
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Gazi
1926

OVARYUM KANSERLİ YUMURTA TAVUKLARINDA KURKUMİNİN H-RAS GEN EKSPRESiYONU ÜZERİNE ETKİSİ

Kübra DİNÇ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

EYLÜL 2019

Kübra DİNÇ tarafından hazırlanan "OVARYUM KANSERLİ YUMURTA TAVUKLARINDA KURKUMİNİN H-RAS GEN EKSPRESİYONU ÜZERİNE ETKİSİ" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Gazi Üniversitesi Biyoloji Ana Bilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Hakkı TAŞTAN

Biyoloji Ana Bilim Dalı, Gazi Üniverisitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum ……..……..

Başkan: Prof. Dr. Yusuf KALENDER

Biyioloji Ana Bilim Dalı, Gazi Üniverisitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum ……..……..

Üye: Prof. Dr. Erkan YILMAZ

Biyioloji Ana Bilim Dalı, Gazi Üniverisitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum ……..……..

Tez Savunma Tarihi: 13/09/2019

Jüri tarafından kabul edilen bu çalışmanın olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

……...…….

Prof. Dr. Sena YAŞYERLİ

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

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.

Kübra DİNÇ
13.09.2019

OVARYUM KANSERLİ YUMURTA TAVUKLARINDA KURKUMİNİN H-RAS GEN EKSPRESİYONU ÜZERİNE ETKİSİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Kübra DİNÇ

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Eylül 2019

ÖZET

Ovaryum kanseri, beş yıl hayatta kalma oranı %30'dan az olan en ölümcül jinekolojik kanser türüdür. Zerdeçal ürünlerinde bulunan bir polifenolik bileşik olan kurkuminin, in vitro ovaryum kanser modellerinde anti proliferatif ve antitümor etkinliği ortaya konulmuştur. Bu çalışmada, spontan ovaryum kanser oluşumu ve gelişiminde en uygun model olan tavuk modelinde ovaryum kanser insidans oranının azaltılması üzerine kurkuminin etkisi araştırılmıştır. Çalışmada 104 haftalık toplam 270 yumurta tavuğu kullanılması ve her birinde grupta 90 hayvan bulunnak üzere, çalışma kapsamına alınan hayvanlar, 3 deneme grubuna ayrılmıştır. Kontrol grubundaki tavuklar sadece bazal rasyon, diğer gruplardaki tavuklar ise bazal rasyona 200 mg veya 400 mg kurkumin/ kg ilave edilecek rasyonlarla beslenmiştir. Daha sonra, deney ve kontrol grubu hayvanlardan, kan numunesi alınarak DNA izolasyonu gerçekleştirilmiş ve bu DNA örneklerinde H-Ras gen eskpresyon düzeyleri tespit edilmiştir. Bu tespitlerde PCR ve sekans analizleri yöntemleri kullanılmış ve H-Ras gen mutasyonları için, alel frekansları, ki kare (x^2) testi, genotip frekansları Hardly- Equilibrium testi uygulanmıştır. Gen değişim oranlarının hesaplanmasında ise odd-ratio testi kullanılmıştır. Tavuklarda H-Ras geni, kod 12 bölgesi de içine alınacak şekilde dizi analizi ile taranmıştır. Bu bölgede tanımlanmış olan c.-23C>T (rs315505027 SNP) ve c.105A>C (rs316850941 SNP) değişimleri bulunmamıştır. Ama takip eden intronda; IVS 1+20 da C>T, de IVS 1+147 G>T ve de IVS 1+159 T>C değişikliklerine örneklerin birçoğunda homozigot olarak rastlanılmış ($p<0.001$), az bir kısmında ise heterozigot olarak da tespit edilmiştir.

Bilim Kodu : 20326
Anahtar Kelimeler : Ovaryum kanseri, kurkumin, kemopreventif
Sayfa adedi : 79
Danışman : Prof. Dr. Hakkı TAŞTAN

THE EFFECT OF CURCUMIN ON H-RAS GENE EXPRESSION IN EGG CHICKEN WITH OVARIUM CANCER

(M. Sc. Thesis)

Kübra DİNÇ

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

September 2019

ABSTRACT

Ovary cancer is the deadliest gynecological cancer type, and five year survival rate is less than 30%. It was suggested that curcumin, a polyphenolic compound that is found in turmeric, has antiproliferative and antitumor effects in in vitro ovary cancer models. In this study, we researched how curcumin affects the rate of reduction of ovarium cancer incidance in the hen model, which is the most appropriate model in formation and development of spontaneous ovary cancer. 270 hen that were 104 weeks old was separated into three experimental group, with each group containing 90 animals. Hens in the control group were fed only with basal ration. Other hens were fed with basal ration and an extra 200 mg/kg- 400 mg/kg curcumin. Afterwards, DNA isolation were done with blood samples that were taken from control and experiment group animals, and H-Ras gene expression levels were identified in these DNA samples. PCR and sequence analysis techniques were used in these evaluations. For H-Ras gene mutations, allele frequencies, chi square, genotype frequencies and Hardly-Equilibrium tests were used. Gene change ratios were calculated with odd-ratio test. H-Ras gene of hens were scanned with sequence analysis, these scans included code 12 region. c.-23C>T (rs315505027 SNP) and c.105A>C (rs316850941 SNP) that was identified in this region did not show any changes. But in the following intron; in IVS 1+20 C>T, IVS 1+147 G>T, and IVS 1+159 T>C changes were present as homozygotes ($p<0.001$), and in few regions as heterozygotes in samples.

Science Code : 20326
Key Words : Ovarian cancer, curcumin, chemopreventive
Page Number : 79
Supervisor : Prof. Dr. Hakkı TAŞTAN

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans tez çalışmalarım süresince her konuda benden desteğini esirgemeyen, bilimsel yaklaşımları ile bana yol gösteren, tecrübe ve önerilerinden faydalandığım danışman hocam Prof. Dr. Hakkı TAŞTAN'a, tezin yapılması ve desteklenmesinde katkılarından dolayı Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Zootekni ve Hayvan Beslenme Bölümü Başkanı Prof. Dr. Kazım ŞAHİN ve ekibine, destekleri için TÜBİTAK'a, desteğini her zaman hissettiğim eşim İlhan DİNÇ ve aileme teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET iv

ABSTRACT v

TEŞEKKÜR vi

İÇİNDEKİLER vii

RESİMLERİN LİSTESİ viii

ÇİZELGELERİN LİSTESİ viii

SİMGELER VE KISALTMALAR x

1. GİRİŞ 1

2. GENEL BİLGİLER 15

2.1. Kanser 15

2.1.1.Ovaryum anatomisi 20

2.1.2.Ovaryum kanseri 20

2.1.3.Kanser tedavi yöntemleri 23

2.1.4. Kanser sinyal yolakları 25

2.2. Kurkumin 39

2.2.1. Kurkuminin kanser ile ilişkisi 41

3. MATERYAL-METOD 45

3.1. Materyal 45

3.2. Metod 46

4.TARTIŞMA 53

5. SONUÇLAR 65

KAYNAKLAR 69

ÖZGEÇMİŞ 79

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge **Sayfa**

Çizelge 3.1. Deneme planı 45

Çizelge 3.2. H-Ras genindeki araştırılan gen değişim noktaları 46

Çizelge 3.3. Mutasyon taramasında kullanılacak olası aday genler ve ilgili gen bölgeleri 50

Çizelge 3.4. H-RAS gen mutasyon analizi 51

Çizelge 5.1. Kurkuminin mutasyon oluşum oranına etkisi 67

Çizelge 5.2. IVS ile ilgili X2 analiz testlerinde mutasyonların P değerleri 68

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim **Sayfa**

Resim 2.1. Kanser hücresi 16

Resim 2.2. Over Kanseri 21

Resim 2.3. WNT sinyal yolağı ve kanser 28

Resim 2.4. PI3K/Akt sinyal yolağı 30

Resim 2.5. JAK/STAT yolağı ve kanser 33

Resim 2.6. MAPK sinyal yolağı 35

Resim 2.7. Ras/Raf/MEK/ERK sinyal yolağı 38

Resim 2.8. Kurkumin 39

Resim 2.9. Kurkumin kanser ilişkisi 43

Resim 3.1. Sanger dizi analiz yöntemi 49

Resim 3.2. H-Ras kod 12 sekans analizi 51

SİMGELER VE KISALTMALAR

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

Simgeler	**Açıklamalar**
µl	Mikrolitre
µM	Mikrometre
C	Derece
cm	Santimetre
Gy	Grays Radyasyon birimleri
kb	Kilobayt
kg	Kilogram
mg	Miligram
Mg^{+2}	Magnezyum
ng	Nanogram
ppm	mg çözünen / kg veya litre çözelti
µg/ml	Mikrogram/mililitre

Kısaltmalar	**Açıklamalar**
A	Adenin
APC	Adenomatöz Polipozis Koli
AR	Androjen reseptörü
ATP	Adenozin trifosfat
bFGF	Temel fibroblast büyüme faktörü
BP	Benzo [a] piren
BRCA	Breast kanser (Göğüs kanseri)

Kısaltmalar	Açıklamalar
C	Sitozin
CaMK2	Kalmodulin kinaz II
Cdc	Hücre bölünme kontrol proteini
CK	Kazein kinaz
COX	Prostaglandin endoperoksit sentaz
CR	Sisplatine dirençli
CS	Sisplatine hassas
CTP	Sitidin trifosfat
CXCL	Kemokin ligand
DMBA	Dimetilbenz [a] antrasen
DNA	Deoksiribo nükleik asit
Dsh	Düzensiz
EGF	Epidermal büyüme faktörü
EGFR	Tahmini glomüler filtrasyon hızı
ERRC	DNA ekziyon onarım proteini
ETS	E26-transkripsiyon faktörü
FIGO	Uluslararası Kadın Hastalıkları ve Doğum
Fz	Frizzled reseptörü
G	Guanin
GAP	GTPaz aktive edici protein
GCT	Dev hücreli tümör
GDP	Guanozin difosfat
GEF	Guanin nükleotid değiş tokuş elementleri
GM-CSF	Granülosit Makrofaj Koloni Uyarıcı Faktör
GSK3-β	Glikojen Sentaz Kinaz 3-β

Kısaltmalar	Açıklamalar
GTP	Guanozin trifosfat
H-Ras	Harvey Ras
HSP	Henoch shoenlein purpurası
IVS	Inter variable sekans
JAK	Janus kinazlar
JIP	JNK ile etkileşime giren proteinler
JNK(SAPK)	Stresle aktive olan protein kinaz
KHDAK	Küçük hücreli dışı akciğer kanseri
KKH(CSC)	Cencer cell sistem
K-Ras	Kristen Ras
LDH	Laktat dehidrojenaz
LEF	Lymphoid enhancer-binding factor
LRP	Low-density lipoprotein receptor
MAPK	Mitojenle aktive olan protein kinazlar
MMP	Matriks metalloproteinaz
MÖ	Milattan önce
mRNA	Mesajcı ribonükleikasit
NEU	Nötrofil
NF	Nükleer faktör
NFκB	Nükleer transkripsiyon faktörü
NMBA	N-nitrosometilbenzilamin
N-Ras	Nöroblastom Ras
NSCLC	Küçük hücreli olmayan akciğer kanseri
Oct-4	Oktomer bağlayıcı transkripsiyon faktörü 4
ORAC	Oksijen radikali emme kapasitesi

Kısaltmalar	Açıklamalar
PARP	Poli adenozindifosfat polimeraz
PCP	Planar Hücre Polaritesi
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
PDGF	Platelet kaynaklı büyüme faktörü
PI3K	Fosfatidilinositol 3-kinaz
PKC	Protein kinaz C
PMC	Periferik mononükleer kan hücreleri
PP2A	Protein Fosfataz 2A
PP5	Protein fosfataz 5
p53	Tümör protein
RAC	Ras-related C3 botulinum toxin substrate
RAS	Row address strobe
RASSF1A	Ras-assosiasyon domain ailesi 1
RhoA	Ras homolog gene family member A
RNA	Ribo nükleik asit
RTK	Reseptör tirozin kinaz
Ser	Serin
SNP	Tek nükleotid polimorfizmi
STAT	Sinyal transdüktörü ve transkripsiyon 3'ün
T	Timin
TAT	Alternatif tedavi
TCF	T-hücre faktörü
Thr	Treonin
TIMP-1	Doku metalloproteinaz-1 inhibitörü
TNF-α	Tümör nekroz faktör alfa

Kısaltmalar	Açıklamalar
TP	Treponema pallidum
TRR	Transkripsiyonel regülasyon bölgesi
TTP	Trombotik trombositopenik purpura
VEGF	Vasküler endotelyal büyüme faktörü

1. GİRİŞ

Kanser yüzyıllar öncesinde olduğu gibi günümüzde de varlığını devam ettirmektedir. İnsanlığı geçmişte olduğundan daha çok tehdit etmektedir. Tıp tarihi boyunca hiçbir hastalık kanser kadar araştırmalara konu olmamıştır. Günümüzde kanserden korunma yollarının bilinmesi, erken tanı yöntemleri ve tedaviden elde edilen başarının artmasının etkisi ile birlikte insanın kansere karşı duyduğu korkuyu içinden atabilmesi için birçok sebebe sahip olmuştur. Fakat bazı kanser türlerinin iyileştirilebilmesi veya bu hastalıkla birlikte daha uzun süre yaşamak olanaklı olsa da kanser korkulan bir hastalık olmaktan ölümle eş anlamlı görülmekten kurtulamamıştır (Atıcı, 2007).

Vücudumuzdaki tüm organlar, gerektiği zaman yenilerini oluşturmak üzere bölünen hücrelerden meydana gelmektedir. Bu hücreler büyür ve canlılığın devamını sağlamak için kontrollü olarak bölünürler. Hücreler zarar gördüğünde veya yaşlandığında, ölürler ve yerlerini yeni hücreler alır. Bununla birlikte bazen bu düzenli döngü bozulabilir ve hücreler kontrolsüz şekilde çoğalabilir (Koygun, 2015). Bu aşamada kanser karşımıza çıkar.

Kanser; çevresel ve genetik faktörler sonucu hücrelerin kontrolsüz bir şekilde çoğalması, apoptotik ve anti-apoptotik mekanizmaların düzensiz işleyişi ve bulundukları bölgeden farklı bölgelere yayılmasıyla (metastaz) karakterize bir hastalıktır ve birden fazla çeşidi bulunmaktadır (Hanahan ve Weinberg, 2000).

Son 30 yılda farkındalık ve tarama, kanserin erken teşhisine vurgu yapılmasına sebep olmuştur. Bu çabaların amacı geç evre hastalık oranını düşürmek ve kanser ölüm oranını azaltmak olsa da, laik eğilimler ve klinik çalışmalar bu hedeflerin karşılanmadığını göstermektedir. Ulusal veriler, erken evre hastalıkta, sonraki evre hastalığında orantılı bir düşüş olmadan önemli artışlar göstermiştir. Meydana gelen, kanser denilen patolojik durumun karışıklığının takdir edilmesi olmuştur. “Kanser” kelimesi, kaçınılmaz şekilde ölümcül bir sürecin hayaletidir; bununla beraber kanserler heterojendir ve hepsi metastazlara ve ölüme ilerlemeyen pek çok yolu izleyebilir ve hastanın yaşamı boyunca zarar vermeyen baş ağrısı içerir. Daha iyi biyoloji tek başına daha iyi sonuçları açıklayabilir. Her ne kadar bu karışıklık erken tanı hedefini zorlaştırsa da, tanınması kanser taramasını adapte etme ve en fazla morbidite ve mortalite ile ilişkili olan bu durumları

belirlemeye ve tedavi etmeye odaklanmaya olanak verir (Esserman, Thompson, ve Reid-Jama, 2013).

Birleşik Devletlerdeki her dört ölümden biri kanser nedenlidir. Histolojik olarak kanserin gelişmesi birkaç yol içerir. Bunlar da ilk karsinojen maruziyetinden birkaç yıl sonra in situde normalden hiperplaziye, az orta ve ağır displaziye ve karsinomaya son olarak da invazif kansere gidişattır. Bu uzun çok adımlı gelişim sürecinde kanserin gelişimini geciktirebilecek veya engelleyebilecek birçok olası engelleyici önlem vardır. Davranış değişikliği, aşı, ameliyat manipülasyonu ve kemoprevensiyon gibi çeşitli kanser önleme yöntemleri olağanüstü araştırma çabalarıyla meydana çıkartılmıştır. Birçok araştırma dengeli beslenme, düzenli egzersiz, sigarayı bırakma, alkolü azaltma, kilo kontrolü ve stres yönetimi gibi sağlıklı yaşam şartlarının kanser riskini azaltmada faydalı olduğunu ve oldukça fazla üzerine gidilmesi gerektiğini kanıtlamıştır. (Park, Amin, Chen, ve Shin, 2013).

Kanser multifaktöryel olup bakterilerden virüslere, çevresel faktörlerden beslenme alışkanlığına kadar birçok faktör kanser oluşumuna neden olmaktadır.

İnsanlardaki kalıtsal genetik sorunlar (mutasyonlar), kimyasalları aktive eden ve detoksifiye eden enzimlerin yapısını ve ifade edilme düzeyine (karsinojen metaboloizmasını) tesir eden kişisel genetik farklılıklar, DNA hasarının onarım kapasitesini etkileyen polimorfik/genetik değişiklikler, kanser riskini arttırabilen başlıca genetik faktörlerdir (Ekmekçi, Konaç, ve Önen, 2008).

Kalıtım yoluyla kanser meydana gelme olasılığı çevresel faktörlere oranla daha düşüktür. Kanserlerin %10-15'inin kalıtımsal olduğu yani ebeveynlerinden gelen genlerle aktarıldığı geriye kalan %85-90'ının ise yaşam boyunca canlı hücrelerdeki DNA'nın mutajenlere maruz kalması, hücre DNA'sındaki hafif progressif değişiklikler ve replikasyonda hatalar oluşması ile meydana geldiği düşünülmektedir (Yokuş ve Çakır, 2012).

Karsinojen adı verilen birçok ajan hücrelerin transformasyon sıklığını arttırır. Karsinojenler epigenetik değişikliklere veya (daha sık) direk ya da indirek olarak hücre genotipinin değişmesine neden olurlar.

Mutasyonları durumunda transformasyona neden olan iki gen sınıfı vardır. Onkogenler öncelikle virüslerin sahip olduğu ve hedef hücrelerde transformasyona neden olan genler olarak açıklanmıştır. Protoonkogen denilen bu hücresel genlerin mutasyonları veya anormal aktivasyonları tümör gelişimi ile ilişkilidir. Bu güne kadar 100 onkogen tanımlanmıştır. Bir protoonkogenden fonksiyonunu ve ekspresyon seviyesini etkileyen mutasyonlarla bir onkogen oluşabilir (Pazarbaşı ve Kasap, 2003). En bilinen onkogenlere örnek olarak RAS, Erk, MYC gibi genler gösterilebilir (Baykara, 2016).

Değişik Ras genlerindeki mutasyonların çeşitli kanserlerde yaygın olarak ortaya çıktıkları tespit edilmiştir. Çoğu durumda, amino asit değişikliğine yol açan somatik mutasyonlar Ras proteinin 12, 13 ve 16'ncı amino asitlerinde belirlenmektedir. Ras'ın 12. kodonundaki değişiklikler, katalitik arjinine dokunacak etkiler meydana getirmekte ve GTP-GDP dönüşümünü bloke etmektedirler. Onkogenik Ras proteinleri, kendi altlarındaki efektör proteinlerin aktivitelerine tesir ederek yolağın normal dışı çalışmasına ve kanser hücrelerinin kontrolsüz hücre büyümesi, kontrolsüz farklılaşma ve apoptoza direnç gibi özellikler kazanmalarına sebebiyet verirler. H-Ras ve ona bağlı GAP proteinlerinin (p120GAP) üç boyutlu yapılarının belirlenmesi, onkogenik Ras proteinlerinin aktivasyon mekanizmaları ile ilgili önemli bilgiler vermiştir (Telkoparan ve Tazebay, 2011).

H-Ras geni, öncelikle hücre bölünmesini düzenlemede yer alan H-Ras adlı bir proteini meydana getirmek için talimatlar sağlar. Sinyal iletimi olarak bilinen bir işlemle H-Ras proteini, sinyalleri hücrenin dışından hücrenin çekirdeğine iletir. Bu sinyaller hücreye büyümesini veya bölünmesi emrini verir. H-Ras proteini bir GTPaz'dir, yani GTP denilen bir molekülü GDP isimli başka bir moleküle dönüştürür. H-Ras proteini bir anahtar gibi hareket eder ve GTP ve GDP molekülleri tarafından açılır ve kapatılır. Sinyalleri iletmek için, protein bir GTP molekülüne bağlanarak açılmalıdır. H-Ras proteini, GTP'yi GDP'ye çevirdiğinde kapanır (inaktive edilir). Protein GDP'ye bağlandığında, sinyalleri hücrenin çekirdeğine iletmez.

H-Ras geni, mutasyona uğradığında onkogenler normal hücrelerin kanserli hale dönüşmesine neden olma potansiyeline sahiptir (Anonim, 2019).

Bütün kanserler büyüme ve kopyalama süreçleri bozulan tek bir hücreden başlar. Kanserlerin ilerlemesinde kanserle ilişkili genlerin kalıtımı, hücrelerin genetik

materyalindeki değişiklikler ve hasarların birikimi görev almaktadır. Genetik hasarın sebepleri hücresel ya da çevresel kaynaklı olabilir. Normal hücrenin kanser hücresine dönüşmesi aşamasında farklı yollardan geçmektedir. Kanser çeşitleri farklı özelliklere sahip olup değişmeyen tek özellik hücre çoğalması ve ölümünün kontrol edilememesidir (Açıkgöz, 2015). Kanserin türü bulunduğu dokuya ya da organa göre isimlendirilmektedir.

Ovaryum dokusu birçok farklı hücreyi içerir. Bu sebeple ovaryum kanserleri; epitelyal, stromal ve germ hücreler olmak üzere üç farklı hücre tipinden meydana gelirler. Epitelyal hücreden meydana gelen ovaryum kanserleri tüm ovaryum kanserlerinin % 90'ından fazlasını oluşturur. Histolojik özelliklerine göre seröz, müsinöz, endometrioid, berrak hücreli, değişici epitel hücreli, farklılaşmamış ve az farklılaşmış gibi alt gruplara ayrılırlar (Ayrım, 2016).

Over kanseri ikinci en fazla görülen malignite ve en çok ölüme neden olan jinekolojik malignitedir (Bilicen, 2018). Malign over tümörleri, kadınlardaki kanserlerin %5'ini, jinekolojik kanserlerin %23'ünü meydana getirmektedir. En öldürücü jinekolojik kanser olup kanserlere bağlı ölümlerin %47'sinden sorumludur (Kırat, 2018). Geç tanı %75 oranında (Internatıonal federation of Gynecology and Obstetrics-FIGO III-IV) ve kemoterapiye gelişen direnç sebebiyle 5 yıllık sağ kalım oranları %40 oranında kalmaktadır (Bilicen, 2018).

Over kanserine, hastalığın ilerleyen dönemlerine kadar bulgu vermediği için "silent killer (sessiz katil)" denilmiştir (Barnholtz-Sloan, ve diğerleri, 2003).

Yaşla beraber görülme sıklığı artan over kanserlerinin yaklaşık tanı yaşı 63'tür. Erken menarş, geç menopoz, infertilite, mulliparite ciddi risk faktörleridir. Her gebeliğin over kanseri gelişme riskini %10 azalttığı düşünülmektedir.

Prognostik faktörler değerlendirildiğinde, demografik, histolojik, biyolojik ve genetik faktörler over kanserlerinin prognozu üzerinde etkilidirler. Kadın jinekolojik malignensileri arasında en çok ölüme sebep olan over kanserinin meydana gelmesinde hazırlayıcı risk faktörlerinin bilinmesi büyük bir önem arz etmektedir (Yetimalar, ve diğerleri, 2007). Dolayısıyla yeni tedavi yöntemleri oluşturmak hastalığın gidişatına yeni yönler verebilmek için gereklidir.

Kanserde kimyasal koruma (chemoprevention), karsinojenlerin sebep olduğu DNA hasarının önlenmesinde etkilidir. Kimyasal koruma bir ya da daha fazla sayıda kimyasal bileşiğin, ilaç olarak veya diyetle alınmasıyla kanser gelişiminin engellenmesi anlamındadır ve zamanla artan bir biçimde ehemmiyet kazanmaktadır. Bu nedenle kullanılan kimyasal bileşikler ya sentetik olarak oluşurlar ya da diyetteki yiyeceklerle doğal yollardan alınırlar. Diyetle alınan bileşiklerin bir kısmı koruyucu etkilerini kanser gelişiminde önemli rolü olan hücre içi sinyal ileti yolaklarını hazırlayarak bir kısmı da kanser oluşum sürecini uzatarak gösterirler (Yalçın, Yılmaz, Altundağ, ve Koçtürk, 2017).

Kurkumin (diferuloilmetan) Curcuma longa L. Bitkisinin rizomundan meydana gelen sarı renkli bir pigmenttir. Bu bitkinin toz haline getirilmiş rizomuna zerdeçal denir ve köri hazırlanmasında kullanılır. Koruyucu, tat verici ve renk verici özelliklerinin dışında, zerdeçal Asya tıbbında nesillerdir yangı, cilt yaraları, karaciğer ve safra kesesi bozuklukları, öksürük ve bazı tümörlerin tedavisinde kullanılır (Lopez - Lazaro, 2008).

Geleneksel tıpta yaygın olarak kullanılan kurkuminin birden çok kullanım alanı vardır. Kurkumin üzerine son 30-40 yılda çok fazla sayıda bilimsel çalışma uygulanmış ve özellikle antiinflamatuar ve antikanser etkileri üzerinde durulmuştur. Günümüzde, kanser tedavi stratejilerinin hem ilaç direnci gelişmesi hem de sitotoksisite, genotoksisite vb. dezavantajlarının olmasına bağlı olarak, kurkumin kemoterapi alternatifi bir antikanser madde olarak ilgi çekmektedir (Yalçın ve diğerleri, 2017). Bununla ilgili yapılan birçok çalışma mevcuttur.

Ushida ve diğerlerinin yaptıkları çalışmada; beş haftalık sıçanlar 5 gruba bölünmüş ve 1, 2 ve 3 gruplarına 7 haftalıktan 5 hafta boyunca özofagus tümörleri oluşturmak için NMBA (0,5 mg/kg vücut ağırlığı/15 kez enjeksiyon) intraperitoneal enjeksiyonları yapılmıştır. Grup 2 ve 3, başlangıç ve başlangıç aşamaları sırasında sırasıyla 500 ppm kurkumin içeren diyetle beslenmiştir. Grup 4 deney boyunca kurkumin içeren diyet verilmiş ve grup 5 yalnızca bazal diyet üzerinde tutulmuş ve tedavi edilmeyen bir kontrol olarak kullanılmıştır. Grup 1'deki özofagus tümörleri (sadece NMBA) insidansı ve çokluğu sırasıyla %66,7 ve 0,83 ± 0,70 tir. Grup 2 ve 3 'ünkiler, grup 1'inkilerden anlamlı olarak daha azdı (sırasıyla % 39,3- 0,46 +/- 0,64 P<0,0). Ayrıca, grup 2 (%57,1- 0,61 +/- 0,57; %40- 0,29 +/- 0,46) veya 3 (%56,7-0,67 +/- 0,66) özefagus preneoplastik lezyonlarının insidansı ve çokluğu, orta veya şiddetli epitelyal displazisi (%23,3- 0,23 +/- 0,43) grup

1’den (%100-1,67 +/- 0,70; %70,8-0,92 +/- 0,72) kinden daha az bulunmuştur. (P<0,05) Bu deneyde, kurkumin beslenmesi lezyon dışı özofageal epiteli (P<0,01) hücre çoğalması biyobelirteçlerinin (5-bromo-2’-deoksiüridin etiketleme indeksi) ekspresyonunu önemli ölçüde azaltmıştır. Bu bulgular kurkuminin, başlangıç aşamasında verildiğinde NMBA kaynaklı özofageal karsinojenezi inhibe ettiğini göstermiştir. Bu inhibisyon, özofagus epitelinde NMBA tarafından indüklenen artan hücre proliferasyonunun baskılanması ile ilgili olabileceğini düşünmüşlerdir.

Chang ve diğerleri yaptıkları çalışmada; promoter silme haritalaması, kurkumin aracılı IGFBP-5 upregülasyonu için vazgeçilmez olan bir C/EBP alpha bağlayıcı eleman içeren bir bölgeyi (transkripsiyon başlangıç yerine göre nt-71 ila nt-59) tanımlamıştır. Kromatin immünopresipitasyon deneyleri, C/EBP alphanın bu bölgeye in vivo bağlanmasının, kurkumin varlığında belirgin şekilde arttığını ortaya koymuştur. Kurkumin, p38 aktivasyonu ile nükleer C/EBP alpha ifadesini ve IGFBP-5 ifadesini arttırmıştır ve bu SB203580 tedavisi ile iptal edilmiştir. Ayrıca, MKKA6 ifadesi p38 ve C/EBP alphayı aktive ederek IGFBP-5 promoter aktivitesini ve ifadesini arttırmıştır. Son olarak kurkumin kaynaklı IGFBP-5 ekspresyonu, oral kanser hücreleri nedeniyle farelerde ksenograft tümörgenezinin baskılanması ile ilişkilidir. Kurkuminin, IGFBP-5 promotöründeki bağlayıcı elemanlarla etkileşime girerek C/EBP alpha işlemcisini aktive eden p38’i aktive ettiği sonucuna varmışlardır.

Zhang ve diğerleri yaptıkları çalışmada; klinik insan deneylerinde doz limitinin günde 8 g’a kadar olan miktarlarda kurkumin verildiğinde toksiste olmadığını belirtmişlerdir. Kurkumin, 24 ve 48 saat boyunca 5-50 mikroM’de, üç CTCL hücre dizisinde (yani MJ, Hut78 ve HH) zamana ve doza bağlı bir şekilde programlı hücre ölümünü indüklediğini belirtmişlerdir. Ayrıca kurkumin, 48 saat boyunca 5-20 mikroM’de sağlıklı donörlerin PBMC’lerine kıyasla hastaların PBMC’lerinde daha fazla hücre ölümüne neden olduğunu bulmuşlardır. (P<0,05). kurkumin üç hücre dizilerinde ve hastaların PBMC’lerinde sinyal çevirici ve transkripsiyon aktivatörü (STAT)-3, bcl-2 ve survivin ve mRNA ifade seviyelerini düşürmüştür. Kurkumin, STAT-3 ve ıkappaB-alfa fosforilasyonunun yanı sıra bu hücrelerde nükleer faktör (NF)-kappaB’nin DNA bağlanmasını baskılamıştır. Kurkumin tedavisinden sonra kaspaz-3 etkinleştirilmiş ve çoklu (ADP-Riboz) polimeraz bölünmüştür.

Sun, Liu ve Huang yaptıkları çalışmada; MDA-MB-231 TNBC hücreleri kurkumin ile muamele edilmiş, hücrelerin büyüme inhibisyon oranı MTT testi ile ölçülmüş apoptoz akış sitometrisi ve hücre dışı regüle edilmiş protein kinaz (ERK1/2), pERK1/2 ekspresyon seviyeleri ile tespit edilmiştir. Western blotlama ile EGFR ve pEGFR tespit edilmiştir. Farklı kurkumin konsantrasyonları ile muameleden sonra, 30 umol/ml kurkuminle tedavi edilen grubun MDA-MB-231 göğüs kanseri hücrelerinin büyüme inhibisyon oranları, diğer gruplardan önemli ölçüde farklı çıkmıştır. Kurkumin ile tedavi edilen grubun apoptoz düzeyi (%26,34) kontrol grubundan (%2,76) anlamlı derecede farklı çıkmıştır. Kurkumin ile tedavi edilen grupta pERK1/2 ve pEGFR'nin ekspresyon seviyeleri, kontrol grubuna kıyasla anlamlı ölçüde azalmıştır.

Chendil, Ranga, Meigooni, Sathishkumar ve Ahmed yaptıkları çalışmada, p53 mutant prostat kanseri hücre dizisi PC-3'te kurkuminin radyo-duyarlaştırıcı etkisini araştırmışlardır. Tek başına ışınlanan hücrelere kıyasla (SF2=0,635; D0=231 Cgy), radyasyonla kombinasyon halinde 2 ve 4 μM konsantrasyonlarında kurkumin, radyasyonla indüklenen klonojenik inhibisyonda (SF2=0,224; D0=97 cGy ve SF2'de) ve apoptozda önemli artış göstermiştir. Kurkuminin Bcl-2 protein indüksiyonu için gerekli olan TNF-α kaynaklı NF_KB aktivitesini inhibe ettiği bildirilmiştir. Tedavi edilen radyasyonla kombinasyon halinde kurkuminin, TNF-α aracılı NF_KB aktivitesinin inhibe edildiğini, Bcl-2 protein down-regülasyonuna neden olduğunu göstermiştir. Doğal bileşik olan kurkuminin kuvvetli bir radyosesitizer olduğunu ve prostat kanserinde gen ekspresyonunun etkilerinin üstesinden gelerek etkili olduğunu göstermişlerdir.

Sun, L. Li, XJ. Li ve Shen yaptıkları çalışmada, HRAS gen transkripsiyonel regülasyon bölgesi (TRR) metilasyon paternini araştırmak için 15 mesane kanseri dokusu ve 5 normal mesane dokusu arasında bisülfit PCR bazlı sıralaması yapılmışlardır. HRAS geni TRR metilasyonunun analizi, HRAS'ın metilasyon seviyesinin mesane kanseri ile klinik olarak (P=0,0049 eşleştirilmemiş Student t testi ile) olduğunu göstermiştir. Dahası eşleştirilmemiş Student t testi analizi, 3. (P <0,0001), 28'inci (P = 0,0006) CpG bölgesinde tümör ile normal arasındaki son derece anlamlı bir ilişki ve 12.'in (CpG bölgesinde, tümör ve metilasyon arasında önemli bir ilişki olduğunu göstermiştir. P = 0,0024).

Azuine ve Bhide yaptıkları çalışmada; zerdeçalın antineoplastik etki mekanizmasını daha da açıklamak için, hepatik sitokrom b5, sitokrom P-450, glutatyon ve glutatyon S-

transferaz aktiviteleri üzerindeki etkisi dişi İsviçre farelerinde incelenmiştir. Diyetteki zerdeçal (%2 veya %5), doza ve zamana bağlı olarak BP kaynaklı ön mide tümörlerini önemli ölçüde inhibe etmiştir. %2 zerdeçal diyeti, farelerde DMBA kaynaklı cilt tümörlerini önemli ölçüde bastırmıştır. Art arda yedi gün boyunca %5 zerdeçal diyeti, hepatik sitokrom b5 ve P-450 seviyelerinde %38 azalmayla sonuçlanmıştır.

Nakamura ve diğerleri yaptıkları çalışmada, prostat kanseri hücre çizgileri, LNCaP ve PC-3, kurkumin ile muamele etmişler ve etkileri, transdüksiyon testi ve Western blotlama kullanılarak androjen reseptörünün (AR) ve AR ile ilişkili kofaktörlerin sinyal iletimi ve ekspresyonu üzerinde ayrıca analiz etmişlerdir. Elde edilen sonuçlar, kurkuminin AR, aktivatör protein-1 (AP-1), nükleer faktör-B (NF-$_K$B) ve CREB (cAMP yanıt elemanı-bağlayıcı protein) bağlayıcı proteininin (CBP) işlemlerini ve ekspresyonunu aşağı düzenlediğini göstermiştir. Ayrıca kurkuminin agardaki azaltılmış koloni oluşturma kabiliyetinin gösterdiği gibi her iki hücre hattını dönüştürme aktivitelerini de inhibe ettiğini ifade etmişlerdir.

Gülle, Pala, Akpolat ve Bakkal yaptıkları çalışmada, çalışma için seçilen sıçanları 4 gruba ayrılmışlar ve bir tanesini kontrol grubu olarak belirlenmişlerdir. Radyasyon hasarı oluşturmak amacıyla kontrol ve kurkumin grubu dışındaki deneklere tek doz tüm vücut 8.3 Gy iyonize radyasyon uygulamışlardır. Kurkumin ve radyasyon+kurkumin grubu deneklere ışınlamadan 7 gün önce başlayarak günde 100 mg/kg kurkumini oral yoldan vermişlerdir. Işınlanmadan sonraki 4. Günde deneklerden anestezi altında ovaryum dokuları alarak mikroskobik inceleme için hazırlamışlardır. 4 gün sonra alınan ovaryum dokularının kesitlerini incelediklerinde, ışınlanmış gruplardaki atretik özellik gösteren follikülerin sayıca fazla olduğunu belirlemişlerdir. Radyasyon ile ışınlanan kurkumin tedavili grupta atretik folikül oranını radyasyon grubuna göre daha düşük bulmuşlardır.

Killian ve diğerleri yaptıkları çalışmada, kurkuminin, PC-3 prostat karsinom hücrelerinde NF$_K$B, IαBa inhibitörünün stabilizasyonuna yol açan IF-kinaz (IKKβ) inhibisyonu yoluyla NF$_K$B'nin çekirdeğe translokasyonunu inhibe ettiğini göstermişlerdir. -2 ve iki kemokini NFB'ye bağlayan otokrin/parakrin döngüsünü ortadan kaldırmıştır. Sentetik IKKβ inhibitörü SC-541 ile kurkumin kombinasyonu, iki bileşiğin hedefi paylaştığını gösteren hiçbir katkı maddesi veya sinerjik etki göstermemiştir. Kurkumin ve siRNA bazlı CXCL1

ve -2 yıkımı apoptoziyi indüklemiş, proliferasyonu inhibe etmiş ve COX2, SPARC ve EFEMP gibi birkaç önemli metastazı teşvik edici faktörü aşağı indirmiştir.

Aggarwal ve diğerleri yaptıkları çalışmada kurkuminin ileri göğüs kanserinde kemoterapinin etkisini kuvvetlendireceği ve akciğer metastazını inhibe edeceğini varsaymışlardır. Bu hipotezi paklitaksel (Taxol) dirençli meme kanseri hücreleri ve bir insan meme ksenogreft modeli kullanarak test etmişlerdir. Elektroforetik mobilite jel kaydırma deneyi ile incelendiğinde, meme kanseri hücrelerinde ve kurkuminte paklitaksel aktive NF-kappaB; bu inhibisyon, I-kappaB-alpha kinaz aktivasyonunun ve I-kappaB-alpha fosforilasyonunun ve bozulmasının inhibisyonu yoluyla gerçekleşmiştir. İnsan meme kanseri ksenogreft modelinde, diyetin kurkumin uygulaması, meme kanseri metastazı insidansını akciğere önemli ölçüde düşürmüş ve NF-kappaB, siklooksijenaz 2 ve matrsi metaloproteinaz-9 ekspresyonunu bastırmıştır.

Tsai, Weng, Kuo, Chiu ve Lin yaptıkları çalışmada, NSCLC hücrelerinin çeşitli kurkumin konsantrasyonlarına (5–40 μM) maruz bırakılmasının, MKK1/2-hücre dışı sinyal düzenlenmiş kinazın etkisizleştirilmesini içeren bir mekanizma vasıtasıyla mRNA'nın ve proteinlerin dengesizleştirilmesi yoluyla TP ve ERCC1'in mRNA'sı ve protein seviyelerini düşürdüğünü bulmuşlardır. (ERK1/2). Spesifik küçük enterferans yapan RNA'larla transfeksiyon yoluyla endojen TP veya ERCC1 ekspresyonunun tükenmesi, kurkumin maruz kalan NSCLC hücrelerinde hücre canlılığını önemli ölçüde azalttığını belirtmişlerdir. Kurkumin, ERK1/2'nin inaktive edilmesi ve TP ve ERCC1 protein seviyelerinin düşürülmesi ile NSCLC için sisplatin muamelesinin duyarlılığını arttırdığını ifade etmişlerdir.

Cai, Lin, Li ve Xu yaptıkları çalışmada, sinerjik etkileri test etmek için over kanseri hücre hatlarında kurkumin ve triptolid kombinasyon tedavisinden sonra hücre canlılığını ve apoptozu analiz etmişlerdir. Apoptoz indüksiyonu üzerine sinerjik etkiler laktat dehidrojenaz (LDH) sızıntı deneyi, hücre içi reaktif oksijen türler (ROS) deneyi, mitokondriyal membran potansiyeli (MMP) kaybı deneyi ve akış sitometri analizi ile belirlenmiştir. Hücre proliferasyonu ve apoptoz ile ilgili kritik regülatörler, qRT-PCR ve Western blotlama ile analiz edilmiştir. Kurkumin ve triptolid kombinasyonunun sinerjik olarak over kanseri hücresi büyümesini inhibe edebileceğini ve HSP27 ve HSP70'in eşlik

ettiği apoptozu indükleyerek, HSP27 ve HSP70'in sinerjik etkide önemli rol oynadığını göstermişlerdir.

Terlikowska, Witkowska, Zujko, Dobrzycka ve Terlikowski yaptıkları çalışmada, kurkumin ve farklı formülasyonlarının, sadece platin dirençli primer epitelyal yumurtalık kanserinde değil aynı zamanda ilaca çok dirençli kanser hücrelerinde / ksenograft modellerinde de çok işlevli antikanser aktivite mekanizmaları gösterdiği belirtilmiştir. Platin-taksan kemoterapötiklerle birlikte uygulanan kurkuminin sinerjistik etkiler gösterdiği, ksenogreft modellerinde de çok işlevli antikanser aktivite mekanizmaları gösterdiği belirtilmiştir. Platin-taksan kemoterapötiklerle birlikte uygulanan kurkuminin sinerjistik etkiler gösterdiği, dirençli hücreleri ilaçlara duyarlı hale getirdiği ve biyolojik olarak etkili dozlarını azalttığı bildirilmiştir.

Zheng, Tong ve Wu yaptıkları çalışmada, A2780 kanser hücreleri 6-24 saat 10-50 mumol/L kurkumin ile muamele etmişler ve A2780 kanser hücrelerinin büyüme inhibisyonu oranları MTT metodu ile ölçmüşlerdir. Hücre apoptozisi, akış sitometrisi (FCM) ve akridin turuncu-etidyum bromür floresan boyama yöntemi ile kontrol etmişler ve kanser hücrelerinde NF-kappa B (P65) ve kaspaz-3'ün protein seviyeleri SP immünhistokimyası ile gözlemlemişlerdir. Kanser hücrelerinin büyüme inhibisyon oranları %62,05- %-89,24'e ulaştığını belirtmişlerdir.

Chang ve diğerleri yaptıkları çalışmada, 76 tiroid kanseri hastasından DNA örnekleri izole etmişlerdir. Üç RAS geninin 2 ve 3 ekzonlarının ve üç çift primer kullanılarak BRAF geninin 15 ekzonunun mültipleks amplifikasyonu, tek bir tüp içerisinde gerçekleştirilmiştir ve ürünler üç tüpe bölünmüştür. RAS ve BRAF mutasyonlarını saptamak için bir primer uzatma analizi kullanılmış ve tüm sonuçlar doğrudan DNA dizilimi ile doğrulanmıştır. BRAF ve HRAS mutasyonlarının tümör dokularındaki frekansları sırasıyla %43 ve %4 bulunmuştur.

Jamieson, Alexiadis ve Fuller yaptıkları çalışmada, Ras/raf yolunun aktivasyonunun, granulosa hücrelerinde tümörejenik olduğunu tahmin etmektedirler. Üç Ras ve B-raf geninin gen ekspresyon patrnleri bir GCT ve yumurtalık epitelyal tümörleri panelinde ve normal premenopozal yumurtalıklarda belirlemişlerdir. Ekspresyon, gene spesifik (32) P etiketli problar kullanılarak PCR ürünlerinin Southern blot analizi ile birleştirilen gene

özgü primerler kullanarak RT-PCR ile belirlemişlerdir. Bilinen aktifleştirici mutasyonları taramak için doğrudan dizi analizi kullanılmıştır. Sonuçta incelenen tüm tümör tiplerinde dört genin yaygın ifadesi gözlenmiştir. Normal yumurtalıklar ile karşılaştırıldığında, incelenen tümör tiplerinin hiçbirinde genlerin hiçbiri belirgin olarak yüksek seviyelerde eksprese edilmemiştir. GCT'nin kohortundaki hiçbir gende mutasyon saptamamışlardır.

Aldaz, Gollahon ve Chen yaptıkları çalışmada, toplam tümör DNA'sı southern blot tekniğiyle, v-HRas sondajı BS9 kullanılarak analiz etmişlerdir. Bu analizde sırasıyla kromozom 1 ve X'de bulunan H-Ras geni ve HRASp psuedo geni tanınmıştır. HRASp, gen kopya numarası ve DNA yüklemesi için iç kontrol mekanizması görevini üstlenir. Uzun süre nakil yapılan dört tümör soyunda da birincil tümörlerle karşılaştırıldığında H-Ras geninde kayda değer amplifikasyon görülmüştür. İlginç olarak, HRAS amplifikasyonu gösteren tüm tümörler arasında, IGF2/HRASp oranı normalden yüksektir, 1.3 ile 1.7 arasındadır, bu da ekstra IGF2 kopyalarından en az birinin eş tümör DNA'larında var olduğuna işaret etmektedir. Tüm yumurtalıktan bağımsız tümör soyları da HRAS onkojeninin kodon 12'sinde mutasyon aktivasyonunun varlığını, polimeraz zincir reaksiyonu aracılı tahlili ile analiz edilmiştir. Tüm tümörler kodon 12 mutasyonu açısından pozitif sonuç vermiştir. Olası bir doğal suş HRAS aleli kaybı da çoğu tümörde gözlemlenmiştir. Epitelyal ve sarkomatoid-benzeri differansiyon'un tümör ilerlemesinin farklı etaplarında bulunan eş kökenden gelen hücreleri temsil ettiğini ve tümör hücresi fenotipininin değişmesinin HRAS dozunun artışı sebebiyle olduğunu ortaya koymuştur. Bu anaplastik tümörlerin klonal olarak türemiş olduğu görünmektedir, çünkü doğal tipteki alelini kaybeden HRAS onkojeninin kodon 12'deki mutasyonu aktive ettiği görülmüştür. İlginç olarak, HRAS aktive eden mutasyonlar insan meme karsinosarkomalarında bulunmuştur ve bu agrasif tümörler, bu raporda tarif edilen anaplastik tümörlerle fenotipik olarak karşılaştırılabileeği belirtilmiştir. NMU-endüklenmiş sıçan meme tümörlerinde, H-Ras mutasyonlarının tetikleyici olay olduğu öne sürülmüştür; sonuçlar aktive edilmiş H-Ras geninin artan dozunun da tümör ilerlemesinde önemli olduğunu ve hormondan bağımsız fenotipin elde edilmesiyle ilişkili olduğuna işaret etmiştir. Yani özetle, mutasyona uğramış HRAS onkojeninin yükselen dozlarını taşıyan hücreler ve tümörlerin doğal in vivo seleksiyonu, sıçan meme tümörü ilerlemesinde önemli bir itici güç olduğunu belirtmişlerdir. Epitelyal ve sarkomatoid-benzeri differansiyon'un tümör ilerlemesinin farklı etaplarında bulunan eş kökenden gelen hücreleri temsil ettiğini ve tümör hücresi fenotipininin değişmesinin HRAS dozunun artışı sebebiyle olduğunu ortaya koymuştur. Bu

anaplastik tümörlerin klonal olarak türemiş olduğu görünmektedir, çünkü doğal tipteki alelini kaybeden HRAS onkojeninin kodon 12'deki mutasyonu aktive ettiği görülmüştür. İlginç olarak, HRAS aktive eden mutasyonlar insan meme karsinosarkomalarında bulunmuştur ve bu agresif tümörler, bu raporda tarif edilen anaplastik tümörlerle fenotipik olarak karşılaştırılabilir. Mutasyona uğramış HRAS onkojeninin yükselen dozlarını taşıyan hücreler ve tümörlerin doğal in vivo seleksiyonu, sıçan meme tümörü ilerlemesinde önemli bir itici güç olduğu görülmektedir. En sık gözlemlediğimiz yapısal anormallikler, HRAS genini eşlediğimiz, Iq41-q42 alt bölgesini de içine alan kromozom 1'in q kolunun bölümlerinin çiftlenmeleridir. Oldukça anaplastik olan iki tümörün (65-7 ve 61-11) sitogenetik analizi de açıkça kromozom 1 anormalliklerini göstermektedir. Çalışmalarındaki hiçbir tümörde ekstrakromozomal DNA (çift nokta) kanıtına rastlanmamıştır, , bu da ekstrakromozomal amplifikasyonun, meme tümörlerindeki HRAS amplifikasyonunun mekanizmasında görülmediğine işaret etmektedir. Çalışmalarında, kromozom 1'in telomerik bölgelerinde kayıp olduğunun sitogenetik kanıtlarına ulaşmışlardır. İlginç olarak, yakın zamanda, NMU-endüklü sıçan memeli tümörlerinde, sıçan kromozom 1'in telomerik bölümlerinde gen markörlerini etkileyen yüksek oranda heterozigotluk kaybı olduğunu gözlemlemişlerdir.

Hakim ve diğerleri yaptıkları çalışmada, H-Ras ve K-Ras genleri, tavuk yumurtalık kanserlerinde, insan yumurtalık kanserlerinde tarif edilenlere benzer mutasyonlar için onları incelemek üzere 12 ve 13 kodonları dahil olmak üzere doğrudan sekanslama yoluyla değerlendirmişlerdir. H-Ras ve K-Ras tavuk tümörü genlerinin 12 ve 13 kodonları, doğrudan sekanslama ile mutasyonlar için değerlendirilmiştir. Hindi K-Ras ve tavuğun karşılaştırılması H-Ras, kodon 112 etrafındaki nükleik asit sekansı seviyesinde %86 aynı olduklarını göstermiştir. Bu homolojilere dayanarak tavuğun amplifikasyonuna yönelik primerler 12 ve 13 kodonlarının etrafındaki K-Ras ve H-Ras genleri tasarlanmıştır. H-Ras ve K-Ras tavuk tümörü genlerinin 12 ve 13 kodonları, doğrudan sekanslama ile mutasyonlar için değerlendirilmiştir. İnsan yumurtalık kanserinde, H-Ras ve K-Ras genlerinin 12. ve 13. kodonlarındaki mutasyonlar düşük habis potansiyel tümörlerin işaretidir ancak invaziv over karsinomlarında nadir görülür.

Kurkumun, birçok düzeyde kanser hücresiyle etkileşerek sitotoksik kemoterapi ve radyoterapinin etkisini arttırır. Anti-invazyon özelliği matriks metalloproteinaz-2 (MMP-2) düzeyini azaltması ve doku metalloproteinaz-1 inhibitörü (TIMP-1) düzeyini

güçlendirmesiyle ilişkili olabilir. Bu enzimler tümör hücrelerinin invazyonu ile ilişkilidir. Kurkumin iki ana anjiyogenik faktörün inhibitörüdür: VEGF ve temel fibroblast büyüme faktörü (bFGF). Kurkumin endotelyal hücrelerden nitrik oksit üretimini azaltır. Ayrıca damarlarda membrana bağlı olarak bulunan bir enzim olan N aminopeptidaza yani CD13'e bağlanıp aktivitesini önler. Böylece tümör hücrelerinin konağa invazyonu ve anjiyogenezi önlenmiş olur. CD13'ü hedefleyen kurkumin türevleri neoplastik anjiyogenezi engellemek için geliştirilebilir. Matriks metalloproteinaz-2'nin yanında MMP-9'u da inhibe eden kurkumin, ekstrasellüler matriksin yıkılmasını da önlemiş olur. Böylece tümör hücrelerinin invazyonu önlenir (Taşkıran, Akar, & Erbaş, 2017).

Kurkumin, radyoprotektif özelliği ve önemli fitokimyasallardan birisi olması nedeniyle radyomodifiye bir ajan olarak kabul edilmektedir. Kurkuminin radyoprotektif etkisinden birden çok mekanizma sorumludur. Radyasyon aracılı serbest radikalleri süpürme ve ışınlanmış sistemlerde kurkumin ile hücresel antioksidanların arttırılması bu aktiviteden sorumlu temel mekanizmalar olarak düşünülmektedir (Gülle, ve diğerleri, 2018).

Son zamanlarda, kurkuminin kemopreventif aktivitelerinin, hücre büyümesini önleme ve apoptozu indükleme kabiliyetine bağlı olabileceği gösterilmiştir (Shi, ve diğerleri, 2013). Bu çalışmanın amacı spontan ovaryum kanser oluşumu ve gelişiminde en uygun model olan tavuk modelinde ovaryum kanser insidans oranının azaltılması üzerine kurkuminin etkisini araştırmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kanser

Bilinen tarih boyunca kanser insan ve hayvanlarda sık görülen bir sorun olmuştur. Kanser hakkında bilinen en eski kayıtlar MÖ 3000 yılına dayanmaktadır. Kanser kelimesi Latince yengeç manasına gelen "*canker*" veya "*carcinos*" kelimelerinden meydana gelmiştir. Tümör terimi ilk kez MÖ üçüncü yüzyılda tümörün etrafındaki şişmiş damarları bir yengecin bacaklarına benzettiği için Hippokrat tarafından kullanılmış Yunan Doktor Galen ise şişme anlamına gelen "*oncos*" terimini kullanmıştır (Baykara, 2016).

Türk tıp tarihinde ise kansere "seratan" denilmektedir. Tarsuslu Osman Hayri Efendi' nin "Kenzüsıhhatül Ebdaniye" (1298) adlı eserinde seretan, fındık ya da küçük yumru büyüklüğünde ağrılı, etrafı damarlı bir oluşum olarak nitelendirilmektedir. İshak Bin Muradın "Havasüledviye" (1390) adlı eserinde kanser tedavisinde günlük bitkisi tavsiye edilmektedir. Şerafeddin Sabuncuoğlu'nun "Cerrahiye–i İlhaniye" (1465) adlı eserinde ise seretanın etrafının dağlanarak kitlenin kesilmesi önerilir fakat uzun zamandır duran ve büyük olan kitlenin dağlanmaması gerektiği ifade edilmektedir. Türk tıp tarihinde de tıpkı Hipokrat ve Galen 'de olduğu gibi hastalığın nedeni humoral patoloji teorisine göre açıklanmakta ve seretanın ya da kanserin nedeni kara safraya bağlanmaktadır.

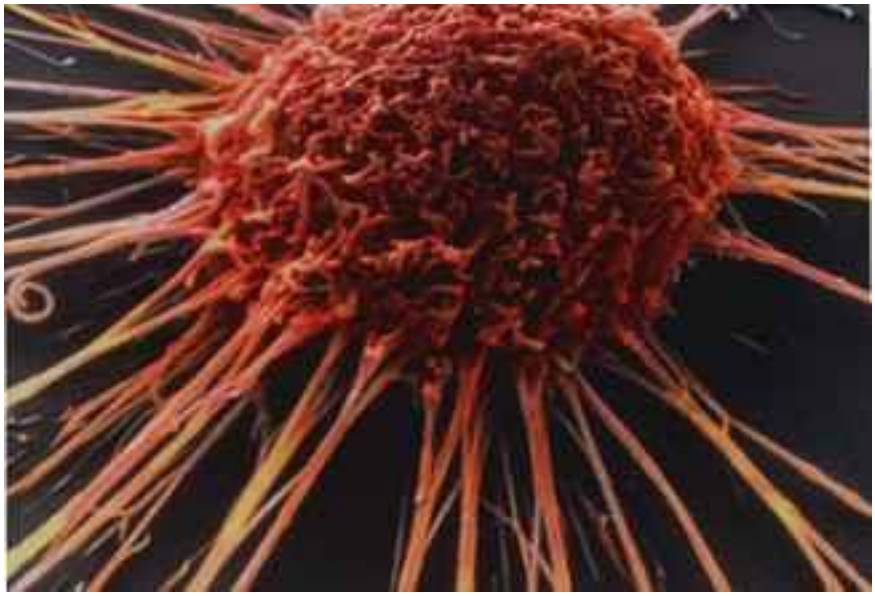
Rönesans ile birlikte Avrupa tıbbında kanserin tanımlanması ile ilgili yeni gelişmeler ortaya çıkmıştır. Bu dönemin büyük cerrahı Ambroise Pare (1510–1590) malign tümörleri "meydana geldiği yerin elemanlarından oluşan etin fazla büyümesi'' olarak nitelendirmiş ve kadınlarda kanserin daha çok olduğunu, meme kanserlerinin ise koltukaltı gangliyonları aracılığı ile yayılım yaptığını belirtmiştir.

Kanser üzerindeki ilk bilimsel mikroskobik incelemeyi Marcello Malpigi (1628–1771) gerçekleştirdi. Morgagni (1682-1771) ise günümüzdeki birden çok kanser türünü açıkladı ve primer tümörleri sekonder tümörlerden ayırdı. On yedinci yüzyılın cerrahları ile birlikte kanser dokunulmaması gereken bir olgu olmaktan çıkmıştır (Atıcı, 2007).

Son bir asırdır tedavi alanında büyük ilerlemeler gerçekleşmesine rağmen kanser tedavisinde istenilen noktaya varılamamıştır. Günümüzde geleneksel kanser

kemoterapisinin kullanımı yetersiz kalmaktadır. (Anand, Sundaram, Jhurani, Kunnumakkara, ve Aggarwal, 2008).

Kanser yaşamın herhangi bir döneminde, vücudun herhangi bir organında meydana gelebilmekte ve herkesi etkileyebilmektedir. Vücudumuzdaki tüm organlar, gerektiğinde yenilerini oluşturmak üzere bölünen hücrelerden meydana gelmektedir. Bütün kanser türleri hücrede başlar.



Resim 2.1. Kanser hücresi (www.hayatisaglik.com)

Vücut çok farklı tiplerde hücrelerden meydana gelmiştir. Bu hücreler büyür ve canlılığın devamını sağlamak için kontrollü olarak bölünürler, çoğalırlar. Hücreler zarar gördüğünde veya yaşlandığında, ölürler ve yerlerine yeni hücreler meydana gelir. Bununla birlikte bazen bu düzenli döngü bozulabilir ve hücrenin genetik materyali (DNA) zarar görebilir veya değişime uğrayabilir. Mutasyona uğramak normal hücrelerin büyümesi ve bölünmesini etkiler. Kontrolsüz şekilde bölünen hücrelerin oluşturduğu bu doku kütlesine tümör adı verilmektedir. Tümörler bening ve malign olabilir (Koygun, 2015).

Bening (iyi huylu) tümörleri oluşturan hücreler, yavaş prolifere olan ve başlangıç bölgeleriyle sınırlı kalan hücrelerdir. Bening tümörler vücudun diğer bölgelerine yayılım göstermeyen tümörlerdir ve tümör bulunduğu bölgeden cerrahi müdahale ile çıkartıldığında tekrar büyüme göstermez.

Malign (kötü huylu) tümörleri oluşturan hücreler hızlı prolifere olan anormal hücrelerdir ve genetik yapıları bozulmuş olduğundan anormal proteinler üretirler. Bu hücreler lenf veya kan damarlarına geçerek vücudun çeşitli bölgelerine yayılma özelliğine sahiptirler. (Cooper , 2001).

Karsinogenezin temelinde; hücrenin yaşaması, büyümenin kontrolü ve diferansiasyon gibi biyolojik olayları etkileyen mutasyonların kademeli olarak bir araya gelmesi yer almaktadır. Kanserin gelişimi sürecinde tümör hücreleri birçok fenotipik özellikleri kazanır. Bu değişimler, tümör hücrelerinin hızlı ve sınırsız artmalarına ve çevre dokuya dağılmalarına sebebiyet verir. Ayrıca bu hücreler özgün mikro çevreden bağımsız olarak yaşamını devam ettirme ve metastaz yapma yeteneğine sahiptir. Protoonkogenlerin ve tümör baskılayıcı genlerin deri mutasyonları farklı mekanizmalar yardımıyla malign fenotipin oluşumuna katkıda bulunur (Doğan ve Güç, 2004).

Hanahan ve Weinberg 2000 yılında yayımlanan makalelerinde malign büyüme için gerekli olan altı değişikliği sıralamıştır. Bunlar büyüme sinyallerinde kendine yeterli olma, anti büyüme sinyallerine karşı duyarsız olma, sınırsız replikasyon, apoptozdan kaçınma becerisi, sürekli anjiyogenez, dokuları istila etme ve metastaz yapma becerisidir (Güneydaş, 2017).

Kanserlerin %10-15'inin kalıtımsal olduğu yani ebeveynlerinden gelen genlerle geçtiği geriye kalan %85-90'ının ise yaşam boyunca canlı hücrelerdeki DNA'nın mutajenlere maruz kalması, hücre DNA'sındaki hafif progressif değişiklikler ve replikasyonda hatalar oluşması ile şekillendiği düşünülmektedir. Bazen oluşan bu mutasyonlardan biri içinde bulunduğu hücrenin büyümesi ve bu hücreden türeyen bir kanser klonunun oluşmasını sağlar.

Kanser multifaktöryel olup bakterilerden virüslere, radyasyondan kalıtıma, çevresel faktörlerden beslenme alışkanlığına ve kimyasallara kadar birçok faktör kanser oluşumunda suçlanmaktadır (Yokuş ve Çakır, 2012).

Hücrelerin kontrolü ve bölünmesi genlerin kontrolünde olduğundan kanser temel olarak genlerle ilişkili olan bir hastalıktır. Kanserin oluşumunda en önemli role sahip olan 3 gen

grubu bulunmaktadır. Bunlar tümör baskılayıcı genler, DNA tamir genleri ve onkogenlerdir.

Hücrenin bölünmesini ve çoğalmasını kontrol eden, hasar durumunda DNA tamirini başlatan, tamir girişiminin başarısız olması durumunda apoptozu tetikleyen gen gruplarına tümör baskılayıcı genler denir.

Bir diğer önemli gen grubuysa hasarlı DNA'yı tamir etmek için lazım olan proteinleri o bölgeye çeken ve böylece genin işlevinin yeniden oluşmasını sağlayan DNA tamir genleridir (Baykara, 2016).

Onkogenler öncelikle virüslerin sahip olduğu ve hedef hücrelerde transformasyona neden olan genler olarak tanımlanmıştır. Viral onkogenlerin normal hücrelerde işlev yapan hücresel emsalleri bulunmaktadır. Protoonkogen denilen bu hücresel genlerin mutasyonları veya anormal aktivasyonları tümör gelişimi ile ilişkilidir (Pazarbaşı ve Kasap, 2003).

Hücre büyümesini ve farklılaşmasını sağlayan genler olan protoonkogenler, mutasyonlar, artmış gen ifadesi, gen duplikasyonları ve/veya kromozal yeniden düzenlemeler nedeniyle etkin hale geçip onkogen haline dönüşebilirler. En bilinen onkogenlere örnek olarak RAS, Erk, MYC gibi genler gösterilebilir (Baykara, 2016).

RAS proteini monomerik GTP bağlayan bir GTPaz'dır. RAS proteinleri hücre zarının sitoplazmik yüzüne bakan kısmına bağlanmak için bir lipit gurubu ihtiva etmektedir. RAS gen ailesi; Harvey RAS (HRAS), Kristen RAS A ve B (KRAS) ve nöroblastom RAS (NRAS) olmak üzere 4 fonksiyonel genden meydana gelmektedir. Farklı hücrelerde görevli, farklı RAS proteinleri bulunur. RAS hem mitojenik etkilidir hem de hücre siklusu kontrolünde indirekt olarak görev alır.

RAS proteini, GTP bağlayan bir protein olup iki belirgin konformasyon arasında gidip gelen bir anahtar gibi hareket eder. GTP bağladığında aktif, GTP bağlamadığındaysa in aktiftir. Aktif ve in aktif durumlar arasındaki geçişi Guanin nükleotid değiş tokuş elementleri (GEF) düzenler. GEF'ler, GDP'nin ayrışmasını ve sonrasında GTP'nin sitozolden alımını uyararak RAS'ı aktifleştirirler. GTPaz etkinleştirici proteinler (GAP) RAS'taki GTP'nin hidroliz hızını arttırarak RAS'ı in aktive ederler. Mutant Ras formları

GAP'a duyarsızdır ve sürekli GTP bağlı aktif durumda kalırlar. Böylece kanser oluşumunu teşvik ederler. Tirozin kinaz reseptörleri GEF'leri aktifleştirerek GAP'ları devre dışı bırakarak RAS'ı aktifleştirebilirler. RAS proteinleri büyüyen hücrenin proliferatif ve değişim sinyallerinde aktif rol aldığı için tüm kanserlerde somatik kazanılmış mutasyonlara çok açıktır. Bu şekilde intrinsik GTPaz aktiviteli proteinlerin yapısı değişir. Bazı tümörler üzerinde yapılan çalışmalar RAS gen ailesinde nokta mutasyonlara yatkın olan bazı 'hot spot'ları göstermiştir (P. Aslan Koşar, Çapar ve A. Koşar, 2012). RAS genlerinin 12. 13. ve 61. kodonunu etkileyen mutasyonları özgüldür (Tural, Tekcan, Elbistan ve Kara, 2013). Sık mutasyonlar kodon 12 de glisinin valine, kodon 13'te glisinin sisteine ve kodon 61'de glutaminin arginin/lizin/lösine değişimi şeklinde olmaktadır. Hotspot kodonlar olarak bilinen ekzon 12, 13 (segment 1) ve 61 (segment 2) deki mutasyonlar spesifik aminoasit değişimlerine sebep olur. Bu durum GTPaz aktivitesinin kaybıyla sonuçlanır.

RAS proteininin ana fonksiyonu sürekli mitojenik sinyalizasyonla ölümsüz hücrelere dönüşüm ile sonuçlanan aşağı yönde kinaz kaskadının aktivasyonunu baskılamaktadır.

RAS; hücrelerin sinyal transdüksüyonu, proliferasyonu, farklılaşması (diferiasyon), adhezyonu, apoptozisi, migrasyonu gibi süreçlerinde görev alır. RAS ve RAS ilişkili proteinler arttığında invazyon ve metastazı arttırmak ve apoptozisi azaltmak yoluyla sıklıkla kanserlerin oluşumuna sebep olmaktadır. Uygun olmayan aktivasyonun hücrelerin sinyal iletimi, proliferasyon ve malign dönüşümde önemli rol oynadığı gösterilmiştir. Çeşitli genlerdeki mutasyonlar ve RAS geninin kendi mutasyonları buna sebep olabilir.

İnsan kanserlerinde RAS protoonkogeni mutasyonları en fazla görülen genetik değişikliklerdendir. RAS geni mutasyonları meme, ovaryum, mide, özefagus, prostatta az görülmesine rağman pankreasın bütün adeno karsinomlarında, kolon ve tiroit kanserlerinin %50'sinde gözlenir. RAS genlerdeki somatik mutasyonlar primer ve rekürren üreteliyal tümörlerde erken tanıda ve tedavi takibinde kullanılabilir (Aslan Koşar, ve diğerleri, 2012).

RAS mutasyonları neoplastik follikül oluşumu olan tümörlerde, papiller yapıda olmayan tümörlerde ve daha çok papiller karsinomların folliküler varyantlarında tanımlanır. Ayrıca, RAS mutasyonları bening folliküler adenomların %20-40'ında bulunur (Tural ve diğerleri, 2013).

Kanser dünyada ölüm nedenleri arasında ilk sırada yer almaktadır. İnsan vücudunu etkilediği bilinen yüzden fazla kanser türü bulunmaktadır. Kanserin türü bulunduğu organa ya da dokuya göre adlandırılmaktadır.

2.1.1. Ovaryum anatomisi

Overler uterusun her iki yanında ve pelvis boşluğunda yer alan organlardır. 2-3 cm uzunluğunda olan overler bir badem büyüklüğündedir. Overlerin büyüklüğü yaşa ve hormanal duruma bağlıdır. Overlerin fonksiyonları oosit üretmek, östrojen ve progesteron hormonlarını salgılamaktır (Doğan, 2018).

Histolojik olarak yumurtalığın iki ana bölümü vardır; dış korteks ve iç medulla. Bir germinal tabaka, kuboidal epitel hücrelerinin yapılan yumurtalıklarının tamamını kaplar.

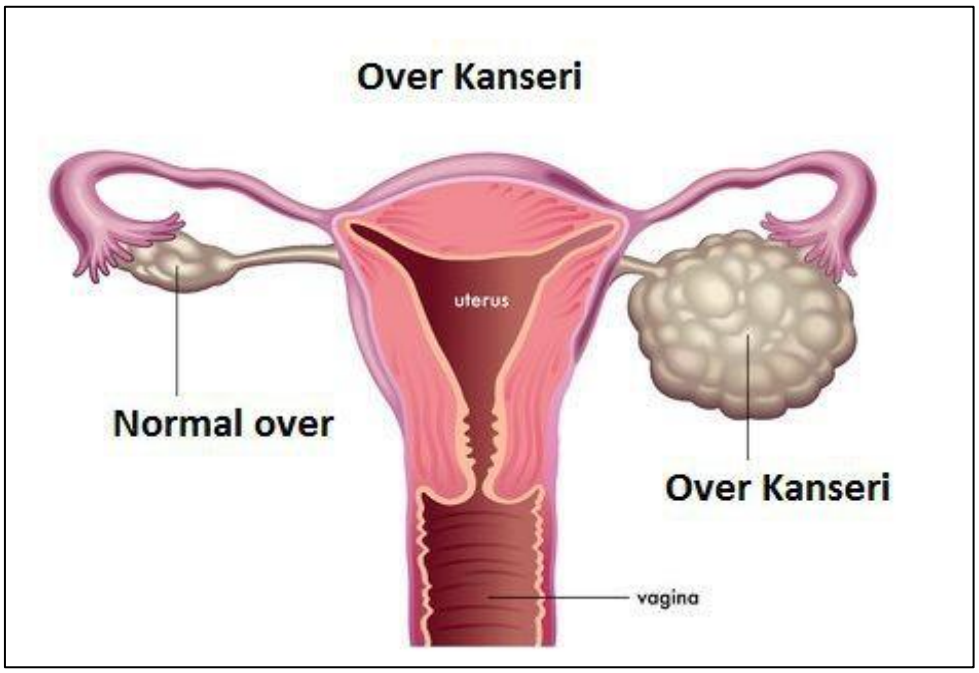
Korteks; foliküllerin ve oositlerin, gelişim ve dejenerasyonun çeşitli aşamalarında bulunduğu yerdir. Korteks sıkıca paketlenmiş bağ dokusundan yapılır. Bu kortikal bağ dokusunun stroması, hormonal stimülasyona vücuttaki diğer fibroblastlardan farklı bir şekilde yanıt veren iğ şeklindeki fibroblastlardan oluşur. Medulla, yumurtalıkların damarlarının bulunduğu ve esasen gevşek stromal bir dokudur (Miranda, 2018).

Sağlıklı bir over yapısında üç farklı tipte hücre bulunur. Bunlar oositlere farklılaşan germ hücreleri, östrojen ve progesteron üreten stromal hücreler, overlerin yüzeyini örten epitel hücreleridir. Overlerin yüzeyi tek sıra kübik epitel ile örtülüdür ve bu epitelin altında sıkı bağ doku “ *tunika albuginea*” bulunur. Overin yüzey epitelinde mitoz yoktur. Yüzey epiteli alttaki stromadan ince bir bazal membran ile ayrılmıştır. Yüzey epitelinin korteks içine invajinasyonu ile inklüzyon gland ve kistleri oluşur. Bunlarda displastik değişiklikler olabilir ve birçok otör yüzey epitel tümörlerinin bu invajinasyondan kaynaklandığını savunmaktadır (Kabadayı, 2016).

2.1.2. Ovaryum kanseri

Yumurtalık kanseri yumurtalığın yapısındaki ana hücreler olan epitelyum hücrelerinin ve embriyonik döneme ait diğer hücrelerin çok fazla derecede bölünmesi sonucu oluşan bir hastalıktır.

Over kanseri kadınlara en fazla görülen altıncı kanser olup jinekolojik kanser ölümlerinin en sık nedenidir. Over kanseri kadınlarda görülen kanserlerin %4'ünü, jinekolojik kanserlerin ise %27'sini oluşturur (Yetimalar, ve diğerleri, 2007).



Resim 2.2. Over kanseri (www.taylansezer.com.tr)

Dünya genelinde her yıl yaklaşık 225 000 kişiye over kanseri tanısı konmaktadır ve over kanseri her yıl yaklaşık 140 000 ölüme neden olmaktadır. Over kanseri hastalarının büyük kısmı sporadiktir ve yaklaşık % 90'lık kısmı epitelyal over kanseridir (Nakamura, ve diğerleri, 2016).

Over malignensilerinin yaklaşık %90 gibi büyük bir kısmı epitelyal over kanserlerinden meydana gelirken geriye kalan kısmı germ hücreli tümörler ve seks-kord stromal tümörlerden oluşur (Grup Florence Nıghtıngale Hastaneleri, 2016). Epitelyal over kanserleri dört ana histolojik gruba ayrılmaktadır. Seröz, berrak hücreli, endometrioid ve müsinöz (Bilicen, 2018). Epitelyal kanserlerin yaklaşık %75'i kötü prognozlu histolojik tiptedir. Over kanserinde de hastalığın evresi en önemli prognostik faktörlerdendir. Evreye ek olarak; hastalığın boyutu, asit hacmi, hastanın yaşı, bağımsız prognostik değişkenlerdendir (Pınar, Algıer, Doğan, ve Kaya, 2008). Epitelyal over kanseri içerisinde en sık görülen alt grup ise seröz epitelyal over kanserleridir. Yüksek dereceli seröz epitelyal over kanserleri ile seröz tubal kanserler ve seröz peritoneal kanserler son

dönemde ortak klinik davranışları ve ortak tedavi şekilleri nedeniyle tek bir klinik durum olarak değerlendirilmektedir.

Bir kadının yaşam boyu yumurtalık kanseri geliştirme riski 1/71 oranındadır. İnvaziv (yayılan) yumurtalık kanseri, daha kolay saptanan ve daha yaygın ve rahim boyu (serviks) kanserlerine göre daha sık görülen ölüm nedenidir (Grup Florence Nıghtıngale Hastaneleri, 2016). İnvaziv epitelyal over kanseri görülme sıklığı yaşla beraber artmaktadır (Uçkan, 2017). Halen yumurtalık dışına yayılmadan önce bu kanserlerin ancak % 20'den azı saptanabilmektedir (Lab Tests Online, 2017). Eğer hastalık menopoz sonrasında meydana gelmişse bozulma ana hücrede olmuştur. Yirmi yaşın altında olmuşsa daha çok embriyonik hücrelerde meydana gelmiştir (Grup Florence Nıghtıngale Hastaneleri, 2016).

Over kanseri evrelemede FIGO'nun " *International Federation of Obstetrics and Gynecology* '' 2014'te tekrar düzenlediği yeni sistem kullanılmaktadır. FIGO sisteminde over kanseri dört evreden (Evre I, Evre II, Evre III ve Evre IV) oluşmaktadır. Evre 1'de kanser hücreleri sadece overlerde görülür ve yayılımı yavaştır. Evre II yayılımının overlerin dışında ve peylisin çevrelediği alan içinde, evre III yayılımın karın boşluğu içinde olduğu evredir. Kanser hücreleri kasık veya rahmin arkasındaki lenf düğümlerinde de bulunabilir. Evre IV ise kanserin karaciğer, akciğerler gibi diğer vücut organlarına yayılmış olduğu evredir (Günel, 2018).

Over kanseri riskini arttıran faktörler; ileri yaş, nulliparite ve ailede over kanseri hikayesinin bulunmasıdır. Erken menarş, geç menopoz, infertilite de önemli risk faktörleridir. Her gebeliğin over kanseri gelişim riskini % 10 oranında azalttığı tahmin edilmektedir (Yılmaz, 2017). Tüp ligasyonu ve histerektomi, yağ açısından düşük lif, karoten, vitaminden zengin diyet over kanseri gelişimini azaltan faktörlerdendir.

Genetik kökeni olan over kanserlerinin %90 kadarı BRCA1 (Breast cancer1) veya BRCA2 (Breast cancer 2) genlerindeki mutasyon sonucu oluşmaktadır. Bunun dışında bazı genetik mekanizmalarda over kanseri risk faktörü olarak değerlendirilebilir:

- Tümör baskılayıcı genlerdeki mutasyonlar
- p53 gen mutasyonu
- RAS mutasyonu

- c-myc
- AKT2
- PIK3C gibi ((Önal, 2015).

Yumurtalık kanseri diğer adıyla over kanseri teşhis edilmesi zor olan kadın hastalıkları arasında yer alır. Genel olarak hastalık ileri bir seviyedeyken teşhis edilir. Bu nedenle de yumurtalık kanseri tedavisi oldukça zordur. (Grup Florence Nıghtıngale Hastaneleri, 2016). Yumurtalık kanser tedavisi için en önemli faktör erken teşhistir ve modern tıp sayesinde kanser hastalığı erken evrelerde tespit edilebilmektedir. Fitoterapi bilimi; kemoterapi, radyoterapi ve immünoterapi gibi modern tedavi yöntemlerinin etkisini arttırmakta, yan etkileri minimalize etmekte ve kanser hastalarının çaresi olmaktadır. Fitoterapi (Profesyonel Bitkisel Tedavi) ve modern tıbbın birlikte uygulanması ile her yıl binlerce hasta kanseri yenmektedir (Özkul, 2019).

2.1.3. Kanser tedavi yöntemleri

Kanser tedavisinde kemoterapi, radyoterapi, cerrahi yöntemleri en sık başvurulan yöntemler olmakla birlikte hormon terapisi ve biyolojik yöntemlerin kullanılması gibi farklı yaklaşımlar da diğer yöntemlere destek olacak şekilde birlikte veya tek başına kullanılabilir. Ayrıca günümüzde tamamlayıcı ve alternatif tedavi (TAT) kullanımı kanser hastaları arasında giderek yaygınlaşmaktadır.

Radyoterapi; kanserli hücreleri iyonizan ışınlar kullanarak öldürmeye dayanan bir tedavi yöntemidir. Vücudun sadece belli bölgesini hedef alarak yapılabildiği gibi tüm vücudu hedef alan tedavilerde uygulanmaktadır (Baykara, 2016).

Kemoterapi; kanser hücrelerini yok etmek vaya bu hücrelerin büyümesini kontrol altına almak için antikanser ilaçlar kullanılarak yapılan tedavidir. Kanser tedavisinde tek başına veya cerrahi ve radyoterapi ile birlikte uygulanabilir (HSGM Anasayfa, 2017).

Kök hücre tedavisi; kök hücreleri, kendini yenileme özelliğine sahip, özelleşmiş hücrelere farklılaşabilen, vücut içinde veya laboratuvar ortamında uygun şartlar sağlandığında birçok farklı hücre tipine dönüşebilen farklılaşmamış hücrelerdir. Kök hücreler totipotent,

pluripotent, multipotent, oligopotent ve unipotent kök hücreler olarak sınıflandırılabilirler ve kök hücreler kanser de dahil olmak üzere birçok hastalığın tedavisinde kullanılabilirler.

Gen tedavisi; gen tedavisinin asıl amacı tedavi edici etkiyi oluşturmak üzere genetik materyalin hücrelere transfer edilmesidir. Gen tedavisinin temel ilkesi "tamir etme" veya "yerine koyma"dır. Fonksiyonu bozulmuş hücresel genin ekspresyonunu değiştirme "tamir etme" ilkesini tanımlarken fonksiyonunu kaybetmiş bir genin yeniden hücre içerisine yerleştirilmesi ise "yerine koyma" ilkesini tanımlamaktadır. Günümüzde gen tedavisi çalışmaları başlıca onkogen ekspresyonunu baskılamaya, eksik olan tümör baskılayıcı gen aktivitesini yerine koymaya, immün sistemi uyarmaya, tümör damar endotelini ortadan kaldırmaya ve dışarıdan verilen ilaçlara karşı tümör hücre duyarlılığını attırmaya (intihar genleri) yönelik olarak yapılmaktadır (Baydın ve Akbulut, 2013).

Hormonal tedaviler; hormonlar vücutta doğal olarak üretilen proteinler veya ihtiyaca göre dışarıdan verilen kimyasal maddelerdir. Üretim sonrası, bu moleküller dolaşıma girip endokrin sinyaller yoluyla doku ve organların davranışını kontrol ederler. Hormaonlar kanser tedavisinde ilaç olarak kullanılabilierler. Bu ilaçlar her ne kadar kemoterapi ilaçlarını andırsalar da en büyük farkları vücudun doğal yollardan ürettiği hormonun hücreye bağlanmasını ve kanser hücrelerinin büyümesini engellemektedir.

Cerrahi yöntemler; gelişen kanserlerin engellenmesinde profilaktik olarak, dokudan bir parça alıp (biyopsi) tanı konmasında ve metastaz veya yayılım olmayan durumlarda kanserli dokunun / kitlenin vücuttan çıkarılmasında çok sıklıkla kullanılır.

Biyolojik tedaviler; biyolojik tedavilerin amacı biyolojik maddeler kullanarak kanserin tedavi edilmesidir. Monoklonal antikorlar, kanser aşıları, anti tümörojenikler (kanserin büyümesini engelleyiciler), anti anjiyogenikler (kan damarlarının büyümesini engelleyiciler), interferonlar, interkörinler ve gen terapi biyolojik tedavinin alt grupleri olarak sınıflandırılabilirler (Baykara, 2016).

Tamamlayıcı ve alternatif tıp; tamamlayıcı tedavi, bilimsel tıbba destek amaçlı yapılan tedavilerdir. Yaşam kalitesini geliştirmek, semptomları ve ilaçların yan etkilerini azaltmak, fiziksel ve psikolojik destek sağlamak amacıyla uygulanır. Alternatif tedavi ise bilimsel tıbbi uygulamalr yerine yapılan ve etkisi bilimsel olarak kanıtlanmamış tedavilerdir.

Kanserde tamamlayıcı ve alternatif tedavi (TAT) kullanımı giderek artmaktadır (Kav, Hanoğlu, ve Algıer, 2008).

Bitkisel kaynaklı besinler ile bunların aktif bileşenlerine ilgi son yıllarda artmaktadır. Bitkiden türetilmiş bileşikler, klinik olarak yararlı birkaç anti – kanser ajanının önemli bir kaynağı olmuştur (Cragg ve Newman, 2005).

2.1.4. Kanser sinyal yolakları

Hücre çoğalması ve hücre siklusunun ilerlemesi büyümenin kontrolünde rolü oynayan genlerin ekspresyonu ile bağlantılıdır. Ökaryot hücre siklusu M (mitoz) G, S ve G fazlarından meydana gelmektedir. Bu süreçte hücre uyarımı ve büyüme meydana gelir veya hücre G fazında durmaktadır. Hücre siklusunda G-S geçişinde, G-M geçişinde ve metafaz-anafaz geçişinde kontrol noktaları vardır. Hücre siklusu siklin bağımlı kinazlar (cdk, katalitik altbirim) ve siklin (cyc, düzenleyici altbirim) tarafından kontrol edilmektedir. Hücre homeostazisi hücre çoğalması, büyümenin durdurulması ve apoptozis (programlı hücre ölümü) ile devam ettirilmektedir. Hücre siklusu içindeki olayları düzenleyen ve kontrol eden etkileşimler çok sayıda ve karışıktır. Hücre siklusunun düzenlenmesindeki hatalar hücre bölünmesinin kontrolunun bozulmasına sebep olur. Hücre siklusu kontrol noktalarında değişimler kanser gelişimine sebep olabilir (Cabadak, 2008).

Kansere sebep olan 250'nin üzerinde gen tanımlandığı ve birçok gende işaret edildiği için, çeşitli mekanizmaların insan kanserlerine neden olduğu düşünülmektedir. Bu çalışmalar henüz tamamlanmadığı için son olarak bilinen onkoproteinlerin büyük çoğunluğu bu sınırlı sayıdaki yolaklara ilave edilebilir veya en azından bu yolaklarda aktivite gördüğü gösterilebilir. Bu yolaklar aynı zamanda normal hücrelerinde akıbetini, yaşamını, proliferasyonunu, farklılaşmasını ve fonksiyonunu yapan sistemlerdir. Kanser hücrelerinde, kontrolsüz proliferasyon, farklılaşmanın bloke edilmesi, azalmış apopitoz, değişmiş doku yapısı gibi kanser hücrelerinin karakteristik özelliklerine neden olmak üzere bu yolakların aktivitesi artmış veya inaktive edilmişlerdir. Bazı "kanser yolakları" spesifik bir kanser türüne dahil olurken diğerleri malignant tümörlerin geniş bir aralığında kritik rollere sahip olabilirler. Her hücresel regülatör sistemi bir kanser yolağı olarak düşünmekten sakınmak için şöyle bir tanımlama formülü yapılabilir: Bir "kanser yolağı, en

azından bir insan kanserinin gelişimi için bir genetik veya epigenetik mutasyonla aktivasyonu veya inaktivasyonu gerekli olan bir hücresel regülatör sistemdir.” Tipik olarak kanser yolakları bir kanser tipine veya farklı kanser tiplerine sahip bireylerde aynı regülatör sistemlerin farklı komponentlerindeki değişimlerle meydana çıkabilirler (Pazarbaşı, M. Kasap, ve H. Kasap, 2011).

Embriyo gelişiminde olduğu gibi kanser gelişiminde ve ilerlemesinde önemli süreçler olan hücre çoğalması, farklılaşması, göçü, metabolizması ve davranışı hücre sinyal yolakları tarafından yapılmaktadır. Birçok parakrin (büyüme ve farklılaşma faktörleri, dönüştürücü büyüme faktörü-β, Wnt, Hedgehog) ve jukstakrin sinyaller (Notch yolağı, integrinler ve gap junction'lar) bu süreçlerin düzenlenmesinde görevli hücre içi yanıtları başlatmaktadır. Bu süreçte önemli genlerin kodlanmasını düzenleyen proteinlerde oluşan genetik mutasyonlar ve mitojen ile aktive edilen protein kinazlar (MAPK), fosfoinositid-3 kinaz/Akt/mTOR, janus kinazlar (JAK), hücre döngüsü ile ilgili proteinler gibi birçok sinyal yolaklarının aktivasyonu kontrolsüz hücre çoğalması ve kanser gelişiminde anahtar rol oynamaktadır. Kanser hücrelerinin büyüme faktörlerinde kendine yeterlilik, hücre döngüsü kontrolünü kaybetme, apoptozdan kaçma, sınırsız ve kontrolsüz çoğalma ve anjiyogenez desteğini sağlamaları sinyal molekülleri yardımı ile desteklenir. Kanser ortaya çıktıktan sonra, hücrelerin invazyon ve metastaz yapmaları için çevreleyen stromal hücrelerin desteğiyle uygun moleküler faktörlerin artmış ekspresyonları, epitelyal-mezenşimal geçişin ve anjiyogenezin desteklenmesi ve otofajinin aktivasyonu gerekmektedir (İnan, 2016).

Sinyal iletimi yollarını ve sinyal proteinlerini hedef alan onkojenik mutasyonlara sık olarak rastlanmaktadır. Sinyal iletiminde ortaya çıkan değişimler hücrenin çoğalma ve/veya yaşama fonksiyonlarının kontrolünü ortadan kaldırır. Böylelikle, onkojenik sinyal iletimi tümör gelişimi ile invazyon/metastaz sürecinde aktif rol oynamaktadır (Doğan ve Güç, 2004).

Son yıllarda kanser araştırmalarında en çok KKH popülasyonunu karakterize etmek üzerine çalışmalar yapılmış ve en önemlisi KKH’lerin kendini yenileyebilme ve farklılaşabilme özelliklerini düzenleyen majör yolaklar tanımlanmış ve normal somatik kök hücrelere zarar vermeden KKH’ler tedavi amaçlı hedeflenmiştir. Somatik kök hücreler

gibi KKH özellikleri de, korunmuş bu yolaklar (Notch, Hedgehog, Wnt/β-catenin) tarafından yönetilmektedir (Altınok ve Sunguroğlu, 2016).

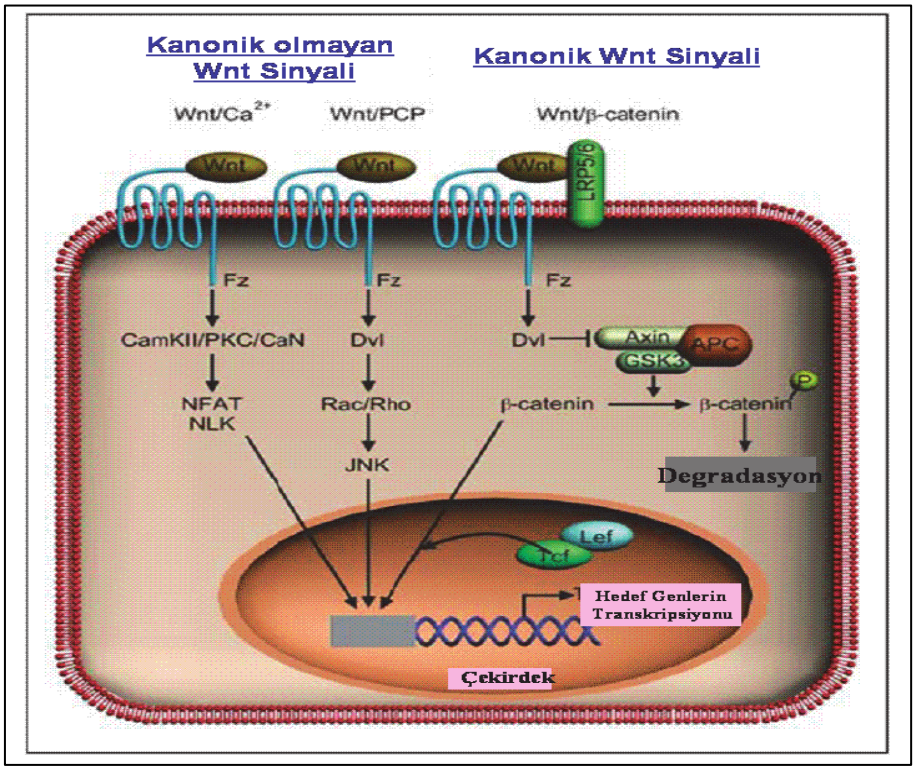
WNT sinyal yolağı ve kanser

Wnt sinyal yolağı embriyonik gelişim ve normal yetişkin homeostasisi için çeşitli asıl süreçlerde görev alır. Wnt ailesinin ilk üyesi olan "Int-1" farede bir proto-onkogen olarak bulunmuştur. Bu keşifden 5 yıl sonra Drosophila'da bulunan ''wingless'' geninin int-1 geni ile dizi ve fonksiyon benzerliği gösterdiği saptanarak bu genin homoloğu olduğu bulunmuştur. Daha sonra bu iki gen ismi birleştirilmiş ve literatüre Wnt geni olarak geçmiştir (Altınok ve Sunguroğlu, 2016).

Günümüze kadar insanda tanımlanmış olan 19 tane Wnt geni bulunmaktadır. Bu genler evrimsel yönden oldukça korunmuştur. Wnt genleri tarafından kodlanan Wnt protein ailesi üyelerinden her biri yaklaşık 350 aminoasitten oluşmuştur ve 23-25 adet sistein rezidüsüne sahiptir. Sahip oldukları bu sistein rezidüleri (sölenterlerden insana kadar) Wnt proteininin hedef hücre zarı ile etkileşimini sağladığından evrimsel açıdan gayet iyi korunmuştur. Organizmalarda üç çeşit Wnt sinyal yolu belirtilmiştir: "Wnt/ß-katenin sinyal yolu (canonical pathway), Hücre polaritesinin sağlanmasında rol oynayan sinyal yolu (non-canonical pathway), Wnt/Ca+2 sinyal yolu" (Tanır ve Demirezen, 2009).

Wnt yolağında ligand olarak rol oynayan molekül; Wnt proteinidir. Hedef hücrelerde ligandın bağlanacağı reseptörler; frizzled (Fz) reseptörü ve Low-density lipoprotein receptor-related protein 5/6 (LRP 5/6) yardımcı reseptörleridir. Sinyal mekanizmasının hücre içi olaylarından mesul moleküller ise β-katenin, Disheveled (Dsh), Kazein kinaz-1 (CK-1), Axin, Protein Fosfataz 2A (PP2A), Glikojen Sentaz Kinaz 3-β (GSK3-β) enzimi, Adenomatöz Polipozis Koli (APC) proteinidir. İlgili hücresel cevabın oluşumunu sağlayan transkripsiyon faktörleri ise T-cell factor (TCF) ve Lymphoid enhancer-binding factor (LEF) dür. Bu transkripsiyon faktörleri ise birden fazla önemli genin ifadesi üzerine etki etmektedir. Bunlar arasında kanserle ilişkisi bilinen c_Myc ve Cyclin d1 gibi genlerin yanı sıra, Octamer-binding transcription factor-4 (Oct-4), Nanong ve Snail gibi embriyonik kök hücrelerde eksprese edilen genler mevcuttur. Fakat diğer birçok gelişimsel sinyal yolağında olduğu gibi burada da sinyal aktivasyonu ile hedef genlerden hangilerinin ifade

edileceği hücre tipi tarafından belirlenmektedir. Böylece tek bir sinyalin oluşturacağı hücresel cevapların çeşitliliği arttırılmaktadır (M. Sevimli ve T. Semerci Sevimli, 2016).



Resim 2.3. WNT sinyal yolağı ve kanser (https://dergipark.org.tr)

Wnt/ β-katenin sinyal yolağı dışında kalan diğer iki yolak ise; "β-katenin'den bağımsız sinyal yolakları" olarak adlandırılır. Bu yolaklar farklılaşma, hücre polaritesi ve migrasyonla ilişkilendirilmiştir.

Kanonik olmayan Wnt/Planar Hücre Polaritesi (PCP) yolağında, Wnt ligandları Fz reseptörlerine bağlandığı zaman RhoA (Ras homolog gene family member A), RAC (Ras-related C3 botulinum toxin substrate) ve Cdc42 (cell division control protein 42) benzeri GTPazlar aktifleşir (Lai, Chien, ve Moon, 2009). PCP yolağı hücre iskeletini etkiler, hücre adezyonundan sorumlu hedef genlerin transkripsiyonel aktivasyonunu uyarır.

Kanonik olmayan Wnt/Ca+2 yolağında ise Wnt ligandları Fz reseptörlerine veya alternatif reseptörlere (RYK ya da ROR) bağlandığı zaman hücre migrasyonunu, Wnt/ β-katenin yolağının inhinisyonunu hücre içi Ca+2 akışı ve kalmodulin kinaz II (CaMK2), Jun kinaz (JNK) ve PKC aktivasyonu boyunca artırır.

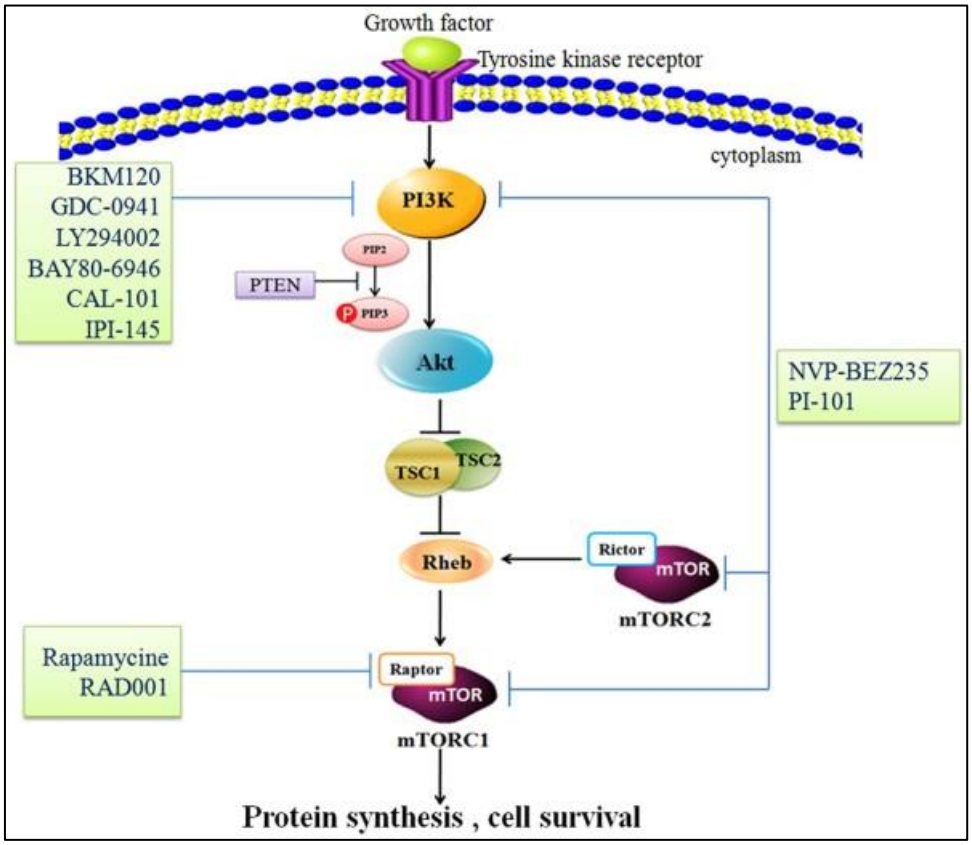
Wnt sinyal yolağı kök hücre biyolojisinde, doku ve organ rejenerasyonunda ve homeostatik devamlılığın sağlanmasında kritik bir role sahiptir. Bu yolağın anormal aktivasyonunun birçok tümör tipinin gelişiminde anahtar bir rol oynadığı ve bu durumun kanser kök hücrelerin (KKH, cancer stem cell=CSC) davranışını etkilediği bilinmektedir. KKH'ler ilaca direnç gösterebilme özelliğinden dolayı hastalıkların nüks etmesinin temel sebebi olduğu düşünülmektedir. Wnt sinyal yolağını hedef alan yeni terapötik ilaçların keşfedilmesi, KKH'lerin elimine edilmesine ve kanserin yok edilmesine yönelik yeni umutlar vaat etmektedir (Altınok ve Sunguroğlu, 2016).

PI3K/Akt sinyal yolağı

PI3K yolağı hücresel metabolizmanın gözetiminde özellikle glukoz trasnsportu ve kullanımı, hücre büyümesinin regülasyonu, özellikle protein biyosentezi ve apoptozunu önlemede fonksiyon alırlar. Yolak RAS proteinleri ve aktif reseptör tirozin kinazlarca uyarılır fakat aynı anda RAS'ın downstream yönünde yolağa geri bildirim yapar (Pazarbaşı, ve diğerleri, 2011).

Spesifik bir reseptörün sitokin aktivasyonundan sonra, PI3K iki mekanizma ile aktive edilebilir. İlk olarak reseptör üzerindeki fosforlanmış bir tirozin kalıntısı, PI3K'nın p85 düzenleyici alt birimi için bir yerleşme bölgesi olarak hizmet eder. Bu PI3K'ın p110 katalitik alt ünitesini bu kompleksin içine alır. Alternatif olarak reseptör konik sitokin tarafından aktivasyonu üzerine, Shc, Grb-2 ve Sos'un, Ras'ı aktive eden bir kompleks oluşturmasını sağlamak için reseptörü bağlar. Ras daha sonra kristal yapı çalışmaları ile belirlendiği gibi PI3K'nın pI110 alt ünitesinin membran lokalizasyonunu ve aktivasyonunu indükleyebilir. Spesifik olarak bu etkileşim Ras bağlanma alanı olarak adlandırılan PI3K- γ üzerindeki bir sekansa bağlanan, anahtar I (kalıntılar 33-41) ve anahtar II (kalıntılar 63, 64 ve 73) olarak bilinen bölgeler arasında meydana gelir(RDB). Küçük GTPaz'ları (Ras, Rac1) bağlayarak PI3K aktivasyonuna aracılık edebilen bir GTPaz duyarlı alan (GRD) ve bu bağlamayı bloke edebilen inhibe edici olaylar son zamanlarda PI3K düzenleyici alt birimini p85'in iki ilave düzenleyici alan içerdiği gösterilmiştir. PI3K inhibisyonu, Src, Lck ve Abl gibi bazı tirozin kinazlar inhibe edici alanda bulunan S668 tortusunu fosforile ettiğinde kaldırılabilir. Farklı Ras izoformlarının ayrıca PI3K'yı aktive etmek için çeşitli yeteneklere sahip oldukları gösterilmiştir. Her ne kadar Ras moleküllerinin PI3K/Akt ve Raf/MEK/ERK

basamaklarını etkinleştirdiğine inanılsa da, Ha-Ras tercihen PI3K'yı ve Ki-Ras'ı tercihen Raf'ı aktive eder (Chang, ve diğerleri, 2003).



Resim 2.4. PI3K/Akt sinyal yolağı (www.ncbi.nlm.nih.gov)

Fosfatidilinositol-3-kinaz (PI3K), bir lipit kinazdır ve fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfat (PI (3, 4, 5) P3) meydana getirir. PI (3, 4, 5) P3, Akt'ın fosforile edildiği ve fosfoinositide bağımlı kinaz PDK1 ve PDK2 tarafından aktive edildiği plazma zarına translokasyonu için gerekli olan ikinci bir habercidir. Akt aktivasyonu, çeşitli substratları fosforile ederek hücre çoğalması ve hayatta kalma gibi temel hücresel fonksiyonlarda önemli bir görev alır. Son yıllarda, PI3K-Akt sinyal yolunda değişikliklerin insan kanserinde fazla olduğu bildirilmiştir (Doğan ve Güç, 2004).

PI3K enzimi düzenleyici rol oynayan p85 ve katalitik aktiviteye sahip olan p110 proteinlerinden meydana gelen bir heterodimer olarak fonksiyon görür. GTP-Ras doğrudan p110'a bağlanarak heterodimeri aktifleştirir. Aynı Raf1 örneğindeki gibi PI3K aktivitesinin de Ras'a bağlı onkogenik transformasyon için gerektiği belirtilmiştir (Telkoparan ve Tazebay, 2011).

PI3K'in P85 düzenleyici alt ünitesi insan kanserlerinde mutasyonların amacıdır. PI3K'in P110 α katalitik alt ünitesini kodlayan PIK3CA gen mutasyonları kodon, gastrik, meme ve akciğer kanseriyle glioblastomalarda gözlenmiştir. Yapılan çeşitli çalışmalarda ovaryum, serviks, baş-boyun, gastrik kanserler ve glioblastomalarda PIK3C gen amplifikasyonu da izlenmiştir.

Özel olarak PI3K-Akt'ı hedef almak için tasarlanan birkaç küçük molekül geliştirilmiştir ve insan kanser hücrelerinde in vivo ve in vitro olarak hücre döngüsünü durdurma veya apoptozu indüklemiştir. Ayrıca bir inhibitörün çeşitli sitotoksik ajanlarla kombinasyonu, antitümör aktivasyonunu arttırır. Bu sebeple Akt aktivasyonunun spesifik inhibisyonu, insan malignitelerinin tedavisinde ve kanser hücrelerinin radyasyona veya kemoterapiye karşı direncinin üstesinden gelmesinde geçerli bir yaklaşım olabilir.

Karsinogenezde etkili olan PI3K sinyal yolağı değişimleri şu şekildedir:

PI3K'ın sentezi artabilir
PTEN tümör baskılayıcı proteininde mutasyonla işlev kaybı olabilir.
PKB sentezi kanser hücrelerinde (meme, over, mide, pankreas, prostat) artabilir.
PTEN'in fonksiyon kaybı veya PKB'nin aşırısentezlenmesi devamlı mTOR aktivasyonuna yol açmaktadır.
4E proteinin sentezi artabilir.

Ras iletim yolu ile tetiklenen transformasyon sürecinde sinerjik etkileşim önemlidir. Normal koşullarda EGF ve PDGF vb büyüme faktörlerinin fosfoinozitid-3 kinaz (PI3K) yolunu uyarmalarında Ras'ın etkinliği en düşük seviyededir. Buna karşılık onkojenik Ras PI3K yolunun güçlü bir aktivatörüdür. Onkojenik Ras bu yolu aktifleştirerek apoptozisi durdurur. İnsan kanserlerinin önemli bir kısmı epitel hücrelerinden köken alır. Dolayısıyla bu hücrelerde apoptozisin durdurulması karsinogenez sürecinde kritik etkenlerden birini teşkil eder. Ayrıca onkojenik Ras uyarısı transforme hücrelerde normal hücrelerden farklı genlerin ekspresyonunu uyarabilir (Doğan ve Güç, 2004).
Onkogenler ve PI3K-Akt yolağı arasında bağlantı söz konusu olabilir (Osaki, Oshimura, ve Ito, 2004).Bazı durumlarda PI3K onkogenik bir protein olarak görev alır. Örneğin ovaryum kanserlerinde bu gen amplifiye olmaktadır (Pazarbaşı, ve diğerleri, 2011).

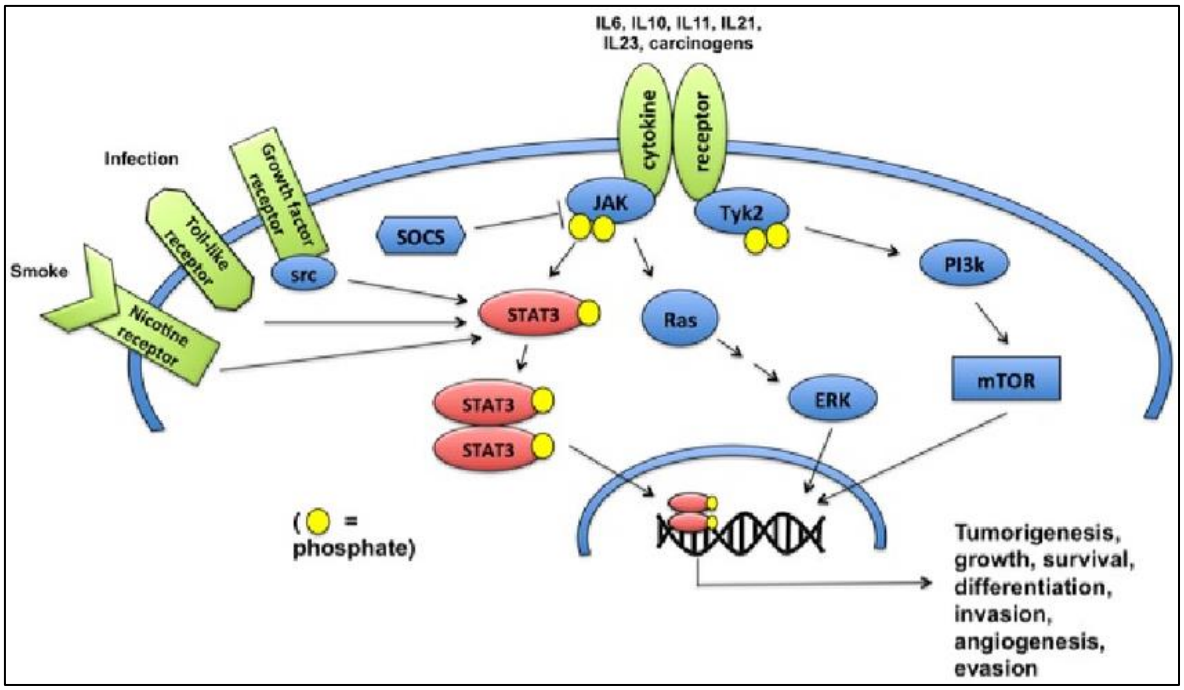
JAK/STAT yolağı ve kanser

Günümüzde çeşitli sitokinlerin farklı STAT proteinlerini aktifleştirdikleri tanımlanmıştır. Memeli hücrelerinde yedi STAT proteini; STAT1,STAT2, STAT3, STAT4, STAT5a, STAT5b ve STAT6 tanımlanmıştır.

Sitokin aracılı STAT aktivasyonunun kademeleri şu şekilde düzenlenmiştir: Sitokin, hücre yüzeyindeki reseptörüne bağlanır (α alt birimi). Daha sonra αα ya da αβ oligomerizasyonu meydana gelir. Bu oligomerizasyon, reseptör ile ilişkili olan JAK proteinlerini çapraz fosforilasyon ile aktifleştirir. Aktif JAK proteinleri reseptörü de fosforile yaparlar. Bu bölgeler sitoplazmadaki inaktif STAT proteinlerinin reseptörlere tesir etmesine yardımcı olur. STAT proteinlerinin daha sonra homodimer ya da heterodimer oluşturmak üzere reseptörden ayrılarak hücre çekirdeğine ilerlerler ve DNA üzerinde özgül cevap elemanı dizilerine tesir ederek hedef genlerin transkripsiyonunu uyarırlar.

Sürekli aktif olan STAT proteini antiapoptptik yolları uyararak maling sürece etki edebilir. STAT aracılı sinyal iletimi ile uyarılan hedef genlerin (örneğin; c-myc, siklin D1 ve Bcl-x_L) hücre döngüsünün kontrolünü sağlayarak ve/veya apoptozisi engelleyerek karsinogenez sürecine etki ettikleri öne sürülmektedir (Doğan ve Güç, 2004).

Janus kinaz-sinyal transdüseri ve transkripsiyon (JAK-STAT) yolağının aktivatörü, birkaç hücre tipinin hayatta kalmasını, çoğalmasını ve farklılaşmasını kontrol eden sitokinlerin sinyallemesine aracılık eder. Kurucu JAK aktivasyonu, STAT transkripsiyon faktörlerinin sürekli aktivasyonuna yol açar ve birkaç kanser, JAK veya STAT aktive edici mutasyonların yokluğunda, yapıcı STAT aktivasyonu sergiler. Son zamanlarda, miyeloproliferatif neoplazmalı hastaların çoğunda JAK2'de benzersiz bir somatik mutasyon tespit edilmiştir. Bir V617F sübstitüsyonunu kodlayan bu mutasyon, JAK2 katalitik aktivasyonunu ve sitokin bağımsız sinyallemeyi teşvik eder. JAK2 ve JAK3 mutasyonları azınlık bir polisitemi vera ve akut megakaryoblastik lösemi hastalarında da tanımlanmıştır ve farklı JAK-STAT mutasyonlarının farklı kanserlerde tanımlanacağı tahmin edilmektedir. Son zamanlarda yapılan keşifler ayrıca mutasyona uğramış JAK proteinlerinin, anti-kanser tedavisi için güçlü hedefler olacağını göstermektedir (Constantinescu, Girardot, ve Pecquet, 2008).



Resim 2.5. JAK/STAT yolağı ve kanser (www.mdpi.com)

Hematopoetik sistem hücrelerinde, STAT sinyal yolu, interlökinler ve diğer hücre tiplerinde spesifik büyüme faktörleri ve sitokinleri örneğin GM-CSF ce eritropoetine cevap olarak hücre proliferasyonunu uyarır. STAT sinyalleşmesi, epitelya hücrelerde de SRC veya aktive ABL kinaz gibi kinazlarca iletilen adhezyon sinyalleri ve EGF, sitokin IL-6 gibi büyüme faktörlerinin aktivitesi ile uyarılan farklı yolaklardan biri olarak aktifleştirilir. STAT faktörleri aynı zamanda interferonun etkisine de etki eder. Böylece hematolojik kanserlerde STAT sinyalleşmesinin yapısal aktivasyonu örneğin kronik myelojenik lösemide yaygın bir olgudur. Burada STAT5 major faktördür. Bazı karsinomlarda örneğin baş-boyun skuamöz hücreli karsinomlarda bu kanser tipinde çok yaygın olan EGFR aşırı ekspresyonu sonucunda STAT yolağının aktif olduğuna ulaşılmıştır. Bu durumda ailenin en ilişkili üyesi STAT3 olabilir. Diğer karsinomlarda STAT sinyalleşmesi, interferonlara hücresel yanıtın inhibisyonu ile birlikte aktif olarak baskılanmış olarak görünmektedir (Pazarbaşı, ve diğerleri, 2011).

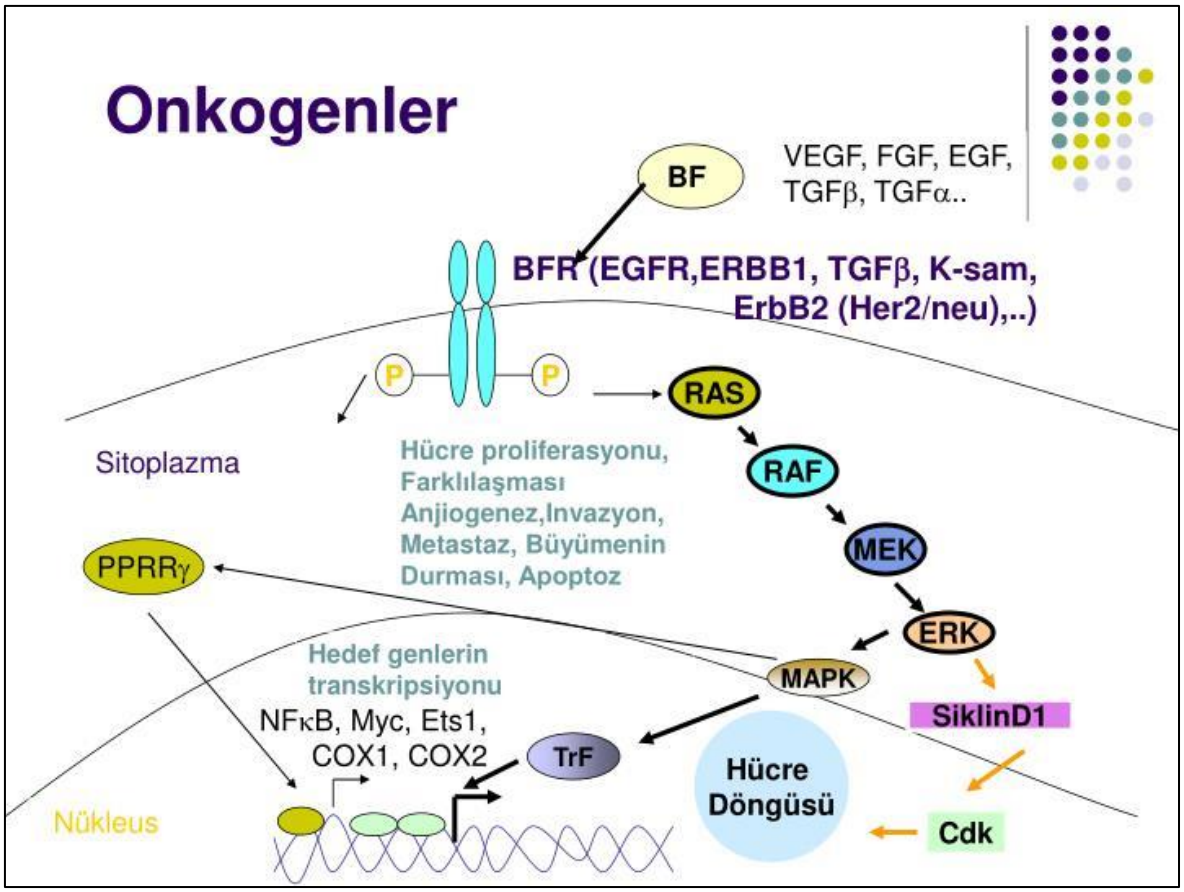
MAPK sinyal yolağı

Mitojenle aktive olan protein kinazlar (MAPK'ler); hücre çoğalması, farklılaşma, hayatta kalma, ölüm ve transformasyon dahil olmak üzere çeşitli hücresel aktivitelerle ilişkili hücre içi sinyallemeye aracılık eden serin-treonin kinazlardır. Memeli MAPK ailesi, hücre dışı

sinyal düzenlenmiş kinazdan (ERK), p38 ve c-Jun NH2-terminal kinazdan (JNK; ayrıca stresle aktive olan protein kinaz veya SAPK olarak da bilinir) oluşur. Her MAPK sinyal ekseni; bir MAP3K, bir MAP2K ve bir MAPK olmak üzere en az üç bileşen içerir. MAP3K'lar fosforilat ve MAP2K'leri aktive eder bu da MAPK'leri fodforile ve aktive eder. Aktive edilmiş MAPK'lar Elk-1, c-Jun, ATF2 ve p53 gibi transkripsiyon faktörlerini içeren çeşitli substrat proteinlerini fosforile eder. MAPK yolları, kinaz bileşenleri arasındaki bir dizi ikili etkileşimin bir sonucu olarak veya bir iskele proteini tarafından yönlendirilen çok sayıda kinaz içeren bir sinyalleşme kompleksi oluşumu yoluyla aktive edilir. Bu tür iskele proteinleri, spesifik kinaz bileşenlerinden oluşan MAPK sinyal yollarının aktivasyonuna aracılık eder. Ras-1 (KSR) ve MEK partneri 1 (MP1)'in kinaz baskılayıcısı, ERK sinyal yolu için iskele proteinleri olarak işlev görür, JNK ile etkileşime giren proteinler (JIP'ler), JNK yolu için iskele proteinleri olarak işlev görür. β-Arrestin 2, hem ERK hem de JNK sinyal yolu için iskele proteini görevi görür.

Mitojenle aktifleştirilen protein kinazı (MAPK) sinyal yolları, A. MAPK sinyalleme yolakları, hücre içi veya hücre dışı uyaranlarla başlatılan hücre içi sinyale aracılık eder. MAP4K'lar veya GTPaz'lar tarafından aktive edilen MAP3K'ler, MAP2K'lerin fosforilasyonuna ve aktivasyonuna aracılık eder ve bu da MAPK'leri fosforile ve aktive eder. Aktive edilmiş MAPK'lar, transkripsiyon faktörlerini içeren çeşitli sunstrat proteinlerini fosforile eder. Bu da hücre çoğalması, farklılaşma, hücre göçü, iltihaplanma tepkileri ve ölüm gibi çeşitli hücresel aktivitelerin düzenlenmesine yol açar. Memeli MAPK ailesi; ERK, p38 ve JNK'yi içerir. ER sinyal yolunda, ERK1/2, Raf tarafından etkinleştirilen MEK1/2 tarafından etkinleştirilir. Raf, aktivasyonu epidermal büyüme faktörü reseptörü gibi RTK'ler tarafından indüklenen Ras GTPaz tarafından aktive edilir. MAPK sinyalleşme kaskadları tarafından aktivasyon ya kinaz bileşenleri arasındaki bir dizi ikili etkileşim yoluyla ya da bir iskele proteininin aracılık ettiği çoklu bir kinaz kompleksinin oluşturulmasıyla başarılmaktadır.

MAPK sinyal yollarının bileşenlerinin kanserle ilişkili mutasyonlarının çoğu, her ikisi de ERK sinyal yoluna katılan Ras ve B-Raf'ta bulunmuştur (Kim ve Choi, 2010).



Resim 2.6. MAPK sinyal yolağı (www.slideserve.com)

Hücre dışı sinyallerin hücre içi hedeflerine gönderilmesine, çok sayıda hücresel işlemi organize eden etkileşimli proteinler ağı aracılık eder. Geçtiğimiz on yıl boyunca birçok laboratuvarın kümülatif çabaları, bir dizi mitojenle aktive olan protein kinaz (MAPK) sinyal kaskadı olarak bilinen birkaç sitoplazmik protein kinazın sıralı bir uyarımını takiben birkaç membranal sinyal molekülünün aktivasyonlarını içeren böyle bir sinyalleme mekanizmasının izahına izin verdi. Bu aşamada en fazla altı seviye, çoğalma, farklılaşma ve gelişme gibi hücresel süreçleri başlatmak üzere nihayetinde sitoplazma ve çekirdekteki birkaç düzenleyici molekülü aktifleştiren, iletilen sinyallerin amplifikasyonuna ve özgüllüğüne katkıda bulunur. Dahası, birçok onkogenin, bu kaskadın yukarısındaki mitojenik sinyalleri ileten proteinleri kodladığı gösterilmiştir, çünkü MAPK yolu, nükleer olmayan onkogenlerin çoğunun etki mekanizması için basit bir birleştirici açıklama sağlar. MAPK kaskadı modeli, büyüme faktörü sinyalleşmesiyle sınırlı değildir ve şimdi, yedi transmembran reseptörü için başlatılan sinyal yolları, iyonoforlar, ısı şoku ve ligandlar tarafından başlatılan sinyalleme yollarının, aralarında çok az reaktivite olan veya çok az reaktivite olan farklı MAPK kaskadları kullandığı bilinmektedir (Seger ve Krebs, 1995).

Tüm ökaryotik hücrelerde bulunan MAPK enzimleri, farklı reseptörler tarafından alınan mitojenik uyarıların kesişme ve/veya birleşme noktalarıdır. Sitoplazmada bulunan bu proteinler hücre zarından çekirdeğe bilgi iletilmesinde önem taşımaktadır. Bu sitoplazmik proteinler hücre içindeki diğer proteinlerin, serin(Ser)/ treonin(Thr) amino asitlerine fosfat gruplarını aktararak etkinliklerini düzenleyebilirler. İnsan genomunda şimdiye kadar 14 MAPK geni ve 7 farklı MAPK sinyal iletimi yolağı saptanmıştır. MAPK ailesi; gen ekspresyonu, hücre bölünmesi, hücre canlılığı, apopitoz, metabolizma, farklılaşma ve motilite ile ilişkili süreçlerin kontrolündeki sinyal iletimi yolaklarını oluştururlar (Küçükkaya ve Afrasyap, 2012).

MAPK sinyal yolu, normal hücrelerde olduğu gibi birçok kanser hücresinde de proliferasyon için gerekli olan RAF, MEK ve ERK proteinlerinden oluşmaktadır. Normal hücrelerde büyüme faktörlerince aktive edilmiş reseptör tirozin kinazlarca (RTK'lar) oluşturulan sinyalleri nukleusa ileterek gen ekspresyonunun aktivasyonuna neden olurlar. Geniş bir aralıkta yer alan çok çeşitli diğer ekstra ve intraselüler uyaranlarca da aktifleştirilebilirler ve değişmiş gen ekspresyonuna ek olarak etkiyi ortaya çıkarırlar. Tümör hücrelerinde, RTK lar veya RAS'ın onkogenik aktivasyonu sonucu MAPK sinyalleşmesi sıklıkla artmıştır.

Gerçekte, bu yolak, herbiri bir MAP kinaz (ERK1/2 gibi), bir MAPK kinaz (MEK1/2 gibi), ve bir MAP kinaz (RAF1, ARAF veya BRAF gibi) ları içeren yaklaşık 6 benzer modülden biridir. Diğer MAPK modülleri büyüme faktörü aracılı ekstraselüler sinyalleri olduğu gibi, G-proteinleri aracılığı ile çalışan hormonlar ve sitokinlerden gelen sinyalleri de yanıtlarlar. Standart yolak gibi, bu modüller hücre proliferasyonunu, apopitozu, hücre farklılaşmasını veya spesifik hücre fonksiyonlarını uyarabilir. Bununla birlikte hiçbiri direk olarak hücre proliferasyonunun kontrolüne ve kanserde standart yolak olarak dahil olmaz. En iyi çalışılmış paralel yolaklar (Şekil 1), transkripsiyonal aktivatör JUN'un fosforilasyonuna neden olan MEKK1, MEK4 ve JUN (JUN N-terminal kinaz) dan oluşurlar (Pazarbaşı, ve diğerleri, 2011).

MAP kinaz yolu reseptör aracılı uyaranın hücre içine iletiminden sorumlu bir kinaz kaskadı olarak çalışır. Kaskad sistemi hem sinyalin amplifikasyonu hem de düzenleyici etkileşimler (sinyalin süresi, şiddeti ve kinetiği) açısından önem taşır. Sinyalin iletimi G-

protein aktivasyonu (Ras aktivasyonu) ile başlar ve MAPKKK'nın (MAP kinaz kinaz kinaz) aktivasyonundan sonra sırasıyla MAPKK (MAP kinaz kinaz) ve MAPK (MAP kinaz) aktive olur. MAPK ise sitoplazmik substratlarını (hücre iskeleti elemanları, diğer protein kinazlar) ve/veya nükleusta transkripsiyon faktörlerini fosforilasyon yoluyla aktive eder ve hücrenin biyolojik cevabı meydana gelir (Doğan ve Güç, 2004).

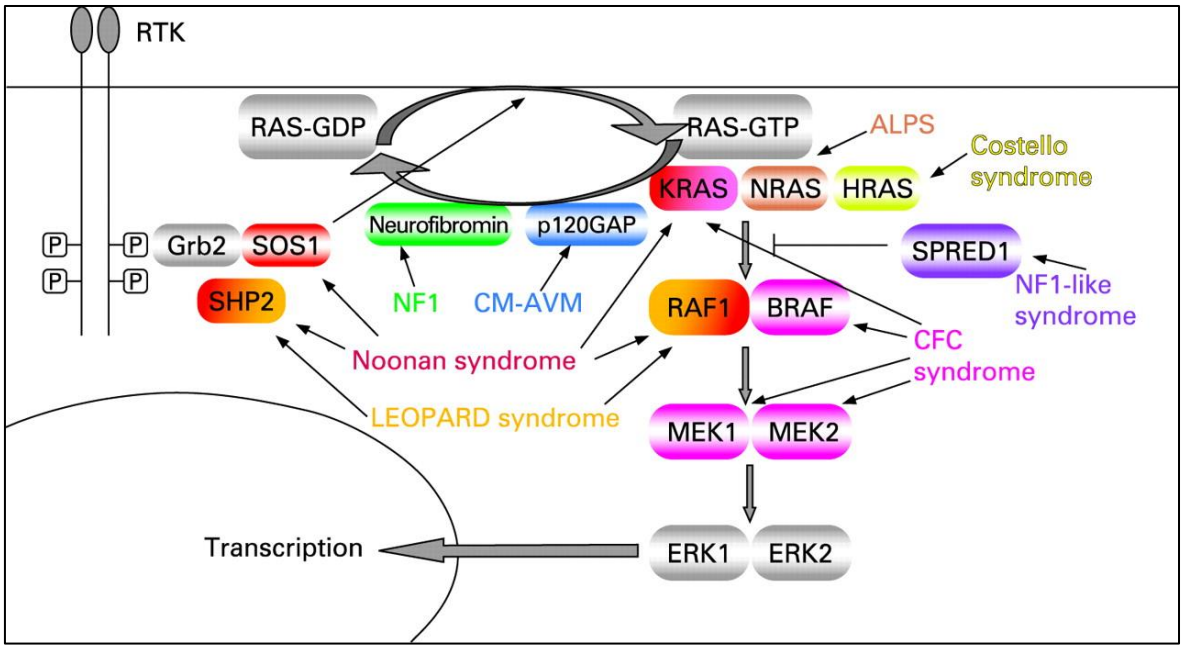
Ras/Raf/MEK/ERK sinyal yolağı

Raf-MEK-ERK yolu; büyüme faktörü, mitojenik ve hücre dışı matris sinyallerini, büyüme, çoğalma, göç, farklılaşma ve hayatta kalma gibi hücre kaderini kararlarına bağlar. Raf-1, Ras GTPaz'ın doğrudan bir efektörüdür ve bu sinyal kaskadı içindeki başlangıç kinazdır. Her ne kadar Raf-1 aktivasyonu iyi çalışsa da Raf-1'in nasıl etkisizleştirildiği hakkında çok az şey bilinmektedir. Protein fosfataz (PP5), büyüme faktörü uyarımı üzerinde Raf-1 ile ilişkili ve seçici bir aktifleştirici bölge olan Ser 338'i seçici olarak fosforilatan bir inaktivatör olarak tanımlamıştır. Ser 338'in PP5 aracılı fosforilasyonu, Raf-1 aktivitesini inhibe etmiştir ve Ser 338'in fosfonimetik sübstitüsyonuyla veya PP5 katalitik fonksiyonunun ablasyonuyla önlenen bir etki olan MEK'e yönelik aşağı sinyalini vermiştir. Ayrıca endojen PP5'in tükenmesi, hücresel fosfo-Ser 338 seviyelerini arttırmıştır. PP5, Raf-1 sinyal yollarının fizyolojik bir düzenleyicisidir (Kriegsheim, Pitt, Grindlay, Kolch, ve Dhillon, 2006).

Raf1, Ras efektörü olarak belirtilen ilk proteindir. Memelilerde A-Raf, B-Raf ve Raf-1 denilen üç tane Raf izoformu vardır. Aktif haldeki GTP-Ras, bir serin/treonin kinaz olan Raf1'in fosforillenmesini sağlar ve MAPK/ERK (MEK) ile başlayarak ERK1/2 ile devam eden ve E26-transkripsiyon faktörünün (ETS) aktivasyonuna neden olan sinyal yolağının fosforillenme şelalesi ile aktifleşmesini sağlar. Kontrolsüz olarak aktif hale gelen Raf-MEK-ERK sinyal iletiminin kemirgen hücre hatlarının onkogenik transformasyonu için yeterli olduğu ve benzer bir bozulmanın insanda kanserleşmeye sebep olduğu gösterilmiştir (Telkoparan ve Tazebay, 2011).

RASSF1A (Ras-assosiasyon domain ailesi 1), Ras-MAPK-ERK yolağının düzenlemesi ile görevli tümör baskılayıcı olup tümörogenez sürecinde inaktive olması gerekli olan inhibitör büyüme sinyallerini sağladığı bilinmektedir. RASSF1A, hem onkogenik/mutant KRAS hem de GTP-bağlı KRAS ile RAS-GTP bağlanma protein NORE1 ile

heterodimerizasyon ile bağlantı kurabilmektir. Bu olay KRAS/BRAF/RASSF1A genlerinin aynı yolakta ortaklaşa iş birliği yaptığı hipotezini zihne getirmektedir. RASSF1A geni akciğer, memei böbrek, mide, over ve nöroblastoma gibi birden fazla kanserde epigenetik olarak inaktif edilmektedir (Bireller, Çinçin, ve Çakmakoğlu, 2015).



Resim 2.7. Ras/Raf/MEK/ERK sinyal yolağı (https://jmg.bmj. com)

Hormonlar, büyüme faktörleri, diferansiasyon faktörleri ve tümör promoter maddeler bu sinyal yolundan yararlanırlar. Bu iletim yolu Ras'ın aktifleşmesiyle başlar ve sırası ile Raf (= MAPKKK), MEK (= MAPKK) ve Erk (=MAPK) proteinleriyle kinaz kaskadı yol alır. Ras ve Raf protoonkogendir. Ras proteinlerinin aktif hale gelmesi için translasyon sonrası modifikasyondan sonra membrana yerleşmesi gerekir. Dinlenme halindeki hücrelerde Ras proteinleri (Ras-GDP) etkisiz halde bulunurlar. Hücrenin uyarılması ile GDP'nin yerine GTP bağlanarak etkili konformasyona dönüşüm (Ras-GTP) etkilenir. Ras aktivasyonu tersinirdir. Bu aktivasyonda rol alan moleküller, SOS ve Grb2 adaptör proteinleridir. Bu sinyal yolunun efektör molekülleri SOS üzerinde negatif düzenleyici etki ile Ras aktivasyonunu bitirmektedir. Aktifleşen Ras proteinleri Raf kinazların hücre membranına yerleşmesini ve aktifleşmesine etki ederler.

İnsan tümörlerinin %30'unda Ras/Raf/MEK/ERK yolunun aşırı aktivasyonu söz konusudur (Doğan ve Güç, 2004). Bu oran tümörlerdeki Ras mutasyonu sıklığı ile uyumludur. Ras proteinleri, sinyalleri iletmek için hücre zarına bağlanması gereken sitozolik öncüler olarak sentezlenir. Mutant Ras proteinleri aktif RAS-GTP şeklinde

kalırlar, bundan dolayı hücrenin kontrolsüz uyarılmasından mesul tutulmaktadır. Öteki taraftan farnezil transferaz inhibitörleri, Ras aktivasyonunu engellerler. Klinik araştırmalar bu ajanların, antitümöral etkilerinden tedavide yararlanılabilme ihtimalini arttırmaktadır (Karp, ve diğerleri, 2001).

2.2. Kurkumin

Anavatanı Doğu Hindistan olan ve baharatların kraliçesi olarak bilinen zerdeçal, tropik bir bitki olan "Curcuma Longa"dan elde edilir. Zerdeçal bitkisine sarı rengini veren içeriğindeki aktif kimyasal olan curcumin pigmentidir (Beslenme Destegi, 2017).



Resim 2.8. Kurkumin (http://zehrabora.com)

Difenilheptanoid yapısına sahip bir polifenol olan kurkumin, iki (α,β) doymamış keton içerir ve zerdeçalın en büyük aktif bileşeni olarak görülür (Unlu, Nayir, Kalenderoglu, Kirca, ve Özdoğan, 2016). Kurkumin hidrofobik karakterde ve tautomerik bir bileşiktir. Alkali ortamlarda elektron vericisi olarak işlev gören enol formu, nötral ve asisik çözeltilerde ise güçlü bir proton vericisi olan bis-keto formu baskındır (Yalçın ve diğerleri, 2017). Kurkuminin kimyasal özellikleri ve tarihi birçok makalede incelenmiştir (Unlu, ve diğerleri, 2016).

Curcumin, Harvard College laboratuvar bilimcileri Vogel ve Pelletier tarafından zerdeçal rizomlarından ilk olarak yaklaşık iki yüz yıl önce keşfedilmiştir.

Kurkuminin en yaygın bilinen kullanımı köri tozu üretimi olup; tekstil boyası, gıda endüstrisinde renklendirici, koruyucu ve aromatizan olarak kullanılmaktadır (Becit, Aydın, ve Başaran, 2017). Tarihte ilk olarak iplik, kumaş boyamak için kullanılmış ancak sağlık için baharat olarak kullanımı bugün öne geçmiştir.

Gıdaların antioksidan kapasitesini gösteren değer olan Oksijen Radikali Emme Kapasitesi (ORAC) değeri, Zerdeçal'da 44.776'dır. Bu değer ile zerdeçal antioksidan kapasitesi en yüksek baharatlar listesinde birinci sıralarda yer almaktadır. ORAC, vücudumuzda bulunan serbest radikaller denilen, başta kanser olmak üzere birçok hastalığa yol açan maddelerin ortadan kaldırılmasını belirten ve besinler için kullanılan bir ölçektir. ORAC değerinin yüksek olması besinin daha fazla antioksidan olduğunu, kansere karşı koruyuculuğunu ve yaşlanmayı geciktirdiğini gösterir (Karaman ve Köseler, 2017).

Tedavi amaçlı kullanımı ise 1748'e kadar kaydedilmiş olmakla birlikte insan hastalıklarında curcumin kullanımına atıf yapan ilk makale 1937'de Oppenheimer tarafından yayınlanmıştır (Beslenme Desteği, 2018). Kurkuminin grip, soğuk algınlığı, gastrointestinal sistem rahatsızlıkları, hematolojik bozukluklar, karaciğer ve akciğer hastalıkları ve cilt hastalıkları gibi çeşitli durumlar üzerinde geleneksel kullanımına rastlanmaktadır (Becit, ve diğerleri, 2017). Tıbben 6000 yıldır Ayurveda denilen Hint Tıp Yönteminde zerdeçal kullanıldığı bilinmektedir (Aggarwal, Kumar, ve Bharti, 2003).

Son yıllarda yapılan klinik çalışmalarda çeşitli hastalıklara karşı zerdeçalın etkinliği araştırılmıştır. İn vitro deneyler, zerdeçalın etken maddesi curcuminin anti-enflamatuar, nöroprotektif, immünomodülatör, anti-proliferatif ve kemopreventif aktivite sergilediğini göstermektedir. 2014 yılında " *Cancer Research and Treatment*" de yayınlanan yazıda " Son 30 yılda yapılan çeşitli araştırmalar, curcuminin nörodejeneratif, pulmoner, kardiyovasküler, metabolik, otoimmün ve malign hastalıklar gibi proinflamatuar kronik hatalıkların önlenmesinde ve tedavisinde önemli rol oynadığı gösterilmiştir" şeklinde ibare yer almıştır (Beslenme Desteği, 2018).

2.2.1. Kurkuminin kanser ile ilişkisi

Geleneksel tıpta yaygın olarak kullanılan kurkuminin pek çok kullanım alanı vardır. Kurkumin üzerinde son otuz kırk yılda çok sayıda bilimsel araştırma yapılmış ve özellikle anti-inflamatuar ve anti–kanser etkileri üzerinde durulmuştur (Yalçın ve diğerleri, 2017).

Kurkumin kanser kemoprevensiyonu için klinik araştırma yapılan bir etkendir. Kurkumin'in (bis-α, β-doymamış β-diketon) en bol, kararlı halde ve geniş olarak araştırıldığı üç polifenol, *Curcuma longa*'dan izole edilmiştir. Son yıllarda kurkuminin kansere ve kanser tedavisine bağlı komplikasyonlara karşı etkisi, araştırmalar sonucunda ortaya konmuştur. Kurkumin'in antikanser özelliğine dair ilk klinik raporlar, kanseröz lezyonlar üzerinde %1 kurkumin merhemi kullanarak hastaların %90'ında kokuyu azaltan Kuttan ve arkadaşlarından gelmiştir (18); kalan %10 ise lezyon büyüklüğünde ve ağrıda azalma hissetmiştir (Park ve diğerleri, 2013).

Kurkuminin anti – neoplastik aktiviteye sahip olması, molekül ağırlığının düşük olması ve toksisitesinin olmaması, bu molekülü; potansiyel kemoterapötik ilaçların geliştirilmesinde ideal öncü molekül haline getirmektedir (Toptaş ve Alagöz, 2016).

Geçtiğimiz çeyrek yüzyılda çeşitli klinik çalışmalarda curcuminin kanser, kardiyovasküler hastalık, diyabet, oral liken planus, artrit ve β-talasemi gibi birçok hastalığa karşı çok yönlü rolü gösterilmiştir (Chattopadhyay, Biswas, Bandyopadhyay, ve Banerjee, 2004). Günümüzde, kanser tedavi stratejilerinin hem ilaç direnci gelişmesi hem de sitotoksisite, genotoksisite vb. dezavantajlarının olmasına bağlı olarak kurkumin kemoterapi alternatifi bir anti – kanser madde olarak ilgi çekmektedir (Yalçın ve diğerleri, 2017).

Kurkuminin antikanser aktivitesi insan deneklerde ilk olarak 1987'de Kuttan ve arkadaşları tarafından gösterilmiştir. Bu grup dış kanserli lezyonları olan 62 hasta üzerinde klinik deney yürütmüşlerdir. Topikal kurkuminin kayda değer semptom giderici özellikleri, koku, kaşıntı, lezyon boyutu ve acıdaki azalmayla kanıtlanmıştır. Etki birçok hastada birkaç ay devam etse de bir hasta da yan etkiler görülmüştür. O zamandan beri kurkumin, tek başına veya diğer etkenlerle birlikte kullanıldığında koleraktal kanser, pankreatik kanser, meme kanseri, prostat kanseri, çoklu miyelom, akciğer kanseri, oral kanser, baş ve boyun

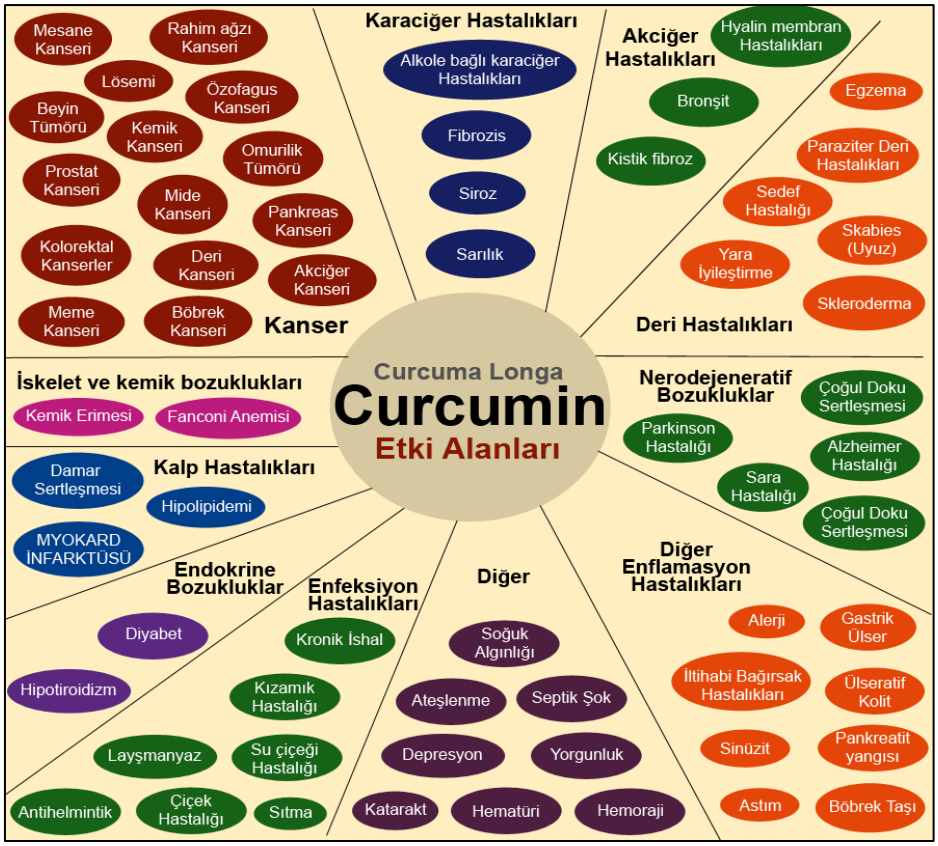
skuamöz hücre karsinomasına karşı potansiyel göstermiştir (Subash, Patchva, ve Agarwall, 2013).

Yapılan çoğu çalışmada kurkuminin kemoterapiyle sinerjik etkisi olduğu ifade edilmiştir. Özellikle klinik öncesimodellerde gen transkripsiyonunu etkilemesi ve apoptozisi indüklemesi kanser tedavisindeki potansiyel faydasını desteklemektedir. Mevcut epidemiyolojik kanıt farklı kanser çeşitlerinin insidansının uzun zaman 10-200 mg/gün civarında kurkumin tüketen toplumlarda düşük olduğunu göstermektedir (Delikanlı Akbay ve Pekcan, 2016).

Kurkuminin antikanser aktivitesi yüzlerce makalenin öznesi olmuş ve yeni çıkan makalelerde incelenmiştir. Bu makaleler, kurkuminin karsinojen hayvan modellerinde tümörlerin oluşumunu inhibe ettiğini, farklı kökenli kanser hücrelerinde apoptoz başlattığını ve kanser gelişiminde rol alan çeşitli sinyal transduksiyon yollarında ve moleküler hedeflerde etki gösterdiğini ortaya koyan preklinik ve klinik çalışmaların birçoğu, kurkumini toksik olmayan veya toksiklik seviyesi düşük bir etken göstermektedir. Bu durum kurkuminin varsayılan antikanser aktivitesine, düşük toksisite seviyesinin eşlik ettiğini ortaya koymaktadır.

Kanser kemoprevensiyonu, kansere yatkınlığı (kanser öncesi lezyonu olan veya kansere yakalanma rüski yüksek olan insanlar) olan sağlıklı nüfuslar üzerinde uygulanabilir. Birinci durumda, kemoprevensiyon müdahalesinde hiç toksisite olmamalı ve kimyasallar oral yolla verilmemelidir. İkinci durumda ise düşük düzeyde toksisite kabul edilebilir ve kimyasalların oral yolla alınması tercih edilir. Birkaç farklı kanıt kurkuminin kanser kemoprevensiyonunda kullanılabileceğini göstermiştir. İlk olarak epidemiyolojik veriler farklı tipteki sıkça rastlanan kanserlerle (örnek olarak kolon, meme, prostat ve akciğer kanseri) karşılaşma sıklığının Hinistan gibi kurkuminin bolca tüketildiği ülkelere nazaran, Batı ülkelerinde daha yüksek olduğuna işaret etmiştir. İkinci olarak ise kemirgenlerle yapılan çalışmalar kurkuminin farklı kanserojenlerle başlayan çeşitli kanser tiplerini (örnek olarak kolon, akciğer, meme, karaciğer, mide, özefagus, cilt, lenfoma ve lösemi) önleyebildiğini göstermiştir. Üçüncü olarak kansere yatkınlığı olan katılımcıların üç ay boyunca oral yolla kurkumin aldığı birinci faz klinik çalışmaları, çok az toksisitenin olduğunu göstermiş ve yetmiş hastanın yirmi beşinde prekanser lezyonlarında histolojik gelişme sağladığını ortaya koymuştur (Lopez - Lazaro, 2008).

Kurkuminin metastaz, anjiyogenez ve invazyon gibi karsinogenezin hemen hemen her aşamasını ve karsinogenezde rol alan spesifik sinyal ileti yolaklarını etkili bir şekilde inhibe ettiği ve çeşitli kanser hücrelerinde antioksidan, anti – inflamatuar, anti – proliferatif, anti – anjiyogenik, antimikrobiyal özelliklere sahip olduğu bildirilmiş, kanser hücrelerinin kontrolsüz çoğalmasını engellemesinde rol alan moleküler mekanizmaların aydınlatılmasına yönelik birçok araştırma yapılmıştır (Yalçın ve diğerleri, 2017). Çoğalan çalışmalar kurkuminin kanserin başlama, ilerleme ve progresyon aşamalarının tamamını baskıladığını belirtmiştir (Goel ve Aggarwal, 2010).



Resim 2.9. Kurkumin kanser ilişkisi (www.zerdecal.org)

Kurkuminin lösemi ve lenfoma, gastrointestinal kanserler, genitoüriner kanserler, göğüs kanseri, yumurtalık kanseri, baş ve boyun skuamöz (yassı) hücre karsinoması, akciğer kanseri, kanser melanom ve nörolojik kanserlerde tümör oluşumunu baskıladığı ifade edilmiştir (Anand ve diğerleri, 2008).

3. MATERYAL-METOD

3.1. Materyal

Araştırmada 104 haftalık yaşta toplam 270 adet yumurtacı tavuk (White Leghorn) kullanılmıştır. Hayvanlar rastgele üç gruba ayrıldı ve her grup 30 hayvan içeren üç alt gruptan (her grup toplam 90 hayvan) oluşturuldu. Yumurta tavukları bireysel kafeslerde (29 x 50 cm) barındırıldı. Kafesler 3 katlı, nipel suluklu, gübre bantlı ve 4 sıra kafes bloğundan meydana gelmişti. Araştırma gruplarını bazal rasyona 0, 200 ve 400 mg/kg dozunda katılan kurkumin (Omni Active Health Technologies, Inc, Morristown, NJ, USA.) düzeyleri oluşturdu. Kurkuminin yeme homojen olarak karıştırılabilmesi için önce ön karmaları mikro karıştırıcı da hazırlandı (Farmavet International, Manisa). Hayvanlar deneme öncesi 15 günlük adaptasyon periyoduna tabii tutuldu. Deneme, Elazığ Veteriner Kontrol Enstitüsü Araştırma Laboratuvarında yürütüldü. Bu deneyin gerçekleştirilmesi için Fırat Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Hayvan Araştırmaları Etik Kurulundan E65714 etik kurulu numarası ile gerekli izinler alınmıştır. Deneme süresince yem ve su serbest olarak verildi. Işık ve havalandırma kontrollü yapıldı. Işıklandırma 16 saat aydınlık/8 saat karanlık olacak şekilde ayarlandı. Deneme 12 ay sürdü. Çalışma süresince ölen hayvanlar kaydedilerek patolojik incelemeleri yapıldı. Çalışma sonunda ise ovaryum kanseri oluşturulan yumurta tavuklarında kan örnekleri EDTA'lı tüpe alaınarak çalışmaya dahil edildi.

Yapılan çalışmada; çalışmada planlanan ve kurkimun verilen rat grupları şu şekildedir.

Çizelge 3.1. Deneme planı

Gruplar, Kurkumin Düzeyi	Doz	Veriliş Yolu	Verilme Sıklığı	Süresi	N
Grup 1, 0	-	Diyetle	Ad libitum		90
Grup 2, 200	200 mg kurkumin /kg yem	Diyetle	Ad libitum		90
Grup 3, 400	400 mg kurkumin /kg yem	Diyetle	Ad libitum		90

3.2. Metod

Gen mutasyonlarının belirlenmesi amacıyla gruplarda sırasıyla DNA ekstraksiyonu, PCR ve sekans analiz metotları uygulanarak, H-RAS genlerinde nükleotid değişimler belirlendi (Çizelge 3.2). DNA ekstraksiyonu için kan örnekleri EDTA içeren tüplere alındı. Bu kan örneklerinden innu PREP Blood DNA Mini Kit (Ref no: 845-KS-1020010, Biometra) kullanılarak her bir örnekten DNA izolasyonu gerçekleştirildi. H-RAS gen bölgesi uygun primer çiftleri kullanılarak bu bölgelerin PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) ürünleri elde edildi. Bundan sonra çalışmaya; sekans analiz yöntemi uygulanarak devam edildi. Sekanz analizi sanger metodu uygulanarak hizmet alımı şeklinde yapıldı. Örneklerin sekans analizleri görüntülenerek değerlendirmeye alındı.

Çizelge 3.2. H-Ras genindeki araştırılan gen değişim noktaları

	Gen Değişim Noktaları	Nükleotid Değeri
H-Ras	IVS 1+20	C>T
	IVS 1+147	G>T
	IVS 1+159	T>A

DNA ekstraksiyonu

Mitokondrial DNA analizleri dışında DNA analizi için uygun deliller, nükleuslu hücreleri barındıran biyolojik substanslarla sınırlıdır. Genel olarak genomik DNA ekstraksiyon protokolleri hücrelerin parçalanmasıyla başlar ardından deoksinükleoproteinler ve RNA'lar ortamdan uzaklaştırılır. Şelatlama yapan maddeler, yüksek tuz konsantrasyonu, deterjanlar ve kimyasal denaturantlardan yararlanılmasıyla son bulur.

DNA ekstraksiyonun asıl amacı ortamdaki inhibitörlerin ve nükleazların yok edilmesi, maksimum miktarda ve kalitede DNA elde edilmesidir.

PCR reaksiyonunda ortalama 1 ng DNA'ya gereksinim bulunmaktadır. Bu miktar hemen hemen 1/20 µl kan veya 350 spermden elde edilen DNA miktarına denk gelmektedir. En iyi şekilde izole edilen DNA 50-150 kb arasındadır (Kotan, 2010).

PCR

Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), in vitro koşullarında DNA dizilerinin çoğaltılması esasına dayanmaktadır. PCR; basit, spesifik ve hassas bir tekniktir. Bu işlemin tüpte hızlı bir biçimde ard arda tekrarlanmasıyla başlangıç DNA miktarının milyon kat arttırılması söz konusudur.

PCR'da bulunan bileşenler; amplifiye (çoğaltılacak) hedef DNA dizisini içerek kalıp DNA; amplifiye edilecek kalıp DNA'nın komplementeri olacak şekilde belirlenmiş yaklaşık 20 bazlık sentetik kısa tek zincirli DNA molekülleri oligonükleotid, primerler, termostabil karakterli Taq DNA polimeraz enzimidir. Taq DNA polimerazın görevi DNA moleküllerinin komplementerleriyle eşlenmesine olanak sağlayıp onların çoğaltılmasını sağlar. İşlemin başlaması için kısa dna dizilerine gereksinim vardır. Bu nedenle primerler kullanılır. dNTPler (ATP, GTP, TTP, CTP) Taq DNA polimerazın substratlarıdır. Primerler ile başlatılan çift sarmal yapıyı hedef zincirin DNA polimeraz tarafından dNTP'leri kullanılarak uzatılmasıyla devam eder. Mg^{+2} iyonu da işlemde kofaktör olarak önemlidir. Konsantrasyonu belli oranlarda (her primer için farklı) olmalıdır. Konsantrasyonu çok fazla olursa yanlış eşleşmeler olur, az olursa da gerekli miktarda eşleşme olmaz.

PCR işleminde hedef DNA'nın arttırılması 20-40 döngü arasında olur. Her döngü çeşitli sıcaklıklarda 3 bölümden oluşmaktadır. Bunlar denatürasyon, kalıp DNA çift zincirininaçılması olup DNA tek zincirli haline dönüşür. Annealing (birleşme) tek zincirli kalıp DNA'nın primerlerle birleşme adımıdır ve 50-60° C arasında meydana gelir. Extension (uzama) DNA polimeraz enziminin maksimum etkinliğe sahip olduğu 72°C de gerçekleşir. Tek sarmal hedef DNA'nın komplementeri primerle zincir başlar ve Taq polimeraz ortamdaki dNTP'lei kullanark zinciri uzatır. Tek iplikli DNA çift iplikli hale dönüşür. İşlem 20-40 döngü şeklinde bu üç adımın tekrarlanmasıyla devam eder (Okutucu ve Pehlivan, 2003).

DNA sekans (Dizi) analizi

DNA dizi analizleri ya da sekanslama DNA birincil yapılarının tayininde ve nükleotid baz diziliminin belirlenmesinde kullanılan metottur. Analiz bir nükleik asit dizisinin diğerine

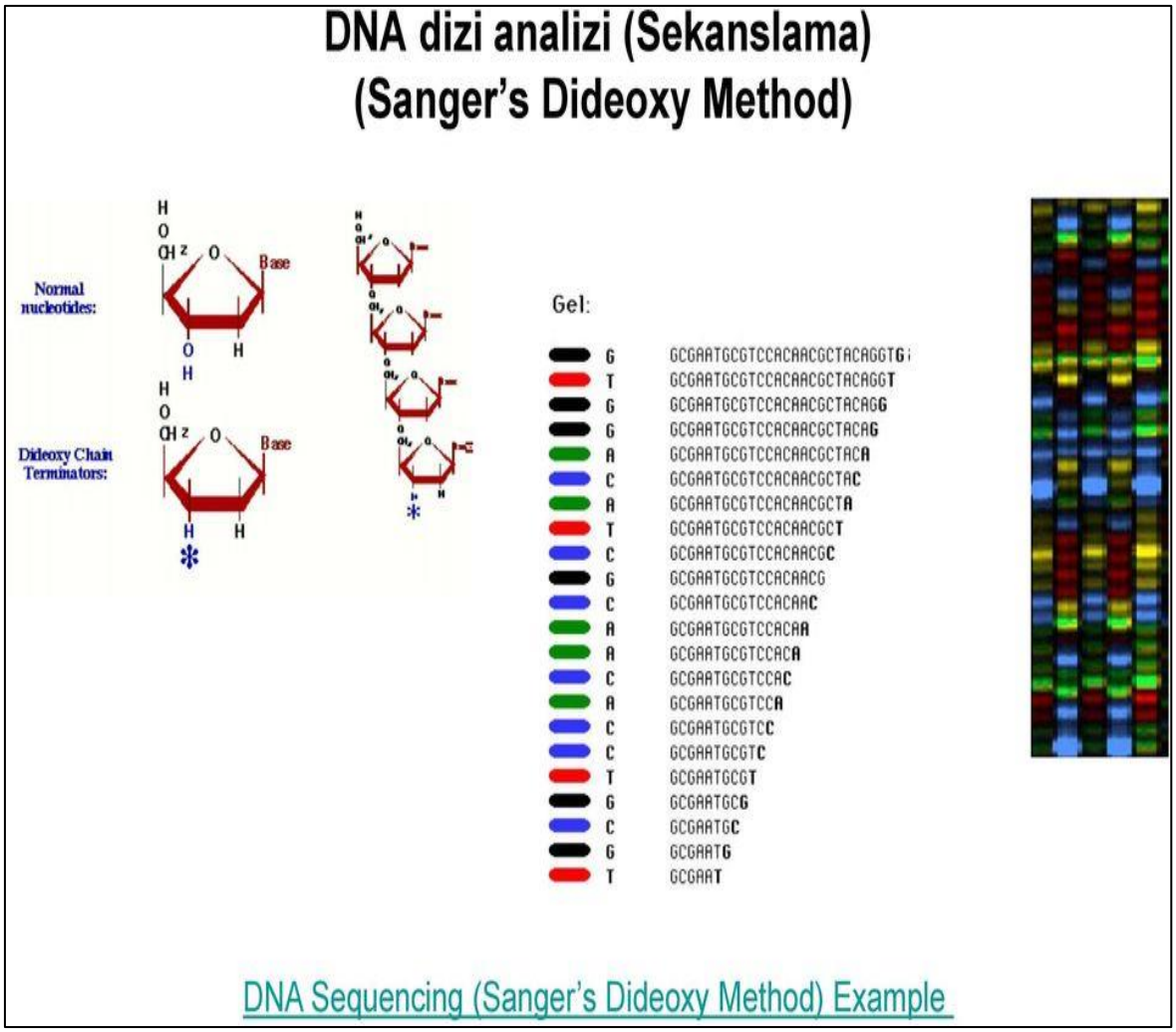
hibridizasyonuna dayanır. Bu hibridizasyon sırasında radyoaktif ya da radyoaktif olmayan maddelerle işaretleme gerçekleştirilir. Sıklıkla gen mutasyonları (delesyon, insersiyon vb.) tespiti ya da rekombinant DNA oluşum yapılarının belirlenmesinde kullanılır. Ayrıca gen regülasyonunda yer alan genetik kontrol bölgeleri, konsensus dizileri, epistatik genler ve etkileri tespit edilebilir.

DNA dizi analizinde günümüzde farklı iki yöntem kullanılmaktadır:

- Maxam ve Gilbert'in kimyasal kırılma yöntemi
- Sanger-Coulson'un zincir sonlam yöntemi.

Biz çalışmamızda sanger dizi analizi yöntemini kullandık.

Sanger dizi analiz yöntemi: Dideoksi ya da zincir sonlanması reaksiyonları da denir. Bu yöntemde tek zincirli DNA kalıbının tamamlayıcı zincirinin DNA polimeraz enzimiyle 5' den 3'ne doğru sentezlenmesi olayına dayanır. Dizisi belirlenecek DNA zinciri yeni sentezlenecek DNA zinciri için kalıp olarak kullanılır. Sentez reaksiyonu DNA polimeraz I ile katalizlenir. Modifiye dideoksinükleotit trifosfatlar kullanılarak bir dizi DNA parçacıkları oluşur. Dideoksinükleotid trifosfatlarda 3'–OH grubu yoktur. Bu durumda molekül yeni sentezlenen DNA'ya katılır fakat 3'–OH grubu taşımadığı için kendisine nükleotit ekleyemez ve zincir sentezi sonlanarak DNA parçacığı oluşur. Deneyde 4 reaksiyon karışımı oluşturulur. Her bir reaksiyon karışımı kalıp DNA zinciri (tek zincir), bir primer, DNA polimeraz, radyoaktif trifosfatların dördü (4 nükleotit) ve az miktarda dört tip dideoksinükleozit trifosfatlardan yalnızca birini içerir. Zincir sonlanması için dört reaksiyon tüpünde farklı bir dideoksinükleozit trifosfat bulunur. DNA polimeraz arada sırada uzayan DNA zincirinin yapısına nükleotitlerin yanı sıra dideoksinükleotitleri de sokar. Bu nükleotit analoğu 3' hidroksil grubu içermediği için bir sonraki nükleotit ile 3' bağı meydana gelmez, bundan dolayı DNA sentezi sonlanır. Reaksiyonların her birinde çok az oranda modifiye nükleozit kullanıldığı için yeni zincir sentezi rastgele sonlanarak bir dizi DNA parçacığı oluşur. Her bir tüpte uzunlukları farklı birer nükleotit, farklı olan değişik uzunluklardaki DNA molekülleri birikir. Sentez sonrası dört reaksiyondan oluşan radyoaktif DNA parçacıkları elektroforez jelinde yan yana dört ayrı kuyucukta yürütülür. DNA bantları otoradyografi ile görüntülenir ve jel aşağıdan yukarıya doğru okunarak nükleotid dizisi belirlenir.



Resim 3.1. Sanger dizi analiz yöntemi (https://docplayer.biz.tr)

Bu çalışma kapsamında, araştırılması planlanan Ras ailesi ve ona ait H-Ras gen seçimi yapılmıştır. Bunun nedeni, insanlarda farklı doku ve organlarda kanser oluşumunda etkili olan önemli onkogen ailesinin Ras ailesi olduğu gerçekleştirilen literatür taramasında tespit edilmiştir. Çünkü Ras onkogen ailesinde meydana gelebilecek en ufak bir değişiklik, normal hücrelerin kanser hücresine dönüşmesine neden olduğu ortaya konulmuştur. Buna bağlı olarak yapılan bir çalışmada, insan mesane kanserli hastalarda H-Ras geninin promotor bölgesinin metillenmesi, normal hücrenin kanser hücresine dönüşmesini sağladığı bulunmuştur (Sun, ve diğerleri, 2012). Bir başka çalışmada da tavuk ovaryum kanserlerinde P53, Ras ailesi üyeleri (H-Ras) gen mutasyon taraması yapılmıştır (Hakim, ve diğerleri, 2009). Bu nedenlerle planladığımız çalışmada da spontan gelişen ovaryum kanserli yumurta tavuklarında Ras ailesi üyelerinden H-Ras gen mutasyon taramasının yapılmasına ve bu çalışmayı gerçekleştirmede hedef gen seçiminin buna göre yapılması planlanmıştır. Yapılan literatür taramasında, insanlarda H-Ras gen ailesine ait primer

çiftlerine yönelik nükleotid dizileri verilmekle birlikte (Chang, Lin, Yeh, ve Chang, 2013) tavuklar ya da yumurta tavuklarının H-Ras genine ait bir primer dizaynı tespit edilememiştir. Bu noktadan hareketle tavukların Ras onkogen ailesine ait olan (H-Ras) gen dizileri http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ adresinden indirilerek bu gen dizilerine uygun kendimiz primer dizaynı, http://bioinfo.ut.ee/primer3-0.4.0/ programı kullanılarak tarafımızdan dizaynı gerçekleştirilmiştir ve böylece çalışmamızda kullanılan primer çiftleri aşağıdaki çizelgede verildiği gibi elde edilmiş ve PCR şartları da optimize edilmiştir (Çizelge 3.3).

Çizelge 3.3. Mutasyon taramasında kullanılacak olası aday genler ve ilgili gen bölgeleri

Aday Genler	Kodon Bölgeleri	Primerler	PCR Profili	Metod	
				PCR Ürünü (bp)	Sekans Analizi
H-Ras (DNA)	Codon 12	5-GAGACCCTGTAGGAGGACCC-3 (S) 5-GGGTGCTGAGACGAGGGACT-3 (A)	94°C'de55s (denatüras-yon) 62°C'de50s (bağlanma) 72°C'de 50s (uzama)	312	

Tümörlerin görülme sıklıklarındaki farklılıklar ve gruplardaki sayılar, X^2 testi kullanılarak istatistiksel açıdan değerlendirilirmiştir. Veriler, kurkumin desteğinin tümör çapı, protein boyama yoğunluğu ve serum metabolitleri üzerindeki etkilerini belirlemek için SAS programlı (2002; SAS Institute Inc.) varyans analizi ile genel doğrusal model kullanılarak analiz edilmiştir. Varyans analizinde F Testi ($P \leq 0.05$) dikkate alındığında, en küçük kareler ortalama işlemi ($P > 0.05$) önemli ölçüde farklı olan materyalleri ayırt etmek için uygulanmıştır. Hayvanlara uygulanan serum metabolitlerinin üç kurkumin dozu için (0, 200 ve 400 mg/kg) tepkilerinin doğrusal ve ikinci dereceden polinom karşıtları kullanılmıştır. Gen mutasyonlarının analizi için X^2 testi, allel frekansı ve Hardy-Weinberg dengesi için de genotipik frekans ve tek oranlı testler kullanılmıştır

Çizelge 3.4. H-RAS gen mutasyon analizi

Gen	Kodon	Primerler	PCR Koşulları	PCR Ürünü (bp)	Analiz
HRAS	12	5-AGACCCTGTAGGAGGACCC-3	94^0C için 55 saniye, 62^0C için 50 saniye, 72^0C için 50 saniye	312	Dizi analizi



Resim 3.2. H-Ras kod 12 sekans analizi

4. TARTIŞMA

Over kanseri kadınlarda en fazla görülen altıncı kanser olup jinekolojik ölümlerin en sık nedenidir. Over kanseri kadınlarda görülen kanserlerin %4'ünü, jinekolojik kanserlerin ise %27'sini oluşturur (Yetimalar, ve diğerleri, 2007).

Over malignensilerinin yaklaşık %90 gibi büyük bir kısmı epitelyal over kanserlerinden meydana gelirken geriye kalan kısmı germ hücreli tümörler ve seks-kord stromal tümörlerden oluşur (Grup Florence Nıghtıngale Hastaneleri, 2016).

HRAS geni, ilgili H-Ras adlı proteini yapmak için talimatlar verir. Sinyal iletimi olarak bilinen bir işlemle H-Ras proteini, sinyalleri hücrenin dışından hücrenin çekirdeğine iletir. Bu sinyaller hücreye büyümesini veya bölünmesini söyler. H-Ras proteini bir GTPaz'dır yani GTP adlı bir molekülü GDP adlı başka bir moleküle dönüştürür. H-Ras proteini bir anahtar gibi davranır ve GTP ve GDP molekülleri tarafından açılır ve kapatılır. İletmek için sinyaller, protein, bir GTP molekülüne bağlanarak açılmalıdır. H-Ras proteini, GTP'yi GDP'ye dönüştürdüğünde inaktive edilir. Ne zaman protein GDP'ye bağlıdır, sinyalleri hücrenin çekirdeğine iletmez.

HRAS geni, onkogen olarak bilinen bir gen sınıfına aittir. Mutasyona uğradığında onkojenler normal hücrelerin kanserli hale gelmesine neden olma potansiyeline sahiptir (U.S. National Library of Medicine, 2019).

Curcuma Longa (zerdeçal) rizomlarında bol miktarda bulunan doğal polifenolik bileşik olan kurkuminin kapsamlı antienflamatuar ve antikanser özelliklere sahip olduğu bilinmektedir (Miquel, Bernd, Sempere, Diaz-Alperi, ve Ramiez, 2002). Bu çalışmada spontan ovaryum kanser oluşumu ve gelişiminde en uygun model olan tavuk modelinde ovaryum kanser insidans oranının azaltılması üzerine kurkuminin etkisini araştırmak amaçlanmıştır.

Çalışmamızda 104 haftalık toplam 270 yumurta tavuğu kulandık. Her grupta 90 tane olmak üzere çalışma kapsamına alınan hayvanlar rastgele 3 deneme grubuna ayrılmıştır. Kontrol grubundaki tavuklar sadece bazal radyasyona 200 mg veya 400 mg kurkumin/kg ilave

edilecek rasyonlarla beslenmiştir. Daha sonra deney ve kontrol grubu hayvanlardan, kan numunesi alınarak DNA izolasyonu gerçekleştirilmiş ve bu DNA örneklerinde H-Ras gen ekspresyon düzeyleri tespit edilmiştir.

Ras genleri, kolon, akciğer, meme, uterin, böbrek ve mide tümörleri dahil olmak üzere çok çeşitli insan tümörlerinde yer almaktadır. Bu genlerin mutasyonları çoğu zaman nokta mutasyonlarıdır ve yumurtalık kanseri hastalarının% 10 ila %35'inde görülür. Hakim ve diğerleri, bir SNP'nin K-Ras'da, yumurtalık kanseri tavuk modelinde HRAS geninde olduğundan daha yaygın olduğunu bildirdi (Hakim, ve diğerleri, 2009) Genel olarak, çalışmamız, ilk kez HRAS onkogeninin mutasyon insidansının gallin over tümörlerinde, kurkumin alımı ile belirgin şekilde azaldığını göstermektedir. Bu, kısmen protein tamamlama onarım çapraz tamamlayıcı-1 ekspresyonunun düzenlenmesiyle bir DNA onarım mekanizmasının kurkumin kaynaklı aktivasyonu ile açıklanabilir. Ayrıca, histon asetilazın aktivitesinin artması nedeniyle histon proteinlerinde artan DNA metilasyonu onkogenik transkripsiyon faktörlerinin ekspresyonunun azalmasına ve dolayısıyla kanser insidansına neden olabilir. Son zamanlarda, TCGA Ağı tarafından yapılan kapsamlı bir çalışma, p53 mutasyonlarının, yumurtalık karsinomlarında, özellikle insan yüksek dereceli seröz tümörlerinde yaygın genetik değişiklikler olduğunu göstermiştir (Network., 2011).Bu nedenle, ileri Curcumin ile beslenen deneklerde over tümörlerinde p53 mutasyonlarının sıklığı analiz edilmelidir.

Ras ailesinin H-Ras geninde; bu bölgede daha önce tanımlanmış olan c.-23C>T (rs315505027 SNP) ve c. 105A> C (rs316850941 SNP) değişimleri bulunmamıştır. Ama takip eden intronda; IVS 1+20 da C> T de IVS 1+147 G> T ve de IVS 1+159 T> C yeni tespit edilen mutasyon değişikliklerine örneklerin birçoğunda özellikle kurkumin uygulanmamış olan 1. deney grubunda oldukça yüksek oranda homozigot olarak tespit edilmiştir. Ayrıca aynı bölgede tanımlanmış olan c. 9A> G (rs314404298 SNP) ve c. 82T> C p. Phe28Leu (rs 312303045 SNP) değişimleri bulunmamıştır. İlgili bölgede tanımlanmış değişikliklere de rastlanmamıştır.

Ushida ve diğerleri yaptıkları çalışmada; kurkuminin NMBA kaynaklı özofageal karsinojenezin başlangıç aşamasında verildiğinde karsinojenezi inhibe ettiğini, bu durumun inhibisyon özofagus epitelinde NMBA tarafından indüklenen artan hücre proliferasyonunun baskılanması ile ilgili olabileceğini düşünmüşlerdir. Biz çalışmamızda

ovaryum kanserli yumurta tavuklarında kurkuminin kanser hücreleri üzerindeki parçalayıcı etkisi belirgin şekilde ortaya çıkartarak kurkuminin DNA tamir mekanizmalarını aktifleştirerek bu durumu sağladığını düşündük. Bu yönü ile yaptığımız çalışma Ushida ve diğerlerinin yaptıkları çalışmayı destekler niteliktedir.

Chang ve diğerleri yaptıkları çalışmada, kurkuminin çoklu oral keratinosit tiplerinde IGFBP-5 ekspresyonunun bir indükleyicisi olarak tanımlanmış ayrıca kurkumini SAS oral kanser hücrelerinde IGFBP-5 promotor aktivitesini indüklediğini belirtmişlerdir. Sonuç olarak C/EBP alpha ve IGFBP-5– in kurkumin tarafından artması, oral karsinojenezin baskılanması için çok önemli olduğunu bulmuşlardır. Biz çalışmamızda ovaryum kanserli yumurta tavuklarında kurkuminin H-Ras geni ekspresyonu üzerine etkisini araştırdık ve kurkuminin ovaryum kanseri üzerinde dejeneratif etkisini önemli ölçüde ortaya koyduk. Bu sonuçlar Chang ve diğerlerinin yaptıkları çalışma ile benzerlik göstermektedir.

Zhang ve diğerleri yaptıkları çalışmada, sağlıklı donör kontrolleri ile karşılaştırıldığında kutanöz T hücreli lenfoma (CTCL) hastalarında, kurkuminin CTCL hücre dizileri ve periferik mononükleer kan hücreleri (PBMC) üzerindeki antitümör etkisini değerlendirmişlerdir. Sonuçlar kurkuminin, CTCL hücrelerinde STAT-3 ve NF-kappaB sinyal yollarının aşağı regülasyonu ile ilişkisini ve seçime bağlı olarak programlanmış hücre ölümünü indüklediğini göstermiştir. Bulgular, CTCL'li hastalar için terapötik bir ajan olarak kurkumin kullanımının mekanistik bir gerekçe sağladığını göstermiştir. Bizim yaptığımız çalışmada ovaryum kanserli yumurta tavuklarında kurkuminin H-Ras genindeki mutasyonların giderilmesinde oldukça etkili olduğu ve ovaryum kanseri üzerinde iyileştirici etkisi olduğu bulunmuştur. Bu yönü ile yaptığımız çalışma Zhang ve diğerlerinin yaptıkları çalışma ile uyumluluk gösterir.

Sun ve diğerleri yaptıkları çalışmada kurkuminin üç negatif meme kanseri hücreleri (TNBC) ve olası moleküler mekanizmalar üzerindeki etkilerini araştırmışlar sonuç olarak kurkuminin TNBC hücrelerinin çoğalmasını engelleyebileceğini göstermişlerdir. Bizde yaptığımız çalışmada ovaryum kanserli yumurta tavuklarında kurkuminin over kanseri hücreleri üzerindeki dejeneratif etkisini belirgin şekilde ortaya koyduk. Sun ve diğerlerinin yaptıkları çalışma bizim çalışmamız ile uyumlu olarak kurkuminin kanseri baskılayıcı etkisi açısından benzerlik gösterir.

Chendil ve diğerleri yaptıkları çalışmada, p53 mutant prostat kanseri hücre dizisi PC-3'te kurkuminin radyo-duyarlaştırıcı etkisini araştırmışlardır. Doğal bileşik olan kurkuminin kuvvetli bir radyosesitizer olduğunu ve prostat kanserinde gen ekspresyonunun etkilerinin üstesinden gelerek etkili olduğunu göstermişlerdir. Biz yaptığımız çalışmada ovaryum kanserli yumurta tavuklarında kurkuminin H-Ras geni ekspresyonu üzerine etkisini araştırdık ve kurkumin uygulanan gruplarda uygulanmayan gruplara göre mutasyon oranının daha düşük olduğunu tespit ettik. Chendil ve diğerlerinin yaptıkları çalışma ile uyumlu olarak kurkuminin kanser önlemede etken bir madde olduğunu tespit ettik.

Azuine ve Bhide yaptıkları çalışmada diyet zerdeçalının, dişi İsviçre farelerinde benzo [a] piren- (BP) ile indüklenen ön mide neoplazisi ve 7, 12-dimetilbenz [a] antrasen (DMBA) kaynaklı cilt tümörleri üzerindeki antikarsinojenik etkisi araştırmışlar ve zerdeçalın farelerde BP kaynaklı ön ayak ve DMBA kaynaklı cilt tümörleri üzerindeki koruyucu etkisini belgelediğini bulmuşlardır. Biz ise yaptığımız çalışmada ovaryum kanserli yumurta tavuklarında kurkuminin H-Ras genindeki antikansorejen etkilerini araştırdık ve kurkumin verilen tavuklarda kanser oranlarında düşüş tespit ettik. Azuine ve Bhide'nın yaptıkları çalışma bu yönü ile bizim çalışmamızı desteklemektedir.

Nakamura ve diğerleri yaptıkları çalışmada, kurkuminin hücre büyümesi, sinyal transdüksiyonunun aktivasyonu ve hem androjene bağımlı hem de bağımsız hücre hatlarının transformasyon aktivitelerine etkilerini değerlendirmişler ve sonuç olarak kurkuminin, andojen reseptörü (AR) ve AR ile ilişkili kofaktörlerin (AP-1, NF-B ve CBP) aşağı doğru düzenlenmesi yoluyla prostat kanseri hücreleri üzerinde potansiyel bir terapötik etkiye sahip olduğunu göstermişlerdir. Biz yaptığımız çalışmada ovaryum kanserli yumurta tavuklarında kurkuminin H-Ras gen mutasyon oranları üzerine etkisini araştırdık ve kurkumin verilen gruplarda kurkuminin DNA tamir mekanizmalarını aktifleştirerek H-Ras gen mutasyonlarının düşürülmesinde etkili olduğunu tespit ettik. Yaptığımız çalışma bu yönü ile Nakamura ve diğerlerinin yaptıkları çalışmayı destekler niteliktedir.

Gülle ve diğerleri iyonize radyasyonun folliküler atrezi üzerine etkilerini göstererek oluşacak hasarlara karşı kurkuminin koruyucu etkisinin olup olmadığını ve hücre çekirdeklerinde meydana gelen DNA hasarını tamir eden Poli (ADP-riboz) polimeraz-1 enziminin immünohistokimyasal boyama yöntemiyle gösterilmesini amaçlamışlardır.

Sonuç olarak kurkumin ile tedavi edilen grupta kurkuminin, radyasyona bağlı meydana gelen hasarı kısmen engellediğini ve kurkuminin ovaryum hasarını önleyici etkisi olduğunu bulmuşlardır. Böylece DNA tamir mekanizmalarının harekete geçerek meydana gelmiş olan DNA hasarlarının tamir edilerek kurkuminin koruyucu bir etkisinin olduğu ortaya konulmuştur. Yaptığımız çalışmada da kurkuminin kanser hücreleri üzerindeki parçalayıcı etkisi belirgin bir şekilde ortaya konularak kanserin iyileştirilmesinde kurkuminin DNA tamir mekanizmalarını aktifleştirerek bu korumayı gerçekleştirebileceği düşünülmüştür. Bu yönü ile Gülle ve diğerlerinin yaptığı çalışma bizim çalışmamızı destekler niteliktedir.

Killian ve diğerleri yaptıkları çalışmada kurkuminin prostat karsinomu büyümesi, apoptoz ve metastaz üzerindeki etkilerini analiz etmişlerdir. Sonuç olarak NF_KB ve CXCL1/-2 arasında pozitif proinflamatuar ve prometastatik geri beslenme döngüsü kronik inflamasyon prostat kanseri hücrelerinde metastazı teşvik edici faktörü aşağı indirdiğini ve kurkuminin, bu enformasyon döngüsünü in vivo olarak metastaz oluşumunun azalmasına yol açan NF signalB sinyalinin inhibisyonu ile bozacağını belirtmişlerdir. Biz ise yaptığımız çalışmada ovaryum kanserli yumurta tavuklarında kurkuminin over kanser oluşumunu baskıladığını belirledik. Killian ve diğerlerinin yaptıkları çalışma bu yönü ile bizim çalışmamızı desteklemektedir.

Aggarwal ve diğerleri yaptıkları çalışmada kurkuminin nükleer faktör-kappaB (NF-kappaB) aktivasyonunu baskıladığından ve çoğu kemoterapötik ajan, hücre sağ kalımına, çoğalmasına, yayılmasına ve metastazına aracılık eden NF-kappaB'yi aktive ettiğinden, kurkuminin ileri göğüs kanserinde kemoterapinin etkisini kuvvetlendireceği ve akciğer metastazını inhibe edeceğini varsaymışlar ve genel olarak elde edilen sonuçlarda, farmakolojik olarak güvenli bir bileşik olan kurkuminin, muhtemelen NF-kappaB tarafından düzenlenen gen ürünlerinin baskılanması yoluyla meme kanseri metastazını önlemede terapötik bir potansiyele sahip olduğunu göstermiştir. Biz çalışmamızda ovaryum kanserli yumurta tavuklarında kurkuminin H-Ras gen mutasyon oranını baskıladığını ve kanserin yayılmasını önlemede etkili bir ajan olduğunu bulduk. Aggarwal ve diğerlerinin yaptığı çalışma bu yönü ile bizim çalışmamızı destekler niteliktedir.

Tsai ve diğerleri yaptıkları çalışmada, kurkuminin küçük hücreli dışı akciğer kanseri (KHDAK) hücre hatlarında sisplatin tarafından uyarılan TP ve ERCC1 ekspresyonu

üzerindeki etkilerini araştırılmışlar ve yapısal olarak aktif MKK1 / 2 tarafından ERK1 / 2 sinyalinin arttırılması, TP ve ERCC1 protein seviyelerinde bir artışa neden olduğunu ve kurkumin ve sisplatin ile yapılan tedaviden sonra hücre canlılığını arttırdığını bulmuşlardır. Bizim yaptığımız çalışmada ovaryum kanserli yumurta tavuklarında kurkuminin H-Ras genindeki mutayonların giderilmesinde oldukça etkili olduğu ve yumurta tavuklarındaki ovaryum kanserlerinin tedavisinde iyileştirici etkisi olduğu tespit edilmiştir. Tsai ve diğerlerinin yaptıkları çalışma ile uyumlu olarak bizim çalışmamız kurkuminin kanser tedavisinde etkili bir madde olduğunu göstermiştir.

Liu ve arkadaşları yaptıkları çalışmada kurkuminin bir safra kesesi karsinomu hücre hattının, GBC-SD'nin apoptosisini indükleyip indüklemeyeceğini belirlemek için ilgili mekanizmayı netleştirmeyi amaçlamışlardır. MTT testi kullanılarak kurkuminin hücre canlılığında doz-zaman bağımlı bir azalmaya sebep olduğu gösterilmiştir. Bunun dışında kurkuminin GBC-SD hücrelerinde koloni oluşumunda doza bağımlı bir düşüşe sebep olduğu belirlenmiştir. Biz çalışmamızda ovaryum kanserli yumurta tavuklarında kurkuminin H_Ras genindeki değişimlerini DNA tamir mekanizmalarında etkili olduğu ayrıca kanser hücrelerindeki dejenerasyonun kurkumin tarafından tetiklendiği ve kanser hücrelerinin apoptozis yolağına kurkumin etkisi ile yönlendirildiğini belirledik. Buna bağlı olarak kanser hücrelerinde bir azalmanın olduğu düşünülmektedir. Bu yönü ile Liu ve arkadaşalarının yaptıkları çalışmalar bizim hipotezimizi desteklemektedir.

Aggarwal ve diğerleri yaptıkları çalışma, farmakolojik olarak güvenli bir bileşik olan kurkuminin, muhtemelen NF-kappaB tarafından düzenlenen gen ürünlerinin baskılanması yoluyla meme kanseri metastazını önlemede terapötik bir potansiyele sahip olduğunu göstermiştir. Bizde yaptığımız çalışmada ovaryum kanserli yumurta tavuklarında H-Ras geni üzerinde kurkuminin iyileştirici etkisini araştırdık ve sonuç olarak kurkuminin etkisi ile kanser hücrelerinin apoptozis yolağına yönlendirildiğini buna bağlı olarak kanser hücrelerinde belirgin oranda azalma olduğunu tespit ettik. Aggarwal ve diğerlerinin yaptıkları çalışma bu yönü ile bizim çalışmamızı destekler niteliktedir.

Zhang ve diğerleri yaptıkları çalışmada pankreas kanseri hücrelerinde onkoprotein hücre bölünme döngüsü 20'nin (Cdc20) inhibisyonu yoluyla kurkuminin kanser önleyici işlevini gösterip göstermediğini araştırmışlardır. Kurkuminin pankreas kanseri hücrelerinde hücre büyümesini, gelişmiş apoptozu, hücre döngüsü durmasını ve gecikmiş hücre istilasını

indüklediğini bulmuşlardır. Dahası kurkumin, pankreas kanseri hücrelerinde Cdc20'nin ekspresyonunu önemli ölçüde inhibe ettiğini gözlemlemişlerdir. Ayrıca, sonuçlar Cdc20'nin aşırı ekspresyonunun, hücre proliferasyonu ve istilasını arttırdığını, pankreas kanseri hücrelerinde kurkumin tarafından indüklenen sitotoksik etkileri ortadan kaldırdığını göstermiştir. Bulgular Cdc20'nin kurkumin tarafından inhibe edilmesinin pankreas kanseri hastalarının tedavisinde faydalı olabileceğini göstermiştir. Biz yaptığımız çalışmada ovaryum kanserli yumurta tavuklarında kurkuminin over kanserli hücreler üzerindeki indükleyici etkisini araştırdık ve kurkuminin over kanseri hücrelerini baskıladığını tespit ettik. Zhang ve diğerlerinin yaptıkları çalışma bu yönü ile bizim çalışmamızı destekler niteliktedir.

O'Sullivian-Coyne ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, kurkuminin özefagus kanseri hücre çizgileri panelindeki etkilerini incelemişlerdir. Sonuç olarak kurkuminin, apoptoz indüksiyonuna dayanamayan bir mekanizma ile hücre ölümünü indükleyebileceğini ve bu nedenle özofagus kanserinin önlenmesi ve tedavisi için umut verici bir antikanser ajanı temsil ettiğini bulmuşlardır. Bizim yaptığımız çalışmada ovaryum kanserli yumurta tavuklarında kurkuminin over kanserli hücrelerin basklılayıcı etkisi belirgin bir şekilde ortaya konulmuştur. O'Sullivian-Coyne ve arkadaşlarının yaptıkları çalışma, bizim çalışmamız ile kurkuminin kanseri önleyici etkisi açısından uyumluluk göstermektedir.

Kumar ve diğerleri, kurkumin-phema-nanoparçacıkları tümör hücrelerinde programlanmış hücre ölümlerini tetiklediği ve bu durum antiapoptotik survirin (apoptoz için önemli bir regülasyon proteini), VEGF (insan kanser bölgelerinde endotel hücre büyümesinin uyarıcısı) ve COX-2'nin (hastalık ilerlemesinde önemli) ifadelerinde azalmaya sebep olduğunu göstermişlerdir. Yaptığımız çalışmada da kurkuminin muhtemelen apoptotik yolağı aktif hale getirerek tümörlü dokuların yıkılmasına dolayısı ile kanser üzerine olumlu etkisinin olduğu sonucuna varılmıştır. Bu yönüyle çalışmamız Kumar ve diğerlerinin yaptıkları çalışmalar ile paralellik göstermektedir.

Cai ve diğerleri yaptıkları çalışmada kurkumin ve triptolidlerin sinerjik olarak over kanseri hücre büyümesini in vitro olarak baskıladığını netleştirmeye çalışmışlar ve düşük konsantrasyonlu kurkumin ve triptolid kombinasyonunun over kanseri üzerinde sinerjik bir antitümör etkisi olduğu ve bunların klinik uygulamalarda iyi bir potansiyele sahip olduğunu bulmuşlardır. Yaptığımız çalışmada DNA dizi analizi yöntemleri kullanarak

ovaryum kanserli yumurta tavuklarında kurkuminin H-Ras geni ekspresyonu üzerine etkisini araştırdık. Kurkumin verilen tavuklarda verilmeyenlere göre mutasyon oranlarında düşüş tespit ettik. Cai ve diğerlerinin yapmış olduğu çalışma ile uyumlu olarak kurkuminin over kanserini önleme çalışmalarında etkili bir madde olacağı sonucuna varılmıştır.

Terlikowska ve diğerleri yaptıkları çalışmada kurkumin ve potansiyel preklinik özellikleri in vivo ve in vitro over kanseri çalışmaları temelinde değerlendirmişlerdir. Kurkuminin uzun süreli güvenliğinden ve mükemmel yan etki proflinden dolayı yumurtalık kanseri tedavi stratejilerinde, özellikle platin dirençli primer epitel tekrarlayan yumurtalık kanseri veya çoklu ilaç kullanan hastalarda yararlı bir destek olarak görülmesi gerektiğini göstermiştir. Kurkumin ve over kanseri tedavisi stratejisinde antikanser ajanlar olarak formülasyonları beklentisi zor görünmekle birlikte aynı zamanda ümit verici olduğu ve klinik çalışmalarda etkinliğinin değerlendirilmesine ihtiyaç duyulduğu belirtilmiştir. Terlikowska ve diğerlerinin yaptıkları çalışmada kurkuminin ovaryum kanseri üzerinde iyileştirici etkisinin özelliklerini vurgulamışlardır. Bizim yaptığımız yumurta tavukları over kanserlerinde kurkuminin kanserli hücrelerin üzerine dejeneratif etkisi belirgin şekilde ortaya konulmuş ve bu sonuçlar Terlikowska ve diğerlerinin yaptığı çalışmalarla benzerlik göstermektedir.

Zheng ve diğerleri kurkuminin insan over A2780 hücre çizgisi ve bununla ilgili moleküler mekanizmalar üzerindeki apoptoz indükleyici etkilerini araştırmak için bu çalışmayı yapmışlar ve kurkuminin, over kanseri hücrelerinin büyümesini önemli ölçüde engelleyebileceği bulunmuştur. Zheng ve diğerlerinin yaptıkları çalışmada kurkuminin ovaryum kanseri üzerinde önemli ölçüde engelleyici etkisi olduğu bulunmuştur. Bizim yaptığımız yumurta tavuğu over kanserinde de kurkuminin kanserli hücrelerin üzerine dejeneratif etkisi belirgin şekilde ortaya konulmuş ve bu sonuçlar Zheng ve diğerlerinin yaptıkları çalışma ile uygunluk göstermektedir.

Shi ve diğerleri yaptıkları çalışmada MTT tahlili, floresan mikroskobu, akış sitometrisi ve Western blot ile insan yumurtalık kanseri hücre dizisi Ho-8910'daki kurkuminin büyüme ve apoptoz üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Veriler kurkuminin, Ho-8910 hücrelerinde büyümeyi önemli ölçüde inhibe edebileceğini ve apoptozu indükleyebileceğini ortaya koymuştur. 40 μM kurkumine maruz kaldıktan sonra Bcl, Bcl-XL ve pro-kaspaz 3 ekspresyonunda bir azalma gözlenmişken, kurkumin ile muamele edilmiş hücrelerde p53

ve Bax seviyeleri arttırılmıştır. Bunlar kurkuminin antikanserojen etkisine katkıda bulunabileceğini göstermiştir. Biz yaptığımız çalışmada over kanserli yumurta tavuklarında kanser hücrelerindeki dejenerasyonun kurkumin tarafından tetiklendiğini ve kurkuminin kanser hücreleri üzerinde indükleyici etkisini belirgin şekilde ortaya koyduk. Shi ve diğerlerinin yaptığı çalışma bu yönü ile bizim çalışmamızı destekler niteliktedir.

Weir ve diğerleri yaptıkları çalışmada sisplatine dirençli insan yumurtalık kanseri hücrelerinde kurkuminlerin antikanser özelliklerini in vitro olarak araştırmışlardır. Sonuçlar, kurkuminin hem sisplatine dirençli (CR) hem de hassas (CS) insan yumurtalık kanseri hücrelerinin çoğalmasını neredeyse eşit olarak inhibe ettiğini göstermiştir. Kurkumin ile tedavi edilen hem CR hem de CS hücrelerinde gelişmiş süperoksit oluşumu gözlenmiştir. Kurkumin, sisplatin dirençli yumurtalık kanseri hücrelerinin, süperoksit üretme, G (2) / M tutuklaması ve apoptozis endüksiyonu yoluyla proliferasyonunu inhibe ettiğini göstermiştir. Bizim yaptığımız çalışma over kanserli yumurta tavuklarında kurkuminin kanser hücreleri üzerinde engelleyici etkisini belirgin şekilde ortaya koymuştur ve bu sonuçlar Weir ve diğerlerinin yaptıkları çalışmalarla benzerlik göstermektedir.

Seo ve diğerleri yaptıkları çalışmada, transkripsiyon3'ün (STATA3) sinyal transdüserlerinin ve aktivatörlerinin rolünü ve kemopreventif bir ajan olan kurkuminin LPA ile indüklenen over kanseri hücre hareketliliği üzerindeki etkisini belirlemişlerdir. Kurkumin ile hücrelerin işlenmesi, LPA kaynaklı IL-6 ve IL-8 salgılanmasını ve STAT3 fosforilasyonunu inhibe ederek over kanseri hücre hareketliliğini bloke etmiştir. Bu çalışma, STAT3'ün yumurtalık kanseri hücre hareketliliğinde kritik rolünü ve bu işlemin kurkumin ile önlenebileceğini göstermiştir. Yaptığımız çalışmada spontan gelişen ovaryum kanserli yumurta tavuklarında kurkuminin H-Ras geni ekspresyonu üzerine etkisini araştırdık ve kurkumin uygulanan gruplarda mutasyon oranında düşüş tespit ettik. Yaptığımız çalışma Seo ve diğerlerinin yapmış olduğu çalışma ile uyumlu olarak kurkuminin kanser önlemede etkili bir ajan olduğunu göstermiştir.

Yallapu ve diğerleri yaptıkları çalışmada, kemo/radyo duyarlaştırıcı sisplatin dirençli yumurtalık kanseri hücrelerine yönelik kurkuminin ön işlem stratejisinin etkinliği göstermişlerdir. Kurkumin ön arıtması, A2780CP over kanseri hücrelerinde çoklu moleküler mekanizmalar yoluyla kemo/radyo duyarlılığını arttırmıştır. Bu nedenle kurkumin ön muamelesi, yumurtalık kanseri terapöterapisini etkili bir şekilde

iyileştirebileceği bulunmuştur. Biz çalışmamızda ovaryum kanserli yumurta tavuklarında kurkuminin H-Ras gen ekspresyonu etkisini araştırdık. Ovaryum kanserli yumurta tavuklarına farklı dozlarda kurkumin verdik ve kurkuminin H-Ras genindeki mutasyonların önlenmesinde oldukça etkili olduğunu gözlemledik. Yallapu ve diğerlerinin yapmış olduğu çalışma bu yönü ile bizim çalışmamızla uygunluk göstermektedir.

Changs ve diğerleri yaptıkları çalışmada, K-, N-, H-Ras ve BRAF mutasyonlarını saptamak için mültipleks PCR ve primer uzatma gerçekleştirmeyi amaçlamışlar ve sonuç olarak BRAF mutasyonu ile cinsiyet, sınıf ve hücre tipi arasında bir bağlantı bulmuşlar ve HRAS mutasyonu ile sınıf hücre tipi arasında ilişki bulmuşlardır. Biz yaptığımız çalışmada ovaryum kanserli yumurta tavuklarında H-Ras gen mutasyon değişim oranlarını belirledik. Changs ve diğerleri bu 3 gen bölgesini tarayarak mutasyon bölgesini araştırmıştır. Bu karşılaştırmada H-Ras bakımından Changs ve diğerlerinin yaptıkları çalışma bizim tezimizi desteklemektedir.

Jamieson ve diğerleri yaptıkları çalışmada, yumurtalıktaki (GCT) granulosa hücreli tümörlerin moleküler patogenezinin anlaşılmadığını belirtmişlerdir. K-, N- ve H-Ras protoonkogenlerindeki aktive edici mutasyonlar, yumurtalık epitelyal tümörleri de dahil olmak üzere çok çeşitli insan kanserlerinde tanımlanmıştır. Ayrıca aynı kanser türlerinde Ras ve B-raf mutasyonlarının varlığı arasında son zamanlarda belirgin bir ilişki rapor edildiğini belirtmişlerdir. Sonuç olarak ne aşırı ekspresyonun ne de Ras veya B-raf genlerinin aktive edici mutasyonlarının, GCT'nin gelişimi ile ilişkili olmadığını göstermişlerdir. Bu çalışmada normal yumurtalıklar ile incelenen tümörlü yumurta dokularının hiçbirinde Ras ailesi içerisinde özellikle H-Ras gen ekspresiyonunun gerçekleşmediği tespit edilirken bizim yaptığımız çalışmada ovaryum kanserli yumurta tavuklarında H-Ras gen mutasyon oranları yüksek oranda tespit edilmiştir. Bu yönü ile çalışmamız Jameison ve diğerlerinin çalışmaları ile farklılık gösterir.

Aldaz ve diğerleri yaptıkları çalışmada, kromozom 1'deki spesifik kısmi çoğalmaların ve trizomilerin, bunu yanı sıra kromozom 1'de bulunan H-Ras onkojeninin alel dozundaki değişikliklerin gelişimini gözlemlemişlerdir. Ayrıca bir soydaki yumurtalıktan bağımsız tümörlerin dikkate değer H-Ras değişikliklerini de gözlemlemişlerdir. Bu değişikliğin genellikle gelişim zamanında ortaya çıkıp çıkmadığını saptamak ve değişimin kromozomal mekanizmasını daha iyi tanımlamak için yaptıkları çalışmada gelişimin daha ileri evresinde

olan daha fazla sayıdaki yumurtalıktan bağımsız tümör soylarını analiz etmişlerdir. Asıl olarak anaplastik fenotipin gelişimiyle ilişkili olan H-Ras geninin önemli ve sistematik bir değişimini gözlemlemişlerdir. Memeli tümörlerinde sitogenetik ve moleküler seviyelerde gözlemlenen, sıçan kromozom 1'i etkileyen anormalliklerin, mutasyon geçirmiş HRAS geninin amplifikasyonuna sebep olan mekanizmaların oluşturduğu bir sonuç olabileceğini ve bu raporda tanımlanan modelin doğal tümör ilerlemesi dışında hiç seçilim baskısı olmayan ve in vivo ortamda işlev gören onkojen amplifikasyon mekanizmalarını çalışmak için iyi bir sistem olabileceğini ifade etmişlerdir. Aldaz ve diğerlerinin yaptıkları bu çalışmada seçtikleri genetik değişim bölgeleri ile yaptığımız çalışmadaki gen değişimlerinin benzer olduğu ve uyumlu sonuçlar elde edildiği görülmüştür.

Hakim ve diğerleri yaptıkları çalışmada, insan yumurtalık adenokarsinomlarındakine benzer genetik değişiklikler olup olmadığını belirlemek için p53 tümör baskılayıcı genindeki, tavuk ve yumurtalık kanserlerinde Ras ve HER-2/ neu onkogenindeki değişiklikleri incelemişlerdir. Genel olarak tavukta H-Ras'da hiçbir mutasyon görülmemiştir. Bu nedenle, ras onkojendeki mutasyonların, insan yumurtalık kanserlerine benzer şekilde tavuk yumurtalık kanserinde nadir olduğunu ifade etmişlerdir. Bizim çalışmamızda yumurta tavuklarında ovaryum kanserli bireylerde H-Ras gen nükleotid değişimleri ortaya konulmuştur. Kurkuminin farklı dozlarda uygulanan gruplardaki H-Ras mutasyon oranları istatistik olarak ortaya konulmuş ve kurkuminin iyileştirici etkisi anlamlı sonuç olarak ortaya konulmuş ve kurkuminin iyileştirici etkisi anlamlı olacak şekilde elde edilmiştir. Bu sonuçlar Hakim ve diğerlerinin yaptıkları çalışma ile uyumluluk gösterir.

Cao ve diğerleri yaptıkları çalışmada miDNA hasarının kurkumin kaynaklı apoptozdaki rolünü değerlendirmek için deneyler yapmışlardır. Sonuçlar, HepG2 hücrelerinin 1 saat boyunca kurkumin ile tehdit edildiğini, bunu takiben sitokrom c sitozol içine salıverilmesinin ve kurkumine maruz kaldıktan 6 saat sonra sitokrom c salıverdiğini göstermiştir. Bizim yaptığımız çalışmada ovaryum kanserli yumurta tavuklarında kurkuminin iyileştirici etkisinde H-Ras genindeki değişimlerin DNA tamir mekanizmaları üzerindeki etkisini araştırdık. Kurkuminin bu mekanizmalarda etkili olduğu sonucu ile birlikte kanser hücrelerinin apoptosiz yolağına kurkuminin etkisi ile yönlendirildiği buna bağlı olarak kanser hücrelerinde bir azalmanın olduğu düşünülmektedir. Bu yönü ile Cao ve diğerlerinin yaptığı çalışma bizim hipotezimizi destekler niteliktedir.

Rowe, Ozbay, O'Regan ve Nahta yaptıkları çalışmada, üçlü negatif meme kanseri adı verilen bir meme kanseri tipinde kurkumin etkilerini incelemeyi amaçlamışlardır. Biyoaktif gıda bileşiği kurkuminin, BRCA1 proteininin fosforilasyonu, artmış ekspresyonu ve sitoplazmik tutulumu ile bağlantılı olarak üçlü negatif meme kanseri hücrelerinde DNA hasarı meydana getirdiğini göstermişlerdir. Apoptoz ve BRCA1 modülasyonu transforme olmayan meme epitel hücrelerinde gözlemlenmiştir bu da kurkuminin spesifik olmayan toksisiteye sahip olabileceğini düşündürmüştür. Bu çalışma, kurkumin ve potansiyel olarak kurkumin analoglarının üçlü negatif meme kanseri bağlamında daha fazla test edilmesi gerektiğini göstermiştir. Rowe ve diğerlerinin kurkuminin göğüs kanseri bağlamınaki etkisi tam olarak ortaya konulmamışken yaptığımız çalışmada ovaryum kanserli yumurta tavuklarında kurkuminin H-Ras genindeki mutasyonların giderilmesinde oldukça etkili olduğu göğüs kanserinin aksine yumurta tavuklarındaki ovaryum kanserlerinin tedavisi üzerinde iyileştirici etkisi olduğu tespit edilmiştir.

Sahu, Batra ve Srivastava yaptıkları çalışmada, kurkuminin DNA'ya zarar veren etkisini belirlemek için hücre lizatlarını western blotlama ile analiz etmişlerdir. Sonuçlar kurkumin tedavisinin DNA polimeraz ekspresyonunu azalttığını göstermiştir. Ayrıca, kurkuminle muamele edilmiş BxPC-3 hücrelerinde kaspaz-3 ve PARP'nin parçalanmış parçalarında bir artış gözlemlemişlerdir. Sahu ve diğerleri yaptıkları çalışmada kurkuminin DNA'ya zarar verdiği ile ilgili bulgular tespit etmişlerdir. Bu sonuçların tam aksine yaptığımız çalışmada kurkuminin DNA'da bir hasar meydana getirmediği aksine DNA tamir mekanizmalarını aktifleştirerek H-Ras gen mutasyonlarının düzeltilmesi noktasında olumlu etkisinin olduğu açık bir şekilde ortaya konulmuştur. Bu yönü ile yaptığımız çalışma Sahu ve diğerlerinin yapmış odukları çalışma ile farklılık göstermektedir.

Gafner ve diğerleri yaptıkları çalışmada, normal ve malign karaciğer dokuu örneklerinde oral uygulanan kurkuminin farmakolojik etkilerini incelemişlerdir. Karaciğer metastazı olan kolorektal kanserli 12 hastaya cerrahi müdehaleden önce 1 hafta boyunca günlük 450-3600 mg kurkumin vermişlerdir. Yaptıkları çalışmaını sonucunda farmakolojik etkiyi belirlemek ve hepatik seviyeyi oluşturmak için ihtiyaç duyulan kurkumin miktarının insanlarda uygulanamayacağını belirtmişlerdir. Biz yaptığımız çalışmada bu sonuçların aksine ovaryum kanserli yumurta tavuklarında kurkuminin H-Ras genindeki mutasyonları engellemesi yönünde oldukça etkili olduğunu tespit ettik. Bu yönü ile Gafner ve diğerlerinin yapmış olduğu çalışma bizim sonuçlarımızla farklılık göstermektedir.

5. SONUÇLAR

Ovaryum kanseri yumurtalığın yapısındaki ana hücreler olan epitelyum hücrelerinin ve embriyonik döneme ait diğer hücrelerin kontrolsüz şekilde bölünmesi sonucu oluşan en ölümcül jinekolojik kanser türüdür. Curcuma Longa bitkisinden elde edilen kurkumin karsigonezin hemen hemen her aşamasında rol alan etken bir maddedir ve kanser hücrelerinin kontrolsüz çoğalmasının engellenmesinde rol alır. Yapılan çalışmalar kurkuminin birçok kanser türünde tümör oluşumunu baskıladığını göstermiştir. Bu çalışmada ovaryum kanserli yumurta tavuklarında kurkuminin H-Ras gen ekspresiyonu üzerine etkisi DNA dizi analizi yöntemleri ile incelenmiştir. Çalışmada 104 haftalık, 270 adet tavuk her bir grupta 90 tane olmak üzere 3 gruba ayrılmıştır.

Tavuklarda H-RAS geni kod 12 bölgesi de içine alınacak şekilde dizi analizi ile taranmıştır. Bu bölge için daha önce tanımlanmış olan c.-23C>T (rs315505027 SNP) ve c.105A>C (rs316850941 SNP) değişimleri bizim yaptığımız çalışmada bulunmamıştır. Fakat H-Ras geni kodon 12 bölgesinin içinde bulunan intronda ise; IVS 1+20 da C>T, de IVS 1+147 G>T ve de IVS 1+159 T>C değişikliklerine alınan örneklerin birçoğunda homozigot olarak rastlanılmış, bir kısmında ise heterozigot olarak da rastlanılmıştır.

Ovaryum kanserli yumurta tavuklarının H-Ras geninde 1. grup (kurkumin uygulanması 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, IVS 1+147 G>T ve de IVS 1+159 T>C değişiklikleri tespit edilmiştir. Buna göre yaptığımız çalışmalarla ilgili gruplar arasındaki farkları daha iyi yorumlayabilmemiz için elde ettiğimiz sonuçları daha detaylı vermek gerekirse;

1. Grup (Kurkuminin uygulanmadığı grup);
1.1-1.26 tüm bireylerde (26 adet) IVS1+20 C>T homozigot olarak bulunmuştur.
1.1-1.26 bireylerde (19 adet) IVS 1+147 da G>T homozigot, 7 bireyde ise heterozigot olarak bulunmuştur.
1.1-1.26 tüm bireylerde (26 adet) IVS 1+159 da T>C homozigot olarak bulunmuştur.
2.Grup (Kurkuminin 200 mg olarak uygulandığı grup);

2.1-2.26 bireylerde, (8 adet) IVS1+20 C>T homozigot, 18 bireyde ise heterozigot olarak bulunmuştur.
2.1-2.26 bireylerde (6 adet) IVS 1+147 da G>T homozigot, 20 bireyde ise heterozigot olarak bulunmuştur.
2.1-2.26 bireylerde (3 adet) IVS 1+159 da T>C homozigot, 23 bireyde ise heterozigot olarak bulunmuştur.
3. Grup (Kurkuminin 400 mg olarak uygulandığı grup);
3.1-3.26 bireylerde, (2 adet) IVS+20 C>T homozigot, 24 bireyde ise heterozigot olarak bulunmuştur.
3.1-3.26 bireylerde (1 adet) IVS 1+147'da G>T homozigot, 25 bireyde ise heterozigot olarak bulunmuştur.
3.1-3.26 bireylerde (1 adet) IVS 1+159'da T> C homozigot, 25 bireyde ise heterozigot olarak bulunmuştur.

Görüldüğü gibi, kurkuminin uygulanmadığı 1. grupta, her üç mutasyon (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 tavuklarında spontan gelişen tümörlerde bu değişimlerin 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; 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.

Kurkuminin 400 mg uygulandığı 3.grupta; IVS 1+20 da C>T = %19,70 homozigot, %80,30 heterozigot; IVS 1+147 da G>T = %7,85 homozigot, % 92,15 heterozigot; IVS 1+159 T>C= %9,85 homozigot, %90,15 heterozigot olarak bulunmuştur.

Görüldüğü gibi; kurkuminin uygulanmadığı grupta (1.grup) , IVS 1+20 da C>T, de IVS 1+147 G>T ve de IVS 1+159 T>C mutasyonlarının oranı yüksek çıkmıştır. Kurkiminin 200 mg olarak uygulandığı 2.grupta ise, mutasyon oranları 1.gruba göre daha düşük bulunmuştur. Kurkimin 400 mg olarak uygulandığı 3.grup da ise, mutasyon oranları en düşük olarak saptanmıştır (Çizelge 5.1). Bununla birlikte; kod 12, ikinci ekzondaki C146 A>G (rs317301192) SNP çalışmasıda her 3 gruptada gerçekleştirilmiştir (1,1-1,26 = 26

adet, 2,1-2,26 =26 adet, 3,1-3,26 =26 adet) ancak; her üç grupta da bu SNP (single nucleotide polimorphism) değişim noktası tespit edilememiştir.

Çizelge 5.1. Kurkuminin mutasyon oluşum oranına etkisi

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	%19,70 Homozigot %80,30 Heterozigot	%7,85 Homozigot %92,15 Heterozigot	%9,85 Homozigot %90,15 Heterozigot

Kurkuminin tümör üzerinde uygulanan artan doz etkisi DNA tamir mekanizmalarını tetikleyerek tümörün dejenerasyonunu sağlayarak tümör insidansını düşürdüğü gibi DNA tamir mekanizmalarının aracılığı ile DNA'da nükleotid tamir değişimlerini gerçekleştirerek DNA zincirindeki özellikle homozigotluk oranında düşüşler gerçekleştirdiği görülmektedir.

HRAS geninde IVS (araya giren dizi / intron) IVS 1 + 20 da C> T, IVS 1 + 147 G> T ve IVS 1 + 159 T> C dahil SNP'leri sıklıkla araştırdık. Bu SNP'ler, çoğu tümör örneğinde IVS 1 + 20 da C> T, IVS 1 + 147 G> T ve IVS 1 + 159 T> C gibi homozigot değişiklikler de dahil olmak üzere önemli ölçüde yüksek çıktı (P = 0,001). Buna karşılık, bu değişikliklerin sayısı kurkuminle beslenen gruplarda kontrol grubundan daha düşük bulundu (P = 0,014).

Ki kare (X^2) testi değişiminin H-Ras geninde anlamlı olup olmadığı tespit edildi. P alel frekansı; normal ve deney grubunda H-Ras gen değişimlerinin bireyler üzerinde anlamlı bir gen değişimi oluşturup oluşturmadığı tespit edildi. Bunun için H-Ras geninin kontrol olarak kullanılan P=0.001 olarak tespit edilmişken kurkumin ile beslenen gruplardaki H-Ras gen değişimleri IVS 1+20 C>T, IVS 1+147 G>T ve IVS 1+159 T>C değişimleri yapılan X^2 analizlerinde sırasıyla P = 0,014, P = 0,017 ve P = 0,08 olarak bulunmuştur (Çizelge 5.2). Buna dayanarak tümör grubunda H-Ras gen değişim oranı çok yüksek çıkmış iken (P = 0,001) buna karşılık kurkumin ile beslenen gruplarda H-Ras gen

değişimleri daha az oranda olduğu tespit edilmiştir. Böylece kurkuminin tümör gelişimini engelleyici etkisi olduğu sonucuna varılmıştır.

Çizelge 5.2. IVS ile ilgili X^2 analiz testlerinde mutasyonların P değerleri

H-Ras	X^2 Testi P (0,001) Alel Frekansı Değişimi
IVS 1+20 C>T	0,0014
IVS 1+147 G>T	0,017
IVS 1+159 T>C	0,08

Ki kare (X^2) testi değişiminin H-Ras geni üzerindeki değişimleri ile hipotezimizin kabul edilebilir nitelikte olup olmadığını tespit ettik. Varyans analizi testinde IVS 1+20 C>T, IVS 1+147 G>T ve IVS 1+159 T>C elde edilen P değerleri sırası ile 0,0014, 0,017 ve 0,08 dir ve bu değerler 0,001 değerinden büyüktür. Bu değerler kurkuminin kanser üzerinde engelleyici etkisi olduğunu gösterir ve sonuç olarak yapılan ki kare analiz testinden elde edilen veriler hipotezimizin kabul edilebilir nitelikte olduğunu göstermektedir. Bu çalışmanın daha sonra yapılacak olan araştırmalara örnek teşkil edeceği düşünülmektedir.

Bu çalışma TÜBİTAK tarafından 1001 program kodu ve 113O622 proje numarası ile desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

Açıkgöz, A. (2015). *Serum 25-Hidroksivitamin D Düzeyinin Akciğer, Meme, Kolorektal, Prostat ve Ovaryum Kanserine Etkisinin Belirlenmesi* , Doktora Tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir.

Aggarwal, B.B., Kumar, A. and Bharti, A. (2003). Anticancer Potential of Curcumin: Preclinical and Clinical Studies. *Antıcancer Research,* 23, 363-398.

Aggarwal, B.B., Shishodia, S., Takada, Y., Banerjee, S., Newman, R., Bueso-Ramos, C. and Price, J. (2005). Curcumin Suppresses the Paclitaxel-Induced Nuclear Factor-κB Pathway in Breast Cancer Cells and Inhibits Lung Metastasis of Human Breast Cancer in Nude Mice. *Clinical Cancer Research,* 11(20), 7490-7498.

Aldaz, M. C., Gollahon, L. S.,and Chen, A. (1993). Systematic HRAS Amplification in Ovary-independent Mammary Tumors. *Cancer Research,* 53(22), 5339-5344.

Altınok, B., ve Sunguroğlu, A. (2016). WNT Sinyal Yolağı ve Kanser. *Ankara Sağlık Hizmetleri Dergisi*, 15(2), 28-38.

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

Aslan Koşar, P., Çapar, E., ve Koşar, A. (2012, Şubat). Mesane Kanseri ve RAS proto-onkogenleri. *Yeni Üroloji Dergisi, 7*(1), 1-71.

Atıcı, E. (2007). Tıp tarihinde kanser ve lösemi. *Türk Onkoloji Dergisi,* 22(4), 197-204.

Ayrım, A. (2016). *Ovaryum Kanserinde Hücre İçi Kalsiyum Değişimlerinin Ultrayapısal Olarak İncelenmesi ,* Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir.

Azuine, M. A. and Bhide, S. V. (1992). Chemopreventive effect of turmeric against stomach and skin tumors induced by chemical carcinogens in Swiss mice. *Nutrition and Cancer,* 17(1), 77-83.

Barnholtz-Sloan, J., Schwartz, A., Qureshi, F., Jacques, S., Malone, J. and Munkarah, A. (2003). Ovarian cancer: changes in patterns at diagnosis and survival over the last three decades. *American Journal of Obstetrics and Gynecology,* 189(4), 1120-7.

Baydın, P., ve Akbulut, H. (2013). Kanserde Damar Endoteline Yönelik Gen Tedavisi Ajanları Geliştirilmesi. *Türk Onkoloji Dergisi,* 28(4), 179-186.

Baykara, O. (2016). Kanser Tedavisinde Güncel Yaklaşımlar. *Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi*, 5(3), 155.

Becit, M., Aydın, S., ve Başaran, N. (2017). Kurkuminin Terapötik ve Toksik Etkilerinin Değerlendirilmesi. *Eczacılık Bilimleri Dergisi*, 6(2), 126-42.

Bilicen, E. (2018). *Yüksek Dereceli Seröz Over Kanseri Nedeniyle Opere Olan Hastaların Primer Tümör Dokusu ve Metastatik Doku Üzerinde USP17 ve TPT1 Ekspresyonlarının Değerlendirilerek Uzak Metastaz ile Olan İlişkisinin Ortaya Konması*, Uzmanlık Tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, İzmir.

Bireller, E., Çinçin, B., ve Çakmakoğlu, B. (2015). Endometrium Kanseri ve Gelişimi Üzerinde Etkili PI3K/AKT7mTor ve RAS/RAF/MAPK Sinyal İletim Yolakları. *Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Dergisi,* 4(10), 42-50.

Cabadak, H. (2008). Hücre Siklusu ve Kanser. *ADÜ Tıp Fakültesi Dergisi,* 9(3), 51-61.

Cai, Y., Lin, W., Li, A. and Xu, J. (2013). Combined Effects of Curcumin and Triptolide on an Ovarian. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention,* 14(7), 4267-4271.

Cao, J., Liu, Y., Jia, L., Zhou, H.-M., Kong, Y., Yang, G., Jiang L.P., Li Q.J., Zhong, L.-F. (2007). Curcumin induces apoptosis through mitochondrial hyperpolarization and mtDNA damage in human hepatoma G2 cells. *Free Radical Biology and Medicine,* 43(6), 968-975.

Chang, F., Lee, J.T., Navolanic, P.M., Steelman, L.S., Shelton, J.G., Blalock, W.L., Franklin R.A., McCubrey, J.A. (2003). Involvement of PI3K/Akt pathway in cell cycle progression, apoptosis and neopllastic transformation: a target for cancer chemotherapy. *Molecular Targets for Therapy (MTT),* 17, 590-603.

Chang, K., Hung, P., Lin, I., Hou, C., Chen, L., Tsai, Y. and Lin, S. (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.

Chang, Y., Lin, I., Yeh, K. and Chang, J. (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.

Chattopadhyay, I., Biswas, K., Bandyopadhyay, U. and Banerjee, R. (2004). Turmeric and curcumin: Biological actions. *Reviev Artıcles,* 44-53.

Chendil, D., Ranga, R. S., Meigooni, D., Sathishkumar, S. and Ahmed, M. M. (2004). Curcumin confers radiosensitizing effect in prostate cancer cell line. *Oncogene,* 23, 1599-1607.

Constantinescu, S. N., Girardot, M. and Pecquet, C. (2008). Mining for JAK–STAT mutations in cancer. *Trends in Biochemical Sciences,* 33(3), 122-131.

Cooper , G. (2001). *The Cell: A Molecular Approach Second Edition.* Boston: Yale J Biol.

Cragg, G. and Newman, D. (2005, August 22). Plants as a source of anti-cancer agents. *Journal of Ethnopharmacology,* 100(1-2), 72-79.

Delikanlı Akbay, G., ve Pekcan, G. (2016). Zerdeçal: Beslenme ve Sağlık Yönünden Değerlendirilmesi. *Beslenme ve Diyet Dergisi,* 44(1), 68-72.

Doğan, A., ve Güç, D. (2004). Sinyal iletimi mekanizmaları ve kanser. *Hacettepe Tıp Dergisi,* 35(1), 34-42.

Doğan, B. (2018). *Over Kanserinin Erken Tanısı İçin Aday MİRNA'lardan Biyomarkır Seçimi ,* Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

Ekmekçi, A., Konaç, E., ve Önen, H. (2008). Gen Polimorfizmi ve Kansere Yatkınlık. *Marmara Medical Journal,* 21(3), 282-295.

Esserman, L. J., Thompson, I. M., & Reid, B. (2013). Overdiagnosis and overtreatment in cancer: an opportunity for improvement. *Jama, 310*(8), 797-798.

Fang, X., Zhou, X. and Wang, X. (2013, Kasım). Clinical development of phosphatidylinositol3-kinase inhibitors for non-Hodgkin lymphoma. *Bıomarker Research,* 1 (1), 2-7.

Gafner, S., Lee, S.K., Cuendet, M., Barthelemy, S., Vergnes, L., Labidalle, S., Mehta R.G., Boone C.W., Pezzuto, J. M. (2004). Biologic evaluation of curcumin and structural derivatives in cancer chemoprevention model systems. *Phytochemistry,* 65(21), 2849-2859.

Goel, A., and Aggarwal, B. (2010). Curcumin, the Golden Spice From Indian Saffron, Is a Chemosensitizer and Radiosensitizer for Tumors and Chemoprotector and Radioprotector for Normal Organs. *Nutrition and Cancer,* 62(7), 919-930.

Gupta, S. C., Patchva, S., and Agarwall, B. B. (2013). Therapeutic Roles of Curcumin: Lessons Learned from Clinical Trials. *The American Association of Pharmaceutical Scientists Journal,* 15(1), 195-218.

Gülle, K., Pala, İ., Akpolat, M., ve Bakkal, B. (2018). İyonize Radyasyona Maruz Kalan Sıçan Ovaryumunda PARP-1 Ekspresyonu ve Follikülogenez Üzerine Curcuminin Koruyucu Etkisi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi,* 9(2), 102-111.

Günel, T. (2018). *Over Kanserinin Erken Tanısı İçin Aday MiRNA'lardan Biyomarkır Seçimi,* Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

Güneydaş, G. (2017). *Farklı Tipteki Meme Kanserlerinin Hücre Kinetiği Üzerine Kurkuminin Etkisi.* Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

Hakim, A., Barry, C., Barnes, H., Anderson, K., Petitte, J., Whitaker, R., Lancaster J.M., Wenham R.M., Carver D.K., Turbov J., Berchuck A., Kopelovich 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 (Phila Pa),* 2(2), 114-21.

Hanahan, D., and Weinberg, R. (2000, Ocak 7). The Hallmarks of Cancer. *Cell,* 100(1), 57-70.

İnan, S. (2016). Kanser Metastazında Sinyal Yolakları. *Türkiye Klinikleri Radyasyon Onkolojisi-Özel Konular,* 2(1), 14-30.

İnternet: *U.S. National Library of Medicine*. URL: https://ghr.nlm.nih.gov/gene/HRAS Son Erişim Tarihi: 4.04.2019.

İnternet: *Grup Florence Nıghtıngale Hastaneleri.* URL: https://www.florence.com.tr Son Erişim Tarihi: 27.03.2019

İnternet: *U.S. National Library of Medicine.* URL: https://ghr.nlm.nih.gov/gene/HRAS Son Erişim Tarihi: 5.05.2019

İnternet: *Doç. Dr. Taylan Sezer Web Sitesi.* URL: http://www.taylansezer.com.tr/?page_id=422 Son Erişim Tarihi: 5.01.2019

İnternet: *zerdecal.org* URL: http://www.zerdecal.org/curcumin-etki-alanlari.php Son Erişim Tarihi: 17.02.2019

İnternet: *hayatisaglik.com* URL: https://www.hayatisaglik.com/2016/10/kanser-nedir.html Son Erişim Tarihi: 1.01.2019

İnternet: *jmg.bmj.com* URL: https://jmg.bmj.com/content/45/11/695/F1 Son Erişim Tarihi: 10.02.2019

İnternet: *Natıonal Cancer Instıtute* URL: www.cancer.gov/about-cancer/understanding/what-is-cancer Son Erişim Tarihi: 26.03.2019

İnternet: slideserve.com URL: https://www.slideserve.com/alexa/akci-er-kanserinin-molek-ler-temeli Son Erişim Tarihi: 10.02.2019

İnternet: *Beslenme Desteği* URL: https://www.beslenmedestegi.com Son Erişim Tarihi: 3.02.2019

İnternet: *Beslenme Desteği* URL: https://www.beslenmedestegi.com Son Erişim Tarihi: 24.03.2019

İnternet: *zehrabora.com* URL: https://www.zehrabora.com/blog/zerdecal-ve-aktif-maddesi-kurkumin.html Son Erişim Tarihi: 13.02.2019

İnternet: *labakademi.com* URL: https://labakademi.com/dna-dizi-analizinde-geleneksel-yontemler Son Erişim Tarihi: 21.02.2019

İnternet: *docplayer.biz.tr* URL: https://docplayer.biz.tr/14540188-.html Son Erişim Tarihi: 22.02.2019

İnternet: *Hakan Özkul* URL: https://hakanozkul.net/over-yumurtalik-kanseri Son Erişim Tarihi:27.03.2019

İnternet: *HSGM Anasayfa*. (2017). Mart 28, 2019 tarihinde HSGM Anasayfa Web sitesi: https://hsgm.saglik.gov.tr adresinden alındı

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

Kabadayı, G. (2016). *Epitelyal Seröz Over Kanserlerinde Lim Kinazı 1 ve Mezotelin İmmunhistokimyasal Ekspresyonunun Prognostik Önemi ,* Uzmanlık Tezi, T.C. İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Atatürk Eğitim Araştırma Hastanesi, İzmir.

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

Karp, J.E., Lancet, J.E., Kaufmann, S.H., End, D.W., Wright, J.J., Bol, K., Horak I., Tidwell M.L., Liesveld J., Kottke T.J., Ange D., Buddharaju L., Gojo I., Highsmith W.E., Hohl R.J., Rybak M.E., Thibault A., Rosenblatt, J. (2001). Clinical and biologic activity of the farnesyltransferase inhibitor R115777in adults with refractory and relapsed acute leukemias: a phase 1 clinical-laboratory correlative trial. *Blood,* 97(11), 3361-3369.

Kav, S., Hanoğlu, Z., and Algıer, L. (2008). Türkiyede Kanserli Hastalarda Tamamlayıcı ve Alternatif Tedavi Yöntemlerinin Kullanımı: Literatür Taraması. *Uluslararası Hematoloji Onkoloji Dergisi,* 18(1), 32-38.

Kıran, F., ve Osmanağaoğlu, Ö. (2011). Laktik Asit Bakterilerinin (LAB) İdentifikasyonunda/Tiplendirmesinde Kullanılan Moleküler Yöntemler. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi,* 27(1), 62-74.

Kırat, S. (2018). *Epitelyal Over Kanserinde Hematolojik Parametrelerin Klinikopatolojik Parametreler, Yaşam Süresi ve Platin Direnci ile İlişkisi*, Uzmanlık Tezi, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi , Mersin.

Killian, P.H., Kronski, E., Michalik, K.M., Barbieri, O., Astigiano, S., Sommerhoff, C.P., Pfeffer U., Nerlich A.G., Bachmeier, B.E. (2012). Curcumin inhibits prostate cancer metastasis in vivo by targeting the inflammatory cytokines CXCL1 ande -2. *Carcinogenesis Integrative Cancer Research*, 33(12), 2507-2519.

Kim, E., and Choi, E. (2010). Pathological roles of MAPK signaling pathways in human diseases. *Biochimica et Biophysica Acta,* 1802(4), 396-405.

Kim, J., Patel, M., Ruzevick, J., Jackson, C., and Lim, M. (2014). STAT3 Activation in Glioblastoma: Biochemical and Therapeutic Implications. *Cancers*, 6(1), 376-395.

Kolören, Z., Çil, E., Ayaz, E., ve Karaman, Ü. (2017). RFLP Yönteminin Parazitolojide Uygulama Alanları. *Ordu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi,* 7(2), 215-225.

Kotan, L. (2010). Silika Metodu ile Kemikten DNA , Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Adana.

Koygun, G. *Meme Kanseri Kök Hücre (Benzeri) Kültürlerde Kanser İlaçlarının Etkinliğinin Moleküler Mekanizmalarının Açıklanması* , Yüksek Lisans Tez, Fen Bilimleri EnstitüsÜ, Konya, 1-70 (2015). Konya, Türkiye.

Kriegsheim, A. v., Pitt, A., Grindlay, G., Kolch, W., and Dhillon, A. (2006). Regulation of the Raf–MEK–ERK pathway by protein phosphatase 5. *Nature Cell Biology,* 8, 1011-1016.

Kumar, S. S., Surianarayanan, M., Vijayaraghavan, R., Mandal, A. B., and MacFarlane, D. (2014). Curcumin loaded poly(2-hydroxyethyl methacrylate) nanoparticles from gelled ionic liquid – In vitro cytotoxicity and anti-cancer activity in SKOV-3 cells. *European Journal of Pharmaceutical Sciences,* 51, 34-44.

Küçükkaya, B., ve Afrasyap, L. (2012). Mitojenle Etkileşen Protein Kinazların Heterotrimerik G Proteinleri ile Düzenlenmesi. *Türk Biyokimya Dergisi,* 37(2), 218-228.

Lai, S., Chien, A., and Moon, R. (2009). Wnt/Fz signaling and the cytoskeleton: potential roles in. *Cell Research,* 19, 532-545.

Liu, T.Y., Tan, Z.J., Jiang, L., Gu, J.F., Wu, X.S., Cao, Y., Li M.L., Wu K.J., Liu, Y.B. (2013). Curcumin induces apoptosis in gallbladder carcinoma cell line GBC-SD cells. *Cancer Cell International,* 13(64), 1-9.

Lopez - Lazaro, M. (2008). Anticancer and carcinogenic properties. *Molecular Nutrition & Food Research,* 52(1), 103-127.

Miquel, J., Bernd, A., Sempere, J., Diaz-Alperi, J., and Ramiez, A. (2002). The curcuma antioxidants: pharmacological effects and prospects for future clinical use. A review. *Archives of Gerontology and Geriatrics,* 34(1), 37-46.

Nakamura, K., Sawada, K., Yoshimura, A., Kinose, Y., Nakatsuka, E., and Kimura, T. (2016). Clinical relevance of circulating cell-free microRNAs in ovarian cancer. *Molecular Cancer* 17(64), 1-10.

Nakamura, K., Yasunaga, Y., Segawa, T., Ko, D., Moul, J., Srivastava, S., and Rhim, J. (2002). Curcumin down-regulates AR gene expression and activation in prostate cancer cell lines. *Journal of Oncology,* 21(4), 825-830.

Network., R. T. (2011). Integrated genomic analyses of ovarian carcinoma. *Nature, 474*, 609-615.

Okutucu, B., ve Pehlivan, S. (2003). Revers-Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR) ve Uygulama Alanları. *Arşiv,* 12, 138-148.

Osaki, M., Oshimura, M., and Ito, H. (2004). PI3K-Akt pathway: Its functions and alterations in human cancer. *Apoptosis,* 9(6), 667-676.

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

Önal, Y. (2015). *İleri Evre Over Kanserlerinde Prognostik Verilerin Karşılaştırılması*, Uzmanlık Tezi, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Edirne.

Park, W., Amin, A., Chen, Z., and Shin, D. (2013, Mart). New Perspectives of Curcumin in Cancer Prevention. *American Association for Cancer Research,* 6(5), 387-400.

Pazarbaşı, A., ve Kasap, M. (2003). Kanser Genetiği. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi,* 12(4), 328-340.

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

Pınar, G., Algıer, L., Doğan, N., ve Kaya, N. (2008). Jinekolojik Kanserli Bireylerde Risk Faktörlerinin Belirlenmesi. *Uluslararası Hematoloji-Onkoloji Dergisi*, 18(4), 208-216.

Rowe, D., Ozbay, T., O'Regan, R., and 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.

Sağgöz, H., ve Ketani, A. M. (2008). Kök Hücreler. (H. Sağgöz, & M. A. Ketani, Dü) *Dicle Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 29-33.

Sahu, R., Batra, S., and Srivastava, S. (2009). Activation of ATM/Chk1 by curcumin causes cell cycle arrest and apoptosis in human pancreatic cancer cells. *British Joournal of Cancer*, 100(9), 1425-1433.

Seger, R., and Krebs, E. (1995). The MAPK signaling cascade. *The Fabs Journal*, 9(9), 726-735.

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

Sevimli, M., ve Semerci Sevimli, T. (2016). Embriyonik Kök Hücrelerde Wnt Sinyal Yolağı. *Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 30(1), 45-54.

Shi, M., Cai, Q., Yao, L., Mao, Y., Ming, Y., and Ouyang, G. (2013). Antiproliferation and apoptosis induced by curcumin in human ovarian cancer cells. *Cell Biology International*, 30(3), 197-294.

Subash, G., Patchva, S., and Agarwall, B. (2013). Therapeutic Roles of Curcumin: Lessons Learned from Clinical Trials. *The American Association of Pharmaceutical Scientist Journal*, 15(1), 195-218.

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

Tanır, H., ve Demirezen, Ş. (2009). Wnt Sinyal Yolunun Biyolojisi ve Bu Yolda Görev Alan Biyomoleküller. *Turkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 29(5), 1292-1297.

Taşkıran, E., Akar, H., ve Erbaş, O. (2017). Tümöral anjiogenezi engelleyen doğal sağlık ürünleri. *FNG & Bilim Tıp Transplantasyon Dergisi*, 2(1), 1-6.

Telkoparan, P., ve Tazebay, U. (2011). Ras Protein Ailesi: Hücresel İşlevi, Moleküler Kontrolü, Onkogenezdeki Rolü. *Türk Biyokimya Dergisi,* 36(4), 367-373.

Terlikowska, K., Witkowska, A., Zujko, M., Dobrzycka, B., and Terlikowski, S. (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.

The Cancer Genome Atlas Research Network. Integrated genomic analyses of ovarian carcinoma. Nature 2011; 474:609-615.

Toptaş, B., ve Alagöz, Z. (2016). Kurkumin ve Analoglarının Antikanserojen Etkileri. *Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi,* 40(2), 58-82.

Tsai, M., Weng, S., Kuo, Y., Chiu, Y., and Lin, Y. (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.

Tural, Ş., Tekcan, A., Elbistan, M., ve Kara, N. (2013). Tiroit kanser genetiği. *Deneysel ve Klinik Tıp Dergisi,* 30(1), 55-62.

Uçkan, H. (2017). *Epitelyal Over Kanserinde Neoadjuvan Kemoterapinin Tümör Yayılımı Üzerine Etkisi*, Uzmanlık Tezi, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Ankara, 1-47 (2017).

Unlu, A., Nayir, E., Kalenderoglu, M., Kirca, O., ve Özdoğan, M. (2016). *Curcumin (Turmeric) and cancer.* Antalya: Rewiev.

Ushida, J., Sugie, S., Kawabata, K., Pham, Q. V., Tanaka, T., Fujii, K., Takeuchi H., Ito Y., Mori, H. (2000). Chemopreventive Effect of Curcumin on N-Nitrosomethylbenzylamine-induced Esophageal Carcinogenesis in Rats. *Cancer Science,* 91(9), 893-898.

Vahid, F., Zend, H., Nosrat-Mirshekarlou, E., Najati, R., ve Hekmatdoost, A. (2015). The role diatery of bioactive compounds on the regulation of histone acetylases and deacrtylases: a review. *Gene,* 562(1), 8-15.

Weir, N., Selvendiran, K., Kutala, V., Tong, L., Vishwanath, S., Rajaram, M., Tridandapani S., Anant S., Kuppusamy, P. (2007). Curcumin induces G2/M arrest and apoptosis in cisplatin-resistant human ovarian cancer cells by modulating Akt and p38 MAPK. *National Institutes of Health,* 6(2), 178-184.

Yalçın, A., Yılmaz, A., Altundağ, E., ve Koçtürk, S. (2017). Kurkumin, Kuersetin ve Çay Kateşinlerinin Anti-Kanser Etkileri. *Marmara Pharmaceutical Journal, 21*(1), 19-29.

Yallapu, M. M., Maher, D. M., Sundram, V., Bell, M. C., Jaggi, M., and 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(11), 2-12.

Yetimalar, M., Köksal, A., Çiftçi, M., Çukurova, K., İnceoğlu, M., ve Keklik, A. (2007). Over Kanserlerinin Epidemiyolojik Faktörler Açısından İncelenmesi. *Türk Jinekolojik Onkoloji Dergisi*, 10(3), 72-82.

Yılmaz, S. (2017). *Endometrioid Over Kanserinin Prognozu ile Berrak Hücreli Over Kanserinin Prognozunun Karşılaştırılması*, Uzmanlık Tezi, Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ankara Zekai Tahir Burak Kadın Sağlığı Sağlık Uygulama Araştırma Merkezi, Ankara.

Yokuş, B., ve Çakır, D. (2012). Kanser Biyokimyası. *Dicle Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi,* 1(22), 7-18.

Zhang, C., Li, B., Zhang, X., Hazarika, P., Aggarwal, B., and Duvic, M. (2010). Curcumin selectively induces apoptosis in cutaneous T-cell lymphoma cell lines and patients' PBMCs: potential role for STAT-3 and NF-kappaB signaling. *Journal of Investıgatıve Dermatology,* 130(8), 2110-2119.

Zhang, Y., Xue, Y., Li, H., Qui, D., Wang, Z., and Tan, S. (2017). nhibition of Cell Survival by Curcumin Is Associated with Downregulation of Cell Division Cycle 20 (Cdc20) in Pancreatic Cancer Cells. *Nutrients,* 9(2), 1-15.

Zheng, L., Tong, Q., and Wu, C. (2002). Inhibitory effects of curcumin on apoptosis of human ovary cancer cell line A2780 and its molecular mechanism. *Europe PMC*, 21(12), 1296-1300.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı	: DİNÇ, Kübra
Uyruğu	: T.C.
Doğum tarihi ve yeri	: 22.06.1990, Çankaya
Medeni hali	: Evli
Telefon	: 0 (535) 029 69 18
e-mail	: kubra.coker0@gmail.com



Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	Gazi Üniversitesi / Biyoloji Bölümü	Devam ediyor
Lisans	İstanbul Üniversitesi / Açık Öğretim Fakültesi Çocuk Gelişimi Bölümü	Devam ediyor
Ön Lisans	Anadolu Üniversitesi / Hukuk Bölümü	2015
Lisans	Gaziosmanpaşa Üniversitesi / Biyoloji	2013
Lise	Yunus Emre Lisesi	2007

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2015-Halen	Sağlık Bakanlığı	Danışman

Yabancı Dil

İngilizce

Hobiler

Yüzme, Kitap okumak, Seyahat etmek



GAZİ GELECEKTİR…