



**RASYONA KATILAN KURKUMİNİN İNSAN OVARYUM KANSERİ İÇİN
PREKLİNİK BİR MODEL OLAN YUMURTA TAVUKLARINDA BAZI
APOPTOTİK MARKERLAR ÜZERİNE ETKİLERİ**

BEŞİR ER

**Yüksek Lisans Tezi
Biyoloji Anabilim Dalı
Danışman: Yrd. Doç. Dr. Mehmet TUZCU**

EKİM-2016

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**RASYONA KATILAN KURKUMİNİN İNSAN OVARYUM KANSERİ İÇİN
PREKLİNİK BİR MODEL OLAN YUMURTA TAVUKLARINDA BAZI
APOPTOTİK MARKERLAR ÜZERİNE ETKİLERİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BEŞİR ER

(121110108)

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih: 26 Ekim 2016

Tezin Savunulduğu Tarih:

Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Mehmet TUZCU (Fırat Ü.)
Diğer Jüri Üyeleri : Prof. Dr. Ökkeş YILMAZ (Fırat Ü.)
Prof. Dr. Hakkı TAŞTAN (Gazi Ü.)

EKİM-2016

ÖNSÖZ

Ülkemizde “Zerdeçal” olarak bilinen kurkumin Asya ülkelerinden Hindistan ve Çin’de yaygın olarak yemeklerde bir baharat türü olarakta kullanılmaktadır. Çeşitli kanser türlerine birlikte farklı hastalıklarda koruyucu özellikleri bildirilmektedir.

Bu çalışmada, yumurtacı tavukların over dokularında bir anti kanserojen olan kurkuminin Bcl-2- ilişkili X protein (Bax), B-hücre lenfoması 2 (Bcl-2), Sistein Aspartat özgü proteazlar-Kaspaz (kaspaz-3) ve Sistein Aspartat özgü proteazlar-Kaspaz (kaspaz-9) proteinlerinin kurkumin diyeti verilen yumurtacı tavukların over dokularındaki etkisine bakılmıştır. Yapılan çalışmada toplam 270 adet yumurtacı tavuk (White Leghorn) 104 haftalık yaşta kullanılmıştır. Her grupta toplamda 90 hayvan olacak şekilde 30 hayvanlı alt gruplardan oluşturularak rastgele üç gruba ayrılmıştır. Çalışmada gruplarının bazal rasyon düzeylerine 0, 200 ve 400 mg/kg dozunda kurkumin katılarak oluşturulmuştur.

Yüksek lisans eğitimim boyunca ve tez çalışmalarım esnasında bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan değerli hocam Yrd.Doç.Dr. Mehmet TUZCU’ya teşekkür ederim.

Yaptığımız çalışmalar ve eğitimim esnasındaki katkılarından dolayı başta Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı Öğretim üyesi Prof.Dr. Kazım ŞAHİN ve Prof.Dr. Nurhan ŞAHİN’e çalışmalarım esnasında yardımlarını esirgemeyen Doç.Dr. Cemal ORHAN’a, Arş.Gör.Dr. Hasan GENÇOĞLU’na, Doktora öğrencileri Oğuzhan ÖZDEMİR ve Füsun ERTEN’e, Yüksek lisans öğrencisi Hafize GENÇABAN’a ayrıca ismi geçmeyen diğer arkadaşlarıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Eğitim hayatım boyunca beni maddi manevi destekleyen, sevgisini, ilgisini, yardımını, sabırla ve eksiltmeden sürdüren canım aileme teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma TÜBİTAK (113O622) tarafından desteklenmiştir. Ayrıca katkılarından dolayı Türkiye Bilimler Akademisine teşekkür ederim.

Beşir ER
ELAZIĞ-2016

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖNSÖZ	II
İÇİNDEKİLER	III
ÖZET	IV
SUMMARY	VI
ŞEKİLLER LİSTESİ	VII
TABLolar LİSTESİ	VIII
SEMBOLLER VE KISALTMALAR	IX
1.GİRİŞ	1
1.1. Over Kanseri.....	5
1.2. Apoptozis (Programlı Hücre Ölümü)	6
1.2.1 Ölüm Reseptörleri	7
1.2.2. Bcl-2 Ailesi Proteinleri	9
1.2.3. Mitokondrinin rolü ve Bcl-2 Ailesi'nin fonksiyonları.....	14
1.2.4. Kaspazlar	15
1.2.4.1. Kaspazların Aktivasyonu.....	18
1.3. Fitokimyasallar	20
1.3.1. Kurkumin.....	21
1.3.1.1 Kurkumin Tarihçesi.....	22
1.3.1.2. Kurkuminin Kullanım Alanları ve Özellikleri.....	23
1.3.1.3. Kurkuminin Kimyasal Özellikleri	25
1.3.1.4. Kurkuminin Antioksidan Etkileri	25
1.3.1.5. Kurkuminin Yara İyileşmesi Üzerindeki Etkisi	26
1.3.1.6. Kurkuminin Angiogenesis Etkisi	26
1.3.1.7. Kurkuminin Antikanser Etkisi.....	27
1.3.1.8. Kurkuminin Antimikrobiyel Etkisi.....	27
1.4. Çalışmanın Amacı	29
2. MATERYAL ve METOT	30
2.1. Örneklerinin Alınması ve Saklanması.....	31
2.2. Laboratuvar Analizleri.....	31
2.2.1. Örneklerin Alınması	31
2.2.2. Örneklerin Hazırlanması.....	32

2.2.3. SDS-Poliakrilamid Jel Elektroforezi (SDS-PAGE)	32
2.2.4. SDS-PAGE Analizleri	35
2.2.5. Western Blot Analizleri	36
2.3. İstatistiksel Analizler	38
3. BULGULAR	39
4. SONUÇLAR ve TARTIŞMA	42
KAYNAKLAR	48
ÖZGEÇMİŞ	63



ÖZET

Over kanseri sıklıkla orta yaş ile sonrası kadınlarda görülen ve jinekolojik kanserler arasında en fazla ölüm ile sonuçlanan bir kanser türüdür. Epitel kökenli over kanserleri yüksek derecede ölümcül olan malignlerdir. Teşhisi konan hastaların ortalama %70'i ölümle sonuçlanmaktadır. Son yıllarda over kanserlerinin tedavisinde birçok ilerleme sağlanmış ancak bu hastalıkla mücadelede uzun vadede bir tedavi süreci kaydedilememiştir. Erken tanımlama imkânı belirsiz olup, metastatik hastalıklı kadınlar için etkili bir tedavi henüz tespit edilememiştir. Over kanserinin teşhis ve tedavisinin başarısızlığı, tekrarlama oranının yüksek olması ile birlikte etkili erken tespit testinin olmaması, tümörün antitümör immunitisini baskılaması ve ilaçlara direncin artmasına bağlanmaktadır. Kurkumin, antioksidan, antikarsinojenik, antimutajenik, antimetazatik, antiinflamatuvar, antimikrobiyal gibi pek çok etkiye sahiptir. Kurkumin, antioksidan vitaminlerle kıyaslanabilir ölçüde antioksidan aktiviteye sahiptir.

Bu çalışmada diyetlerine kurkuminin farklı dozları uygulanan; over kanseri için prelinik bir model olan yumurta tavuklarının, over dokusunda Bax, Bcl-2, Kaspaz-3 ve Kaspaz-9 proteinlerinin ekspresyonları üzerine olan etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla, çalışmada 270 adet yumurtacı tavuk (104 haftalık) rastgele üç gruba ayrıldı. I. kontrol grubu, Standart diyetle beslenen grup, (K); II. Standart diyet + kurkumin (200 mg/kg); III. Standart diyet + kurkumin (400 mg/kg) grubunu oluşturdu. Araştırma 12 ayda sonuçlandırıldı.

Yapılan çalışmada, over kanseri tavuklarda diyetlerine farklı dozlarda eklenen kurkuminin over kanseri üzerine koruyucu ve tedavi edici etkilerinin olduğu ortaya çıkmıştır. Kurkuminin farklı dozlarda diyetlerine eklenen over kanseri tavuklarda, over dokusu Bax ($p<0.05$), Kaspaz-3 ($p<0.0001$), Kaspaz-9 ($p<0.0001$), proteinlerinin ekspresyon düzeyleri belirgin bir şekilde artmış ve bunun tersi olarak Bcl-2 ($p<0.0001$) protein ekspresyonunu anlamlı olarak azalmıştır. Elde edilen bulgular over kanserli tavuklarda, farklı dozlarda diyet takviyesi olarak kullanılan kurkuminin, uygulanan doz miktarının artmasına bağlı olarak over kanserini iyileştirici etkisinin arttığı ortaya çıkarmıştır.

Anahtar Kelimeler: Over Kanseri, Kurkumin, Bax, Bcl-2, Kaspaz-3, Kaspaz-9

SUMMARY

The Effects of Curcumin Supplementation on Some Apoptotic Markers in Laying Hens, a Preclinical Model for Human Ovarian Cancer

Ovarian cancer mostly occurs in middle-aged and late middle-aged women and is a disease that results in maximum death among gynecological cancers. Epithelial ovarian cancer is the most lethal of the gynecologic malignancies and nearly 70 % of diagnosed patients are not able to survive. There have been many developments achieved in cancer therapies through recent years whereas a long term course of treatment in the fight against this disease has not been recorded. The possibility of early diagnosis is unclear and an effective treatment for women with metastatic disease has not been determined yet. The failure of the diagnosis and treatment of ovarian cancer is linked to its high repetition rate along with lack of an effective early detection test, inhibition of tumor-anti tumor immunity and increased resistance to drugs. Curcumin has many effects such as antimicrobial, antioxidant, anti-carcinogenic, antimutagenic, antimetastatic, anti-inflammatory. Curcumin has a notable antioxidant activity that is comparable with the antioxidant vitamins.

In this study, different doses of the curcumin were administered to the diets of laying hens, which is a preclinical model for ovarian cancer, and the effects on the expressions of tissue Bax, Bcl-2, caspase-3 and caspase-9 proteins have been investigated. The laying hens (n =270, 104 weeks old) were divided randomly into three groups. I. The group which received a standard chicken diet was assigned as Control group (C); II. The group which received a standard chicken diet + Curcumin (200 mg / kg); III. The group which received a standard chicken diet + Curcumin (400 mg / kg). The study lasted for 12 months.

This study demonstrated that the administration of curcumin on ovarian cancer has shown a protective and curative effect in laying hens of spontaneous evolving ovarian cancer. Bax ($p<0.05$), Caspase-3 ($p<0.0001$), and Caspase-9 ($p<0.0001$) protein expression levels were significantly increased, in contrast to Bcl-2 ($p<0.0001$) level which was significantly decreased in laying hens treated with curcumin. The obtained data has revealed that curcumin treatment alleviated cancer in the ovarian tissue by an increased therapeutic effect depending on the increasing amount of the dose administered.

Key Words: Ovarian Cancer, Curcumin, Bax, Bcl-2, Caspase-3, Caspase-9

ŞEKİLLER LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1. TNF ve FAS aracılı ölüm yolağı	8
Şekil 2. Bcl-2 ailesi proteinlerinin şematik diyagramı	10
Şekil 3. Bax'ın aktivasyonu	11
Şekil 4. Bcl-2 protein ailesinin apoptozisteki işlevleri	13
Şekil 5. Bcl-2 protein ailesinin mitokondri üzerine etkisi	14
Şekil 6. Kaspaz'ın yapısı	16
Şekil 7. Kaspazların aktivasyonu.....	19
Şekil 8. Kurkuminin yapısı.....	21
Şekil 9. Kurkumin.....	22
Şekil 10. Kurkuminin Etkileri	24
Şekil 11. Kurkuminoidlerin kimyasal yapısı.....	25
Şekil 12. Sinyal iletim yollarında kurkumin tedavisinin etkisi.	27
Şekil 13. Farklı dozlarda kurkumin ilaveli diyet ile beslenen tavuk over dokusu Bax, Bcl-2, Kaspaz-3 ve Kaspaz-9 ekspresyon düzeyleri ve Western blot bantları.....	41

TABLÖLAR LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1. Kaspazların sınıflandırılması.....	17
Tablo 2. Deneme planı.....	30
Tablo 3. Araştırmada kullanılacak bazal diyetin bileşimi	31
Tablo 4. SDS-PAGE için jellerin hazırlanması	34



SEMBOLLER ve KISALTMALAR

AIF	: Apoptozis indükleyici faktör
Apaf-1	: Apoptotik proteaz aktive edici faktör-1
APO-1	: Apolipoprotein A1
APS	: Amonyum persülfat
Bak	: Bax subfamilya
Bax	: Bcl-2 ilişkili x protein
Bcl-2	: B-hücre lenfoması 2
Bcl-xL	: B-hücre lenfoması 2 subfamilya
CARD	: Kaspaz güçlendirme alanı
CTL	: Sitotoksik T lenfositler
DAB	: Diaminobenzidin
dATP	: Deoksiadenozin trifosfat
DED	: Ölüm efektör bölgesi
DISC	: Ölüm uyarıcı sinyal kompleksi
DMBA	: 7,12-Dimetilbenzantrasen
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
FADD	: Fas ile ilişkili ölüm bölgesi
FasL	: Fas Ligand
kDa	: kiloDalton
NF-kB	: Nükleer faktör kappa b
NK	: Natural killer
PMSF	: Fenil metil sülfonil florid
SDS	: Sodyum dodesilsülfat

- SDS-PAGE** : SDS-poliakrilamid jel elektroforezi
- SKOV3** : Hücre kültürü
- SPSS** : Statistical package for the social sciences
- TEMED** : Tetramethylethylenediamine
- TNF** : Tümör nekroz faktör
- TNF-R1** : TNF reseptörü-1
- TNF-R2** : TNF reseptörü-2
- TRADD** : TNF-R1 ile ilişkili ölüm bölgesi



1.GİRİŞ

Kanser büyüme nitelikleri bozulmuş hücrelerin klonal yayılım gösterdiği oldukça yaygın ve komplike somatik genetik bir hastalıktır (Futreal vd., 2001). Batılı ülkelerde yaşayan insanlarda yaklaşık % 30 unda kanser gelişimi görülmekte ve % 20 si kanserden ölmektedir (Futreal vd., 2001; Fearnhead, 2004). Bütün kanser çeşitlerinde, DNA diziliminde bir çeşit farklılıklar görülmektedir. Kanser oluşumunda genetik faktörün etkisi %10-15 ile sınırlı iken geri kalan %85-90' ında ise yaşam şartlarından kaynaklanan çevresel faktörün etkili olduğu ve bu etki sonucunda DNA yapısındaki progressif değişimler ve replikasyon hatalarının sonucunda DNA yapısında değişmelerin kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu durumda oluşan mutasyonlardan içinde olduğu hücrenin büyümesini sağlayarak hücrede kanser klonunun oluşumuna neden olur (Yokus ve Ülker, 2012).

Kanser oluşumunda birçok etken bulunmaktadır bunlar multifatöryel olarak bakteriler, virüsler, radyasyon, kalıtım gibi çevresel faktörlerle birlikte kimyasallara kadar birçok etkili faktör bulunmaktadır (Williams, 2001).

Over kanseri sıklıkla orta yaş ile sonrası kadınlarda görülen ve jinekolojik kanserler arasında en fazla ölüm ile sonuçlanan bir kanser türüdür. Epitel kökenli over kanserleri yüksek derecede ölümcül olan malignlerdir. Teşhisi konan hastaların ortalama %70'i ölümlerle sonuçlanmaktadır (Barua vd., 2009). Son yıllarda over kanserlerinin tedavisinde birçok ilerleme sağlanmış ancak bu hastalıkla mücadelede uzun vadede bir tedavi süreci kaydedilememiştir. Erken tanımlama imkânı belirsiz olup, metastatik hastalıklı kadınlar için etkili bir tedavi henüz tespit edilememiştir. Over kanserinin teşhis ve tedavisinin başarısızlığı, tekrarlama oranının yüksek olması ile birlikte etkili erken tespit testinin olmaması, tümörün antitümör immunitesini baskılaması ve ilaçlara direncin artmasına bağlanmaktadır (Hakim vd., 2009; Barua vd., 2012). Over kanseri tedavisinde koruyucu tedbirlerin ortaya konması önemlidir. İnsanlar üzerinde over kanser araştırmalarının yürütülmesinin uzun süreli ve pahalı olması nedeniyle, hayvan modelleri ile over kanserini önlemede kullanılacak potensiyel ajanların belirlenmesi ve geliştirilmesi tercih edilmelidir. Over kanserleri için geçerli hayvan modellerinin olmayışı, bu kanserlerin önlenmesi ile ilgili araştırmaların önünü tıkamaktadır. Over kanseri önleme çalışmaları için bir hayvan modelinin geliştirilmesi çok sayıda ajanın belirlenmesinde önemli bir adım olacaktır.

Aşırı hücre ölümü veya hücre ölümüne karşı olan direnç, hücresel homeostaziye bozar ve organ fonksiyonlarını etkileyerek sonrasında organizmanın yaşamını etkiler

(Gopisetty vd., 2006). Organizmadaki görevini tamamlayan ya da hasara uğramış olan hücrelerin çevresindeki diğer hücelere herhangi bir zarar vermeden ortadan kaldırılmasına olanak sağlayan, genetik yönden kontrol altındaki programlanmış hücre ölümüne apoptozis denilmektedir (Turgut vd., 2006). Canlılardaki bütün hücreler doğar, çoğalır (proliferasyon), farklılaşır (diferansiasyon) ve sonuç olarak ölürlür (apoptozis). Yaşanan bu olaylar hayatın doğal bir dengesi halinde süre gitmektedir. Dokulardaki homeostazi yani bir düzen içerisinde yapım ve yıkımın olayının gerçekleşmesi, apoptozis/proliferasyon dengesinin dokuda sağlıklı bir şekilde sürmesine bağlıdır. Bu dengenin bozulmasının sonucu olarak son zamanlarda, birçok önemli hastalığın patogeneğinde rol oynadığı görülmüştür. Örneğin; artan proliferasyon ve azalan apoptozisin karsinogeneziste rol oynadığı düşünülmektedir (Erdoğan ve Uzaslan, 2003). Apoptotik hücre ölüm programı; Bcl-2 ailesi proteinleri ve kaspazların yanı sıra apoptotik proteaz aktive edici faktör-1 (Apaf-1) olmak üzere üç ana bileşen içerir. Bu esas bileşenlerin biyokimyasal aktivasyonu sayesinde, apoptoziste görülen morfolojik değişiklikler, mitokondriyal hasar, çekirdek zarı kırılmaları, DNA fragmentasyonu, kromatin kondansasyonu ve apoptotik cisimciklerin şekillenmesi gibi değişikliklerden sorumlu olmaktadır (Tomatır, 2003). Apoptoziste bilinen iki yolak vardır. İntrinsik (içsel) yolak olarak da adlandırılan mitokondriyal yolak, hücre içinde oluşan sinyallere bağlı olarak başlar. Ekstrinsik (dışsal) yolakta ise sinyal hücre dışından ölüm reseptör aracılığı ile başlar (Gopisetty vd., 2006). Hücre ölüm yolağında, apoptozisin hücre içi kritik kontrol noktasını Bcl-2 protein ailesi oluşturmaktadır. Bcl-2 ailesi, aile üyesi proteinlerin kendi aralarında ve mitokondri membran bütünlüğünü sağlayan diğer proteinler ile çeşitli etkileşimler sağlayarak apoptozisi düzenleyen geniş bir gruptur. Bcl-2 protein ailesinin anti-apoptotik olarak Bcl-2, Bcl-xL ve yanı sıra Mcl-1 gibi bazı üyeleri apoptozisi baskılamakla birlikte pro-apoptotik Bax ve Bak gibi üyeleri ise apoptozisi etkinleştirmektedir. Bax ve Bak gibi proapoptotik üyelerin aktivasyonu sitokrom-c nin mitokondriden hücreye geçişini uyarır iken Bcl-2 gibi anti-apoptotik üyeler ise bu durumu baskılamaktadır. Bcl-2 ailesi üyeleri, pro apoptotik Bax ve Bak uyarısı ile geçiren mitokondriyal dış membranın sitokrom-c ve diğer proteinlerin salınması, dolayısıyla kaspazların aktivasyonunu ve hücre yıkımını uyarmaktadır. Ölüm sinyali alındığında Bax homodimerize olur ve mitokondri dış membranına girer. Mitokondride konuşlanmış olan inaktif Bak bu ölüm sinyaline yanıt verirken yapısal değişim geçirir, dimerize olur ve aktivite kazanır. Böylece mitokondri dış membranı geçirgen bir yapı kazanır. Bu

geçirgenlik sitokrom-c yi de kapsayan diğer membran boşluk proteinlerinin salınmasına olanak verir (Youle ve Strasser, 2008).

Bax sitoplazmada diğer faktörlere bağlı ve inaktif formda bulunur. Sinyaller alındığında Bax ve Bak'ın yapısı değişir. Bu proteinlerin N-terminal kısımları proteinin içerisine gömülü olarak bulunur sinyal alımıyla beraber hedef hale gelir. Bax mitokondri membranına transloke olduktan sonra dış mitokondri membranına entegre olur. Bu sırada Bax ve Bak oligomerize olur ve mitokondri dış membranını geçirgen hale getirirler (Ardjomande ve Martinou, 2005). Geçirgen hale gelen mitokondri membranından Sitokrom-c salındığında sitoplazmadaki APAF-1 ile bağlanarak Kaspaz-9 un aktivasyonu ile apoptozom yapısı oluşur (Bao ve Shi, 2007).

Bcl-2 proteini apoptozis esnasında; pro-apoptotik aile üyelerine bağlanarak onların inhibisyonu, mitokondri mebranındaki iyon akışı ve sitokrom-c salınımı gibi birçok işlevi düzenlemektedir. Bütün aile üyeleri tarafından düzenlenen tek bir mekanizma yoktur ancak Bcl-2 ailesinde bulunan hem pro-apoptotik hem de anti-apoptotik üyelerinin düzenlemiş oldukları çeşitli mekanizmalar bulunmaktadır. Pro-apoptotik ve anti-apoptotik üyelerin ve onların birbirleri ile etkileşimleri diğer proteinlerin fonksiyonlarını nötralize edebilir. Bu durum hassas dengenin sürdürülmesini sağlar. Ancak pro ya da anti-apoptotik üyelerin ekspresyon düzeylerindeki değişim, hücrenin yaşamla ölüm arasındaki dengesini etkilemektedir. Bunun sonucunda aile üyelerinin dimerizasyonu, onların bireysel aktivitelerinde anahtar rol oynamaktadır. Örneğin; Bcl-2 ve Bcl-xL Bax'ın aktivitesini nötralize etmek için onunla eşleşebilme yeteneğine sahiptir. Bax normalde sitoplazmada monomer olarak bulunur fakat apoptotik sinyal bu proteinin Bax/Bax homodimeri şeklinde sitoplazmada çoğalmasına neden olur. Homodimer konumuna geçen Bax daha sonra mitokondriye transloke olmaktadır (Minn vd., 1998). Hücredeki Bcl-2'nin ekspresyon düzeyi Bax 'ın düzeyinden daha fazla ise hücre apoptozisten kaçınır (Borner, 2003).

Apoptozisin bütün yolları kaspazların aktivasyonunda birleşir ve proteazlar, hücrelerin yıkımında inflamasyona neden olmadan ve etkin bir şekilde organize olurlar. Kaspazların aktivasyonuna öncülük eden iki ana yolak vardır. Bunlardan birincisi doğrudan kaspaz-8 aktivasyonuna öncülük eden ve hücre yüzeyi reseptörleri vasıtasıyla başlatılan dışsal yolaktır. İkincisi ise mitokondrinin aracılık ettiği içsel yolaktır. Apoptozis kontrolünün mitokondriyal aşaması kaspaz aktivasyonu ile değil Bcl-2 protein ailesi aracılığı ile yürütülür. Kaspaz aktivasyonunda mitokondrinin bilinen rolü; mitokondriyal membrandan sitoplazmaya sitokrom-c ve Apaf-1 gibi kaspazları aktiveleştirici proteinlerin

salınımını düzenlemektir. Sitokrom-c mitokondriden salındığında sitoplazmadaki Apaf-1 ile bağlanarak kaspaz-9'un da aktivasyonu ile apoptozom yapısı oluşur (Bao ve Shi, 2007). Kaspazlar spesifik substrat bölgesine sahip olan ve hedef proteinleri aspartik asit bölgesinden sonra kesen hücre içi sistein proteazlarıdır (Thornberry vd., 1997). Sağlıklı olan hücrelerde kaspaz molekülleri çoğunlukla, pro-Kaspaz olarak adlandırılan, monomerik zimojen halde bulunmaktadır. İnaktif halde bulunan pro-Kaspaz enzimleri apoptozis sinyalinin alınmasıyla birlikte diğer kaspazlar tarafından aspartik asit birimlerinden kesilerek aktive olmaktadır. Aktive haline gelen kaspaz diğer kaspazları keserek inaktif formdan aktif forma dönüştürmektedir (Stennicke vd., 2002).

Hint safranı (Zerdeçal)'nın içeriğinde bulunan kurkumin sarı renkli bir baharat olarak yemeklerde kullanılmaktadır. Tropikal bölgelerde yetişen bitkilerinden olan *Curcuma longa* (Zingiberaceae)'nin sarı renkli tozlarından üretilmektedir. Molekül ağırlığı küçük olan bu bileşik bir polifenolik bitkiselidir. Kurkumin, doğu toplumlarında yer alan Asya ülkelerinden en çok Hindistan ve Çin de özellikle geleneksel tıp alanında lokal/topikal oldukça yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Epidemiyolojik, klinik ve hayvan çalışmalarında kurkuminin birçok biyolojik etkisi ortaya konmuş ve moleküler mekanizmaları açıklanmaya çalışılmıştır (Aggarwal vd., 2003; Sahin vd., 2012).

Yumurtalık kanseri kadınlarda en sık görülen jinekolojik tümörler içinde en yüksek malignite sahip beşinci ölüm nedenidir (Rooth,2013). Etkin tarama stratejilerinin eksikliği nedeniyle, yumurtalık kanseri hastalarının geç evrede tanımlanması ve 5 yıllık sağ kalım oranı sadece % 20-30 civarındadır (Chien vd., 2015). Geçtiğimiz birkaç yıl içinde, yumurtalık kanseri hastaları için ilk basamak klinik tedaviler sitoredüktif cerrahi ve kombine kemoterapilerdir (Khandakar vd., 2015). Amerika Birleşik Devletleri'nde 2014 yılında yaklaşık 21.980 yeni vaka ve yumurtalık kanserinden 14.270 ölüm olacağı tahmin edilmektedir (Siegel vd., 2014).

Yumurtalık kanseri (over kanseri) genellikle ileri evrelerde teşhis edildiği için en öldürücü jinekolojik kanserlerin biridir. Hastaların çoğunda kemoterapi gereklidir ve deneysel platin bileşikleri ve taksoller ile tedavi edilirler. Başlangıçta iyi bir tepki alınmasına rağmen, bu hastaların büyük çoğunluğunda ileriki aşamalarda direnç gelişir. Bu hastalar daha sonra ikinci basamak kemoterapötik ilaçlara tabi tutulmaktadır. Bu sebeple, tümör çok duyarlı olduğu için, kemoterapötik ajanlar ile tedavi edilirler, böylece hastanın molekül profiline göre uygun tedavi geliştirilmesi gerekmektedir (Kar vd., 2016). Kemo inhibe gecikmesi veya kanser gelişimini tersine çevirmek için doğal ya da sentetik

maddeler kullanılması anlamına gelmektedir. Çeşitli kanser modelleri doğal bileşikler, hormonlar ya da diğer hedeflenen ajanlar da dahil olmak üzere, kimyasal yoldan önleyici ajanların etkinliğini değerlendirmek *in vitro* ve hayvan çalışmalarında çok sayıda kullanılmıştır. Sebze ve meyvelerden elde edilen doğal bileşiklerdir fitokimyasallar, daha güvenli olması nedeniyle, düşük toksisite anti-kanser aktiviteleri için genel kullanılabilirliği araştırılmıştır (Amin vd., 2009).

Antik çağlardan bu yana, bitki kaynaklı biyoaktif moleküller kanser gibi en korkunç hastalıkları tedavi etmek için kullanılmaktadır. Bunlar arasında, polifenollerinden dolayı, çeşitli farmakolojik özelliklerindeki hastalıkların önlenmesinde çok ilgi görmüştür (Kumar vd., 2016). Kurkumin geniş alanda en çok çalışılan biyoaktif polifenol çeşitlerinden biridir. Bu yaygın sarf baharat şeklinde kullanılan zerdeçal, düşük moleküler ağırlıklı hidrofobik bir bileşiktir (Anand vd., 2007).

1.1. Over Kanseri

Over kanseri kadın genital sistemde en sık görülen ikinci kanser türüdür. Amerika Birleşik Devletleri'nde, diğer tüm jinekolojik tümörlerden daha fazla ölüme neden olan over kanseridir (URL-1). Malign epitelyal tümörlerden birisi olan over kanseri oldukça sık görülen kanser çeşitlerinden birisi olmakla birlikte oluşan vakaların yaklaşık % 90'ını oluşturmaktadırlar (McCluggage, 2008, 2011; Gilks ve Prat, 2009).

Kadınlarda en fazla ölüm ile sonuçlanan epitelyal kökenli bir kanser türü olan over kanserinde ölüm oranının yüksek olmasının nedeni; spesifik belirti göstermeden gelişmesi, erken tanı konulmasındaki zorluklar ve immunitenin baskılanmasından kaynaklanmaktadır. Etik açıdan bakıldığında insanlar üzerinde over kanseri ile ilgili araştırmaların yürütülmesi uygun olmadığından prelinik çalışmaların yapılması gerekmektedir. Örneğin, yaşlı yumurta tavuklarında ovulasyonun fazla olmasından dolayı, spontan olarak %20-35 oranında over tümörleri gelişmekte olup, bu hayvanların insan over kanseri için mükemmel bir model olduğu bildirilmektedir (Barua vd., 2012; Lengyel vd., 2014). Ovaryum kanseri önlemede en önemli potansiyel ajanın belirlenmesi insan çalışmalarına göre daha hızlı olacaktır (Hakim vd., 2009). Tavuklar (*Gallus domesticus*) kolaylıkla temin edilebilen ve yüksek oranda (%20-35) spontan olarak over kanseri gelişen hayvanlardır (Fredrickson, 1987; Baruaa vd., 2009). Bu nedenle yumurtacı tavuklar, insan ovaryum kanser çalışmaları için iyi bir model olmaktadır (Barnes vd., 2002; Barua vd., 2009, 2012; Hakim vd., 2009). Tavuklardaki ovaryum kanserleri, insanda gelişenlere benzerliğinden dolayı anahtar görevi

görmektedir. Tavukların insanlardaki over kanseri için iyi bir model olduğu Cancer Prevention Research dergisinin 2009 Yılı şubat sayısında (ikinci cilt) kapak sayfası olmuştur (Johnson, 2009). Kontrolsüz hücre bölünmesi ve apoptozun önlenmesi kanser oluşum mekanizmasında öne çıkan unsurlardır. Over kanserlerinde de genlerde meydana gelen mutasyonlar kanser hücrelerinde apoptozun baskılanmasına neden olmaktadır.

1.2. Apoptozis (Programlı Hücre Ölümü)

Hücre yenilenmesi veya epitel hücrelerinin apoptoz arasındaki homeostatik denge hassas ve kontrollü bir düzenleme altındadır. Bu nedenle, epitel hücrelerin sınırsız çoğalması veya apoptozisteki anormal durum, hastalıklara yol açabilmektedir (Liu vd., 2016). Apoptozis (programlı hücre ölümü) hasara uğramış olan hücrelerin veya organizmadaki görevini tamamlayan bir hücrenin etrafındaki diğer hücelere herhangi bir şekilde zararı olmadan ortadan kaldırılmasına olanak sağlayan, genetik yönden kontrollü bir şekilde programlı hücre ölümüne denir (Turgut vd., 2006). İlk bakışta, "ölen hücreler hücre sağkalımını artırabilir" ifadesi çelişkili gibi görünmektedir, ancak ayrıntılı değerlendirdikten sonra evrimsel bir gerekçesi ve mantığı bulunmaktadır (Beer vd., 2016). Hücre ölümüne karşı oluşan direnç veya aşırı hücre ölümü, organ fonksiyonlarını etkileyerek hücrel homeostazi bozar ve bunun sonucunda organizmanın yaşamını etkilemektedir (Gopisetty vd., 2006). Hücre ölümü sebeplerinden olan nekroz 1970'li yıllara kadar tek bilinen hücre ölümü sebeplerinden birisidir. Fizyolojik yönüyle zararlı bir hücre ölümü şeklinde görülmekte olan nekrozun haricinde ise ilk defa Kerr ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada 1972 yılında tanımlanan programlı hücre ölümü ya da diğer adıyla bilinen apoptozis, çok hücreli olan bütün organizmalar için, gelişiminde ve homeostazisinin devamında çok büyük öneme sahip olduğu anlaşılmıştır. Canlı organizmalarda embriyo döneminin başından itibaren ölümüne kadar olan süreç içerisinde tüm hayatı süresince apoptotik mekanizma ve programlı hücre ölümü oluşmaktadır. Bunun sonucu olarak bazı hücrelerde yaşam süresi farklılık göstermektedir yani bazı hücrelerde yaşam süresi yıllarca olurken bazılarında ise bu süre sadece birkaç saat ile sınırlı kalmaktadır (Tomatır, 2003). Her hücredeki yaşam doğum veya çoğalmayla (proliferasyon) ile başlar, gelişimini ise farklılaşarak (diferansiasyon) devam ettirir ve sonuç olarak ölür (apoptozis). Bütün bu olaylar doğal bir denge içerisinde tekrar halinde devam eder gider. Dokudaki homeostazi olayı yapım ve yıkım olaylarının bir denge düzen

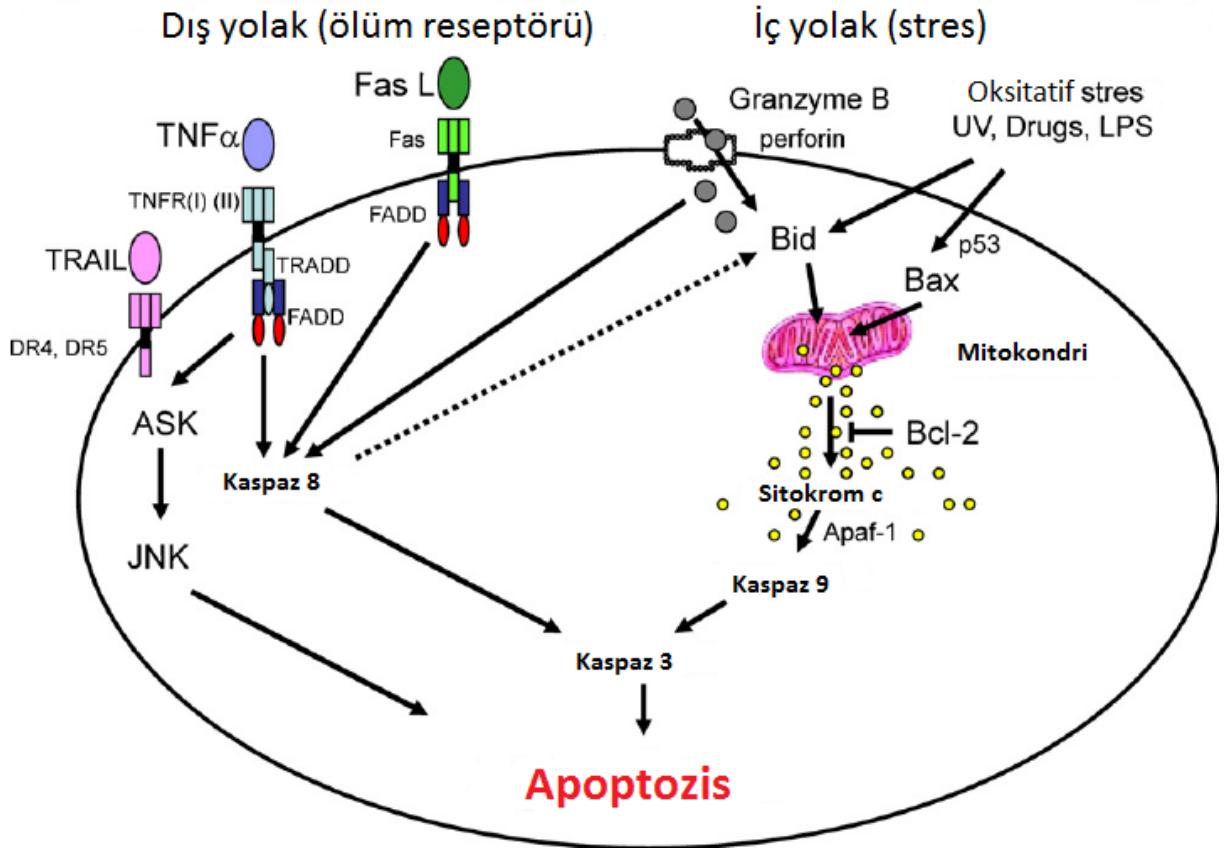
içinde olması, apoptozis/proliferasyon olaylarının dengeli ve sağlıklı bir şekilde devam etmesine bağlı olmaktadır. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, bu uyumdaki bozulmanın birçok önemli hastalığın sebebi olarak patogenezinde rol aldığı gösterilmektedir. Örnek olarak; artan proliferasyon oranı ile azalan apoptozis oranının karsinogenezde etkili olduğu düşünülmektedir (Erdoğan ve Uzaslan, 2003). Apoptotik hücre ölüm programı; Bcl-2 ailesi proteinleri, kaspazlar ve apoptotik proteaz aktive edici faktör-1 (Apaf-1) olmak üzere üç ana bileşen içerir. Bu anahtar bileşenlerin biyokimyasal aktivasyonu, apoptoziste gözlenen morfolojik değişikliklerden, mitokondriyal hasardan, çekirdek zarı kırılmalarından, DNA fragmentasyonundan, kromatin kondansasyonundan ve apoptotik cisimciklerin şekillenmesinden sorumludur (Tomatır, 2003).

Apoptozisde hücreler nekrozisden farklı olarak tek tek etkilenir; hacimce küçülür, komşu hücrelerle teması kaybederler. Bu olay hızla gerçekleşirken aynı anda hücrede değişik yüzey çıkıntıları ve kıvrıntıları oluşur. Bunların membranla çevrili olarak hücreden ayrılmasıyla apoptotik cisimler meydana gelir. Mitokondriler, nekrozla ölen hücrelerin aksine başlangıçtan itibaren normal yapıdadırlar. Nekrozdan farklı olarak apoptozisde hücre zarı sağlamdır. Bu nedenle inflamasyona neden olmaz. Bütün önemli yapısal değişiklik çekirdekte başlayarak izlenir. Çekirdek zarının altında kromatin materyali yoğunlaşır ve kaba, büyük kümeler yapar. Buralarda nüklear porlar seçilemez. Çekirdek düzensizleşir ve ileri evrelerde nüklear parçalara bölünür. Çekirdekçik genişler ve granülleri kaba kümeler halinde dağılır. Sitoplazmada açık renk vakuoller gelişir. Sonuçta membranla çevrili yuvarlak veya oval apoptotik cisimler meydana gelir. Oluşan bu apoptotik cisimler daha sonra komşu ve diğer hücreler tarafından fagosite edilir (Sunguroğlu vd., 1996).

1.2.1 Ölüm Reseptörleri

Protein yapısında olan sitokinler, hedef hücrelerde spesifik reseptörlere bağlanmak suretiyle hücre çoğalması ve farklılaşmasını kontrol etmektedirler. Yapısal özelliklerine göre üç gruba ayrılırlar. Bunlar; TNF (Tümör Nekroz Faktör), sitokin bağımlı büyüme faktörü ve helikal sitokinlerdir (Nagata ve Golstein,1995). Ölüm reseptörleri; TNF reseptör gen ailesine aittir. Bilinen ölüm reseptörleri; Fas (APO-1/CD95), TNF-R1 (TNF reseptörü-1), TNF-R2 (TNF reseptörü-2), DR3 ve DR6 dır. Bu reseptörlerin en çok bilinenleri Fas ve TNF-R1, karaciğer dokusunda fazla miktarda bulunur (Eichhorst ve Krammer, 2001).

Önemli bir apoptotik faktör olan Fas Ligand (FasL), TNF ailesinin bir üyesidir (Nagata ve Golstein, 1995). FasL, apoptozisi başlatmak üzere hedef hücrede spesifik reseptörlere bağlanırlar (Şekil 1). FasL'ın reseptörü olan Fas, APO-1 veya CD-95 adıyla da bilinen bir tip-1 membran proteinidir (Itoh vd., 1991; Oehm vd., 1992). FasL, sitotoksik T lenfositlerde (CTL) ve natural killer (NK) hücrelerde bulunur (Nagata, 1997; Behnia vd., 2000). FasL, Tip-II membran proteini gibi N terminali sitoplazmada, C terminali ise ekstrasellüler alana doğru uzanmaktadır. Hedef hücrede bulunan reseptör FasL ile bağlandığında apoptozisi aktive eder. Benzer şekilde, TNF ligand, reseptörleri TNF-R1 veya TNF-R2 ile bağlandığında apoptozisi aktive eder (Şekil 1). TNF-R1, pek çok dokuda bu sinyalin aktivasyonundan ve iletiminden sorumlu iken TNF-R2, timositlerde TNF bağımlı sinyalden sorumludur (Nagata, 1997).



Şekil 1. TNF ve FAS aracılı ölüm yolağı (URL-2)

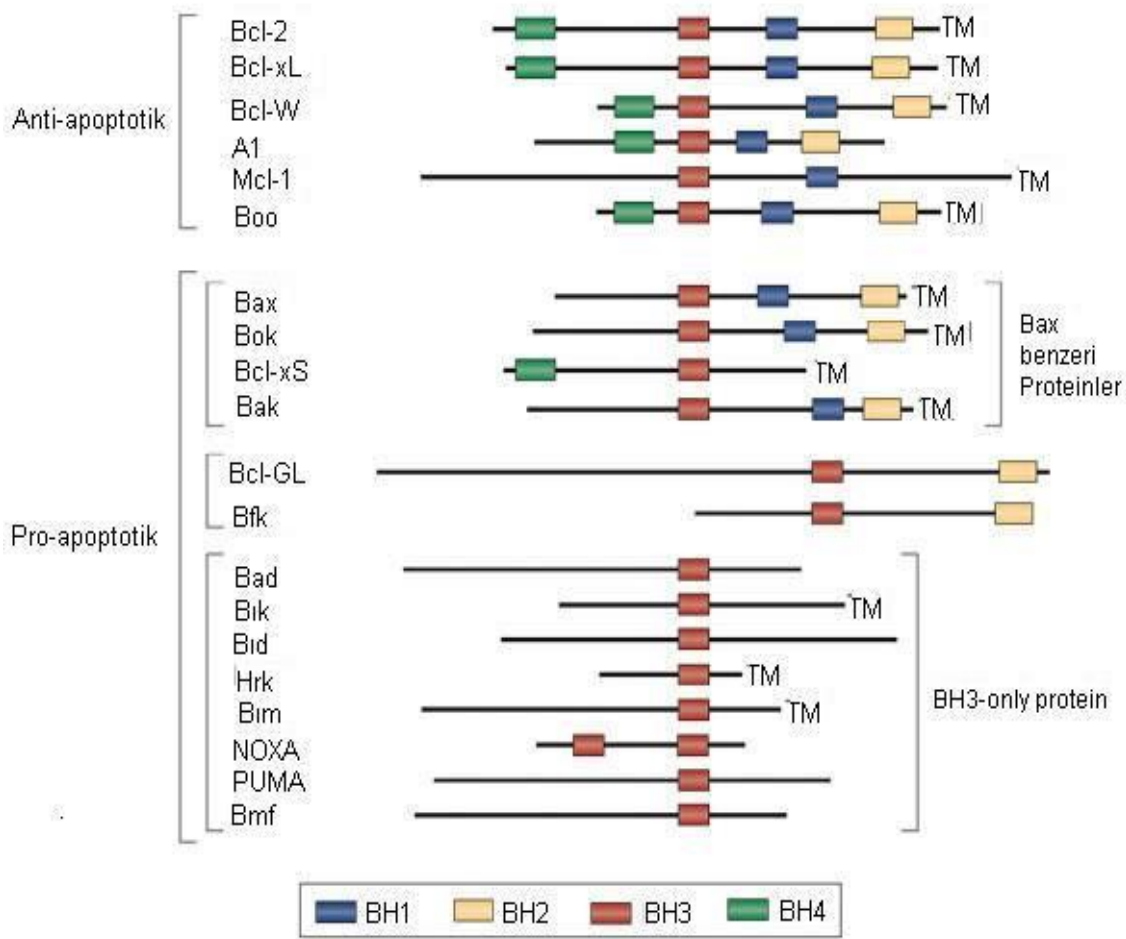
TNF-R1 ve Fas'ın sitoplazmik parçasında bulunan yaklaşık 80 aminoasitlik homolog bölgeler, ölüm sinyalinin iletimini sağladıklarından ölüm bölgeleri olarak

adlandırılmışlardır. TNF, hedef hücredeki TNF-R1 ve TNF-R2 reseptörleri ile bağlandığında apoptozisi aktive eder. Bu reseptör polipeptidlerin sitoplazmik bölümleri, ölüm alanı adı verilen bir aminoasit dizisini içermektedir. Bu bölgeler, FADD (Fas İle İlişkili Ölüm Bölgesi) ve TRADD (TNF-R1 İle İlişkili Ölüm Bölgesi) olarak adlandırılır. TRADD, TNF-R1 ve TNF-R2 reseptörlerinin, FADD ise Fas reseptörünün ölüm bölgesidir (Nagata, 1997). Adaptör proteinler, reseptörle gelen sinyal sonucunda kaspazlara bağlanıp onları aktive ederler. Membrana bağlı TNF ve FasL'in metalloproteinaz enzimleri aracılığı ile proteolizi sonucunda membrandan ayrılıp serbest hale geçen formları mevcuttur. Bu serbest formlarına, solubl TNF ve solubl FasL adı verilmektedir (Nagata, 1997; Cheng, vd., 1994; Knox vd., 2003; Kuwano vd., 2000; Tanaka vd., 1996). Solubl formda bulunan TNF ve FasL'da apoptozisi aktive etmektedir. Ancak membrana bağlı TNF ve FasL'in, spesifik reseptörlerini aktive etmekte solubl formlarından daha etkili oldukları saptanmıştır. Sonuç olarak apoptozis FasL veya TNF ligandın hedef hücredeki ilgili reseptörleri ile bağlanması ile tetiklenir. Ölüm sinyali bundan sonraki aşamada bu ölüm bölgeleri üzerinden hücre çekirdeğine kadar ileti kaskadı aracılığı ile iletilir (Nagata, 1997; Behnia vd., 2000).

1.2.2. Bcl-2 Ailesi Proteinleri

Hücre ölüm yolağında, apoptozisin hücre içi kritik kontrol noktasını Bcl-2 protein ailesi oluşturmaktadır. Bcl-2 ailesi, aile üyesi proteinlerin kendi aralarında ve mitokondri membran bütünlüğünü sağlayan diğer proteinler ile çeşitli etkileşimler sağlayarak apoptozisi düzenleyen geniş bir gruptur. Son araştırmalar Bcl-2 ailesi proteinleri tarafından düzenlenen apoptozis mekanizması üzerine yoğunlaşmıştır (Rao ve White, 1997; Wang vd., 1999; Borner, 2003). Aile üyesi proteinlerin birçoğu bir hastalık durumundan ötürü tanımlanmıştır ve bu yüzden ilk olarak onkogenlerin hücrel çoğalmayı artırması bakımından benzer nitelikler taşıdığı düşünülmüştür (Bakhshi vd., 1985; Tsujimoto vd., 1985; Tsujimoto ve Croce, 1986; Cleary vd., 1986). Daha sonraları Bcl-2 nin hücre çoğalmasını tetiklemesinden çok hücre ölümünü engelleyici fonksiyonları keşfedilmiştir (Vaux vd., 1988; Hockenbery vd., 1990). Bcl-2 protein ailesi hücre ölümünü engellemesi ile neoplastik gelişime izin veren bir onkogen sınıfıdır. Ailenin ilk üyesi olan "Bcl-2" B-hücre lenfomasında tanımlandığından bu adı almıştır. Bcl-2 proteinin memeli hücrelerinde keşfinden sonra Bcl-2 ailesinin 20 ye yakın üyesi tanımlanmıştır (Al-Rubeai ve Fussenegger, 2004) (Şekil 2).

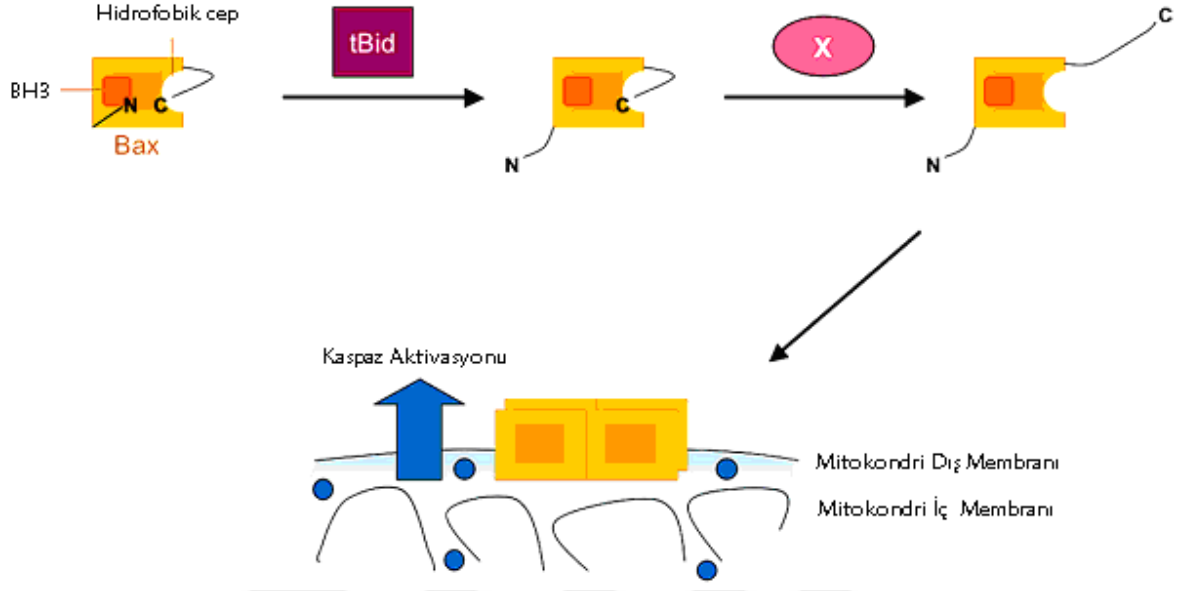
Bcl-2 protein ailesinin anti-apoptotik Bcl-2, Bcl-xL ve Mcl-1 gibi bazı üyeleri apoptozisi baskılar iken pro-apoptotik Bax ve Bak gibi üyeleri ise apoptozisi etkinleştirmektedir. Bax ve Bak gibi proapoptotik üyelerin aktivasyonu sitokrom-c nin mitokondriden hücreye geçişini uyarır iken Bcl-2 gibi anti-apoptotik üyeler ise bu durumu baskılamaktadır. Bcl-2 ailesi üyeleri, pro apoptotik Bax ve Bak uyarısı ile geçirgen mitokondriyal dış membranın sitokrom-c ve diğer proteinlerin salınması, dolayısıyla kaspazların aktivasyonunu ve hücre yıkımını uymaktadır (Youle ve Strasser, 2008).



Şekil 2. Bcl-2 ailesi proteinlerinin şematik diyagramı (URL-3).

Hücrelerde çoklu-domaine sahip proapoptotik Bax ve Bak monomer olarak bulunmaktadır. İnaktif Bax ya sitoplazmada ya da zayıf bir biçimde membrana bağlı olarak

bulunur ve bu proteinin hidrofobik cebi C-terminalindeki heliks ile doldurulmuş durumdadır.



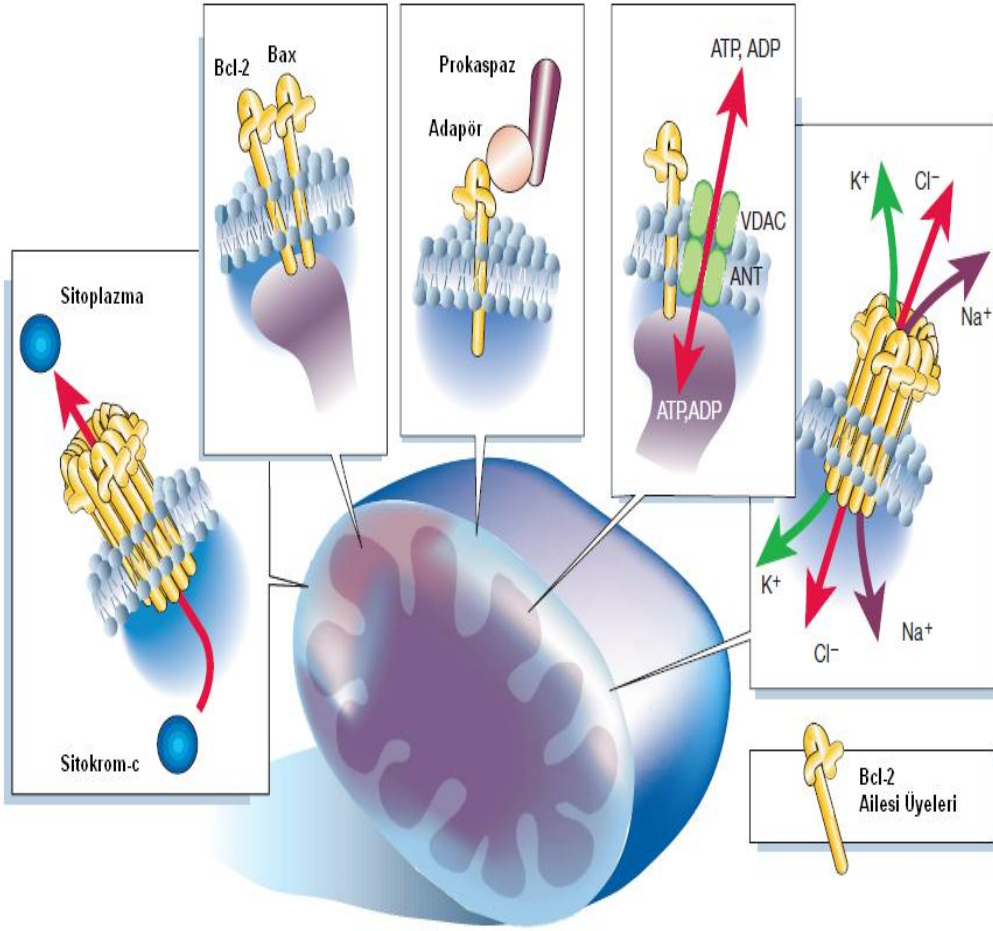
Şekil 3. Bax'ın aktivasyonu (Ardjomande ve Martinou, 2005)

Bu proteinlerin N-terminal kısımları proteinin içerisine gömülü olarak bulunur sinyal alımıyla beraber hedef hale gelir (Şekil 3). Bax mitokondri membranına transloke olduktan sonra dış mitokondri membranına entegre olur. Bu sırada Bax ve Bak oligomerize olur ve mitokondri dış membranını geçirgen hale getirirler (Ardjomande ve Martinou, 2005). Geçirgen hale gelen mitokondri membranından Sitokrom-c salındığında sitoplazmadaki APAF-1 ile bağlanarak kaspaz-9 un aktivasyonu ile apoptozom yapısı oluşur (Bao ve Shi, 2007).

Bcl-2 proteini apoptozis esnasında; pro-apoptotik aile üyelerine bağlanarak onların inhibisyonu, mitokondri mebranındaki iyon akışı ve sitokrom-c salınımı gibi birçok işlevi düzenlemektedir. Bütün aile üyeleri tarafından düzenlenen tek bir mekanizma yoktur ancak Bcl-2 ailesinin hem pro- hem de anti-apoptotik üyelerinin düzenlediği çeşitli mekanizmalar vardır. Hem pro- hem de anti-apoptotik üyeler ve onların birbirleri ile etkileşimleri diğer proteinlerin fonksiyonlarını nötralize edebilir. Bu durum hassas dengenin sürdürülmesini sağlar. Ancak pro ya da anti-apoptotik üyelerin ekspresyon düzeylerindeki değişim, hücrenin yaşama ölüm arasındaki dengesini etkilemektedir. Bunun sonucunda aile üyelerinin dimerizasyonu, onların bireysel aktivitelerinde anahtar

rol oynamaktadır. Örneğin; Bcl-2 ve Bcl-xL Bax'ın aktivitesini nötralize etmek için onunla eşleşebilme yeteneğine sahiptir. Bax normalde sitoplazmada monomer olarak bulunur fakat apoptotik sinyal bu proteinin Bax/Bax homodimeri şeklinde sitoplazmada çoğalmasına neden olur. Homodimer konumuna geçen Bax daha sonra mitokondriye transloke olmaktadır (Gross vd., 1998; Minn vd., 1998). Bax'ın yapısındaki bu konformasyonel değişimin temel nedeninin pH ta meydana gelen değişimler ile olacağı iddia edilmiştir. Bu teori; apoptozisi önlemek ya da başlatmak için Bcl-2 aile üyeleri ile diğerlerinin nasıl etkileştiğini gösterirken, bireysel proteinler tarafından apoptozis'in moleküler düzeyde başlatılması tam olarak açıklanamamıştır. Böylesi bir hipotez, Bcl-2 ve Bcl-xL gibi anti-apoptotik ve Bax gibi pro-apoptotik üyelerin lipid membranındaki iletken iyon kanallarını tıpkı mitokondri membranında Ca^{2+} , K^+ ve Cl^- gibi iyonların değişimine neden oldukları gibi şekillendirebilmesiyle açıklanır. Bu değişimler apoptozise has olan mitokondrinin şişmesi gibi mitokondriyal anormalliklere neden olabilir. Bu yol sayesinde, aile üyelerinin ekspresyon düzeyleri apoptozisin başlangıcını düzenleyebilirler. Eğer hücredeki Bcl-2'nin ekspresyon düzeyi Bax 'ın düzeyinden daha fazla ise hücre apoptozisten kaçınır. Fakat hücredeki Bax'ın ekspresyon düzeyi Bcl-2 den daha fazla ise hücre apoptozise yönelir (Borner, 2003).

Apoptozisin düzenlenmesinde önemli rol oynayan bir diğer olay ise pro-apoptotik ve anti-apoptotik proteinlerin fosforilasyonudur. Örneğin, Bad fosforile olmadığı durumda iken Bcl-2 ve Bcl-xL'i dimerize edebilir ve böylece onların anti apoptotik aktivitelerini Bax'ın homadimerize olmasını sağlayarak nötralize eder. Bununla birlikte fosforile durumda iken 14-3-3 mutant proteini ile ayrılmıştır ve apoptozis etkileşimi sağlanamayarak Bcl-2 ve Bcl-xL tarafından inhibe edilemez. Yani pro-apoptotik rolü baskılanmaktadır (Korsmeyer, 1999).

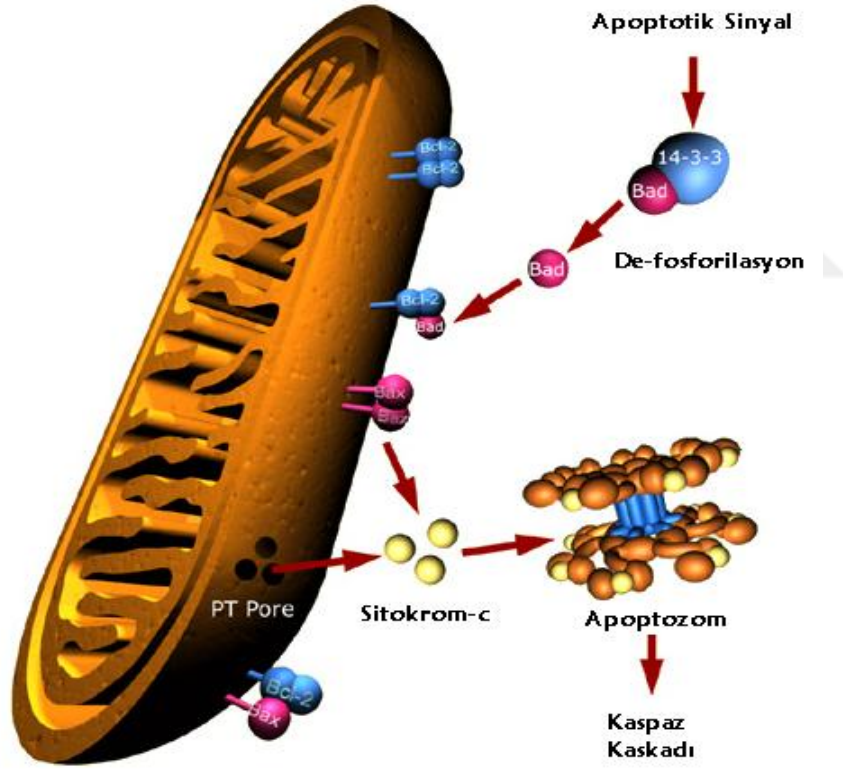


Şekil 4. Bcl–2 protein ailesinin apoptozisteki işlevleri (Hengartner, 2000)

Bcl–2 protein ailesinin apoptozisteki işlevlerini sıralayacak olursak; Mitokondri membranında por oluşumu sağlayarak sitokrom-c ve diğer proteinlerinin salınmasına aracılık eder. Pro ve anti-apoptotik Bcl-2 ailesi üyeleri arasında heterodimer oluşumunu sağlar. Kaspazların düzenlenmesini sağlar. Mitokondrideki mevcut diğer proteinler ile etkileşimi sağlar. Bu etkileşimler por oluşturarak sitokrom-c salınımını veya mitokondri homeostasisidir. Zayıf seçici iyon kanalı oluştururlar (Hengartner, 2000) (Şekil 4).

1.2.3. Mitokondrinin rolü ve Bcl-2 Ailesi'nin fonksiyonları

Mitokondri, hücre ölümünün (apoptozis) kontrol edilmesinde önemli bir role sahiptir. Hücrenin iki ana ölüm yolağından biri olan içsel yolak, mitokondri aracılığı ile gerçekleşmektedir. Mitokondri; AIF (Apoptozis İndükleyici Faktör), sitokrom-c gibi birçok pro-apoptotik proteini içermektedir. Bu faktörler mitokondriyal membranlardan salınırlar. Mitokondri membranında bulunan porların, hücre stresi, serbest radikal hasarı ya da büyüme faktörü yoksunluğu gibi apoptotik sinyal tarafından başlatılan ve pro-apoptotik Bcl-2 protein ailesi üyelerinin aktivasyonu boyunca biçimlendiği düşünülmektedir. Mitokondri aynı zamanda ölüm reseptöründen gelen apoptotik sinyalin Bcl-2 protein ailesi vasıtasıyla artırılmasında önemli rol oynamaktadır (Adams ve Cory, 2001) (Şekil 5).



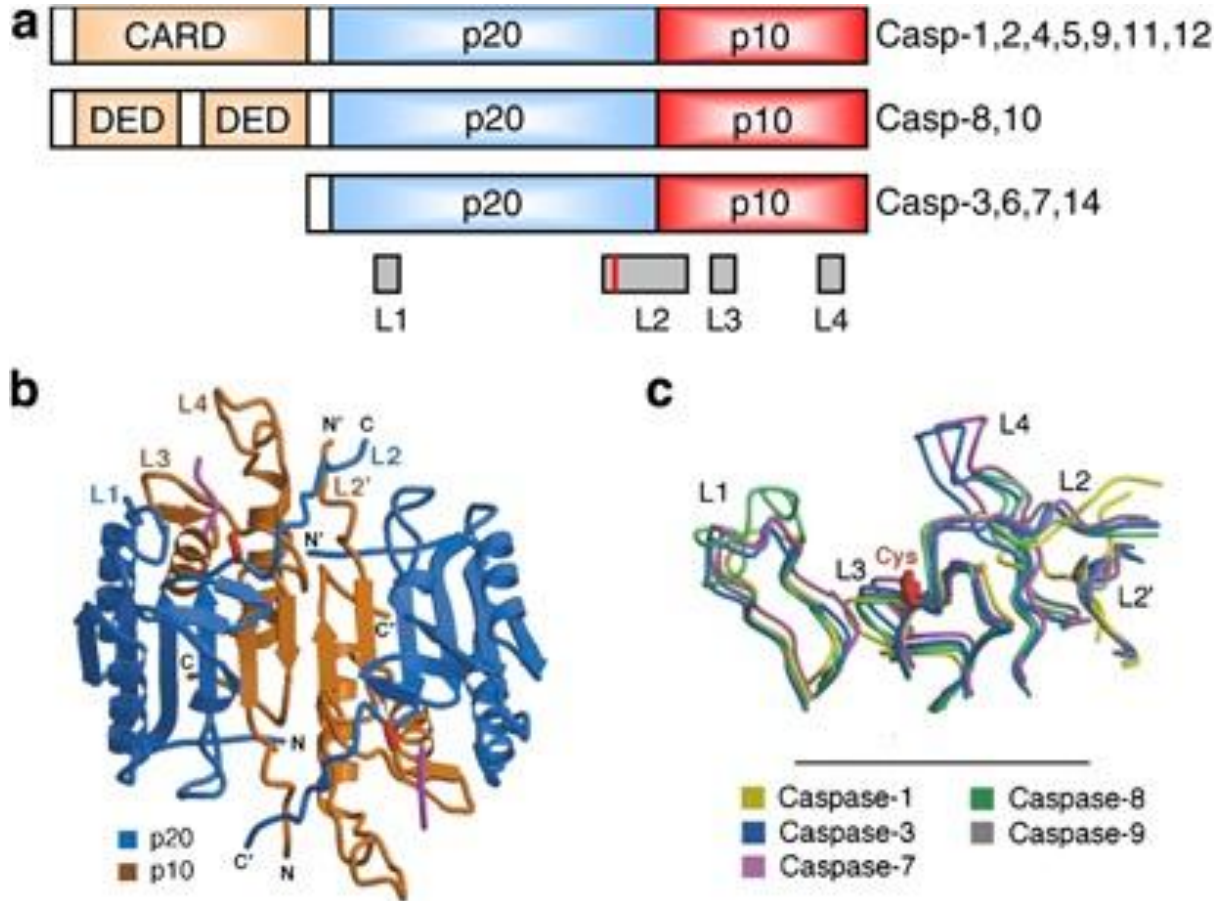
Şekil 5. Mitokondri genellikle solunumdaki rolü ile bilinmesinin yanı sıra hücrenin ölümünde önemli görevler almaktadır. Hücrenin içi yollaklarda apoptoziste önemli bir etkisi vardır. Hücrede ölüm emrinin alınmasıyla mitokondrinin yüzeyinde oluşan deliklerden sitokrom-c salınımı yapılır ve Apaf-1 ile birleşerek apoptozomu oluşturur (URL-4).

Mitokondriden salınan diğer proteinlerde kaspazların aktivasyonunda çok önemli role sahiptir, belkide bu önem hücrelerin uzun süre yaşamalarında etkilidir (Potts vd., 2005). Bcl-2 protein ailesi, mitokondriyal membran boyunca sitokrom-c ve diğer proteinlerin salınımını düzenler (Adams ve Cory, 2007). Bcl-2 protein ailesi, mitokondriyal hasarda; mitokondriye ait porların açılması ve apoptogenik proteinlerin mitokondriden sitoplazmaya salınmasını düzenler. Apoptozis tetiklendiğinde mitokondriden sitoplazmaya sitokrom-c ve apoptozis uyarıcı faktör (AIF) salınır. Hem sitokrom-c hem de AIF Kaspazlar olarak ta adlandırılan hücre içindeki sistein proteazları aktifleştirmede geniş bir etkiye sahiptirler (Green ve Reed, 1998).

1.2.4. Kaspazlar

Spesifik substrat bölgesine sahip olan Kaspazlar ve hedef proteinleri aspartik asit bölgesinden sonra kesen hücre içi sistein proteazlarıdır (C-Asp-ase; C: sistein amino asiti simgesi, Asp: aspartik asit, -ase: kesici enzim eki) (Thornberry vd., 1997). Sağlıklı hücrelerde kaspaz molekülleri çoğunlukla, pro-kaspaz olarak adlandırılan, monomerik zimojen halde bulunmaktadır. İnaktif haldeki pro-kaspaz enzimleri apoptozis sinyalinin alınmasıyla birlikte diğer kaspazlar tarafından aspartik asit biriminden kesilerek aktive edilirler. Aktive olan kaspaz diğer kaspazları keserek inaktif formdan aktif forma dönüştürülür (Stennicke vd., 2002). Kaspaz enzimleri büyük ve küçük olmak üzere iki alt birimden oluşur ve enzimin N-terminalinde pro-domain bölgesi bulunur. Enzimin büyük ve küçük alt birimleri birbirleriyle etkileşerek enzimin aktif merkezini oluştururlar ve bu aktif merkezde ise sistein aminoasit'i yer alır. Kaspaz enzimlerinin pro-domainleri çeşitlilik gösterir; CARD (Kaspaz Güçlendirme Alanı) ve DED (Ölüm Efektör Bölgesi) enzimin pro- domaininde bulunan özel motiflerdir ve protein-protein etkileşiminde görev alırlar. Kristalografi çalışmaları, iki tane heterodimerin bir araya gelerek tetramer yapıda aktif kaspaz enzimini oluşturduğunu ortaya koymuştur (Walker vd., 1994; Wilson vd., 1994). Hücre içi ve hücre dışı birçok sinyalin, apoptozis boyunca kaspazların başlatıcı ve etkin olarak ayrılan her iki sınıfının da aktivasyonunu düzenlediği bilinir. Apoptozis esnasında proteolitik olarak aktive olan kaspazların tümü aslında inaktif zimojen (pro-kaspaz) olarak üretilir. Başlatıcı kaspazlar -2, -8, -9 ve -10, multiprotein-komplekslerindeki pro-domainin güçlendirilmesinden sonra otokatalitik aktivasyonla aktifleşirler, etkin

kaspazlar pro-Kaspaz-3, -6, ve -7 ise başlatıcı kaspazlar tarafından aktifleştirilirler (Al-Rubeai ve Fussenegger, 2004) (Şekil 6) (Tablo 1).



Şekil 6. Memeli kaspaz yapısı ve etki alanı organizasyonu (URL-5)

Tablo 1. Kaspazların sınıflandırılması

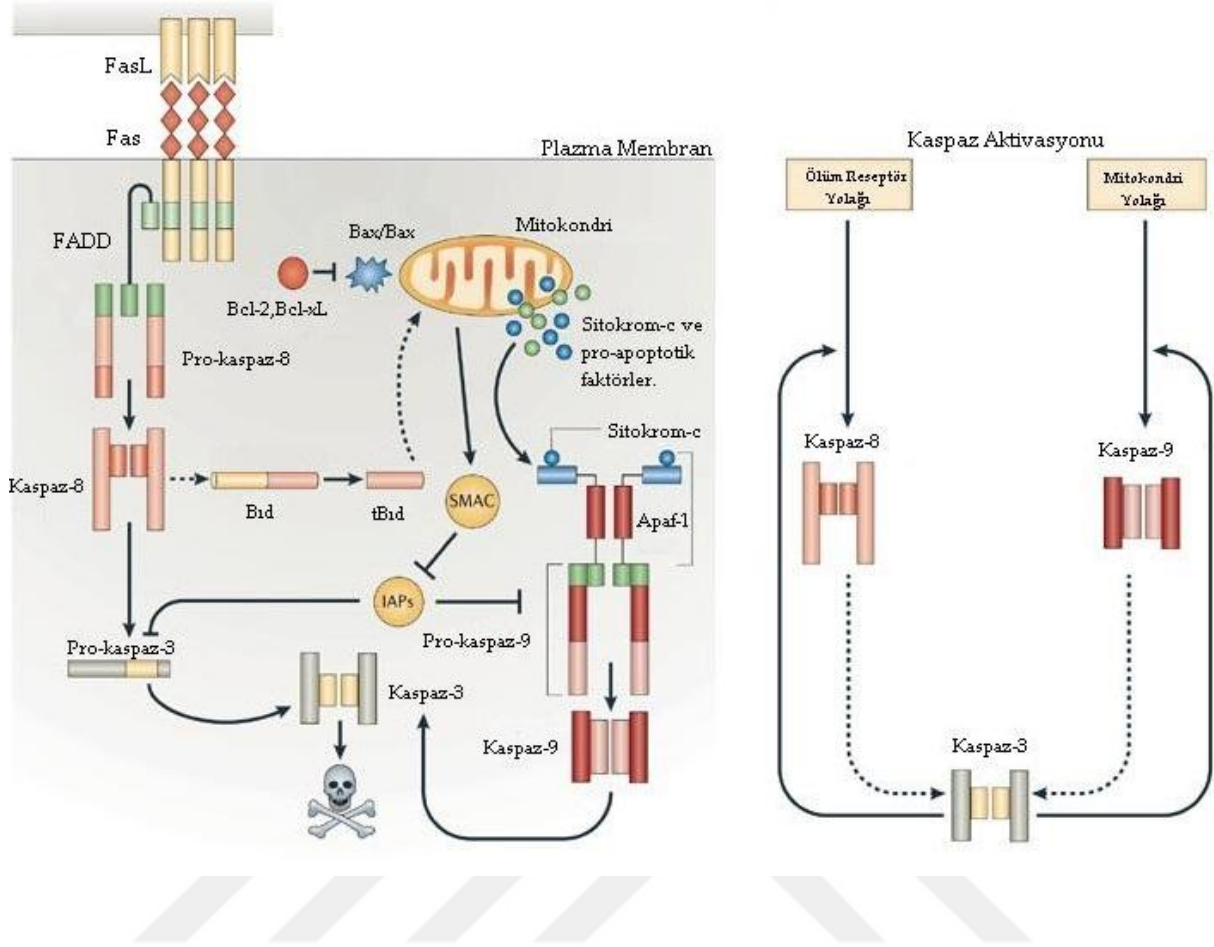
Kaspaz	Domain	Düzenleyici	İşlev
Başlatıcı Kaspazlar			
Kaspaz -2	CARD	RAIDD RIP TRADD	Sinir ve B- hücrelerinde apoptozisi başlatma.
Kaspaz -8	DED	FADD FLIP	Ölüm reseptörleri aracılığı ile apoptozisi başlatma.
Kaspaz -9	CARD	APAF-1 IAPs DIABLO HtrA2	Apoptozis
Kaspaz -10	DED	FADD FLIP	Ölüm reseptörleri aracılığı ile apoptozisi başlatma.
Etkin Kaspazlar			
Kaspaz -3	-	Kaspaz-9 IAPs DIABLO HtrA2	Apoptozis
Kaspaz -6	-	Kaspaz-3	Kromatin kondenzasyonu, apoptotik cisimcikler.
Kaspaz -7	-	Kaspaz-9 IAPs DIABLO HtrA2	Bilinmiyor
Kaspaz -14	-	-	Bilinmiyor
Sitokin Kaspazlar			
Kaspaz -1	CARD	ASC Ipaf	İnflamasyon
Kaspaz -4	CARD	Kaspaz-8	İnflamasyon

Kaspaz -5	CARD		İnflamasyon
Kaspaz -11	CARD		İnflamasyon
Kaspaz -12	-	Kaspaz-8	Bilinmiyor
Kaspaz -13	-		Bilinmiyor

1.2.4.1. Kaspazların Aktivasyonu

Kaspaz ailesi üyelerini inaktif formdan aktif forma dönüştüren genel olarak iki yolak bulunmaktadır. Bunlardan birincisi; ölüm sinyali-uyarması, ölüm reseptörü aracılı yolaktır. Diğeri ise; stres kaynaklı, mitokondri aracılı yolaktır (örneğin: Kaspaz-9 bağımlı yolak).

Ölüm reseptörü aracılı yolakta Fas ligandı (FasL) ve TNF gibi ölüm sinyalleri, plazma membranında yer alan Fas ve TNF reseptör (TNFR)-1 gibi reseptörlerle belirli bir biçimde tanımlanabilirler. Fas, Fas ile ilgili ölüm alanına (FADD) bağlanabilir (ya da TNFR- ile ilgili ölüm alanı TRADD) ve FADD'nin agregasyonuna ve DED 'lerin (Ölüm etkin bölgeleri) ortaya çıkmasına neden olur. Bunlar pro-kaspaz-8'in pro-domainindeki DED'ler ile etkileşime neden olurlar, böylece plazma membranının sitoplazmik kısmında lokalize olan pro-kaspaz-8'in oligomerizasyonu uyarırlar. Daha sonra büyük karmaşık bir molekül biçimlenir. Kaspazların aktivasyonu hücre tiplerine göre farklılık göstermektedir. Şöyle ki; Tip 1 hücrelerinde (Bazı Lenfoid Hücreler) kaspaz-8'ler hareketli bir şekilde aktif olurlar ve pro-kaspazların akış yönünde doğrudan aktif olabilirler. Tip 2 hücrelerinde ise (Tip 1 hücrelerinin dışında) kaspaz-8 az miktarda aktive olurken pro-kaspaz-3'ün doğrudan aktive olması imkansızdır. Ancak, mitokondri aracılı yolakta aktif olabilirler. Mitokondri aracılı kaspaz aktivasyon yolağı ise; sitokrom-c, AIF ve diğeri moleküllerin mitokondriden salınımı ile söz konusu pro-kaspazların aktivasyonu gerçekleşmektedir (Wang vd., 2005; Arnoult vd., 2003; Lü vd., 2003; Fu ve Fan, 2002).



Şekil 7. Kaspazların aktivasyonu (URL-6)

Şöyle ki; sitokrom-c bağımlı yolakta pro-kaspaz-8'in aktivasyonu için ne FADD ile etkileşimi ne de DISC kompleksinin oluşumu gerekir (Cowling ve Downward, 2002). Mitokondri aracılı pro-kaspaz aktivasyonunda, pro-kaspaz-9'un aktivasyonu hücrel stres oluştuğunda (örneğin: DNA hasarı) mitokondri geçiş porlarının açılmasını uyararak sitoplazmadaki pro-apoptotik proteinler aktive olacaktır. Böylece mitokondride lokalize olmuş sitokrom-c sitoplazmaya salıverilecektir. Sitoplazmada bulunan dATP (Deoksiadenozin trifosfat) ya da ATP'nin, Apaf-1 ile oligomerizasyonu gerçekleşir ve sitoplazmik pro-kaspaz-9, dATP ve sitokrom-c oligomerize olmuş Apaf-1 ile birlikte "Apoptozom" olarak bilinen büyük kompleks bir oluşumla sonuçlanır. Apaf-1'in N-terminali ve pro-kaspaz-9'un pro-domain'i CARD'a sahiptir (Arnoult vd., 2003).

Apaf-1 ve pro-kaspaz-9 sahip oldukları bu alan sayesinde diğer proteinlerle etkileşmektedir. Aktif olan kaspaz-9, pro-kaspaz-3 ve pro-kaspaz-7'leri aktif hale getirir. Aktifleşen kaspaz-3, aktivasyon yolağında pozitif feedback ile pro-kaspaz-9'u aktif hale getirecektir (Jiang ve Wang, 2000) (Şekil 7).

1.3. Fitokimyasallar

Son zamanlarda, fonksiyonel gıdalar normal tüketiciler için besinsel ve ilaç endüstrisinde giderek artan bir ilgi kazanmaktadır. Gıda maddeleri, özellikle bitki kökenli olmakla birlikte, insan sağlığını olumlu etkileyebileceği gerçeğinin düşünülmesi insan kültüründe uzun ve köklü bir geçmişe sahiptir. Sadece son yıllarda, ancak bazı fitokimyasalların inflamasyonu düşürdüğü düşüncesi ortaya konmuştur (Veldhoen ve Veiga-Fernandes 2015). Yapılan çok sayıdaki çalışmalarda, *in vitro* ya da *in vivo* olarak bazı klinik çalışmalarda diyet olarak fitokimyasallar kullanılmıştır. Aynı zamanda, bazı diyet ajanlarının bağışıklığı etkili bir şekilde artırabileceği görülmektedir (Mirzaei vd., 2016). Bitki özleri ve aktif bileşikler çeşitli insan hastalıklarının tedavisinde umut verici adaylar gözüyle bakılmaktadır. Bununla birlikte, doğal ürünler veya bunların sentetik analogları, ciddi yan etkilere de neden olabilmektedir (Yu vd., 2015; Thangapazham vd., 2013). Doğal ürünler genellikle sentetik bileşikleri daha az toksisite gösterdiğinden bunlar, özellikle kanser ve komplikasyonlarının tedavisinde artan araştırma konusu olmuştur (Bar-Sela vd., 2010; Panahi vd., 2014). Kurkumin *Curcuma longa L* (zerdeçal) rizomları çıkarılan doğal polifenol bir bitkidir (Sahebkar, 2015; Esmaily vd., 2015). İnsan hastalıklarının tedavisinde dayanak olarak gösterilen kanıtlarda kurkuminin çeşitli biyolojik süreçlerde önemli roller oynadığı ve yararlı birkaç farmakolojik özelliklere sahip olduğu gösterilmiştir. Bu farmakolojik etkiler antioksidan (Panahi vd., 2012; Sahebkar vd., 2013; Panahi vd., 2016; Park vd., 2016), anti-inflamatuvar (Panahi vd., 2012; Panahi vd., 2014a; Sahebkar, 2014a; Panahi vd., 2015a), lipid modifiye (Sahebkar, 2014b; Sahebkar, 2014c; Panahi vd., 2014b; Mohammadi vd., 2013), anti-romatizmalı (Panahi vd., 2014; Panahi vd., 2016), kardiyo koruyucu (Swamy vd., 2012; Sahebkar, 2013), anti-iskemik (Sahebkar, 2010), anti-depresan (Esmaily vd., 2015; Panahi vd., 2015b), anti-diyabetik (Chuengsamarn vd., 2012), nöro-koruyucu (Mythri ve Bharath, 2012) ve anti-aterosklerotik (Hasan vd., 2014; Sahebkar, 2015) gibi çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalarda kurkuminin sitokinler, protein kinazlar, çoklu transkripsiyon faktörleri, adezyon molekülleri, inflamatuvar mediatörlerini ve redoks özel enzimleri gibi çeşitli hedefleri etkileyebileceği gösterilmiştir (Sahebkar, 2015, Lu vd., 2016).

1. 3.1. Kurkumin



Şekil 8. Kurkuminin(*Curcuma longa L*) Yapısı. (URL-7)

Kurkumin, yemeklere sarı renk veren baharat olarak kullanılan Hint safranı (Zerdeçal)'nın içerisinde bulunmaktadır. Tropikal bir bitki olan *Curcuma longa* (Zingiberaceae)'nin sarı tozundan üretilir. Küçük molekül ağırlıklı polifenolik bitkisel bir bileşiktir. Zerdeçal içerisinde; kurkumin (diferuloylmetan), demethoksikurkumin ve bis-demethoksikurkumin olmak üzere 3 farklı kurkuminoid mevcuttur. Bunlar arasında en aktif olanı kurkumindir (Aggarwal vd., 2003). Kurkumin, doğu toplumlarında özellikle Hint ve Çin geleneksel tıbbında lokal/topikal ve genel kullanım alanı bulmuştur. Kurkumin, antioksidan (Sreejayan ve Rao, 1994; Calabrese vd., 2003; Menon ve Sudheer, 2007), antikarsinojenik (Aggarwal vd., 2003, 2005; Li vd., 2002), antimutajenik (Azouine vd., 1992), antimetazatik (Kawamori vd., 1999), antiinflamatuvar (Brouet ve Ohshima, 1995), antimikrobiyal (Li vd., 1993; Negi vd., 1999) gibi pek çok etkiye sahiptir. Kurkumin, antioksidan vitaminlerle kıyaslanabilir ölçüde antioksidan aktiviteye sahiptir (Toda vd., 1985). Birçok reaktif oksijen radikallerin atılımını kolaylaştırır (Reddy ve Lokesh, 1994). Kurkuminin doza bağımlı olarak hayvanlarda birçok kanser türüne (kolon, duodenum, mide, ösefagus, prostat) karşı koruyucu etkisi olduğu bildirilmiştir (Aggarwal vd., 2003). Kurkuminin antikanser etkisinin transkripsiyon faktörleri, apoptotik genler gibi hücresel düzeyde olduğu düşünülmektedir (Aggarwal vd., 2003).

Zencefil ailesine ait olan kurkumin (*Curcuma longa L.*), lifli, sarı çiçekli, otsu bir bitki olup, *Curcuma longa* bitkisinin kökünden elde edilir. Bitkinin toprak altındaki ana kökleri yumurta ve armut şeklinde, yan kökleri ise parmak (rizom) şeklindedir. Rizomların üst yüzü sarımsı, iç yüzü ise sarı renklidir (Şekil 9). Hindistan, Çin, Endonezya, Jamaika, Peru ve Pakistan olmak üzere Asyanın birçok tropik bölgelerinde yetiştirilmektedir. Zencefile benzer acımsı bir tat ve hafif bir aromaya sahiptir (Gross vd., 1998; Minn vd., 1998).



Şekil 9. Kurkumin (URL-8)

1.3.1.1. Kurkumin Tarihçesi

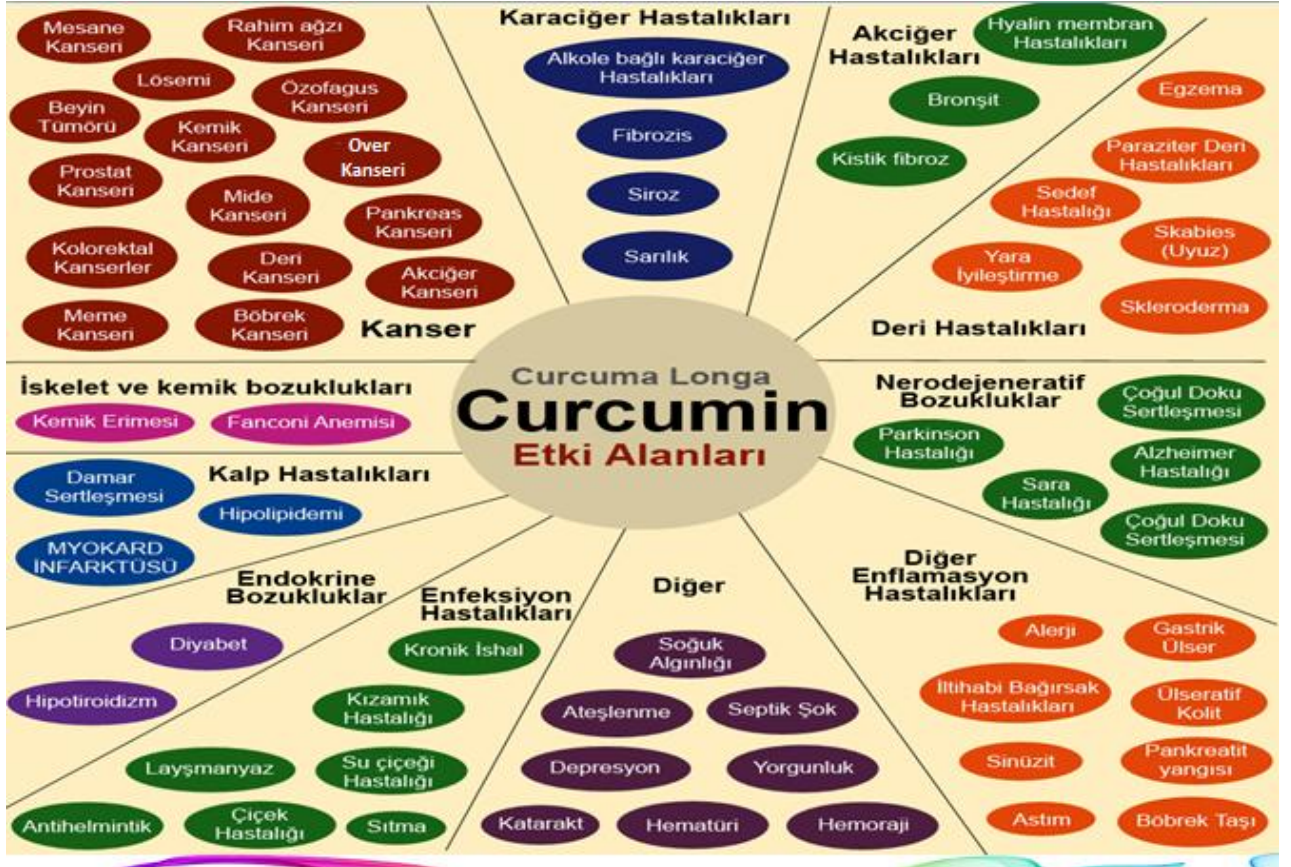
Kurkuminin geçmişi 5000 yıl öncesine dayanmaktadır. Sarı renkli olan kurkuminin, M.Ö. 600'lü yıllardan beri boya, ilaç ve baharat olarak kullanıldığı bilinmektedir. Kurkumin, ilk kez 1815 de tespit edilmiş ve 1870 de kristal formu elde edilmiştir ve sonrasında 1910 yılında kimyasal yapısının keto-enol formunda olduğu açıklanmıştır (Korsmeyer, 1999). Hengartner ve arkadaşları (2000) tarafından yapılan bir çalışmada, enol formu bulunmuş ve kurkumin enol formundan elde edilmiştir. Ayrıca,

kurkumininin çok fazla biyolojik aktivitelere sahip olduğu, bunlar arasında antioksidan ve anti-karsinojenik etkilerinin önemli olduğu bildirilmiştir (Adams ve Cory, 2001). *Curcuma longa* bitkisi sadece gıda bileşeni olarak değil, aynı zamanda çeşitli hastalıkları tedavi etmek amacıyla, yan etkileri olmadan yüzyıllar boyunca Hindistan halkı tarafından kullanılmış aynı etkiye sahip diğer ilaçlardan daha ekonomik ve etkili olduğu tespit edilmiş, günümüzde halen güvenli olarak kullanılmaktadır (Minn vd., 1998).

1.3.1.2. Kurkuminin Kullanım Alanları ve Özellikleri

Halk arasında baharat olarak bilinen kurkumin aslında birçok hastalığın önlenmesinde ve hatta tedavisinde önemli rollere sahiptir. Asyalılar zerdeçalı ülkelerinde yaraların ve ülserlerin tedavisinde kullanılmaktadırlar. Hindistan tıbbında büyük bir öneme sahip olan zerdeçalın; nezle, öksürük, karaciğer rahatsızlıkları, romatizma, sinüzit, safra ile ilgili rahatsızlıklarda ve anoreksia tedavisinde kullanıldığı bildirilmektedir. Ayrıca, kan temizleyicisi, tonik ve deri hastalıkları tedavisinde de kullanılmaktadır (Potts vd., 2005; Adams ve Cory, 2007).

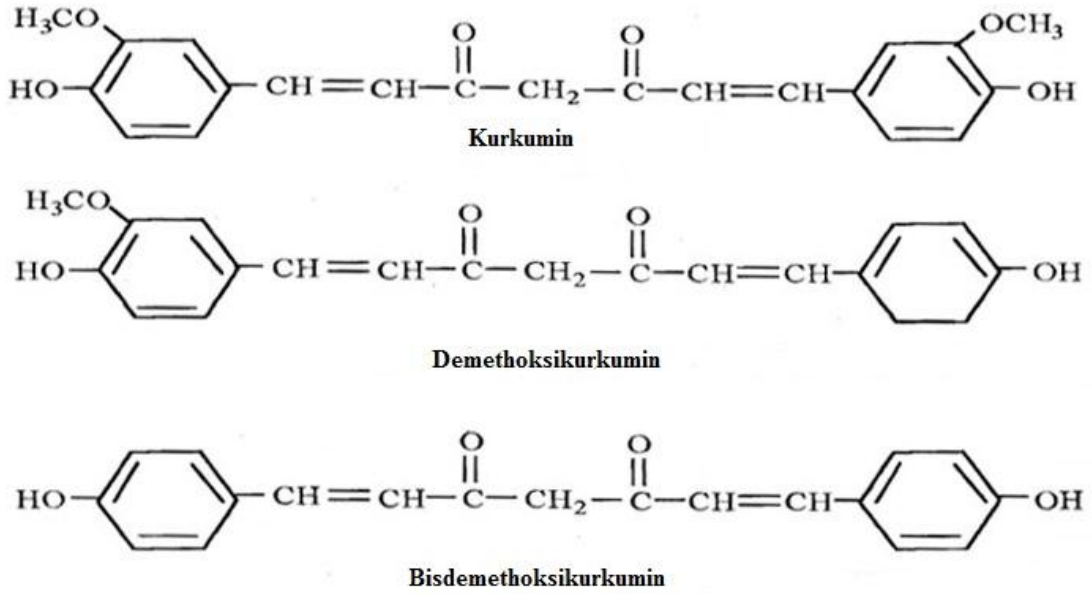
Bununla birlikte epidemiyolojik, klinik ve hayvan deneyleri ile yapılan çalışmalarda kurkumin'in birçok biyolojik etkisinin moleküler mekanizmaları açıklanmaya çalışılmıştır. Antimikrobial (Eichhorst ve Krammer, 2001), antioksidan (Gopisetty vd., 2006), antiinflamatuvar (Sunguroğlu vd., 1996), yara iyileştirici (Green ve Reed, 1998), antimutajenik (Thornberry vd., 1997), antikarsinojenik (Erdoğan ve Uzaslan, 2003), antimetazatik (Knox vd., 2003; Stennicke vd., 2002), nöro koruyucu (Nagata ve Golstein, 1995), angienezisi düzenleyici (Walker vd., 1994; Wilson vd., 1994) gibi birçok özelliği ispatlanmış olup doz aşımında toksik özellik göstermeyen (Wang vd., 2005) doğal bir maddedir (Şekil 10). Nitekim, yapılan bir çalışmada, 200 mg/gün'lük dozlarda kurkuminin antikarsinojen, antiinflamatuvar etkilerine sahip olduğu ve hiçbir yan etkisinin olmadığı belirtilmiştir (Erdoğan ve Uzaslan, 2003).



Şekil 10. Kurkumin'in etkileri (URL-9)

1.3.1.3. Kurkuminin Kimyasal Özellikleri

Genellikle zerdeçalın içerisinde ortalama olarak %3-5 oranında bulunan kurkumin *Curcuma longa* bitkisinin köklerinden elde edilen küçük molekül ağırlıklı sarı pigmentli polifenolik bitkisel bir bileşiktir. Keto ve enol formu bulunmaktadır (Lü vd., 2003). *Curcuma longa* bitkisinin 3 önemli ana bileşeni bulunmaktadır; *Curcumin*, *demethoksikurcumin* ve *bisdemethoksikurcumin*'dir (Şekil 11).



Şekil 11. Kurkuminoidlerin kimyasal yapısı (URL-7)

Antioksidan bir bileşik olan tetrahidrokurkuminden oluşan zerdeçal kokusuz, ısıya dayanıklı bir bileşiktir. 184 °C'de eriyebilen kurkumin aseton ve etanolde de çözünebilir fakat suda çözünemezler. Kurkuminoidlerin sahip oldukları kimyasal yapı özellikleri gıdalardaki peroksit oluşumunu engellemesi sebebi ile muhafaza sürelerini arttırdığı bilinmektedir (Fu ve Fan, 2002).

1.3.1.4. Kurkuminin Antioksidan Etkileri

Kurkumin bilindiği gibi antioksidan özelliği olan bir bitkidir (Gopisetty vd., 2006). Yapılan bir çalışmada, kurkuminin antioksidan özelliği araştırılmış ve bunun için tavuk

kıymasına 400 ppm oranında kurkumin ekstraktı ilave edilmiştir. Sonrasında kontrol grubuyla karşılaştırıldığında kurkumin ekstraktının antioksidan etkili olduğu tespit edilmiştir. Bu durumun kurkuminin antioksidan özelliğine sahip fenolik bileşenlerden kaynaklandığını belirtmiştir (Cowling ve Downward, 2002). Buna benzer yapılmış olan başka bir çalışmada ise kurkuminoidlerin aynı şekilde antioksidan özellikleri araştırılmış ve bu ekstraktların antioksidan kapasitesinin askorbik asite eşdeğer olduğu belirlenmiştir. BHT (Butillenmiş hidroksiyanozil, 100 ppm) ile karşılaştırıldığında ise kurkuminin antioksidan ve antiseptik aktivitesinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Jiang ve Wang, 2000).

Antioksidan özelliğinden dolayı C ve E vitaminlerine de benzerlik gösterir. Oksidatif stres sonucu glukoz konsantrasyonundaki artış lipid peroksidasyonu ve proteinlerin glikozilasyonunu arttırmakta, kurkumin ise lipid peroksidasyonunun (yağların bozulması) oluşmasını baskılamaktadır (Gopisetty vd., 2006; Shi ve Le Maguer, 2000; Bhuvanewari ve Nagini, 2005). Buna rağmen kurkuminin hücrel oksidatif stres baskılamasının mekanizması halen net olarak bilinmemektedir.

1.3.1.5. Kurkuminin Yara İyileşmesi Üzerindeki Etkisi

Yara iyileşmesinde uzun yıllardır Hindistan'da cilt hastalıklarında, böcek ısırıklarında ve suçiçeğinde alternatif tıbbi destek olarak kullanıldığı bilinmektedir (Bohm vd., 2003). Kurkumin yaraların tedavisinde kullanılmasının sebebi yaradaki miyofibroblastlarda kasılmaları hızlandırmakta ve sonucunda fibronektin ve kollagen ekspresyonu arttırmaktadır (Omoni ve Aluko, 2005). Kurkumin yara iyileşmesinin erken dönemlerinde nitrik oksit üretimini arttırarak trombus oluşumunu engelleyerek yara iyileşme süresini kısaltmaktadır (Sunguroğlu vd., 1996).

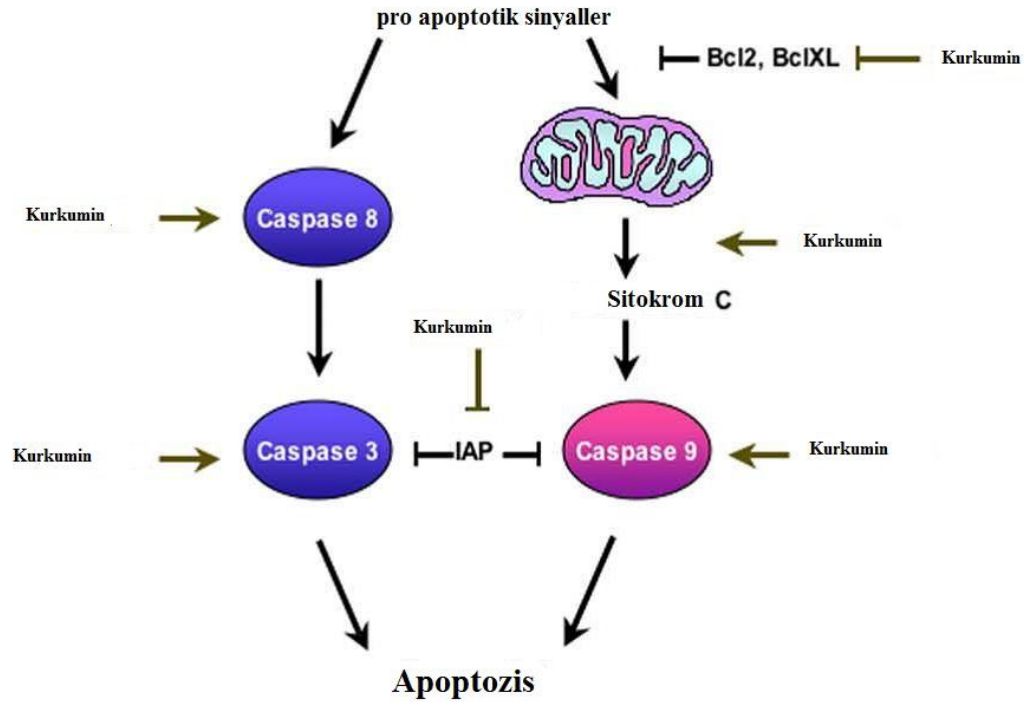
1.3.1.6. Kurkuminin Angiogenesis Etkisi

Angiogenesis yeni damarların yapımı, dokuların büyümesi ve tamiri sırasında vücudun normal bir fonksiyonu olarak gerçekleşen fizyolojik bir süreçtir. Bu süreç embriyonik gelişimde, yara iyileşmesinde ve kemik iyileşmesinde bulunmaktadır (Walker vd., 1994, Wilson vd., 1994). Ancak angiogenesisin kontrol altında tutulmadığında birtakım patolojik durumlar söz konusu olmaktadır. Bunlar tümöral oluşumların büyümesi,

artrit, diyabetik retinopati ve hemanjiomlar sayılabilir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda tümörün oluşumu ve metaztazında angiogenezin etkisinin olduğu ve kurkuminin tümoral dokularda azalttığı belirtilmektedir (Mohan and Nagini, 2003).

1.3.1.7. Kurkuminin Antikanser Etkisi

Yapılan son çalışmalarda kurkuminin doza bağımlı olarak hayvanlarda birçok kanser türüne (kolon, duodenum, mide, ösefagus, prostat) karşı koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir (Stennicke vd., 2002; Erdoğan ve Uzaslan, 2003; Lü vd., 2003). Kurkuminin antikanser etkisinin moleküler temeli, transkripsiyon faktörleri, apoptotik genler, angiogenez düzenleyicileri ve hücresel düzeyde olduğu kabul edilmektedir (Stennicke vd., 2002; Lü vd., 2003) (Şekil 12).



Şekil 12. Sinyal iletim yollarında kurkumin tedavisinin etkisi (Woo vd., 2003).

1.3.1.8. Kurkuminin Antimikrobiyel Etkisi

Kurkuminin E Coli ve S.Aureus'a karşı anti-bakteriyel etkinliği mikrobiyolojik olarak ispatlanılmıştır (Rao ve Agarwal, 2000). Bunun yanısıra antiviral (Cowling ve Downward, 2002; Lee vd., 2000), antimalaryal (Clinton vd., 1996), anti-protozoal (*Leishmania major*) (Ferreira vd., 2000) ve immun sistem yetersizliğinde etkilerinin

olduğu belirtilmiştir. Kurkuminin NF-kB gibi transkripsiyon faktörlerinde inhibitör etkisinin olduğu tespit edilmiştir (Parker, 1996; Bhuvaneswari vd., 2004).



1.4. Çalışmanın Amacı

Over kanseri, kadınlarda en fazla ölüm ile sonuçlanan epitelyal kökenli bir jinekolojik kanser türüdür. Kansere karşı koruyucu önlemlerin alınması için antikanserojenik maddelerin kullanımı son yıllarda gittikçe popüler olmaktadır. Bu maddeler arasında, Hint safranı (Zerdeçal) olarak bilinen *Curcuma longa* (Zingiberaceae) bitkisinde bulunan ve fenolik bir bileşik olan kurkuminin antioksidan, antikanserojenik, antimutajenik, antimetaztatik, antiinflamatuvar ve antimikrobiyal gibi pek çok etkisi olduğu belirtilmektedir. Over kanser hücrelerinde kurkumin ile yapılmış çalışmalar olmasına rağmen, deney hayvanlarında over kanseri-kurkumin ile ilgili çalışmalara rastlanılmamıştır. Yukarıdaki bilgilerin ışığı altında bu çalışmanın amacı; insan over kanserleri için iyi bir model hayvanı olan yumurtacı tavuklarda, rasyona ilave edilen ve antioksidan ve antikanserojen etkisi olduğu bilinen kurkuminin over kanser modelinde apoptotik markerlar üzerine etkilerini araştırmaktır. Bu amaçla yaşlı yumurtacı tavuklarda ovaryum hedef dokusundaki kaspaz-3, kaspaz-9, bax, bcl-2 protein ekspresyon düzeyleri ile kurkumin katkısının bunlar üzerine olan etkileri ortaya konulacaktır. Bu çalışma sonuçlarının, kurkuminin toplumda daha bilinçli olarak kullanımına katkı sağlayabileceği düşünülmektedir.

2. MATERYAL ve METOT

Yapılan çalışmada toplam 270 adet yumurtacı tavuk (White Leghorn) 104 haftalık yaşta kullanılmıştır. Her grupta toplamda 90 hayvan olacak şekilde 30 hayvanlı alt gruplardan oluşturularak rastgele üç gruba ayrılmıştır. Çalışmada gruplarının bazal rasyon düzeylerine 0, 200 ve 400 mg/kg dozunda kurkumin (OmniActive Health Technologies, Inc., Morristown, NJ, USA.) katılarak oluşturmuştur. Tablo 2’de deneme düzeni gösterilmektedir. Yem önce ön karmaları mikro karıştırıcı da hazırlanarak kurkuminin yeme homojen olarak karıştırılabilmesi sağlanmıştır (Farmavet International, Manisa). Yem bileşimi Tablo 2’de gösterilmektedir. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Elazığ Veteriner Kontrol Enstitüsü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu’ndan, onay alındıktan sonra (Tarih: 14.05.2015, Toplantı Sayısı 2015/5 Karar No: 15/5–01), araştırma standart deneysel hayvan çalışmaları etik kurallarına uygun olarak düzenlendi. Hayvanlar 15 günlük adaptasyon periyodundan sonra denemeye tabii tutulmuştur. Elazığ Veteriner Kontrol Enstitüsü Araştırma Ünitesinde deneme süreci yürütülmüştür. Su ve yem deneme süresince serbest olarak verilmiştir. Havalandırma ve ışık kontrollü düzenli olarak yapılmıştır. Işıklandırmada 16/8 saat aydınlık/karanlık olacak şekilde ayarlanmıştır. Deneme süresi 12 ay sürmüştür. Çalışma süresi içinde ölen hayvanların patolojik incelemeleri yapılarak kaydedilmiştir. Çalışma sonunda hayvanlar kesilerek, ovaryum dokuları alınmıştır.

Tablo 2. Deneme planı

Gruplar, Kurkumin Düzeyi	Doz	Veriliş yolu	Verilme sıklığı	Süresi	n
Grup 1, 0	-	Diyetle	Ad libitum	12 ay	90
Grup 2, 200	200 mg kurkumin /kg yem	Diyetle	Ad libitum	12 ay	90
Grup 3, 400	400 mg kurkumin /kg yem	Diyetle	Ad libitum	12 ay	90

Tablo 3. Araştırmada kullanılacak bazal diyetin bileşimi

Hammadde	g/kg
Mısır	630.0
Soya fasulyesi küspesi	245.8
Hayvansal yağ	22.7
Kireçtaşı	89.0
Dikalsiyum fosfat	2.5
Vitamin-mineral premiksi ^a	6.0
Sodyum klorit	2.0
Sodyum bikarbonat	2.0

^aVitamin premiksi rasyonun kg'ında: retinil asetat, 41.28 mg; kolekalsiferol, 60 µg; dl- α - tokoferil asetat, 30 mg; menadion sodyum bisülfid, 2,5 mg; tiamin-hidroklorit, 3 mg; riboflavin, 7 mg; niasin, 40 mg; d-pantotenik asit, 8 mg; piridoksin hidroklorit, 4 mg; vitamin B₁₂, 0.015 mg; vitamin C, 50 mg; folik asit, 1 mg; D-biotin, 0.045 mg; kolin klorit, 125 mg; Mn (MnSO₄-H₂O), 80 mg; Fe (FeSO₄-7H₂O), 30 mg; Zn (ZnO), 60 mg; Cu (CuSO₄-5H₂O), 5 mg; Co (CoCl₂-6H₂O), 0,1 mg; I (KI), 0,4 mg; Se (Na₂SeO₃), 0.15 mg içerdi.

2.1. Örneklerinin Alınması ve Saklanması

Yumurtacı tavuklardan alınan ovaryum doku örnekleri Bax, Bcl2, Kaspaz3, Kaspaz9 protein düzeylerinin analizleri için hızlı bir şekilde soğuk zincire alınıp analiz edilinceye kadar -80°C'de derin dondurucuda muhafaza edilmiştir.

2.2. Laboratuvar Analizleri

2.2.1. Örneklerin Alınması

Deneysel uygulamalar sonrasında etik kurulun aldığı kararlara uygun olarak kesimleri yapılan tavukların ovaryumları alınarak, kuru buzda hemen donduruldu. Örnekler darası alınmış olan tüplere aktarıldı. Ağırlıkları hassas terazide tartılarak belirlendi ve analizler yapıncaya kadar -80 °C' de saklandı.

2.2.2. Örneklerin Hazırlanması

Over örneklerinin hazırlanmasında, Tuzcu (2004), tarafından uygulanan homojenizasyon yöntemi kullanıldı. Taze veya dondurulmuş dokular 1:10 (w/v) oranında homojenizasyon solüsyonunda [10mM Tris- HCl (pH=7.4), 0.1 mM NaCl, 0.1mM fenil metil sülfonil florid (PMSF), 5µM soybean (bir tripsin inhibitörü olarak)] over dokusu cam homojenizatör yardımıyla soğuk ortamda homojenize edildi. Homojenatlar soğutmalı santrifüjde +4 °C' de 60 dakika süreyle 15.000 x g'de santrifüj edildi. İlk süpernatantlar eppendorf tüplere alınarak -80 °C' de saklandı. Pelletler, eşit hacimde ilave edilen homojenizasyon solüsyonunda [25 mM Tris-HCl (pH= 7.4), 0.1mM PMSF, % 2'lik TritonX -100 ve % 1'lik SDS] yeniden süspanse edildi. +4 °C' de 2 saat inkübasyona bırakıldı ve homojenatlar soğutmalı santrifüjde +4 °C' de 60 dakika süreyle 15.000 x g'de santrifüj edildi. Elde edilen 2. süpernatantlar mikrosantrifüj tüplere alınarak SDS-PAGE ve Western blot analizleri için -80 °C' de saklandı.

2.2.3. SDS-Poliakrilamid Jel Elektforezi (SDS-PAGE)

SDS-PAGE elektforez jel sisteminde akrilamid monomerlerinden yararlanır. Amonyum persülfat (APS) gibi bir serbest radikal ile TEMED gibi stabilizatörü sağlayıcı ortamda akrilamid monomerleri uzun zincirler oluşturacak şekilde polimerleşmekte ve daha sonra oluşan bu uzun zincirler arasında yanal bağlantılar oluşarak jel meydana gelmektedir. SDS-PAGE analizinde; jelin yapısında yer alan sodyum dodesil sülfat (SDS), deterjanının bulunması ile proteinler kendilerini oluşturan monomer alt birimlerine ayrılmaktadır. Böylece protein agregasyonu önlenmektedir. SDS moleküllerine bağlanan denatüre polipeptidler negatif yük kazanırlar. SDS bağlantılı polipeptid kompleksleri, molekül ağırlıklarına bağlı olarak jel içerisinde hareket ederler. Hareket eden moleküllerin ağırlıkları; aynı jel üzerinde bulunan bir standartla karşılaştırılarak tespit edilir. Mutasyon geçirmiş veya çeşitli olumsuz çevre faktörleri sonucunda canlı organizmanın bir kısım proteinlerinden normale göre parça kopması veya parça ilavesi ya da bazı proteinlerin yeterince sentezlenmemesi gibi özellikler bu jel sisteminde tespit edilmeye çalışılır.

Protein moleküllerinin hareketi güç kaynağından gelen elektrik akımına göre negatif (-) kutuptan pozitif (+) kutuba doğru olur. İncelenecek protein molekülleri şayet 0–43 kDa aralığına tekabül ediyorsa akrilamidin konsantrasyonu %15, 40 kDa'dan yukarı ise

akrilamidin konsantrasyonu %10 veya daha aşağı dūřurđlđr. Diđer bir ifade ile molekđlđn ağırlığı arttıķķa akrilamidin konsantrasyonu dūřurđlđr. Akrilamid konsantrasyonunun artışı jel iķerisindeki ara boşlukların daha sık olmasına sebep olmaktadır. Dolayısıyla protein molekđllerinin hareket hızı da azalmaktadır (Tuzcu, 2004).

Kullanılan zeltiler

1.5 M Tris-HCl (pH 8.8)

0.5 M Tris-HCl (pH 6.8)

% 10 Sodyum dodesilsđlfat zeltisi (SDS)

%30 Akrilamid/Bisakrilamid zeltisi

%10 Amonyum persđlfat zeltisi (APS)

N, N, N', N', -tetrametil-etilendiamin (TEMED)

Gliserin

2-β-merkapt ethanol

%0,05 Bromofenol blue zeltisi

Boyama zeltisi (Stain solusyon/100 ml):

%0.1 Coomassie blue R-250

%45 Metanol

%10 Glasiyal asetik asit

%45 Distile su

Boya ıkarma zeltisi (Destain solusyon/100ml):

%45 Metanol

%10 Glasiyal asetik asit

%45 Distile su

Tank solusyonu (Running buffer, pH 8.3):

Tris base 9.0 gr

Glisin 43.0 gr

Distile su 600 ml

Tablo 4. SDS-PAGE İçin Jellerin Hazırlanması

Separating (ayırma) jelinin hazırlanması (%12)	Miktar
Distile su	3.35 ml
1,5 M Tris-HCl (pH 8.8)	2.5 ml
% 10 SDS	100 µl
Akrilamid /Bis (%30)	4.0 ml
Amonyum persülfat (%10)	50 µl
TEMED	5 µl
Toplam	10.0 ml
Stacking jelin hazırlanması (%4)	Miktar
Distile su	6.1 ml
0.5 M Tris-HCl (pH 6.8)	2.5 ml
SDS (%10)	100 µl
Akrilamid-Bis (%30)	1.3 ml
Amonyum persülfat (%10)	50 µl
TEMED	10 µl
Toplam	10.0 ml

Örnek solusyonların hazırlanması	Miktar	Son konsantrasyon
1 M Tris-HCl (pH6.8)	1.25 ml	0.125 M
% 10 SDS	1.6 ml	%4
%0.05 bromofenol blue	0.2 ml	%0.002
Gliserol	0.8 ml	% 20
2-β-merkптоethanol	0.4 ml	%10
Distile su	3.75 ml	-
Toplam	8.0 ml	-

3.2.4. SDS-PAGE Analizleri

Serbest ve serbest olmayan protein örnekleri Laemmli (1970) tarafından belirtildiği şekilde hazırlanan SDS-PAGE ile incelendi. Jel oluşturmak için uygun bir pozisyonda tutturulan iki cam arasına yerleştirilmek üzere 10 ml' lik ayırma jel solusyonu hazırlandı. Hazırlanan bu jel solusyonu iyice karıştırıldı ve uygun bir otomatik pipet yardımıyla belirli kısımlardan sıkıştırılarak kaset haline getirilen iki cam levha arasına aktarıldı. İki cam levha arasına jel ilave edilirken üst kısımda tarak dişlerinin yüksekliği kadar (≈ 1 cm) bir boşluk bırakıldı. Hazırlanan kaset şeklindeki bu iki cam levha arasındaki jel yaklaşık olarak 30 dakika oda sıcaklığında bekletilerek aralarındaki akrilamid monomerlerinin polimerleşmesi sağlandı. Daha sonra iki cam levhanın üst kısmına örnek sayısına uygun sayıda dişe sahip tarak yerleştirildi.

Tarak dişlerinin ara dolgu maddesi olarak ifade edilen yükleme jeli 10 ml kadar hazırlandı. Hazırlanan bu jel solusyonu iyice karıştırıldı ve uygun bir otomatik pipet yardımıyla, jel kasetine yerleştirilmiş olan tarak dişleri arasındaki boşluklar dolduruldu. Bu dolgu iki camın en üst seviyesine kadar tamamlandı. Yükleme jeli çok çabuk polimerize olduğundan işlemlerin kısa sürede yapılmasına dikkat edildi. 25–30 dakika oda sıcaklığında bekletilerek polimerleşme sağlandı. Tarak, polimerleşmesi tamamlanan jelden çıkarıldı. Bu işlem sırasında jel de meydana gelen ve örneklerin bırakılacağı yuvaların bozulmamasına dikkat edildi. Cam levhalardan oluşan kaset elektroforez tankına yerleştirildi. Protein çözücü solusyonu; 0,125 M Tris (pH 6.8), %2'lik SDS, %0.002 oranında Bromofenol mavisi, %20'lik gliserol, %10'luk merkapt ethanol şeklinde hazırlandı. Yaklaşık olarak 150 μ l olarak alınan her bir protein örneğine eşit oranda çözücü solusyondan ilave edildi ve iyice karıştırıldı. Tarak dişinin genişliğine bağlı olarak, hazırladığımız karışımdan 10–20 μ l kadar transfer edildi. Tank içerisine yeterli miktarda tank solusyonu ilave edildi.

Güç kaynağından önce düşük bir voltajla (150 V) akım elektroforeze verildi. 5–10 dakika sonra voltaj değeri yükseltildi (180–200 V). Çıplak gözle izlenilebilen mavi boya bandı jelin alt kısmına gelince elektroforez cihazı kapatıldı.

Elektroforez işlemi tamamlandıktan sonra kaseti oluşturan iki cam birbirinden ayrılarak aradaki jel çıkarıldı. Protein bantlarının görünür hale gelebilmesi için bu jel % 1.25'lik Coomassie blue boya ortamına alındı. Burada en az yarım saat en çok bir gece boyunca oda sıcaklığında bekletildi.

Boya solusyonundan alınan jel boyayı giderici solusyon (destaining solution) ortamına alındı. Arasına çalkalanarak protein bantlarının dışındaki boya maddesi uzaklaştırıldı. Boya giderici solusyonda 5'er dakika bekletildi ve solusyon döküldü. Jel tekrar boya giderici ortama alındı ve bu işlem 2-3 kez tekrarlandı. Böylece jel üzerinde bulunan protein bantlarının dışındaki boya giderilmiş oldu.

3.2.5. Western Blot Analizleri

Western blot işlemi Tuzcu'ya (2004) göre yapıldı. Western blot prosedürü; elektroforez işlemiyle poliakrilamid jelde göç ettirilen proteinlerin, nitroselüloz membrana transferi ve membrandaki proteinlerin immünolojik metotlarla gösterilmesidir. Blotlama yapılmadan önce çalışılan örneklerdeki proteinler elektriksel ortamda poliakrilamid jel üzerinde göç ettirilmektedir. Proteinlerin elektroforezleri SDS-PAGE'de gerçekleştirilmektedir. Western blot tekniği, elektroforez işlemi takip eden 4 aşamada gerçekleştirilir. Bunlar; jeldeki proteinlerin nitroselüloz membrana aktarımı (blotlama), spesifik olmayan reaksiyonları engellemek için nitroselüloz membranda protein bağlanmamış bölgelerin ilgisiz proteinlerle kaplanması (bloklama), özgül antikorlarla tepkime ve en son aşamada ise proteinlerin görüntülenme aşamalarıdır. Nitroselüloz membrana transfer sırasında jel ile nitroselüloz membran karşı karşıya getirilmekte ve bunlar filtre kağıtları arasına yerleştirilmektedir. Jelin büyüklüğü ile orantılı olarak belirli bir süre elektrik akımı uygulanıp proteinlerin transferi sağlanmaktadır. Nitroselüloz membranın özgül olmayan proteinlerle bloklanmasında albumin tercih edilmektedir. Spesifik antikorlar olarak monoklonal ya da poliklonal antikorlar kullanılabilir. Monoklonal antikorların kullanımı, yalnızca tek bir epitopa özgül olmaları ve çok güçlü immünokimyasal köprüler oluşturmalarından dolayı avantaj sağlamaktadır. Bu nedenle, monoklonal antikorlar antijene spesifik bir bağlanma gösterir. Ancak, çalışılan proteinler arasında benzer epitop bölgeleri bulunmakta ise çapraz reaksiyonlar sonucunda yalancı pozitiflikler ortaya çıkabilmektedir. Poliklonal antikorların kullanılması durumunda aynı nedenden dolayı şekillenen yalancı pozitiflik ihtimalinin daha fazla olduğu bilinmektedir. Western blotta monoklonal antikorların kullanımının en önemli dezavantajı, SDS-PAGE ve blotlama esnasında polipeptid yapılarıdaki epitopların ortadan kaldırılmasıdır. Belirlenmeye çalışılan epitopun ortadan kaldırılması durumunda ise monoklonal antikor-epitop bağlanması şekillenemez. Bu nedenden dolayı monoklonal antikor kullanıldığında, poliklonal antikorla çalışılmasına kıyasla, yalancı negatiflik ihtimali artmaktadır. Özgül antikorlarda raportör madde olarak genellikle radyoaktif izotoplar veya enzimler

kullanılmaktadır. Enzim olarak alkalin fosfataz ve peroksidaz enzimleri tercih edilmektedir. Bu enzimlerin substratları ve kromojen maddeleri birbirinden farklıdır. Son yıllarda enzimle işaretlemeye, testin duyarlılığını arttırmak amacıyla peroksidazla işaretli avidin biyotin sisteminin kullanımı yaygınlaşmıştır. Kullanılan kromojenlerin en önemli özelliği çözünmeyen renkli ürünler oluşturmalarıdır. Over dokusu homojenatlarının Western blot analizi Tuzcu (2004) tarafından uygulanan metoda göre yapıldı.

Jeldeki proteinlerin nitroselüloz membrana (Schleicher and Schuell, Inc., USA), aktarımı (blotlama): SDS-PAGE tamamlandıktan sonra poliakrilamid jel blotlanmak üzere alındı. Nitroselüloz membrana transferin gerçekleştirilmesi için poliakrilamid jel ile nitroselüloz membran yüzeyleri arasında boşluk kalmayacak biçimde karşı karşıya getirildi ve bunlar filtre kâğıtlarıyla sarılmış bir şekilde blotlama düzeneğine yerleştirilerek tampon solusyonuyla doyuruldu. Soğutulmuş tampon solusyonuyla doldurulmuş tanka yerleştirilen düzenek için 60 dakika boyunca 150 mA elektrik akımı uygulandı. Bu şekilde proteinlerin transferi sağlanmış oldu.

Spesifik olmayan reaksiyonları engellemek için nitroselüloz membranda protein bağlanmamış bölgelerin ilgisiz proteinlerle kaplanması (bloklama): Blotlama işlemi bittikten sonra petri kutularına alınan nitroselüloz membranlar tampon solusyonla [$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0.025 M), $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ (0.075 M), NaCl (1.45 M)], çalkalayıcı üzerinde 3 kez 5 dakika olacak şekilde yıkandı. Spesifik olmayan bağlanmalar, 100 mM NaCl, 20 mM Na_2HPO_4 , 20 mM NaH_2PO_4 (pH: 7.2) tamponunda % 1'lik taze sığır serum albumini (BSA) ile 37 °C'de 90 dakikalık inkübasyonla bloklandı.

Özgül antikorlarla tepkime: Primer antikör olarak poliklonal chicken kaspaz3, kaspaz9, bax ve bcl-2 (Neomarkers, Fremont, CA, USA) antikorları kullanıldı. Primer antikorlar % 0.05 oranında Tween-20 bulanan tamponda 1:1000 oranında hazırlanarak kullanıldı. Nitroselüloz membranlar kaspaz3, kaspaz9, bax ve bcl-2 antikorları ile +4 °C'de gece boyunca inkübasyona bırakıldı. Daha sonraki safhada nitroselüloz membranlar 5 kez 5 dakika tampon solüsyonuyla yıkandı. Yıkama işlemi tamamlandıktan sonra nitroselüloz membranlar % 0.05 oranında Tween-20 bulanan tamponda 1:1000 oranında hazırlanan, peroksidazla konjuge edilmiş goat-anti-rabbit immünoglobulinle 37 °C'de 90 dakika süreyle inkübasyona bırakıldı. Sonraki aşamada nitroselüloz membranlar 5 kez 5 dakika tampon solusyonuyla yıkandı.

Bantların görüntülenmesi: Bantların görüntülenmesi için 1 M Tris (pH: 7.4) tamponunda % 0.03–0.05 oranında hazırlanmış diaminobenzidin (DAB) solusyonu kullanıldı. DAB'la

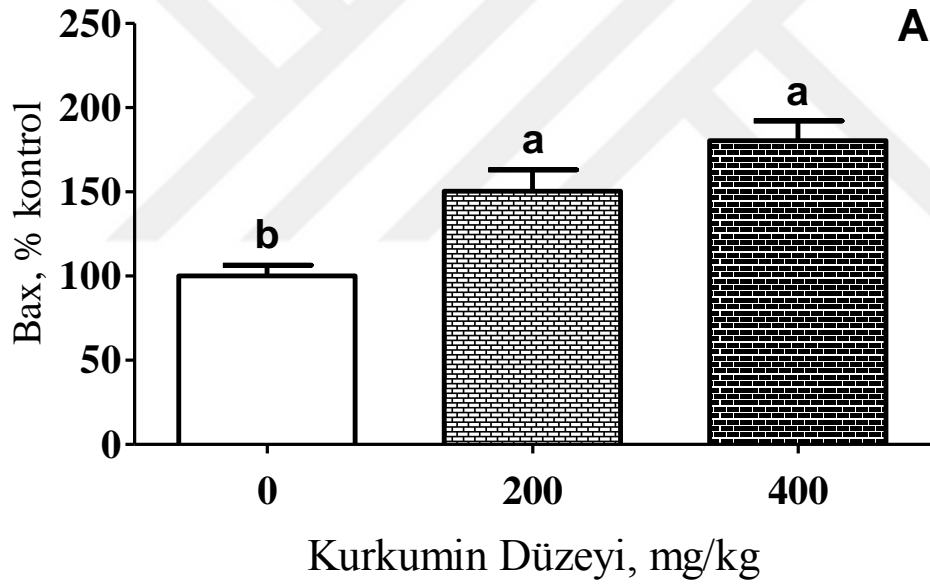
reaksiyon sonucu nitroselüloz membranlar üzerindeki bantlar kısa bir süre sonra görünür hale geldi. 5–10 dakikalık bir reaksiyon süresi sonunda DAB'la renklendirilen bantlar net olarak görüldükten sonra nitroselüloz membranlar iyice yıkandı. Nitroselüloz membranlar iyice kurutulduktan sonra, bantların rölatif yoğunlukları analiz edilmek üzere alındı. Bantların rölatif yoğunlukları Image Analyses System (Image J; National Institute of Health, Bethesda, USA) yazılım programı kullanılarak analiz edildi.

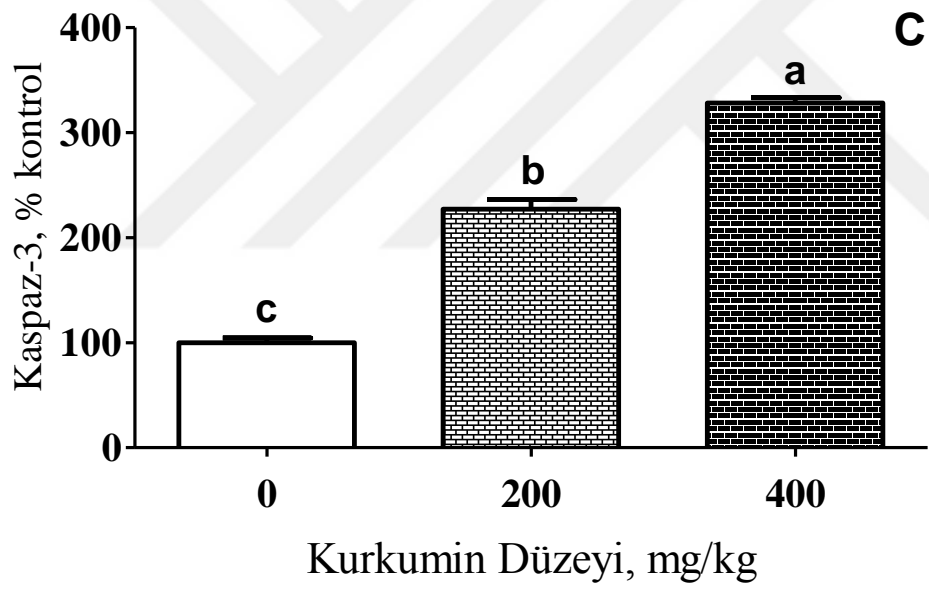
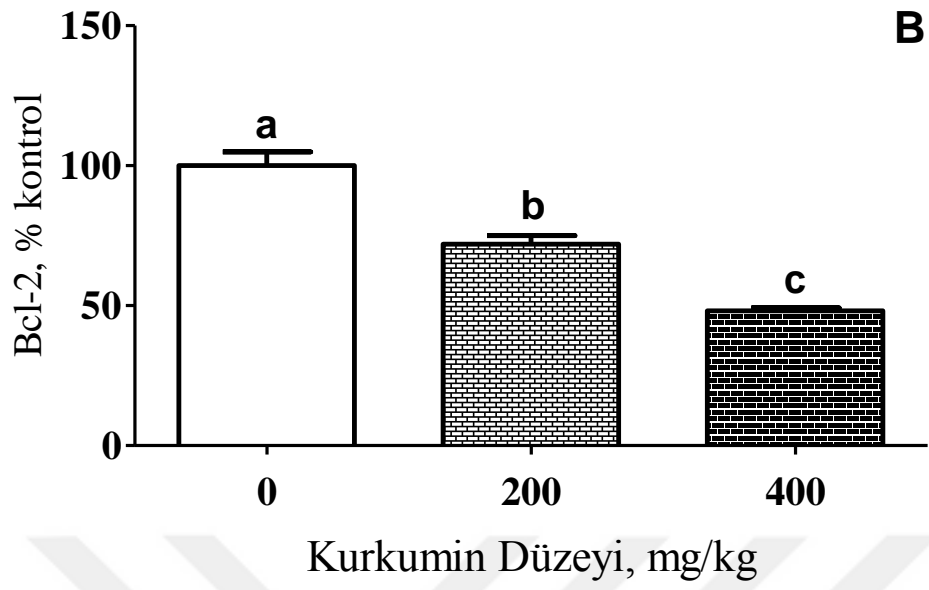
3.3 İstatistiksel Analizler

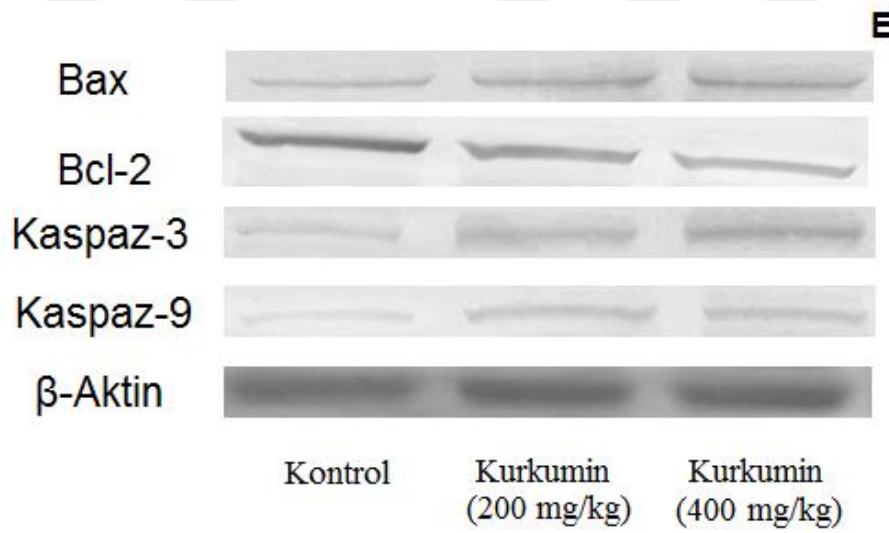
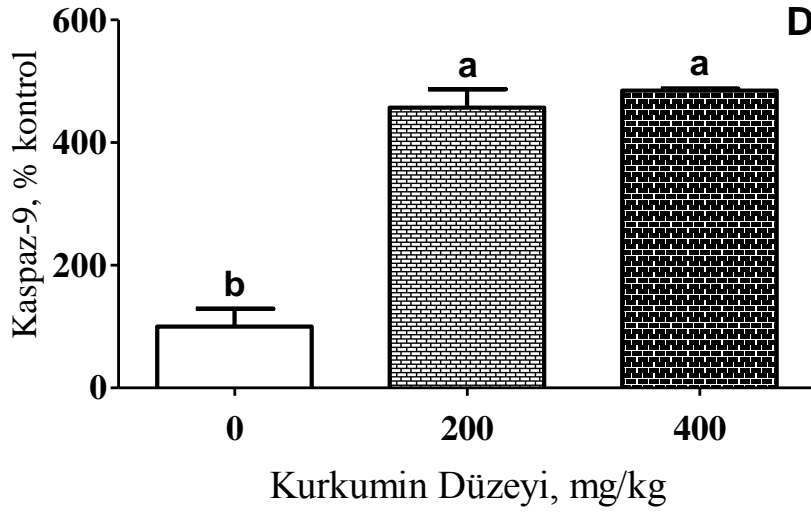
Veriler, SPSS (2012, IBM SPSS Statistics Version 12) paket programında tek yönlü varyans analizi ile değerlendirilmiştir. Gruplar arası farklılıklar için *tukey post hoc* testi kullanılmıştır. Veriler ortalama ve standart sapma olarak sunuldu ve elde edilen verilerin istatistiksel anlamlılık için p değeri <0.05 olarak kabul edilmişti.

3. BULGULAR

Deneme sonunda alınan ovaryum örnekleri homojenatlarında pro-apoptotik Bax, anti-apoptotik Bcl-2, aktif Kaspaz-3, aktif Kaspaz-9 düzeyleri sırası ile Şekil 5' te gösterilmiştir. Bax (Şekil 13-A, $P<0.05$), Kaspaz-3 (Şekil 13-C, $P<0.0001$) ve Kaspaz-9 (Şekil 13-D, $P<0.0001$) ekspresyonları doz artışına bağlı olarak kontrole göre kurkumin ilave edilen rasyonla beslenen tavukların overlerinde artmıştır (Şekil 13). En yüksek artış 400 mg kurkumin verilen hayvanlarda elde edilmiştir. Bcl-2 (Şekil 13-B, $P<0.0001$) ekspresyonu doz artışına bağlı olarak kontrole göre kurkumin ilave edilen rasyonla beslenen tavukların overlerinde azalmıştır. Azalmanın en fazla olduğu grup 400 mg kurkumin verilen grupta olmuştur.







Şekil 13. Farklı dozlarda kurkumin ilaveli diyet ile beslenen tavuk over dokusunda pro-apoptotik Bax ekspresyon düzeyleri ($P < 0.05$) (PANEL A), Bcl-2 ekspresyon düzeyleri (PANEL B) ($P < 0.0001$), Kaspaz-3 ekspresyon düzeyleri (PANEL C) ($P < 0.0001$), Kaspaz-9 ekspresyon düzeyleri (PANEL D) ($P < 0.0001$); Over dokusu Bax, Bcl-2, Kaspaz-3 ve Kaspaz-9 düzeylerini ifade eden Western blot bantları (PANEL E); a-c: Farklı harf taşıyan gruplar arasındaki farklılık istatistiksel bakımdan önemlidir.

5. SONUÇLAR ve TARTIŞMA

Bu çalışmada, insan ovaryum kanseri için prelinik model olarak kullanılan yaşlı yumurta tavuklarının diyetlerine farklı dozlarda ilave edilen (0, 200, 400 mg / kg yem) kurkumin supplementinin; apoptozis mekanizmasında önemli role sahip olan ovaryum dokusu kaspaz 3, kaspaz 9, bax ve bcl 2 protein ekspresyonlarının üzerine olası etkileri araştırılmıştır. Yapılan araştırma; kurkumin dozunun yüksek olduğu grupta diğer gruplara göre bax, kaspaz 3 ve kaspaz 9 protein ekspresyonlarının arttığı; bunun tersi olarak bcl 2 protein ekspresyonunun anlamlı ölçüde azaldığı görülmüştür.

Yaptığımız çalışmada; 104 haftalık yumurtacı tavuklar model over kanseri olarak kullanılmıştır. Hayvan modelleri, tanı paradigmalarında prelinik testler için oldukça yararlı olmuştur. Ancak, özellikle over kanserinde sık kullanılan kemirgen (rat, fare vb.) modellerinin spontan olarak over kanserine yakalanma durumu bulunmamaktadır. Bundan daha önemlisi, indüklenme yolu ile over kanseri geliştirilen kemirgenlerin histopatolojik özellikleri, insanlarda spontane gelişen over kanserinden farklılık göstermektedir (Barua vd., 2015). Sadece tavuklar; insanlarda bulunan epitel karsinomlara histolojik görünüm olarak benzer ve kendiliğinden over adenokarsinomları geliştirebilmektedir (Ansenberger vd., 2009). Yapılan birçok çalışmada yumurta tavuğunun insan yumurtalık kanseri çalışmaları için geçerli bir model olduğunu bildirilmiştir (Barua vd., 2013, 2015; Giles vd., 2006, 2010; Rodriguez-Burford vd., 2001; Johnson ve Giles, 2006). Yumurtacı tavuklar; spontan olarak yumurtalık kanserine yakalanma insidansı oldukça yüksek, ayrıca kolay erişilmesi ve yaygın olarak bulunabilme nedenleri ile iyi bir over kanser modeli olarak bilinmektedir. Tavuklarda over kanseri birçok marker ekspresyonu ve histopatolojik özellikleri ile insanlara benzerlik göstermektedir. Örneğin; insanlarda olduğu gibi, tavuklarda da IL-16 bir prekürsör proteini olarak sentezlenir (Barua vd., 2010, 2013; Yellapa vd., 2012).

Over kanserleri ileri evrede tanı konulan hastaların % 70'inden fazlası malign olan jinekolojik bir hastalıktır. Over kanseri tüm jinekolojik kanserlerin % 2.6'sını oluşturmaktadır. 2015 yılında ABD'de yaklaşık 21.300 yeni over kanseri tanısı konmuştur. Bununla beraber over kanseri, 2016 yılında 14.240 hastanın ölümüne neden olduğu düşünülen ve kadınlarda kanser ölümlerinin beşinci önde gelen nedeni olarak belirtilmektedir. Cerrahi yöntemlerle kitlenin çıkarılması ve kemoterapi dahil optimum tedavilere rağmen, hastaların 5 yıllık hayatta kalma oranı sadece % 45 olarak

bilinmektedir. Diğer kanserler benzer şekilde, over kanserinde karsinogenezin mekanizması henüz anlaşılamamıştır. Over kanseri diğer kanser türleriyle karşılaştırıldığında erken teşhis imkanı zor olduğundan, hayatta kalma oranı düşüktür (Dong vd., 2016; Feichtinger ve Rodriguez-Wallberg, 2016; Jin vd., 2016). Over kanserleri erken metastaz ve belirli semptom ve bulguların yokluğu nedeniyle “sessiz katil” olarak tanımlanır (Lan vd., 2016).

Hücre büyümesi ve bölünmesi gibi programlanmış hücre ölümü, doku ve organizma homeostazında önemli bir rol oynar. Programlanmış hücre ölümünün apoptozis, otofajik hücre ölümü ve nekrozis olarak üç tip gelişim ile ortaya çıkmaktadır. Programlanmış hücre ölümünün anormal düzenlenmesi, kanser de dahil olmak üzere çeşitli birçok hastalıklar ile ilişkilidir (Lin ve Baehrecke, 2016).

Kaspazlar, spesifik olarak apoptozis ve inflamasyonda önemli rol oynayan, spesifik olarak aspartik asit artıkları ile proteinleri parçalayan sistein proteazlardır. Bunlar aktif olmayan zimogenler ya da pro-kaspazlar 32-55 kDa'lık tek bir polipeptid zinciri olarak sentezlenir (Cadena ve Massieu, 2016). Apoptozis, kanserin artışının durdurulmasında kullanılan önemli stratejilerden biridir. Apoptozisi uyarma yolu ile anti kanserojenik özelliğe sahip birçok kemopreventif oluşum bulunmaktadır (Sun vd., 2004; Steele, 2003).

Günümüzde kanser, kardiyovasküler hastalıklar veya nörodejeneratif bozukluklar ile ilgili patolojilere karşı tedaviler geliştirmek için kullanılan yüksek etki gücüne sahip bazı bitkisel moleküller bulunmaktadır (Pulido-Moran vd., 2016). Kurkumin, *Curcuma longa* Linn (zencefil ailesinin bir üyesi), yaygın olarak zerdeçal adıyla bilinen rizomlardan elde edilen bir polifenoldür. Kurkuminin antianjiyojenik, anti-inflamatuar, antioksidan, antimikrobiyal, antiviral ve antidiyabetik etkileri gibi laboratuvar çalışmalarında yapılan araştırmalarla faydalı birçok farmakolojik etkileri bulunmaktadır.

Kurkumin birçok *in vitro* antikanser modeller üzerinde test edilmiş olup, hayvan modellerinde bir dizi farklı kanser tipleri de dahil olmak üzere, tümör oluşumu ve metastaz üzerindeki önleyici etkileri ortaya çıkmaktadır (Schaffer vd., 2015). Kurkuminin birçok moleküler yolağı etkileyebilmesi onu son derece güçlü bir antikanserojen ajan yapmaktadır. Kurkumin, tek başına veya başka maddelerle kombinasyon halinde, insanlarda kolorektal kanser, pankreas kanseri (Bimonte vd., 2016), göğüs kanseri (Wang vd., 2016), prostat kanseri (Chen vd., 2016), multipl miyelom, akciğer kanseri ve ağız kanseri de dahil olmak üzere birçok kanser formunun tedavisi ve önlenmesi için kullanılmaktadır (Devassy vd., 2015).

Geçtiğimiz yirmi yılda, çeşitli çalışmalarda kurkumin antikanser etkilerinin altında yatan moleküler hedeflere ilişkin literatür gözden geçirilmiştir (Goel vd., 2008; Oyagbemi vd., 2009; Shehzad vd., 2010; Shehzad ve Lee, 2013; Thangapazham vd., 2006; Tuorkey, 2014). Kurkumin, Bcl-2 ailesinin farklı pro-apoptotik (bax vb.) proteinlerini arttırıp ve anti-apoptotik proteinlerinin bazılarının miktarını azaltarak (bcl-2 vb.) ile apoptozis sürecinin dengeleme önemli bir rol oynar (Chen vd., 2016). Tümör hücreleri kanserli bölgeye yakın veya farklı organların kökenlerine göç ederek metastaza ve kanser hastalarında ölüme neden olmaktadır. Metastaz kaskadı, tümör hücrelerinde spesifik genetik ve epigenetik modifikasyonlar geliştirir. Kanser metastazı tedavisinde olası bir aracı olarak kurkumin kullanılmıştır. Kurkumin, göğüs kanseri hücre implantı yapılan farelerdeki tümör büyümesi ve anjiyogenezi inhibe ettiği tespit edilmiştir (Schaffer vd., 2015; Wang vd., 2016).

Kaspazlar, spesifik olarak apoptozis ve inflamasyon önemli rol oynayan, spesifik olarak aspartik asit artıkları ile proteinleri parçalayan sistein proteazlardır. Bunlar aktif olmayan zimogenler ya da pro-kaspazlar 32-55 kDa'lık tek bir polipeptid zinciri olarak sentezlenir (Berta vd., 2016; Cadena ve Massieu, 2016). İçsel ve dışsal yollara bir apoptozis cellat olarak kaspaz-3'ün rolü göz önüne alındığında, birçok laboratuvarında, sadece pro-apoptotik özelliğine odaklanılmıştır (Mirzayans vd., 2016).

Araştırmamızda tavuklara diyet takviyesi olarak farklı dozlarda kurkuminin uygulanan gruplarda kontrol grubuna (kirkumin:0 mcg/kg) kıyasla, antiapoptotik faktör olan Bcl-2'nin doza bağlı olarak azalması istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($P < 0.0001$). Li ve arkadaşlarının (2016a) 1-fenil propanol fosfin oksit'in (PHPO) over kanserine üzerine kemoterapik etkisi ile ilgili bir hücre kültürü çalışması yapmışlardır. Yaptıkları çalışmada insan over kanseri hücre kültürü modelinde (HEY) yapılan Western blot analizleri sonucu; PHPO+cisplatin uygulanan grupta kontrol grubuna kıyasla antiapoptotik faktörleri (Bcl-xL, Bcl-2, XIAP) inhibe edip ve pro-apoptotik faktörleri (Bad, Bax, Kaspaz 9, Kaspaz 8, Kaspaz 7 and PARP) aktive ettiği belirlenmiştir (Li vd., 2016a). Yaptığımız araştırmanın sonuçları ile paralellik gösteren çalışmada over kanserinde görülen iyileşmenin PHPO maddesinin antikanser aktivitesi ile ilgili olduğu düşünülebilir.

Bu araştırmada, tavuklara diyetlerinde supplement olarak farklı dozlarda kurkumin uygulanan gruplarda; over dokusu kaspaz-3 ekspresyonu, diyetlerinde kurkumin olmayan gruba göre artması istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P < 0.0001$). Farklı konsantrasyonlarda uygulanan aspirinin over kanserine olan etkisi ile ilgili yapılan bir

çalışmada, deri altına insan over kanseri hücreleri (SKOV3) transplantasyonu yapılarak p53S farelerde over kanser modeli oluşturulmuştur. Farklı dozlarda uygulanan intraperitoneal olarak aspirin uygulanmıştır. Araştırmada ortaya çıkan sonuçlara göre; yüksek dozda aspirin uygulanan grupta diğer gruplara göre over dokusunda kaspaz 3 protein ekspresyonu artmış, bunun tersi olarak bcl-2 proteini ekspresyonu anlamlı ölçüde azalmıştır (Li vd., 2016b). Yapılan çalışma, araştırmamız ile paralellik arz etmektedir.

Yaptığımız araştırmada, tavuklara diyetleriyle birlikte besin takviyesi olarak kurkumin verilen gruplarda; kurkumin ilave edilmeyen (kontrol) gruba göre ovaryum dokusu bax protein ekspresyonunda doza bağlı olarak artış göstermesi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($P < 0.05$). Zhou ve arkadaşlarının yaptıkları bir *in vitro* çalışmada (2015), kalikosin insan over kanserinde over hücre kültürü deney modeli olan SKOV3 hücrelerinin çoğalmasını engelleyerek ve apoptozise yönlendirerek anlamlı derecede inhibe ettiğini göstermiştir. Yapılan Western blot analizi ile bcl-2 ekspresyonu azalmış, kaspaz ve bax proteininde ise artmış olduğu açıkça belirtilmiştir (Zhou vd., 2015). Elde edilen verilerimiz yapılan bu çalışma ile benzerlik göstermektedir.

Lijuan ve arkadaşları (2016) insan over kanser hücrelerinde evodiaminin etki mekanizması üzerine *in vitro* bir çalışma yapmışlardır. Yapılan çalışma sonucu evodiamin, over kanser hücrelerini apoptozise teşvik ederek bcl-2 ekspresyonunun azalmasını, buna karşılık bax miktarının artmasını sağlamıştır. Buna ek olarak, Evodiamine tedavi kaspaz-8, kaspaz-9, kaspaz-3 aktivasyonuna ve PARP inhibisyonuna yol açmıştır (Lijuan vd., 2016). Başka bir çalışmada ratlarda; 7,12-dimetilbenz[a]-antrasen (DMBA) ile oluşturulan karaciğer hasarına, likopenin apoptotik markerlar üzerine etkisi araştırılmıştır. Yapılan çalışmada DMBA+likopen grubunda, DMBA grubuna göre bax, kaspaz 3, kaspaz 9 protein ekspresyonunun arttığı, bcl-2 protein ekspresyonunun azaldığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte likopen antioksidan etkisiyle lipid peroksidasyon markeri MDA ve 8-isoprostan seviyelerini azalttığı, GSH seviyesini ise yükselttiği tespit edilmiştir (Agca vd., 2012).

Yaptığımız araştırmada, tavuklara diyetleri ile kurkumin ilavesi olarak verilen gruplarda, kurkumin ilave edilmeyen (kontrol) grubuna göre ovaryum dokusu kaspaz 9 ekspresyonunun doza bağlı olarak artış göstermesi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P < 0.0001$). Casagrande ve arkadaşlarının (2014) yaptıkları bir araştırmada lipoplatinin yapmış olduğu etki ile yumurtalık kanseri hücrelerinde güçlü bir anti-tümör aktivitesi göstermiştir. Yapılan araştırmada uygulanan lipoplatin, hücreleri apoptozise yönlendirerek kaspazlar (kaspaz 9, 8, 3) ve bax proteinlerinin ekspresyonunun artışına ve antiapoptotik

protein olan bcl2 proteinin inhibisyonuna neden olduğu ortaya konmuştur. Bizim çalışmamızda ise pro-apoptotik Bax, verilen doz miktarına göre artış gösterirken anti-apoptotik Bcl-2 de verilen doz miktarına göre azaldığı aktif Kaspaz-3, aktif Kaspaz-9 düzeylerinde ise artış olduğu görülmektedir.

Sonuç olarak, insan over kanseri için prelinik bir model olan yumurta tavuklarının diyetlerine ilave edilen kurkuminin, ovaryum dokusunda proapoptotik bax, kaspaz 3, kaspaz 9 protein ekspresyonlarının artmasına ve antiapoptotik bcl 2 ekspresyonunun inhibisyonuna neden olarak kanserli dokunun apoptozise yönlendirildiği tespit edilmiştir. Antikanserojen yapıya sahip olan kurkuminin, canlıda meydana gelen kemoprotektif etkisi ile over kanserini iyileştirici etkisi olduğu ve yaptığımız araştırmadan elde edilecek bilgi birikiminin kanser çalışmaları için faydalı olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Adams, J.M. and Cory, S.,** 2001. Life-or-death decisions by the Bcl-2 protein family, *Trends in Biochemical Sciences*, **26**, 61-66.
- Adams, J.M. and Cory, S.,** 2007. The Bcl-2 apoptotic switch in cancer development and therapy, *Oncogene*, **26**, 1324–1337
- Agca, C.A., Tuzcu, M., Gencoglu, H., Akdemir, F., Ali, S., Sahin, K. and Kucuk, O.,** 2012. Lycopene counteracts the hepatic response to 7,12-dimethylbenz[a]anthracene by altering the expression of Bax, Bcl-2, caspases, and oxidative stress biomarkers, *Pharmaceutical Biology*, **50**, 1513–1518.
- Aggarwal, B., Kumar, A. and Bharti, A.,** 2003. Anticancer potential of curcumin: preclinical and clinical studies. *Anticancer Res.*, **23**, 363-398.
- Aggarwal, B.B., Shishodia, S., Takada, Y., Banerjee, S., Newman, R.A., Bueso-Ramos, C.E. and Price, J.E.,** 2005. Curcumin suppresses the paclitaxel-induced nuclear factor-kappaB pathway in breast cancer cells and inhibits lung metastasis of human breast cancer in nude mice. *Clin. Cancer Res.* **11**, 7490-7498.
- Al-Rubeai, M. and Fussenegger, M.,** 2004. Cell Engineering, Kluwer Academic Publishers, *Printed in the Netherlands*, **4**, 1-49
- Amin, A.R., Kucuk, O., Khuri, F.R. and Shin, D.M.,** 2009. Perspectives for cancer prevention with natural compounds. *J Clin Oncol*, **27**, 2712–2725
- Anand, P., Kunnumakkara, A.B., Newman, R.A. and Aggarwal, B.B.,** 2007, Bioavailability of curcumin: problems and promises. *Mol. Pharm.* **4**, 807-818.
- Ansenberger, K., Zhuge, Y., Lagman, J.A.J., Richards, C., Barua, A., Bahr, J.M. and Hales, D.B.,** 2009. E cadherin expression in ovarian cancer in the laying hen, *Gynecologic Oncology*, **113**, 362–369.
- Ardjomande, S.A. and Martinou, J.C.,** 2005, Regulation of Bcl-2 proteins and of the permeability of the outer mitochondrial membrane, *C. R. Biol.* **328**, 616-631.
- Arnoult, D., Gaume, B., Karbowski, M., Sharpe, J.C., Cecconi, F. and Youle, R.J.,** 2003, Mitochondrial release of AIF and EndoG requires caspase activation downstream of Bax/Bak-mediated permeabilization, *EMBO J*, **22**, 4385– 4399

- Azuine, M.A. and Bhide, S.V.**, 1992. Chemopreventive effect of turmeric against stomach and skin tumors induced by chemical carcinogens in Swiss mice. *Nutrition and Cancer*, **17**, 77-83.
- Bakhshi, A., Jensen, J. P., Goldman, P., Wright, J. J., McBride, O. W., Epstein, A. L. and Korsmeyer, S. J.**, 1985, Cloning the chromosomal breakpoint of t(14;18) human lymphomas: clustering around JH on chromosome 14 and near a transcriptional unit on 18, *Cell*, **41**, 899-906.
- Bao, Q. and Shi, Y.**, 2007, Apoptosome: A platform for the activation of initiator caspases, *Cell Death Differ*, **14**, 56–65
- Barnes, M.N., Berry, W.D., Straughn, J.M., Kirby, T.O., Leath, C.A., Huh, W.K., Grizzle, W.E. and Partridge, E.E.**, 2002. A pilot study of ovarian cancer chemoprevention using medroxyprogesterone acetate in an avian model of spontaneous ovarian carcinogenesis. *Gynecol Oncol*. **87**, 57-63.
- Bar-Sela, G., Epelbaum, R. and Schaffer, M.**, 2010, Curcumin as an anti-cancer agent: review of the gap between basic and clinical applications *Curr. Med Chem* **17**, 190–197.
- Barua, A., Bitterman, P., Abramowicz, J.S., Dirks, A.L., Bahr, J.M., Hales, D.B., Bradaric, M.J., Edassery, S.L., Rotmensch, J. and Luborsky, J.L.**, 2009. Histopathology of ovarian tumors in laying hens: a preclinical model of human ovarian cancer. *Int J Gynecol Cancer*. **19**, 531-539.
- Barua, A., Bitterman, P., Bahr, J.M., Bradaric, M.J., Hales, D.B., Luborsky, J.L. and Abramowicz, J.S.**, 2010. Detection of Tumor-Associated Neoangiogenesis by Doppler Ultrasonography During Early-Stage Ovarian Cancer in Laying Hens, *Journal Ultrasound Med*, **29**, 173–182.
- Barua, A., Bradaric, M.J., Bitterman, P., Abramowicz, J.S., Sharma, S., Basu, S., Lopez, H. and Bahr J.M.**, 2013. Dietary Supplementation of Ashwagandha (*Withania somnifera*, Dunal) Enhances NK Cell Function in Ovarian Tumors in the Laying Hen Model of Spontaneous Ovarian Cancer, *American Journal of Reproductive Immunology*, **70**, 538–550.
- Barua, A., Yellapa, A., Bahr, J.M., Abramowicz, J.S., Edassery, S.L., Basu, S., Rotmensch, J. and Bitterman, P.**, 2012. Expression of death receptor 6 by ovarian tumors in laying hens, a preclinical model of spontaneous ovarian cancer. *Transl Oncol*, **5**, 260-268.

- Barua, A., Yellapa, A., Bahr, J.M., Adur, M.K., Utterback, C.W., Bitterman, P., Basu, S., Sharma, S. and Abramowicz, J.S.,** 2015. Interleukin 16- (IL-16-) Targeted Ultrasound Imaging Agent Improves Detection of Ovarian Tumors in Laying Hens, a Preclinical Model of Spontaneous Ovarian Cancer, *BioMed Research International*, **2015**, 1–10.
- Beer, L., Mildner, M., Gyöngyösi, M. and Ankersmit, H.J.,** 2016. Peripheral blood mononuclear cell secretome for tissue repair. *Apoptosis*. [Epub ahead of print] DOI: 10.1007/s10495-016-1292-8.
- Behnia, M., Robertson, K.A. and Martin, W.J.,** 2000, Lung infections:Role of apoptosis in host defense and patogenesis of disease, *Chest*, **117**, 1771-1777.
- Berta, T., Qadri, Y.J., Chen, G. and Ji, R.R.,** 2016. Microglial Signaling in Chronic Pain with a Special Focus on Caspase 6, p38 MAP Kinase, and Sex Dependence, *Journal of Dental Research*, 1–8.
- Bhuvanewari, V., and Nagini, S.,** 2005, Lycopene: a review of its potential as an anticancer agent, *Curr.Med.Chem.Anti.-Canc.Agents*, **5**, 627-635.
- Bhuvanewari, V., Velmurugan, B. and Nagini, S.,** 2004, Dose-response effect of tomato paste on 7,12-dimethylbenz(a)anthracene-induced hamster buccal pouch carcinogenesis, *Journal of Experimental & Clinical Cancer*, **23**, 241–249.
- Bimonte, S., Barbieri, A., Leongito, M., Piccirillo, M., Giudice, A., Pivonello, C., de Angelis, C., Granata, V., Palaia , R. and Izzo, F.,** 2016. Curcumin AntiCancer Studies in Pancreatic Cancer, *Nutrients*, **8**, 1–12.
- Bohm, V., Frohlich, K. and Bitsch, R.,** 2003, Rosehip a "new" source of lycopene?, *Mol Aspects Med*, **6**, 385-389.
- Borner, C.,** 2003, The Bcl-2 protein family: sensors and checkpoints for life-or-death decisions, *Mol.Immunol*, **39**, 615-647.
- Brouet, I. and Ohshima, H.,** 1995.Curcumin, an anti-tumour promoter and anti-inflammatory agent, inhibits induction of nitric oxide synthase in activated macrophages. *Biochem Biophys Res Commun*, **206**, 533–540.
- Cadena, S.G. and Massieu, L.,** 2016. Caspases and their role in inflammation and ischemic neuronal death. Focus on caspase-12, *Apoptosis*, **21**,763–777.
- Calabrese, V., Butterfield, D.A. and Stella, A.M.,** 2003. Nutritional antioxidants and the heme oxygenase pathway of stress tolerance: novel targets for neuroprotection in Alzheimer's disease. *Italian Journal of Biochemistry*, **52**, 177-181.

- Casagrande, N., Celegato, M., Borghese, C., Mongiat, M., Colombatti, A. and Aldinucci, D.**, 2014. Preclinical Activity of the Liposomal Cisplatin Lipoplatin in Ovarian Cancer, *Clin Cancer Res*, **20**, 5496–5506.
- Chen, J., He, Z., Wang, F., Zhang, Z., Liu, X., Zhai, D. and Chen, W.**, 2016. Curcumin and its promise as an anticancer drug: An analysis of its anticancer and antifungal effects in cancer and associated complications from invasive fungal infections, *European Journal of Pharmacology*, **772**, 33–42.
- Cheng, J., Zhou, T., Liu, C., Shapiro, J.P., Brauer, M.J., Kiefer, M.C., Barr, P.J., and Mountz, J.D.**, 1994, Protection from Fas-mediated apoptosis by a soluble form of the Fas molecule, *Science*, **263**, 1759-1762
- Chien, J., Sicotte, H., Fan, J., Humphray, B., Cunningham, S., Kalli, J.M., Oberg, K. R., Hart, A.L., Li, S.N., Davila, Y., Baheti, J.I., Wang, S., Dietmann, C., Atkinson, S., Asmann, E.J., Bell, Y.W., Ota, D.A., Tarabishy, T., Kuang, Y., Bibikova, R., Chee-tham, M., Grocock, R.K., Swisher, R.J., Peden, E.M., Bentley, J., Kocher, D., Kaufmann, J.P., Hartmann, S.H., Shridhar, L.C. and Goode, E.L.**, 2015. TP53 mutations, tetraploidy and homologous recombination repair defects in early stage high-grade serous ovarian cancer. *Nucleic Acids Res.* **43**, 6945–6958.
- Cleary, M. L., Smith, S. D., and Sklar, J.**, 1986, Cloning and structural analysis of cDNAs for bcl-2 and a hybrid bcl-2/immunoglobulin transcript resulting from the t(14;18) translocation, *Cell*, **47**, 19-28.
- Clinton, S.K., Emenhiser, C., Schwartz, S.J., Bostwick, D.G., Williams, A.W., Moore, B.J. and Erdman, J.W.**, 1996, Cis-trans lycopene isomers, carotenoids, and retinol in the human prostate, *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, **5**, 823–833.
- Cowling, V. and Downward, J.**, 2002, Caspase-6 is the direct activator of caspase-8 in the cytochrome c-induced apoptosis pathway: Absolute requirement for removal of caspase-6 pro-domain, *Cell Death Differ*, **9**, 1046–1056.
- Devassy, J.G., Nwachukwu, I.D. and Peter J.H. Jones**, 2015. Curcumin and cancer: barriers to obtaining a health claim, *Nutrition Reviews*, **73**, 155–165.
- Dong, A., Lu, Y. and Lu, B.**, 2016. Genomic/Epigenomic Alterations in Ovarian Carcinoma: Translational Insight into Clinical Practice, *Journal of Cancer*, **7**, 1441–1451.

- Eichhorst, S.T. and Kramer, P.H.**, 2001, Derangement of apoptosis in cancer, *The Lancet*, **358**, 345-346.
- Erdoğan, B.B. ve Uzaslan, E.K.**, 2003, Apoptozis Mekanizmaları:Tümör Gelişiminde Fas-Fasl Bağımlı Apoptozis, *Akciğer Arşivi*, **4**, 165-174.
- Esmaily, H., Sahebkar, A., Iranshahi, M., Ganjali, S., Mohammadi, A., Ferns, G. and Ghayour-Mobarhan, M.**, 2015, An investigation of the effects of curcumin on anxiety and depression in obese individuals: A randomized controlled trial. *Chin J Integr Med.* **21**, 332-338.
- Fearnhead, H.O.**, 2004. Getting back on track, or what to do when apoptosis is de-railed: recoupling oncogenes to the apoptotic machinery. *Cancer Biol Ther.* **3**, 21-28.
- Feichtinger, M. and Rodriguez-Wallberg, K.A.**, 2016. Fertility preservation in women with cervical, endometrial or ovarian cancers, *Gynecologic Oncology Research and Practice*, **3**, 1–13.
- Ferreira, A.L., Yeum, K.J., Liu, C., Smith, D., Krinsky, N.I., Wang, X.D. and Russell, R.M.**, 2000, Tissue distribution of lycopene in ferrets and rats after lycopene supplementation, *J Nutr*, **130**, 1256–1260.
- Fredrickson, T.N.**, 1987. Ovarian tumors of the hen. *Environ Health Perspect.* **73**, 35-51.
- Fu, Y.F. and Fan, T.J.**, 2002, Bcl-2 family proteins and apoptosis. *Acta Biochim Biophys Sin* **34**, 389–394.
- Futreal, P.A., Kasprzyk, A., Birney, E., Mullikin, J.C., Wooster R. and Stratton, M.**, 2001. Cancer and genomics, *Nature*, **6822**, 850-2
- Futreal, P.A., Kasprzyk. A., Birney, E., Mullikin, J.C., Wooster, R. and Stratton, M.**, 2001. Cancer and genomics. *Nature* **6822**, 850-852
- Giles, J.R., Elkin, R.G., Trevino, L.S., Urick, M.E., Ramachandran, R. and Johnson P.A.**, 2010. The restricted ovulator chicken: a unique animal model for investigating the etiology of ovarian cancer, *Int J Gynecol Cancer*, **20**, 738–744.
- Giles, J.R., Olson, L.M. and Johnson, P.A.**, 2006. Characterization of ovarian surface epithelial cells from the hen: a unique model for ovarian cancer, *Exp Biol Med (Maywood)*, **231**, 1718–1725.
- Gilks, C.B. and Prat, J.**, 2009. Ovarian carcinoma pathology and genetics: recent advances. *Hum Pathol.* **40**, 1213-1223
- Goel, A., Jhurani, S. and Aggarwal, B.B.**, 2008. Multi-targeted therapy by curcumin: how spicy is it?, *Mol Nutr Food Res*, **52**, 1010–30.

- Gopisetty, G., Das, P.M., Ramachandran, K., VanWert, J., Ferdinand, L., Reis I.M. and Singal, R.**, 2006, Methylation mediated silencing of TMS1/ASC gene in prostate cancer, *Molecular Cancer*, 5-28. doi: 10.1186/1476-4598-5-28
- Green, D.R. and Reed, J.C.**, 1998, Mitochondria and apoptosis, *Science*, **281**, 1309–1312.
- Gross, A., Jockel, J., Wei, M. C., and Korsmeyer, S. J.**, 1998, Enforced dimerization of Bax results in its translocation, mitochondrial dysfunction and apoptosis, *EMBO J*, **17**, 3878- 3885.
- Hakim, A.A., Barry, C.P., Barnes, H.J., Anderson, K.E., Petite, J., Whitaker, R., Lancaster, J.M., Wenham, R.M., Carver, D.K., Turbov, J., Berchuck, A., Kopelovich, L. and Rodriguez, G.C.**, 2009. Ovarian adenocarcinomas in the laying hen and women share similar alterations in p53, ras, and HER-2/neu. *Cancer Prev Res (Phila)*. **2**, 114-121.
- Hengartner, M.O.**, 2000, The biochemistry of apoptosis, *Nature*, **407**, 770-776.
- Hockenbery, D., Nunez, G., Milliman, C., Schreiber, R. D., and Korsmeyer, S. J.**, 1990, Bcl-2 is an inner mitochondrial membrane protein that blocks programmed cell death, *Nature*, **348**, 334-336.
- Itoh, N., Yonehara, S., Ishii, A., Yonehara, M., Mizushima, S., Sameshima, M., Hase, A., Seto, Y. and Nagata, S.**, 1991, The Polypeptide Encoded by the cDNA for Human Cell Surface Antigen Fas Can Mediate Apoptosis, *Cell*, **66**, 233-243.
- Jantan, I., Ahmad, W. and Bukhari S.N.A.**, 2015. Plant-derived immunomodulators: an insight on their preclinical evaluation and clinical trials *Front. Plant Sci.* <http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2015.00655>
- Jiang, X. and Wang, X.**, 2000, Cytochrome c promotes caspase-9 activation by inducing nucleotide binding to apaf-1, *J Biol Chem*, **275**, 31199–311203,
- Jin, J.H., Kim, H., Kim, C.Y., Kim, Y.H., Ju, W. and Kim, S.C.**, 2016. Association of plasma adiponectin and leptin levels with the development and progression of ovarian cancer, *Obstet Gynecol Sci*, **59**, 279–285.
- Johnson, K.A.**, 2009. The standard of perfection: thoughts about the laying hen model of ovarian cancer. *Cancer Prev Res (Phila)*. **2**, 97-99.
- Johnson, P.A. and Giles, J.R.**, 2006. Use of genetic strains of chickens in studies of ovarian cancer, *Poult Science*, **85**, 246–250.

- Kar, R., Sharma, C., Sen, S., Jain, S.K., Gupta, S.D. and Singh, N.,** 2016. Response of primary culture of human ovarian cancer cells to chemotherapy: In vitro individualized therapy. *J Cancer Res Ther.* **12**, 1050-1055.
- Kasi, P.D., Tamilselvam, R., Skalicka-Woźniak, K., Nabavi, S.F., Daglia, M., Bishayee, A., Pazoki-toroudi, H. and Nabavi, S.M.,** 2016. Molecular targets of curcumin for cancer therapy: an updated review, *Tumor Biology*, 1–12, doi:10.1007/s13277-016-5183-y.
- Kawamori, T., Lubet. R., Steele, V.E., Kelloff, G.J., Kaskey, R.B., Rao, C.V. and Reddy, B.S.,** 1999. Chemopreventive effect of curcumin, a naturally occurring anti-inflammatory agent, during the promotion/progression stages of colon cancer. *Cancer Res.* **59**, 597-601.
- Khandakar, B., Kumar, L., Kumar, S., Gupta, S.D., Kalaivani, M., Iyer, V. and Mathur, S.R.,** 2015. Tumour morphology after neoadjuvant chemotherapy as a predictor of Survival in serous ovarian cancer: an experience from a tertiary care centre in India. *Malays.J.Pathol.* **37**, 115–121
- Knox, P.G., Milner, A.E., Gren, N.K., Eliopoulos A. G. and Lawrence, Y.S.,** 2003, Inhibition of metalloproteinase cleavage enhances the cytotoxicity of Fas Ligand, *J Immunol*, **170**, 677-685
- Korsmeyer, S. J.,** 1999, BCL-2 gene family and the regulation of programmed cell death, *Cancer Research*, **59**, 1693-1700.
- Kumar, G., Mittal, S., Sak, K. and Tuli, H.S.,** 2016, Molecular mechanisms underlying chemopreventive potential of curcumin: Current challenges and future perspectives. *Life Sci.* **148**, 313-328.
- Kuwano, K., Kawasaki, M., Maeyama, T., Hagimoto, N., Nakamura, N., Shirakawa, K. and Hara, N.,** 2000, Solubleform Fas and Fas Ligand in BAL fluid from patients with pulmonary fibrosis and bronchiolitis obliterans organizing pneumonia, *Chest*, **118**, 451-458.
- Laemmli, U. K.,** 1970, Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4, *Nature*, **227**, 680-685.
- Lan, Z., Wang, F., Yu, X., Zeng, X. and Mingrong Xi,** 2016. Diagnostic Accuracy of Serum Kallikrein-Related Peptidases for Ovarian Cancer A Systematic Review and Meta-Analysis, *Int J Gynecol Cancer*, **0**,1–9.

- Lee, A., Thurnham, D.I. and Chopra, M.,** 2000, Consumption of tomato products with olive oil but not sunflower oil increases the antioxidant activity of plasma, *Free Rad Biol Med*, **29**, 1051–1055.
- Lengyel, E., Burdette, J.E., Kenny, H.A., Matei, D., Pilrose, J., Haluska, P., Nephew, K.P., Hales, D.B. and Stack, M.S.,** 2014, Epithelial ovarian cancer experimental models. *Oncogene*. **33**, 3619-3633.
- Li, C.J., Zhang, L.J., Dezube, B.J., Crumpacker, C.S. and Pardee, A.B.,** 1993. Three inhibitors of type I human immunodeficiency virus long terminal repeat directed gene expression and virus replication. *Proc Natl Acad Sci USA*. **90**, 1839-1842.
- Li, L., Mao, X., Qin, X., Zhou, M., Xing, H., Dong, F., Jiang, X. and Zhuang, W.,** 2016b. Aspirin inhibits growth of ovarian cancer by upregulating caspase-3 and downregulating bcl-2, *Oncology Letters*, **12**, 93–96.
- Li, N., Chen, X., Liao, J., Yang, G., Wang, S., Josephson, Y., Han, C., Chen, J., Huang, M.T. and Yang, C.S.,** 2002. Inhibition of 7,12-dimethylbenzaanthracene (DMBA)-induced oral carcinogenesis in hamsters by tea and curcumin. *Carcinogenesis*, **23**, 1307-1313.
- Li, S., Yang, L., Wang, J., Liang, F., Chang, B., Gu, H., Wang, H., Yang, G. and Chen, Y.,** 2016a. Analysis of the chemotherapeutic effects of a propadiene compound on malignant ovarian cancer cells, *Oncotarget*, 1–15, doi: 10.18632/oncotarget.11012.
- Lijuan, W., Xiaoying, J., Zipei, C. and Wenlu, L.,** 2016. Evodiamine induces extrinsic and intrinsic apoptosis of ovarian cancer cells via the mitogen-activated protein kinase/phosphatidylinositol-3-kinase/protein kinase B signaling pathways, *J Tradit Chin Med*, **36**, 353–359.
- Lin, L. and Baehrecke, E.H.,** 2016. Autophagy, cell death, and cancer, *Molecular & Cellular Oncology*, **2**, e985913-1–8.
- Lu, Y., Miao, L., Wang, Y., Xu, Z., Zhao, Y., Shen, Y., Xiang, G. and Huang, L.,** 2016, Curcumin Micelles Remodel Tumor Microenvironment and Enhance Vaccine Activity in an Advanced Melanoma Model. *Mol Ther*. **24**, 364-374.
- Lü, C.X., Fan, T.J., Hu, G.B. and Cong, R.S.,** 2003, Apoptosis-inducing factor and apoptosis, *Acta Biochim Biophys Sin*, **35**, 881–885.
- McCluggage, W.G.,** 2008, My approach to and thoughts on the typing of ovarian carcinomas. *J Clin Pathol*. **61**, 152-163.

- McCluggage, W.G.**, 2011, Morphological subtypes of ovarian carcinoma: a review with emphasis on new developments and pathogenesis. *Pathology*, **43**, 420-432
- Menon, V.P. and Sudheer, A.R.**, 2007. Antioxidant and anti-inflammatory properties of curcumin. *Adv Exp Med Biol*. **595**, 105-125.
- Minn, A. J., Swain, R. E., Ma, A. and Thompson, C. B.**, 1998, Recent progress on the regulation of apoptosis by Bcl-2 family members, *Adv.Immunol*, **70**, 245-279
- Mirzaei, H., Naseri, G., Rezaee, R., Mohammadi. M., Banikazemi. Z., Mirzaei. H.R., Salehi. H., Peyvandi. M., Pawelek. J.M. and Sahebkar, A.**, 2016. Curcumin: A new candidate for melanoma therapy? *Int. J. Cancer*, **139**, 1683–1695
- Mirzayans, R., Andrais, B., Kumar P. and Murray, D.**, 2016. The Growing Complexity of Cancer Cell Response to DNA-Damaging Agents: Caspase 3 Mediates Cell Death or Survival?, *International Journal of Molecular Sciences*, **708**, 1–17.
- Mohan, K.V.P.C. and Nagini, S.**, 2003, Dose-response effects of tomato lycopene on lipid peroxidation and enzymic antioxidants in the hamster buccal pouch carcinogenesis model, *Nutrition Research*, **10**,1403-1416.
- Nagata, S. and Golstein, P.**, 1995, The Fas death factor, *Science*, **267**, 1449-1456.
- Nagata, S.**, 1997, Apoptosis by death factor, *Cell*, **88**, 355-365.
- Negi, P.S., Jayaprakasha, G.K., Jagan, Mohan, Rao, L. and Sakariahk, K.**, 1999. Antibacterial activity of turmeric oil: a byproduct from curcumin manufacture. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **47**, 4297-4300.
- Oehm, A., Behrmann, I., Falk, W., Pawlita, M., Maier, G ., Klas, C., Li-Weber, M., Richards, S., Dhein, J. and Trauth, B.C.**, 1992, Purification and molecular cloning of the APO-1 cell surface antigen, a member of the tumor necrosis factor/nerve growth factor receptor superfamily: sequence identity with the Fas antigen, *J Biol Chem*, **267**, 10706-10715
- Omoni, A.O. and Aluko, R.E.**, 2005, The anticarcinogenic and antiatherogenic effects of lycopene: a review, *Trends Food Sci Technol*, **16**, 344–350.
- Oyagbemi, A.A., Saba, A.B. and Ibraheem, A.O.**, 2009. Curcumin: from food spice to cancer prevention, *Asian Pac J Cancer Prev*, **10**, 963–7.
- Panahi, Y., Ghanei, M., Hajhashemi, A. and Sahebkar, A.**, 2016, Effects of Curcuminoids-Piperine Combination on Systemic Oxidative Stress, Clinical Symptoms and Quality of Life in Subjects with Chronic Pulmonary Complications Due to Sulfur Mustard: A Randomized Controlled Trial., *J Diet Suppl*. **13**, 93-105.

- Panahi, Y., Saadat, A., Beiraghdar, F. and Sahebkar A.,** 2014, Adjuvant therapy with bioavailability-boosted curcuminoids suppresses systemic inflammation and improves quality of life in patients with solid tumors: a randomized double-blind placebo-controlled trial. *Phytother Res*, **28**, 1461–1467.
- Panahi, Y., Sahebkar, A., Amiri, M., Davoudi, S.M., Beiraghdar, F., Hoseininejad, S.L. and Kolivand, M.,** 2012, Improvement of sulphur mustard-induced chronic pruritus, quality of life and antioxidant status by curcumin: results of a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Br J Nutr*. **108**,1272-1279.
- Park, S., Lee, L.R., Seo J. H. and Kang, S.,** 2016, Curcumin and tetrahydrocurcumin both prevent osteoarthritis symptoms and decrease the expressions of pro-inflammatory cytokines in estrogen-deficient rats, *Genes Nutr*. **11**, 2. doi: 10.1186/s12263-016-0520-4
- Parker, R.S.,** 1996, Absorption, metabolism and transport of carotenoids. *FASEBJ*, **10**, 42–51.
- Potts, M.B., Vaughn, A.E., McDonough, H., Patterson, C. and Deshmukh, M.,** 2005, Reduced Apaf-1 levels in cardiomyocytes engage strict regulation of apoptosis by endogenous, XIAP. *J. Cell Biol*, **171**, 925–930
- Pulido-Moran, M., Moreno-Fernandez, J., Ramirez-Tortosa C. and Ramirez-Tortosa, M.,** 2016. Curcumin and Health, *Molecules*, **21**, 1–22.
- Rao, A. V. and Agarwal, S.,** 2000, Role of Antioxidant Lycopene in Cancer and Heart Disease, *J Am Coll Nutr*, **19**, 563-569.
- Rao, L. and White, E.,** 1997, Bcl-2 and the ICE family of apoptotic regulators: making a connection, *Curr.Opin.Genet.Dev.* **7**, 52-58.
- Reddy, A.C. and Lokesh, B.R.,** 1994. Studies on the inhibitory effects of curcumin and eugenol on the formation of reactive oxygen species and the oxidation of ferrous iron. *Molecular and Cellular Biochemistry* **137**, 1-8.
- Rodriguez-Burford, C., Barnes, M.N., Berry, W., Partridge, E.E. and Grizzle, W.E.,** 2001. Immunohistochemical expression of molecular markers in an avian model: a potential model for preclinical evaluation of agents for ovarian cancer chemoprevention, *Gynecol Oncol*, **81**, 373–379.
- Rooth, C.,** 2013, Ovarian cancer:risk factors, treatment and management. *Br JNurs*, **22**, 23–30

- Sahebkar, A.**, 2015, Dual effect of curcumin in preventing atherosclerosis: the potential role of pro-oxidant-antioxidant mechanisms. *Nat Prod Res*, **29**, 491–492.
- Sahebkar, A., Mohammadi, A., Atabati, A., Rahiman, S., Tavallaie, S., Iranshahi, M., Akhlaghi, S., Ferns, G.A. and Ghayour-Mobarhan, M.**, 2013, Curcuminoids modulate pro-oxidant-antioxidant balance but not the immune response to heat shock protein 27 and oxidized LDL in obese individuals. *Phytother Res*, **27**, 1883–1888
- Sahin, K., Orhan, C., Smith, M.A. and Sahin, N.**, 2013. Molecular mechanism of phytochemicals for alleviation of heat stress in poultry. *World's Poultry Science Journal*, **69**, 113-124.
- Sahin, K., Orhan, C., Tuzcu, Z., Tuzcu, M. and Sahin, N.**, 2012, Curcumin ameliorates heat stress via inhibition of oxidative stress and modulation of Nrf2/HO-1 pathway in quail. *Food Chem Toxicol.* **50**, 4035-4041.
- Schaffer, M., Schaffer, P.M., and Bar-Sela, G.**, 2015. An update on Curcuma as a functional food in the control of cancer and inflammation, *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, **18**, 605–611.
- Shehzad, A. and Lee, Y.S.**, 2013. Molecular mechanisms of curcumin action: signal transduction, *Biofactors*, **39**, 27–36.
- Shehzad, A., Wahid, F. and Lee, Y.S.**, 2010. Curcumin in cancer chemoprevention: molecular targets, pharmacokinetics, bioavailability, and clinical trials, *Arch Pharm*, **343**, 489–99.
- Shi, J. and Le Maguer, M.**, 2000, Lycopene in tomatoes: chemical and physical properties affected by food processing, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr*, **40**, 1-42.
- Siegel, R., MaJ, Zou, Z. and Jemal, A.**, 2014. Cancer statistics, *CA CancerJ Clin* **64**, 9–29
- Sreejayan, K. and Rao, M.N.**, 1994. Curcuminoids as potent inhibitors of lipid peroxidation. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, **46**, 1013-1016.
- Steele, V.E.**, 2003, Current mechanistic approaches to the chemoprevention of cancer, *J Biochem Mol Biol*, **36**, 78–81.
- Stennicke, H.R., Ryan, C.A. and Salvesen, G. S.**, 2002. Reprieval from execution: the molecular basis of caspase inhibition, *Trends Biochem Sci.* **27**, 94-101.
- Sun, S.Y., Hail, N. and Lotan, R.**, 2004, Apoptosis as a novel target for cancer chemoprevention, *J Natl Cancer Inst*, **96**, 662–672.

- Sunguroğlu, A., Erdemli, E. A. ve Tekelioğlu, M.,** 1996, Programlanmış Hücre Ölümü: Apoptozis, *T Klin Tıp Bilimleri*, **16**, 333-337
- Tanaka, M., Suda, T., Haze, K., Nakamura, N., Sato, K., Kimura, F., Motoyoshi, K., Mizuki, M., Tagawa, S., Ohga, S., Hatake, K., Drummond, A.H., and Nagata, S.,** 1996, Fas ligand in human serum, *Nature Med*, **2**, 317-322.
- Thangapazham, R.L., Sharad, S. and Maheshwari, R.K.,** 2013, Skin regenerative potentials of curcumin. *Biofactors*, **39**, 141–149.
- Thangapazham, R.L., Sharma, A. and Maheshwari, R.K.,** 2006. Multiple molecular targets in cancer chemoprevention by curcumin, *AAPS J*, **8**, 443–9.
- Thornberry, N.A., Rano, T.A., Peterson, E.P., Rasper, D.M., Timkey, T., Garcia-Calvo, M., Houtzager, V.M., Nordstrom, P.A., Roy, S., Vaillancourt, J.P., Chapman, K.T. and Nicholson, D.W.,** 1997, A combinatorial approach defines specificities of members of the caspase family and granzyme B. Functional relationships established for key mediators of apoptosis, *J. Biol. Chem*, **272**, 07-11
- Toda, S., Miyase, T., Arichi, H., Tanizawa, H. and Takino, Y.,** 1985. Natural antioxidants. III. Antioxidative components isolated from rhizome of *Curcuma longa* L. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, **33**, 1725-1728.
- Tomatır, A.G.,** 2003, Apoptoz: Programlı Hücre Ölümü, *T Klin Tıp Bilimleri*, **23**, 499-508
- Tsujimoto, Y. and Croce, C.M.,** 1986, Analysis of the structure, transcripts, and protein products of bcl-2, the gene involved in human follicular lymphoma, *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* **83**, 5214-5218.
- Tsujimoto, Y., Gorham, J., Cossman, J., Jaffe, E., and Croce, C. M.,** 1985, The t(14;18) chromosome translocations involved in B-cell neoplasms result from mistakes in VDJ joining, *Science*, **229**, 1390-1393.
- Tuorkey, M.,** 2014. Curcumin a potent cancer preventive agent: mechanisms of cancer cell killing, *Interv Med Appl Sci*, **6**, 139–146.
- Turgut, B., Demir, T. ve Celiker, Ü.,** 2006, Oftalmolojide Apoptoz , *Fırat Tıp Dergisi*, **11**, 6-11
- Tuzcu, M.,** 2004, Deneysel olarak oluşturulan diyabetik ratlarda hipokampus ve beyin korteksinden n-cam protein ekspresyonu ve buna melatonin ve vitamin E'nin etkisi, Doktora Tezi, Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.

- URL-1, <http://seer.cancer.gov/statfacts/html/ovary.html>. National Cancer Institute; Surveillance, Epidemiology, and End Results [SEER] Program. SEER stat fact sheets: ovary cancer. 18 Mart 2016.
- URL-2, https://www.researchgate.net/figure/229435078_fig1_Fig-1- Signal-transduction-pathways-for-apoptosis-Apoptosis-is-induced-by-various 25 Mart 2016
- URL-3 http://www.nature.com/nri/journal/v5/n3/fig_tab/nri1568_F3.html 29 Mart 2016.
- URL-4, <http://www.metafizikbilgiler.com/images/icresimler/mito2.jpg> 18 Haziran 2016.
- URL-5, http://www.nature.com/onc/journal/v27/n48/fig_tab/onc2008297f1.html#figure-title 25 Haziran 2016.
- URL-6, <http://www.nature.com/nri/journal/v6/n11/images/nri1943-f4.jpg> 25 Haziran 2016
- URL-7, <http://www.ciftcizade.com/bitkiselnya%C4%9Flar/kekik-etkin-maddesi/> 7 Temmuz 2016
- URL-8, <http://spauvasemdomu.com/wp-content/uploads/2013/07/kurkumaa-ll.jpg> 12 Temmuz 2016
- URL-9, <http://www.zerdec.al.org/image/curcumin-sema.png> 14 Temmuz 2016
- Vaux, D.L., Cory, S., and Adams, J.M.,** 1988, Bcl-2 gene promotes haemopoietic cell survival and cooperates with c- myc to immortalize pre-B cells, *Nature*, **335**, 440-442.
- Veldhoen, M. and Veiga-Fernandes, H.,** 2015, Feeding immunity: skepticism, delicacies and delights *Nat. Immunol*, **16**, 215–219
- Walker, N.P.C., Talanian, R.V., Brady K.D., Dang, L.C., Bump, N.J., Ferenza, C.R., Franklin, S., Ghayur, T., Hackett, M.C., Hammill, L.D., Herzog, L., Hugunin M., Houy, W., Mankovich, J.A., McGuinness, L., Orlewicz, E., Paskind, M., Pratt., C.A., Reis, P., Summani A., Terranova, M., Welch, J.P., Xiong L., Möller, A., Tracey, D.E., Kamen, R. and Wong, W.W.,** 1994, Crystal structure of the cysteine protease interleukin-1 beta-converting enzyme: a (p20/p10)₂ homodimer, *Cell*, **78**, 343-352.
- Wang, E., Marcotte, R. and Petroulakis, E.,** 1999, Signaling pathway for apoptosis: a racetrack for life or death, *J.Cell Biochem*, **32**, 95-102.
- Wang, Y., Yu, J., Cui, R., Lin, J. and Ding, X.,** 2016. Curcumin in Treating Breast Cancer: A Review, *Journal of Laboratory Automation*, 1–9. doi: 10.1177/2211068216655524.

- Wang, Z.B., Liu, Y.Q. and Cui, Y.F.**, 2005, Pathways to caspase activation, *Cell Biol Int*, **29**, 489–496.
- Williams, G.M.**, 2001. Mechanisms of chemical carcinogenesis and application to human cancer risk assessment. *Toxicology*, **14**, 3-10.
- Wilson, K.P., Black, J.A., Thomson, J.A., Kim, E.E., Griffith, J.P., Navia, M.A., Murcko, M.A., Chambers, S.P., Aldape, R.A. and Raybuck, S.A.**, 1994, Structure and mechanism of interleukin-1 beta converting enzyme, *Nature*, **370**, 270-275.
- Woo, J.H., Kim, Y.H., Choi, Y.J., Kim, D.G., Lee, K.S., Bae, J.H., Min, D.S., Chang, J.S., Jeong, Y.J., Lee, Y.H., Park, J.W. and Kwon, T.K.**, 2003, Molecular mechanisms of curcumin-induced cytotoxicity: induction of apoptosis through generation of reactive oxygen species, down-regulation of Bcl-XL and IAP, the release of cytochrome c and inhibition of Akt., *Carcinogenesis*, **24**,1199-1208.
- Yellapa, A., Bahr, J.M., Bitterman, P., Abramowicz, J.S., Edassery, S.L., Penumatsa, K., Basu, S., Rotmensch, J. and Barua, A.**, 2012. Association of Interleukin 16 With the Development of Ovarian Tumor and Tumor-Associated Neoangiogenesis in Laying Hen Model of Spontaneous Ovarian Cancer, *International Journal of Gynecological Cancer*, **22**, 199–207.
- Yokus B. ve Ülker D.Ü.**, 2012, Kanser Biyokimyas. *Dicle Üniv Vet Fak Derg*, **1**, 7-18
- Youle, R.J. and Strasser, A.**, 2008, The BCL-2 protein family: Opposing activities that mediate cell death, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol*, **9**, 47–59.
- Yu, T., Chen, C., Sun, Y., Sun, H., Li, TH., Meng, J. and Shi, X.**, 2015, ABT-737 sensitizes curcumin-induced anti-melanoma cell activity through facilitating mPTP death pathway. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **464**, 286-291.
- Zhou, Y., Liu, Q., Liu, C. and Lin, L.**, 2015. Calycosin induces apoptosis in human ovarian cancer SKOV3 cells by activating caspases and Bcl-2 family proteins, *Tumor Biol*, **36**, 5333–5339.

ÖZGEÇMİŞ

01.05.1980 tarihinde Adıyaman'nın Besni ilçesinde doğdum. İlk, orta ve lise eğitimimi Besni'de tamamladıktan sonra 2000 yılında Azerbaycan Devlet Pedagoji Üniversitesi Biyoloji öğretmenliği bölümüne girdim 2005 yılında lisans eğitimimi tamamladıktan sonra Besni de çeşitli okullarda 2012 yılına kadar öğretmen olarak görev yaptım. Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Moleküler Biyoloji Bilim Dalında 2012 yılında başladığım Yüksek Lisans eğitimine devam etmekteyim.

