

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNERLİK PATOLOJİSİ
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

**KEDİ MEME BEZİ KARSİNOMLARINDA CASPASE 3 VE
BCL-2 İMMUNOREAKTİVİTESİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

EGE YILDIRIM
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üyesi Ayşe Nur AKKOÇ

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından VTF-24036 proje numarası ile desteklenmiştir.

AYDIN-2026

KABUL VE ONAY

T.C. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veterinerlik Patolojisi Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde Ege YILDIRIM tarafından hazırlanan “Kedi Meme Bezi Karsinomlarında Caspase 3 ve Bcl-2 İmmunoreaktivitesinin Değerlendirilmesi” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 09/01/2026

Üye (T.D.)	: Dr. Öğr. Üyesi Ayşe Nur AKKOÇ	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi
Üye	: Prof. Dr. Nihat TOPLU	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi
Üye	: Prof. Dr. Mehmet Eray ALÇIĞIR	Kırıkkale Üniversitesi

ONAY:

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsünün tarih ve sayılı oturumunda alınan nolu Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Süleyman AYPAK
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenim sürecimin her aşamasında bilgi ve deneyimiyle bana rehberlik eden, akademik bakış açımı geliştirmeme yardımcı olan; destekleyici yaklaşımı ve güven veren tutumuyla bu süreci benim için daha anlamlı kılan değerli danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Ayşe Nur Akkoç’a emekleri ve katkıları için teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışma sürecim boyunca desteğini esirgemeyen Veteriner Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri Prof. Dr. Recai Tunca, Prof. Dr. Nihat Toplu, Prof. Dr. Şule Yurdagül Özsoy, Prof. Dr. Hamdi Avcı, Doç. Dr. Erkmen Tuğrul Epikmen ve Doç. Dr. Emrah İpek’e teşekkür ederim.

Yüksek lisans öğrenim sürecim boyunca beni destekleyen Havva Beyda Bozkuş, Mehmet Hesapçıoğlu ve diğer yüksek lisans ile doktora arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Hayatım boyunca yanımda olan, sevgileri, fedakârlıkları ve sarsılmaz destekleriyle bana daima güç veren kıymetli annem Binay Yıldırım’a ve babam Hüseyin Yıldırım’a en derin teşekkürlerimi ve minnet duygularımı sunarım.

Tez çalışmamın konusu olan hastalık nedeniyle, çalışma sürecinde kaybettiğim sevgili kedim Rozi’yi üzüntüyle anıyor ve 13 yıllık yaşamı boyunca bana koşulsuz sevgiyi öğrettiği için teşekkür ediyorum.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	i
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vii
RESİMLER DİZİNİ	x
TABLolar DİZİNİ	xi
ÖZET	xii
ABSTRACT	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Kedilerde Memenin Morfolojisi	3
2.1.1. Kedilerde Meme Anatomisi	3
2.1.2. Kedilerde Meme Histolojisi	3
2.2. Meme Tümörü	4
2.3. Kedilerde Meme Tümörü	5
2.3.1. Etiyoloji	7
2.3.2. Epidemiyoloji	8
2.3.3. Patogenez	10
2.3.4. Klinik ve Patolojik Bulgular	11
2.3.5. Kedilerde Meme Tümörünün Sınıflandırılması	13
2.3.5.1. İyi Huylu (Benign) Tümörler	13
2.3.5.1.1. Basit adenom	13
2.3.5.1.2. İntraduktal papiller adenom	13

2.3.5.1.3. Duktal adenom	14
2.3.5.1.4. Fibroadenom	14
2.3.5.2. Malign Epitelyal Tümörler	14
2.3.5.2.1. �n situ karsinom	15
2.3.5.2.2. Basit karsinom.....	15
2.3.5.2.2.1. Tubuler basit karsinom	15
2.3.5.2.2.2. Tubulopapiller basit karsinom.....	16
2.3.5.2.2.3. Kistik-papiller basit karsinom	16
2.3.5.2.2.4. Kribriform basit karsinom.....	16
2.3.5.2.3. Mikropapiller invaziv meme karsinomu.....	17
2.3.5.2.4. Solid karsinom.....	17
2.3.5.2.5. Komedokarsinom	17
2.3.5.2.6. Anaplastik karsinom	17
2.3.5.2.7. �ntraduktal papiller karsinom	18
2.3.5.2.8. Duktal karsinom	18
2.3.5.2.9. Skuamöz hücreli karsinom.....	19
2.3.5.2.10. Adenoskuamöz karsinom.....	19
2.3.5.2.11. Müsinöz karsinom	19
2.3.5.2.12. Lipid açısından zengin karsinom.....	19
2.3.5.2.13. �� hücreli karsinom.....	20
2.3.5.2.14. �nflamatuar meme karsinomu (IMC).....	20
2.3.5.3. Malign Mezenkimal Tümörler	20
2.3.5.3.1. Fibrosarkom	20
2.3.5.3.2. Diğer sarkomlar.....	21
2.3.6. Tanı.....	23
2.3.7. Prognoz.....	24

2.4. Apoptozis.....	35
2.4.1. Kaspaz 3 (Caspase 3, CPP32).....	37
2.4.1.1. Kaspaz 3'ün Apoptozisteki Rolü.....	39
2.4.1.2. Tümörlerde Kaspaz 3'ün Rolü.....	41
2.4.1.3. Meme Karsinomlarında Kaspaz 3	45
2.4.2. B Hücreli Lenfoma-2 (Bcl-2).....	47
2.4.2.1. Bcl-2'nin Apoptoziste Rolü	52
2.4.2.2. Tümörlerde Bcl-2'nin Rolü.....	54
2.4.2.3. Meme Karsinomlarında Bcl-2.....	57
3. GEREÇ VE YÖNTEM	61
3.1. Gereç	61
3.1.1. Hayvan ve Doku.....	61
3.2. Yöntem	61
3.2.1. Histopatolojik İnceleme.....	61
3.2.2. İmmunohistokimyasal İnceleme	62
3.2.3. İstatistiksel Değerlendirme	64
4. BULGULAR.....	65
4.1. Histopatolojik Bulgular	65
4.2. İmmunohistokimyasal Bulgular.....	69
4.2.1. Kaspaz 3 Bulguları.....	69
4.2.2. Bcl-2 Bulguları.....	72
4.3. İstatistiksel Bulgular.....	76
5. TARTIŞMA.....	78
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	88
KAYNAKLAR	90
BİLİMSEL ETİK BEYANI	103

ÖZ GEÇMİŞ.....	104
----------------	-----

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ADP	: Adenozin Difosfat
ANGPT1	: Anjiyopoietin-1
ANGPT2	: Anjiyopoietin-2
Apaf-1	: Apoptosis Aktive Edici Faktör-1
Bcl-2	: B Hücreli Lenfoma 2
BRCA1	: Meme Kanseri Gen 1
BRCA2	: Meme Kanseri Gen 2
CC3	: Ayrılmış Kaspaz 3
CK5	: Sitokeratin-5
COX	: Siklo-oksijenaz
CXCL12	: Kemokin Stromal Hücre Kaynaklı Faktör 1
CXCR4	: G-protein Bağlı Yedi-Transmembran Alanlı Kemokin Reseptörü 4
Cys	: Katalitik Sistein
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
EGFR	: Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü
ER	: Östrojen Reseptörü
ERK	: Hücre Dışı Sinyallerle Düzenlenen Kinaz
FDA	: Gıda ve İlaç Dairesi
FGF	: Fibroblast Büyüme Faktörü
FISH	: Floresan İn Situ Hibridizasyon
FNA	: İnce İğne Aspirasyonu
HE	: Hemotoksilen Eozin

HER-2	: İnsan Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü 2 (c-erbB2)
HIF-1α	: Hipoksiyle İndüklenen Faktör-1 α
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
HTS	: Yüksek Verimli Tarama
IAP	:Apoptozisi İnhibe Eden Proteinler
IHC	: İmmunohistokimyasal Yöntem
IMC	: İnflamatuvar Meme Karsinomu
MET	: Mezenkimal Epitelyal Geçiş
MIMC	: Mikropapiller İnvaziv Meme Karsinomu
MOMP	: Mitokondriyal Dış Zar Geçirgenliği
MYOF	: Myoferlin
NCI	: Ulusal Kanser Enstitüsü
NPE	: Doğal Ürün Ekstraktları
PAC-1	: Prokaspaz Aktive Edici Bileşik 1
PBS	: Tamponlu Fosfat Solüsyonu
PDGF	: Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü
PR	: Progesteron Resptörü
PTEN	: Fosfataz ve Tensin Homologu
RNA	: Ribonükleik Asit
RON	: Tirozin Kinaz Reseptör Geni
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
RTK	: Reseptör Tirozin Kinaz
STAT	: Sinyal İleticisi ve Transkripsiyon Aktivatörü
STK	: Serin/Treonin Kinaz
TIC	: Tümör Başlatan Hücre

TNF : Tümör Nekroz Faktörü

TopBP1 : Topoizomeraz II  Bağlayıcı Protein 1

VEGF : Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1.	A: Tubuler karsinom; B: lenf yumrusunda tubuler özellik gösteren metastaz odakları, olgu no:4, HE.....	65
Resim 2.	A: Tubulopapiller karsinom; B: lenf yumrusunda benzer özellik gösteren metastaz odakları, olgu no:16, HE.....	66
Resim 3.	A: Komedokarsinom; B: lenf yumrusunda metastaz odakları, olgu no:12, HE.....	66
Resim 4.	Kribriform karsinom; olgu no: 11, HE.....	67
Resim 5.	Solid karsinom; neoplastik hücrelerin oluşturduğu solid alanlar, olgu no:8, HE...	68
Resim 6.	Olgu no:22’de belirlenen akciğerde metastatik tümör odakları, HE.....	69
Resim 7.	Tubuler karsinom; kaspaz 3 negatif boyanma, olgu no:9, IHC (immunohistokimyasal yöntem).....	70
Resim 8.	A: Tubulopapiller karsinom, orta düzeyde kaspaz 3 pozitifliği, olgu no:7, IHC....	71
Resim 9.	A: Tubulopapiller karsinom, kaspaz 3 güçlü pozitif boyanma, B: Lenf yumrusunda metastatik odakta kaspaz 3 pozitifliği, C: Lenf yumrusunda metastatik odakta Bcl-2 pozitifliği, olgu no: 16, IHC.....	71
Resim 10.	Tubuler karsinom, zayıf düzeyde Bcl-2 pozitif boyanma gösteren neoplastik epitel hücreleri, olgu no:4, IHC.....	72
Resim 11.	Tubulopapiller karsinom, orta düzeyde Bcl-2 pozitif boyanma, olgu no:7, IHC...	73
Resim 12.	Tubulopapiller karsinom, güçlü Bcl-2 pozitifliği, olgu no:20, IHC.....	74
Resim 13.	A: Tubuler karsinom, güçlü Bcl-2 pozitifliği, B: Akciğerde görülen metastaz odaklarında benzer Bcl-2 pozitifliği, olgu no:22, IHC.....	75

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1.	Çalışma olgularını oluşturan hayvanlara ait bilgiler ve gelişen meme karsinomlarının sınıflandırılması.....	63
Tablo 2.	Kullanılan belirteçler, sulandırma oranları, hücrel lokalizasyonları ve markalar.....	64
Tablo 3.	Kedi meme karsinomu olgularında kaspaz 3 ve Bcl-2 immunohistokimyasal bulguları.....	75
Tablo 4.	Pearson korelasyon testi.....	76
Tablo 5.	Spearman korelasyon testi.....	77

ÖZET

KEDİ MEME BEZİ KARSİNOMLARINDA CASPASE 3 VE BCL-2 İMMUNOREAKTİVİTESİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

YILDIRIM E. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Patoloji (Veteriner) Programı Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2026.

Amaç: Kedi meme karsinomları, kedilerde en yaygın malign neoplaziler arasında yer almakta ve onkolojik ölümlerin önde gelen nedenlerinden birini oluşturmaktadır. Apoptozisteki dengesizlik, karsinogenezde temel mekanizmalardan biridir. Bu açıdan apoptozisin düzenlenmesinde stratejik rolleri olan kaspaz 3 ve Bcl-2'nin değerlendirilmesi, kedi meme karsinomlarında hastalığın seyrini izlemek ve tanı doğruluğunu desteklemede öneme sahiptir. Çalışmanın amacı, kedi meme bezi karsinomlarında kaspaz 3 ve Bcl-2 immunoreaktivitesini değerlendirmektir.

Gereç ve Yöntem: Anabilim dalı rutin arşivinden elde edilen, hematoksilen-eozin boyama sonrası tanısı yapılmış 22 adet kedi meme karsinomunda, kaspaz 3 ve Bcl-2 ekspresyonları immunohistokimyasal yöntemle semikantitatif olarak değerlendirildi.

Bulgular: Histopatolojik değerlendirmede karsinomların, en yaygın olarak tubulopapiller tipte olduğu belirlendi. Tüm meme karsinomu örneklerinde Bcl-2'nin pozitif reaksiyon verdiği gözlenirken kaspaz 3 pozitiflik oranı ise %50 olarak saptandı. Kaspaz 3 ve Bcl-2 ekspresyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki görülmedi.

Sonuç: Elde edilen bulgulardan yola çıkılarak, kedi meme karsinomlarında gözlenen yüksek Bcl-2 ekspresyonunun, hücrelerin apoptozise girmesini engelleyebileceği ve kaspaz 3 aktivasyonunu inhibe edebileceği sonucuna varıldı. Bu çalışma, kedi meme karsinomlarında kaspaz 3 ve Bcl-2'nin birlikte ifadesini değerlendiren ilk çalışmadır. Veteriner onkolojide, özellikle kedilerde bu konuyla ilgili çalışmaların sınırlı olması nedeniyle, mevcut çalışmanın literatürdeki önemli bir boşluğu dolduracağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Apoptoz, Bcl-2, Kaspaz 3, İmmünohistokimya, Kedi, Meme Karsinomu.

ABSTRACT

EVALUATION OF CASPASE 3 AND BCL-2 IMMUNOREACTIVITY IN CAT MAMMARY GLAND CARCINOMA

YILDIRIM E. Aydın Adnan Menderes University, Health Science Institute, Pathology (Veterinary) Program, Master Thesis, Aydın, 2026.

Objective: Feline mammary carcinomas are among the most common malignant neoplasms in cats and represent a leading cause of oncologic mortality. Imbalances in apoptosis constitute a fundamental mechanism in carcinogenesis. In this context, evaluating caspase 3 and Bcl-2, which play strategic roles in the regulation of apoptosis, is important for monitoring disease progression and supporting diagnostic accuracy in feline mammary carcinomas. The aim of this study is to assess the immunoreactivity of caspase 3 and Bcl-2 in feline mammary carcinomas.

Material and Methods: Caspase 3 and Bcl-2 expression were semi-quantitatively evaluated by immunohistochemistry in 22 feline mammary carcinomas, diagnosed following hematoxylin-eosin staining, obtained from the routine archive of the department.

Results: Histopathological evaluation revealed that the carcinomas were most commonly of the tubulopapillary type. While all mammary carcinoma samples exhibited positive Bcl-2 expression, the positivity rate for caspase 3 was determined to be 50%. No statistically significant correlation was observed between caspase 3 and Bcl-2 expression.

Conclusion: Based on the obtained findings, it was concluded that the high Bcl-2 expression observed in feline mammary carcinomas may inhibit apoptosis and suppress caspase 3 activation. This study is the first to evaluate the co-expression of caspase 3 and Bcl-2 in feline mammary carcinomas. Given the limited research on this topic in veterinary oncology, particularly in cats, the present study is considered to fill an important gap in the literature.

Keywords: Apoptosis, Bcl-2, Caspase 3, Immunohistochemistry, Feline, Mammary Carcinoma

1. GİRİŞ

Meme kanseri karmaşık bir etiyopatogeneze sahip bir tümör çeşidi olup kadınlarda kansere bağlı ölümlerin başlıca nedenidir ve dünya çapında en sık görülen tümörlerde ikinci sırada yer alır (Nascimento ve Ferreira, 2021; Tawfik ve diğerleri, 2021). Kedi ve köpeklerin neoplazmaları, insanlarda kanseri incelemek için uygun modellerdir; çünkü her üçünde görülen tümörler benzer bir ortamı, histopatolojik özellikleri ve biyolojik davranışı paylaşır. Aynı zamanda meme tümörleri, veteriner hekimler için daha önemli hale gelmiştir çünkü zamanlarının çoğunu bu tümörlerin tanısına, prognozuna ve tedavisine ayırmaktadırlar. Evcil kediler çeşitli neoplastik olmayan hastalıklar için model olarak kullanılmış, kalıtsal oftalmik hastalıklar ve tip 2 diyabetin araştırılması için değerli bir model olmasına rağmen bugüne kadar karşılaştırmalı onkolojide odak noktası köpek olmuştur. Bu durum kısmen kedi genomunun tamamının henüz çok yakın zamanda elde edilmiş olmasından kaynaklanıyor olabilir (Cannon, 2015). Kedi meme tümörlerinin taranması, insanlarda kişiselleştirilmiş tıp ve hedefe yönelik tedavi yaklaşımları için umut verici bir araçtır (Manoel ve diğerleri, 2021).

Kedi meme tümörleri, hematopoetik ve deri tümörlerinden sonra dişi kedileri etkileyen en yaygın üçüncü tümördür. Yıllık olarak 100.000 kısırlaştırılmamış dişi ve ovariohisterektomi uygulanmış dişi kedi başına 31,8 ve 20,4 olarak tahmin edilen görülme sıklığı, kısırlaştırma politikalarının kabulüne bağlı olarak küresel olarak değişebilir (Manoel ve diğerleri, 2021). Kedi meme tümörlerinin yaklaşık %80-90'ı maligndir ve en sık olarak karsinomlar şeklinde görülür. Erken aşamada hızlı ilerleme ve metastatik yayılma ile karakterizedir. Kedilerde meme tümörü tanısı ile ölüm arasındaki zaman 6 aydan az süreden 12 aya kadar değişmektedir (Chocteau ve diğerleri, 2019; Hassan ve diğerleri, 2017; Manoel ve diğerleri, 2021). Kötü huylu neoplazmaların iyi huylu neoplazmalara oranının 4:1 ile 9:1 arasında olduğu tahmin edilmektedir (Hughes ve Dobson, 2012). Kedi meme tümörlerinin gelişimi için ortalama yaş aralığı 10 ila 12'dir (Zappulli ve diğerleri, 2015).

Apoptozis, çok hücreli bir organizmada herhangi bir faydası olmayan ve/veya zararlı, yaşlı hücreleri elimine etmek için fonksiyon gösteren genetik bir hücre ölüm programıdır (Silva ve diğerleri, 2022). Meme karsinogenezine bağlı moleküler belirteçler tarafından düzenlenen karmaşık bir süreç olan apoptozis ile hücre proliferasyonu arasındaki dengenin bozulması, neoplastik ilerlemeyi ve karsinogenezi destekleyebilir (Silva ve diğerleri, 2017).

Apoptozisi düzenleyen mekanizmalar arasında, Bcl-2 (B hücreli lenfoma 2) ailesinin anti-apoptotik ve pro-apoptotik üyeleri ile caspase 3 (kaspaz 3) gibi apoptozis promotörleri yer almaktadır (Dolka ve diğerleri, 2016). Hücre proliferasyonunu arttırmayan, aksine hücrelerde bir sağkalım proteini olan Bcl-2, hem insanlarda hem de köpek ve kedilerde daha agresif tümör biyolojisi ile ilişkilendirilmiştir (Bruckheimer ve diğerleri, 1998; Irshad ve diğerleri, 2023). Apoptozis sırasında sıklıkla aktive olan bir efektör kaspaz olan kaspaz 3, hücre proteinlerin parçalanmasını sağlayarak kanser tedavisinde hedeflenen bir ölüm proteazıdır (Porter ve Jänicke, 1999; Yadav ve diğerleri, 2021).

Bu çalışmada, insan meme kanseri için uygun bir model olarak kabul edilen ve veteriner hekimlikte giderek önem kazanan kedi meme karsinomlarına ait olgular histopatolojik ve immunohistokimyasal yöntemlerle incelenmiş, tümöre özgü lezyonların tanımlanması ve hedeflenen immün belirteçlerin tümörlerdeki ifadesinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca, kedi meme karsinomlarında apoptozis ve apoptotik yolların yanı sıra, prognostik öneme sahip ve insan meme tümörlerinde güncel belirteçler olarak kabul edilen kaspaz 3 ile Bcl-2'nin tümör gelişimindeki rolü ve tümörün apoptozis süreciyle ilişkisinin incelenmesi hedeflenmiştir. Bu amaçlarla, tüm dokulardan alınan örnekler histokimyasal yöntemlerle incelenmiş, tümörler histopatolojik olarak tanımlanmış ve immunohistokimyasal yöntemle kaspaz 3 ile Bcl-2 ifadeleri semi-kantitatif olarak değerlendirilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kedilerde Memenin Morfolojisi

2.1.1. Kedilerde Meme Anatomisi

Kedilerde aksiller, torasik, abdominal ve inguinal olarak isimlendirilen, vücudun ventralinde yerleşim gösteren dört çift meme bezi bulunur (Zappulli ve diğerleri, 2005). Kedilerin bazılarında kasık bölgesi yerleşimli gelişmemiş ek bezlerin varlığı gözlemlenebilir (Giménez ve diğerleri, 2010). Meme bezleri, laktifer kanallara ve memenin tabanındaki laktifer sinüslere açılan arborize interlobüler kanallar tarafından drene edilen salgı lobüllerinden oluşmaktadır. Salgı lobülleri subkutiste konumlanır ve tubuloasiner bezler ile intralobüler kanallardan meydana gelir. Aksiller ve torasik meme bezlerin vaskülarizasyonu internal torasik, interkostal ve lateral torasik arterlerin dalları ile sağlanır. Abdominal bezler, kraniyal yüzeysel epigastrik arterden beslenirken, dış pudental arterin dalları inguinal bezleri vaskularize etmektedir (Zappulli ve diğerleri, 2005). Kedilerin meme bezlerinin damarları, orta hattı geçen bazı küçük damarlar dışında, arterleri yakından takip eder; kötü huylu meme tümörünün bir çift bez arasında yayılmasından bunların sorumlu olabileceği düşünülmektedir (Giménez ve diğerleri, 2010).

Meme bezlerine ait lenfatik sistem, ilk olarak 1952 yılında Nielsen tarafından Hint mürekkebi enjekte edilerek gözlemlenmiştir. Bu uygulama sonucunda aynı tarafta yer alan ön bezlerin lenfatikler ile birbirlerine bağlı olduğu ve o tarafa ait koltuk altı lenf yumrusuna drene olduğu fark edilmiştir. Arka tarafa ait bezler de birbirlerine bağlantılıdır ve kendilerine ait yüzeysel inguinal lenf yumrularına drene olmaktadır. Ön ve arka bezlerin lenfatikleri birbirine bağlı değildir (Hayden ve Nielsen, 1971).

2.1.2. Kedilerde Meme Histolojisi

Meme bezi deriden gelişen bir organdır. Yağ veya ter bezleri gibi diğer deri bezlerinin tüm özelliklerine sahip olmasa da pek çok özelliğine sahiptir. Deride olduğu gibi yerel deri sistemlerinden türetilen damar ve sinir sistemi ağına sahiptir. Kedi meme bezi histolojisine

ayrıntılı olarak bakıldığında her bir meme ucunun çok katlı skuamöz epitel ile döşeli 4-8 kanala sahip olduğu görülmektedir. Her bir meme kanalı ise bir iki hücreli kolumnar epitel katmanı ile döşeli bir meme sinüsü ile devam etmektedir. Meme lobüllerinin daha büyük kanalları meme başı sinüsü ile devam etmekte ve benzer bir epitel yapısı göstermektedir. Alveoller ve daha küçük kanallar ise basit bir kolumnar epitel ile döşeli haldedir (Hayden ve Nielsen, 1971; Silver, 1966).

2.2. Meme Tümörü

Meme tümörleri, özellikle meme kanseri, 35 yaş üstü kadınlarda en sık görülen kanser türüdür. Kansere bağlı ölümlerde ikinci sırada yer almaktadır (Hassan ve diğerleri, 2017). Meme kanserinin görülme sıklığı, evcil hayvanlarda ve insanlarda benzerlik göstermektedir. 100.000 kişi başına düşen yaşa göre düzeltilmiş genel kanser insidansı insanlarda yaklaşık 300, köpeklerde 381, kedilerde 264'tür. Meme kanseri insidansı tüm tümöral olgular arasından kadınlarda %32 ile en sık, dişi köpeklerde %52 ile birinci sıradadır (Zappulli ve diğerleri, 2005). Kedilerde ise hematopoetik ve kutanöz tümörlerden sonra %17 ile en yaygın üçüncü tümör türüdür (Manoel ve diğerleri, 2021; Masood ve diğerleri, 2025). Malign tümörlere sahip kedi ve köpekler, insan kanserlerinin laboratuvar modellerine (yani kemirgenlerde indüklenmiş tümörler veya ksenogreftlenmiş insan hücre hatları) göre avantajlara sahiptir (Cannon, 2015). Bazı insan ve hayvan neoplazileri arasında anatomik, biyolojik, histopatolojik, genetik ve moleküler benzerliklerin tespit edilmesi, insanlarla aynı ortamda yaşayan evcil hayvanların benzer risk faktörlerine maruz kalması gibi durumlar karşılaştırmalı onkoloji için iyi bir fırsat olarak kabul edilmektedir. Ayrıca evcil hayvanların insan kanserleri için bir model olarak değerlendirilmesine de katkıda bulunmaktadır (Zappulli ve diğerleri, 2005).

Köpeklerde doğal olarak oluşan neoplaziler, birçok insan kanseri için iyi bir model olmuştur. Kediler de model olarak köpeklere benzer avantajlara sahiptir ancak kansere Tek Tıp/Tek Sağlık yaklaşımında köpekler kadar kullanılmamıştır (Cannon, 2015). Kedi meme karsinomları, hücrel ve moleküler düzeyde insan meme kanserine büyük benzerlikler göstermektedir (El-Rasikh ve diğerleri, 2021). Tam olarak bilinmemekle birlikte, kediler ve insanlar 12.000 yıldan uzun bir süredir bir arada yaşamaktadır. Kediler ve insanlar, aynı evi paylaşmanın ötesinde moleküler ve hücrel düzeylerde dahi büyük benzerlikler göstermektedir (Adega ve diğerleri, 2016). Kediler, kendiliğinden yüksek klinik agresif

özellikle invaziv meme kansinimleri şekillendirirler ve insan meme kanserinin incelenmesi için son derece uygun hayvan modelleri olarak bilinirler (Dagher ve diğlerleri, 2019). 2005 yılı ve öncesinde yapılan bazı çalışmalar, kedi meme kansinimlerinin insan meme kanseri ile benzerlik gösterdiğini doğrulamıştır. Bu çalışmalar p53, siklin A, metalloiyoneinler, VEGF (Vasküler endotelyal büyüme faktörü), kemokin reseptörü CXCR4 (G-protein Bağlı Yedi-Transmembran Alanlı Kemokin Reseptörü-4), E-cadherin gibi moleküllerin doku ifadeleri üzerinde yapılmıştır (Zappulli ve diğlerleri, 2005). Dünya Sağlık Örgütü tarafından yayımlanan meme neoplazilerinin kategorize edildiği kriterlere göre, insan meme kansinimleri basit glandüler epitel tümörlerdir ki kedi meme tümörlerinin çoğunun malign glandüler epitel tümörler olması nedeniyle kedi meme kansinimleri, insan muadillerine ve köpek meme kansinimlerine göre daha fazla benzerlik göstermektedir. Ek olarak kedi meme kansinimlerinin büyük çoğunluğunun (steroid hormon tutulumunun olduğunu gösteren bildiriler olmasına rağmen) HER-2, progesteron ve östrojen reseptörleri negatif olması, kedi meme kansinimlerini insan üçlü negatif meme kanserleri için önemli bir model haline getirmektedir (Adega ve diğlerleri, 2016). Kedi meme kansinimleri bu sahip oldukları klinikopatolojik, histopatolojik ve epidemiyolojik özelliklerin yanı sıra kanserin başlatılmasında ve ilerlemesinde rol oynayan ortak yolakları paylaştıkları için insan meme kanserinin incelenmesi için güvenilir bir kanser modeli olarak önerilmektedir (Nascimento ve Ferreira, 2021; Zappulli ve diğlerleri, 2005).

2.3. Kedilerde Meme Tümörü

Kedilerin evcil hayvan olarak popülaritesi giderek artmaktadır. Buna bağlı olarak da kediler daha kapsamlı tıbbi gözetimden yararlanmaya başlamıştır. Kediler, insanlarda mevcut hastalıklara benzer olduğu düşünölen yaklaşık 200 genetik hastalığı sergilemektedir (Thomas, 2015). Ancak bundan yaklaşık 50 yıl önce literatürde kedilerde meydana gelen meme tümörleri hakkında çok az bilgi bulunmaktadır. Meme tümörleri hakkında köpeklerde çok sayıda makale bulunurken kedilerde bu konuya nispeten daha az ilgi gösterilmiştir (Weijer ve diğlerleri, 1972). Kedi sahiplerinin, evcil hayvanlarının veteriner ziyareti sırasında köpeklere göre daha fazla stres yaşadıklarını düşünmeleri sonucu daha az veteriner kontrolüne gitmeleri; ayrıca belirli bir yaşın (9 yaş ve üstü) üzerindeki kedilerin acil durumlar dışında muayeneye götürölmemesi, kedilerde tümör ve özellikle meme kanseri vakalarının görölmesine rağmen,

literatürde kedi meme kanseri konusundaki bilgi birikiminin sınırlı kalmasına neden olmaktadır (Cannon, 2015).

Benign karakterde tümörlerin sayısının yüksek olması sebebiyle köpeklerde meme tümörünün görülme sıklığı kedilere göre yaklaşık olarak 2,5 kat daha fazladır. Kedilerde ise köpeklere kıyasla malign histolojik tiplerin prevalansı (malign:benign oranı en az 4:1'dir) oldukça yüksektir (Morris, 2013). Ayrıca kedilerde, insan ve köpeklere göre daha yüksek oranlarda malign karakterde meme tümörü (en az %80) gözlenmektedir. Sık rastlanan diğer kedi tümörü olgularına bakıldığında meme tümörleri lenfosarkomlar ve kutanöz tümörlerden sonra üçüncü sırada yer almaktadır (De Campos ve diğerleri, 2016). Kedilerde görülen meme neoplazilerinin büyük bir kısmı karsinomdur (Overley ve diğerleri, 2005). Kedi meme karsinomları genellikle infiltratif, agresif seyirlidir ve metastaz oranı yüksektir (Thomas, 2015). Kedi meme karsinomlarının bölgesel olarak meme bezi ve çevresinde bulunan dokulara infiltre olduğu bildirilmiştir (Overley ve diğerleri, 2005) Ayrıca, kedi meme karsinomları teşhis esnasında kolaylıkla tahmin edilemeyen yaygın bir heterojenite gösterirler (Thomas, 2015). Meme dokusundan köken alan tümörler genellikle yaşlı, ovariohisterektomize edilmemiş dişi kedilerde ve nadiren kastre edilmiş erkek kedilerde gözlenmektedir (Hayden ve Nielsen, 1971). Kedi meme neoplazilerinin yaklaşık olarak %1-5'i erkek kedileri etkilemektedir (Giménez ve diğerleri, 2010). Dişi kedilerde gözlenen agresif klinik davranışlı benzer meme tümörleri erkek kedilerde de rapor edilmiştir (Zappulli ve diğerleri, 2015).

Kedilerde bulunan mevcut tüm meme bezleri, neoplazi gelişimine eşit derecede duyarlıdır. Yapılan bir araştırmada bir kliniğe meme tümörü şikâyeti ile başvuran kedilerin %60'ında birden fazla bezin etkilendiği rapor edilmiştir (Hayes ve Mooney, 1985). Bazı araştırmalar kaudal bezlerin daha sık etkilendiği söylemektedir ancak Hayden ve Nielsen kranial bezlerin daha sıklıkla etkilendiğini rapor etmiştir. Viste ve arkadaşları ise hem kranial hem de kaudal bezlerin etkilendiğini bildirmiştir (Giménez ve diğerleri, 2010; Hayden ve Nielsen, 1971; Viste ve diğerleri, 2002). Meme tümörü gözlenen hayvanların %50-90'ında metastaz şekillenmekte ve metastazlar genellikle bölgesel lenf yumrularına ve akciğerlere olmaktadır (Giménez ve diğerleri, 2010; Hayden ve Nielsen, 1971).

2.3.1. Etiyoloji

Kedilerde meme kanserinin etiyojisi belirsizdir. Kesin etiyojisi bilinmese de hormonlar, viruslar gibi çeşitli faktörlerin etkili olduğu, multifaktöriyel bir etiyojisiye sahip olduğu bilinmektedir (Giménez ve diğerleri, 2010; Hayes, 1977; Mills ve diğerleri, 2015).

Literatüre geçen bazı çalışmalarda, tümörlü meme dokusunda C-Tipi retroviral benzeri partiküller bulunmuş ancak bu partiküllerin önemi belirlenememiş ve meme tümörünün bir sebebi olmadığı düşünülmüştür (Hayes ve Mooney, 1985). Ayrıca başka çalışmalarda, insan ve kedi meme tümörlerinin viral bir etiyojisiye sahip olduğu, hatta bu çalışmaların bazılarında kedi meme tümörü virusunun, Retroviridae ailesinin bir üyesi olduğu ve zoonoz bir enfeksiyon olabileceği dile getirilmiştir (Soares ve diğerleri, 2016). Kedi lösemi virusu ve kedi immun yetmezlik virusunun etiyojide yer almadığını söyleyen çalışmalar da literatürde mevcuttur (Morris, 2013).

Hormonların meme tümörü üzerine olan etkisi uzun yıllardır tartışma konusu olmuştur. Bazı çalışmalar, meme tümörlerinin epitelyal kökenli olup hormonal stimulyasyondan bağımsız olduğunu bildirmiştir. Literatürde yer alan bazı araştırma sonuçları ise hormonal etkinin meme kanseri oluşumunda etkili olduğunu söylemektedir. Bir klinikte, 39 kediye oral progestin verilmesi ile gerçekleştirilen bir çalışmada endojen progesteron ve progestin uygulamasının meme bezi hiperplazisi ve meme kanseri gelişimini tetiklediği rapor edilmiştir (Hayes ve Mooney, 1985). Kızgınlığın önlenmesi veya dermatolojik sorunların tedavisi için kullanılan progestagenlerin, düzenli verildiğinde meme kanseri riskini önemli ölçüde artırdığı ancak düzensiz verildiğinde bu artışın gözlenmediği bulunmuştur (Misdorp, 1991). Morris yaptığı bir çalışmada, insanlarda ve köpeklerde olduğu gibi, tekrar eden östrus döngüsüne bağılı gelişen hormonal dalgalanmaların kedilerde de meme tümörlerinin gelişimine neden olabileceğini belirtmiştir (Morris, 2013). İlerleyen yıllarda yapılmış araştırmalar, progesteron ve östrojen reseptörlerinin normal meme dokularında ve benign karakterde meme tümörlerinde mevcut olduğunu ancak malign karakterde meme tümörlerinde ve metastatik odaklarda ise sıklıkla kaybolduğunu, kedi meme karsinomlarının %80-90'ında östrojen ve progesteron reseptörü negatif olduğunu rapor etmektedir (Morris, 2013; Thomas, 2015).

Kediler mevsimsel poliöstrik hayvanlardır ve diş kediler, ilk kızgınlık siklusunu 5 aylık gibi erken bir dönemde yaşayabilirler (Hayes ve Mooney, 1985). Dorn ve diğerleri (1968), kısırlaştırılmamış kedilerin, kısırlaştırılmış kedilere kıyasla puberta döneminde yedi kat daha yüksek riskle malign meme tümörü geliştirebileceğini bildirmiştir. Meme kanseri oluşumunda

hormonal etkinin rolü öngörüldüğünde, Hayes (1977) tüm dişi kedilerin ilk yaşlarında kısırlaştırılmasını önermektedir; böylece ilerleyen dönemlerde ortaya çıkabilecek meme kanseri riski azaltılabilir. Bir yaşından önce yapılan kısırlaştırma uygulaması, meme kanseri riskini önemli ölçüde azaltmaktadır (Overley ve diğerleri, 2005). 6 aydan önce kısırlaştırılan kedilerde meme kanseri gelişme riskinde %91 ve 1 yaşından önce kısırlaştırılan kedilerde ise %86 oranında azalma saptanmıştır (Zappulli ve diğerleri, 2015). Kısırlaştırmanın koruyucu etkili olması için operasyonun gerçekleştirileceği en geç yaş aralığı ise halen araştırılmaktadır (Zappulli ve diğerleri, 2005). Bununla birlikte, 8-11 aylık yaşta gerçekleştirilen erken kısırlaştırmanın meme kanseri riskini ortadan kaldırmadığı gösterilmiştir (Hayes ve Mooney, 1985). Yani, erken dönemlerde gerçekleştirilen kısırlaştırma operasyonunun meme tümörü riskini tamamen ortadan kaldırmamaktadır (Giménez ve diğerleri, 2010). Ancak, kısırlaştırılmış kedilerin tümör geliştirme olasılığı, kısırlaştırılmamış kedilere göre daha az olduğu bilinmelidir (De Campos ve diğerleri, 2016).

2.3.2. Epidemiyoloji

Kedilerde ve insanlarda meme tümörlerinin epidemiyolojisi benzerdir; yaş ve hormona maruz kalma başlıca risk faktörleridir (Cannon, 2015). Cinsiyet, ırk ve üreme durumu diğer bildirilen risk faktörleri arasındadır (Mills ve diğerleri, 2015). Kedi meme tümörleri, hematopoetik ve deri tümörlerinden sonra dişi kedileri etkileyen en yaygın üçüncü tümör türüdür ve kedilerdeki tüm neoplazmların %5'ini oluşturur (Manoel ve diğerleri, 2021). Kedilerde gözlenen meme kitlelerinin çoğu malign karakterdedir (Giménez ve diğerleri, 2010).

1962-1972 yılları arasındaki 11 yıllık süreçte New York'ta yapılan bir çalışmada tüm nonhematopoetik tümörlerin %10,3'ünü meme tümörlerinin meydana getirdiği bildirilmiştir. Kaliforniya'da yapılan başka bir çalışmada rapor edilen yıllık kedi meme tümörü insidansı ise 100.000 kedide 12,8 ve risk altında bulunan 100.000 dişi kedide 25,4 olarak gözlenmiştir (Hayes, 1977). Son yıllarda yapılan çalışmalarda ise kedi meme tümörlerinin insidansı 230/100.000 olarak belirtilmiştir. Kedilerde gözlenen meme tümörlerinin yüksek oranda (%80-90) malignite göstermesinden dolayı kedi meme karsinomlarının gerçek insidansı, köpek meme karsinomlarına benzer şekilde 100.000 kedi başına 184-207 aralığında olabileceği düşünülmektedir. (Chocteau ve diğerleri, 2019). Günümüzde meme tümörlerinin

prevalansı çevre kirliliği ve daha spesifik olarak kimyasal maruziyet nedeniyle artma eğilimi göstermektedir (Tawfik ve diğerleri, 2021).

Meme neoplazileri en sık olarak evcil kısa tüylü ve Siyam ırklarında rapor edilmiştir. Bu ırklar kedi popülasyonundaki en yaygın ırklardır fakat Siyam kedilerinde meme kanseri gelişme riski önemli düzeyde yüksek bulunmuştur (Hayes ve Mooney, 1985). Siyam ırkı kedilerde diğer ırklara (14 yaş) göre daha genç yaşta (9 yaş) meme tümörü geliştirme riski gözlenmiştir (Zappulli ve diğerleri, 2015). Çalışmalar Siyam ve kısa tüylü evcil kedilerde meme tümörü riskinin ırkla ilişkili olduğunu göstermektedir (Overley ve diğerleri, 2005). Siyam ırkı kedilerde meme kanserinin iki kat daha fazla olduğunu gösteren bazı çalışmalar ve tüm bu kanıtlar genetik bir yatkınlığın olduğuna işaret etmektedir (Zappulli ve diğerleri, 2005). Siyam ırkı kediler, evcil kısa tüylü kedilerden sonra en yaygın olarak mikropapiller invaziv meme karsinomu (MIMC) oluşumunu gösteren ırktır (Zappulli ve diğerleri, 2015). Kanıtlanmış bir kalıtsal risk olmasa da bir ırk yatkınlığı olan Siyam kedilerinin incelenmesi, meme kanserine sebep olan genetik anormalliklerin tanımlanmasında daha faydalı olacaktır (Cannon, 2015). Bununla birlikte, 2021 yılında Tawfik ve arkadaşlarının gerçekleştirdiği çalışmada İran kedilerinin de en çok etkilenen ırklardan biri olduğu bildirilmiştir (Tawfik ve diğerleri, 2021).

Meme tümörleri 9 ay ile 19 yaş aralığında bulunan kedilerde bildirilse de en sık orta yaşlı kedilerde gözlenir. 6 yaşını dolduran kedilerde meme tümörünün görülme riski ciddi düzeyde artmaya başlar ve 10-11 yaşlarında pik yapar. 10-14 yaşlık dönem risk oranının en fazla olduğu dönemdir. Meme tümörlerinin ortalama tanı yaşı ise 10-12 yaş aralığına denk gelmektedir (Giménez ve diğerleri, 2010; Hayes ve Mooney, 1985; Overley ve diğerleri, 2005). Kadınlarda ve dişi köpeklerde olduğu gibi kedilerde de malign meme tümörlerinin büyük bir kısmı orta yaş aralığında bulunan hayvanlarda gözlenmiştir (Weijer ve diğerleri, 1972).

Kedi meme tümörlerinde malignite sık gözlenmektedir ve meme tümörü kaynaklı ölüm oranı yüksektir. Kötü karakterli ve iyi karakterli tümörler arasındaki oran ise 4:1 ile 9:1 arasında değişkenlik göstermektedir (Zappulli ve diğerleri, 2005). Yaşlı kedilerde ise karsinomların görülme olasılığı benign tümörlere göre oldukça fazladır (Zappulli ve diğerleri, 2015). İyi diferansiye neoplazilere sahip kedilerde 1 yılın ardından tümörle ilişkili ölüm gözlenmezken, kötü diferansiyasyon gösteren tümörlerde 1 yıllık mortalite oranı %100'dür (Hughes ve Dobson, 2012).

2.3.3. Patogenezi

Kedilerde şekillenen meme karsinomlarının etiopatogenezi tam anlamıyla açıklanamamıştır. Muhtemel risk faktörleri arasında üreme durumu, düzenli progestin maruziyeti ve ırk yer almaktadır. Daha önce yapılan araştırmalar hormonal etkinin meme karsinomu oluşumunda kısmen de olsa etkili olduğunu göstermektedir. Özellikle, bu çalışmalar kısırlaştırılmamış kediler ve düzenli olarak progestin maruziyeti ile karşı karşıya kalan kedilerde meme karsinomu riskinin arttığına işaret etmektedir. Bazı çalışma sonuçları ise ovariohisterektominin kedilerde meme bezi tümörü oluşumuna karşı koruyucu olabileceğini göstermektedir (Overley ve diğerleri, 2005).

Türler arasında yapılan çalışmalar, östrojen, prolaktin, progesteron ve büyüme hormonun hem tümöral hem de normal dokuda büyümeyi etkilediğini göstermektedir. Uzun süreli cinsiyet steroid hormonlarına maruz kalma, meme dokusu epitel hücrelerinin proliferasyonunu teşvik eder. Buna ilave olarak ilerleyen dönemlerde tümör ile sonuçlanan genetik bozulmaların birikmesine alt yapı hazırlar (Overley ve diğerleri, 2005). Avrupa’da kızgınlığı baskılamak için kullanılan progestagen uygulaması meme kanseri riskini yükseltmekte ve patogenezi seks hormonlarının rolüne dair daha fazla kanıt sunmaktadır (Zappulli ve diğerleri, 2005). Uzun süreli ve düzenli progestin sağaltımı alan hem dişi hem de erkek kedilerde meme tümörü gelişme riskinde artış bildirilmiştir (Zappulli ve diğerleri, 2015).

Malign bir fenotip başlangıcının, spontane ve rastgele olmayan genomik anormalliklerin birikmesiyle ilişkili olduğu bilinmektedir. “Genomik profillem”, hastalığın moleküler patogenezinin anlaşılmasına katkı sunar, neoplastik dönüşümün ve gelişimin altında yatan temel mekanik süreçleri ortaya çıkarır. Kanser sitogenomik kavramları beşerî hekimlikte iyi bir şekilde tanımlanmıştır. Aynı temel prensiplerin köpeklerdeki kanserlere aktarılmasında büyük ilerlemeler kaydedilmiştir. Böylece aynı kanserin insan ve köpek modellerinde, ortak bir patogenezi destekleyen güçlü kanıtlar ortaya koyulmuştur. Özellikle diğer model türlerde keşfedilmemiş yeni bir bakış açısı sunduğu alanlar başta olmak üzere kedilerdeki ilerleme hızı kazanmaya başlamıştır (Thomas, 2015).

2.3.4. Klinik ve Patolojik Bulgular

Şiddetli infiltrasyon gösteren kedi meme karsinomlarında paraneoplastik sendrom nadiren gözlenmektedir. Geniş ölçüde akciğer tutulumu ve pleural karsinomatozis varlığında kedilerde respiratorik sistem bulguları klinik açıdan gözlenebilmektedir. İnsanlarda ve köpeklerde yüzeysel dermal lenfatiklerde embolik yayılım nedeniyle subkutan ödem, eritem ve şiddetli ağrı ile karakterize özel bir karsinom türü olan inflamatuvar meme karsinomu (IMC) son zamanlarda kedilerde de rapor edilmiştir. Bu gelişme kedilerin yeni bir model olarak değerini arttırmıştır (Zappulli ve diğerleri, 2005). Klinik olarak, inflamatuvar meme karsinomları, genellikle altta yatan bir kitle olmaksızın, yangısal bir sürece benzeyen (meme bezi derisinde eritem, sertlik ve sıcaklık) hızlı başlangıçlı semptomlarla ortaya çıkar. Bu durum yanlılıkla dermatit veya mastit teşhisi konulmasına neden olabilmektedir. İnflamatuvar meme karsinomları, dermal lenfatik damarlarda neoplastik embolilerin gözlemlenmesiyle patolojik olarak doğrulanabilen klinik tanılardır. IMC'nin klinik belirtileri tespit edildiğinde, kedilerin iştahında hafif bir azalma ve kilo kaybı gözlenmiştir (Pérez-Alenza ve diğerleri, 2004).

Kedilerde iyi huylu ve kötü huylu nodülleri ayırt etmek oldukça zordur, bu nedenle hepsinin potansiyel olarak kötü huylu meme tümörü olduğunu düşünerek sağaltıma başlamak daha faydalı olacaktır. Bazen tüyler uzaklaştırılmadan hastalığın gerçek boyutu anlaşılamayabilir (Morris, 2013). Kedi meme bezi tümörleri ya tek ya da çok sayıda nodül şeklinde çevre dokulardan bağımsız ve hareketli olabilecek şekilde palpasyonda hissedilebilir ya da altta yatan dokulara fibröz yapışıklıklar yaparak hareket ettirilemez hâlde gözlenebilir. Genellikle, nodüller geniş tümöral nekroz ve buna ek olarak ülserasyon gösterir. Kedilerde çoklu meme nodülleri sıklıkla bildirilmiştir (Baba ve Catoi, 2007; Giménez ve diğerleri, 2010; Morris 2013; Zappulli ve diğerleri, 2005). Bir çalışmada, kedilerin %60'ında çeşitli bezlerde çoklu meme kitleleri (genellikle aynı tarafta bazen iki taraflı şekilde) yaygınlığı rapor edilmiştir (Morris, 2013). Bazı araştırmacılar posterior bezlerin daha fazla etkilendiğini düşünmektedir (Zappulli ve diğerleri, 2005).

Karsinomlar, aynı bezde veya komşu bezlerde iyi huylu tümörlerle birlikte bulunabileceği gibi, farklı bezlerde farklı histolojik tipte karsinomlarla da eş zamanlı olarak gözlenebilir (Baba ve Catoi, 2007; Zappulli ve diğerleri, 2005). Makroskobik olarak karsinomlar, hızlı büyüme, kısa sürede hacminin iki katına çıkması, lokal invazyonla çevredeki normal dokuya infiltre olması ile karakterizedir. Adenokarsinomlar genellikle

yumuşaktır ve kesitte beyaz-krem renğinde homojen dokudan oluşan yaygın veya lobüler bir yapı ortaya çıkar. Papiller karsinomlar sert veya yumuşak kanlı bir yapıya sahiptir. Bazı invaziv karsinomlarda belirgin fibröz stroma ve düzensiz sınırlar dikkat çeker; bu tümörler çevre meme dokularına invazyon gösterebilir. Ayrıca yoğun stromal bileşen içeren invaziv karsinomlar sert kıvamda olup, beyaz-gri veya kahverengi-sarı renkte olabilir, deriye veya temel kas sistemine yapışabilirler. Solid karsinomlar yumuşaktır ve kesitleri beyaz veya gri renkte lobüler bir yapıya sahiptir. Skuamöz hücreli karsinomlar düzensiz şekilli, serttir, kesitsel olarak yapıları lobüler, rengi gri veya beyaz, sarı beneklidir (Baba ve Catoi, 2007).

Neoplaziler sıklıkla meme başına bitişik deri altı dokuya kadar uzanır (Hayes, 1977). Birkaçı kistik halde görülebilir (Morris, 2013). Tümör gelişimini genellikle deride ülserleşme ve altta bulunan kas dokusunun bölgesel invazyonu takip eder ve hızlı bir yayılım gösterir. Histolojik tipe bakılmaksızın meme tümörü olan kedilerin %25'inde etkilenen bezin ve/veya bezlerin drenajını sağlayan lenfatik sistemde tümör hücrelerine ait tıkaçlar gözlenir (Hayes, 1977). Drenaj lenf düğümleri (inguinal veya koltuk altı gibi) gözle görülür ya da elle palpe edilebilir şekilde büyümüş olabilir. Özellikle geniş lenfatik tutulumu olan agresif inflamatuvar karsinomlarda meme bezleri ödemli, ağrılı ve sıcak olabilir (Morris, 2013). Femoral arterlerdeki tümör tıkaçlarına bağlı şişme ya da femoral venlerden dönen azalmış kan dolaşımı, pelvik uzuvlarda rahatsızlık, ödem ve sıcaklıkta düşmeye sebep olabilir. Etkilenmiş meme uçları genellikle hiperemik ve ödemlidir. Sarı renkli ya da ten rengi bir sıvı ilgili meme uçlarından sızabilir (Giménez ve diğerleri, 2010).

Metastaz, kanserli hastalarda yaşamı tehdit eden, yıkıcı bir sorun olduğu için araştırmaların önemli bir odağı olmuştur (Hassan ve diğerleri, 2017). Malign karakterdeki neoplaziler, lenfanjiyogenez sürecini direkt veya dolaylı yoldan arttıran büyüme faktörlerinin tümöral hücreler tarafından üretilmesi sebebiyle lenfatik damarlar ile lenf nodüllerine yayılır (Hassan ve diğerleri, 2017). Çoklu aksiller lenf nodülünün tutulumu lenf anjiyografi ile genellikle vakaların %58-75'inde tespit edilmiştir. Fakat kedilerde %84-94 oranla tek bir inguinal lenf nodülü tutulumu baskındır. Her ne kadar kedi meme tümörlerinde %80 oranında esas olarak aksiller ve inguinal lenf nodülü tutulumu etkilendiği rapor edilse de kedilerin %30'unda sternal lenf düğümü de etkilenmiştir. Daha uzağa yayılımın belirlenmesi için üç görüntülü akciğer grafisi ve karın ultrasonografisi gereklidir. Çünkü kedi meme karsinomlarının başlıca metastaz yerleri bölgesel lenf yumruları, medial iliak lenf düğümleri, akciğerler, pleura ve karaciğer gibi karın organlarıdır. Bazı olgularda metastatik akciğer hastalığı pleural efüzyona neden olabilmektedir (Morris, 2013; Zappulli ve diğerleri, 2005).

Çeşitli çalışmalar böbrek üstü bezlerine, diyaframa ve böbreklere de yaygın metastazlar olduğunu göstermektedir (Giménez ve diğerleri, 2010). Daha nadir olsada kemiğe metastaz da tespit edilmiştir (Morris, 2013).

2.3.5. Kedilerde Meme Tümörünün Sınıflandırılması

2.3.5.1. İyi Huylu (Benign) Tümörler

Kedilerdeki iyi huylu meme tümörleri duktal papillom, basit ve kompleks adenomlar, fibroadenomlar ve iyi huylu miks tümörlerdir. Duktal papillom, adenomlar ve benign miks tümörler kedilerde ender rastlanan benign tümörlerdir (Giménez ve diğerleri, 2010). Bu tümörler, kitlelerin çoğunun ya kötü huylu olduğu ya da displazi veya hiperplaziyi temsil ettiği kedilerde nadir olarak gözlenmektedir (Meuten, 2017).

2.3.5.1.1. Basit adenom

Adenom tipindeki iyi huylu meme tümörlerini histolojik olarak meme bezinin fizyolojik hiperplazisinden ayırmak zordur. Her iki durumda da asinüs ve meme kanallarının genişlemesiyle birlikte büyük meme lobülleri ortaya çıkar. Bu lezyon köpek ve kedilerde son derece nadirdir. Küçük stromalı fusiform hücrelerin oluşturduğu nodüller bulunabilir ve bunlar solid miyoepitelyal adenom olarak kabul edilir (Baba ve Catoi, 2007).

2.3.5.1.2. İntraduktal papiller adenom

Bu alt tip kedilerde nadir görülür. Neoplazmlar multinodülerdir ve papillalar genişleme gösteren kanal lümenlerine uzanır. Papillalar fibrovasküler bir stroma tarafından desteklenir. Luminal hücreler, orta miktarda apikal sitoplazma ve tek bir nükleolus ile bazal yuvarlaktan uzamış çekirdeklere sahip küboidal ila kolumnar şeklindedir. Luminal hücrelerin dışında veziküler çekirdekli oval hücrelerden (miyoepitelyal hücreler) oluşan bir tek tabaka bulunur. Minimal anizositozis ve anizokaryozis mevcuttur ve mitoz nadirdir (Meuten, 2017).

2.3.5.1.3. Duktal adenom

Duktal adenom daha önce kompleks adenom olarak sınıflandırılmıştır. Tipik olarak genişleme gösteren kanallarda büyüyen tek veya multinodüler iyi tanımlanmış bir kitledir. Neoplastik bileşenler, iki hücre tabakası (luminal ve bazal) ile yarık benzeri lumenlerin oluşumu ve az miktarda destekleyici fibröz stroma ile düzenli kordonlar oluşturur. Luminal hücreler, bazal oval ila uzun hücrelerden oluşan bir tabaka ile çevrili tek katlı küboidal epitel oluşturur. Luminal hücreler, az ila orta renkte eozinofilik sitoplazmaya ve tek nükleoluslu bazal ila merkezi yuvarlak bir nükleusa sahiptir. Bazal tabaka, hafif berrak sitoplazmalı ve oval çekirdekli hücrelerden oluşur. Atipi minimaldir ve az sayıda mitoz vardır (Meuten, 2017).

2.3.5.1.4. Fibroadenom

Fibroadenom, kedilerde en sık gözlenen benign tümörlerdir. Meme bezlerinin birini, birkaçını veya tümünü tutabilir. Bazen miyoepitelyal hücrelere ek olarak luminal epitel hücreleri ve stromal hücrelerin karışımından meydana gelebilir. Bu tümörün perikanaliküler ve intrakanaliküler iki alt tipi mevcuttur (Giménez ve diğerleri, 2010). İntrakanaliküler fibroadenom, hücresel olmayan veya hücresel tipte gözlenebilir. Perikanaliküler fibroadenom, fusiform, miyoepitelyal hücrelerin ve/veya stromal dokunun baskınlığı ile karakterizedir (Baba ve Catoi, 2007).

2.3.5.2. Malign Epitelyal Tümörler

Kedi meme karsinomları temel olarak in situ maligniteler (noninfiltratif-in situ-karsinomlar) ve farklı tipte infiltratif karsinomlar olmak üzere iki gruba ayrılır (Zappulli ve diğerleri, 2005). Kedilerde ayrıca inflamatuvar meme karsinomu da tespit edilmiştir. Bu karsinomlar, insan ve köpeklerde görülen inflamatuvar meme karsinomları ile birçok benzerlik göstermektedir (Zappulli ve diğerleri, 2015).

2.3.5.2.1. İn situ karsinom

Malignitenin histolojik özelliklerine sahip ancak bazal membranı invaze etmeyen epitelial bir neoplazm olan in situ karsinom histotipi (infiltrate olmayan), sıklıkla çok merkezli olan, önceden var olan kanallar veya lobüllerden ortaya çıkan ve hücre polaritesinin kaybı gibi malignitenin morfolojik özelliklerine sahip olan bir neoplastik lezyonu belirtmek için kullanılmıştır. Günümüzde in situ terimi, özellikle insan, kedi ve köpeklerdeki meme tümörleri arasındaki karşılaştırmalı yönle odaklanan bazı yazarlar tarafından, histotipten bağımsız olarak köpeklerde ve kedilerde herhangi bir meme karsinomunun büyüme tipini tanımlamak amacıyla ifade edilmiştir. Son yıllarda yayınlanan birçok çalışma, yalnızca morfolojiye dayanarak kedi meme in situ karsinomunun göreceli sıklığının meme karsinomlarının %1,6 ila %15,8'i arasında olduğunu tahmin etmektedir (Burrai ve diğerleri, 2022). Burrai ve arkadaşları tarafından yapılan 203 kedinin 28'inde (%14) meme tümörünün histopatolojik incelenmesinde asemptomatik duktal karsinom in situ gözlenmiştir. (Burrai ve diğerleri, 2010). İn situ meme karsinomlarının ifade edilmesindeki temel sorun, karsinomu çevreleyen mioepitelial katmanın varlığıdır. Bu durum p63, kalponin, CD10, sitokeratin 5 (CK5) ya da alfa düz kas aktini gibi mioepitelial hücre belirteçleri için immunohistokimya kullanılarak aşılabilir (Chocteau ve diğerleri, 2019).

2.3.5.2.2. Basit karsinom

Kedi meme tümörleri içerisinde basit karsinomlarının subtipleri arasında müsinöz karsinom, karsinosarkom, skuamöz hücreli karsinomlar ve adenoskuamöz karsinom da bazı yazarlara göre yer almaktadır (Giménez ve diğerleri, 2010).

2.3.5.2.2.1. Tubuler basit karsinom

Mikroskobik yapıya, pleomorfizm ve mitotik aktivitenin düşükten yükseğe doğru tahmin edildiği tubuler epitel hücreleri hakimdir ve nekrotik odaklar sıktır. Bağlayıcı stroma sınırlı veya orta miktarlarda olabilir. Tümör odakları değişken lenfositik infiltrasyonla çevrilidir. Tubuler karsinom ile benign lezyon formları arasındaki histolojik ayrım zordur. İyi huylu lezyonlar bazı durumlarda yüksek mitotik aktiviteye sahip olabilir veya lokal invaziv

büyümeyi uyarabilir. Kedilerde bu tümörler en sık görülen tiptir. Tubuler karsinom vakalarının %70'i invaziv karakterde, %30'u ise ekspansif nodüler karakterdedir. Tümörün lenfositik infiltrasyonu vakaların yaklaşık %50'sinde sık görülür (Baba ve Catoi, 2007). Kedilerdeki tubuler karsinomlar genellikle nükleer ve hücrel pleomorfizm, değişken sayıda mitoz sergiler. Bu özellikler prognostik göstergeler olarak kullanılmaktadır (Meuten, 2017).

2.3.5.2.2.2. Tubulopapiller basit karsinom

Papiller yapılar ve bu yapıların tubuler lümenlere doğru uzanması, papiller tipin tubuler tipten ayırt edilmesini sağlar. Tubuler karsinoma kıyasla daha malign özellikler gösterirler. 28 tubulopapiller karsinom vakasını kapsayan retrospektif bir çalışmada, olguların yalnızca %4'ünden azı evre I olarak sınıflandırılmıştır. Lenfovasküler invazyon ve lenf nodu metastazı, özellikle evre II ve III tümörlerde yaygın şekilde gözlenmiştir (Meuten, 2017).

2.3.5.2.2.3. Kistik-papiller basit karsinom

Basit kistik papiller adenokarsinom, köpeklerde yaygındır; küboid epitel hücreleri tarafından oluşturulan, düşük ila orta derecede pleomorfizm ve mitotik aktiviteye sahip papiller veya kistik yapılar olarak görünür. Papiller kistadenokarsinom iyi diferansiyedir, bu da papiller kistadenom ve kistadenopapillomatozdan ayırıcı tanıyı zorlaştırır. Kedilerde bu tümör tipi, lenfositik infiltrasyonla birlikte invaziv bir büyümeye sahiptir. Pleomorfizm ve mitotik indeks orta düzeyde sayılabilir (Baba ve Catoi, 2007).

2.3.5.2.2.4. Kribriiform basit karsinom

Zar zor algılanılabilen ve yüksek büyütmede lümen olarak tanımlanabilen neoplastik hücreler tarafından kaplı bir boşluktan oluşmaktadır. Bu tümör, daha belirgin lümenlere sahip olan tubuler karsinom ile karıştırılmamalıdır (Meuten, 2017).

2.3.5.2.3. Mikropapiller invaziv meme karsinomu

Bu tümör hem dişi hem de erkek kedilerde tanımlanmıştır. Karsinomlar zaman zaman mikropapiller paternli alanlara sahip olabilir ancak tümörün %50'sinden fazlası bu paterni gösterdiğinde mikropapiller invaziv alt tip olarak sınıflandırılmaktadır (Meuten, 2017).

2.3.5.2.4. Solid karsinom

Solid karsinomlar, karsinomlarda lobüllerin azaltılmış glandüler yapıya ve belirsiz stromaya sahip solid tümör hücre kitlelerine dönüştüğü geniş intralobüler istila yoluyla ortaya çıkabilir. Papiller karsinomda epitelyal fazlalıklar oluşabilir ve invazyon meydana gelebilir, papiller çıkıntılar solid hücresel kitlelere dönüşebilir veya diffuz infiltrasyonlu karsinomlardan solid hücresel kitleler oluşturacak kadar kompakt olabilir. Solid karsinom muhtemelen diğer karsinom türlerinin daha gelişmiş bir şeklidir (Baba ve Catoi, 2007).

2.3.5.2.5. Komedokarsinom

Kedilerin meme malignitelerinde, hızla büyüyen bu tümörlerde kan akışının kesilmesi nedeniyle sıklıkla geniş nekroz alanları görülmektedir. Neoplastik doku iyi tanımlanmış çok sayıda küçük nekroz alanı gösterdiğinde neoplazm komedokarsinom olarak sınıflandırılmaktadır. Neoplastik hücreler değişken bir desene sahip olabilir, ancak en yaygın olanı solid bir desendir. Nekrotik odaklar neoplastik hücrelerden oluşan nodüllerin merkezinde yer alır. Nekrotik materyal değişken derecede eozinofiliktir ve genellikle piknotik debris, makrofajlar ve birkaç diğer yangısal hücreden oluşur. Nötrofil infiltrasyon odakları komedokarsinom tanısı ile uyumlu değildir ancak neoplastik sürecin üzerine eklenen akut veya subakut/kronik aktif mastitisin göstergesidir (Meuten, 2017).

2.3.5.2.6. Anaplastik karsinom

Bu tümörler kedilerde çok nadir görülür (Meuten, 2017). Anaplastik karsinom, çok çekirdekli hücrelerin varlığıyla birlikte, sıklıkla biçimsiz, kromatin açısından zengin

çekirdeklere sahip, büyük pleomorfik hücrelerden oluşan, infiltratif bir neoplazma olarak ortaya çıkar. Anaplastik dev hücreli meme karsinomu sık değildir ve yalnızca dişi köpek ve kedilerde rapor edilmiştir (Baba ve Catoi, 2007).

2.3.5.2.7. İntraduktal papiller karsinom

Kedilerde nadiren bulunur ve morfolojik olarak köpeklerle aynıdır. İntraduktal papiller adenomun (kanal papillomu) malign varyantıdır. Adenoma kıyasla daha düzensiz bir papiller patern vardır, nükleer ve hücrel pleomorfizm ve mitozlarda artış görülür. Takip edilen bazı vakalarda, tanıdan bir yıl sonra kedilerin hayatta kaldığı; ancak etkilenmemiş diğer meme bezlerinde yeni lezyonların gelişebileceği bildirilmiştir (Meuten, 2017).

2.3.5.2.8. Duktal karsinom

Dişi kedilerde kompleks meme karsinomları yakın zamanda raporlanmıştır. Bu karsinomlar, köpeklerdeki benzer karmaşık karsinomları karakterize eden miyoepitelyal proliferasyona sahip değildir. Calponin ve p63 ile boyanan küboidal veya fusiform, berrak ya da eozinofilik, miyoepitelyal hücrelerin desteklediği luminal epitel hücrelerinin tubulleri ve yuvalarından oluşur. Bu tümörler, kompleks karsinom yerine kedi meme duktal adenomları/karsinomları olarak da adlandırılmaktadır (Zappulli ve diğerleri, 2015). Bu tümörler, duktal adenomun kötü huylu karşılığıdır. İyi huylu tümörlerde olduğu gibi, epitelyal hücrelerin luminal bileşeni ve bazal hücrelerin altta yatan tabakası ile çift tabaka olarak düzenlenmiş iki neoplastik bileşen belirgindir. Duktal karsinomlar adenomlardan daha soliddir, daha az düzenli kordonlar ve genellikle az ila orta derecede kollajenöz matriks içine gömülü olan bazal hücrelerin sayısı artmıştır. Duktal adenomlarla karşılaştırıldığında, anizositozis ve anizokaryozis dahil olmak üzere daha fazla hücrel atipi ile artan sayıda mitoz vardır. Fokal veya multifokal skuamöz farklılaşma ve keratinizasyon alanları mevcut olabilir (Meuten, 2017).

2.3.5.2.9. Skuamöz hücreli karsinom

Çok katlı skuamöz epitel ve spinöz hücrelerden ya da keratinize hücrelerden oluşur ve adenoskuamöz karsinomdan bu özelliği sayesinde ayırt edilir (Baba ve Catoi, 2007; Meuten, 2017). Bu tümörler, basit veya karmaşık yapılar sergiler. Son derece çeşitli histolojik özellikleri yapılarında barındırırlar. Yaklaşık yarısı, keratohyalin granülleri ve keratin lamellerinin varlığıyla adenomatöz yapılar şeklinde ortaya çıkar (Baba ve Catoi, 2007). Epitel hücre adacıkları ve kordonları mevcuttur; iyi diferansiye tümörlerde keratin incileri olarak bilinen skuamöz girdaplar gözlenir (Meuten, 2017).

2.3.5.2.10. Adenoskuamöz karsinom

Skuamöz farklılaşma ile beraberinde herhangi bir tipte karsinom içeren tümörlerdir. Adenokarsinomlar, malign özellikler taşıyan multifokal skuamöz diferansiyasyon alanlarıyla birlikte izlenebilir (Meuten, 2017).

2.3.5.2.11. Müsinöz karsinom

Kedilerde ender görülen bir neoplastik olgudur ve sınırlı sayıda vaka tanımlaması yapılmıştır (Baba ve Catoi, 2007; Meuten, 2017). Histopatolojik açıdan en belirgin özelliği hücre dışında amfofilik-bazofilik, hücre içinde ise eozinofilik özellikler gösteren epitel hücrelerini çevreleyen bol miktarda mukus içeren bir matriksin bulunmasıdır (Meuten, 2017). Müsin, salgı epitelyal hücreleri, bağ dokusu hücreleri veya miyoepitelyal hücreler olmak üzere üç farklı hücre tipinden kaynaklanabilir (Baba ve Catoi, 2007).

2.3.5.2.12. Lipid açısından zengin karsinom

Kedilerde oldukça nadir rastlanan bir neoplastik olgudur. Tümör hücreleri, belirgin sınırlara sahip yuvarlak veya oval şekilli hücrelerdir. Bu hücreler, çekirdek çevresinde yer alan büyük tek bir vakuol ya da çok sayıda küçük vakuol içeren bol sitoplazmalarıyla karakterizedir. Lipid açısından zengin karsinomları (sitokeratin pozitif, vimentin negatif)

liposarkomlardan (sitokeratin negatif, vimentin pozitif) ayırt edebilmek için birçok olguda immunohistokimyasal analiz gereklidir (Meuten, 2017).

2.3.5.2.13. İğ hücreli karsinom

Bu karsinom, penetrasyon yoluyla geniş veya infiltratif bir büyüme paterni gösterir (Baba ve Catoi, 2007). Tümör hücrelerinin morfolojik özellikleri, kesin tanı için yeterli olmayabilir; çünkü histolojik olarak fibrosarkom ve diğer mezenkimal iğ hücreli sarkom ile karışabilir. Fibrosarkom ile ayırıcı tanı zordur; ancak retikülin lifleri özel boyama yöntemleriyle gösterilerek ayrımı yapılabilir. Mezenkimal iğ hücreli sarkomlardan ayırt edilebilmesi ise genellikle immunohistokimyasal analizler gerektirir (Baba ve Catoi, 2007; Meuten, 2017).

2.3.5.2.14. İnflamatuar meme karsinomu (IMC)

Kedilerde, eritem, deri altı ödem ve karın boşluğunda şiddetli ağrıya birlikte aniden ortaya çıkan klinik bir tanıdır. Nodüler lezyonlar çoğu zaman zor fark edilir durumda olup, bazı olgularda tamamen gözlenmeyebilir. Tipik histolojik özelliği dermal lenfatiklerde neoplastik hücrelere bağlı embolizasyon varlığıdır (Meuten, 2017).

2.3.5.3. Malign Mezenkimal Tümörler

Meme sarkomları dişi köpeklerde nispeten sık görülürken kedilerde görülmez. Sarkom metastazları yalnızca köpeklerde teşhis edilmiştir (Baba ve Catoi, 2007). Bir dişi kedide uzun süreli medroksiprogesteron asetat uygulamasından sonra meme bezinde fibrosarkom şekillendiği daha önce bildirilmiştir (Meuten, 2017).

2.3.5.3.1. Fibrosarkom

Fibrosarkom, bir tümörden diğerine değişen hücreler arası retikülin ve kollajen lifleri içeren farklı tipteki iğ şeklinde hücrelerle karakterize edilir. Bazı tümörlerde ödem veya

müsinöz materyal oluşur. Pleomorfizm ve mitoz sayısı bir fibrosarkomdan diğerine önemli ölçüde farklılık gösterir. Elektron mikroskopik olarak hücreler, genişlemiş sisterna, belirgin Golgi kompleksi, mitokondri, odaklarda yoğunlaşmalarla birlikte intrasitoplazmik filaman demetleri, süreksiz bazal membran ve hücre bağlantılarıyla zengin bir kaba endoplazmik retiküler içeriğe sahiptir. İmmunoreaktivite yoluyla sitokeratin eksikliği, neoplastik hücrelerin epitelyal olmayan kökenini doğrulamaktadır. Apse veya aşırı kanama gibi komplikasyon durumunda tanı, tümörün özelliklerinin korunduğu periferik yapıya dayanır (Baba ve Catoi, 2007).

2.3.5.3.2. Diğer sarkomlar

Bu tümörler kedilerde nadir görülür. Daha çok deri altında ortaya çıkarlar ve bu nedenle meme tümörleri olarak sınıflandırılmamalıdır (Meuten, 2017). Kedilerde ayrıca lenfanjiyosarkom da tespit edilmiştir (Giménez ve diğerleri, 2010).

Meme tümörlerinin sınıflandırılmasında histogenetik, tanımlayıcı morfoloji ve prognostik yönler kullanılabilir (Zappulli ve diğerleri, 2005). Sınıflandırma esas olarak morfolojik kriterlere göre yapılır. Mevcut sistemde kedi meme tümörleri, Dünya Sağlık Örgütü kılavuzlarına göre sınıflandırılmaktadır (Zappulli ve diğerleri, 2015).

Dünya Sağlık Örgütü kriterlerine göre sınıflandırılan kedi meme tümörleri genellikle in situ veya invaziv karsinomlar olarak bilinmektedir. İnvaziv karsinomlar tubulopapiller, solid ve kribriform tipleri içerirken daha az sıklıkta rastlanan türler arasında karsinosarkom (morfolojik olarak malign epitelyal bileşenlere ve malign bağ dokusu bileşenlerine benzeyen hücrelerden oluşan malign karışık bir tümör) ve müsinöz karsinom yer alır (Hassan ve diğerleri, 2017; Tawfik ve diğerleri, 2021).

Kedi meme neoplazilerinin çoğu glandüler epitelden kaynaklanmaktadır ve hepsi kesinlikle adenom veya adenokarsinomdur, ancak ikincisi genellikle karsinom olarak isimlendirilmektedir. Benign karakterde tümörler nadirdir fakat bunlardan en sık olarak fibroadenom rapor edilmiştir, basit adenom ve/veya kanal papillomu ise nadiren bildirilmiştir. Kedideki meme tümörünün ana histolojik türü, meme kanalları ve alveollerin luminal epitelinden gelişen basit adenokarsinomdur. Adenokarsinomların spesifik tipleri arasındaki ileri düzeyde sınıflandırma patologlar arasında farklılık göstermektedir. Hem luminal hem de miyoepitelyal hücreleri içeren kompleks veya miks tümörler, köpeklerle karşılaştırıldığında kedilerde son derece ender gözlenir. Kedilerde karsinomlar tubulopapiller, solid, kribriform

veya müsinöz olabilir fakat skuamöz hücreli karsinom ve karsinosarkomlar da rapor edilmiştir (Morris, 2013; Giménez ve diğerleri, 2010). 1980’li yıllarda yapılan bir çalışmada da sonraki yıllarda elde edilen bilgilere öncü olacak şekilde, incelenen 264 meme tümörü histolojisinde tubuler ve papiller adenokarsinomların en yaygın tip olduğu, bunu solid karsinomların izlediği ve çok az sayıda sarkom görüldüğü belirlenmiştir (Hayes ve Mooney, 1985).

Meme kanseri için ilk moleküler sınıflandırma Perou ve arkadaşları tarafından 2000 yılında gen ekspresyon analizlerine göre 4 grup (luminal benzeri, bazal benzeri, HER2+ ve normal benzeri şeklinde) şeklinde yapılmıştır. Süreç gen ekspresyon profillemesinin yerine immunohistokimya analizi kullanılarak biyobelirteçlerin değerlendirilmesi gibi alternatif yöntemlerin gelişmesi ile sonuçlanmıştır. Son dönemlerde immunohistokimya tabanlı bir sınıflandırma ile biyolojik olarak altı farklı meme kanseri alt tipi belirlenmiştir:

- Luminal A,
- Luminal B/HER2 negatif,
- Luminal B/HER2 pozitif,
- HER2 pozitif (luminal olmayan),
- Üçlü negatif bazal benzeri ve
- Üçlü negatif normal benzeri (Soares ve diğerleri, 2016).

En sık görülen alt tip olan Luminal A, östrojen ve/veya progesteron reseptörünün aşırı ekspresyonu, HER2 negatif ve düşük Ki67 indeksi ile karakterizedir ve aynı zamanda daha iyi bir prognoza sahiptir. Luminal A’ya göre daha agresif olan luminal B meme tümör alt tipi iki alt tipe ayrılır:

- Östrojen reseptörü (ER) ve/veya progesteron reseptörü için pozitif boyanma gösteren Luminal B/HER2-negatif, HER2 için negatif ekspresyon ve yüksek Ki-67 indeks seviyeleri
- ER ve/veya PR ve HER2 aşırı ekspresyonunu gösteren Luminal B/HER2-pozitif alt tipi.

Luminal tümörleri olan hastalar genellikle endokrin tedavilerden yararlanır. Luminal olmayan alt tipler içerisinde HER2 pozitif alt tip, hormon reseptörlerinin (Östrojen reseptörü ve progesteron reseptörü) yokluğunda HER2’nin aşırı ekspresyonu ile karakterize edilir. Bu alt tip kötü prognozla ilişkilidir, ancak neyse ki spesifik anti-HER2 tedavileri hastaların hayatta kalma oranını arttırmıştır. Ayrıca ER, PR ve HER2 ekspresyonunun eksikliği ile karakterize olan üçlü negatif tümörler, tüm meme kanseri alt tipleri arasında en kötü prognoza sahiptir. Bazal benzeri tümörler de pozitif sitokeratin (CK 5/6, 14 ve 17) ekspresyonunu temel alarak bazal benzeri ve normal benzeri tümörler olarak sınıflandırılırlar (Soares ve diğerleri, 2016).

Brunetti ve arkadaşları 2013 yılında yaptıkları çalışmada Luminal B alt tümör tipini kedi meme karsinomlarında en yaygın olan alt tip olarak bildirmiştir. Soares ve arkadaşları da 2016 yılında gerçekleştirdikleri çalışmada Luminal B/HER2 negatif alt tipi %29,4 ile en yaygın alt tip olarak rapor etmişlerdir (Brunetti ve diğerleri, 2013; Soares ve diğerleri, 2016).

2.3.6. Tanı

İnsan meme kanserinde histopatolojik inceleme, tümörün teşhisinde altın standart bir yöntemdir. Morfolojik tanı ise ilk temel adımdır (Zappulli ve diğerleri, 2015). Bir meme kitlesi palpe edildiğinde, bunun neoplastik olduğundan şüphelenilirse doku biyopsisi veya sitolojisi için ince iğne aspirasyonu (FNA) gerçekleştirilir. Kedi meme tümörlerinin çoğu kötü huylu olduğundan, FNA'lar köpeklere göre daha güvenilir kabul edilir (Morris, 2013). Memenin ince iğne aspirasyon sitolojisi, malignite tanısında ve alt tiplendirmesinde yüksek doğruluk oranına (%72-99) sahiptir (Shafiee ve diğerleri, 2013). İnce iğne aspirasyonu, ülseratif lezyonların kazınması ya da tutulum gösteren bezlerden salgılanan sıvıların sitolojisi, deri ve deri altı meme dışı malignitelerden ve/veya meme karsinomunun fibroadenomatöz hiperplazisinden ayırt edilmesine olanak sağlayabilir. Bu teşhis metotları ile kesin bir tanı ortaya koyulamıyorsa eksizyonel biyopsi yapılmalıdır. Etkilenen kedilerin çoğu yaşlıdır. Bu sebeple meme karsinomu şüphesi olan bir kedi için hastalığı değerlendirme adına fiziki muayene, eşzamanlı tam kan sayımı, serum biyokimya ve idrar tahlili de dahil olmak üzere ayrıntılı bir tanı çalışması yapılmalıdır (Giménez ve diğerleri, 2010; Morris, 2013). Kedi meme tümörlerinin önemli bir kısmı, tanı anında bölgesel lenf yumrusu ya da uzak bölgelere metastaz göstermektedir (Manoel ve diğerleri, 2021). Potansiyel bir metastaz durumunu tespit etmek amacıyla ventrodorsal ve latero-lateral göğüs radyografik görüntüleri alınmalı ayrıca dalak, hepatik ve renal metastazların varlığını kontrol etmek amacıyla ultrasonografi yapılmalıdır. (Giménez ve diğerleri, 2010).

Tanı ile ilk operatif müdahale arasında genellikle 5-7 aylık bir süre vardır. Kedi meme karsinomlarının teşhisi ile ölüm arasındaki ortalama süre ise 12 ay olarak bildirilmiştir. Kediler genellikle teşhis sırasında belirgin ve yüksek oranda infiltratif tümörler gösterir. İnsanlarda meme kanserinin belirlenmesinde kullanılan görüntüleme sistemleri kedilerde erken dönemde (tedavi edilebilir aşamada) meme kanserinin teşhis edilmesine olanak sağlamıştır. Görüntüleme sistemleri ile belirlenen ya da palpe edildiğinde fark edilen her meme kitlesinin teşhis edilmesi için de ince iğne aspirasyonu ve biyopsiler yapılır. TNM

evreleme sistemi (Tümörün özelliklerinin (T), lenf nodu (N) ve metastaz (M) durumunun değerlendirildiği sistem) hem kedilerde hem de kadınlarda kullanılan bir yöntemdir (Zappulli ve diğerleri, 2005).

2.3.7. Prognoz

Kedi meme karsinomları oldukça malign karakterdedir. Genellikle yüksek klinik agresiflik ve kötü bir prognoz gösterirler. Hastalıksız sağkalım ve genel sağkalım süreleri kısa olduğundan prognoz oldukça önemlidir (Granados-Soler ve diğerleri, 2020; Manoel ve diğerleri, 2021). Kedi meme tümörü tanısı koyulan hastalarda hastalığın seyrini tahmin etmek, hastanın bakım ve tedavisinin planlanması açısından oldukça önem arz etmektedir (Rosen ve diğerleri, 2020). Tümör özelliklerinin prognostik bilgiye dönüştürülmesi, en uygun tedavilerin kullanılması ve yenilikçi terapötik denemelerin planlanması için paha biçilmez bir araçtır. Evcil hayvanların yaşam sürelerinin artışı daha fazla sayıda hayvanda kanser görülme riskini yükseltmektedir. Bu durum, evcil hayvanların daha iyi klinik hizmetlere ve rutin veterinerlik uygulamalarında uygulanabilecek kabul edilmiş yüksek değerli prognostik özelliklere olan ihtiyacını artırmaktadır (Matos ve diğerleri, 2012). Meme kanseri hem insanlarda hem de kedilerde önemli bir mortalite nedenidir. Bu nedenle, hastalık riskini doğru bir şekilde tahmin edebilen güvenilir prognostik belirteçlerin tanımlanması, daha az agresif tümörleri olan hastaların aşırı tedavisini büyük ölçüde azaltacak ve daha yoğun tedaviden fayda görecektir daha yüksek nüks riski taşıyan hastaları belirleyecektir (Rosen ve diğerleri, 2020). Beşerî ve veteriner patologlar sürekli olarak farklı tümör türlerine sahip hastalar için prognoz durumunu belirlemeye çalışmaktadırlar. Beşerî tıptaki durumun aksine, veteriner hekimlikte tümörlü hayvanlarda prognoz ve hayatta kalma süresini araştıran retrospektif çalışmalar sınırlıdır (Viste ve diğerleri, 2002). İnsanlarda kanserli hastalar için yeni prognostik belirteçler hızlı bir şekilde tanımlanırken, kedi meme tümörlerindeki yararlı biyobelirteçlerin keşfi geride kalmıştır (Rosen ve diğerleri, 2020). Köpek ve kedi meme tümörlerinin prognozuna ilişkin bilgilerin toplanması ve yorumlanması, çeşitli bileşenleri ve özellikleri incelemek için farklı yöntemlerin uygulanmış olması nedeniyle zordur (Matos ve diğerleri, 2012). Yine de hem köpek hem de kedi meme bezi tümörleri için çeşitli prognostik faktörler tanımlanmıştır. Kedide en önemli prognostik faktör tümör boyutudur Gerçekleştirilen çalışmaların neredeyse tümü, çapı 3 cm'den büyük meme karsinomuna sahip kedilerin, çapı 3 cm'den küçük olan meme karsinomuna sahip kedilere göre daha kısa hayatta kalma süresine sahip olduğunu

göstermektedir. Diğer prognostik faktörler arasında cerrahinin kapsamı, histolojik derece, lenf nodu metastazı, lenfatik invazyon ve Ki-67 ile ölçülen yüksek proliferatif indeks yer almaktadır (Novosad, 2003; Viste ve diğerleri, 2002; Zappulli ve diğerleri, 2015). Günümüzde veteriner hekimler ve patologlar, prognozu tahmin ederken ve tedaviyi önerirken tümör boyutunu, derecesini ve ilişkili mitotik sayımı, lenfovasküler invazyonu, cerrahi sınırları ve ayrıca lenf nodu tutulumu ve uzak metastaz hakkındaki bilgileri dikkate almaktadır (Rosen ve diğerleri, 2020).

Meme karsinomundan etkilenen hayvanlarda erken metastatik yayılma nedeniyle hayatta kalma oranı düşüktür. Prognozu kötü olan bu metastatik meme karsinomlarında genel ortalama sağkalım süresi 1-3 ay arasında değişmektedir. Kedi meme karsinomlarıyla ilişkili gözlenen kötü prognoz yüksek metastatik orana atfedilmektedir. Asemptomatik kedilerin hayatta kalma sürelerinin daha iyi olduğu görülmektedir (Granados-Soler ve diğerleri, 2020; Petrucci ve diğerleri, 2021). Meme karsinomu olan kedilerin %26-53'ünde lenfovasküler invazyon tanımlanmış ve bu durum ciddi oranda hayatta kalma oranının azalmasıyla ilişkilendirilmiştir. Kedi meme karsinomlarında lenfovasküler invazyonun tespiti, von Willebrand faktörü veya LMO2 adlı bir transkripsiyon faktörünün kullanıldığı immunohistokimyasal yöntemlerle elde edilmiştir (Chocteau ve diğerleri, 2019).

Meme kanseri mikro ortamı, T ve B hücreleri, makrofajlar, dendritik hücreler ve daha farklı immun hücrelerden oluşur. Meme kanserinin prognozunun tahmin edilmesinde bu hücreler çok önemlidir. Daha önce gerçekleştirilen araştırmalar, tümör infiltre eden lenfositlerin varlığının meme kanseri hastalarında bağımsız bir pozitif prognostik değere sahip olduğunu göstermiştir. Son on yılda, immunoterapi alanında prognostik ve prediktif değerlerinden dolayı meme kanseri mikro ortamında mevcut olan tümör infiltre edici lenfositlerin varlığının araştırılmasına giderek artan bir ilgi şekillenmiştir. İnsan meme kanserine benzer şekilde kedi meme karsinomları, mastektomi sonrası etkili tedavi seçeneklerinin eksikliği nedeniyle dişi kedilerde kansere bağlı ölümün en sık nedenlerinden biri olmaya devam etmektedir. Bu bağlamda, bu alandaki çalışmaların eksikliğinden dolayı, kedi meme karsinomlarının tümör mikroçevresindeki farklı immun hücre alt popülasyonlarının fenotipini karakterize etmek için immunofloresan yönteminin kullanıldığı bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada CD3⁺ T lenfositlerinin baskın popülasyon olduğu ve çoğunluğunun CD8⁺ T hücrelerden oluştuğu ortaya koyulmuş ve sitotoksik T hücrelerinin kedi meme karsinomlarının mikro ortamında temel oyuncular olduğu öne sürülmüştür. Bu bulgu, insan meme kanserindeki önceki bulgularla uyumludur. Prognozla ilgili olarak sonuçlar, daha yüksek oranda stromal CD8⁺ T hücresinin varlığının, meme

karsinomlu kedilerde olumlu sonucun güvenilir bir göstergesi olabileceğini düşündürmektedir (Nascimento ve diğerleri, 2022).

Son yıllarda yapılan çalışmalar, kedi meme karsinomlarında insan meme kanseri immunohistokimyası bazlı St. Gallen moleküler sınıflandırmasının uygunluğunu ve prognostik değerini göstermektedir. Bu sınıflandırma, farklı moleküler belirteçlerin (yani ER, PR, kedi-homologu HER2, Ki-67 ve CK5/6) ifadesine dayanmaktadır. Buna göre kedi meme karsinomları, Luminal A (LA), Luminal B HER2-negatif (LB-HER2-), luminal B HER2-pozitif (LB-HER2+), HER2 pozitif (luminal olmayan), üçlü negatif bazal benzeri ve üçlü negatif normal benzeri dahil olmak üzere farklı biyolojik davranış ve prognoz sergileyen altı moleküler alt tipte sınıflandırılır. Bunlar arasında Luminal A meme karsinomlu kedilerin, diğer meme karsinomu alt tiplerine göre daha yüksek genel sağ kalım oranı gösterdiği ve tüm alt tipler içerisinde en iyi prognoza sahip olduğu bildirilmiştir (Soares ve diğerleri, 2016; Granados-Soler ve diğerleri, 2020).

Mevcut prognostik göstergeler, meme tümörü olan insanlarda benzer şekilde, sonucu doğru bir şekilde tahmin etmek için yetersizdir (Rosen ve diğerleri, 2020). Meme tümörüne sahip kedilerin sağkalım süresini iyileştirmek, tedaviyi ve hedefe yönelik tedavileri daha doğru bir şekilde yönlendirmek için kedi meme karsinomlarında yaygın olarak kullanılan moleküler belirteçlerin (HER2, ER, PR ve Ki-67) prognostik değerini belirlemek amacıyla daha fazla çalışma gereklidir. Ayrıca daha iyi prognostik belirteçlere de ihtiyaç vardır (Granados-Soler ve diğerleri, 2020; Rosen ve diğerleri, 2020).

Kedi meme tümörü süreci sırasında bazı genlerin, reseptörlerin ya da proteinlerin ekspresyonu değişiklik gösterebilir. Bu moleküler belirteçler immunohistokimyasal yöntemlerle ifade edilebilir (Giménez ve diğerleri, 2010). İmmunohistokimyasal yöntemler, tümör tipinin belirlenmesinde doku kısımlarındaki ilgili antijenlerin konumu ve yarı niceliksel ayrıntıları açısından yararlı bilgiler sunar. Meme kanserine ilişkin immunohistokimyasal çalışmalar 1980'lerde başlamıştır (Tawfik ve diğerleri, 2021). Son zamanlarda ise veteriner onkolojide de immunohistokimyasal prognostik belirteçler, araştırmacılar tarafından sıklıkla kullanılmaktadır. Potansiyel yeni belirteçlerin araştırılması, neoplastik değişimin moleküler patogenezinin aydınlatılmasına katkı sunabilir (Hughes ve Dobson, 2012).

Meme kanserinde sıklıkla üzerinde durulan önemli genler son yıllarda kedi meme tümörlerinde de çalışılmıştır. mRNA'daki genlerin ekspresyonundaki ve protein düzeylerindeki farklılık hem insan meme kanseri hem de kedi meme karsinomlarında ifade edilmiştir. Bu genler arasında HER2 (İnsan epidermal büyüme faktörü reseptörü-2) ve RON

(Tirozin kinaz reseptör geni) geni de yer alır (Hassan ve diğerleri, 2017; Zappulli ve diğerleri, 2005).

Reseptör tirozin kinazları (RTK'ler), hücre büyümesi ile ilgili çeşitli önemli süreçleri düzenlemek için etkinleştirilebilir ve birçok neoplazmada RTK'lerin düzensizliği gözlenir. HER2 reseptörü, HER2 gen amplifikasyonu nedeniyle meme kanserinin bir alt kümesinde aşırı eksprese edilen bir tirozin kinaz reseptörüdür (Hughes ve Dobson, 2012; Muscatello ve diğerleri, 2019). c-erbB-2 olarak da bilinen insan epidermal reseptör tip 2, normalde hücre büyümesi ve farklılaşmasında gerekli sinyal iletim yollarında rol oynar (Giménez ve diğerleri, 2010). HER2 proteinin insanlarda ifade edilene benzer şekilde, kedi meme kansinomlarının %30'unda aşırı ekspresyonu dikkat çekmiştir. Son zamanlarda kedilerde kısmen dizilenmiş olan HER2 gen transkripti, köpek ve insan dizisi ile yüksek oranlarda homoloji göstermiştir. HER2-pozitif kansinomlar kötü diferansiyasyon göstermeye meyillidir (Zappulli ve diğerleri, 2005). HER2 geninin artan kopya sayısı, reseptör tirozin kinaz ürününün aşırı ekspresyonunu tetikler; bu da meme kanseri ve yumurtalık kansinomlarının kötü prognozunda rol oynamaktadır (Muscatello ve diğerleri, 2019). HER-2'nin aşırı eksprese edildiği tümörleri olan kedilerin hayatta kalma sürelerinin kısa olduğu tespit edilmiştir. Bu bulgular HER-2 gen ekspresyonunun önemli bir prognostik değer olduğunu göstermektedir (Giménez ve diğerleri, 2010). Bazı araştırmacılar HER-2 ekspresyonu ile prognoz arasında bir korelasyon olduğunu gösterse de beş farklı immunohistokimyasal boyama protokolü ve kapsamlı bir numune paneli kullanılan bir çalışmada, HER-2'nin kedilerde daha az prognostik potansiyele sahip olabileceği bildirilmiştir. Ayrıca, COX-2 (siklo-oksijenaz-2) ekspresyonunun HER2 aşırı ekspresyonu ile korele olmasına rağmen Ki67 ve p53 ekspresyonunun HER2 ekspresyonu ile korele olmadığı gösterilmiştir (Hughes ve Dobson, 2012; Rasotto ve diğerleri, 2011). Floresan in situ hibridizasyon (FISH), immunohistokimya tarafından değerlendirilen pozitif ve şüpheli kedi meme kansinomlarında HER2 amplifikasyonunu tanımlamak için özel bir yöntemdir ve son zamanlarda HER2 amplifikasyon durumunun değerlendirilmesinde altın standart yöntem olarak kabul görmektedir. Ancak HER2 amplifikasyonunun, meme tümörü kansinogenezini yönlendiren bir gen değişikliği mi yoksa yalnızca seyirci bir yolcu mutasyonu mu olduğu henüz belirlenmemiştir. HER2'nin kedi meme tümörlerinin kansinogenezindeki potansiyel rolünü belirlemek için daha ileri moleküler biyolojik tekniklerle doğrulayıcı çalışmalara ihtiyaç vardır (Muscatello ve diğerleri, 2019).

RON proteini, tümör hücrelerinin invazif özelliğinden sorumlu sinyal kaskadının aktivasyonunda rol oynayan diğer bir MET (mezenkimal-epitelyal geçiş) tirozin kinaz

reseptör ailesinin üyesidir (Zappulli ve diğerleri, 2005). İnsan memesinde, yumurtalıklarında, kolonunda ve akciğer tümörlerinde eksprese edilir. MET gen ailesi, insan MET ve RON reseptörlerini ve bunların fare homologlarını (sırasıyla MET ve serin/treonin kinaz-stk) kodlar. İnsan RON geni meme kanserinde aşırı ifade edilir. Kedi stk geninin ekspresyonu 34 kedi meme karsinomunun 10'unda tanımlanmıştır (Hughes ve Dobson, 2012). Kedi stk dizilerinin, insan ve diğer türlerdeki stk ve RON reseptörlerinin jukstamembran ve transmembran alanlarını kodlayan stk ve RON gen ekzonlarına oldukça homolog olduğu tespit edilmiştir (De Maria ve diğerleri, 2002). Son zamanlarda dizilenmiş kedi stk geni, RON insan genine oldukça homoloji göstermiştir. Kedi meme karsinomlarında gözlenen kedi stk geni ekspresyonu, vakaların %20'sinde 20 kattan daha yüksek seviyede eksprese edilmiştir (Zappulli ve diğerleri, 2005).

Siklin A, hücre siklusunu düzenleyen bir gendir (Giménez ve diğerleri, 2010). Siklin A, hücre döngüsünün S, G2 ve M fazlarında ifade edilir (Hughes ve Dobson, 2012). Yapılan bir çalışma sonucunda, Siklin A kedi meme karsinomlarının %48,6'sında tespit edilmiştir. Bu sonuçlar Siklin A'nın kedi meme karsinomu oluşumunda rol alabileceğini düşündürmektedir (Giménez ve diğerleri, 2010). Kedi meme karsinomları, immunohistokimya ile insan kanserlerinde sıklıkla tanımlanan siklin A'nın aşırı ekspresyonunu göstermiştir (Zappulli ve diğerleri, 2005). D tipi siklinler, hücre siklusunun G1'den S fazına doğru ilerlemesini kontrol eder. Kedi lezyonlarında siklin D1'in ekspresyonuna ilişkin immunohistokimyasal bir çalışma, pozitif boyamayı göstermede başarısız olmuştur (Hughes ve Dobson, 2012).

Prostoglandin endoperoksit sentetaz ya da diğer adıyla siklooksijenaz, araşidonik asitten prostoglandin sentezinde kilit rol oynayan bir enzimdir. COX'in iki yapısal formu COX-1 ve COX-2 tanımlanmıştır (Giménez ve diğerleri, 2010). COX-2, hücre çoğalmasını, mitozu, hücre adezyonunu, apoptozisi, anjiyogenezi ve immun denetimi etkileyerek malign dönüşüm ve tümör ilerlemesinde rol oynayan, hızla indüklenebilir bir enzimdir (De Campos ve diğerleri, 2016). İnsan kanserlerinin birçoğunda COX-2'nin artan ifadesi tespit edilmiştir (Giménez ve diğerleri, 2010). COX-2 ekspresyonu, kedi oral skuamöz hücreli karsinomlarında ve meme karsinomlarında ifade edilmiştir (Hughes ve Dobson, 2012). Yapılan önceki çalışmalarda kötü huylu kedi meme bezi tümörlerinde yüksek pozitiflik (%87 ve %95) olduğu rapor edilmiştir ve bu durum kötü prognoz ile ilişkilendirilmiştir (De Campos ve diğerleri, 2016; Giménez ve diğerleri, 2010).

Topoizomeraz IIβ bağlayıcı protein 1 (TopBP1), insanlarda meme kanseriyle ilişkili ailesel gen olan BRCA2 (Meme kanseri gen 2) ile fonksiyonel ve yapısal benzerlik gösteren nükleer bir proteindir (Giménez ve diğerleri, 2010). TopBP1, DNA polimeraz ile etkileşime

girer ve DNA (deoksiribonükleik asit) replikasyonu için gereklidir (Hughes ve Dobson, 2012). TopBP1'in ekspresyonu, neoplastik ve neoplastik olmayan kedi meme lezyonlarında immunohistokimyasal yöntemler kullanılarak araştırılmıştır. Sonuçlara göre malignite derecesi arttıkça ekspresyonun arttığına yönelik bir eğilim gözlenmiştir (Morris ve diğerleri, 2008). BRCA1 (Meme kanseri gen 1) ve BRCA2 genlerindeki germ hattı mutasyonları, kadınlarda mevcut kalıtsal meme kanseri riski ile ilişkilidir. Fakat meme kanserlerinin geneli doğası gereği sporadiktir (Cannon, 2015).

Ki-67, geç G1, G2, S ve M fazları sırasında döngüsel hücrelerde eksprese edilen nükleer bir nonhiston proteindir. Ki-67 ekspresyonu mitozdan sonra hızla kaybolur. (Tawfik ve diğerleri, 2021). Ki-67, döngüsel olmayan hücrelerde eksprese edilemez. Ki-67 pozitif hücrelerin göreceli sayısı, büyüme fraksiyonunu gösterir. (Hughes ve Dobson, 2012). Castagnaro ve diğerleri (1998), kedi meme karsinomlarında Ki-67 antijenine yönelik gerçekleştirdikleri immunohistokimyasal boyamalarda, hafiften güçlüye değişen düzeylerde nükleer boyanma gözlemlemişlerdir. Ki-67'nin malign tümörlerdeki proliferasyon indeksi, benign tümörler ve displastik bozukluklardan daha yüksektir. Yüksek bir Ki-67 indeksi metastaz, neoplazi mortalitesi ve düşük hayatta kalma oranları ile ilişkilidir (Tawfik ve diğerleri, 2021). Ki-67 ekspresyonunun yüksek düzeyi kötü bir prognoza işaret etmektedir (Hughes ve Dobson, 2012).

DNA şablonunun uçlarının replike olmaması sebebiyle her hücre bölünmesinden sonra kısalan telomerler, kromozomların uçlarında yer alır. Telomeraz ise telomer kopyalanmasını sağlayan embriyonik bir enzimdir. Çoğu olgun hücrede telomeraz ekspresyonu gözlenmez. Telomerler daha fazla bölünmenin yasak olduğu noktaya kadar yalnız sınırlı sayıda bölünmeye uğrayabilir. Telomerazın tümör hücreleri tarafından yeniden ekspresyonu, hücre bölünmesine izin vererek bu noktanın ötesine geçildiğini gösterir. Kedi meme dokularında telomeraz aktivitesi ve ekspresyonunu değerlendirmek amacıyla telomeraz tekrar amplifikasyon protokolü ve immuhistokimya yöntemine başvurulmuştur. Özellikle immunohistokimyanın tek başına fonksiyonel bir aktivite analizi sağlamadığı dikkate alınır, kedi meme neoplazilerinde telomeraz aktivitesinin ve ekspresyonunun değerlendirilmesi için daha ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır (Hughes ve Dobson, 2012).

Protein p53, hücre siklusunu düzenleyen ve tümör baskılayıcı bir gendir. İnsanlarda meydana gelen kanserlerin yarısından fazlasında p53 proteininde ve onun ortaklarından birinde mutasyon gözlenmiştir. Aynı zamanda kedilerde gözlenen meme karsinomlarının %18,9'unda da immunohistokimyasal yöntemlerle p53 mutasyonu ve nükleer birikim saptanmıştır. Adenokarsinomlarda adenomlara göre daha yüksek düzeyde

immunohistokimyasal reaktivite gözlenmiştir. Yapılan diğer çalışmaların sonucunda karsinomların %32,5-33'ünde p53'ün aşırı derecede ekspre edildiği rapor edilmiştir (Giménez ve diğerleri, 2010).

Fosfataz ve tensin homologu (PTEN), fosfatidil inositol 3-kinaz (PI3K) aktivitesine karşı çıkan tümör baskılayıcı bir gendir. Köpek meme karsinomlarında daha kısa hastalıksız hayatta kalma süresi ile ilişkilendirilmiştir. Kedi meme karsinomları üzerinde yapılan küçük bir çalışma, nispeten daha düşük seviyede PTEN ekspresyonu olduğunu göstermiştir (Hughes ve Dobson, 2012).

Tümör mikroçevresindeki neoplastik olmayan hücrelerin büyük bir kısmını oluşturan mezenkimal veya kemik iliği kaynaklı stromal hücreler, kemokin stromal hücre kaynaklı faktör-1'i (SDF-1/CXCL12) yapısal olarak salgılar (Burger ve Kipps, 2006). CXCL12'nin G-protein bağlı yedi-transmembran alanlı kemokin reseptörü 4'e (CXCR4) bağlanması, çoklu sinyalleşme basamaklarını aktive eder, tümör büyümesini ve karaciğer, akciğer, kemik dahil olmak üzere birçok kanser türünün metastazını düzenler (Ferreira, 2017). Kemokin reseptörü CXCR4 reseptörü, CXCL12 sinyali yoluyla immun sistemin gelişiminde ve organizasyonunda önemli bir rol oynar (Hughes ve Dobson, 2012). Reseptör CXCR4 ve onun ligandı CXCL12 de kedi meme karsinomlarında da incelenmiştir (Nascimento ve Ferreira, 2021). İnsan meme kanserlerinde metastaz gelişimi tümöral hücreler tarafından kemokin reseptör (CXCR4) yolunun kullanımı ile ilişkilendirilmiştir ki kedi meme karsinomlarında bulunan metastatik odaklarda primer tümöral hücrelere göre daha fazla seviyede CXCR4 ekspresyonu bildirilmiştir (Zappulli ve diğerleri, 2005). CXCR4 birincil tümörde eksprese edilirken, insan meme kanseri çalışmalarının bulgularına uygun olarak karaciğer ve akciğer metastatik lezyonlarında CXCL12 yüksek oranda eksprese edilmiştir. Ayrıca azalmış CXCL12, HER2-pozitif karsinomlu kedilerde kötü prognoz ile ilişkilendirilmiştir (Nascimento ve Ferreira, 2021).

Tümör oluşumu sırasında proliferen olan tümör hücrelerinin klinik olarak uygun bir boyuta ulaşabilmeleri için damarlaşmayı uyarma yeteneğine sahip olmaları gerekir. Bu da kedi meme tümörlerinde anjiyogenik bir faktör olan VEGF'in araştırılmasına yol açmıştır (Hughes ve Dobson, 2012). VEGF, tümörlerin büyümesinde, istilasında ve metastazda rol oynar. İnsan meme kanserinde, yüksek seviyede VEGF içeren tümörlerin biyolojik olarak daha agresif olduğu tespit edilmiştir (Giménez ve diğerleri, 2010). Kötü diferansiye kedi meme karsinomlarında da yüksek düzeyde VEGF ekspresyonu bildirilmiştir (Zappulli ve diğerleri, 2005).

Neoplazinin gelişiminin yanında metastaz yapması için de anjiyogenez ve lenfanjiyogenez gereklidir. Bunlar stromal ya da tümör büyüme faktörleri tarafından indüklenirler (Folkman, 1971). Daha önce yapılan araştırma sonuçları, trombosit kaynaklı büyüme faktörleri (PDGF'ler), fibroblast büyüme faktörü (FGF) ve Angiopoietin-1 (Anjiyopoietin-1)'i anjiyogenez; VEGFD (Serum vasküler endotelial büyüme faktörü D), VEGFC (Serum vasküler endotelial büyüme faktörü C) ve VEGFR'yi (Serum vasküler endotelial büyüme faktörü reseptörleri) lenfanjiyogenez ile ilişkilendirmiştir (Hassan ve diğerleri, 2017). VEGFC, VEGFD ve bunların reseptörü olan VEGFR-3, tümör metastazının lenfatik sistem aracılığıyla gerçekleşmesinde önemli düzenleyicileridir (Matsumoto ve diğerleri, 2013). Ayrıca VEGFC, lenfatik endotel hücreleri üzerinde VEGFR-3'ü aktive ederek lenfanjiyogenezde rol oynar ve fare meme kanseri modellerinde tümörün bölgesel lenf düğümlerine yayılmasını kolaylaştırır. Hem VEGFD hem de VEGFR-3, incelenen tüm kedi meme karsinomları primer kanserlerinde, ksenograftlarda ve hücre hatlarında yüksek ila orta derecede eksprese edilmiştir; bu durum kedi meme karsinomlarının lenfatik sistem yoluyla metastaz yapma eğilimi ile tutarlıdır. VEGFR-3, kedi meme karsinomlarının tedavisi için potansiyel bir hedef olarak kullanılabilir. ANGPT1, mural hücrelerini toplayarak yeni oluşan vasküler sistemi stabilize eden Tirozin- protein kinaz reseptörünün primer ligandıdır. ANGPT2 (Anjiyopoietin-2) ise ANGPT1- TIE2'nin indüklediği endotel duvar hücrelerini etkileyerek kan damarlarının dengesini bozan bir antagonist ya da kısmi agonist ligandır (Hassan ve diğerleri, 2017). ANGPT2 ekspresyonu malign karakterli meme tümörlerinde kötü prognoz ile ilişkilendirilmiştir (Sfiligoi ve diğerleri, 2003). Birincil kedi kanserlerinde gösterilen ANGPT2'nin artan ekspresyon seviyeleri, bunun kanserin ilerlemesi ve metastazı ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir (Hassan ve diğerleri, 2017).

Pro-anjiyogenik faktör olan hipoksiyle indüklenen faktör-1 α (HIF-1 α), Chen ve arkadaşları tarafından 2020 yılında araştırılmıştır. Bu faktörü aşırı eksprese eden meme karsinomlu kedilerin daha düşük bir genel sağkalım süresine sahip olduğu bildirilmiştir (Chen ve diğerleri, 2020).

EGFR (Epidermal büyüme faktörü reseptörü) ailesi üyeleri, metastazın gerçekleşmesinde görevli yolları düzenleyen önemli genlerdir. Kedi EGFR tirozin kinaz (TK) amino asit sekansı ile insan EGFR TK sekansının yüksek seviyelerde homoloji göstermesi kedi meme karsinomlarında terapötik bir hedef olarak kullanılma potansiyelini desteklemektedir (Hassan ve diğerleri, 2017).

Hücre göçü, kanserin invazyonu ve metastazı için önemli bir fonksiyondur ve epitelyalden mezenkimale geçiş (EMT), hücrelerin primer tümörlerden göç etmesini uyarır. Myoferlin (MYOF), meme kanserinde aşırı eksprese edilen yeni bir gendir. Tükenmesi, mezenkimalden epitelyal geçişe ve hücre dışı matris yoluyla istilanın azalmasına bağlıdır (Volakis ve diğerleri, 2014). Myoferlin gen ekspresyonunun ölçüldüğü tüm kedi meme karsinomlarında, ksenograftlar ve hücre çizgileri daha yüksek düzeyde myoferlin ekspresyonu göstermiştir. Bu durum, kedi meme karsinomlarının myoferlini hedef alan terapötiklerin değerlendirilmesi için uygun bir model olacağını göstermektedir (Hassan ve diğerleri, 2017).

Son zamanlarda, meme tümörlerinin stroma hücrelerinin, CXCR4 aracılığıyla otokrin ve parakrin mekanizmaları yoluyla tümör büyümesini destekleyen kemokin SDF-1'i (Stromal hücreden türetilen faktör-1) sentezlediği gösterilmiştir. SDF-1'in aşırı ekspresyonunun insan meme kanseri tanısında büyük değere sahip olduğu, SDF-1 ligandını hedef alan tanı araçlarının ve tedavilerin klinik sonucu iyileştirebileceğini öne sürülmüştür. Meme karsinomlu kedilerin serum SDF-1 düzeylerinin sağlıklı kedilere göre önemli ölçüde daha yüksek olduğu ve serum SDF-1 seviyelerinin, özellikle HER2'yi aşırı eksprese eden meme tümörleri olan kedilerde kedi meme karsinomunun bir biyobelirteçi olarak kullanılabileceği literatürde yer almaktadır (Marques ve diğerleri, 2017).

Kendi kendini yenileme, farklılaşma ve yüksek frekansta tümör oluşturma kapasitesine sahip, tümör başlatan hücreler (TIC'ler) olarak bilinen küçük bir hücre popülasyonu, tümörün başlatılmasında, saldırganlığında ve nüksetmesinde potansiyel bir role sahiptir. Gerçekleştirilen çalışma sonuçları, kanser kök hücrelerinin veya tümör başlatan hücrelerin tümörün başlatılmasında, ilerlemesinde, nüksetmesinde ve metastazında rol oynadığını göstermektedir. Veteriner hekimlikte ise köpeklerde osteosarkom, meme karsinomu, glioma ve pulmoner adenokarsinomda; kedilerde skuamöz hücreli karsinom ve meme karsinomunda TIC'lerin mevcut olduğuna dair kanıtlar literatürde yer almaktadır (Michishita ve diğerleri, 2013).

Geçirgenlik glikoproteini (P-gp), hormonların, fostolipitlerin ve sitokinlerin taşınmasında aracılık eder. Normal meme bezi dokusundaki epitelyal hücrelerde P-gp bulunmazken kedi meme karsinomlarındaki tümör hücrelerinin çoğunda yoğun şekilde bulunmaktadır. P-gp immunekspresyonu tümör derecesi ile pozitif ilişkilidir. P-gp ifadesinin prognostik değeri belirsiz ve tartışmalıdır (Manoel ve diğerleri, 2021).

Dişi steroid hormonlarının, insanlar ve kedilerde meme tümörü oluşumu ile ilişkili olduğu bilinmektedir (Zappulli ve diğerleri, 2005). Kedi meme karsinomlarının yaklaşık %95-

99'unun dişi kedilerde olması da dişi hormonal ortamının onkogeneziste önemli bir rolü bulunduğunu göstermektedir. Ayrıca, kedilere ve hayvanat bahçesinde kedigillere sentetik progestin sağaltımı içeren çalışmaların sonucunda ortaya çıkan meme tümörlerini belgeleyen vaka raporları da hormonların meme tümörü oluşumundaki rolünün önemine katkı sunmaktadır (Hughes ve Dobson, 2012). Proöstrus sırasında düşük seviyelerde gözlenen östrojen, bu noktanın sonunda istikrarlı bir şekilde yükselişe geçer ve östrus aşamasında azalmaya başlar. Progesteron ise kızgınlık zamanı artma eğilimi gösterir. Östrojen reseptörü ve progesteron reseptörü ise evcil hayvanlarda kızgınlık döngüsü sırasında eksprese edilen transkripsiyon faktörleridir ve östrojen, progesteron gibi steroid hormonlar tarafından kontrol edilirler. (Tawfik ve diğerleri, 2021). Meme bezi hem normal hem de tümöral dokularında farklı hormon reseptörlerini eşzamanlı olarak eksprese edebilir. Östrojenler, interlobüler ve intralobüler kanalların büyümesini direkt olarak uyarabilir ve progesteron reseptörlerinin ekspresyonunu indükleyebilir. Progesteron ise tubuler-alveolar birimlerin gelişimini stimule eder ve büyüme hormonunun ekspresyonunu indükler (Zappulli ve diğerleri, 2005). Yapılan önceki çalışmaların sonuçları, kedi meme tümörlerinde insan ya da köpek meme neoplazilerine göre daha az östrojen reseptörü ekspresyonu olduğunu göstermektedir (Overley ve arkadaşları, 2005). Östrojen reseptörü pozitif meme karsinomları genellikle (%70-80) iyi diferansiye olmuşlardır. Östrojen reseptörü negatif karsinomlar ise kötü farklılaşma düzeylerine sahiplerdir. Östrojen reseptörü negatif yüksek derecede agresif meme tümörlerine (%80) sahip olma eğiliminde olan kediler, geç evre insan meme kanseri için iyi bir model olma özelliği gösterirler (Zappulli ve diğerleri, 2005). Progesteron reseptör ekspresyonu ise malign karakterli kedi meme tümörlerinde %38,5 ve benign neoplazmalar ile displazilerde %66,7 seviyelerinde tespit edilmiştir (Hughes ve Dobson, 2012). Bununla birlikte, 2005 yılında gerçekleştirilen bir çalışmada immunohistokimya ile progesteron reseptör pozitifliğinin ovariektomi yokluğu ile anlamlı bir korelasyon içinde olduğu bildirilmiş ve genellikle malign lezyonlarda bir azalma gözlemlendiği rapor edilmiştir (Zappulli ve diğerleri, 2005). Kedi meme karsinomlarının, insandaki geç evre östrojen reseptörü negatif meme tümörlerinin potansiyel spontan modeli olarak değerlendirilmesi de ovariohisterektominin kedi meme karsinomlarının görülme sıklığı üzerindeki etkisinin dikkate alınmasını gerektirir (Hughes ve Dobson, 2012).

Ağır metallere seçici afinite gösteren düşük molekül ağırlıklı proteinler olan metallothioneinler, geçiş metali iyonu ve homeostazisini ve redoks dengesini korumakta etkili, hücre çoğalması ve apoptoziste rol alan, malign tümörlerde benign tümörlere göre daha sık ifade edilen metal bağlayıcı proteinlerdir (Hughes ve Dobson, 2012; Manoel ve diğerleri,

2021). Metalloproteinlerin aşırı ekspresyonu, insan invaziv duktal tümörlerinde sıklıkla gözlenmiş ve kötü bir prognoz ile ilişkilendirilmiştir (Manoel ve diğerleri, 2021). Kedilerde metalloproteinlere karşı immün reaksiyon sadece kedi meme karsinomlarında (%30 oranında) tespit edilirken, benign lezyonlarda gözlenmemiştir (Zappulli ve diğerleri, 2005). Metalloproteinlerin immünekspresyonu, agresif kedi meme karsinomlarının moleküler alt tiplerinin bir özelliğidir (Manoel ve diğerleri, 2021).

Sinyal ileticisi ve transkripsiyon aktivatörü (STAT) gen ailesi, diferansiyasyon, proliferasyon ve apoptoziste rol alan kontrol fonksiyonlarına sahip transkripsiyon faktörlerini kodlar. STAT'lar fosforilasyon yoluyla etkinleşir. Transkripsiyonu modüle etmek için çekirdeğe gitmeden önce dimerize olurlar. Yapısal olarak aktif STAT'lar ilk olarak meme karsinomlarında ifade edilmiştir. Kedi meme lezyonlarında fosforile edilmiş STAT3'ün immunohistokimyasal ekspresyonu değerlendirilmiş ve bunun sonucunda STAT'ların anormal aktivasyonunun kedi meme tümörü oluşumunda rol alabileceği olasılığına varılmıştır. Klinik sonuca ilişkin direkt verilerin eksik olmasından dolayı yapılacak olan çıkarımlar sınırlı düzeyde kalmıştır (Hughes ve Dobson, 2012).

Apoptozisten kaçınma, kanserin ayırt ediciği özelliklerinden biri olarak kabul edilir; çünkü, apoptozis neoplazinin patogenezinde ve ilerlemesinde rol oynayan önemli bir süreçtir (Dolka ve diğerleri, 2016; Kaloni ve diğerleri, 2023; O' Donovan ve diğerleri, 2003; Olsson ve Jivotovsky, 2011; Pu ve diğerleri, 2017). Apoptozis ile ilişkili proteinlerin de neoplazinin oluşumu sırasında önemli rol oynadığı doğrulanmış; hatta bu proteinlerin, karsinogenezi kolaylaştırdığına dair kanıtlar ortaya çıkmıştır (Dolka ve diğerleri, 2016; Liu ve diğerleri, 2015). Apoptozisle ilişkili proteinler, meme kanseri için de potansiyel biyobelirteçler olarak kabul edilmiştir (Dolka ve diğerleri, 2016). Aynı biyobelirteçler, kedi meme karsinomlarında hastalığın seyrinin izlenmesi ve tanı doğruluğunun artırılmasında da hayati önem taşımaktadır (Masood ve diğerleri, 2025). Apoptozisin merkezi düzenleyici proteinleri arasında yer alan kaspaz ailesinin bir üyesi olan kaspaz 3, çeşitli malignitelerde apoptozisin bir göstergesi olarak bilinmektedir (Fayed ve diğerleri, 2022; Silva ve diğerleri, 2022). Apoptoziste önemli rolü olan bir diğer protein ise Bcl-2'dir (Kaloni ve diğerleri, 2023). Anti-apoptotik Bcl-2'nin aşırı ekspresyonu apoptozisi engellemektedir ve bu durum meme kanseri dahil çeşitli kanser türlerinde sıklıkla tespit edilmektedir (Hassan ve diğerleri, 2025; Kaloni ve diğerleri, 2023; Young ve diğerleri, 2022). Bcl-2 çeşitli kanserlerde neoplazinin şekillenmesinde, ilerlemesinde, sağaltıma karşı dirençte ve potansiyel metastatik yayılımla ilişkilendirilmektedir. Bu durum Bcl-2'yi meme kanseri de dahil birçok kanser türünde

potansiyel hedef haline getirmiştir (Dolka ve diğerleri, 2016; Hassan ve diğerleri, 2025; Kaloni ve diğerleri, 2023; Young ve diğerleri, 2022).

2.4. Apoptozis

Apoptozis, çok hücreli bir organizmada zararlı olan hücreleri ortadan kaldırmak için işlev gören, doku homeostazisinde ve gelişiminde önemli bir rol oynayan, hastalık sırasında organizmanın istenmeyen hücreleri elimine etmesine yardımcı olan genetik bir hücre ölüm programıdır (Nakopoulou ve diğerleri, 2001; Porter ve Jänicke, 1999; Silva ve diğerleri, 2022). Hem fizyolojik hem de patolojik koşullar altında meydana gelen apoptozis, hücrel stres tepkisi, immun sistem ve embriyonik gelişim de dahil olmak üzere çeşitli biyolojik sistemlerde rol oynar (Faraglia ve diğerleri, 2005; Rodrigues ve diğerleri, 2016). Yaklaşık 40 sene önce, hücrelerin neoplastik özellik kazanma potansiyelini engelleyen önemli bir savunma stratejisi olarak ifade edilmişken 1997 yılında Kerr ve arkadaşları tarafından apoptozis, programlanmış hücre ölüm süreci olarak tanımlanmıştır (Olsson ve Jivotovsky, 2011; Yadav ve diğerleri, 2021).

Apoptozis için iki ana yol mevcuttur, bunlar; ekstrinsik reseptör aracılı gerçekleşen dışsal apoptozis ve mitokondriyal dış zar geçirgenleşmesi aracılığıyla gerçekleşen içsel apoptozistir. Hücre içi stres, DNA hasarı, hücre siklusu veya metabolik yollardaki bozukluklar içsel hücre ölüm yoluyla apoptozisi aktive edebilirken dışsal apoptozis hücre dışı ligandların transmembran ölüm reseptörlerini uyarmasıyla başlatılır (Brentnall ve diğerleri, 2013; Olsson ve Jivotovsky, 2011; Silva ve diğerleri, 2017).

Apoptozisin karsinogenez sürecinin patogenezinde ve ilerlemesinde önemli rollere sahip olduğunu söyleyen birçok çalışma vardır (Dolka ve diğerleri, 2016; Faraglia ve diğerleri, 2005; Rodrigues ve diğerleri, 2016). Apoptozisteki dengesizlik, tümör ilerlemesi ve karsinogenezdeki temel süreçlerden birisidir (F. Silva ve diğerleri, 2022; M. Silva ve diğerleri, 2017). Hücrelerin düzenli bir şekilde çoğalmasını garantileyen düzenleyici proteinlerin aktivitesinde meydana gelen anormallikler, hücre proliferasyonuna, kromozomal bütünlüğün korunmasında aksaklıklara veya tümör büyümesinin artmasına sebep olabilir. Tümör büyüme hızı, hücre çoğalması ve apoptozis tarafından belirlenir, bu iki faktör arasında oluşacak bir dengesizlik tümörün büyümesi, ilerlemesi veya gerilemesi için kritik derecede önemlidir. Bu sebeple apoptozis ve/veya hücre proliferasyonunda meydana gelebilecek

değişimler, kanserin patogeneğinde ve sağıltıma karşı cevapta önemli düzeyde belirleyici bir faktördür (Rodrigues ve diğeri, 2016). Apoptozis, tümörün malign karakter kazanmasında iki sebepten dolayı önem arz etmektedir: İlk olarak apoptozisin inhibisyonu, kanserin hem başlaması hem de ilerlemesinde kritik bir noktadır. İkinci olarak da çoğı sitotoksik antikanser ajanı, kısmen de olsa apoptozisi indükleyerek tümörün gerilemesine sebep olur (O' Donovan ve diğeri, 2003). Apoptozisin DNA hasarı meydana gelmiş hücreleri yok etmedeki temel rolü sebebiyle genellikle karsinogenezi önleyici bir süreç olduğu düşünölmektedir ancak neoplastik hücreler büyüme engelleme sinyallerinden kaçabilir ve bu hasar karşısında bile apoptozisi önlemek için mekanizmalar geliştirebilir (Liu ve diğeri, 2015; Silva ve diğeri, 2022). Düşük apoptotik reaksiyona sahip bireylerin tehlikeli mutasyonları ihtiva eden hücreleri biriktirme potansiyeline daha yatkın olduğu ve bu bağlamda nüks riskinin bu bireylerde daha olası olduğu hipotezi çeşitli çalışma verileri ile desteklenmektedir. Düşük apoptozis duyarlılığının aslında daha kapsayıcı bir immun sistem nedeniyle kansere karşı korunmaya yardımcı olabileceğini öngören alternatif bir hipotezi destekleyen kanıtlar da mevcuttur (Rodrigues ve diğeri, 2016). Kanser oluşumunda rol alan moleküler mekanizmaların aydınlatılması, anormal büyüme sinyallerini kopyalayan hücre içi yolları bozmak veya neoplazideki normal tümör baskılayıcı gen fonksiyonunu geri kazandırmak için geliştirilen moleküler tedavi stratejilerinin zenginleştirilmesine katkı sağlamıştır (Silva ve diğeri, 2022). Kanser hücrelerinin apoptozisten kaçma yeteneğı, kanser sağıltımının ayırt edici bir özelliğı olarak kabul edilir ve apoptozisin hedeflenmesi her türlü kanser için etkili bir yöntemdir (Silva ve diğeri, 2022; Yadav ve diğeri, 2021). Apoptozis aracılı antikanser aktiviteleri için klinik denemeler altında çok sayıda ajan ve kombinasyon terapileri bildirilmiştir. Son zamanlarda Bcl-2, kaspaz 3, tubulin ve kinazlar gibi farklı düzenleyici proteinlerin inhibisyonu veya aktivasyonu yoluyla apoptozisin indüklenebileceğı öngörölmüştür (Yadav ve diğeri, 2021).

Neoplastik dönüşüm geçiren hücrelerde meydana gelen apoptotik yollardaki bozukluklar, karsinogenezi destekleyen bir süreçtir. Örneğın, Bcl-2 ailesinin pro-apoptotik ve anti-apoptotik üyeleri arasındaki dengesizlik, karsinogenezi teşvik edebilir (Irshad ve diğeri, 2023). Bundan dolayı apoptozisin düzenlenmesinde hücre ölümünü inhibe etmede rol oynayan Bcl-2 ailesinin anti-apoptotik üyesi Bcl-2 gibi inhibitörler ve hücre ölümünü aktive eden kaspazlar gibi promotörler, karsinogenezi ile yakından ilişkilidir (Brentnall ve diğeri, 2013; Dolka ve diğeri, 2016; F. Silva ve diğeri, 2022; M. Silva ve diğeri, 2017).

2.4.1. Kaspaz 3 (Caspase 3, CPP32)

Aspartat kalıntısının karboksil tarafındaki substratlarını parçalayan aspartata özgü sistein proteazlar olan kaspazlar, hücrelerde inaktif pro-enzimler olarak bulunurlar ve proteolitik işleme yoluyla aktif formlarına dönüşürler (Nakopoulou ve diğerleri, 2001; O'Donovan ve diğerleri, 2003; Silva ve diğerleri, 2017; Yadav ve diğerleri, 2021). İçsel ve dışsal yollarla tetiklenebilen hasarlı veya istenmeyen hücrelerin intihar etmek için kendi altyapılarını sistematik olarak yok ettiği apoptozis, kaspazların aktivasyonu ile gerçekleşir yani kaspazlar, programlanmış hücre ölümünün önemli araçlarıdır (Faraglia ve diğerleri, 2005; Liu ve diğerleri, 2015; Porter ve Jänicke, 1999; Rodrigues ve diğerleri, 2016; Silva ve diğerleri, 2017). Sitotoksik strese maruz kalan hücrelerde bir kez aktive olan kaspazlar, sitoskeletal proteinler, onkoproteinler ve DNA onarımı sisteminin proteinleri gibi çok çeşitli hücresel hedefleri yok ederek genellikle hücrenin ortadan kaldırılmasıyla sonuçlanacak geri döndürülemez bir sürece yol açarlar (Liu ve diğerleri, 2015; Rodrigues ve diğerleri, 2016).

Kaspazlar; işlevlerine, N-terminal prodomain uzunluklarına ve bölünme özgüllüklerine göre üç gruba ayrılır: Sitokin olgunlaşmasında rol oynayan grup I yangısal kaspazlar (kaspaz 1, 4, 5, 11 ve 12) ve apoptozisin düzenlenmesinde rol oynayan kendi içlerinde iki alt gruba ayrılan grup II kaspazlar. Apoptoziste rol oynayan kaspazlar kendi içlerinde apikal (başlatıcı) kaspazlar (kaspaz 2, 8, 9 ve 10) ve efektör (cellat, infazcı) kaspazlar (kaspaz 3, 6 ve 7) olarak sınıflandırılırlar. Başlatıcı kaspazlar, ilk aktive edilenlerdir ve proapoptotik sinyallerle aktive olduklarında efektör kaspazları aktive ederler. Efektör kaspazlar hücrelerde yapısal olarak dimerler şeklinde üretilirler, aktivitelerini tetiklemek için bir başlatıcı enzim tarafından proteolitik işleme ihtiyaç duyarlar. Aktif olan efektör kaspazlar, hücreyi parçalamak için gerekli olan çok sayıda yapısal ve düzenleyici proteini içeren geniş bir hücresel protein spektrumunu hedef alır ve hücre ölümüne yol açar. Bir başlatıcı kaspaz 90'dan fazla amino asit N-terminal prodomain içerirken, bir efektör kaspaz prodomain dizisinde 20-30 kısımlık bir bölümü kapsar. Tüm kaspazlar inaktif zimojenlerde meydana gelir ve efektör kaspazların aksine, apikal kaspazlar monomerik zimojenler olarak çevrilirler. Yangısal kaspazlar ise patojenlere karşı doğuştan gelen bağışıklıkla ilişkilidir dolayısıyla bu çalışma kapsamının dışındadır (Olsson ve Jivotovsky, 2011; Silva ve diğerleri, 2022; Yadav ve diğerleri, 2021).

Memelilerde 10'dan fazla kaspaz tanımlanmıştır ve bunların arasından kaspaz 3, birçok dokuda ifade edilmekte ve kesinlikle apoptoziste rol oynamaktadır (Yamabe ve diğerleri, 1999). Meme epitelleri de dahil olmak üzere birçok hücrede bulunan kaspaz 3 (caspase 3,

CPP32 veya apopain olarak da bilinir), hem içsel hem de dışsal yolların etkisiyle aktive olmasından dolayı hücre ölümüne bağlı kaspaz aktivasyonun başlıca uygulayıcısı ve ana etkili kaspaz olarak kabul edilir (Nakopoulou ve diğerleri, 2001; Rodrigues ve diğerleri, 2016; Silva ve diğerleri, 2022; Yamabe ve diğerleri, 1999). Memelilerde kaspaz 3, temel yapısal proteinlerin, önemli sinyalleme, onarım ve homeostatik enzimlerinin uygunsuz aktive edilmesine veya hızlı bir şekilde devre dışı kalmasına yol açan bir proteaz kaskadı içinde aktive olmaktadır (Porter ve Jänicke, 1999). Apoptosis sürecinde hücresel değişikliklerden sorumlu olan kaspaz 3, efektör kaspazların en yaygın incelenen türüdür (Faraglia ve diğerleri, 2005; O'Donovan ve diğerleri, 2003). Kaspaz 3 normal beyin gelişimi için gerekli olmasıyla birlikte diğer apoptotik senaryolarda da önemli bir role sahiptir. 12 kDa ve 17kDa alt birim üretmek için bir aspartat varlığında parçalanan inaktif bir 32 kDa proenzim olarak sentezlenen kaspaz 3, laminler gibi yapısal proteinler ve ADP-riboz (Adenozin difosfat) gibi DNA onarım enzimleri dahil olmak üzere birçok önemli hücresel proteinin spesifik olarak parçalanmasını katalize eder (O'Donovan ve diğerleri, 2003; Porter ve Jänicke, 1999).

Kaspazlar, normal koşullar altında sitoplazmada zimojenler halde yani pro-kaspazlar şeklinde bulunurlar. Kaspaz 3 öncül hali yani prokaspaz 3'ün çeşitli dokularda ve hücrelerde lokalizasyonunu göstermek amacıyla yapılan araştırmalar, prokaspaz 3'ün genellikle sitoplazmada yer aldığı ancak beyin, karaciğer, timus, kalp, böbrek ve dalakta mitokondriyal bir lokalizasyon gösterdiği şeklinde kayıtlara geçmiştir (Samali ve diğerleri, 1998). Kaspaz 3 ifadesinin *in vivo* modelleri, parafine gömülü sağlıklı insan dokularında immunohistokimyasal yöntemlerle yıllar önce değerlendirilmiş ve kaspaz 3 immunoreaktivitesi spesifik hücre tiplerinde seçici bir şekilde intrasitoplazmik yerleşimli (bazı hücrelerde intranükleer lokalize şekilde reaksiyon da gözlenmekle birlikte) olarak tespit edilmiştir. Kaspaz 3 immunoreaktivitesi, böbrek tubul epitel, bronşiyal epitel, kondrosit, osteosit, miyokardiyosit, epidermal keratinositler, hepatositler, timositler, plazma hücreleri, prostat salgı epitel hücreleri, meme duktal epitel hücreleri, mide, bağırsak ve kolon gastrointestinal epitel, uterus myometriyum ve endometriyum gibi birçok dokuda gözlenmiştir. Böbrek glomerüllerinde, meme miyoepitel hücrelerinde, schwann hücrelerinde ve alveolar pnömositlerde ise düşük seviyede kaspaz 3 immunoreaktivitesi bildirilmiştir (Krajewska ve diğerleri, 1997). Özetle, apoptotik yürütme mekanizmasının bir parçası olan kaspaz 3'ün normal meme epitelinde de dahil olmak üzere birçok hücrede ifadesi gözlenmiştir (Nakopoulou ve diğerleri, 2001).

2.4.1.1. Kaspaz 3'ün Apoptozisteki Rolü

Kaspaz 3, proteaz kaskad yolundaki konumunun en alt akış enzimi olması yani apoptozisin son aşamasında rol oynaması ve hücre onarım sürecindeki temel proteinleri parçalaması sebebiyle apoptozisle en doğrudan ilişkili olan kaspaz olarak kabul edilmiştir. Yapılan çalışmaların bazıları da kaspaz 3'ün apoptozisin yürütülmesi ve tamamlanmasıyla ilişkili bazı biyokimyasal olaylarda gerekli olduğunu ortaya koymuştur (Liu ve diğerleri, 2015; Nakoupoulou ve diğerleri, 2001; Porter ve Janicke, 1999; Silva ve diğerleri, 2022). İncelenen tüm hücre tiplerinde de gözlenen apoptozisin bazı tipik belirtileri, apoptotik kromatin yoğunlaşması ve deoksiribonükleik asit (DNA) parçalanması gibi, kaspaz 3'ün vazgeçilmez bir unsur olduğunu gösterir. Bu durum kaspaz 3'ün hücre parçalanması ve apoptotik cisimciklerin oluşumu için elzem olduğuna işaret eder (Porter ve Janicke, 1999; Yadav ve diğerleri, 2021). Bu bilgilerden yola çıkıldığında apoptozisin erken bir aşamada tespit etmek amacıyla kaspaz 3'ün ifadesinin immunohistokimyasal olarak araştırılması önemli bir yöntem olarak kabul edilir (Rodrigues ve diğerleri, 2016).

Kaspaz 3 geni olmayan farelerde doğum sıklığının düşük olduğu ve yeni doğanların yaşama gücünden yoksun olduğunu gösteren çalışmalar, kaspaz 3'ün hayatta kalmak için önemli olduğuna işaret eder. Bu çalışmalarda, farelerin beyinlerinde apoptozisin başarısızlığını temsil eden ektopik fazla hücre kitleleriyle kafatası defektleri bulunduğu ancak diğer organ ya da dokularda belirgin bir morfolojik defekt olmadığı görülmüştür. Bu bulgular, kaspaz 3'ün doku seçici bir şekilde hareket ettiğini göstermektedir. Yine bu farelerde olgunlaşmamış T ve B hücrelerinin normal şekilde apoptozise uğradığı ancak kaspaz 3 defektli periferik T hücrelerinin apoptozis ve aktivasyon kaynaklı hücre ölümüne daha az duyarlı olduğu gözlenmiştir. Bu durum, kaspaz 3'ün periferik T hücrelerinde apoptozisin meydana gelmesine katkıda bulunduğunu fakat B ve T hücre farklılaşması sırasında vazgeçilebilir bir unsur olduğunu göstermektedir (Porter ve Janicke, 1999).

İnaktif halde yalnızca sitozolik bir homodimer olan kaspaz 3 (277 aminoasitlik bir protein olan prokaspaz 3), ölüme neden olan bir yukarı akış sinyalinin tetiklemesi sonucu proteazların aktivitesiyle proteolitik bölünmeye uğrar. Bu proteolitik işlem, bir N-terminal (175 amino asit) büyük bir alt birim p20 ve küçük bir alt birim (102 amino asit) C-terminal p12 üretir, daha sonra son olarak aktif alt birim (bir p20, bir p17 alt birimi) elde etmek için kesilir. Sonuç olarak, 32 kDa'lık inaktif bir öncül olarak sentezlenmiş olur (Yadav ve diğerleri, 2021; Yamabe ve diğerleri, 1999). Kaspaz 3, iki p12 ve iki p17 alt biriminden

oluşur ve bu birimler gömülü bir katalitik sistein (Cys) ile enzim aktif bölgesini kovalent olmayan bir halde içerir. Kaspaz 3, poli (ADP-riboz) polimeraz ailesi üyesi-16 (PARP-16), protein kinaz C (PKC)-gama ve delta, prokaspazlar 6, 7, 9 ve beta katenini de içeren birden fazla substratı daha basit hale indirmek için katalitik sisteme ihtiyaç duyar. Tam aktivasyon için hem proteolitik işlem hem de Cys 163 denitrozilasyonu gereklidir (Yadav ve diğerleri, 2021).

Sıklıkla aktive edilen ölüm proteazı olan kaspaz 3'ün aktivasyonuna giden yollar, mitokondriyal sitokrom c salınımına ve kaspaz 9 işlevine bağımlı veya bağımsız olarak tanımlanmıştır (Porter ve Janicke, 1999; Yadav ve diğerleri, 2021). Diğer bir ifadeyle ölüm reseptörleri ve mitokondriyal yol aracılığıyla olmak üzere kaspaz aktivasyonuna giden iki farklı apoptozis yolu olduğu bilinmektedir. Hücre yüzeyinde bulunan ölüm reseptörlerinin kümelenmesi, ölüm kompleks indükleyicisinin oluşumuna işaret eden spesifik ligandların birleşmesine yanıt olarak aktive olur. Bu reseptör kompleksinin prokaspaz 8'e bağlanması, bu enzimin proteolitik bölünme yolu ile aktivasyonu ile sonuçlanır ve kaspaz 8 daha sonra doğrudan ya da mitokondriyal yolla kaspaz 3'ü aktive edebilir (Silva ve diğerleri, 2017). Mitokondriyal yolun aktivasyonu ise sitozolde Apaf-1 (Apoptozis aktive edici faktör 1) ve pro kaspaz 9'a bağlanan çeşitli ölüm uyarıcıları tarafından tetiklenen sitokrom c'nin sitozol içine salınmasını ve mitokondriyal membran permeabilitesindeki değişiklikleri içeren DNA hasarına cevap olarak aktive edilir. Bu da prokaspaz 3'ün sitokrom bağımlı işlenmesine ve apoptozisin gerçekleşmesine yol açar (Porter ve Janicke, 1999; Silva ve diğerleri, 2017). Özetle, mitokondriyal yolda mitokondrilerden salınan sitokrom c, kaspaz 9 ve Apaf-1 ile apoptozomu meydana getirir. Oluşan apoptozom, prokaspaz 3'ü kaspaz 3'e dönüştürür ve oluşan kaspaz 3 daha sonra hücre ölümünü düzenler (Yadav ve diğerleri, 2021). Kaspaz 3 aktivasyonu apoptotik hücrelerde genellikle sitokrom c salınımıyla birlikte görülür ancak kaspaz 3 aktivasyonunun mitokondriyal sitokrom c salınımı olmadan meydana gelebileceğini gösteren kanıtlar da mevcuttur (Liu ve diğerleri, 2015; Porter ve Janicke, 1999). Ek olarak, kaspaz 3'ün Bcl-2'yi parçalayarak yani Bcl-2'yi anti-apoptotik bir proteinden pro-apoptotik bir proteine dönüştürerek mitokondrilerden sitokrom c salınımı da dahil olmak üzere hücreyi ölüme götüren yukarı akış sinyal kaskadını güçlendirebileceği de bilinmektedir (Porter ve Janicke, 1999). Buradan çıkarılacak sonuç mitokondrinin apoptoziste kesinlikle rol aldığı ve bununla birlikte bazı durumlarda mitokondriden bağımsız olarak da kaspaz 3'ün aktive olabileceğidir. Birikmekte olan kanıtlar, hücre ölümünün programlanmış bir düzende veya kaspaz aktivasyonunun tamamen yokluğunda yani kaspaz aktivasyonundan bağımsız olarak

da meydana gelebileceğini söylemektedir (Porter ve Janicke, 1999; Rodrigues ve diğerleri, 2016). Apoptozis her zaman kaspaz 3'ün sitokrom c'ye bağlı aktivasyonunu içermemektedir. Bununla birlikte sitokrom c salınımını takiben içsel apoptozis aracılığıyla hücre ölümünü gerçekleştirmekten sorumlu kaspaz kaskadı iyi tanımlanmış olsa da bu süreçte her bir kaspazın farklı rolleri olduğuna inanılmaktadır. Bu roller hakkında yeterli düzeyde olmayan bilgi elde mevcuttur (Brentnall ve diğerleri, 2013; Porter ve Janicke, 1999). Her bir kaspazın apoptoziste farklı bir rolü olsa da sitokrom c salınımı sonrası proteolitik kaskadda yer alan kaspazların apoptozisin tüm yönlerini etkili ve verimli bir şekilde yürütmesi için birlikte çalışmaları gerekir ancak tek bir kaspazda bile kusur ihtiva eden hücrelerde, kaspazdan bağımsız apoptozis formları da dahil olmak üzere kompenzatuvar mekanizma ve alternatif sinyal yollarının apoptozisin yürütülmesine katkı sağlayabileceği bilinmelidir (Brentnall ve diğerleri, 2013; Olsson ve Zhivotovsky, 2011).

Ayrılmış (aktifleştirilmiş) kaspaz 3 (CC3), apoptotik yolun bir infazcısı olarak kabul edilir. Bu molekülün apoptotik hücrelerin sitoplazmasında görülmesi, klasik apoptotik morfolojik özelliklerin gelişiminden önce gerçekleşen erken bir olaydır. Ayrıca bu molekül apoptozisle ilişkili morfolojik ve biyokimyasal değişikliklerin önemli bir göstergesidir (Brentnall ve diğerleri, 2013; Rodrigues ve diğerleri, 2016). Aktif hale geldiğinde kaspaz 3 apoptozisin karakteristiği olan DNA parçalanmasına neden olan bir endonükleaz olan kaspaz-aktif DNase'ı aktive ederek DNA'nın parçalanmasına katkıda bulunur yani aktif kaspaz 3 DNA'nın parçalanmasından sorumludur (O' Donovan ve diğerleri, 2003; Nakopoulou ve diğerleri, 2001; Rodrigues ve diğerleri, 2016). Hücre ölüm mekanizmasının kritik bir bileşeni olan kaspaz 3, bilinen 58 kaspaz substratından en az 42'sini kesebilen bir Asp tabanlı sistein proteazdır. Kaspaz 3, prokaspazlar 2, 6, 7 ve 9'u işleyebilir, ROS (Reaktif oksijen türleri) üretimini inhibe eden kaspaz 3'ün varlığında hücre ölümü daha etkili gerçekleşir (Brentnall ve diğerleri, 2013; Nakopoulou ve diğerleri 2001; Porter ve Janicke, 1999). Aynı zamanda kaspaz 3'ten yoksun hücrelerde içsel apoptozisin mitokondriyal olaylarında gecikme gözlenebilir (Brentnall ve diğerleri, 2013).

2.4.1.2. Tümörlerde Kaspaz 3'ün Rolü

Apoptozis, insan kanserlerinde en çok incelenen konulardan birisidir. Birçok tümör hücresi Bcl-2 ailesi proteinleri veya kaspaz sinyalizasyonunu etkileyen genler gibi önemli apoptotik genlerde mutasyon ihtiva eder (Rodrigues ve diğerleri, 2016).

Anti-onkojenik bir süreç olarak kabul edilen apoptozis, kaspazlar tarafından yürütülür çünkü kaspaz aktivasyonu genetik olarak hasarlı hücrelerin elimine edilmesini destekler (Liu ve diğerleri, 2015; Silva ve diğerleri, 2022). Yakın tarihte, bazı başlatıcı kaspazların tümör baskılayıcı genler olarak önerildiği görülmüş ve kaspaz aktivasyonunu düzenleyici mekanizmadaki bozuklukların hem in vivo hem de in vitro olarak kanser hücrelerinin ölümünün engellenmesi için merkezi bir unsur olduğu fikri deneysel kanıtlarla desteklenmiştir. Son yıllarda gerçekleştirilen kapsamlı bir derleme çalışması, kaspaz gen polimorfizmlerinin çok sayıda tümör tipinde rol oynayabileceğini bildirmektedir (Rodrigues ve diğerleri, 2016). Herhangi bir kaspazın etkisinden ziyade tüm kaspazların birleşik apoptotik etkisinin bir organizmada tümörögenезin önlenmesi için son derece önemli olduğunu söyleyen çalışmalar da mevcuttur (Olsson ve Zhivotovsky, 2011).

Birçok çalışma, kaspaz 3'te meydana gelebilecek değişikliklerin insanlarda tümörögenезi destekleyebileceğini bildirmiştir (Silva ve diğerleri, 2017). Malign karakterde tümörlerdeki kaspaz 3 ekspresyonu seviyesinin tümör oluşumunun ilerlemesiye ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar da literatürde yer almaktadır. Bu çalışma sonuçları çeşitli malign tümörlerde, vakaların %70-99'u arasında değişen bir insidansa sahip olan kaspaz 3'ün yüksek sitoplazmik ifadesini bildirmiştir (Nakopoulou ve diğerleri, 2001). Baş ve boyun kanserlerinde pozitif ve negatif kaspaz 3 ifadesi olan hastalarda genel sağkalım ve kansere özgü sağ kalım oranları farklı düzeylerde tespit edilmiştir (Silva ve diğerleri, 2022). Preneoplastik ve neoplastik meme lezyonlarıyla birlikte tümöral dokuya bitişik neoplastik olmayan meme dokularında bile düşük seviyede kaspaz 3'ün ekspresyonu gözlenmiştir. Kaspaz 3'ün normal kolon epiteline göre kolon kanserinde daha fazla eksprese olduğu bildirilen çalışmalarla uyumlu bir şekilde meme karsinomlarında, tümöral olmayan meme dokularına göre daha güçlü bir boyanmanın olduğu görülmüştür (Nakopoulou ve diğerleri, 2001; Zapata ve diğerleri, 1998). Meme tümörlerinde, kaspaz 3'ün neoplastik hücrelerin sitozolünde granüler bir boyama deseni oluşturduğu ve hayvanlarda, köpeklere kıyasla kedilerde daha güçlü bir pozitif boyamanın gözlemlendiği belirlenmiştir (Silva ve diğerleri, 2017). Kaspaz 3'ün artan ifadesinin, kaspaz 3'ün katalitik aktivitesinden bağımsız bir şekilde kanser hücresinin büyümesini engellediği bilinmektedir. Kaspaz 3 kaybının meme kanseri hücreleri de dahil olmak üzere çeşitli insan kanser hücrelerinde ilaç kaynaklı apoptozise karşı dirençle ilişkili olduğunu öne süren kanıtlar mevcuttur (Faraglia ve diğerleri, 2005).

Kaspaz 1, prodomaini aracılığıyla oligomerizasyona ve kendi kendini aktive etmeye izin verip apoptozise yol açan uzun bir prodomaine sahipken kaspaz 3 kısa bir pro-domaine ve

düşük kendi kendini aktive etme yeteneğine sahiptir. N-terminal prodomain bölgesinin uzunluğuna bağlı olan bu farklı durum sonucunda kaspaz 1'in aksine kaspaz 3'ün transdüksiyonu apoptozisi indüklemek için tek başına yeterli değildir. Bu durum kanser gen terapisi için büyük bir avantajdır ve aynı zamanda kaspaz 3'ü kanser tedavisi için birincil hedef haline getirir (Yadav ve diğerleri, 2021; Yamabe ve diğerleri, 1999). Kaspaz 3 geninin tek başına apoptozisi indüklediğinin fark edilmesiyle ölüm tetikleyici faktör olarak destek kemoterapötik Etoposide® (Etoposide, DNA topoizomera II hedef alarak apoptozisi indükleyen DNA hasarına sebep olur) kullanımına ihtiyaç duyulan bir mekanizma ortaya çıkmıştır. Bu mekanizmada Bcl-2 ailesi proteinleri sinyal düzenleyici, kaspazlar ise yürütücüler olarak işlev görmüştür. İnsan kaspaz 3 gen transdüksiyonu ile antikanser sağaltımının avantajları: Transdüksiyon gelişmemiş hücrelerde zayıf ölüm sinyali ile belirgin bir apoptozis şekillenmesi suretiyle radyasyon ve/veya kemoterapiye yanıt vermeyen neoplaziler gelişebilmektedir. Yani apoptozis sinyallerinin ek uyaran faktörlerle tetiklenmesiyle, ölüme neden olan genlerde seçici olarak aktifleşme gelişir ve bu durum hücre ölümüne yol açar. Bu bağlamda kaspaz 3 geni, aktive olarak ilgili gen transdüksiyonunu tetiklemeyerek kanser gelişimi önlemiş olur. Bu tür bir mekanizma kanser-gen odaklı terapiler için son derece idealdir. İnsan kaspaz 3 geni ilave bir ek ölüm uyararı ile uygulandığında (Bcl-2 aşırı ifade eden tümörler dışında) antikanser gen terapisi için son derece yararlı bir metot olabilir (Yamabe ve diğerleri, 1999).

Kaspaz 3, başlatıcılardan herhangi biri tarafından aktive edilebilir. (Yadav ve diğerleri, 2021). Hücrenin parçalanması ve apoptotik cisimlerin oluşumu için gerekli olan kaspaz 3, antineoplastik ilaçlar dahil olmak üzere birçok ajan tarafından indüklenen apoptoziste rol oynamaktadır (Faraglia ve diğerleri, 2005; Yadav ve diğerleri, 2021). Bazı çalışmalar da kemoterapötik ilaçlara (Örneğin taksanlar, 5-florourasil ve doksorubisin) cevap olarak apoptozis indüksiyonu için kaspaz 3 aktivasyonunun gerekli olduğunu göstermiştir (O'Donovan ve diğerleri, 2003). Birçok olası kanser sağaltımı stratejisi arasında yer alan kaspaz 3 ile indüklenen apoptozisin aktivasyonu, sitotoksositeye neden olmaktadır. Son zamanlarda bilim insanları antikanser ilaç geliştirmek için kaspaz 3 aracılı apoptozisi indüklemeye oldukça fazla odaklanmışlardır. Bu sayede günümüzde birçok sentetik ve doğal olmak üzere çeşitli bileşikler rapor edilmiştir: Kanser tedavisi için kaspaz 3 aracılı apoptozisi temsil eden kinazolin, kinazolinon, indolokinolinler, florokinolon, tiyosemikarbazonlar, benzotriazol, pirimidinler, kinon, naftokinonlar, piroliminokinonlar, stirlkinolinler, bağlı tetrahidrokinolin, kalkon ve karbazollerin bir dizi analogu bildirilmiştir. Aynı zamanda

podofillotoksin, majoranolid ve lizikamin de dahil olmak üzere bitki izolatlarının kaspaz 3 aracılı apoptozisin sebep olduğu sitotoksiste için kullanılabileceği de iddia edilmektedir. Prokaspaz aktive edici bileşik-1 (PAC-1) ise FDA (Gıda ve İlaç Dairesi) tarafından onaylı bu alandaki ilk ilaçtır. Sentetik türevi WF-208'in de etkileyici bir şekilde kaspaz 3 aracılı antikanser aktivitesi gösterdiği bilinmektedir. Özetle, günümüze kadar kaspaz 3 aracılı sitotoksiteler için çok sayıda bileşik patentlenmiş ve raporlanmıştır (Yadav ve diğerleri, 2021).

Apoptotik mekanizmada yer alan unsurlar ve apoptozis genellikle tümör baskılayıcı olarak kabul edilir ancak bazı çalışmalar aksini söylemektedir (Liu ve diğerleri, 2015). Bu çalışmaların bazılarında radyoterapi gören neoplastik dokuların yeniden proliferere olmak için büyüme sinyallerine gereksinim duyduğu ve bu gereksinim için kaspaz 3'ü kullandığı bildirilmiştir (Silva ve diğerleri, 2022). Liu ve diğerleri (2015), kaspaz 3'ün genetik dengesizliği ve karsinogenezi teşvik etmede aktif rol oynadığını bildirmektedir. Gerçekleştirdikleri çalışmada iyonlaştırıcı radyasyona maruz kaldıktan sonra kaspaz 3 aktivasyonu gösteren sağ kalmış hücrelerde yükselmiş genetik instabilite ve onkojenik dönüşüm seviyeleri tespit etmişler ve bu hücrelerde kaspaz 3'ün DNA hasarına neden olduğu ve onkojenik dönüşümü kolaylaştırdığını bulmuşlardır. Ayrıca yakın tarihlerde baş ve boyun kanseri ile meme kanserini konu alan çalışmalarda aktive edilmiş kaspaz 3'ün yüksek düzeyinin, geleneksel yaklaşımın aksine, nüks ve mortalite ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Liu ve diğerleri, 2015). Kaspaz 3'ün apoptotik yol haricinde birden fazla düzenleyici yolu aktive edebileceğini varsayan bulgular mevcuttur, bu varsayım primer meme karsinomlarında kaspaz 3 ifadesi ile apoptozis derecesi arasında korelasyon eksikliğini öne süren verilerle uyumludur. Yani kaspaz 3 kaybı, apoptozisi engellemek yerine hücre büyümesini uyararak tümör gelişimini teşvik edebilir ve bunun proapoptotik kayıp veya anti-apoptotik genlerin artan ifadesi de dahil olmak üzere diğer mekanizmalarla ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Yani kaspaz 3 kaybı apoptozise direnci arttırmak yerine tümör gelişimini teşvik edebilir. Birincil meme karsinomlarında gözlenmiş olan kaspaz 3 ifadesi ve apoptozis derecesi arasındaki bağlantı eksikliğini açıklayan bu etki, pro-apoptotik aktivitesinden bağımsız gerçekleşmekte ve hücre siklusunu düzenleyici proteinlerdeki değişikliklerle ilişkilendirilmektedir (Faraglia ve diğerleri, 2005). Kaspaz 3'ün tümöröenez ve tümörün sağaltıma karşı duyarlılığındaki rolü henüz netlik kazanmamıştır yani bu konuda daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır (Olsson ve Zhivotovsky, 2011).

2.4.1.3. Meme Karsinomlarında Kaspaz 3

Malın karakterde meme tümörlerinin bir özelliği olan kontrol dışı çoğalma birçok çalışmaya konu olmaktadır (Rodrigues ve diğerleri, 2016). Programlanmış hücre ölümü, meme tümörleri de dahil olmak üzere çeşitli kanserlerde araştırılmaktadır ve meme kanserinde apoptotik oranlarla yakından ilişkilendirilen ve aynı zamanda apoptozisin kritik bir aracısı olan kaspaz 3 araştırmaların odak noktasında yer almaktadır (Rodrigues ve diğerleri, 2016; O' Donovan ve diğerleri, 2003). Ayrıca kaspaz 3 meme kanserinde kemoterapötiklere verilen reaksiyon veya direncin tahmin edilmesinde potansiyel bir belirteç olarak kullanılmakta ve araştırılmaktadır (O' Donovan ve diğerleri, 2003).

Donovan ve arkadaşları, hem inaktif prokaspaz 3 (32 kDa) hem de aktif kaspaz 3' n büyük alt birimi (17 kDa) ile etkileşime giren bir antikör kullanarak meme dokularında kaspaz 3 protein ekspresyonunu değerlendirmiş hem öncül hem de aktif formu dahil olmak üzere kaspaz 3' n ifadesi meme karsinomlarında normal meme dokuları ve fibroadenomlara göre daha yüksek seviyede olduğunu belirlemiştir. Yapılan çalışmada apoptozis düzeyi en yüksek olarak karsinomlarda gözlemlenmiş ve bunun aktif kaspaz 3 seviyeleriyle anlamlı bir şekilde korelasyon gösterdiği bildirilmiştir. Yine bu çalışmada kaspaz 3 proteini ile histolojik tümör tipi arasında anlamlı bir korelasyon olduğu yani duktal karsinomlarda lobüler karsinomlara göre daha yüksek düzeylerde kaspaz 3 ifadesinin olduğu fark edilmiştir. Primer meme karsinomlarındaki kaspaz 3 ifadesi, tümör boyutu, tümör derecesi, nodal durum veya steroid reseptör durumu ile anlamlı bir korelasyon göstermemiş ancak kaspaz 3, progesteron reseptörü negatif tümörlerde progesteron reseptörü pozitif tümörlere göre anlamlı derecede daha yüksek düzeyde tespit edilmiştir. Dolayısıyla bu çalışma, kaspaz 3 aktivasyonu ve apoptozis oranlarının meme kanserinde malign olmayan meme bezi dokusuna yani normal meme dokusu ve fibroadenomlara göre daha yüksek olduğu sonucunu bildirmiştir (O'Donovan ve diğerleri, 2003). Meme karsinomlarında kaspaz 3 ifadesi ve apoptotik indeksin arttığını bildiren daha eski çalışmalar da mevcuttur (Vakkala ve diğerleri, 1999). Zapata ve diğerleri (1998), normal insan meme epitel hücresi ile invaziv insan meme karsinomu arasındaki ayrılmış kaspaz 3 immunoreaktivitesinin yoğunluğunu karşılaştırmış ve meme karsinomu örneklerinde daha güçlü bir boyama bulunduğunu göstermiştir. Vakkala ve diğerleri (1999) de benign epitelyal hiperplazilerin %22'sinde, atipik hiperplazilerin %25'inde, in situ karsinomların %58'inde ve invaziv karsinomların %90'ında normal meme duktal epitelinin boyanmasına göre daha fazla kaspaz 3 ifadesinin görüldüğünü raporlamıştır. 2001

yılında Nakopoulou ve arkadaşlarının gerçekleştirdiği çalışmaya göre de kaspaz 3'ün malign meme tümörlerinde normal meme dokusuna göre daha yukarı regüle olduğu gözlenmiştir. Bu çalışmada 137 invaziv meme karsinomu incelenmiş, %75'inde kaspaz 3'ün aşırı ifadesi tümör hücrelerinin sitoplazmasında yaygın ve homojen bir şekilde gözlenirken çekirdekte herhangi bir ekspresyona rastlanmamıştır. Ayrıca bu çalışma kaspaz 3'ün genel sağ kalım üzerinde anlamlı bir olumsuz etki gösterdiğini bildirmiştir. Meme karsinomu dokularında, komşu normal meme dokusu hücrelerine göre yüksek kaspaz 3 seviyelerinin tespiti, kanser hücrelerinin kaspaz 3 ifade etmek için fenotiplerini değiştirdiği fikrini düşündürmüştür. (Nakopoulou ve diğerleri, 2001).

Dolka ve diğerleri (2016), malign dönüşüm sırasında apoptozisle ilişkili proteinlerin ekspresyonunda birtakım değişikliklere rastlamışlardır ve bu değişikliklerden birinin de parçalanmış kaspaz 3 ifadesi olduğunu, sinyal yollarındaki bu değişikliklerin tümörögenез sürecinde önemli olduğuna dair kanıtlar rapor etmişlerdir. Nakopoulou ve diğerleri (2001) de meme lezyonlarında premalign evreden invaziv evreye doğru histolojik değişime paralel olarak giderek artan kaspaz 3 immunoreaktivitesi gözlemlemiştir. Kullandıkları antikoru hem inaktif hem de aktif kaspaz 3'ü tanıdığını göz önünde bulundurarak, kanser hücrelerinde yüksek kaspaz 3 ifadesinin artmış apoptotik potansiyeli göstermediğini öngörmüştür. Çünkü hücrelerde aktif ve inaktif kaspaz 3'ün birbirine oranı bilinmemektedir. Ayrıca, yüksek anti-apoptotik Bcl-2 ifadesinin kaspaz 3 aktivasyonunu dengeleyebileceği belirtilmiştir. Yani, bir proteinin immunohistokimyasal yöntemlerle tespit etmek o proteinin işlevsel yeteneğini göstermemektedir. Yüksek düzeyde kaspaz 3 pozitif ifadesi gösteren neoplastik epitel hücrelerinde apoptozis derecesi ile kaspaz 3 ifadesi arasında anlamlı bir korelasyon gözlenmiş ve kaspaz 3'ün apoptotizisin bir belirteci olma özelliğini pekiştirdiği vurgulanmıştır (Nakopoulou ve diğerleri, 2001). Bununla birlikte bazı çalışmalar da primer meme karsinomlarında kaspaz 3 ifadesinin apoptozisin derecesi ile ilişkili olmadığını söylemektedir (Faraglia ve diğerleri, 2005).

Daha önceki meme karsinomları üzerine yapılmış çalışmalarda gözlemlendiği gibi Nakopoulou ve diğerleri (2001) de yüksek apoptotik indeks kötü prognozla ilişkilendirilmiştir. Kaspaz 3 aşırı ifadesinin iyi bir prognostik belirteç olduğu kanısı yaygın olmasına rağmen aşırı kaspaz 3 ifadesinin daha kötü bir genel sağ kalım oranı ile ilişkilendirilmesi ilgi çekici bir sonuç olarak kabul edilmiştir. Buradan çıkarılacak sonuç ise herhangi bir belirtecin prognostik etkisinin belirlenmesinde çok değişkenli sağ kalım analizinin önemidir. Tüm bu bulgular kaspaz 3'ün meme karsinomları için değerli bir belirteç

olduğunu desteklemekle birlikte meme kansinomlarında yer alan diğ er apoptotik mekanizma düzenleyicileri ile etkileşimlerini ortaya koymak amacıyla daha fazla çalışma yapılmasına ihtiyaç olduğunu göstermektedir (Nakopoulou ve diğ erleri, 2001).

Meme kanserinde, p53 ve Bcl-2 gibi apoptoziste rol oynayan genlerle karşılaştırıldığında kaspaz 3 ile ilgili daha az çalışma mevcuttur ve kedi meme tümörlerinde kaspaz 3 ile ilgili çalışmalar son derece azdır (Silva ve diğ erleri, 2017; O' Donovan ve diğ erleri, 2003). Silva ve arkadaşları tarafından 2017 yılında gerçekleştirilen çalışma kedi meme kansinomlarında parçalanmış kaspaz 3 ifadesinin araştırıldığı ilk çalışmadır. Bu çalışmada kedi meme kansinomu örneklerinin sitoplazmasında kaspaz 3 ifadesi ve kaspaz 3 aktivasyonundan kaynaklı yüksek bir apoptotik indeks gözlenmiştir. Bu yüksek apoptotik indeks, insan meme kanserinde de olduğu gibi kötü bir prognozla ilişkilendirilmiştir. Yapılan  alışma parçalanmış kaspaz 3 ifadesinin meme kanserlerinde radyoterapi ve kemoterapi direnciyle ilişkili olabileceğini göstermiştir (Silva ve diğ erleri, 2017). Daha  nceki yıllarda O'Donovan ve arkadaşları da kaspaz 3' n tespitinin, olası bir ilaç direnci olarak kemoterapötiklerle sağaltıma verilen yanıtın kontrol edilmesi için kullanılabileceğini söylemektedir. (O' Donovan ve diğ erleri, 2003). Kedi meme kansinomlarında kaspaz 3 ifadesi profilinin belirlenmesi ve kaspaz 3' n kedi kanseri patolojisindeki rolü hakkında daha fazla bilgi edinmek için gelecekte daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır (Silva ve diğ erleri, 2017).

2.4.2. B Hücreli Lenfoma-2 (Bcl-2)

B hücreli lenfoma/lösemi-2 gen ailesi, yetişkin ve fetal dokularda apoptotik mekanizmayı etkileyen proteinleri kodlayan bir gen ailesi olarak bilinmektedir. Bcl-2, B hücreli lösemi/lenfoma-2 geninin kısaltmasıdır (Madewell ve diğ erleri, 1999). Bcl-2 geni, ilk olarak t (14;18) kromozomal translokasyon kırılma noktalarının foliküler non-Hodgkin B hücreli lenfomalarda geni aktive etmesi ve bu durumun insan B hücreli malignitelerdeki rolü nedeniyle keşfedilmiştir. Söz konusu translokasyon sonucunda, kromozom 14'te yer alan immunglobulin ağır zincir geninin promotör kontrolü altında Bcl-2 geninin transkripsiyonel olarak yukarı düzenlendiği ve bunun sonucunda lenfoma hücrelerinde Bcl-2 protein ekspresyonunun belirgin şekilde arttığı gözlenmiştir. (Antonsson ve Martinou, 2000; Basu, 2022; Bruckheimer ve diğ erleri, 1998; Heiser ve diğ erleri, 2004; Madewell ve diğ erleri, 1999; Thomas ve diğ erleri, 2013).    ekzondan meydana gelen Bcl-2 geni yaklaşık olarak 230

Kb'lik bir alanı kapsamaktadır (Bruckheimer ve diğerleri, 1998). Bcl-2 yaklaşık olarak 20 saatlik yarılanma ömrüne sahip uzun ömürlü bir proteindir (Kaloni ve diğerleri, 2023). Evrimsel olarak muhafaza edilmiş Bcl-2 proteini, ölüm agonistleri veya ölüm antagonistleri olarak kategorize edilen ve apoptozis yoluyla hücre ölümünün düzenlenmesinde çok önemli bir rol oynayan Bcl-2 protein ailesinin bir üyesidir (Basu, 2022; Bruckheimer ve diğerleri, 1998; Dakkak ve diğerleri, 2024). Bcl-2 ailesinin proteinleri de kaspazlar gibi hücre içi apoptotik sinyal yollarının temel bir bileşeni olarak bildirilmiştir (Antonsson ve Martinou, 2000). Daha önce tanımlanmış onkogenlerin aksine Bcl-2'nin hücre proliferasyon sürecini desteklemediği bunun yerine çeşitli uyarılarla tetiklenen hücre ölümünün bir inhibitörü olarak hareket ettiği tespit edilmiştir (Bruckheimer ve diğerleri, 1998; Heiser ve diğerleri, 2004; Thomas ve diğerleri, 2013). Mitokondriyal dış zar geçirgenliği (MOMP) doğrudan veya dolaylı olarak uyarılabilir, Bcl-2 proteinlerinin bir diğer önemli yönü de doğrudan MOMP ile ilgili olmayan çeşitli hücresel süreçlere dahil olmasıdır (Dakkak ve diğerleri, 2024; Ladokhin, 2020). Ayrıca Bcl-2'nin fosforilasyonu, pro-apoptotik aile üyeleriyle etkileşimi etkileyerek Bcl-2'nin anti-apoptotik işlevini değiştirebilir (Basu, 2022). Bcl-2 proteini, mitokondri, çekirdek ve granüllü endoplazmik retikuluma yerleşir. Mitokondri özelinde incelenirse, Bcl-2 proteinin sitozolden mitokondriyal matikse doğru materyallerin taşındığı mitokondriyal zarların yani iç ve dış zarların temas bölgesine lokalize olduğu görülür. Bcl-2, C-terminusunda transmembran alanı olarak faaliyet gösteren 23 aminoasitlik hidrofobik bir uzantı içerir (Bruckheimer ve diğerleri, 1998).

Memelilerde, memeli olmayan omurgalılarda, *Caenorhabditis elegans* (CED-9) gibi omurgasızlarda ve adenovirus (E1B19kD proteini) gibi viruslarda bulunan Bcl-2 homologları, Bcl-2 ile yüksek aminoasit benzerliği olan 3 ya da 4 homoloji bölgesini (Bcl-2 homoloji alanları BH1-BH4) paylaşırlar (Coultas ve Strasser, 2003; Heiser ve diğerleri, 2004). Günümüzde intrinsik apoptozis hakkında mevcut olan bilgiler fareler, *C. elegans* gibi uzaktan ilişkili türlerde ve *Drosophila melanogaster* gibi sinekler üzerinde yapılan çalışmalar ile elde edilmiştir, bu sayede Bcl-2 ve işlevsel homologlarının etkileri de en iyi şekilde anlaşılmıştır. Bcl-2 ile ilişkili apoptozis inhibitörleri birçok viral genoma sahip viruslar (Herpesviridae, Asfarviridae, Iridoviridae, Adenoviridae) tarafından da kullanılmaktadır, ilk viral Bcl-2 homologları ise adenovirusta ve γ -herpes virusu Epstein-Barr virusunda tanımlanmıştır (Banjara ve diğerleri, 2020; Coultas ve Strasser, 2003). İnsanlar, nematodlar kadar uzak akraba türler, Porifera (Süngerler), Cnidarianlar (Hydra gibi), Placozoonlar dahil olmak üzere en eski metazoanlar da bile evrimsel olarak korunmuş

bir mekanizmayla apoptozisin bilinen ilk düzenleyicisi olan Bcl-2 proteinleri tanımlanmıştır (Banjara ve diğerleri, 2020; Coultas ve Strasser, 2003; Heiser ve diğerleri, 2004). Bcl-2' nin kendisi de dahil olmak üzere Bcl-2 protein ailesi, yeni üyelerin keşfiyle artmaya devam etmektedir (Bruckheimer ve diğerleri, 1998; Thomas ve diğerleri, 2013).

Günümüze kadar birçok Bcl-2 ailesi üyesi protein tanımlanmıştır ve Bcl-2 homologları genel olarak iki ana gruba ayrılmıştır. İlk grupta, Bcl-2'nin kendisi gibi anti-apoptotik üyeler yani ölüm antagonistleri bulunurken diğer grupta Bax, Bak gibi pro-apoptotik üyeler yani ölüm agonistleri yer almaktadır (Bruckheimer ve diğerleri, 1998; Dakkak ve diğerleri, 2024). Anti- ve pro-apoptotik Bcl-2 ailesi proteinleri arasındaki etkileşim yani Bcl-2 protein alt grupları üyelerinin arasındaki denge, bir hücrenin apoptozise girip girmeyeceğine veya hayatta kalıp kalmayacağına karar verir (Basu, 2022; Kaloni ve diğerleri, 2023). Aynı şekilde Bcl-2 protein ailesinin hem pro-sağkalım hem de pro-apoptotik üyelerinin arasındaki denge, doğum sonrası normal embriyonik gelişim ve hücrel homeostazın sağlanması için de oldukça önemli bir faktör olarak kabul edilir (Dakkak ve diğerleri, 2024; Kaloni ve diğerleri, 2023).

Bcl-2 protein ailesi üyeleri amino asit dizisi benzerliklerine ve fonksiyonlarına göre üç alt gruba ayrılır:

1. Anti apoptotik alt üyeleri ya da diğer bir ifadeyle pro-sağkalım alt üyeleri (Bcl-2, Bcl-x1, Mcl-1, Bcl-w ve Bfl-1/A1),
2. Pro-apoptotik efektör Bcl-2 ailesi alt üyeleri yani apoptozis efektörleri (Bax, Bak ve daha az bilinen Bok, Bcl-X₅ ve Bcl-G_L),
3. Sadece BH3 proteinlerini ihtiva eden pro-apoptotik BH3 alt aile üyeleri (Bad, Bim, Bid, Bmf, Noxa, Bik, Hrk, Bnip3 ve Puma) (Basu, 2022; Dakkak ve diğerleri, 2024; Kaloni ve diğerleri, 2023; Kiraz ve diğerleri, 2016; Thomas ve diğerleri, 2013).

Bcl-2 ile hem pro-apoptotik hem de anti-apoptotik protein ailesi üyeleri, yaklaşık 20 kalıntı içeren Bcl-2 Homoloji (BH) motifleri olarak bilinen dört adede (BH1, BH2, BH3, BH4) kadar korunmuş yapısal alanlarla tanımlanır (Banjara ve diğerleri, 2020; Dakkak ve diğerleri, 2024; Thomas ve diğerleri, 2013). Bu homoloji alanları, proteinlerin homo veya hetero kompleksler oluşturarak birbirleriyle etkileşime girmeleri için oldukça önemlidir, aynı şekilde Bcl-2 de diğer aile üyeleriyle BH alanlarını kullanarak heterodimerik kompleksler meydana getirir ve anti-apoptotik fonksiyonunu yerine getirir (Antonsson ve Martinou, 2000; Bruckheimer ve diğerleri, 1998; Dakkak ve diğerleri, 2024). Örneğin Bcl-

2'nin Bax ile etkileşime girmesi ve apoptozisi inhibe etmesi için BH1 ve BH2 alanlarına ihtiyaç duyulur (Antonsson ve Martinou, 2000; Dakkak ve diğerleri, 2024). Bcl-2 ailesi içindeki belirli bir grup, sadece BH3 bölgesiyle homoloji paylaşan ikinci bir pro-apoptotik protein sınıfını oluşturur ve “BH3 proteinleri” olarak adlandırılır. Bu proteinler yalnızca BH3 alanına sahiptir ve bu alanlar sayesinde anti-apoptotik Bcl-2 proteinlerinde yer alan hidrofobik oluk arasındaki etkileşim kolaylaşarak BH3 proteinlerinin hücre ölümünün güçlü indükleyicileri olmaları sağlanır (Dakkak ve diğerleri, 2024; Heiser ve diğerleri, 2004). Sadece anti-apoptotik proteinlerin N-terminal bölgesinde yer alan 11 ila 33 arasındaki kalıntıları kapsayan BH4 alanı, diğer homoloji alanları gibi proteinlerin yüzeylerinde hidrofobik bir oluk konfigürasyonu oluşturmak için bir araya gelmez (Antonsson ve Martinou, 2000; Bruckheimer ve diğerleri, 1998; Dakkak ve diğerleri, 2024). Anti-apoptotik bir protein olan Bcl-2, BH4 alanı sayesinde kendisiyle homodimerler oluşturabilir. Ancak BH4'ten yoksun, modifiye Bcl-2 formlarının anti-apoptotik faaliyetlerini kaybettikleri bununla da kalmayıp öldürücü bir protein gibi davranıp apoptotik süreci hızlandırdıkları bilinmektedir (Antonsson ve Martinou, 2000; Bruckheimer ve diğerleri, 1998).

Bcl-2 protein ailesinin tüm üyeleri, tipik olarak diğer aile üyeleriyle dimerizasyon, proteinlere bağlanıp mitokondriyal homeostazisin regülasyonu ve dış membran gözenek oluşumunu içeren karakteristik işlevleri paylaşırlar (Kiraz ve diğerleri, 2016). Memeli gelişiminde, Bcl-2 protein ailesinin farklı sağkalım yanlısı üyelerinin morfogenez ve organizma gelişimi ve işlevi sırasında kritik rollere sahip oldukları bilinmektedir (Bruckheimer ve diğerleri, 1998; Kaloni ve diğerleri, 2023). Bcl-2 ailesinin fonksiyonları, embriyogenez sırasında sinir sistemi ve parmakların oluşumu gibi dokuların şekillendirilmesinde rol oynayan apoptozisin düzenlenmesi ile sınırlı değildir; otofaji, kalsiyum homeostazinin sağlanması, enerji üretimi, hücre siklusunun regülasyonu, mitokondriyal homeostazisin sürdürülmesi ve meme bezi involüsyonu gibi apoptotoik olmayan rollere de sahiptir ve bu rollerden moleküler düzeyde en iyi anlaşılanı ise otofajidir (Banjara ve diğerleri, 2020; Coultas ve Strasser, 2003; Dakkak ve diğerleri, 2024). Bcl-2 protein ailesi, nöronal hücreler gibi belirli hücre tiplerinin dejenere olmasını engelleyen ve bu hücrelerin gelişimini sağlayan çeşitli işlevlere sahiptir. Merkezi sinir sisteminde nöral tüp oluşturulduktan sonra Bcl-2 ifadesinin azaldığı ancak periferik sinir sisteminde Bcl-2 ifadesinin yüksek düzeylerde korunduğı gözlenmiştir (Dakkak ve diğerleri, 2024; Kaloni ve diğerleri, 2023). Bilim insanları Bcl-2'nin fonksiyonu, diğer aile üyeleri ile etkileşimi ve yapısı hakkında moleküler bir anlayış geliştirmeye çalışmaktadır ancak eylemlerinin kesin

mekanizması henüz çözülememiştir (Banjara ve diğerleri, 2020; Ladokhin, 2020). Bunun sebebi ise işlevsel olarak önemli konformasyonların zar ile etkileşimler tarafından indüklenmesidir yani protein-lipid etkileşimleri, zar üzerinde protein yeniden katlanması ve zarla katlanmış konformasyonlar bağlamında protein-protein etkileşimleri gibi konularda önemli bir bilgi boşluğu mevcuttur (Ladokhin, 2020).

Bcl-2 ailesi proteinlerinin seviyeleri ve aktivitesi, pro-apoptotik ve anti-apoptotik partnerlerin afiniteleri, stabilite ve lokalizasyonu, transkripsiyonel indüksiyon ve baskılanma, transkripsiyon sonrası düzenlenme (mRNA stabilitesi gibi), translasyon sonrası süreçler (fosforilasyon ve proteolitik işleme gibi) gibi çok çeşitli durum ve süreçlere bağlıdır (Basu, 2022; Kaloni ve diğerleri, 2023).

Bcl-2 ifadesi, hematopoetik hücre alt kümeleri, melanosit progenitörleri, bazı nöronal hücre popülasyonları, embriyonik böbrekte belirli epitel hücre popülasyonlarında gözlenebilmektedir, ayrıca hormon ve büyüme faktörlerinin etkisiyle involüsyon veya hiperproliferasyon geçiren prostat epiteli ve meme kanalı epiteli gibi dokularda da karşımıza çıkabilmektedir (Bruckheimer ve diğerleri, 1998; Kaloni ve diğerleri, 2023). Bcl-2 ifadesinin dokularda dağılımına bakılınca Bcl-2' nin çeşitli hücre tiplerinin hayatta kalması için rol aldığı fark edilmektedir. İmmunohistokimyasal çalışmalar, Bcl-2'nin uzun ömürlü hücreler veya kök hücreler gibi rejenerasyon yeteneği yüksek hücrelerde ifade edildiğini göstermektedir. Örneğin, lenfatik sistemde T lenfositlerin bulunduğu timik medullada ve B lenfositler ile plazma hücrelerinin yer aldığı lenf düğümlerinde yüksek düzeyde Bcl-2 ekspresyonu görülmektedir. Non-hematopoetik dokularda, Bcl-2 ekspresyonu derinin bazal tabakası, ince ve kalın bağırsağın kript hücreleri gibi kendini yenileyen hücrelerle sınırlıdır. İnsanlar ve farelerin embriyonik dokularında yaygın gözlenen Bcl-2 ifadesinin fetüs olgunlaştıkça kısıtlandığı gözlenmiştir. Örneğin, Bcl-2 ifadesi fetüste farklılaşmamış bağırsak epitelinde yaygın bir şekilde gözlenirken villuslar olgunlaştıkça ifade progenitör hücrelerle sınırlı kalmaktadır. Ayrıca Bcl-2 proteininden yoksun farelerde doğum sonrası büyüme geriliği, daha küçük kulaklar, polikistik böbrekler ve lenfosit apoptozisi nedeniyle atrofiye timus ve dalak görülmüştür (Bruckheimer ve diğerleri, 1998).

Bcl-2 protein ailesinin anti-apoptotik üyelerinin ifadesi, transkripsiyonel, transkripsiyon sonrası ve translasyon sonrası gibi çok çeşitli mekanizmalar tarafından düzenlenebilir (Dakkak ve diğerleri, 2024; Kaloni ve diğerleri, 2023). E2F-1, Janus kinaz sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü (JAK-STAT), p53 tümör baskılayıcı ve nükleer faktör-kappa beta (NF-κB) gibi bazı transkripsiyon faktörleri sitozolden çekirdeğe doğru çekilerek dokuyarak Bcl-

2 protein ailesinin ifadelerini transkripsiyonel olarak düzenleyebilir (Dakkak ve diğerleri, 2024; Kaloni ve diğerleri, 2023). Aynı şekilde pro-apoptotik üyelerin ifadesi de transkripsiyonel, transkripsiyon sonrası ve translasyon sonrası seviyelerde olmak üzere yüksek oranda düzenlenir. BH3 proteinleri olan Puma ve Noxa'yı kodlayan genler, tümör baskılayıcı TP53 tarafından doğrudan transkripsiyonel olarak yüksek oranda düzenlenir ve böylece ifadeleri sitotoksik uyarılara reaksiyon olarak yukarı regüle olur yani TP53'ün aktivasyonunu gerçekleştirirler. Bu durum pro-apoptotik üyelerin transkripsiyonel olarak düzenlenmesine örnek olarak verilebilir (Kaloni ve diğerleri, 2023).

2.4.2.1. Bcl-2'nin Apoptoziste Rolü

Apoptozis ile yakından ilişkili genlerden biri olan Bcl-2 ailesi, Porifera (Süngerler), Placozoa dahil olmak üzere metazoanlar ve Cnidaria (Anemonlar, mercanlar, denizanası) türlerinde tanımlanmıştır. Ayrıca virusların da antiviral savunma mekanizmalarının bir parçası olarak replikasyonu kolaylaştırmak ve nüfuz ettikleri hücrelerin intrinsik apoptozisi düzenleme yeteneğini engellemek için Bcl-2 genlerini yapılarında barındırdığı bilinmektedir (Banjara ve diğerleri, 2020). Apoptozis evrimsel süreç boyunca korunan bir mekanizmadır ve Bcl-2 tarafından stimule edilen apoptozisin yapısal, moleküler ve genetik temelleri, nematod *C. elegans* ile yapılan çalışmalarla kurulmuştur (Banjara ve diğerleri, 2020; Bruckheimer ve diğerleri, 1998). Bu çalışmalar kapsamında *C. elegans*'ta gözlenen tüm hücre ölümlerinde CED-3 ve CED-4'ün gerekli bir unsur olduğu ve CED-3'ün memelilerdeki kaspazlara homolog olduğu bildirilmiştir (Bruckheimer ve diğerleri, 1998). Aynı zamanda bu çalışma sonuçları, CED-9'un apoptozisin engellenmesi için gerekli olduğu ve Bcl-2'nin *C. elegans*'ta apoptozis baskılayıcı CED-9'un memeli homologu olarak tanımlandığını ortaya koymuştur (Antonsson ve Martinou, 2000; Bruckheimer ve diğerleri, 1998). İnsan Bcl-2'sinin, büyük ölçüde *C. elegans*'taki CED-9'un işlevini gerçekleştirebileceği bilinmekle birlikte *C. elegans*'taki Bcl-2 homologu CED-9, adaptör protein CED-4'ü kontrol ederek hücrenin sağ kalma sürecini destekler ve böylece CED-3'ün aktivasyonunu önler (Bruckheimer ve diğerleri, 1998, Coultas ve Strasser, 2003). CED-9'un CED-4 ile CED-3 aktivasyonunu önlemek için kullandığı mekanizma ile Bcl-2 ve memeli homologlarının Apaf-1 aracılı kaspaz 9 aktivasyonunu engellediği mekanizma farklıdır. CED-9, CED-4'e bağlanırken memeli Bcl-2 proteinleri doğrudan Apaf-1 ile etkileşim göstermez (Coultas ve Strasser, 2003).

Bcl-2 ve diğer Bcl-2 protein ailesi üyeleri, apoptozisin önemli düzenleyicilerinden olmakla birlikte hücrenin kaderinin tayin edilmesinde kritik bir rol oynar (Banjara ve diğerleri, 2020; Bruckheimer ve diğerleri, 1998; Coultas ve Strasser, 2003; Dakkak ve diğerleri, 2024; Kaloni ve diğerleri, 2023; Thomas ve diğerleri, 2013). Doku homeostazisi ve hücre ölümünün gerçekleştiği kritik eşik, Bcl-2 protein ailesinin pro-sağkalım ve pro-apoptotik üyeleri arasındaki denge ile düzenlenir ve bu etkileşim daha önce de belirtildiği gibi süngerlerden insana evrimsel olarak korunmuş bir süreçtir (Banjara ve diğerleri, 2020; Coultas ve Strasser, 2003; Thomas ve diğerleri, 2013). Apoptozisin moleküler düzeyde nasıl oluştuğu organizmaya göre değişmekle birlikte tüm mekanizmalarda apoptozisin başlaması için pro-sağkalım aktivitesinin kaybı esastır. Yani her hücre tipinin hayatta kalması için en az bir pro-sağkalım Bcl-2 ailesi proteinini bünyesinde barındırması gerektirir. Ayrıca pro-sağkalım Bcl-2 ailesi üyelerinin anormal ölçüde aşırı ifadesi ve/veya pro-apoptotik Bcl-2 ailesi üyelerinin anormal derecede aşağı regülasyonu apoptozisi inhibe eder (Banjara ve diğerleri, 2020; Kaloni ve diğerleri, 2023; Thomas ve diğerler, 2013).

Apoptozisin tanımlanmış iki yolundan biri olan içsel aktivasyon, mitokondri aracılığıyla gerçekleşir, bununla birlikte intrinsik apoptozis için en temel özellik olan mitokondriyal dış zarın permeabilitesinin artışı Bcl-2 aile üyeleri tarafından yürütülür (Banjara ve diğerleri, 2020; Dakkak ve diğerleri, 2024; Kaloni ve diğerleri, 2023; Ladokhin, 2020). Programlanmış hücre ölümünü operasyonel olarak üç aşamaya ayırdığımızda da Bcl-2 ailesinin kaspaz 9 aktivasyonu ile sonuçlanan ilk aşamada (başlatma fazı) içsel yolu düzenlediği görülmektedir (Thomas ve diğerleri, 2013). Apoptozisi uyarmada en kritik nokta olan MOMP, yüzlerce hücre proteinini parçalayarak hücrelerin düzenli olarak yok edilmesini sağlayan kaspaz kaskadını serbest hale getirir ve böylece apoptotik faktörler mitokondriyal dış zar geçirgenliğinden faydalanarak sitozole salınmış olur (Kaloni ve diğerleri, 2023; Ladokhin, 2020). Memelilerde de içsel apoptozisin tanımlayıcı olayı, mitokondriyal dış zar üzerinde Bax veya Bak oligomerizasyonu ile oluşturulan supramoleküler gözenekler vasıtasıyla mitokondriyal dış zarda permeabilite artışı ve apoptojenik faktörlerin sitozole salınmasıdır (Banjara ve diğerleri, 2020; Basu, 2022). Sağlıklı hücrelerde anti-apoptotik Bcl-2 proteinleri, hücre ölümünü engellemek için Bax ve Bak efektörlerini kısıtlar (Kaloni ve diğerleri, 2023). Reaktif oksijen türleri oluşumu ya da DNA hasarı gibi bir apoptotik sinyale yanıt olarak sadece pro-apoptotik BH-3 proteinleri hücre ölümünü teşvik etmek için yukarı regülasyon (Bim, Noxa ve Puma) veya bölünme (Bid gibi) yoluyla aktive olur (Basu, 2022; Dakkak ve diğerleri, 2024). Sadece pro-apoptotik BH3 proteinleri, anti-apoptotik Bcl-2 proteinlerine

yüksek afinite ile bağlanabilir ve doğrudan Bax ve Bak ile etkileşime girerek apoptozis indüksiyonuna sebep olabilir (Kaloni ve diğerleri, 2023; Thomas ve diğerleri, 2013). Bunun sonucunda Bax ve Bak efektörlerinin kısıtlanması ortadan kalkar, Bax ve Bak oligomerize olarak mitokondriyal gözeneklerin oluşumuna, mitokondriyal dış zarda permeabilite artışına, mitokondriden apoptojenik faktörlerin (sitokrom-c, prokaspaz 9 gibi) sitozole salınmasına sebep olur (Basu; 2022; Dakkak ve diğerleri, 2024; Kaloni ve diğerleri, 2023; Thomas ve diğerleri, 2013). Anti-apoptotik Bcl-2 protein ailesi üyeleri, Bax ve Bak'a ya da yalnızca BH3 proteinlerine bağlanarak apoptozisin efektörlerinin aktive olmasını engelleyebilir ve mitokondriyal membran bütünlüğünün korunmasını sağlayabilir (Coultas ve Strasser, 2003; Kaloni ve diğerleri, 2023). Yani anti-apoptotik Bcl-2 ailesi üyeleri, pro-apoptotik aile üyelerini inaktif hale getirerek mitokondriyal dış zarda gözenek oluşumunu engeller ve hücre sağ kalımını sağlayabilir (Basu, 2022; Dakkak ve diğerleri, 2024). Kısacası hücrenin kaderini, Bax ve Bak efektörleri, pro-apoptotik BH3 proteinleri ve anti-apoptotik Bcl-2 ailesi üyeleri arasındaki kompleks etkileşimler belirler (Kaloni ve diğerleri, 2023; Thomas ve diğerleri, 2013).

Apoptozisin deregülasyonu dejeneratif bozukluklardan kansere birçok hastalıkla ilişkilidir ve Bcl-2 benzeri proteinlerin apoptozisi moleküler seviyede nasıl regüle ettiği sorusu hala yeterli düzeyde açıklığa kavuşturulamamıştır (Heiser ve diğerleri, 2004; Kaloni ve diğerleri, 2023).

2.4.2.2. Tümörlerde Bcl-2'nin Rolü

Apoptozis sürecinin düzenlenmesindeki bozukluklar, bu sürecin işlev kaybına yol açarak tümörlere, özellikle de kanserlerin gelişimine önemli ölçüde katkıda bulunur (Banjara ve diğerleri, 2020; Coultas ve Strasser, 2003; Heiser ve diğerleri, 2004; Irshad ve diğerleri, 2023; Kiraz ve diğerleri, 2016; Ladokhin, 2020; Thomas ve diğerleri, 2013). Kanser hücrelerinin apoptozise karşı direnç geliştirmeleri, immun sistemin gözetiminden kaçmalarına ve sonuç olarak dirençli neoplastik hücre popülasyonlarının oluşmasına yol açar (Kiraz ve diğerleri, 2016; Thomas ve diğerleri, 2013). Hematopoetik ve non-hematopoetik dokularda düşük düzeylerde sürekli ifadesi gözlenen Bcl-2, insanlara ait neoplastik olguların neredeyse yarısında yüksek seviyelerde ekspresyon göstermektedir (Madewell ve diğerleri, 1999). Neoplastik hücrelerin apoptozisi engellemesi, kanser tedavisini de zorlaştırır; bu nedenle apoptozisi düzenleyen genler potansiyel hedefler olarak görülmektedir (Dakkak ve diğerleri,

2024; Kaloni ve diğerkleri, 2023; Ladokhin, 2020). Tümör nekroz faktörü (TNF) reseptör gen süper ailesi, kaspazlar ve p53 gen ailesi gibi Bcl-2 gen ailesi de apoptozis sürecinin düzenlenmesinde rol oynar; bu ailelerdeki düzensizliklerin kanser gelişimine yol a tđđı iyi bilinmektedir (Banjara ve diğerkleri, 2020; Irshad ve diğerkleri, 2023; Kiraz ve diğerkleri, 2016). Bcl-2 ailesi proteinlerinin apoptozis mekanizmasını düzenlemedeki kritik rolü, bu aileyi kanserlerde potansiyel bir hedef haline getirmektedir (Kaloni ve diğerkleri, 2023). Geçmişten günümüze, Bcl-2 ailesi, neoplastik ilerlemeyi engelleme potansiyelleri nedeniyle keşfedildikleri zamandan beri, ölüm sinyallerine karşı duyarsızlığıyla bilinen kanserle ilişkilendirilmiştir (Coultas ve Strasser, 2003; Dakkak ve diğerkleri, 2024; Kiraz ve diğerkleri, 2016). Bcl-2 ailesinin hem pro-apoptotik hem de anti-apoptotik üyelerinin ifadesindeki düzensizlikler, kanser gelişimine ve malign hücrelerin sağaltıma karşı direnç kazanmasına yol açmaktadır (Dakkak ve diğerkleri, 2024; Kaloni ve diğerkleri, 2023). Neoplastik hücrelerde, anti-apoptotik Bcl-2 aile üyelerinin aşırı ifadesi ve pro-apoptotik Bcl-2 aile üyelerinin anormal derecede azalmış ifadesi, apoptozise karşı direnç gelişmesine yol açmakta ve bu durum birçok kanserle ilişkilendirilmektedir (Basu, 2022; Heiser ve diğerkleri, 2004; Kaloni ve diğerkleri, 2023).

Pro-apoptotik Bcl-2 aile üyelerinin malign dönüşüm riski altındaki hücrelerde ölümü tetiklemesiyle tümör baskılayıcı olarak işlev gördüğü ve bu üyelerin azalmış ifadesinin kanser gelişimini hızlandırdđđı gözlenmiştir. Pro-apoptotik BH3 proteinleri de tümör baskılayıcı özelliktedir. Puma ve Bim'den yoksun gen hedefli farelerde, anti-apoptotik Bcl-2 proteinlerini inhibe edebilen BH3 proteinlerine sahip olmayan fareler ileri yaşlarda plazma hücresi benzeri tümörler geliştirmiştir. Ayrıca, Bim eksikliği lenfoid ve miyeloid hücrelerde neoplastik oluşumu kolaylaştırmaktadır (Coultas ve Strasser, 2003; Heiser ve diğerkleri, 2004; Kaloni ve diğerkleri, 2023). Apoptozisi indükleme temelli kanser tedavisi yaklaşımları, yeni bir anti-kanser ilaç sınıfının ortaya çıkmasına yol açmıştır (Dakkak ve diğerkleri, 2024; Kaloni ve diğerkleri, 2023). Pro-apoptotik BH3 taklitçisi bu ilaç sınıfı, Bcl-2 inhibitörleri olan BH3 mimetiklerdir (Basu, 2022; Dakkak ve diğerkleri, 2024; Kiraz ve diğerkleri, 2016). BH3 mimetikler, doğrudan anti-apoptotik proteinleri antagonize ederek mitokondriyal dış zar permeabilitesini artırır, böylece apoptozisi yeniden aktive eder ve kanser hücrelerini  l me hazırlar (Basu, 2022; Dakkak ve diğerkleri, 2024; Ladokhin, 2020).

Bcl-2 ve diğerk anti-apoptotik proteinlerin aşırı ifadesi, yok olmaya mahk m hücrelerin yaşam süresini anormal şekilde uzatır (Bruckheimer ve diğerkleri, 1998; Heiser ve diğerkleri, 2004). Kısa ömürlü hücrelerin yaşam s resinin uzaması, hücrelerin tümör oluşumu ve malign

dönüşümü destekleyecek ek onkojenik mutasyonları biriktirmesine olanak sağlamaktadır. Bu durum, uzun bir latent dönemin ardından tümör insidansının arttığı ve anti-apoptotik Bcl-2 ve homologlarının aşırı ifadesinin neoplastik oluşumu desteklediği fare modellerinde de gösterilmiştir (Bruckheimer ve diğerleri, 1998; Coultas ve Strasser, 2003; Heiser ve diğerleri, 2004). Yani, sağkalım yanlısı Bcl-2 proteini ve homologlarının anormal derecede yüksek ifadesi, kanser oluşumunu desteklemektedir (Heiser ve diğerleri, 2004; Kaloni ve diğerleri, 2023). Bcl-2, aynı zamanda metabolik olarak aktif yaşlanan hücrelerin de hayatta kalmasına olanak sağlamak ve bu hücrelerin immun sistem tarafından elimine edilmesini önleyerek apoptozise karşı direnç gelişmesine katkıda bulunmaktadır (Basu, 2022). Ayrıca, Bcl-2'nin zayıf bir onkogen olmasına rağmen, c-myc veya pim-1 gibi hücre döngüsünü düzenleyen onkogenlerle güçlü bir sinerjik etki gösterdiği bildirilmektedir. Lenfoma, meme ve pankreas kanserlerinde Bcl-2 ve c-myc'nin eş zamanlı ifadesinin tedaviye karşı direnci artırdığı rapor edilmiştir (Coultas ve Strasser, 2003; Heiser ve diğerleri, 2004; Thomas ve diğerleri, 2013). Bcl-2'nin aşırı ifadesi kronik lenfositik lösemi, manto hücreli lenfoma ve diffuz büyük B hücreli lenfoma dahil olmak üzere hematolojik malignitelerde ve küçük hücreli akciğer karsinomu, pankreas b hücreli kanserleri, prostat, beyin ve meme kanseri gibi hemopoietik olmayan diğer malignitelerde de gözlenmiştir (Dakkak ve diğerleri, 2024; Heiser ve diğerleri, 2004; Kaloni ve diğerleri, 2023). Birçok çalışmada, insan tümörlerinin malignite derecesinin yüksek Bcl-2 gen ekspresyonu ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Melanom, prostat, kolorektal, idrar kesesi, küçük hücreli akciğer karsinomu ve meme kanserlerinde yüksek Bcl-2 ekspresyonu, kötü prognoz ile anlamlı bir korelasyon göstermektedir. Hem in vivo hem de in vitro modeller üzerinde yapılan çalışmalarda, yukarı düzenlenen Bcl-2 ekspresyonunun radyasyon ve kemoterapiye direnç yol açtığı rapor edilmiştir (Thomas ve diğerleri, 2013). Hücre ölümünü baskılayarak tümör oluşumunu mümkün kılan Bcl-2, veteriner hekimlikte ise çeşitli kanser olgularının tedavisinde sergilediği anti-kanseröz ve anti-apoptotik aktiviteleri nedeniyle iyi bilinmektedir (Bruckheimer ve diğerleri, 1998; Irshad ve diğerleri, 2023). Anti-apoptotik Bcl-2 protein ailesi, kanser sağaltımı için doğrulanmış bir hedef olarak kabul görmüştür (Dakkak ve diğerleri, 2024). Anti-apoptotik Bcl-2 üyeleri, kemoterapötiklere karşı direnç, nükse, invazyona ve metastaza katkıda bulunan senescent hücrelerin varlığını kalıcı hâle getirebildiğinden, senoterapide de potansiyel bir hedef olarak tanımlanmaktadır (Basu, 2022). FDA tarafından sadece sınırlı sayıda ilaç onaylanmıştır; bunun sonucunda doğal ürün ekstraktları (NPE'ler) alternatif bir yaklaşım olarak öne çıkmıştır. 2000'lerden sonra, Ulusal Kanser Enstitüsü (NCI) tarafından başlatılan projede, bitkiler, omurgasızlar ve bazı mikroorganizma kaynaklı 150.000'den fazla doğal bileşik, Yüksek Verimli Tarama (HTS)

yöntemleriyle Bcl-2, Mcl-1 ve diğer anti-apoptotik üyelere karşı test edilmiş ve 994 NPE doğrulanmış aktivite göstermiştir (Dakkak ve diğerleri, 2024). Bcl-2 ailesini potansiyel bir hedef olarak gören stratejilerin önemli bir zayıflığı, aynı afiniteye sahip diğer anti-apoptotik üyelerin tamamının etkilenememesidir; bu durum, yalnızca ilacın primer hedefine bağlı hücrelerin etkilenip ölmesine yol açmaktadır (Thomas ve diğerleri, 2013).

2.4.2.3. Meme Karsinomlarında Bcl-2

Kedi gibi evcil hayvan modellerinde yürütülen kanser patogenezinin aydınlatılmasıyla ilgili çalışmalar, insan onkolojisine de yararlı bilgiler sağlamaktadır (Irshad ve diğerleri, 2023). Örneğin, insan meme kanserinde, Bcl-2'nin aşırı ifade edildiği ve neoplazilere apoptozisten kaçma yeteneği kazandırdığı bildirilmektedir. Bcl-2'yi bağlayarak nötralize eden ve hematolojik malignitelerin sağaltımında başarılı olan BH3 mimetik bileşiklerin insan meme kanserininin sağaltımında da kullanılabileceği düşüncesi giderek ilgi görmektedir. Kedi meme karsinomlarının da insan muadili gibi Bcl-2'yi aşırı eksprese ettiği bilindiği için BH3 mimetik bileşiklerin test edilmesi açısından kedi meme karsinomları, son derece uygun modeller olarak görülmektedir (Adega ve diğerleri, 2016).

Kedi meme karsinomlarında RNA ve protein düzeylerinde birçok genin ifadesinde meydana gelen değişiklikler olduğu bilinmektedir. İnsan meme kanseri ölçeğinde olmasa da kedi meme karsinomlarının ekspresyon profili konusunda kayda değer bir ilerleme kaydedilmiştir. Bir genin nihai fonksiyonları ya transkriptler şeklinde (düzenleyici RNA'lar olarak) ya da proteinler şeklinde ve bunların aracılık ettiği yollarda/süreçlerde olmak üzere (DNA dizisine bakılmaksızın) ancak metabolitlerinin analiziyle belirlenebilir (Adega ve diğerleri, 2016). PTEN, Siklin A, Ki-67, erbB-2, p53 gibi gen transkriptlerinin ya da proteinlerin ekspresyon profili son 26 yılda kedi meme karsinomlarında gerçekleştirilmiştir ve bunlardan birisi de Bcl-2'dir çünkü kedi meme karsinomlarının çoğu Bcl-2'yi eksprese etmektedir. (Adega ve diğerleri, 2016; Dagher ve diğerleri, 2019; Madewell ve diğerleri, 1999). Anti-apoptotik bir protein olan Bcl-2, kanser hastası insanlarda ve kedilerde daha agresif bir biyolojik davranış ile ilişkilendirilmektedir (Irshad ve diğerleri, 2023).

Madewell ve arkadaşlarının kedi tümörlerinde Bcl-2 proteinin topografik dağılımını incelemek üzere gerçekleştirdiği çalışmada içlerinde meme karsinomlarında olduğu birçok doku immunohistokimyasal yöntemlerle incelenmiştir. Bu çalışmada 180 tümöral olgu

incelenmiş ve Bcl-2, tiroid adenomlarında, kutanöz bazal hücreli tümörlerde, meme karsinomlarında ve incelenen lenfomaların %50'sinde neredeyse eşit olarak ifade edilmiştir. Kedi meme karsinomlarında Bcl-2'nin varlığı tespit edilmiş olup, bu proteinin söz konusu tümörlerde eksprese edildiği literatüre kazandırılmıştır (Madewell ve diğerleri, 1999).

İnsan meme dokuları incelendiğinde, meme kanalı epitel hücrelerinin Bcl-2'ye karşı reaktif olduğu görülmektedir. İnsan meme kanserinde, Bcl-2 ekspresyonu ile diğer prognostik faktörler ve sağkalım süreleri arasında ilişki olduğunu belirlemek amacıyla çok sayıda çalışma yapılmıştır. Hatta bu çalışmalardan birinde normal meme epiteli ile kanserli dokularda Bcl-2 ifadesinin önemli ölçüde birbirinden farklı olmadığı görülmüş, fakat anti-apoptotik genlerle pro-apoptotik genler arasında şekillenen dengesizliğin karsinogenez sürecine katkı sağladığı iddia edilmiştir (Madewell ve diğerleri, 1999). Kedi meme karsinomlarında Bcl-2 ifadesinin sıklığını inceleyen ve bununla birlikte Bcl-2'nin kedi meme karsinomlarında da diğer prognostik faktörlerle ilişkisini araştıran çalışmalar da vardır. Dagher ve arkadaşları, kedi meme karsinomlarında Bcl-2'nin ifadesi, prognostik önemi ve diğer klinikopatolojik değişkenlerle ilişkisini belirlemek amacıyla 180 kedi invaziv meme karsinomunu incelemiştir. Bu çalışma kedi meme karsinomlarında Bcl-2'nin prognostik önemini araştıran ilk çalışmadır ve bu çalışmada yer alan histolojik tipler: tubuler, papiller, tubulopapiller, kribriform, solid, adenoskuamöz, müsinöz meme karsinomları, komedokarsinomlar ve anaplastik karsinomlar şeklindedir. Ayrıca östrojen ve/veya progesteron pozitifliğiyle tanımlanan %68 üçlü negatif ve %32 luminal kedi meme karsinomu şeklinde bir dağılım içermektedir. Kedi meme karsinomlarının çoğunda Bcl-2 ifadesi gözlenmiş. Bcl-2 ifadesi ile histolojik derece, nodal evre, tümör boyutu ve PR, ER, CK 5/6, Ki-67 proliferasyon indeksi ve HER2 ifadesi arasında anlamlı bir korelasyon gözlenmemiş olup çok değişkenli sağkalım analiziyle, kedi meme karsinomlarında Bcl-2 ekspresyonu, metastaz, patolojik lenf yumrusu tutulumu ve tümör boyutu gibi diğer prognostik faktörlerden bağımsız bir şekilde daha uzun hastalıklı aralık, kansere özgü sağkalım ve genel sağkalım ile ilişkilendirilmiştir. Ayrıca Bcl-2'nin pozitif prognostik değeri, bazal benzeri üçlü negatif kedi meme karsinomlarında ve her iki luminal kedi meme karsinomunda doğrulanmıştır (Dagher ve diğerleri, 2019).

Meme kanserinde, Bcl-2 pozitif immunoreaktivitesi ile hormon reseptör ekspresyonu arasında tutarlı ve güçlü bir pozitif korelasyon bildirilmekte olup bu korelasyon hem östrojen reseptörünü hem de progesteron reseptörünü ilgilendirmektedir. Bcl-2, meme kanseri hücrelerinde östrojenler tarafından yukarı regüle edilir. Dagher ve arkadaşlarının çalışmasında luminal kedi meme karsinomlarının üçlü negatif kedi meme karsinomlarına göre daha az

gözlendiği bilinmektedir. Bu da östrojen reseptör yolunun işlevinin zayıf olduğuna işaret eder. Yani, Bcl-2 ekspresyonunun östrojen maruziyetine bağlı olmaksızın, alternatif moleküler mekanizmalar aracılığıyla düzenlendiği ve bu durumun diğer türlere kıyasla kedilerdeki invaziv meme kansinomlarında daha belirgin biçimde gerçekleştiğini göstermektedir. Dagher ve arkadaşları, insan meme kanserleriyle karşılaştırıldığında kedi invaziv meme kansinomlarında Bcl-2 pozitifliğinin daha iyi sonuçlarla (Bcl-2 pozitif grup Bcl-2 negatif gruba göre hastalıksız aralık, genel sağaklım ve spesifik sağaklım açısından daha olumlu sonuçlanmıştır) ilişkili olduğu ancak daha az yaygın olduğu, Bcl-2'nin kanser evresinden bağımsız şekilde güçlü bir prognostik faktör olduğu ve HER2, PR, ER ifadesiyle ilişkili olmadığı şeklinde bir sonuç bildirmiştir. Aynı zamanda bu çalışma, insan meme kanserinde Bcl-2 ifadesinin sıklığını araştıran çalışmalarla nispeten yakın sonuçlar göstermiştir. Kediler, kendiliğinden Bcl-2 ifadesi pozitif kedi meme kansinomu şekillendirirler, bu sebeple üçlü negatif ve luminal meme kanserleri için anti-Bcl-2 tedavi stratejilerini inceleyen pre-klinik çalışmalarda fayda sağlayabilir (Dagher ve diğerleri, 2019). Kısacası, kediler altın değerinde alternatif bir kanser modeli olmak için tüm gereksinimlere sahiptir ve diğer yaygın kullanılan kanser modellerine göre kedilerin üstün bir kanser genetiği modeli olduğu gerçekleştirilen çalışmalar tarafından doğrulanmaktadır (Adega ve diğerleri, 2016).

Köpek ve kedi tümörlerinde Bcl-2 geninin karakterizasyonu incelemek amacıyla yapılan çalışmalar, homozigot AA genotipinin meme kanseri oluşumunu 2,37 kat artmış risk ile ilişkili olduğunu ve lenf tutulumu ile farklı Bcl-2 genotipleri arasında anlamlı bir düzeyde korelasyon olduğunu göstermiştir. Polimorfizm, meme kanseri oluşumunda bir değiştirici olarak faaliyet gösterir. AA genotipinin lobüler meme kanserine dönüşme olasılığı diğer genotiplere göre daha yüksek düzeylerde olduğu tespit edilmiştir. Polimorfizm, Bcl-2 ifadesi üzerinde etkilidir ve Bcl-2'nin AA genotipinin meme kanseri duyarlılığıyla, meme kanserinin patolojik tanısıyla ve nodal durumla ilişkili olduğu kanıtlanmıştır (Irshad ve diğerleri, 2023).

Bcl-2'nin insan meme kanseri ve kedi meme kansinomlarında benzer fonksiyonlara sahip olabileceği düşünülmektedir. İnsan meme kanserinde Bcl-2'nin prognostik değerini ortaya çıkaran biyolojik mekanizmalar büyük ölçüde belirsizliğini korumaktadır (Dagher ve diğerleri, 2019). Kedi meme kansinomlarında da Bcl-2 ifadesinin önemi bilinmemektedir (Madewell ve diğerleri, 1999). Bcl-2, mitokondriyal dış zar geçirgenliğinin düzenlenmesi, içsel apoptotik yolun düzenlenmesi, otofaji, kalsiyum dengesi ve kanser hücrelerinde DNA onarımı gibi durumlarda diğer Bcl-2 aile üyeleri ile etkileşim halinde faaliyet göstermektedir (Dagher ve diğerleri, 2019). Bcl-2'nin kedi meme kansinomu oluşumu ile prognostik değeri

zerindeki etkilerini anlamak için diğeri Bcl-2 aile üyeleriyle birlikte Bcl-2'nin ifadesini eş zamanlı değerlendiren çalışmalara ihtiyaç vardır (Dagher ve diğeri, 2019).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Hayvan ve Doku

Çalışma kapsamında Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı laboratuvarına rutin muayene amacıyla gönderilen meme karsinomu tanısı konulmuş 22 adet kedi meme biyopsilerine ait doku blokları kullanılmıştır. Bu çalışmada yer alan olgulara ait biyopsi örneklerinin alındığı kedilere ilişkin bilgiler, olgu numaralarıyla birlikte Tablo 1’de verilmiştir.

3.2. Yöntem

3.2.1. Histopatolojik İnceleme

Doku örnekleri, %10’luk nötral buffer formalin solüsyonunda fikse edilip 6-8 saat süre ile akan çeşme suyu ile yıkanarak doku takip cihazında (Leica TP1020) bilinen yöntemlerle artan derecelerde alkol solüsyonları (70°, 80°, 90°, 96° ve 100°) ve ksilol serilerinde işlem gördükten sonra parafine gömülerek bloklandı. Bloklardan 3-5 µm kalınlığında alınan kesitler hematoxilen ve eozin (HE) ile boyandı (Luna, 1968). Hazırlanan preparatlar, ışık mikroskopunda (Olympus BX51) incelendi ve mikroskopik dijital fotoğraflar (Olympus SC180) çekilerek bilgisayar ortamına aktarıldı. Karsinomların histopatolojik tanısı, Dünya Sağlık Örgütü’nün 1999 yılında hazırladığı kedi meme tümörü sınıflandırmasının, Meuten tarafından 2017’de güncellenmiş haline göre yapıldı (Meuten, 2017).

3.2.2. İmmunohistokimyasal İnceleme

Parafin bloklardan mikrotom (Leica RM 2135) ile alınan seri kesitlerin bir kısmı, adezivli lamlara aktarıldı ve incelenmek istenen belirteçlerin (kaspaz 3 ve Bcl-2) dokudaki lokalizasyonları ile dağılımlarının belirlenmesi amacıyla immunohistokimyasal yöntemlerde kullanıldı. Boyamalar, 2 Adımlı Plus Poly-HRP Anti Tavşan/Fare IgG Tespit Sistemi (DAB Solüsyonu ile) hazır test kiti ve üretici firmanın direktifleri doğrultusunda gerçekleştirildi [2-step Plus Poly-HRP Anti Rabbit/Mouse IgG Detection System (with DAB Solution, Elabscience)]. Parafin kesitler, deparafinize edilmek amacıyla ksilol serilerinden ve rehidrasyonu sağlamak için azalan derecelerde alkol serilerinden geçirildi. Endojen peroksidaz aktivitesini inhibe etmek amacıyla parafin kesitler, kit içeriğindeki %3'lük hidrojen peroksit (H_2O_2) solüsyonu ile karanlık ortamda 10 dakika süreyle inkübe edildi. Antijenik determinantların açığa çıkarılmasını sağlamak amacıyla parafin kesitler, mikrodalga fırın (800 watt) kullanılarak sitrat tampon solüsyonu (pH 6.0) içinde 95 °C'ye kadar ısıtıldı ve bu sıcaklıkta 30 dakika bekletildi. Daha sonra parafin kesitler, 20 dakika dışarıda bekletilerek oda sıcaklığına ulaştırıldı. Tamponlu fosfat solüsyonu ile yıkanan kesitler, spesifik olmayan antijen-antikor bağlanmalarını önlemek amacıyla kit içeriğinde yer alan bloklama solüsyonunda (Normal Goat Blocking Buffer), 37 °C'deki etüvde 30 dakika inkübasyona bırakıldı. Birincil antikor aşamasında, örnekler anti-caspase-3 ve anti-Bcl-2 antikorları ile +4 °C'de gece boyunca inkübe edildi. İnkübasyonun ardından kesitler, 37 °C'deki etüvde 30 dakika bekletildi. Yıkama işlemi sonrasında, kitte yer alan sekonder antikor (Polymer Helper) uygulanarak kesitler yeniden 37 °C'de 20 dakika inkübe edildi. Sonraki adımda örnekler kit içeriğinde bulunan poliperoksidaz konjugatı (Polyperoxidase-anti-Mouse/Rabbit IgG) ile kaplanarak 37 °C'de 25 dakika bekletildi. Testin her aşaması nem kamarası kullanılarak yapıldı. İşlemler arasında doku kesitleri 3x3 dakika süreyle tamponlu fosfat solüsyonu (Phosphate buffer saline, PBS-pH 7,2) ile yıkandı. Testin son aşamasında kromojenik reaksiyon için, kit içeriğinde yer alan her 1 mL DAB substratına yaklaşık 50 µL (1 damla) DAB konsantresi eklenerek DAB çalışma solüsyonu hazırlandı. Bu solüsyon kesitlere uygulandı ve reaksiyonun olduğu teyit edildikten sonra işlem sonlandırıldı. Mayer's hematoxilen ile karşıt boyanan dokular, artan alkol serilerinden geçirilerek dehidre edildi; ardından ksilol ile şeffaflaştırıldı ve entellan kullanılarak lamelle kapatıldı. Hazırlanan preparatlar, Olympus BX51 ışık mikroskopunda incelendi; gerekli görülenlerden Olympus SC180 dijital kamera ile fotoğraflar çekilerek bilgisayara aktarıldı. Tablo 2'de yer alan

belirteçlerin dokulardaki ifade yoğunlukları değerlendirildi. Kaspaz 3 ve Bcl-2'ye ait semikantitatif olarak elde edilen bulgular, ekspresyon düzeyine göre skorlandı (Tablo 3). Bu doğrultuda;

- 0; Boyanma yok/negatif

- +1 (Hafif şiddette boyanma); Hücrelerin %25'ine kadar boyanma göstermesi

- +2 (Orta şiddette boyanma); Hücrelerin %26-50'sinde boyanma göstermesi

- +3 (Güçlü boyanma); Hücrelerin %51'i ve üzerinde boyanma göstermesi şeklinde bir değerlendirme metodu kullanıldı (Akkoç ve Toplu, 2020; Aydoğan ve diğerleri, 2018).

Tablo 1. Çalışma olgularını oluşturan hayvanlara ait bilgiler ve gelişen meme karsinomlarının sınıflandırılması.

Olgu no	İrk	Yaş	Sınıflandırma
1	Domestic Shorthair	14 yaşlı	Solid karsinom
2	Domestic Shorthair	12 yaşlı	Tubulopapiller karsinom
3	Siyam	9 yaşlı	Tubuler karsinom
4	Domestic Shorthair	12 yaşlı	Tubuler karsinom
5	Siyam	10 yaşlı	Tubulopapiller karsinom
6	Domestic Shorthair	11 yaşlı	Karsinoma in situ
7	Domestic Shorthair	11 yaşlı	Tubulopapiller karsinom
8	Domestic Shorthair	11 yaşlı	Solid karsinom
9	Domestic Shorthair	8 yaşlı	Tubuler karsinom
10	Siyam	11 yaşlı	Tubuler karsinom
11	British Shorthair	8 yaşlı	Kribriform karsinom
12	Domestic Shorthair	11 yaşlı	Komedokarsinom
13	Siyam	10 yaşlı	Tubulopapiller karsinom
14	Domestic Shorthair	8,5 yaşlı	Tubulopapiller karsinom
15	Domestic Shorthair	11 yaşlı	Komedokarsinom
16	Domestic Shorthair	10 yaşlı	Tubulopapiller karsinom
17	Domestic Shorthair	10 yaşlı	Tubulopapiller karsinom
18	Domestic Shorthair	12 yaşlı	Tubulopapiller karsinom
19	Domestic Shorthair	11 yaşlı	Tubuler karsinom

Tablo 1. Çalışma olgularını oluşturan hayvanlara ait bilgiler ve gelişen meme karsinomlarının sınıflandırılması (devam).

Olgu no	İrk	Yaş	Sınıflandırma
20	Domestic Shorthair	9 yaşlı	Tubulopapiller karsinom
21	British Shorthair	12 yaşlı	Tubulopapiller karsinom
22	Domestic Shorthair	13 yaşlı	Tubuler karsinom

Tablo 2. Kullanılan belirteçler, sulandırma oranları, hücresel lokalizasyonları ve markaları.

Antikor	Sulandırma Oranları (PBS'te)	Hücresel Lokalizasyon	Marka
Caspase 3	1/500	Sitoplazma	Proteintech (66470-2-Ig)
Bcl-2	1/500	Sitoplazma	Proteintech (60178-1-Ig)

3.2.3. İstatistiksel Değerlendirme

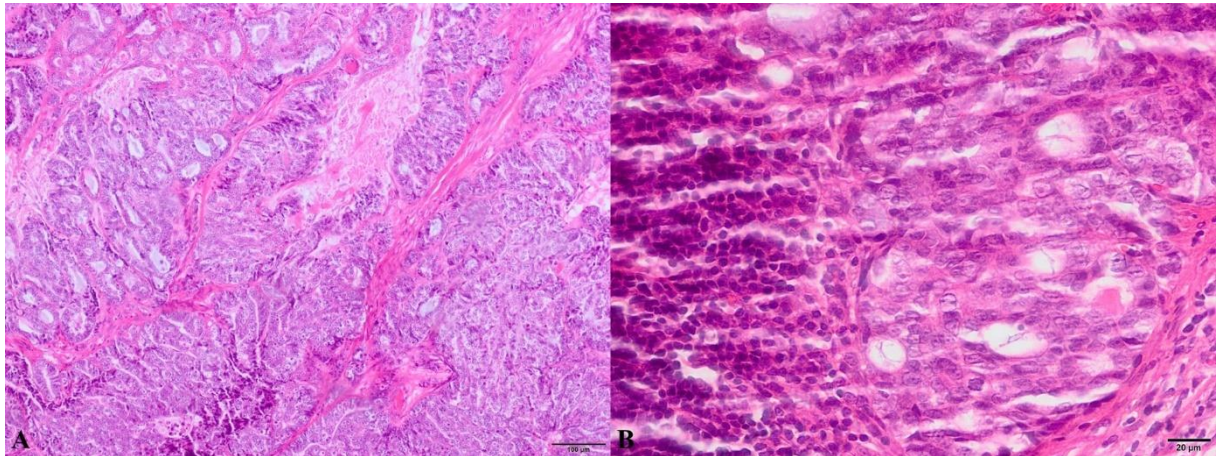
Her olguya ait kaspaz 3 ve Bcl-2 skorları SPSS Statistics 26 yazılımına iki ayrı değişken olarak kaydedildi. Çalışmada eksik veri bulunmadığından tüm örnekler analizlere dahil edildi. Kaspaz 3 ve Bcl-2 ekspresyonları arasındaki ilişkiyi değerlendirmek amacıyla iki farklı korelasyon analizi gerçekleştirildi. Değişkenlerin yaklaşık normal dağılım gösterdiği varsayımı altında lineer ilişkiyi incelemek için Pearson korelasyon testi kullanıldı. Normal dağılım varsayımının karşılanmaması veya ilişkinin doğrusal olmama olasılığı nedeniyle ek olarak Spearman sıra korelasyon analizi uygulandı. Bu test, değişkenlerin sıralı değerleri üzerinden monoton ilişkiyi değerlendirmektedir. Her iki analizde de çift yönlü (two-tailed) anlamlılık yaklaşımı kullanıldı ve $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Bulgular, ilgili korelasyon katsayısı (r veya ρ) ve p değeri ile raporlandı.

4. BULGULAR

4.1. Histopatolojik Bulgular

Çalışma kapsamında farklı yaş ve ırklara ait 22 kedinin meme biyopsi örnekleri, en güncel histopatolojik sınıflandırma kriterlerine göre değerlendirildi. Karsinom olarak değerlendirilen tümörlerin olgulara göre dağılımı; 10'u tubulopapiller karsinom (olgu no: 2, 5, 7, 13, 14, 16, 17, 18, 20 ve 21); 6'sı tubuler karsinom (olgu no: 3, 4, 9, 10, 19 ve 22); 2'si komedokarsinom (olgu no: 12 ve 15); 2'si solid karsinom (olgu no: 1 ve 8); 1'i kribriform karsinom (olgu no: 11) ve 1'i karsinoma in situ (olgu no: 6) şeklinde belirlendi (Tablo 1).

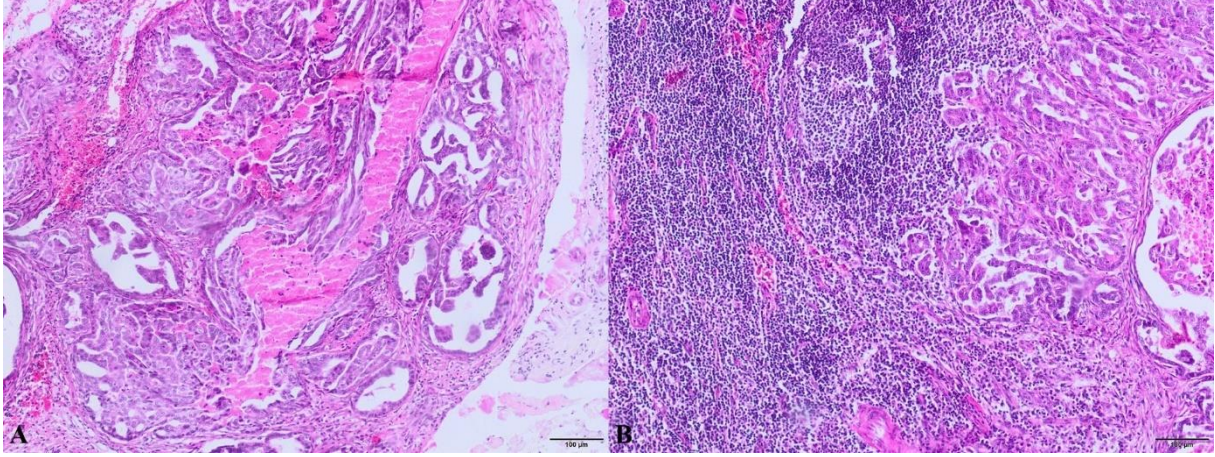
Tubuler karsinom olgularında (olgu no: 3, 4, 9, 10, 19 ve 22), kübik veya sütunlu neoplastik epitel hücrelerinin, farklı çaplarda tubuler yapılar oluşturacak şekilde düzenlendiği gözlemlendi. Tubulusları oluşturan epitel hücreleri; büyük, oval, veziküler çekirdeklere ve belirgin nükleollere sahipti. Belirgin düzeyde hücresel ve nükleer polimorfizm gözlemlendi; ayrıca değişken sayıda mitotik figüre rastlandı.



Resim 1. A: Tubuler karsinom; B: lenf yumrusunda tubuler özellik gösteren metastaz odakları, olgu no:4, HE.

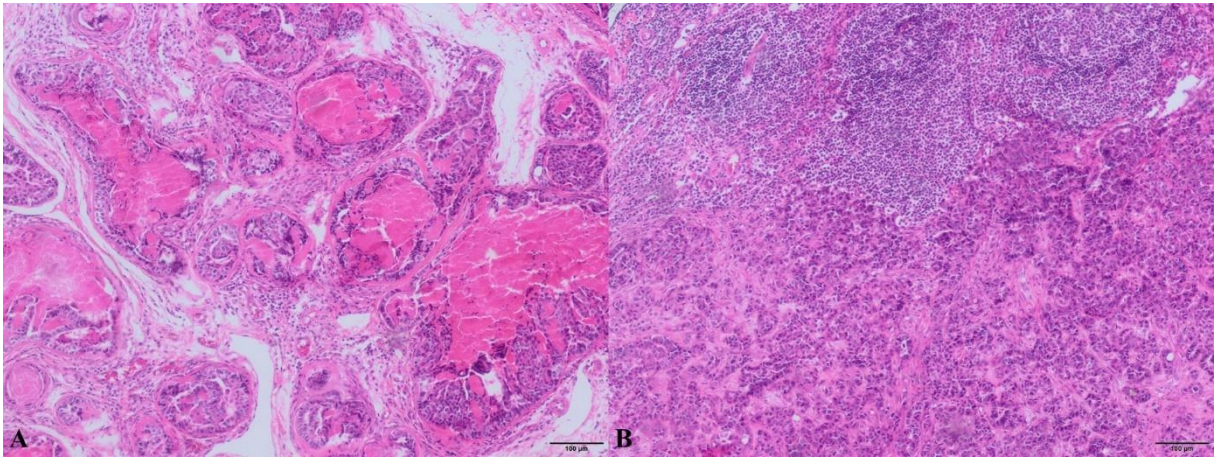
Tubuler lümenlere uzanan neoplastik epitel hücreleriyle kaplı papiller yapıların baskın olarak gözlemlendiği tubulopapiller karsinom olgularında (olgu no: 2, 5, 7, 13, 14, 16, 17, 18, 20

ve 21) papillaların ince bir fibrovasküler bağ doku ile desteklendiği izlendi. Ayrıca, papiller invaginasyonların izlenmediği yalnızca tubuler yapılara sahip odaklar da mevcuttu.



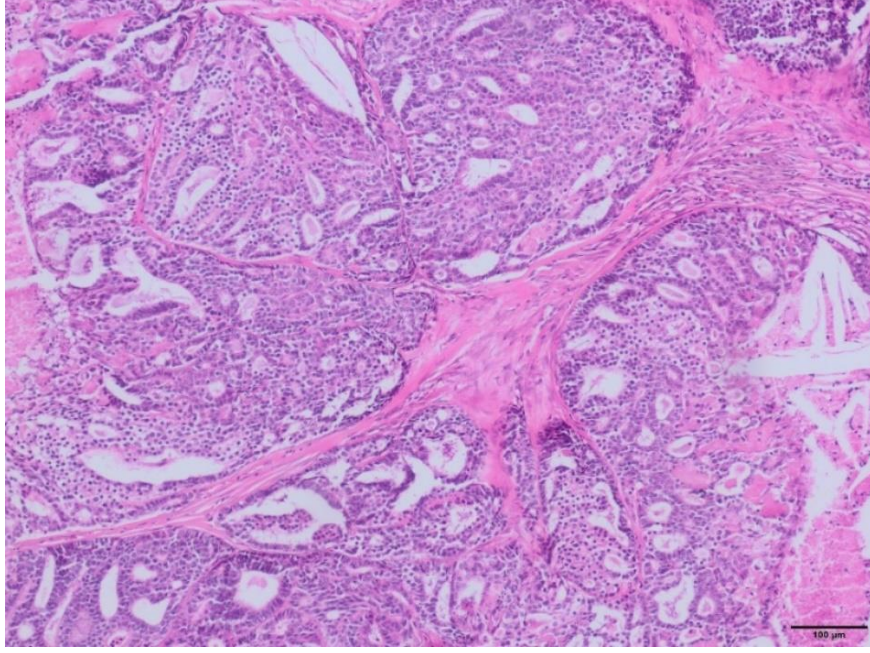
Resim 2. A: Tubulopapiller karsinom; B: lenf yumrusunda benzer özellik gösteren metastaz odakları, olgu no:16, HE.

Komedokarsinom olgularında (olgu no: 12 ve 15), neoplastik hücreler solid bir desene sahipti. Neoplastik hücre nodüllerinin merkezinde iyi tanımlanmış birkaç büyük nekroz odakları mevcuttu ve nekrotik odakların çevresinde fibrovasküler trabeküllerle ayrılmış neoplastik epitel hücre tabakaları gözlemlendi. Nekrotik materyal değişken derecede eozinofilik özellik göstermekteydi ve piknotik döküntüler, makrofajlarla birlikte farklı yangısal hücrelerle ilişkililiydi.



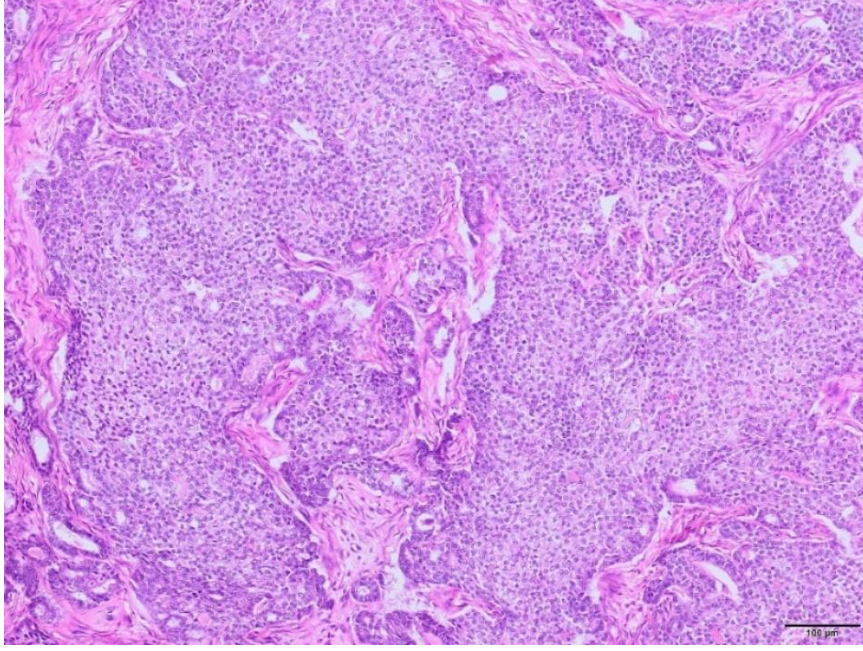
Resim 3. A: Komedokarsinom; B: lenf yumrusunda metastaz odakları, olgu no:12, HE.

Kribriform karsinom olarak deęerlendirilen bir olguda (olgu no: 11) dūřuk būyūtmde zorlukla fark edilebilen ancak yūksek būyūtmde lūmen olarak tanımlanabilen neoplastik hūcrelerle kaplı lūmenlerin varlıęı gōzlendi. Bu lūmenlerin çok kūuk ve yuvarlak olduęu elek benzeri bir dūzen oluřturduęu izlendi.



Resim 4. Kribriform karsinom; olgu no: 11, HE.

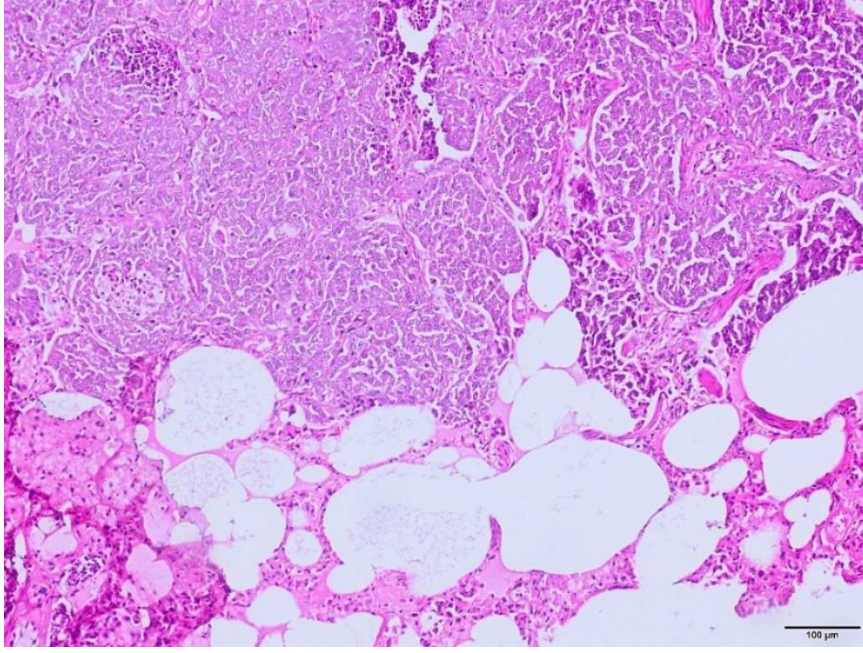
Solid karsinom olgularında (olgu no: 1 ve 8), neoplastik epitel hūcrelerinin lūmen veya tubulus oluřturmaksızın solid tabakalar hālinde dūzenlendięi ve ince fibrovaskūler baę dokusu trabekūlleriyle ayrılan, dūzensiz boyutlardaki lobūlleri oluřturduęu gōzlendi. Neoplastik hūcreler, çok sayıda mitoz figūrū içeren pleomorfik özellikler gōstermekteydi. Hūcreler, poligonal ile oval arasında deęiřen morfolojiye sahip olup genellikle belirgin olmayan hūcre sınırları ve hafif eozinofilikten bazofilięe kadar deęiřebilen sitoplazmaya sahipti. Çekirdekler oval řekilli olup hiperkromatik özellik gōstermekteydi.



Resim 5. Solid karsinom; neoplastik hücrelerin oluşturduğu solid alanlar, olgu no:8, HE.

Karsinoma in situ olarak değerlendirilen bir olguda (Olgu No: 6), neoplastik dokunun bazal membranı istila etmediği, çevredeki meme dokusuna yayılmadığı ve iyi tanımlanmış, infiltratif olmayan nodüllerden oluştuğu gözlemlendi. Neoplastik doku, yoğun hücresellik göstererek düzensiz kordonlar ve yuvalar şeklinde organize olmuş sıkı paketlenmiş hücrelerden oluşmaktaydı.

Metastaz şüphesi bulunan dört dokunun incelenmesi sonucunda, Olgu No: 4, 12 ve 16'ya ait lenf nodu kesitleri ile Olgu No: 22'ye ait akciğer kesitlerinde metastatik tümör odaklarının varlığı gözlemlendi.

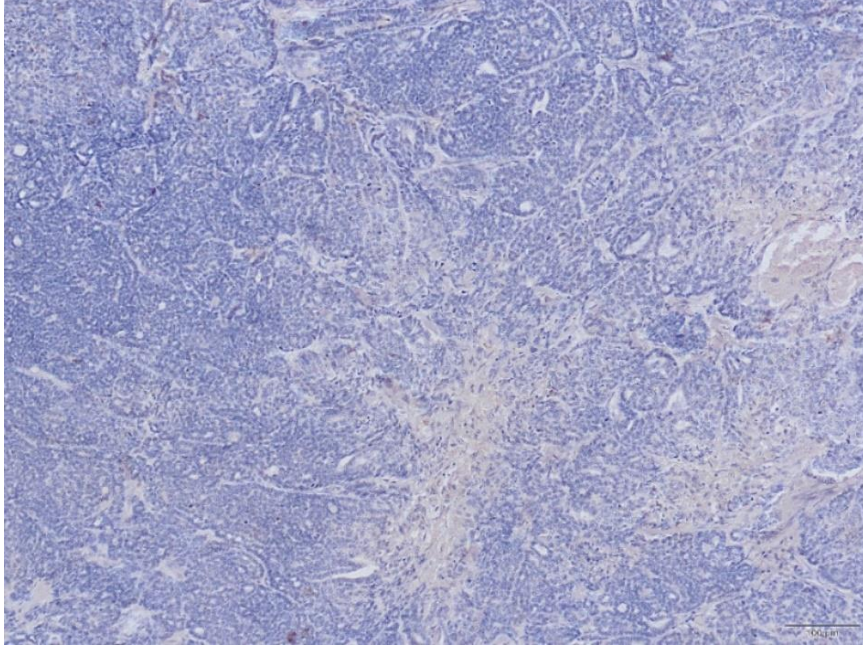


Resim 6. Olgu no:22’de belirlenen akciğerde metastatik tümör odakları, HE.

4.2. İmmunohistokimyasal Bulgular

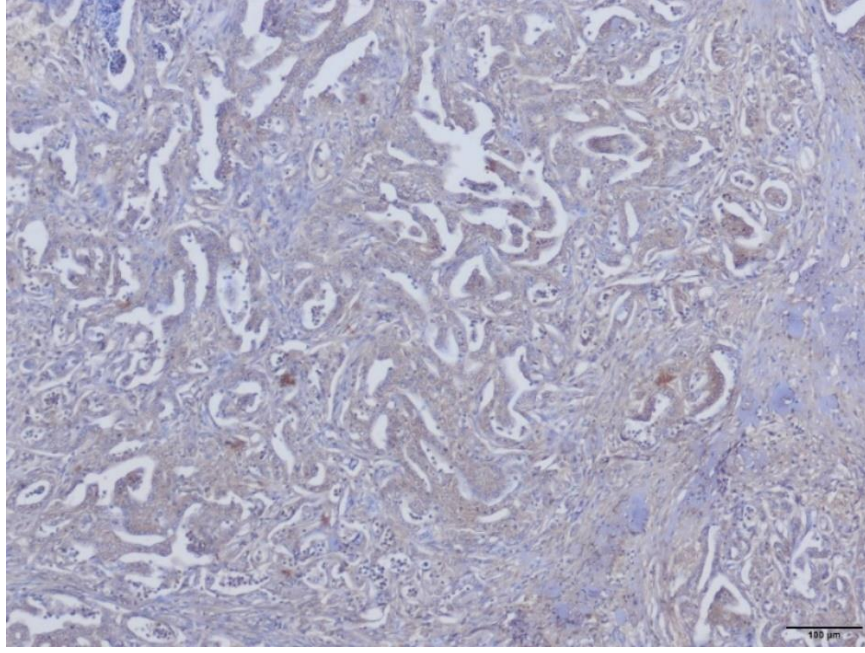
4.2.1. Kaspaz 3 Bulguları

Kedi meme karsinomlarında kaspaz 3 ifadesinin değerlendirilmesi amacıyla gerçekleştirilen immünohistokimyasal boyama sonucunda; 11 olguda (Olgu no: 1, 2, 3, 4, 6, 8, 9, 12, 15, 19, 20) negatif, 8 olguda (Olgu no: 5, 10, 11, 13, 17, 18, 21, 22) zayıf, 2 olguda (Olgu no: 7, 14) orta düzeyde ve 1 olguda (Olgu no: 16) güçlü düzeyde pozitif boyanma saptandı (Tablo 3).



Resim 7. Tubuler karsinom; kaspaz 3 negatif boyanma, olgu no:9, IHC (immunohistokimyasal yöntem).

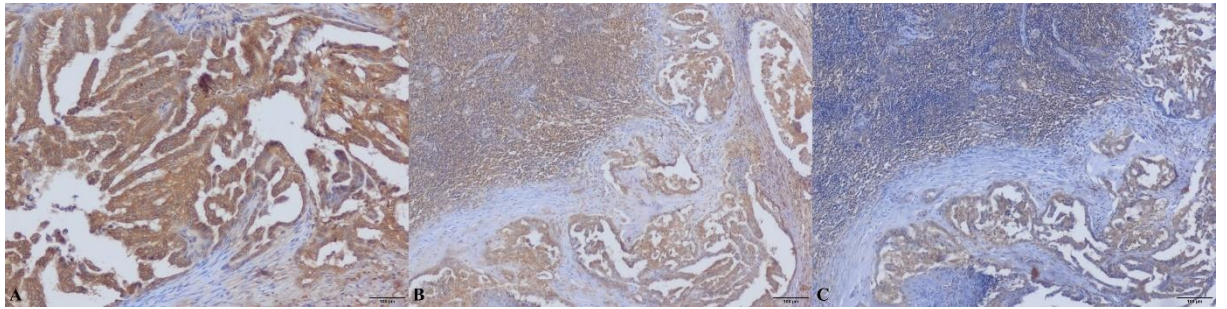
Zayıf boyanma gösteren 8 olgudan 5'inde (Olgu no: 5, 11, 13, 17, 18), boyanma yoğunluğunun oldukça düşük olduğu ve immunoreaktivitenin negatif sınıra daha yakın olduğu gözlemlendi. Orta düzeyde boyanma saptanan 7 numaralı olguda ise düşük yoğunlukta bir boyanma olmakla birlikte geniş hücre popülasyonlarında yaygın bir boyanma deseni gözlemlendi.



Resim 8. Tubulopapiller karsinom, orta düzeyde kaspaz 3 pozitifliği, olgu no:7, IHC.

Sınırlı düzeyde olmakla birlikte bazı olgularda sitoplazmik boyanmanın yanı sıra çekirdek boyanmaları da tespit edildi (Olgu no: 2, 5, 21).

Bazı olgularda hiperplastik alanlarda pozitif ve daha güçlü boyanma izlendi (Olgu no: 15, 21).

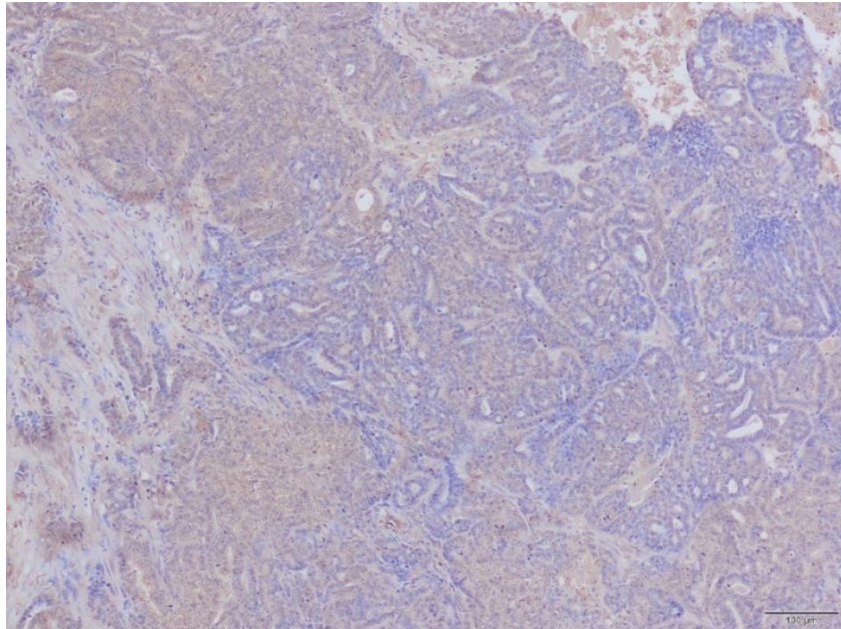


Resim 9. A: Tubulopapiller karsinom, kaspaz 3 güçlü pozitif boyanma, B: Lenf yumrusunda metastatik odakta kaspaz 3 pozitifliği, C: Lenf yumrusunda metastatik odakta Bcl-2 pozitifliği, olgu no: 16, IHC.

Olgu 12'nin primer meme karsinomu dokularında immunohistokimyasal incelemelerde boyanma izlenmezken, metastatik lenf yumrusu odaklarında zayıf düzeyde pozitiflik saptandı. Olgu 16'da güçlü düzeyde boyanma gözlenirken, bu olguya ait lenf nodunda metastaz odağındaki tüm hücrelerde ise daha da güçlü bir boyanma gözlemlendi. Olgu 22, zayıf bir kaspaz 3 pozitifliği gösterirken, aynı olguya ait akciğerde metastaz alanlarında orta düzeyde boyanma olduğu belirlendi. Olgu 4'e ait metastatik alanlar, doku kesiti yetersizliği nedeniyle immunohistokimyasal olarak değerlendirilememiştir.

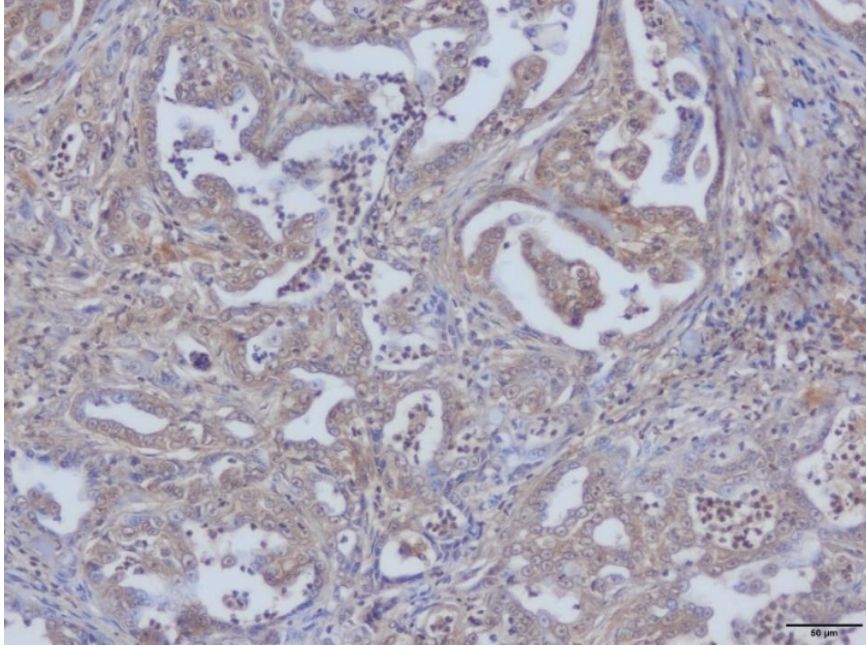
4.2.2. Bcl-2 Bulguları

Bcl-2 ile yapılan immunohistokimyasal boyamada kedi meme karsinomlarının 5 olgusunda (Olgu no: 4, 6, 9, 12, 15) zayıf, 8 olgusunda (Olgu no: 1, 3, 7, 8, 11, 16, 17, 21) orta ve 9 olgusunda (Olgu no: 2, 5, 10, 13, 14, 18, 19, 20, 22) ise güçlü boyanma saptandı (Tablo 2).



Resim 10. Tubuler karsinom, zayıf düzeyde Bcl-2 pozitif boyanma gösteren neoplastik epitel hücreleri, olgu no:4, IHC.

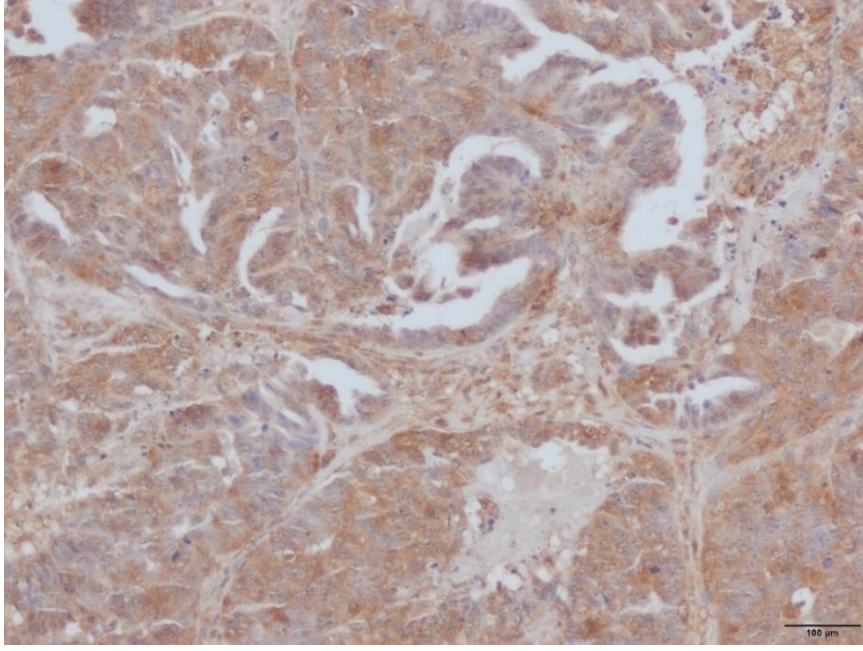
Hiçbir olguda tamamen negatif bir sonuç gözlenmemekle birlikte, sadece bir olguda boyanma yoğunluğunun oldukça düşük olup, immunoreaktivitenin negatif sınıra yakın seyrettiği gözlemlendi (Olgu no: 4).



Resim 11. Tubulopapiller karsinom, orta düzeyde Bcl-2 pozitif boyanma, olgu no:7, IHC.

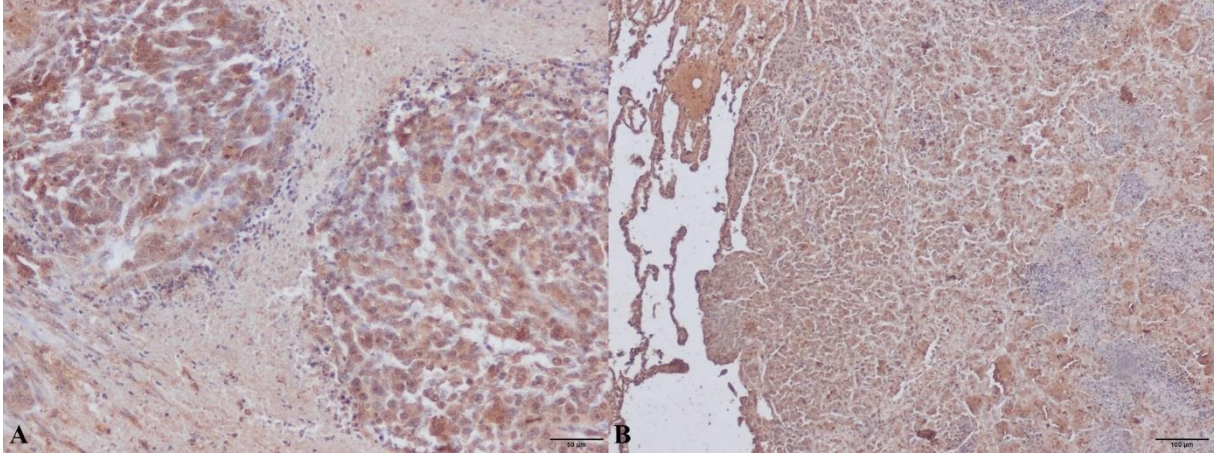
Orta düzey boyanma izlenen bazı olgulara ait hiperplastik alanlarda zayıf boyanma gözlemlendi (Olgu no: 8).

Olgu 14’te, sitoplazmik boyanmanın yanı sıra çekirdek boyanmaları da izlendi.



Resim 12. Tubulopapiller karsinom, güçlü Bcl-2 pozitifliği, olgu no:20, IHC.

Zayıf düzeyde boyanma gözlenen Olgu 12'ye ait metastatik lenf yumrusu odağında da benzer şekilde zayıf bir boyanma izlendi. Orta düzeyde boyanma gözlenen Olgu 16'ya ait lenf nodundaki metastatik odakta bulunan tüm tümör hücrelerinde ise güçlü bir boyanma saptandı. Güçlü seviyede boyanma izlenen Olgu 22'ye ait akciğerdeki metastatik odakta da benzer şekilde güçlü boyanma görüldü. Kaspaz 3'te olduğu gibi Olgu 4'e ait metastatik alanlar, doku kesiti yetersizliği nedeniyle immunohistokimyasal olarak değerlendirilememiştir.



Resim 13. A: Tubuler karsinom, güçlü Bcl-2 pozitiliği, B: Akciğerde görülen metastaz odaklarında benzer Bcl-2 pozitifliği, olgu no:22, IHC.

Tablo 3. Kedi meme karsinomu olgularında kaspaz 3 ve Bcl-2 immunohistokimyasal bulguları.

Olgu no	Kaspaz 3	Bcl-2	Sınıflandırma
1	-	++	Solid karsinom
2	-	+++	Tubulopapiller karsinom
3	-	++	Tubuler karsinom
4	-	+	Tubuler karsinom
5	+	+++	Tubulopapiller karsinom
6	-	+	Karsinoma in situ
7	++	++	Tubulopapiller karsinom
8	-	++	Solid karsinom
9	-	+	Tubuler karsinom
10	+	+++	Tubuler karsinom
11	+	++	Kribriform karsinom
12	-	+	Komedokarsinom
13	+	+++	Tubulopapiller karsinom
14	++	+++	Tubulopapiller karsinom
15	-	+	Komedokarsinom

Tablo 3. Kedi meme karsinomu olgularında kaspaz 3 ve Bcl-2 immunohistokimyasal bulguları (devam).

Olgu no	Kaspaz 3	Bcl-2	Sınıflandırma
16	+++	++	Tubulopapiller karsinom
17	+	++	Tubulopapiller karsinom
18	+	+++	Tubulopapiller karsinom
19	-	+++	Tubuler karsinom
20	-	+++	Tubulopapiller karsinom
21	+	++	Tubulopapiller karsinom
22	+	+++	Tubuler karsinom

*Semikantitatif değerlendirme: 0 (-); Negatif; +1 (zayıf); +2 (orta); +3 (güçlü).

4.3. İstatistiksel Bulgular

Karsinom olgularında kaspaz 3 ve Bcl-2 ekspresyonları arasındaki ilişki Pearson ve Spearman korelasyon testleri ile analiz edildi. Pearson korelasyon analizi iki belirteç arasında zayıf bir negatif ilişki gösterdi ($r = -0.103$), ancak bu ilişki istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p = 0.650$). Benzer şekilde, Spearman sıra korelasyon analizinde de anlamlı bir ilişki saptanmadı ($p = -0.129$, $p = 0.567$). Bu sonuçlar, çalışmadaki olgular kapsamında kaspaz 3 ve Bcl-2 ekspresyonları arasında anlamlı bir korelasyon bulunmadığını gösterdi.

Tablo 4. Pearson korelasyon testi.

	Correlations	Caspase 3 Skor	Bcl-2 Skor
Caspase 3 Skor	Pearson Correlation	1	-,103
	Sig. (2-tailed)		,650
	N	22	22
Bcl-2 Skor	Pearson Correlation	-,103	1
	Sig. (2-tailed)	,650	
	N	22	22

Tablo 5. Spearman korelasyon testi.

		Correlations	Caspase 3 Skor	Bcl-2 Skor
Sperman's rho	Caspase 3 Skor	Correlation Coefficient	1,000	-,129
		Sig. (2-tailed)	.	,567
		N	22	22
	Bcl-2 Skor	Correlation Coefficient	-,129	1,000
		Sig. (2-tailed)	,567	.
		N	22	22

5. TARTIŞMA

Meme kanseri, kadınlarda kanser kaynaklı ölümlerin başlıca nedeni ve etkili tedavi için özgül hedeflerin belirlenmesini gerektiren önemli bir sağlık sorunudur (Hassan ve diğerleri, 2025; Nascimento ve Ferreira, 2021). Kedilerde meme tümörlerinin insanlara göre daha sık görülmesi ve moleküler benzerlikleri, kedi meme bezi karsinomlarını insan meme kanserinin araştırılmasında güvenilir bir model yapmaktadır (Adega ve diğerleri, 2016; Dagher ve diğerleri, 2019; Lin ve diğerleri, 2021; Silva ve diğerleri, 2017). Kedi meme karsinomları, kedilerde en sık görülen malign tümörlerden biri olup, onkolojik ölümlerin başlıca nedenini oluşturur; yüksek agresiflik, kötü prognoz ve bölgesel lenf düğümleri ile akciğerlere hızlı metastaz özellikleriyle klinik açıdan kritik bir tümör tipidir (Lin ve diğerleri, 2021; Masood ve diğerleri, 2025; Monteiro ve diğerleri, 2025; Nascimento ve Ferreira, 2021; Silva ve diğerleri, 2017).

Apoptozis, meme bezi hücrelerinde karsinogenezisi etkileyen kritik ve karmaşık bir süreçtir (Dolka ve diğerleri, 2016; Silva ve diğerleri, 2017). Kanser ayırt edici özelliklerinden biri bozulmuş apoptotik mekanizmadır ve bu mekanizma, insan meme kanserinde apoptozise ilişkin biyobelirteçler tarafından düzenlenmektedir (Dolka ve diğerleri, 2016; Pu ve diğerleri, 2017; Silva ve diğerleri, 2017). Apoptotik mekanizmanın temel düzenleyicilerinden biri olan kaspaz 3, apoptozisin gerçekleşmesinde kilit bir enzim olup, apoptotik aktivitenin göstergesi olarak kabul edilir (Fayed ve diğerleri, 2022; Pu ve diğerleri, 2017). Bcl-2 ise, Bcl-2 protein ailesinin anti-apoptotik bir üyesi olarak, mitokondrilerden pro-apoptotik faktörlerin salınımını önleyerek apoptozisi engeller (Dagher ve diğerleri, 2019; Escórcio-Dourado ve diğerleri, 2017; Hassan ve diğerleri, 2025). Kaspaz 3 ve Bcl-2 gibi biyobelirteçleri, meme kanserinin seyrinin izlenmesinde, tanı doğruluğunun artırılmasında ve sağaltım kararlarına rehberlik etmede son derece önem arz etmektedir (Masood ve diğerleri, 2025).

Kaspaz 3, diğer efektör kaspazlara kıyasla daha baskın etkiye sahip olup hücre ölümü için gerekli temel bir kaspazdır ve hücre ölümüyle en açık şekilde ilişkili olandır (Brentnall ve diğerleri, 2013; Nakopoulou ve diğerleri, 2001; Silva ve diğerleri, 2022). Apoptotik mekanizmanın merkezi efektörü olan kaspaz 3'ün normal aktivitesindeki değişikliklerin, genetik dengesizliği ve karsinogenezi kolaylaştırarak çeşitli kanserlerin oluşumu ve

ilerlemesinde rol oynadığı bildirilmiştir (Liu ve diğerleri, 2015; Pu ve diğerleri, 2017; Silva ve diğerleri, 2017). Örneğin, akut miyeloid lösemide yüksek kaspaz 3 ekspresyonu gözlenmiş; kötü diferensiye prostat kanserlerinde ise iyi diferensiye tümörlere kıyasla daha düşük düzeyler bildirilmiş, ayrıca hepatoselüler karsinomlu hastalarda yüksek kaspaz 3 ekspresyonunun prognozun iyileşmesi ile yakından ilişkili olduğu belirtilmiştir (Pu ve diğerleri, 2017). Kaspaz 3 ifadesindeki azalmanın tümör gelişimini teşvik ettiği, artışının ise kanser büyümesini engellediği rapor edilmiştir (Faraglia ve diğerleri, 2005). İlerleyen yıllarda ise, tüm kaspaz enzim aile üyelerinin birleşik apoptotik etkisinin tümörögenezi önlemede etkili olduğu vurgulanmıştır (Olsson ve Jivotovsky, 2011). Apoptotik cisimlerin oluşumu için gerekli olan kaspaz 3, anti-kanser ilaç geliştirme çalışmalarında temel hedeflerden birisi olarak değerlendirilmektedir (Yadav ve diğerleri, 2021).

Meme karsinomlarına ilişkin yapılan bazı çalışmalarda, kaspaz 3 ifadesinin artışıyla birlikte apoptotik aktivitenin de yükseldiği bildirilmiştir. Bununla birlikte, bazı araştırmalarda yüksek kaspaz 3 ekspresyonunun, meme kanseri hastalarında hastalığa özgü olumsuz sağkalım ile ilişkili olduğu da raporlanmıştır (Pu ve diğerleri, 2017). Kaspaz 3 aktivasyonuna bağlı yüksek apoptotik indeks, insan meme kanserinde kötü prognoz ile ilişkilendirilmiştir (Silva ve diğerleri, 2017). Bazı araştırmacılar, kaspaz 3 ekspresyonunun belirlenmesinin, kemoterapötik ajanlara verilen yanıtın değerlendirilmesinde potansiyel bir biyobelirteç olarak kullanılabileceğini öne sürmüştür. Meme kanseri hastalarında kaspaz 3 ekspresyonundaki azalmanın saptanmasının da hücre sağkalımını düzenleyen önemli mekanizmaların anlaşılmasına katkı sağlayacağı düşünülmektedir (O'Donovan ve diğerleri, 2003).

İnsan meme tümörlerinde kaspaz 3 ekspresyonunu inceleyen çalışmalar çelişkili bulgular ortaya koymaktadır. Bazı araştırmalarda, meme tümörlerinin %75'inde kaspaz 3 ekspresyonunun saptanmadığı, geri kalan örneklerde ise ekspresyon düzeyinin azaldığı bildirilmiştir. Buna karşılık, invaziv meme tümörlerinin %75,2'sinde yüksek kaspaz 3 ekspresyonu görüldüğünü rapor eden çalışmalar da bulunmaktadır (Pu ve diğerleri, 2017). İnvaziv meme karsinom dokusunun kaspaz 3 ifadesinin normal meme dokusuna göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Aydoğan ve diğerleri, 2018; Zapata ve diğerleri, 1998; Silva ve diğerleri, 2017). Blázquez ve diğerleri (2006), 210 invaziv duktal meme karsinomunun %40,8'inde intrasitoplazmik kaspaz 3'ün aşırı ifadesine rastlamıştır. Jha ve diğerleri (2017) de immunohistokimyasal analizlerde meme kanseri olgularının %48,9'unda kaspaz 3 ifadesinin gözlemlendiğini bildirmiştir.

Terzian ve diğerkleri (2007), kaspaz 3'ün köpek meme tümörü olgularının %65,7'sinde güçlü pozitif immun reaksiyon gösterdiğini bildirmiştir. Dolka ve diğerkleri (2016) de malign köpek meme tümörlerinde aktif kaspaz 3 immunoreaktivitesini yüksek oranda (%53) saptarken; Aydoğan ve diğerkleri (2018), malign meme tümörlerinde kaspaz 3 ifadesini daha düşük oranlarda ve zayıf reaksiyonlar şeklinde bildirmiştir. Benzer şekilde, Akkoç ve Toplu (2020) da malign köpek meme tümörlerinde kaspaz 3 ekspresyonunu daha düşük (%14) düzeyde tespit etmiştir.

Kedi meme karsinomlarının biyolojik özelliklerini değerlendirmede histopatolojik incelemelerin her zaman yeterli olmadığı görülmüş, tanı ve prognoza dair daha güvenilir veri elde etmek için immunohistokimyasal yöntemlere başvurulmuştur (Silva ve diğerkleri, 2017). Bu bağlamda, Ki-67 nükleer proteini ve p53 gibi biyobelirteçlerin ifadesi incelenmiştir (Castagnaro ve diğerkleri, 1998; Hughes ve Dobson, 2012; Morris ve diğerkleri, 2008; Rasotto ve diğerkleri, 2011). Silva ve diğerkleri'ne (2017) ait bir çalışmada da benzer şekilde kaspaz 3 immunoreaktivitesi araştırılmış olup prognostik açıdan değerlendirilmemiştir. Tedaviye yönelik yapılan çalışmalara bakıldığında ise normal kaspaz aktivitesinin kemoterapötik dirençte etkili olduğu gösterilmiş ve özellikle aktif kaspaz 3 ifadesinin hem insan meme kanseri hem de kedi meme karsinomunda kemoterapi ve radyoterapiye dirençle ilişkili olabileceği ortaya koyulmuştur (Pu ve diğerkleri, 2017; Silva ve diğerkleri, 2017).

Bcl-2, meme kanseri de dahil olmak üzere birçok kanser türünde aşırı eksprese edilmekte; mutasyon sonrası hücrelerin hayatta kalmasını destekleyerek olumsuz genetik değişikliklerin birikmesine yol açmakta ve tümör oluşumu ile ilerlemesine katkıda bulunabilmektedir (Aydoğan ve diğerkleri, 2018; Dolka ve diğerkleri, 2016; Hassan ve diğerkleri, 2025). Çünkü Bcl-2'nin kanserde daha agresif bir tümör davranışı ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir (Dagher ve diğerkleri, 2019). Bcl-2 ifadesi, birçok tümör tipinde sağaltıma dirençle ilişkili olumsuz bir prognostik belirteç olarak bildirilmiştir (Hassan ve diğerkleri, 2025). Bcl-2'nin, kanser hücrelerinde sağaltıma direnç kazandırarak, meme karsinomu da dahil olmak üzere malign neoplastik olguların ilerlemesine katkıda bulunduğu bildirilmiştir (Hassan ve diğerkleri, 2025; Young ve diğerkleri, 2022). Düzensiz Bcl-2 ifadesi, aynı zamanda apoptozisi indüklemeyi hedefleyen terapötik stratejilere karşı da direnç gelişimine yol açabilmektedir (Lin ve diğerkleri, 2021). Kanserde apoptozisi indüklemek, cazip bir strateji olarak önemini korumakta olup bu doğrultuda apoptozisi düzenleyen mekanizmaları hedefleyen yeni antikanser ajanlar geliştirilmektedir (Fayed ve diğerkleri, 2022). Mevcut kanser tedavi stratejileri genellikle uzun süreli ve yan etkilidir; bu durum, daha güvenli ve

kısa sürede etkili kemopreventif ajanların geliştirilmesini teşvik etmiştir (Young ve diğerleri, 2022). Bu doğrultuda, anti-kanser ajan geliştirme çalışmalarında sentezlenen indeno[1,2-b]kinoksalin türevleri, Bcl-2'yi aşağı, pro-apoptotik Bax ve kaspaz 3'ü yukarı regüle ederek apoptozisi indükleyen umut verici bileşikler olarak dikkat çekmektedir (Fayed ve diğerleri, 2022).

Bazı araştırmacılar, Bcl-2 ifadesinin meme kanserinde rutin olarak kullanılan biyobelirteçler arasına dahil edilmesi gerektiğini öne sürmektedir (Escórcio-Dourado ve diğerleri, 2017). Bcl-2, meme kanserinde tekrarlama ve mortalite açısından güçlü bir prognostik faktör olarak kabul edilmektedir, ancak ifadesinin prognostik değeri tartışmalı bir konu olmasına rağmen Bcl-2'nin önemi çeşitli çalışmalarla doğrulanmış olup, anti-apoptotik etkisine rağmen olumlu bir prognostik faktör olarak tanımlanmıştır (Aydoğan ve diğerleri, 2018; Escórcio-Dourado ve diğerleri, 2017; Hassan ve diğerleri, 2025). İnsan meme kanserinde Bcl-2 ekspresyonunun, genel sağkalım ve hastalıksız sağkalım gibi parametreler açısından daha iyi sonuçlarla ilişkili olduğu çeşitli çalışmalarla bildirilmiş ve kanıtlanmıştır (Dagher ve diğerleri, 2019; Dolka ve diğerleri, 2016). Bcl-2 ifadesinin luminal meme karsinomu hastalarında daha olumlu sonuçlarla ilişkili olduğu birçok yazar tarafından bildirilmiştir (Dagher ve diğerleri, 2019; Hassan ve diğerleri, 2025). Ancak, üçlü negatif meme kanserlerinde daha az araştırma yapılmış olması nedeniyle elde edilen sonuçlar hâlâ tartışmalıdır (Dagher ve diğerleri, 2019). Bcl-2 ekspresyonu, HER2 pozitif fenotipte olumsuz, hormon reseptörü pozitif fenotipte ise olumlu bir prognostik belirteç olarak değerlendirilmektedir (Hassan ve diğerleri, 2025). Bcl-2 aile üyeleri arasındaki denge hücrenin yaşamını belirlerken, anti-apoptotik üye Bcl-2 ise hücrelere apoptozisten kaçma yeteneği kazandırmaktadır (Adega ve diğerleri, 2016; Young ve diğerleri, 2022). Bu durum, Bcl-2'yi hedef alarak apoptozisi düzenleyen yeni bir ilaç sınıfının geliştirilmesine olanak sağlamıştır; bu sınıf BH3 mimetiklerdir (Adega ve diğerleri, 2016; Young ve diğerleri, 2022). Özellikle meme atipisi bulunan kadın hastalarda, BH3 mimetiklerin malign dönüşüm sürecini önlemede etkili olabileceği düşünülmektedir (Young ve diğerleri, 2022). BH3 mimetiklerden biri olan Venetoclax'ın iki periyotluk uygulaması, meme kanserinde tümör ilerlemesini geciktirmiş, metastaz oluşumunu azaltmış ve sağkalımı uzatmıştır (Young ve diğerleri, 2022). Apoptotik mekanizmanın mitokondriyal yolunu düzenleyen Bcl-2, meme kanseri hastalarında potansiyel bir sağaltım hedefi olarak bilinmektedir (Dolka ve diğerleri, 2016; Masood ve diğerleri, 2025).

İnsan meme dokusunda, büyük ve küçük kanalların epitel hücreleri Bcl-2 pozitifliği sergilemektedir (Madewell ve diğerleri, 1999). Bcl-2, insan meme kanserinde yüksek düzeyde eksprese edilmektedir; önceki çalışmalarda örneklerin yaklaşık %75'inde aşırı ekspresyon bildirilmiş olup, genel olarak insan meme tümörlerinin %40-80'inde Bcl-2'nin aşırı ekspresyonuna rastlanmaktadır (Adega ve diğerleri, 2016; Aydoğan ve diğerleri, 2018). Hellemans ve diğerleri (1995) de 251 invaziv duktal meme karsinomunun %75'inde Bcl-2 pozitif olarak raporlamıştır. Başka bir çalışmada 7230 insan invaziv meme karsinomunun %68,2'sinde (4932 olguda) Bcl-2 ifadesine rastlanmıştır (Hwang ve diğerleri, 2012). Özellikle luminal meme karsinomlarında yüksek oranlarda Bcl-2 ifadesi gözlenmektedir (Hassan ve diğerleri, 2025). Bcl-2 ifadesi, luminal A tip meme kanserinde (%86,7) üçlü negatif meme kanserine (%40) göre daha fazla gözlenmiştir (Escórcio-Dourado ve diğerleri, 2017). Ancak farklı olarak başka bir çalışmada ise Bcl-2 ifadesi, örneklerin %52,2'sinde düşük, %47,8'inde ise yüksek düzeyde belirlenmiştir (Masood ve diğerleri, 2025). Özel tipi olmayan invaziv meme karsinomlarında, Bcl-2 ifadesi yalnızca luminal ve HER2 pozitif alt tiplerde saptanırken üçlü negatif vakalarda gözlenmemiştir (Hassan ve diğerleri, 2025).

Dolka ve diğerleri (2016), 40 adet köpek meme tümörünün %75'inde (30/40) Bcl-2 ekspresyonu saptamış ve Bcl-2 pozitif vakaların %74'ünün (23/31) malign karakterde tümörlerden oluştuğunu bildirmiştir. Aynı çalışmada Bcl-2'nin tubulopapiller ve solid adenokarsinomlar gibi yüksek malign karakterli köpek meme tümörlerinde aşırı eksprese edildiğini bildirilmiştir. Aydoğan ve diğerleri (2018) ise karsinosarkom vakalarında, tubulopapiller ve kompleks karsinom vakalarına kıyasla daha güçlü düzeyde ekspresyon gözlendiğini rapor etmiştir. Bununla birlikte, yine bu çalışmada incelenen 17 tubulopapiller karsinom, 31 kompleks karsinom ve 17 karsinosarkom vakasının tümünde Bcl-2 ekspresyonunun pozitif olduğu belirlenmiştir. Ayrıca Dolka ve diğerleri (2016), köpek meme tümörlerinde aktif kaspaz 3 ile Bcl-2 ekspresyonu arasında pozitif bir korelasyon bildiren ilk çalışmayı gerçekleştirmiştir. Bu çalışmada Bcl-2 ekspresyonu genellikle iyi huylu tümörlerde, aktif kaspaz 3 ekspresyonu ise malign neoplazilerde gözlenmiştir (Dolka ve diğerleri, 2016).

Kedi meme karsinomlarının Bcl-2 profili, insan muadilleriyle büyük benzerlik göstermektedir (Adega ve diğerleri, 2016). Bununla birlikte, insan meme kanserinde ve kedi meme karsinomlarında Bcl-2 pozitifliğinin daha olumlu klinik sonuçlarla ilişkilendirilmesi, bu proteinin her iki türdeki meme karsinomlarında benzer rollere sahip olabileceğini düşündürmektedir. Kedi invaziv meme karsinomlarında gözlenen Bcl-2 pozitif immunoreaktivitesi de insan meme kanserinde olduğu gibi iyi sonuçlarla ilişkilidir. Kedi

meme karsinomlarında Bcl-2 pozitifliği hastalıksız aralık, genel sağkalım ve kansere özgü sağkalım açısından Bcl-2 negatiliğine göre daha iyi sonuçlar göstermektedir. Kedi meme karsinomuna sahip 180 kedi, tanıdan sonraki iki yıl boyunca takip edilmiş, Bcl-2 pozitif gruptaki kedilerin %37'sinde nüks ve/veya metastaz gözlenirken Bcl-2 negatif grupta bu oran %64 olarak bulunmuştur. Bcl-2 negatif gruptaki kedilerin %73'ü kanser sebebiyle ölürken Bcl-2 pozitif grupta ölen kedilerin oranı %51 olarak belirlenmiştir (Dagher ve diğerleri, 2019). Bcl-2 ifadesi, kedi invaziv meme karsinomlarında kanserle ilişkili sağlık risklerinde yaklaşık iki kat azalma sağlamaktadır (Masood ve diğerleri, 2025). Bu açıdan anti-Bcl-2 hedefli sağaltım stratejilerini içeren klinik öncesi çalışmalar ile yeni tedavi yaklaşımlarının öncelikle kedi meme karsinomlarında değerlendirilmesi uygun yöntemlerdir (Adega ve diğerleri, 2016; Dagher ve diğerleri, 2019).

Meme karsinomları genellikle kısırlaştırılmamış yaşlı dişi kedilerde gözlenirken, kedi meme karsinomlarının yalnızca yaklaşık %1–5'i erkek kedileri etkilemektedir (Giménez ve diğerleri, 2010; Hayden ve Nielsen, 1971); mevcut çalışmada ise olguların tamamı dişi kedilerden oluşmaktadır. Kedi meme karsinomlarında ortalama tanı yaşının 10-12 yıl arasında olduğu bilinmektedir (Giménez ve diğerleri, 2010). Benzer şekilde, Dagher ve diğerleri (2019) çalışmalarında ortalama tanı yaşını $11,1 \pm 2,7$ yıl olarak bildirirken, Silva ve diğerleri (2017) ise bu değeri 10,43 yıl olarak rapor etmiştir. Bu çalışmada ise ortalama tanı yaşı, önceki çalışmalarla benzer aralıkta olmak üzere 10,65 yıl olarak bulunmuştur.

Meme neoplazilerinin en sık olarak evcil kısa tüylü ve Siyam ırkı kedilerde görüldüğü bilinmektedir (Hayes ve Mooney, 1985; Zappulli ve diğerleri, 2015). Bu çalışmada, hasta profilinin 16/22'sini evcil kısa tüylü kediler oluşturmuştur. Siyam ırkı kediler, meme tümörü gelişimi açısından yüksek risk taşımaktadır (Zappulli ve diğerleri, 2015). Silva ve diğerleri (2017), çalışmalarını oluşturan hasta profilinin %23,4'ünün Siyam ırkı kediler olduğunu bildirirken Dagher ve diğerleri (2019), 180 kediden 15'inin Siyam kedisi olduğunu raporlamıştır. Mevcut çalışmayı oluşturan hastaların 4 tanesi de Siyam ırkı kedilerdir (Olgu no: 3, 5, 10, 13).

Kedi meme karsinomlarına ilişkin gerçekleştiren çalışmalarda Dias Pereira ve diğerleri (2004) olguların yarısının tubulopapiller karsinomlardan oluştuğunu rapor etmiştir. Silva ve diğerleri (2017) ise olguların %83,4'ünü tubulopapiller karsinomların oluşturduğunu bildirirken kedi meme karsinomlarının histopatolojik incelemelerinin farklı sonuçlar ortaya koyabileceğini de vurgulamaktadır. Bazı araştırmalarda solid karsinomların daha yüksek sıklıkta görüldüğü, bazılarında ise tubuler karsinomların daha yaygın olarak gözlemlendiği

bildirilmektedir. Günümüzde yapılan Monteiro ve diğerleri (2025) ne ait çalışmada ise en yaygın histopatolojik tipin tubulopapiller karsinom olduğu bildirilmiştir. Mevcut çalışmada da en yaygın histopatolojik tip 10/22 oranla tubulopapiller karsinomlardır.

Kedi meme karsinomları, erken dönemde uzak organlara belirgin metastaz eğilimi göstermeleriyle karakterizedir (Hassan ve diğerleri, 2017; Monteiro ve diğerleri, 2025). Seixas ve diğerleri (2011), 92 kedi meme karsinomunun 23'ünde lenf nodu metastazına rastlamıştır. Zappulli ve diğerleri (2012), 57 vakanın birinde akciğer, altısında ise lenf nodu metastazı saptamıştır. Buendia ve diğerleri (2014), 139 karsinom olgusunun 73'ünde tanı anında bölgesel lenf nodu metastazı bulunduğunu bildirmiştir. Soares ve diğerleri (2016), 46 kedinin 12'sinde (%26,1) uzak metastazların görüldüğünü rapor etmiştir. Dagher ve diğerleri (2019), radyografi ve/veya ultrasonografi ile 180 olgunun 8'inde (%4) uzak metastaz varlığını tespit etmiş; ayrıca mastektomi sırasında 126/180 (%70) kediden aldıkları inguinal veya aksiller lenf noduna ait histolojik kesitlerinde 101/180 (%56) oranında metastatik yayılım saptamıştır. Monteiro ve diğerleri (2025), olguların %30,7'sinde (23/75) uzak metastazları belgelemiştir. Mevcut çalışmada ise değerlendirilen 22 kedi meme karsinomunun dördünde (bir akciğer, üç lenf nodu) metastaz şüphesi bulunan dokular incelenmiş ve tümünde histopatolojik olarak metastaz varlığı gözlenmiştir.

Kedi meme karsinomlarında aktif kaspaz 3 ifadesi, ilk kez Silva ve diğerleri (2017) tarafından değerlendirilmiştir. Silva ve diğerleri (2017), tüm kedi meme karsinomlarında aktif kaspaz 3'ün baskın bir sitoplazmik granüler boyama paterni sergilediğini bildirmiştir. Vaka dağılımı 5 vaka (%16,6) (+), 15 vaka (%50) (++), 9 vaka (%30) (+++) ve 1 vaka (%3,3) (+++++) şeklinde belirtilen çalışmada aktif kaspaz 3 tüm örneklerde pozitif boyanma yüzdesi ortalama %21,2 oranında belirtirtilmiştir. Ayrıca, bu çalışmada kedi meme karsinomlarında saptanan ortalama immun boyanma oranı (%21,2), %65,7 oranında güçlü pozitif boyanma bildirilen köpek meme tümörlerine ilişkin rapora kıyasla düşük bulunmuştur (Silva ve diğerleri, 2017). Mevcut çalışmada ise kaspaz 3 pozitiflik oranı 22 vakada %50 (11/22) olarak bulunmuştur.

Bazı araştırmacılar, aktif kaspaz 3'ün apoptozis sırasında sitoplazmadan çekirdeğe aktif olarak taşınabileceğini belirtmekte ve bu nedenle sitoplazmik boyanma deseninin yanı sıra nükleer boyanmanın da gözlenebileceğini öne sürmektedir (Blázquez ve diğerleri, 2006; Dolka ve diğerleri, 2016). Mevcut çalışmada da 3 olguda (olgu no: 2, 5, 21) kaspaz 3'e ait nükleer immun pozitiflik belirlenmiştir.

Çoğu kedi meme karsinomu Bcl-2 eksprese etmekte olup, kedi meme karsinomları ile insan meme kanserlerinde Bcl-2 ekspresyon sıklığını inceleyen çalışmaların sonuçları birbirine oldukça yakındır (Dagher ve diğerleri, 2019; Madewell ve diğerleri, 1999). Kedi meme karsinomlarında Bcl-2 ekspresyonu ve prognostik önemini inceleyen çalışmalar literatürde yer almıştır. Madewell ve diğerleri (1999), Bcl-2'nin kedi meme karsinomlarında sık olarak eksprese edildiğini bildirmiş; Dagher ve diğerleri (2019) ise bu tümörlerde Bcl-2'nin prognostik önemini araştıran ilk çalışmayı gerçekleştirmiştir. Madewell ve diğerleri (1999), kedi meme karsinomlarında Bcl-2 proteininin hücre içi dağılımını immunohistokimyasal yöntemle incelemiş ve 15 olgunun 13'ünde (%86,7) immunoreaktivite saptamıştır. Bu çalışmada reaktif tümör hücrelerinin oranı ortalama %59 olup, %20 ile %80 arasında değişiklik göstermiştir. Ayrıca iki olguda in situ karsinom belirlenmiş ve her iki tümörün de Bcl-2 ekspresyonu gösterdiği bildirilmiştir. Dagher ve diğerleri (2019), yaptıkları çalışmada incelenen olguların %72'sinde (130/180) neoplastik hücrelerin sitoplazmasında Bcl-2 ifadesi saptamıştır. Çalışmalarında kanser hücrelerinin %65'inde Bcl-2 ekspresyonunun reaktifken pozitif olduğunu kabul ettiklerinde olguların %17'sinde (31/180) Bcl-2 pozitifliği belirlemişlerdir. Pozitiflik için %10 eşik değeri kullanıldığında ise kedi meme karsinomlarının %52,2'si Bcl-2 ifade pozitif olarak bulunmuştur. Bu tez çalışmasında ise zayıf veya güçlü farketmeksizin tüm meme karsinomu örneklerinde Bcl-2 pozitif olarak belirlenmiştir.

Mevcut çalışmada, olguların tamamında Bcl-2 ekspresyonu pozitif bulunmuş, buna karşın kaspaz 3 ekspresyonu yalnızca olguların yarısında ve düşük düzeylerde pozitiflik göstermiştir. Ancak Bcl-2 ile kaspaz 3 ekspresyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Bcl-2 yüksekliği ile kaspaz 3 pozitifliği arasındaki bu istatistiksel uyumsuzluk, biyolojik eğilimle tam olarak örtüşmeyen dikkat çekici bir tablo ortaya koymaktadır. Benzer şekilde, Isobe ve diğerleri (2004) de Bcl-2 ile kaspaz 3 ekspresyonları arasında anlamlı bir ilişki saptamamış; IAP (Apoptozisi inhibe eden proteinler) ailesi proteini gibi diğer kaspaz 3 düzenleyici faktörlerin bu süreçte baskın rol oynayabileceğini ileri sürmüşlerdir. Bu bulgular, kaspaz 3 aktivasyonunun yalnızca Bcl-2 tarafından düzenlenmediğini düşündürmektedir. Mevcut çalışma, Bcl-2'den bağımsız yolları değerlendirmemiş olsa da, Bcl-2'nin apoptozisi baskıladığı ve kaspaz 3 aktivasyonunu engellediği düşünülebilir, çünkü Bcl-2'nin kaspaz kaskadının aktivasyonunu engellediği iyi bilinen bir özelliktir (Dolka ve diğerleri, 2016). Bcl-2, mitokondriyal zarı stabilize ederek apoptozis indükleyici faktör veya sitokrom c salınımını önleyebilir; bu durum kaspaz 9'un

aktivasyonunu sınırladığı için kaspaz 3'ün apoptozisi yürütmesi de engellenmiş olur (Ummanni ve diğerleri, 2010; Villar ve diğerleri, 2001).

Persad ve diğerleri (2004) ne ait çalışmada, kolorektal adenokarsinomların karaciğer metastazlarında belirgin kaspaz 3 immunoreaktivitesi saptanmamıştır. Ancak primer kolorektal adenokarsinomlarda kaspaz 3 ekspresyonu değerlendirilmediğinden, metastatik odaklarda kaspaz 3 düzeylerinin baskılanabileceği düşüncesi ortaya çıkmıştır. Bunun aksine, Wang ve diğerleri (2014) özefageal skuamoz hücreli karsinomlarda kaspaz 3 ifadesinin lenf yumrusu metastazlarında primer odağa kıyasla anlamlı derecede arttığını bildirmiştir. Mevcut çalışmada da benzer şekilde, değerlendirilen iki metastatik odakta primer meme karsinomlarına göre daha güçlü kaspaz 3 ekspresyonu izlenmiş; hatta bir olguda metastatik odak kaspaz 3 pozitifliği kazanmıştır.

Metastatik odaklarda primer tümörlere göre kaspaz 3 düzeyinin artışı, her zaman apoptozis ile ilişkili değildir. Cheng ve diğerleri (2008), kaspaz 3'ün klasik apoptozisteki rolü dışında, apoptozisten bağımsız ERK (hücre dışı sinyallerle düzenlenen kinaz) yolları aracılığıyla hücre göçünü ve tümör metastazını teşvik edebileceğini raporlamıştır. Bununla birlikte, Wang ve diğerleri (2014) özefageal skuamoz hücreli karsinomlarda primer tümörlere kıyasla lenf yumrusu metastazlarında artmış kaspaz 3 ifadesinin daha kötü sağkalım ile ilişkili olduğunu bildirmiştir. Liu ve diğerleri (2015) ise kaspaz 3 aktivasyonunun radyoterapi sonrası hayatta kalan tümör hücrelerinde genetik instabiliteyi ve onkojenik dönüşümü artırabileceğini bildirmiştir. Ayrıca Yang ve diğerleri (2017), meme kanserinde yüksek kaspaz-3 ifadesinin genel sağkalım üzerinde olumsuz etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Kolon kanserine yönelik yapılan bir çalışmada, kaspaz 3'ün tümör invazyonu ve metastatik süreçlerde rol oynayabileceği gösterilmiştir (Zhou ve diğerleri, 2018). Benzer şekilde, meme kanserine yönelik daha güncel çalışmalarda da kaspaz 3'ün tümör yayılımı ve metastaz süreciyle ilişkili olabileceğine dair pek çok veri ortaya konulmuştur (Dou ve diğerleri, 2024). Bu bağlamda, mevcut çalışmada metastatik odaklarda gözlenen kaspaz 3 ifadesinin artışı, apoptozise sürüklenmek yerine daha agresif bir biyolojik davranış ile ilişki ihtimalini düşündürmektedir. Ancak, bu çalışmada gerek metastaz sayısının az olması gerekse de anamnez ve prognoza ilişkin bilgi yetersizliği, değerlendirme sonuçlarını sınırlandırmıştır.

Primer tümörler ve metastazları arasında Bcl-2 ekspresyonunu karşılaştıran çalışmalar da sınırlıdır (Subhawong ve diğerleri, 2010). Mevcut veriler, Bcl-2'nin tümörün metastaz yapması üzerinde belirgin bir etkisi olmadığını ve uzak metastazları destekleyici olamayabileceğini düşündürmektedir (Villar ve diğerleri, 2001; Subhawong ve diğerleri,

2010). Villar ve diğeri (2001), primer meme karsinomu ile metastatik odaklar arasında Bcl-2 ekspresyonu açısından genel bir uyum olduğunu bildirmiş; yalnızca üç vakada farklılık saptamıştır. Bu vakalardan birinde primer tümörde negatif olan Bcl-2 ifadesi metastazda pozitif hale gelirken, iki vakada ise metastazlarda Bcl-2 ekspresyonu kaybolmuştur. Subhawong ve diğeri (2010) de vakaların çoğunda metastazlardaki Bcl-2 ekspresyonunu primer meme karsinomu ile benzer bulurken, 6 olguda Bcl-2 ekspresyonunun metastazlarda azaldığını veya kaybolduğunu, sadece 1 olguda primer meme karsinomuna kıyasla metastatik odakta Bcl-2 ifadesinin arttığını bildirmiştir. Lee ve diğeri (2003) ise renal hücreli karsinomlar üzerine yaptıkları çalışmada, metastazlarda Bcl-2 ekspresyonunun primer tümörlere göre arttığını tespit etmiştir. Çalışmamızda ise üç metastazda yalnızca birinde Bcl-2 ifadesi primer odağa kıyasla daha güçlü boyanmış; diğeri iki metastatik odakta ise benzer boyanma düzeyi saptanmıştır.

Apoptozisi düzenleyen proteinlerden sadece birinin ifadesinin belirlenmesi prognostik bir gösterge olarak kullanılmamalıdır (Dolka ve diğeri, 2016). Mevcut çalışma, anti-apoptotik aktiviteye sahip Bcl-2 ile apoptozisin başlıca yürütücüsü olan kaspaz 3'ün birlikte kedi meme karsinomlarındaki ifadesini değerlendiren ilk çalışmadır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Hasta bilgileri incelendiğinde, mevcut çalışmayı oluşturan olguların tamamının dişi kedilere ait olduğu saptanmıştır. Bu bulgu, dişi kedilerde meme karsinomunun daha sık görüldüğüne dair literatür verileriyle uyumludur. Kedilerde meme karsinomlarında ortalama tanı yaşı 10–12 yıl arasında olmakla birlikte, mevcut çalışmada saptanan ortalama tanı yaşı (10,65 yıl) benzer çalışmalardaki verilerle uyum göstermektedir. Hastalıktan en sık etkilenen ırklardan biri olan evcil kısa tüylü kediler, mevcut çalışmada da öne çıkan ırk olarak saptanmıştır. Ayrıca, meme karsinomu gelişimi açısından yüksek risk taşıyan Siyam ırkı kediler, mevcut çalışmada 22 olgunun 4'ünü oluşturmuştur.

Histopatolojik bulgular değerlendirildiğinde, en yaygın histopatolojik alt tipin daha önce yapılan çalışmalara benzer şekilde tubulopapiller karsinom olduğu saptanmıştır.

İmmunohistokimyasal incelemede, zayıf veya güçlü fark etmeksizin tüm meme karsinomu örneklerinde Bcl-2 ekspresyonu gözlenmiş olup, bu bulgunun kedi meme karsinomlarında yüksek Bcl-2 ifadesi bildiren çalışmalarla uyumlu olduğu gözlenmiştir. Kaspaz 3 ekspresyonu ise, tüm kedi meme karsinomlarında pozitif immunoreaktivite olduğunu bildiren çalışmanın aksine, mevcut çalışmada yalnızca olguların yarısında gözlenmiştir. Bu sonuçlar, anti-apoptotik Bcl-2'nin yüksek ifadesinin hücrelerin apoptozise girmesini engellediğini ve apoptozisin yürütücüsü olan kaspaz 3 aktivasyonunu inhibe ettiğini göstermektedir; çünkü anti-apoptotik Bcl-2 aile üyelerinin aşırı ifadesi çeşitli malignitelerde apoptozisi baskılamaktadır (Kalonı ve diğerleri, 2023). Bu durum, aynı zamanda kedi meme karsinomlarında gözlenen yüksek malignite, agresif klinik seyir, yüksek nüks ve metastatik yayılımı da desteklemektedir. Çünkü apoptozisteki dengesizliğin, karsinogenezi ve neoplastik ilerlemeyi desteklediği bilinmektedir (Silva ve diğerleri, 2017). Mevcut çalışmada vurgulanan kedi meme karsinomlarında gözlenen yüksek Bcl-2 ifadesinin, apoptozisi ve kaspaz 3 ekspresyonunu engellemesiyle ilişkili mekanizmaların aydınlatılması, kedi meme karsinomları ile yüksek benzerlik taşıyan insan meme kanserinde de benzer mekanizmalar hakkındaki araştırmalara önemli bir temel oluşturacaktır. Ayrıca bu konuda yapılacak olan araştırmalar kedi ve köpeklerde önemli bir sağlık sorunu olan meme karsinomlarının patolojileri hakkında daha detaylı bilgi sahibi olunmasına ve daha doğru teşhislerin yapılmasına yardımcı olacaktır. Veteriner onkolojide, özellikle kedilerde bu konuyla ilgili çalışmaların sınırlı olması nedeniyle, mevcut çalışmanın literatürdeki önemli bir boşluğu

dolduracağı düşünülmektedir. Öte yandan, metastatik süreç, agresif biyolojik davranış ve kötü prognoza yönelik etkisi olduğu bilinen, mevcut çalışmada da gözlenen metastaz odaklarında artan kaspaz 3 ifadesinin, daha fazla kedi meme karsinomlarında daha detaylı incelenmesi, anamnez, klinik bulgu ve prognoz ile değerlendirilmesi gerekmektedir. Kaspaz 3'ün tümör yayılımı ve metastazı teşvik edici bu etkisinin, apoptozisten bağımsız hangi yollar tarafından desteklendiği daha detaylı incelenmelidir. Bu sayede agresif davranışa sahip, metastatik yatkınlığı bilinen kedi meme karsinomlarında kaspaz 3'ün tümör biyolojisindeki rolü aydınlatılabilecektir.

Bu çalışma, veteriner onkolojideki diğer araştırmalara benzer şekilde, apoptozisin düzenlenmesinde rol oynayan kaspaz 3 ve Bcl-2'nin kedi meme karsinomlarındaki immunoreaktivitesini ortaya koymuştur. Ancak, sağlıklı bir kayıt sisteminin eksikliği nedeniyle hayvanlardaki prognoz ve sağkalım süreleri ile ilişkilendirme yapılamamıştır. Daha güvenilir verilerin elde edilebilmesi için hasta takibiyle desteklenen ve ayrıntılı anamnez bulgularının yer aldığı çalışmalara ihtiyaç vardır. Bununla birlikte, neoplastik hücrelerin apoptozise girip girmeyeceğinin belirlenmesinde rol oynayan Bcl-2 ailesinin pro-apoptotik ve diğer anti-apoptotik üyelerinin yanı sıra, apoptotik yürütme mekanizmasının bileşenleri olan diğer kaspazları da kapsayan daha ayrıntılı araştırmalara gereksinim duyulmaktadır. Gelecek çalışmalarda ayrıca örneklem sayısının artırılması ve Bcl-2'den bağımsız hücre ölümü yollarının yanı sıra IAP ve diğer kaspaz düzenleyici faktörlerin de incelenmesi, kaspaz 3 aktivasyon mekanizmalarının daha kapsamlı ve net bir şekilde anlaşılmasını sağlayacaktır.

Hücre kaderinin belirlenmesinde rol oynayan Bcl-2 ailesi ile apoptozisin yürütülmesinde kilit bir enzim olan kaspaz 3'ün ekspresyonunun incelendiği bu çalışmanın, gelecekte yapılacak ayrıntılı araştırmalar için bir basamak oluşturacağı kanaatindeyiz.

KAYNAKLAR

- Adega, F., Borges, A., & Chaves, R. (2016). Cat mammary tumors: Genetic models for the human counterpart. *Veterinary sciences*, 3(3), 17.
- Akkoç, A. (2020) *Köpeklerde doğal meme tümörlerinde HER2 ifadesinin ve apoptotik mekanizmaların araştırılması*. Doktora Tezi. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Aydın.
- Antonsson, B., & Martinou, J. C. (2000). The Bcl-2 protein family. *Experimental cell research*, 256(1), 50-57.
- Aydoğan, A., Özmen, O., Haligur, M., Sipahi, C., İleri, D., & Haligur, A. (2018). Immunohistochemical evaluation of bcl-2, ER-alpha, caspase -3, -8, -9, PCNA and Ki-67 expressions in canine mammary carcinomas. *Biotechnic & Histochemistry*, 93(4), 286–292. <https://doi.org/10.1080/10520295.2018.1434680>
- Baba AI, Cătoi C. Comparative Oncology. Bucharest (RO): The Publishing House of the Romanian Academy; 2007.
- Banjara, S., Suraweera, C. D., Hinds, M. G., & Kvensakul, M. (2020). The Bcl-2 Family: Ancient Origins, Conserved Structures, and Divergent Mechanisms. *Biomolecules*, 10(1), 128. <https://doi.org/10.3390/biom10010128>
- Basu A. (2022). The interplay between apoptosis and cellular senescence: Bcl-2 family proteins as targets for cancer therapy. *Pharmacology & therapeutics*, 230, 107943. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2021.107943>
- Blázquez, S., Sirvent, J. J., Olona, M., Aguilar, C., Pelegri, A., Garcia, J. F., & Palacios, J. (2006). Caspase-3 and caspase-6 in ductal breast carcinoma: a descriptive study. *Histology and histopathology*, 21(12), 1321–1329. <https://doi.org/10.14670/HH-21.1321>
- Brentnall, M., Rodriguez-Menocal, L., De Guevara, R. L., Cepero, E., & Boise, L. H. (2013). Caspase-9, caspase-3 and caspase-7 have distinct roles during intrinsic apoptosis. *BMC cell biology*, 14, 32. <https://doi.org/10.1186/1471-2121-14-32>

- Bruckheimer, E. M., Cho, S. H., Sarkiss, M., Herrmann, J., & McDonnell, T. J. (1998). The Bcl-2 gene family and apoptosis. *Advances in biochemical engineering/biotechnology*, 62, 75–105. <https://doi.org/10.1007/BFb0102306>
- Brunetti, B., Asproni, P., Beha, G., Muscatello, L. V., Millanta, F., Poli, A., Benazzi, C., & Sarli, G. (2013). Molecular phenotype in mammary tumours of queens: correlation between primary tumour and lymph node metastasis. *Journal of Comparative Pathology*, 148(2-3), 206–213.
- Buendia, A. J., Peñafiel-Verdu, C., Navarro, J. A., Vilafranca, M., & Sanchez, J. (2014). N-cadherin expression in feline mammary tumors is associated with a reduced E-cadherin expression and the presence of regional metastasis. *Veterinary pathology*, 51(4), 755–758. <https://doi.org/10.1177/0300985813505115>
- Burger, J. A., & Kipps, T. J. (2006). CXCR4: a key receptor in the crosstalk between tumor cells and their microenvironment. *Blood*, 107(5), 1761–1767.
- Burrai, G. P., Baldassarre, V., Brunetti, B., Iussich, S., Maniscalco, L., Mariotti, F., Sfacteria, A., Cocumelli, C., Grieco, V., Millanta, F., Paciello, O., Papparella, S., Rasotto, R., Romanucci, M., & Zappulli, V. (2022). Canine and feline in situ mammary carcinoma: A comparative review. *Veterinary Pathology*, 59(6), 894–902.
- Burrai, G. P., Mohammed, S. I., Miller, M. A., Marras, V., Pirino, S., Addis, M. F., Uzzau, S., & Antuofermo, E. (2010). Spontaneous feline mammary intraepithelial lesions as a model for human estrogen receptor- and progesterone receptor-negative breast lesions. *BMC Cancer*, 10, 156.
- Cannon C. M. (2015). Cats, Cancer and Comparative Oncology. *Veterinary Sciences*, 2(3), 111–126.
- Castagnaro, M., De Maria, R., Bozzetta, E., Ru, G., Casalone, C., Biolatti, B., & Caramelli, M. (1998). Ki-7 index as indicator of the post-surgical prognosis infeline mammary carcinomas. *Research in veterinary science*, 65(3), 223-226.
- Chen, B., Lin, S. J. H., Li, W. T., Chang, H. W., Pang, V. F., Chu, P. Y., ... & Jeng, C. R. (2020). Expression of HIF-1 α and VEGF in feline mammary gland carcinomas: association with pathological characteristics and clinical outcomes. *BMC Veterinary Research*, 16(1), 125.

- Cheng, Y. J., Lee, C. H., Lin, Y. P., Huang, J. Y., Su, C. C., Chang, W. T., & Yang, B. C. (2008). Caspase-3 enhances lung metastasis and cell migration in a protease-independent mechanism through the ERK pathway. *International journal of cancer*, 123(6), 1278–1285. <https://doi.org/10.1002/ijc.23592>
- Chocteau, F., Boulay, M. M., Besnard, F., Valeau, G., Loussouarn, D., & Nguyen, F. (2019). Proposal for a Histological Staging System of Mammary Carcinomas in Dogs and Cats. Part 2: Feline Mammary Carcinomas. *Frontiers in Veterinary Science*, 6, 387.
- Coultas, L., & Strasser, A. (2003). The role of the Bcl-2 protein family in cancer. *Seminars in cancer biology*, 13(2), 115–123. [https://doi.org/10.1016/s1044-579x\(02\)00129-3](https://doi.org/10.1016/s1044-579x(02)00129-3)
- Dagher, E., Abadie, J., Loussouarn, D., Fanuel, D., Campone, M., & Nguyen, F. (2019). Bcl-2 expression and prognostic significance in feline invasive mammary carcinomas: a retrospective observational study. *BMC veterinary research*, 15(1), 25. <https://doi.org/10.1186/s12917-018-1772-x>
- Dakkak, B. E., Taneera, J., El-Huneidi, W., Abu-Gharbieh, E., Hamoudi, R., Semreen, M. H., Soares, N. C., Abu-Rish, E. Y., Alkawareek, M. Y., Alkilany, A. M., & Bustanji, Y. (2024). Unlocking the Therapeutic Potential of BCL-2 Associated Protein Family: Exploring BCL-2 Inhibitors in Cancer Therapy. *Biomolecules & therapeutics*, 32(3), 267–280. <https://doi.org/10.4062/biomolther.2023.149>
- De Campos, C. B., Damasceno, K. A., Gamba, C. O., Ribeiro, A. M., Machado, C. J., Lavalle, G. E., & Cassali, G. D. (2016). Evaluation of prognostic factors and survival rates in malignant feline mammary gland neoplasms. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 18(12), 1003–1012.
- De Maria, R., Maggiora, P., Biolatti, B., Prat, M., Comoglio, P. M., Castagnaro, M., & Di Renzo, M. F. (2002). Feline STK gene expression in mammary carcinomas. *Oncogene*, 21(11), 1785–1790.
- Dias Pereira, P., Carvalheira, J., & Gärtner, F. (2004). Cell proliferation in feline normal, hyperplastic and neoplastic mammary tissue--an immunohistochemical study. *Veterinary journal (London, England: 1997)*, 168(2), 180–185. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2003.10.018>
- Dolka, I., Król, M., & Sapiernyński, R. (2016). Evaluation of apoptosis-associated protein (Bcl-2, Bax, cleaved caspase-3 and p53) expression in canine mammary tumors: An

immunohistochemical and prognostic study. *Research in veterinary science*, 105, 124–133. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2016.02.004>

- Dorn, C. R., Taylor, D. O., Schneider, R., Hibbard, H. H., & Klauber, M. R. (1968). Survey of animal neoplasms in Alameda and Contra Costa Counties, California. II. Cancer morbidity in dogs and cats from Alameda County. *Journal of the National Cancer Institute*, 40(2), 307–318
- Dou, H., Yu, P. Y., Liu, Y. Q., Zhu, Y., Li, F. C., Wang, Y. Y., ... & Xiao, M. (2024). Recent advances in caspase-3, breast cancer, and traditional Chinese medicine: a review. *Journal of Chemotherapy*, 36(5), 370–388.
- El-Rasikh, A. M., Farghali, H. A. M., Abdelrahman, H. A., Elgaffary, M., Abdelmalek, S., Emam, I. A., Ghoneim, M. A., & Selim, S. A. (2021). The implication of autoantibodies in early diagnosis and monitoring of plasmonic photothermal therapy in the treatment of feline mammary carcinoma. *Scientific Reports*, 11(1), 10441.
- Escórcio-Dourado, C. S., Martins, L. M., Simpício-Revoredo, C. M., Sampaio, F. A., Tavares, C. B., da Silva-Sampaio, J. P., ... & Da Silva, B. B. (2017). Bcl-2 antigen expression in luminal A and triple-negative breast cancer. *Medical Oncology*, 34(9), 161.
- Faraglia, B., Bonsignore, A., Scaldaferri, F., Boninsegna, A., Cittadini, A., Mancuso, C., & Sgambato, A. (2005). Caspase-3 inhibits the growth of breast cancer cells independent of protease activity. *Journal of cellular physiology*, 202(2), 478–482. <https://doi.org/10.1002/jcp.20149>
- Fayed, E. A., Gohar, N. A., Farrag, A. M., & Ammar, Y. A. (2022). Upregulation of BAX and caspase-3, as well as downregulation of Bcl-2 during treatment with indeno [1, 2-b] quinoxalin derivatives, mediated apoptosis in human cancer cells. *Archiv der Pharmazie*, 355(5), 2100454.
- Ferreira F. (2017). CXCL12-CXCR4 axis in feline mammary carcinoma. *Aging*, 9(12), 2457–2458.
- Folkman J. (1971). Tumor angiogenesis: therapeutic implications. *The New England journal of medicine*, 285(21), 1182–1186. <https://doi.org/10.1056/NEJM197111182852108>

- Giménez, F., Hecht, S., Craig, L. E., & Legendre, A. M. (2010). Early detection, aggressive therapy: optimizing the management of feline mammary masses. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 12(3), 214–224.
- Granados-Soler, J. L., Bornemann-Kolatzki, K., Beck, J., Brenig, B., Schütz, E., Betz, D., Junginger, J., Hewicker-Trautwein, M., Murua Escobar, H., & Nolte, I. (2020). Publisher Correction: Analysis of Copy-Number Variations and Feline Mammary Carcinoma Survival. *Scientific Reports*, 10(1), 5482.
- Hassan, B. B., Elshafae, S. M., Supsavhad, W., Simmons, J. K., Dirksen, W. P., Sokkar, S. M., & Rosol, T. J. (2017). Feline Mammary Cancer. *Veterinary Pathology*, 54(1), 32–43.
- Hassan, W. A., El Assmy, M., ElBanna, A. K., Harbieh, I., Noufal, N., Lotfy, H., ... & Ali, R. I. (2025). Associations between BCL-2 expression and different histopathological prognostic factors in different molecular subtypes of invasive breast carcinoma of no special type.
- Hayden, D.W. ve Nielsen, S.W. (1971). Feline mammary tumours. *The Journal of Small Animal Practice*, 12(12), 687–698
- Hayes A. (1977). Feline mammary gland tumors. *The Veterinary Clinics of North America*, 7(1), 205–212
- Hayes, A.A. ve Mooney, S. (1985). Feline mammary tumors. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*, 15(3), 513–520. [https://doi.org/10.1016/s0195-5616\(85\)50054-6](https://doi.org/10.1016/s0195-5616(85)50054-6)
- Heiser, D., Labi, V., Erlacher, M., & Villunger, A. (2004). The Bcl-2 protein family and its role in the development of neoplastic disease. *Experimental gerontology*, 39(8), 1125–1135. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2004.04.011>
- Hellemans, P., van Dam, P. A., Weyler, J., van Oosterom, A. T., Buytaert, P., & Van Marck, E. (1995). Prognostic value of bcl-2 expression in invasive breast cancer. *British journal of cancer*, 72(2), 354–360. <https://doi.org/10.1038/bjc.1995.338>
- Hughes, K. ve Dobson, J. M. (2012). Prognostic histopathological and molecular markers in feline mammary neoplasia. *Veterinary Journal* (London, England: 1997), 194(1), 19–26.

- Hwang, K. T., Woo, J. W., Shin, H. C., Kim, H. S., Ahn, S. K., Moon, H. G., Han, W., Park, I. A., & Noh, D. Y. (2012). Prognostic influence of BCL2 expression in breast cancer. *International journal of cancer*, 131(7), E1109–E1119. <https://doi.org/10.1002/ijc.27539>
- Irshad, A., Sarwar, N., Khalid, A., Bacha, U., Zia, R., & Jawad, R. (2023). An In-situ Mutational Analysis of BCL-2 Gene in Pets Cancer. *Medical and Life Sciences*, 2(1), 58-65.
- Isobe, N., Onodera, H., Mori, A., Shimada, Y., Yang, W., Yasuda, S., Fujimoto, A., Ooe, H., Arii, S., Kitaichi, M., & Imamura, M. (2004). Caspase-3 expression in human gastric carcinoma and its clinical significance. *Oncology*, 66(3), 201–209. <https://doi.org/10.1159/000077996>
- Jha, K., Shukla, M., Kumar, M., Shukla, V. K., & Pandey, M. (2017). Expression of caspase 3 and inhibition of apoptosis lowers survival in breast cancer. *World Journal of Surgical Medical and Radiation Oncology*, 6(3).
- Kaloni, D., Diepstraten, S. T., Strasser, A., & Kelly, G. L. (2023). BCL-2 protein family: attractive targets for cancer therapy. *Apoptosis: an international journal on programmed cell death*, 28(1-2), 20–38. <https://doi.org/10.1007/s10495-022-01780-7>
- Kiraz, Y., Adan, A., Kartal Yandim, M., & Baran, Y. (2016). Major apoptotic mechanisms and genes involved in apoptosis. *Tumour biology : the journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine*, 37(7), 8471–8486. <https://doi.org/10.1007/s13277-016-5035-9>
- Krajewska, M., Wang, H. G., Krajewski, S., Zapata, J. M., Shabaik, A., Gascoyne, R., & Reed, J. C. (1997). Immunohistochemical analysis of in vivo patterns of expression of CPP32 (Caspase-3), a cell death protease. *Cancer research*, 57(8), 1605–1613.
- Ladokhin A. S. (2020). Regulation of Apoptosis by the Bcl-2 Family of Proteins: Field on a Brink. *Cells*, 9(9), 2121. <https://doi.org/10.3390/cells9092121>
- Lee, C. T., Genega, E. M., Hutchinson, B., Fearn, P. A., Kattan, M. W., Russo, P., & Reuter, V. E. (2003). Conventional (clear cell) renal carcinoma metastases have greater bcl-2 expression than high-risk primary tumors. *Urologic oncology*, 21(3), 179–184. [https://doi.org/10.1016/s1078-1439\(02\)00236-3](https://doi.org/10.1016/s1078-1439(02)00236-3)

- Lin, J., Kouznetsova, V. L., & Tsigelny, I. F. (2021). Molecular mechanisms of feline cancers. *OBM Genetics*, 5(2), 1-29.
- Liu, X., He, Y., Li, F., Huang, Q., Kato, T. A., Hall, R. P., & Li, C. Y. (2015). Caspase-3 promotes genetic instability and carcinogenesis. *Molecular cell*, 58(2), 284–296. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2015.03.003>
- Luna LG. Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology. 3rd Edition 1968, McGraw-Hill, New York.
- Madewell, B. R., Gandour-Edwards, R., Edwards, B. F., Walls, J. E., & Griffey, S. M. (1999). Topographic distribution of bcl-2 protein in feline tissues in health and neoplasia. *Veterinary pathology*, 36(6), 565–573. <https://doi.org/10.1354/vp.36-6-565>
- Manoel, V. C., De Carvalho, P. L. T., Govoni, V. M., Da Silva, T. C., Queiroga, F. L., & Cogliati, B. (2021). Immunoexpression and Prognostic Significance of Multidrug Resistance Markers in Feline Mammary Carcinomas. *Journal of Comparative Pathology*, 183, 13–25.
- Marques, C. S., Soares, M., Santos, A., Correia, J., & Ferreira, F. (2017). Serum SDF-1 levels are a reliable diagnostic marker of feline mammary carcinoma, discriminating HER2-overexpressing tumors from other subtypes. *Oncotarget*, 8(62), 105775–105789.
- Masood, W., Ali, A. W., Shaheen, A., Zulfiqar, A., Haq, M. S. U., Raza, S. A., & Ashraf, A. (2025). The Protein Biomarkers of Feline Mammary Carcinoma: <https://doi.org/10.12982/VIS.2025.020>. *Veterinary Integrative Sciences*, 23(1), 1-25.
- Matos, A. J., Baptista, C. S., Gärtner, M. F., & Rutteman, G. R. (2012). Prognostic studies of canine and feline mammary tumours: the need for standardized procedures. *Veterinary Journal* (London, England: 1997), 193(1), 24–31.
- Matsumoto, M., Roufail, S., Inder, R., Caesar, C., Karnezis, T., Shayan, R., Farnsworth, R. H., Sato, T., Achen, M. G., Mann, G. B., & Stacker, S. A. (2013). Signaling for lymphangiogenesis via VEGFR-3 is required for the early events of metastasis. *Clinical & experimental metastasis*, 30(6), 819–832. <https://doi.org/10.1007/s10585-013-9581-x>
- Meuten, D.J. (2017). *Evcil hayvanlarda tümörler*. (5th ed.). Wiley Blackwell.
- Michishita, M., Otsuka, A., Nakahira, R., Nakagawa, T., Sasaki, N., Arai, T., & Takahashi, K. (2013). Flow cytometric analysis for detection of tumor-initiating cells in feline

- mammary carcinoma cell lines. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 156(1-2), 73–81.
- Mills, S. W., Musil, K. M., Davies, J. L., Hendrick, S., Duncan, C., Jackson, M. L., Kidney, B., Philibert, H., Wobeser, B. K., & Simko, E. (2015). Prognostic value of histologic grading for feline mammary carcinoma: a retrospective survival analysis. *Veterinary Pathology*, 52(2), 238–249.
- Misdorp W. (1991). Progestagens and mammary tumours in dogs and cats. *Acta Endocrinologica*, 125 Suppl 1, 27–31.
- Monteiro, M., Petrucci, G., & Queiroga, F. L. (2025). Prognostic Insights in Feline Mammary Carcinomas: Clinicopathological Factors and the Proposal of a New Staging System. *Animals*, 15(6), 779. <https://doi.org/10.3390/ani15060779>
- Morris J. (2013). Mammary tumours in the cat: size matters, so early intervention saves lives. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 15(5), 391–400.
- Morris, J. S., Nixon, C., Bruck, A., Nasir, L., Morgan, I. M., & Philbey, A. W. (2008). Immunohistochemical expression of TopBP1 in feline mammary neoplasia in relation to histological grade, Ki67, ER α and p53. *The Veterinary Journal*, 175(2), 218-226.
- Muscatello, L. V., Di Oto, E., Sarli, G., Monti, V., Foschini, M. P., Benazzi, C., & Brunetti, B. (2019). HER2 Amplification Status in Feline Mammary Carcinoma: A Tissue Microarray-Fluorescence In Situ Hybridization-Based Study. *Veterinary Pathology*, 56(2), 230–238.
- Nakopoulou, L., Alexandrou, P., Stefanaki, K., Panayotopoulou, E., Lazaris, A. C., & Davaris, P. S. (2001). Immunohistochemical expression of caspase-3 as an adverse indicator of the clinical outcome in human breast cancer. *Pathobiology : journal of immunopathology, molecular and cellular biology*, 69(5), 266–273. <https://doi.org/10.1159/000064337>
- Nascimento, C., & Ferreira, F. (2021). Tumor microenvironment of human breast cancer, and feline mammary carcinoma as a potential study model. *Biochimica et Biophysica Acta. Reviews On Cancer*, 1876(1), 188587.
- Nascimento, C., Gameiro, A., Correia, J., Ferreira, J., & Ferreira, F. (2022). The Landscape of Tumor-Infiltrating Immune Cells in Feline Mammary Carcinoma: Pathological and Clinical Implications. *Cells*, 11(16), 2578.

- Novosad C. A. (2003). Principles of treatment for mammary gland tumors. *Clinical Techniques in Small Animal Practice*, 18(2), 107–109.
- O'Donovan, N., Crown, J., Stunell, H., Hill, A. D., McDermott, E., O'Higgins, N., & Duffy, M. J. (2003). Caspase 3 in breast cancer. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*, 9(2), 738–742.
- Olsson, M., & Zhivotovsky, B. (2011). Caspases and cancer. *Cell death and differentiation*, 18(9), 1441–1449. <https://doi.org/10.1038/cdd.2011.30>
- Overley, B., Shofer, F. S., Goldschmidt, M. H., Sherer, D., & Sorenmo, K. U. (2005). Association between ovariectomy and feline mammary carcinoma. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 19(4), 560–563.
- Pérez-Alenza, M. D., Jiménez, A., Nieto, A. I., & Peña, L. (2004). First description of feline inflammatory mammary carcinoma: clinicopathological and immunohistochemical characteristics of three cases. *Breast Cancer Research: BCR*, 6(4), R300–R307.
- Persad, R., Liu, C., Wu, T. T., Houlihan, P. S., Hamilton, S. R., Diehl, A. M., & Rashid, A. (2004). Overexpression of caspase-3 in hepatocellular carcinomas. *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc*, 17(7), 861–867. <https://doi.org/10.1038/modpathol.3800146>
- Petrucci, G., Henriques, J., Gregório, H., Vicente, G., Prada, J., Pires, I., Lobo, L., Medeiros, R., & Queiroga, F. (2021). Metastatic feline mammary cancer: prognostic factors, outcome and comparison of different treatment modalities-a retrospective multicentre study. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 23(6), 549–556.
- Porter, A. G., & Jänicke, R. U. (1999). Emerging roles of caspase-3 in apoptosis. *Cell death and differentiation*, 6(2), 99–104. <https://doi.org/10.1038/sj.cdd.4400476>
- Pu, X., Storr, S. J., Zhang, Y., Rakha, E. A., Green, A. R., Ellis, I. O., & Martin, S. G. (2017). Caspase-3 and caspase-8 expression in breast cancer: caspase-3 is associated with survival. *Apoptosis*, 22(3), 357–368.
- Rasotto, R., Caliarì, D., Castagnaro, M., Zanetti, R., & Zappulli, V. (2011). An immunohistochemical study of HER-2 expression in feline mammary tumours. *Journal of comparative pathology*, 144(2-3), 170–179.
- Rodrigues, H., Carvalho, M. I., Pires, I., Prada, J., & Queiroga, F. L. (2016). Clinicopathological significance of caspase-3 and Ki-67 expression in canine mammary

gland tumours. *Acta veterinaria Hungarica*, 64(1), 78–89.
<https://doi.org/10.1556/004.2016.009>

- Rosen, S., Brisson, B. K., Durham, A. C., Munroe, C. M., McNeill, C. J., Stefanovski, D., Sørenmo, K. U., & Volk, S. W. (2020). Intratumoral collagen signatures predict clinical outcomes in feline mammary carcinoma. *Plos One*, 15(8), e0236516.
- Samali, A., Zhivotovsky, B., Jones, D. P., & Orrenius, S. (1998). Detection of pro-caspase-3 in cytosol and mitochondria of various tissues. *FEBS letters*, 431(2), 167–169.
[https://doi.org/10.1016/s0014-5793\(98\)00740-6](https://doi.org/10.1016/s0014-5793(98)00740-6)
- Seixas, F., Palmeira, C., Pires, M. A., Bento, M. J., & Lopes, C. (2011). Grade is an independent prognostic factor for feline mammary carcinomas: a clinicopathological and survival analysis. *Veterinary journal (London, England : 1997)*, 187(1), 65–71.
<https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2009.10.030>
- Sfiligoi, C., de Luca, A., Cascone, I., Sorbello, V., Fuso, L., Ponzzone, R., Biglia, N., Audero, E., Arisio, R., Bussolino, F., Sismondi, P., & De Bortoli, M. (2003). Angiopoietin-2 expression in breast cancer correlates with lymph node invasion and short survival. *International journal of cancer*, 103(4), 466–474.
<https://doi.org/10.1002/ijc.10851>
- Shafiee, R., Javanbakht, J., Atyabi, N., Bahrami, A., Kheradmand, D., Safaei, R., Khadivar, F., & Hosseini, E. (2013). Comparative value of clinical, cytological, and histopathological features in feline mammary gland tumors; an experimental model for the study of human breast cancer. *Diagnostic Pathology*, 8, 136.
- Silva, F. F. V. E., Padín-Iruegas, M. E., Caponio, V. C. A., Lorenzo-Pouso, A. I., Saavedra-Nieves, P., Chamorro-Petronacci, C. M., Suárez-Peñaranda, J., & Pérez-Sayáns, M. (2022). Caspase 3 and Cleaved Caspase 3 Expression in Tumorigenesis and Its Correlations with Prognosis in Head and Neck Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *International journal of molecular sciences*, 23(19), 11937.
<https://doi.org/10.3390/ijms231911937>
- Silva, M. N., Leite, J. S., Mello, M. F., Silva, K. V., Corgozinho, K. B., de Souza, H. J., Cunha, S. C., & Ferreira, A. M. (2017). Histologic evaluation of Ki-67 and cleaved caspase-3 expression in feline mammary carcinoma. *Journal of feline medicine and surgery*, 19(4), 440–445. <https://doi.org/10.1177/1098612X16634150>

- Silver I. A. (1966). The anatomy of the mammary gland of the dog and cat. *The Journal of Small Animal Practice*, 7(11), 689–696.
- Soares, M., Madeira, S., Correia, J., Peleteiro, M., Cardoso, F., & Ferreira, F. (2016). Molecular based subtyping of feline mammary carcinomas and clinicopathological characterization. *Breast (Edinburgh, Scotland)*, 27, 44–51.
- Subhawong, A. P., Nassar, H., Halushka, M. K., Illei, P. B., Vang, R., & Argani, P. (2010). Heterogeneity of Bcl-2 expression in metastatic breast carcinoma. *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc*, 23(8), 1089–1096. <https://doi.org/10.1038/modpathol.2010.93>
- Tawfik, M. F., Oda, S. S., & Khafaga, A. F. (2021). Pathological and Immunohistochemical Microscopy of Natural Cases of Canine and Feline Neoplastic Mammary Lesions. *Microscopy And Microanalysis: The Official Journal of Microscopy Society of America, Microbeam Analysis Society, Microscopical Society of Canada*, 27(4), 910–922.
- Terzian, A. C. B., de Campos Zuccari, D. A. P., Pereira, R. S., Pavam, M. V., Ruiz, C. M., Sueiro, F. A. R., & Coelho, J. (2007). Avaliação da caspase-3 e Ki-67 como marcadores prognósticos nas neoplasias mamárias em cadelas. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 44(2), 96-102.,
- Thomas R. (2015). Cytogenomics of Feline Cancers: Advances and Opportunities. *Veterinary Sciences*, 2(3), 246–258.
- Thomas, S., Quinn, B. A., Das, S. K., Dash, R., Emdad, L., Dasgupta, S., Wang, X. Y., Dent, P., Reed, J. C., Pellicchia, M., Sarkar, D., & Fisher, P. B. (2013). Targeting the Bcl-2 family for cancer therapy. *Expert opinion on therapeutic targets*, 17(1), 61–75. <https://doi.org/10.1517/14728222.2013.733001>
- Ummanni, R., Lehnigk, U., Zimmermann, U., Woenckhaus, C., Walther, R., & Giebel, J. (2010). Immunohistochemical expression of caspase-1 and -9, uncleaved caspase-3 and -6, cleaved caspase-3 and -6 as well as Bcl-2 in benign epithelium and cancer of the prostate. *Experimental and therapeutic medicine*, 1(1), 47–52. https://doi.org/10.3892/etm_00000008

- Vakkala, M., Pääkkö, P., & Soini, Y. (1999). Expression of caspases 3, 6 and 8 is increased in parallel with apoptosis and histological aggressiveness of the breast lesion. *British journal of cancer*, 81(4), 592–599. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6690735>
- Villar, E., Redondo, M., Rodrigo, I., García, J., Avila, E., & Matilla, A. (2001). bcl-2 Expression and apoptosis in primary and metastatic breast carcinomas. *Tumour biology : the journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine*, 22(3), 137–145. <https://doi.org/10.1159/000050608>
- Viste, J. R., Myers, S. L., Singh, B., & Simko, E. (2002). Feline mammary adenocarcinoma: tumor size as a prognostic indicator. *The Canadian Veterinary Journal=La Revue Veterinaire Canadienne*, 43(1), 33–37.
- Volakis, L. I., Li, R., Ackerman, W. E., 4th, Mihai, C., Bechel, M., Summerfield, T. L., Ahn, C. S., Powell, H. M., Zielinski, R., Rosol, T. J., Ghadiali, S. N., & Kniss, D. A. (2014). Loss of myoferlin redirects breast cancer cell motility towards collective migration. *PloS one*, 9(2), e86110. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0086110>
- Wang, X. S., Luo, K. J., Bella, A. E., Bu, S. S., Wen, J., Zhang, S. S., & Hu, Y. (2014). Caspase-3 expression in metastatic lymph nodes of esophageal squamous cell carcinoma is prognostic of survival. *World journal of gastroenterology*, 20(15), 4414–4420. <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i15.4414>
- Weijer, K., Head, K.W., Misdorp, W., Hampe, J. F. (1972). Feline malignant mammary tumors. I. Morphology and biology: some comparisons with human and canine mammary carcinomas. *Journal of the National Cancer Institute*, 49(6), 1697–1704.
- Yadav, P., Yadav, R., Jain, S., & Vaidya, A. (2021). Caspase-3: A primary target for natural and synthetic compounds for cancer therapy. *Chemical biology & drug design*, 98(1), 144–165. <https://doi.org/10.1111/cbdd.13860>
- Yamabe, K., Shimizu, S., Ito, T., Yoshioka, Y., Nomura, M., Narita, M., Saito, I., Kanegae, Y., & Matsuda, H. (1999). Cancer gene therapy using a pro-apoptotic gene, caspase-3. *Gene therapy*, 6(12), 1952–1959. <https://doi.org/10.1038/sj.gt.3301041>
- Yang, X., Zhong, D. N., Qin, H., Wu, P. R., Wei, K. L., Chen, G., He, R. Q., & Zhong, J. C. (2017). Caspase-3 over-expression is associated with poor overall survival and clinicopathological parameters in breast cancer: a meta-analysis of 3091 cases. *Oncotarget*, 9(9), 8629–8641. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.23667>

- Young, A., Bu, W., Jiang, W., Ku, A., Kapali, J., Dhamne, S., ... & Li, Y. (2022). Targeting the pro-survival protein BCL-2 to prevent breast cancer. *Cancer prevention research*, 15(1), 3-10.
- Zapata, J. M., Krajewska, M., Krajewski, S., Huang, R. P., Takayama, S., Wang, H. G., Adamson, E., & Reed, J. C. (1998). Expression of multiple apoptosis-regulatory genes in human breast cancer cell lines and primary tumors. *Breast cancer research and treatment*, 47(2), 129–140. <https://doi.org/10.1023/a:1005940832123>
- Zappulli, V., De Cecco, S., Trez, D., Caliarì, D., Aresu, L., & Castagnaro, M. (2012). Immunohistochemical expression of E-cadherin and β -catenin in feline mammary tumours. *Journal of comparative pathology*, 147(2-3), 161–170. <https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2012.02.004>
- Zappulli, V., De Zan, G., Cardazzo, B., Bargelloni, L., & Castagnaro, M. (2005). Feline mammary tumours in comparative oncology. *The Journal Of Dairy Research*, 72 Spec No, 98–106.
- Zappulli, V., Rasotto, R., Caliarì, D., Mainenti, M., Peña, L., Goldschmidt, M. H., & Kiupel, M. (2015). Prognostic evaluation of feline mammary carcinomas: a review of the literature. *Veterinary Pathology*, 52(1), 46–60.
- Zhou, M., Liu, X., Li, Z., Huang, Q., Li, F., & Li, C. Y. (2018). Caspase-3 regulates the migration, invasion and metastasis of colon cancer cells. *International journal of cancer*, 143(4), 921-930.

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİLİMSEL ETİK BEYANI

“Kedi Meme Bezi Karsinomlarında Caspase 3 ve Bcl-2 İmmunoreaktivitesinin Değerlendirilmesi” başlıklı Yüksek Lisans tezindeki bütün bilgileri etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada, bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiz atıf yaptığımı bildiririm. İfade ettiklerimin aksi ortaya çıktığında ise her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.

Ege YILDIRIM

09 / 01 / 2026

ÖZ GEÇMİŞ

Soyadı, Adı : YILDIRIM, Ege
Uyruk : T.C.
Doğum yeri ve tarihi : Aydın / 08.04.1999
Telefon : 0 546 763 53 68
E-posta : ylirmege986@gmail.com
Yabancı dil : İngilizce

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet tarihi
İlköğretim	Fahrettin Uyguntüzel İlköğretim Okulu	2013
Lise	Yavuz Selim Anadolu Öğretmen Lisesi	2017
Lisans	Balıkesir Üniversitesi	2022

İŞ DENEYİMİ

Yıl	Yer/Kurum	Ünvan
2024-	Tarım ve Orman Bakanlığı	Veteriner Hekim

AKADEMİK YAYINLAR

1. BİLDİRİLER

A) Uluslararası Kongrelerde Sunulan Bildiriler

AKKOÇ, A. N., & YILDIRIM, E. (n.d.). Mammary Tumors in Cats. Presented at the 6TH INTERNATIONAL IZMİR CONGRESS ON MEDICINE, NURSING, MIDWIFERY, AND HEALTH SCIENCES (Özet Bildiri) 11.10.2024, İzmir.