GAZİ ÜNİVERSİTESİ

Gazi

1926

OVARYUM KANSERLİ YUMURTA TAVUKLARINDA KURKUMİNİN N-RAS GEN EKSPRESYONU ÜZERİNE ETKİSİ

Canberk ÖZKAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ŞUBAT 2022

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında;

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

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Canberk ÖZKAN

17/02/2022

OVARYUM KANSERLİ YUMURTA TAVUKLARINDA KURKUMİNİN
N-RAS GEN EKSPRESYONU ÜZERİNE ETKİSİ
(Yüksek Lisans Tezi)

Canberk ÖZKAN

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Şubat 2022

ÖZET

Kanser nesiller boyu süregelen genetik bir hastalıktır. Kanser, normal hücrenin DNA yapısını bozarak hücreyi anormal bir duruma göndererek devamlı bölünmesini sağlayarak kontrolsüz hücre bölünmesi olarak tanımlanabilir. Kanser hastalığının tedavisi yardımcı tedaviler ile desteklenerek yapılmaktadır. Bunun yanı sıra bitkisel kaynaklı tedaviler ile de desteklenebilmektedir. Ovaryum kanseri çoğunlukla kadınlarda görülen ölümcül kanserlerden biri olarak görülmektedir. Genellikle hormon baskılayıcı ilaçlar, çocuk doğurmama veya BRCA geninde görülen mutasyon sonucunda oluşabilmektedir. Son zamanlarda geçmişte hastalıklara etkisi gözlemlenen bir baharatın kanser üzerinde de olumlu bir etkisinin olduğu gözlemlenmiştir. Kurkumin olarak adlandırılan zerdeçal (*Curcuma longa*) bitkisinden elden edilen bu madde antibakteriyel, antiviral ve antidiyabetik etkilerinin yanı sıra antikanser etkisi de görülmektedir. Antikanser etkisinde kurkumin kanserli hücredeki genleri upregülasyon ya da downregülasyon yoluyla apotoza gönderebilir veya DNA tamir mekanizmasını devreye sokarak hatalı genin düzenlenmesini sağlar. Bizim yaptığımız çalışmada kurkuminin ovaryum kanserinde etkisi görülen N-Ras geni ekspresyonu üzerindeki etkisini araştırmaktır. Çalışmamızda 104 haftalık 270 adet White Leghorhn tavuk kullanılmış, bu tavuklar 0, 200, 400 mg/kg doz kurkumin verilecek şekilde 3 gruba ayrılmıştır. Çalışma sonrasında tavuklardan almış olduğumuz kan örneklerinden DNA ektraksiyonu yapıldı ve hemen ardından DNA izolasyonu yapılmıştır. PCR ile belirlemiş olduğumuz gen bölgeleri çoğaltıldı. DNA sekanslamasında Sanger metodu kullanılarak yapılmıştır. Bulgular göz önüne alındığında kurkumin verilen gruplarda nükleotid değişimlerinin azaldığı görülmüştür. Sonuç olarak kurkumin hatalı nükleotidin değişmesi için DNA tamir mekanizmasını devreye sokarak tümör boyutunun küçülmesini ve kontrol altına aldığını ortaya koymuştur.

Bilim Kodu : 20326
Anahtar Kelimeler : Kurkumin, ovaryum kanseri, kemopreventif
Sayfa Adedi : 101
Danışman : Prof. Dr. Hakkı TAŞTAN

THE EFFECT OF CURCUMIN ON N-RAS GENE EXPRESSION IN EGG CHICKEN WITH OVARIAN CANCER

(M. Sc. Thesis)

Canberk ÖZKAN

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

February 2022

ABSTRACT

Cancer is a genetic disease that lasts for generations. Cancer can be defined as uncontrolled cell division by disrupting the DNA structure of the normal cell, sending the cell to an abnormal state and causing it to divide continuously. The treatment of cancer is supported by adjunctive treatments. In addition, it can be supported by herbal treatments. Ovarian cancer is seen as one of the deadly cancers mostly seen in women. It usually occurs as a result of hormone-suppressing drugs, infertility or mutation in the BRCA gene. Recently, it has been observed that a spice, which has been observed to have an effect on diseases in the past, also has a positive effect on cancer. This substance obtained from the turmeric (*Curcuma longa*) plant, called curcumin, has antibacterial, antiviral and antidiabetic effects as well as anticancer effects. In its anticancer effect, curcumin can send the genes in the cancer cell to apoptosis by upregulation or downregulation, or by activating the DNA repair mechanism, it ensures the regulation of the faulty gene. In our study, we investigated the effect of curcumin on the expression of the N-Ras gene, which has an effect on ovarian cancer. In our study, 270 White Leghorhn chickens at 104 weeks of age were used, and these chickens were divided into 3 groups to be given 0, 200, 400 mg/kg curcumin. After the study, DNA extraction was performed from the blood samples we took from the chickens and DNA isolation was performed immediately afterwards. The gene regions that we determined by PCR were amplified. DNA sequencing was done using the Sanger method. Considering the findings, it was observed that nucleotide changes decreased in the groups given curcumin. As a result, it has been revealed that curcumin activates the DNA repair mechanism to change the faulty nucleotide, thereby reducing the size of the tumor and controlling it.

Science Code : 20326
Key Words : Curcumin, ovarian cancer, chemopreventive
Page Number : 101
Supervisor : Prof. Dr. Hakkı TAŞTAN

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez çalışması süresince her konuda bana destek veren ve bilimsel yaklaşımından, her süreçte yol gösteren, bilgilerinden faydalandığım ve yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Hakkı TAŞTAN'a, bu tezin yapılmasında ve desteklenmesinde katkılarını esirgemeyen ve bizi desteklemesinden dolayı Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Zootekni ve Hayvan Beslenme Bölümü Başkanı Prof. Dr. Kazım ŞAHİN'e ve ekibine, proje desteği için TÜBİTAK'a, her konuda bana destek veren ve yanımda yer alan, her konuda yol gösterebilen aileme ve arkadaşlarıma teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET iv
ABSTRACT v
TEŞEKKÜR vi
İÇİNDEKİLER vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ viii
ŞEKİLLERİN LİSTESİ ix
RESİMLERİN LİSTESİ x
SİMGELER VE KISALTMALAR xi
1. GİRİŞ 1
2. GENEL BİLGİLER 17
2.1. Kanser 17
2.2. Ovaryum Anatomisi 26
2.3. Ovaryum Kanseri 27
2.4. Kanser Sinyal Yolakları 29
2.5. Kurkumin 38
2.6. Kurkuminin Antikanser Etkisi 51
3. MATERYAL METOD 61
3.1. Materyal 61
3.2. Metod 62
4. BULGULAR 67
5. TARTIŞMA VE SONUÇ 71
KAYNAKLAR 85
ÖZGEÇMİŞ 101

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge **Sayfa**

Çizelge 2.1. Kanserde ras mutasyonu oranları (Mutasyona uğramış örneklerin toplam örnek analizine oranı)..... 25

Çizelge 2.2. Kurkumin besin içeriği 40

Çizelge 2.3. Bakteri türlerinde kurkuminin antibakteriyal aktivitesi..... 46

Çizelge 2.4. Kurkuminin antiviral aktivitesi..... 48

Çizelge 2.5. Kurkuminin antifungal aktivitesi..... 49

Çizelge 3.1. Çalışmamızda kullanılan deney hayvanlarının gruplandırma şekli..... 61

Çizelge 3.2. Çalışmamızda kullanılan karma yem bileşiminin içeriği 61

Çizelge 3.3. NRAS geninin gen analizi 65

Çizelge 3.4. NRAS DNA dizileri..... 65

Çizelge 4.1. Kurkuminin N-ras geni üzerindeki gen değişim yüzde oranları..... 68

Çizelge 4.2. IVS ile ilgili Ki Kare (X^2) analiz testlerinde mutasyonların P değerleri 69

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil **Sayfa**

Şekil 2.1. Normal bir hücrenin kanserleşmeye geçişi 19

Şekil 2.2. MAPK sinyal yolağı 31

Şekil 2.3. Wnt/β-Katenin yolağı 33

Şekil 2.4. PI3K-PKB/Akt yolağı 34

Şekil 2.5. JAK/STAT yolağı 36

Şekil 2.6. NF-κB'nin kanonik ve kanonik olmayan yolağı 38

Şekil 2.7. Kurkuminin kimyasal formülü 39

Şekil 2.8. Kurkuminin içerdiği yapılar 42

Şekil 2.9. Kurkuminin etkisinin rol oynadığı biyolojik düzensizlikler 43

Şekil 2.10. Kurkuminin antikanser özelliği 52

Şekil 2.11. Kurkuminin moleküler hedefler üzerindeki etkisi (↑:Upregülasyon ↓: Downregülasyon) 59

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim **Sayfa**

Resim 1.1. Ovaryum anatomisi..... 27

Resim 1.2. *Curcuma longa* bitkisi ve *C. longa* bitkisinden elde edilen kurkuminin kök ve toz formları 39

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	**Açıklamalar**
°C	santigrat derece
µg	mikrogram
µm	mikrometre
µmol	mikromol
g	gram
i.p	intraperitonel
kDa	kilodalton
kg	kilogram
L	litre
mg	miligram
ml	mililitre
mM	milimolar
λmax	maksimum absorbsiyon

Kısaltmalar	**Açıklamalar**
4EP1	4E bağlayıcı protein 1
AP-1	Aktivatör protein 1
APC	Adenomatozis Polipozis Koli
AR	Androjen reseptörü
Arb	Antikor
Bcl	B hücre lenfoma
BRCA	Göğüs kanseri
C	Sitozin
CDK	Siklin bağımlı kinaz
CEA	Karsinoembriyonik antijen
CIC	Kortikol inkülüyon kist

Kısaltmalar	Açıklamalar
COSMIC	Kanserde somatik mutasyon sıklığı
COX	Siklosigenaz
CR	Cisplatine dirençli
CRC	Kolorektal kanser
CREB	cAMP yanıt elemanı bağlayıcı protein
CS	Cisplatine duyarlı
CTG	CellTiter-Glo lüminesans hücre canlılığı
CUR	Kurkumin
DAC	5-aza-2’ deoxycytine
DMBA	1,2 dimetilbenz (a) antrasen
DMH	1,2-dimetilhidrozin
DNA	Deoksiribonükleik asit
DR	Ölüm reseptörleri
EAT	Ehirlich assit tümör
EGFR	Epidermal büyüme faktörü
EMT	Epitel mezankimal geçiş
ERBB2	Reseptör tirozin kinaz-protein kinaz erb-2
ERG-3	Δ 5,6- desatüraz
ERK	Hücre dışı sinyalle düzenlenen protein kinaz
FDA	Food Drug Adminastration
FOXO	Forkhead protein
Fzd	Frizzied
G	Guanin
GAP	GTPaz aktive edici protein
GCT	Granüloza hücreli tümörler
GDP	Guanozin difostat
GEC	İnsan genital epitel hücreleri
GEF	Guanin nükleotik değişim faktörleri
GLUT4	Glikoz taşıyıcı tip 4
GpX	Glutatyon peroksidaz
GRAS	Generally Recognized As Safe
GSH	Glutatyon peroksidaz

Kısaltmalar	Açıklamalar
GTP	Guanozin-5'- trifostat
HCV	Hepatit C virüs
HGSC	Yüksek dereceli seröz karsinom
HIF	Hipoksi ile indüklenebilir faktör
HIV	İnsan immün yetmezlik virüsü
HO^{-1}	Hem oksigenaz
HPMC15LV	Hidroksi propil metil selüloz 1 Curc 5 LV
HPV	İnsan papilloma virüs
H-ras	Harvey sıçan sarkomu viral onkogen homoloğu
HSV-2	İnsan herpes simpleks virüs 2
HUVEC	İnsan umbelikal ven endotel hücresi
IC_{50}	Maksimum inhibitör konsantrasyonu
IKK	IκB kinaz
IL	İnterlökin
IRS	İnsülin reseptör substratı
Jak	Januz Kinaz
JUNK	Jun N-terminal kinaz
KDR	Kinaz-insert alan reseptörü
K-ras	Kristen sıçan sarkomu viral onkogen homoloğu
LDH	Laktak dehidrogenaz
LLC	Lewis akciğer karsinomu
L-OHP	Oksaliplatin
LOX	Lipoksigenaz
LPA	Lizofosfatidik asit
LPS	Lipopolisakkarit
LRP	Lipoprotein
mAb	Monoklonal antikor
MAM	Mitokondriye bağlı membran
MAPK	Mitojenle aktive olan protein kinaz
MAPKK	MAP kinaz kinaz
MAPKKK	MAP kinaz kinaz kinaz
MEK	Mitojen ile aktive edilmiş kinaz

Kısaltmalar	Açıklamalar
MMC	Mitomisin C
MMP	Matris metaloproteinaz
MMP	Mikondonriyal membran potansiyeli
MÖ	Milattan önce
MRSA	Metisiline dirençli S. aureus
MSC	Mezankimal kök hücre
MSSA	Metilisine duyarlı S. aureus
MT1-MMP	Membran tipi 1 matris metaloproteinaz
MTORC1	Rapamisin memeli hedefi 1
MTT	3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5 difenitetrazolyum bromür
NAC	N-asetil-1-sistein
NEMO	NF-κB temel modülatör
NF	Nörofibromatozis
NF-κB	Nükleer faktör-κB
NIH3T3	Ölümsüzleştirilmiş fare fibroblast
N-ras	Nöroblastoma ras viral onkogen homoloğu
Nrf-2	Nükleer faktör E2 ile ilgili faktör
OC	Ovaryum kanseri
ORAC	Oksijen Radikali Emme Kapasitesi
OSE	Ovayum yüzey epiteli
P13K	P13 kinaz
PARP-1	Poli (ADP-riboz) polimeraz 1
PC	Pankreas kanseri
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
PIP2	Fosfotidilnositol (3,4)-bifosfat
PIP3	Fosfotidilnositol (3,4,5)-trifosfat
PKC	Protein kinaz C
PPARγ	Peroksizom proliferatörü ile aktive edilen reseptör gama
PRR	Örüntü tanıma reseptörleri
PTC	Papiller tiroid kanseri
PTEN	Fosfotaz ve tensin homoloğu
PVP-K30	Poli vinil pirolidon K30

Kısaltmalar	Açıklamalar
RISC	RNA kaynaklı susturma kompleksi
RNA	Ribonükleik asit
RNA	RNA interferans
RNS	Reaktif nitrojen türleri
ROS	Reaktif oksijen türleri
RT-PCR	Real time (Eş zamanlı) PCR
S6K1	S6 kinaz polipeptid1
shRNA	Küçük saç tokası RNA
siRNA	Küçük interferans RNA
SOD	Süperoksitdizmutaz
STAT	Sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon
T	Timin
Tat	Transkripsiyon trans aktivatör
TAZ	PDZ bağlanma motifli tranksripsiyonel kofaktör
TCF/TEF	T hücre faktrörü/lenfoid güçlendirici faktör
TCR	T hücresi reseptörü
TGF	Dönüştürücü büyüme faktörü
TNBC	Üçlü negatif meme kanseri
TNF	Tümör nekroz faktörü
TNFR	TNF reseptör
TPA	12,0 tetradekakanonilforbol-13-asetat
TRAIL	TNF ile ilişkili apoptoz indükleyen ligand
TSC2	Tüber skleroz protein 2
UV	Ultraviyole
VEGF	Vasküler endotelyal büyüme faktörü
VSMCs	Vasküler düz kas hücreleri
YAP	Yes ilişkili proteni

1. GİRİŞ

Kanser dünya genelinde her yaştan ve cinsiyetten farklı gruplardaki insanları etkileyen bir hastalıktır [1]. Tüm kanserlerin yarısından fazlası, Güney Amerika ve Asya'da bulunanlar da dahil olmak üzere gelişmekte olan ülkelerde görülmekte, bu ülkelerdeki insanların yaklaşık dörtte üçü düşük veya orta gelirli kişilerde ortaya çıkmaktadır. Gelişmekte olan ülkelerdeki kanser sağ kalım oranları ise genellikle gelişmiş ülkelerdeki hastaların üçte biri kadardır. Gelişmiş ülkelerde 4 milyon ve gelişmekte olan ülkelerde 5 milyon yeni kanser vakası olmak üzere her yıl 9 milyon yeni kanser vakası görülmekte önümüzdeki on yıl boyunca kanser, dünya çapında önde gelen hastalık nedenlerinden biri olmakla beraber 2020 yılında kanser vakasının 15 milyona kadar çıkması beklenmektedir. Ayrıca, 2030'a kadar kanserin önde gelen ölüm nedenlerinden biri olacağı tahmin edilmektedir [2].

Kanserin genel bir tabirle tanımlamasını yapacak olursak kontrolsüz hücre bölünmesi diyebiliriz. Hücreler bölünürken belirli bir programa tabi tutulurlar eğer bu programa uyulmazsa program çöker ve hücreler kontrolsüz bir şekilde bölünmeye başlar. Buna etkenler genetik olmakla beraber dış etkenlerinde etkisiyle mümkün olabilmektedir. Kansere sebebiyet veren genler vücudumuzda doğal olarak bulunan ve hücre içinde belirli görevleri yerine getirmekle sorumlu olan genler veya gen aileleridir. Bu gen veya genlerin bir mutasyona uğraması ve bu hataları düzeltememe sonucu hücre içindeki görevini farklı bir yöne çevirerek hücrelerin kontrol dışı aşırı ekspresyonu görevini üstlenir.

Protonkogen dediğimiz genler mutasyonlar veya gen ampfilikasyonları sebebiyle onkogenlerin oluşumuna yol açan genlerdir. Onkogenler bağımsız olarak işlev görmekte hücre düzenlenmesini zararlı bir şekilde etkileyen hatalı proteinleri bir diğer adıyla onkoproteinleri kodlamaktadır. Bu onkoproteinler ise normal bir şekilde döngüsünü sürdürmekte olan hücre döngüsünü etkilemektedir [3].

RAS ailesinin üyelerindeki mutasyonlar, insan kanserlerinin yaklaşık %17'sinde mevcuttur [4]. Bazı kaynaklarda bu oran %30'lara kadar çıkabilmektedir [5].

Kanser hastalığının keşfedilmesiyle tabi belirli dönemlerde bu hastalığın bir tür habis olarak adlandırılması ve geri dönüşü olmayan bir hastalık olarak tanınmasından itibaren bu hastalığın tamamen tedavi edilmesi, tedavisine yardımcı olabilecek veya kanseri

önleyebilecek çalışmalar hız kesemeden devam etmekte her geçen gün tedavisinin mümkün kılacak yöntemler geliştirmişlerdir. Bu yöntemlerden biri ise önleme ve tedavide işe yaradığı yapılan araştırmalarla ortaya konmuş bir baharat olan *Curcuma longa* (Zerdeçal) bitkisinden elden edilen kurkumin olduğu belgelenmiştir.

Zerdeçal kullanımı 4000 yıl öncesine kadar Hindistan'da baharat olarak kullanımından Vedik kültürüne kadar dayanmaktadır. 1280'de Marco Polo, safranınkine çok benzer nitelikler sergileyen bir sebzeye hayran kalarak bu baharatı tanımlamıştır. Güney Asya'da uzun bir tıbbi kullanım geçmişine sahip olduğu gösterilmiş olup, Susruta'nın Ayuverda Compendium'unda zerdeçal zehirli yiyeceklerin etkisini hafifletmede etkili olan merhem olarak önerilmiştir [6]. Kurkuminin Batı dünyasında tanıtılması 14. yy'a dayanmaktadır. Halk ilacı olarak görülen kurkuminin günümüzde yaygın kullanımı devam etmektedir. Eski Hint tıbbında yaygın göz enfeksiyonlarını tedavi etmede, yaraları sarmada, ısırıkları, yanıkları, akneleri ve çeşitli cilt hastalıklarını tedavi etmede kullanılmıştır. Doğum kanalındaki herhangi bir yırtılmanın iyileşmesine yardımcı olmak için perineum üzerine bir zerdeçal lapası uygulanmaktadır. Öksürük ve solunum rahatsızlıklarını iyileştirmede kullanılan toz zerdeçal, kaynatılmış sütle birlikte alınmakta ve çocuklarda dizanteriye karşı olarak kavrulmuş zerdeçal iyi bir bileşendir. Aynı zamanda bu çare diş hastalıklarını, hazımsızlık ve sindirim bozukluklarını, hazımsızlığı, ülseri tedavi etme amacıyla ekstra olarak da esrar ve diğer psikotrop ilaçların halüsinasyon etkilerini hafifletmek için kullanılmaktadır [7].

Kurkuminin kanser etkisi üzerine yapılan araştırmalar incelendiğinde yapılan çalışmalarda kurkuminin antikanser özelliği olduğu gösterilmiştir.

Kurkumin ile yapılan bir çalışmada β-karoten, buğday kepeği ve kurkuminin etkisi gözlemlenmiştir. Çalışmada hayvanlara 1,2-dimetilhidrazin hidroklorür (DMH) enjekte edilmiş ve kolorektal kanseri indüklemek için iki kez iyonlaştırıcı radyasyona maruz bırakılmıştır. 10 farklı tedavi grubundan 120 kolon sıçanının dokusunda K-ras geninin mutasyon sıklığı, süperoksit dizmutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GpX) antioksidan enzimlerinin düzey aktivitesi ve SOD1, SOD2 ve GpX1 ekspresyonu incelenmiştir. Sonuçlara bakıldığında kurkumin, buğday kepeği ve β-karoten'in K-ras genindeki mutasyonları azaltarak kolon kanseri oluşumunu inhibe etkilemekte olup antioksidan enzim aktivite ve ekspresyonları üzerinde azaltıcı etkiye sahip olduğu gözlemlenmiştir [8].

Kurkuminin çözünmesini iyileştirmek amacıyla sprey kurutma ile kurkumin kompozit partiküllerinin hazırlanmış ve ardından kompozit partiküllerin anti-kanser aktivitesini belirleyen bir çalışma yapılmıştır. Çeşitli oranlarda kurkumin, laktoz monohidrat ve seçilmiş bir polimer, yani hidroksipropilmetilselüloz1Curc5LV (HPMC15LV) veya polivinilpirolidon-K30 (PVP-K30) içeren kompozit partiküller, spesifik bir koşulda püskürtmeli kurutma yoluyla10 mikrondan küçük boyutla imal edildi. Akciğer kanseri hücreleri (A549 hücreleri) üzerindeki anti-kanser aktivitesine bakıldığında, HPMC15LV kullanılan kompozit partiküllerin, hayatta kalan kanser hücrelerinin yüzdesini azaltma aktivitesi sergilediğini ve bu aktivitenin, işlenmemiş kurkuminden daha üstün olduğunu göstermiştir. Sonuç olarak, kurkumin içeren püskürtülerek kurutulmuş kompozit partiküller, uygun fizikokimyasal özellikleri ve anti-kanser aktiviteleri nedeniyle kanseri tedavi etmek için bir uygulama sistemi olarak kullanılabileceğini ortaya koymuştur [9].

Kurkuminin hücre büyümesini engellediği ve apoptozu indüklediğini ve ayrıca (TNF) ile ilişkili apoptoz indükleyen ligand (TRAIL)'in ise prostat kanseri yüzey hücrelerine bağlanarak apoptozu indüklediği gösterilmiştir. Yapılan bu çalışmada kurkuminin TRAIL'i uyararak apoptozu indüklemesinin molkeüler mekanizması araştırılmıştır. Kurkumin, androjene yanıt vermeyen PC-3 hücrelerinde ve androjene duyarlı hale getirilmiş TRAIL'e dirençli LNCaP hücrelerinde TRAIL'in apoptozu indükleme potansiyelini arttırmıştır. Kurkumin, Bcl-2, Bcl-XL, ve XIAP ifadelerini inhibe etti ve her iki hücrede Bax, Bak, PUMA, Bim ve Noxa ifadelerini ve ölüm reseptörlerini (TRAIL-R1 / DR4 ve TRAIL-R2 / DR5) indüklemiştir. Baskın negatif FADD (Fas ile ilişkili ölüm alanı) 'nin aşırı ifadesi, kurkumin ve TRAIL'in apoptoz üzerindeki etkileşimli etkilerini inhibe etmiştir. Bu hücrelerin kurkumin ile muamelesi, kaspaz-3 ve kaspaz-9'un aktivasyonu ve mitokondriyal membran potansiyelinde düşüş ile sonuçlanmış ve bu olaylar, TRAIL ile birleştirildiğinde daha da artmıştır. Bu sonuçalara bakıldığında kurkuminin hücre göçünü inhibe etme ve TRAIL'in terapötik potansiyelini artırma yeteneği, kurkuminin tek başına veya TRAIL ile kombinasyon halinde prostat kanserinin tedavisinde kullanılabileceğini öngörmüştür [10].

İki transkripsiyonel ko-aktivatör, YAP (Yes-ilişkili protein) ve onun yakın paralogu TAZ (PDZ-bağlanma motifli transkripsiyonel koaktivatör), çeşitli kanserlerde onkogenik aktiviteler uygular. Pankreas kanser (PC) hücrelerinde kurkumin kaynaklı hücre proliferasyon inhibisyonunun moleküler temelini belirlemeyi amaçlandığı bir çalışma yapılmıştır. Bu çalışmada kurkuminin PC hücre hatları üzerindeki anti-tümör etkilerini CTG

(CellTiter-Glo Lüminesan Hücre Canlılığı) testi, Akış sitometrisi, klonojenik test, yara iyileştirme testi ve Transwell invazyon testi kullanarak tespit edilmiştir. Kurkuminin, hücre büyümesini önemli ölçüde bastırdığını, klonojenik potansiyeli zayıflattığını, migrasyonu ve istilayı engellediğini ve PC hücrelerinde apoptozu ve hücre döngüsü tutuklanmasını uyarmıştır. Ayrıca YAP'ın aşırı ekspresyonunun hücre proliferasyonunu artırdığını ve kurkuminin PC hücreleri üzerindeki sitotoksik etkilerini ortadan kaldırdığı ölçülmüştür. Dahası, kurkuminin YAP ve TAZ ifadesini önemli ölçüde down regüle ettiğini ve ardından Notch-1 ifadesini bastırdığı bulunmuştur. Toplu olarak, bu bulgular göz önüne alındığında YAP ve TAZ aktivitesinin farmakolojik inhibisyonu PC hastalarının tedavisi için umut verici bir antikanser strateji olabileceğini düşündürmektedir [11].

Deri tümörlü erkek İsviçre albino farelerinde kurkuminin etkisinin araştırıldığı bir çalışmada 12-dimetilbenz (a) antrasen (DMBA) ile başlatılan ve 12, 0-tetradekanoilforbol-13-asetat (TPA) ile erkek İsviçre albino farelerinde deri tümörü oluşumu ile kurkuminin kemopreventif etkisi araştırılmıştır. 6 haftalıkken, hayvan grupları kontrol diyeti (modifiye AIN-76A) veya %0,2-%1 kurkumin içeren bir diyetle beslenmiştir. 8 haftalıkken, aseton ile muamele edilmiş gruplar dışındaki tüm hayvanlar, sırtlarındaki deriye tek bir uygulamada 100 µl aseton içinde çözülmüş 100 µg DMBA verilmiştir. DMBA uygulamasından 1 hafta sonra, tümör promotır (2.5 µg TPA, 100 µl aseton içinde çözülmüş), 26 hafta boyunca haftada iki kez fare derisinin aynı bölgelerine uygulanmıştır. Deney sona erene kadar tüm gruplar kendi beslenme rejimlerine devam etmiş, sonuçlar, %0,2-%1 kurkuminde diyet uygulamasının fare başına tümör sayısını ve tümör hacmini önemli ölçüde inhibe ettiğini göstermiştir. Genel sonuçlara bakıldığında, farelerde diyet kurkumininin güvenliğinin yanı sıra anti-kanserojen etkisini göstermiştir. Gelişmiş kemilüminesans Western blot saptama sistemi kullanılarak, FBJ murin osteojenik sarkom virüsünün (c-fos) hücresel onkogeninde ve deri tümörlü hücrelerde Harvey sıçan sarkom virüsü (c-Ha-ras) proteinlerinin hücresel onkogeninde nispi bir artış bulunmuştur. Deri tümörlerü erkek İsviçre albino farelerinde ras ve fos proto-onkogenlerinin arttırılmış ekspresyonu, diyetle alınan kurkumin ile azaltılmıştır. Ayrıca, kurkuminin fare epidermal özütlerinde protein kinaz C (PKC) aktivitelerini doza bağımlı bir şekilde inhibe ettiğide bulunmuştur [12].

Kurkuminin sıçanlarda kolon kanserine bağlı olarak rolünü değerlendirmeyi amaçlayan bir çalışmada 40 erkek sıçan 5 gruba ayrılmış olup, 1. grup kontrol, 2 ila 5. gruplara kolon kanseri indüksiyonu için haftada üç kez 0.5 ml su/sıçan içinde çözülmüş 2 mg dozunda N-

metilnitrosoüre ile intrarektal olarak enjekte edilmiş, 2. grup tedavi edilmeyen kanser grubu, intraperitoneal olarak 5-florourasil enjekte edilen 3. grup ve dört ay boyunca sırasıyla günde 437,5 mg / kg canlı ağırlık ve 875 mg / kg c.a. zerdeçal özütü ile oral yoldan tedavi edilen 4. ve 5. gruplardır. Kolon dokusunun histolojik incelemesi yapılmıştır. Kolon- katenin ve K-ras genlerinin ekspresyonu Real Time PCR (RT-PCR) ile tespit edilmiştir. Kolon COX-2 ve survivin ekspresyonunun tahmini için immünohistokimyasal teknik kullanılmıştır. Plazma TGF-, Bcl-2 ve serum CEA ve CCSA-4 seviyeleri ELISA prosedürü kullanılarak test edilmiştir. Kanser grubundaki kolon doku kesitlerinin histopatolojik incelemesinde kolon hücrelerinde displazi ve anaplazi göstermiş, ek olarak, kanser grubu kolon dokusunda -katenin ve K-ras genlerinin ekspresyon seviyelerinde önemli artış bildirilmiştir. Ayrıca, kolon kanserinin indüklendiği sıçanlarda, kolon dokusunda kolon COX-2 ve survivin ekspresyonunda önemli artış göstermiştir. Aksine, 5-florourasil veya kurkumin ile tedavi edilen grupta, kolon dokusunun histolojik yapısında belirgin bir iyileşme gösterdi. Bunun yanı sıra, β-katenin ve K-ras genlerinin ekspresyon seviyelerinde önemli bir azalma tespit edilmiştir. Ayrıca, tedavi edilen tüm gruplar, kolon dokusunda COX-2 ve survivin ekspresyonunda belirgin düşüş sergilemiştir. Bu nedenle, kurkuminin, anti-enflamatuar, anti-proliferasyon ve apoptotik etkilere sahip olduğu için sıçanlarda indüklenen kolon kanserine karşı ümit verici bir terapötik role sahip olduğu sonucuna varılabilir [13].

Kurkuminin Ehrlich assit tümör (EAT) hücrelerinin ve endotel hücrelerinin büyümesi üzerindeki etkisini *in vitro* olarak incelendiği ve ayrıca, anjiyojenik ligandların modülasyonu ile tümör anjiyogenezinin regülasyonu ve bunların tümör ve endotelyal hücrelerde sırasıyla reseptör gen ekspresyonuda araştırılmıştır. Kurkumin, farelere intraperitonel (i.p) olarak enjekte edildiğinde, *in vivo* EAT taşıyan farelerde assit sıvısının oluşumunu % 66 oranında etkili bir şekilde azaltmıştır. Kurkumin tarafından *in vitro* olarak EAT hücrelerinin ve insan umbelikal ven endotel hücrelerinin (HUVEC'ler) sayısındaki azalma, bu hücrelerdee sitotoksisite olmaksızın, kurkumin tarafından apoptozun indüksiyonuna atfedilmiştir. Kurkuminin, iki *in vivo* anjiyogenez deney sisteminde anjiyojenezin inhibisyonu ile gösterildiği gibi, güçlü bir anjiyoinhibitör bileşik olduğu kanıtlanmıştır. Kurkuminin *in vivo* anjiyoinhibitör etkisi, proanjiyojenik genlerin EAT, NIH3T3 (ölümsüzleştirilmiş fare fibroblast) ve endotelyal hücrelerde kurkumin tarafından ekspresyonunun down regülasyonu üzerindeki sonuçlarla desteklenmiştir. Northern blot analizi ile ilgili sonuçlarda, VEGF'nin kurkumininin, EAT hücrelerinde anjiyopoietin 1 ve 2 gen ekspresyonu, NIH3T3 hücrelerinde VEGF ve anjiyopoietin 1 gen ekspresyonu ve HUVEC'lerde KDR (kinaz-insert

alan reseptörü) gen ekspresyonunun zamana bağlı (0-24 saat) inhibisyonunu açıkça gösterdi. Ayrıca, çeşitli zaman periyotlarında (0–24 saat) çeşitli dozlarda kurkumin (1 μM – 1 mM) ile tedavi edilen hücrelerden alınan koşullu ortamdaki azalmış VEGF seviyeleri, gen ekspresyonu düzeyinde anjiyoinhibitör etkisini doğrulamıştır. Toksik olmayan doğası nedeniyle, kurkuminin tedavilerde geliştirilmesi amaçlanmıştır [14].

Aktive edilmiş Src veya Ras ile transfekte edilmiş HAG-1 insan adeno karsinoma hücreleri kullanılarak, bu onkogenlerin kurkumin duyarlılığındaki işlevsel rolü araştırılmak istenmiştir. Src veya Ras'ın aktivasyonu, transfekte edilmiş hücrelere kıyasla, kurkumine direnç sağlamamıştır. Kurkumin, ağırlıklı olarak Ras ile aktive olan hücrelerde Erk1/2'yi güçlendirmiş, ancak bu onkogen aktivasyonlarından bağımsız olarak Akt ve onun downstream moleküllerini (mTOR ve S6K1) inhibe etmiştir. G0/G1 apoptotik popülasyonları, PARP'ın kanıtlanabilen bölünmesi ile önemli ölçüde artmış, ancak bu artış, Src ile aktive edilmiş hücrelerde en belirgindir. Bcl-xL seviyesinin bastırılması ve Bax'ın artmış ekspresyonu Src ile aktive edilmiş, ancak Ras ile aktive edilmiş hücrelerde gösterilmemiştir. Aksine, Ras ile aktive olan hücrelerde, Src ile aktive olan hücrelerden ziyade G2/M hücre popülasyonlarında şiddetli artışlar görülmüş ki bu da kurkumin kaynaklı G2/M tutuklamasında Ras / Erk1 / 2 aktivasyonunun potansiyel bir rolü olduğunu düşünmüştür. Bu verilere dayanarak kurkumin ile indüklenen büyüme inhibisyonunun esas olarak G2/M arrestin Ras tarafından yönlendirilen hücreler tarafından, ancak Src tarafından yönlendirilen hücrelerde apoptoz indüksiyonu yoluyla aracılık edileceğini ve aktive edilmiş Src veya Ras ile insan kanserlerinin tedavisinde kurkuminin potansiyel kullanımı için mekanik bir mantık sağladığı gösterilmiştir [15].

Kanser hastalarında biyolojik tedaviler faydalı olabileceğini gösteren bir araştırmada, Ocak 2000 ile Haziaran 2007 arasında CRC (kolorektal kanser) teşhisi konulmuş rastgele 126 hastaya kurkuminin kanser hücreleri üzerindeki inhibitör mekanizmasını incelemeyi amaçlanmıştır. 126 hasta rastgele 2 gruba ayrılmıştır. Bu grupla kurkumin grubu ve araç grubudur. Kurkumin grubu hastalara ameliyattan önceki dönemde günde üç kez 360 mg (kapsül şeklinde) kurkumin verilmiştir. Sonuçlar, kurkumin uygulamasının vücut ağırlığını artırdığını, serum TNF-α seviyelerini azalttığını, apoptotik tümör hücrelerini artırdığını, tümör dokusunda p53 molekülünün ekspresyonunu arttırdığını ve tümör hücresi apoptotik yolunun modüle edildiğini göstermiştir. Kurkumin tedavisinin, tümör hücrelerinde artan p53 molekülü ekspresyonu mekanizması yoluyla kolorektal kanserli hastaların genel sağlığını

iyileştirdiği ve sonuç olarak tümör hücresi apoptozunu hızlandırdığı sonucuna varılmıştır [16].

Altmış bir kurkumin ile ilgili bileşik sentezlendiği ve antikanser aktiviteleri için kültürlenmiş prostat kanseri PC-3 hücreleri, pankreas kanseri Panc-1 hücreleri ve kolon kanseri HT-29 hücreleri açısından değerlendirildiğinde, bu bileşikler PC-3, Panc-1 ve HT-29 hücrelerinin büyümesi üzerindeki inhibe edici etkileri MTT deneyi ile belirlenmiş olup, E10, F10, FN1 ve FN2 bileşikleri, kültürlenmiş PC-3, Panc-1 ve HT-29 hücrelerinin büyümesi üzerinde olağanüstü güçlü önleyici etkiler sergilemiştir. Bu bileşikler için IC_{50}, üç hücre hattının hepsinde 1 μM'den düşüktü. Bu bileşikler apoptozun en güçlü uyarıcısı olduğu ve bu bileşiklerinde antikanser aktiviteye sahip olabileceğini göstermiştir [17].

Kurkuminin insan cilt kanseri hücreleri ve solunum eksikliği olan (ρ0) klonları üzerindeki etkilerini ve apoptozu başlatmaktan sorumlu progresif oksidatif stres sinyalini karakterize etmek için karşılaştırdı. Kurkumin, COLO 16 hücrelerinde doza ve zamana bağlı bir G2 / M hücre döngüsü durdurulmasını veya apoptozu teşvik etmiştir. COLO 16 hücrelerinde apoptoz indüksiyonu, hücre içi ROS üretimindeki artıştan önce DNA parçalanması, hücre küçülmesi, hücre zarı fosfatidilserin dışlanması ve mitokondriyal bozulma ile ilişkilendirilmiştir. COLO 16 hücrelerinde mitokondriyal biyoenerjik kapasitenin yanı sıra konstitütif ROS seviyelerini farmakolojik olarak düşürmek, kurkuminin sitotoksik etkilerini bastırmıştır. Buna uygun olarak, COLO 16 hücrelerinin ρ0 karşılıkları, kurkumin maruziyetini takiben ROS üretimine, mitokondriyal bozulmaya ve DNA parçalanmasına önemli ölçüde dirençliydi. Bu gözlemler, mitokondriyal ROS üretiminin azalmasının, hücreleri kurkuminin sitotoksik etkilerine karşı koruduğunu ima etmiş ve insan cilt kanseri hücrelerinde kurkumin tarafından apoptozu sinyallemesinde mitokondriyal solunum ve redoks tonunun temel belirleyiciler olduğu fikrini desteklemiştir [18].

Kurkuminin, papiller tiroid kanseri (PTC) hücre hatlarında (BCPAP ve TPC-1) ve türetilmiş tiroid kanseri kök hücre benzeri hücrelerde (tirosferler) sitotoksik etkilere neden olmak için JAK/STAT3 sinyal yolunu hedefleyip hedefleyemeyeceğini gösterildiği bir çalışmada kurkumin PTC hücrelerinde apoptozu indükledyerek STAT3'ün zayıflamasına sebebiyet vermiştir. PTC hücre hatlarının kurkumin ve cisplatin ile birlikte muamelesi sonucunda, antiapoptotik genlerin inhibisyonu ve proapoptotik genlerin indüksiyonu ile birlikte JAK / STAT3 aktivitesinin baskılanmış, matriks metaloproteinazları düşürerek PTC hücrelerinin

göçünü bastırarak, koloni oluşumunu engellemiştir. Tirosferlerde kurkumin ve cisplatinin birlikte muamele edilmesinde de STAT3 fosforilasyonu ve apoptozu indüklemiştir. Bu çalışmalardaki bulgulara bakarak kurkuminin kemoterapik ajanlarla birlikte muamele edilmesinin kanser tedavisinde daha olumlu sonuçlar doğurabileceği düşünülmüştür [19].

Kurkumin ve paklitaksel, sırasıyla hormonal reseptörler östrojen reseptörü, progesteron reseptörü ve HER2 için pozitif veya negatif olan luminal MCF-7 ve bazal benzeri MDA-MB-231 olmak üzere iki insan göğüs kanseri hücre dizisi ile değerlendirildiği bir çalışmada çıkan sonuçlara bakıldığında paklitaksel ve kurkuminin birlikte muamele edildiği MCF-7 hücre dizisinde c-Ha-Ras, Rho-A (Ras homolog gen ailesi üyesi A), p53 ve Bcl-xL gen ekspresyonunu azalttığını göstermiş. Bu iki madde tek başına kullanıldığında Bcl-2 ve NF-κB'nin gen ekspresyonunu azaltmıştır. kurkumin tek başına IκBα ve STAT3 gen ekspresyonunu azaltmıştır. Kurkumin tek başına ve paklitaksel ile birleştirildiğinde, MDA-MB-231'de p53, Bid, kaspaz-3, kaspaz-8 ve Bax gen ekspresyonunu artırırken, Bcl-xL, MDA-MB-231 hücrelerinde bu ekspresyonu azaltmıştır. Paklitaksel ve kurkumin birleştirildiğinde, Bcl-2 proteininin ekspresyonu azalmıştır. Bununla birlikte, her iki madde de tek başına ve birleşik Bax protein ekspresyonunun artması bu maddelerin apoptotik etkisini desteklemektedir. Kurkuminin, göğüs kanserinin sinerjik terapisinde ilaç kullanımıyla ilişkili toksisiteyi azaltarak önemli bir değere sahip olabileceği sonucuna varılabilir [20].

Akciğer tümörü büyümesini kurkumin ile indüklendiğini gösteren mevcut bir çalışmada nötrofil elastazın insan akciğer adenokarsinom A549 hücrelerinde tümör hücresi çoğalmasını doğrudan tetiklediğini ve kurkuminin, nötrofil elastazın neden olduğu aşırı tümör çoğalmasını tamamen bastırabildiğine dair bulgular görülmüştür. α1-antitripsin, tümör hücreleri tarafından sentezlenir ve nötrofil elastazın doğal inhibitörüdür. Kurkumin α1-antitripsini promoter aktivitesini indükleyerek A549 hücrelerinde ekspresyonu teşvik ederek karşı koymuştur. Kurkumin tarafından nötrofil elastaz kaynaklı proliferasyonun inhibisyonu PI3K / Akt yoluna bağlıdır. SiRNA tarafından α1-antitripsin ortadan kaldırılması, nötrofil elastazın neden olduğu tümör hücresi proliferasyonunu daha da arttırmış ve kurkumin nötrofil elastaza karşı anti-proliferasyon etkisini önemli ölçüde bloke etmiştir. Kurkumin, C57BL / 6 farelerinde Lewis akciğer karsinomunun (LLC) primer tümör büyümesini önemli ölçüde inhibe ettiği raporlanmıştır. Genel olarak bakıldığında

kurkuminin, *in vitro* ve *in vivo* olarak α1-antitripsin ekspresyonunu up regüle ederek nötrofil elastaz kaynaklı tümör proliferasyonunu inhibe ettiğini gösterdiği rapor edilmiştir [21].

Kurkuminin antiinvazif etkisini göstermek için H-ras ile dönüştürülmüş MCF10A insan göğüs epitel hücrelerinde incelenmiştir. H-ras ile döüştürülen MCF10A hücreleri 100µM kurkumin ile muamele edilmiştir. Kurkumin MCF10A hücrelerinde indüklü H-ras fenotipini inhibe ettiği raporlanmıştır. Kurkumin tarafından matrix metaloproteinaz (MMP)-2'nin downregüle ettiği gözlenmiş, bu da MMP-2'nin kurkuminin inhibitöründe rol oynadığı düşünülmektedir. Bir diğer bulguda H-ras MCF10A hücresi ve MCF7 insan göğüs karsinom hücrelerinde internükleozomal DNA fragmentasyonunu indüklediği ve kurkumin tedavisini doza bağlı olarak inhibe ettiği sonucunu ortaya koymuşlardır. Bu bulgulara bakarak kurkuminin kemopreventif bir ajan olarak göğüs kanserinde kullanımı önerilmektedir [22].

EF24, kurkumin üzerinde antikanser aktivitesini iyileştiren bir kurkumin analoğudur, ancak etki mekanizması pek bilinmemektedir. EF24, DU145 insan prostat kanseri hücrelerinde ve B16 murin melanom hücrelerinde NFkB'yi inhibe eder ancak JAK-STAT sinyal yolunu inhibe edemez. EF24, görünüşte miR-21 ekspresyonunu inhibe ederek bu hücrelerde apoptozu indükler ve ayrıca birkaç miR-21 hedef geninin, PTEN ve PDCD4 ekspresyonunu arttırmıştır. EF24 tedavisi, bağışıklığı zayıflamış farelerde DU145 prostat kanseri ksenograftlarının büyümesini önemli ölçüde bastırmış ve tümör gerilemesiyle sonuçlanmıştır. EF24, DU145 tümör dokusunda miR-21 hedef PTEN'in ekspresyonunu arttırmış, ancak proliferasyon hücrelerinin (siklin D1 ve Ki67) ekspresyonunu bastırmıştır. B16 hücreleri enjekte edilen singeneik farelerde, EF24 tedavisi akciğer metastazı oluşumunu inhibe etmiştir, hayvanların hayatta kalmasını uzatmış ve miR-21 ekspresyonunu inhibe etmiştir. F24 tarafından *in vitro* ve *in vivo* olarak düzenlenen miRNA'ların ekspresyon profili, EF24'ün antitümör aktivitesinin, miR-21 dahil onkogenik miRNA'ların baskılanmış ekspresyonunun yanı sıra potansiyel tümör baskılayıcı miRNA'ların artmış ekspresyonunu yansıttığını göstermiştir. Verilere bakıldığında, EF24'ün güçlü bir antikanser ajan olduğunu ve NF-κB sinyallemesini ve miRNA ekspresyonunu seçici olarak hedeflediğini, bu da EF24'ün çeşitli kanserlerde terapötik bir ajan olarak önemli bir potansiyele sahip olduğunu göstermiştir [23].

Kurkumin tedavisinin lipopolisakkarit (LPS) ile indüklenen matris metaloproteinaz - 2 (MMP-2) aktivitesi üzerindeki etkisini incelemek ve vasküler düz kas hücrelerinde

(VSMCs) Ras / mitojen ile aktive edilmiş protein kinaz kinaz 1/2 (MEK1/2) sinyal yolağının aracılık edip etmediğinin değerlendirildiği amaçlanan çalışmada VSMCs'ler erkek Sprague-Dawley sıçanlarından izole edilmiştir. Protein ekspresyon seviyeleri western blot analiziyle yapılmış, MMP-2'nin aktivitesi jelatin zimografi ile ölçülmüş ve nükleer faktör-κB'nin (NF-κB) DNA bağlanma aktivitesini saptamak için bir elektroforetik hareketlilik kayma deneyi kullanılmıştır. Kurkumin tedavisinin, sıçan VSMC'lerinde LPS'nin neden olduğu MMP - 2 aktivitesini inhibe ettiği gösterilmiştir. İnhibe edici etki, bir NF-κB aktivasyon inhibitörü olan amonyum pirolidindiokarbamat ve bir Ras inhibitörü olan farnesiltiosalisilik asit tarafından kısmen bloke edilmiştir. Ek olarak, mevcut çalışmanın sonuçları, Ras homolog aile üyesi A ve MEK1/2'nin LPS ile indüklenen fosforilasyonunun, kurkumin tarafından önemli ölçüde azaldığını göstermiştir. Çekirdekte NF-κB p65 ekspresyonu ve LPS'e maruz kalan VSMC'lerde NF- κB'nin DNA bağlanma aktivitesi, kurkumin ile azaltılmıştır. Bu bulgular birlikte ele alındığında, kurkuminin Ras / MEK1/ 2 ve NF - κB sinyali yoluyla LPS'nin neden olduğu MMP-2 aktivitesini engellediğini göstermiştir [24].

Zerdeçalın anti-tümör mekanizmasını STAT-3 üzerinde ve sitokin sinyal proteinlerinin baskılayıcıları, aktive STAT protein inhibitörleri ve ovaryum ve endometriyal kanser hücre hatlarında SH2 alanı içeren fosfatazlar dahil STAT-3'ün negatif düzenleyicileri üzerinde incelendiği çalışmaya bakıldığında, kanser hücrelerinin kurkumin ile tedavisi, yapısal IL-6 ekspresyonunda doza ve zamana bağlı bir azalmaya ve hücre canlılığının azalması ve kaspaz-3'ün artmış bölünmesi ile ilişkili yapısal ve IL-6 ile indüklenen STAT-3 fosforilasyonuna neden olmuştur. Kurkumin tarafından STAT-3 aktivasyonunun inhibisyonu tersine çevrilebilir ve fosforile STAT-3 seviyeleri, kurkumin çıkarıldıktan 24 saat sonra kontrol seviyelerine geri dönmüştür. Normal hücrelerle karşılaştırıldığında, SOCS-3'ün taban çizgisi ekspresyonu kanser hücrelerinde yüksek bulunmuş ve kurkumin tedavisinin ardından SOCS-3 ekspresyonunda belirgin bir azalma görülmüştür. Kurkuminle muamele edilmiş hücrelerde SOCS-3'ün aşırı ekspresyonu, fosforile STAT-3'ün ekspresyonunu artırmış ve hücre canlılığını arttırmıştır. Normal yumurtalık ve endometriyal hücreler, yüksek PIAS-3 proteini ekspresyonu sergilerken, kanser hücrelerinde ekspresyon büyük ölçüde azalmıştır. Kurkumin, kanser hücrelerinde PIAS-3 ekspresyonunu arttırmıştır. PIAS-3'ün siRNA aracılı yıkımı, kurkuminin STAT-3 fosforilasyonu ve hücre canlılığı üzerindeki inhibitör etkisinin üstesinden gelmektedir. Sonuç olarak, kurkumin, PIAS-3'ün

aktivasyonu yoluyla JAK-STAT sinyalini baskılar, böylece STAT-3 fosforilasyonunu ve tümör hücresi büyümesini azaltmaktadır [25].

Cisplatine dirençli insan ovaryum kanseri hücrelerinde kurkuminin antikanser özelliklerinin *in vitro* olarak araştırıldığı çalışmada sonuçlar, kurkuminin hem cisplatine dirençli (CR) hem de hassas (CS) insan ovaryum kanseri hücrelerinin çoğalmasını eşit bir şekilde engellediğini göstermiştir. Kurkumin ile tedavi edilen hem CR hem de CS hücrelerinde gelişmiş süperoksit oluşumu gözlenmiştir. Kurkumin, kaspaz-3'ün aktivasyonu ve ardından PARP bozunması yoluyla p53 fosforilasyonunu ve apoptozu güçlendirerek CR hücrelerinde G2/M fazı hücre döngüsünü tutuklanmasını indüklemiştir. Kurkumin ayrıca, p38 MAPK'nin fosforilasyonu artırırken Akt'nin fosforilasyonunu da inhibe etmiştir. Bulgulara bakıldığında kurkumin'in sisplatine dirençli ovaryum kanseri hücrelerinin proliferasyonunu süperoksit oluşumu, G2/M durması ve apoptozun indüksiyonu yoluyla inhibe ettiğini göstermiştir [26].

Kurkuminin insan ovaryum kanseri hücre dizisi Ho-8910'da büyüme ve apoptoz üzerindeki etkilerini MTT testi, floresan mikroskobu, akış sitometrisi ve Western blot ile araştırılmış verilere bakıldığında, kurkuminin Ho-8910 hücrelerinde büyümeyi önemli ölçüde engelleyebileceğini ve apoptozu indükleyebileceğini ortaya koymuştır. 40 µM kurkumin'e maruz kaldıktan sonra Bcl-2, Bcl-XL ve pro-caspase-3 ifadesinde azalma gözlenirken, kurkumin ile tedavi edilen hücrelerde p53 ve Bax seviyeleri artmıştır. Bu aktiviteler, kurkuminin antikarsinojenik etkisine katkıda bulunabileceğini ortaya koymuştur [27].

Kurkuminin ovaryum kanseri hücrelerinde hücre ölümünü tetikleyebileceğini indüklenen apoptozu ve Apo2 ligand/TRAIL'i indükleyen tümör nekroz faktörü ile ilişkili apoptozun artırabileceği hipotezi öne sürülerek yapılan araştırmada, Kemoterapiye dirençli yumurtalık kanseri hücre hatları SKOV3 ve ES-2 kullanılmış. Kombinasyon halinde kurkumin, Apo2L/TRAIL ve kurkumin + Apo2L/TRAIL'in sitotoksik etkisi sülforhodamin testi ile belirlendi. Apoptotik fraksiyon, hücrelerin propidyum iyodür ile boyanması ve ardından hücrelerin sub-G0 DNA içeriğinin akış sitometrisi ile analiz edilmesiyle belirlenmiştir. Kaspaz aktivasyonu immünoblotlama ile belirlenmiştir. Sonuçlar kurkuminin tek başına 25 µM'de sisplatine dirençli hücrelerde sitotoksik bir etkiye sahip olduğu görülmüştür. Düşük dozlarda (5-15 µM) kurkumin veya tek başına Apo2L/TRAIL, test edilen hücre dizileri için önemli ölçüde sitotoksik olmadığı gözlemlenmiştir. Apo2L/TRAIL ile işlemden geçirilmeden önce düşük dozlarda kurkumin ile hücrelerin ön inkübasyonu, belirgin şekilde

artmış hücre ölümüne yol açmıştır. Kurkumin ve Apo2L/TRAIL'in kombine tedavisi, hem dışsal, reseptör aracılı apoptotik yolun (kaspaz-8'in bölünmesi) hem de içsel, mitokondri aracılı apoptotik yolun (kaspaz-9'un bölünmesi) aktivasyonu ile sonuçlanmıştır. Kombine kurkumin ve Apo2L/ TRAIL tedavisi, apoptotik hücre ölümünün artmış indüksiyonuyla sonuçlanmıştır. Kurkumin ve Apo2L/TRAIL birlikte apoptozun hem dışsal hem de içsel yollarını aktive edebildikleri için, geleneksel kemoterapötik ajanlara kemorezistansı engelleyebilirler [28].

Kurkumin'in, büyük ölçüde transkripsiyon faktörü nükleer faktör-κB'yi (NF-κB) inhibe ederek enflamasyonu ve anjiyogenezi baskıladığı gösterilmiştir. Ortotopik bir fare ovaryum kanseri modeli kullanarak kurkuminin ovaryum kanseri büyümesi üzerindeki etkilerini değerlendirilmesi amaçlanan çalışmada dosetakselli ve dosetakselsiz kurkuminin *in vitro* ve *in vivo* deneyleri, insan ovaryum kanseri hücre hatları SKOV3ip1, HeyA8 ve HeyA8-MDR kullanılarak atimik farelerde yapılmışıtr. NF-κB modülasyonu, elektroforetik mobilite kaydırma deneyi kullanılarak belirlenmiştir. Anjiyojenik sitokinler, hücresel proliferasyon, anjiyogenez ve apoptozun değerlendirilmesi immünohistokimyasal analizler kullanılarak yapılmıştır. Sonuçlar kurkumin, indüklenebilir NF-κB aktivasyonunu inhibe etmiş ve *in vitro* proliferasyonu bastırmıştır. *İn vivo* deneylerde, 500 mg/kg oral yolla NF-κB'yi ve sinyal dönüştürücüleri ve transkripsiyon 3 aktivasyonunun aktivatörlerini baskılamak ve anjiyojenik sitokin ekspresyonunu azaltmak için gereken optimal doz olduğunu ortaya koymuştur. SKOV3ip1 ve HeyA8 *in vivo* modellerinde, tek başına kurkumin, kontrollere kıyasla ortalama tümör büyümesinde %49 ($P = 0.08$) ve %55 ($P = 0.01$) azalma ile sonuçlanırken, dosetaksel ile birleştirildiğinde %96 ($P < 0.001$) ve kontrollere kıyasla ortalama tümör büyümesinde %77 azalma görülmüştür. Çoklu ilaca dirençli HeyA8-MDR tümörlü farelerde, tek başına kurkumin ile tedavi ve dosetaksel ile kombine tedavi, tümör büyümesinde sırasıyla %47 ve %58 azalma ile sonuçlanmıştır ($P = 0.05$). SKOV3ip1 ve HeyA8 tümörlerinde, tek başına kurkumin ve dosetaksel ile hem proliferasyonu ($P<0.001$) hem de mikrodamar yoğunluğunu ($P<0.001$) düşürmüş ve tümör hücresi apoptozunu ($P<0.05$) arttırmıştır. Bu bulgulara bakılarak klinik öncesi modellerde önemli etkinliğe dayalı olarak, kurkumin bazlı tedavilerin ovaryum karsinomu olan hastalarda önemli bir yere sahip olduğu sonucuna varılabilir [29].

Ovaryum kanserinde kullanılan kurkuminin etki mekanizmasının aydınlatılması ve otofaji etkilerine yönelik yapılan çalışmada hücre canlılığını değerlendirmek için 3-(4,5-

dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür (MTT), EdU proliferasyon testi ve koloni oluşturma testleri kullanılmış, apoptoz western blot ve apoptozun analizi ise akış sitometrisi ile tespit edilmiştir. Otofaji, hem elektron mikroskobu hem de immünofloresan boyama markörleri ile tanımlanmıştır. Kurkuminin işlevi de plazmid yapımı ve shRNA transfeksiyonu ile doğrulanmıştır. SK-OV-3 ve A2780 hücre hatlarında kurkumin hücre canlılığını azaltmış olup apoptotik hücre ölümünü ve otofajiyi indüklemiştir. Kurkuminin, AKT/mTOR yolunu inhibe etmesi insan ovaryum kanseri hücrelerinin otofajisini indükleyebilmekte ve bu ovaryum kanseri tedavisinde bir strateji olarak kullanılabilmesinin önünü açmaktadır [30].

Wnt/β-katenin sinyallemesini antagonize eden salgılanan kıvrık bağlantılı protein 5 geni (SFRP5), sıklıkla promoter metilasyonu ile etkisiz hale getirilir ve Wnt/β-katenin yolunun onkogenik aktivasyonu çoğu kanserde yaygındır. Kurkuminin, tümör baskılayıcı gen metilasyonunu ve yeniden ekspresyonunu inhibe etmek için epigenetik regülasyonda yer alan güçlü anti-kanser özelliği olduğu bildirilmiştir. Bir bileşik taramasında, kurkuminin Wnt /β-katenin sinyallemesini inhibe edebileceğini bulunmuştur. Bu nedenle yapılan çalışmada kurkuminin bir ovaryum kanseri hücre hattında (SKOV3) SFRP5 DNA metilasyon modifikasyonu üzerindeki etkilerini araştırılmıştır. SKOV3 hücreleri, 96 saat süreyle DMSO, 10 μM 5-aza-2′-deoxycytidine (DAC), 5 μM DAC, 20 μM kurkumin ve 20 μM kurkuminle kombine edilmiş 5 μM DAC ile muamele edilmiştir. Sonuçlara baktığımızda, 5 μM DAC ile kombine edilmiş kurkuminin, kanser hücresi kolonisi oluşumunu, EMT (epitel-mezenkimal geçiş) proses regülasyonu yoluyla göçü, özellikle DNMT3a protein ekspresyonunda toplam DNMT aktivitesini inhibe edebileceğini ve ayrıca Wnt/β-katenin sinyal yolunda yer alan tümör baskılayıcı gen SFRP5 ekspresyonunu düzenleyebileceğini göstermiştir. Kombine edilmiş kurkumin ve DAC tedavisi ovaryum kanseri gelişimini hafiflettiği belirtilmiştir [31].

Kurkuminin insan ovaryum kanseri hücre hattı A2780 üzerindeki büyüme inhibisyonu etkilerini ve apoptozu indükleyen mekanizmalarını keşif araştırmasında 6-24 saat süreyle 10-50 μmol / L kurkumin ile tedaviden sonra, A2780 kanser hücrelerinin büyüme aktivitesi, (4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil-Itetrazolium bromür (MTT) kolorimetri ile test edilmiştir. Hücresel apoptoz, akış sitometrisi ve akridin turuncu-etidyum bromür floresan boyama yöntemleriyle incelenmiştir. Hücresel kromozom DNA'sının parçalanması DNA merdiveni ile tespit edilmiş, ultrastrüktürel değişim bir transmisyon elektron mikroskobu altında

gözlenmiş ve nükleer faktör-Kappa B (NF-κB, P65) ve sisteinil aspartat spesifik proteaz-3 (Kaspaz- 3) ovaryum kanseri hücrelerinde immünohistokimya ile ölçülmüşür. Kurkumin konsantrasyonları ile tedaviden sonra, kanser hücrelerinin büyüme inhibisyon oranları histogramda G1 altı pikler ile %62.05-%89,24'e ulaşmış, kanser hücrelerinin bir kısmı, floresans ve elektron mikroskopları altında apoptozda karakteristik morfolojik değişiklikler göstermiştir. NF-κB'nin protein ekspresyonu azalırken, kaspaz-3'ün ekspresyonu zamana bağlı bir şekilde artmıştır. Kurkumin, insan ovaryum kanseri hücrelerinin büyümesini önemli ölçüde inhibe edebilmektedir; Kaspaz-3'ün up regüle edilmesi ve NF-κB'nin gen ekspresyonunun down regüle edilmesi yoluyla apoptozu indüklemek için muhtemelen moleküler mekanizmalarından biri olduğu belirlenmiştir [32].

Kurkumin ve triptolidin, *in vitro* olarak ovaryum kanseri hücresi büyümesini sinerjik olarak baskıladığını açıklanan çalışmada, sinerjik etkileri test etmek için, yumurtalık kanseri hücre dizileri üzerinde kurkumin ve triptolit kombinasyon tedavisinden sonra hücre canlılığı ve apoptoz tespiti yapılmış, apoptoz indüksiyonu üzerindeki sinerjik etkiler, laktat dehidrojenaz (LDH) sızıntı testi, hücre içi reaktif oksijen türleri (ROS) testi, mitokondriyal membran potansiyeli (MMP) kaybı analizi ve akış sitometri analizi ile belirlenen yöntemler kullanılmıştır. Hücre proliferasyonu ve apoptozla ilgili kritik düzenleyiciler, qRT-PCR ve Western blot ile analiz edilmiştir. Sonuçlara baktığımızda kurkumin ve triptolit kombinasyonunun, ovaryum kanserinde hücre büyümesini sinerjik olarak inhibe edebileceğini ve HSP27 ve HSP70'in eşlik ettiği apoptozu indükleyebileceğini gösterilmiş, bu da HSP27 ve HSP70'in sinerjik etkide önemli bir rol oynadığını göstermiştir. Bu sonuçlar doğrultusunda, daha düşük konsantrasyonlu kurkumin ve triptolid kombinasyonu, yumurtalık kanseri üzerinde sinerjistik bir anti-tümör etkisine sahiptir ve bu da klinik uygulamalarda rol oynayabileceğini sunmuşlardır [33].

Kurkuminin, MCF10A insan göğüs epitel hücrelerinde (H-ras MCF10A) H-ras kaynaklı invazif fenotipi inhibe ettiğini ve matris metaloproteinaz (MMP) -2'yi doza bağlı olarak down regüle ettiğinin kanıtlandığı araştırma raporunda, kurkumin, konsantrasyona bağlı bir şekilde H-ras MCF10A hücreleri üzerinde sitotoksik etki uygulamıştır. Kurkumin kaynaklı hücre ölümünde ise Bax’ın up regülasyonu ve Bcl-2’nin down regülasyonunun aynı zamanda kaspaz-3’ünde içinde olduğu bir apoptozdan kaynaklanmaktadır. Bu bulgulara bakıldığında kurkuminin istilayı engellemekte ve apoptozu indüklediği belirtilerek kurkumini kemopreventif potansiyelinin olduğu gösterilmiştir [34].

Bir çalışmada kurkuminin Ras/MAPK yolunu inhibe edip etmediğini ve mitomisin C (MMC)'nin sitotoksik etkisinin artıp artmadığını T24 mesane kanseri hücrelerinde gösterilmek istenmiştir. T24 hücreleri, tek başına farklı kurkumin konsantrasyonları (5, 10, 20 µM) ile veya 10 µg/ml MMC ile birlikte kültürlenmiştir. 72 saatlik kültürün sonunda, hücre canlılığı MTT deneyi ile; akış sitometrisi ile apoptoz; immünohistokimya ve western blot ile toplam Ras ve ERK1/2 değerlendirilmiştir. Tek başına MMC'ye maruz kalan hücrelere kıyasla, kombine MMC ve 10 veya 20 µM kurkumin ile tedavi edilen hücreler, azalmış hücre proliferasyonu, bozulmuş morfolojik görünüm ve artmış subG0/G1 apoptotik olaylar göstermiştir. Bu inhibisyon, Ras ve ERK1/2 ekspresyonunda belirgin azalma ile ilişkilendirilmiştir. Benzer şekilde, tek başına 10 veya 20 µM CUR ile tedavi edilen hücreler önemli inhibisyon göstermiş, 5 µM'nin etkisi daha az belirgin olduğu gösterilmiştir. T24 hücrelerinin MMC'nin sitotoksik etkisine direnci, en azından kısmen, Ras/ERK aktivasyonuna bağlıdır. Bu deneysel çalışmanın klinik çerçevede kurkuminin kullanılabilirliğini mümkün kılmaktadır [35].

KRAS mutasyonu, kolorektal kanserin %35-45'inde gösterilmiştir ve regorafenib, kolorektal kanserli hastaları tedavi etmek için FDA tarafından onaylanmıştır [36]. Regorafenib, anjiyogenez, vasküler endotelyal büyüme faktörü reseptörü 2 (VEGFR2), VEGFR1, VEGFR3, fibroblast büyüme faktörü reseptörü dahil onkogenik kinazları hedefleyen oral yolla kullanılan inhibitördür [37]. Kurkuminin, insan kolorektal kanser HCT 116 hücrelerinde (KRAS mutantı) regorafenibin büyüme inhibisyonunu, insan kolorektal kanser HT-29 hücrelerinden (KRAS wild tip) daha büyük ölçüde artırarak HCT 116 hücrelerinde ilave veya sinerjistik bir etki üretmek ve HT-29 hücrelerinde antagonistik bir etkiye neden olduğunu ortaya koydukları çalışmada Akış sitometrik analizi, kurkumin ilavesinin, apoptozu yükselttiğini ve HCT 116 hücrelerinde otofajiyi büyük ölçüde artırdığını, ancak HT-29 hücrelerinde böyle bir olayın olmadığını göstermişlerdir. Mekanik olarak, kurkumin, HCT 116 hücrelerinde regorafenib kaynaklı büyüme inhibisyonunu, apoptozu ve otofajiyi artırmak için MEK spesifik inhibitörü gibi davranmıştır. Veriler göstermiştir ki kurkuminin, kolorektal kanser HCT 116 hücrelerinde regorafenib ile indüklenen büyüme inhibisyonunu (sentetik letalite) arttırmak için mutant KRAS dışında bir geni daha hedefleyebileceğini ileri sürerek, regorafenib ile tedavi edilen KRAS mutantlı kolorektal kanserde kurkuminin olası bir rolüne işaret edilmiştir [36].

Bu yapılan çalışmaları göz önüne aldığımızda ras gen ailesinden nras geni mutasyonunda ovaryum kanserine sebebi az da olsa vardır [38]. Bu sebepten dolayı kurkuminin ovaryum kanserine sebebiyet verebilen nras geni üzerinden nasıl olumlu etki yaratabileceğini göstermesi amaçlanmıştır.

Yapmış olduğumuz bu çalışmada White Leghorn tavuğu kullanmamızın nedeni insanlar ve tavuklar arasındaki üreme fizyolojisinin bazı özelliklerindeki benzerlikler, geniş bulunabilirlik ve kolay erişilebilir olması bir diğer neden ve asıl önemli olanı ise spontan olarak ovaryum kanserine maruz kalması bunun sebebi olarak da yüksek oranda yumurtlamanın ovaryum kanseri insidansı ile ilişkili olduğunun gösterilmesidir. Aynı zamanda insan ovaryum kanserine benzeyen tek hayvan modelidir. [39,40].

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kanser

Batı tıbbının babası Hipokrat (MÖ 460–370), enflamatuar olmayan bir yapıya sahip olan ve vücuda yayılarak ölüme neden olan sert şişlikler üreten hastalığı adlandırmak için karkinos (yengeç) kelimesini kullanmıştır [41].

Tarih öncesi kanser oluşumuna ilişkin paleopatolojik, kanıt nadirdir ve nispeten geçtir. Mağara ayılarında ve pleistosen atlarında bazı osteosarkomata bulunmuştur. İnsanda bu türden ilk tümörler, Mısır'da İlk (MÖ 3400) ve Beşinci (yaklaşık MÖ 2750) Hanedanlıklarda ve Kolomb öncesi Peru'da kafataslarında tanımlanmıştır. Romalı ansiklopedist Celsus dudak ve meme kanserin operasyonlarını bildirmiştir. Bilinen kanserler listesine penis kanserini de ekledi ve kanseri lipom, aterom ve steatom gibi iyi huylu tümörlerden ayırmaya çalışmıştır. on yedinci yüzyılda Marco Aurelio Severino ve Tulpius, kanserlerin kaba patolojik anatomisi hakkında belirli sayıda veri yayınladı. Bu tür çalışmalara dayanarak Tulpius, *in vivo* olarak mesane kanserini teşhis etmiştir.

Kanser hastaları için en zararlı olan, on yedinci yüzyılın önde gelen iki klinisyeninin, Sennert ve Zacutus Lusitanus'un, kanserin bulaşıcı olduğu yönündeki yaygın kabul gören görüşüydü; bu görüş, tümörlerin, cüzzam gibi çıkarımlarla ulaşılan bir fikirdi. On dokuzuncu yüzyılın ortalarına kadar birçok hastane kanser hastalarını hastaneye almalarını yasaklamıştır [42].

1775 yılında, İngiliz cerrah ve ortopedinin kurucularından biri olan Sir Percivall Pott, baca temizleyicileri ve baca kurumuna maruz kalanlarda skrotumda skuamöz hücreli karsinom görülme sıklığı arasındaki ilişkiyi başarıyla kurmuştur ve kendisi aynı zamanda çevresel maruziyetin kanser gelişimi üzerindeki etkisini bildiren ilk bilim insanıydı [43].

1890'ların başında Alman zoolog Theodor Boveri kanserin genetik temelini kabul etti. Boveri, esas olarak kromozom bölgelerinin keşfi ile tanınır. Kromozom mutasyonlarının, sınırsız büyüme kabiliyetine sahip bir hücreye yol açabileceğini ve bu hücrenin bu yeteneği soyundan gelenlere aktarabileceğini ve ayrıca kontrol noktaları, tümör baskılayıcı genler ve onkogenler olabileceğini ve kanserlerin radyasyon, fiziksel veya kimyasal hakaretler veya patojenik mikroorganizmalardan kaynaklanabileceğini öne sürmüştür [41].

Franz Köonig X ışınlarını kullanarak ampute bir bacakta sarkomu görselleştirerek ilk olarak kullanmıştır. Pierre Paul Broca "Memoire sur l'anatomie pathologique du cancer" (Kanserin Patolojik Anatomisi Üzerine Deneme) adlı eserinde kanseri evrelerini göstermiş ve günümüzde devam eden prognostik bir değerlendirmenin yapısını oluşturmuştur.

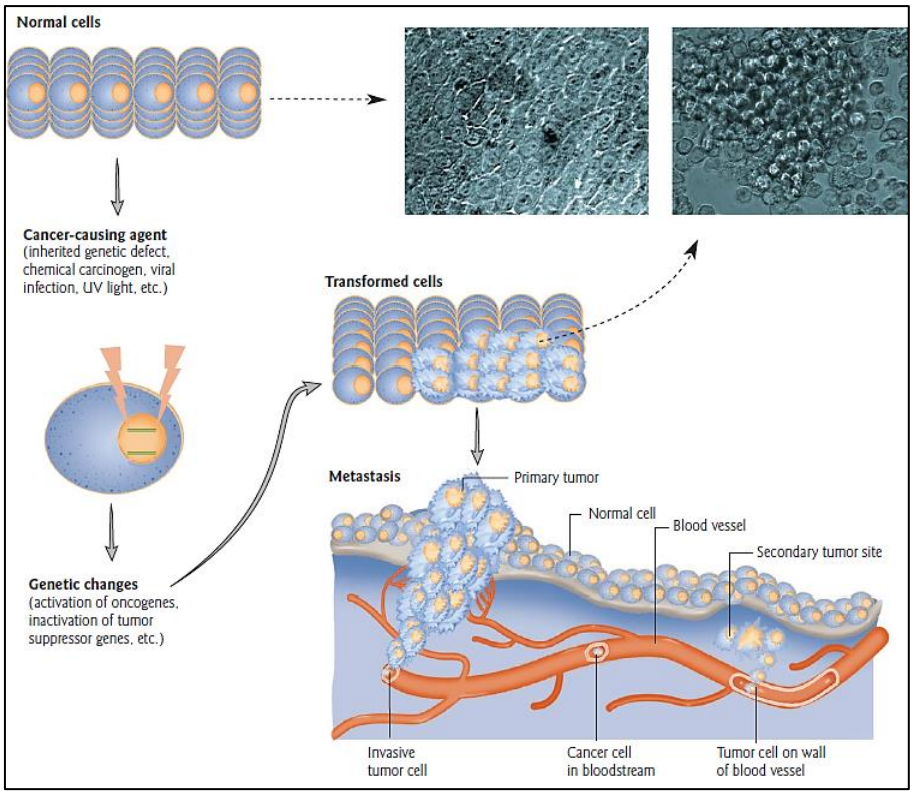
Frederick Guthrie, Birinci Dünya Savaşı'nda 91.198 ölüme neden olan hardal gazını keşfetmiş ancak azotlu hardalın (nitrogen mustard) bir antikanser ajan olduğu keşfedilmiş, Alfred Gilman, Louis Goodman ve Gustaf Lindskog, azotlu hardal ile tedavi edilen lenfosarkomlu bir hastada kısmi ve kısa süreli bir tümör yanıtını indüklemişlerdir [43].

1908'de Ellermann ve Bang, hücresiz filtratın tavuklarda lösemiye neden olduğunu bildirdi ve Peyton Rous, hücresiz bir filtratın kısa bir süre sonra tavuklarda bir sarkoma ürettiğini bildirmişler, bununla birlikte, tavuklarla çalışmak insanlar için önemsiz görünüyordu ve bu nedenle deneysel kanser üretme çabaları hız kesmeden devam etmiştir.

1920-1950 döneminde, sentetik ajanların insan kanserinin nedeni olduğuna dair ek kanıtlar ortaya çıktmıştır. Bazı kömür katranı fraksiyonlarının kansere neden olduğu, diğer fraksiyonların ise etkisiz olduğu gözlemleri ilgi çekmiştir. Bunun, o dönemde ilk keşfedilen gıdalardaki vitaminlere veya dokulardaki hormonlara benzeyen, sadece küçük miktarlarda bulunan aktif bir bileşenden kaynaklandığından şüpheleniyordu. Kennaway yönetimi altında "kömür katranında kanser üreten bileşiği" belirlemek için yoğun bir araştırma yapılmıştır. Kennaway ve Hieger, 1930'da deney hayvanlarında kansere neden olan ilk saf kimyasal bileşik olarak dibenz (a, h) antraseni tanımlanmıştır. Bunu, 1933 yılında benzo (a) pirenin başlıca "kömür katranının kanser üreten bileşiği" olarak izole edilmesi izlemiştir. Bu dönemde deney hayvanlarında kansere neden olan, tarif edilemeyecek kadar çok sayıda başka kimyasallar tespit edilmiş ancak 1947'de gözden geçirilmiştir [45].

Normal hücreler düzenli bir şekilde büyür, bölünür ve ölerek ömrünü tamamlar. Hücre büyümesi, proliferasyonu, farklılaşması ve apoptoz arasında kritik bir denge vardır ve bu denge korunur (Şekil 2.1). Kalıtsal bir genetik kusur, kimyasal kanserojen, viral enfeksiyon veya radyasyon gibi ajanların varlığında bu kritik denge bozularak tümör oluşumu teşvik eder. Vücudun bir bölümündeki hücreler kontrolden çıkmaya başladığında kanser gelişir. Bir hücre kanserli hale geldiğinde meydana gelen üç büyük değişiklik vardır:

1. Ölümsüzleşme: Kanser hücresi, sonsuza kadar büyüme ve bölünme yeteneği kazanır.
2. Dönüşüm: Kanser hücresi normal büyüme kısıtlamalarını gözlemleyememekte; yani kanserli bir hücrenin büyümesi, büyüme faktörlerinden bağımsız olarak gerçekleşir. Dönüşen hücreler, bir tümör oluşturabilir. Tümörün büyümesi için, anjiyogenez- yeni kan damarlarının büyümesi- süreci yoluyla kendi kan kaynağını geliştirmesi gerekir.
3. Metastaz: Kanser hücreleri genellikle kaynak dokusundan, büyümeye ve normal dokuyu değiştirmeye başladıkları zaman vücudun diğer bölümlerine gider. Metastaz adı verilen bu süreç, kanser hücrelerinin kan dolaşımını veya lenf damarlarını ve diğer dokuları istila etme yeteneği kazanmasıyla gerçekleşir. Örneğin; prostat kanseri sıklıkla kemiğe ve meme kanseri akciğere yayılır [46].



Şekil 2.1. Normal bir hücrenin kanserleşmeye geçişi [46]

Kanser genetik bir hastalık olarak tanımlanabilir çünkü belirli genlerdeki değişikliklere kadar izlenebilir, ancak çoğu durumda kalıtsal bir hastalık olarak da görülmez. Kalıtsal bir hastalıkta, genetik kusur bir ebeveynin kromozomlarında bulunur ve zigota aktarılır. Buna karşılık, çoğu kansere yol açan genetik değişiklikler, etkilenen bireyin yaşamı boyunca somatik bir hücrenin DNA'sında ortaya çıkar [47].

İki geniş gen sınıfındaki mutasyonlar, kanserin başlangıcında rol oynamaktadır. proto-onkogenler ve tümör baskılayıcı genler .

Proto-onkogenler, genin büyümeyi hızlandırmada aşırı derecede aktif olmasına neden olan mutasyonlar onkogen olmak üzere aktive edilir. Tümör baskılayıcı genler normalde büyümeyi kısıtlar, bu nedenle bunlara verilen hasar uygunsuz büyümeye izin verir. Her iki sınıftaki genlerin çoğu, hücre doğumunu (yani hücre döngüsüne giriş ve ilerleme) veya apoptoz yoluyla hücre ölümünü düzenlemeye yardımcı olan proteinleri kodlar; diğerleri hasarlı DNA'nın onarımına katılan proteinleri kodlamaktadır.

Kansere neden olan mutasyonlar, çoğunlukla, germ hattı hücrelerinde değil somatik hücrelerde meydana gelir ve somatik hücre mutasyonları bir sonraki nesle aktarılmaz. Buna karşılık, germ hattında taşınan bazı kalıtsal mutasyonlar, bir zaman kanserin oluşma olasılığını artırır. Bazı durumlarda somatik mutasyonlar, kansere neden olmak için kalıtsal mutasyonlarla birleşebilir.

Bu nedenle, onkogenez veya tümörijenez adı verilen kanser oluşturma süreci, genetik ve çevre arasındaki bir etkileşimdir.

Kanserlerin çoğu, genlerin kanserojen maddeler tarafından değiştirilmesinden sonra veya genlerin kopyalanması ve onarılmasındaki hatalar nedeniyle ortaya çıkar. Genetik hasar sadece bir somatik hücrede meydana gelse bile, bu hücrenin bölünmesi hasarı yavru hücrelere iletecek ve değişmiş hücrelerin bir klonuna yol açacaktır. Ancak nadiren tek bir gendeki mutasyon kanserin başlamasına neden olur [48].

Kanser hücrelerini tehlikeli kılan, kontrolsüz hücre çoğalması ve metastatik yayılmanın birleşimidir. Bir hücre, hücre büyümesi üzerindeki genetik kontrolü kaybettiğinde, çok hücreli bir kitleye, iyi huylu bir tümöre (bening) dönüşebilir. Böyle bir tümör genellikle ameliyatla çıkarılabilir ve ciddi bir zarara neden olmayabilir. Bununla birlikte, tümördeki hücrelerin gevşeme, kan dolaşımına girme, diğer dokuları istila etme ve ikincil tümörler (metastazlar) oluşturma yetenekleri varsa, bunlar kötü huylu (malign) hale gelir. Kötü huylu tümörlerin tedavisi genellikle zordur ve yaşamı tehdit edebilir [49].

Kansere neden olan faktörleri belirlemek karmaşık bir süreçtir çünkü birçok faktörün kanser riskini artırdığı bilinmektedir. Kanser, normal hücresel DNA'daki mutasyonlar olarak bilinen değişikliklerden kaynaklanır. Bu mutasyonlar gen ekspresyonunu ve mRNA üretimini değiştirebilir ve ayrıca esas olarak aşağıdaki üç mekanizma ile kontrolsüz hücre büyümesine neden olabilir.

Normal genlerin mutasyonu: Bu mutasyonlar, hücrelerin büyümesini ve daha hızlı bölünmesini sağlayarak, hepsi aynı mutasyonlara sahip birçok yeni hücre oluşturur. Örneğin KRAS, hücre sinyallemesinde bir açma / kapama anahtarı olarak işlev gören ve hücre çoğalmasını kontrol ederek normal şekilde çalışan bir gendir. Mutasyona uğramışsa, sürekli hücre proliferasyonuna yol açar.

Tümör baskılayıcı genlerin mutasyonu: Tümör baskılayıcı genler normalde hücre büyümesini düzenler, ancak bir mutasyon nedeniyle hücreler inhibisyonu kaybeder ve kontrolsüz bir şekilde büyür. Örneğin, tümör baskılayıcı p53 proteini, TP53 geni tarafından kodlanır ve insan kanserlerinin yarısından fazlasında p53 kaybı bulunmuştur. Kalıtsal bir p53 mutasyonu olan Li Fraumeni sendromu (LFS), çeşitli kanser türleri geliştirme riskini artırır.

Onarım mekanizmasına dahil olan genlerin mutasyonu: Normal hücre büyümesi sırasında meydana gelen mutasyonlar, DNA onarım mekanizması ile tanınır ve onarılır ve bu başarısız olursa kanser gelişimine yol açar. Örneğin, kalıtsal polipoz olmayan kolon kanseri, MLH1, MSH2 ve PMS2 gibi DNA onarım genlerinden birindeki mutasyondan kaynaklanır.

İnsan kanser gelişimini tam olarak anlaşılamamakla birlikte kansere sebebiyet veren iki ana faktör ortaya konulmuştur;

1. Kalıtsal (genetik faktör): Kanseri teşvik eden genetik değişiklikler, vücudun üreme hücreleri (yumurta ve sperm) gibi germ hücrelerinde mevcutsa ebeveynlerden miras alınabilir. Bu eşey hattı değişiklikleri, yavruların her hücresinde mevcut olacak ve sonraki nesillere taşınacaktı. Bununla birlikte, bu tür mutasyonlar, kanserlerin küçük yüzdelerini oluşturur.
2. Doğumdan sonra meydana gelen mutasyonlar (çevresel faktör): Gebe kaldıktan sonra meydana gelen kanserojen (tütün ve alkol), radyasyon, bazı enfeksiyonlar, hareketsiz

yaşam tarzı, obezite ve çevre kirleticileri gibi nedenlerden meydana gelen genetik değişikliklere somatik mutasyonlar denir. [50].

Ras proteinleri, insan kanserlerinde sıklıkla mutasyona uğramış proto-onkogenlerdir. 3 gen tarafından kodlanırlar: HRAS, KRAS ve NRAS. 21-kDa ağırlığında olan zara bağlı bu proteinler, sinyallerin tirozin kinaz ve G proteini ile birleştirilmiş reseptörlerden MAPK ve PI3K-AKT sinyal yollarının efektörlerine iletilmesinde merkezi bir rol oynamakla [51] birlikte, proliferasyondan ve hücrenin hayatta kalmasından [52], hücre döngüsünden, hücre isketeleti değişimlerinden, apoptoz ve yaşlanmadan [53] sorumlu olan yolların düzenlenmesinde moleküler anahtarlar olarak işlev gören GTPazlardır. Normal olarak Ras proteinleri, GDP ayrışmasını ve GTP bağlanmasını destekleyen guanin nükleotid değişim faktörleri (GEF) ve sinyalleri kapatmak için Ras'ın içsel GTPaz aktivitesini uyaran GTPaz aktive edici proteinler (GAP) tarafından sıkı bir şekilde düzenlenir [52].

H-ras, N-ras ve K-ras onkogenleri, 30 yıldan fazla bir süre önce insan tümörlerinde keşfedilen ilk insan onkogenleriydi ve 150'den fazla farklı hücresel üyeden oluşan geniş Ras geni süper ailesinin kurucu üyeleridir. Hücresel sinyalleşme ağları içinde, H-Ras, N-Ras veya K-Ras'ın Ras-Raf-MAPK yolağına katılımının, ökaryotik hücrelerin proliferasyonunun, farklılaşmasının ve hayatta kalmasının kontrolü için gerekli olduğu kanıtlanmıştır. Gerçekte, bu yolun evrimsel önemi ve önemi, bazı bileşenlerinde değişikliklere bağlanan artan sayıda patolojik koşulla vurgulanmaktadır [53].

Farelerde, H-ras transkriptlerinin seviyesi beyin, kas ve deride en yüksek, karaciğerde ise en düşük seviyededir. K-ras transkriptleri en çok bağırsak, akciğer ve timusta bol miktarda bulunur ve deri ve iskelet kasında nadirdir ve N-ras transkriptleri testis ve timusta daha yaygındır. Üç ras geninin farklı ekspresyonu, farelerin prenatal gelişimi sırasında gözlenmiştir; N-ras ekspresyonu gebeliğin 10. gününde en yüksek seviyede ikenve K-ras ekspresyonu, gebeliğin sonuna doğru en düşükt seviyede olduğu gözlemlenmiştir. Her durumda, göreceli ekspresyon seviyelerindeki varyasyonlara rağmen, üç ras geninin tümü, çoğu fare ve insan dokusunda aynı anda eksprese edilmesi protein ürünlerinin örtüşen işlevlere sahip olma olasılığını doğurur [54].

Üç insan RAS geni; Kirsten sıçan sarkomu viral onkogen homologu (KRAS), nöroblastoma RAS viral (v-ras) onkogen homologu (NRAS) ve Harvey sıçan sarkomu viral onkogen

homologu (HRAS), ile alternatif RNA birleştirmesinden ortaya çıkan iki KRAS izoformu (KRAS4A ve KRAS4B) dahil 4 RAS proteini kodlanmaktadır.

Geleneksel olarak, mutant RAS'ın, hücrelerde yapısal olarak GTP'ye bağlı RAS birikmesine neden olan GAP aracılı GTP hidrolizinde kusurlu olduğu düşünülmekle beraber, kanserde RAS'ın rolü, mutasyon sıklığı ile belirtilenden daha fazladır; GDP-GTP regülasyonundaki karışıklıklar, GAP'lerin kaybı veya GEF'lerin kalıcı reseptör tirozin kinaz aracılı aktivasyonu, kanserde RAS aktivasyonunun ek mekanizmaları olarak gösterilmektedir. Yapılan son çalışmalar ise, RAS mutant kanserlerde bulunan kalan vahşi tip (WT) RAS proteinlerinin kanser büyümesine katkıda bulunmadaki rolünü destekler nitelikte olmasına rağmen diğer çalışmalarda WT RAS'ın bir tümör baskılayıcı olarak hareket edebileceğini öne sürülmektedir [55]. RAS aracılı onkogenezde efektörlerin rolünü analiz eden çalışmaların çoğu, kültürlenmiş hücrelerde gerçekleştirilmiştir. Ektopik olarak onkogenik RAS eksprese eden insan hücre hatlarında yapılan deneylerde, tümör büyümesi için Raf, PI3 kinaz ve Ral-GEF efektör yollarının aktivitelerine ihtiyacının gerekliliği gösterilmiştir. Pankreas kanserinde RNA interferans kullanılarak, Ral-GEF-Ral yolağının tümoriogenez, invazyon ve metastazda önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. Çeşitli hayvan çalışmalarında da RAS efektörlerinin kanserdeki rolünün etkinliğin kanıtlanmıştır [56].

H-ras geni; 11. kromozomun p kolunda (kısa kol) 5. pozisyonda lokalize olup 6.5 kb insan genomunu kapsamakta ve 6 ekzon içermektedir. K-ras geni; 12. kromozomun p kolunda 12.1 pozisyonunda lokalizedir ve 6 ekzon içermektedir. N- ras geni; 1. kromozomun p kolunda 13.2 pozisyonunda yer almakla beraber bu genlerdeki mutasyonlar sıklıkla somatik olmakta ve miras alınmamaktadır [55]. K-ras ve N-ras genleri sırasıyla yaklaşık 35 kb ve 7kb uzunluğunda insan genomunda bulunmaktadır [58].

İnsan kanserlerinin üçte biri kadarında, dört RAS proteini arasında özdeş olan protein bölgesinde meydana gelen fonksiyon kazanımı yanlış anlam mutasyonlarını taşıdığı bildirilmiş ve kırk dört farklı nokta mutasyonu tanımlanmıştır [59]. Fonksiyon kazanımı yanlış anlam mutasyonları onkogenezi teşvik eder ve tamamı, 12, 13 ve 61 kodonlarında üç hotspot noktada kümelenmiş hastalarda tespit edilmiştir. Bunlar, hızlı nükleotid değişimi veya GAP bağlantısının deformasyonu nedeniyle gelişmiş GTP bağlanması ile sonuçlanır [60].

Ras, GAP ile hızlandırılmış GTP hidrolizinin kaybı nedeniyle aktif halde kalır. GAP mutasyonunun bu tür tipik bir örneği, NF1 tümör baskılayıcı gen tarafından kodlanan nörofibromin olan GAP'lerdir. Nörofibromatozis tip I olan hastalar yalnızca bir fonksiyonel NF1 genini miras alır ve daha sonra NF'nin tamamen kaybedilmesi yoluyla kansere yatkın hale gelmektedir. Ras sinyali, büyüme faktörü reseptörü tirozin kinazın aşırı eksprese edildiği tümörlerde de aktive edildiği bilinmektedir. En yaygın örnek epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR) ve reseptör tirozin-protein kinaz erbB-2'dir (ERBB2), bunlar meme, yumurtalık ve mide karsinomları dahil birçok kanser türünde aktive edilir ve aşırı eksprese edilmektedir [61].

Ras gen mutasyonları ilk olarak 17 yıl önce miyeloid malignitelerde bildirilmiştir [62]. Ras mutasyonları tümörigenezde yaygın durumda ve bugüne kadar, Ras mutasyonları taşıyan tümörlerin tedavi edilmesi en zor olanları olmuştur [63].

HRAS, 21.793 çeşitli tümör örneğinde 741 mutasyon bulunmuş olup genel olarak, %3.41’ni oluşturmaktadır. Mutasyonun yaygınlığı farklı birincil doku türlerine göre değişir.

KRAS'ta, analiz edilen 95.963 numuneden 21.724 mutasyon bulunmuştur ki insan kanserlerindeki mutasyonların %23'ünü kapsamaktadır. KRAS'ın insan kanserlerinde en çok mutasyona uğramış onkogen olduğu tespit edilmiştir. En yüksek mutasyon %57 insidansıyla pankreas kanserinde bulunmuştur. Nispeten, kalın bağırsakta %35, safra yollarında %28, ince bağırsakta %17, akciğerde %16, endometriyumda %15 ve yumurtalık malignitelerinde %14 mutasyon insidansı bulunmuştur.

Çeşitli primer tümör dokularındaki mutasyonların %7.51'ini oluşturan N-ras’ta 32.104 tümörde 2410 mutasyon tanımlanmıştır. Kötü huylu melanomlarda çok yüksek oranda NRAS mutasyonu tespit edilmiştir. Hematopoietik ve lenfoid doku malignitelerinde ve tiroid kanserinde nispeten yüksek bir mutasyon insidansı bulunmuştur. NRAS mutasyonları sıklıkla diğer tümörlerde de saptanmış olsa da yaygınlıkları nispeten düşüktür ve %0-5'e karşılık geldiği veriler COSMIC (Kanserde Somatik Mutasyon Kataloğu) veritabanından elde edilen bilgiler Çizelge 2.1’de belirtilmiştir [38].

Çizelge 2.1. Kanserde ras mutasyonu oranları (Mutasyona uğramış örneklerin toplam örnek analizine oranı)

H-ras mutasyonları Primer tümör dokuları	%	K-ras mutasyonları Primer tümör dokuları	%	N-ras mutasyonları Primer tümör dokuları	%
Tükürük bezi	24/164 (%15)	Pankreas	3247/5656 (%57)	Cilt	918/5368 (%17)
Rahim ağzı	23/264 (%9)	Kalın bağırsak	13177/38080 (%35)	Hematopoetik ve lenfoid	929/8882 (%10)
Üst sindirim sistemi	110/1202 (%9)	Safra yolu	491/1766 (%28)	Tiroid	330/4755 (%7)
İdrar yolu	165/1765 (%9)	Akciğer	2872/17472 (%16.43)	Otonom gangliyon	6/102 (%6)
Penis	2/28 (%7)	İnce bağırsak	63/377 (%17)	Böbreküstü bezi	9/171 (%5)
Cilt	134/2168 (%6)	Endometriyum	332/2268 (%15)	Yumuşak doku	27/509 (%5)
Prostat	29/558 (%5)	Ovaryum	436/3192 (%14)	Kalın bağırsak	62/1731 (%4)
Yumuşak doku	37/740 (%5)	Gastrointestinal sistem	7/73 (%10)	Üst sindirim sistemi	24/860 (%3)
Mide	14/384 (%4)	Prostat	94/1214 (%8)	Karaciğer	8/310 (%3)
Testis	5/130 (%4)	Rahim ağzı	46/637 (%7)	Ovaryum	5/191 (%3)
Tiroid	153/4231 (%4)	Periton	6/87 (%7)	Testis	8/283 (%3)
Hipofiz	10/300 (%3)	Yumuşak doku	73/1100 (%7)	Rahim ağzı	2/132 (%2)
Kemik	3/199 (%2)	Mide	195/2814 (%7)	Safra yolu	6/287 (%2)
Timus	1/46 (%2)	Karaciğer	31/507 (%6)	Pankreas	5/306 (%2)
Böbreküstü bezi	1/136 (%1)	Hematopoetik ve lenfoid	310/6116 (%5)	Mide	5/215 (%2)
Göğüs	5/720 (%1)	Genital sistem	1/25 (%4)	İdrar yolu	10/873 (%1)
Endometriyum	3/291 (%1)	Testis	17/432 (%4)	Göğüs	7/508 (%1)
Özofagus	2/161 (%1)	Penis	1/28 (%4)	Prostat	8/588 (%1)
Otonom gangliyon	0/63 (%0)	İdrar yolu	47/1099 (%4)	Merkezi sinir sistemi	8/1069 (%1)
Safra yolu	0/153 (%0)	Göz	4/90 (%4)	Endometriyum	2/314 (%1)
Merkezi sinir sistemi	0/964 (%0)	Otonom gangliyon	2/63 (%3)	Akciğer	28/3084 (%1)
Göz	0/33 (%0)	Göğüs	24/789 (%3)	Göz	1/106 (%1)
Gastrointestinal sistem	0/1 (%0)	Özofagus	13/375 (%3)	Fallop tüpü	0/2 (%0)
Hematopoetik ve lenfoid	8/3076 (%0.2)	Tükürük bezi	6/173 (%3)	Kemik	0/207 (%0)
Böbrek	1/273 (%0.3)	Üst sindirim sistemi	54/1673 (%3)	Gastrointestinal sistem	0/2 (%0)
Kalın bağırsak	2/717 (%0)	Cilt	39/1532 (%3)	Böbrek	2/435 (%0)
Karaciğer	1/271 (%0)	Tiroid	116/5259 (%2)	Meninksler	0/77 (%0)
Akciğer	9/2094 (%0)	Timus	4/186 (%2)	Özofagus	0/161 (%0)

Çizelge 2.1. (devam) Kanserde ras mutasyonu oranları (Mutasyona uğramış örneklerin toplam örnek analizine oranı)

H-ras mutasyonları Primer tümör dokuları	%	K-ras mutasyonları Primer tümör dokuları	%	N-ras mutasyonları Primer tümör dokuları	%
Meninksler	0/75 (%0)	Kemik	2/252 (%1)	Paratiroid	0/100 (%0)
Ovaryum	0/152 (%0)	Böbrek	4/704 (%1)	Penis	0/28 (%0)
Paratiroid	0/100 (%0)	Merkezi sinir sistemi	9/1175 (%1)	Hipofiz	0/300 (%0)
Periton	0/3 (%0)	Fallop tüpü	0/3 (%0)	Plasenta	0/2 (%0)
Plasenta	0/2 (%0)	Böbreküstü bezi	1/211 (%0)	Plevra	0/30 (%0)
Plevra	0/19 (%0)	Meninksler	0/62 (%0)	Tükürük bezi	0/48 (%0)
Pankreas	0/279 (%0)	Paratiroid	0/100 (%0)	İnce bağırsak	0/5 (%0)
İnce bağırsak	0/5 (%0)	Hipofiz	0/300 (%0)	Timus	0/46 (%0)
Vulva	0/16 (%0)	Plasenta	0/10 (%0)	Vajina	0/1 (%0)
		Plevra	0/45 (%0)	Vulva	0/16 (%0)
		Vajina	0/2 (%0)		
		Vulva	0/16 (%0)		
	742/21,783 (%3.41)		21,724 /95,963 (%23)		2410/32,104 (%7.51)

2.2. Ovaryum Anatomisi

Resim 1.1’ de görüldüğü gibi ovaryum, gelişmekte olan bir yumurta sarısı veya yumurta kümesidir .Ovaryum, civcivler yumurtadan çıktığında tamamen oluşur, ancak civcivler cinsel olgunluğa ulaşana kadar çok küçüktür. Kuluçkada, civcivlerin teorik olarak yumurtlanabilecek on binlerce potansiyel yumurtası (yani yumurta) vardır. Ancak bunların çoğu asla yumurtlama noktasına kadar gelişmez [64].

Ovaryum, bağırsak periton boşluğunda kraniyodorsal olarak bulunur. Vücut duvarına kısa bir mezovaryum (tavuklarda birkaç milimetre uzunluğunda) ile bağlıdır ve sol akciğerin kaudal kenarına, sol adrenal beze, sol böbreğin kraniyal kutbuna, aorta ve kaudal vena kavaya karşı uzanır. Yumurta kanalının infundibulumu, ovaryum kaudal ucuna kadar uzanır.

Yavru ve yumurtlamayan olgun dişi tavukta, yumurtalık kompakt, kabaca üçgen bir yapıdır, yaklaşık 15-20 mm'ye 10 mm ölçülerinde ve yaklaşık 0,5 g ağırlığındadır. Yüzeyi ince taneli bir görünüme sahiptir.

Ovaryum folikülleri yumurtlamadan önce olgunlaştıkça, yumurtalık sadece birkaç gün içinde 110 mm'ye 70 mm'ye büyür ve 60 g'dan fazla bir ağırlığa ulaşır.

Yumurtadan çıkma sırasında, yumurtalık bir korteks (korteks ovarii) ve bir medulladan (medulla ovarii) oluşur. Korteks, foliküler epitel ile çevrili oositlerden oluşan ovaryum foliküllerini içerir [65].

Resim 2.1. Tavuk ovaryum anatomisi [66]

Sağ ovaryum ve yumurta kanalı tüm kuşların embriyonik evrelerinde bulunur, ancak ilkel germ hücrelerinin tavuk yumurtalıklarına dağılımı inkübasyonun 4. gününde asimetrik hale gelir ve 10. günde sağ yumurta kanalının gerilemesi başlar. Sol ovaryum, vücudun sol tarafında böbreklerin sefalik ucunda yer alır ve vücut duvarına mezovaryan bağ ile bağlanır. Yumurtalık, yumurta içeren foliküllerden oluşan bir dış korteks ve bir iç medulladan oluşur [66].

Ovaryum, genç tavuğun erken döneminde foliküler gelişim gösterir, bu nedenle yüzeyine pürüzlü ve granüler bir görünüm verir. Ovaryum büyüyüp olgunlaştıkça, iç medulla ile tanımlanabilir bir dış korteks vardır. Bu erken korteks, başlangıçta uzun, küboidal veya yassı olabilen yüzeysel bir peritoneal hücre dış tabakasına sahiptir. Bu hücreler bir epitel oluşturur. Ovaryum daha da olgunlaştıkça korteks ve medulla arasındaki ayrım kaybolur. Korteks daha sonra olgunlaşmamış foliküllerin parankim bölgesinden oluşur. Merkezi yerleşimli medulla, belirgin bir vasküler bölge ile düzensiz şekilli bir alan haline gelir [67].

2.3. Ovaryum Kanseri

Ovaryum kanseri (OC) ilk olarak 1866'da Pierre Paul Broca tarafından eşinin ailesindeki meme ve ovaryum kanserini belgelemesiyle tanımlanmıştır [68].

Ovaryum kanseri dünya çapında her yıl tahmini 239.000 yeni vaka ve 152.000 ölüme neden olmakta, en yüksek oranlar sırasıyla Doğu ve Orta Avrupa'da görülmektedir. Bir kadının yaşam boyu OC'ye yakalanma riski 75'te 1'dir ve hastalıktan ölme şansı 100'de 1'dir [69].

Ovaryum, fallop tüpü ve periton kanseri olan kadınların yaklaşık %70'i ileri evre hastalığı ile başvurmaktadır. 1980'lerin başından bu yana, III, IV evreleri ile başvuran kadınlar için standart tedavi cerrahi ve ardından platin bazlı kemoterapi gelmektedir [70].

2018 itibariyle, yaklaşık 240.000 yeni vaka ile ovaryum kanseri dünya çapında kadınlarda görülen en yaygın yedinci kanser olmuştur. Ovaryum kanseri, 40 yaşın üzerindeki kadınlarda, özellikle gelişmiş ülkelerde meme kanserinden sonra en sık görülen ikinci malignitedir. Tüm kanser türlerine bakıldığında, yumurtalık kanseri kadınlarda en yaygın on birinci kanser türü olup, kansere bağlı ölümlerin beşinci nedenidir [71].

Ovaryum kanseri sıklıkla periton boşluğuna, omentuma ve hatta karaciğer veya akciğer parankimine metastaz yapar [72].

Ovaryum karsinojenezinin hakim görüşü şu şekilde özetlenebilir: ovaryum karsinomlarının büyük çoğunluğu yüksek dereceli seröz karsinomlardır (HGSC'ler) ve bu nedenle ovaryum kanseri tek bir hastalık olarak kabul edilebilir ve ovaryum kanseri, ovaryum yüzey epitelinden (OSE) gelişen kortikal inklüzyon kistlerinden (CIC'ler) kaynaklanır.

Ovaryum kanserlerinin morfolojik ve moleküler genetik çalışma ile aydınlatılmasıyla, çeşitli epitelyal ovaryum kanseri türlerini tip I ve II olarak adlandırılan iki geniş kategoriye ayıran model önerilmiştir.

Tip I tümörler, düşük dereceli seröz, düşük dereceli endometrioid, müsinöz ve berrak hücreli karsinomlardan oluşur. Bu tümörler tipik olarak bir yumurtalıkla sınırlı büyük kistik kitleler halinde bulunur, nispeten yavaş bir seyir gösterir ve KRAS, BRAF, PTEN, PIK3CA, CTNNB1, ARID1A ve PPP2R1A'da sinyal yollarını bozan mutasyonlarla ilişkilidir. Bu moleküler değişiklikler, iyi huylu durumdan çeşitli derecelerde atipi (sınırda tümör) ile noninvazif ve ardından invazif düşük dereceli karsinomaya doğru adım adım ilerleyen morfolojik değişikliklerle sonuçlanır. Tip II tümörler, yüksek dereceli seröz, yüksek dereceli endometrioid, farklılaşmamış karsinomlar ve malign-karışık mezodermal tümörlerden

oluşur. Bu tümörler agresiftir ve tipik olarak ileri bir aşamada ortaya çıkar ve bu da yüksek ölüm oranlarına katkıda bulunur. Genetik olarak stabil olan tip I tümörlerin aksine, tip II tümörler başlangıçta belirgin kromozomal anormallikler gösterir, ancak bunlar hastalığın seyri boyunca nispeten stabil kalır [73].

Ailesinde meme veya yumurtalık kanseri öyküsü olan OC hastalarında, BRCA1 veya BRCA2'de bir mutasyon taşıma olasılığı yüksektir. Birden fazla meme ve yumurtalık kanseri vakası olan ailelerde bulunan mutasyonların oranı, seçim kriterlerine ve etnik kökene bağlı olarak %9 ile %46 arasında değişmektedir. Germ hattı BRCA mutasyonları ile ilişkili OC'lerin büyük çoğunluğu yüksek dereceli ve ileri evre seröz karsinomları olduğu yapılan çalışmalarla katkı sağlamıştır. Sistematik bir histopatolojik inceleme içeren çalışmalar, BRCA1 ile ilişkili tümörlerde yüksek dereceli seröz karsinomların sıklığını %67 ile %100 arasında değişen bir sıklıkta görüldüğü vurgulanmaktadır [74]. Seröz ovaryum karsinomu teşhisi konulan tüm hastaların %15'inden fazlasında germ hattında BRCA mutasyonu olabilme olasılığı vardır.

8000'den fazla meme veya ovaryum kanseri vakasını analiz eden ve yeni ufuklar açan bir makalede, BRCA1/2 mutasyonu ile ovaryum kanserinin risk oranı ortalama sırasıyla %39 ve %11 bulunmuştur. Araştırmacılar ayrıca, 50 yaşından sonra BRCA2 ve 40 yaşından sonra artmış riske sahip BRCA1 hastalarıyla, BRCA1/2 arasında hastalığın başlangıcı için yaş farklılığına dair kanıtlar bulmuşlardır. 1990 yılında keşfedilmesinden bu yana, araştırmalar BRCA'nın tümörigenezdeki rolünün daha yakın zamanda terapötik bir potansiyel olarak anlaşılmasına yol açmıştır. BRCA mutasyonunun tanımlanması sadece hastaya yardımcı olmakla kalmamakta, aynı zamanda akrabalarına da genetik testlerin yapılmasına izin vererek ovaryum kanserini önleme potansiyeline izin vermektedir [68].

2.4. Kanser Sinyal Yolakları

<u>MAPK (Mitogen-activated protein kinase) Yolağı:</u> MAPK yolu (Şekil 2.2), hücresel tepkilere aracılık eden önemli bir sinyal sistemidir. Maya ve memeli hücreleri dahil olmak üzere çeşitli organizmalarda her yerde bulunur. Hücre büyümesi, gelişimi, bölünmesi, ölümü ve hücresel fonksiyonların senkronizasyonu gibi birçok fizyolojik süreçte yer alır. Mitojenle aktive olan protein kinaz (MAPK), ipek proteinleri / treonin kinazlar ailesine aittir. Sitoplazmada bulunur ve çekirdeğe girebilir ve etkinleştirildiğinde hedef organı

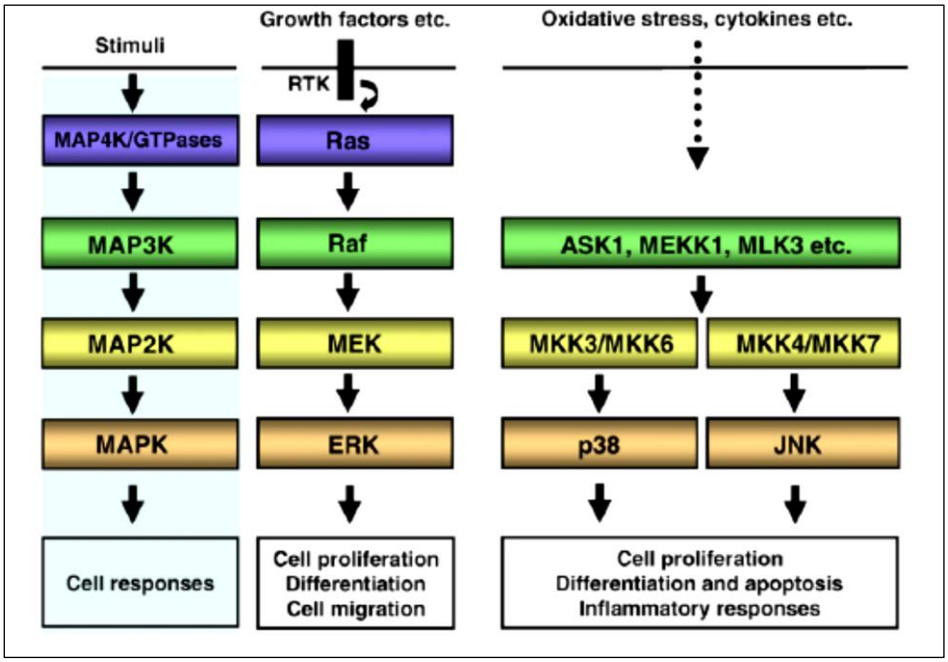
etkinleştirebilir [75]. MAPK sinyal yolağı proliferasyon için gerekli olan RAF, MEK ve ERK proteinlerinden oluşmaktadır. Normal hücrelerde reseptör tirozin kinazlarda oluşturulan sinyalleri nükleusa ileterek gen ekspresyonuna yol açar. Tümör hücrelerinde ise MAPK sinyal yolağı RAS ve RTK'nın onkogenik aktivasyonu sonucunda ortaya çıkar. MAPK yolakları, içinde bir MAPK'nın bir fosforilasyon üzerine aktive edildiğinde mitojenle aktive olan protein kinaz kinaz (MAPKK) ve MAP kinaz kinaz kinaz (MAPKKK) tarafından fosfor ile kaplandığında aktive edilen üç katmanlı bir kinaz modülünden oluşur. Bugüne kadar memelilerde altı farklı MAPK grubu karakterize edilmiştir; hücre dışı sinyalle düzenlenen kinaz (ERK) 1/2, ERK3 / 4, ERK5, ERK7 / 8, Jun N-terminal kinaz (JNK) 1/2/3 ve p38 izoformları α / β /γ (ERK6) /δ [76]. Bu gruplar direkt olarak kansere yol açmazlar sadece apoptozu, hücre farklılaşmasını ve proliferasyonunu uyarır. En iyi çalışılmış yolak ise MEKK1, MEK4 ve JUN dan oluşan transkripsiyonal aktivatör JUN'un fosforilayonuna neden olurlar. Bu yolak UV'den kaynaklanan stresle sitokinlerce uyarılan RAS Proteinini aktive edilir. Bu protein MEKK1,2,3 aracılığıyla da aktive edilebilirler. Bu daha ziyade MAPK yolağında hücre proliferasyonunun durdurulmasıdır. JNK yolağı kanser gelişimi için önemli görünsede down regülasyonu söz konusudur. ERK ve JNK MAPK yolakları RAS proteinleri tarafından aktive edilebilir. RAS proteinleri G-Protein üzerinden aktivasyonu sağlanarak hücre şekli, adhezyon ve migrasyona sebebiyet vermektedir. RAS aktivasyonu kanserlerde önemlidir. RAS mutasyonu kanserinde hücre proliferasyonunu uyarılmasında gerekli bir proteindir. RAS proteinleri bazı durumlarda hiperproliferasyona karşı güvenli yanıtları da uyarabilir [77]. Ras aktivasyonu aynı zamanda tümör büyümesini uyaran CXCL-8 ve IL-8'in salgılanmasını artırarak lokal inflamasyonu ortaya çıkardığı gösterilmiştir [78].

ERK yolu, memeli MAPK yolakları arasında en iyi çalışılmış olanıdır ve tüm insan kanserlerinin yaklaşık üçte birinde deregüle edilmiştir. ERK sinyali hücre proliferasyonu ile eş anlamlıydı, ancak şimdi bu yolun deregülasyonunun tümör fenotipinin diğer birçok yönüyle bağlantısı olduğu bulunmuştur. ERK MAPK modülü, ERK (ERK1 ve ERK2) MEK (MEK1 ve MEK2) ile fosforilasyonun ardından aktive olur. Raf (Raf-1, B-Raf ve A-Raf) tarafından fosforile edildiğinde kendisi aktif hale gelir. Büyüme faktörlerinin ve mitojenlerin ERK sinyallemesini aktive ettiği yol, özellikle kanserle ilgilidir [75].

Tümörlerin hem RAS hem de RAF mutasyonlarını içermesi alışılmadık bir durum olup, onkogenez için gerekli olan tek şeyin kaskadın sadece bir üyesi olduğunu düşündürmektedir.

P38-MAPK'lar, çevresel stresler ve enflamatuar sitokinler tarafından güçlü bir şekilde aktive edilir, ancak büyüme faktörleri bu yolu zayıf bir şekilde aktive etmektedir. p38-MAPK'ların, G0, G1/S ve G2/M geçişlerinde hücreye özel bir şekilde hücre döngüsü kontrol noktası kontrolünde önemli bir rol oynamaktadır. P38-MAPK'lar, tamamen enzimatik olarak aktif hale gelmek için, aktivasyon döngüsünde Thr-Gly-Tyr motifinin MAP2K3 (MEK3) veya MAP2K6 (MEK6) ile ikili fosforilasyonuyla oluşmaktadır. P38-MAPK ailesinin dört üyesi vardır; Dokuya özgü ekspresyon modellerini gösteren MAPK11 (p38-α), MAPK12 (p38-β), MAPK13 (p38-δ) ve MAPK14 (p38-γ), Dört alt birimin ayrıca belirli hedef substratları farklı şekilde aktive ettiği gösterilmiştir. P38-MAPK yolağının üyelerinin downstream hedefleri arasında transkripsiyon faktörleri TP53, STAT1, MEF ve NF-κB, sitoskeletal proteinler ve diğer kinazlar yer almaktadır.

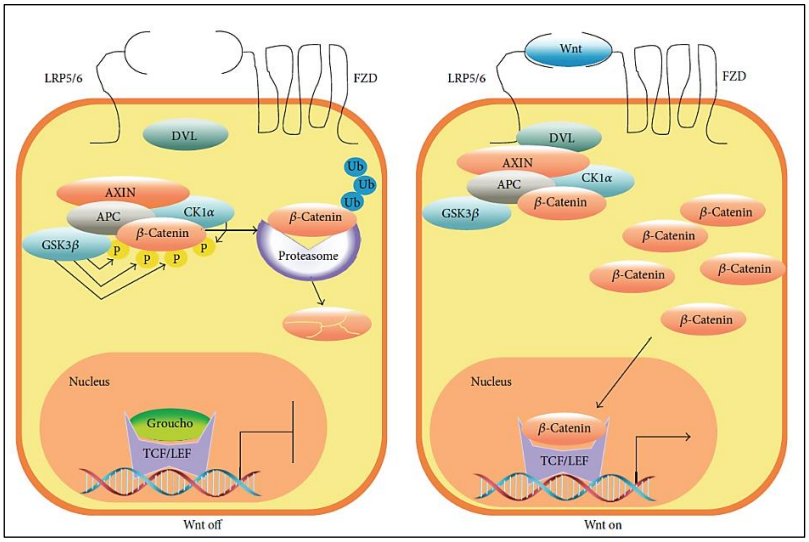
p38-MAPK, DNA hasarına neden olan hücresel strese yanıt olarak hücresel çoğalmanın önlenmesinde rol oynadığı ve tümör kütlesinin neden olduğu hipoksik bir ortama yanıt olarak anjiyogenezi artırdığı için, bir tümör baskılayıcı veya bir onkogen olarak sınıflandırılamaz. P38-MAPK sinyal yolundaki mutasyonlar, MAPK sinyalleşme ağının diğer dallarına kıyasla nispeten nadirdir. Bununla birlikte, çalışmalar hematolojik malignitelerde ve meme, prostat, mide ve akciğer kanserlerinde p38-MAPK düzensizliği göstermiştir [4].



Şekil 2.2. MAPK sinyal yolağı [79]

Wnt/β-Katenin Yolağı: Protein-katenin, kanonik Wnt sinyal yolağının (Şekil 2.3) her yerde bulunabilen bir ana sinyal dönüştürücüsüdür. Aynı zamanda, hücre iskeletinin E-kaderin, α-katenin ve aktin filamentleri ile bir kompleks oluşturan yapışık bağlantılarda da bulunur. β-katenin veya diğer Wnt yolu bileşenlerini kodlayan genlerdeki mutasyonlar, belirli kanser, fibroz ve inflamatuar bağırsak hastalığında tanımlanmıştır. Wnt / β-katenin yolu, salgılanan bir Wnt glikoproteini, bir Frizzled (Fzd) reseptörünün N-terminal hücre dışı sistein açısından zengin alanına bağlandığında aktive olur. İnsanlarda tanımlanmış 19 Wnt proteini ve 10 Fzd reseptörü vardır. Wnt'nin Fzd'ye bağlanması üzerine, çekirdek reseptör düşük yoğunluklu lipoprotein 5/6 (LRP5 / 6), Fzd ve darmadağınık (DVL) ile etkileşime girerek APC ve Axin'in CK1α ve GSK3β ile birlikte plazma zarına alınmasına yol açar. Buna karşılık, PPPSP motifinde CK1a ve GSK3p fosforilat LRP5 / 6, bir substrat rekabetçi mekanizma yoluyla β-katenin'in GSK3p'ye bağlı fosforilasyonunu azaltır. β-katenin sürekli olarak sentezlendiğinden, yıkım kompleksinin Wnt kaynaklı inaktivasyonu, sitoplazmada geçici bir stabilizasyona ve-katenin birikmesine neden olur. Daha sonra β-katenin, çekirdeğe yer değiştirir ve corepressor Groucho'nun yerini alarak, DNA'ya bağlı T hücre faktörü / lenfoid güçlendirici faktör (TCF/LEF) proteinleri ile etkileşim yoluyla spesifik genlerin ekspresyonunu arttırır. Gen ekspresyonu, transkripsiyon kompleksi demonte edildiğinde ve nükleer APC, bozunduğu sitoplazmaya β-katenin ihraç ettiğinde sona erer. Hücre büyümesi, farklılaşması, apoptozis, hayatta kalma ve bağışıklık fonksiyonlarında yer alan yaklaşık 400 gen, Wnt / β-katenin sinyal yolu tarafından düzenlenir [80]. Wnt genleri başlangıçta bir protoonkogen ailesi olarak keşfedildi. Wnt yolundaki değişiklikler birçok hastalığa neden olur; ancak, çoğu çalışma kanserle ilişkisine odaklanmaktadır. Bilinen dört Wnt sinyal yolundan Wnt/β-katenin, kansere yol açan hücresel değişikliklerden esas olarak sorumlu olarak tanımlanmıştır. Şu anda, birkaç gen bu yolun bilinen düzenleyicileridir ve insan kanserlerinde değiştiği bulunmuştur. Benzer şekilde, yönlendirilmiş mutasyonların dahil edildiği bu genlerden bazıları, kemirgenlerde veya diğer hayvan modellerinde kanseri teşvik eder [81]. Düzensiz Wnt /β-katenin sinyalinin kanserle ilişkisi belgelenmiştir. Yapısal olarak aktive olan β-katenin sinyali, APC eksikliği veya bozunmasını önleyen β-katenin mutasyonları nedeniyle, hücreleri tümörigeneze yatkın hale getiren aşırı kök hücre yenilenmesine / çoğalmasına yol açar. Aslında, kök hücrelerde APC delesyonu veya β-katenin aktivasyonu, bağırsak neoplazisi için esastır. β-katenin sinyalinin bir kanser tedavisi olarak bloke edilmesi bu nedenle önemli ilgi uyandırmıştır. β-katenin sinyallemesini engelleyen yeni bir küçük molekül sınıfı tanımlanmıştır; bu, bilinmeyen bir mekanizma

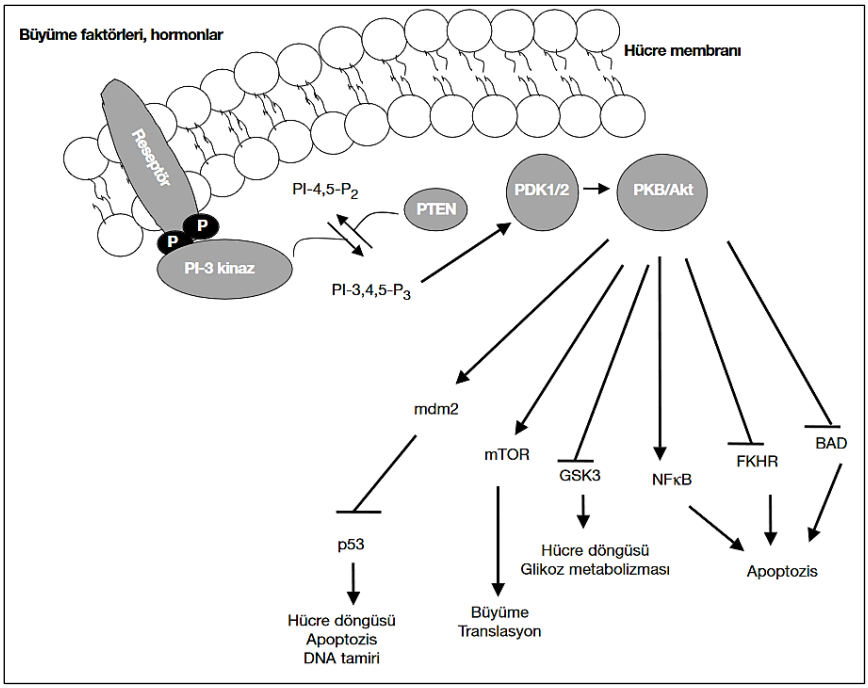
yoluyla Axin proteinini stabilize eder, böylece APC işlevi olmayan kanser hücrelerinde bile β-katenin bozunmasını teşvik eder [82].



Şekil 2.3. Wnt/β-Katenin yolağı [80]

PI3K-PKB/Akt Yolağı: PI3K-PKB/Akt yolu (Şekil 2.4) yüksek düzeyde korunur ve aktivasyonu çok adımlı bir süreçle sıkı bir şekilde kontrol edilmektedir. Aktive edilmiş reseptörler, düzenleyici alt birimleri veya insülin reseptör substratı (IRS) proteinleri gibi adaptör molekülleri yoluyla bağlanan PI3K'leri doğrudan uyarır. Bu, PI3K'nın aktivasyonunu ve katalitik fosfatidilinositol (3,4)-bisfosfat (PIP2) lipidlerinin fosfatidilinositol (3,4,5)-trisfosfata (PIP3) dönüşmesini tetikler. PKB/Akt, plazma membranında PIP3'e bağlanarak PDK1'in aktivasyon döngüsü içinde T308'e erişmesine ve fosforile etmesine izin vererek kısmi PKB/Akt aktivasyonuna yol açar. Bu PKB/Akt modifikasyonu, prolin bakımından zengin 40 kDa Akt substratını (PRAS40) ve tüberöz skleroz proteini 2'yi (TSC2) doğrudan fosforile ederek ve inaktive ederek mTORC1'i etkinleştirmek için yeterlidir. rapamisinin memeli hedefi 1 (mTORC1) substratları, ökaryotik translasyon başlatma faktörü 4E bağlayıcı protein 1 (4EBP1) ve ribozomal protein S6 kinaz, 70 kDa, polipeptid 1 (S6K1) içerir, bu da ribozomal protein S6'yı (S6/RPS6) fosforile ederek protein sentezini destekler ve hücresel proliferasyonu sağlar. Karboksi terminal hidrofobik motifte S473'te Akt'nin ya mTOR ile ya da DNA-PK ile fosforilasyonu, tam Akt aktivitesini uyarır. Akt'nin tam aktivasyonu, pro-apoptotik FOXO proteinlerinin inhibe edici fosforilasyonu dahil olmak üzere hem sitoplazma hem de çekirdekte ilave substrata özgü fosforilasyon olaylarına yol açar. Tam olarak aktif PKB/Akt, anjiyogenez, metabolizma, büyüme, proliferasyon, hayatta kalma, protein sentezi, transkripsiyon ve

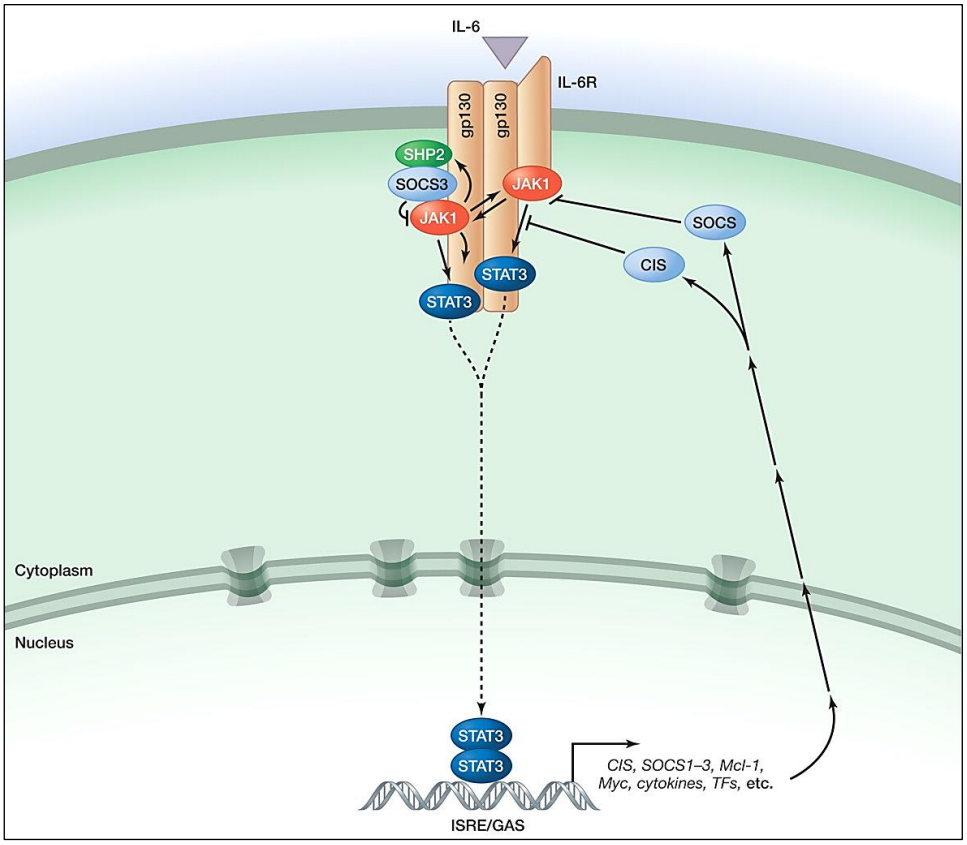
apoptoz dahil olmak üzere çok sayıda hücresel fonksiyona aracılık eder. T308'in PP2A ile ve S473'ün PHLPP1/2 ile defosforilasyonu ve PIP3'ün PTEN ile PIP2'ye dönüştürülmesi Akt sinyallemesini antagonize eder [83]. Geçtiğimiz on yıl boyunca, PI3K sinyal yolunun kanser yelpazesinde genişçe bir yer almaktadır. Kinazların mutasyonları ve/veya PTEN ekspresyonunun azalması veya işlevininin tamamen kaybolması PKB'nin aşırı sentezlenmesine bu sentezleme sonucunda mTOR aktivasyonuna yol açarak, insan karsinojenezindeki merkezi rolünün altını çizer [84, 85]. PKB'nin bu aşırı sentezlenmesi meme kanser hücrelerinde daha fazladır. PI3K yolu, tümör baskılayıcı PTEN'in kaybı veya inaktivasyonu, PI3K'nın mutasyonu veya amplifikasyonu ve ayrıca tirozin kinaz büyüme faktörü reseptörlerinin veya PI3K'nın yukarı akışındaki onkogenlerin aktivasyonu dahil olmak üzere çeşitli mekanizmalar yoluyla düzensizleştirilir. Kanserle ilişkili iki PTEN mutasyonu barındıran PTEN knock-in farelerde, PTENC124S ve PTENG129E, PTEN lipid-fosfataz aktivitesini baskın bir negatif şekilde inhibe ederek PI3K sinyallemesinin ve tümörijenezin aktivitesinin artmasına yol açar. Dahası, PTEN eksikliği olan kanserde ana kanserojen itici güç, PTEN lipid fosfataz fonksiyonunun kaybının neden olduğu AKT'nin aşırı aktivasyonudur. PI3K sinyallemesinin hiperaktivitesinin insan tümör ilerlemesi, artan tümör mikrodamar yoğunluğu ve artmış kemotaksis ve kanser hücrelerinin invazif potansiyeli ile önemli ölçüde ilişkili olduğu gözlemine dayalı olarak, kanser tedavisi için anahtar terapötik hedeflerden biri olduğuna inanılmaktadır [85].



Şekil 2.4. PI3K-PKB/Akt yolağı [84]

Jak/STAT Yolağı: Janus kinaz/ sinyal dönüştürücüleri ve transkripsiyon (Jak/STAT) yolunun aktivatörleri, insanlardan sineklere kadar hayvanlarda gelişim ve homeostaz için çok sayıda sinyali dönüştürmek için kullanılan bir avuç pleiotropik kaskaddan biridir. Memelilerde, Jak/STAT yolu (Şekil 2.5), çok çeşitli sitokinler ve büyüme faktörleri için temel sinyalleşme mekanizmasıdır. Jak aktivasyonu, hücre proliferasyonunu, farklılaşmasını, hücre göçünü ve apoptozu uyarır. Jak / STAT yolak aktivitesini azaltan mutasyonlar bu süreçleri etkiler. Jak sinyalini düzgün bir şekilde aktive eden veya düzenlemede başarısız olan mutasyonlar, enflamatuar hastalığa, eritrositoza, devasa ve bir dizi lösemiye neden olmaktadır [86]. Janus kinazlar (JAK'lar), hem bir katalitik alan hem de bir otoregülasyon işlevine hizmet eden ikinci bir kinaz benzeri alan içeren benzersiz bir tirozin kinaz sınıfı olarak sekans karşılaştırmaları yoluyla tanımlanmıştır. Güçlü somatik hücre genetik taramalarında işlevsel olarak STAT'lara ve interferon sinyalizasyonuna bağlandılar. JAK / STAT kaskadı, korunmuş metazoan sinyal yollarından biridir. Hücre dışı ligandın bağlanması, kendileriyle ilişkili hücre içi JAK'ların birbirlerini fosforile etmelerine izin veren reseptörlerde değişiklikler yoluyla aktive edilirler. Trans-fosforile JAK'lar daha sonra hem reseptör hem de STAT'lar dahil olmak üzere downstream substratları fosforile eder. Aktive edilmiş STAT'lar çekirdeğe girer ve dimerler veya daha karmaşık oligomerler olarak hedef genlerdeki spesifik güçlendirici sekanslara bağlanır, böylece bunların transkripsiyonunu düzenler. Kanonik JAK / STAT yolu basit ve doğrudan olmasına rağmen, yol bileşenleri ERK MAP kinaz, PI3-kinaz (PI3K) ve diğerleri dahil olmak üzere diğer sinyal yolaklarının üyeleri tarafından düzenlenir. Kanonik olmayan JAK ve STAT aktiviteleri, kromatin yapısının modifikasyonu yoluyla global transkripsiyon durumunu etkiler [87]. JAK'lardaki mutasyonların hematolojik malignitelerde yol açtığı gözlenmiştir. Dahası, belirli solid tümörlerde JAK'leri etkileyen genetik değişiklikler belirlenmiştir. JAK1'deki yanlış mutasyonlar, Hepatit B ile ilişkili hepatoselüler karsinomalı hastaların %9' unda tanımlanmıştır ve hücre kültüründe doğrulanmasıyla, bu mutasyonların JAK1 ve STAT3'ün fosforilasyonunu artırdığını ve sitokinden bağımsız büyümeyi sağladığını göstermektedir. Mide adenokarsinomunda, kapsamlı bir moleküler karakterizasyon projesindeyse, JAK2 içeren kromozomal lokusun sıklıkla amplifikasyonunu ortaya çıkarmıştır. JAK2 messenger RNA'daki karşılıklı gelen artışların, JAK2 protein seviyelerini ve yolak aktivitesini artırabileceğini düşündürmektedir. STAT'lardaki mutasyonlar, nadir olmakla birlikte kanserde tanımlanmıştır. Büyük granüler lenfositik lösemide, hastaların %40' ında STAT3'ün SH2 alanını etkileyen mutasyonlar görülmüştür. Bunlar, STAT dimerlerini

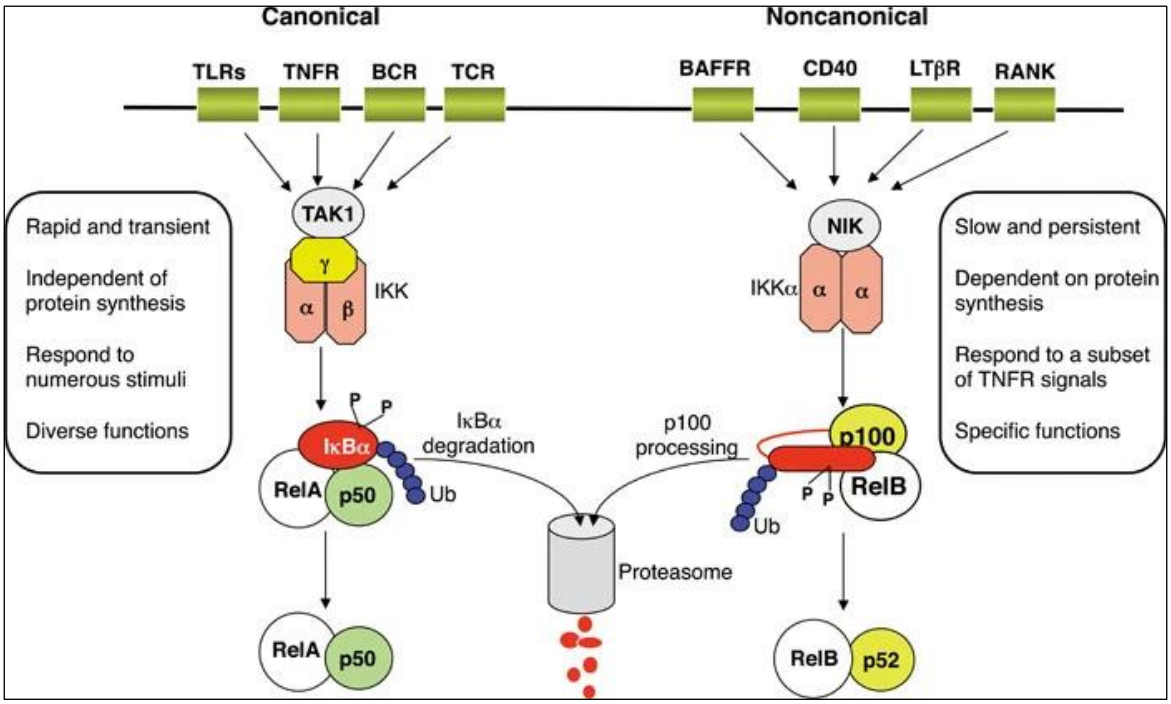
stabilize ettiği düşünülen hidrofobik kalıntıları sunar ve STAT'a duyarlı transkripsiyonun artmasına yol açar [88].



Şekil 2.5. JAK/STAT yolağı [85]

<u>NF-κB yolağı:</u> Nükleer faktör (NF)-κB transkripsiyon faktörü, bağışıklık sisteminin çeşitli bileşenlerinin ekspresyonunu düzenler. Bunlar pro-inflamatuar sitokinler, kemokinler, adhezyon molekülleri ve doğuştan gelen bağışıklık tepkisini düzenleyen siklooksijenaz-2 ve indüklenebilir nitrik oksit sentaz, gibi indüklenebilir enzimler ile majör histo uyumluluk kompleksi gibi spesifik immün yanıtı düzenleyen proteinleri, spesifik bağışıklığın indüksiyon fazı için çok önemli olan yardımcı uyarıcı molekülleri, lenfosit çoğalmasını ve farklılaşmasını kontrol eden interlökin (IL) -2, IL-12 ve interferon γ gibi sitokinleri içerir. Bu transkripsiyon faktörünün düzensizliği enflamatuar ve otoimmün hastalıklara yol açabilir. NF-κB aynı zamanda apoptozu inhibe eden ve hücrenin hayatta kalması veya proliferasyonunu destekleyen çeşitli proteinlerin ekspresyonunu da düzenlediğinden, aynı zamanda karsinogenezde de rol oynar [89]. NK-κB ‘inin aktivasyonunda iki sinyal yolu, klasik (kanonik) yol ve alternatif (kanonik olmayan) yol rol oynar (Şekil 2.6). Bu basamakların her ikisinde de ortak düzenleyici adım, katalitik kinaz alt birimlerinden (IKKα

ve/veya IKKβ) oluşan bir IκB kinaz (IKK) kompleksinin ve düzenleyici enzimatik olmayan iskele proteini NEMO'nun (IKKγ olarak da bilinen NF-κB temel modülatör) aktivasyonudur. Kanonik Sinyal yolunda, bir ligandın Toll benzeri reseptör süper ailesinin bir üyesi gibi bir hücre yüzeyi reseptörüne bağlanması, reseptörün sitoplazmik alanına adaptörlerin (TRAF gibi) alınmasına yol açar. Kanonik NF-κB yolu, çeşitli sitokin reseptörlerinin ligandları, örüntü tanıma reseptörleri (PRR'ler), TNF reseptörü (TNFR) süper aile üyelerinin yanı sıra T hücresi reseptörü (TCR) ve B hücresi reseptörü dahil olmak üzere çeşitli uyaranlara yanıt verir. Kanonik NF-κB aktivasyonu için birincil mekanizma, alt birim IκB kinaz (IKK) kompleksi tarafından fosforilasyonla tetiklenen IκBα'nın indüklenebilir bozunmasıdır. IKK, IKKα ve IKKβ olmak üzere iki katalitik alt birimden oluşur ve NF-κB temel modülatör (NEMO) veya IKKγ olarak adlandırılan düzenleyici alt birimdir. IKK, sitokinler, büyüme faktörleri, mitojenler, mikrobiyal bileşenler ve stres ajanları dahil olmak üzere farklı uyaranlarla etkinleştirilebilir. IKK'nın aktivasyonu üzerine, IκBα'yı iki N-terminal serinde fosforile eder ve böylece proteazomda ubikitine bağımlı IκBα bozunmasını tetikler, bu da kanonik NF-κB üyelerinin ağırlıklı olarak p50/RelA ve p50/c-Rel dimerlerinin hızlı ve geçici nükleer translokasyonuyla sonuçlanır [90]. NF-κB'nin alternatif yolla aktivasyonu, p100'ün olgun p52 formuna işlenmesine ve RelB/p52'nin nükleer lokalizasyonuna yol açar. Bu süreç genellikle klasik yolun aktivasyonundan daha yavaştır, ancak ikincil lenfoid organ gelişimi, B hücresi hayatta kalması ve homeostaz, adaptif bağışıklık ve osteoklastogenez için önemlidir [91]. NF-κB sinyal yolunun rolü, kanser araştırmalarının bir noktasıdır [92]. NF-κB yolu sıklıkla hem solid hem de hematopoietik malignitelerde değiştirilerek tümör hücresi proliferasyonunu teşvik eder. Tümör hücrelerinde NF-κB, kontrol edilen genlerde veya transkripsiyon faktörlerindeki mutasyonlar sonucunda aktive olur [93]. Bazı viral onkoproteinler IKK kompleksi ile etkileşime girebilir ve NF-κB aktivasyonuna neden olabilir. İnsan kanserinde NF-κB alt birimlerini kodlayan genlerdeki genetik değişikliklerin nadiren saptanması, NF-κB'nin aktivasyonunda rol oynayan diğer genlerin değerlendirilmesine yol açmıştır. NF-κB aktivasyonunun temel düzenleyicilerinden biri, IkB protein ailesidir. Bu genlerdeki değişiklikler, IkB'lerin yapıcı NF-κB aktivitesine yol açacak olan NF-κB'yi inhibe etme kabiliyetini etkileyebilir [94]. Kanserle ilişkili kromozomal translokasyonlar, delesyonlar ve mutasyonlar ayrıca NF-κB ve IκB proteinlerini kodlayan genleri bozabilir, NF-κB faktörlerini düzenleyicilerinden ayırabilir ve konstitütif NF-κB aktivasyonuna neden olabilir [92]. NF-κB aktivasyonunun siklin D1, sikline bağımlı kinaz 2 (CDK2) ve hücre döngüsü ilerlemesini yönlendiren ve kontrolsüz hücre proliferasyonuna neden olan c-Myc ekspresyonunu artırdığı gösterilmiştir [95].

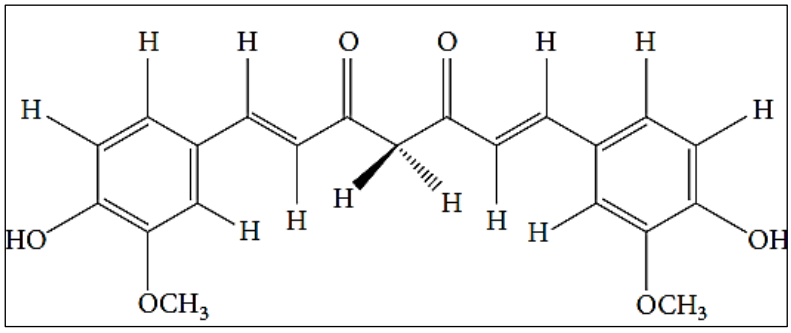


Şekil 2.6. NF-κB'nin kanonik ve kanonik olmayan yolağı [96]

2.5. Kurkumin

Kimyasal adıyla 1,7-bis(4-hidroksi 3-metoksi fenil)-1,6-heptadin-3,5-dion (Şekil 2.7) ya da kurkumin olarak bilinen madde zerdaçal (*Curcuma longa* Linn) (Resim 1.2) bitkisinden elde edilen büyük bioaktivite içeren sarı renkli bir ekstrattır [20, 97]. Güvenli ve toksik etki göstermeyen sarı renkli bu ekstrat geçmiş yıllarda geleneksel Çin tıbında ve Ayurvedik tıpta, yemeklerde uzun sürelerce kullanılmıştır [15, 98]. Güneydoğu Asya'da bu bitki için "altın baharat" kavramı olarak da kaydedildiği gösterilmiştir [99]. Zerdaçal bitkisininin en az 76 sinonimini 1999 yılında Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) listelemiştir. Bu popüler isimler; Haridra (Sanskrit), Halood (Bengal), Haldi (Hintçe), Kurkum uqdah safra (Arapça), Ukon (Japonca), Chiang Huang (Çince), Ulgeum (Korece), Kurkuma (Almanca), Safran des Indes (Fransızca), kurkumy (Rusça) vb. [100].

Resim 2.2. *Curcuma longa* bitkisi ve *C. longa* bitkisinden elde edilen kurkuminin kök ve toz formları [101]



Şekil 2.7. Kurkuminin kimyasal formülü [102]

Kurkumin ilk olarak 1815'te izole edildi ve kimyasal yapısı, Roughley & Whiting tarafından belirlendi [103].

Kurkumin, rizom *Curcuma longa*'nın kurutulmuş kökünden ekstrakte edilir. Ekstraksiyon işlemi, hammaddenin toz haline getirilmesini ve renklendirici maddeyi seçici olarak çıkaran uygun bir çözücü ile yıkanmasını gerektirir. Çözücünün damıtılmasından sonraki bu işlem, uçucu yağlar ve diğer reçineli özütleyicilerle birlikte %25-35 civarında renklendirici madde içeriğine sahip bir oleoresin verir. Bu şekilde elde edilen oleoresin, oleoresinden kurkumin pigmentini özütleyebilen seçici çözücüler kullanılarak daha fazla yıkamaya tabi tutulur. Bu

işlem, kurkumin tozu olarak bilinen, %90'ın üzerinde renklendirici madde içeriği ve çok az uçucu yağ ve doğal kaynaklı diğer kuru maddelerle toz haline getirilmiş, saflaştırılmış bir gıda rengi verir. Çözücülerin seçimi, ekstrakte edilebilirlik ve düzenleyici kriterleri karşılamak için özenle yapılır. Aşağıdaki çözücüler uygun kabul edilir:

İzopropanol: Kurkumin üretim sürecinde izopropil alkol, kurkuminin saflaştırılması için bir işlem yardımcısı olarak kullanılır.

Etil asetat: Dikloroetan gibi klorlu çözücülerin kullanımına getirilen bir kısıtlama ile etil asetatın, polaritesi nedeniyle kabul edilebilir kalitede ürün ve ticari olarak uygun verimler sağlayan makul bir ikame olduğu bulunmuştur.

Aseton: Kurkumin üretim sürecinde bir çözücü olarak kullanılır.

Karbondioksit: Şu anda ticari üretimde kullanılmamaktadır. Ancak, EC Direktifi 95/45 / EC'de listelenmiştir ve klorlu çözücülerin ikame etme potansiyeline sahiptir.

Metanol: Saflaştırma için bir işlem yardımcısı olarak kullanılır.

Etanol: Kurkumin etanol içinde tamamen çözünür olduğu için idareli kullanılır [104] .

Hekzan: Zerdaçal yağı çıkarmak için buharla damıtma, hidro damıtma ve ektraksiyon işlemi için kullanılır [105].

Kurkuminin içeriğinde bulunan besin öğeleri Çizelge 2.2’de verilmiştir.

Çizelge 2.2. Kurkumin besin içeriği [106]

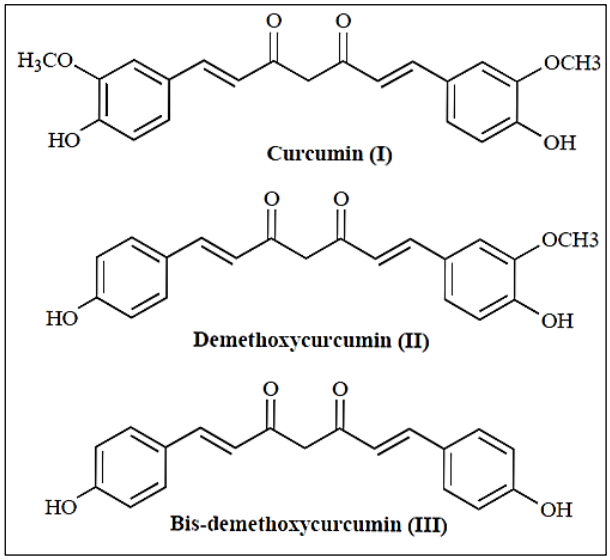
BESİN ÖĞESİ	TOZ BAHARAT (100gr)
Su içeriği	12,85 gr
Enerji	312,00 kcal
Protein	9,68 gr
Toplam yağ	3,25 gr
Karbonhidrat	67,14 gr
Toplam lif	3,25 gr
Toplam şeker	3,21 gr
Sukroz	2,38 gr
Dekstroz	0,38 gr

Çizelge 2.2. (devam) Kurkumin besin içeriği [106]

BESİN ÖĞESİ	TOZ BAHARAT (100gr)
Fruktoz	0,45 gr
YAĞLAR	
Yağ asidi, toplam doymuş	1,838 gr
Yağ asidi, toplam tekli doymamış	0,449 gr
Yağ asidi, toplam çoklu doymamış	0,756 gr
Yağ asidi, toplam trans yağ	0,056 gr
Kolestrol	0,00
VİTAMİNLER	
C vitamini, toplam askorbik asit	0,70 mg
B_1, tiamin	0,058 mg
B_2, riboflavin	0,150 mg
B_3, niasin	1,350 mg
B_6, pridoksin	0,107 mg
B_9, folik asit	0,00
Folat, (toplam)	20qg
B_{12}	0,00
D vitamini	0,00
A vitamini, IU	0,00
E vitamini (α-tokoferol)	4,43 mg
K vitamini	13,40 qg
MİNERALLER	
Kalsiyum (Ca)	168 mg
Demir (Fe)	55 mg
Magnezyum (Mg)	208 mg
Fosfor (P)	299 mg
Potasyum (K)	2080 mg
Sodyum (Na)	27 mg
Çinko (Zn)	4,5 mg
Bakır (Cu)	1,300 mg
Manganez (Mn)	19,800 mg
Selenyum (Se)	6,2 uq
DİĞER	
Kafein	0,00

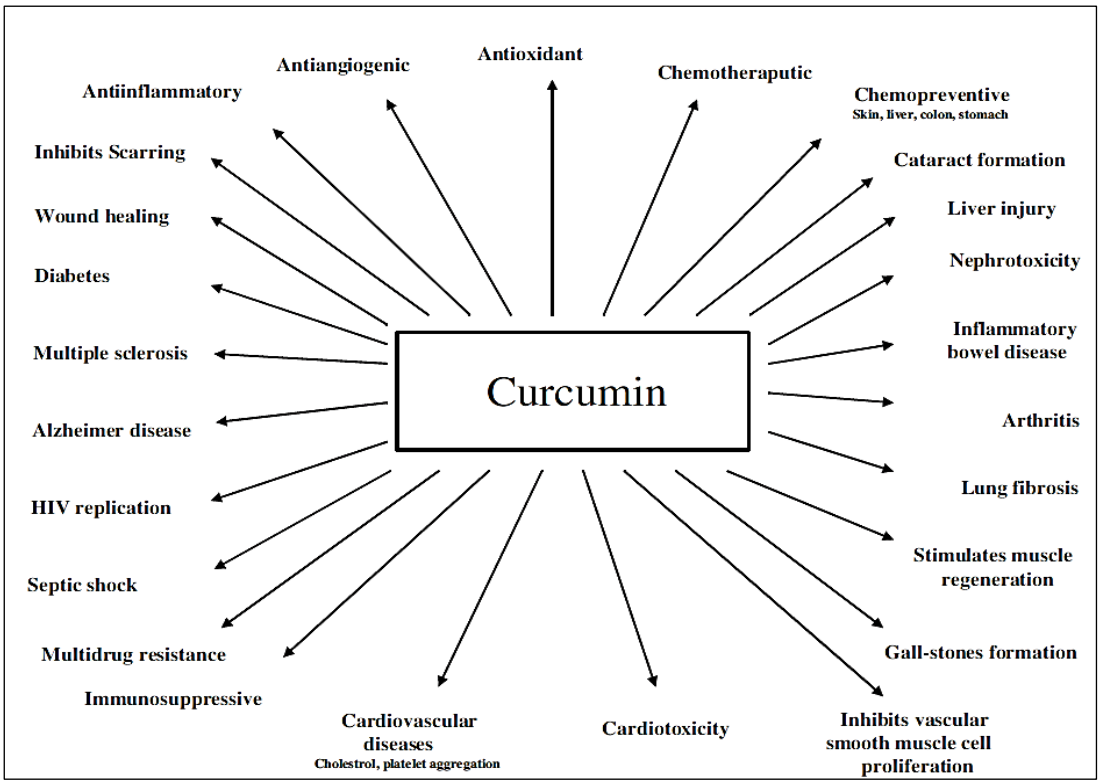
Kurkumin molekül formülü $C_{21}H_{20}O_6$, kimyasal olarak bis- α,β-unsatured β-diketone (yaygın olarak diferuloymetan) olarak isimlendirilmektedir. Asidik ve nötr çözeltilerde baskın bir keto şekline ve alkalin ortamda stabil bir enol formuna sahip olan keto-enol totomerizmi sergiler [107, 108]. Kurkuminoidlerin içeriğine bakıldığında; kurkumin (%77), demetoksikurkumin (%17) ve bisdemetoksikurkumin (%3) içerdiği şekil de gösterilmiş ve bunun yanı sıra uçucu yağlar (tümeron, atlanton, zingiberon), şeker, protein ve resin de içermektedir [98, 109]. Kurkuminin molekül ağırlığı 368g/mol ve erime sıcaklığı 183ºC'dir

[110]. Metanolde maksimum absorpsiyon (λmax) 430 nm ve asetonda ise 420 nm olarak ölçülmüştür [111]. pH'sı 2.5 ila 7 arasında parlka bir tona sahip olan kurkumin pH 7 ve üstünde kırmızı bir tona sahip olur. Enolik ve beta-diketone olarak formları bulunan kurkumin asidik pH'da stabil olmasına rağmen nötr ve bazik pH da kararsız kalmaktadır. Diğer bir form olan tetrahidrokurkumin (THC) nötr veya bazik pH da oldukça kararlıdır [108]. Kurkumin ayrıca incelenen tüm pH değerleri altında (5-8) hidrolizden ve ultraviyole (UV) degredasyonundan etkili bir şekilde korunmuştur.



Şekil 2.8. Kurkuminin içerdiği yapılar [112]

Kurkumin, antiinflamatuvar, antitümör, antioksidadif, sitotoksik, antifungal, antibakteriyal ve antidiyabetik gibi çeşitlik biyolojik fonksiyonların düzenlenmesinde rol oynamaktadır (Şekil 2.9) [113]. Kurkumin, oksidoredüktaz enzimlerini, ozmotik / tuz / ısı stresi proteinlerini, ABC taşıyıcılarını ve hücre döngüsü proteinlerini kodlayan 533 genin transkripsiyonunu hızla yukarı düzenler [114].



Şekil 2.9. Kurkuminin etkisinin rol oynadığı biyolojik düzensizlikler [115]

Kurkumin ile yapılan çalışmalarda hücre döngüsüne müdahale edebildiğini ve bu durumda da kanser hücrelerinin büyümesin baskılamakta ve metastazı önlemektedir. Ayrıca büyüme faktörlerini ve bu büyüme faktörlerinin reseptörlerini, apoptozla ilgili proteinleri ve hücre döngüsü proteinlerinin ekspresyonunu düzenleyerek metastazı inhibe edici özelliği vardır. Kurkumin onkogenlerin, tümör baskılayıcı genlerin, çeşitli transkripsiyon faktörlerinin ve bunların sinyal yolaklarının aktivitesini modüle eder. [116]

Kurkumin FDA (Food and Drug Adminastration) tarafından genellikle güvenli olarak 2017 yılında GRAS (Generally Recognized As Safe) [117] etiketiyle karakterize edilmiştir. Aynı zamanda kurkuminin ciddi bir etki ile doğrudan bir bağlantısı olduğu raporlanmamış olup sadece bazı vakalarda lokal, geri dönüşümlü etkiler olup örneğin alerjik dermatitis gbi vakalar rapor edilmiştir [118]. Ayrıca bu süre itibariyle maksimum kullanılabilir doz belirlenmemiştir [117].

Kurkumin oldukça iyi tolere edilir, ancak ağızdan uygulanan kurkuminin sistemik biyoyararlanımı insanlarda zayıftır. Kurkuminin biyoyararlanımını sınırlayan faktörler arasında zayıf emilim, hızlı metabolizma ve hızlı sistemik eliminasyon bulunur [119].

Yüksek dozlarda bile hayvanlar veya insanlar için toksik görünmemektedir [112]. Ammon ve Wahl (1991) 'e göre, kurkuminin *in vivo* biyoyararlanımı, oral alımdan sonra düşük olduğunu belirtmişleridir. Bununla birlikte, kurkuminin biyoyararlanımının, hem sıçanlarda hem de insanlarda piperinin (bir biber bileşeni) birlikte alınmasıyla büyük bir oranda yükseltilebileceğini belirtmişlerdir [120]. Yang ve arkadaşları kurkuminin intavenöz (10 mg/kg) uygulanmasının, daha yüksek dozda (500 mg / kg) oral uygulamaya kıyasla daha iyi biyoyararlanım sağladığını göstermiştir [121]. Gıdalarda alınan kurkuminin biyoyararlanımı, pişirme veya yağda çözünmenin bir sonucu olarak artabilir. Mohanty ve Sahoo, nanopartikülat kurkuminin serbest kurkuminin aksine sulu ortamda kolayca dağıldığını belirtti. Dahası, farelerde nanopartikülat kurkuminin biyolojik olarak daha fazla kullanılabilir olduğunu ve doğal kurkuminden daha uzun bir yarı ömre sahip olduğunu belirtti. Kanai ve arkadaşları, bir nanopartikülat kurkumin olan THERACURMIN'in, insanlarda biyoyararlanımı arttırdığını ortaya koymuşlardır [119].

Kurkumin insanlar için güvenlidir ve günde 10 gr'a kadar olan dozlarda uygulandığında doz sınırlayıcı toksisitesi olmadığı bildirilmiştir. Bazı kaynaklarda insanlar için doz ayarlaması çalışmalarında günde 500-8000 mg toz zerdeçal dozları kullanılmış, standart hale getirilmiş ekstrelerde tipik olarak 250-2000 mg aralığında daha düşük miktarlarda kullanılmıştır [109]. Kanser hastaları için 2000–4000 mg günlük dozda yoğun bir öğün içeren kurkumin ekstresi önerilmiştir ve bu da, kurkumin etkisinin, kanser araştırmacılarının dikkatini yeni nesil bir kanser kemoterapötik ajanı olarak çekmek için yeterli olduğunu açıkça ortaya koymuştur [120]. Diğer bir kaynağa göre de 4000-8000 mg / gün arasındaki dozlarda ve %95 konsantrasyonda 12000 mg / gün dozda 3 kurkuminoidin iyi tolere edilebileceği ve güvenlik profilleri ortaya konmuştur [122].

Gıdaların antioksidan değerlerini gösteren Oksijen Radikali Emme Kapasitesi (ORAC) kanser olmak üzere pek çok hastalıkta hastalığa yol açan maddelerin emilim değerini ölçmektedir. Zerdeçalda bu değer 44,776 bulunmuş olup antioksidan kapasitesi en yüksek baharatlardandır[106].

Kurkuminin çeşitli analogları sentezlenip çalışmalarda kullanılarak etkileri gösterilmeye çalışılmıştır [123].

Kurkumin, mevcut kemoterapötik ajanların etkinliğini artıran çok çeşitli moleküler hedefleri ve sinyal yollarını etkileyebilir. Nükleer faktör E2 ile ilgili faktör 2 (Nrf2), β-katenin, NF-κB, p38 MAPK, DNA (sitozin-5)-metiltransferaz-1, COX-2, 5-lipoksijenaz, PGE2, FOXO3, indüklenebilir NOS, ROS, siklin D1, VEGF, glutatyon, sitozolik PLA2, p-Tau (p-τ) ve TNF-a gibi çok sayıda farklı protein ile etkileşime girebilir. Kurkuminin bu yeteneği, farklı kronik hastalıklarla bağlantılı çoklu hücre sinyal yollarının seçici modülasyonunu kolaylaştırır, bu da kuvvetli bir şekilde güçlü birçok hedefli polifenol olduğunu düşündürmektedir. Kurkuminin ortak moleküler hedefleri arasında transkripsiyon faktörleri, enflamatuar aracılar, protein kinazlar ve protein redüktazlar ve histon asetiltransferaz gibi enzimler bulunur.

Kurkuminin çeşitli etkilerini uyguladığı makul bir mekanizma, epigenetik düzenleme yoluyla olabilir. Son zamanlarda yapılan birçok çalışma, kurkuminin nörolojik bozukluklar, iltihaplanma, diyabet ve farklı kanser türleri gibi farklı hastalıklarda güçlü bir epigenetik düzenleyici olduğunu bildirmiştir. Kurkuminin epigenetik düzenleyici rolleri, öncelikle DNA metiltransferazların inhibisyonunu, histon asetiltransferazlar ve histon deasetilazlar üzerindeki etkiler yoluyla histon modifikasyonlarının düzenlenmesini ve mikro RNA'ların düzenlenmesini içerir. Kurkumin ayrıca çeşitli proteozomal yolları modüle eder ve fosforilaz kinazın seçici inhibisyonu yoluyla glikojen metabolizmasını bozmakadır [124].

Zerdeçal özü ve *Curcuma longa*'nın uçucu yağı, çeşitli bakteri, parazit ve patojenik mantarların büyümesini engeller. Kobaylara, patojenik küfler veya maya ile enfekte olan bir başka hayvan çalışmasında, topikal olarak uygulanan zerdeçal yağının patojenik mantarları inhibe ettiği ve lezyonlarda iyileşme gözlendiği kaydedilmiş. Kurkumin ayrıca *Plasmodium falciparum* ve Leishmania gibi organizmalara karşı ılımlı aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur [125].

Curcuma longa'nın sulu ekstresi, *S. aureus*'a karşı antibakteriyel aktivite göstermiştir. Ayrıca metisiline dirençli *S. aureus* üzerinde inhibe edici bir etki sergilediği bildirilmiştir. Kurkumin'in ayrıca Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerin çeşitli suşlarına karşı önemli antibakteriyel aktivite gösterdiğide tespit edilmiştir[126].

Kurkumin bakteriler tarafından oluşturulan biyofilm tabakasında bozulma göstemiş ve koloni sayısında ise azalma görülmüştür. Kurkumin *Helicobacter pylori*'nin sebep olduğu

mide hastalığında ise antibakteriyel aktivite görülmüştür. Diğer bakterilerde de bu tip antibakteriyel aktivilere rastlanılmıştır. *Staphylococcus aureus*, metisiline duyarlı *S. aureus* (MSSA) ve metisiline dirençli *S. aureus*'a (MRSA) karşı kurkuminin etkili olduğu bulunmuştur. S. aureus suşları, *S. aureus* enfeksiyonlarının patogenezi için önemli ölçüde virülans faktörü olan, kendiliğinden birleşen hücre dışı bir α-hemolizin (Hla) proteini içerir. Kurkumin bu Hla proteinine bağlanır ve Hla'nın monomerden oligomere geçiş konformasyonunu bloke eder ve Hla proteini işlevini kaybederek pnömoni oluşumunu engeller [127].

Kurkuminin antibakteriyal etkileri ile ilgili çeşitli çalışmalar Çizelge 2.3' te gösterilmiştir.

Çizelge 2.3. Bakteri türlerinde kurkuminin antibakteriyal aktivitesi [128]

Bakteri adı	Mekanizma
Staphylococcus aureus	Bakteri adhezyonu, membran hasarını önleme
Porphyromonas gingivalis	Bakteriyel adhezyonu ve biyofilm oluşumunu doza bağlı bir şekilde önleme, adhezyonlar ve proteinazlar dahil olmak üzere ana virülans faktörlerini kodlayan genlerin ekspresyonunda azalma
Escherichia coli	Membran geçirgenliğini değiştirme ve membranla ilişkili proteinlerin konumunun bozulması ve kümelenme inhibisyonu, biyofilm mimarisinde büyük bozulma
Staphylococcus epidermidis	Biyofilm oluşumunun azalması
Pseudomonas aeruginosa	Biyofilm başlangıcı için virülans faktörlerini ve genleri down regülasyonu membran geçirgenliğinde değişme ve kümelenme inhibisyonu, biyofilm mimarisinde büyük bozulma
Streptococcus mutans	Sortase-A aktivitesini inhibe ederek biyofilm oluşumunu azaltma
Bacillus subtilis	Biyofilm oluşumunda gecikme
Helicobacter pylori	Bakteri adhezyonunu engelleme, biyofilm oluşumunda gecikme

Kurkuminin antiviral etkisi, transkripsiyon regülasyonu gibi çeşitli hücresel olaylara katkıda bulunan çok sayıda moleküler hedefi modüle etme kabiliyetinden ve moleküller arası etkileşimler yoluyla iltihaplanma ve apoptoz gibi hücresel sinyal yollarının aktivasyonundan kaynaklanmaktadır. Yapılan araştırmalar kurkuminin 30 farklı proteine bağlandığı ve viral bağlanma, genom replikasyonu dahil replikasyon adımlarına müdahele ederek virüs etkilerini sınırlamaktadır [129].

Hepatit, grip, Zika virüsü gibi abovirüsler dahil birçok farklı virüse karşı kurkuminin antiviral etki gösterdiği gözlemlenmiştir. Hatta ilginç bir şekilde cinsel yollardan bulaşan insan immün yetmekzlik virüsü (HIV), herpes simpleks virüs 2'yi (HSV-2) ve insan papilloma virüsü (HPV) gibi viral hastalıklarda da kurkuminin yayılımın azalttığı görülmüştür [130]. Birincil insan genital epital hücrelerin (GEC) 5µM kurkumin ile ön muamele yapıldığında HSV-2'nin yayılımı 1000 kat azaldığı ve 50µM virüs üretiminin ise tamamen engellediği gözlemlenmiştir. HIV enfeksiyonunda da önceden primer GEC'ler 5µM kurkumin ile ön işeme tabi tutulmuş TJ proteinlerinin down regülasyonunu önleyerek HIV enfeksiyon oranını düşürmüştür. Bu tedaviyle virüs replikasyonun bir belirteci olan p24 ekspresyonu önemli bir şekilde azalmıştır. Ortamdaki kurkuminin her 24 saatte bir değiştirilirse bu inhibisyon birkaç gün korunabilmektedir. Kurkumin viral integraz, proteaz, transkripsiyon trans aktivatör (Tat) proteinini içeren birçok viral proteinini işlevini etkileyerek HIV replikasyonunu engelleyebilir [131]. Hepatit C virüsünde (HCV), kurkumin birincil insan hepatositlerinde membran akışkanlığını bozarak bağlanmasını inhibe eder. Akışkanlığın bozulması kurkuminin HCV zarfın etkilenmesi neden olmaktadır. Kurkumin diğer antiviral ajanlarla kombinasyonuyla etkisinin daha fazla olduğu belirtilmiştir [132].

H1N1, H2N2, H3N2 ve H5N1 gibi dünyada pandemik salgınların önde gelen virüslerinde kurkumin ve türevleri virüs bağlanmasına aracılık eden influenza virüsünün önemli bir yapsıs olan kapsid glikoproteini olan hemaglutinin ile etkileşime girerek konakçı hücreye bağlanmasını engeller ve membran bütünlüğünü bozduğu tespit edilmiştir [133].

Şu anda dünyada pandemi olarak ilan edilen şiddetli akut solunum yolu sendromu koronavirüs 2 (SARS-CoV-2)'nin sebep verdiği korona virüs hastalığı (COVID-19)'nda kurkuminin moleküler hedefleri modüle etme yeteneğiyle bu enfeksiyona karşı etkili olabileceği düşünülmüştür. Ek olarak kurkumin NF-κB ve çeşitli pro-inflamatuar sitokinler üzerinde inhibitör yaratabildiğinden ciddi COVID-19 vakalarında meydana gelen sitokin fırtınasını tersine çevirmede yardımcı olarak kullanılabileceğine önermişlerdir [121].

Antiviral etkisi de bulunan kurkumin ile yapılan çalışmalar incelendiğinde, kurkuminin hangi mekanizmalara etki gösterdiği Çizelge 2.4'te özetlenmiştir.

Çizelge 2.4. Kurkuminin antiviral aktivitesi [102, 129]

Virüs	Antiviral aktivite
HIV	HIV-1 LTR'ye yönelik gen ekspresyonunun inhibisyonu HIV-1 İntegrazının Engellenmesi Tat protein asetilasyonunun inhibisyonu Proteazların inhibisyonu Viral ters transkriptaz (RTase) ve integraz (yerleştirme verileri) ile etkileşim
İnfluenza	Hemaglütinasyonun inhibisyonu Virüsidal etki (saldırı zarfı) ve viral girişin inhibisyonu ve viral replikasyon
HSV-1	HSV-1 replikasyonunun azaltılması
HSV-2	Fare modelinde önemli bir koruma
HCV	Akt-SREBP-1 yolunu baskılayarak HCV replikasyonunun azaltılması Viral girişin engellenmesi
HPV	E6 ve E7'nin viral onkoproteinlerinin inhibisyon ekspresyonu HPV-18'in transkripsiyonu üzerinde downregülasyonu

Patojenik mantarlara karşı var olan ilaçların etkisiz oluşu yeni doğal kaynaklardan elde edilen birçok fitokimyasalın, *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarına teşvik etmiştir. C. longa'nın etil asetat ektratının inhibitörü etkisi üzerine yapılan çalışmada *Puccinia recondite, P. infestans, Rhizoctonia solani* ve *Botrytis cinerea*'nın büyümesini engellediği görülmüştür. C. longa'nın hekzanla hazırlanmış ekstratında ise *Erysiphe graminis, Phytophthora infestans* ve *R. solani* türlerine karşı etkili olduğu bulunmuştur. Bununla birlikte, metanol özütü, sırasıyla *Candida albicans* ve *Cryptococcus neoformans*'a karşı MIC değerlerinde kayda değer antifungal aktivite göstermiştir. Bu antifungal etkinin uygulandığı mekanizma oldukça basittir ve Δ5,6-desatürazın (ERG3) enziminin azalması nedeniyle üretiminin down regülasyonu yoluyla ergosterolün biyosentetik öncüllerinin hızlı birikmesine bağlı olarak hücre ölümüne yol açan ROS üretimini içerir. Bunun dışında, zara bağlı ATPaz aktivitesindeki değişiklikler ve proteinaz salgılanmasındaki azalma gibi diğer bazı olası faktörler öngörülebilir. Kurkuminin, PM-ATPaz inhibisyonu ve hücre içi pH düşüşünün bir sonucu olarak tüm Candida suşlarına karşı güçlü antifungal aktivite gösterdiğini ve bunun membran hasarına yol açtığını bildirmişlerdir. Potasyum iyonu gradyanı, hücre büyümesinin ve hayatta kalmanın önemli bir belirleyicisidir ve sitoplazmik pH ve hücre yapısını düzenlemede anahtar bir rol oynar. Bu nedenle, sitoplazmik potasyum kaybı mantarlarda hücre ölümüne neden olur. *C. albicans* kaynaklı potasyum iyonları ve zara fiziksel hasar vermiş ve mantar zarında genle ilişkili inhibisyona neden olarak mantar hücresinin ölümüne yol açmıştır [134]. Mevcut fungisidal ilaçların etkinliğini artırmak için, birçok kurkumin kombinasyonu denenmiş ve MIC değerlerinde kayda değer bir azalma başarılı bir şekilde test edilmiştir. İtrakonazol, vorikonazol, mikonazol, ketokonazol, flukonazol, nistatin ve

amfoterisin B ile birlikte CUR'un sinerjistik çalışmaları, *C. albicans*'ın 21 klinik izolatına karşı ilaçların MİK değerlerinde 10-35 kat azalma göstermiştir. Mantar enfeksiyonlarında, zamandan ve kaynaktan tasarruf sağlayan bu mantar ilaçları ile kurkumin kombinasyonları ile etkili bir şekilde tedavi edilebilir [135]. Ayrıca antifungal polifenol kurkuminin ergosterol ile ilişkili gen regülasyonunu ve membran lipid homeostazını bozabileceği öne sürülmüştür. Bu çalışmalar açıkça gösterir ki kurkumin için zar hedefli bir mekanizma önerilmektedir [134]. *Aspergillus flavus*, yiyeceklerde ve yemlerde aflatoksin üreten başlıca mantarlardan biridir. Bu mantarın sporlarında kurkuminin etkilerine bakıldığında potansiyel aflatoksin etkisinin yitirdiği gözlemlenmiştir [136]. *A. flavus*'un büyüme oranı, kurkumin %0,10 oranında azalma görülürken bu oran %0,50'nin üzerindeki konsantrasyonlarda daha fazla büyüme inhibisyonu etkisi gösterilmiştir [137]. Aflatoksin yolağı genlerinin ifadesine kurkuminin etkisine real time PCR'da analizine bakıldığında ise 250 ve 1000 µg/ml kurkumin konsantrasyonlarında ver-1, nor-1, pksA, omtA ve aflR genlerinin ekspresyonunu inhibe ettiğini göstermiştir [138]. Kurkuminin patojenik mantarlarda ne gibi antifungal etki gösterdiği Çizelge 2.5' de özetlenmiştir.

Çizelge 2.5. Kurkuminin antifungal aktivitesi [130]

Patojenik Mantar	Antifungal aktivite
Candida spp.	Büyüme inhibisyonu Adhezyon inhibisyonu Gene ekspresyonunun inhibisyonu Apoptozu erken tetikleme
Cryptococcus spp.	Büyüme inhibisyonu
Aspergillus spp.	Büyüme inhibisyonu Aflatoksin üretiminin engellenmesi

Antiinflamatuar etkisinin de olduğu bilinen kurkuminin araşidonik asit metabolizmasını, siklooksijenaz, lipoksijenaz, sitokinler (interlökinler ve tümör nekroz faktörü), NF-κB ve steroidal hormonların salınımını inhibe ettiği bulunmuştur. Kurkuminin lizozomal membranı stabilize ettiği ve oksidatif fosforilasyonun ayrışmasına neden olduğu, ayrıca antiinflamatuar özellikten sorumlu olan güçlü oksijen radikal temizleme aktivitesine sahip olduğu da bildirilmiştir [119]. Kurkumin ayrıca, NF-κB ve AP-1'i baskılamanın yanı sıra pankreastaki TNF-a, IL-6 ve iNOS'u mRNA indüksiyonunu [139] azaltarak pankreatitin sıçan modellerinde inflamasyonu da azalttı, böylece hastalık şiddetinde bir iyileşme gözlemlenmiştir [140]. Hayvanlar üzerinde yapılan bir dizi çalışmada, kg başına 100-200 mg'lık kurkumin dozunun iyi antiinflamatuar aktivite göstermiştir. Kurkumin,

miyeloperoksidaz ve TNF-α'nın aktivitesini önemli ölçüde azaltarak kolit ile ilişkili iltihabı azaltmıştır. Kurkuminin, Nrf2 / HO-1 (nükleer faktör eritroid ile ilişkili faktör 2/ hem oksijenaz-1) sinyal yolu aktivasyonu ile proinflamatuar sitokinlerin ekspresyonunu azaltarak, astımlı farelerin hava yollarında akciğerlerdeki patolojik değişiklikleri ve inflamatuar hücrelerin birikimini azalttığını göstermiştir. Nükleer faktör eritroid ile ilişkili faktör 2 (Nrf2), antioksidan, antiinflamatuvar ve detoksifiye edici proteinler için gen kodlamasının ekspresyonunu düzenleyen bir sitoprotektif faktördür. Kurkuminin alerjiler üzerindeki etkileri üzerine yapılan çalışmalar, kurkuminin, transkripsiyon faktörü GATA3 ile birlikte hava yolundaki NF-κB'yi inhibe ettiğini, serumdaki IgE'yi düşürdüğünü ve Notch1-GTA3 sinyal yolunu inhibe ettiğini göstermiştir [139].

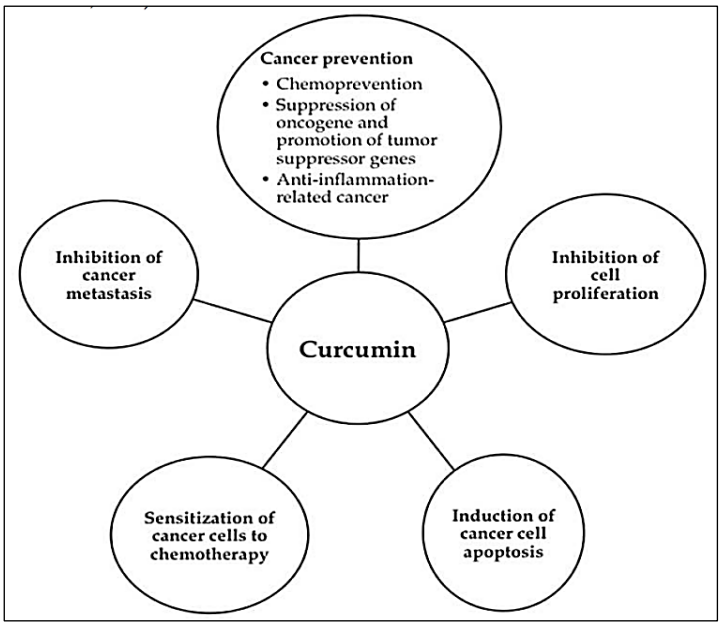
Kurkuminin oksidatif stresin sistemik belirteçlerini iyileştirdiği gösterilmiştir. Süperoksit dismutaz (SOD) gibi antioksidanların serum aktivitelerini artırabileceğine dair bulgular bulunmuş ve gösterilmiştir. Saflaştırılmış kurkuminoidlerle takviyenin oksidatif stres parametreleri üzerindeki etkinliğiyle ilgili randomize kontrol verilerinin sistematik incelemesi ve meta-analizi, kurkuminoid takviyesinin, SOD ve katalazın plazma aktivitelerinin yanı sıra glutatyon peroksidaz (GSH) ve lipid peroksit serum konsantrasyonları dahil olmak üzere oksidatif stresin tüm araştırılan parametreleri üzerinde önemli bir etkisini göstermiştir. Kurkuminin serbest radikaller üzerindeki etkisi birkaç farklı mekanizma tarafından gerçekleştirilir. Reaktif oksijen ve nitrojen türleri (sırasıyla ROS ve RNS) gibi farklı serbest radikal formlarını temizleyebilir; serbest radikallerin nötralizasyonunda aktif olan GSH, katalaz ve SOD enzimlerinin aktivitesini modüle edebilir; ayrıca lipoksijenaz / siklooksijenaz ve ksantin hidrojenaz/oksidaz gibi ROS üreten enzimleri inhibe edebilir. Ek olarak, kurkumin, peroksil radikallerini etkili bir şekilde temizleyen lipofilik bir bileşiktir, bu nedenle, E vitamini gibi, kurkumin de zincir kıran bir antioksidan olarak kabul edilir [122].

Antidiyabetik aktivitede de rol oynayan kurkumin yaygın olarak, α-glukozidaz ve α-amilaz aktivitesini düşürerek hipergliseminin kontrolüne yansımaktadır. Bunlara ek olarak karaciğer, iskelet kası ve yağ dokuları gibi insülin üreten ve insüline duyarlı dokular için faydalıdır. Kurkuminin, kersetin ve berberin gibi doğal bileşiklerden daha fazla α-amilaz üzerinde daha iyi bir önleyici etki oluşturduğu düşünülmektedir. Hiperglisemik sıçanlara kurkumin uygulandıktan sonra, ortalama kan glikoz seviyesi önemli ölçüde azalmış ayrıca, kurkumin ile tedavi edildikten sonra diyabetik sıçanların glikoz toleransı ve insülin

duyarlılığı artmıştır. Bu arada iskelet kaslarında Akt fosforilasyon ve glikoz taşıyıcı tip 4 (GLUT4) translokasyon seviyeleri kurkumin ile artmıştır. Dahası, pankreastaki kanalların yakınındaki küçük Langerhans adacıklarının sayısında bir artış vardır, bu da pankreas adacıklarında bir iyileşme olduğunu gösterir [141]. Antidiyabetik aktivitenin etkisi, kurkuminin antioksidan özelliğine bağlanabilir. Araştırmacılar, araştırmalarında süperoksit üretimini ve vasküler protein kinaz C inhibisyonunu azaltarak diyabetin neden olduğu endotel disfonksiyonunun iyileştirilmesi yoluyla kurkuminin olumlu etkisini gösterdiler. İlginç bir şekilde, son çalışmalar, kurkuminin oksidatif hasara katkıda bulunabilecek reaktif oksijen türlerini (ROS) doğrudan söndürme kapasitesine sahip olduğunu gösterdi. Bu özelliğin, kurkuminin genel koruyucu etkilerine katkıda bulunduğu bilinmektedir. Kurkumin, oksidatif stresin neden olduğu hücre ölümünü dolaylı olarak hem oksijenaz-1 (HO^{-1}) gibi antioksidan/sitoprotektif enzimlerin indüksiyonu veya aktivasyonu yoluyla hafifletebilir. Diyabette HO-1'in koruyucu mekanizmaları, diyabetik hastalıkların tedavisinde HO^{-1} ekspresyonu için ortaya çıkan bazı terapötik seçenekler sunabilir. Kurkumin, diyabetik öncesi insan popülasyonunda tip 2 diyabetin önlenmesi için değerlendirilmiş denekler, plasebo kapsül grubuna kıyasla 9 aylık süre boyunca kurkumin kapsülleri almışlardır. Kurkumin ile tedavi edilen grup, daha yüksek HOMA-β ve daha düşük C-peptid ile β hücrelerinin daha iyi bir genel işlevi gösterdi. Kurkumin ile tedavi edilen grup, plasebo grubuna kıyasla daha düşük bir HOMA-IR (insülin direnci indeksi) seviyesi ve daha yüksek adiponektin gösterdi. Sonuçlar, kurkumin müdahalesinin prediyabetik bir popülasyon üzerinde olumlu etkisi olabileceğini göstermiştir [142].

2.6. Kurkuminin Antikanser Etkisi

Kurkuminin kimyasal özelliklerine dayanarak hastalıkları önleyici ve tedavisine ek olarak kanserin başlamasına ve ilerlemesine aktif olarak katılan hücre içi ve hücre dışı moleküller ile etkileşime girerek kanserin ilerlemesini inhibe eder [98]. Kurkumin kanser sinyal yolaklarını engelleme ve onkogenlerin baskılanmasında rol oynadığı Şekil 2.10’da belirtilmiştir.



Şekil 2.10. Kurkuminin antikanser özelliği [143]

Kurkumin, hücre döngüsü (siklin D1 ve siklin E), apoptoz (kaspazların aktivasyonu ve antiapoptotik gen ürünlerinin aşağı regülasyonu), proliferasyon (HER-2, EGFR ve AP-1), survival (hayatta kalma) (PI3K/AKT yolu), istila (MMP-9 ve adezyon molekülleri), anjiyogenez (VEGF), metastaz (CXCR-4) ve enflamasyon (NF-κB, TNF, IL-6, IL-1, COX-2 ve 5-LOX) dahil olmak üzere birden fazla hücre sinyal yoluna müdahale ettiği gösterilmiştir [114]. Ayrıca kanser hücrelerinin kemoterapiye duyarlı hale getirilmesi karsinojenezin çeşitli aşamalarında biyolojik aktiviteler sergiler [143].

Kurkuminin sağlıklı hücreler üzerinde sitotoksik etki yapmadığı ancak tümör hücrelerinde bir sitotoksik etki yarattığı ve bununda apoptosizi indüklediği bildirilmiştir [144].

Kemopreventif ve doğrudan terapötik bir tarzda uygulanan bir dizi kurkumin aktivitesi, bunun potansiyel bir antikanser ilaç olabileceğini göstermiştir. *In vitro* ve *in vivo* çalışmalar, kurkuminin iki ana sürecini yani anjiyogenez ve tümör büyümesini etkileyerek karsinogenezi önlediğini göstermiştir[145].

Kurkumin, mitokondriyal membran potansiyelindeki dengeyi bozarak Bcl-xL proteininin baskılanmasına neden olur. Dışsal apoptotik yol, hücreler üzerindeki ölüm reseptörlerini (DR'ler) artırarak ve tümör nekroz faktörü (TNF) ile ilişkili apoptozu tetikleyerek çalışır. Kurkumin ayrıca DR4 ve DR5 ölüm reseptörlerinin ekspresyonunu yukarı doğru

düzenleyerek bu yola katkıda bulunur. İn vitro çalışmalar, kurkumin ve türevlerinin, hücre içi transkripsiyon faktörlerini inhibe ederek apoptozu indüklediği gösterilmiştir. Bu faktörler; NF-κB, aktivatör protein 1 (AP-1), siklosigenaz II (COX-2), nitrik oksit sentaz, matrix metalloproteinaz-9 (MMP-9), ve STAT3 tür. [146]. Kurkumin her iki molekülle ilgili farklı yolları down regüle edebilir, ardından COX-2, lipoksigenaz 2 (LOX-2), iNOS ve bunlarla ilişkili sitokinler gibi farklı inflamatuar aracıların oluşumunu azaltabilir. Ek olarak, kurkumin, JAK-STAT yolunu inhibe eder ve telomeraz aktivitesini inhibe ederek, sonunda tümör hücrelerinde hücre döngüsünün ve apoptozun durdurulmasına neden olur[147].

Wnt /β-katenin sinyal yolağına kurkuminin işlevi, tümör büyümesini ve proliferasyonunu engelleme mekanizmalarında rol oynar. Ayrıca, JAK2 / STAT3 sinyal yolunun fosforilasyon aracılı inaktivasyonu, kurkuminin osteosarkom hücreleri üzerindeki anti-proliferasyon etkisinde de rol oynar. Kurkumin'in, eksojen yolaklar yoluyla tümör hücresi apoptozuna aracılık ettiği varsayılmaktadır. Çalışmalar, kurkuminin, kromozom 10'dan ve poli ADP-riboz polimerazdan silinen kaspaz-3, fosfataz ve tensin homologu gibi apoptotik proteinleri bağladığını, mitokondriyal hasarı indüklediğini ve böylece tümör hücresi apoptozunu teşvik ettiğini göstermiştir. Kurkumin ayrıca mitokondriyal transmembran potansiyelini azaltır ve hücrelerde reaktif oksijen türlerinin (ROS) birikimini arttırır, DNA ve mitokondriyal hasar aracılı apoptozu indükler [148].

Kurkumin'in, tümör destekleyicileri tarafından indüklenen AP-1 aktivasyonunu ve kanserojenlerin indüklediği JNK aktivasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir. Kurkumin, AP-1 DNA bağlama motifi ile doğrudan etkileşimi nedeniyle AP-1'in inhibisyonuna neden olmaktadır. Kurkuminin faydalı etkileri, artan JunD ve c-Jun içeriğinden kaynaklanan glutamat-sistein ligaz ve diğer faz II enzimlerinin gen ekspresyonunu etkileyen, EpRE ve AP-1 komplekslerini oluşturan transkripsiyon faktörleri havuzundaki değişikliklerden kaynaklanıyor gibi görünmektedir. ATF3 mRNA ve proteinde proapoptotik etkilerine katkıda bulunan kurkuminin doza bağlı hızlı bir artışa neden olduğu gösterilmiştir [149].

Kurkumin, tümör nekroz faktörü (TNF) reseptör aktivasyonunun aracılık ettiği dışsal yol aracılığıyla apoptozu indükler ve proliferasyonu inhibe eder. TNF yolu, pro-apoptotik olan kaspaz-8 ve -3 aktivasyonunu tetikler, ancak aynı zamanda COX-2 geninin ekspresyonunu düzenleyen NF-κB'yi indükler. Kurkumin ayrıca NF-κB aktivasyonunun bastırıldığını düşündüren COX-2'nin down regülasyonuna neden olmaktadır. Moleküler çalışmalar

kullanılarak, kurkuminin çeşitli van der Waals ve hidrojen bağlanma etkileşimleri yoluyla TNF-α'ya bağlandığı ve bu da TNF-α'nın reseptörüne bağlanmasını engelleyerek NF-κB'nin aktivasyonunu önlediği gösterilmiştir [110].

STAT3 mRNA'nın transkripsiyon seviyesinde kurkuminin önemli doza bağlı inhibitör etkiler göstermiştir. Kurkumin, STAT3 sinyal yollarının aktivasyonunu ve STAT3 ekspresyonunu inhibe ederek hücrelerin invazif kabiliyetini azaltabilir [150]. Kurkumin, IL-6 ile indüklenen STAT3 fosforilasyonunu ve bunun sonucunda multipl miyelom hücrelerinde STAT3 nükleer translokasyonunu inhibe etmiştir [149].

Kurkumin, MMP ekspresyonunu baskılar ve göğüs kanseri epitel hücrelerinde ERK'nin TPA ile indüklenen aktivasyonunu ve NF-κB'nin transkripsiyonel aktivasyonunu inhibe etmektedir. MMP9 ayrıca beyin tümörlerinde de rol oynar ve kurkumin, NF-κB ve AP-1'in DNA promoter bölgesine bağlanmasını inhibe ederek MMP9'un ekspresyonunu down regüle eder. Kurkuminin, NF-κB yolağına bağlı olarak, hücre dışı bir matris proteini osteopontinin neden olduğu hücresel infiltrasyonu ve istilayı azalttığı gösterilmiştir. Kurkumin, IKK aktivasyonuna yol açan sinyalleri bloke ederek osteopontin kaynaklı membran tipi 1 matris metaloproteinaz (MT1-MMP) gen ekspresyonunu engeller [111].

Kurkuminin hücre hatlarının kökenine ve malignitesine bağlı olarak tümör hücrelerinde apotozu indüklediği görülmüştür. Kurkumin kaynaklı apoptozda hücresel sinyal transdüksiyonunun bloke edilmesinin apoptoz indüksiyonunu tetikleyebileceğini göstermektedir. Bu apoptozu indükleyen aktivite doza ve zamana bağlı bir şekilde ortaya çıkmaktadır. Etki mekanizmasının sitokrom-c salınımı ve kaspazların aktivasyonu yoluyla olduğu gösterilmiştir. Antioksidanlar, N-asetil-l-sistein (NAC), l-askorbik asit, α-tocopherol, katalaz ve süperoksit dismutaz'ın kurkumin kaynaklı apoptozu etkili şekilde önlemiştir [151].

Kurkuminin PPAR-γ ekspresyonunu önemli ölçüde indüklediğini ve hücre proliferasyonunu inhibe ettiğini, apoptozu indüklediğini ve hücre dışı matris gen ekspresyonunu baskıladığını bildirilmiştir. Trans-aktivitesinin PPAR-γ antagonisti ile bloke edilmesi, kurkuminin hücre proliferasyonunun inhibisyonu üzerindeki etkilerini önemli ölçüde azaltmıştır. Son çalışmalar, Moser hücrelerinde kurkumin tarafından PPAR-γ aktivasyonunun büyümeyi

inhibe ettiğini ve siklin D1 ve EGFR'nin gen ekspresyonunun baskılanmasına aracılık ettiğini bildirmiştir [108].

Kanseri hücrelerinde kurkumin kaynaklı apoptoz da SiRNA tarafından p21 WAF1 / CIP1'in inhibisyonu, kurkumin kaynaklı apoptozu bloke eder, böylece hücre döngüsü ile apoptoz arasında bir bağlantı kurar. Kurkumin tarafından indüklenen hücre döngüsünün tutuklanması sırasında önemli ölçüde p53 ekspresyonunun up regüle edildiğini, ardından p21 WAF1 / CIP1 ve ING4'ün indüklendiğini göstermiştir. P53-null ile birlikte yabani tip p53 ile transfekte edilmiş hücrelerin kullanıldığı deneylerde, kurkuminin p53'e bağlı bir yolla karsinom hücrelerinde apoptozu indüklediğini ortaya koymuştur. Çalışmalar, kurkuminin seçici olarak karsinom hücrelerinin G2 fazında p53 ekspresyonunu artırdığını ve apoptoz için gerekli olan mitokondriden sitokrom c'yi serbest bıraktığını göstermiştir [152].

Kurkumin, intrinsik (mitokondriyal) ve ekstrinsik hücre sinyal yollarına aracılık eder ve çeşitli kanser hücre hatlarında apoptozdaki rolünü açıkça göstermiştir. Mitokondriyal apoptozun başlangıcına, Bcl2 protein ailesinin üyeleri ve tümör baskılayıcı protein p53 aracılık ederek mitokondriyal membran geçirgenliğine ve proapoptotik proteinlerin sitozole salınmasına yol açar. Ek olarak, endoplazmik retikulum (ER) kritik bir apoptoz sırasında membranöz organel ve mitokondri ile karmaşık etkileşime katılır. Bununla birlikte, ER işlevini bozan faktörler, yanlış katlanmış protein birikimine yol açarak, hücresel apoptotik programın kritik bir başlatıcısı olan ER stresine yol açar. Uzamış ER stresinin, mitokondriye bağlı membran (MAM) olarak bilinen yapısal membranda ER lümeninden Ca^{2+} salınımına yol açtığı ve bunun, mitokondriyal ortama Ca^{2+} alımının artmasına neden olduğu bildirilmiştir. Kurkuminin, insan akciğer kanseri A-549 hücrelerinde kaspaz-3'ün aktivasyonu yoluyla DNA hasarına ve ER stresine neden olduğu gösterilmiştir. Ek olarak, kurkumin reaktif oksijen türleri (ROS) oluşumunu, hücre içi Ca^{2+} konsantrasyonunu ve ER stresini arttırır, ardından mitokondriyal membran potansiyeli kaybını ve kaspaz-3 aktivasyonunu izler. Kurkumin'in ayrıca mitokondriyal membran bozulması, ROS üretimi ve Ca^{2+}'in mitokondriye hücre içi alımının artması yoluyla hepatoselüler karsinom HCC J5 hücrelerinde apoptozu arttırdığı gösterilmiştir [153].

Birçok kanser hücresi, hücrenin hayatta kalmasına yardımcı olan bir transkripsiyon faktörü olan NFκB/Rel'i aktive ederek kendilerini apoptoza karşı korur. NFκB'nin sinyalle indüklenen aktivasyonu, kurkumin tarafından inhibe edilir. RelA geni, NF-κB'nin p65/RelA

alt birimini kodlar. RelA ile transfekte edilmiş hücreler, değişen dozlarda kurkumine dirençliyken, ana hücreler zamana ve doza bağlı bir şekilde apoptoz geçirmektedir. RelA ile transfekte edilmiş hücreler, kurkumin tarafından inhibe edilemeyen ve kurkumin ile muamele üzerine nükleer yoğunlaşma ve DNA parçalanması göstermeyen yapıcı NF-κB DNA bağlanma aktivitesi göstermektedir. IκB-α'nın bir süper baskılayıcı formu geçici olarak relA ile transfekte edilmiş hücrelere transfeksiyonunda, hücreler artık kurkumine direnç göstememekte, bu da kurkumin ile indüklenen apoptozda NF-B için kritik bir antiapoptotik rol olduğunu düşündürmektedir [120]. Kurkumin tarafından NFκB yolağının inhibisyonu, pro-inflamatuar sitokin transkripsiyonunun ve prometastatik enzimlerin ekspresyonunun baskılanmasına yol açar. Sonuç olarak, kurkumin, kanser gelişimi ile ilgili süreçleri bozar. Kurkumin, Bα'nın inhibitörü olan IκBα'nın fosforilasyonunu ve bozunmasını inhibe ederek NF-κB'nin aktivasyonunu önler. Bu şekilde, NF-κB alt birimi fosforile edilmez ve çekirdeğe yer değiştirir, bu da kanserle ilişkili genlerin ve gen ürünlerinin ekspresyonunun inhibisyonuna yol açar [154].

Apoptozu indükleyen konsantrasyonlarda, kurkumin, ROS oluşumunu indükler. ROS, süperoksit (O^2), hidroksi radikali (OH^-) gibi serbest radikalleri ve H_2O_2 gibi radikal olmayan oksijen türevlerini içerir. Bu serbest radikal oluşumunun, DNA, proteinler ve lipid membranlar dahil olmak üzere hücresel bileşenlere zarar vererek hücre ölümünü hızlandırdığı gösterilmiştir. Ek olarak, kurkuminin hücre içi glutatyon (GSH)' u hızla tükettiği ve bu da H_2O_2 gibi ROS yükselmesini güçlendirdiği gözlenmiştir. Bu nedenle, veriler oksidatif stresin ortak bir apoptoz aracısı olarak rol oynadığı gerçeğini desteklemektedir [155]. ROS kaynaklı kurkumin tedavisinde, DNA hasarına, mitokondriyal membran potansiyelinde (MMP) değişiklik, pro-apoptotik proteinlerin ekspresyonunun artmasına ve anti-apoptotik proteinlerin ekspresyonunun azalmasına neden olarak kanser hücrelerinde kaspaz-9 ve -3 aktivasyonuna yol açar. Bu nedenle, kaspaz-9 ve -3 aktivasyonu, apoptozun mitokondriyal yolunun bir göstergesi olabilir[156].

Kurkuminin insan trombositlerinde siklooksijenaz (COX) enzim aktivitesini inhibe etme kabiliyetine sahip on yıldan fazla bir süredir bilinmektedir. COX, araşidonik asidin prostaglandinlere ve tromboksanlara dönüştürülmesinde rol alan anahtar bir enzimdir. COX-1 ve COX-2 olarak adlandırılan iki farklı izoformdan oluşur. COX-1, çoğu dokuda bulunan yapısal bir izoformdur ve genellikle bir housekeeping enzim olarak kabul edilir; inhibisyonu peptik ülserasyon veya renal kan akışının bozulması gibi ciddi etkilere neden olurken COX-

2 yapısal olarak sadece beyin ve omurilik dokusunda eksprese edilir; çok çeşitli normal dokularda sitokinler, büyüme faktörleri, onkogenler ve tümör destekleyicileri tarafından indüklenebilir. COX-2, baş ve boyun tümörlerinin karsinojenezinde aşırı eksprese edilir. Kurkumin, oral ve kolon epitel hücrelerinde COX-2 gen ekspresyonunun indüksiyonunu inhibe etmektedir [157].

Kurkumin, Ras onkogenik sinyal yolaklarındaki rolü nedeniyle kapsamlı bir şekilde incelenmiştir. Örneğin, kurkumin ile tedavi edilen mide kanseri hücrelerinde azalmış siklin D1 ekspresyonu ve artan siklin B ekspresyonu eşliğinde G2/M evresinde hücre döngüsünün durmasına sebebiyet vermiştir. Dahası, kurkuminin moleküler mekanizmasına bakıldığında, Ras proteininin down regülasyonuna ve ERK'nin up regülasyonuna yol açmaktadır. Genel olarak yapılan bir çalışmada, kurkuminin RAS-ERK sinyal mekanizmasını ortadan kaldırarak mide kanseri hücrelerinin çoğalmasını engellediği öne sürülmüştür. Kurkumin ile muamele edilmiş kanser hücrelerinde, Erkl/2 ve Bax'ın baskın ekspresyonu ve azalmış Bcl-xL ekspresyonu yoluyla G2 / M hücre döngüsünde hapsedilmiştir. H-Ras ile dönüştürülmüş MCF10A insan göğüs epitel hücreleri kurkumin ile muamele edildiğinde, reaktif oksijen türleri (ROS) aracılı matris metaloproteinaz-2 (MMP-2) ve B hücre lenfoma 2 (Bcl-2) ekspresyonunun down regülasyonunu ve Bax'ın ve kaspaz-3'ün up regülasyonunu indüklemektedir. Bir başka *in vivo* çalışma da kurkuminin 7,12-dimetilbenz (a) antrasen (DMBA) ve 12-O-tetradekanoilforbol-13-asetat (TPA) 'da ras-p21 ve c-fos gibi iki onkogeni İsviçre albino farelerinde cilt kanserini inhibe ettiği ileri sürülmüştür. Genel olarak, bu çalışmalar kurkuminin Ras onkogenik yolunda güçlü bir terapötik rol oynadığını doğrulamaktadır [158].

Daha önce yapılan araştırmalar, kurkuminin, onkogen inaktivasyonu yoluyla kanserin önlenmesinde önemli bir etki gösterdiği bildirilmiştir. Kurkumin, çeşitli kanser türlerinde N-Myc'yi down regüle etmekte ve cilt tümötlerinde ras ve fos gibi proto-onkogenlerin ekspresyonunu azaltmaktadır. Hepatosellüler karsinomda kurkuminin etkisi üzerine olan bir raporda, kurkuminin c-Met promoterinin AP-1 aracılığıyla transaktivasyonunu bloke ettiğini ortaya koymuştur. Onkogenin down regülasyonunda kurkumin etkisine ilişkin başka bir bulgu ise, kurkuminin c-Myc, N-Myc, siklin D1 ve antiapoptotik faktörler Bcl-2 ve Bcl-xL dahil olmak üzere çeşitli genlerin down regülasyonu yoluyla antiproliferatif ve apoptotik etkileri indüklediğini göstermiştir. Diğer birkaç çalışmada da kurkuminin EGFR, HER-2, PI3K/Akt ve MAPK yolu gibi çeşitli onkogenlerin inhibisyonu veya down regülasyonundaki

etkisini göstermiştir. Kurkumin, c-myc, Bcl-2 ve mutant tipi p53'ün ekspresyonunu azaltarak ve Fas ekspresyonunu yukarı doğru düzenleyerek apoptozun indüksiyonunda rol oynamaktadır [159].

Büyüme faktörleri ve sitokinler dahil olmak üzere farklı türde trofik faktörler, kanser hücrelerinde büyüme sinyallerine katkıda bulunabilir. Kurkumin, epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR) kinaz fosforilasyonunu inhibe eder ve sonuçta kanser büyümesini inhibe eden Her2 / neu proteinini güçlü bir şekilde bozar. Kurkumin, hücre büyümesini engellemek için hem EGFR'yi hem de VEGF'yi hedefler. Bu nedenle, kurkuminin çok hedefli aktivitesi potansiyel olarak daha etkili olabilir. Bir östrojen reseptörü negatif göğüs kanseri hücre hattında, kurkumin, transkripsiyonel seviyede VEGF ve temel fibroblast büyüme faktörü (b-FGF) gibi anjiyogenez faktörlerini inhibe etmektedir. Kurkumin'in ayrıca interlökin-1b (IL-1b) ve IL-6 gibi proinflamatuar sitokinlerin ekspresyonunu inhibe ettiği ve NF-κB ve MAPK yollarının inhibisyonu yoluyla büyüme inhibe edici etkiler sergilediği gösterilmiştir. Bir göğüs kanseri hücre hattında, kurkuminin, proapoptoza yol açan MAPK / PI3K yolunda Akt fosforilasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir [160].

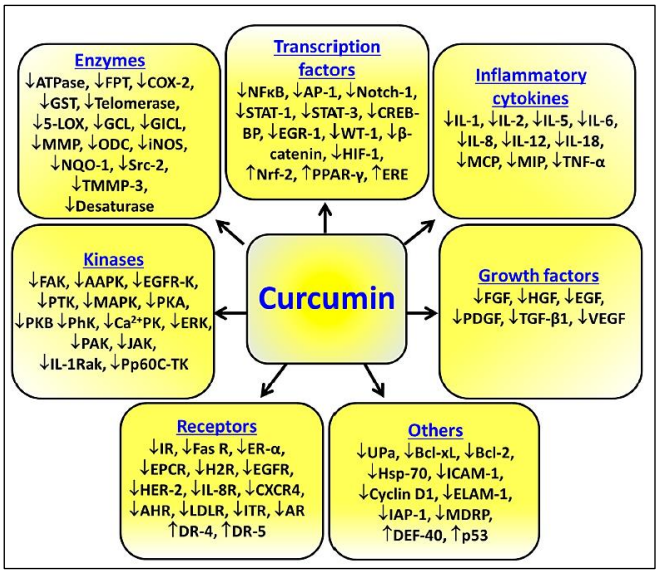
Kurkumin’in güçlü antioksidan ve serbest radikal söndürme özellikleri, bileşiğin karsinojenezin ilk aşamaları üzerindeki inhibe edici etkilerinde önemli bir rol oynar. Kurkuminin, UV radyasyonunun neden olduğu DNA mutagenezini ve hücresel SOS fonksiyonlarının indüksiyonunu bastırma yeteneğine sahip olduğu gösterilmiştir. Kurkumin, nitrik oksit (NO) üretimi üzerindeki inhibitör etkilere ve DNA'ya zarar veren süperoksit radikallerini temizleme yeteneğine ek olarak, oksidasyon ve toksik maddelerin detoksifikasyonda yer alan hepatik sitokrom p450 enzim sisteminin hem Faz I hem de Faz II enzimlerini etkiler. Kurkuminin, toksine maruz kalmaya yanıt olarak indüklenen Faz I enzimlerini (sitokrom p450 izoformları ve p450 redüktaz dahil) inhibe ettiği ve bu tür maddelerin oksidasyonu sırasında DNA eklenti oluşumuna katkıda bulunan bir dizi kanserojen metabolit oluşturduğu gösterilmiştir. Tersine, kurkumin toksik metabolitlerin (glutatyon S-transferaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktaz dahil) detoksifikasyonunda yer alan Faz II enzimlerini indüklemektedir [161].

Kurkumin, anjiyojenik büyüme faktörleri büyüme faktörlerinin yanı sıra anjiyopoietin-1/-2, HIF-1, HO-1 ve NF-κB gibi transkripsiyon faktörleri dahil olmak üzere genleri düzenleyerek anjiyogenezi doğrudan inhibe edebilir. Beta büyüme faktörünün (TGF-β) hipoksik stres ve

aktivasyonunun, AP-1 ve Hipoksi ile indüklenebilir faktörler olan HIF-(1)'yi aktive ederek VEGF ekspresyonunu uyardığı bilinmektedir. Kurkumin, AP-1 aktivasyonunda önemli bir inhibitördür ve son zamanlarda, kurkuminin, tümörlerde anjiyogenez ile ilişkili birçok genin transkripsiyonuna neden olan HIF-1 transkripsiyon faktörü aktivitesinin direkt inhibitörü olduğu gösterilmiştir. Kurkuminin, hücre içi adezyon molekülü-1, vasküler hücre adezyon molekülü-1 ve E-selektin dahil olmak üzere hücresel adezyonda rol oynayan zar yüzey moleküllerinin ekspresyonunu azaltacağı da gösterilmiştir [2].

Kurkuminin hem androjene bağımlı hem de bağımsız hücre hatlarının hücre büyümesi, sinyal transdüksiyonunun aktivasyonu ve dönüştürme aktivitelerindeki etkilerini değerlendirildiğinde, prostat kanseri hücre hatları LNCaP ve PC-3, kurkumin ile muamele edildiği çalışmada, sinyal transdüksiyonu ve androjen reseptörü (AR) ve AR ile ilişkili kofaktörlerin ekspresyonu üzerindeki etkileri analiz edilmiş, elde edilen sonuçlar kurkuminin AR, AP-1, NF-κB ve cAMP yanıt (response) elemanı bağlayıcı protein (CREB)-bağlayıcı proteinin (CBP) transaktivasyonunu ve ekspresyonunu down regüle ettiğini göstermiştir. Bu çalışmalar, kurkuminin, AR ve AR ile ilişkili kofaktörler, AP-1, NF-κB ve CBP'nin down regülasyonu yoluyla prostat kanseri hücrelerinde potansiyel bir terapötik etkiye sahip olduğunu göstermektedir [115].

Kurkuminin kanser hücresindeki moleküler hedefleri nasıl düzenlediği Şekil 2.11'de gösterilerek özetlenebilir.



Şekil 2.11. Kurkuminin moleküler hedefler üzerindeki etkisi
(↑:Upregülasyon ↓: Downregülasyon) [98]

3. MATERYAL METOD

3.1. Materyal

Araştırmamızda 104 haftalık 270 adet White Leghorn tavuk kullanılmıştır. Tavuklar rastgele üç gruba ayrılmış olup bu gruplarda 30 tavuk içeren üç alt grup yapılıp toplamda 90 tavuk olacak şekilde gruplandırıldı (Çizelge 3.1.). White Leghorn tavuklar 29 x 50 cm'lik bireysel kafeslere konuldu. Bu kafesler 3 katlı, gübre bantlı, nipel suluklu, 4 sıra kafes bloğundan oluşmaktadır. Araştırma grupları bazal rasyona 1 kg yeme 0, 200, 400 mg/kg dozunda kurkumin (Omni Active Health Technologies, Inc, Morristown, NJ, USA) yeme eklenerek beslenme materyali yapıldı. Kurkuminin yeme homojen karıştırılabilmesi için yemler mikro karıştırıcı da (Farmavet International, Manisa) hazırlandı. Çizelge 3.2'de verilen karma yem bileşimi özel bir yem fabrikasında (Umut Tavukçuluk A.Ş., Elâzığ) yaptırıldı. Tavuklar deneme öncesi 15 günlük adaptasyona tabii tutuldu. Elâzığ Veteriner Kontrol Enstitüsü Araştırma Laboratuvarında deneme gerçekleştirildi. Deneyin yapılabilmesi için gerekli etik kurulu izni Fırat Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Hayvan Araştırmaları Etik Kurulundan alınmıştır. Bu süreçte yem ve su serbest olarak verilip, ışık ve havalandırma kontrollü olarak yapıldı. Işıklandırma 16 saat aydınlık 8 saat karanlık olacak şekilde ayarlandı. Deney sonucunda ovaryum kanseri oluşturulan White Leghorn tavuklarından kan örnekleri EDTA'lı tüpe alınarak çalışmaya dahil edildi.

Çizelge 3.1. Çalışmamızda kullanılan deney hayvanlarının gruplandırma şekli

Grup/Kurkumin Düzeyi	Doz	Veriliş yolu	Verilme sıklığı	N
Grup1/0	-	Diyetle	*Ad libitum*	90
Grup2/200	200 mg/kg kurkumin+yem	Diyetle	*Ad libitum*	90
Grup3/400	400 mg/kg kurkimin+yem	Diyetle	*Ad libitum*	90

Çizelge 3.2. Çalışmamızda kullanılan karma yem bileşiminin içeriği

Hammadde	g/kg
Mısır	630,0
Soya fasulyesi küspesi	245,8
Hayvansal yağ	22,7
Kireçtaşı	89,0
Dikalsiyum fosfat	2,5

Çizelge 3.2 (devam). Çalışmamızda kullanılan karma yem bileşiminin içeriği

Hammadde	g/kg
Vitamin-mineral premiksi[a]	6,0
Sodyum klorit	2,0
Sodyum bikarbonat	2,0

3.2. Metod

Yaptığımız çalışmada gen mutasyonlarını belirlemek için oluşturduğumuz gruplarda DNA ekstraksiyonu, PCR ve sekans analizi yüntemleri kullanılarak N-RAS genlerindeki nükleotid değişimleri belirlenmiştir. EDTA içeren tüplere almış olduğumuz kan örneklerinde ilk olarak DNA ekstraksiyonu yapıldı. İnnu Prep Blood DNA Mini Kit (Ref no: 845-KS-1020010, Biometra) kullanılarak her bir kan örneğinden DNA izolasyonu gerçekleştirildi. N-RAS gen bölgesine uygun primer çiftleri kullanılarak bu bölgelerde PCR ürünleri elde edildi. Ardından yapılan sanger metodunu uygulayarak sekans analizi gerçekleştirildi. Örnekler sekans analizi gösterilerek değerlendirmeye alındı.

PCR

Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) karmaşık bir DNA veya gen havuzundan belirli bir DNA parçasının veya genin milyarlarca kopyasını oluşturmaya izin veren bir tekniktir [162, 163]. Her PCR testinde şablon DNA, primerler, nükleotidler ve DNA polimerazın varlığı gerekmektedir.

Standart bir PCR prosedüründe ilk olarak çift sarmallı hedef DNA molekülünün iki sarmalının ayrıldığı yerde, 90-95°C'de 3-5 dakika boyunca gerçekleşmesi yani denatürasyon olayıdır. 30-35 döngü boyunca denatürasyonu takip eden yeniden birleşme ve uzama evreleri vardır. Denatürasyon, çift sarmallı hedef DNA molekülünün 90-95°C'de 30-55 saniye ısıtılmasını içerir. Yeniden birleşme adımında, tamamlayıcı ileri (forward) ve geri (reverse) primerlerin 50-65°C'de 30-55 saniye boyunca 3' bölgelerine bağlanmasına izin verir. Uzama adımında ise, yeni şeritlere tamamlayıcı dNTP'ler eklenerek 72°C'de 30-55 saniye boyunca

[a] [a]Vitamin premiksi rasyonun kg'ında: retinil asetat, 41,28 mg; kolekalsiferol, 60 µg; dl-α-tokoferil asetat, 30 mg; menadion sodyum bisülfit, 2,5 mg; tiamin-hidroklorit, 3 mg; riboflavin, 7 mg; niasin, 40 mg; d-pantotenik asit, 8 mg; piridoksin hidroklorit, 4 mg; vitamin B12, 0,015 mg; vitamin C, 50 mg; folik asit, 1 mg; D-biotin, 0,045 mg; kolin klorit, 125 mg; Mn ($MnSO_4$-H_2O), 80 mg; Fe ($FeSO_4$-$7H_2O$), 30 mg; Zn (ZnO), 60 mg; Cu ($CuSO_4$-$_5H_2O$), 5 mg; Co ($CoCl_2$-$6H_2O$), 0,1 mg; I (KI), 0,4 mg; Se (Na_2SeO_3), 0,15 mg içermektedir.

gerçekleşir. Son döngüden sonra, örnekler yeni sentezlenmiş PCR ürünlerinin çıkıntılı uçlarını doldurmak için genellikle 72°C'de 5-15 dakika inkübe edilir. PCR ürünleri sonsuza dek saklanması için 4°C saklanır. Standart PCR prosedüründe PCR döngülerinin sayısı, reaksiyon karışımındaki şablon DNA miktarına ve PCR ürününün beklenen verimine bağlıdır. [164].

PCR ürünlerinin görselleştirmesinde iki farklı yöntem vardır. Bunlardan biri çoğaltılmış DNA ürününün iki ipliği arasına giren etidyum bromür gibi kimyasal bir boya ile boyanması ikinci yönem ise PCR primerlerinin veya nükleotitlerinin PCR ile çoğaltılmasından önce floresanla etiketlenmesi. İkinci yöntemde, etiketler doğrudan PCR ürününe dahil edilme olanağını sunar. PCR ürünü analizinde yaygın olarak kullanılan yöntem, DNA ürünlerini boyut ve yük temelinde ayıran agaroz jel elektroforezinin kullanılmasıdır [162].

DNA ekstraksiyonu

Moleküler biyoloji çalışmalarında DNA, RNA ve protein örneklerinin kullanılması gerekmektedir. DNA, RNA ve protein örneğine saf haliyle ulaşabilmemiz olanaksızdır. Hücre içerisinde bulunan bu materyallere ulaşmak için hücre kalıntılarının uzaklaştırılması gerekmektedir. Bu nedenle, nükleik asit ekstraksiyonu, daha ileri moleküler araştırma uygulamalarını gerçekleştirmek için gerekli olan laboratuvar prosedürlerinde önemli bir adımdır. Amaç DNA’nın saf haliyle biyolojik materyalinden izolasyonudur. DNA ekstraksiyonu PCR yönteminin önemli işlemidir [165]. Ektraksiyon işlemlerinde antikoagülan izleri, fenol izleri gibi hem de hücre içi faktörlerin neden olduğu hatalar PCR inhibiyonuna sebep olabilmektedir [166].

DNA ekstraksiyonunda yapılan ortak prosedürde takip edilecek adımlar vardır. Bu adımlar sırasıyla;

1. Sitoplazmik ve nükleer membranların bozulması
2. DNA'nın hücre lizatının lipidler, proteinler ve diğer nükleik asitler gibi diğer bileşenlerinden ayrılması ve saflaştırılması
3. DNA'nın konsantrasyonu ve saflaştırılması

DNA ekstraksiyonu için uygun yöntemi seçilirken izole edilen DNA'nın kalitesi ve miktarı önemlidir. Yöntemi optimize ederken gerekli diğer faktörler ise zaman, maliyet, potansiyel toksisiteler, verim, laboratuvar ekipmanı ve uzmanlık gereksinimleri ile protokol için gerekli numune miktarı yer alır [167].

DNA dizileme

DNA dizileme teknikleri moleküler biyoloji, genetik, antropoloji, adli bilimler gibi alanlarda anahtar görev görmektedir. DNA'nın keşfi ile birlikte protein zincirlerinin sırasını çıkarmak için geliştirilen stratejiler, nükleik asit araştırmalarına hemen uygulanamıyor, DNA molekülleri çok daha uzun ve birbirine daha çok benzeyen daha az birimden oluşmakta, bu da DNA'yı dizileme ve okuma tekniklerini zorlaştırmaktadır. Bu durumu kolaylaştırabilmek için yeni stratejilerin geliştirilmesi gerekiyordu [168, 169].

Sanger tarafından 1950 yılında insülin proteinin iki zinciri parçalamış, her bir parçayı deşifre ederek ve parçaları üst üste bindirerek tam bir dizileme elde ederek ilk protein dizilimi yapılmıştır. 1960'larda, RNA dizilimi ele alınmıştır. Bir RNA türü önce RNazlarla parçalanmış, daha sonra parçalar kromatografi ve elektroforezle ayrılmış, ardından ayrı parçalar sıralı eksonükleaz sindirimi ile deşifre edilmiştir [170].

1975'te Sanger, ilk DNA dizilemesi için "artı ve eksi" yöntemiyle, son 30 yılda dizilemeyi tamamen domine eden modern yöntemlere yol açan kritik bir geçiş tekniğini tanıtmıştır [171].

DNA dizileme teknikleri Sanger dizileme, Maxam-Gilbert Tekniği ve son yıllarda çok kullanılan yeni nesil dizileme (New Generation Sequencing (NGS) (Türkçe kısaltılışı YND) teknikleri kullanılmaktadır. Biz bu çalışmamızda Sanger dizileme metodunu kullandık.

Sanger Dizileme: Moleküler tanı laboratuvarlarında oldukça popüler olan sanger dizileme, spesifik DNA bölgelerini aramak için oligonükleotid primerlerini kullanan hedefli bir dizileme tekniğidir. Sanger dizilimi, çift sarmallı DNA'nın denatürasyonu ile başlar [172]. Sanger dizilemede, çoğaltılacak sekansın 300 baz çiftinden kısa olması koşuluyla PCR ile çoğaltılan belirlenen bölgeden else edilen DNA'da kolayca gerçekleştirme imkânı mümkün kılmaktadır. Bu yöntemin avantajı, hedeflenen bölgedeki her mutasyonu tespit edebilecek

dizi sonuçları sağlamasıdır [173]. Bu dizileme de; DNA şablonu, bir dizileme primeri, termostabil bir DNA polimeraz, nükleotidler (dNTP'ler), dideoksinükleotidler (ddNTP'ler) ve tampona ihtiyaç duyulmaktadır [174].

Tüm insan kanserlerinin yaklaşık % 30'unda ras geni muatsyonları görülmüş yaklaşık %11-15'inin ise N-ras mutasyonlarının oluşturduğu görülmüştür [5]. Bu bilgiye dayanılarak çalışmamızda N-ras geni seçilmiştir. Yapılan literatür çalışmalarında N-Ras gen ailesien ait primer çiftlerinin gen analizi insanlar için verilmekle birlikte tavuklar için bir primer çifti gen analizi verilmemiştir [175]. Bu doğrultuda N-Ras geni için primer dizaynı için öncelikle http://www.ncbi.nlm.nih.gov adresinden tavuk N-Ras gen dizilimi indirilmiş ardından http://bioinfo.ut.ee/primer3-0.4.0 sitesi kullanılarak kendi primer dizaynı geçekleştirilmiş ve kullanılan primer çiftleri ve buna uygun olarak PCR optimizasyonu sağlanmış Çizelge 3.3'te ki verilerde belirtilmiş olup Çizelge 3.4'te ise N-ras DNA dizileri verilmiştir.

Çizelge 3.3. NRAS geninin gen analizi

Gen	Kodon	Primer	PCR Koşulu	PCR Ürünü	Analiz
NRAS	12	5-ACTGGTGGTGGT TGGACCA-3	94°C'de 55 saniye 57°C'de 50 saniye 72°C 'de 40 saniye	312 bp	Dizi Analizi

Çizelge 3.4. NRAS DNA dizileri

--GAGCAGGTATGGTTGGAACATCCCTTAGAGTTTTAATTCGTGCAGAAT
TAGGGTCCCCTGGACCTTTAATTGGTAATGACCAAATTTATAATGTTATT
GTTACAGCTCATGCTTTTATTATAATCTTTTTTATAGTTATACCAATTAT
AATTGGAGGATTCGGAAATTGACTAGTACCCCTAATACTAGGAGCTCCAG
ATATAGCCTTCCCTCGAATAAATAATATAAGATTTTGATTATTACCACCT
TCTCTATTTTTATTAATTATAAGAAGAATTGTAGAAAATGGTGCAGGAAC
AGGATGAACAGTTTATCCCCCATTAGCTGCTAATGTAGCTCATAGAGGTT

Tümörlerdeki görülme sıklık farklılıkların ve gruplardaki sayıları istatistiksel açıdan değerlendirilmesi için X^2 testi kullanılmıştır. Kurkumin desteğiyle tümör çapını, protein boyama yoğunluğunu ve serum metabolitleri üzerindeki etkilerini belirleyebilmek üzere SAS programlı (2002; SAS Institute Inc.) varyans analiziyle genel doğrusal model kullanılarak analizi yapılmıştır. Varyans analizinde F testi ($P \leq 0.05$; kontrol grubuna göre anlamlı) dikkate alınarak en küçük kareler ortalama işlemi ($P \geq 0.05$; kontrol grubuna göre anlamsız) önemli ölçüdeki farklı olan materyalleri ayırt etmek için kullanılmıştır. Tavuklara uygulanan serum metabolitlerinin üç kurkumin dozunun (0,200,400 mg/kg) tepkisi için doğrusal ve ikinci dereceden polinom karşıtları kullanılmıştır. Gen mutasyon analizi için X^2 testi, allel frekansı ve Hardy-Weinberg dengesi için genotopik frekans ve tek oranlı testler kullanılmıştır.

4. BULGULAR

Yapılan bu çalışmada; ovaryum kanserli yumurta tavukların N-Ras geninde, 1.Grup (kurkumin uygulaması yapılmamış grup), (26 adet=1.1-1.26) , 2.grup (200 mg kurkumin uygulanmış grup) (26 adet=2.1-2.26), 3.grup (400 mg kurkumin uygulanmış grup) (26 adet=3.1-3.26), IVS 1+20 da C>T, de IVS 1+147 de G>T ve de IVS 1+159 da T>C değişiklikleri tespit edilmiştir.

Buna göre;

1.Grup (Kurkumin uygulanmayan grup):

1.1-1.26 tüm örneklerde (26 adet) IVS1+20 C>T değişimi, homozigot olarak bulunmuştur.

1.1-1.26 çalışılan örneklerde (19 adet) IVS 1+147 da G>T değişimi homozigot, 7 örnekte ise heterozigot olarak bulunmuştur.

1.1-1.26 tüm örneklerde (26 adet) IVS 1+159 da T>C değişimi, homozigot olarak bulunmuştur.

2.Grup (Kurkuminin 200 mg olarak uygulandığı grup)

2.1-2.26 örneklerde, (8 adet) IVS1+20 C>T değişimi homozigot, 18 örnekte ise, heterozigot olarak bulunmuştur.

2.1-2.26 örneklerde (6 adet) IVS 1+147 da G>T değişimi homozigot, 20 örnekte ise, heterozigot olarak bulunmuştur.

2.1-2.26 örneklerde (3 adet) IVS 1+159 da T>C değişimi homozigot, 23 örnekte ise, heterozigot olarak bulunmuştur.

3.Grup (Kurkuminin 400 mg olarak uygulandığı grup)

3.1-3.26 örnekte, (2 adet) IVS1+20 C>T değişimi homozigot, 24 örnekte ise, heterozigot olarak bulunmuştur.

3.1-3.26 örneklerde (1 adet) IVS 1+147 da G>T değişimi homozigot, 25 örnekte ise, heterozigot olarak bulunmuştur.

3.1-3.26 örneklerde (1adet) IVS 1+159 da T>C değişimi homozigot, 25 örnekte ise heterozigot olarak bulunmuştur.

Görüldüğü gibi, kurkuminin uygulanmadığı 1.grupta; her üç gen değişimi (IVS 1+20 da C>T, de IVS 1+147 G>T ve de IVS 1+159 T>C) çoğunlukla homozigot olarak bulunmuş ve ovaryum kanserli yumurta tavuklarındaki bu değişimlerin yüzde miktarlarının yüksek oranda olduğu tespit edilmiştir (IVS 1+20 da C>T = %100 homozigot; IVS 1+147 da G>T= %73.07 homozigot, %34,6 heterozigot; IVS 1+159 da T>C = %100 homozigot).

Kurkuminin 200 mg uygulandığı 2.grupta yüzde oranları; IVS 1+20 da C>T = %30,76 homozigot, %69,23 heterozigot; IVS 1+147 da G>T = %23,07 homozigot, %76,92 heterozigot; IVS 1+159 T>C= %11,53 homozigot, %88,46 heterozigot olarak bulunmuştur. Bu gruptaki homozigot gen değişimlerinin sıklığı, kurkumin uygulanmamış gruba göre daha az oranda tespit edilmiştir.

Kurkuminin 400 mg uygulandığı 3.gruptaki yüzde oranları ise; IVS 1+20 da C>T = %7,70 homozigot, %92,30 heterozigot; IVS 1+147 da G>T = %3,85 homozigot, %96,15 heterozigot; IVS 1+159 T>C= %3,85 homozigot, %96,15 heterozigot olarak bulunmuştur (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. Kurkuminin N-ras geni üzerindeki gen değişim yüzde oranları

KURKUMİN	IVS 1+20 C>T	IVS 1+147 G>T	IVS 1+159 T>C
0 mg	%100 Homozigot	%73.07 Homozigot, %34,6 Heterozigot	%100 Homozigot
200 mg	%30,76 Homozigot, %69,23 Heterozigot	%23,07 Homozigot, %76,92 Heterozigot;	%11,53 Homozigot, %88,46 Heterozigot
400 mg	%7,70 Homozigot, %92,30 Heterozigot	%3,85 Homozigot, %96,15 Heterozigot	%3,85 Homozigot, %96,15 Heterozigot

1. grupta yani kurkumin uygulanmayan grupta IVS 1+20 da C>T, de IVS 1+147 G>T ve de IVS 1+159 T>C gen değişimlerinin yüzde oranı yüksek çıkmıştır. Kurkiminin 200 mg olarak uygulandığı 2.grupta ise, gen değişim yüzde oranları 1.gruba göre (kurkumin uygulanmamış) daha düşük bulunmuştur. Kurkimin 400 mg olarak uygulandığı 3.grup da

ise, gen değişim yüzde oranları en düşük olarak saptanmıştır. Bununla birlikte, kurkumin uygulanan gruplarda kurkuminin doz oranının artması ile ovaryum kanserli yumurta tavuklarındaki IVS 1+20 C>T, IVS 1+147 G>T ve IVS 1+159 T>C gen değişimlerinin yüzde oranlarının azaldığı görülmüştür.

N-Ras geni içindeki yeni tespit edilen gen değişimlerinin alel frekansları da ki kare (X^2) testi uygulanarak sonuçlar elde edilmiş Çizelge 4.2'de gösterilmiştir. Buna göre;

(IVS 1+20 homozigot P < 0,001- IVS 1+20 heterozigot P < 0,00193, IVS 1+147 homozigot P < 0,0019-heterozigot P < 0,002, IVS 1+159 homozigot P < 0,0024-heterozigot P < 0,003) kurkuminin değişik dozlarda uygulanan 2.ve 3.gruplarında ise, bu N-Ras gen değişi oranları belirgin şekilde azalmış ve bu azalma, istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur (200mg kurkumin: IVS 1+20 homozigot P < 0,00084- IVS 1+20 heterozigot P < 0,001, IVS 1+147 homozigot P < 0,0033-heterozigot P < 0,003, IVS 1+159 homozigot P < 0,004-heterozigot P < 0,002; 400 mg kurkumin : IVS 1+20 homozigot P < 0,0001- IVS 1+20 heterozigot P < 0,002, IVS 1+147 homozigot P < 0,0002-heterozigot P < 0,005, IVS 1+159 homozigot P < 0,0042-heterozigot P < 0,004).

Çizelge 4.2. IVS ile ilgili Ki Kare (X^2) analiz testlerinde mutasyonların P değerleri

Kurkumin	IVS 1+20 C>T	IVS 1+147 G>T	IVS 1+159 T>C
0 mg	Homozigot 0,001 Heterozigot 0,00193	Homozigot 0,0019 Heterozigot 0,002	Homozigot 0,0024 Heterozigot 0,003
200 mg	Homozigot 0,00084 Heterozigot 0,001	Homozigot 0,0033 Heterozigot 0,003	Homozigot 0,004 Heterozigot 0,002
400 mg	Homozigot 0,0001 Heterozigot 0,002	Homozigot 0,0002 Heterozigot 0,005	Homozigot 0,0042 Heterozigot 0,004

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Kanser hastalığına bakıldığında her ne kadar günümüzde daha fazla görülüyor olsa da geçmişte bile bu hastalığın olduğuna dair kanıtlar sunulmuştur. O zamanki insanlar bu hatalığı tanımlayamamakla birlikte günümüzdeki gibi yaygın görülmemekteydi. Bunun bir sebebi insanların doğal kaynaklarla beslenmesi günümüzdeki gibi kimyasal maddelerin katkı maddesi olarak besinlerle verilmemesi örnek olarak gösterilebilir. Kansere sebep olarak birçok neden gösterilebilir. Kimyasal ajanlar, fiziksel ajanlar (X-ray cihazları vb.), stres faktörleri gibi koşulların yanı sıra biyolojik nedenlerde gösterilebilir. Bu biyolojik nedenler kanserin genetik bir hastalık olduğu ilişkisini doğurabilir. Şu ana kadar yapılan araştırmalar prostat ve meme kanserinin genetik olarak bir sonraki nesile aktarılabilme olasılığını sunmuşlardır. Kanser için genel bir tanımlama yapacak olursak hücrede gerekli görevleri yapmak üzere olan bir gende herhangi bir kaynak ya da kaynaklardan gelen ve gende mutasyonu uğrayıp tamir mekanizmalarından geçen ve hücrenin sınırsız çoğalmasıyla kendini gösteren bir genetik hastalık olarak görebiliriz. Erken tanı konulduğunda hastalıkta iyileşme şansı vardır. Ancak ileri evrelere gelen kanserlerde özellikle başka bir dokuya ya da organa sıçraması yani metastaz durumunda işler biraz daha zorlaşabileceğinden tedaviden olumlu yanıt almak gecikebilmekte hatta hastanın ölümüyle bile sonuçlanabilmektedir.

Kanserde tedaviler geçmişte de olduğu gibi günümüzde de sürdürülebilirliğini korumaktadır. Bugünlerde yapılan hormon terapisi, gen terapisi, immünoterapi gibi çeşitli yöntemlerle kanserin tedavisi mümkün kılabilmektedir. Şu an tam anlamıyla kanseri kökünden kurutacak bir yöntem görülmese de bu yöntemler iyileşmede bir umut ışığı olarak görülmektedir.

Kanser oluşumunda iki temel öğe vardır; Protoonkogenler ve tümör baskılayıcı genlerde ki değişimlerdir. Bu genler hücre içinde belirli görevleri yerine getirmek üzere görevlendirilmişlerdir. Tümör baskılayıcı genler hücre döngüsünde görev alırlar. Döngüdeki hatalı durumu görerek tamir mekanizmasını devreye sokar ve yeniden hücre döngüsüne girmesi için hazırlar. Bu durumun gerçekleşemediği durumlarda hücreyi programlı ölüme yani apoptosize gönderir. Bazen mutasyonlar hücre döngüsünden kaçabilir genomun döngüsü dediğimiz p53 genin kontrolünde gözden kaçarak hücre bölünmesini devam ettirebilir. Bu mutasyonlu gen hücrenin devamlı bölünme sinyalini vererek kontrolsüz hücre bölünmesine ve kanserleşmeye sebebiyet verebilir. Bir diğer öğe olan protoonkogenler de hücre çoğalmasında aktif olarak görev alırlar. Çeşitli protoonkogen aileleri vardır. Bunlardan

biri RAS gen ailesidir. Protoonkogenler mutasyona uğraması durumunda onkogen halini alırlar.

Ovaryum kanseri, dünya çapında kanser sıklığında ve mortalite oranlarında önde gelmektedir [69]. Son zamanlarda menopoz sonrası hormon kullanımının azalması ve hormonal kontroseptif kullanımının artmasıyla ovaryum kanserinin sıklığı ve mortalitesi azalmaya başlamıştır [176]. Ovaryum kanserinin nedenlerine bakacak olursak genel anlamda üreme ve genetik risk faktörleri göz önüne gelmektedir. Nulliparite yani hiç çocuk doğurmayan kadınlarda ve 35 yaş üstü çocuk doğuran kadınlarda, hormon replamsan tedavisi görenlerde bu riski arttırmaktadır. 25 yaş altı ilk çocuklarını doğuran ve genç yaşta hamileliklerde, oral kontraseptif ilaç kullannalarda ovaryum kanseri riskinin %30-60 oranında azalmaktadır. BRCA1 ve BRCA2 genotipleri dahil olmak üzere ovaryum kanseri olan birinci ve ikinci akraba geçmişine sahip olan kadınlarda bu risk biraz daha fazladır. Ovaryum kanseri en az orana gelişmekte olan ülkelerde ve Japonya'da rastlanılmış bunun bir sebebi olarak ise düşük yağlı ve yüksek lifli bölgesel beslenme alışkanlıklarıyla ilişkilendirmişlerdir [177].

Popülaritesi yıllar içinde artan Orta Asya'da özellikle Hindistan bölgesinde yoğun olarak kullanılan bir baharat çeşidi olan zerdaçal (Curcuma longa) bitkisinden elde edilen kurkumin bileşeninin birçok hastalıkta tedavi edici ve koruyucu etkisi ve kanser hücreleri üzerinde koruyucu ve önleyici bir etkisinin olduğu yapılan çalışmalarla da kanıtlanmıştır. Kurkumin ile yapılan araştırmalarda görülmüştür ki biyoyararlanımı zayıftır. Bu yararlanımı arttırmak için araştırmalar çeşitlendirilmiş olup piperinlerle birlikte alınımının biyoyararlanımı arttırılabileceği öngörülmüştür. Gelişen teknolojiyle beraber kurkuminin etkisinden daha fazla yararlanmak için nanoteknoloji çalışmaları yapılarak çeşitli nanopartikül formları elde edilmiştir. Bu formlar kısaca ele almak gerekiese;

Lipozom formu: Lipozomlar, ilaçların sulu iç kısımlara dahil edildiği kapalı, küresel, fosfolipid veziküllerdir. Kurkuminin biyoyararlanımını ve etkinliğini arttırmak için yaygın olarak kullanılmaktadır. Son zamanlarda, daha iyi klinik sonuçlar elde etmek için polimerik konjugatlar ile lipozomal kurkuminin birkaç modifikasyonu geliştirilmiştir.

Polimer nanopartiküller: Polimer nanopartiküller, yüksek düzeyde biyouyumlu olan ve kan dolaşımında daha uzun süre kolayca dolaşan küçük, nano boyutlu partiküllerdir. Poli-etilen

glikol (PEG) ve kitosan D,L-laktit-*co*-glikolid (PLGA) en çok kullanılan nanopartiküllerdeir. %97,5 verimlilikte ve 81 nm partikül çapına sahip kurkumin yüklü nanopartiküller hem *in vitro* hem de *in vivo* kanser fare modellerinde daha yüksek hücresel alım, gelişmiş biyoyararlanım ve apoptoz indüksiyonu göstermiştir.

SLN'ler: SLN'ler, normal sıcaklıkta (37°C) katı kalan lesitinler veya trigliseritler gibi doğal lipidlerden oluşur. SLN'ler, kararsız bileşikleri kimyasal bozulmadan koruyabilir ve biyoyararlanımı artırabilir. Kurkumin yüklü bu nanopartiküller, *in vitro* olarak göğüs kanseri hücrelerinde umut verici antikanser ajanlar olarak gösterilmiştir.

Manyetik nanopartiküller: İlaç yüklü manyetik nanopartiküller, harici manyetik alanların etkisi altında kanserle enfekte olmuş dokulara hedeflenmesi amaçlanmıştır. Dış kabukta oleik asit veya kitosan ile Fe_3O_4-kurkumin konjugatında kurkumin hapsedilmesi, artan ve gelişmiş biyoyararlanım oluşumuyla sonuçlanmaktadır [178]. Enjeksiyon veya endoskopi yoluyla belirlenen dozlarda kurkumin manyetik nanopartikülleri verilebilme olanağı sunulmuştur [179].

Polimer miseller: Polimer miseller, kurkuminin zayıf çözünürlük, düşük stabilite ve zayıf biyoyararlanım özelliklerini çözmek için yaygın olarak kullanılan bir başka mükemmel sistemdir. Son zamanlarda kurkuminin, ilaç yükleme kapasitesini artırmak, suda çözünürlüğünü artırmak, toksisiteyi azaltmak ve bozunmayı azaltmak için setiltrimetil amonyum bromür veya dodesil trimetil amonyum bromür gibi katyonik miseller içinde kapsüllenmiştir.

Mikroküre ve mikrokapsüller: Bu tür yaklaşımlarda, ilaçlar veya kurkumin, etkinliği ve organ hedefli biyoyararlanımı esasen iyileştiren mikroküreler veya mikrokapsüller oluşturmak için çeşitli polimerik partiküller içinde kapsüllenmesidir. Bu tarz araçlarda biyoaktivitenin arttığı gösterilmiştir.

Mikroemülsiyon: Mikro emülsiyonlar, yüzey aktif madde moleküllerinin ara yüzey filmleri ile stabilize edilmiş yağ ve su izotropik karışımlarının küçük damlacık dağılımlarıdır (1–100 μM). Mikroemülsiyon sistemleri, kurkumin gibi hidrofobik ilaçların verilmesi için idealdir. Lipit bazlı bir ilaç verme sistemi olarak mikroemülsiyon, termodinamik stabilite, gelişmiş ilaç çözünmesi ve artan çözünürlük gibi çeşitli avantajlara sahiptir.

Nanojeller: Nanojel, iç ağ yapısını korumanın yanı sıra, içlerinde büyük miktarlarda su veya fizyolojik sıvı alabilen hidrofilik üç boyutlu polimer ağlardan oluşur. Yüksek ilaç yükleme kapasite özelliği, kurkuminin hedeflenen ilaç dağıtımı için bir nanojelin içine kolayca kapsüllenebilme olasılığını gösterir.

Nanokurkumin: Kurkumin nanopartiküllerini herhangi bir taşıyıcıya ihtiyaç duymaksızın saf kurkuminden de yapılabilir. Kurkumin etanol ile çözülebilir ve sitrik asit (%0,1) içeren su ile daha yüksek basınçta homojenize edilebilir. Kurkumin nanopartikülleri, üstün biyoyararlanımları nedeniyle etkili ilaç verme yöntemidir [178].

Nanopartikül formları da elde edilen kurkuminin avantajlarının olması kadar bazı dezavantajlarını da beraberinde getirmektedir. Bu dezavantajlar genel olarak kontrolsüz ilaç salınımı, organik çözücülerin iyice çıkarılmış olmasının gerekliliği, daha az stabil olması, lipozomla yapılıyor ise bazı lipozom preparatlarının toksik olması, kısa raf ömrü ve bazı formlarının pahalı maliyetlerinin olması gibi sebepler sayılabilir [179].

Her ne kadar kurkuminin faydalı bir baharat olduğundan bahsettiysek birtakım dezavantajlarını da yanında getirmektedir. Bu dezavantajlardan biri Paracelsus'un 'İlacı zehirden ayıran fark dozudur' sözünden yola çıktığımızda yüksek dozajda alındığında mideyi etkileyerek kusma ve ülsere neden olabilmektedir. Bazı durumlarda yan etki olarak nefes darlığı, hırıltılı solunum, kızarıklık, tahriş, idrarda yanma, kurdeşen ve göğüs ağrısı gibi vücutta alerjik reaksiyonlara sebebiyet verir. Kan dolaşımında kolayca emilemez. Hamilikte alınmaması önerilmekle beraber kanama bozukluğu olanlarda ve safra kesesi tıkanıklığı olanlarda da kullanılması önerilmemektedir. Ameliyattan önce bırakılması, diğer ilaç takviyeleriyle birlikte alınmaması tavsiye edilmektedir. Bir diğer dezavantajında biyoyararlanımının düşük olduğu ve bu etkinin giderilmesi için yapılan çalışmaların var olduğu gösterilmiştir [180].

Ras genlerindeki mutasyonların farklı tip kanserlerde yaygın olarak görüldüğü tespit edilmiştir [181]. Yürüttüğümüz bu çalışmada tavuklarda N-RAS geni 1. ekzonu olan kod 12 bölgesini içine alacak şekilde dizi analizi ile taranmıştır. Yapılan bu çalışmada, N-Ras geninde yer alan gen değişim noktaları tespit edilmiştir (IVS 1+20 da C>T; IVS 1+147 da G>T; IVS 1+159 T>C). Tespiti yapılan yeni gen değişimlerinin literatüre kazandırılacak olması bu alanda yapılan çalışmalarda deneysel araştırmamız için ilk olma özelliği

kazandıracaktır. Bununla birlikte, çalışmada kurkumin uygulanmamış olan 1.grup (kontrol grubu)'ta yeni tespit edilen gen değişim oranlarının oldukça yüksek olduğu tespit edilirken buna karşılık, kurkumin uygulanan diğer gruplarda (2.grup=200 mg ve 3.grup= 400 mg), yeni tespit edilen gen değişimlerinin daha az oranda olduğu bulunmuştur. Elde edilen bu sonuçlar göz önüne alınarak, kurkuminin spontan gelişen tümörlerdeki gen değişimlerini yeniden tamir etmesi üzerinde bir etkisinin olduğu ortaya konulmuştur. Bu bilgiye dayanarak kurkuminin uygulandığı gruplarda DNA'daki nükleotid değişimlerinin azaldığını, kurkuminin aynı zamanda DNA üzerinde tamir mekanizmalarının aktif olmasında önemli etkisinin olabildiği düşünülmektedir. Bu durumu şu şekilde açıklayacak olursak; kurkumin DNA tamir mekanizmasında görev alan ERCC1 (excision repair cross complamentary 1) proteinin ekspresyonunun arttırdığını ve bu proteinde DNA parça kesip çıkarma (excision repair) mekanizmasında görev alarak DNA'daki mutasyonların tamirinin gerçekleştirilmesindeki mekanizmasında etkili olduğu ortaya konulmuştur [182]. Ayrıca, kurkumininde içinde bulunduğu, biyoaktif diyet bileşiklerinde, kurkumin genom içinde bazı epigenetik değişimleri gerçekleştirir. DNA'nın metillenmesiyle de histon proteinlerinin, histon asetilaz enzimi ile asetillenmesi bunlardan bazılarıdır. Epigenetik değişime uğrayan DNA, transkripsiyon faktörlerini sentezleyemez ve bu durumda kanser oluşumunda etken olan kontrolsüz hücre bölünmesi ve çoğalması kısmen engellenmiş olur. Bu durumda da tümörün küçülmesi, daha iyi kontrol altına alınmasını sağladığı araştırma ile ortaya konulmuştur [183].

Limtrakul ve ark., yapmış olduğu çalışmanın sonuçlarına bakıldığında kurkumin ile beslenen farelerin indüklenen ras ve fos gen ekspresyonlarını önemli ölçüde inhibe ettiğini göstermişlerdir. Bu sonuçtan yoa çıkılarak kurkuminin, fos ve ras onkogen ekspresyonuna yol açan sinyal iletim yolu üzerinde belirli bir noktayı bloke edebileceği sonucunu çıkarmışlardır. Bu blokenin ise tümörde küçülmeye yol açabileceğini öngörnüşlerdir [12]. Yaptıkları çalışmada kurkumin tedavi grubunda normal yem içerisinde %0,2 veya %1 verilirken bizim çalışmada yem + kurkumin şeklinde verilmiştir. Sonuçlara bakıldığında ise bizim çalışmada kurkumin ras genlerinde nükleotit değişimleriyle tümör boyutunu küçülttüğüne yönelik sonuçlar bulunmuştur. Sonuçlarımız yaptıkları çalışmayı destekleyici niteliktedir.

Garcea ve arkadaşlarının kurkuminin oral yolla verilmesini ve ajanın normal ve kötü huylu insan karaciğer dokusunda farmakolojik aktiviteyi ortaya çıkarmak için yeterli

konsantrasyonlarla sonuçlanıp sonuçlanmadığını araştırıldığı çalışmada kolorektal kanserden karaciğer metastazı olan 12 hasta, ameliyattan 1 hafta önce günde 450-3600 mg kurkumin almışlar ve oksidatif DNA değişikliklerinde malign karciğer dokusunda bir azalma olmadığı tespit edilmiş ve bu verilerle gereken kurkuminin dozunun insanlar için kullanılabilir olmadığını göstermişlerdir [184]. Ancak bizim yapmış olduğumuz çalışmada ovaryum kanserinde alınan kurkumin dozlarında DNA tamir mekanizmasının aktifleşmesiyle ovaryum kanserinde azalma görülmüştür. Garcea ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışma ile bizim yapmış olduğumuz bu çalışma örtüşmemektedir

Hakim ve arkadaşlarının tavuk ovaryum kanserinde p53 tümör baskılayıcı genini, ras ve HER-2/neu onkogenlerindeki değişikliklerini ve bu değişikliklerin insan yumurtalık adenokarsinomlarındakine benzer genetik değişikliklere sahip olup olmadığını belirlemek için yapmış oldukları çalışmada, H-Ras geninde hiçbir değişiklik olmadığı görülmüş olmakla birlikte K-Ras geninde %1.2'sinde bir değişiklik görülmüştür [185]. N-Ras geni hakkında bir bildirim bulunamamıştır. Biz ise yapmış olduğumuz bu çalışmada N-Ras geninde ki mutasyon oranları istatistiki şekilde gösterilmiş ve aynı zamanda kurkuminin iyileştirici bir etkisinin de olduğu kanıtlanmıştır.

Yallapu ve arkadaşları kurkuminin ön tedavide kullanımının etkinliğin göstermek amacıyla kemo/radyo-duyarlılaştırıcı sisplatine dirençli yumurtalık kanseri hücrelerinde bir araştırma yapmışlardır. Sisplatine dirençli A2780CP yumurtalık kanseri hücreleri, kurkumin ile ön işleme tabi tutulmuş, ardından sisplatin veya radyasyona maruz bırakılmıştır. Sonuçlara bakıldığında Kurkumin ön tedavisi, sisplatine dirençli yumurtalık kanseri hücrelerinin büyümesini engellemek için gereken sisplatin dozunu ve radyasyonu önemli ölçüde azalttığı görülmüştür. Kurkumin ön tedavisi, yumurtalık kanseri terapötiklerini etkili bir şekilde iyileştirebileceğini göstermiş ve ayrıca kurkuminin hedeflenmiş bir PLGA nanoparçacık formülasyonu olasılığını mümkün olabileceğini sunmuşlardır [186]. Biz ise N-Ras genindeki mutasyonları önlemesi amacıyla verdiğimiz kurkuminin etkilerinin gösterdik ve kurkimin bu mutasyonları önlediğini belirledik. Yapmış olduğumuz bu çalışma Yallapu ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmayı desteklemektedir.

Weir ve arkadaşları kurkuminin antikanser özelliklerini araştırmak amacıyla cisplatine dirençli insan ovaryum kanseri hücrelerinde *in vitro* çalışma yapmışlardır. Bu çalışmanın sonucunda kurkuminin insan ovaryum kanseri hücrelerinin proliferasyonunu inhibe ettiğini

ve süperoksit üretimi göstermiştir [26]. Ek olarak G2/M fazı hücre döngüsünde bir tutuklanma olduğu rapor edilmiştir. Bu çalışmada kurkuminin bir antikanser özellikte olduğu vurgulanmıştır. Weir ve arkadaşlarının göstermiş olduğu bu çalışma işe bizim çalışmamışı destekler nitelikte olduğu gözlemlenmiştir.

Kurkuminin üçlü negatif meme kanseri hücreleri üzerindeki etkilerini ve olası moleküler mekanizmalarını araştıran Sun ve ekibi kurkuminin TNBC hücrelerinin çoğalmasını engelleyebildiğini göstermişlerdir. Kurkumin ile tedavi edilen grupta apoptoz seviyesinin kontrol grubuna göre yüksek bulunması ve meme kanseri hücrelerinin büyüme inhibisyon oranlarının da diğer gruplara göre farklı olduğu gösterilmiştir [187]. Sun ve ekibinin yapmış olduğu çalışma bizim çalışmamızı destekler nitelikte olduğu görülmüştür.

Kurkuminin potansiyel preklinik özelliklerini *in vivo* ve *in vitro* yumurtalık kanseri çalışmaları temelinde değerlendirmek amacıyla Terlikowska ve arkdaşlarının derlemiş olduğu makalede kurkumin ve farklı formülasyonlarının, yalnızca platine dirençli primer epitelyal ovaryum kanserinde değil, aynı zamanda çok ilaca dirençli kanser hücreleri modellerinde de antikanser aktivite mekanizmalarını sergilediği belirtilmiştir. Kanıtlar kurkuminin hastalarda ovaryum kanseri tedavi stratejilerinde faydalı bir destek olarak düşünülmesi gerektiğini göstermektedir [188]. Ancak Terlikowska ve arkadaşları kurkuminin antikanser ajan olarak kullanılabilmesi umut olarak gözükse bile daha fazla klinik çalışmalara ihtiyaç duyulması gerektiğini belirtmişlerdir. Yapmış olduğumuz çalışmada kurkuminin ovaryum kanserli yumurta tavuk hücrelerinde antikanser aktivite mekanizmaları göstermiştir. Bu yapılan araştırma bizim sonuçlarımızı destekler niteliktedir.

Jamieson ve arkadaşları ovaryum granüloza hücreli tümörlerinin (GCT) moleküler patogenezi anlaşılamadığını, bu nedenle Ras/raf yolunun aktivasyonunun granüloza hücrelerinde tümörijenik olduğu tahmini yapılacak çalışmada K-Ras protein seviyelerinin düzenlendiğini ve K-Ras'ın sıçan ovaryumun farklılaşmış işlevinde bir rol oynadığını gösterilmiştir. Buna karşılık, H-Ras ve N-Ras protein seviyelerinde, ovaryumun fizyolojik işlevinde değişiklik görülmemiştir. İncelenen dört genin (H-RAs, N-Ras, K-Ras ve Braf) hiçbiri, normal ovaryumlarla karşılaştırıldığında herhangi bir tümör tipinde artmış bir ekspresyon seviyesi göstermediği ortaya konmuştur [189]. Bizim yapmış olduğumuz çalışmada N-Ras geninde mutasyon görülmüş ve bunun üzerine bizim kullanmış olduğumuz kurkuminin ise N-Ras genindeki mutasyonu düzelterek tümör küçülmesi görülmüştür. Bizim

yapmış olduğumuz çalışmada N-Ras geninin sebebiyet verdiği bir değişiklik görüldüğü için bizim çalışmamızla uyuşma bulunmamaktadır.

Yen ve arkadaşlarının yapmış olduğu diğer bir çalışmada insan ovaryum kanseri hücre hattı A2780 üzerinde kurkuimin etkisini incelemişlerdir. 6-24 saat süreyle 10-50 µmol / L kurkumin ile tedaviden sonra kurkuimin A2780 hücre hattında NF-κB protein ekspresyonunu azaltırken, kaspaz-3'ün ekspresyonu zamana bağlı bir şekilde arttırmıştır. Bu yaptıkları çalışmayla kurkuminin insan ovaryum hücrelerinde kurkuminin kemopreventif etkisi olduğunu kanıtlamışlardır [31]. Yapmış oldukları bu araştırmayla bizim yapmış olduğumuz çalışmada aynı şekilde kurkuminin kemopreventif bir etkisinin olduğu gösterdik. Yen ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışma ile bizim yapmış olduğumuz çalışmaya destekler niteliktedir.

Chang ve ekibi çoklu oral keratinosit tiplerinde IGFBP-5 ekspresyonunun bir indükleyicisi olarak tanımlamışlar ve kurkumin, SAS oral kanser hücrelerinde IGFBP-5 promotör aktivitesini indüklemektedir. Sonuçlar kurkuminin p38'i aktive ettiği ve IGFBP-5 promotöründeki bağlayıcı elementlerle etkileşime girerek C/EBPα transaktivatörünü aktive ettiği sonucuna varılmıştır. Bu da C/EBPα ve IGFBP-5'in kurkumin tarafından düzenlenmesine ve oral karsinojenezin baskılanması için çok önemli olduğu sonucuna varılmıştır [190]. Chang ve ekibinin yapmış olduğu bu çalışmada kurkuminin karsinojenezi baskıladığı sonucu ve bizim yapmış olduğumuz çalışmada da kurkuminin bir şekilde karsinojenezi baskılama ve N-Ras gen ekspresyonunda dejenereatif etkisi ortaya koyulması bizim çalışmamızla benzerlik bulunmaktadır.

Rahman ve arkadaşlarının kolon kanseri üzerinde kurkumnin etkisini değerlendirmeyi amaçladıkları çalışmada kurkuminin, kolon dokusunda olumlu bir şekilde değişim gösterdiğini raporlamalarının yanı sıra, β-katenin ve K-ras genlerinin ekspresyon seviyelerinde ise önemli bir azalma tespit ettiklerini bildirmişlerdir [13]. Rahman ve arkadaşlarının yapmış olduğu bu çalışma ile bize kurkuminin bir kez daha antikanser bir özellikte olduğunu aynı zamanda antiproleratif birt etkiye sahip olduğunu da eklemişlerdir. Yaptığımız çalışma Rahman ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmayı desteklemektedir.

Kim ve çalışma ekibi, kurkuminin antiinvazif etkisini göstermek için H-ras'la mutasyona uğratılmış göğüs epitel hücrelerinde incelenmişler, H-ras fenotipinin kurkumin tarafından

inhibe edildiği raporlanmış ve kurkuminin MMP-2'yi aktive edildiği gösterilmiş ve kurkuminin bu durumda göğüs kanserinde kullanılabilir olduğunu raporlamışlardır [22]. Yaptığımız çalışmada bizde N-Ras geninin kanserli hücrelerde azalama görülmesinin DNA tamir mekanizmasının kurkumin tarafından aktive edildiğini ortaya koyduk. Kim ve çalışma ekibinin yapmış olduğu çalışma ve yapmış olduğumuz bu çalışma benzerlik göstermektedir.

Liu ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada kurkuminin ovaryum kanserinde etki mekanizmalarının araştırılması ve otofaji etkisi incelemek istemişlerdir. Çalışma sonuçlarına bakıldığında kurkuminin, AKT/mTOR yolunu inhibe ettiğini ve hücre otofajisini indükleyebildiğini göstermişlerdir [30]. Bu da göstermiştir ki kurkuminin kullanımı ovaryum kanserinde bir tedavi yöntemi olabilir. Liu ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada ek olarak otofaji incelemesi yapılmış olup bu durumunda bir olumlu etki yarattığını raporlamışlardır. Yani yaptıkları çalışma bizim yapmış olduğumuz çalışmayı destekler niteliktedir.

Rowe ve arkadaşları bir meme kanseri tipi olan üçlü negatif meme kanseri üzerinde kurkuminin etkilerini görmeyi amaçladıkları çalışmada kurkuminin üçlü negatif meme kanseri hücrelerinde DNA hasarı meydana getirdiği raporlanmıştır. Ek olarak kurkuminin spesifik olmayan toksisiteye sahip olabileceği düşünülmüştür. Bu çalışma kurkuminin ve kurkumin analoglarının daha fazla test edilmesi gerektiğini ve çalışmaların arttırılması gerektiğini önermişlerdir [191]. Rowe ve arkadaşları kurkuminin göğüs kanserinde bir etkiyi net olarak ortaya koyamamışlar ve ek çalışmalar yapılması gerektiğini göstermişlerdir. Biz ise yapmış olduğumuz yumurta tavuklarında kurkuminin N-Ras geninde mutasyonların giderildiğini ve kanser üzerinde iyileştirici bir etkisinin olabileceği tespit edilmiştir.

Zhang ve ekibi kukuminin onkoprotein hücre bölünme döngüsü 20'nin (Cdc20) inhibisyonu yoluyla anti-kanser işlevini araştırmışlardır. Sonuç olarak yapmış oldukları bu çalışmada kurkuminin pankreas kanseri hücrelerinde hücre büyümesini inhibe ettiğini, apoptozu arttırdığını, hücre döngüsü durmasını indüklediğini ve hücre istilasını geciktirdiğini raporlamışlardır. Ayrıca, kurkuminin pankreas kanseri hücrelerinde Cdc20 ekspresyonunu önemli ölçüde inhibe ettiği de gözlemlenmiştir [192]. Bizim çalışmamızda ise kurkuminin ovaryum kanserli hücreleri baskıladığı tespit edilmiş olup, Zhang ve ekibinin yaptıkları bu çalışma bizim çalışmamızı desteklemektedir.

O'Sullivan ve arkadaşları kurkuminin özofagus kanseri hücre dizileri paneli üzerindeki etkilerinin incelenmesinin amaçlandığı çalışmada kurkumin tedavisinin 24 saat içinde tüm hücre hatlarının canlılığını azalttığını sonuçlandırmışlardır. Bu sonucun kurkuminin, apoptoz indüksiyonuna bağlı olmayan bir mekanizma ile hücre ölümünü indükleyebileceğini ve bu nedenle özofagus kanserinin önlenmesi ve tedavisi için umut verici bir antikanser ajanı temsil ettiğini yorumlamışladır [193]. Yaptığımız çalışmada kurkuminin ovaryum kanserli yumurta tavuklarında baskılayıcı bir etki oluşturduğunu ve antikanser bir ajan olabileceğini gösterdik. Bizim çalışmamız O'Sullivan ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmayı desteklemektedir.

İnsan ovaryum kanseri hücre hattı Ho-8910'da kurkuminin büyüme ve apoptoz üzerindeki etkilerini araştıran Shi ve arkadaşlarının verileri, kurkuminin Ho-8910 hücrelerinde büyümeyi önemli ölçüde engelleyebildiğini ve apoptozu indükleyebildiğini ortaya koymakla beraber kurkumin ile tedavi edilen hücrelerde p53 ve Bax seviyeleri arttırdığını göstermişlerdir. Bu aktivitelerin kurkuminin antikanserojenik etkisine katkıda bulunabildiğini sunmuşlardır [27]. Bizim çalışmamızda ovaryum kanserli yumurta tavuklarında kurkuminin aynı şekilde kanser hücrelerinde büyümeyi engellediğini ortaya koyduk. Shi ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışma bizim çalışmamızı desteklemektedir.

He ve ekibi Ocak 2000 ve Haziran 2007 arasında 126 koleraktal kasnerine sahip olan hastalarla yapmış oldukları oral kurkumin verilmesinin bu hastalar üzerinde ne gibi sonuçların çıkacağını öngördükleri çalışmada kurkuminin oral yolla verilmesi sonucunda hastalarda serum TNF-α seviyelerini azaldığını, p53 molekülünün ekspresyonunun arttığı ve tümör hücrelerinin apoptotik yola gittiği görülmüş olup kurkuminin oral yolla alınmasının tümör hücrelerinin apoptoza giderek tümör hücrelerinde kayıp meydana getirerek kanseri önleme konusunda fikir birliğine varmışlardır [16]. Yaptıkları bu çalışmada kurkuminin oral yolla veriliş dozu 360 mg dır. Bizim çalışmamızda ise yumurta tavuklarına verdiğimiz 200-400 gr olmakla birlikte yemle birlikte karışık olarak verilmiştir. He ve ekibinin bu yapmış olduğu çalışmada verilen miktar insanlar için kullanılabilen dozu da göstermiş olup bizim çalışmamızı desteklemektedir.

Tarek ve arkadaşları kurkumini, β karoten ve buğday kepeğini gözlemlemek amacıyla kolerak kanser ile indüklenmiş sıçanlarda etkilerine bakılmış olup K-ras gen mutasyon sıklığının azalmış olduğu gözlemlenmiş olup kanser hücrelerini inhibe ettiği sonucu

bulunmuştur [8]. Tarek ve arkadaşları kurkuminin yanı sıra diğer maddeleri de ele almışlardır. Tarek ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışma bizim çalışmamızı da desteklemektedir.

Gülle ve arkadaşları kurkuminin koruyucu etkisinin olup olmadığını ve ayrıca hücre çekirdeklerinde oluşan DNA hasarlarını tamir edebilen Poli (ADP-riboz) polimeraz 1 (PARP-1) emzini histokimyasal boyama ile folliküler atrezi üzerinde gösterilmesi amaçlanan çalışmada radyasyona maruz bırakılmadan önce 100 mg oral yolla kurkumin sıçanlara verilmiş olup 4 gün sonra ovaryum dokuları incelendiğinde radyasyona maruz bırakılmış ve kurkumin verilen grupta folliküler atrezi oranının daha düşük olduğu görülmüş olup kurkuminin radyasyona bağlı hasarı engellediği ve dokudaki hasarı önleyici bir ektisinin olduğu kanısına varmışlardır [194]. Yapmış olduğumuz çalışmada biz kurkuminin kanser üzerindeki etkisinin DNA tamir mekanizmasını aktifleştirerek bu tip kanser önleyici ve tedavi bir madde olduğunu göstermiştir. Gülle ve arkadaşlarının yaptıkları bu çalışma bizim çalışmamızı destekler niteliktedir.

Cai ve arkadaşları ovaryum kanser hücre hatlarında kurkumin ve triptolidin *in vitro* olarak kanser büyümesini baskıladığını açıklamak için yapmış oldukları çalışmada kurkumin ve triptolid kombinasyonu ovaryum kanseri hücresinde büyümeyi inhibe ettiğini ve apotoza indüklediği gösterilmiş olup kurkumin-triptolit kombinasyonunun ovaryum kanseri üzerinde anti tümör etkisi olduğu ve klinik uygulamayla beraber daha iyi potansiyele varacağı sonucunu göstermişlerdir [33]. Ovaryum kanserli tavuk yumurtalarında kurkuminin N-Ras geni ekspresyonu üzerindeki etkisini araştırmayı amaçlamış olduğumuz çalışmamızda kurkumin verdiğimiz tavuklarda verilmeyenlere göre mutasyon oranlarında düşüşler saptanmıştır. Cai ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmayla uyumlu olarak kurkuminin ovaryum kanserini önleme de klinik çalışmalar için etken bir madde olabileceği sonucuna varılmıştır.

Seo ve çalışma ekibi, STAT 3 aktivatörlerini ve tümör hücre istilasını ve metaztası uyaran bir biyolipid olan lizofosfatidik asit (LPA) ile indüklenen ovaryum kanseri üzerinde kurkuminin etkisi incelenmek amacıyla yapılan çalışmada hücrelerin kurkumin ile tedavisinde LPA kaynaklı IL-6 ve IL-8 salgılanmasını ve STAT3 fosforilasyonunu inhibisyonunu sağlayarak ovaryum kanseri hücre hareketliliğini bloke ettiği görülmüş olup, bu çalışmanın STAT3' ün ovaryum kanseri hücre hareketliliğinde kritik rolü olduğunu ve bu

sürecinde kurkumin tarafından önlenebileceğini göstermişlerdir [195]. Bizim çalışmamızda ovaryum kanserli tavuk yumurtalarında kurkumin verilen grupta N-Ras geni mutasyon oranlarında anlamlı düşüşler kaydedilmiştir. Seo ve çalışma ekibinin yaptıkları bu çalışma ile bağlantılı olarak kurkuminin kanser üzerinde önleyici bir etkisinin var olduğu tespit edilmiştir.

GBC-SD safra kesesi karsinomu hücre hattıdır Liu ve arkadaşları, bu hücre hattında kurkuminin apoptozu indükleyip indükleyemeyeceğini belirleyerek ilgili mekanizmayı netleştirmek için bir yaptıkları çalışmada kurkuminin zamana ve doza bağlı olarak hücre canlılığında bir azalma saptamışlardır. Kurkumin ile tedavi edilen grupta S fazında tutuklanma gözlemlenmiştir. Yapılan western blot ve QT Real Time PCR deneyleri, kurkuminin, Bcl-2/Bax oranının düzenlenmesini ve parçalanmış kaspaz-3 ekspresyonunu aktivasyonun sağlayarak GBC-SD hücrelerinde apoptozu indüklediğini göstermişlerdir [196]. Bizim çalışmamızda kurkuminin DNA tamir mekanizmalarında etkili olduğu ve apoptozis yolağına yönlendirebileceği belirlenmiştir. Bu yolda kanser hücrelerinde azalma görülmektedir. Liu ve arkadaşlarının çalışması bizim çalışmamızı destekler niteliktedir.

Lu ve arkadaşları kolorektal karsinom HCT116 hücrelerinde kurkuminin hücre döngüsünü durduğunu belirttikleri çalışmada, kurkumin HCT116 hücrelerinde DNA hasarını önemli ölçüde indüklemiştir ve S ve G2/M fazı durmasına aracılık ettiğini bildirmişlerdir [197]. Yapmış olduğumuz çalışma Lu ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmayı desteklemektedir.

Kurkimin ile mutasyon tamiri arasındaki ilişki, özellikle spontan mutasyonların DNA’daki tamirindeki etkisini ortaya çıkarması bakımında önemli bir bulgu olarak elde edilmiştir. DNA’daki mutasyonların DNA tamir mekanizmaları ile tamirine kurkiminin etkisi ve epigenetik değişimlere olan katkısı, tümör gelişimi, apoptozis ve metastazındaki önleyici etkisi daha ön plana çıkardığı; çalışmamızın önemli çıktıları arasındadır. Koleraktal kanserlerinde Oksaliplatin (L-OHP) direnci vardır. Kolorektal tümörlerin L-OHP'ye direnç mekanizması, kanser hücreleri tarafından eksprese edilen miRNA'lar tarafından ERCC1'in düzenlenmesi ile ilgili olabileceği düşünülmüştür. Kurkuminin ne şekilde bir cevap mekanizması oluşturabileceği çalışmada kurkuminin ERCC1 ekspresyonu üzerine etki ederek L-OHP’ye direnci düşürerek koleraktal kanserinin üstesinden gelebilir [198].

Sonuç olarak, diyete ilave edilen kurkumin ile uzun süreli beslenen ve insanlar için önemli bir preklinik model olan yumurta tavuklarında, over kanser insidansı, adenokarsinoma insidansı, tümör sayısı ve boyutunu azalmıştır. Ayrıca, kurkuminin DNA tamir mekanizmalarında görev alan bazı proteinlerin sentezini artırarak DNA tamir mekanizmalarının aktivasyonuna katkı sağlayarak spontan gelişen tümörlerdeki DNA gen değişimlerinin tamir edilmesine önemli katkıda bulunduğu sonucuna varılmıştır. Bu çalışma, kurkuminin insanlarda over kanseri üzerine etkilerini belirlemek için yapılacak klinik çalışmalar için yararlı olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Qadir, M. I., Naqvi, S. T. Q., Muhammad, S. A., Qadir, M., ve Naqvi, S. T., (2016). Curcumin: a polyphenol with molecular targets for cancer control. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 17(6), 2735-2739.

2. Mansouri, K., Rasoulpoor, S., Daneshkhah, A., Abolfathi, S., Salari, N., Mohammadi, M., ve Shabani, S. (2020). Clinical effects of curcumin in enhancing cancer therapy: A systematic review. *BMC cancer*, 20(1), 1-11.

3. Ghosh, A., D. Ghartimagar, ve S. Thapa, (2016). Oncogenes-the basics. *Journal of Biomedical Sciences*, 3(4), 35-37.

4. Pritchard, A.L. ve N.K. Hayward, (2013). Molecular pathways: mitogen-activated protein kinase pathway mutations and drug resistance. *Clinical Cancer Research*, 19(9), 2301-2309.

5. Kodaz, H., Kostek, O., Hacioglu, M. B., Erdogan, B., Kodaz, C. E., Hacibekiroglu, I., ve Cicin, I., (2017). Frequency of RAS mutations (KRAS, NRAS, HRAS) in human solid cancer. *Breast Cancer*, 7(5), 1-7.

6. Prasad, S. ve B. Aggarwal, (2011). Chapter 13, Turmeric, the Golden Spice. *Herbal Medicine: Biomolecular and Clinical Aspects* (2nd edition). USA: CRC Press/Taylor & Francis, 263-282.

7. Hatcher, H., Planalp, R., Cho, J., Torti, F. M., ve Torti, S. V., (2008). Curcumin: from ancient medicine to current clinical trials. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 65(11), 1631-1652.

8. T., Elmaghraby, T., Korraa, S. S., Maher, M. M., ve Hassan, N. H., (2010). Ameliorating effect of wheat bran, Beta-carotene and Curcumin on K-ras gene mutations and expression of ntioxidant enzymes in rat colon cancer. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, 3(2), 497-520.

9. Thongnopkoon, T. ve C. Chittasupho, (2018). Curcumin composite particles prepared by spray drying and *in vitro* anti-cancer activity on lung cancer cell line. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 45, 397-407.

10. Shankar, S., Chen, Q., Sarva, K., Siddiqui, I., ve Srivastava, R. K., (2007). Curcumin enhances the apoptosis-inducing potential of TRAIL in prostate cancer cells: molecular mechanisms of apoptosis, migration and angiogenesis. *Journal of Molecular Signaling*, 2(1), 1-14.

11. Zhou, X., Su, J., Feng, S., Wang, L., Yin, X., Yan, J., ve Wang, Z., (2016). Antitumor activity of curcumin is involved in down-regulation of YAP/TAZ expression in pancreatic cancer cells. *Oncotarget*, 7(48), 79076-79088.

12. Limtrakul, P. N., Anuchapreeda, S., Lipigorngoson, S., ve Dunn, F. W., (2001). Inhibition of carcinogen induced c-Ha-ras and c-fos proto-oncogenes expression by dietary curcumin. *BMC cancer*, 1(1), 1-7.

13. Abdel-Rahman, M., Ahmed, H. H., Salem, F. E. Z. H., Shalby, A. B., ve Lokman, M. S., (2013). Curcuma longa and colon cancer: evidence and mechanisms. *World Journal of Medical Sciences*, 8(3), 279-295.

14. Gururaj, A. E., Belakavadi, M., Venkatesh, D. A., Marmé, D., ve Salimath, B. P., (2002). Molecular mechanisms of anti-angiogenic effect of curcumin. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 297(4), 934-942.

15. Ono, M., Higuchi, T., Takeshima, M., Chen, C., ve Nakano, S, (2013). Differential anti-tumor activities of curcumin against Ras-and Src-activated human adenocarcinoma cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 436(2), 186-191.

16. He, Z. Y., Shi, C. B., Wen, H., Li, F. L., Wang, B. L., ve Wang, J., (2011). Upregulation of p53 expression in patients with colorectal cancer by administration of curcumin. *Cancer İnvestigation*, 29(3), 208-213.

17. Wei, X., Du, Z. Y., Zheng, X., Cui, X. X., Conney, A. H., & Zhang, K., (2012). *S*ynthesis and evaluation of curcumin-related compounds for anticancer activity. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 53, 235-245.

18. Hail Jr, N., (2008). Mitochondrial reactive oxygen species affect sensitivity to curcumin-induced apoptosis. *Free Radical Biology and Medicine*, 44(7), 1382-1393.

19. Khan, A. Q., Ahmed, E. I., Elareer, N., Fathima, H., Prabhu, K. S., Siveen, K. S., ve Uddin, S., (2020). Curcumin-Mediated Apoptotic Cell Death in Papillary Thyroid Cancer and Cancer Stem-Like Cells through Targeting of the JAK/STAT3 Signaling Pathway. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(2), 438.

20. Quispe-Soto, E.T. ve G.M. Calaf, (2016). Effect of curcumin and paclitaxel on breast carcinogenesis. *International Journal of Oncology*, 49(6), 2569-2577.

21. Xu, Y., Zhang, J., Han, J., Pan, X., Cao, Y., Guo, H., ve Li, X., (2012). Curcumin inhibits tumor proliferation induced by neutrophil elastase through the upregulation of α1-antitrypsin in lung cancer. *Molecular Oncology*, 6(4), 405-417.

22. Kim, M.-S. ve A. Moon, (1999). Curcumin inhibits invasive phenotype of H-ras transformed human breast epithelial cells and suppresses matrix metalloproteinase-2 activity. *Journal of Korean Association of Cancer Prevention*, 4(3), 119-126.

23. Yang, C. H., Yue, J., Sims, M., ve Pfeffer, L. M., (2013). The curcumin analog EF24 targets NF-κB and miRNA-21, and has potent anticancer activity in vitro and in vivo. *PloS One*, 2013. 8(8), e71130.

24. Zhong, Y., Feng, J., Li, J., ve Fan, Z., (2017). Curcumin prevents lipopolysaccharide-induced matrix metalloproteinase-2 activity via the Ras/MEK1/2 signaling pathway in rat vascular smooth muscle cells. *Molecular Medicine Reports*, 16(4), 4315-4319.

25. Saydmohammed, M., D. Joseph, ve V. Syed, (2010). Curcumin suppresses constitutive activation of STAT-3 by up-regulating protein inhibitor of activated STAT-3 (PIAS-3) in ovarian and endometrial cancer cells. *Journal of Cellular Biochemistry*, 110(2), 447-456.

26. Weir, N. M., Selvendiran, K., Kutala, V. K., Tong, L., Vishwanath, S., Rajaram, M., ve Kuppusamy, P., (2007). Curcumin induces G2/M arrest and apoptosis in cisplatin-resistant human ovarian cancer cells by modulating Akt and p38 MAPK. *Cancer Biology & Therapy*, 6(2), 178-184.

27. Shi, M., Cai, Q., Yao, L., Mao, Y., Ming, Y., ve Ouyang, G., (2006). Antiproliferation and apoptosis induced by curcumin in human ovarian cancer cells. *Cell biology International*, 30(3), 221-226.

28. Wahl, H., Tan, L., Griffith, K., Choi, M., ve Liu, J. R., (2007). Curcumin enhances Apo2L/TRAIL-induced apoptosis in chemoresistant ovarian cancer cells. *Gynecologic Oncology*, 105(1), 104-112.

29. Lin, Y. G., Kunnumakkara, A. B., Nair, A., Merritt, W. M., Han, L. Y., Armaiz-Pena, G. N., ve Sood, A. K., (2007). Curcumin inhibits tumor growth and angiogenesis in ovarian carcinoma by targeting the nuclear factor-κB pathway. *Clinical Cancer Research*, 13(11), 3423-3430.

30. Liu, L. D., Pang, Y. X., Zhao, X. R., Li, R., Jin, C. J., Xue, J., ve Liu, P. S., (2019). Curcumin induces apoptotic cell death and protective autophagy by inhibiting AKT/mTOR/p70S6K pathway in human ovarian cancer cells. *Archives of Gynecology and Obstetrics*, 299(6), 1627-1639.

31. Yen, H. Y., Tsao, C. W., Lin, Y. W., Kuo, C. C., Tsao, C. H., ve Liu, C. Y., (2019) Regulation of carcinogenesis and modulation through Wnt/β-catenin signaling by curcumin in an ovarian cancer cell line. *Scientific Reports*, 9(1), 1-14.

32. Li-duan, Z., T. Qiang-song, ve W. Cui-huan, (2006). Growth inhibition and apoptosis inducing mechanisms of curcumin on human ovarian cancer cell line A2780. *Chinese Journal of Integrative Medicine*, 12(2), 126-131.

33. Cai, Y. Y., Lin, W. P., Li, A. P., ve Xu, J. Y., (2013). *C*ombined effects of curcumin and triptolide on an ovarian cancer cell line. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 14(7), 4267-4271.

34. Kim, M.-S., H.-J. Kang, ve A. Moon, (2001). Inhibition of invasion and induction of apoptosis by curcumin in H-ras-transformed MCF10A human breast epithelial cells. *Archives of Pharmacal Research*, 24(4), 349-354.

35. Youssef, A.R., A.-M. Fouda, ve O.S. Eldin, (2018). Curcumin Enhances Chemosensitivity and Apoptosis in T24 Bladder Cancer Cells through Inhibition of the Ras/MAPK Signaling Pathway. *Advances in Medicine and Medical Research*, 1(1), 39-48.

36. Wu, C. S., Wu, S. Y., Chen, H. C., Chu, C. A., Tang, H. H., Liu, H. S., ve Su, C. L., (2019). Curcumin functions as a MEK inhibitor to induce a synthetic lethal effect on KRAS mutant colorectal cancer cells receiving targeted drug regorafenib. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 74, 108227.

37. Krishnamoorthy, S. K., Relias, V., Sebastian, S., Jayaraman, V., ve Saif, M. W., (2015). Management of regorafenib-related toxicities: a review. *Therapeutic Advances in Gastroenterology*, 8(5), 285-297.

38. Murugan, A.K., M. Grieco, ve N. Tsuchida, (2019). RAS mutations in human cancers: Roles in precision medicine. *Seminars in Cancer Biology*, 59, 23-35.

39. Barua, A., Bitterman, P., Abramowicz, J. S., Dirks, A. L., Bahr, J. M., Hales, D. B., ve Luborsky, J. L. (2009). Histopathology of ovarian tumors in laying hens: a preclinical model of human ovarian cancer. *International Journal of Gynecologic Cancer*, 19(4), 531-539.

40. Tiwari, A., Hadley, J. A., ve Ramachandran, R. (2020). Characterization of ascites-derived aldehyde dehydrogenase–positive ovarian cancer stem cells isolated from Leghorn chickens. *Poultry Science*, 99(4), 2203-2214.

41. Jose, I. ve E.C. Schirmer, (2014). The nuclear envelope and cancer: a diagnostic perspective and historical overview, *in Cancer Biology and the Nuclear Envelope*. 5-26.

42. Ackerknecht, E.H., (1958). Historical notes on cancer. *Medical history*, 2(2), 114-119.

43. Bose, K. ve P. Chaudhari, (2019). Unravelling Cancer Signaling Pathways: A Multidisciplinary Approach. *Springer*. 2-3.

44. Faguet, G.B., (2015). A brief history of cancer: age-old milestones underlying our current knowledge database. *International Journal of Cancer*, 136(9), 2022-2036.

45. Blackadar, C.B., (2016). Historical review of the causes of cancer. *World Journal of Clinical Oncology*, 7(1), 54-86.

46. A., A.L., (2012). *Fundamental Molecular Biology.* (2nd edition). USA: John Wiley & Sons, Inc., 546.

47. Iwasa Janet, W.M., (2016). *Karp's Cell and Molecular Biology Concepts and Experiments*, (8th edition). USA: Wiley, 627.

48. Lodish Harvey, B.A., Matsudaira Paul, Kaiser Chris A., Krieger Monty, Scott Matthew P., Zipursky Lawrence, Darnell James, (2008). *Molecular Cell Biology*, USA: W. H. Freeman, 943.

49. Klug William S., C.M.R., Spencer Charlotte A., Palladino Michael A., Killian Darrell J., (2019). *Concepts of Genetics*. (12nd edition). USA: Pearson, 579.

50. Shukla Kamla Kant, S.P., Misra Sanjeev, (2019) *Molecular Diagnostics in Cancer Patients.* (1st edition) Singapore: Springer Nature Singapore Pte Ltd., 1-2.

51. Howell, G.M., S.P. Hodak, ve L. Yip, (2013). RAS mutations in thyroid cancer. *The Oncologist*, 18(8), 926.

52. Prior, I.A., P.D. Lewis, ve C. Mattos, (2012). A comprehensive survey of Ras mutations in cancer. *Cancer Research*, 72(10), 2457-2467.

53. Fernández-Medarde, A. ve E. Santos, (2011). Ras in cancer and developmental diseases. *Genes & Cancer*, 2(3), 344-358.

54. Rojas, J.M. ve E. Santos, (2002). Ras genes and human cancer: different implications and different roles. *Current Genomics*, 3(4), 295-311.

55. Hobbs, G.A., C.J. Der, ve K.L. Rossman, (2016). RAS isoforms and mutations in cancer at a glance. *Journal of Cell Science*, 129(7), 1287-1292.

56. Saxena, N., Lahiri, S. S., Hambarde, S., ve Tripathi, R. P., (2008). RAS: target for cancer therapy. *Cancer Investigation*, 26(9), 948-955.

57. Rajasekharan, S. veT. Raman, (2013). Ras and Ras mutations in cancer. *Open Life Sciences*, 8(7): 609-624.

58. Macaluso, M., Russo, G., Cinti, C., Bazan, V., Gebbia, N., ve Russo, A., (2002). Ras family genes: an interesting link between cell cycle and cancer. *Journal of Cellular Physiology*, 192(2), 125-130.

59. Muñoz-Maldonado, C., Y. Zimmer, ve M. Medová, (2019). A comparative analysis of individual RAS mutations in cancer biology. *Frontiers in Oncology*, 9, 1088.

60. Prior, I.A., F.E. Hood, ve J.L. Hartley, (2020). The frequency of Ras mutations in cancer. *Cancer Research*, 80(14), 2969-2974.

61. Gurung, A.B. ve A. Bhattacharjee, (2015). Significance of Ras Signaling in Cancer and Strategies for its Control. *Oncology & Hematology Review*, 11, 147-152.

62. Bowen, D. T., Frew, M. E., Hills, R., Gale, R. E., Wheatley, K., Groves, M. J., ve Linch, D. C., (2005). RAS mutation in acute myeloid leukemia is associated with distinct cytogenetic subgroups but does not influence outcome in patients younger than 60 years. *Blood*, 106(6), 2113-2119.

63. Nussinov, R., C.-J. Tsai, ve C. Mattos, (2013). 'Pathway drug cocktail': targeting Ras signaling based on structural pathways. *Trends in Molecular Medicine*, 19(11), 695-704.

64. Sturkie, P. D., (1986). *Avian Physiology* (4th Edition). USA: Springer Science & Business Media, 404.

65. Pollock, C. G., ve Orosz, S. E. (2002). Avian reproductive anatomy, physiology and endocrinology. *Veterinary Clinics: Exotic Animal Practice*, 5(3), 441-474.

66. Neff, R.T., L. Senter, ve R. Salani, (2017). BRCA mutation in ovarian cancer: testing, implications and treatment considerations. *Therapeutic Advances İn Medical Oncology*, 9(8), 519-531.

67. Reid, B.M., J.B. Permuth, ve T.A. Sellers, (2017). Epidemiology of ovarian cancer: a review. *Cancer Biology & Medicine*, 14(1), 9-32.

68. Neff, R.T., L. Senter, ve R. Salani, (2017). BRCA mutation in ovarian cancer: testing, implications and treatment considerations. *Therapeutic Advances in Medical Oncology*, 9(8), 519-531.

69. Reid, B.M., J.B. Permuth, ve T.A. Sellers, (2017). Epidemiology of ovarian cancer: a review. *Cancer Biology & Medicine*, 14(1), 9-32.

70. Kwa, M. ve F. Muggia, (2014). Ovarian cancer: a brief historical overview of intraperitoneal trials. *Annals of Surgical Oncology*, 21(5), 1429-1434.

71. Stewart, C., C. Ralyea, ve S. Lockwood, (2019). Ovarian cancer: an integrated review. *Seminars in Oncology Nursing*. 35(2), 151-156.

72. Yeung, T. L., Leung, C. S., Yip, K. P., Yeung, C. L. A., Wong, S. T., ve Mok, S. C., (2015). Cellular and molecular processes in ovarian cancer metastasis. A Review in the Theme: Cell and Molecular Processes in Cancer Metastasis. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 309(7), C444-C456.

73. Kurman, R.J., (2013). Origin and molecular pathogenesis of ovarian high-grade serous carcinoma. *Annals of Oncology*, 24(10), 16-21.

74. Girolimetti, G., Perrone, A. M., Santini, D., Barbieri, E., Guerra, F., Ferrari, S., ve Turchetti, D., (2014). BRCA-associated ovarian cancer: from molecular genetics to risk management. *BioMed Research International*, 2014, 1-12.

75. Du, W., Hu, H., Zhang, J., Bao, G., Chen, R., ve Quan, R., (2019). The Mechanism of MAPK Signal Transduction Pathway Involved with Electroacupuncture Treatment for Different Diseases. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2019, 1-11.

76. Dhillon, A. S., Hagan, S., Rath, O., ve Kolch, W., (2007): MAP kinase signalling pathways in cancer. *Oncogene*, 26(22), 3279-3290.

77. Pazarbaşı, A., M. Kasap, ve H. Kasap, (2011). Kanser Yolakları. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 20(4), 187-229.

78. Huang, P., J. Han, ve L. Hui, (2010). MAPK signaling in inflammation-associated cancer development. *Protein & Cell*, 1(3), 218-226.

79. N., S.T.C. ve U. Yiğit, (2010). Hücre içi sinyal yolakları ve klinik yansımaları. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 19(3), 180-191.

80. Silva-García, O., J.J. Valdez-Alarcón, ve V.M. Baizabal-Aguirre, (2014). The Wnt/β-catenin signaling pathway controls the inflammatory response in infections caused by pathogenic bacteria. *Mediators of Inflammation*, 2014, 1-8.

81. Ochoa-Hernández, A. B., Juárez-Vázquez, C. I., Rosales-Reynoso, M. A., ve Barros-Núñez, P., (2012). Wnt-β-catenina signaling pathway and its relationship with cancer. *Cirugia y Cirujanos*, 80(4), 389-398.

82. MacDonald, B.T., K. Tamai, ve X. He, (2009). Wnt/β-catenin signaling: components, mechanisms, and diseases. *Developmental Cell*, 17(1), 9-26.

83. Hemmings, B.A. ve D.F. Restuccia, (2012). Pi3k-pkb/akt pathway. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 4(9), a011189.

84. Doğan, A.L. ve D. Güç, (2004) Sinyal iletimi mekanizmaları ve kanser. *Acta Medica*, 35(1), 34-42.

85. Yang, J., Nie, J., Ma, X., Wei, Y., Peng, Y., ve Wei, X., (2019). Targeting PI3K in cancer: mechanisms and advances in clinical trials. *Molecular Cancer*, 18(1), 1-28.

86. Rawlings, J.S., K.M. Rosler, ve D.A. Harrison, (2004). The JAK/STAT signaling pathway. *Journal of Cell Science*, 117(8), 1281-1283.

87. Harrison, D.A., (2012). The jak/stat pathway. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 4(3), a011205.

88. Thomas, S. J., Snowden, J. A., Zeidler, M. P., ve Danson, S. J., (2015). The role of JAK/STAT signalling in the pathogenesis, prognosis and treatment of solid tumours. *British Journal of Cancer*, 113(3), 365-371.

89. Moynagh, P.N., (2005). The NF-κB pathway. *Journal of Cell Science*, 118(20), 4589-4592.

90. Liu, T., Zhang, L., Joo, D., ve Sun, S. C., (2017). NF-κB signaling in inflammation. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2(1), 1-9.

91. Siomek, A., (2012). NF-κB signaling pathway and free radical impact. *Acta Biochimica Polonica*, 59(3), 323-331.

92. Xia, L., Tan, S., Zhou, Y., Lin, J., Wang, H., Oyang, L., ve Liao, Q., (2018). Role of the NFκB-signaling pathway in cancer. *OncoTargets and Therapy*, 11, 2063-2073.

93. Park, M.H. ve J.T. Hong, (2016). Roles of NF-κB in cancer and inflammatory diseases and their therapeutic approaches. *Cells*, 2016. 5(2), 15.

94. Dolcet, X., Llobet, D., Pallares, J., ve Matias-Guiu, X., (2005). NF-κB in development and progression of human cancer. *Virchows Archiv*, 446(5), 475-482.

95. Martin, M., Hartley, A. V., Jin, J., Sun, M., ve Lu, T., (2019). Phosphorylation of NF-κB in Cancer, Adenosine Triphosphate in Health and Disease. *IntechOpen*, 3, 47-56.

96. Sun, S.-C., (2011). Non-canonical NF-κB signaling pathway. *Cell Research*, 21(1), 71-85.

97. Murray-Stewart, T. ve R. Casero, (2017). Regulation of polyamine metabolism by curcumin for cancer prevention and therapy. *Medical Sciences*, 5(4), 38.

98. Shanmugam, M. K., Rane, G., Kanchi, M. M., Arfuso, F., Chinnathambi, A., Zayed, M. E., ve Sethi, G., (2015). The multifaceted role of curcumin in cancer prevention and treatment. *Molecules*, 20(2), 2728-2769.

99. Yadav, V.R. ve B.B. Aggarwal, (2011). Curcumin: a component of the golden spice, targets multiple angiogenic pathways. *Cancer Biology & Therapy*, 11(2), 236-241.

100. Bandyopadhyay, D., (2014). Farmer to pharmacist: curcumin as an anti-invasive and antimetastatic agent for the treatment of cancer1. *Frontiers in Chemistry*, 2, 113.

101. Ayman, E. L., Hassan, S. M., Mohamed, A. M. M., ve Mohammed, H. M. A., (2019). Tumeric or Curcuma longa Linn, in Nonvitamin and Nonmineral Nutritional Supplements, *Elsevier*. 447-453.

102. Zorofchian Moghadamtousi, S., Abdul Kadir, H., Hassandarvish, P., Tajik, H., Abubakar, S., & Zandi, K., (2014). A review on antibacterial, antiviral, and antifungal activity of curcumin. *BioMed Research International*, 2014, 1-13.

103. Naz, S., Jabeen, S., Ilyas, S., Manzoor, F., Aslam, F., & Ali, A., (2010) Antibacterial activity of Curcuma longa varieties against different strains of bacteria. *Pakistan Journal of Botany*, 42(1), 455-62.

104. Stankovic, I., (2004). Chemical and Technical Assessment (CTA) Curcumin. *61st JECFA*, 1-8.

105. Zielińska, A., Alves, H., Marques, V., Durazzo, A., Lucarini, M., Alves, T. F., ve Souto, E. B., (2020). Properties, extraction methods, and delivery systems for curcumin as a natural source of beneficial health effects. *Medicina*, 56(7), 336.

106. Karaman, B.E. ve E. Köseler, (2017). Zerdeçalın Kronik Hastalıklarla İlişkisi. *Başkent Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Dergisi-BÜSBİD*, 2(2), 96-112.

107. Anand, P., Sundaram, C., Jhurani, S., Kunnumakkara, A. B., & Aggarwal, B. B., (2008). Curcumin and cancer: an “old-age” disease with an “age-old” solution. *Cancer Letters*, 267(1), 133-164.

108. Kunnumakkara, A.B., P. Anand, ve B.B. Aggarwal, (2008). Curcumin inhibits proliferation, invasion, angiogenesis and metastasis of different cancers through interaction with multiple cell signaling proteins. *Cancer Letters*, 269(2), 199-225.

109. Grover, H., H. Deswal, ve A. Bhardwaj, (2015). Curcumin: A medicinal plant and its effects in medicine and dentistry. *International Journal of Contemporary Dental & Medical Reviews*, 2015, 1-4.

110. Salem, M., S. Rohani, ve E.R. Gillies, (2014). Curcumin, a promising anti-cancer therapeutic: a review of its chemical properties, bioactivity and approaches to cancer cell delivery. *Royal Society of Chemistry Advances*, 4(21), 10815-10829.

111. Shehzad, A., F. Wahid, ve Y.S. Lee, (2010). Curcumin in cancer chemoprevention: molecular targets, pharmacokinetics, bioavailability, and clinical trials. *Archiv der Pharmazie*, 343(9), 489-499.

112. Noorafshan, A. ve S. Ashkani-Esfahani, (2013). A review of therapeutic effects of curcumin. *Current Pharmaceutical Design*, 19(11), 2032-2046.

113. Hahm, E. R., Cheon, G., Lee, J., Kim, B., Park, C., & Yang, C. H., (2002). New and known symmetrical curcumin derivatives inhibit the formation of Fos-Jun-DNA complex. *Cancer Letters*, 184(1), 89-96.

114. Swatson, W. S., Katoh-Kurasawa, M., Shaulsky, G., & Alexander, S., (2017). Curcumin affects gene expression and reactive oxygen species via a PKA dependent mechanism in Dictyostelium discoideum. *PloS One*, 12(11), e0187562.

115. Aggarwal, B. B., Bhatt, I. D., Ichikawa, H., Ahn, K. S., Sethi, G., Sandur, S. K., ve Shishodia, S., (2006). 10 Curcumin—Biological and Medicinal Properties, *Phytopharmaceuticals in Cancer Chemoprevention*, 297-368.

116. Deng, Y., E. Verron, ve R. Rohanizadeh, (2016). Molecular mechanisms of anti-metastatic activity of curcumin. *Anticancer Research*, 36(11), 5639-5647.

117. Bashang, H. ve S. Tamma, (2019). The use of curcumin as an effective adjuvant to cancer therapy: A short review. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 67(2), 171-179.

118. Unlu, A., Nayir, E., Kalenderoglu, M. D., Kirca, O., ve Ozdogan, M., (2016). Curcumin (Turmeric) and cancer. *Journal of the Balkan Union of Oncology*, 21(5), 1050-1060.

119. Agrawal, S. ve R.K. Goel, (2016). Curcumin and its protective and therapeutic uses. *National Journal of Physiology, Pharmacy and Pharmacology*, 6(1), 1-8.

120. Joe, B., M. Vijaykumar, ve B. Lokesh, (2004). Biological properties of curcumin-cellular and molecular mechanisms of action. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44(2), 97-111.

121. Zahedipour, F., Hosseini, S. A., Sathyapalan, T., Majeed, M., Jamialahmadi, T., Al-Rasadi, K.,ve Sahebkar, A., (2020). Potential effects of curcumin in the treatment of COVID-19 infection. *Phytotherapy Research*, 34(11), 2911-2920.

122. Hewlings, S.J. ve D.S. Kalman, (2017). Curcumin: a review of its' effects on human health. *Foods*, 6(10), 92.

123. Toptaş, B. ve Z. Ateş Alagöz, (2016). Kurkumin ve analoglarının antikanserojen etkileri. *Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 40(2), 58-82.

124. Kunnumakkara, A. B., Bordoloi, D., Padmavathi, G., Monisha, J., Roy, N. K., Prasad, S., ve Aggarwal, B. B., (2017). Curcumin, the golden nutraceutical: multitargeting for multiple chronic diseases. *British Journal of Pharmacology*, 174(11), 1325-1348.

125. Akram, M., Shahab-Uddin, A. A., Usmanghani, K. H. A. N., Hannan, A. B. D. U. L., Mohiuddin, E., ve Asif, M., (2010). Curcuma longa and curcumin: a review article. *Romanian Journal of Biology Plant Biology* 55(2), 65-70.

126. Pareı, F., R. Ibrahim, ve T. Nawas, (2018). *A*ntibacterial activity of curcumin against Lebanese clinical isolates of Staphylococcus aureus. *MedCrave Online Journal of Toxicology*, 4(2), 81-83.

127. Rauf, A., Imran, M., Orhan, I. E., ve Bawazeer, S., (2018). Health perspectives of a bioactive compound curcumin: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 74, 33-45.

128. Zheng, D., Huang, C., Huang, H., Zhao, Y., Khan, M. R. U., Zhao, H., ve Huang, L., (2020). Antibacterial Mechanism of Curcumin: A Review. *Chemistry & Biodiversity*, 17(8), e2000171.

129. Mathew, D. ve W.-L. Hsu, (2018). Antiviral potential of curcumin. *Journal of Functional Foods*, 40, 692-699.

130. Praditya, D., Kirchhoff, L., Brüning, J., Rachmawati, H., Steinmann, J., ve Steinmann, E., (2019). Anti-infective properties of the golden spice curcumin. *Frontiers in Microbiology*, 10(912), 1-16.

131. Jennings, M.R. ve R.J. Parks, (2020). Curcumin as an Antiviral Agent. *Viruses*, 12(11), 1242.

132. Colpitts, C. C., Schang, L. M., Rachmawati, H., Frentzen, A., Pfaender, S., Behrendt, P., ve Steinmann, E., (2014). Turmeric curcumin inhibits entry of all hepatitis C virus genotypes into human liver cells. *Gut*, 63(7), 1137-1149.

133. Liu, Z. ve Y. Ying, (2020). The inhibitory effect of curcumin on virus-induced cytokine storm and its potential use in the associated severe pneumonia. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 8(479), 1-10.

134. Chen, J., He, Z. M., Wang, F. L., Zhang, Z. S., Liu, X. Z., Zhai, D. D., ve Chen, W. D., (2016). Curcumin and its promise as an anticancer drug: An analysis of its anticancer and antifungal effects in cancer and associated complications from invasive fungal infections. *European Journal of Pharmacology*, 772, 33-42.

135. Moselhy, S. S., Razvi, S., Hasan, N., Balamash, K. S., Abulnaja, K. O., Yaghmoor, S. S., ve Al-Malki, A. L., (2018). Multifaceted role of a marvel golden molecule, curcumin: a review. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 80(3), 400-411.

136. Temba, B. A., Fletcher, M. T., Fox, G. P., Harvey, J. J., ve Sultanbawa, Y., (2016). Inactivation of Aspergillus flavus spores by curcumin-mediated photosensitization. *Food Control*, 59, 708-713.

137. Ferreira, F. D., Mossini, S. A. G., Ferreira, F. M. D., Arrotéia, C. C., da Costa, C. L., Nakamura, C. V., ve Machinski Junior, M., (2013). The inhibitory effects of Curcuma longa L. essential oil and curcumin on Aspergillus flavus link growth and morphology. *The Scientific World Journal*, 2013, 1-7.

138. Jahanshiri, Z., Shams-Ghahfarokhi, M., Allameh, A., ve Razzaghi-Abyaneh, M., (2012) Effect of curcumin on Aspergillus parasiticus growth and expression of major genes involved in the early and late stages of aflatoxin biosynthesis. *Iranian Journal of Public Health*, 41(6), 72-79.

139. Jovičić, D., Jozinović, A., Grčević, M., Spaseska Aleksovska, E., ve Šubarić, D., (2017). Nutritional and health benefits of curcumin. *Hrana u Zdravlju i Bolesti: Znanstveno-Stručni Časopis za Nutricionizam i Dijetetiku*, 6(1), 22-27.

140. Boroumand, N., S. Samarghandian, ve S.I. Hashemy, (2018). Immunomodulatory, anti-inflammatory, and antioxidant effects of curcumin. *Journal of Herbmed Pharmacology*, 7(4), 211-219.

141. Xu, X. Y., Meng, X., Li, S., Gan, R. Y., Li, Y., ve Li, H. B., (2018). Bioactivity, health benefits, and related molecular mechanisms of curcumin: Current progress, challenges, and perspectives. *Nutrients*, 10(10), 1-33.

142. Rathore, S., Mukim, M., Sharma, P., Devi, S., Nagar, J. C., ve Khalid, M., (2020). Curcumin: A Review for Health Benefits. *International Journal of Research and Review*, 7(1), 273-290.

143. Pongrakhananon, V. ve Y. Rojanasakul, (2011) Anticancer properties of curcumin. Advances in Cancer Therapy, *IntechOpen*, 346-367

144. Becit, M., S. Aydın, ve N. Başaran, (2017). Kurkuminin terapötik ve toksik etkilerinin değerlendirilmesi. *Literatür Eczacılık Bilimleri Dergisi*, 6(2), 126-142.

145. Perrone, D., Ardito, F., Giannatempo, G., Dioguardi, M., Troiano, G., Lo Russo, L., ve Lo Muzio, L., (2015). Biological and therapeutic activities, and anticancer properties of curcumin. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 10(5), 1615-1623.

146. Tomeh, M.A., R. Hadianamrei, ve X. Zhao, (2019). A review of curcumin and its derivatives as anticancer agents. *International Journal Of Molecular Sciences*, 20(5), 1033.

147. Pulido-Moran, M., Moreno-Fernandez, J., Ramirez-Tortosa, C., ve Ramirez-Tortosa, M., (2016). Curcumin and health. *Molecules*, 21(3), 264.

148. Wang, Y., Lu, J., Jiang, B., ve Guo, J., (2020). The roles of curcumin in regulating the tumor immunosuppressive microenvironment. *Oncology Letters*, 19(4), 3059-3070.

149. Shishodia, S., (2013). Molecular mechanisms of curcumin action: gene expression. *Biofactors*, 39(1), 37-55.

150. Allegra, A., Innao, V., Russo, S., Gerace, D., Alonci, A., ve Musolino, C., (2017). Anticancer activity of curcumin and its analogues: preclinical and clinical studies. *Cancer Investigation*, 35(1), 1-22.

151. Aggarwal, B.B., Y.-J. Surh, ve S. Shishodia, (2007). The molecular targets and therapeutic uses of curcumin in health and disease, *Springer Science & Business Media*, 595, 1-47.

152. Ravindran, J., S. Prasad, ve B.B. Aggarwal, (2009). Curcumin and cancer cells: how many ways can curry kill tumor cells selectively? *The American Association of Pharmaceutical Scientists Journal*, 11(3), 495-510.

153. Shehzad, A. ve Y.S. Lee, (2013). Molecular mechanisms of curcumin action: signal transduction. *Biofactors*, 39(1), 27-36.

154. Liczbiński, P., J. Michałowicz, ve B. Bukowska, (2020). Molecular mechanism of curcumin action in signaling pathways: Review of the latest research. *Phytotherapy Research*, 34(8), 1992-2005.

155. Thayyullathil, F., Chathoth, S., Hago, A., Patel, M., ve Galadari, S., (2008). Rapid reactive oxygen species (ROS) generation induced by curcumin leads to caspase-dependent and-independent apoptosis in L929 cells. *Free Radical Biology and Medicine*, 45(10), 1403-1412.

156. Utaipan, T., Boonyanuphong, P., Chuprajob, T., Suksamrarn, A., ve Chunglok, W., (2020). A trienone analog of curcumin, 1, 7-bis (3-hydroxyphenyl)-1, 4, 6-heptatrien-3-one, possesses ROS-and caspase-mediated apoptosis in human oral squamous cell carcinoma cells in vitro. *Applied Biological Chemistry*, 63(1), 1-11.

157. Suhail, S., S. Gupta, ve V. Kumar, (2016). Role of curcumin in oral cancer prevention. *Fractal Geometry and Nonlinear Analysis in Medicine and Biology*, 1(3), 120-122.

158. Kasi, P. D., Tamilselvam, R., Skalicka-Woźniak, K., Nabavi, S. F., Daglia, M., Bishayee, A., ve Nabavi, S. M., (2016). Molecular targets of curcumin for cancer therapy: an updated review. *Tumor Biology*, 37(10), 13017-13028.

159. Rahmani, A. H., Al Zohairy, M. A., Aly, S. M., ve Khan, M. A., (2014). Curcumin: a potential candidate in prevention of cancer via modulation of molecular pathways. *BioMed Research International*, 2014, 1-16

160. Park, W., Amin, A. R., Chen, Z. G., ve Shin, D. M., (2013). New perspectives of curcumin in cancer prevention. *Cancer Prevention Research*, 6(5), 387-400.

161. Wilken, R., Veena, M. S., Wang, M. B., ve Srivatsan, E. S., (2011). Curcumin: A review of anti-cancer properties and therapeutic activity in head and neck squamous cell carcinoma. *Molecular Cancer*, 10(1), 1-19.

162. Garibyan, L. ve N. Avashia, (2013) Research techniques made simple: polymerase chain reaction (PCR). *The Journal of Investigative Dermatology*, 133(3), e6.

163. Lorenz, T.C., (2012) Polymerase chain reaction: basic protocol plus troubleshooting and optimization strategies. *Journal of Visualized Experiments*, 2012(63), e3998.

164. Singh, J., Birbian, N., Sinha, S., ve Goswami, A., (2014). A critical review on PCR, its types and applications. *International Journal of Advanced Research in Biological Sciences*, 1(7), 65-80.

165. Chacon-Cortes, D. ve L.R. Griffiths, (2014). Methods for extracting genomic DNA from whole blood samples: current perspectives. *Journal of Biorepository Science for Applied Medicine*, 2, 1-9.

166. Florczak, S., Kempka, K., Hołderna, K., Stanek, E., Baszyński, J., Kamiński, P., ve Bogdzińska, M., (2017). DNA isolation method from human blood with MasterPure DNA Purification Kit™–review article. *World Scientific News*, 72, 69-76.

167. Dairawan, M. ve P. Shett, (2020). The evolution of DNA extraction methods. *American Journal of Biomedical Science & Research*, 8(1), 39-46.

168. França, L.T.C., E. Carrilho, ve T.B.L. Kist, (2002). A review of DNA sequencing techniques. *Quarterly Reviews of Biophysics*, 35(2), 169-200.

169. Heather, J.M. ve B. Chain, (2016). The sequence of sequencers: The history of sequencing DNA. *Genomics*, 107(1), 1-8.

170. Shendure, J., Balasubramanian, S., Church, G. M., Gilbert, W., Rogers, J., Schloss, J. A., ve Waterston, R. H., (2017). DNA sequencing at 40: past, present and future. *Nature*, 550(7676), 345-353.

171. Hutchison III, C.A., (2007). DNA sequencing: bench to bedside and beyond. *Nucleic Acids Research*, 35(18), 6227-6237.

172. Gomes, A. ve B. Korf, (2018). Chapter 5-Genetic testing techniques. *Pediatric Cancer Genetics.* (1st edition). Amsterdam: Elsevier, 47-64.

173. Franklin, W. A., Aisner, D. L., Davies, K. D., Crooks, K., Post, M. D., Kleinschmidt-DeMasters, B. K., ve Varella-Garcia, M., (2020). Pathology, biomarkers, and molecular diagnostics, in Abeloff's Clinical Oncology. *Elsevier.* 225-253. e8.

174. Zhang, P., A. Seth, H. Fernandes, McManus, Linda M., Mitchell, Richard N., (2014). *Pathobiology of Human Disease* (1st edition). UK: Academic Press, 4074-4088.

175. Chang, Y. S., Lin, I. L., Yeh, K. T., ve Chang, J. G., (2013). Rapid detection of K-, N-, H-RAS, and BRAF hotspot mutations in thyroid cancer using the multiplex primer extension. *Clinical Biochemistry*, 46(15), 1572-1577.

176. Doubeni, C.A., A.R. Doubeni, ve A.E. Myers, (2016). Diagnosis and management of ovarian cancer. *American Family Physician*, 93(11), 937-944.

177. Sahu, L., (2017). *Ovarian Cancer. Evidence Based Clinical Gynecology* (1st edition). India: Jaypee Brothers Medical Publishers, 297.

178. Panda, A. K., Chakraborty, D., Sarkar, I., Khan, T., ve Sa, G., (2017). New insights into therapeutic activity and anticancer properties of curcumin. *Journal of Experimental Pharmacology*, 9, 31-45.

179. Subramani, P.A., K. Panati, ve V.R. Narala, (2017). Curcumin nanotechnologies and its anticancer activity. *Nutrition and Cancer*, 69(3), 381-393.

180. Rafiq, S., Raza, M. H., Younas, M., Naeem, F., Adeeb, R., Iqbal, J., ve Manzoor, H. M., (2018). Molecular Targets of Curcumin and Future Therapeutic Role in Leukemia. *Journal of Biosciences and Medicines*, 6(04), 33-50.

181. Telkoparan, P. ve U.H. Tazebay, (2011). Ras Protein Ailesi: Hücresel İşlevi, Moleküler Kontrolü, Onkogenezdeki Rolü. *Turkish Journal of Biochemistry/Turk Biyokimya Dergisi*, 36(4), 367-373.

182. Tsai, M. S., Weng, S. H., Kuo, Y. H., Chiu, Y. F., ve Lin, Y. W., (2011). Synergistic effect of curcumin and cisplatin via down-regulation of thymidine phosphorylase and excision repair cross-complementary 1 (ERCC1). *Molecular Pharmacology*, 80(1), 136-146.

183. Vahid, F., Zand, H., Nosrat–Mirshekarlou, E., Najafi, R., ve Hekmatdoost, A., (2015). The role dietary of bioactive compounds on the regulation of histone acetylases and deacetylases: a review. *Gene*, 562(1), 8-15.

184. Garcea, G., Jones, D. J. L., Singh, R., Dennison, A. R., Farmer, P. B., Sharma, R. A., ve Berry, D. P, (2004). Detection of curcumin and its metabolites in hepatic tissue and portal blood of patients following oral administration. *British Journal of Cance*r, 90(5), 1011-1015.

185. Hakim, A. A., Barry, C. P., Barnes, H. J., Anderson, K. E., Petitte, J., Whitaker, R., ve Rodriguez, G. C., (2009). Ovarian adenocarcinomas in the laying hen and women share similar alterations in p53, ras, and HER-2/neu. *Cancer Prevention Research*, 2(2), 114-121.

186. Yallapu, M. M., Maher, D. M., Sundram, V., Bell, M. C., Jaggi, M., ve Chauhan, S. C., (2010). Curcumin induces chemo/radio-sensitization in ovarian cancer cells and curcumin nanoparticles inhibit ovarian cancer cell growth. *Journal of Ovarian Research*, 3(1), 1-12.

187. Sun, X.-D., X.-E. Liu, ve D.-S. Huang, (2012). Curcumin induces apoptosis of triple-negative breast cancer cells by inhibition of EGFR expression. *Molecular Medicine Reports*, 6(6), 1267-1270.

188. Terlikowska, K. M., Witkowska, A. M., Zujko, M. E., Dobrzycka, B., ve Terlikowski, S. J., (2014). Potential application of curcumin and its analogues in the treatment strategy of patients with primary epithelial ovarian cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(12), 21703-21722.

189. Jamieson, S., M. Alexiadis, ve P.J. Fuller, (2004). Expression status and mutational analysis of the ras and B-raf genes in ovarian granulosa cell and epithelial tumors. *Gynecologic Oncology*, 95(3), 603-609.

190. Chang, K. W., Hung, P. S., Lin, I. Y., Hou, C. P., Chen, L. K., Tsai, Y. M., ve Lin, S. C., (2010). Curcumin upregulates insulin-like growth factor binding protein-5 (IGFBP-5) and C/EBPα during oral cancer suppression. *International Journal of Cancer*, 127(1), 9-20.

191. Rowe, D. L., Ozbay, T., O'Regan, R. M., ve Nahta, R., (2009). Modulation of the BRCA1 protein and induction of apoptosis in triple negative breast cancer cell lines by the polyphenolic compound curcumin. *Breast Cancer: Basic and Clinical Research*, 3, 61-75.

192. Zhang, Y., Xue, Y. B., Li, H., Qiu, D., Wang, Z. W., ve Tan, S. S., (2017). Inhibition of cell survival by curcumin is associated with downregulation of cell division cycle 20 (Cdc20) in pancreatic cancer cells. *Nutrients*, 9(2), 109.

193. O'Sullivan-Coyne, G., O'sullivan, G. C., O'Donovan, T. R., Piwocka, K., ve McKenna, S. L., (2009). Curcumin induces apoptosis-independent death in oesophageal cancer cells. *British Journal of Cancer*, 101(9), 1585-1595.

194. Gülle, K., Pala, İ., Akpolat, M., ve Bakkal, B. H., (2018). İyonize Radyasyona Maruz Kalan Sıçan Ovaryumunda PARP-1 Ekspresyonu ve Follikülogenez Üzerine Curcuminin Koruyucu Etkisi. *SDU Journal of Health Science Institute/SDÜ Saglik Bilimleri Enstitüsü Dergisi,* 9(2), 102-111.

195. Seo, J. H., Jeong, K. J., Oh, W. J., Sul, H. J., Sohn, J. S., Kim, Y. K., .ve Lee, H. Y., (2010). Lysophosphatidic acid induces STAT3 phosphorylation and ovarian cancer cell motility: their inhibition by curcumin. *Cancer Letters*, 288(1), 50-56.

196. Liu, T. Y., Tan, Z. J., Jiang, L., Gu, J. F., Wu, X. S., Cao, Y., ve Liu, Y. B., (2013). Curcumin induces apoptosis in gallbladder carcinoma cell line GBC-SD cells. *Cancer Cell International*, 13(1), 1-9.

197. Lu, J. J., Cai, Y. J., ve Ding, J. (2011). Curcumin induces DNA damage and caffeine-insensitive cell cycle arrest in colorectal carcinoma HCT116 cells. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 354(1), 247-252.

198. Han, W., Yin, H., Ma, H., Wang, Y., Kong, D., ve Fan, Z., (2020). Curcumin regulates ERCC1 expression and enhances oxaliplatin sensitivity in resistant colorectal cancer cells through its effects on miR-409-3p. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2020, 1-16.

GAZİ GELECEKTİR…