

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**KURKUMİNİN, PAKLİTAKSEL İLE *IN VITRO*
KÜLTÜRLENMİŞ SIĞIR OVARYUM KORTİKAL
ŞERİTLERİ ÜZERİNE ETKİSİ**

Elif YAVAŞ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

2023-ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

KURKUMİNİN, PAKLİTAKSEL İLE *IN VITRO*
KÜLTÜRLENMİŞ SIĞIR OVARYUM KORTİKAL
ŞERİTLERİ ÜZERİNE ETKİSİ

Elif YAVAŞ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Gökhan AKKOYUNLU

Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TYL-2022-6078 proje numarası ile desteklenmiştir.

“Kaynakça gösterilerek tezimden yararlanılabilir.”

2023-ANTALYA

Sağlık Bilimleri Enstitüsü M¼d¼rl¼ę¼ne;

Bu alışma j¼rimiz tarafından Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Y¼ksek Lisans Programında Y¼ksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir. 25/04/2023

İmza

Tez Danışmanı : Prof. Dr. G¼khan AKKOYUNLU
Akdeniz ¼niversitesi

¼ye : Prof. Dr. G¼lin ABBAN METE
Pamukkale ¼niversitesi

¼ye : Prof. Dr. Saffet ¼ZT¼RK
Akdeniz ¼niversitesi

Bu tez, Enstit¼ Y¼netim Kurulunca belirlenen yukarıdaki j¼ri ¼yeleri tarafından uygun g¼r¼lm¼ř ve Enstit¼ Y¼netim Kurulu'nun/...../..... tarih ve/..... sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Enstit¼ M¼d¼r¼

ETİK BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı beyan ederim.

Elif YAVAŞ

İmza

Prof. Dr. Gökhan AKKOYUNLU

İmza

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim boyunca yanımda olan ve tez projemi gerçekleştirirken yol göstericiliğini ve desteğini esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Gökhan AKKOYUNLU'ya;

Akademik gelişimime yüksek lisansımın başlangıcında önemli katkıları olan hocam Prof. Dr. Gamze TANRIÖVER'e ve tüm bu süreçte her zaman yanımda olan Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nın tüm değerli öğretim üyelerine, çalışanlarına ve araştırma görevlilerine;

Bilimsel bilgi ve donanımından çok şey öğrendiğim Dr. Öğr. Üyesi Mustafa Gökhan ERTOSUN'a ve her zorlukta yanımda olan ve desteklerini hiç esirgemeyen çok sevgili çalışma arkadaşlarım Simla Su AKKAN, Gizem KORKMAZ, Rıza Can ÇAKMAKCI, Yeşim BİLMEZ ve ekip arkadaşım Mehmet DOĞAN'a;

Bitmek nedir bilmeyen enerjisiyle, tüm birikimini ve emeğini bizimle paylaşan ve her hareketinde ahlaklı çalışmanın getirdiği vicdan rahatlığının ne kadar önemli olduğunu gözlemlediğim çok sevgili ablam/teknikerimiz Sibel ÖZDEN ÖZER'e;

Yardımlarından dolayı Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nün değerli çalışanlarına;

Dostluğuyla yolumu aydınlatan, samimiyetinden güç bulduğum Tuğçe KABASOLUK ve bana her zaman kapılarını açan sevgili ailesine;

Hayatım boyunca her zaman yanımda olan, bana emeğin ne demek olduğunu, bilimin ve sanatın insanın ürettiği en kıymetli değerlerden olduğunu öğreten, beni her zaman destekleyen sevgili babam H.Ali YAVAŞ ve annem Türkan YAVAŞ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Amaç: Artan kanser vakalarına karşın, erken teşhis ve tedavi sayesinde hayatta kalma oranının da artmasıyla birlikte kemoterapötik ajanların fertilité üzerindeki olumsuz etkilerine yönelik çalışmalar artmıştır. Paklitaksel (PTX), birçok kanser türünde yaygın olarak kullanılan bir kemoterapötik ajandır ve hücre proliferasyonu ve apoptozunda önemli roller oynadığı bilinen protein kinaz b (PKB/Akt) ve mitojen ile aktive olan protein kinaz (MAPK) sinyal yollarının üst basamaklarını kontrol ettiği bilinmektedir. Doğal bir bileşik olan kurkuminin (CUR) ovaryum üzerindeki koruyucu etkileri ve çeşitli ilaç tedavileri ile ilgili olumlu etkileri literatürde gösterilmiştir. Bu bilgiler kapsamında, çalışmamızda ovaryum dokularında PTX'in ve CUR'nin Akt, p-Akt, MAPK ve p-MAPK ekspresyonları üzerindeki etkisini immünfloresan belirteçlerle görmeyi amaçladık.

Yöntem: Çalışmamızda bizlere kontrollü bir ortamda deney yapma imkânı veren ve hali hazırda kullanılan bir yöntem olan *in vitro* doku kültürünü kullandık. Altı adet düveden alınan ovaryum dokularından elde ettiğimiz kortikal şeritler, PTX ve kurkuminin etkisini görmeyi amaçladığımız 7 adet deney grubu (Kontrol, DMSO, PTX (0,1 µM), CUR1 µg/ml, CUR10 µg/ml, PTX+CUR 1 µg/ml, PTX+CUR 10µg/ml) oluşturularak 6 gün boyunca doku kültürüne alınmıştır. Sonuçlar ImageJ yazılımı ile analiz edilmiştir.

Bulgular: Gruplarımızın hiçbirinde kontrol ve DMSO grupları arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. PTX'in Akt ve p-Akt ekspresyonunu artırdığı, MAPK ekspresyonunu etkilemediği, p-MAPK ekspresyonunu ise azalttığı gözlemlenmiştir ($p < 0,05$). CUR ile tedavi sonucunda ise; 1 µg/ml CUR'nin Akt ekspresyonunu kontrol grubu seviyesine getirdiğini, 10 µg/ml CUR uygulamasının ise Akt'yi yükselttiğini, MAPK ekspresyonunun ise her iki CUR dozunda da arttığını gözlemledik. p-Akt ve p-MAPK ekspresyonlarının ise her iki CUR dozunda da kontrol grubuna yaklaştığı görüldü.

Sonuç: Çalışmamız sonucunda, CUR'nin PTX'in yarattığı folikül hasarı üzerinde önleyici olabileceğini fakat etki mekanizmasının anlaşılabilmesi için daha detaylı çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Paklitaksel (PTX), Kurkumin (CUR), MAPK, Akt

ABSTRACT

Objective: Despite increasing cancer cases, studies on the negative effects by the help of chemotherapeutic agents on fertility have increased with the increase in survival rate thanks to early diagnosis and treatment. Paclitaxel (PTX) is a widely used chemotherapeutic agent in many cancer types and is known to control the upper steps of Akt and MAPK signaling pathways, which are known to play important roles in cell proliferation and apoptosis. The protective effects of curcumin (CUR), a natural compound, on the ovary and its positive effects on various drug treatments have been shown in the literature. Within the scope of this information, we aimed to see the expression of Akt, pAkt, MAPK and pMAPK PTX and CUR with immunofluorescent markers in our study.

Method: In our study, we used *in vitro* tissue culture, which is a method that is currently used and allows us to the experiment in a controlled environment. Cortical strips obtained from ovarian tissues from six heifers were taken into tissue culture for 6 days by forming 7 experimental groups (Control, DMSO, PTX (0.1 μ M), CUR1 μ g/ml, CUR10 μ g/ml, PTX+CUR 1 μ g/ml, PTX+CUR 10 μ g/ml) in which we aimed to see the effect of PTX and CUR. Results were analyzed with the ImageJ software.

Results: There was no significant difference between the control and DMSO groups in any of our groups. It has been observed that PTX increases Akt and p-Akt expression, does not effect MAPK expression, and decreases p-MAPK expression. As a result of treatment with CUR, we observed that 1 μ g/ml CUR brought Akt expression to the level the control group, 10 μ g/ml CUR increased it, and MAPK expression increased at both CUR doses. We observed that p-Akt and p-MAPK expressions approached the control group at both CUR doses.

Conclusion: As a result of our study, we think that CUR may prevent follicle damage caused by PTX, but more detailed studies are needed to understand the mechanism of action.

Key words: Paclitaxel (PTX), Curcumin (CUR), MAPK, Akt

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
TABLolar DİZİNİ	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
SİMGELER ve KISALTMALAR	viii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Ovaryumun Gelişimi	3
2.2. Ovaryumun Anatomik ve Histolojik Yapısı	5
2.2.1. Folikül Gelişimi	7
2.2.1.1. Primordiyal Foliküller	8
2.2.1.2. Primer Foliküller	8
2.2.1.3. Sekonder (Antral) Folikül	8
2.2.1.4. Graaf (Tersiyer/Olgun) Folikül	9
2.3. Paklitaksel	9
2.4. Kurkumin	11
2.5. Akt Sinyal Yolağı	13

2.6. MAPK Sinyal Yolağı	13
3. GEREÇ ve YÖNTEM	14
3.1 Dokuların Elde Edilmesi	14
3.2. Deney Gruplarının Oluşturulması	15
3.3. İmmünofloresan Yöntemi ve Hematoksilen&Eozin Boyaması	
için Dokuların Hazırlanması	15
3.4. Hematoksilen&Eozin Boyama Yöntemi	16
3.5. İmmünofloresan Yöntemi	16
3.6. İstatistiksel Analiz	17
4. BULGULAR	18
4.1.Ovaryum Korteksinin H&E Boyaması ile Genel Görüntüsü	18
4.2. İmmünofloresan Bulguları	18
4.2.1. Ovaryum Korteksindeki Akt ve p-Akt Ekspresyonu	18
4.2.2. Ovaryum Korteksindeki MAPK ve p-MAPK Ekspresyonu	22
5. TARTIşMA	27
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	31
KAYNAKLAR	33
EKLER	36
ÖZGEÇMİş	38

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 3.1. İmmünofloresan boyamada kullanılan antikorlar ve dilüsyonları



ŞEKİLLER DİZİNİ

- Şekil 2.1.** Kadın Üreme Sistemi
- Şekil 2.2.** Oositlerin Gelişimi
- Şekil 2.3.** Ovaryumun Şematize Edilmiş Histolojik Yapısı
- Şekil 2.4.** Primordiyal Folikül
- Şekil 2.5.** Tek Tabakalı Primer ve Çok tabakalı Primer Folikül
- Şekil 2.6.** Sekonder Folikül
- Şekil 2.7.** Graaf Folikül
- Şekil 2.8.** Paklitakselin Kimyasal Formülü
- Şekil 2.9.** Paklitakselin Etki Mekanizması
- Şekil 2.10.** Kurkuminin Kimyasal Formülü
- Şekil 3.1.** Ovaryum Dokuları
- Şekil 4.1.** Ovaryum Kortikal Şeridi H&E Boyama
- Şekil 4.2.** Ovaryum Korteksindeki Akt Ekspresyonları
- Şekil 4.3.** Ovaryum Korteksindeki Akt Ekspresyonlarının İstatiksel Analizi
- Şekil 4.4.** Ovaryum Korteksindeki p-Akt Ekspresyonları
- Şekil 4.5.** Ovaryum Korteksindeki p-Akt Ekspresyonlarının İstatiksel Analizi
- Şekil 4.6.** Ovaryum Korteksindeki MAPK Ekspresyonları
- Şekil 4.7.** Ovaryum Korteksindeki MAPK Ekspresyonlarının İstatiksel Analizi

Şekil 4.8. Ovaryum Korteksindeki p-MAPK Ekspresyonları

Şekil 4.9. Ovaryum Korteksindeki p-MAPK Ekspresyonlarının İstatiksel Analizi



SİMGELER ve KISALTMALAR

AKT	: Protein Kinaz B
Ab	: Antikor
BSA	: Sığır Serum Albümini
CUR	: Kurkumin
DMSO	: Dimetil Sülfoksit
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
EDTA	: Etilendiamin Tetraasetik Asit
EGFR	: Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü
ERK	: Hücre Dışı Sinyalle Düzenlenen Kinaz
FBS	: Fetal Sığır Serum
FSH	: Folikül Uyarıcı Hormon
GC	: Granüloza Hücresi
GV	: Germinal Vezikül
H&E	: Hematoksilen ve Eozin
H ₂ O ₂	: Hidrojen Peroksit
HEPES	: 4-(2-hidroksietil)-1-Piperazineetansulfonik Asit
MAPK	: Mitojenle Aktive Olan Protein Kinaz
MI	: Metafaz I
MII	: Metafaz II
mTOR	: Rapamisin Protein Kompleksinin Memeli Hedefi
NF- κ B	: Nükleer Faktör Kappa B
p-Akt	: Fosforile Protein Kinaz B

PBS	: Fosfat Tampon Solüsyonu
p-MAPK	: Fosforile Mitojenle Aktive Olan Protein Kinaz
PTX	: Paklitaksel
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
TNF- α	: Tümör Nekroz Faktörü Alfa
μg	: Mikrogram
μM	: Mikromolar

1. GİRİŞ

Kanser, yılda 10 milyondan fazla ölüm prevelansı ile tüm gelir seviyelerindeki ülkeler için önde gelen ölüm nedenlerindendir. Onkolojik tedavilerdeki gelişmeler kanser hastalarının sağkalım oranlarını iyileştirmiş olsa da tedavileri tamamlandıktan sonra birçok hastanın, doğurganlığın azalması gibi yan etkiler nedeniyle yaşam kalitesini düşürmüştür (Armstrong ve ark., 2015) (Dolmans ve ark., 2019). Kadınlarda adölesan ve reproduktif dönemde görülen kanser vakalarının hızla artmasıyla kemoterapötik ajanların fertilite üzerine olumsuz etkileri de gündeme gelmektedir. Kemoterapi ilaçları ovaryumlarda farklı mekanizmalarla hareket eder. Kemoterapinin neden olduğu apoptoz ve ardından primordiyal folikül oositlerinde oluşan DNA hasarı, ovaryum rezervinin geri döndürülemez düşüşünden sorumlu ana mekanizma olarak kabul edilmektedir (G. M. Bedoschi ve ark., 2019).

Farklı kanser türlerinden dolayı kemoterapötik ajanlara maruz kalan kadınlarda, ovaryum üzerindeki olumsuz etkiler nedeniyle fertilite problemleri literatürde defalarca gösterilmiştir. Kemoterapi rejimlerinin üreme çağında kanser teşhisi almış kadınların ovaryumları üzerindeki klinik etkisinin ana belirleyicileri, hastanın yaşı, kullanılan kemoterapötik ajanların dozu, tipi ve tedavi öncesi ovaryum rezervi ile ilgilidir. Bu faktörlerin her biri, kalan sağlıklı primordiyal folikül rezervini ve kemoterapinin neden olduğu ovaryum hasarının boyutunu belirlemektedir. (G. M. Bedoschi ve ark., 2019).

Paklitaksel (PTX), uzun yıllardır birçok kanser türünün tedavisinde kullanılan son yirmi yılda kemoterapide en önemli ilerleme olarak kabul edilen tanımlanmış ilk mikrotübül stabilize edici ajandır (Alqahtani ve ark., 2019). PTX, meme kanseri, endometriyal kanser, küçük hücreli olmayan akciğer kanseri, mesane kanseri ve rahim ağzı kanseri dahil olmak üzere çeşitli kanserlerde geniş aktiviteye sahip en yaygın kullanılan antineoplastik ajanlardan biri olarak kabul edilir. Aynı zamanda AIDS ile ilişkili Kaposi sarkomunun ikinci basamak tedavisi için de kullanılır. PTX bazlı tedavi rejiminin klinik etkinliği ve yararlılığı, doz sınırlayıcı toksisite ve ilaç direncinin indüklenmesi nedeniyle hala sınırlıdır. Sistemik toksik etkileri (miyelotoksisite, nörotoksisite ve tümör direnci), klinik uygulanmasını sınırlayan

ciddi yan etkilere neden olur (Dhanasekaran, 2019). Bu özelliklerine rağmen PTX, klinikte yaygın olarak kullanılmaya devam etmektedir.

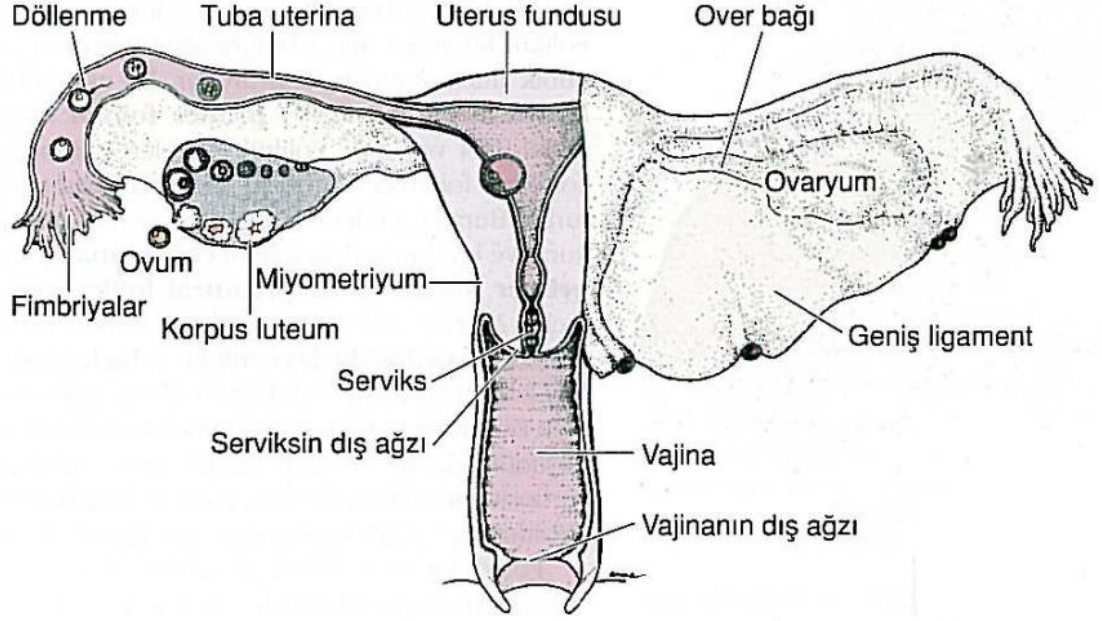
Bu gibi etkiler düşünüldüğünde, kanser gibi hastalıklarda tedavilerin doğal bileşiklerle kombinasyonunun, ilaç tedavisinin etkinliğini artırmasının yanısıra olumsuz sonuçları azaltması muhtemeldir (Tan ve Norhaizan, 2019). *Curcuma longa*'dan izole edilen bir polifenol olan kurkuminin (CUR), *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarla, birçok farmakolojik aktiviteyi daha az toksik etki ile sağladığı gösterilmiştir. CUR, ilgi gören bir antioksidan olmakla birlikte, önemli bir anti-inflamatuvar, immünomodülatör, anti-tümöral, antipsoriatik ve yara iyileştirici özelliklere sahip bir bileşiktir (Kilinc ve Uz, 2021). CUR'nin anları üzerindeki koruyucu etkilerinin farklı deney modelleri ile de test edilip, daha yaygın ve optimal kullanım olasılıklarının araştırması gerekmektedir.

1.1. Çalışmanın Hipotezi: Sığır ovaryum folikül kültüründe, kemoterapötik ajan PTX'in folikül gelişimine olumsuz etkileri, kurkumin takviyesi ile azaltılabilir.

1.2. Çalışmanın Amacı: Çalışmamızı, PTX'in dişi sığır ovaryumu üzerinde yarattığı olumsuz etkileri kurkuminin nasıl etkileyeceğini görmek üzerine tasarladık.

2. GENEL BİLGİLER

İnsanda dişi üreme sistemi, bir çift ovaryum, iletim kanalı görevini sağlayan bir çift tuba uterina (oviduktlar) ve tek bir uterustan oluşur. Uterusun altında ve serviks ile ayrılmış vajina bulunur.



Şekil 2.1. Kadın üreme sistemi. İlgili kaynaktan (Eroschenko ve Di Fiore, 2013) değiştirilerek alınmıştır.

Üreme çağına başlamasıyla birlikte, kadın iç üreme organları hem yapı hem de işlev açısından döngüsel aylık değişiklikler sergiler. Cinsel olarak olgunlaşan bir bireyin ilk adet döngüsüne menarş denir. Ergenlik çağından başlayarak bireyin üreme hayatı boyunca ovaryumlar ortalama 28 günde bir düzenli bir döngüye girer ve bu süreçte yapısal ve işlevsel değişiklikler gösterirler. Bu değişiklikler hormonlar tarafından kontrol edilir. İlerleyen yaşla birlikte görülen menopoz nedeniyle adet döngüleri düzensiz hale gelir ve sonunda tamamen durur (Eroschenko ve Di Fiore, 2013).

2.1. Ovaryumun Gelişimi

Ovaryum, yetişkin insan dokuları arasında, yapısında ve işlevinde belirgin değişikliklere maruz kalan, dinamik bir organdır (Gargiulo, 2017).

Gonadal farklılaşma, farklılaşmamış iki potansiyelli bir gonad ile başlayan ve bunun bir testis veya ovaryuma dönüşmesiyle sona eren süreçtir. İnsan gebeliğinin ilk iki ayında cinsiyet fenotipik olarak (XX veya XY) belli olmaz ve iki cinsiyet de aynı şekilde gelişir.

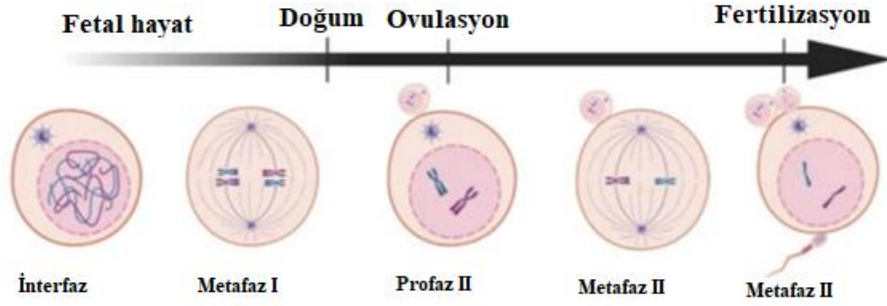
Gonadlar üç kaynaktan köken alarak gelişirler (Moore ve ark., 2018):

1. Posterior abdominal duvarı döşeyen sölom epiteli
2. Altında uzanan mezenşim (embriyonik bağ dokusu)
3. Primordiyal germ hücreleri (PGH)

Beşinci haftada, mezonefrozun medialinde başlayan gonadal gelişim, sölom epitelinin proliferasyonu ve alttaki mezenşimin yoğunlaşmasıyla birlikte uzunluğuna iki adet gonadal ya da genital kabartı (sırt) oluşmasıyla devam eder (Şeftalioğlu, 1998). Embriyonik gelişim sırasında, primordiyal germ hücreleri vitellus kesesinden göç eder ve embriyonik gonadal sırtlarda kolonize olurlar. Spesifik genler, gonadal primordiyum oluşumu ile döllenme sonrası gelişimin beşinci haftasında başlayan gonadal farklılaşmayı indükler (Kierszenbaum ve Tres, 2015). Fenotipik aşama, gonadal farklılaşmaya yanıt olarak indüklenir; iç genital sistem ve dış genital organlar, karakteristik erkek veya dişiye özgü yapılara dönüşür (Makiyan, 2016). Altıncı hafta genital kabartıda germ hücreleri görülmeye başlar. Gonadal gelişim dişilerde yavaş gerçekleşmektedir. Gelişimin 10. haftasına kadar ovaryumlar histolojik olarak ayırt edilemez (Moore ve ark., 2018).

Genetik olarak XX kromozomu taşıyan gonadlarına ulaşan PGH'leri, oogonyaya farklılaşırlar. Bir dizi mitotik bölünmeyle birlikte 3. ayın sonunda, yassı epitelyal hücrelerden oluşan bir tabaka ile çevrelenerek oogonyaya farklılaşırlar. Gebeliğin beşinci haftasında, bir dişi fetüsün ovaryumu yaklaşık 500 ile 1300 germ hücresi içerir. PGH'ler mitoz geçirir ve gebeliğin yirminci haftasında dişi fetüs yaklaşık 6 ile 7 milyon germ hücresine sahiptir (Cox ve Takov, 2022). Üçüncü aydan itibaren oogonyumlar birinci mayoz bölünmenin profaz evresine girmeye başlarlar ve bunların çoğu tek katlı yassı epitelyal hücreler ile çevrelenmişlerdir (Junqueira ve ark., 1993). Primer oosit profaz evresinde duraklar ve bu puberteye kadar devam eder. Bu duraksama oositi çevreleyen

folikül hücrelerinden salgılanan oosit maturasyon inhibitör (OMI) maddesi tarafından sağlanmaktadır.



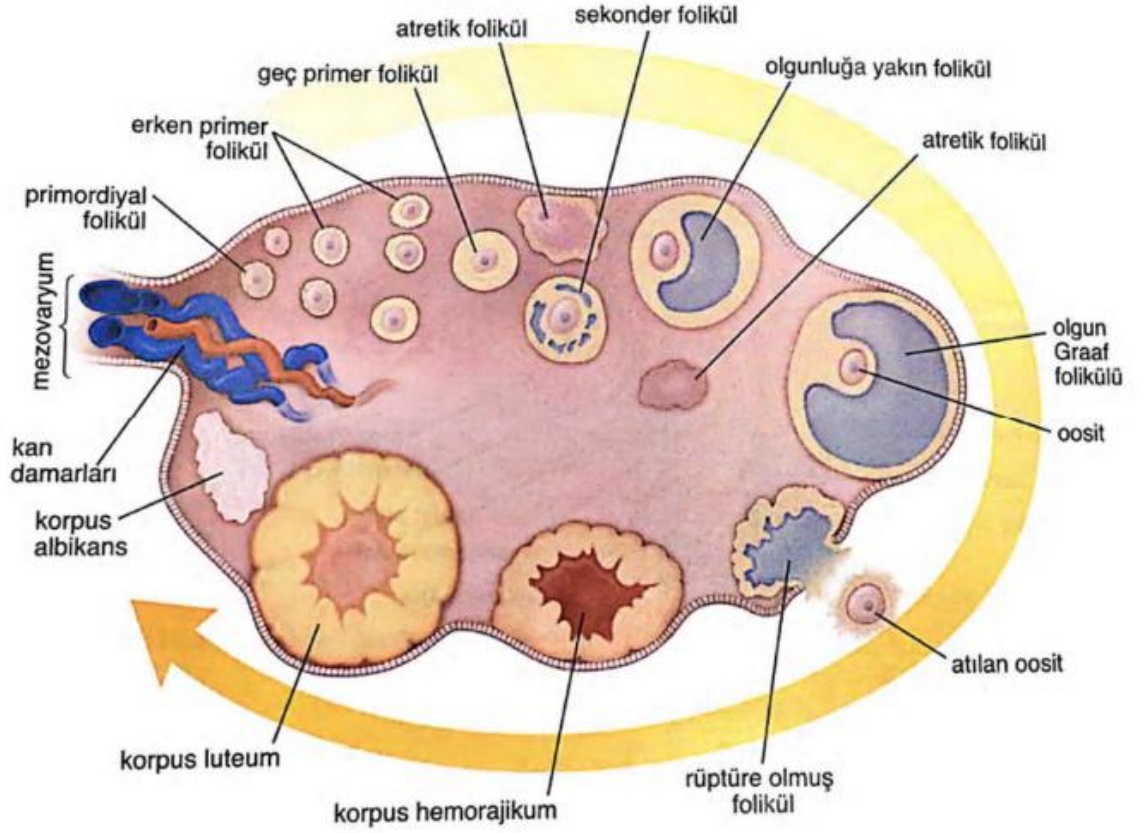
Şekil 2.2. Oositlerin gelişimi. Oositler gelişimleri boyunca iki kez tutulumu uğrarlar. (Estienne ve ark., 2020)

Pubertede ovaryumlarda profaz aşamasında bekleyen primer oositin boyutları artar ve birinci mayoz bölünmesini tamamlar. Ancak, sitoplazma eşit olarak bölünmez ve oluşan sekonder oosit yaklaşık olarak bütün sitoplazmayı alırken birinci kutup cisimciğine ise çok az miktarda sitoplazma kalır ve kısa süre içinde dejenere olur. Ovulasyondan sonra sekonder oosit ikinci mayoz bölünmeye girer, ama bölünme sadece metafaza kadar ilerler ve bu aşamada spermi bekler. Eğer bir sperm sekonder oositin içine girse, ikinci mayoz bölünme tamamlanır ve yine sitoplazmanın çoğu bir hücreye, fertilize olmuş oosite geçer. Daha az sitoplazmaya sahip olan hücre (ikinci kutup cisimciği) kısa sürede dejenere olur.

2.2. Ovaryumun Anatomik ve Histolojik Yapısı

Ovaryumlar, pelvik boşlukta yerleşim gösteren oval görünümlü, pembemsi beyaz renkli, yaklaşık 3 cm boyunda, 1,5 cm eninde ve 1 cm kalınlığında yapılardır. Her ovaryum, mezovaryum denen periton katlantısı tarafından broad ligamentin posteriyor yüzeyine bağlanır. Ovaryumun süperiyor (ya da tubal) kutbu, ovaryumun sinirlerini ve damarlarını taşıyan suspensor ligament tarafından pelvis duvarına bağlanır. Ovaryumun inferiyor (ya da uterin) kutbu ise ovaryum ligamenti tarafından uterusu bağlanır (Ross ve Pawlina, 2006). Her ovaryum, basit bir skuamöz ile alçak küboidal epitel olan germinal epitel ve bunun altındaki yoğun, düzensiz bir bağ dokusu tabakası olan tunika albuginea ile kaplanmıştır (Kierszenbaum ve Tres, 2015). Yüzey epitelinin altında konumlanan

tunika albuginea, ovaryum için koruyucu bir tabaka görevi gören ince ve az hücreli bir bağ doku kılıfıdır (Kinneer ve ark., 2020). Tunika albuginea'nın altında ovaryum korteksi yer almaktadır. Ovaryum folikülleri, korteksin bağ dokusunda bulunurlar (Eroschenko ve Di Fiore, 2013). Foliküller, ovaryumun ana endokrin ve üreme bölümleridir ve sağlıkları ve sayıları hem üreme potansiyelini hem de üreme ömrünü belirler (Strauss III ve Williams, 2019). Korteksin derinliklerinde bağ dokusu, interstisyel hücreler, sinirler, lenfatikler ve hilum yoluyla ovaryuma ulaşan kan damarlarından oluşan medulla kısmı bulunur. Korteks ile medulla arasında belirgin bir sınır bulunmamaktadır (Şekil 2.3.).



Şekil 2.3. Ovaryumun şematize edilmiş histolojik yapısı. İlgili kaynaktan (Ross ve Pawlina, 2006) değiştirilerek alınmıştır.

Ovaryum, dişi gamet üretimi, östrojen ve progesteronun (steroid hormonları) salgılanması, üreme organlarının doğum sonrası büyümesinin düzenlenmesi ve ikincil eşeyssel özelliklerin gelişiminden sorumludur (Kierszenbaum ve Tres, 2015).

2.2.1. Folikül Gelişimi

Ovaryum döngüsünün; foliküler faz, ovulasyon fazı ve luteal faz olmak üzere üç aşaması vardır.

Foliküller, ovaryumun işlevsel birimleridir; her bir folikül, granüloza hücreleri (GC'leri) olarak adlandırılan bir veya daha fazla somatik hücre tabakasıyla çevrili bir oositten oluşur (Oktem ve Oktay, 2008). İnsan folikülogenezi, oosit olgunlaşması ile komşu GC'lerinin çoğalması arasındaki senkronizasyona dayanan, oldukça karmaşık, iyi düzenlenmiş bir süreçtir (Zhang ve ark., 2018).

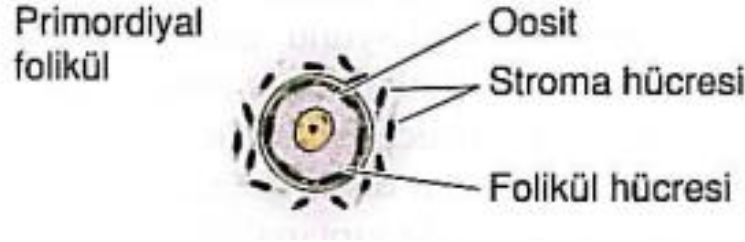
Foliküler faz, birkaç primordiyal folikülün normal olarak ovulasyon için seçilerek bir antral, preovulatar veya Graaf foliküle dönüşmesini içerir. Büyümeye başladıktan sonra, primordiyal oositleri çevreleyen tek bir düzleştirilmiş GC tabakası ile aktive olan primordiyal foliküller birincil, ikincil ve sonunda antral foliküllere dönüşür (Hsueh ve ark., 2015). Primordiyal foliküllerin toplanmasından preovulatar bir Graaf folikülünün gelişimine kadar geçen zaman aralığı ortalama 3 ile 6 aydır. Bu süre zarfında foliküller, folikül uyarıcı hormon (FSH), östrojen ve androjen reseptörleri ve Gcleriyle etkileşir ve primer oositler, ara bağlantılar ile fonksiyonel olarak birbirlerine bağlanır (Kierszenbaum ve Tres, 2015).

Folikülleri, histolojik olarak gelişim evrelerine göre:

1. Primordiyal foliküller
2. Primer folüküller
 - Tek tabakalı (Unilaminar)
 - Çok tabakalı (Multilaminar)
3. Sekonder (Antral) folikül
4. Graaf (Tersiyer/Olgun) folikül

olarak sınıflandırmak mümkündür.

2.2.1.1. Primordiyal Foliküller

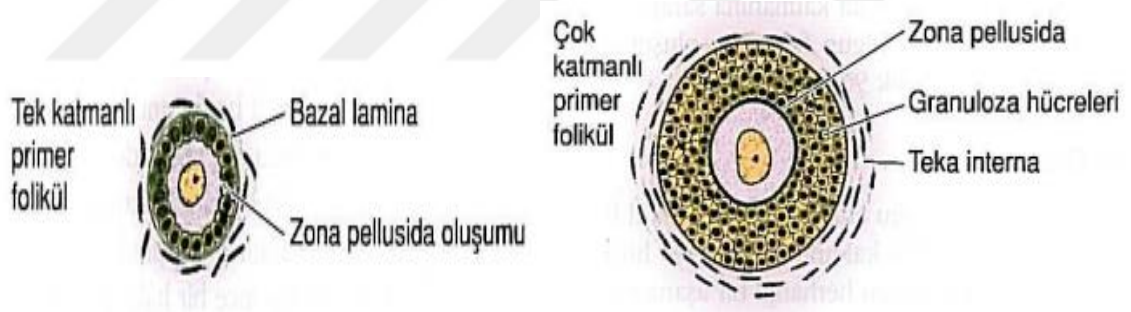


Şekil 2.4. Primordiyal Folikül. İlgili kaynaktan (Junqueira ve ark., 1993) değiştirilerek alınmıştır.

Primordiyal foliküller, ovaryum rezervini temsil eden, folikül gelişiminin en erken aşamasında dinlenme halindeki hareketsiz foliküllerdir (Oktem ve Oktay, 2008). Çapları yaklaşık 25 µm kadardır ve oositin etrafını tek tabakalı yassı epitel ile çevrenmiştir.

2.2.1.2. Primer Foliküller

Dinlenme evresinden ayrılan primordiyal foliküllere primer foliküller denir.

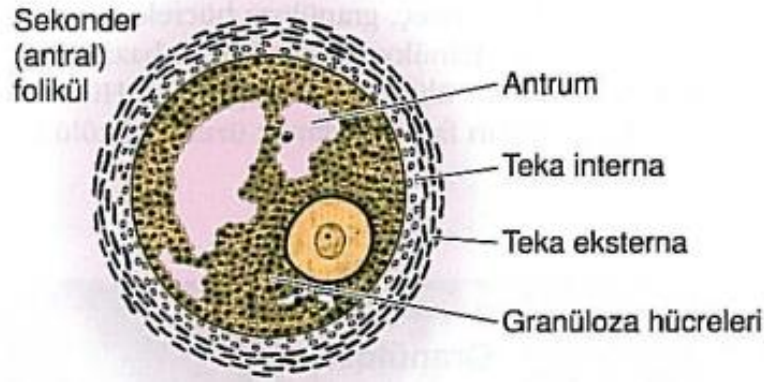


Şekil 2.5. Tek Katlı Primer ve Çok Katlı Primer Folikül. İlgili kaynaktan (Junqueira ve ark., 1993) değiştirilerek alınmıştır.

Daha büyük oositlere sahip tek bir küboidal granüloza hücre tabakası ile karakterize edilen primer foliküller, büyüyen folikül havuzuna alınır (Oktem ve Oktay, 2008).

2.2.1.3. Sekonder (Antral) Folikül

Çok katmanlı granüloza hücrelerine sahip, antrum içermesiyle karakterize bir foliküldür (Oktem ve Oktay, 2008).

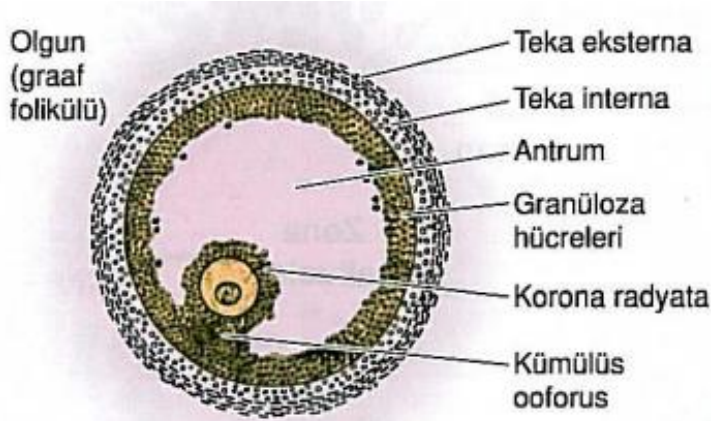


Şekil 2.6. Sekonder Folikül. İlgili kaynaktan (Junqueira ve ark., 1993) değiştirilerek alınmıştır.

Folikül olgunlaştıkça, antrum boyut olarak artar.

2.2.1.4. Graaf (Tersiyer/Olgun) Folikül

Oosit tamamen oluşmuş bir zona pellusida ve birkaç kat kumulus hücresi ile çevrilidir. Foliküler sıvı birikerek büyük bir antrum oluşturur. Mural granüloza hücreleri ve teka interna tabakası iyi tanımlanmıştır (Strauss III ve Williams, 2019).



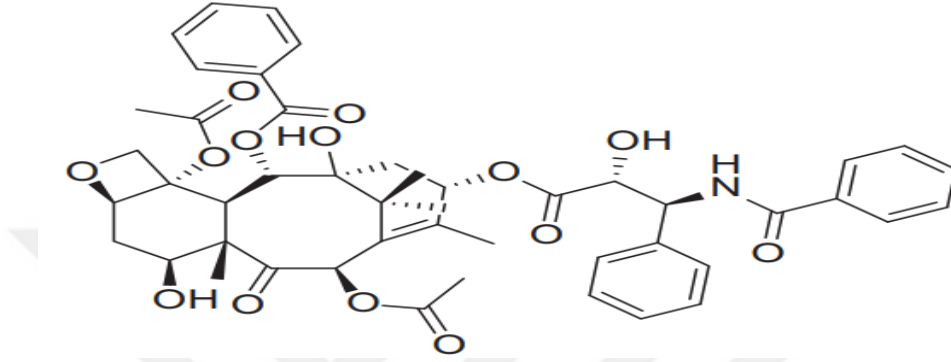
Şekil 2.7. Graaf Folikül. İlgili kaynaktan (Junqueira ve ark., 1993) değiştirilerek alınmıştır.

Büyüme fazının tamamlanmasının ardından artık Graaf folikülü ovulasyon için hazırdır.

2.3. Paklitaksel

Kemoterapötik ajanlar beş kategoriye ayrılabilir: alkilleyici ajanlar, antitümör antibiyotikler, platin bazlı ilaçlar, antimetabolitler ve taksanlar (Sonigo ve ark., 2019).

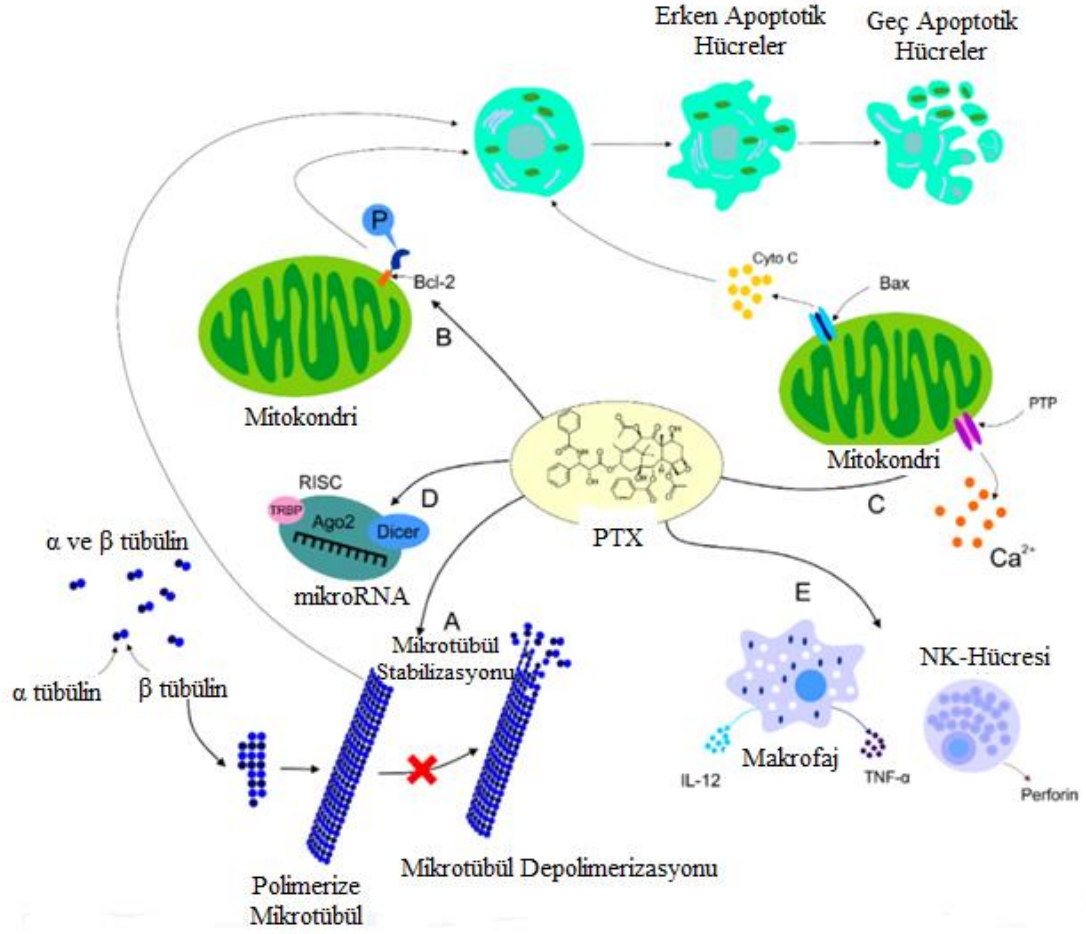
Paklitaksel (PTX), son yirmi yılda kemoterapide en önemli ilerleme olarak kabul edilen ve taksan grubunda yer alan bir kemoterapötiktir (Fratantonio ve ark., 2019). Bu ajan, *Taxus brevifolia*'dan izole edilmiş bir trisiklik diterpenoiddir (Ashrafizadeh ve ark., 2020).



Şekil 2.8. Paklitakselin kimyasal formülü (Alqahtani ve ark., 2019)

PTX, hücresel mitoz inhibitörü olarak hareket eden bir antimikrotübül ajandır ("Paclitaxel," 2012). Şu anda ilerlemiş ovaryum karsinomu için birinci basamak tedavisi olmakla birlikte, meme ve akciğer kanseri ve ilerlemiş küçük hücreli akciğer kanseri ve AIDS ile ilişkili Kaposi sarkomunun tedavisinde kullanılmaktadır (M. C. Farrar ve Jacobs, 2022).

PTX'in etki mekanizması, mikrotübüllerin protein bileşeni olan tübülün dimerlerinin etkisini artırarak mevcut mikrotübülleri stabilize etmesine dayanmaktadır (Ntemou ve ark., 2022). Mikrotübüllerin stabilitesi nedeniyle hücre, geç G2 fazında durur ve hücre bölünmesi engellenerek hücre ölümü meydana gelir (Şekil 2.9). Paklitaksel ayrıca, mitotik içcikleri bozarak kromozom kırıklarına neden olur (Maela C Farrar ve Jacobs, 2019).



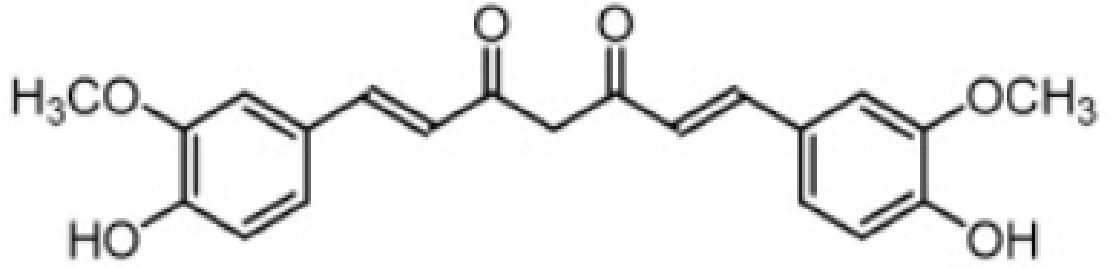
Şekil 2.9. Paklitakselin etki mekanizması. PTX, mikrotübüllerin protein bileşenleri olan tübülün dimerlerinin etkisini artırarak mevcut mikrotübülleri stabilize eder (A). PTX'in Bcl-2'yi inaktive etme yeteneği, apoptozla sonuçlanır (B). Kalsiyum sinyalinin PTX tarafından düzenlenmesi, mitokondriden PTX kaynaklı sito C salınımı ve programlanmış hücre ölümü ile sonuçlanır (C). PTX, tümör ilerlemesinin modülasyonu ile ilişkili belirli miRNA'ların düzenlenmesine katılım gösterir (D). PTX, tümörün ortadan kaldırılmasına katkıda bulunan bağışıklık yanıtının aktivasyonuna neden olur (E). İlgili kaynaktan (Abu Samaan ve ark., 2019) değiştirilerek alınmıştır.

PTX ile muamele edilmiş hücrelerde, sinyal moleküllerinin ve çeşitli genlerin transkripsiyonel aktivasyonunda meydana gelen değişimler, PTX'in çoklu mekanizmalar yoluyla apoptozu başlattığını gösterir. Bu mekanizmalar, PTX kaynaklı primordiyal folikül hasarını açıklayabilir (Yucebilgin ve ark., 2004).

2.4. Kurkumin

Sekonder metabolitler içeren doğal ürünler, kanser tedavisi için ikna edici aday bileşikler olarak ortaya çıkmıştır.

Kurkumin (CUR), *Curcuma longa*'dan izole edilen bir polifenoldür ve *Zingiberaceae* ailesi bitkilerinin köksapında bulunur. *In vitro* ve *in vivo* çalışmalarla, kurkuminin birçok farmakolojik aktiviteyi daha az toksik etki ile sağladığı gösterilmiştir (Tan ve Norhaizan, 2019). Pro-apoptotik, anti-proliferatif, antioksidan ve anti-anjiyojenik özellikleri nedeniyle, CUR, kanser ve diğer bozuklukların tedavisinde potansiyel olarak yararlı bir ajan olarak incelenmiştir (Tiwari-Pandey ve Ram Sairam, 2009, Vallianou ve ark., 2015, Nayak ve ark., 2016)



Şekil 2.10. Kurkuminin kimyasal formülü (Kotha ve Luthria, 2019)

CUR, NF- κ B ve MAPK yollarının inhibisyonu yoluyla TNF- α ile muamele edilmiş HaCaT hücrelerinde (Hücre kültüründe kullanılan ölümsüzleştirilmiş keratinosit hücre hattı) anti-inflamatuar ve büyümeyi inhibe edici etkiler gösterir (Cho ve ark., 2007). CUR'nin kemoprotektif özellikleri de kapsamlı bir şekilde araştırılmıştır ve antiinflamatuar (Nonn ve ark., 2007) ve antioksidan aktiviteleri (Piper ve ark., 1998) ile bağlantılıdır. Ayrıca CUR, iNOS'un ekspresyonunu inhibe etme potansiyeline sahiptir (Camacho-Barquero ve ark., 2007) (İlbey ve ark., 2009). CUR'in kanser hücrelerinde apoptozun uyarılmasındaki etkilerinin, fosfatidilinositol 3 kinaz (PI3K)/Akt sinyal yolunun alt basamaklarının regülasyonu ile ilişkili olduğu görülmektedir (Ashrafizadeh ve ark., 2020).

Araştırmalar, PI3K/Akt/mTOR yolunun, akciğer kanseri hücreleri de dahil olmak üzere kanser hücrelerinde hücre sağkalımını/ölümünü kontrol etmedeki kritik rolü göz önüne alındığında, CUR'in PI3K/Akt/mTOR sinyal yolunun inhibisyonu aracılığıyla hem apoptozu hem de otofajiyi önemli ölçüde indükleyebileceğini ortaya koymuştur. (Liu ve ark., 2018).

2.5. Akt Sinyal Yolağı

PI3K/Akt/mTOR sinyal yolağı hücre proliferasyonu, hücre metabolizması, anjiyogenez, hücre döngüsü, apoptoz ve otofaji mekanizmalarında önemli roller oynamakta ve çeşitli kanser türlerinde kanser patogeneze ve tedaviye karşı direnç gelişmesine neden olan ana hayatta kalma yollarından birini temsil etmektedir (Liu ve ark., 2018).

Memeli ovaryumunda, PI3K/Akt/mTOR yolu, tanımlanan birden fazla aktivatör ve baskılayıcı ile primordiyal folikül aktivasyonunun düzenlenmesi için gereklidir (Zhang & Liu, 2015). Ovaryumlarda Akt, PI3K/Akt/mTOR yolunda belirgin bir kinazdır ve hem oositlerde hem de insan foliküllerinin granüloza hücrelerinde eksprese edilir (Goto ve ark., 2007, Mclaughlin ve ark., 2014) (Ford ve ark., 2020).

Ovaryumların PTEN inhibitörleri ve PI3K uyarıcıları ile inkübasyonu, FOXO3'ün nükleustan çıkışını teşvik etmek için oosit, Akt aktivitesini artırarak uyuyan primordial folikülleri aktive eder. Böylece primordial folikül büyümesinin baskılanmasını önler (Hsueh ve ark., 2015).

2.6. MAPK Sinyal Yolağı

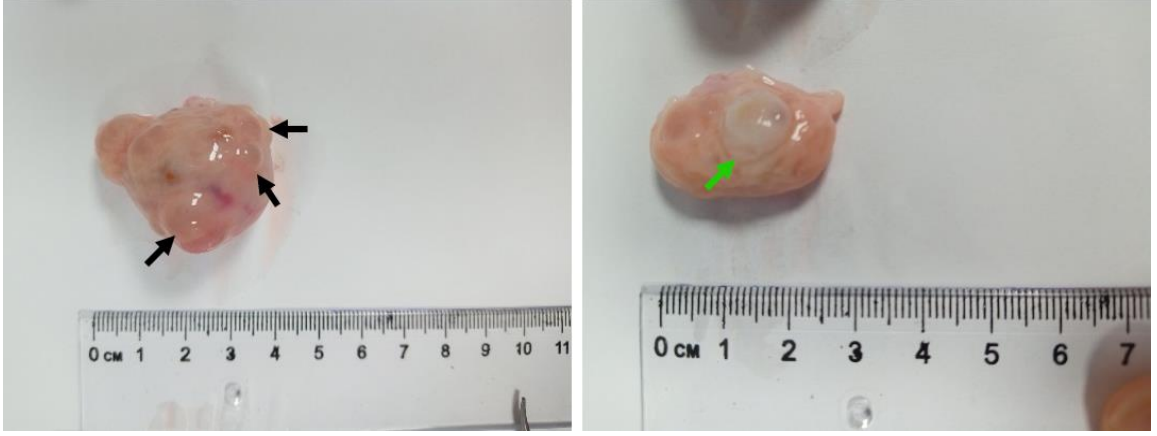
Mitojenle aktive olan protein kinazlar (MAPK'ler), çevresel uyaranları çekirdeğe ileten prolin hedefli serin-treonin kinazlardır (Haddad, 2004).

MAPK'nın MAPK3 (p44ERK1) ve MAPK1 (p42ERK2) izoformları memeli oositlerinde bulunur ve bu kinazların mayotik olgunlaşma sırasında aktive olduğu gösterilmiştir. MAPK'nın, primordiyal ve sekonder foliküllerin büyümesini indüklemek için epidermal büyüme faktörü/epidermal büyüme faktör reseptörü (EGF/EGFR) tarafından arttırdığı gösterilmiştir (Tepekoy ve Akkoyunlu, 2016).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Dokuların Elde Edilmesi

Mezbahada (ANET, Antalya Entegre Et Sanayi ve Ticaret A.Ş., Antalya Organize Sanayi Bölgesi, Yeniköy, Antalya) veteriner hekim kontrolü altında kesimi yapılan, çiftleşmemiş, sağlıklı düvelerden elde edilen ovaryumlar, %70 etanol ile hızlıca yıkanıp, amfoterisin B (2,5 mg/ml), piruvik asit (25 mg/ml), penisilin G (75 mg/ml) ve streptomisin (50 mg/ml) destekli, HEPES içeren M199 medyumuna içerisinde hızla laboratuvara aktarılmıştır.



Şekil 3.1: Ovaryum Dokuları. Mezbahadan alınan aynı düveye ait sağ ve sol ovaryum dokularında Graaf folikülleri (siyah oklar) ve korpus luteum (yeşil ok) makroskopik olarak izlenmektedir.

Laboratuvara getirilen ovaryumların diseksiyonu, laminar flow kabini içerisinde steril koşullar altında gerçekleştirilmiştir. Diseksiyon için sodyum piruvat (2 mM), glutamin (2 mM), BSA (FraksiyonV, 3 mg/ml), penisilin G (75 mg/ml) ve streptomisin (50 mg/ml) destekli Leibovitz medyumunu kullanılmıştır. Ovaryumun primordiyal, primer ve geçiş foliküllerini içerdiği düşünülen kortikal kısımları bir bistüri yardımıyla yüzeye paralel olarak alınarak, bu kısımlar 3×3×1 mm’lik şeritler halinde kesilmiştir (Tepekoy ve Akkoyunlu, 2016).

Elde edilen kortikal ovaryum doku şeritleri 6 kuyucuklu plaklar içerisinde kültüre edilmiştir. Kültüre edilen dokuların fiksasyonu için Bouine’nin fiksatif kullanılmıştır. Fiksasyonun ardından rutin parafin doku takibi gerçekleştirilmiştir (Akkoyunlu ve Tepekoy, 2016). Kültüre edilecek fragmanlar için kültür medyumuna HEPES (20

mM;), glutamin (3 mM), BSA (FraksiyonV %0.1), penisilin G (0.1 mg/ml), streptomisin (0.1 mg/ml), transferin (2.5 mg/ml), selenyum (4 ng/ml), insulin (10 ng/ml) ve askorbik asit (50 mg/ml) destekli McCoy's 5a medyumu kullanılmıştır.

3.2. Deney Gruplarının Oluşturulması

Projemizde elde edilen ve kültür ortamına alınmaya hazır hale getirilen ovaryum kortikal doku şeritleri:

1. Kontrol grubu: Sadece kültür medyumu (McCoy's 5a) kullanılan grup
2. DMSO grubu: Kültür medyumuna PTX ve CUR'nin çözünmesinde kullanılan DMSO'nun eklendiği grup
3. Kemoterapötik ajan olarak kullanacağımız 0,1 μ M PTX'in eklendiği grup (Guerreiro ve ark., 2020)
4. 1 μ g/ml CUR ile muamele ettiğimiz grup (Kadasi ve ark., 2017)
5. 10 μ g/ml CUR ile muamele ettiğimiz grup (Kadasi ve ark., 2017)
6. 0,1 μ M PTX ve 1 μ g/ml CUR eklediğimiz grup
7. 0,1 μ M PTX ve 10 μ g/ml CUR eklediğimiz grup

olmak üzere 7 gruba ayrılmıştır.

Dokular 6 gün boyunca her iki günde bir laminar flow kabin içerisinde medyumları değiştirilerek, 37 °C'de, %5 CO₂ içeren nemli ortamda kültüre edilmiştir.

3.3. İmmünofloresan Yöntemi ve Hematoksilen&Eozin Boyaması için Dokuların Hazırlanması

Dokular immünofloresan ve hematoksilen&eozin boyamaları için rutin histolojik doku takibi işlemlerine tabi tutulmuştur.

Öncelikle kültürden hemen sonra 3 saat boyunca Bouine'nin fiksatif ile dokular fikse edilmiştir. Ardından sırasıyla %50, %60, %70, %80 ve %90 oranlarında artan alkol serisinin her birinde 24 saat bekletilmiştir. Son olarak %100'lük alkolde 3 saat bekletilerek dehidrasyon aşaması tamamlanmıştır. Ardından ksilol içerisinde birkaç saniye bekletilerek şeffaflaştırılması yapılan dokular 58 °C'lik etüvde toplamda 3 saat olmak üzere birer saat parafinize edilmiş ve en sonunda da temiz parafine gömülerek oda ısısında parafinin donması beklenmiş ve dokular kesit alma işlemi için uygun hale getirilmiştir.

Tüm gruplardan süperfrost lamalar üzerine 5 µm kalınlığında kesitler alınmış ve bu kesitler gece boyu 60 °C'lik etüvde bekletilmiştir. Sonrasında deparafinizasyon için 2 kez 10'ar dakika ksilolden geçirilmiş ve devamında sırasıyla %100, %90, %80, %70'lik alkol serisinden ve son olarak distile sudan geçirilerek hidrate edilmiştir.

3.4. Hematoksilen&Eozin Boyama Yöntemi

Hidrate edilen kesitler yaklaşık 1 dakika Hematoksilen ile muamele edilip hemen akan su ile yıkanmış ve ardından 10 saniye eozin ile boyanıp tekrar sudan geçirilmiştir. Boyanan kesitler sırasıyla %70, %80 ve %90'lık alkol serisinde birkaç saniye tutularak geçirilip %100'lük alkolde 5 dakika bekletilmiştir. 2x10 dakika ksilol serisinden geçirilen kesitler Entellanla hava almayacak şekilde kapatılarak ışık mikroskopunda görüntülenmeye hazır hale getirilmiştir.

3.5. İmmünofloresan Yöntemi

Etüvlenip hidrate edilen kesitler, Tris-EDTA (pH: 9) Tween-20'li çözeltiye alınıp mikrodalga fırında 7 dakika 750 W'ta kaynatılarak 20 dakika oda sıcaklığında soğumaya bırakılmıştır. Soğumanın ardından 3x5 kez PBS'le yıkama işlemi yapılmış ve dokuların etrafı hidrofobik kalemle çizilerek 7 dakika UV blok uygulanmıştır.

Tablo 3.1. İmmünofloresan boyamada kullanılan antikorlar ve dilüsyonları

Primer Antikorlar	Dilüsyon	Sekonder Antikor	Dilüsyon
Akt Tavşan Ab (Antikor) Cell Signaling 9272S	1/200	Eşek anti-Tavşan FITC (Santa Cruz-2090)	1/400
P-Akt Tavşan Ab Cell Signaling 9271L	1/200	Eşek anti-Tavşan FITC (Santa Cruz -2090)	1/400
p44/42 MAPK (Erk1/2) Tavşan mAb (monoklonal Antikor) Cell Signaling 137F5	1/500	Eşek anti-Tavşan FITC (Santa Cruz -2090)	1/400
P-p44/42 MAPK Tavşan mAb Cell Signaling 4370L	1/400	Eşek anti-Tavşan FITC (Santa Cruz -2090)	1/400

Akt, p44/42 MAPK (Erk1/2) ve bunların fosforile formu olan primer antikorlar dokuların üzerine damlatılarak dokular gece boyu +4 °C'de bekletilmiştir. Ertesi gün 3x5 PBS ile yıkama işlemi, ardından sekonder antikorla (Eşek anti-Tavşan IgG-FITC (Sc-2090)) oda sıcaklığında 1 saat muamele ve yeniden 3x5 PBS ile yıkama işlemi yapılan

dokular DAPI'li kapatma medyumuyla kapatılıp 5 dakika kadar beklendikten sonra immünofloresan mikroskobuyla incelenmeye hazır hale getirilmiştir. İmmünofloresan kesitlerde foliküllerdeki immunoreaktivite alanları seçilerek floresan siddetleri değerlendirilmiştir.

Tüm immün boyama deneyleri aynı koşullar altında yapılmıştır. Floresan sinyalleri, 400X büyütmede (Olympus BX61, Tokyo, Japonya) floresan mikroskobu kullanılarak tespit edilmiştir. Tüm deneyler en az üç kez tekrar edilmiştir. Daha sonra görüntüler ImageJ yazılımı ile analiz edilmiştir.

3.6. İstatistiksel Analiz

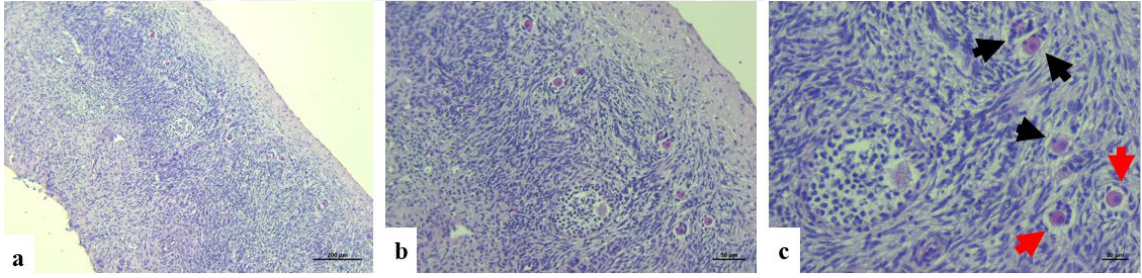
Elde edilen görüntülerdeki ekspresyon şiddetleri ImageJ yazılımı ile analiz edildikten sonra, GraphPad Prism 5 programı kullanılarak tek yönlü ANOVA ve Newman-Keuls post hoc testi ile analiz edilmiştir. Tüm testler için $P < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Bu çalışmada, taksan grubuna ait bir kemoterapötik ajan olan PTX'in, ovaryum dokusundaki primordiyal ve primer oositler üzerindeki etkisi ve bu etkiyi kurkuminin Akt ve MAPK sinyal yolları ve bunların fosforilasyonu üzerinden nasıl değiştirdiği incelenmiştir.

4.1.Ovaryum Korteksinin H&E Boyaması ile Genel Görüntüsü

Çalışmamızda, sığır ovaryum dokularından aldığımız kortikal şeritlerin genel durumunu ve immünofloresan boyama için uygunluğunu değerlendirmek amacıyla öncelikle H&E boyaması yapıldı. Histolojik ve morfolojik olarak incelenen dokuların bizim çalışmamız için uygun olduğu görüldü (Şekil 4.1).



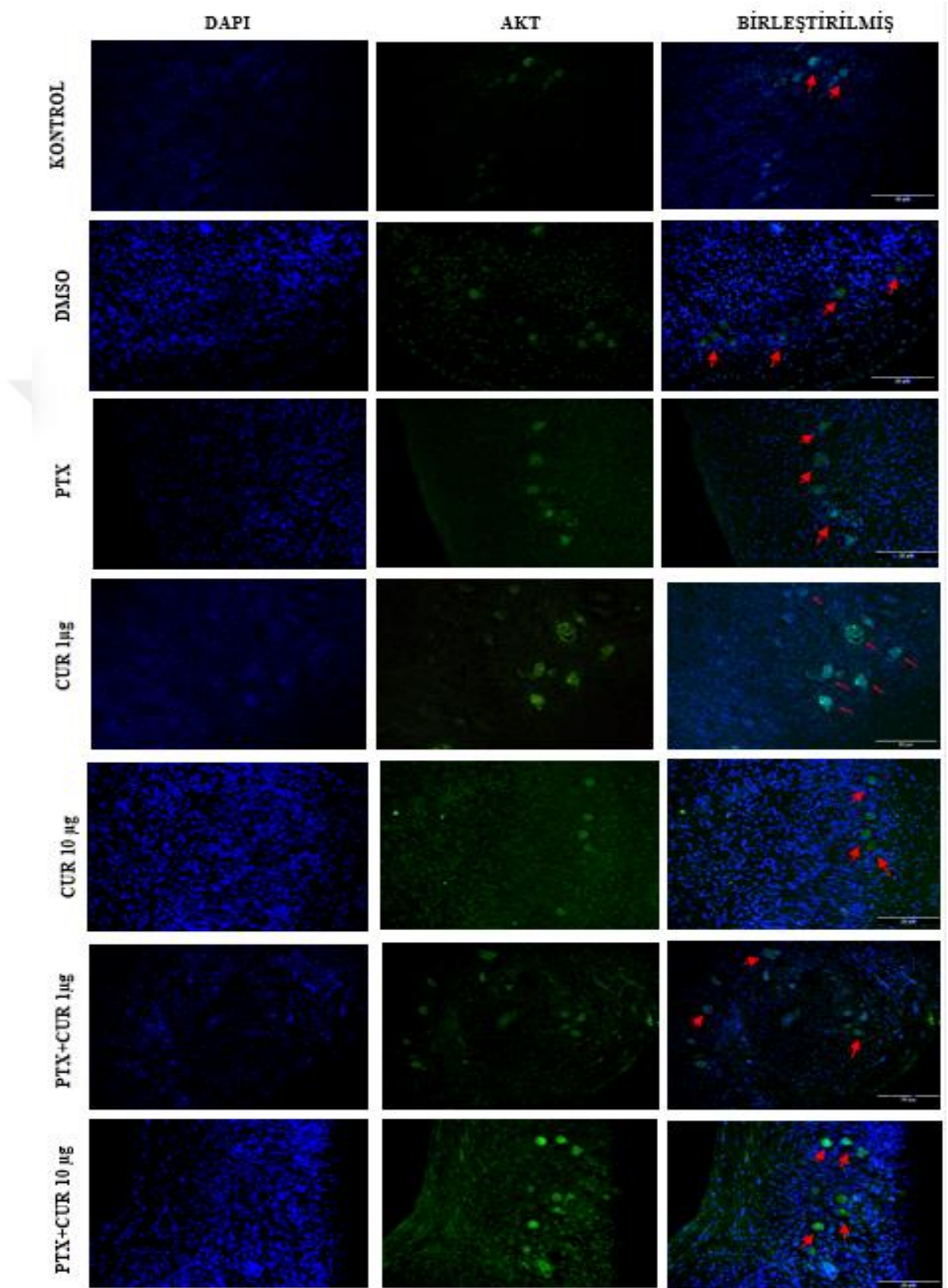
Şekil 4.1: Ovaryum Kortikal Şeridi H&E Boyama. **a)** Ovaryum korteksi 100X, **b)** Ovaryum korteksi 200X, **c)** Kortekste yerleşik olan primordiyal foliküller (siyah oklar), primer foliküller (kırmızı oklar) gösterilmektedir. Orijinal büyütme 400X.

4.2. İmmünofloresan Bulguları

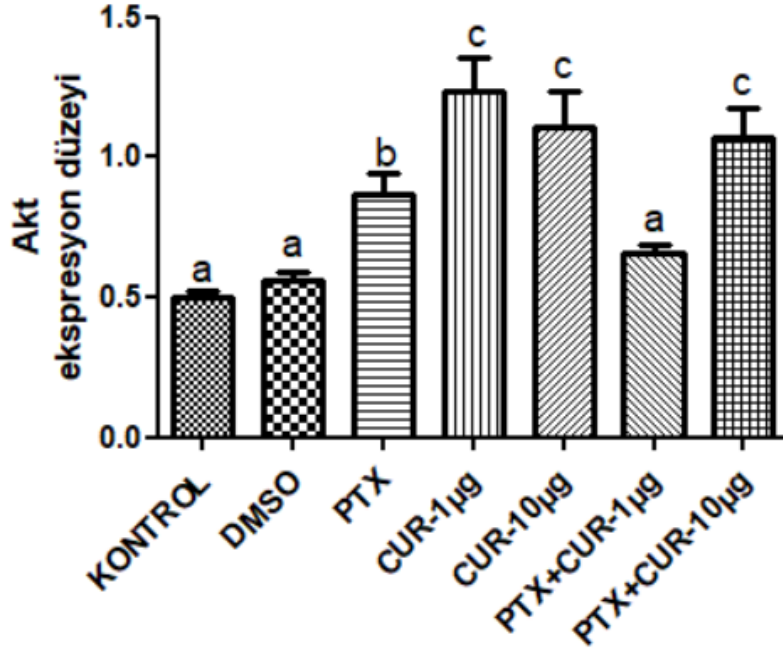
4.2.1. Ovaryum Korteksindeki Akt ve p-Akt Ekspresyonu

Çalışmamızda, kontrol ve çözgen olarak kullandığımız DMSO grupları arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Deney modelimizi oluşturduğumuz ve 0,1 μ M PTX ile kültüre ettiğimiz grup ile kontrol ve DMSO grupları kıyaslandığında ise PTX'in Akt ekspresyonunu istatistiksel olarak anlamlı biçimde arttırdığı görülmüştür (Şekil 4.2 ve 4.3, $P < 0,05$).

CUR verilen grupların yine Akt ekspresyonlarının kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttırdığı, PTX grubuna göre gözlenen artışın ise istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür. CUR 1 μ g ve 10 μ g dozları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı gözlemlenmiştir (Şekil 4.2 ve 4.3).



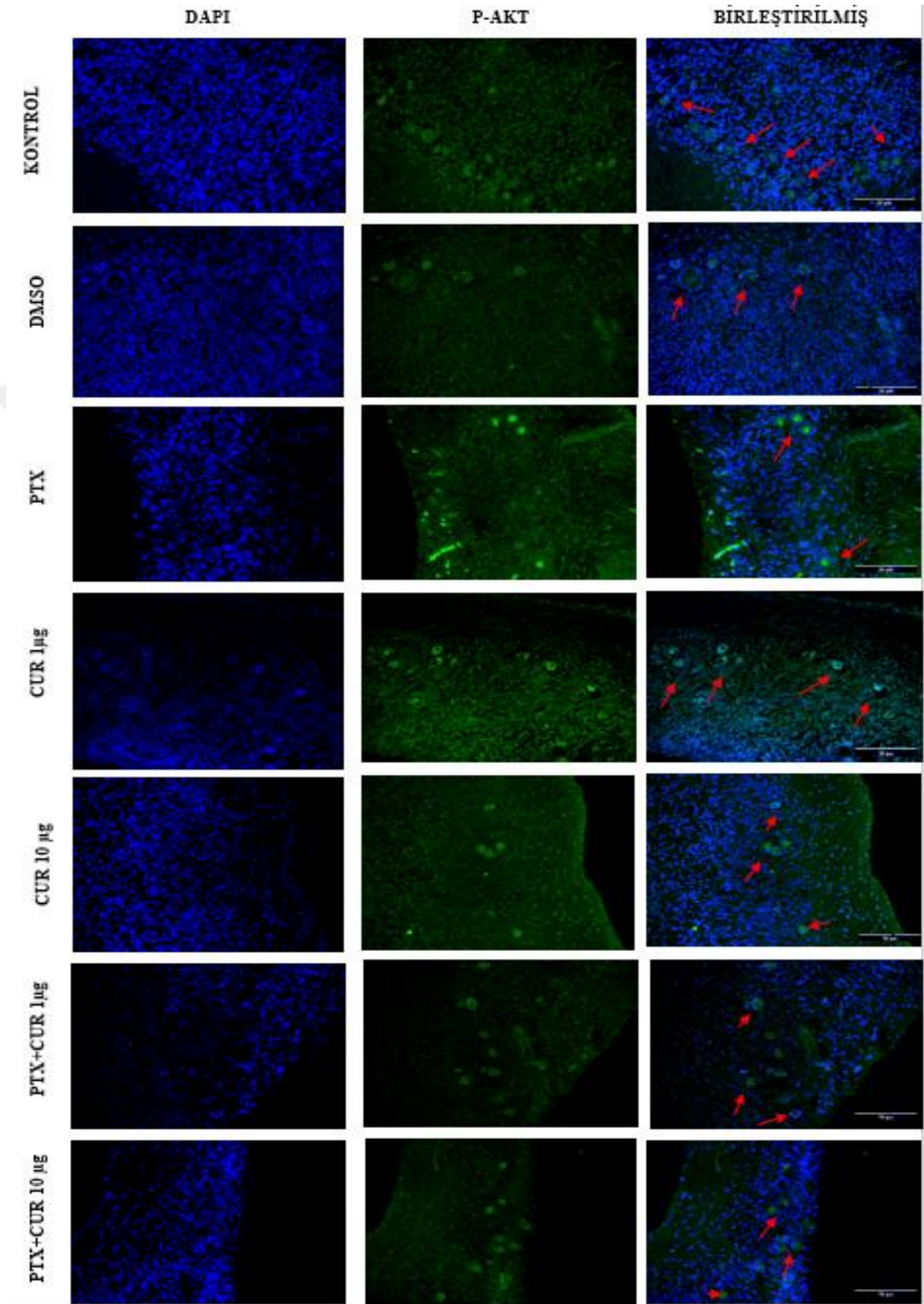
Şekil 4.2. Ovaryum korteksindeki Akt Ekspresyonları. **A)** DAPI (mavi), **B)** Akt (yeşil), **C)** DAPI ve Akt birleştirilmiş. Orijinal büyütme 400X



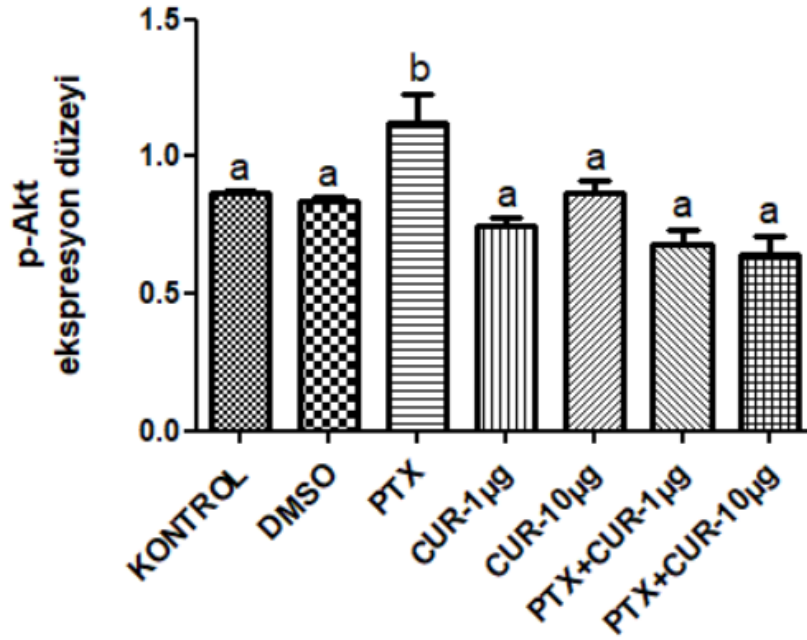
(a,c; ***, $p < 0,0001$; a,b,*; $p < 0,005$)

Şekil 4.3. Ovaryum korteksindeki Akt Ekspresyonlarının İstatiksel Analizi. Elde edilen veriler, tek yönlü ANOVA, Newman-Keuls post hoc testi ile istatistiksel açıdan değerlendirildi. * işareti istatistiksel anlamlılığı göstermektedir. *, $P < 0,05$

CUR ile tedavi edilen PTX gruplarında ise 1 µg CUR ile tedavi edilen grubun Akt ekspresyonunu anlamlı biçimde azalttığı görülmüş, fakat 10µg CUR'nin yarattığı fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Şekil 4.2 ve 4.3).



Şekil 4.4. Ovaryum korteksindeki P-Akt Ekspresyonları. **A)** DAPI (mavi), **B)** p-Akt (yeşil), **C)** DAPI ve p-Akt birleştirilmiş. Orijinal büyütme 400X



(a,b; ***, $p < 0,0001$)

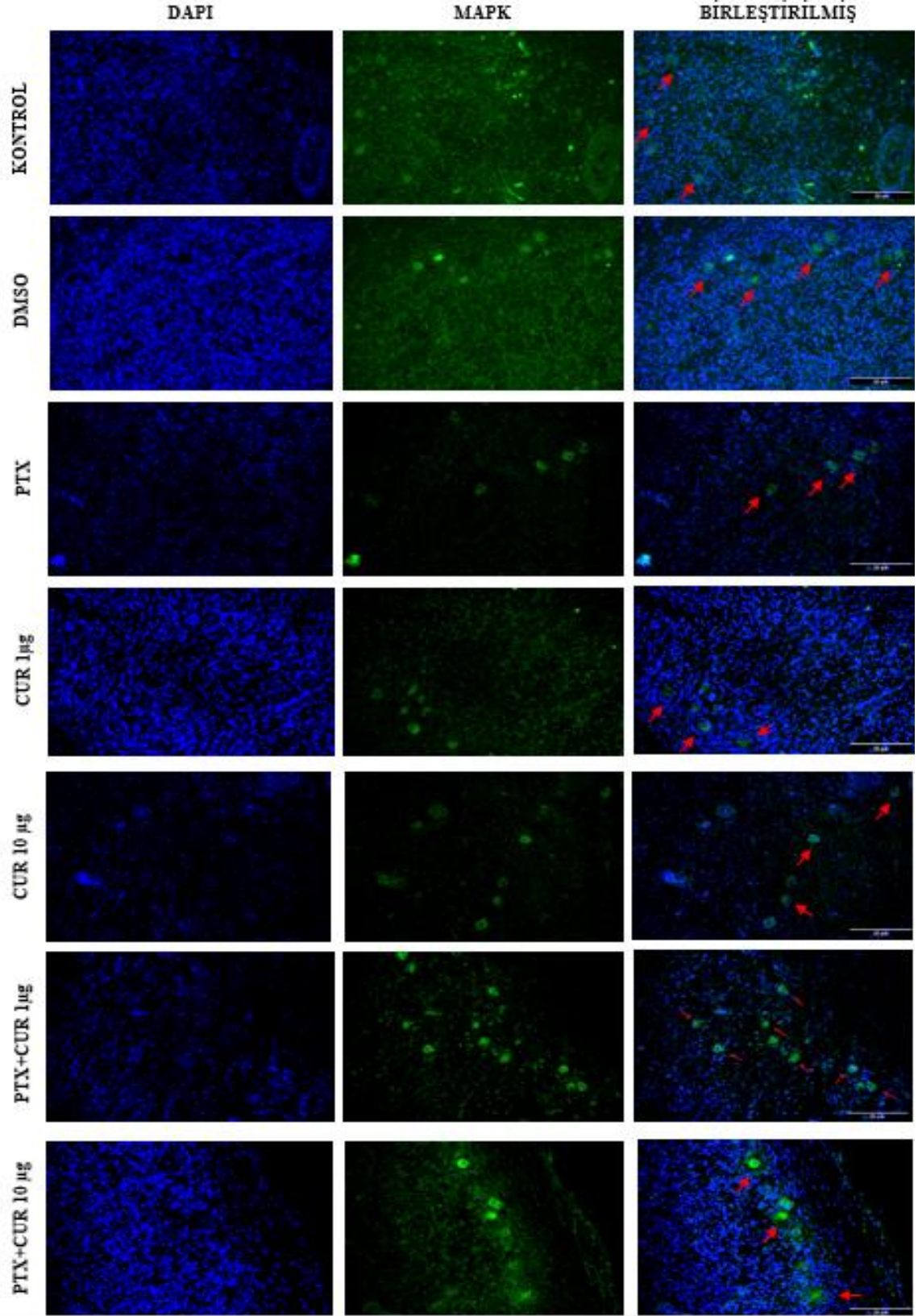
Şekil 4.5. Ovaryum korteksindeki p-Akt Ekspresyonlarının İstatiksel Analizi. Elde edilen veriler, tek yönlü ANOVA, Newman-Keuls post hoc testi ile istatistiksel açıdan değerlendirildi. * işareti istatistiksel anlamlılığı göstermektedir. *, $P < 0,05$

p-Akt ekspresyonuna baktığımızda ise, kontrol ve çözügen olarak kullandığımız DMSO grupları arasında yine anlamlı bir fark bulunmamıştır. PTX'in ise p-Akt ekspresyonunu istatistiksel olarak anlamlı biçimde arttırdığı görülmüştür (Şekil 4.4 ve 4.5, $P < 0,05$).

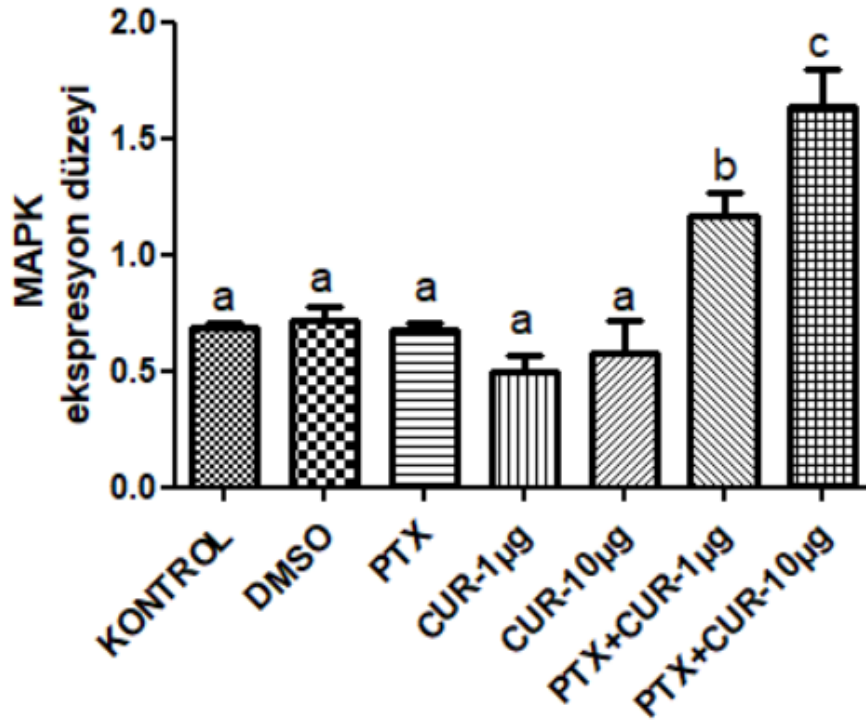
Sadece CUR verilen ve CUR ile tedavi edilen gruplardaki ekspresyon seviyelerininse kontrol grubuyla istatistiksel olarak aynı anlamlılık seviyesine sahip olduğu görülmüştür (Şekil 4.4 ve 4.5, $P < 0,05$).

4.2.2. Ovaryum Korteksindeki MAPK ve p-MAPK Ekspresyonu

Kontrol ve DMSO gruplarına baktığımızda MAPK ekspresyonları arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır. Bunun yanı sıra, PTX ve her iki dozdaki CUR gruplarının da istatistiksel olarak kontrol grubuyla aynı seviyede olduğu görülmüştür (Şekil 4.6 ve 4.7).



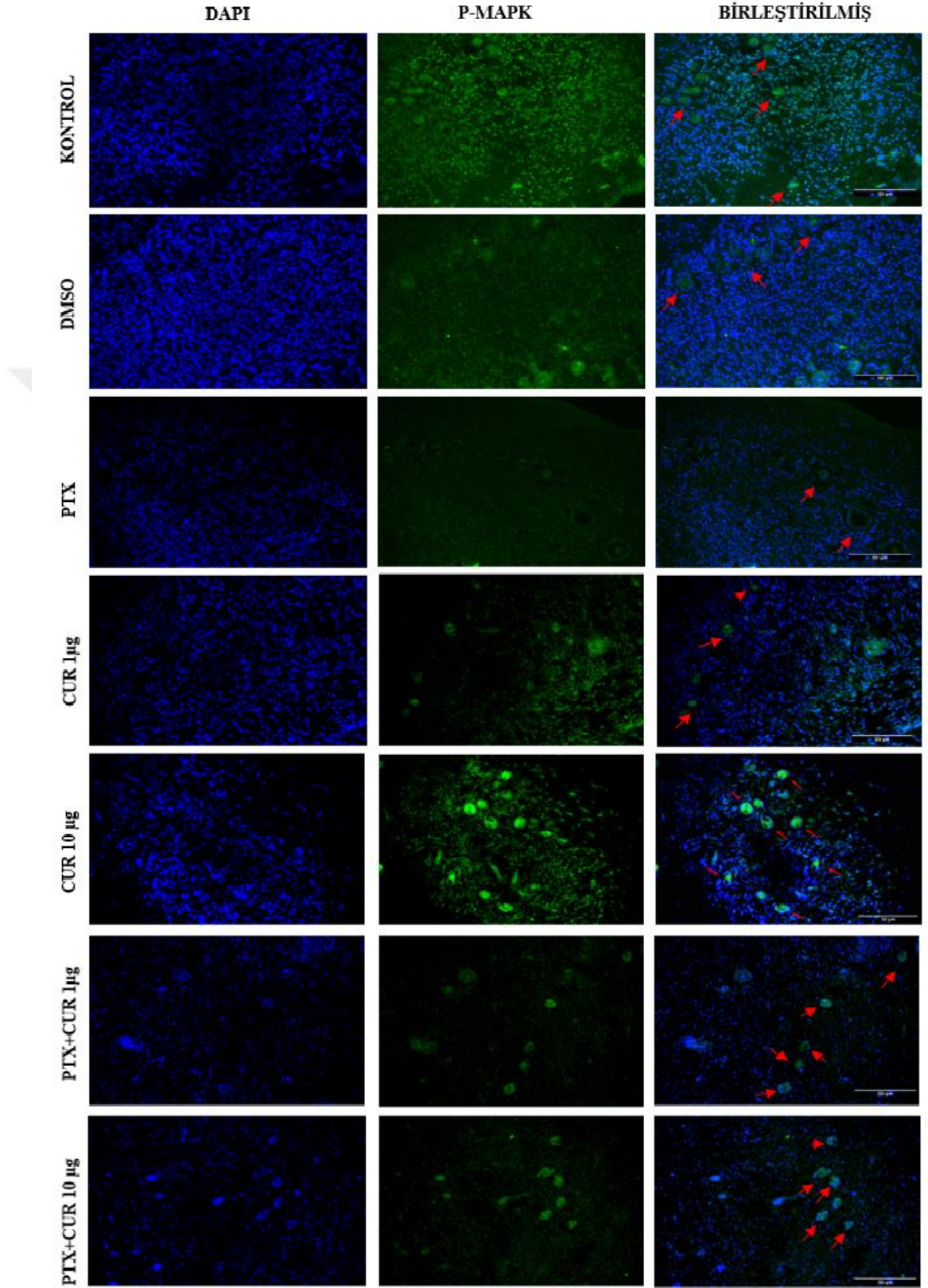
Şekil 4.6. Ovaryum korteksindeki MAPK Ekspresyonları. **A)** DAPI (mavi), **B)** MAPK (yeşil), **C)** DAPI ve MAPK birleştirilmiş. Orijinal büyütme 400X



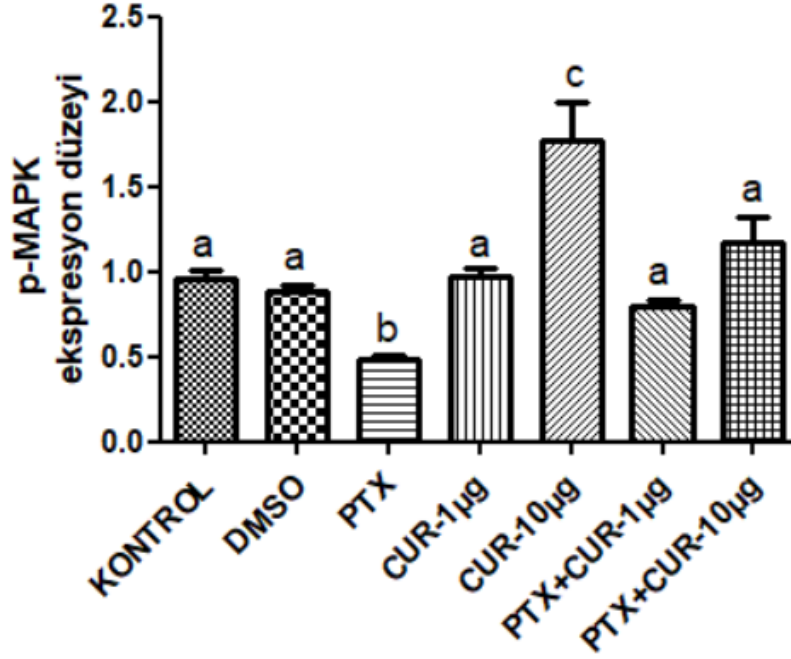
(a,b; ***, $p<0,0001$; b,c,**; $p<0,05$)

Şekil 4.7. Ovaryum korteksindeki MAPK Ekspresyonlarının İstatiksel Analizi. Elde edilen veriler, tek yönlü ANOVA, Newman-Keuls post hoc testi ile istatistiksel açıdan değerlendirildi. * işareti istatistiksel anlamlılığı göstermektedir. *, $P < 0,05$

CUR ile tedavi edilen PTX gruplarının ise MAPK ekspresyonunun anlamlı biçimde arttırdığı, ekspresyon düzeyinin 10 µg CUR ile tedavi edilen grupta 1 µg CUR ile tedavi edilen gruba göre istatistiksel olarak anlamlı biçimde daha yüksek olduğu bulunmuştur (Şekil 4.6 ve 4.7).



Şekil 4.8. Ovaryum korteksindeki P-MAPK Ekspresyonları. **A)** DAPI (mavi), **B)** p-MAPK (yeşil), **C)** DAPI ve p-MAPK birleştirilmiş. Orijinal büyütm 400X



(a,b; *, $p<0,05$; b,c;***; $p<0,0001$; a,c;***; $p<0,0001$)

Şekil 4.9. Ovaryum korteksindeki p-MAPK Ekspresyonlarının İstatiksel Analizi. Elde edilen veriler, tek yönlü ANOVA, Newman-Keuls post hoc testi ile istatistiksel açıdan değerlendirildi. * işareti istatistiksel anlamlılığı göstermektedir. *, $P < 0,05$

p-MAPK ekspresyonunun, kontrol ve DMSO gruplarında aynı olduğu, PTX'in bu ekspresyonu istatistiksel olarak anlamlı biçimde azalttığı görülmüştür ($P<0,05$). 1 µg CUR'nin p-MAPK ekspresyonunu etkilemediği fakat 10 µg CUR ile tedavi edilen grupta ekspresyonun kontrol grubuna göre anlamlı biçimde arttığı gözlenmiştir (Şekil 4.8 ve 4.9, $P<0,05$).

CUR ile tedavi edilen PTX gruplarında, 1 µg ve 10 µg CUR verilen gruplardaki dozlar arasında anlamlı bir fark olmaksızın p-MAPK ekspresyonunun, PTX grubuna göre anlamlı biçimde arttığı bulunmuştur (Şekil 4.8 ve 4.9, $P<0,05$).

5.TARTIşMA

Kanser, dünya çapında önemli bir halk sağlığı sorunudur. Bununla birlikte, modern kemoradyoterapi stratejileriyle birlikte kanser teşhisindeki son gelişmeler, uzun vadeli sağkalım oranlarını önemli ölçüde iyileştirmiştir (Pereira ve Schattman, 2017). Amerikan Kanser Derneği'ne göre, 2026'da kanserden kurtulan hastaların sayısının 20 milyon olması beklenmektedir. Öte yandan, birçok hastanın fiziksel ve psikososyal sağlığı üzerindeki etkisinin yanı sıra, ovaryum foliküllerinde hem oosit hem de granüloza hücreleri kemoterapinin neden olduğu hasara karşı savunmasızdır (Guerreiro ve ark., 2020). Bu hasara karşı, doğurganlık ve ovaryum dokusunun korunması ve kanserden kurtulan çok sayıda kadının yaşam kalitesinin iyileştirilmesi amacıyla onkofertilite adı verilen yeni bir alan oluşturulmuştur (Xiong ve ark., 2021).

İnsan ovaryumlarında yapılan önceki histolojik çalışmalar, kemoterapi tedavilerinin primordiyal foliküllerin kaybına ve ovaryum atrofisine neden olabileceğini göstermiştir. Apoptoz ile oosit ölümü, germ hücrelerinin kaybından ve erken ovaryum yetmezliğinden sorumlu ana mekanizma olarak tanımlanmaktadır (G. Bedoschi ve ark., 2016). Hedeflenen hücre döngüsü fazlarına dayalı olarak, antitümör ajanlar, hücre döngüsüne özgü ve hücre döngüsüne özgü olmayanlar olarak sınıflandırılır; ilki, yalnızca belirli bir aşamadaki hücreler üzerinde hareket ederken ikincisi, tüm aşamalardaki hücreleri hedef alır (Xiong ve ark., 2021). Ovaryum hasarının derecesi ve infertilite riski, kemoterapötik ajanın dozuna ve tipine bağlıdır (G. Bedoschi ve ark., 2016).

Ovaryum doku kültürü kullanılarak yapılan yakın tarihli *in vitro* alışmalar, doza bağlı bir şekilde, taksan ilaçlarının primer folikül tükenmesine neden olduğunu göstemektedir (Kim ve ark., 2019).

PTX'in hem AKT hem de MAPK sinyal yollarını aktive ettiği ve dolayısıyla antitümör etkinliğini tehlikeye attığı bildirilmiştir. MAPK yolunun, PTX'in kemoterapötik etkisi ile ilişkisi tam olarak anlaşılmamış olsa da, bu yolun aktivasyonu ilaç direncinde rol oynayabilir. Aslında, MAPK yolağının inhibisyonunun, meme, ovaryum ve akciğer kanseri dahil olmak üzere belirli kanser türlerinde PTX'in duyarlılığı arttırdığı gösterilmiştir. Birçok alışma, Akt ve MAPK sinyal yolaklarının paklitaksel kaynaklı

aktivasyonunun, PTX'in antitümör etkisine karşı koyabileceğini ve kanser hücrelerini paklitaksele karşı dirençli hale getirebileceğini göstermektedir (Huang ve ark., 2017).

Oksidatif stres, oositler ve granüloza hücreleri üzerinde önemli sitotoksisteye sahiptir. Kemoterapi ilaçları, oksidatif stresi artıran ve ovaryumda apoptozu tetikleyen büyük miktarlarda ROS üretebilir ve primordiyal folikül aktivasyonunu artırarak ovaryum rezervini azaltabilir. Sonuç olarak, antioksidanlar ROS'u ortadan kaldırma ve oksidatif stres kaynaklı ovaryum hasarını önleme yeteneğine sahiptir (Xiong ve ark., 2021). Pro-apoptotik, anti-oksidan ve anti-anjiyojenik özellikleri nedeniyle, CUR, kanser ve diğer hastalıkların tedavisinde potansiyel olarak faydalı bir ajan gibi görünmektedir (Kadasi ve ark., 2017) ve kemirgen ovaryumunda folikülogenezi teşvik ederek ve apoptozu azaltarak etkisini göstermiştir (Yan ve ark., 2018).

ERK1/2 aktivasyonu, hücre proliferasyonunu ve farklılaşmasını kontrol ederek anti-apoptotik fonksiyonlarla geniş çapta ilişkilidir. ERK, pro-apoptotik proteinlerin ekspresyon azalışını ve anti-apoptotik proteinlerin hem transkripsiyonel hem de post-translasyonel mekanizmalar aracılığıyla ekspresyon artışını sağlayarak anti-apoptotik etki gösterebilir (Yue ve Lopez, 2020). Ancak, ERK1/2 aktivasyonu anti-apoptotik etkilerle ilişkilendirilse de, literatürde bunun tersi olarak pro-apoptotik etkileri olabileceğini gösteren çalışmalar da mevcuttur (Yue ve Lopez, 2020).

Protein kinaz B (PKB) olarak da adlandırılan Akt, protein kinazların AGC (protein kinaz A / protein kinaz G / protein kinaz C-ailesi) süper ailesine ait bir serin/treonin kinazdır ve diğer AGC kinazlar gibi yukarı regülasyonu ikinci haberciler ve diğer enzimler tarafından düzenlenir. Memelilerde Akt'nin 3 izoformu vardır: Akt1, Akt2 ve Akt3. Akt aktivasyonunun ana biyolojik fonksiyonları hayatta kalma, çoğalma ve hücre büyümesi olarak 3 kategoride sınıflandırılabilir (Cicenas, 2008).

Akt'nin kurucu aktivasyonu, kanser türlerinin tipik özelliği olan kontrolsüz hücre proliferasyonuna, apoptotik yolların inhibisyonuna ve hücre döngüsü düzensizliğine yol açar. Akt, apoptozu doğrudan veya dolaylı olarak düzenleyebilir. Hücre döngüsünün G2/M fazında Akt aktivitesinin yüksek olduğu daha önce bildirilmiştir. Germinal vezikül yıkımını takiben, aktif kinaz birinci mayoz iğ ipliklerinin mikrotübülleri ile

ilişkilidir. *In vitro* deneyler, Akt inhibisyonunun MI'nın kendisinin başarısızlığına neden olduğunu ve MII aşamasında Akt'ın ikinci polar cismin atılımını ve mikrotübüller üzerinde normal kromozomal hizalamayı kontrol ettiğini açıkça göstermiştir. Bu rol, fosforile Akt-Thr308'de önemli bir azalmaya neden olan, oosit olgunlaşması sırasında fosforile Akt-Ser473'ün lokalizasyonunu değiştiren ve polar cisim atılımını bozan LY294002 tedavisi ile doğrulanmıştır. Ayrıca sığır oositlerinde Akt, mayotik MI/MII geçişinin düzenlenmesinde yer almaktadır (Cecconi ve ark., 2012).

Çalışmamız sonucunda, PTX'in ovaryumdaki primordiyal ve primer foliküllerdeki Akt ve p-Akt protein ekspresyonlarını anlamlı biçimde artırdığını gözlemledik ve bu artışın folikül rezervinin tükenmesine neden olabileceğini düşündük. PTX kemoterapisi alan kadınlarda erken folikül yetmezliği gözlenebileceği literatürdeki bilgilerle örtüşmektedir.

CUR ile muamele ettiğimiz grupta ise doza (1 µg ve 10 µg) bağlı bir fark olmaksızın Akt ekspresyonunun PTX'e benzer bir etki göstererek arttığını, p-Akt ekspresyonunun ise kontrol grubu seviyesinde kaldığını gözlemledik. PTX ile birlikte 1 µg CUR verdiğimiz gruptaki Akt ve p-Akt ekspresyonunun kontrol grubu düzeyine düştüğünü gördük ve bu da bize kurkuminin PTX'in yarattığı primordiyal folikül tükenmesini önleyebileceğini düşündürdü. Fakat PTX'in 10 µg CUR ile tedavi edildiği grupta ise Akt ekspresyonunun PTX ekspresyonundan anlamlı biçimde daha fazla olduğunu gözlemledik. Gözlemlediğimiz bu değişim, CUR'nin doza bağlı olarak farklı etkiler gösterebileceğini, dolayısıyla bu konuda daha çok araştırma yapılması gerekliliğini ortaya koymuştur.

PTX ile birlikte 1 µg ve 10 µg kurkumin verdiğimiz grupta ise dozlar arasında bir fark olmaksızın tıpkı sadece 1 µg ve 10 µg kurkumin ile muamele ettiğimiz grupta olduğu gibi p-Akt ekspresyonunu Kontrol grubu seviyesine düşürmüştür. Bu grupta, kurkumin tek başına herhangi bir etki göstermezken, PTX'in yarattığı hasarı önleyebileceğini göstermiştir.

0,1 µM PTX'in MAPK ekspresyonunda kontrol grubuna göre herhangi bir değişikliğe yol açmadığı p-MAPK ekspresyonunu ise anlamlı bir biçimde azalttığı görülmüştür.

Literatürde MAPK aktivasyonu ile ilgili çelişkili bilgiler doğrultusunda, biz de elde ettiğimiz verilerin PTX'in farklı dozlarıyla genişletilebileceği kanısındayız. Bu konuda daha çok çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

Sadece PTX ve 1 µg ve 10 µg kurkumin ile muamele edilen gruplarda MAPK ekspresyonu kontrol grubu seviyesindeyken PTX'in CUR ile tedavi edildiği gruplarda ekspresyonun CUR'nin dozuyla doğru orantılı olarak arttığı gözlemlenmiştir. CUR PTX'in etkinliğini artırarak kanser tedavisine yardımcı olabilir fakat aynı zamanda folikül hasarını da artırabilir. p-MAPK ekspresyonunun ise PTX ile azaldığını, 10 µg kurkumin ile arttığını fakat diğer tüm gruplarda kontrol grubu seviyesinde olduğunu gördük.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu tez projesinde, PTX'in sıgır ovaryumdaki foliküller üzerindeki etkisi ve bu etkiyi CUR'nin nasıl şekillendirebileceği incelenmek istenmiştir. Elde ettiğimiz sonuçlar aşağıdaki gibidir:

1. Kurduğumuz deney düzeneklerinde kontrol ve çözücü olarak kullandığımız DMSO grupları arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Bu da bize, DMSO'nun dokular üzerinde olumsuz bir etkisi olmadığını göstermiştir.
2. 0,1 μ M PTX'in, AKT ve p-AKT ekspresyonlarını anlamlı biçimde arttırdığı, MAPK ekspresyonunda herhangi bir anlamlı değişikliğe yol açmadığı, p-MAPK ekspresyonunu ise istatistiksel olarak anlamlı bir biçimde azalttığı gözlemlenmiştir.
3. 1 μ g CUR ile muamele edilen gruplarda, Akt ekspresyonunun kontrol ve PTX gruplarına göre artmıştır. p-AKT ekspresyonunun kontrol grubuna göre anlamlı bir fark göstermediği fakat PTX grubuna göre daha az ekspresyon gösterdiği, MAPK ve P-MAPK ekspresyonunu yine kontrol grubu seviyelerinde tuttuğu görülmüştür.
4. CUR dozunun 10 μ g'a çıkarıldığı gruplarda ise; AKT ekspresyonunun 1 μ g CUR verilen gruba göre anlamlı bir fark göstermediği ve kontrol grubuna göre artmış olduğu görülmüştür. p-AKT ve MAPK ekspresyonlarının kontrol grubu seviyelerinde olduğu, p-MAPK ekspresyonunun ise hem kontrol hem de 1 μ g kurkumin ile muamele edilen gruplara göre anlamlı bir artış gösterdiği gözlemlenmiştir.
5. 1 μ g CUR ile tedavi edilen PTX grubu; AKT ve p-AKT ekspresyonlarının PTX grubuna göre düşüş göstererek kontrol grubuna yaklaşmıştır. MAPK ekspresyonunun kontrol ve PTX gruplarına göre arttığı, p-MAPK ekspresyonunun ise artarak kontrol ve 1 μ g CUR ile muamele edilen gruba yaklaştığı görülmüştür.
6. 10 μ g CUR ile tedavi edilen PTX grubu ise; AKT ekspresyonunun 10 μ g CUR ile muamele edilen gruptan anlamlı olarak fark göstermemiştir. p-AKT ve p-MAPK

ekspresyonlarının azalarak kontrol grubunun seviyesine düştüğü, MAPK ekspresyonunun ise anlamlı biçimde arttığı gözlenmiştir.

PTX uygulamasının, ovaryum üzerinde olumsuz etkileri olduğu bilinmektedir. Literatür ile paralel şekilde, bu çalışmada da PTX uygulanan gruplarda Akt, p-Akt ve p-MAPK protein ekspresyonlarında değişiklikler tespit edilmiş olup, PTX'in bu yolaklar üzerinden folikül gelişimini etkileyebileceği gösterilmiştir.

Çalışmamızda, CUR'nin farklı dozlarda uygulanmasının, belirtilen sinyal yolaklarında değişikliklere sebep olduğu tespit edilmiş olup, CUR gibi doğal kimyasalların, PTX'in ovaryum üzerinde yarattığı olumsuz etkileri değiştirebileceği gösterilmiştir. Bu doğrultuda, gelecekteki çalışmalarda CUR'nin farklı dozlarının yaratacağı etkilerin ve etkilenebilecek diğer sinyal yolaklarının da daha detaylı olarak araştırılması gerektiği düşüncesindeyiz.

KAYNAKLAR

- Abu Samaan, T. M., Samec, M., Liskova, A., Kubatka, P., & Busselberg, D. Paclitaxel's mechanistic and clinical effects on breast cancer. *Biomolecules*. 2019; 9 (12).
- Akkoyunlu, G., & Tepekoy, F. Immunohistochemistry of paraffin sections from mouse ovaries. *Methods Mol Biol*. 2016; 1457: 269-274.
- Alqahtani, F. Y., Aleanizy, F. S., El Tahir, E., Alkahtani, H. M., & AlQuadeib, B. T. Paclitaxel. *Profiles Drug Subst Excip Relat Methodol*. 2019; 44: 205-238.
- Armund, G. M., Wettergren, L., Rodriguez-Wallberg, K. A., & Lampic, C. Women more vulnerable than men when facing risk for treatment-induced infertility: A qualitative study of young adults newly diagnosed with cancer. *Acta Oncol*. 2015; 54 (2): 243-252.
- Ashrafizadeh, M., Zarrabi, A., Hashemi, F., Moghadam, E. R., Hashemi, F., Entezari, M., . . . Najafi, M. Curcumin in cancer therapy: A novel adjunct for combination chemotherapy with paclitaxel and alleviation of its adverse effects. *Life Sci*. 2020; 256: 117984.
- Bedoschi, G., Navarro, P. A., & Oktay, K. Chemotherapy-induced damage to ovary: Mechanisms and clinical impact. *Future Oncol*. 2016; 12 (20): 2333-2344.
- Bedoschi, G. M., Navarro, P. A., & Oktay, K. H. Novel insights into the pathophysiology of chemotherapy-induced damage to the ovary. *Panminerva Med*. 2019; 61 (1): 68-75.
- Camacho-Barquero, L., Villegas, I., Sanchez-Calvo, J. M., Talero, E., Sanchez-Fidalgo, S., Motilva, V., & Alarcon de la Lastra, C. Curcumin, a curcuma longa constituent, acts on mapk p38 pathway modulating cox-2 and inos expression in chronic experimental colitis. *Int Immunopharmacol*. 2007; 7 (3): 333-342.
- Cecconi, S., Mauro, A., Cellini, V., & Patacchiola, F. The role of akt signalling in the mammalian ovary. *Int J Dev Biol*. 2012; 56 (10-12): 809-817.
- Cho, J.-W., Lee, K.-S., & Kim, C.-W. Curcumin attenuates the expression of il-1 β , il-6, and tn α as well as cyclin e in tn α -treated hacat cells; nf-kb and mapks as potential upstream targets. *International journal of molecular medicine*. 2007; 19 (3): 469-474.
- Cicenas, J. The potential role of akt phosphorylation in human cancers. *Int J Biol Markers*. 2008; 23 (1): 1-9.
- Cox, E., & Takov, V. (2022). Embryology, ovarian follicle development. In *Statpearls*. Treasure Island (FL).
- Dhanasekaran, S. Augmented cytotoxic effects of paclitaxel by curcumin induced overexpression of folate receptor-alpha for enhanced targeted drug delivery in hela cells. *Phytomedicine*. 2019; 56: 279-285.
- Dolmans, M. M., Lambertini, M., Macklon, K. T., Almeida Santos, T., Ruiz-Casado, A., Borini, A., . . . Germeyer, A. European recommendations for female fertility preservation (eu-refer): A joint collaboration between oncologists and fertility specialists. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2019; 138: 233-240.
- Eroschenko, V. P., & Di Fiore, M. S. Difiore's atlas of histology with functional correlations: Lippincott Williams & Wilkins; 2013, p:
- Estienne, A., Brossaud, A., Reverchon, M., Rame, C., Froment, P., & Dupont, J. Adipokines expression and effects in oocyte maturation, fertilization and early embryo development: Lessons from mammals and birds. *Int J Mol Sci*. 2020; 21 (10).
- Farrar, M. C., & Jacobs, T. F. Paclitaxel. 2019.
- Farrar, M. C., & Jacobs, T. F. (2022). Paclitaxel. In *Statpearls*. Treasure Island (FL).

- Ford, E. A., Beckett, E. L., Roman, S. D., McLaughlin, E. A., & Sutherland, J. M. Advances in human primordial follicle activation and premature ovarian insufficiency. *Reproduction*. 2020; 159 (1): R15-R29.
- Fratantonio, D., Molonia, M. S., Bashllari, R., Muscara, C., Ferlazzo, G., Costa, G., . . . Speciale, A. Curcumin potentiates the antitumor activity of paclitaxel in rat glioma c6 cells. *Phytomedicine*. 2019; 55: 23-30.
- Gargiulo, A. R. Yen & jaffe's reproductive endocrinology: Physiology, pathophysiology, and clinical management: Elsevier Health Sciences; 2017, p:
- Guerreiro, D. D., de Lima, L. F., de Sa, N. A. R., Mbemba, G. T., Ferreira, A. C. A., Alves, B. G., . . . Rodrigues, A. P. R. Response of preantral follicles exposed to quinoxaline: A new compound with anticancer potential. *Res Vet Sci*. 2020; 128: 261-268.
- Hsueh, A. J., Kawamura, K., Cheng, Y., & Fauser, B. C. Intraovarian control of early folliculogenesis. *Endocr Rev*. 2015; 36 (1): 1-24.
- Huang, S., Wang, D., Zhang, S., Huang, X., Wang, D., Ijaz, M., & Shi, Y. Tunicamycin potentiates paclitaxel-induced apoptosis through inhibition of pi3k/akt and mapk pathways in breast cancer. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2017; 80 (4): 685-696.
- Ilbey, Y. O., Ozbek, E., Cekmen, M., Simsek, A., Otunctemur, A., & Somay, A. Protective effect of curcumin in cisplatin-induced oxidative injury in rat testis: Mitogen-activated protein kinase and nuclear factor-kappa b signaling pathways. *Hum Reprod*. 2009; 24 (7): 1717-1725.
- Junqueira, L. C., Carneiro, J., Kelley, R. O., Aytakin, Y., & Solakoğlu, S. Temel histoloji: Barış Kitabevi; 1993, p:
- Kadasi, A., Maruniakova, N., Stochmalova, A., Bauer, M., Grossmann, R., Harrath, A. H., . . . Sirotkin, A. V. Direct effect of curcumin on porcine ovarian cell functions. *Anim Reprod Sci*. 2017; 182: 77-83.
- Kierszenbaum, A. L., & Tres, L. Histology and cell biology: An introduction to pathology e-book: Elsevier Health Sciences; 2015, p:
- Kilinc, L., & Uz, Y. H. Protective effects of curcumin against methotrexate-induced testicular damage in rats by suppression of the p38-mapk and nuclear factor-kappa b pathways. *Clin Exp Reprod Med*. 2021; 48 (3): 211-220.
- Kim, Y. Y., Kim, W. O., Liu, H. C., Rosenwaks, Z., Kim, J. W., & Ku, S. Y. Effects of paclitaxel and cisplatin on in vitro ovarian follicle development. *Arch Med Sci*. 2019; 15 (6): 1510-1519.
- Kinnear, H. M., Tomaszewski, C. E., Chang, F. L., Moravek, M. B., Xu, M., Padmanabhan, V., & Shikanov, A. The ovarian stroma as a new frontier. *Reproduction*. 2020; 160 (3): R25-R39.
- Kotha, R. R., & Luthria, D. L. Curcumin: Biological, pharmaceutical, nutraceutical, and analytical aspects. *Molecules*. 2019; 24 (16).
- Liu, F., Gao, S., Yang, Y., Zhao, X., Fan, Y., Ma, W., . . . Yu, Y. Antitumor activity of curcumin by modulation of apoptosis and autophagy in human lung cancer a549 cells through inhibiting pi3k/akt/mtor pathway. *Oncol Rep*. 2018; 39 (3): 1523-1531.
- Makiyan, Z. Studies of gonadal sex differentiation. *Organogenesis*. 2016; 12 (1): 42-51.
- Moore, K. L., Persaud, T. V. N., & Torchia, M. G. The developing human-e-book: Clinically oriented embryology: Elsevier Health Sciences; 2018, p:
- Ntemou, E., Vidal, P. D., Alexandri, C., Van den Steen, G., Lambertini, M., & Demeestere, I. Ovarian toxicity of carboplatin and paclitaxel in mouse carriers of mutation in bripl1 tumor suppressor gene. *Sci Rep*. 2022; 12 (1): 1658.

- Oktem, O., & Oktay, K. The ovary: Anatomy and function throughout human life. *Ann N Y Acad Sci.* 2008; 1127: 1-9.
- Paclitaxel. (2012). In *Livertox: Clinical and research information on drug-induced liver injury*. Bethesda (MD).
- Pereira, N., & Schattman, G. L. Fertility preservation and sexual health after cancer therapy. *J Oncol Pract.* 2017; 13 (10): 643-651.
- Ross, M. H., & Pawlina, W. *Histology: Lippincott Williams & Wilkins*; 2006, p:
- Sonigo, C., Beau, I., Binart, N., & Grynberg, M. The impact of chemotherapy on the ovaries: Molecular aspects and the prevention of ovarian damage. *Int J Mol Sci.* 2019; 20 (21).
- Strauss III, J. F., & Williams, C. J. (2019). Ovarian life cycle. In *Yen and jaffe's reproductive endocrinology* (pp. 167-205. e169): Elsevier.
- Şeftalioğlu, A. Genel ve özel insan embriyolojisi, üçüncü baskı, tıp ve teknik yayıncılık ltd. Şti., Ankara. 1998.
- Tan, B. L., & Norhaizan, M. E. Curcumin combination chemotherapy: The implication and efficacy in cancer. *Molecules.* 2019; 24 (14).
- Tepekoy, F., & Akkoyunlu, G. The effect of fsh and activin a on akt and mapk1/3 phosphorylation in cultured bovine ovarian cortical strips. *J Ovarian Res.* 2016; 9: 13.
- Xiong, J., Xue, L., Li, Y., Tang, W., Chen, D., Zhang, J., . . . Wang, S. Therapy of endocrine disease: Novel protection and treatment strategies for chemotherapy-associated ovarian damage. *Eur J Endocrinol.* 2021; 184 (5): R177-R192.
- Yan, Z., Dai, Y., Fu, H., Zheng, Y., Bao, D., Yin, Y., . . . Cui, Y. Curcumin exerts a protective effect against premature ovarian failure in mice. *J Mol Endocrinol.* 2018; 60 (3): 261-271.
- Yucebilgin, M. S., Terek, M. C., Ozsaran, A., Akercan, F., Zekioglu, O., Isik, E., & Erhan, Y. Effect of chemotherapy on primordial follicular reserve of rat: An animal model of premature ovarian failure and infertility. *Aust N Z J Obstet Gynaecol.* 2004; 44 (1): 6-9.
- Yue, J., & Lopez, J. M. Understanding mapk signaling pathways in apoptosis. *Int J Mol Sci.* 2020; 21 (7).
- Zhang, Y., Yan, Z., Qin, Q., Nisenblat, V., Chang, H. M., Yu, Y., . . . Yan, L. Transcriptome landscape of human folliculogenesis reveals oocyte and granulosa cell interactions. *Mol Cell.* 2018; 72 (6): 1021-1034 e1024.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Elif	Uyruğu	TC
Soyadı	YAVAŞ	Tel no	
Doğum tarihi		e-posta	

Eğitim Bilgileri

Mezun olduğu kurum		Mezuniyet yılı
Lisans	Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü	2015
Yüksek Lisans	Akdeniz Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı	2023

Proje Deneyimi

Proje Adı	Destekleyen kurum	Süre (Yıl-Yıl)
E2F1 ve Post-Translasyonel Modifikasyonlarının Adipoz Kökenli Kök Hücrelerin Nöronal Hücrelere Farklılaşmasına Olan Etkilerinin Araştırılması	TÜBİTAK (Proje No: 118S328)	2019-2021
İn Vivo Deri Korozyon Testi İçin Farklı Nanopestisit Formülasyonlarının Ümit Verici Yeni Bir Alternatif Model Organizma Olarak <i>Drosophila melanogaster</i> 'de Araştırılması	TÜBİTAK (Proje No: 122R050)	2022-2023

Burslar-Ödüller:

E2F1 ve Post-Translasyonel Modifikasyonlarının Adipoz Kökenli Kök Hücrelerin Nöronal Hücrelere Farklılaşmasına Olan Etkilerinin Araştırılması (TÜBİTAK)

İn Vivo Deri Korozyon Testi İçin Farklı Nanopestisit Formülasyonlarının Ümit Verici Yeni Bir Alternatif Model Organizma Olarak *Drosophila melanogaster*'de Araştırılması (TÜBİTAK)

TSRM 10. Ulusal Üreme Sağlığı ve İnfertilite Kongresi, Kıbrıs, 10-13 Kasım 2022 Katılım bursu

Yayınlar ve Bildiriler:

Yavas E., Akkoyunlu G. Effect of Curcumin on Bovine Ovarian Cortical Strips Cultured *in vitro* with Paclitaxel, TSRM 10. Ulusal Üreme Sağlığı ve İnfertilite Kongresi Poster Sunumu. Kıbrıs, 10-13 Kasım 2022

