifen + 10  $\mu$ M klorambusil HeLa hücre hatlarının 24,48,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.

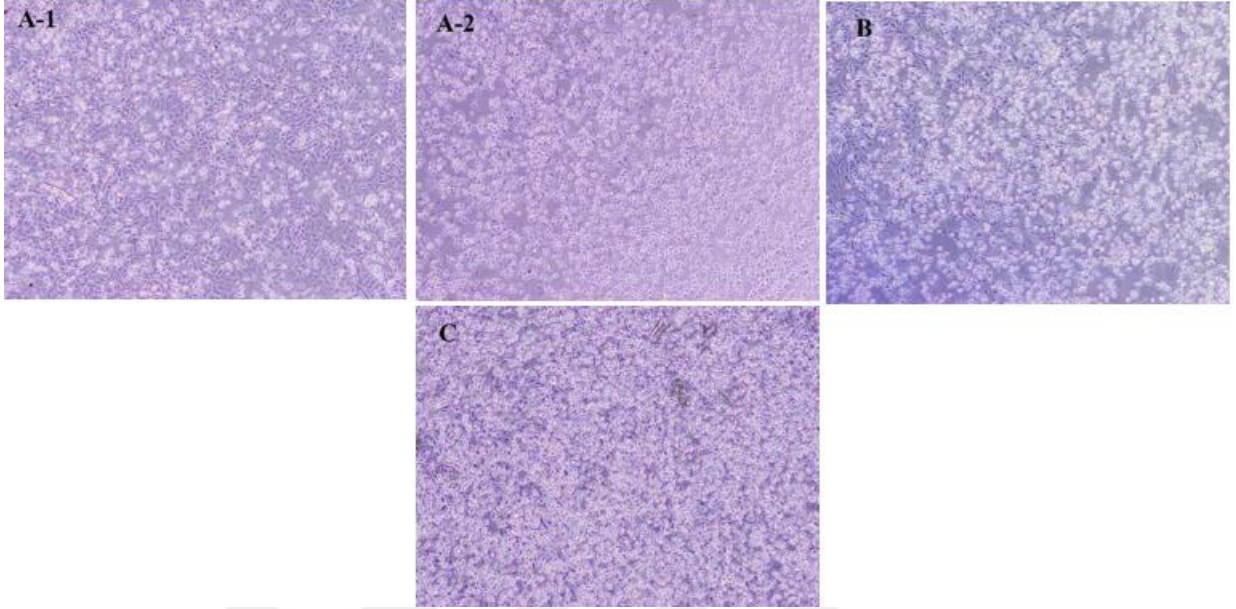


Şekil 4.58. HeLa hücre hattının 12'li kuyucuklara ekiminde kontrol grubunun 24(A), 48(B1/2), 72(C) 10X mikroskop görüntüleri.



#### 4.5.7 75 $\mu$ M Tamoksifen + 25 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları

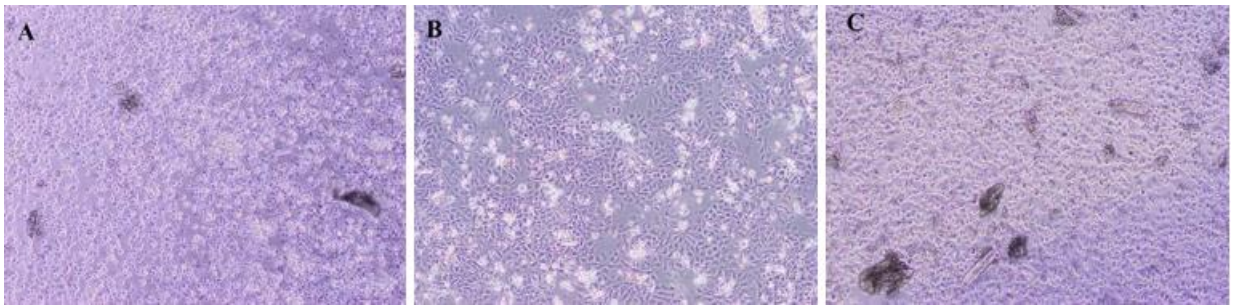
75  $\mu$ M tamoksifen + 10  $\mu$ M klorambusil HeLa hücre hatlarının 24,48,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.



**Şekil 4.59.** HeLa hücre hattının 12'li kuyucuklara ekiminde kontrol grubunun 24(A), 48(B), 72(C) 10X mikroskop görüntüleri.

#### 4.5.8 75 $\mu$ M Tamoksifen + 50 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları

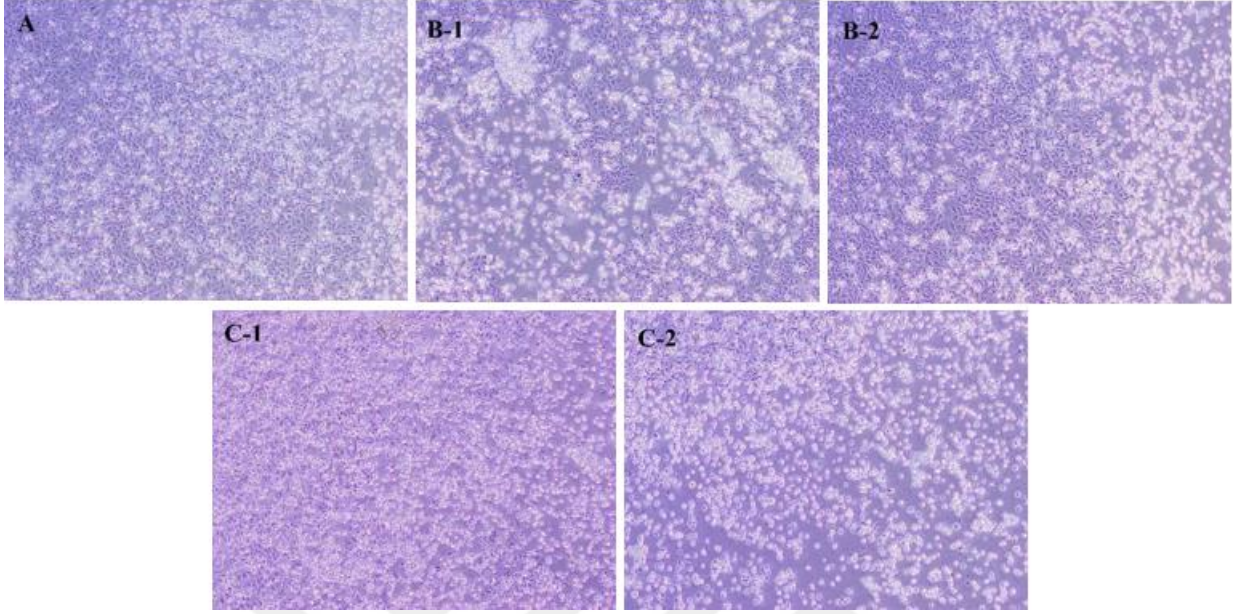
75  $\mu$ M tamoksifen + 50  $\mu$ M klorambusil HeLa hücre hatlarının 24,48,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.



**Şekil 4.60.** HeLa hücre hattının 12'li kuyucuklara ekiminde kontrol grubunun 24(A), 48(B), 72(C) 10X mikroskop görüntüleri.

#### 4.5.9 100 $\mu$ M Tamoksifen + 10 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları

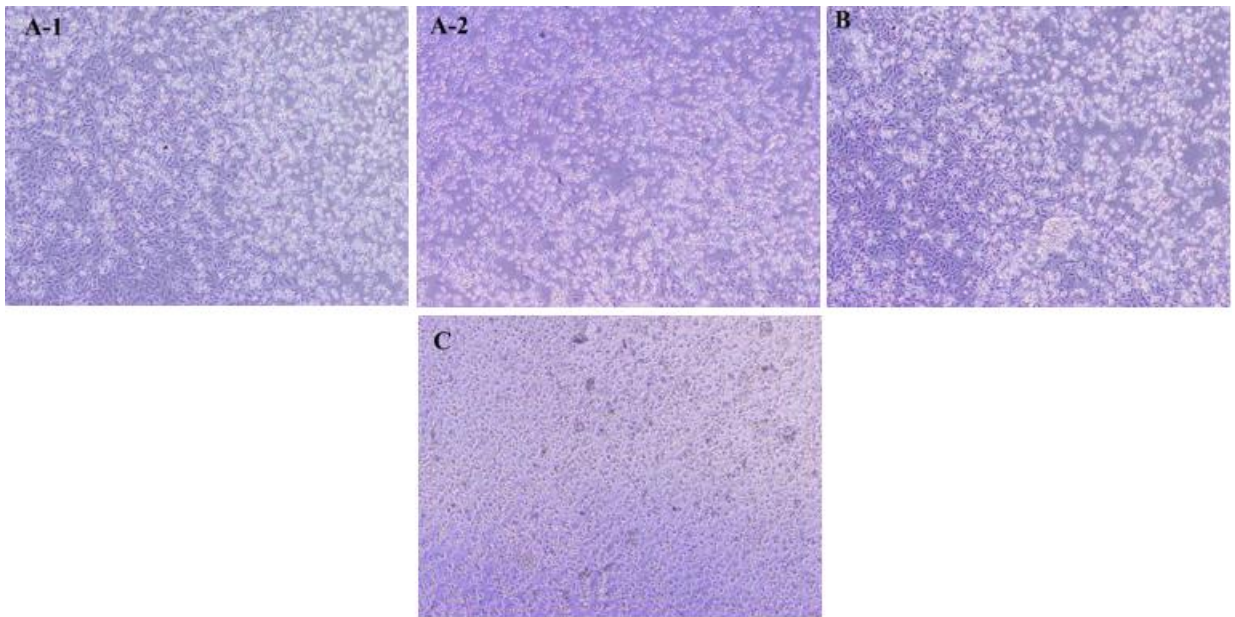
100  $\mu$ M tamoksifen + 10  $\mu$ M klorambusil HeLa hücre hatlarının 24,48,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.



Şekil 4.61. HeLa hücre hattının 12'li kuyucuklara ekiminde kontrol grubunun 24(A), 48(B1/2), 72(C1/2) 10X mikroskop görüntüleri.

#### 4.5.10 100 $\mu$ M Tamoksifen + 25 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları

100  $\mu$ M tamoksifen + 25  $\mu$ M klorambusil HeLa hücre hatlarının 24,48,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.

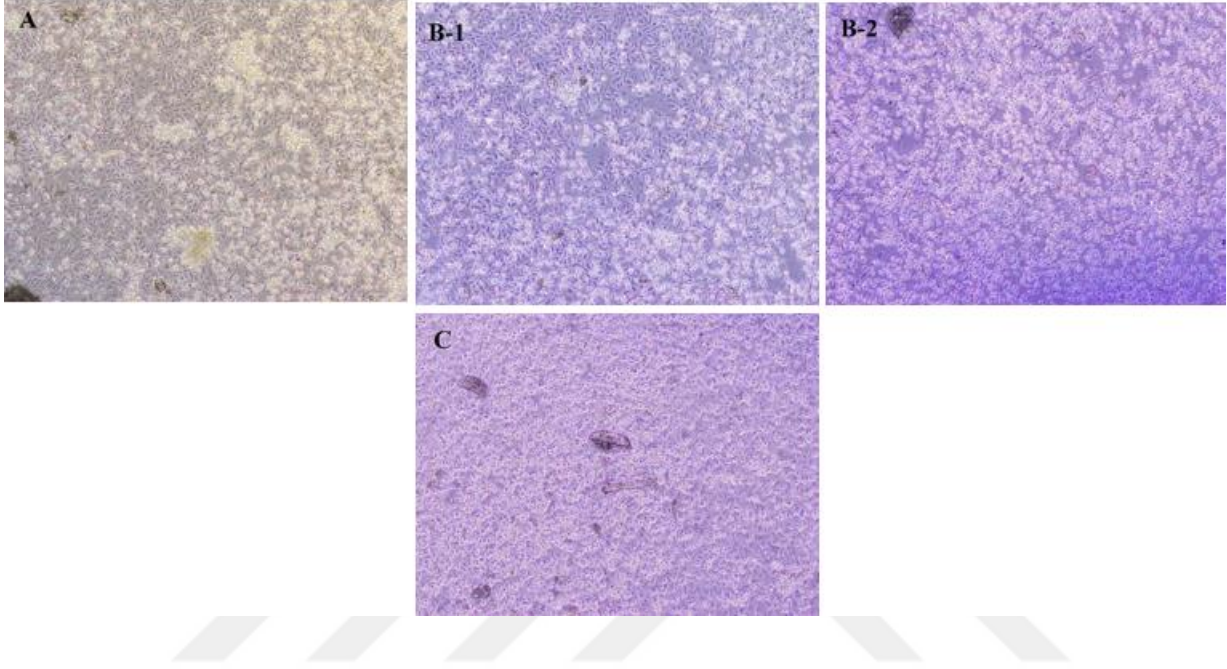




**Şekil 4.62.** HeLa hücre hattının 12’li kuyucuklara ekiminde kontrol grubunun 24(A1/2), 48(B), 72(C) 10X mikroskop görüntüleri.

#### 4.5.11 100 µM Tamoksifen + 50 µM Klorambusil Sonuçları

100 µM tamoksifen + 50 µM klorambusil HeLa hücre hatlarının 24,48,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.



**Şekil 4.63.** HeLa hücre hattının 12’li kuyucuklara ekiminde kontrol grubunun 24(A), 48(B), 72(C) 10X mikroskop görüntüleri.

#### 4.6 HeLa Hücre Hattı Migrasyon Sonuçları

Yaklaşık 200.000 kontrol HeLa kanser hücre hattı, 24 saat sonra % 80 oranında 6’lı kuyucuk plaka tabanını kapladığı gözlenmiştir ve yara açılmıştır. Yaranın açıldığı an 0. saat olarak belirlenmiştir. Daha sonra 6. ve 12. saat aralıkların da 10x mikroskop lensi altında aynı bölgedeki yara fotoğraflanmıştır.



#### 4.6.1 75 $\mu$ M Tamoksifen Sonuçları

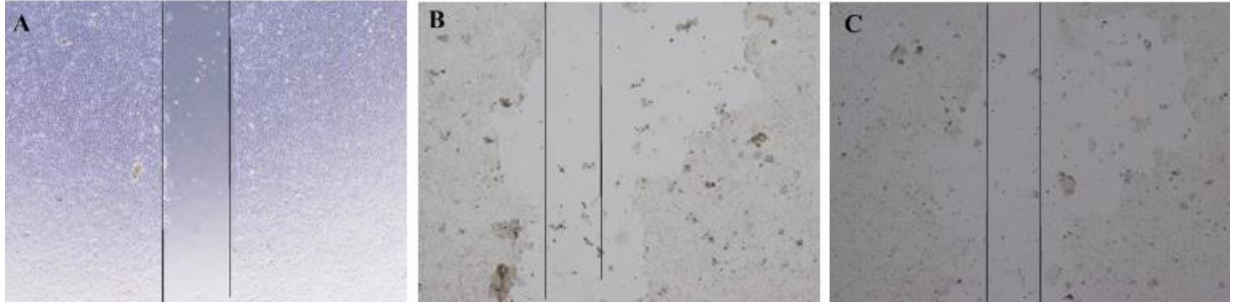
75  $\mu$ M tamoksifen HeLa hücre hatlarının 24,48,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.



**Şekil 4.64.** HeLa hücre hattının 12'li kuyucuklara ekiminde kontrol grubunun 24(A), 48(B), 72(C) 10X mikroskop görüntüleri.

#### 4.6.2 100 $\mu$ M Tamoksifen Sonuçları

100  $\mu$ M tamoksifen HeLa hücre hatlarının 24,48,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.



**Şekil 4.65.** HeLa hücre hattının 12'li kuyucuklara ekiminde kontrol grubunun 24(A), 48(B), 72(C) 10X mikroskop görüntüleri.

#### 4.6.3 10 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları

10  $\mu$ M klorambusil HeLa hücre hatlarının 24,48,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.



**Şekil 4.66.** HeLa hücre hattının 12'li kuyucuklara ekiminde kontrol grubunun 24(A), 48(B), 72(C) 10X mikroskop görüntüleri.

#### 4.6.4 25 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları

25  $\mu$ M klorambusil HeLa hücre hatlarının 24,48,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.



Şekil 4.67. HeLa hücre hattının 12'li kuyucuklara ekiminde kontrol grubunun 24(A), 48(B), 72(C) 10X mikroskop görüntüleri.

#### 4.6.5 50 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları

50  $\mu$ M klorambusil HeLa hücre hatlarının 24,48,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.



Şekil 4.68. HeLa hücre hattının 12'li kuyucuklara ekiminde kontrol grubunun 24(A), 48(B), 72(C) 10X mikroskop görüntüleri.

#### 4.6.6 75 $\mu$ M Tamoksifen + 25 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları

75  $\mu$ M tamoksifen + 25  $\mu$ M klorambusil HeLa hücre hatlarının 24,48,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.



**Şekil 4.69.** HeLa hücre hattının 12'li kuyucuklara ekiminde kontrol grubunun 24(A), 48(B), 72(C) 10X mikroskop görüntüleri.

#### 4.6.7 75 µM Tamoksifen + 50 µM Klorambusil Sonuçları

75 µM tamoksifen + 50 µM klorambusil HeLa hücre hatlarının 24,48,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.



**Şekil 4.70.** HeLa hücre hattının 12'li kuyucuklara ekiminde kontrol grubunun 24(A), 48(B), 72(C) 10X mikroskop görüntüleri.

#### 4.6.8 100 µM Tamoksifen + 25 µM Klorambusil Sonuçları

100 µM tamoksifen + 25 µM klorambusil HeLa hücre hatlarının 24,48,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.

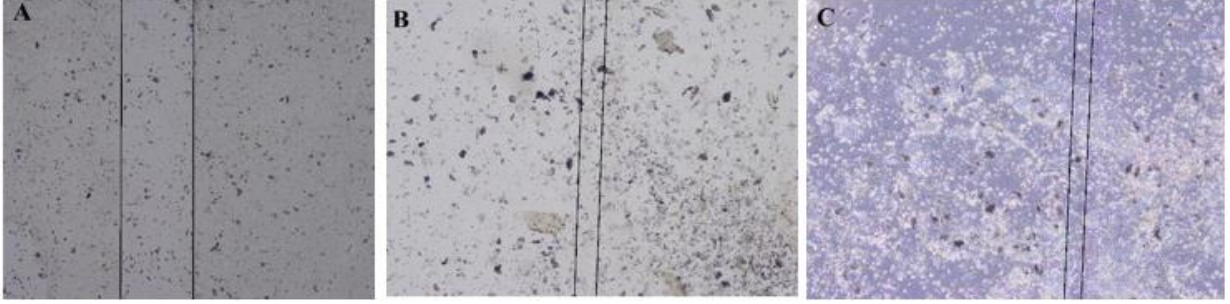


**Şekil 4.71.** HeLa hücre hattının 12'li kuyucuklara ekiminde kontrol grubunun 24(A), 48(B), 72(C) 10X mikroskop görüntüleri.



#### 4.6.9 100 $\mu$ M Tamoksifen + 50 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları

100  $\mu$ M tamoksifen + 50  $\mu$ M klorambusil HeLa hücre hatlarının 24,48,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.

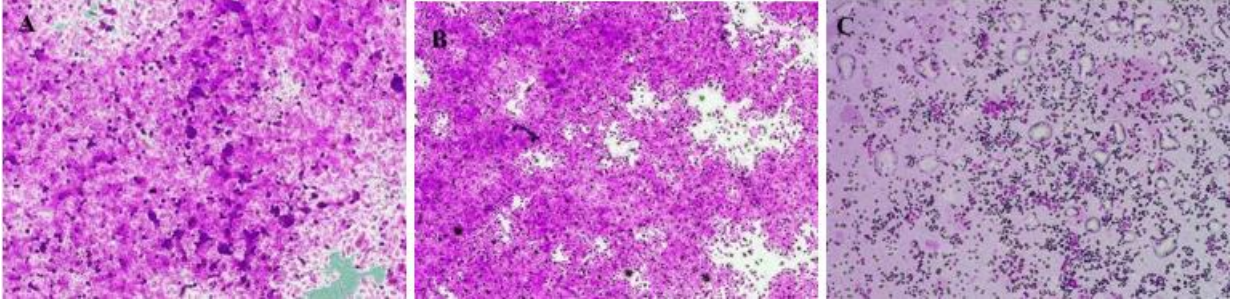


**Şekil 4.72.** HeLa hücre hattının 12'li kuyucuklara ekiminde kontrol grubunun 24(A), 48(B), 72(C) 10X mikroskop görüntüleri.

#### 4.7 HeLa Hücre Hattı İnvazyon Sonuçları

##### 4.7.1 75 $\mu$ M Tamoksifen Sonuçları

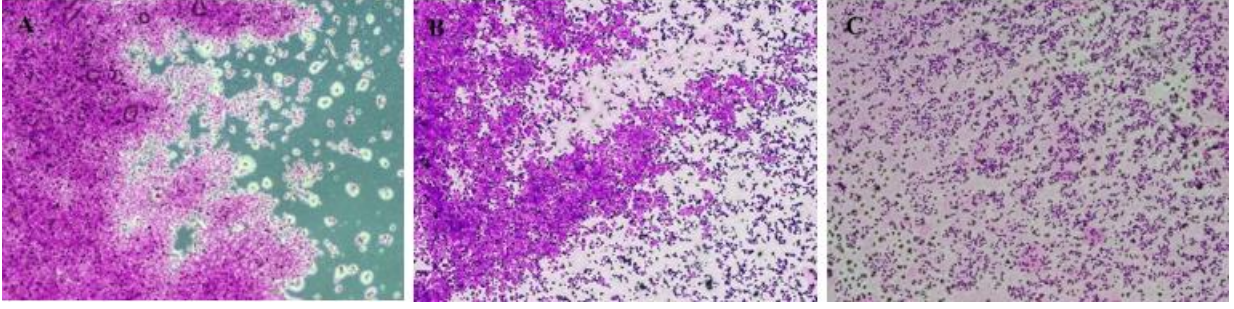
75  $\mu$ M tamoksifen HeLa hücre hatlarının 24,48,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.



**Şekil 4.73.** HeLa hücre hattının 12'li kuyucuklara ekiminde kontrol grubunun 24(A), 48(B), 72(C) 10X mikroskop görüntüleri.

#### 4.7.2 100 $\mu$ M Tamoksifen Sonuçları

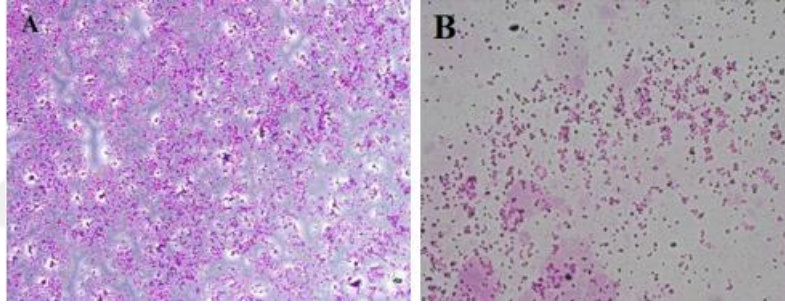
75  $\mu$ M tamoksifen HeLa hücre hatlarının 24,48,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.



**Şekil 4.74.** HeLa hücre hattının 12'li kuyucuklara ekiminde kontrol grubunun 24(A), 48(B), 72(C) 10X mikroskop görüntüleri.

#### 4.7.3 25 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları

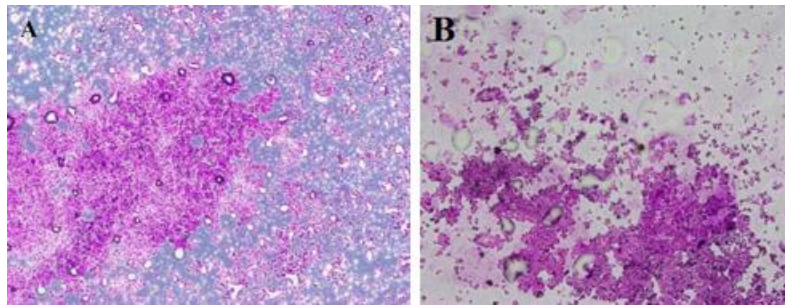
25  $\mu$ M klorambusil HeLa hücre hatlarının 24,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.



**Şekil 4.75.** HeLa hücre hattının 12'li kuyucuklara ekiminde kontrol grubunun 24(A), 72(B) 10X mikroskop görüntüleri.

#### 4.7.4 50 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları

50  $\mu$ M klorambusil HeLa hücre hatlarının 24,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.

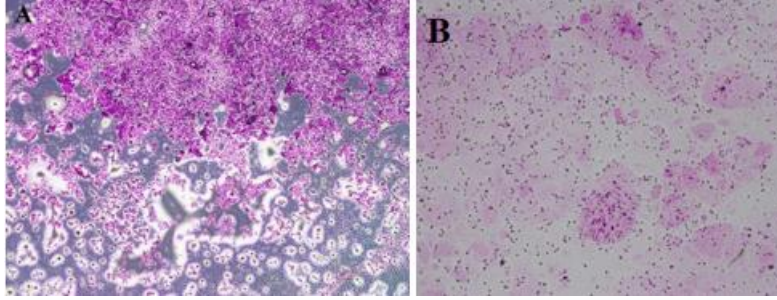


**Şekil 4.76.** HeLa hücre hattının 12'li kuyucuklara ekiminde kontrol grubunun 24(A), 72(B) 10X mikroskop görüntüleri.



#### 4.7.5 75 µM Tamoksifen + 25 µM Klorambusil Sonuçları

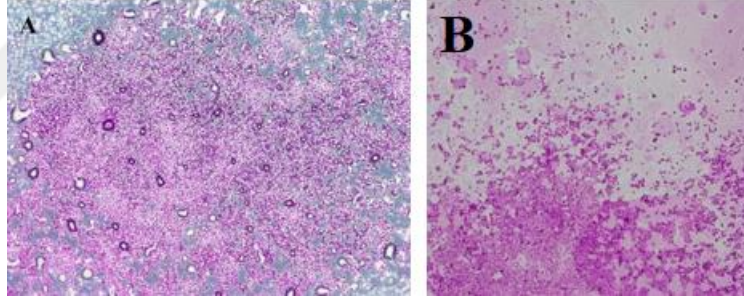
75 µM tamoksifen + 25 µM klorambusil HeLa hücre hatlarının 24,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.



**Şekil 4.77.** HeLa hücre hattının 12’li kuyucuklara ekiminde kontrol grubunun 24(A), 72(B) 10X mikroskop görüntüleri.

#### 4.7.6 75 µM Tamoksifen + 50 µM Klorambusil Sonuçları

75 µM tamoksifen + 50 µM klorambusil HeLa hücre hatlarının 24,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.

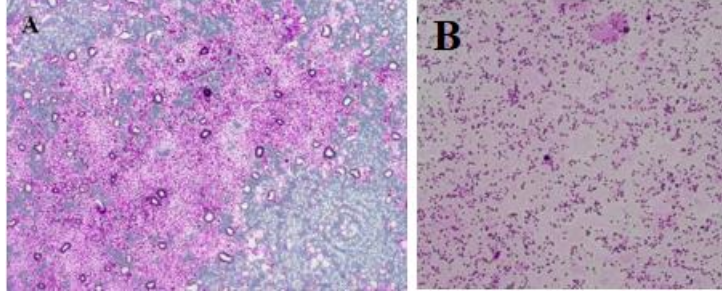


**Şekil 4.78.** HeLa hücre hattının 12’li kuyucuklara ekiminde kontrol grubunun 24(A), 72(B) 10X mikroskop görüntüleri.



#### 4.7.7 100 $\mu$ M Tamoksifen + 25 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları

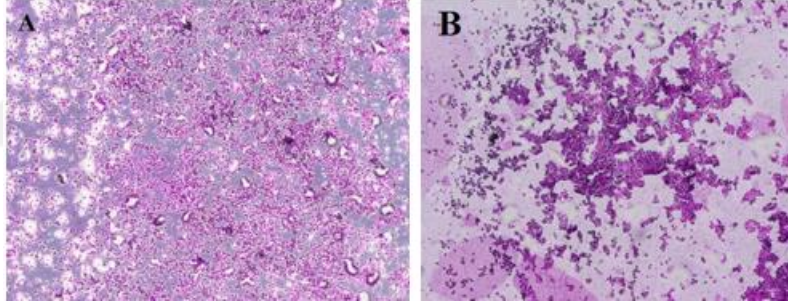
100  $\mu$ M tamoksifen + 25  $\mu$ M klorambusil HeLa hücre hatlarının 24,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.



**Şekil 4.79.** HeLa hücre hattının 12'li kuyucuklara ekiminde kontrol grubunun 24(A), 72(B) 10X mikroskop görüntüleri.

#### 4.7.8 100 $\mu$ M Tamoksifen + 50 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları

100  $\mu$ M tamoksifen + 50  $\mu$ M klorambusil HeLa hücre hatlarının 24,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.



**Şekil 4.80.** HeLa hücre hattının 12'li kuyucuklara ekiminde kontrol grubunun 24(A), 72(B) 10X mikroskop görüntüleri.

## 4.8 HeLa Hücre Hattı 3B Sonuçları

### 4.8.1 75 $\mu$ M Tamoksifen Sonuçları

75  $\mu$ M tamoksifen HeLa hücre hatlarının 24,48,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.



**Şekil 4.81.** HeLa hücre hattının asılı damla yöntemi ile ekiminde kontrol grubunun 24(A), 48(B), 72(C) 10X mikroskop görüntüleri.

### 4.8.2 100 $\mu$ M Tamoksifen Sonuçları

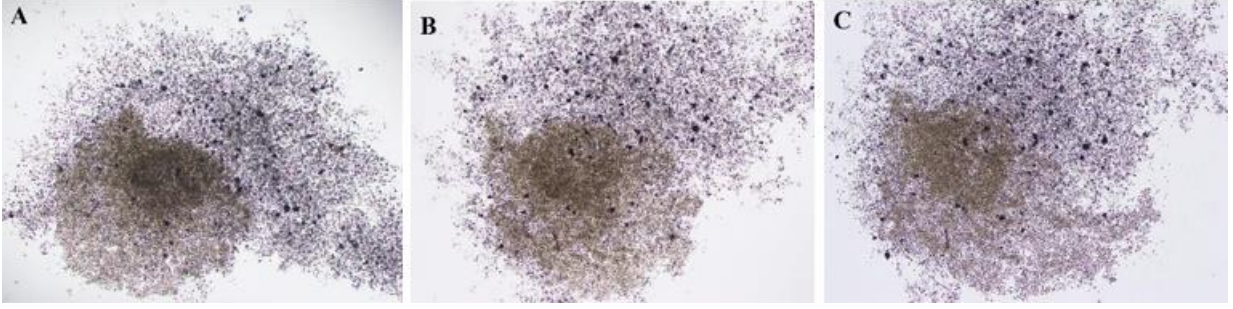
100  $\mu$ M tamoksifen HeLa hücre hatlarının 24,48,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.



**Şekil 4.82.** HeLa hücre hattının asılı damla yöntemi ile ekiminde kontrol grubunun 24(A), 48(B), 72(C) 10X mikroskop görüntüleri.

#### 4.8.3 25 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları

25  $\mu$ M klorambusil HeLa hücre hatlarının 24,48,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.



Şekil 4.83. HeLa hücre hattının asılı damla yöntemi ile ekiminde kontrol grubunun 24(A), 48(B), 72(C) 10X mikroskop görüntüleri.

#### 4.8.4 50 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları

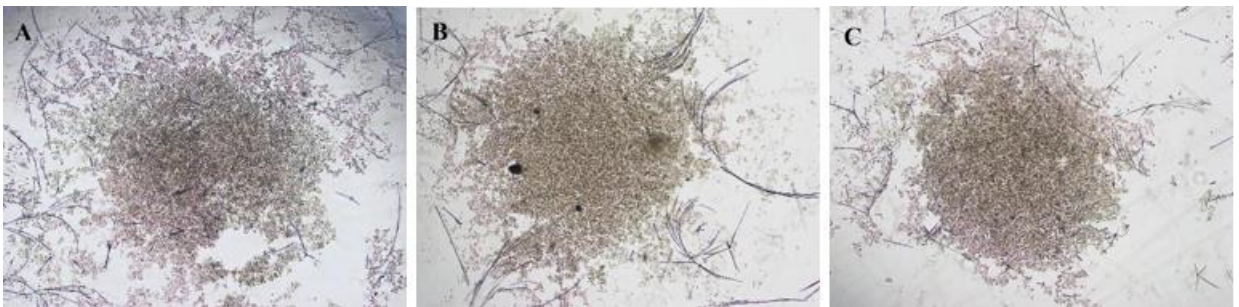
50  $\mu$ M klorambusil HeLa hücre hatlarının 24,48,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.



Şekil 4.84. HeLa hücre hattının asılı damla yöntemi ile ekiminde kontrol grubunun 24(A), 48(B), 72(C) 10X mikroskop görüntüleri.

#### 4.8.5 75 $\mu$ M Tamoksifen + 25 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları

75  $\mu$ M tamoksifen + 25  $\mu$ M klorambusil HeLa hücre hatlarının 24,48,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.



Şekil 4.85. HeLa hücre hattının asılı damla yöntemi ile ekiminde kontrol grubunun 24(A),



48(B), 72(C) 10X mikroskop görüntüleri.

#### 4.8.6 75 $\mu$ M Tamoksifen + 50 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları

75  $\mu$ M tamoksifen + 50  $\mu$ M klorambusil HeLa hücre hatlarının 24,48,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.



Şekil 4.86. HeLa hücre hattının asılı damla yöntemi ile ekiminde kontrol grubunun 24(A), 48(B), 72(C) 10X mikroskop görüntüleri.

#### 4.8.7 100 $\mu$ M Tamoksifen + 25 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları

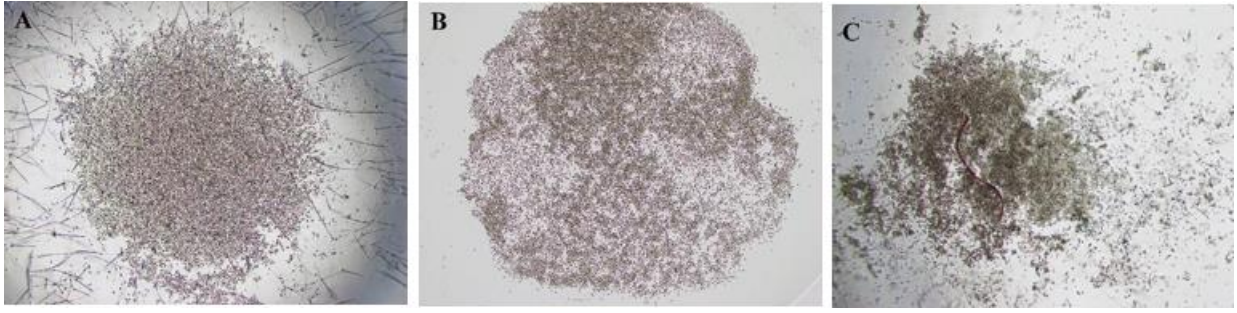
100  $\mu$ M tamoksifen + 25  $\mu$ M klorambusil HeLa hücre hatlarının 24,48,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.



Şekil 4.87. HeLa hücre hattının asılı damla yöntemi ile ekiminde kontrol grubunun 24(A), 48(B), 72(C) 10X mikroskop görüntüleri.

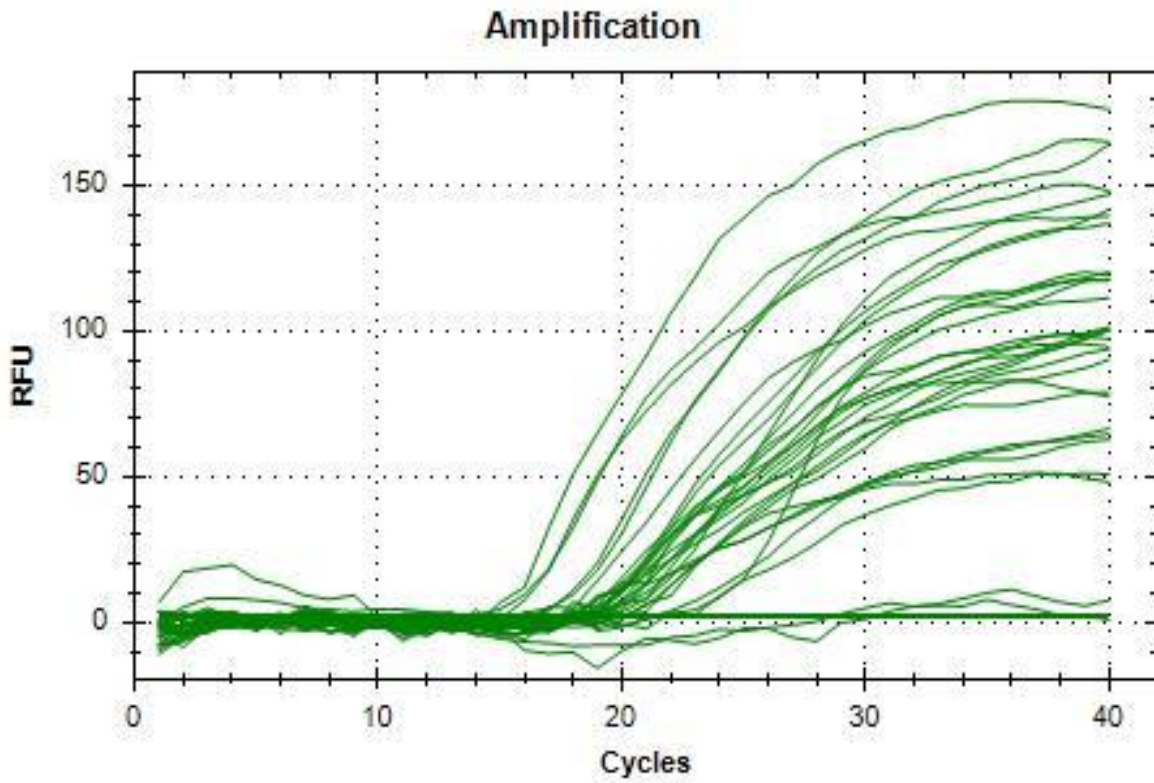
#### 4.8.8 100 $\mu$ M Tamoksifen + 50 $\mu$ M Klorambusil Sonuçları

100  $\mu$ M tamoksifen + 50  $\mu$ M klorambusil HeLa hücre hatlarının 24,48,72 saatlik görüntüleri aşağıda verilmiştir.



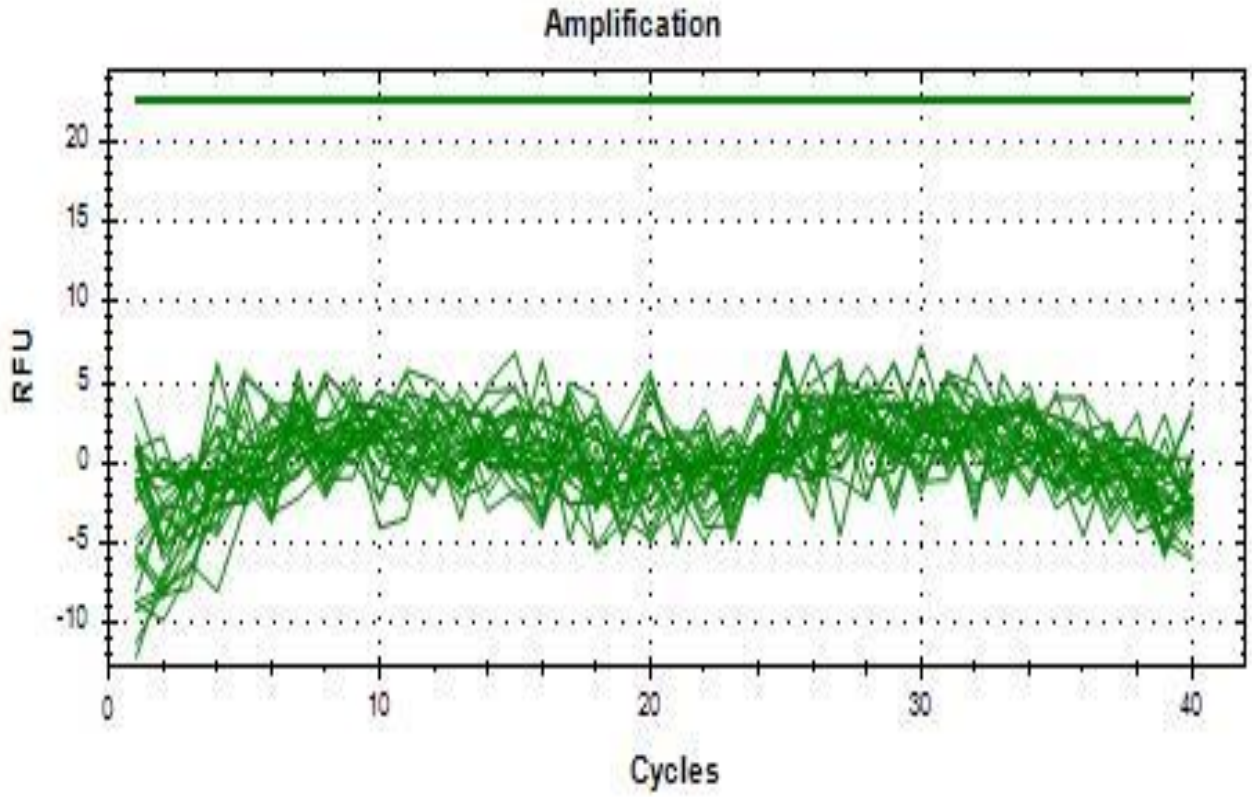
**Şekil 4.88.** HeLa hücre hattının asılı damla yöntemi ile ekiminde kontrol grubunun 24(A), 48(B), 72(C) 10X mikroskop görüntüleri.

#### 4.9 *MMP2* ve *VEGFA* Gen İfadesi Sonuçları

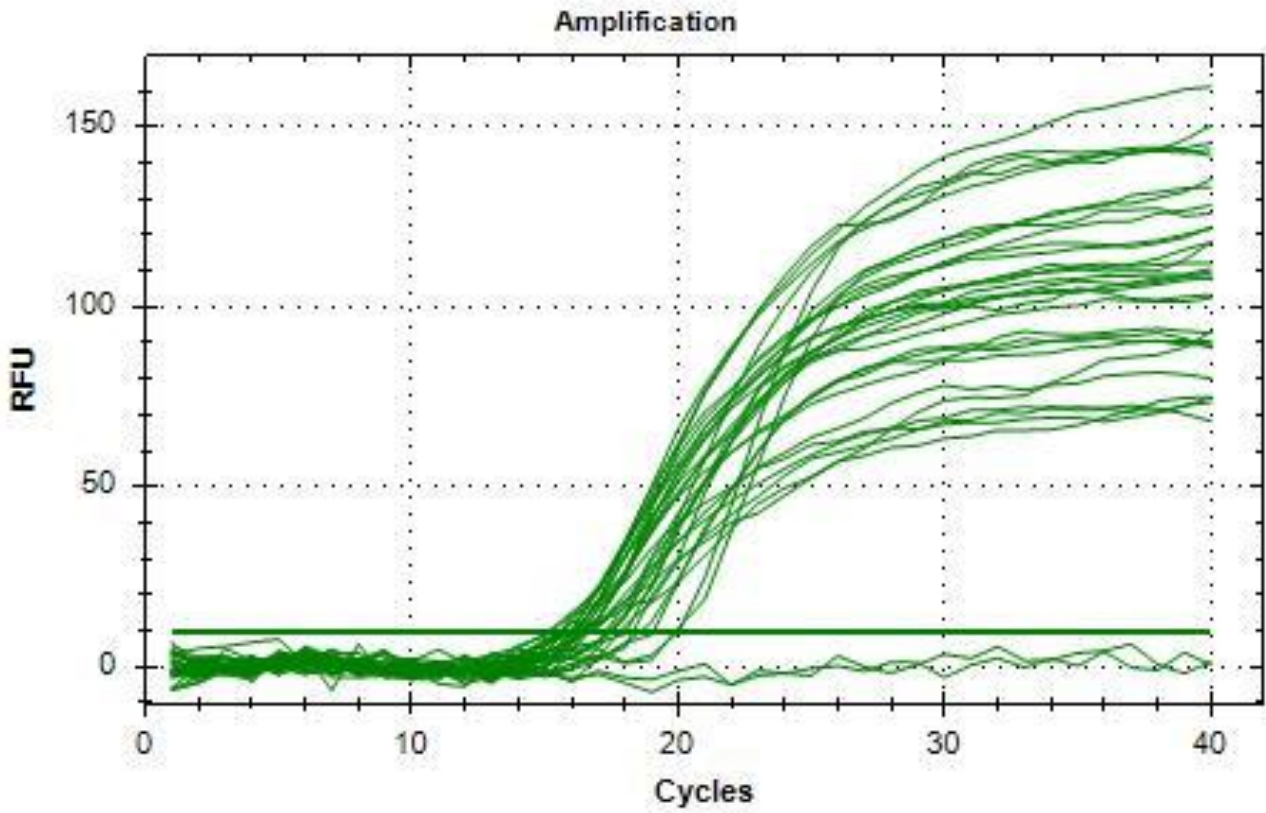




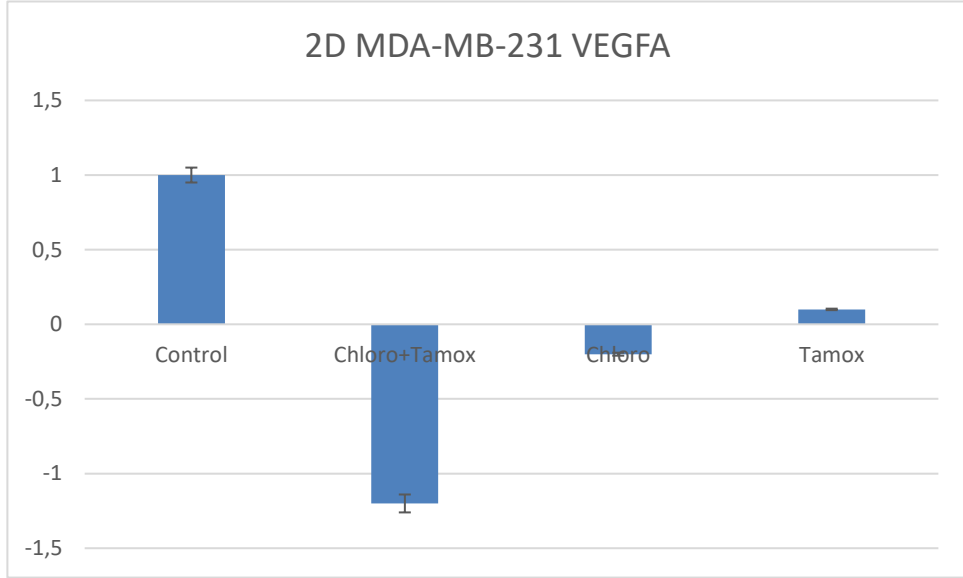
Şekil 4.89:  $\beta$ -Actin real time pcr sonuçları ( $\beta$ -Actin kontrol grubu olarak kullanılmıştır).



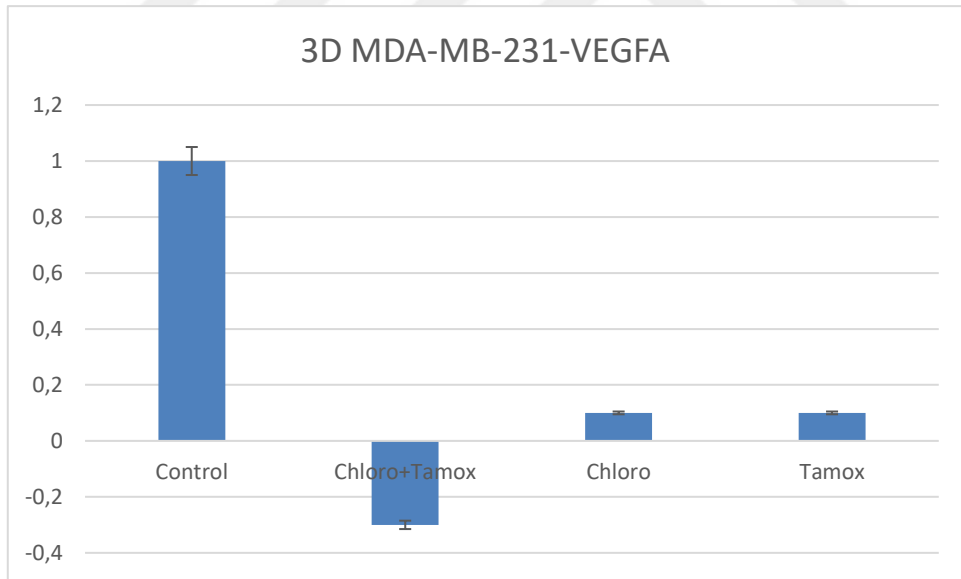
Şekil 4.89: *MMP2* real time pcr sonuçları



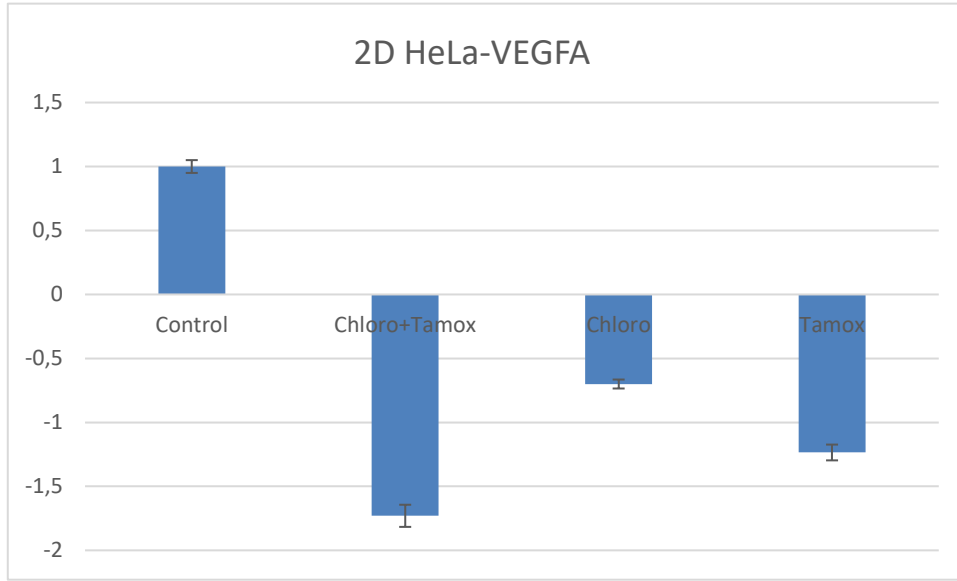
Şekil 4.90: *VEGFA* real time pcr sonuçları



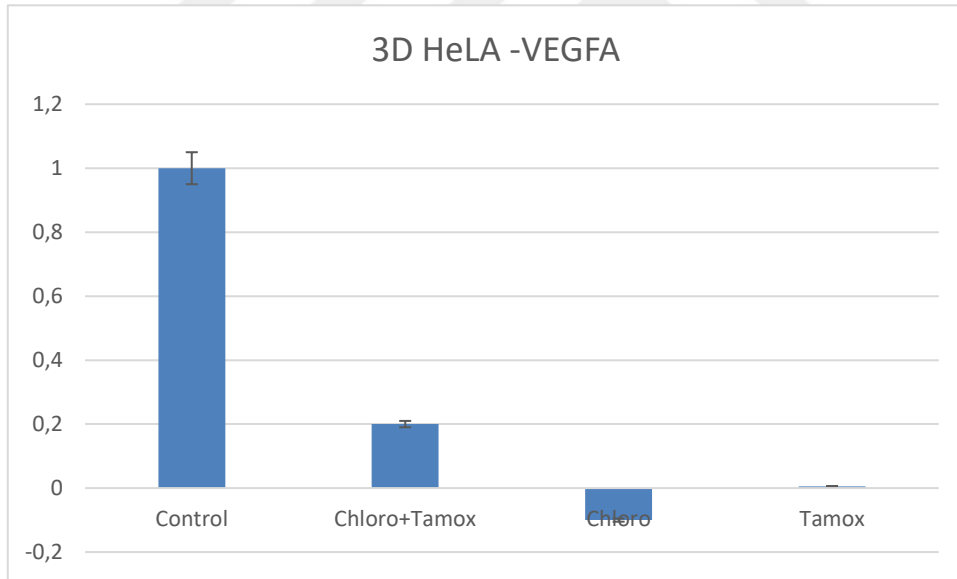
Şekil 4.91: 2B MDA-MB-231 hücre hattında *VEGFA* gen ifadesi sonuçları



Şekil 4.92: 3B MDA-MB-231 hücre hattında *VEGFA* gen ifadesi sonuçları



**Şekil 4.93:** 2B HeLa hücre hattında *VEGFA* gen ifadesi sonuçları



**Şekil 4.94:** 3B HeLa hücre hattında *VEGFA* gen ifadesi sonuçları

#### 4.10 Tartışma

Yapılan çalışmada MDA-MB-231 ve HeLa kanser hücrelerinde tamoksifen ve klorambusilin hem ayrı ayrı hemde birlikte etkisine bakılmıştır. Bu çalışmaya göre toksik doz değerini belirlemek için yapılan optimizasyon çalışmasında **Tablo 2.5** 'de verildiği gibi MDA-MB-231 hücre hatlarına belirli molaritelerde dozlar verilmiştir. Tamoksifen normal koşullar altında östrojen reseptörlerine bağlanarak hücrelerin östrojen pozitif olan kanser hücre hatlarındaki büyüme sinyallerini engellemek için kullanılmaktadır, ancak çalışmamızda kullanılan hücre hattı 3 lü negatif meme kanseri olarak geçen ve östrojen negatif bir hücre hattı olan MDA-MB-231 kullanılmıştır. Bu çalışmada, tamoksifenin sitotoksik etkisi östrojen negatif hücre hattında da doza bağlı olarak arttırılabileceğini gösterilmektedir (Hassan *ve ark.*, 2018). Tez çalışmasında Tamoksifen 75 ve 100  $\mu\text{M}$  değerlerin de MDA-MB-231 hücre hattında etkili olduğu görülmüştür. Bu değerler HeLa hücre hatlarında da denenmiş ve aynı değerlerin HeLa hücre hattında da etki yoğunluğunun fazla olduğu görülmüştür. Ma *ve ark.* yapmış oldukları çalışmada konjuge edilmiş platin parçacıklarının klorambusil ile etkisi araştırılmış ve bu çalışmada klorambusilin sitotoksik etki doz aralığı  $84.50 \pm 20.58 \mu\text{M}$  bulunmuştur (Ma *ve ark.*, 2018). Yapmış olduğumuz çalışma sonucu Klorambusil 10,25 ve 50  $\mu\text{M}$  da MDA-MB-231 hücre hatlarında sitotoksik ve morfolojik etkilerinin yoğun olduğu gözlemlenmiştir. Aynı değerler HeLa hücre hattında da denenmiş ve bu hücre hattın da klorambusilin sitotoksik etkisi görülmüştür. Tamoksifen verilen kuyucuklardaki hücrelerde her iki dozda da 72. saat sonunda kuyucuk tabanında yapışan hücrelerin olduğu görülmüştür, fakat hücrelerinin büyük çoğunluğunun tabandaki ekstraselüler matrikslerinin uzaklaştırıldığı ve hücrelerin besiyeri içinde yüzdüğü ve morfolojik olarak değişiklik gösterdiği görülmektedir. Klorambusilin, tamoksifene göre çalışılan her iki hücre hattında da özellikle 48 ve 72 saatlik sürelerde daha fazla öldürücü etkiye sahip olan ilaçtır. Dolayısıyla, bu sonuçlar Klorambusilin'in tamoksifenden daha güçlü bir toksik etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Ancak, sitotoksik etki, kullanılan hücre hatlarına ve diğer deney koşullarına bağlı olarak değişebilir. İlaçlar birlikte verildiklerinde tamoksifenin 100  $\mu\text{M}$  ve Klorambusil 25  $\mu\text{M}$  ve 50  $\mu\text{M}$  daki karışımlarında sitotoksik etkinin arttığı ve hücrelerin morfolojilerinde de ciddi değişiklikler olduğu görülmektedir. Migrasyon deneylerinde ise tamoksifen verilen hücrelerde hareket etme durumunun azaldığı görülmektedir. Klorambusilde ise hücrelerin boş alanları kapatmaya çalıştığı ve metastaz yapma yeteneklerinin hala devam ettiği görülebilir ancak ilaçlar beraber verildiklerindeki etkilerine bakılacak olursa 75  $\mu\text{M}$  tamoksifen ile 25  $\mu\text{M}$  klorambusil özellikle çok etkili olduklarını ve her karışımda tek tek verilen dozlardan çok daha etkili olduğu oluşturulan yaranın kapanmadığı görülmektedir.

HeLa hücre hatlarındaki yara deneylerinde verilen bütün ilaç dozlarının etkili olduğu söylenebilir fakat bu etki MDA-MB-231'den daha düşük olduğu görülmektedir. Tamoksifen ve Klorambusilin üçlü negatif meme kanseri hücre hattı olan MDA-MB-231 de östrojen reseptörlerine negatif olmasına rağmen ilacın diğer etki mekanizmaları ile bu hücre hattındaki toksik etkisi daha fazla olmuştur. HeLa hücre hatlarında yara deneylerinde yara çekilen bölgelerde hücrelerde büyük ölümler gözlenmiş, hücrelerin morfolojisi değişmiş ve hücrelerin metastaz yapmadığı görülmüştür. 3B hücrelerde 10 µL hücre üstüne LD50 değerleri belirlenen ilaçlar 10 µL denk gelecek şekilde uygulanmıştır. Bu sonuçlar, tamoksifenin belirli bir süre içinde hücreleri inhibe edebileceğini, ancak hücrelerin tamamen ölmemesine veya büyük bir hücre ölümüne neden olmamasına işaret edebilir. Bu durumda, tamoksifenin hücrelerin büyüme hızını yavaşlattığı veya hücrelerin farklılaşmasını etkilediği düşünülebilir. Ancak, hücre dağılımının azalması, tamoksifenin 3B hücrelerdeki etkisini belirli bir süre içinde sınırlayabileceğini gösterir. Tamoksifen, 3B HeLa hücrelerinde yoğun bir biçimde toksik etki göstermiştir. MDA-MB-231 hücre hattında ilaçlar kombinasyon olarak verildiğinde, HeLa hücre hattına göre toksik etkisinin daha fazla olduğu görülmektedir. Bu yapılan çalışmada her iki ilacında toksik etkisinin hücre hatlarında yüksek düzeyde olduğu görülmüştür fakat doz arttıkça ortaya çıkan ilaç kalıntıları hücrelere olan etkilerini olumsuz yönde etkilemiştir ve bunun sonucunda tamoksifen için 2; klorambusil için 2 ana doz belirlenmiştir. Bu dozlar hücrelerde tek tek verildiklerinde hücrelere olan toksik etkilerininin birlikte verildikleri arasında farklar olduğu ortaya çıkarılmıştır. Tamoksifenin hücrelerin yapışkan halden kurtulmasını sağlayarak hücre ölümüne neden olma mekanizması, tamoksifenin östrojen reseptörlerine bağlanarak hücre büyümesini inhibe etmesine dayanırken; klorambusilin ise, doğrudan hücrelere etki ederek öldürücü etkisini gösterir. Bu iki ilacın farklı etki mekanizmaları nedeniyle hücrelere farklı şekillerde etki edebileceği ve ölüm mekanizmalarının farklı olduğu söylenebilir. Bu çalışmada, ilaç kombinasyonlarının birbirlerinin etkilerini arttırdıkları gösterilmiştir. Tamoksifenin farklı hücre hatlarındaki diğer etkilerine bakıldığında Hassan ve ark. yaptıkları çalışmalarda, Tamoksifen MCF-7 hücre hatlarında uygulandığında, doza bağımlı bir şekilde etkisinin arttığı ve belirli dozlarda sitotoksik etkisinin olduğu bulunmuştur. Ayrıca, bu ilacın hücrelerdeki Cas9 geninin ekspresyonunu önemli ölçüde arttırdığı tespit edilmiştir. Literatürde yapılan çalışmalarda, tamoksifenin farklı dozları kullanılmış ve bu dozlarda ilacın sitotoksik ve morfolojik etkisi değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlar, tamoksifenin doza bağımlı şekilde artan bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Yani, yüksek dozlarda tamoksifenin sitotoksik etkisi daha güçlü olmuştur. Ancak yapılan deneylerde tamoksifenin 100 µM dan sonra hücreleri öldürme yeteneğinde ilaç etken maddelerinin tam olarak çözünmemesi



sonucunda ilaç kalıntıları sebebi ile çok fazla etkili olmadığı görülmektedir. (Hassan, *ve ark.*, 2018). Yapılan başka bir çalışmada ise nelfinavir molekülü 4 adet kanser hücre hattında uygulanmış ve ek olarak tamoksifen ile kombinasyonu denenmiştir.

Tamoksifenin bu 4 hücre hattında da nelfinavir ile bereber kullanımın ilaç etken maddesinin etkisini artırdığı gösterilmiştir (Brüning *ve ark.*, 2010). Subramani *ve ark.* yapmış oldukları çalışmalarda ise meme kanseri hücrelerinde additif etkiyi araştırmak için yapılan bir çalışmada, tamoksifen ve nordamnacanthal (NDAM) adlı maddelerin birleştirildiği yeni bir kombinasyon tedavisi oluşturulmuştur. Bu tedavi yöntemi, MCF-7 hücreleri üzerinde test edilmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre, TAM ve NDAM ile tedavi edilen MCF-7 hücreleri, tedavi edilmeyen kontrol hücreleri veya tek başına TAM ve NDAM ile tedavi edilen hücrelere kıyasla önemli ölçüde azalmış hücre canlılığı ve artmış apoptoz (hücre ölümü) göstermiştir. Bu etkilerin doza bağımlı olduğu belirtilmektedir, yani kullanılan doz arttıkça etkinin daha belirgin olduğu görülmüştür. Bu bulgular, TAM ve NDAM kombinasyon tedavisinin meme kanseri hücrelerinde olumlu bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir (Subramani *ve ark.*, 2014). Tez çalışmasında ise tamoksifen ve klorambusil kullanılmasının bu etkileri arttırdığı gösterilmektedir. Yapılan çalışmaya benzer şekilde, platin IV ön ilaçlarının çeşitli kanser hücrelerindeki sitotoksik etkileri araştırılmış ve klorambusil ile kullanıldığında kanser hücrelerine olan etkisi incelenmiştir. Sonuçlar, klorambusilin tek başına yüksek bir öldürücü etkiye sahip olduğunu, ancak sisplatin ve platin IV bağlı ilaçlarla kombinasyon halinde hücrelerde daha fazla sitotoksositeye neden olduğunu göstermiştir. Platin bazlı ilaçlar, kanser tedavisinde sıkça kullanılan bir grup kemoterapi ilacıdır. Sisplatin, platin IV bağlı ilaçlar ve klorambusil gibi platin içeren ilaçlar, kanser hücrelerinde DNA hasarına neden olarak hücrelerin büyümesini ve çoğalmasını engelleyebilir. Yapılan çalışmada, platin IV ön ilaçları tek başına ve klorambusil ile kullanılarak kanser hücrelerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Klorambusilin tek başına yüksek bir sitotoksik etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Ancak, sisplatin ve platin IV bağlı ilaçlarla birlikte kullanıldığında, bu ilaçların kombinasyonu hücrelerde daha güçlü bir sitotoksositeye yol açmıştır (Ying *ve ark.*, 2018).

Bu çalışmada, MDA-MB-231 ve HeLa hücre hatları kullanılarak yapılan deneylerde, VEGF ve *MMP2* genlerinin gen ifade seviyeleri incelenmiştir. Kontrol olarak  $\beta$ -actin kullanılmıştır. RT-PCR sonuçlarına göre, hücrelerde *VEGFA* gen ifade seviyeleri gözlemlenirken, *MMP2* geninde bir sonuç elde edilememiştir. MDA-MB-231 hücre hatlarında *VEGFA* geninin ifade düzeyi yüksek olduğu bilinmektedir (**Şekil 1.14**). Yapılan tez çalışması, kontrol grubunda *VEGFA* gen ifade düzeyinin yüksek olduğunu doğrulamıştır. Lee *ve ark.*, MCF-7 hücreleri üzerinde tamoksifenin VEGF geninin ifade düzeyini etkilemesi konusunda bir

çalışma yapmışlar ve bu çalışmaya göre de tamoksifen MCF-7 hücrelerinde VEGF gen ifadesini azalttığı görülmüş ve bunun MCF-7 hücresinin östrojen pozitif olmasından kaynaklı olunacağı düşünülmüştür. Aynı çalışmada bu etki MDA-MB-231 hücrelerinde de çalışmış ve artış ya da azalma görülmemiştir (Lee ve ark., 2004). Yapılan tez çalışmasında kullanılan MDA-MB-231 hücre hattının üçlü negatif invaziv meme kanser hücre hattı olmasından dolayı *VEGFA* gen düzeyinde bir ifade azalmasının olması düşünülmemiştir. Fakat yapılan çalışmalar gösterdiği tamoksifen tek başına 2 boyutlu MDA-MB-231 hücre hattına uygulandığında *VEGFA* gen ifade düzeyinde kontrole göre %80'lik bir azalmaya sebep olmuştur.

Bunun sebebi olarak tamoksifenin etki mekanizmasının tam olarak çözülememiş bir ilaç olmasından kaynaklı olduğu düşünülebilir. Kullanılan diğer bir ilaç olan klorambusil literatür taraması sonrasında daha önce hiç *VEGFA* gen ifadesi düzeyinin etkisinin olup olmaması üzerinde çalışmalar bulunmamaktadır, ancak bu ilacın tez çalışmasında seçilmesinin en büyük sebebi ilacın diğer ilaçlar ile birlikte kullanımının kanser tedavileri arasında sıkça kullanılması ve etki mekanizması tam olarak bilinmesinde proteinler, membranlar, RNA ve DNA ile etkileşime girmesidir (Begleiter ve ark., 1996). Bu bilgilere dayanarak klorambusilin *VEGFA* gen ifadesini azalttığı görülmektedir. MDA-MB-231 hücrelerinde tek başına uygulanan klorambusil *VEGFA* gen ifade seviyesinde dede azalmaya sebep olmuştur. İlaç karışımlarının beraber uygulandığında ise gen ifade düzeyinde daha fazla azalma gözlenmiştir. 3B model MDA-MB-231 hücrelerinde yapılan çalışmada ise birlikte ilaç uygulamasının kontrol grubuna göre gen ifade seviyesini azalttığı gözlenmiştir. Ancak, 2 boyutlu çalışma sonuçlarıyla karşılaştırıldığında, gen ifade seviyelerindeki azalmanın daha fazla olduğu görülmektedir. Bu durumun en büyük sebepleri arasında, 3 boyutlu hücrelerde ilacın yüzeyel bölgelerdeki hücrelere etki göstermesi ve küresel yapının iç kısımlarındaki hücrelere daha az ulaşması düşünülebilir. Bu durum, hücrelerin ilaçlara karşı bir savunma mekanizması olarak gösterilebilir. Zamanla, üst kısımdaki hücreler etkilenirken, iç kısımdaki hücrelerin yavaş yavaş etkilenmesi ve bu sayede ilaç moleküllerine karşı küresel yapıdaki hücrelerin direnç kazanma durumu olabileceği düşünülmektedir. İlaçlar tek başına uygulandığında gen ifadesi etkilerinin kontrol grubuna göre azaldığı görülmüştür. 2 boyutlu hücrelerde tamoksifenin *VEGFA* gen ifadesi üzerindeki etkisi, 3 boyutlu hücrelerdeki etkiye yakın bir düzeyde kalmıştır. Klorambusilin ise hem 2 boyutlu hem de 3 boyutlu hücrelerde *VEGFA* gen ifadesi üzerinde etkili olmuş, ancak 2 boyutlu hücrelerde daha belirgin bir azalma göstermiştir. Bu sonuçlar, tamoksifenin 3 boyutlu hücrelerde 2 boyutlu hücrelerle benzer düzeyde etkili olduğunu, klorambusilin ise 2 boyutlu hücrelerde *VEGFA* gen ifadesi üzerinde daha güçlü bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Rahim ağzı kanseri hücreleri arasında HeLa hücreleri *VEGFA* gen

ifadesini 7.sırada bulundurmaktadır (**Şekil. 1.15**). İki ilacın HeLa hücre hatlarındaki etkileri tam olarak literatürde bulunamamıştır ancak tamoksifenin rahim ağzı kanserlerinde kullanılması bu çalışmada HeLa hücre hattının seçilmesine sebep olmuştur.

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, ilaçlar ayrı ayrı uygulandığında *VEGFA* gen ifadesinin azalmasına neden olmuştur. İlaçlar birlikte uygulandığında ise gen ifade düzeyindeki azalmanın daha yüksek olduğu belirlenmiştir. 2 boyutlu HeLa hücrelerinde yapılan deneylerde, tamoksifenin klorambusile göre *VEGFA* gen ifade seviyesini anlamlı düzeyde aşağı regüle ettiği belirlenmiştir. İlaçlar birlikte verildiğinde gen ifade düzeyinde, ilaçların ayrı ayrı uygulanmasından daha güçlü bir etki gösterilmiştir. 3 boyutlu yapıda, ilaçların tüm hücrelere etkisini kısıtlayan küresel yapı yine önemli bir faktördür. Bu küresel yapı, *VEGFA* gen ifadesinin artmasına yol açmıştır. İki hücre hattında yapılan *VEGFA* gen ifade seviyelerinin belirlenmesinde, ilaçların birlikte uygulama etkisinin HeLa ve MDA-MB-231 hücrelerinde kontrol grubuna göre gen ifade seviyelerini önemli ölçüde azalttığı ve *VEGFA* geninin baskılandığı gözlenmiştir. Bu derecede baskılanmanın, in vivo deneylerde yeni kan damarlarının oluşumunu büyük ölçüde azaltabileceği, hücre poliferasyonunu düzenleyebileceği ve hücrelerin oksijen ve besin ihtiyacından dolayı apoptoz mekanizmalarının pozitif yönde etkilenebileceğini göstermekte ve ön çalışmaları olabilme özelliği taşımaktadır. Sonuç olarak bu tezde yapılan deneylerde tamoksifenin tek başına uygulandığında hücrelerin sitotoksik etkisini görmekteyiz fakat 2 boyutlu ve 3 boyutlu MDA-MB-231 ve HeLa hücre hatları üzerindeki etkileri literatürdeki çalışmalara göre yüksek olmadığı görülmüştür.



## 5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu tezde yapılan deneylerde, tamoksifenin tek başına uygulandığında hücrelerin sitotoksik etkisini gözlemlenmiştir. Ancak, literatürdeki çalışmalara göre 2 boyutlu ve 3 boyutlu MDA-MB-231 ve HeLa hücre hatları üzerindeki etkilerinin yüksek olmadığı görülmüştür. Öte yandan, klorambusilin tamoksifene göre daha güçlü bir toksik etkisi olduğu gözlemlenmiştir. İlaç kombinasyonlarının uygulanması durumunda, klorambusilin tamoksifenin sitotoksik etkisini artırarak hücrelerin morfolojisini değiştirdiği ve büyüme ile çoğalma yeteneklerini azalttığı gözlemlenmiştir. Ayrıca, hücrelerdeki VEGFA gen ifadesinde 2B hücre hatlarında anlamlı düzeyde aşağı regülasyon tespit edilmiştir. Bu bulgular, in vivo araştırmalar için bir ön çalışma niteliği taşımakta ve diğer çalışmalara umut olabileceğini göstermektedir. 3B hücre hatları, invivo sistemi yansıtmaya açısından önem taşımaktadır ve belirlenen dozlar ve gen ifade düzeyleri 2B hücrelerinden farklılık gösterebilir. Bu da, 3B hücre hatlarının kullanımının önemini vurgulamaktadır. Bu tez, tamoksifen ve klorambusilin kombinasyonel tedavi için bir ön çalışma niteliği taşımaktadır. İleriki çalışmalarda kanser oluşturulmuş hayvan modellerinde ve moleküler yolaklar üzerindeki etkileri inceleyerek, yeni tedavi yöntemleri arasında yer alabilecek potansiyeli taşımaktadır.





## 6. KAYNAKLAR

Akram, M., İkbâl, M., Daniyal, M. Et Al. Meme Kanseri İle İlgili Farkındalık Ve Güncel Bilgiler. Biol Res 50 , 33 (2017).

Aktuğlu G, Kronik Lenfositik Lösemiler Ve Diğer Olgun B Ve T Hücreli Lösemiler. Yazıcı H, Hamuryudan V, Sonsuz A (Editörler). Cerrahpaşa İç Hastalıkları. İstanbul. İstanbul Medikal Yayıncılık; 2005: P.198-206.

Akyolcu, N., Özhanlı, Y., & Kandemir, D. (2019). Meme Kanserinde Güncel Gelişmeler. Sağlık Bilimleri Ve Meslekleri Dergisi, 6 (3), 583-594.

Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. Molecular Biology Of The Cell, 5th Ed. Newyork, Garland Sciences, 2008:1205-1208.)

Angeli D, Salvi S, Tedaldi G. Genetic Predisposition To Breast And Ovarian Cancers: How Many And Which Genes To Test?. Int J Mol Sci. 2020;21(3):1128.

Anna H. Wu, Kimberly D. Siegmund, Tiffany I. Long, Wendy Cozen, Peggy Wan, Chiu-Chen Tseng, Darryl Shibata, Peter W. Laird, Hormone Therapy, Dna Methylation And Colon Cancer, Carcinogenesis, Volume 31, Issue 6, June 2010, Pages 1060–1067.

Arlt F, Stein U. Colon Cancer Metastasis: Macc1 And Met As Metastatic Pacemakers. Int J Biochem Cell Biol. 2009 Dec;41(12):2356-9. Doi: 10.1016/J.Biocel.2009.08.001. Epub 2009 Aug 8. Pmid: 19666136.

Arslan Ö.D, Korkmaz G, Gözüaçık D. " Otofaji: Bir Hücresel Stres Yanıtı Ve Ölüm Mekanizması". Acıbadem Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi 2011.

Asher Begleiter, Michael Mowat, Lyonel G. Israels & James B. Johnston (1996) Chlorambucil İn Chronic Lymphocytic Leukemia: Mechanism Of Action, Leukemia & Lymphoma, 23:3-4, 187-201, Doi: 10.3109/10428199609054821

Aydıntuğ, S. (2004). Meme Kanserinde Erken Tanı. Sted, 13(6), 226-228.

Azam, S., Lange, T., Huynh, S. Et Al. Hormone Replacement Therapy, Mammographic Density, And Breast Cancer Risk: A Cohort Study. Cancer Causes Control 29, 495–505 (2018)

Baba, A.I. Ve Catoi, C. "Principles Of Anticancer Therapy", In Comparative Oncology, Chapter 19, Bucharest, 2001.

Başer, E., Dursun, P., Esin, S., & Ayhan, A. Erken Evre Serviks Kanserlerinde Güncel Cerrahi Tedavi. Türk Jinekolojik Onkoloji Dergisi, 11(1), 1-8.

Bode, W., Fernandez-Catalan, C., Tschesche, H., Grams, F., Nagase, H., & Maskos, K. (1999). Structural properties of matrix metalloproteinases. *Cellular and molecular life sciences : CMLS*, 55(4), 639–652.

Board, P. A. T. E. Colon Cancer Treatment (Pdq®). In *Pdq Cancer Information Summaries* [Internet]. National Cancer Institute (Us),2020.

Brenner Dj, Doll R, Goodhead Dt, Hall Ej, Land Ce, Little Jb, Lubin Jh, Preston Dl, Preston Rj, Puskin Js, Ron E, Sachs Rk, Samet Jm, Setlow Rb, Zaider M. Cancer Risks Attributable To Low Doses Of Ionizing Radiation: Assessing What We Really Know. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003 Nov 25;100(24):13761-6.

Brüning, A., Friese, K., Burges, A. et al. Tamoxifen enhances the cytotoxic effects of nelfinavir in breast cancer cells. *Breast Cancer Res* 12, R45 (2010).

Buckley, Mmt, Goa, Kl Tamoksifen. *İlaçlar* 37 , 451–490 (1989).

Burd E. M. (2003). Human Papillomavirus And Cervical Cancer. *Clinical Microbiology Reviews*, 16(1), 1–17. <https://doi.org/10.1128/Cmr.16.1.1-17,2003>.

Büyükünal E. (2010). Kolon Kanserinde Adjuvan/ Neoadjuvan Ve Metastazda Medikal Tedavi. *Kolon Ve Rektum Cerrahi Deneği, Kolon Ve Rektal Hastlıklar Online Dergi*, 23;365-369.

Cathcart, J., Pulkoski-Gross, A., & Cao, J. (2015). Targeting Matrix Metalloproteinases in Cancer: Bringing New Life to Old Ideas. *Genes & diseases*, 2(1), 26–34.

Ceyhan M. Human Papillomavirus (Hpv) Aşıları. *Klin Gelişim* 2012;25:36–9

Ciardello, F., De Vita, F., Orditura, M., De Placido, S., & Tortora, G. (2003). Epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors in late stage clinical trials. *Expert opinion on emerging drugs*, 8(2), 501–514.

Cree, I.A. (2011). Cancer Biology. In: Cree, I. (Eds) *Cancer Cell Culture. Methods In Molecular Biology*, Vol 731. Humana Press.

Durmaz, S., Ozvurmaz, S., Adana, F., & Fatma, K. U. R. T. (2021). Kadınlarda Serviks Kanserinin Tanısına İlişkin Tutum Ve Düzenli Jinekolojik Muayene İlişkisinin Kesitsel Olarak Değerlendirilmesi. *Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Dergisi*, 5(1), 26-36.

Erkal, B., Örs, C. H., Taş, S. K., Erdoğan, N. B., Şamlı, A., & Coşkunpınar, E. (2018). Kanser Aşılarının İmmünoterapötik Açından Değerlendirilmesi. *İzlek Akademik Dergi*, 1(1), 1-11.

Espie M, Lalloum M, Coussy F. Epidemiology And Risk Factors Of Breast Cancer. Soins; La Revue De Reference Infirmiere 2013; 776:22-4

Feng, Y., Spezia, M., Huang, S., Yuan, C., Zeng, Z., Zhang, L., Ji, X., Liu, W., Huang, B., Luo, W., Liu, B., Lei, Y., Du, S., Vuppapapati, A., Luu, H. H., Haydon, R. C., He, T. C., & Ren, G. (2018). Breast Cancer Development And Progression: Risk Factors, Cancer Stem Cells, Signaling Pathways, Genomics, And Molecular Pathogenesis. *Genes & Diseases*, 5(2), 77–106.

Feng, Y., Spezia, M., Huang, S., Yuan, C., Zeng, Z., Zhang, L., Ji, X., Liu, W., Huang, B., Luo, W., Liu, B., Lei, Y., Du, S., Vuppapapati, A., Luu, H. H., Haydon, R. C., He, T. C., & Ren, G. (2018). Breast Cancer Development And Progression: Risk Factors, Cancer Stem Cells, Signaling Pathways, Genomics, And Molecular Pathogenesis. *Genes & Diseases*, 5(2), 77–106.

Ferlay J, Bray F, Pisani P, Et Al. Globocan 2000: Cancer Incidence, Mortality And Prevalence Worldwide [Http://Wwwdep.Iarc.Fr/Globocan/Globocan.Htm](http://Wwwdep.Iarc.Fr/Globocan/Globocan.Htm)

Fidler Ij. The Pathogenesis Of Cancer Metastasis: The “Seed And Soil” Hypothesis Revisited, *Nat Rev Cancer.*, 2003, 3:453-458.

Fisher, B., Anderson, S., Bryant, J., Margolese, R. G., Deutsch, M., Fisher, E. R., Jeong, J. H., & Wolmark, N. (2002). Twenty-Year Follow-Up Of A Randomized Trial Comparing Total Mastectomy, Lumpectomy, And Lumpectomy Plus Irradiation For The Treatment Of Invasive Breast Cancer. *The New England Journal Of Medicine*, 347(16), 1233–1241.

Folkman J. (1971). Tumor angiogenesis: therapeutic implications. *The New England journal of medicine*, 285(21), 1182–1186.

Foty, R., 2011, A Simple Hanging Drop Method Cell Culture Protocol for Generation 3D Spheroids, *J. Vis. Exp.*, 51, 2720.

Fragomeni Sm, Sciallis A, Jeruss Js. Molecular Subtypes And Local-Regional Control Of Breast Cancer. *Surg Oncol Clin N Am.* 2018;27(1):95-120.

Freshney, R.I., 1987, *Culture Of Animal Cells: A Manual Of Basic Technique*, Wiley Blackwell, New York, Isbn-10: 9780470528129.

Freudenheim JI. Alcohol's Effects On Breast Cancer In Women. *Alcohol Res.* 2020;40(2):11

Ganesh, K., Stadler, Z. K., Cercek, A., Mendelsohn, R. B., Shia, J., Segal, N. H., & Diaz,

- L. A., Jr (2019). Immunotherapy İn Colorectal Cancer: Rationale, Challenges And Potential. *Nature Reviews. Gastroenterology & Hepatology*, 16(6), 361–375.
- Gill, S. E., Kassim, S. Y., Birkland, T. P., & Parks, W. C. (2010). Mouse models of MMP and TIMP function. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, 622, 31–52.
- Gupta Gp, Massague J. *Cancer Metastasis: Building A Framework*, Cell, 2006, 127(4):679-695.
- Gulati, G. L., Hyland, L. J., Kocher, W., & Schwarting, R. (2002). Changes in automated complete blood cell count and differential leukocyte count results induced by storage of blood at room temperature. *Archives of pathology & laboratory medicine*, 126(3), 336–342. <https://doi.org/10.5858/2002-126-0336-CIACBC>
- Güleç, Ü. K., Paydaş, S., & Güzel, A. B. (2021). Tamoksifen Kullanan Hastaların Jinekolojik Yönden Değerlendirilmesi. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 30(1), 45-51.
- Güner, H., & Taşkiran, Ç. (2007). Serviks Kanseri Epidemiyolojisi Ve Human Papilloma Virüs. *Uzmanlık Sonrası Eğitim Ve Güncel Gelişmeler Dergisi*, 4(1), 11-19.
- Haberal A. *Genital Kanserlerin Epidemiyolojisi*. Ed. Çiçek Mn, Mungan Mt. *Klinikte Obstetrik Ve Jinekoloji'de*. Ankara, 2007, Güneş Tıp Kitabevi, S.685- 90
- Hanahan D, Weinberg Ra. *Hallmarks Of Cancer: The Next Generation*. *Cell*. 2011 Mar 4;144(5):646-74. Doi: 10.1016/J.Cell.2011.02.013. Pmid: 21376230.
- Hassan F, Mohammed G, El-Hiti GA, Alshanon A, Yousif E. Cytotoxic effects of tamoxifen in breast cancer cells. *Journal of Unexplored Medical Data*. 2018; 3: 3.
- Jordan, V. C., Fritz, N. F., Langan-Fahey, S., Thompson, M., & Tormey, D. C. (1991). Alteration Of Endocrine Parameters İn Premenopausal Women With Breast Cancer During Long-Term Adjuvant Therapy With Tamoxifen As The Single Agent. *Journal Of The National Cancer Institute*, 83(20), 1488–1491.
- Kadayıfçı A. "Kolorektal Kanserlerin Epidemiyolojik Ve Klinik Özellikleri". *Akademik Gastroenteroloji Dergisi*, 2003; 2 (2): 43-45.
- Kaklamani, V. G., & Gradishar, W. J. (2017). Endocrine Therapy İn The Current Management Of Postmenopausal Estrogen Receptor-Positive Metastatic Breast Cancer. *The Oncologist*, 22(5), 507–517.
- Kanbur A, Çapık C. Servikal Kanserden Korunma, Erkan Tanı-Tarama Yöntemleri Ve Ebe/Hemşirenin Rolü. *Sağlık Bilimleri Fakültesi Hemşirelik Dergisi* 2011, Syf.61-72. [Kanser Daire Başkanlığı Kanser. Gov.Tr/Kanser/Kanser-Turleri/53-Rahim-Kanseri.Html](http://www.kanser.gov.tr/Kanser/Kanser-Turleri/53-Rahim-Kanseri.Html) (31.05.2017)



Kim Ek, Song Mj, Jung Y, Lee Ws, Jang Hh. Proteomic Analysis Of Primary Colon Cancer And Synchronous Solitary Liver Metastasis. *Cancer Genomics Proteomics*. 2019 Nov-Dec;16(6):583-592. Doi: 10.21873/Cgp.20161. Pmid: 31659112; Pmcid: Pmc6885365.

Kim, Y.J. ve ark., 2018, Annona muricata Leaf Extract Triggered Intrinsic Apoptotic Pathway to Attenuate Cancerous Features of Triple Negative Breast Cancer MDA-MB-231 Cells, *Evid Based Complement Alternat Med.*, 10.

Kozłowski, J., Kozłowska, A., & Kocki, J. (2015). Breast Cancer Metastasis - Insight Into Selected Molecular Mechanisms Of The Phenomenon. *Postepy Higieny I Medycyny Doswiadczalnej (Online)*, 69, 447–451.

Köksal, N. G. (2022). Meme Kanserinde Tarama Ve Erken Tanı. *Doğu Karadeniz Sağlık Bilimleri Dergisi*, 1(2), 50-56.

Kumar R. John Mendelsohn's Journey In Cancer Biology And Therapy. *Cancer Biol Ther*. 2020 May 3;21(5):389-390. Doi: 10.1080/15384047.2020.1712829. Epub 2020 Jan 23. Pmid: 31971860; Pmcid: Pmc7515450.

Ma ZY, Wang DB, Song XQ, Wu YG, Chen Q, Zhao CL, Li JY, Cheng SH, Xu JY. Chlorambucil-conjugated platinum(IV) prodrugs to treat triple-negative breast cancer in vitro and in vivo. *Eur J Med Chem*. 2018 Sep 5;157:1292-1299. doi: 10.1016/j.ejmech.2018.08.065. Epub 2018 Aug 27. PMID: 30195239.

Ma, R., Feng, Y., Lin, S. Ve Ark. Meme Kanseri Karaciğer Metastazında Rol Oynayan Mekanizmalar. *J Transl Med* 13, 64 (2015).

Majumdar Sr, Fletcher Rh, Evans At. How Does Colorectal Cancer Present? Symptoms, Duration, And Clues To Location. *Am J Gastroenterol*. 1999 Oct;94(10):3039-45.

Marzbani B, Nazari J, Najafi F, Et Al. Dietary Patterns, Nutrition, And Risk Of Breast Cancer: A Case-Control Study In The West Of Iran. *Epidemiol Health*. 2019;41:E201900

Momenimovahed Z, Salehiniya H. Epidemiological Characteristics Of And Risk Factors For Breast Cancer In The World. *Breast Cancer (Dove Med Press)*. 2019;11:151-164.

Murphy, G., & Nagase, H. (2008). Progress in matrix metalloproteinase research. *Molecular aspects of medicine*, 29(5), 290–308.

Niu G, Chen X. Vascular endothelial growth factor as an anti-angiogenic target for cancer therapy. *Curr Drug Targets*. 2010 Aug;11(8):1000-17. doi: 10.2174/138945010791591395. PMID: 20426765; PMCID: PMC3617502.

Nagase, H., & Woessner, J. F., Jr (1999). Matrix metalloproteinases. *The Journal of biological chemistry*, 274(31), 21491–21494. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.31.21491>

Park M, Kim D, Ko S, Kim A, Mo K, Yoon H. Göğüs Kanseri Metastazı: Mekanizmalar Ve Terapötik Uygulamalar. *Uluslararası Moleküler Bilimler Dergisi*. 2022; 23(12):6806.

Pehlivanoğlu B, Aysal A, Ekmekci S, Şahin Y, Topper H.M, Gündoğdu B, Erdoğan H.İ, Talu K.C. "Neoplastik Hastalıkların Moleküler Patolojik Mekanizmaları". *Güncel Patoloji Dergisi*, 2019.

Pei, D., & Weiss, S. J. (1995). Furin-dependent intracellular activation of the human stromelysin-3 zymogen. *Nature*, 375(6528), 244–247.

Pérez-Herrero E, Fernández-Medarde A. Advanced Targeted Therapies In Cancer: Drug Nanocarriers, The Future Of Chemotherapy. *Eur J Pharm Biopharm*. 2015 Jun;93:52-79. Doi: 10.1016/J.Ejpb.2015.03.018. Epub 2015 Mar 23. Pmid: 25813885.

Phelan, M. C. (2007). Basic Techniques In Mammalian Cell Tissue Culture. *Current Protocols In Cell Biology*, 36(1), 1.1.1–1.1.18. Doi:10.1002/0471143030.Cb0101s36 0.1002/0471143030.Cb0101s36

Pizzo Pa, Poplack Dg. *Principles And Practice Of Pediatric Oncology*. Third Ed. (1997). Lippincott & Raven, 215-272.

Portera Ca Jr, Berman Rs, Ellis Lm. Molecular Determinants Of Colon Cancer Metastasis. *Surg Oncol*. 1998 Nov-Dec;7(3-4):183-95. Doi: 10.1016/S0960-7404(99)00020-1. Pmid: 10677169.

<https://www.proteinatlas.org>,

Remzi H.F, Öncel M."Kolon Kanseri Tarama Ve Takip". Cleveland Klinik Vakfi Hastanesi, Kolorektal Cerrahi Ünitesi; Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitim Ve Araştırma Hastanesi, 1. Genel Cerrahi Kliniği.2006.

Rosen Pp, Maia Dm. Rosen's Breast Pathology. *Archives Of Pathology And Laboratory Medicine*. 1998;122(5):480.

Rouet-Benzineb, P., Buhler, J. M., Dreyfus, P., Delcourt, A., Dorent, R., Perennec, J., Crozatier, B., Harf, A., & Lafuma, C. (1999). Altered balance between matrix gelatinases (MMP-2 and MMP-9) and their tissue inhibitors in human dilated cardiomyopathy: potential role of MMP-9 in myosin-heavy chain degradation. *European journal of heart failure*, 1(4), 337–352.

Rosen, Aw, Gögenur, M., Paulsen, Iw, Olsen, J., Eiholm, S., Kirkeby, Lt, Pedersen, Ob, Pallisgaard, N., & Gögenur, I. (2022). Kolon Kanseri İçin Ameliyat Olan Hastalarda Hüresiz Dna'daki Perioperatif Değişiklikler. *Bmc Gastroenteroloji*, 22 (1), 168.

Sa-Nguanraksa D, O-Charoenrat P. The role of vascular endothelial growth factor a polymorphisms in breast cancer. *Int J Mol Sci*. 2012 Nov 13;13(11):14845-64. doi: 10.3390/ijms131114845. PMID: 23203097; PMCID: PMC3509613.

Sert, P. İ., & Küçükkılınç, Ztt Meme Kanseri Tedavisindeki Güncel Yaklaşımlar. *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 42 (1), 46-59.

Shagufta, & Ahmad, I. (2018). Tamoxifen A Pioneering Drug: An Update On The Therapeutic Potential Of Tamoxifen Derivatives. *European Journal Of Medicinal Chemistry*, 143, 515–531.

Scherer, S., de Souza, T. B., de Paoli, J., Brenol, C. V., Xavier, R. M., Brenol, J. C., Chies, J. A., & Simon, D. (2010). Matrix metalloproteinase gene polymorphisms in patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatology international*, 30(3), 369–373.

Sivri, A., Ekmez, D., Göksedef, M., Hasanova, B. P., Aşık, M., Çetin, A. (2015). Polikliniğe Başvuran Kadınlarda Smear Farkındalığı Ve Yaptırma Sıklığı. *Türk Jinekolojik Onkoloji Dergisi*. 4, 127-130

Soytürk M."Kolorektal Kanser Epidemiyoloji Ve Risk Faktörleri". Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, İzmir. 2010.

Subramani, T., Yeap, S.K., Ho, W.Y., Ho, C.L., Osman, C.P., Ismail, N.H. ... Alitheen, N.B. (2015). Nordamnacanthal potentiates the cytotoxic effects of tamoxifen in human breast cancer cells. *Oncology Letters*, 9, 335-340.

Suhail, Y., Cain, M. P., Vanaja, K., Kurywchak, P. A., Levchenko, A., Kalluri, R., & Kshitiz (2019). Systems Biology Of Cancer Metastasis. *Cell Systems*, 9(2), 109–127.

Sung H, Ferlay J, Siegel Rl, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F. Global Cancer Statistics 2020: Globocan Estimates Of Incidence And Mortality Worldwide For 36 Cancers İn 185 Countries. *Ca Cancer J Clin*. 2021 May;71(3):209-249

Şen F. Klinik Onkolojinin Temeli-Karsinogenez. İçinde: Molinas Mandel N (Editör). *Onkoloji El Kitabı*, 1. Baskı. Adana, Çukurova Nobel Kitapevi, 2015:9-13.

Şen, S. , Aygin, D. "Meme Kanserinin Etiyolojisinde Çevresel Karsinojenlerin Rolü". *Sakarya Tıp Dergisi* 4 (2014 ): 109-114)

Taşkın L. Doğum Ve Kadın Sağlığı Hemşireliği, 13. Baskı, Akademisyen Kitabevi, İstanbul, 2016, S.758.

Taşkan, T., Gönenç, A. Meme Kanserinde MMP-2 ve MMP-9'un Rolü. Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi.

Tischer E. The human gene for vascular endothelial growth factor. Multiple protein forms are encoded through alternative exon splicing. *J. Biol. Chem.* 1991;266:11947–11954.

Tuynman, J. B., M. P. Peppelenbosch, And D. J. Richel. 2004. "Cox-2 Inhibition As A Tool To Treat And Prevent Colorectal Cancer." *Critical Reviews In Oncology/Hematology*.

Türkdemir A.H. Meme Ve Serviks Kanserlerinde Risk Gruplarının Saptanması, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Bilim Uzmanlığı Tezi, Ankara 2003, S:63-89.

Uçar, T. & Bekar, M. (2010). Türkiye'de Ve Dünyada Jinekolojik Kanserler . *Türk Jinekolojik Onkoloji Dergisi*, 13 (3) , 55-60 . Retrieved From

Vincenti V., Cassano C., Rocchi M., Persico G. Assignment of the vascular endothelial growth factor gene to human chromosome 6p21.3. *Circulation*. 1996;93:1493–1495.

Wen, H. Y., & Brogi, E. (2018). Lobular Carcinoma In Situ. *Surgical Pathology Clinics*, 11(1), 123–145.

Yetmen, Ö., & Aktaş, C. (2012). Serviks Kanserinde Radyoterapi Tedavisinin Yeri Ve Önemi. *Ankara Sağlık Hizmetleri Dergisi*, 11(2), 35-40.

Yokus B. Ve Ülker D.Ü."Kanser Biyokimyası". *Dicle Üniv Vet Fak Derg* 2012: 1(2): 7-18

Yue Zhong, Qiang Lu, Wei Qiu, Yan Luo; Linc00636, Nm23'ü Hedefleyerek Lenf Düğümü Metastazını Ve Rahim Ağzı Kanserini Destekler. *Biosci Temsilcisi* 30 Ekim 2020; 40 (10): Bsr20200367.

Zivković, M., Djurić, T., Dincić, E., Raicević, R., Alavantić, D., & Stanković, A. (2007). Matrix metalloproteinase-9 -1562 C/T gene polymorphism in Serbian patients with multiple sclerosis. *Journal of neuroimmunology*, 189(1-2), 147–150.

Zhong-Ying Ma, Dong-Bo Wang, Xue-Qing Song, Yi-Gang Wu, Qian Chen, Chun-Lai Zhao, Jing-Yi Li, Shi-Hao Cheng, Jing-Yuan Xu, Chlorambucil-conjugated platinum(IV) prodrugs to treat triple-negative breast cancer in vitro and in vivo, *European Journal of Medicinal Chemistry*, Volume 157, 2018,Pages 1292-1299,ISSN 0223-5234,

Zhou M, Liu X, Li Z, Huang Q, Li F, Li Cy. Caspase-3 Regulates The Migration, İnvasion And Metastasis Of Colon Cancer Cells. *Int J Cancer*. 2018 Aug 15;143(4):921-930. Doi: 10.1002/İjc.31374. Epub 2018 Mar 30. Pmid: 29524226; Pmcid: Pmc6204286.

## ÖZGEÇMİŞ

<b>KİŞİSEL BİLGİLER</b>	
<b>Adı Soyadı:</b>	DURMUŞ BURAK DEMİRKAYA
<b>Uyruğu:</b>	T.C.
<b>Orcid Numarası:</b>	0000-0003-0082-2274

<b>EĞİTİM BİLGİLERİ</b>	
<b>Lisans</b>	
<b>Üniversite:</b>	Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi
<b>Fakülte:</b>	Fen-Edebiyat Fakültesi
<b>Bölümü:</b>	Moleküler Biyoloji Ve Genetik
<b>Mezuniyet Yılı:</b>	2021

<b>Tezden Üretilen Makaleler ve Bildiriler</b>	
<b>Uluslararası Konferans ve Sempozyumlarda Sunulan Bildiriler</b> Ejons International Journal On Mathematics, Engineering & Natural Sciences international refereed and indexed journal. ISBN: 978-625-367-029-0	
<b>Yazılan Makaleler, Kitap Bölümleri ve Bildiriler</b>	
Recent Advancement In Nanocarriers For Pancreatic Cancer Therapy (Yayın aşamasında) Mitochondrial Changes In Neurodegenerative Diseases (Yayın aşamasında) Cyto-Toxicity And Biocompatibility Of Bionanomaterials (Yayın aşamasında) The Molecular Docking And Dynamic Analyses Of For Potential Covid-19 Inhibitor (Yayın aşamasında) D. Burak Demirkaya, Serap Yalçın Azarkan. MDA-MB-231 Investigation of the Citotoxic Effect of Tamoxifen and Clorambucil on the Cell Line. Ejons International Journal On Mathematics, Engineering & Natural Sciences international refereed and indexed journal. ISBN: 978-625-367-029-0 . March 16-18, 2023 / Buenos Aires, Argentina	