

T.C.
BURDUR MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

OVARYUM KANSERİ HÜCRELERİNDE
TARANTULA CUBENSIS ZEHRİNİN ANTI-
PROLİFERATİF ETKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI

ŞERMIN ARAT

Danışman: Doç. Dr. DİLARA AKÇORA YILDIZ

BURDUR, 2024

ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Eğitim Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “**Ovaryum Kanseri Hücrelerinde *Tarantula cubensis* Zehrinin Anti-Proliferatif Etkisinin Araştırılması**” başlıklı bu tezin;

- Kendi çalışmam olduğunu,
- Sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi,
- Bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi,
- Kullandığım verilerde değişiklik yapmadığımı,
- Tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını,
- Bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı,
- Bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı,

bildirir, aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

19/04 /2024

(İmza)

Şermin ARAT

ÖNSÖZ

Bu araştırma için beni yönlendiren, karşılaştığım zorlukları bilgi ve tecrübesi ile aşmamda yardımcı olan değerli Danışman Hocam Doç. Dr. Dilara AKÇORA YILDIZ'a teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar çalışmalarında yardımlarını esirgemeyen Öğr.Gör. Orhan YAVUZ' a Araştırmalarım sırasında yardımlarını gördüğüm laboratuvar arkadaşım İsmihan

ŞAHİN'e

0819-YL-22 No'lu proje ile Tezimi maddi olarak destekleyen Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne teşekkür ederim.

Ve beni her zaman destekleyen varlığını hep yanımda hissettiğim sevgili eşim Uzm.Dr. Erdem ARAT'a ve araştırmalarımda bana katkı sunan oğlum Emre ARAT ve Kızım Cemre ARAT 'a Teşekkür ederim.

04, 2024

Şermin ARAT

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	iv
ÇİZELGELER DİZİNİ	v
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	vi
ÖZET.....	vii
ABSTRACT.....	viii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Ovaryum Anatomisi ve Fizyolojisi	3
2.2. Ovaryum Kanseri ve Moleküler Temelleri	3
2.2.1. Ovaryum Kanserinin Epidemiyolojisi ve Sıklığı.....	3
2.2.2. Ovaryum Kanseri Patolojisi ve Sınıflandırması	5
2.2.3. Genetik Mutasyonlar ve Ovaryum Kanseri İlişkisi	7
2.2.4. Ovaryum Kanseri Risk Faktörleri ve Predispozisyon	9
2.2.5. Tedaviye Direnç Sorunu ve Nedenleri	10
2.2.6. Erken Tanı ve Tarama Stratejilerinin Yetersizlikleri.....	12
2.2.7. Ovaryum Kanseri Tedavisinde Yan Etkiler ve Yaşam Kalitesi	12
2.3. Ovaryum Kanseri Tedavi Yöntemleri.....	14
2.3.1. Cerrahi Müdahale ve Ovaryum Kanseri Tedavisi	14
2.3.2. Kemoterapi ve Radyoterapi Seçenekleri	14
2.3.3. İmmünoterapi ve Hedefe Yönelik Tedavi Stratejileri.....	15
2.3.4. Hormon Terapisi ve Ovaryum Kanserine Etkileri.....	17
2.4. Zehirlerin Terapötik Potansiyeli	18
2.4.1. Hayvan Zehirlerinin Tıbbi Kullanımı ve Araştırmadaki Rolü.....	18
2.4.2. Zehrin Biyolojik Aktiviteleri ve Etkileri	19
2.4.3. Zehrin Farmakokinetiği ve Farmakodinamiği	20
2.5. <i>Tarantula cubensis</i> Zehrinin Kimyasal Yapısı ve Özellikleri.....	22
2.5.1. <i>Tarantula cubensis</i> Zehri İçeriği ve Toksisitesi	22
2.5.2. Zehirlerin Klinik Denemelerdeki Başarıları ve Zorlukları	25
2.6. Apoptotik Hücre Ölümü.....	25
2.6.1. İntrinsik (İçsel) Apoptozis	28
2.6.2. Ekstrinsik (Dışsal) Apoptozis	29
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	32
3.1. Cihazlar	32
3.2. Kimyasallar ve Kitler	32
3.3. Hücre Kültürü	33
3.4. Hücre Canlılığının MTT Yöntemi ile Belirlenmesi	33
3.5. Total RNA İzolasyonu	34
3.6. cDNA Sentezi	34
3.7. Eş-Zamanlı Kantitatif PCR (qPCR)	35
3.8. İstatiksel Analiz	35
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	36
4.1. THR ile 24 saat Muamele Edilen SKOV-3 Hücrelerinde Hücre Canlılığı	36
4.2. THR ile 48 saat Muamele Edilen SKOV-3 Hücrelerinde <i>BAX</i> ve <i>BCL-2</i> mRNA	

Seviyeleri Üzerine Etkisi	38
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	40
KAYNAKLAR	42



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. 1. <i>Tarantula cubensis</i> 'in fotoğraflık görüntüsü (Anonim 2020)	2
Şekil 2.1. Normal over ve kanserli overin diyagram (Reid vd., 2017).....	4
Şekil 2.2. Over kanserinin patogeneze yolları, bu hastalığın gelişimiyle ilgili baskın teorileri özetleyen bir şematik temsili içerir (Hirst vd., 2008)	6
Şekil 2.3. Over Kanserini Etkileyen Genetik Faktörler (Hirst vd., 2008)	8
Şekil 2.4. <i>Tarantula cubensis</i> ekstrakt (TCE)'nin apoptotik yollar üzere çalışması (Tosun vd., 2021)	23
Şekil 2.5. Apoptotik Hücre Ölümü Aşamaları Diyagramı (https://www.genome.gov/genetics-glossary/apoptosis)	26
Şekil 2.6. Apoptotik yolun evrimsel korunumu (Lawen, 2003)	27
Şekil 2.7. Ekstrinsik (Dışsal) ve İntrinsik (içsel yola) Apoptozis yol diagram (Ashkenazi vd., 1999)	30
Şekil 4.1. Skov-3 hücrelerinde 24 saat THR muamelesi sonrası hücre canlılığı	35
Şekil 4.2. Skov-3 hücrelerinde 48 saat THR muamelesi sonrası hücre canlılığı	36
Şekil 4.3. Skov-3 hücrelerinde 72 saat THR muamelesi sonrası hücre canlılığı	36
Şekil 4.4. THR ile 48 saat muamele edilen SKOV-3 hücrelerinde <i>BAX</i> mRNA seviyesi	37
Şekil 4.5. THR ile 48 saat muamele edilen SKOV-3 hücrelerinde <i>BCL-2</i> mRNA seviyesi	38

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. cDNA PCR mix bileşenleri (µL) 1 örnek için	33
Çizelge 3.2. BioRad iScript PCR basamakları	34



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

BRCA1	: Meme Kanseri 1
BRCA2	: Meme Kanseri2
CA-125	: Kanser Antijeni 125
CAR-T	: Kimerik Antijen Reseptörü
CCC	: Berrak Hücreli Karsinom
DED	: Ölüm Aktive Edici Alanı (Death-inducing domain)
DISC	: Ölüm Aktive Edici Sinyal Kompleksi (Death-inducing signal complex)
EC	: Endometrioid Karsinom
EOC	: Epitelyal Ovaryum Kanseri
HGSC	: Yüksek Dereceli Seröz Karsinom
HNPPC	: Herediter Polipozis Dışı Kolorektal Kanseri
HRT	: Östrojen Replasman Tedavisi
HIPEC	: İntraperitoneal Kemoterapi
HEK293	: İnsan Embriyonik Böbrek Kanseri hücre dizisi
HN5	: İnsan Baş ve Boyun Kanseri hücre dizisi
LGSC	: Düşük Dereceli Seröz Karsinoma
MCF7	: İnsan Baş ve Boyunkanseri hücre hattı
OC	: Ovaryum Kanseri
P53	: Tümör baskılayıcı gen
Pb1	: Tümör baskılayıcı gen
PTEN	: Protein Trozin Fosfataz ve Tensin homologu
PARP	: Poli (ADP-riboz) Polimeraz
SKOV-3	: İnsan Ovaryum hücre hattı
TCAE	: <i>Tarantula cubensis</i> örümceğinin alkollü ekstratı
THR	: Theranekron
TNF	: Tümör Nekroz Faktörü

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

Ovaryum Kanseri Hücrelerinde *Tarantula cubensis* Zehrinin Anti-Proliferatif Etkisinin Araştırılması

Şermin ARAT

Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. DİLARA AKÇORA YILDIZ

Nisan, 2024

Yumurtalık (ovaryum) kanseri dünya çapında ileri evrede teşhis edilmesi nedeniyle ölüm oranı yüksek jinekolojik kanserlerden biri olup, kemoterapi direnci oluşması nedeniyle de yüksek nüks oranına sahiptir. Bu nedenle, tedavide kullanılan ilaçlara ilaveten yeni terapötik yaklaşımların araştırılmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Bu çalışma, *Tarantula cubensis* zehrinin yumurtalık kanseri için anti-proliferatif bir ajan olarak kullanılabilme potansiyelinin araştırılmasını içermektedir. Theranekron (THR), ticari olarak temin edilebilen *Tarantula clabensis*'in alkollü ekstraktıdır ve veteriner hekimlikte homeopatik ilaç olarak laminit, ayak çürüklüğü, artrit, apseler gibi çok sayıda hayvan hastalığının tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. THR'un çeşitli kanser türlerinde antikanser etkiler sergilediği de bilinmektedir. Bu tez çalışmasında, ovaryum kanseri hücre hattı olan Skov-3'de THR'un antiproliferatif etkinliği MTT yöntemi ile analiz edilmiştir. THR, Skov-3 hücrelerinde 24 ve 48 saat boyunca hücre canlılığını en yüksek dozda yaklaşık %40 azaltırken; 72 saat boyunca THR ile muamele edilen Skov-3 hücrelerinde herhangi bir sitotoksikite gözlemlenmemiştir. İlaveten, 48 saat süre boyunca THR ile muamele edilen Skov-3 hücrelerinde Bax ve Bcl-2 genlerinin mRNA ekspresyon seviyeleri kantitatif eş zamanlı PCR analiziyle araştırılmıştır. Skov-3-hücrelerinde THR muamelesi Bax ifadesinde bir değişikliğe yol açmazken, Bcl-2 ifade seviyesinde ise azalmaya doğru bir eğilime neden olmuştur. Sonuç olarak, bu tez çalışmasında elde edilen veriler THR'un Skov-3 hücrelerinde anti-proliferatif bir etki gösterebileceğine işaret etmekte olup, THR'un etki mekanizmasını daha ayrıntılı araştırarak ve tedavide kullanılan anti-kanser ajanlar ile THR'u kombine uygulayan çalışmaların yapılmasının önemini vurgulamaktadır.

Anahtar Kelimeler: *Tarantula cubensis*, theranekron, ovaryum kanseri, skov-3, mtt, bcl-2

Hazırlanan bu Yüksek Lisans tezi Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 0819-YL-22 proje numarası ile desteklenmiştir.

ABSTRACT

Master's Thesis

Investigation of the Anti-Proliferative Effect of *Tarantula cubensis* Venom on Ovarian Cancer Cells

Şermin ARAT

Burdur Mehmet Akif Ersoy University Institute of Science and Technology Department of Biology

Advisor: Assoc. Prof. Dr. DİLARA AKÇORA YILDIZ

April, 2024

Ovarian cancer is one of the gynaecological cancers with a high mortality rate worldwide because it is diagnosed at an advanced stage and has a high rate of recurrence due to its resistance to chemotherapy. Therefore, in addition to the drugs used in treatment, there is a need to explore new therapeutic approaches. This study investigates the potential use of *Tarantula cubensis* venom as an antiproliferative agent in ovarian cancer. Theranekron (THR) is a commercially available alcoholic extract of *Tarantula clabensis* and is widely used in veterinary medicine as a homeopathic remedy for the treatment of a variety of animal diseases such as laminitis, foot rot, arthritis and abscesses. THR is also known to have anti-cancer properties in several types of cancer. In this study, the anti-pyloric activity of THR in skov-3, an ovarian cancer cell line, was analysed using the MTT method. THR reduced cell viability in skov-3 cells by approximately 40% at the highest dose for 24 and 48 hours. However, no cytotoxicity was observed in skov-3 cells treated with THR for 72 hours. In addition, the mRNA expression levels of Bax and Bcl-2 genes in SKOV-3 cells treated with THR for 48 hours were investigated by quantitative simultaneous PCR analysis. While THR treatment did not alter Bax expression in skov-3 cells, it tended to decrease Bcl-2 expression levels. In conclusion, the data obtained in this study suggest that THR may have an anti-proliferative effect on skov-3 cells and it is important to conduct studies investigating the mechanism of action of THR and to use THR in combination with anticancer agents in treatment.

Key Words: *Tarantula cubensis* venom, ovarian cancer, skov-3, cytotoxic, mtt, bax

This Master's thesis was supported by Burdur Mehmet Akif Ersoy University Scientific Research Projects Coordination with the project number 0819-YL-22.

1. GİRİŞ

En ölümcül malignitelerden biri olan yumurtalık (ovaryum) kanseri, cerrahi teknikler ve kemoterapideki ilerlemelere rağmen etkili bir tedaviden yoksundur. Platin/taksan kemoterapisinin takip ettiği cerrahi, ileri ovaryum kanserinin mevcut tedavisidir, ancak hayatta kalma oranı çok düşüktür ve birçok hasta, kemorezistansın ortaya çıkması nedeniyle 18 ay içinde nüksetmektedir (Konstantinopoulos ve Matulonis, 2023). Bu nedenle, tedavi sonuçlarını iyileştirmek için yeni terapötik yaklaşımlar zorunludur.

Bu yaklaşımlardan ilgi çekici bir tanesi ise çeşitli hayvan türlerinden elde edilen zehirlerde bulunan biyoaktif bileşiklerin olağanüstü çeşitliliğinden yararlanmayı içerir. Zehirli canlılar, avlarını etkisiz hale getirmek veya avcılarını caydırmak için tasarlanmış karmaşık bir dizi toksin geliştirmiştir. Çoğunlukla Karayipler'de bulunan bir tarantula türü olan *Tarantula cubensis*, geçmişte av üzerindeki nörotoksik ve paralitik etkileri nedeniyle incelenmiş olan güçlü zehiriyle bilinir (Mann, 2000).

Yapılan çalışmalar, Şekil 1.1'de verilmiş *Tarantula cubensis* zehrinin ovaryum kanseri için anti-proliferatif bir ajan olarak var olabilecek potansiyelinin kapsamlı bir araştırmasını kapsamaktadır. Zehir bazlı tedaviler bir süredir ilgi çeken bir konu olsa da odak noktası ağırlıklı olarak yılan ve koni salyangozu zehirleri üzerinde yoğunlaşmıştır. Kanser terapötikleri alanında büyük ölçüde keşfedilmemiş bir kaynak olan *Tarantula cubensis* zehiri, araştırma ve keşif için eşsiz bir fırsat sunmaktadır (Ghasemi-Dizgah vd., 2017).

Zehrin biyoaktif bileşenleri, özellikle de peptit toksinleri, sağlıklı dokuları korurken kanser hücrelerini seçici olarak hedeflemeye önemli bir umut vaat etmektedir. Yılanlar ve koni salyangozları gibi çeşitli türlerin zehirlerinin dikkate değer anti-kanser özellikleri sergilediğini öne süren artan bilimsel kanıtlar ışığında, yeni zehir bazlı terapötikler ele alınmaktadır. Bu arka plan, potansiyel anti-proliferatif ajanların yeni bir kaynağı olarak *Tarantula cubensis* zehrini araştırmamız için kritik bir bağlam görevi görecektir (Pulat, 2021).



Şekil. 1.1. *Tarantula cubensis*'in fotoğrafik görüntüsü (Anonim 2020)

Ayrıca bu tezde ovaryum kanseriyle mücadelede yenilikçi ve hedefe yönelik yaklaşımlara duyulan ihtiyaç vurgulanarak bu çalışmanın amaçları ve önemi ortaya koyulacaktır. Bunun yanında, zehirin anti-proliferatif etkilerinin altında yatan moleküler mekanizmaları, yeni terapötik bileşiklerin kaynağı olarak potansiyelini ve ovaryum kanserine karşı savaşta *Tarantula cubensis* zehirinden yararlanmanın klinik öncesi ve klinik etkilerini araştırarak olan sonraki çalışmalar için bir yol haritası ortaya koyulacaktır. Özet olarak bu tez, *Tarantula cubensis* zehrinin ovaryum kanseri için anti-proliferatif bir ajan olarak kullanılma potansiyelinin araştırılmasını kapsamaktadır. Bu araştırma sayesinde ovaryum kanseri için daha etkili ve hedefe yönelik tedavilere yol açabilecek gelişen literatüre katkıda bulunulması amaçlanmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Ovaryum Anatomisi ve Fizyolojisi

Kadın üreme organı olan ovaryum, pelvis minor'un yan duvarlarında, fossa ovarica'ya yerleşmiş bir çift organdır. Embriyonal dönemde böbreklerin yanında bulunurken daha sonra yavaş yavaş aşağıya inmektedir. Overler şekil ve ölçü olarak iri bir badem görünümünde grimsi pembe renkte 4 cm uzunlukta, 2 cm genişlikte ve 1 cm kalınlığında, 4-6 gr ağırlığındadırlar. Ovarium dışta cortex ovarii ve içte medulla ovarii olmak üzere iki bölüme ayrılmaktadırlar. Cortex, folliküllerin yer aldığı kısımda bulunurken medulla çok sayıda damar ve ebstik lif içermektedirler. Dünyaya yeni gelmiş bir dişide, 100-400 bin primordial follikül mevcut iken ergen bir dişide bu sayı 10-20 bine düşmektedir. Tüm ovulasyon dönemi boyunca bunları yaklaşık 400 tanesi ovum oluşturacak düzeye gelebilmektedirler. Tuba Uterina ovum'u ovariumdan uterusu naklini gerçekleştiren kanallardır. Overlerin görevleri arasında ovulasyonu gerçekleştirmek (yumurta hücresinin olgunlaşıp overlerden atılması) ve hormon ifraz etmektir. Bu hormonlar, östrojen ve progesterondur ve her iki hormonda üreme siklusunun gerçekleşmesinde önemli role sahiptirler. (<https://dergipark.org.tr/tr/download/article-file/961291>).

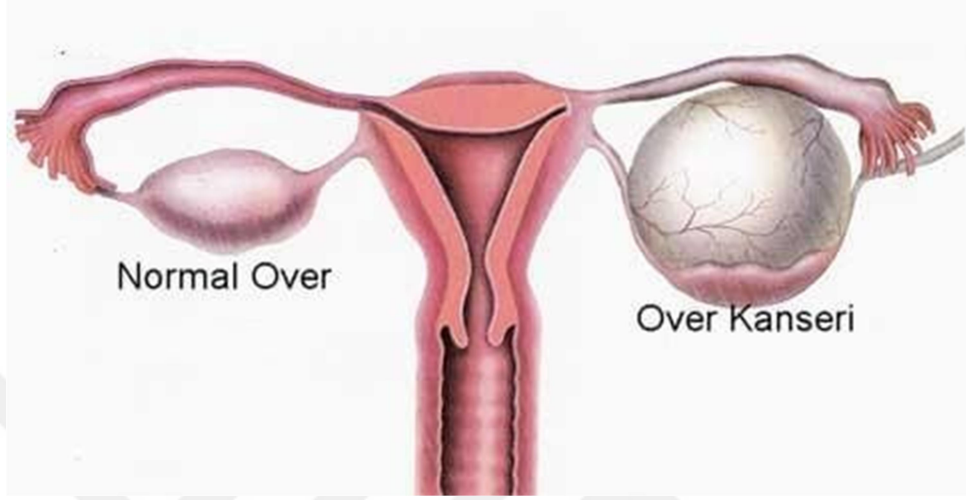
2.2. Ovaryum Kanseri ve Moleküler Temelleri

2.2.1. Ovaryum Kanserinin Epidemiyolojisi ve Sıklığı

Ovaryum kanseri, dünya çapında kadınları etkileyen önemli bir jinekolojik malignitedir. Kadınlarda temel üreme organları Şekil 2.1'de verilmiş olan ovaryumlardaki hücrelerin anormal büyümesi ile karakterizedir. Ovaryum kanserinin epidemiyolojisini ve sıklığını anlamak, halk sağlığı girişimleri, erken teşhis ve tedavi planlaması için çok önemlidir. Ovaryum kanseri diğer bazı kanser türlerine kıyasla nispeten daha az görülmekle birlikte önemli bir sağlık sorunu olmaya devam etmektedir (Lengyel, 2010). Küresel kanser istatistiklerine göre, ovaryum kanseri kadınlar arasındaki tüm kanser vakalarının yaklaşık %2,5'ini ve kansere bağlı ölümlerin %5'ini oluşturmaktadır. Görülme sıklığı dünya çapında değişiklik göstermekte olup, gelişmiş ülkelerde daha yüksek oranlar gözlenmektedir.

Örneğin Amerika Birleşik Devletleri'nde ovaryum kanseri, kadınlar arasında kansere bağlı ölümlerde beşinci sırada yer almaktadır. Yaklaşık 78 kadından

l'inin yaşamları boyunca ovaryum kanserine yakalanacağı tahmin edilmektedir. Bununla birlikte, yaşam boyu risk ırksal ve etnik gruplara göre farklılık göstermekte, Kafkas kökenli kadınlar arasında Afro-Amerikan kadınlara kıyasla daha yüksek oranlar görülmektedir (Reid vd., 2017).



Şekil. 2.1. Normal over ve kanserli overin diyagramı (Reid vd., 2017).

Ovaryum kanseri ağırlıklı olarak menopoz sonrası kadınları etkiler ve ortalama teşhis yaşı yaklaşık 63'tür. Ovaryum kanseri riski yaşla birlikte artmakla birlikte, 30'lu ve 40'lı yaşlardaki kadınlar da dahil olmak üzere her yaş grubundan kadını etkileyebilir. Ovaryum kanserinin kesin nedeni belirsizliğini korusa da çeşitli risk faktörleri tanımlanmıştır. İyi bilinen risk faktörlerinden bazıları şunlardır (Momenimovahed vd., 2019).

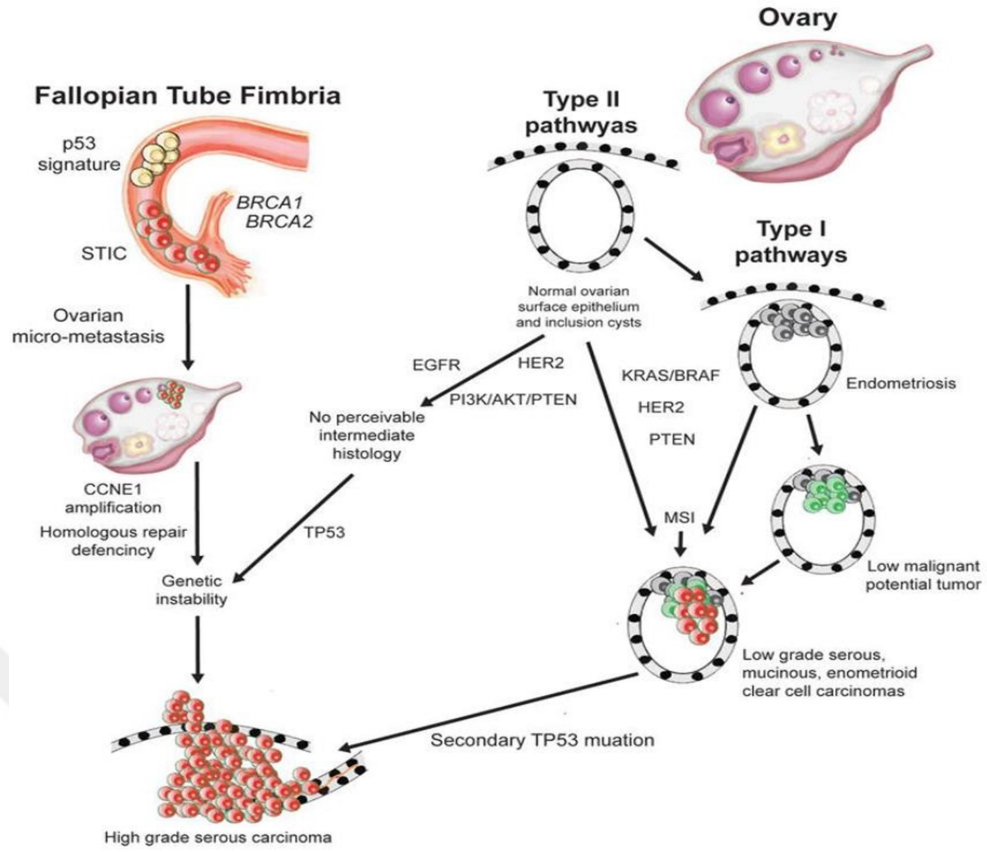
- **Aile Geçmişi:** Ailesinde ovaryum veya meme kanseri öyküsü olan kadınlar, özellikle BRCA1 veya BRCA2 gen mutasyonları olanlar, daha yüksek riske sahiptir.
- **Kişisel Geçmiş:** Meme, kolorektal veya endometriyal kanser öyküsü ovaryum kanseri riskini artırabilir.
- **Üreme Faktörleri:** Hiç hamile kalmamış veya ilk çocuklarını 35 yaşından sonra doğurmuş kadınlar biraz daha yüksek risk altındadır.
- **Hormon Replasman Tedavisi:** Özellikle progesteron içermeyen östrojen hormonu replasman tedavisinin uzun süreli kullanımı riski artırabilir.
- **Obezite:** Obezitenin daha yüksek ovaryum kanseri riski ile ilişkili olabileceğini düşündüren bazı kanıtlar vardır.

Ovaryum kanseri insidansı ve mortalite oranlarında küresel düzeyde kayda değer farklılıklar vardır. Gelişmiş ülkeler, gelişmekte olan ülkelere kıyasla daha yüksek oranlara sahip olma eğilimindedir. Bu durum, sağlık hizmetleri altyapısı, erken teşhis ve

tedaviye erişim ve yaşam tarzı faktörlerindeki farklılıklara bağlanabilir. Örneğin, bazı düşük gelirli ülkelerde, gelişmiş sağlık tesislerine ve teşhis araçlarına sınırlı erişim, ovaryum kanserinin genellikle ileri bir aşamada teşhis edildiği ve daha kötü sonuçlara yol açtığı anlamına gelir. Ayrıca genetik test ve tarama programlarındaki eşitsizlikler de erken teşhis oranlarındaki farklılıklara katkıda bulunmaktadır (Momenimovahed vd., 2019).

2.2.2. Ovaryum Kanseri Patolojisi ve Sınıflandırması

Ovaryum kanseri tek bir hastalık değil, Şekil 2.2’de olduğu gibi ovaryumlardan kaynaklanan bir grup malignitedir. Bu kanserler histolojik özellikleri ve moleküler özellikleri açısından önemli ölçüde farklılık gösterebilir. Over kanserleri, özellikle de malign epitelial tümörler (karsinomlar), jinekolojik kanserlerin en yaygın ve en ölümcül türlerini oluşturur. Bu tümörler, histopatoloji ve moleküler genetik varyasyonlara dayanarak beş temel tipe ayrılır: yüksek dereceli seröz (%70), endometrioid (%10), açık hücreli (%10), müköz (%3) ve düşük dereceli seröz karsinomlar (%5’ten az). Toplamda, bu tipler over karsinomu vakalarının %95’inden fazlasını oluşturur. Her bir tip temelde farklı bir hastalıktır ve epidemiyolojik ve genetik risk faktörleri, öncü lezyonlar, yayılma desenleri, onkojenez sırasında moleküler mekanizmalar, kemoterapiye yanıt ve prognozda önemli farklılıklar gösterir (Prat., 2012). Ovaryum kanserinin patolojisini ve sınıflandırmasını anlamak, tedavi yaklaşımlarını uyarlamak ve hasta sonuçlarını iyileştirmek için gereklidir. Ovaryum kanserleri, kanser hücrelerinin mikroskop altındaki görünümüne göre çeşitli histolojik tiplerde sınıflandırılabilir (Meinhold-Heerlein vd., 2016). Epitelyal ovaryum kanseri (EOC), germ hücreli tümörler, cinsiyet kordonu-stromal tümörler ve metastatik ovaryum kanseri histolojik tipler olarak sınıflandırılmıştır. Epitelyal Ovaryum Kanseri (EOC), kanser vakalarının yaklaşık %90’ını oluşturan en yaygın türdür. EOC ayrıca seröz, müsinöz, endometrioid ve berrak hücreli karsinomlar dahil olmak üzere alt tiplere ayrılır. Germ hücreli tümörler ovaryumlardaki yumurta üreten hücrelerden gelişir. Öncelikle genç kadınları etkilerler ve genellikle tedaviye daha duyarlıdır. Ek olarak, cinsiyet kordonu-stromal tümörler ovaryumların bağ dokusundan kaynaklanır ve hormon üretebilir. Örnekler arasında granüloza hücre tümörleri ve Sertoli-Leydig hücre tümörleri bulunmaktadır. Metastatik ovaryum kanserinde vücudun diğer bölgelerinden kaynaklanan kanserler, primer ovaryum kanserini taklit ederek ovaryumlara yayılabilir (Meinhold-Heerlein vd., 2016).



Şekil 2.2. Over kanserinin patogenez yolları, bu hastalığın gelişimiyle ilgili baskın teorileri özetleyen bir şematik temsili içerir (Hirst vd., 2008).

İleri derecede yumurtlama teorisini daha fazla araştırmak için ek hayvan modelleri önemli olacaktır. Bu bağlamda Godwin ve meslektaşları, sıçan ve insan yumurtalıklarından yumurtalık yüzey epitel hücre kültürleri kurmuş olan öncü araştırmacılar arasındaydı. Onlar, yaptıkları in vitro çalışmalarında sıçanlardaki yumurtlamayı dönüşüm mekanizmalarını ve tümör oluşumunu araştırmak için kullandılar. Ayrıca, fare yumurtalık yüzey hücrelerinde p53 ve Rb1'in inaktivasyonunun tümörejenik dönüşümü indüklediği gösterilmiştir (Roland vd., 2003, Flesken-Nikitin vd., 2003).

Son on yılda önemli bir ivme kazanan ikinci teori, yumurtalık kanseri öncüllerinin, ovaryuma metastaz öncesinde, fimbriadan gizli seröz tüp içi epitelial karsinoma (STIC) oluşumundan kaynaklandığını öne süren bir ilerleme modelini açıklar. HGS tümörlerin agresif doğası ve erken genomik instabilite varlığı göz önüne alındığında, HGS yumurtalık tümörlerinin aslında fallop tüp epitelial hücrelerinden kaynaklanan metastatik lezyonlardan türediği hipotez edilmektedir. BRCA mutasyonları taşıyan kadınlarda HGS yumurtalık kanseri riskini azaltmak için, yalnızca yumurtalıkların değil, her iki yumurtalığın ve fallop tüplerinin çıkarılmasını içeren bilateral salpingo-ooferektomi uygulaması, sadece ooferektomiye göre

önerilir (Hirst vd., 2018).

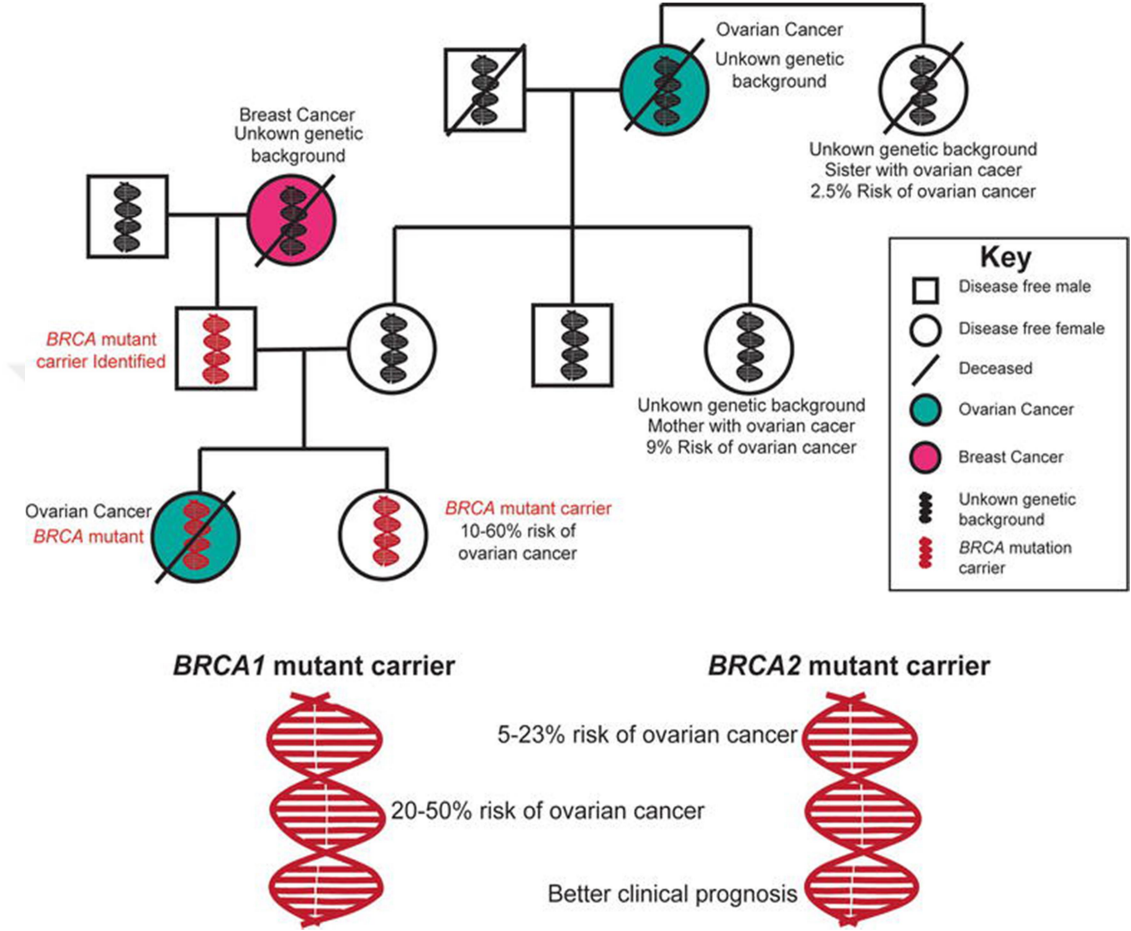
Moleküler biyolojideki gelişmeler, ovaryum kanserinin moleküler düzeyde daha iyi anlaşılmasına yol açmıştır. Moleküler sınıflandırma, kanser gelişiminde rol oynayan spesifik genetik değişikliklerin ve sinyal yollarının belirlenmesine yardımcı olarak hedefe yönelik tedaviler hakkında bilgi verebilir (Cheung vd., 2022). Ovaryum kanserinin bazı önemli moleküler alt tiplerinde yüksek dereceli seröz karsinom (HGSC) tipinde görülen TP53 mutasyonları ve DNA onarım yollarındaki kusurlar ile karakterizedir. Daha agresif olma eğilimindedir ve ovaryum kanserine bağlı ölümlerin önemli bir kısmından sorumludur. Aynı zamanda, düşük dereceli seröz karsinom (LGSC), KRAS ve BRAF genlerindeki mutasyonlar da dahil olmak üzere farklı moleküler özelliklere sahiptir. Tipik olarak HGSC'lerden daha iyi bir prognoza sahiptirler. Berrak hücreli karsinom (CCC), genellikle hücre adezyonu ve glukoz metabolizması ile ilgili genlerde değişiklikler gösterir. Bunların kemoterapiye dirençli oldukları bilinmektedir. Ek olarak, endometrioid karsinom (EC), genellikle hücre döngüsü düzenlemesi ve kromatin yeniden şekillenmesinde rol oynayan PTEN ve ARID1A gibi genlerdeki mutasyonlarla ilişkilidir. Ovaryum kanserinde BRCA1 ve BRCA2 gen mutasyonuna sahip bireyler, DNA'ya zarar veren ajanlara karşı daha hassastır ve PARP inhibitörleri gibi hedefe yönelik tedavilere iyi yanıt verebilir (Cheung vd., 2022). Ovaryum kanserinin histolojik ve moleküler alt tiplerinin anlaşılması, tedavi stratejilerinin uyarlanması için çok önemlidir. Kişiselleştirilmiş tıp yaklaşımları, hastanın tümörünün spesifik özelliklerine göre en etkili tedavileri seçmek için giderek daha fazla kullanılmaktadır.

2.2.3. Genetik Mutasyonlar ve Ovaryum Kanseri İlişkisi

Ovaryum kanseri hem genetik hem de çevresel faktörlerden etkilenen karmaşık bir hastalıktır. Genetik mutasyonlar ve ovaryum kanseri arasındaki ilişkinin anlaşılması, risk değerlendirmesi, erken teşhis ve tedavi stratejileri üzerinde önemli etkilere sahip olduğu için çok önemlidir. Ovaryum kanseri ile ilişkili en iyi bilinen genetik mutasyonlar arasında BRCA1 ve BRCA2 genlerindeki mutasyonlar yer almaktadır (Oktay vd., 2010).

Over kanseri riski, hem yaşam tarzı faktörlerinden hem de genetik etkenlerden etkilenmektedir. Kalıtsal over kanseri, tüm vakaların yaklaşık %5-15'ini oluşturur ve sıklıkla rastgele hastalıktan daha erken yaşlarda teşhis edilir. Dahası, kalıtsal over kanseri vakalarında yüksek dereceli seröz alt tip baskındır. Dolayısıyla, birinci veya ikinci dereceden bir akrabası over kanseri tanısı almış kişiler, hastalığı geliştirme riskiyle karşı karşıyadır (Şekil 2.3). Özellikle, epitelyal over kanseri (EOC) olan bir kız kardeş bildiren kadınların %2.5, daha önce tanı almış bir annesi olanların ise %9 riski vardır. Kalıtsal over kanserinin gözlemlenmesi,

1970'lerde Lynch sendromunda ortaya çıktı; bu, aile içi kanserle ilişkilendirilen DNA tamir mekanizması üzerindeki kalıtsal mutasyonlarla ilişkilidir. Sonraki çalışmalar, meme ve/veya over kanserine yatkın ailelerin genom haritalamasını içeren, BRCA1 ve daha sonra BRCA2'deki kalıtsal mutasyonların tanımlanmasına yol açmıştır (Bewtra vd., 1992, Ziogas vd., 2000).



Şekil 2.3. Over kanserini etkileyen genetik faktörler (Hirst vd., 2018).

Bu genler hasarlı DNA'nın onarılmasından ve genomik stabilitenin korunmasından sorumludur. Mutasyona uğradıklarında, ovaryum ve meme kanseri riskinin artmasına neden olabilirler. BRCA1 geninde mutasyon olan kadınların yaşam boyu ovaryum kanserine yakalanma riskinin %44 civarında olduğu tahmin edilmektedir. Bu mutasyonlar aynı zamanda artmış meme kanseri riski ile de ilişkilidir. BRCA1 ile ilişkili ovaryum kanserleri genellikle yüksek dereceli seröz karsinomlardır. BRCA2 genindeki mutasyonlar, yaşam boyu ovaryum kanseri riskinin yaklaşık %17 olmasıyla ilişkilidir. BRCA1'e benzer şekilde, BRCA2 mutasyonları da meme kanseri riskini artırır. BRCA2 ile ilişkili ovaryum kanserleri seröz veya endometrioid karsinom olma eğilimindedir (Sayasneh vd., 2011). Yeni nesil dizileme ve biyolojik istatistikler, yüksek dereceli seröz over kanserli hastaların yaklaşık %50'sinde TP53

mutasyonlarının ardından, BRCA1 ve BRCA2 gibi DNA onarım yollarındaki mutasyonların yaygın olduğunu ortaya koymuştur. Bu anlayış, poli ADP riboz polimeraz (PARP) inhibitörlerini içeren çığır açıcı bir tedavinin geliştirilmesinin yolunu açmıştır (Hirst vd., 2018).

BRCA1 ve BRCA2 en iyi bilinen genetik mutasyonlar olmakla birlikte, daha düşük prevalansla da olsa, diğer bazı genetik mutasyonlar ovaryum kanseri ile ilişkilendirilmiştir (Oktay vd., 2010). Lynch sendromu (Hereditör Polipozis Dışı Kolorektal Kanseri veya HNPCC), de MLH1, MSH2, MSH6 ve PMS2 gibi genlerdeki mutasyonların neden olduğu Lynch sendromu, ovaryum kanseri de dahil olmak üzere çeşitli kanserlerin riskini artırır. Lynch sendromundaki ovaryum kanserleri seröz olmayan alt tipler olma eğilimindedir. RAD51C ve RAD51D Mutasyonları: Bu genlerdeki mutasyonlar, özellikle yüksek dereceli seröz karsinomlar olmak üzere artmış ovaryum kanseri riski ile ilişkilidir. Ek olarak, PALB2 genindeki mutasyonlar, BRCA1 ve BRCA2'ye benzer şekilde yüksek ovaryum kanseri riskiyle ilişkilendirilmiştir. Ayrıca, TP53 Mutasyonları yaygın olarak Li-Fraumeni sendromu ile ilişkili olsa da, TP53 mutasyonları sporadik olarak da ortaya çıkabilir ve ovaryum kanseri riskini artırabilir (Oktay vd., 2010).

Ovaryum kanseri ile ilişkili genetik mutasyonların tanımlanması, erken teşhis ve tedavi stratejileri üzerinde önemli bir etkiye sahip olmuştur. Kendilerini ovaryum kanserine yatkın hale getiren genetik mutasyonları olduğu bilinen kadınlar, transvajinal ultrason ve CA-125 gibi tümör belirteçleri için kan testleri gibi proaktif taramalardan geçebilir. Erken teşhis, başarılı tedavi şansını ve daha iyi sağkalım oranlarını artırır. Ayrıca belirli genetik mutasyonların varlığı tedavi kararları hakkında bilgi verebilir. Örneğin, BRCA1 veya BRCA2 mutasyonlarına sahip ovaryum kanserleri genellikle platin bazlı kemoterapiye ve PARP inhibitörleri gibi hedefe yönelik tedavilere daha duyarlıdır. Bu hedefe yönelik tedaviler ovaryum kanseri tedavisinde devrim yaratmış ve mutasyon taşıyıcıları için daha iyi sonuçlar sunmuştur (Sayasneh vd., 2011).

2.2.4. Ovaryum Kanseri Risk Faktörleri ve Predispozisyon

Genetik yatkınlık ovaryum kanseri riskinde önemli bir rol oynar. Daha önce tartışıldığı gibi, BRCA1, BRCA2 ve diğerleri gibi belirli genlerdeki mutasyonlar ovaryum kanseri gelişme olasılığını önemli ölçüde artırabilir. Bu iyi bilinen mutasyonlara ek olarak başka genetik faktörler de mevcuttur (Hunn ve Rodriguez, 2012). Aile geçmişi, kalıtsal sendromlar, etnik köken ve hormonal faktörler de etkilidir. Ailesinde, özellikle de birinci derece akrabalarında ovaryum kanseri öyküsü olan bireylerde risk artmaktadır. Birden fazla aile üyesi etkilendiğinde bu risk daha belirgindir. Kalıtsal sendromlar, BRCA mutasyonlarının yanı sıra Lynch sendromu, Peutz-Jeghers sendromu ve Cowden sendromu gibi diğer kalıtsal kanser sendromları da

ovaryum kanseri riskini artırabilir. Ek olarak, bazı etnik gruplar da daha yüksek ovaryum kanseri oranlarına sahiptir. Örneğin, Aşkenaz Yahudisi kadınlarda BRCA mutasyonu prevalansı daha yüksektir ve bu da riskin artmasına neden olur. Ayrıca hiç hamile kalmamış veya ilk tam dönem hamileliğini 35 yaşından sonra geçirmiş kadınlar daha yüksek risk altındadır. Erken yaşta (12 yaşından önce) adet görmeye başlamak veya daha geç yaşta (52 yaşından sonra) menopoza girmek artmış risk ile ilişkilidir. Özellikle progesteron içermeyen sadece östrojen hormon replasman tedavisinin (HRT) uzun süreli kullanımı riski artırabilir (Hunn ve Rodriguez, 2012). Bunlara ilave olarak, talk pudrası, sigara içmek, diyet gibi bazı çevresel faktörler ve obezite de ovaryum kanseri riskine katkıda bulunabilir. Genital bölgede talk pudrası kullanımı ile ovaryum kanseri arasında potansiyel bir bağlantı olduğunu öne sürmüştür, ancak kanıtlar kesin değildir. Aynı zamanda, sigara içmek müsinöz ovaryum kanseri riskini biraz artırabilir, ancak genel risk nispeten düşüktür. Ek olarak, doymuş yağ oranı yüksek, meyve ve sebze oranı düşük bir diyet hafif bir risk artışı ile ilişkili olabilir. Obezite de muhtemelen aşırı vücut yağıyla ilişkili hormonal değişiklikler nedeniyle daha yüksek ovaryum kanseri riski ile ilişkilendirilmiştir (Huang vd., 2022).

Bu risk faktörlerinin anlaşılması erken teşhis ve önleme çabaları için hayati önem taşımaktadır. Genetik gibi bazı faktörler değiştirilemezken, sağlıklı bir kilonun korunması, sigaranın bırakılması ve hormon replasman tedavisinin bir sağlık hizmeti sağlayıcısıyla görüşülmesi gibi yaşam tarzı değişiklikleri ovaryum kanseri riskini azaltmaya yardımcı olabilir. Ayrıca, ailesinde ovaryum kanseri öyküsü olan veya bilinen genetik mutasyonları olan bireyler, risklerini değerlendirmek ve uygun risk azaltma stratejileri geliştirmek için genetik danışmanlık ve test yaptırmayı düşünmelidir.

2.2.5. Tedaviye Direnç Sorunu ve Nedenleri

Ovaryum kanseri, kadın üreme sistemindeki ovaryumlarda başlayan ve sıklıkla belirgin belirti vermeden ilerleyen bir kanser türüdür. Bu kanser türüne yönelik tedavi stratejileri cerrahi müdahale, kemoterapi ve radyoterapiden oluşur. Ancak, birçok hasta tedaviye yanıt verirken, bazıları direnç geliştirebilir. Ovaryum kanserinde tedaviye direnç, hem klinik hem de araştırma düzeyinde önemli bir sorundur (Çolak vd., 2022).

Ovaryum kanserinde cerrahi müdahale, tümörün çıkarılması ve evrelendirilmesi amacıyla temel bir tedavi yöntemidir. Ancak, cerrahi işlemin tam etkili olabilmesi için tüm tümör hücrelerinin temizlenmesi zorunludur (Elma ve Ertem, 2017). Kemoterapi, kanser hücrelerini öldürmek veya büyümelerini kontrol altına almak amacıyla kullanılan bir tedavi yöntemidir. Ovaryum kanseri tedavisinde yaygın olarak kullanılan platin ve paklitaksel gibi ilaçlar, hücre

bölünmesini engelleyerek etki gösterir (Ortiz vd., 2022). Radyoterapi, kanser hücrelerini yok etmek veya kontrol altına almak için yüksek enerjili ışınlar kullanma prensibine dayanır. Ovaryum kanseri tedavisinde genellikle cerrahi ve kemoterapi ile birlikte kullanılır (Afşin vd.,2022). Ovaryum kanseri tedavisindeki direnç sorunu iki aşamalı olarak değerlendirilmektedir. Bunlar;

- **İlk Aşama Direnç:** Ovaryum kanseri tedavisindeki direnç sorunu, başlangıçta tedaviye yanıt veren hastalarda dahi ortaya çıkabilir. Bu durum, hastaların belirli bir süre boyunca iyi bir yanıt gösterdikten sonra tümörlerin tekrar büyümeye başlaması şeklinde gözlemlenebilir (Çolak vd., 2022).

- **İkinci Aşama Direnç:** Ovaryum kanseri tedavisindeki direnç, birinci aşamadan sonra da ortaya çıkabilir. İkinci aşama direnç, hastalığın ilerlemesiyle birlikte tedavinin etkinliğinin azalması anlamına gelir (Çolak vd., 2022).

Ovaryum kanseri tedavisindeki direnç sorunu çeşitli faktörlerden kaynaklanabilmektedir. Ancak bu faktörler genetik mutasyonlar, tümör etrafındaki mikroçevre, hücrel sinyal yollarında değişiklik, immün sistem ve tümör etkileşimi ve hormonal faktörler şeklinde kategorize edilebilir (Üstüner vd., 2004). Ovaryum kanseri hücrelerinde meydana gelen genetik mutasyonlar, hücrelerin kemoterapiye karşı direnç geliştirmesine neden olabilir (Coukos vd., 1998). Ayrıca bazı kanser hücreleri, hücre içi DNA onarım mekanizmalarını aşırı bir şekilde kullanarak, tedaviye karşı direnç geliştirebilir (Wang vd., 2012). Ovaryum kanseri tümörü etrafındaki mikroçevre, tümör hücrelerinin büyümesini ve yayılmasını destekleyebilir. Bu mikroçevre, kemoterapiye karşı direncin gelişmesine katkıda bulunabilir (Çağavi ve Güzel, 2021).

Tümör hücreleri arasındaki genetik ve fenotipik farklılıklar, tedaviye direnç gelişmesine neden olabilir. Bu heterojenite, bazı hücre alt popülasyonlarının tedaviye daha iyi adapte olmasına olanak tanır (Yüksel vd., 2012). Ovaryum kanseri hücreleri, normalde hücre ölümünü başlatan apoptoz yollarında değişiklikler yapabilir. Bu, hücrelerin kemoterapiye karşı direnç geliştirmesine neden olabilir (Çolak vd., 2022). Tümör hücreleri, kan damarlarının büyümesini uyararak tümörlerini besleyebilir. Bu durum, tedavinin tümöre ulaşmasını ve etkili bir şekilde çalışmasını zorlaştırabilir (Oliveira, 2011). Ovaryum kanseri hücreleri, immün sistemi kandırmak veya ondan kaçınmak için de çeşitli mekanizmalar geliştirebilir. Bu durum, immün tedavilere karşı direnç gelişmesine yol açabilir (Köse vd., 2016). Bazı ovaryum kanseri türleri hormonal bağımlı olabilir. Hormonal bağımlılık, hormonal tedavilere karşı direnç gelişmesine neden olabilir (Kabukçu vd., 2002).

Ovaryum kanseri tedavisindeki direnç sorunu, çoklu faktörlerin karmaşık etkileşimi

sonucunda ortaya çıkan bir durumdur. Genetik değişiklikler, hücrel mikroçevre etkileşimleri, sinyal yollarındaki değişiklikler, immün sistem etkileşimleri ve hormonal faktörler, bu direncin altında yatan temel nedenleri oluşturur. Bu nedenle, tedavi stratejilerinin geliştirilmesi ve dirençle mücadele için bireyselleştirilmiş yaklaşımların benimsenmesi, ovaryum kanseri tedavisindeki başarıyı artırmak için önemlidir.

2.2.6. Erken Tanı ve Tarama Stratejilerinin Yetersizlikleri

Ovaryum kanseri, belirgin belirtiler göstermeden ilerleyen ve genellikle ileri evrelerde teşhis edilen bir kanser türüdür. Erken tanı, ovaryum kanseri tedavisindeki başarıyı artırabilir. Ancak, ovaryum kanserinin erken tanısında ve taramasında bir dizi zorluk ve yetersizlik bulunmaktadır. Ovaryum kanseri, genellikle belirgin belirtiler olmadan veya çok hafif belirtilerle seyreder. Bu durum, hastaların hastalığı fark etmelerini ve dolayısıyla sağlık kurumlarına başvurmalarını geciktirebilir. Ovaryum kanseri belirli semptomlarla ilişkilendirilebilir, ancak bu semptomlar genellikle hastalığın ileri evrelerinde ortaya çıkar. Bu durum, erken evrelerde tanı koymayı zorlaştırabilir (Jelovac ve Armstrong, 2011).

Ovaryum kanseri belirtileri genellikle nonspesifiktir ve diğer benign durumlarla da ilişkilendirilebilir. Bu durum, klinik belirtiler üzerinden kesin bir tanı koymayı zorlaştırır. Geleneksel kan testleri (CA-125 gibi) ovaryum kanserinin belirlenmesine yardımcı olabilir, ancak bu testlerin düşük spesifiklik ve hassasiyeti nedeniyle kesin tanı koymada sınırlamalara sahiptir (Medeiros vd., 2009). CA-125 testi, ovaryum kanseri taramasında yaygın olarak kullanılan bir biyobelirteçtir. Ancak, bu testin düşük hassasiyet ve özgüllüğü, yanlış pozitif ve yanlış negatif sonuçların sıkça görülmesine neden olabilir. Çeşitli biyobelirteçlerin ovaryum kanseri taramasında potansiyeli araştırılmıştır, ancak henüz tek bir güvenilir biyobelirteç bulunmamaktadır (Razmi ve Hasanzadeh, 2018). Bilgisayarlı tomografi (BT) ve manyetik rezonans görüntüleme (MRG) gibi radyolojik görüntüleme yöntemleri, ovaryum kanserini tespit etmede sınırlamalara sahiptir, özellikle erken evrelerde. Karın içindeki çeşitli dokuların benzer görünüme sahip olması, radyolojik görüntüleme yöntemlerinin ovaryum kanseri tanısında spesifik olmamalarına neden olabilir (Fischerova ve Burgetova, 2014).

2.2.7. Ovaryum Kanseri Tedavisinde Yan Etkiler ve Yaşam Kalitesi

Ovaryum kanseri, genellikle ileri evrelerde teşhis edilen ve karmaşık bir tedavi süreci gerektiren bir kanser türüdür. Cerrahi müdahale, kemoterapi ve radyoterapi gibi agresif tedavi yöntemleri, hastaların yaşam süresini artırabilir, ancak bu tedavilerin yan etkileri de önemli bir konudur. Cerrahi müdahale sonrası gelişebilen yan etkiler genel anlamda fiziksel ve psikolojik

etkiler olarak sınıflandırılabilir (Tuncay vd., 2018). Ovaryum kanseri cerrahi müdahalesi genellikle karın bölgesinde gerçekleştirilir ve bu, ameliyat sonrası ağrı ve rahatsızlığa neden olabilir. Büyük cerrahi kesiler, yara izi oluşumunu beraberinde getirebilir. Bu durum, hastaların estetik ve fiziksel rahatsızlık yaşamasına yol açabilir. Cerrahi müdahale sonrasında oluşan vücut değişiklikleri, hastaların vücut görüntüsüyle ilgili endişelere neden olabilir. Cerrahi müdahalelerin cinsel organlara etkisi, hastalarda cinsel işlev bozukluklarına yol açabilir (Tuncay vd., 2018).

Over kanseri tedavisinde kemoterapi uygulamasının yan etkileri üç farklı bağlamda değerlendirilebilir. Bunlar genel yan etkiler, hematolojik yan etkiler ve sinir sistemine yan etkiler şeklindedir. Kemoterapi uygulamasının yan etkileri aşağıdaki maddelerde açıklanmaktadır (Yalçın ve Karaca, 2019).

- **Mide Bulantısı ve Kusma:** Kemoterapi, mide bulantısı ve kusma gibi sindirim sistemi sorunlarına neden olabilir.
- **Halsizlik ve Yorgunluk:** Kemoterapi, hastalarda genel halsizlik ve yorgunluğa yol açabilir.
- **Anemi:** Kemoterapi nedeniyle kemik iliği baskılanması, anemi (kan yetersizliği) riskini artırabilir.
- **Bağışıklık Sistemi Zayıflığı:** Kemoterapi, bağışıklık sistemini etkileyebilir, bu da enfeksiyonlara duyarlılığı artırabilir.
- **Periferik Nöropati:** Kemoterapinin neden olduğu sinir hasarı, ellerde ve ayaklarda uyuşma veya karıncalanma gibi periferik nöropatiye yol açabilir.
- **Bellek ve Konsantrasyon Problemleri:** Kemoterapinin kognitif etkileri, hastalarda bellek kaybı ve konsantrasyon sorunlarına neden olabilir.

Ovaryum kanseri tedavisinde uygulanan radyoterapinin yan etkileri iki kategori bağlamında değerlendirilebilir. Bunlar deri problemleri ve gastrointestinal problemler şeklindedir. Radyoterapi sonrası cilt irritasyonları, yara oluşumu, mide ve bağırsak problemleri ve idrar problemleri oluşmaktadır (İrmak ve Oskay, 2013). Radyoterapi, tedavi alanındaki ciltte kızarıklık, tahriş veya kuruluk gibi problemlere neden olabilir. Yoğun radyoterapi, tedavi bölgesinde cildin yara oluşturmaya yol açabilir. Radyoterapi, mide bulantısı, kusma, ishal veya kabızlık gibi sindirim sistemi sorunlarına neden olabilir. Ek olarak, pelvik bölgeye uygulanan radyoterapi, idrar problemlerine, özellikle sık idrara çıkma veya idrar kaçırma gibi sorunlara neden olabilir (Tuncay vd., 2018).

Ovaryum kanseri tedavisindeki yan etkiler, hastaların yaşam kalitesini etkileyebilecek önemli bir konudur. Fiziksel, psikososyal ve finansal etkiler, tedavi sürecindeki hastaların ve

ailelerinin karşılaştığı zorlukları kapsar. Ancak, yan etkilerin yönetimi ve hafifletilmesi için geliştirilen stratejiler, hastaların tedavi sürecini daha iyi tolere etmelerine ve yaşam kalitelerini artırmalarına yardımcı olabilir. Bu nedenle, multidisipliner bir yaklaşım benimsemek ve hastaların bireysel ihtiyaçlarına odaklanmak, ovaryum kanseri tedavisinin etkili bir şekilde uygulanması açısından kritik öneme sahiptir (Irmak ve Oskay, 2013).

2.3. Ovaryum Kanseri Tedavi Yöntemleri

2.3.1. Cerrahi Müdahale ve Ovaryum Kanseri Tedavisi

Cerrahi, ovaryum kanseri tedavisinde çok önemli bir rol oynar ve tipik olarak ilk müdahale hattıdır. Ovaryum kanseri tedavisinde cerrahi müdahalenin hedefleri de kanseri teşhis etmek ve evrelemek, tümörü debulk etmek, etkilenen dokuları çıkarmak, biyopsi için örneklerin toplanması, lenf nodu tutulumunu değerlendirmek ve peritoneal yayılımı değerlendirmektir (Hennessy vd., 2009). Ameliyat sırasında cerrah ovaryum kanseri tanısını doğrulamayı, evresini (yayılma derecesini) belirlemeyi ve tümör tutulumunun kapsamını değerlendirmeyi amaçlar. Birçok vakada ovaryum kanseri, yakındaki organları ve yapıları etkileyebilecek büyük tümörler olarak ortaya çıkar. Cerrahi debulking, tümör yükünü azaltmak için mümkün olduğunca çok tümörün çıkarılmasını içerir. Cerrah bir veya iki yumurtalığı, fallop tüplerini ve uterusu (histerektomi) çıkarabilir. İleri vakalarda, omentum (yağlı bir doku) ve lenf düğümleri gibi ek yapılar da çıkarılabilir. Ovaryum kanserinin türünü doğrulamak ve agresifliğini değerlendirmek için ameliyat sırasında doku örnekleri toplanır. Sonrasında, kanserin lenfatik sisteme yayılıp yayılmadığını belirlemek için pelvis ve karındaki lenf düğümlerinden örnek alınabilir veya çıkarılabilir. Cerrah periton astarını (karın organlarını örten zar) kanser yayılımı belirtileri açısından inceler. Bazı durumlarda, kalan kanser hücrelerini hedef almak için ameliyat sırasında ısıtılmış intraperitoneal kemoterapi (HIPEC) uygulanabilir (Hennessy vd., 2009).

Ameliyatın kapsamı ovaryum kanserinin evresine ve türüne bağlıdır. Kanser in ovaryumlarla sınırlı olduğu erken evre hastalıkta, bazı durumlarda doğurganlığı koruyarak daha az kapsamlı bir ameliyat yapılabilir. İleri evrelerde ise daha kapsamlı bir ameliyat gerekebilir. Ovaryum kanseri için cerrahi müdahale genellikle karmaşık bir prosedürdür ve jinekolojik onkoloji konusunda deneyimli, yetenekli bir cerrahi ekibe sahip olmak çok önemlidir. Ameliyattan sonra hastalar kemoterapi gibi diğer tedavilere geçmeden önce bir iyileşme dönemine ihtiyaç duyabilirler (Irmak ve Oskay, 2013).

2.3.2. Kemoterapi ve Radyoterapi Seçenekleri

Kemoterapi ve daha az ölçüde radyoterapi ovaryum kanseri tedavisinin önemli

bileşenleridir. Bu tedaviler tipik olarak cerrahi ile birlikte kullanılır ve kanserin evresine ve özelliklerine bağlı olarak belirli vakalarda da uygulanabilir. Kemoterapi, kanser hücrelerini hedef almak ve öldürmek için ilaçların kullanılmasını içerir. Sistemik bir tedavidir, yani nerede olurlarsa olsunlar kanser hücrelerine ulaşmak için vücutta dolaşır. Kemoterapi döngüler halinde uygulanır, bir tedavi dönemini sağlıklı hücrelerin iyileşmesine izin vermek için bir dinlenme dönemi izler (Chester vd., 2015). Ameliyattan sonra, kalan kanser hücrelerini yok etmek ve nüks riskini azaltmak için genellikle adjuvan kemoterapi önerilir. Kemoterapi ilaçlarının seçimi, ovaryum kanserinin spesifik türüne ve evresine bağlıdır. Bazı durumlarda, özellikle kanser ilerlemiş veya yaygın olduğunda, tümörü küçültmek ve ameliyatı daha uygulanabilir hale getirmek için ameliyattan önce kemoterapi verilebilir (neoadjuvan kemoterapi). Ovaryum kanseri için çoğu kemoterapi rejimi, kanser hücrelerini hedeflemeye ve ilaç direnci riskini azaltmada daha etkili olan bu yaklaşım nedeniyle bir ilaç kombinasyonunu içerir. Kemoterapi bulantı, kusma, yorgunluk, saç dökülmesi ve kan hücresi sayımında değişiklikler gibi yan etkilere neden olabilir. Bu yan etkileri yönetmek için genellikle destekleyici ilaçlar ve stratejiler kullanılır. Kemoterapi döngülerinin süresi ve sayısı, bireyin tedaviye verdiği yanıt ve onkoloğun önerilerine göre değişir (Chester vd., 2015).

Geleneksel kemoterapiye ek olarak, hedefe yönelik tedaviler belirli ovaryum kanserleri için değerli bir seçenek olarak ortaya çıkmıştır. Hedefe yönelik tedaviler, kanser hücrelerinde bulunan moleküler veya genetik değişiklikleri spesifik olarak hedeflemek üzere tasarlanmıştır. Ovaryum kanseri için hedefe yönelik tedavilere örnek olarak BRCA mutasyonları olan hastalarda özellikle etkili olan PARP inhibitörleri ve tümörleri besleyen kan damarlarının büyümesini engelleyen anti-anjiyojenik ilaçlar verilebilir (Lee vd., 2019).

Radyoterapi, kanser hücrelerini öldürmek veya zarar vermek için yüksek enerjili

X ışınları veya diğer radyasyon formlarını kullanır. Ovaryum kanseri tedavisinde cerrahi veya kemoterapi kadar yaygın olarak kullanılmazsa da belirli durumlarda faydalı olabilir. Kanserinin pelvik bölgeye veya yakındaki yapılara yayıldığı durumlarda, etkilenen bölgeyi hedef almak için pelvik radyasyon tedavisi kullanılabilir. Cerrahi olarak çıkarılamayan ilerlemiş ovaryum kanserinin neden olduğu semptomları hafifletmek ve ağrı veya rahatsızlıktan kurtulmak için palyatif radyasyon tedavisi uygulanabilir. Bazı araştırma ve klinik çalışma ortamlarında, karın boşluğundaki kanser hücrelerini hedef almanın bir yolu olarak intraperitoneal radyoterapi araştırılmıştır (Lee vd., 2019).

2.3.3. İmmünoterapi ve Hedefe Yönelik Tedavi Stratejileri

İmmünoterapi, vücudun bağışıklık sistemini kullanarak hastalıkları tedavi etmeyi

amaçlayan bir tedavi yaklaşımıdır. Geleneksel tedavi yöntemlerinden farklı olarak, immünoterapi, hastanın kendi bağışıklık sistemini güçlendirerek veya düzenleyerek hastalıklarla savaşmasına yardımcı olur (Çalikuşu, 2019). Bu tedavi şekli, özellikle kanser tedavisinde ve bağışıklık sistemi ile ilişkili diğer hastalıkların yönetiminde önemli bir rol oynamaktadır. İmmünoterapi, bağışıklık sistemini hedef alarak hastalıklara mücadele etme prensibine dayanır. Bağışıklık sistemi, vücudu enfeksiyonlara ve hastalıklara karşı koruyan bir savunma mekanizmasıdır. İmmünoterapi, bu savunma mekanizmasını optimize etmeyi amaçlar. Bu temel ilke, hastanın kendi bağışıklık sisteminin kullanılmasını içerir, bu da dışarıdan gelen ilaçların veya müdahalelerin ihtiyacını azaltabilir. Kanser immünoterapisinde uygulanan yöntemler aşağıdaki maddelerde açıklanmaktadır (Özlük vd., 2017).

- **PD-1 ve PD-L1 İnhibitörleri:** Kanser hücreleri, bağışıklık sistemi tarafından genellikle tanınmaz veya etkisiz hale getirilmez. PD-1 ve PD-L1 inhibitörleri, bu süreci tersine çevirerek, kanser hücrelerinin bağışıklık sistemi tarafından daha iyi tanınmasını sağlar. Bu, vücudun kendi savunma mekanizmasını kullanarak kanserle savaşmasına olanak tanır (Kahveci ve Türkoğlu, 2019).
- **CAR-T Hücre Terapisi:** CAR-T hücre terapisi, hastanın kendi T hücrelerini genetik olarak değiştirerek kanser hücrelerini tanımasını ve yok etmesini sağlar. Bu yöntem, özellikle lösemi ve lenfoma gibi hematolojik kanser türlerinin tedavisinde etkili olabilir (Gök ve Aslan, 2019).

İmmünoterapi, alerjik reaksiyonların tedavisinde de kullanılır. Alerji immünoterapisi, hastanın alerjenlere maruz bırakılarak bağışıklık sisteminin tepkisini değiştirmeyi amaçlar. Bu, alerjik semptomların azaltılmasına ve uzun vadeli bir iyileşmeye yol açabilir (Sapan, 2010). İmmünoterapi tedavisinde hedefe yönelik tedavi stratejileri iki grup altında kategorize edilmektedir. Bunlar moleküler hedefe yönelik tedavi stratejileri ve gen tedavisi şeklindedir. Moleküler hedefe yönelik tedaviler ise kendi içerisinde ikiye ayrılmaktadır. Bunlar Tyrosine Kinase İnhibitörleri ve Monoklonal Antikorlardır. Aşağıdaki maddeler kapsamında moleküler hedefe yönelik tedavi stratejileri açıklanmaktadır (Ercelep ve Yumuk, 2018).

- **Tyrosine Kinase İnhibitörleri:** Tyrosine kinaz inhibitörleri, hücre içi sinyal iletiminde rol oynayan enzimleri hedef alarak kanser hücrelerinin büyümesini ve bölünmesini engeller. Bu, kanser hücrelerini öldürerek veya büyümelerini durdurarak tedavi etmeye yardımcı olabilir (Gazdar, 2009).
- **Monoklonal Antikorlar:** Monoklonal antikorlar, spesifik hedeflere karşı tasarlanmış protein molekülleridir. Bu antikorlar, kanser hücrelerini veya hastalığın diğer özelliklerini hedef alarak tedaviyi artırabilir ve yan etkileri azaltabilir (Şakalar vd., 2013).

Gen tedavisi, genetik materyalin değiştirilmesi veya değiştirilmiş genlerin hastaya transfer edilmesi yoluyla genetik hastalıkları veya diğer sağlık sorunlarını tedavi etmeyi amaçlar. Bu strateji, hastalığın temel genetik nedenini hedef alarak daha etkili ve özelleştirilmiş tedaviler sağlama potansiyeline sahiptir (Akbulut, 2007). İmmünoterapi ve hedefe yönelik tedavi stratejileri, geleneksel tedavilere alternatif veya tamamlayıcı bir yaklaşım sunar. Bu yöntemler, hastalıklarla mücadelede vücudun kendi savunma mekanizmasını kullanarak daha etkili ve özelleştirilmiş tedaviler sağlama potansiyeli taşır. Ancak, her hasta için uygun olan tedavi seçeneklerinin belirlenmesi, bireysel özellikler ve hastalığın türü gibi faktörlere bağlı olarak değişebilir. Bu nedenle, her hasta için özel bir tedavi planı oluşturmak, başarılı tedavi sonuçları elde etmek için kritik bir öneme sahiptir (Gazdar, 2009).

2.3.4. Hormon Terapisi ve Ovaryum Kanserine Etkileri

Hormon tedavisi, hormonal dengesizlikleri düzeltmek veya kontrol etmek amacıyla kullanılan bir tedavi yöntemidir. Bu tedavi, bir dizi hormonal değişiklikle bağlantılı olan birçok sağlık durumunun yönetiminde etkili olabilir. Ancak, bazı durumlarda, hormon tedavisi uygulamasının kanser riskini artırabileceği veya var olan kanseri etkileyebileceği konusunda endişeler ortaya çıkmaktadır. Bu bağlamda, ovaryum kanseri ve hormon tedavisi arasındaki ilişkiyi anlamak önemlidir. Menopozla ilişkili hormonal terapi, menopoz dönemindeki kadınların yaşadığı hormonal değişiklikleri dengelemek amacıyla kullanılır. Östrojen ve progesteron gibi hormonların eksikliğini gidermek, menopoz semptomlarını hafifletmek ve osteoporoz riskini azaltmak için uygulanabilir (şen ve Saruhan, 2010).

Kanser tedavisinde kullanılan hormon tedavisi, özellikle hormon reseptör pozitif olan meme kanseri ve prostat kanseri gibi kanser türlerinde etkilidir. Bu tedavi, hormonların kanser hücrelerinin büyümesini teşvik ettiği durumları hedef almayı amaçlar (Baykara, 2016). Hormon tedavisi, kullanılan hormonların türüne bağlı olarak çeşitli yan etkilere neden olabilir. Özellikle meme kanseri tedavisinde kullanılan hormonal tedavinin yan etkileri arasında kemik kaybı, kilo artışı, duygudurum değişiklikleri ve menopoz semptomlarının artması bulunabilir (Baykara, 2016). Östrojen, ovaryum hücrelerinde ve çevresindeki dokularda reseptörlere bağlanabilir ve hücre büyümesini uyarabilir. Bu nedenle, özellikle hormonal terapi sırasında kullanılan östrojen, ovaryum kanseri riskini artırabilir. Menopoz sonrası hormonal replasman tedavisi (HRT), östrojen ve progesteron gibi hormonların eksikliğini gidermeyi amaçlar. Ancak, uzun vadeli HRT kullanımının ovaryum kanseri riskini artırabileceğine dair bazı araştırmalar bulunmaktadır (Folsom vd., 1995; Colditz , 1998; La Vecchia vd., 2001; Lacey vd., 2002; Corrao vd., 2008).

Hormon terapisi ve ovaryum kanseri arasındaki ilişki karmaşık ve çok yönlüdür. Bu alandaki araştırmaların devam etmesi, spesifik risk faktörlerini ve tedavi stratejilerini belirlemek için önemlidir. Hastaların bireysel sağlık durumları, risk profilleri ve tedavi ihtiyaçları göz önüne alındığında, hormon terapisinin ovaryum kanseri için potansiyel risk ve faydalarını değerlendirmek kritik bir öneme sahiptir (Corrao vd., 2008).

2.4. Zehirlerin Terapötik Potansiyeli

2.4.1. Hayvan Zehirlerinin Tıbbi Kullanımı ve Araştırmadaki Rolü

Hayvan zehirleri, yılanlar, akrepler, örümcekler ve diğer birçok türden çeşitli hayvanlar tarafından üretilen biyoaktif bileşenler içerir. Bu zehirler, yıllarca insanlar üzerinde toksik etkileri nedeniyle endişe yaratmış olsa da, son zamanlarda tıbbi araştırmalarda ve terapötik uygulamalarda potansiyel kullanımları keşfedilmiştir. Hayvan zehirleri analjezik ve anti-inflamatuar etkileri, nörotoksinler ve nörolojik hastalıklar ve antimikrobiyal ve antitümoral özellikler bakımından kullanımı ile üç farklı kategoride ele alınabilir (White ve Meier, 2017). Bazı yılan zehirlerinde bulunan peptitler, sinir iletimini modüle edebilir ve bu nedenle analjezik etkiler gösterebilir. Bu özellik, kronik ağrı tedavisinde potansiyel bir kullanım alanı açabilir (Kelle, 2006). Akrep zehirlerinde bulunan bileşenler, anti-inflamatuar özelliklere sahip olabilir. Bu özellik, romatoid artrit gibi inflamatuvar hastalıkların tedavisine yönelik yeni terapötik stratejilere yol açabilir (Petricevich, 2010). Hayvan zehirlerinin nörotoksinler ve nörolojik hastalıklar bakımından kullanımında örümcek zehrinden yararlanılarak sinir sistemi bozuklukları tedavisi uygulanmaktadır. Bazı örümcek zehirlerinde bulunan nörotoksinler, sinir hücreleri üzerinde spesifik etkiler gösterebilir. Bu etkiler, Parkinson veya Alzheimer gibi nörolojik hastalıkların tedavisi üzerinde çalışan araştırmacılara ilham verebilir (Monge- Fuentes vd., 2015). Yılan zehirlerinde bulunan belirli proteinler, bakteri ve mantarlarla mücadelede etkili olabilir. Bu, antibiyotik direncinin aşılmasına yardımcı olabilir (Charvat vd., 2018). Akreplerin zehirlerindeki peptitlerin, kanser hücrelerini hedefleyebilecek antitümöral özelliklere sahip olabileceği gösterilmiştir. Bu, yeni kanser tedavi stratejilerinin geliştirilmesine olanak tanır (Gomez-Rave vd., 2019).

Hayvan zehirleri, doğal bir biyolojik çeşitliliğin kaynağıdır ve bu çeşitlilik, biyoprospeksiyon çalışmalarında kullanılabilir. Yeni ilaçların, biyoteknolojik ürünlerin ve diğer biyomedikal uygulamaların keşfi için potansiyel kaynaklar sağlayabilir (Alves ve Albuquerque, 2012). Hayvan zehirlerinde bulunan biyoaktif bileşenlerin moleküler yapısı, genetik mühendislik ve moleküler biyoloji alanında araştırmalara ilham verir. Bu, özellikle nörotoksinlerin incelenmesi ve kullanımı açısından önemlidir (Hodgson, 2012). Hayvan

zehirlerinin tıbbi kullanımı, geleneksel tedavilerin ötesinde yeni ilaçlar ve tedavi stratejileri geliştirmek için bir platform sağlar. Bu, özellikle dirençli hastalıkların tedavisi için yenilikçi çözümler arayan araştırmacılar için önemlidir (Bordon vd., 2020). Hayvan zehirlerinin tıbbi kullanımı, doğadan ilham alarak yeni tedavi yöntemleri ve ilaçlar geliştirmek için heyecan verici bir alan oluşturmıştır. Ancak, bu kullanımların potansiyel riskleri ve etik sorunları da göz önüne alınmalıdır.

2.4.2. Zehirin Biyolojik Aktiviteleri ve Etkileri

Zehirler, vücuda girdiklerinde zararlı etkilere, yaralanmaya veya ölüme neden olabilen maddelerdir. Zehirlerin biyolojik aktiviteleri ve etkileri, zehir türüne ve etki mekanizmalarına bağlı olarak büyük ölçüde değişir. Zehirler, kaynaklarına ve etki şekillerine göre çeşitli türlere ayrılabilir (İlhan, 2021). Kimyasal zehirler, normal biyolojik süreçleri bozan sentetik veya doğal olarak oluşan kimyasallardır. Örnekler arasında pestisitler, ağır metaller (örneğin kurşun veya cıva) ve endüstriyel kimyasallar yer alır. Biyolojik zehirler, hayvanlar, bitkiler ve mikroorganizmalar dahil olmak üzere canlı organizmalar tarafından üretilen toksinlerdir. Yılan zehirleri, bitki alkaloidleri (örn. hint fasulyesinden elde edilen risin) ve bakteriyel toksinler (örn. botulinum toksini) bu grupta yer almaktadır. Radyolojik zehirler, nükleer radyasyon veya radyoaktif maddeler gibi iyonlaştırıcı radyasyona maruz kalmayı içerir. İyonlaştırıcı radyasyon hücrelere ve DNA'ya zarar vererek çeşitli sağlık etkilerine yol açar (İlhan, 2021).

Zehirlerin biyolojik aktiviteleri ve etkileri, spesifik özelliklerine ve etki mekanizmalarına bağlıdır. Farklı zehir türleriyle ilişkili bazı yaygın biyolojik faaliyetler ve etkilerden nörotoksik etkiler, birçok zehir sinir sistemini hedef alarak felç, nöbetler, kas spazmları ve değişen zihinsel durum gibi semptomlara yol açar. Yılan zehirlerinde veya botulinum toksininde bulunanlar gibi nörotoksinler sinir sinyalizasyonunu bozabilir. Ek olarak, hemotoksik etkiler de kan ve dolaşım sistemini etkileyerek kanama, pıhtılaşma bozuklukları, anemi veya organ hasarı gibi sorunlara yol açar.

Örneğin, antikoagülan zehirler kanın pıhtılaşmasını engeller. Kardiyotoksik etkiler ise kalbi etkileyerek aritmilere, kalp debisinde azalmaya ve hatta kalp durmasına yol açabilir. Bazı bitki türlerinde bulunanlar gibi kardiyotoksinler kalp üzerinde ciddi etkilere sahip olabilir. Gastrointestinal etkiler de yutulan zehirler genellikle gastrointestinal sistemi etkileyerek bulantı, kusma, ishal, karın ağrısı ve mukozal astarda hasar gibi semptomlara yol açar. Ek olarak, solunum etkileyen bazı zehirler solunum sistemine müdahale ederek nefes almada zorluk, öksürük veya akciğer hasarı gibi semptomlara neden olur. Zehirli gazların solunması veya belirli kimyasallara maruz kalınması solunum sıkıntısına yol açabilir. Ayrıca, bazı zehirler

vücuttaki metabolik süreçleri bozarak potansiyel olarak metabolik asidoza, elektrolit dengesizliklerine veya organ işlev bozukluğuna neden olur. Özellikle aşındırıcı kimyasallar, temas halinde dokularda lokal hasara neden olarak yanıklara, ülserasyona veya doku nekrozuna yol açabilir. Bazı zehirlerin sistemik etkileri vardır, birden fazla organ sistemini etkiler ve bir dizi semptom ve komplikasyona yol açar (Ghasemi-Dizgah vd., 2017).

Bir zehrin etkileri genellikle vücuda giren zehrin dozuna veya miktarına bağlıdır. Bu ilişki, tepkinin büyüklüğünün (örneğin toksisite) zehrin dozuyla nasıl ilişkili olduğunu gösteren doz-cevap eğrisi ile tanımlanır. Doz-cevap ilişkisi, farmakoloji ve toksikolojide temel bir kavramdır ve çeşitli anahtar terimleri içerir. Bu terimler arasında, eşik doz (fark edilebilir bir etki veya yanıtın oluştuğu en düşük zehir dozu), LD50 - medyan ölümcül doz (maruz kalan nüfusun %50'sinin zehirden öleceği doz), ED50 - etkili doz %50 (bireylerin %50'sinde belirli bir terapötik etki oluşturmak için gereken zehir dozu), toksik eşik (zehrin etkilerinin zararlı veya toksik hale geldiği doz) ve güvenlik marjı (toksik eşik ile tedavi amacıyla yaygın olarak uygulanan doz arasındaki farkı) yer alır (Pulat, 2021). Bu terimler, ilaçların etkilerini ve toksisitelerini değerlendirmek ve uygun dozajları belirlemek için kullanılır. Bu kavramlar, güvenli ve etkili tedavi protokollerinin geliştirilmesi ve uygulanmasında kritik öneme sahiptir (Corrao vd., 2008).

Koch ve Stein, Theranekron'un köpeklerde kanserli meme dokusu ile çevre doku arasında demarkasyon hattı oluşumunu destekleyerek tümör büyümesini durdurduğunu rapor eden ilk kişilerdi. Daha sonra (Gültiken vd., 2007). Theranekron uygulamasının köpeklerde benign meme tümörlerinin gerilemesine ve sertleşmesine neden olduğunu belgeledi. Ayrıca, 2015 yılında, *Tarantula cubensis* ekstraktının köpek meme adenokarsinomlarında apoptoz ve mitoz derecesini değiştirdiği rapor edildi (Gültiken vd., 2015). Otofaji, hücrenin kendi bileşenlerinin lizozomal mekanizma aracılığıyla parçalanmasıyla ilgili sıkı bir şekilde düzenlenen bir süreçtir (Yenigün vd., 2013). Organel ve protein homeostazında kritik bir rol oynar, hücrelerde sentez ve parçalanma arasında bir denge sağlar. Otofaji, homeostatik bozulma sırasında sinyalleme yollarını aktive ederek hücre ölümüne yol açabilir. Önemli bir şekilde, otofajik hücre ölümü, apoptotik hücre ölümünden farklıdır, ancak otofaji ve apoptoz arasındaki ilişki karmaşıktır. Araştırmalar, otofajinin, DNA hasarını takiben apoptotik ölümü geciktirebileceğini veya apoptoz olmadan hücre ölümünün bir türünü tetikleyebileceğini göstermiştir (Abedin vd., 2007).

2.4.3. Zehrin Farmakokinetiği ve Farmakodinamiği

Bir zehrin farmakokinetiğini (vücudun bir maddeyi nasıl işlediği) ve farmakodinamiğini

(bir maddenin vücudu nasıl etkilediği) anlamak, toksikolojik özelliklerini ve potansiyel tedavi stratejilerini değerlendirmek için gereklidir. Bir zehrin farmakokinetiği, vücut tarafından nasıl emildiğini, dağıtıldığını, metabolize edildiğini ve ortadan kaldırıldığını açıklar (Gül Satar vd., 2017). Zehirlerin farmakokinetiğinin temel yönlerinde emilim, dağılım, metabolizma ve eliminasyon gibi basamaklar içerir. Bir maddenin, maruz kalma yolu (örn. yutma, soluma, deri teması) ile vücuda nasıl emildiğini etkiler. Bazı zehirler hızla emilirken, diğerlerinin kan dolaşımına girmesi için daha fazla zaman gerekir. Kan dolaşımına girdikten sonra zehirler vücuda dağılır. Zehrin yağ ve sudaki çözünürlüğü ve bağlayıcı proteinlerin varlığı gibi faktörler dağılımını etkiler. Vücut bazı zehirleri karaciğerde veya diğer organlarda daha az veya çok toksik formlara metabolize edebilir. Metabolizma bir zehri aktive edebilir ya da detoksifiye edebilir. Zehirler tipik olarak renal atılım (böbrekler yoluyla), biliyer atılım (karaciğer ve safra yoluyla) veya ekshalasyon (akciğerler yoluyla) gibi süreçlerle vücuttan atılır. Eliminasyon hızı toksisite süresini etkiler (Gül Satar vd., 2017).

Farmakodinamik, etki mekanizmaları ve doz-cevap ilişkileri de dahil olmak üzere zehirlerin vücut üzerindeki etkilerini nasıl gösterdiğine odaklanır. Bir zehrin belirli reseptörler, enzimler veya hücrel bileşenlerle nasıl etkileşime girdiğini anlamak, toksik etkileri hakkında bilgi sağlar. Örneğin, nörotoksik zehirler sinir hücresi reseptörlerini hedef alarak felce yol açabilir. Daha önce de belirtildiği gibi, doz-cevap ilişkisi zehrin dozu ile etkilerinin şiddeti arasındaki ilişkiyi belirler. Dik bir doz-cevap eğrisi, dozdaki küçük değişikliklerin önemli etkilere yol açabileceğini gösterir. Bazı zehirler belirli reseptörlere karşı yüksek bir afiniteye sahiptir, bu da düşük konsantrasyonlarda bile sıkıca bağlanmalarına ve etkilerini göstermelerine izin verir. Vücutta gözlemlenebilir toksik etkiler üretmek için gereken zehir konsantrasyonu farklı zehirler arasında değişiklik gösterir. Bazı zehirler ani etkiler yaratabilirken, diğerleri gecikmeli veya kümülatif toksisiteye sahiptir, bu da toksisitenin değerlendirilmesinde maruziyet zamanlamasını önemli hale getirir. Zehirler vücuttaki diğer maddelerle etkileşime girerek potansiyel olarak etkilerini artırabilir veya azaltabilir. Örneğin ilaç etkileşimleri bazı zehirlerin toksisitesini etkileyebilir (Tosun vd., 2021).

Zehirlerin farmakokinetiği ve farmakodinamiğinin anlaşılması, zehirlenme vakalarına yönelik etkili tedavilerin geliştirilmesi için kritik öneme sahiptir. Tıbbi müdahaleler panzehir uygulamak, eliminasyonu artırmak, destekleyici bakım sağlamak veya belirli toksik etkileri yönetmek gibi önlemleri içerebilir. Ayrıca zehirlerin toksikokinetiği hakkında bilgi sahibi olmak, sağlık çalışanlarının maruziyetin prognozunu ve potansiyel uzun vadeli etkilerini değerlendirmelerine yardımcı olur (Corrao vd., 2008).

2.5. *Tarantula cubensis* Zehrinin Kimyasal Yapısı ve Özellikleri

2.5.1. *Tarantula cubensis* Zehri İçeriği ve Toksisitesi

Zehirli canlılar avlarını yakalamak, yırtıcılara karşı savunmak ya da sindirime yardımcı olmak için çeşitli toksinler geliştirmiştir. Büyük ve tüylü örümceklerden oluşan bir grup olan tarantulalar zehirli ısırıklarıyla bilinir. Küba tarantulası olarak da bilinen *Tarantula cubensis*, güçlü zehriyle bilinen bu türlerden biridir. *Tarantula cubensis* zehri, proteinler, peptitler ve küçük moleküller dahil olmak üzere çeşitli moleküllerin karmaşık bir karışımıdır. Zehrin her bir bileşeni, avı hareketsiz hale getirme veya bastırmada belirli bir amaca hizmet eder. *Tarantula cubensis* zehrinin başlıca bileşenlerinden bazıları nörotoksinler, enzimler, antimikrobiyal peptitler ve proteaz inhibitörleridir (Ghasemi-Dizgah vd., 2017). Nörotoksinler avın sinir sistemini hedef alan proteinler veya peptitlerdir. İyon kanallarını bozarak avda felce veya ölüme yol açabilirler. Venom genellikle avın sindirimine yardımcı olan enzimler içerir. Bu enzimler dokuların parçalanmasına ve avın besin maddelerinin daha erişilebilir hale gelmesine yardımcı olabilir. Tarantula zehri, bakteri ve diğer mikroorganizmaların büyümesini engelleyerek örümceği enfeksiyondan korumaya yardımcı olan antimikrobiyal peptitler içerebilir. Proteaz inhibitör moleküller avın kan pıhtılaşma sistemine müdahale ederek kanın pıhtılaşmasını önleyebilir ve örümceğin daha kolay beslenmesini sağlayabilir (Ghasemi-Dizgah vd., 2017).

Tarantula cubensis zehrindeki kilit oyuncular genellikle belirli yapısal özelliklere sahip proteinlerdir. Bu proteinler, işlevlerini belirleyen karmaşık üç boyutlu yapılara katlanır. *Tarantula cubensis* de dahil olmak üzere tarantulalarda bulunan bazı zehir proteinleri, iyon kanalı toksinleri, sistince zengin peptitler ve enzimler içerir (Tosun vd., 2021). İyon kanalı toksinleri sinir sistemindeki iyon kanallarını seçici olarak hedef alabilen nörotoksinlerdir. Tipik olarak disülfid bağları ile stabilize edilmiş kompakt, küresel bir yapıya sahiptirler. Sistince zengin peptitler de protein yapısının stabilitesine katkıda bulunan disülfid bağları oluşturan çoklu sistein kalıntıları içerir. Bu sistein bakımından zengin peptitler çeşitli biyolojik aktivitelere sahip olabilir. Tarantula zehrindeki enzimler genellikle avlarının dokularındaki substratlarıyla etkileşime girmelerine ve onları değiştirmelerine olanak tanıyan belirli şekillere sahip katalitik bölgelere sahiptir (Tosun vd., 2021).

Tarantula cubensis zehri, avı yakalamada ve hareketsiz hale getirmede etkili olmasını sağlayan çeşitli özellikler sergiler. Söz konusu özelliklerden bazıları şu şekilde sıralanabilir (Pulat, 2021).

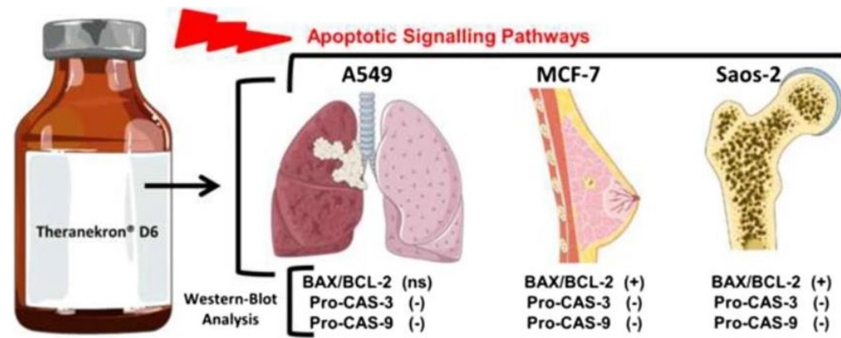
- Felç Edici Etki: Zehirdeki nörotoksinler sinir hücresi sinyalizasyonuna müdahale ederek avda felce yol açabilir. Bu felç, avın hareketsiz kalmasına yardımcı olarak örümceğin onu

yakalamasını ve beslenmesini kolaylaştırır.

- Sindirim Özellikleri: Zehirdeki enzimler, proteinleri ve diğer makromolekülleri parçalayarak avın sindirimine yardımcı olur. Bu ön sindirim süreci örümceğin avından gerekli besinleri çıkarabilmesini sağlar.
- Verimlilik: Tarantula zehri böcekler, küçük omurgalılar ve diğer eklembacıklılar da dahil olmak üzere çok çeşitli avları hareketsiz hale getirmede oldukça etkilidir. Zehrin gücü genellikle örümceğin avlanma alışkanlıklarına ve av tercihlerine göre uyarlanır.
- Koruma: Avlanmanın yanı sıra zehir, tarantulalar için bir savunma aracı olarak da işlev görür. Tehdit edildiklerinde, tarantulalar avcıları veya insanları caydırmak için zehirli ısırıklar verebilirler.

Tarantula cubensis'in zehri, diğer birçok tarantula türününki gibi, başta av yakalama ve sindirim olmak üzere birçok amaca hizmet eden çeşitli toksinler içerir. *Tarantula cubensis*'in zehir içeriğinin ve toksisitesinin anlaşılması, ekolojik rolüne ve potansiyel tıbbi önemine ışık tutabilir (Şimşek ve Özmen, 2023).

Tarantula cubensis zehrinin toksisitesi örümceğin yaşı, büyüklüğü ve belirli toksinlerin varlığı gibi faktörlere bağlı olarak değişebilir. *Tarantula cubensis* zehri genellikle insanlar için tehlikeli olarak görülmesine de ısırılması halinde lokal ağrı, şişme ve rahatsızlığa neden olabilir (Şekil 2.4). Bununla birlikte zaman zaman ciddi alerjik reaksiyonlar veya enfeksiyonlar meydana gelebilir. *Tarantula cubensis* zehri için birincil toksisite modu felçtir. Zehirdeki nörotoksinler avın sinir sistemini hedef alarak kısa bir süre içinde felce yol açabilir (Şimşek ve Özmen, 2023).



Şekil 2.4. *Tarantula cubensis* ekstrakt (TCE)'nin apoptotik yollar üzerindeki çalışması (Tosun vd., 2021).

Bu hareketsizleştirme, örümceğin avını direnç göstermeden yakalayıp tüketebilmesini sağlar. *Tarantula cubensis* de dahil olmak üzere tarantulaların zehirlerini genellikle avlanmak

ve kendilerini savunmak için kullandıklarını belirtmek önemlidir. İnsanlara karşı saldırgan değildirler ve genellikle sadece kendilerini tehdit altında hissettiklerinde ısırırlar. *Tarantula cubensis* ısırıkları hayatı tehdit edici olarak kabul edilmez, ancak ciddi semptomlar veya alerjik reaksiyonlar yaşayan bireyler tıbbi yardım almalıdır (Şimşek ve Özmen, 2023).

Çeşitli çalışmalarda, *Tarantula cubensis* ekstrakt (TCE), rejeneratif ve anti- enflamatuar etkilerden anti-kanser etkilerine kadar çeşitli terapötik özellikler sergilemiştir (Şekil 2.4). Özellikle, etkinliği farklı hayvan türlerinde çeşitli tıbbi koşullarda gözlemlenmiştir. TCE'nin, sığırdaki mavi dil hastalığı, köpeklerde oral papillomatozis ve meme tümörleri ile kedilerde indolent ülserler gibi rahatsızlıkları tedavi etmede umut verici olduğu görülmüştür (Karabacak vd., 2015). Ayrıca, TCE'nin potansiyeli, arterlerde trombus oluşumunu engellemekten ve sığırdaki el-ayak-ağız hastalığı ve endometrioza gibi koşulları ele alarak genişlemektedir. TCE'nin hepatoprotektif özellikleri, farelerde aflatoxin kaynaklı karaciğer hasarı ile ilgili araştırmalarda belirgin hale gelmiştir; burada antioksidan sistemi aktive ederek olumsuz etkileri azaltmıştır. Ayrıca, periferik sinir hasarı üzerine yapılan çalışmalarda, TCE bağışıklık reaktivitesini azaltarak ve aksonal ve miyelin hasarını en aza indirerek nörokoruyucu aktivite göstermiştir (Kızılay vd., 2019). Dahası, TCE'nin anti- enflamatuar ve anti-apoptotik özellikleri, bir sepsis modelinde vurgulanmıştır; burada TCE, inflammatuar sitokin seviyelerini, oksidatif stres belirteçlerini ve apoptotik yolları önemli ölçüde azaltarak nihayetinde akciğer hasarını azaltmıştır. Bu bulgular, TCE'nin çeşitli tıbbi koşullar için umut vadeden çok yönlü bir terapötik ajan olarak potansiyelini vurgulamaktadır (Tanyeli vd., 2019).

Tarantula cubensis türünün zehrinden elde edilen, Theranekron adlı ekstrakt, veteriner hekimlikte başta at, sığır, köpek, kedi, domuz, koyun ve keçi olmak üzere homeopatik bir ilaç olarak kullanılmaktadır. Kullanım alanı olarak, uygulama alanına giren hayvan türlerinde oluşan septik durumlar, deri yangısı, yangılı tırnak hastalıkları, flegmanlar, ülserler, irinli lezyonlar, çıban ve purülan nekroze olan olgular sayılabilir. Bunun yanı sıra proliferatif ve nekrotik dokularda demarkasyon, rejenerasyon, antiflojistik ve resorbtif etkiye ihtiyaç duyulduğunda kullanılmaktadır (İlhan, 2021). Araştırmacılar, insan embriyonik böbrek kanseri hücre dizisi (HEK293), insan meme bezi kanseri hücre dizisi (MCF7), insan baş ve boyun kanseri hücre dizisi (HN5) üzerinde Theranekron ekstraktı ile yapmış oldukları çalışmaların sonucunda, *Tarantula cubensis* zehrinin hücre yapışmasını bozduğunu, proliferasyonu azalttığını ve özellikle MCF7, HN5 olmak üzere kanserli hücre hatlarındaki hücre ölüm oranını artırdığını tespit etmişlerdir. Ayrıca sağlıklı hücre hattı ile MCF7 meme bezi kanseri hücre hattı karşılaştırıldığında, *Tarantula* venomunun MCF7 üzerinde daha toksik olduğu ve Caspase-3 aracılığıyla apoptozisi başlattığını söylemişlerdir. Köpeklerde meme tümörlerinde *Tarantula*

cubensis ekstratı kullanılmış, kanserli hücreleri sertleştirdiği gözlemlenmiş, kanserli hücre alındıktan sonra kullanımında ise kanserli hücrelerin nüks etmediği tespit edilmiştir (İlhan, 2021).

2.5.2. Zehirlerin Klinik Denemelerdeki Başarıları ve Zorlukları

Zehirler, uzun bir süre boyunca insan sağlığına zarar verici etkileri nedeniyle endişe yaratmıştır. Ancak, bazı zehirlerin içerdikleri biyolojik aktif bileşenlerin, klinik denemelerde potansiyel terapötik etkilere sahip olabileceği düşünülmektedir (Gümüüşçü, 2011). Zehirlerin içerdikleri toksik bileşenler, klinik denemelerde kullanılmak üzere modifiye edilebilir. Bu, özellikle kanser ve nörolojik hastalıklar gibi karmaşık sağlık sorunlarına yönelik yenilikçi tedavi stratejilerinin geliştirilmesine olanak tanır. Zehirlerin içerdikleri moleküler bileşenler, belirli hücresel veya moleküler hedefleri etkileyebilir. Bu durum, hedefe yönelik tedavilerin tasarlanmasında temel bir rol oynayabilir, özellikle de geleneksel tedavilere dirençli durumlar söz konusu olduğunda. Bazı zehirlerin içerdikleri toksinler, ağrı yönetiminde potansiyel birer araç olabilir. Özellikle nöropatik ağrı gibi kronik ağrı durumlarının tedavisinde yeni ve etkili seçenekler sunabilir (Gümüüşçü, 2011).

Zehirlerin tıbbi kullanım açısından taşıdığı olumsuz potansiyel ve/veya olgularda zehirlerin içerdikleri toksik bileşenlerin, terapötik etkileri elde etmek için kullanılması, toksisite ve yan etkilerle mücadele etmeyi gerektirir. Bu durum, tedavinin güvenliğini ve kabul edilebilirliğini sınırlayabilir. Zehirlerin içerdikleri bileşenlerin dozajı, terapötik etkileri elde etmek için dikkatlice kontrol edilmelidir. Bu, tedavi esnasında olası doz aşımı veya doz yetersizliği riskini beraberinde getirir. Zehirler doğal kaynaklar oldukları için bileşenlerinin standartlaştırılması ve klinik denemelerde kullanılabilir hale getirilmesi, belirli zorlukları beraberinde getirir. Bu durum, klinik çalışmalardaki tutarlılığı ve güvenilirliği etkileyebilir. Zehirlerin tıbbi amaçlar için kullanılması etik ve hukuki sorunları da beraberinde getirir. Özellikle toksik bileşenlerin insanlar üzerinde kullanılması, etik kurallar ve hasta güvenliği konusundaki endişelere neden olabilir (White ve Meier, 2017).

2.6. Apoptotik Hücre Ölümü

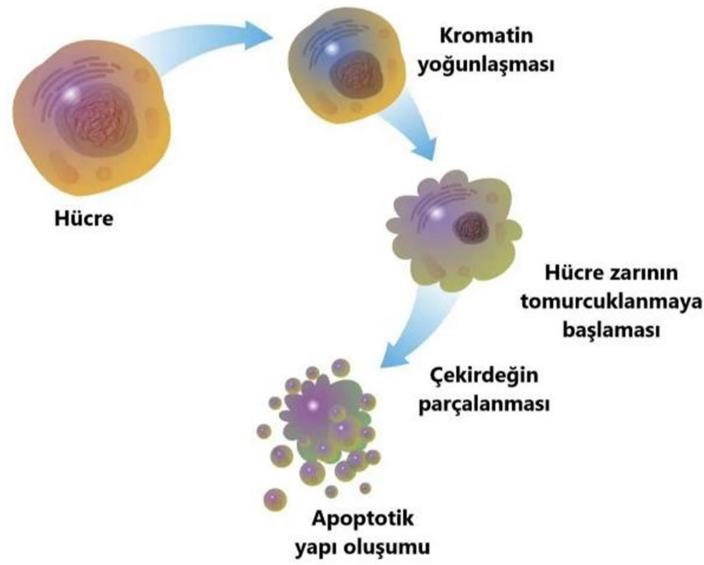
"Apoptoz" teriminin kökeni, kontrollü olarak çiçek yapraklarının veya sonbahar yapraklarının dökülmesi ile hücre ölümünün düzenlenmiş süreci arasındaki şiirsel bağlantıyı vurgular ve bu biyolojik olguda güzellik ve düzeni ön plana çıkarır (Adsit-Morris, 2015). Apoptoz sözcüğü 1972 yılında ilk kez Kerr, Wyllie ve Currie tarafından hücrenin farklı morfolojik özelliklerini tanımlamak için kullanılmıştır (Kerr vd.,1972). Apoptotik hücreler,

morfolojik olarak incelendiğinde, bu hücrelerde nükleer parçalanma, kromatin yoğunlaşması, plazma zarı bütünlüğü bozulmazken, hücre hacminin küçülmesi gözlenmektedir. Bu sürenin sonunda hücreler zarla çevrili küçük apoptotik cisimciklere bölünmekte ve fagositozla ortadan kaldırılmaktadır.

Apoptozun ortaya çıkışı, birçok hastalığın aşırı veya yetersiz apoptotik süreçlerle ilişkili olduğunun fark edilmesinden kaynaklandı. Örneğin, Parkinson ve Alzheimer gibi nörodejeneratif durumlar ile spinal kas atrofi ve AIDS, aşırı apoptozis ile ilişkilidir. Bunun karşısında, viral enfeksiyonlar veya p53 ve Bcl-2 mutasyonları gibi DNA mutasyonları tarafından yönlendirilen kanser gibi durumlar veya tip I diyabet ve ensefalomiyelit gibi otoimmün hastalıklar, yetersiz apoptozis ile karakterizedir. Ayrıca, oksidatif stres ve alkol tüketimi gibi çeşitli toksinler ve hücresel stresler de apoptozun tetikleyicileri olarak hizmet edebilir. Sağlık ve hastalıkta apoptotik düzenlemenin hassas dengesinin anlaşılması, bu çeşitli patolojik durumları hedefleyen terapötik müdahaleler için önemli sonuçlar taşır (Lawen, 2003).

Apoptoz, bir hücrenin bölünmesini ve büyümesini sonlandıran, hücrenin içeriğinin çevreye dökülmeden kontrollü ölümüyle sonuçlanan bir süreci tanımlamakta ve programlanmış hücre ölümü ya da hücre intihar olarak da adlandırılmaktadır. Hücre intiharı düzenlenmesindeki bazı hatalar birçok hastalığa yol açabilmektedir. Son yıllarda apoptozdan sorumlu moleküler mekanizmaların işleyişiyle ilgili bilgi birikimi sayesinde, morfolojik ve biyokimyasal değişikliklerden doğrudan veya dolaylı olarak sorumlu olan Kaspazlar adı verilen hücre içi proteaz ailesi keşfedilmiştir. Kaspazlar, apoptozu başlatabilmek için bir dizi sistein-aspartat proteazın aktivasyonunu tetiklemektedir. Aminoasit dizi benzerlikleri veya proteaz özelliklerine göre, başlatıcı ve uygulayıcı kaspazlar olarak iki alt gruba ayrılmaktadırlar (Elmore, 2007).

Hücrede hasar tespit edilmesi halinde, başlatıcı kaspazlar (kaspaz 8 ve 9) inaktif prokaspazlardan aktive edilir ve uygulayıcı kaspazları (kaspaz 3, 6 ve 7) aktive etmeyi sürdürür. Uygulayıcı kaspazların aktive edilmesiyle, endonükleazların aktivasyonu sayesinde DNA parçalanması, nükleer proteinlerin ve hücre iskeletinin yok edilmesi, proteinlerin çapraz bağlanması, fagositik hücreler için ligandların ekspresyonu ve apoptotik cisimlerin oluşumu şeklinde olaylar silsilesini başlatmaktadır (Martinvalet vd.,2005; Poon vd., 2014). Kaspaza bağımlı olarak gelişen apoptoz, insan vücudundaki homeostatik hücre dönüşümünün yaklaşık %90'ını oluştururken aynı zamanda, inflamasyonu, hücre poliferasyonunu, doku rejenerasyonunu da düzenlemektedir. (Christopher vd., 2020). Apoptoz enerjiye bağımlı ve fizyolojik bir olaydır (Şekil 2.5).



Şekil. 2.5. Apoptotik Hücre Ölümü Aşamaları Diyagramı (<https://www.genome.gov/genetics-glossary/apoptosis>)

Başlatıcı kaspazları aktive ederek apoptozu harekete geçiren çeşitli mekanizmalar olmasına rağmen, bunlardan iki tanesi daha detaylı olarak açıklanabilmiştir (Şekil 2.6). Bunların birincisi, hücre yüzeyindeki ligand bağlanmasını apoptoz indüksiyonuna bağlayan tümör nekroz faktörünü içeren (TNF, tümör nekroz faktörü) ölüm reseptörleri yolağıdır (dışsal yolak). İkincisi ise kaspaz aktive edici proteinleri sitozole salarak apoptozu tetikleyen mitokondriyal yolaktır (içsel yolak). Şekil 2.5'te apoptozla beraber hücre morfolojisinde oluşan değişimler gösterilmiştir. Bu mekanizma, hücrelerin kontrollü bir şekilde kendini imha etmesini içerir (Poon vd., 2014).

	<i>C. elegans</i>	<i>D. melanogaster</i>		Mammals	
		Intrinsic	Extrinsic	Intrinsic	Extrinsic
Apoptosis promoter	EGL-1	Debcl	Wengen/Eiger	Bax BH3-only proteins	Fas/FasL TNFR1/TNF- α DR4,5/TRAIL
Inhibitor	CED-9	Buffy (?)		Bcl-2, Bcl-x _L	FLIP
Adaptor	CED-4	Dark	dFADD	Apaf-1	FADD TRADD
Initiator caspase	CED-3	Dronc	Dredd	Caspase-9	Caspase-8
Caspase inhibitor		Diap-1	Diap-1	IAP	IAP
Inhibitor of IAP		Reaper, Grim, Hid	Reaper, Grim, Hid	Smac/Diablo Omi/HtrA2	Smac/Diablo
Effector caspase	CED-3	Dcp-1, Drice	Dcp-1, Drice	Caspase-3, caspase-7	Caspase-3, caspase-7

Şekil. 2.6. Apoptotik yolun evrimsel korunumu (Lawen, 2003).

Ayrıca, kaspazların ötesinde, çeşitli düzenleyici proteinler ve sinyal yolları apoptozun başlatılması ve gerçekleştirilmesini sıkı bir şekilde kontrol eder. Bu yollar genellikle büyüme faktörleri, hormonlar veya hücrel stres gibi hücre dışı sinyalleri entegre eder ve hücrel hayatta kalma ile programlanmış ölüm arasındaki kararı modüle eder. Ek olarak, apoptoz yalnızca istenmeyen veya hasarlı hücrelerin ortadan kaldırılması için değil, aynı zamanda gelişim sırasında dokuların şekillenmesi ve yetişkinlikte doku homeostazının sürdürülmesi için de önemlidir. Apoptozun düzensizleşmesi patolojik durumlara yol açabilir ve bu nedenle, karmaşık moleküler mekanizmalarını anlamının önemi terapötik müdahaleler geliştirmek için büyüktür. Sonuç olarak, devam eden araştırmalar apoptozun düzenlenmesinin karmaşıklıklarını açığa çıkarırken, anormal hücre ölüm süreçleri ile karakterize edilen hastalıkların tedavisinde yeni terapötik stratejiler için potansiyel hedefler sunmaktadır (Fadeel, 2005). Hayvan evrimi boyunca apoptozun temel yolları korunmuştur, ancak evrimin ilerlemesi ile daha fazla aktör evrimleşmiştir (Şekil 2.6). Bu nedenle, solucanda CED-3, başlatıcı ve icracı kaspaz olarak hareket ederken, bu fonksiyonlar memelilerde farklı kaspazlar tarafından gerçekleştirilir (Lawen, 2003). Apoptotik hücre ölümüne yol açan iki temel moleküler sinyalleme yolu vardır. Apoptozun içsel yolu, B-hücre lösemi/lenfoma 2 (Bcl-2) protein ailesinin üyeleri ve ardışık mitokondriyal sinyaller tarafından hücre içinden başlatılan bir süreçtir. Buna karşılık, dışsal yolda ise, proapoptotik ligandlar özelleşmiş hücre yüzeyi ölüm reseptörleri (DR'ler) ile etkileşime girerek aktive edilir. Her iki yol da apoptotik hücre ölümüne yol açan çeşitli proteolitik olayları düzenleyen enzimatik kaspaz kaskadını aktive etmek üzere bir araya gelir (Ashkenazi, 2002).

2.6.1. İntrinsik (İçsel) Apoptozis

İntrinsik (içsel yolak) apoptozis adaptör protein olan Apaf-1 ve mitokondriden sitozole geçen sitokrom c'nin sitozole salınması ile aktif olmayan kaspaz-9'un aktif kaspaz-9'a dönüşümü ile başlarken, ekstrinsik (dışsal yolak) apoptozis sırasında Fasl ve TNF- α 'nın hücre zarında bulunan Fas ve TNF reseptörüne bağlanması ile aktif olmayan kaspaz-8'in, aktif kaspaz-8'e dönüşmesi ile başlar. İntrinsik yolda meydana gelen aktif kaspaz-9 ve ekstrinsik yolda aktif hale gelen kaspaz-8'in her ikisi de sırasıyla, önce kaspaz-3'ü, sonra kaspaz 6 ve 7'yi aktive eder (Reed, 2000).

İçsel apoptozu aktive edici sebepler arasında, endoplazmik retikulum stresi, mitokondriyal hasar, onkojene bağlı olarak gelişen hücre ölümü, büyüme faktörü uyarınları eksikliği ve DNA hasarı sayılabilir. İçsel apoptotik yolda önemli rol oynayan Bcl-2 protein ailesi hem pro-apoptotik hem de anti-apoptotik özelliklere sahiptirler. Ayrıca Bcl-2 ailesi üyeleri, hücrenin

mitokondriyal apoptoza girip girmeyeceğinin kararının verilmesinde önemli bir rol oynayan düzenleyici proteinlerdir (Reed., 2000).

Bugüne kadar insanlarda 20 Bcl-2 aile üyesi belirlenmiştir. Bu ailenin üyeleri kendi aralarında homo ve heterodimerler oluşturarak, hücrenin yaşaması veya ölmesi kararı, bu aile üyeleri arasındaki dengeye bağlı olarak düzenlenmektedir. Bcl-2 protein ailesi üyelerinin düzeyinde meydana gelen bir artışa, hücre çekirdeğinde oluşan genomik değişiklikler sebep olabilir. Bcl-2 proteini homoloji alanları (BH1, BH2, BH3 ve BH4) ve alfa sarmalını içerir. BH3 alanı, apoptozisten sorumlu olan alandır (Celepli vd., 2000).

Bcl-2 ailesi, içerdiği homoloji (BH) alanlarına göre 3 farklı protein grubuna ayrılmaktadır. Birinci protein grubu: Anti-apoptotik etkiye sahip olan Bcl-2 proteinleri, Bcl-xl, Mcl1, Bcl-w ve AL bu grupta yer almaktadır ayrıca bütün BH (BH1, BH2, BH3, BH4) alanlarını içermektedir. Bu grup proteinleri mitokondri zarında yer alan Bax ve BAD pro-apoptotik proteinleri engelleyerek apoptozu önlemektedir (Celepli vd., 2000).

İkinci protein grubu: pro-apoptotik etkiye sahip Bcl-2 proteinleridir. Bax, Bak ve Bok gibi proteinler bu grupta yer alırken, aynı zamanda 3 tane homoloji alanı (BH1, BH2, BH3) içermektedirler. Pro-apoptotik etkiye sahip bu protein grubu mitokondrinin dış zarındaki geçirgenliğinin artmasına etki ederek, apoptotik faktörlerin sitozole salınımını gerçekleştirmektedirler (Celepli vd., 2000).

Üçüncü protein grubu: pro-apoptotik etkiye sahip olan Bcl-2 ailesi proteinleridir. Bu gruptaki proteinler, sadece BH3 homoloji alanı içerirler. Bax ve/veya Bak ile doğrudan etkileşime girerek yapısal değişikliklere sebep olabilmektedirler. Mitokondriyal dış zar geçirgenliği (MOMP) için bu proteinlerin olması gereklidir (Örnek bazı proteinler Bid, Bim, Puma, Noxa) (Celepli vd., 2000).

Pro-apoptotik efektör proteinler olan Bax ve Bak, hücrenin dış mitokondriyal zarıda gözenekler oluşturma yeteneğine sahiptirler. Bax ve Bad proteinleri eksprese olur ve Apaf-1 molekülüne bağlanır. Hücre hasarı meydana geldiğinde Apaf-1 serbestleşir ve Momp artar. Momp'ın artmasına bağlı olarak mitokondriden sitokrom c, sitozole salınırken, serbest kalan sitokrom c ve Apaf-1, kaspaz-9 molekülüne bağlanmaktadır. Sitokrom c, Apaf-1, kaspaz-9 ve ATP'den oluşan koplekse apoptozom denir. Apoptozom'un oluşması ile beraber kaspaz kaskadı başlatılmış olur. Pro- apoptotik ve anti-apoptotik proteinler tarafından, Momp'un artışı düzenlenmektedir (Celepli vd., 2000).

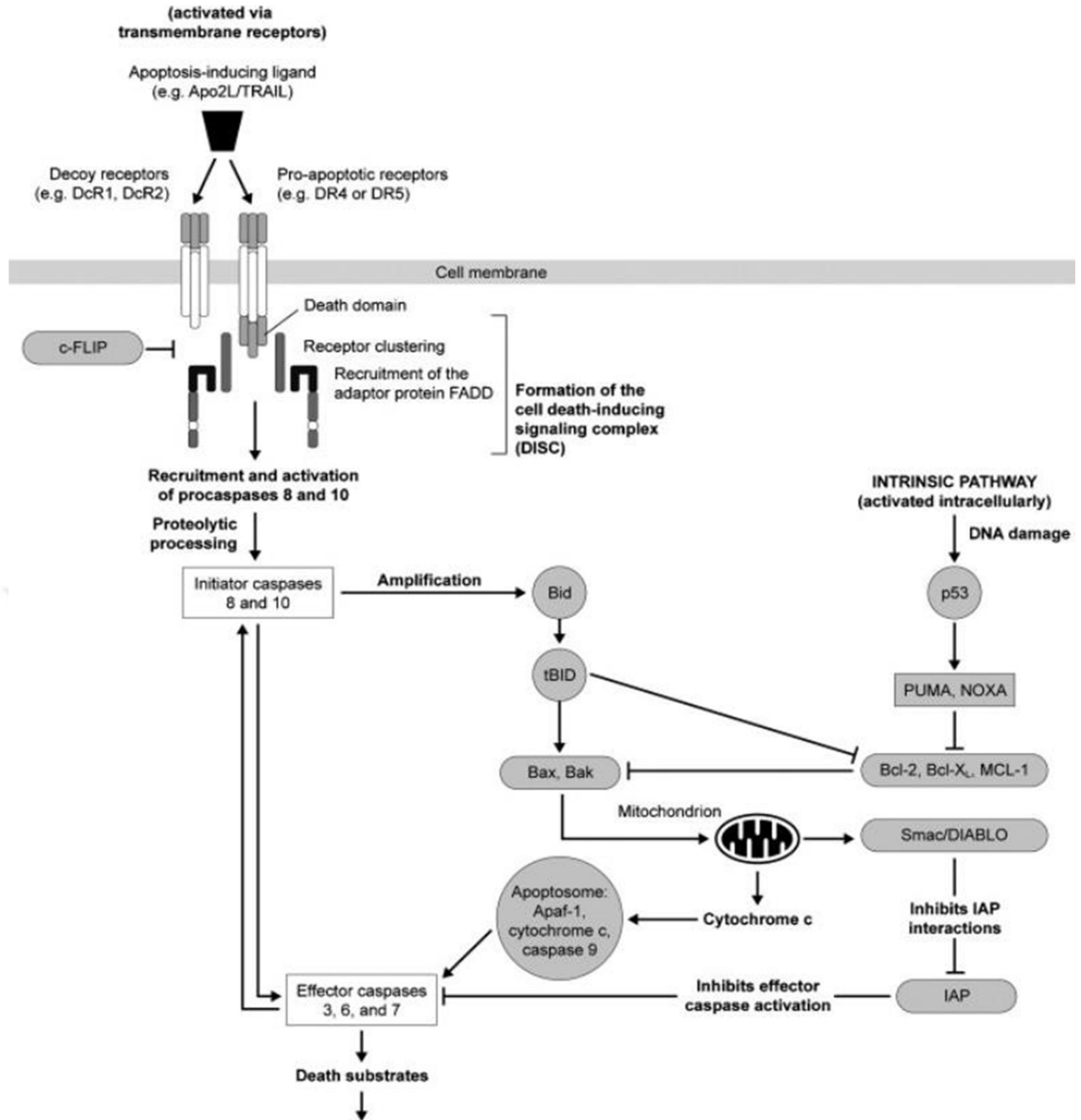
2.6.2. Ekstrinsik (Dışsal) Apoptozis

Dışsal yol, apoptozun Ölüm Reseptörü yolu olarak ta adlandırılmaktadır. (The death

reseptör pathway) Doğal öldürücü hücreler (Natural killer) aktive edilmiş T hücreler ve makrofajlar tarafından hedef hücre zarındaki ölüm reseptörlerine bağlanarak kaspaz 8 yolu ile başlatılmaktadır (Kim vd., 2004). TNF (tümör nekroz faktörü) süper ailesi üyeleri olan ölüm reseptörleri, birkaç üyeden oluşmaktadır ve her ölüm reseptörü kendisine uygun bir ölüm ligandına sahiptir (Bossen vd., 2006). Ölüm ligandının, ölüm reseptörüne bağlanmasıyla kaspaz 8 aktivasyonu gerçekleşmiş olur (Şekil 2.7). Böylece kaspaz 8 ölüm aktive edici alanı (DED: death-inducing domain) vasıtasıyla liganda bağlı ölüm reseptörünün sitoplazmik alanında bulunan ölüm aktive edici sinyal kompleksine (DISC: death inducing signal coplex) alınmaktadır. Burada prokaspaz 8'in etkileşimini artıran, TNF reseptörü veya FAS ile ilişkili ölüm alanı olarak bilinen bir adaptör proteini içermektedir. (Kim vd., 2004)

Aktivasyon sırasında, her bir reseptör adaptör Fas ile ilişkili ölüm alanı (FADD) ve prokaspaz 8 ve 10'u çeker ve böylece ölüm indüklenme sinyal kompleksi (DISC) oluşturulur (Kischkel vd., 2000; 2001). Bu rekrütman, kaspaz 8 ve 10'un yakınsaklık nedenli aktivasyonuna yol açar. Bu enzimler daha sonra uygulayıcı kaspazlar 3, 6 ve 7'yi aktive ederler ve böylece hücre ölümüne yol açan proteinlerin ve hücre iskeletinin imhası başlatılmış olur. Dışsal ve dahili güçler etkileyici kaspazların seviyelerinde birleşir ve iki yol arasında etkileşim olabilir (LeBlanc vd., 2002).

Apo2L/TRAIL yolu, birçok kanser hücresinde sağlam olduğundan ve p53'den bağımsız olarak hareket ettiğinden kanser tedavisi için önemli bir potansiyele sahiptir. Bu nedenle, DR4 ve/veya DR5'i üreten pro-apoptotik reseptör agonistleri (PARA'lar), standart iyileştirme ajanlarına dirençli olan tümörleri yok etmekten klinik fayda sağlama potansiyeline sahiptir (Ashkenazi vd., 1999). Bu PARA'lar, kanser seçiminde seçici olarak apoptoz indüklenirken normal sistemden farklı olarak korunabilir (Fesik, 2005).



Şekil. 2.7. Ekstrinsik (Dışsal) ve İntrinsik (içsel yolak) Apoptozis yol diagram (Ashkenazi vd.,1999).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Cihazlar

I. Laminar Akışlı Steril Kabin (Nuanre) hücre kültüründe olası kontaminasyon risklerinin en aza indirgenmesi için hücre kültürü çalışmalarının ve kimyasal çözeltilerin hazırlanmasında kullanılmıştır.

II. Buzdolabı -80 (Thermo Scientific) kimyasal ve numunelerin uzun süreli saklanması için kullanılmıştır.

III. Pipet seti (Eppendorf) hassas ölçümlerin yapılmasında ve deney setlerinin kurulmasında kullanılmıştır.

IV. PZR cihazı (Biorad) primerlerin TM sıcaklıklarının belirlenmesinde kullanılmıştır.

V. Gen ekspresyon düzeylerinin belirlenmesi için qPCR analizleri Light Cycler 480 cihazında gerçekleştirilmiştir.

VI. Mikroskop (Olympus) hücrelerin sağlıklarının kontrol edilmesinde ve hücre sayımının yapılmasında kullanılmıştır.

VII. MikroSantrifüj (Berkman) hücrelerin pasajlanması veya besi ortamından uzaklaştırılması için kullanılmıştır.

VIII. Epoch Mikroplaka Spektrofotometre (Bio Tek) RNA saflığının belirlenmesinde ve protein miktarının tayin edilmesinde kullanılmıştır.

3.2. Kimyasallar ve Kitler

1. PPMI 1640, Stable Glutamin ile (CaPRICORNSCI)
2. FBS (CAPRICORN FBS-HI-11A)
3. Penisilin-Streptomisin (pen-strep, 10.000 U/ml) (Thermo Fisher Scientific) hücre kültür ortamının oluşturulmasında kullanılmıştır.
4. PBS1X
5. Trypsin 0,05 % / EDTA 0,53 mm in HBSS1X (WISSENT MULTICELL) hücrelerin pasajlanması aşamasında kültür ortamından hücrelerin uzaklaştırılması için kullanılmıştır.
6. RNA izolasyonu aşamasında NucleoZol, one phase RNA purification (MACHEREY NAGEL) RNA izolasyon kiti kullanılmıştır. cDNA sentezinde, Script cDNA synthesis Kit (Bio-Rad) kullanılmıştır.
7. Primerler, (Sentebiolab) istenilen gen bölgesinin çoğaltılmasında kullanılmıştır.
8. Blas Taq2x qPCR MasterMix (Applied Biological Materials) qPCR reaksiyonunun gerçekleştirilmesinde kullanılmıştır.

9. Dimetil Sülfoksit (DMSO) (Cryo-Sure) cell culture grade (BİOMATİK) DSF'in çözdürülmesinde kullanılmış ve toksik etkisinden dolayı deney aşamalarında kontrol grubuna eklenmiştir.

3.3. Hücre Kültürü

İnsan over kanser hücre hattı SKOV-3, Doç. Dr. Sevgi İRTEGÜN KANDEMİR'den temin edilmiştir. SKOV-3 hücreleri, %10 inaktif edilen fetal sıgır serumu (FBS, Gibco, ABD), 50 IU/mL penisilin (Gibco, ABD) ve 50 mg/mL streptomisin (Gibco, ABD) içeren L-glutaminli Roswell Park Memorial Institute (RPMI 1640, Gibco, ABD) besiyerinde 37 °C'de %5 CO₂ inkübatörde kültüre edilmiştir. Hücrelerin pasajlanması sırasında hücreler fosfat tuzlu çözelti (PBS) ile yıkanmış ve süpernatant uzaklaştırılmıştır. Daha sonra, hücrelerin flask yüzeyinden kaldırılmaları tripsin- etilendiamin tetraasetik asit (%0,25 tripsin/1mM EDTA, Gibco, ABD) solüsyonu ile 37 °C'de 2-3 dakika muamele edilmeleri ile sağlanmıştır.

3.4. Hücre Canlılığının MTT Yöntemi ile Belirlenmesi

Tarantula cubensis alkolik ekstraktı olan Theranekron (THR), eczaneden ticari olarak temin edilmiştir. THR'un SKOV-3 hücrelerinde hücre canlılığı üzerine olan etkisi geleneksel kolorimetrik bir yöntem olan MTT ile belirlenmiştir. Yetmişbeş cm²'lik hücre kültür kaplarında, kültürü yapılmış olan SKOV-3 hücrelerinin sayısının tespiti için tripan mavisi (1/1 oranında) kullanılmıştır. Tripan mavisi boyasını almayan hücreler canlı, boyayı alan hücrelerin ölü olduğu kabul edilen bu testte, hemositometre lamında μ l başına düşen canlı hücre sayısı hesaplanmıştır. Daha sonra 96 kuyucuklu plaklara (96 well plate) SKOV-3 hücreleri, besiyeri içerisinde her bir kuyuya 90 μ l hacimde 4×10^4 olacak şekilde pipetle dağıtılmıştır. SKOV-3 hücreleri yapışkan hücreler olduğu için plate yüzeyine tutunmaları için 24 saat bekletilmiştir. THR için belirlenen konsantrasyonlarda ve %5'lik DMSO (kuyucuğa eklendiği zaman konsantrasyonu % 0,5 olmaktadır) her kuyuya 10 μ l olacak şekilde hücrelere uygulanmış ve sonrasında 37 °C'de %5 CO₂ inkübatörde inkübasyona bırakılmıştır. 24 saat, 48 saat ve 72 saat sonra 5mg/mL MTT solüsyonundan her bir kuyucuğa 10 μ l eklenmiştir. Hücreler 2-4 saat inkübe edildikten sonra kuyucuklara 100 μ l MTT lizis solüsyonu (%10 SDS, 0,03 N HCl) ilave edilmiştir. Hücreler, gece boyunca 37 °C'de %5 CO₂ inkübatörde inkübasyona bırakılmış ve ertesi gün sabah EPOCH plate reader ile 570 nm ve 690 nm absorbans değerlerinde spektrofotometrik ölçüm yapılmıştır. Elde edilen absorbans değerleri % canlılık olarak hesaplanmıştır. Kontrol grubundan elde edilen değer %100 canlılık olarak alınmış ve diğer konsantrasyonlar (25, 50, 60, 70, 80, 90 ve 100) kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. Her bir

konsantrasyon için hücre sağ kalım oranı hesaplanmıştır. Deney seti her seferinde 3 tekrarlı olacak şekilde yapılmış ve her deney seti en az 3 farklı zamanda tekrarlanarak elde edilen sonuçların tutarlılığı doğrulanmıştır.

3.5. Total RNA İzolasyonu

THR ile inkübe edilen Skov-3 hücrelerinden 24, 48 ve 72 saatin sonunda 1.5×10^6 hücre toplandı. İnkübasyonun ardından RNA izolasyonu NucleoZOL reaktifi kullanılarak gerçekleştirildi. Hücreler santrifüj edilerek PBS ile yıkandı ve yıkanan bu hücrelerin üzerine 500 µl NucleoZOL ve 200 µl RNaz / DNaz içermeyen su ilave edildi. Tüpler 15 saniye boyunca kuvvetlice çalkalandı ve oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edildikten sonra 12.000 g'de 15 dakika santrifüj edildi. Süpernatant 500 µl alınarak yeni eppendorf tüpüne aktarıldı. Aktarılan süpernatantın üzerine 500 µl izopropanol eklendi ve oda ısısında 10 dakika bekletildi. Daha sonra tüpler 12.000 g'de 10 dakika santrifüj edilerek süpernatant atıldı ve pellete %75'lik etanolden 500 µl eklendi. Tüpler 8.000 g'de 3 dakika santrifüj edildikten sonra süpernatant atıldı ve pellet kurumaya bırakıldı. Kuruyan pellet üzerine 30 µl DNaz/ RNaz içermeyen su eklendi. Elde edilen RNA'ların miktarlarının saflığının belirlenmesinde Epoch mikropilaka spektrofotometre kullanıldı. Çözülmüş RNA örneğinden 2 µl alınıp 0,2 µl'lik steril eppendorf tüp içinde son hacim 4 µl olacak şekilde DNaz/ RNaz içermeyen su ile tamamlandı. Spektrofotometrede OD260 ve OD280 değerleri ölçüldü. OD260 ve OD280 değerlerinin oranı hesaplanarak RNA'nın saflığı belirlendi. Elde edilen RNA örnekleri -80°C 'de saklandı.

3.6. cDNA Sentezi

cDNA sentezi BioRad iScript cDNA sentez kiti kullanılarak gerçekleştirildi. Reaksiyon bileşenleri Çizelge 3.1'te verildiği şekilde hazırlanarak Çizelge 3.2'te verilen PCR koşullarına bırakılmıştır.

Çizelge 3.1. cDNA PCR mix bileşenleri (µL) 1 örnek için

Reaktif	Hacim (µL)
10X RT Buffer	2
25X dNTP mix	0,8
Nuclease-free water	4,2
Toplam reaksiyon	7

Çizelge 3.2. BioRad iScript PCR basamakları

Adımlar	Sıcaklık	Dakika
1. Adım	25 ^o C	5
2. Adım	46 o _C	20
3. Adım	95 o _C	1
4. Adım	4 o _C	-

3.7. Eş-Zamanlı Kantitatif PCR (qPCR)

Kantitatif Eş-Zamanlı PCR (qPCR) reaksiyonları için Light Cycler 480-II (Roche) cihazı kullanıldı ve qPCR reaksiyonu üretici firma tarafından sağlanan İScript Reverse Transkripsiyon kit (BioRad) protokolüne uygun olarak gerçekleştirildi. Elde edilen cDNA'lar -80 ^oC'de saklandı. Elde edilen cDNA'lar SYBR Green qPCR Mastermix protokolüne uygun olarak 96 kuyucuklu plakalarda spesifik primerler ile çoğaltıldı. qPCR analizi sonucunda elde edilen Cq değerleri 2^{-ΔΔCt} metodu kullanılarak ilgili gen ifadelerinin belirlenmesinde hesaplandı. *BAX* ve *BCL-2* genlerinin mRNA ifadelerinin tespitinde kullanılan primerlere ait sekanslar sırasıyla F: GAGGTCTTTTCCGAGTGG, R: AAAGTAGAAAAGGGCGACAAC ve F: CGCCCTGTGGATGACTGAGT, R: GGGCCGTACAGTTCCACAA'dir. İnternal kontrol olarak kullanılan Hipoksantin Guanin Fosforibozil Transferaz (HPRT)'e ait primer sekansı ise F: TGACACTGGCAAAACAATGCA ve R: GGTCTTTTCACCAGCAAGCT'dir.

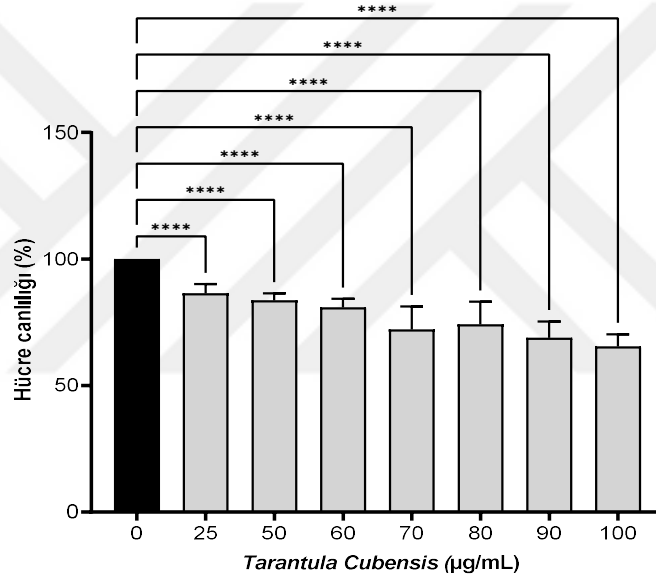
3.8. İstatiksel Analiz

Elde edilen MTT sonucuna ait verilerin istatiksel değerlendirilmesinde, bir parametre açısından ikiden fazla grup arasındaki anlamlı farkların belirlenmesinde One Way Anova-posthoc (Tukey) kullanılmıştır. qPCR sonuçlarının ise istatiksel değerlendirilmesinde bir parametre açısından iki grup arasındaki anlamlı farkların belirlenmesinde bağımsız örneklem Student (unpaired) t-test kullanıldı. p<0.05 değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Tüm grafiklerde kullanılan hata çubukları standart sapma (SD)'yı göstermektedir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

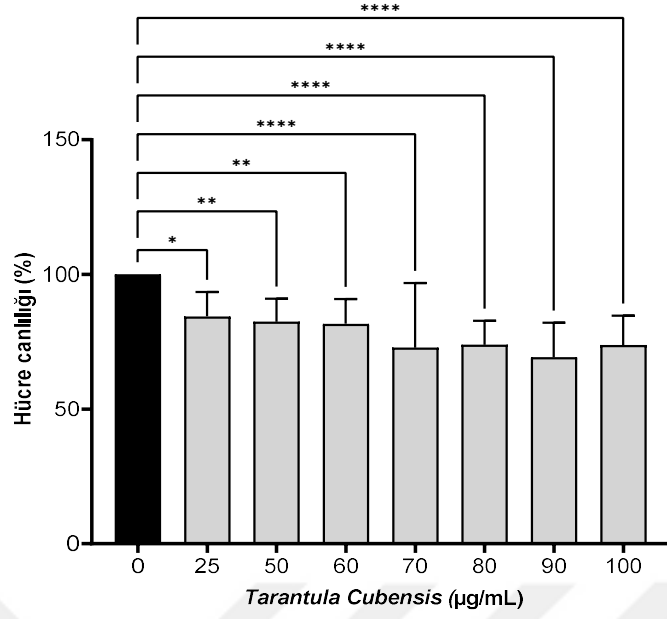
4.1. THR ile 24 saat Muamele Edilen SKOV-3 Hücrelerinde Hücre Canlılığı

THR'un doza ve zamana bağlı olarak hücre canlılığı üzerine olan etkisinin belirlenmesi için öncelikle Skov-3 hücreleri THR'un farklı dozları ile 24, 48 ve 72 saat boyunca muamele edilmiştir. MTT analiz sonuçları, kontrol grubu verileri baz alınarak yüzdelik üzerinden hesaplanmıştır. THR'un farklı konsantrasyonlarda (25, 50, 60, 70, 80, 90 ve 100 µg/mL) 24 saatlik muamelesinden sonra elde edilen MTT sonuçları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, Skov-3 hücrelerinde canlılık oranları sırasıyla %86, %84, %81, %72, %74, %69 ve %65 olarak saptanmıştır (Şekil 4.1).



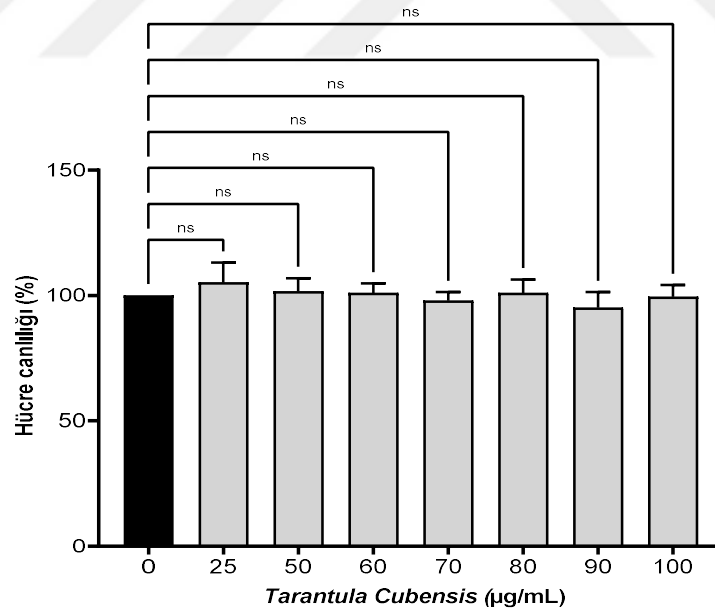
Şekil 4.1. Skov-3 hücrelerinde 24 saat THR muamelesi sonrası hücre canlılığı

THR ile 48 saat muamele edilen Skov-3 hücrelerinde canlılık oranları ise sırasıyla %84, %82, %82, %73, %74, %69 ve %74 olarak saptanmıştır (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Skov-3 hücrelerinde 48 saat THR muamelesi sonrası hücre canlılığı

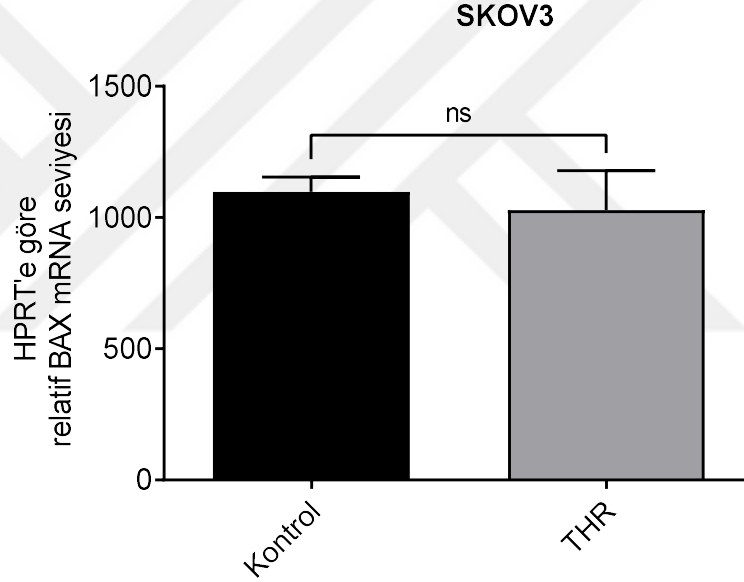
İlginç olarak, Skov-3 hücrelerinin THR ile 72 saat muamele edilmesi, bu hücrelerde canlılık oranları üzerine etki etmediğini göstermiştir (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. Skov-3 hücrelerinde 72 saat THR muamelesi sonrası hücre canlılığı

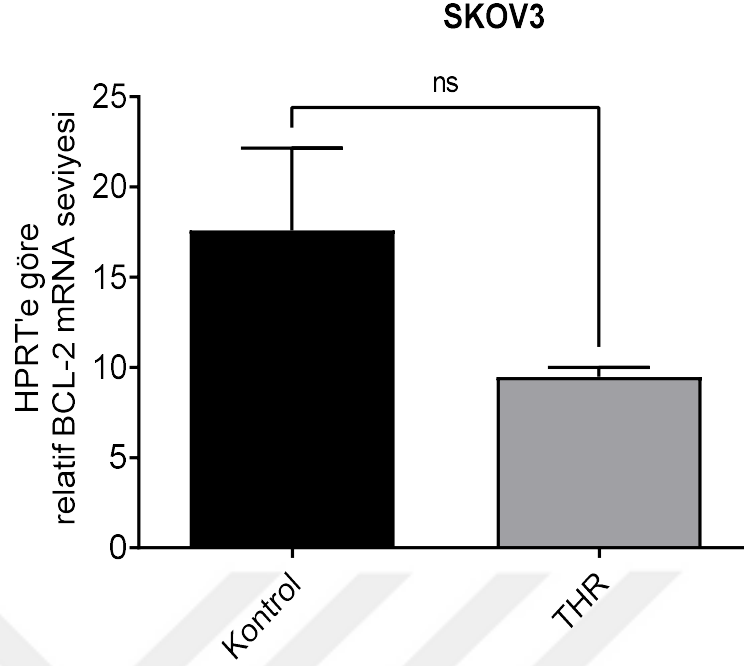
4.2. THR ile 48 saat Muamele Edilen SKOV-3 Hücrelerinde *BAX* ve *BCL-2* mRNA Seviyeleri Üzerine Etkisi

Skov-3 hücrelerinde 48 saat THR uygulamasının programlı hücre ölümü olan apoptoz yolağında önemli rol oynayan *Bax* ve *Bcl-2* genlerinin mRNA ekspresyon düzeyleri üzerine etkisi qPCR ile araştırıldı. Üç farklı zamanda THR (80) ile 48 saat muamele edilen Skov-3 hücrelerinden total RNA izolasyonu yapıldı. Elde edilen RNA'lerden cDNA'lar sentezlenerek kontrol ve THR uygulanan grupta qPCR yöntemi ile *Bax* ve *Bcl-2* genlerinin mRNA ekspresyon düzeyleri belirlendi. qPCR sonuçlarına göre 48 saat THR uygulamasının Skov-3 hücrelerinde *BAX* geninin mRNA ifadesinde bir değişikliğe yol açmadığı gözlemlendi (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. THR ile 48 saat muamele edilen Skov-3 hücrelerinde *Bax* mRNA seviyesi.

Mitokondrinin dış zarında lokalize bulunan ve hücresel hayatta kalmanın desteklenmesinde ve pro-apoptotik proteinlerin aktivasyonlarının engellenmesinde önemli bir rol oynayan Bcl-2 (B hücreli lenfoma 2)'nin mRNA ifadesinin ise 48 saat THR uygulamasının ardından Skov-3 hücrelerinde kontrole kıyasla bir azalış gösterdiği anlaşılmıştır. Ancak, bu azalış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. THR ile 48 saat muamele edilen Skov-3 hücrelerinde *Bcl-2* mRNA seviyesi

Yapılan bu tez çalışmasında, Skov-3 hücreleri *Tarantula cubensis* alkol ekstraktı olan THR ile 24 saat, 48 saat ve 72 saatlik muamele edilmiştir. MTT sonuçlarına göre THR, Skov-3 hücrelerinde 24 ve 48 saat boyunca hücre canlılığını en yüksek dozda yaklaşık %40 azaltırken; 72 saat boyunca THR ile muamele edilen Skov-3 hücrelerinde herhangi bir sitotoksosite gözlemlenmemiştir. Çalışmamızla paralel olarak, son zamanlarda yapılan bir çalışmada, 24 saatlik THR tedavisinin androjen bağımlı prostat kanser hücrelerinde hücre döngüsü ile ilişkili siklin A2, siklin B1 ve siklin E1'in protein seviyelerini doza bağlı bir şekilde önemli ölçüde azaltarak hücre canlılığını önemli ölçüde azalttığını göstermiştir (Erzurumlu vd., 2023). Farklı bir çalışmada ise *Tarantula cubensis*'in diğer bir alkolik ekstraktı TCAE'nin prostat kanser hücreleri üzerinde 24 saat boyunca uygulanmasının %30-40 oranında hücre canlılığını ve proliferasyonu azalttığı belirtilmiştir (Gül, 2021). Diğer bir çalışmada ise mide kanseri hücrelerinde THR'un anlamlı sitotoksik etkisinin 6. saatte olduğu tespit edilmiştir (Yenigün vd., 2021). Ayrıca, yapılan bu çalışmada THR'un metastatik AGS ve metastatik olmayan MKN-45 insan mide kanseri hücrelerinde otofajiyi uyardığı belirlenmiştir (Yenigün vd., 2021). Özetle, bu tez çalışması sonucunda ve literatür ile uyumlu olarak THR'un potansiyel bir anti-kanserojen ajan olarak değerlendirilebileceğini destekleyen veriler elde edilmiştir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Ovaryum kanseri tüm dünyada kadınlarda dördüncü en sık görülen kanser çeşididir. Hormonal faktörler, yaş, genetik faktörlerle ilişkili çeşitli faktörler over kanserinde önemli bir etkiye sahiptir. Tedavisinde ise cerrahi müdahale başta olmak üzere, kemoterapi, radyoterapi ve immünoterapi gibi çeşitli tedavi yöntemleri kanserin evresine göre seçilip uygulanmaktadır. Ancak, bu tedavi seçenekleri uygulamalarında karşılaşılabilen cerrahi komplikasyon riski, ilaç yan etkileri ve ilaç direnci gibi birçok istenmeyen sonuçları da beraberinde getirebilmektedir. Bu nedenle kanser tedavisinde olası yan etkileri en aza indirmek için yeni tedavi yöntemleri arayışı sürdürülmektedir. Theranekron (THR), *Tarantula cubensis*'in %60'lık alkolik ekstraktıdır. THR, ticari olarak eczanelerden temin edilebilmekte ve veteriner hekimlikte homeopatik bir ilaç olarak kullanılmaktadır. Bu ilacın anti-inflamatuar ve nekrotizan etkilerinin olduğu bilinmektedir. Bu ilaçla ilgili ilk araştırma yara iyileşmesi üzerine yapılmış ve epitelizasyonu uyardığı ve hızlandırdığı tespit edilmiştir. Daha sonraki bazı çalışmalarda dişi hayvanlar üzerinde THR'un ineklerde doğum sonrası uterus rejenerasyonunu hızlandırdığı tespit edilmiştir. Ayrıca THR'un köpek meme kanserlerinde kanser hücrelerinin proliferasyonunu durdurduğu belirlenmiştir (Gültiken ve Vural, 2007).

Sonuç olarak bu tez çalışmasında, Skov-3 hücre hattında THR'un farklı konsantrasyonlarında ve farklı süre zarflarında sitotoksik etkisi MTT yöntemi ile teyit edilmiştir. MTT sonuçlarına göre THR, Skov-3 hücrelerinde 24 ve 48 saat boyunca hücre canlılığını yaklaşık %40 azaltarak sitotoksik etki göstermiştir. Skov-3 hücrelerinin 48 saat THR ile muamelesinin ardından yapılan qPCR analizleri sonucu *Bcl-2* mRNA ifadesinin kontrole kıyasla bir azalış gösterdiği ancak bu azalışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı anlaşılmıştır. İlaveten THR ile muamele edilen Skov-3 hücrelerinde *Bax* geninin mRNA ifadesinde bir değişim saptanmamıştır.

THR'un klinik veterinerlik alanında anti-kanserojen etkileri son dönem yapılan çalışmalarda kanıtlanmış olmasına rağmen, insan kanser türleri üzerindeki etkisi ve etki mekanizmaları günümüzde tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır. THR'un kolon meme, mide ve beyin tümörleri üzerindeki anti-toksik etkileriyle ilgili çeşitli çalışmalar yapılmış olmasına rağmen over kanserindeki etkilerine dair yeterince etkin çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızın sonuçları, THR'nun over kanserinde tek başına yeterli etkiye sahip olmayacağını düşündürmektedir. Fakat günümüz tedavileri ile kombinasyon halinde kullanıldığında, tedavi etkinliğini artırabilir, tedavide kullanılan ilaç dozlarını düşürebilir veya yan etkilerinin azalmasına katkı sağlayabilir. Bu bağlamda, Skov-3 hücrelerinde THR aracılı

sitotoksitenin ve apoptozun altında yatan moleküler mekanizmaların daha fazla araştırılması gerekmektedir.



KAYNAKLAR

- Abedin, M. J., Wang, D., McDonnell, M. A., Lehmann, U., Kelekar, A. (2007). Autophagy delays apoptotic death in breast cancer cells following DNA damage. *Cell Death and Differentiation*, 14(3), 500-510. <https://doi.org/10.1038/sj.cdd.4402039>.
- Adsit-Morris, C. (2015). *The nomadic wanderings of a bag-lady and her space chums: re-storying environmental education with feral figurations* (Doctoral dissertation, University of British Columbia). <https://dx.doi.org/10.14288/1.0166649>.
- Afşin, Y., Kamalak, Z., ve Ekinçi, A. (2022). Over kanserinde güncel yaklaşımlar ve tedavi yöntemlerinin değerlendirilmesi. *IKSAD publishing house*. <https://iksadyayinevi.com/wp-content/uploads/2023/01/OVER-KANSERINDE-GUNCEL-YAKLASIMLAR-VE-TEDAVI-YONTEMLERININ-DEGERLENDIRILMESI.pdf>.
- Akbulut, H. (2007). *Kanserde gen tedavisi*. Tıbbi Onkoloji Ders Kitabı. Ankara: *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları*.
- Alves, R. R. N., ve Albuquerque, U. P. (2012). Animals as a source of drugs: bioprospecting and biodiversity conservation. in animals in traditional folk medicine: *implications for conservation* (Pp. 67-89). Berlin, Heidelberg: *Springer Berlin Heidelberg*. https://doi.org/10.1007/978-3-642-29026-8_5.
- Ashkenazi, A. (2008). Targeting the extrinsic apoptosis pathway in cancer. *Cytokine and Growth Factor Reviews*, 19(3-4), 325-331. <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2008.04.001>.
- Ashkenazi, A., Dixit, V. M. (1998). Death receptors: signaling and modulation. *Science*, 281(5381), 1305-1308. <http://doi.org/10.1126/science.281.5381.1305>.
- Ashkenazi, A., Pai, R. C., Fong, S., Leung, S., Lawrence, D. A., Marsters, S. A., Schwall, R. H. (1999). Safety and antitumor activity of recombinant soluble Apo2 ligand. *The Journal of Clinical Investigation*, 104(2), 155-162.
- Baykara, O. (2016). Kanser Tedavisinde Güncel Yaklaşımlar. *Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi*, 5(3), 154-165.
- Bewtra, C., Watson, P., Conway, T., Read-Hippee, C., Lynch, H. T. (1992). Hereditary ovarian cancer: a clinicopathological study. *International journal of gynecological pathology*, 11(3), 180-187.
- Bordon, K. D. C. F., Cologna, C. T., Fornari-Baldo, E. C., Pinheiro-Júnior, E. L., Cerni, F. A., Amorim, F. G., ve Arantes, E. C. (2020). From animal poisons and venoms to medicines: achievements, Challenges and perspectives in drug discovery. *Frontiers in Pharmacology*, 11, 1132. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.01132>.
- Bossen, C., Ingold, K., Tardivel, A., Bodmer, J. L., Gaide, O., Hertig, S., Ambrose, C., Tschopp, J., ve Schneider, P. (2006). Interactions of tumor necrosis factor (TNF) and TNF

receptor family members in the mouse and human. *The Journal of Biological Chemistry*, 281(20), 871-877.

- Çağavi, E., ve Güzel, M. (2021). Özgün metil jasmonat mimetiklerinin hücre canlılığı üzerine etkinliklerinin insan akciğer ve ovaryum kanser hatlarında incelenmesi (*Master's Thesis, İstanbul Medipol Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*).
- Çalikuşu, Z. (2019). Kanserde immünoterapi yan etkileri ve yönetimi. *dergipark.gov.tr* 10(2):142-147 <https://doi.org/10.31067/0.2019.136>
- Celepli, S., Bigat, İ., Celepli, P., Karagin, P.H., (2000). Apoptoz ve apoptotik yolların gözden geçirilmesi. *Güncel Gastroentoloji* 24/3
- Charvat, R. A., Strobel, R. M., Pasternak, M. A., Klass, S. M., ve Rheubert, J. L. (2018). Analysis of snake venom composition and antimicrobial activity. *Toxicon*, 150, 151-167. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2018.05.016>
- Chester, C., Dorigo, O., Berek, J. S., ve Kohrt, H. (2015). Immunotherapeutic approaches to ovarian cancer treatment. *Journal for Immunotherapy of Cancer*, 3, 1-10. <https://doi.org/10.1186/s40425-015-0051-7>
- Cheung, A., Shah, S., Parker, J., Soor, P., Limbu, A., Sheriff, M., ve Boussios, S. (2022). Non-epithelial ovarian cancers: how much do we really know?. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(3), 1106. <https://doi.org/10.3390/ijerph19031106>
- Christopher, B.M., Metrotra, P., Arandjelovic, S., Perry, J.S.A., Guo, Y., Morioka, S., Barron, B., Walk, S.F., Ghesguiere, B., Krupnick, A.S., Lorenz, U., ve Ravichandran, K.S. Metabolites released from apoptotic cells act as tissue messengers. *Nature*, 2020, 580 (7801), 130-135 DOI: [10.1038/s41586-020-2121-3](https://doi.org/10.1038/s41586-020-2121-3)
- Çolak, B., Duman, D. C., ve Yılmaz, E. (2022). Ovaryum kanserinde hedefe yönelik tedavi stratejilerinde moleküler mekanizmaların rolü. *Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology/Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji*, 79(1). <https://doi.org/10.5505/TurkHijyen.2022.60362>.
- Coukos, G., ve Rubin, S. C. (1998). Chemotherapy resistance in ovarian cancer: new molecular perspectives. *Obstetrics & Gynecology*, 91(5 Part 1), 783-792.
- Colditz, G. A. (1998). Relationship between estrogen levels, use of hormone replacement therapy, and breast cancer. *Jnci: Journal of The National Cancer Institute*, 90(11), 814-823. <https://doi.org/10.1093/jnci/90.11.814>.
- Corrao, G., Zambon, A., Conti, V., Nicotra, F., La Vecchia, C., Fornari, C., ve Merlino, L. (2008). Menopause hormone replacement therapy and cancer risk: An Italian record linkage investigation. *Annals of Oncology*, 19(1), 150-155. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdm404>.

- Elma, S, ve Ertem, G. (2017). Sitoredüktif cerrahi ile birlikte hipertermik intraperitoneal kemoterapi uygulanan over kanseri hastaya yaklaşım: olgu sunumu. *Gümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*,6(2), 139-145.
- Elmore, S. (2007). Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicologic Pathology*, 35(4), 495-516.
- Ercelep, Ö., ve Yumuk, P. F. Hedefe yönelik tedavilerde nereye geldik. *Güncel Göğüs Hastalıkları Serisi* 2018; 6 (3): 74-84 <https://doi.org/10.5152/gghs.2018.044>.
- Erzurumlu, Y., Doğan, H.K., Çataklı, D. Anticancer effect of Theranekron on androgen-dependent prostate cancer cells. *Turk J.Pharm Sc.*2024 jan 19;20 (6): 368-373. Doi:10.4274/tjps.galenos.2023.47905.
- Fadeel, B., ve Orrenius, S. (2005). Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in human disease. *Journal of internal medicine*, 258(6): 479-517. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2796.2005.01570.x>
- Fesik, S. W. (2005). Promoting apoptosis as a strategy for cancer drug discovery. *Nature Reviews Cancer*, 5(11), 876-885. <https://doi.org/10.1038/nrc1736>
- Fischerova, D., ve Burgetova, A. (2014). Imaging techniques for the evaluation of ovarian cancer. *Best Practice and Research Clinical Obstetrics and Gynaecology*, 28(5), 697-720. <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2014.04.006>.
- Flesken-Nikitin, A., Choi, K. C., Eng, J. P., Shmidt, E. N., ve Nikitin, A. Y. (2003). Induction of carcinogenesis by concurrent inactivation of p53 and Rb1 in the mouse ovarian surface epithelium. *Cancer Research*, 63(13), 3459-3463.
- Folsom, A. R., Mink, P. J., Sellers, T. A., Hong, C. P., Zheng, W., ve Potter, J. D. (1995). Hormonal replacement therapy and morbidity and mortality in a prospective study of postmenopausal women. *American Journal of Public Health*, 85(8_Pt_1), 1128-1132.
- Gazdar, A. (2009). Activating and resistance mutations of egfr in non-small-cell lung cancer: role in clinical response to egfr tyrosine kinase inhibitors. *Oncogene*, 28(1), S24-S31. <https://doi.org/10.1038/onc.2009.198>
- Ghasemi-Dizgah, A., Nami, B., ve Amirmozafari, N. (2017). *Tarantula cubensis* Venom (Theranekron®) selectively destroys human cancer cells via activating caspase-3-mediated apoptosis. *Acta Medica International*, 4(1), 74-80. <https://doi.org/10.5530/ami.2017.4.14>
- Gómez Rave, L. J., Muñoz Bravo, A. X., Sierra Castrillo, J., Román Marín, L. M., ve Corredor Pereira, C. (2019). Scorpion venom: new promise in the treatment of cancer. *Acta Biológica Colombiana*, 24(2), 213-223.
- Gök,Ö., ve Aslan,A .(2019). Kişiye özgü geliştirilen antijen reseptörü ile hücre tedavisi (CAR-T). *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 9(4), 2235-2245. <https://doi.org/10.21597/jist.591578>

- Gül,D.(2021). Prostat kanseri hücrelerinde *Tarantula cubensis* alkolik ekstraktının in vitro terapötik etkinliği.(Doktora Tezi). Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Sakarya
- Gül Satar, N. Y., Cangül, İ. T., Topal, A., Kurt, H., İpek, V., ve Önel, G. I. (2017). The effects of *Tarantula cubensis* venom on open wound healing in rats. *Journal of Wound Care*, 26(2), 66-71. <https://doi.org/10.12968/jowc.2017.26.2.66>
- Gültiken, N., Güvenç, T., Kaya, D., Ağaoglu, A. R., Ay, S. S., Küçükaslan, İ., ve Aslan, S. (2015). *Tarantula cubensis* extract alters the degree of apoptosis and mitosis in canine mammary adenocarcinomas. *Journal of veterinary science*, 16(2), 213. <https://doi.org/10.4142/jvs.2015.16.2.213>
- Gültiken, N., ve Vural, M. R. (2007). The effect of *Tarantula cubensis* extract applied in pre and postoperative period of canine mammary tumours. *Journal of Istanbul Veterinary Sciences*, (2), 13-23.
- Gümüşçü, A. (2011). Zehirler ve tarihte kullanımı. Ziraat Mühendisliği, dergipark.gov.tr (356), 34-39.
- Gürsel, A. G. (2019) *Radyolojik anatomi üreme sistemi Radyolojik Anatomisi*. <https://avys.omu.edu.tr/storage/app/public/gursel.ak/135821/%C3%9C%20S%C4%B0STEM%C4%B0%20RADYOLOJ%C4%B0K%20ANATOM%C4%B0S%C4%B0.pdf>. (Son Erişim Tarihi: 16/05/2024).
- Hennessy, B. T., Coleman, R. L., ve Markman, M. (2009). Ovarian cancer. *The Lancet*, 374(9698), 1371-1382. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(09\)61338-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(09)61338-6)
- Hirst, J., Crow, J., ve Godwin, A. (2018). Ovarian cancer genetics: Subtypes and risk factors. *Ovarian Cancer. Pathog. Treat*, 1.
- Hodgson, E. (2012). Toxins and venoms. *Progress in Molecular Biology and Translational Science*, 112, 373-415. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-415813-9.00014-3>
- National Human Genome Institute (2014, May 14) *Epopstosis*. <https://www.genome.gov/genetics-glossary/apoptosis>.(Son Erişim Tarihi: 16/05/2024)
- Huang, J., Chan, W. C., Ngai, C. H., Lok, V., Zhang, L., Lucero-Prisno Itl, D. E., ve Ncd Global Health research group of association of Pacific Rim Universities (Apru). (2022). Worldwide burden, Risk factors, and temporal trends of ovarian cancer: A global study. *Cancers*, 14(9), 2230. <https://doi.org/10.3390/cancers14092230>
- Hunn, J., ve Rodriguez, G. C. (2012). Ovarian cancer: Etiology, risk factors, and epidemiology. *Clinical Obstetrics and Gynecology*, 55(1), 3-23. <https://doi.org/10.1097/GRF.0b013e31824b4611>
- İlhan, S. (2021). Can A. Veterinary drug be repurposed for human cancers?: Cytotoxic effect of *Tarantula cubensis* venom on human cancer cells. *Journal of The Institute of Scienceand Technology*, 11(3), 1763-1769. <https://doi.org/10.21597/jist.864028>.

- Irmak, P., ve Oskay, U. (2013). Jinekolojik kanserlerde uygulanan pelvik radyoterapinin cinsel yaşama etkisi ve hemşirelik yaklaşımı rolü. *Androloji Bülteni*, 15(55), 279-283.
- Jelovac, D., ve Armstrong, D. K. (2011). Recent progress in the diagnosis and treatment of ovarian cancer. *Ca: A Cancer Journal for Clinicians*, 61(3), 183-203. <https://doi.org/10.3322/caac.20113>.
- Kabukçu, C., Berker, B., ve Dünder, İ. (2002). Jinekolojik kanserli hastalarda hormon replasman tedavisi. *Journal of Clinical Obstetrics and Gynecology*, 12(3), 293- 297.
- Kahveci, K., ve Türkoğlu, M. (2019). İmmün kontrol noktası inhibitörleri Ctl4 ve Pd-1/Pd-L1'in immünoterapideki yeri. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 10(2), 210-218. <https://doi.org/10.29048/makufebd.569375>.
- Karabacak, M., Eraslan, G., Kanbur, M., ve Sarıca, Z. S. (2015). Effects of *Tarantula cubensis* D6 on aflatoxin-induced injury in biochemical parameters in rats. *Homeopathy*, 104(03), 205-210. <https://doi.org/10.1016/j.homp.2015.02.005>.
- Kerr, J.F., Wyllie, A.H., ve Currie, A.R. (1972). Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *British Journal of Cancer*, 26(4), 239-257.
- Kelle,İ.(2006). Ağrı tedavisi alternatifleri. *Dicle Tıp Dergisi*, 33(3), 192-200. acarindex.com.
- Kim.J.H., Lee, S. Y., Oh, S. Y., Han, S. I., Park, H. G., Yoo, M. A., ve Kang, H. S. (2004). Methyl jasmonate induces apoptosis through induction of Bax/ Bcl-XS and activation of caspase-3 via ROS production in A549 cells. *Oncology Reports*, 12(6), 1233-1238.
- Kischkel, F. C., Lawrence, D. A., Chuntharapai, A., Schow, P., Kim, K. J., ve Ashkenazi, A. (2000). Apo2L/TRAIL-dependent recruitment of endogenous FADD and caspase-8 to death receptors 4 and 5. *Immunity*, 12(6), 611-620. [https://doi.org/10.1016/S1074-7613\(00\)80212-5](https://doi.org/10.1016/S1074-7613(00)80212-5).
- Kischkel, F. C., Lawrence, D. A., Tinel, A., LeBlanc, H., Virmani, A., Schow, P., ve Ashkenazi, A. (2001). Death receptor recruitment of endogenous caspase-10 and apoptosis initiation in the absence of caspase-8. *Journal of Biological Chemistry*, 276(49), 46639-46646. <https://doi.org/10.1074/jbc.M105102200>.
- Kızılay, Z., Aktaş, S., Çetin, N. K., Kılıç, M. A., ve Öztürk, H. (2019). Effect of *Tarantula cubensis* extract (Theranechron) on peripheral nerve healing in an experimental sciatic nerve injury model in rats. *Turk Neurosurg*, 29(5), 743- 749. <https://doi.org/10.5137/1019-5149.JTN.26162-19.2>
- Koch, H., ve Stein, M. (1980). Konservative behandlung von neoplasmen der milchdruse des hundes mit theranechron. *Praktische Tierarzt*, 61(5).
- Koch, H., ve Stein, M. (1981). Conservative treatment of mammary gland neoplasms in the bitch with Theranechron (spider venom preparation). *Cabidigitallibrary.org*
- Konstantinopoulos P.A. ve Matulonis UA (2023). Clinical and translational advances in ovarian cancer therapy. *Nat Cancer*. 4(9):1239-1257.

- Köse, F., Çoban, G., ve Çelik, H. (2016). Jinekolojik onkolojide pratik değiştirici yenilikler; Mart Sgo ve haziran Asco 2016 kongreleri sonrası tıbbi onkolog penceresinden. *Türk Jinekolojik Onkoloji Dergisi*, 19(1), 1-6.
- Lawen, A. (2003). Apoptosis—an introduction. *Bioessays*, 25(9): 888-896. <https://doi.org/10.1002/bies.10329>
- La Vecchia, C., Brinton, L. A., ve Mctiernan, A. (2001). Menopause, hormone replacement therapy and cancer. *Maturitas*, 39(2), 97-115. [https://doi.org/10.1016/S0378-5122\(01\)00213-4](https://doi.org/10.1016/S0378-5122(01)00213-4).
- Lacey Jr, J. V., Mink, P. J., Lubin, J. H., Sherman, M. E., Troisi, R., Hartge, P., ve Schairer, C. (2002). Menopausal hormone replacement therapy and risk of ovarian cancer. *Jama*, 288(3), 334-341. <https://doi.org/10.1001/jama.288.3.334>
- LeBlanc, H., Lawrence, D., Varfolomeev, E., Totpal, K., Morlan, J., Schow, P., ve Ashkenazi, A. (2002). Tumor-cell resistance to death receptor-induced apoptosis through mutational inactivation of the proapoptotic Bcl-2 homolog Bax. *Nature medicine*, 8(3), 274-281. <https://doi.org/10.1038/nm0302-274>.
- Lee, J. M., Minasian, L., ve Kohn, E. C. (2019). New strategies in ovarian cancer treatment. *Cancer*, 125, 4623-4629. <https://doi.org/10.1002/cncr.32544>
- Lengyel, E. (2010). Ovarian cancer development and metastasis. *The American journal of pathology*, 177(3), 1053-1064. Prat, J. "New insights into ovarian cancer pathology." *Annals of oncology*. 23 (2012): x111-x117.
- Mann, J. (2000). *Murder, magic, and medicine*. Oxford University Press, USA
- Martinvalet, D., Zhu, P., ve Lieberman, J. (2005). Granzyme a induces caspase independent mitochondrial damage, a required first step for apoptosis. *Immunity*, 22(3), 355-370.
- Medeiros, L. R., Rosa, D. D., Da Rosa, M. I., ve Bozzetti, M. C. (2009). Accuracy of Ca125 in the diagnosis of ovarian tumors: a quantitative systematic review. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*, 142(2), 99-105. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2008.08.011>
- Meinhold-Heerlein, I., Fotopoulou, C., Harter, P., Kurzeder, C., Mustea, A., Wimberger, P., ve Sehouli, J. (2016). The new who classification of ovarian, fallopian tube, and primary peritoneal cancer and its clinical implications. *Archives of Gynecology and Obstetrics*, 293, 695-700.
- Momenimovahed, Z., Tiznobaik, A., Taheri, S., ve Salehiniya, H. (2019). Ovarian cancer in the world: epidemiology and risk factors. *International Journal of Women's Health*, 287-299. <https://doi.org/10.2147/IJWH.S197604>
- Monge-Fuentes, V., Gomes, F. M. M., Campos, G. A. A., Silva, J. D. C., Biolchi, A. M., Anjos, L. C. D., ve Mortari, M. R. (2015). Neuroactive compounds obtained from arthropod venoms as new therapeutic platforms for the treatment of neurological disorders.

Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases, 21, 00-00.
<https://doi.org/10.1186/s40409-015-0031-x>

- Ortiz, M., Wabel, E., Mitchell, K., & Horibata, S. (2022). Mechanisms of chemotherapy resistance in ovarian cancer. *Cancer Drug Resistance*, 5(2), 304. doi: [10.20517/cdr.2021.147](https://doi.org/10.20517/cdr.2021.147).
- Oktay, K., Kim, J. Y., Barad, D., ve Babayev, S. N. (2010). Association of brca1 mutations with occult primary ovarian insufficiency: a possible explanation for the link between infertility and breast/ovarian cancer risks. *Journal of Clinical Oncology*, 28(2), 240. <https://doi.org/10.1200/JCO.2009.24.2057>
- Oliveira, R. L., Hamm, A., & Mazzone, M. (2011). Growing tumor vessels: more than one way to skin a cat—implications for angiogenesis targeted cancer therapies. *Molecular aspects of medicine*, 32(2), 71-87. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2011.04.001>,
- Özlem, G. Ö. K., ve Aslan, A. (2019). Kişiyeye özgü geliştirilen antijen reseptörü ile hücre tedavisi (Car-T). *Journal of The Institute of Science and Technology*, 9(4), 2235-2245. <https://doi.org/10.21597/jist.591578>.
- Özlük, A. A., Oytun, M. G., ve Günenç, D. (2017). Kanseri immünoterapisi. *İstanbul Bilim Üniversitesi Florence Nightingale Transplantasyon Dergisi*, 2(1), 21-23.
- Petricovich, V. L. (2010). Scorpion venom and the inflammatory response. *Mediators of Inflammation*, 2010. <https://doi.org/10.1155/2010/903295>.
- Poon, I. K. H., Lucas, C.D., Rossi, A.G., ve Ravichandran, K.S. (2014). Apoptotic cell clearance: basic biology and therapeutic potential. *Nature Reviews. Immunology*, 14(3), 166-180.
- Prat, J. (2012). New insights into ovarian cancer pathology. *Annals of Oncology*. Cilt23, 10(x), 111-7. doi: 10.1093/annonc/mds300.d11
- Pulat, Ç. Ç. (2021). In vitro cytotoxic activity of *Tarantula cubensis* alcoholic extract on different human cell lines. *Cumhuriyet Science Journal*, 42(2), 252-259. <https://dx.doi.org/10.17776/csj.859132>.
- Razmi, N., ve Hasanzadeh, M. (2018). Current advancement on diagnosis of ovarian cancer using biosensing of Ca 125 biomarker: analytical approaches. *Trac Trends in Analytical Chemistry*, 108, 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.08.017>.
- Reed, J. C. (2000). Mechanisms of apoptosis. *The American Journal of Pathology*, 157(5), 1415-1430. [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)64779-7](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)64779-7).
- Reid, B. M., Permuth, J. B., ve Sellers, T. A. (2017). Epidemiology of ovarian cancer: a review. *Cancer Biology and Medicine*, 14(1), 9 <https://doi.org/10.20892/j.issn.2095-3941.2016.0084>.
- Roland, I. H., Yang, W. L., Yang, D. H., Daly, M. B., Ozols, R. F., Hamilton, T. C., ve Xu, X. X. (2003). Loss of surface and cyst epithelial basement membranes and preneoplastic

- morphologic changes in prophylactic oophorectomies. *Cancer*, 98(12), 2607-2623. <https://doi.org/10.1002/cncr.11847>.
- Sapan, N. (2010). Alerjik hastalıklarda immünoterapi. *Türk Pediatri Arşivi*, 45(3), 225-231. <https://doi.org/10.4274/tpa.45.225>
- Sayasneh, A., Tsivos, D., ve Crawford, R. (2011). Endometriosis and ovarian cancer: a systematic review. *International Scholarly Research Notices*, 2011. <https://doi.org/10.5402/2011/140310>.
- Şakalar, Ç., İzgi, K., ve Canatan, H. (2013). Kanser immün terapi ve monoklonal antikorlar. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Tıp Dergisi*, 27(2), 105-110.
- Şen, A. G. E., ve Saruhan, Y. D. D. A. (2010). Menopoz ve hormon replasman tedavisi ile ilgili kanıta dayalı çalışmalar. *Sosyal Politika Çalışmaları Dergisi*, 20(20), 45- 52.
- Şimsek, A., ve Özmen, O. (2023). Histopathological and immunohistochemical effects of *Tarantula cubensis* extract on mucosal healing in rats. *Journal of Veterinary Dentistry*, 08987564231172907. <https://doi.org/10.1177/08987564231172907>.
- Tanyeli, A., Eraslan, E., Güler, M. C., Şebin, S. O., Çelebi, D., Özgeriş, F. B., ve Toktay, E. (2019). Investigation of biochemical and histopathological effects of *Tarantula cubensis* D6 on lung tissue in cecal ligation and puncture-induced polymicrobial sepsis model in rats. *Medicine Science*, 8(3), 644-650. <https://doi:10.5455/medscience.2019.08.9045>.
- Tosun, N. G., Kaplan, Ö., ve Özgür, A. (2021). Apoptosis induced by *Tarantula cubensis* crude venom (Theranechron® D6) in cancer cells. *Revista Brasileira De Farmacognosia*, 31(6), 824-831. <https://doi.org/10.1007/s43450-021-00221-x>.
- Tuncay, S., Zehra, C. A. N., Kaplan, S., ve Şahin, S. (2018). Over kanseri tanısı alan bir olguda cinsel sağlığın değerlendirilmesi. *Türkiye Sağlık Bilimleri ve Araştırmaları Dergisi*, 1(1), 77-85.
- Üstüner, I., Kahraman, K., Sönmezer, M., ve Tezcan, S. (2004). Over tümörlerinde tümör belirteçleri ve klinik önemleri. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası*, 57(4).
- White, J., ve Meier, J. (2017). Handbook of clinical toxicology of animal venoms and poisons. *Crc Press*.
- Wang, X., Zhang, H., ve Chen, X. (2019). Drug resistance and combating drug resistance in cancer. *Cancer drug resistance*, 2(2), 141. doi: [10.20517/cdr.2019.10](https://doi.org/10.20517/cdr.2019.10)
- Yalçın, Y., ve Karaca, M. (2019). İleri evre over kanserli hastalarda adjuvan kemoterapinin başlama zamanı ile yan etkileri arasındaki ilişkinin karşılaştırılması. *Akdeniz Tıp Dergisi*, 5(3), 532-537.
- Yenigün, V. B., Özpolat, B., ve Köse, G. T. (2013). Response of CD44+/CD24-/low breast cancer stem/progenitor cells to tamoxifen-and doxorubicin-induced autophagy.

International Journal of Molecular Medicine, 31(6), 1477-1483.
<https://doi.org/10.3892/ijmm.2013.1342>.

Yüksel, H., Küçük, M., ve Sezer, S. D. (2012). Ekstraovariyan kökenli epitelyal over kanserleri. *Türk Jinekolojik Onkoloji Dergisi*, 15(1), 1-8.

Ziogas, A., Gildea, M., Cohen, P., Bringman, D., Taylor, T. H., Seminara, D., ve Anton-Culver, H. (2000). Cancer risk estimates for family members of a population-based family registry for breast and ovarian cancer. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*, 9(1), 103-11.

