



**T.C
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNER FAKÜLTESİ**

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZİN ADI

**ARI SÜTÜNÜN OVARYUM KANSER HÜCRELERİNİN
PROLİFERASYONU VE APOPTOZİSİ ÜZERİNE
ETKİSİ**

ENDER DENİZ ASMAZ

(DOKTORA TEZİ)

BURSA-2022

Ender Deniz ASMAZ

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI DOKTORA TEZİ

2022



T.C.

BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

VETERİNER FAKÜLTESİ

HİSTOLOJİ EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**ARI SÜTÜNÜN OVARYUM KANSER HÜCRELERİNİN
PROLİFERASYONU VE APOPTOZİSİ ÜZERİNE ETKİSİ**

ENDER DENİZ ASMAZ

(DOKTORA TEZİ)

DANIŞMAN

Prof. Dr. Berrin ZİK

Proje No- TDK-2021-388

BURSA-2022

T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİK BEYANI

Doktora tezi olarak sunduğum

“Arı Sütünün Ovaryum Kanseri Hücrelerinin Proliferasyonu ve Apoptozisi Üzerine Etkisi” adlı çalışmanın, proje safhasından sonuçlanmasına kadar geçen bütün süreçlerde bilimsel etik kurallarına uygun bir şekilde hazırlandığını ve yararlandığım eserlerin kaynaklar bölümünde gösterilenlerden oluştuğunu belirtir ve beyan ederim.

Ender Deniz ASMAZ

03/06/2022

TEZ KONTROL ve BEYAN FORMU

03 /06/2022

Adı Soyadı: Ender Deniz ASMAZ

Anabilim Dalı: Histoloji ve Embriyoloji

Tez Konusu: Arı Sütünün Ovaryum Kanseri Hücrelerinin Proliferasyonu ve Apoptozisi Üzerine Etkisi

<u>ÖZELLİKLER</u>	<u>UYGUNDUR</u>	<u>UYGUN DEĞİLDİR</u>	<u>ACIKLAMA</u>
Tezin Boyutları	✓	<input type="checkbox"/>	
Dış Kapak Sayfası	✓	<input type="checkbox"/>	
İç Kapak Sayfası	✓	<input type="checkbox"/>	
Kabul Onay Sayfası	✓	<input type="checkbox"/>	
Sayfa Düzeni	✓	<input type="checkbox"/>	
İçindekiler Sayfası	✓	<input type="checkbox"/>	
Yazı Karakteri	✓	<input type="checkbox"/>	
Satır Aralıkları	✓	<input type="checkbox"/>	
Başlıklar	✓	<input type="checkbox"/>	
Sayfa Numaraları	✓	<input type="checkbox"/>	
Eklerin Yerleştirilmesi	✓	<input type="checkbox"/>	
Tabloların Yerleştirilmesi	✓	<input type="checkbox"/>	
Kaynaklar	✓	<input type="checkbox"/>	

DANIŞMAN ONAYI

Prof Dr. Berrin ZİK

İmza:

İÇİNDEKİLER

DIŞ KAPAK

İÇ KAPAK

ETİK BEYANI	ii
TEZ KONTROL ve BEYAN FORMU	iii
İÇİNDEKİLER	iv
TÜRKÇE ÖZET.....	vi
İNGİLİZCE ÖZET	vii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Ovaryum Kanseri	5
2.1.1. Epitelyal Over Kanserinin (EOC) Histotipleri ve Patogenezi.....	5
2.1.2. Epitelyal Ovaryum Kanseri - Hastalık Biyolojisi	6
2.1.3. Epitelyal Ovaryum Kanseri -Tedavi ve Prognoz	10
2.1.3.1. Tanı, Tedavi ve Direnç.....	10
2.1.3.2. Prognoz - Anahtar Belirteçler ve Moleküler Alt Tipler	11
2.2. Arı Sütü	12
2.2.1. Arı Sütü İçeriği.....	12
2.2.2. Arı Sütünün Antioksidan ve Nöroprotektif Etkileri.....	15
2.2.3. Arı sütünün Enflamasyon ve Oksidatif Stres ile İlişkisi	16
2.2.4. Arı Sütünün Üreme Sistemi Üzerine Etkileri.....	19
2.2.5. Östrojenik Etki	20
2.2.6. Arı Sütü ve Kansere İlişkisi	22
2.2.6.1. Anti kanser etkisi.....	22
2.2.7. Arı Sütünün Kansere Tedavisine Bağlı Toksikiteye Karşı Etkileri	25
2.2.8. Arı Sütünün Apoptoz ve Proliferasyon ile İlişkisi	27
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	28
3.1. Deneysel Prosedür.....	28
3.1.1. Hücre Canlılığı Testi	28
3.1.2. İmmünohistokimyasal Analiz	29
3.1.3. İmmünohistofloresan Boyama	30
3.1.4. TUNEL Yöntemi.....	31

3.2. Değerlendirme.....	32
3.3. İstatistiksel Analiz.....	32
4. BULGULAR	34
4.1. Hücre Canlılığı Testi	34
4.2. İmmunositokimyasal ve İmmunfloresan Bulgular.....	34
4.2.1 Hücre Proliferasyon Bulguları	34
4.2.2. Apoptozis Bulguları	40
4.2.2.1. Aktif Caspase-3 ve aktif PARP-1R'ün İmmunositokimyasal ve İmmunfloresan Bulguları	40
4.2.2.2.TUNEL Bulguları.....	51
5.TARTIŞMA ve SONUÇ	54
6. KAYNAKLAR	58
7. SİMGELER VE KISALTMALAR	75
8. TEŞEKKÜR	78
9. ÖZGEÇMİŞ.....	79

TÜRKÇE ÖZET

Arı sütü, antitümörük, antibakterial, antiallerjik, antikanserojenik ve immünomodülatör gibi pek çok biyolojik aktiviteye sahip doğal bir birleşiktir. Ovaryum kanseri, en sık görülen kanser türleri arasında dördüncü sırada yer almakta ve özellikle epitelyal over kanseri, tüm ovaryum malign hastalıkların yaklaşık % 90'ını oluşturmaktadır.

Sunulan çalışmanın amacı, arı sütünün farklı doz ve sürelerinin, epitelyal ovaryum kanserleri içinde görülme sıklığı en fazla olan seröz tipte epitelyal over kanseri üzerine proliferatif veya apoptotik etkilerinin araştırılmasıdır.

Bu amaçla, Skov-3 insan over adenokarsinoma hücre soyundaki hücreler, McCoy besiyerinde çoğaltıldı ve 6'lı well platelere ekildi. Arı sütünün stok solüsyonu hazırlandı (1000mg arı sütü 10ml distile suda çözdürülerek) ve hazırlanan stok çözeltiden 1mg/ml, 5mg/ml, 10mg/ml, 20mg/ml ve 50mg/ml arı sütü dozları medyum içine eklenerek 24, 48 ve 72 saat boyunca inkübe edildi. Arı sütü uygulaması sonrasında, yapılan hücre canlılık testini (Tripan Blue) takiben, arı sütünün proliferatif etkisini belirlemek amacıyla Ki-67, apoptotik etkisini belirlemek amacıyla aktif caspase-3 ve aktif PARP-1R ifadeleri immunositokimyal ve immunfloresan yöntemle incelendi. Ayrıca apoptozisin belirlenmesi için kullanılan TUNEL yöntemi ile immunositokimyasal ve immunfloresan bulgular desteklendi.

Deneylerin sonucunda, arı sütünün 1mg/ml ve 24 saat uygulamasının hücre proliferasyonu ve apoptozis üzerine etkili olmadığı, ancak genel olarak 50 mg/ml'lik 72 saat arı sütünün kanser hücrelerinde proliferasyonu inhibe ettiği, apoptozisi ise indüklediği belirlendi.

Sonuç olarak, ovaryum kanseri üzerine alternatif bir tedavi olarak arı sütünün, gerek monoterapik gerekse kombine kullanımının yeni deneysel protokollere temel oluşturabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Sözcükler: Apoptozis, Arı sütü, Ovaryum kanseri, Proliferasyon

İNGİLİZCE ÖZET

Effects of Royal Jelly on Ovary Cancer Cells Proliferation and Apoptosis

Royal jelly is a natural compound with many biological activities such as antitumor, antibacterial, antiallergic, anticarcinogenic and immunomodulatory. Ovarian cancer ranks fourth among the most common cancer types, and especially epithelial ovarian cancer accounts for approximately 90% of all ovarian malignant diseases.

The aim of the present study is to investigate the proliferative or apoptotic effects of different doses and durations of royal jelly on serous type epithelial ovarian cancer, which is the most common epithelial ovarian cancer.

For this purpose, cells of the Skov-3 human ovarian adenocarcinoma cell line were grown in McCoy medium and seeded in 6-well plates. Royal jelly was prepared as a stock solution (by dissolving 1000mg royal jelly in 10ml distilled water) and 1mg/ml, 5mg/ml, 10 mg/ml, 20 mg/ml and 50 mg/ml royal jelly doses from the prepared stock solution were added to the medium for 24, 48 and 72 hours. incubated. After the application of royal jelly, after the cell viability test (Tripan Blue), Ki-67 to determine the proliferative effect of royal jelly, active caspase-3 and active PARP-1R expressions to determine its apoptotic effect were examined by immunocytochemical and immunofluorescence methods. In addition, immunocytochemical and immunofluorescent findings were supported by the TUNEL method used for the determination of apoptosis.

As a result of the experiments, it was determined that 1mg/ml and 24 hours application of royal jelly did not have any effect on cell proliferation and apoptosis, but generally 50 mg/ml royal jelly for 72 hours inhibited proliferation in cancer cells and induced apoptosis.

As a result, it is thought that the use of royal jelly as an alternative treatment for ovarian cancer, both monotherapeutically and in combination, can form the basis for new experimental protocols.

Key words: Apoptosis, Royal jelly, Ovarian cancer, Proliferation

1. GİRİŞ

Kanser, köken aldıkları hücre tiplerine bağlı olarak değişik davranışlar gösteren, yüze yakın sayıda kompleks hastalıkları kapsayan, hücrelerin kontrolsüz büyüme eğilimi ve anormal yayılımını tanımlamak için kullanılan bir terimdir. Kanser, insan sağlığını tehdit eden ölüm nedeni olarak, kardiyovasküler hastalıklardan sonra ikinci sırada yer almaktadır (Özlük, Oytun, & Güneç, 2017). Bu kanser türlerinden biri olan ovaryum kanseri, kadınlarda en sık görülen kanser türleri arasında dördüncü sırada yer almakta ve yüksek ölüm oranları nedeniyle klinikte önem taşımaktadır (Liu, Liu, Gong, & Guo, 2018; Shi, & Wang, 2018). Over kanserleri, epitelyal over kanserleri (EOC), gonadal stromal tümörleri ve germ hücre tümörleri olmak üzere 3 grupta sınıflandırılmaktadır. Epitelyal over kanseri, tüm ovaryum malign hastalıklarının yaklaşık % 90'ını oluşturmakta ve jinekolojik kanserlerin önde gelen ölüm nedenlerinden biridir (Choi, Wong, & Huang, 2007; Zhang, Ahmed, & Riley, 2005). Epitelyal over kanserleri, üreme sisteminde bulunan hücre tiplerine göre; seröz (insidans: 7/10), müsinöz (insidans: 1/10), endometrioid (insidans: 1/20), şeffaf hücre (insidans: 3/100) ve transisyonel hücre (insidans: 1/10) olmak üzere beş grupta sınıflandırılır (Al-Alem, & Curry, 2015). Tedavisi ise, cerrahi ve kemoterapi kombinasyonuna dayanmaktadır. İleri evre over kanseri hastalarının çoğunda cerrahi sonrası kullanılan kemoterapik ilaçlara karşı hastada direnç gelişmesi ve zaman içinde tümör rekürrensi oluşmaktadır (Shi, & Wang, 2018).

Tedavi esnasında kanserli hücrelerin çevre dokulara invazyonu, kemoterapik ilaçlara karşı hastalarda direnç gelişmesi ve zaman içinde tümör rekürrensi gibi durumlar, araştırmacıları kemoterapik ajanların yanında ya da öncesinde koruyucu olabilecek güçlü antioksidan, antitümörük ya da antikanserojenik özelliklere sahip doğal bir bileşik kullanım arayışına sevk etmektedir. Antioksidan ve antosiyanin özelliklere sahip *Aronia melanocarpa* (siyah kuş kirazı) meyvesinin kolon kanserinde antiproliferatif etkilere neden olduğu (Bermúdez-Soto, Tomás-Barberán, & García-Conesa, 2007; Jurikova, Mlcek, & Skrovankova, 2017), *Hypericum olympicum* (Uludağ kantaronu) ve *Hypericum adenotrichum* (Kızılcık otu) türlerinin ise insan akciğer kanseri hücre hatlarında (A549 ve PC3) sitotoksik, genotoksik ve apoptotik özellikler gösterdiği bildirilmektedir (Aztopal, Erkisa, Celikler, Ulukaya, & Ferda Ari, 2016).

Son zamanlarda, arı sütünün, antitümörük (Bincoletto, Eberlin, & Figueiredo, 2005; Nakaya, Onda, & Sasaki, 2007), antiviral (Stocker, Schramel, & Kettrup, 2005), antibakterial (Bachanova, Klaudiny, & Kopermicky, 2002; Fratini, Cilia & Mancini, 2016), antialerjik (Arzi, Olapour, & Yaghooti, 2015; Mannoor, Shimabukuro, Tsukamoto, Watanabe, & Yamaguchi, 2009), antikanserojenik (Yang, Chou, & Widowati, 2018), immünomodülatör (Gasic ve ark., 2007; Sver ve ark., 1996), östrojenik (Abd-Allah, 2012; Ghanbari, Khazaei, & Khazaei, 2018) ve antidiabetik (Nomura ve ark., 2007) gibi pek çok biyolojik aktiviteye sahip olduğu bildirilmektedir. Arı sütü, kraliçe bal arısı (*Apis Mellifera*) larvalarının seçkin besinleri olup yaşamlarının altıncı ve on ikinci günleri arasında, işçi bal arılarının hipofarengal ve mandibular bezlerinden salgılanır (Schmid, 1996 & Tamura ve ark., 2009). Arı sütü, visküz yapıda, kendine has bir kokuya, yakıcı bir tada sahip ve kemik renginde bir maddedir. Kimyasal olarak arı sütü, %50-60 su, % 18 proteinler (Glutamik asit, Aspartik asit, Serin, Lösin, Fenilalanin, Tirozin, Treonin, Lizin, Valin, Glisin, Metiyonin, İzolösin, Prolin, Sistin), % 15 karbonhidrat (Fruktoz, Glukoz, Sükroz), %3-6 lipitler ve diğer yağ asitleri %1.5 mineral (Potasyum, Kalsiyum, Magnezyum, Çinko, Demir, Bakır, Sodyum, Selenyum) ve çok sayıda vitamin (Tiamin, Riboflavin, Pantotenik asit, Pridoksin, Niasin, Folik asit, İnositol, Biotin) içerir (Sabatini ve ark., 2009). Ayrıca arı sütü, majör ve eşsiz bir yağ asidi olan diğer arı ürünlerinde (propolis, polen) bulunmayan 10-hidroksi-2-dekenoik asit (10-HDA) içermektedir. 10-HDA'nın anti-tümör (Izuta ve ark., 2009), anjiyogenez inhibisyonu (Izuta ve ark., 2009) ve immünomodülatör aktiviteler (Sugiyama, Takahashi, & Mori, 2012) gibi pek çok potansiyel farmakolojik etkileri bulunmaktadır. İnsan kolon kanser hücrelerine uygulanan 5 mM'lik 10-HDA dozunun sitotoksik etkili olduğu ancak, 3 mM'lik konsantrasyonun antikanserojenik bir etki gösterdiği bildirilmektedir (Yang ve ark., 2018). Pankreas kanser hücreleri üzerinde ise 100 mg/ml ve 50 mg/ml 10-HDH dozlarının sitotoksik etkili, ancak 25, 12.5, 6.25 ve 3.125mg/ml dozlarının, yüksek dozda doxorubicin'nin sitotoksik etkilerini baskıladığı belirtilmektedir (Abandansari ve ark., 2018). Ayrıca Filipič ve arkadaşları arı sütü ve interferon-alfa (*HuIFN-αN3*) kombinasyonunun, insan kolorektal adenokarsinom hücrelerinde (*CaCo2*) antiproliferatif bir etki gösterdiğini gözlemişlerdir (Filipič ve ark., 2015). MCF-7 kanser hücreleri üzerine, arı sütünün

diğer kemotrepatik ilaç kombinasyonlarıyla yapılan pek çok çalışma bulunmaktadır. Arı sütü ve Bisphenol A (Nakaya ve ark., 2007), ayrıca arı sütü ve Tamoxifen (Mishima ve ark., 2005) ile kombinasyonların MCF-7 kanser hücrelerinin proliferasyonunu baskıladığı bildirilmektedir. Glioblastoma multiform (U87MG) hücre hattı ile yapılan bir başka çalışmada, 30 mg / mL arı sütünün 20 mM temozolomid (TMZ) ile kombinasyonunun, kanser hücrelerinde DNA sentezini inhibe ettiği gösterilmiştir (Borawska ve ark., 2014). In vivo yapılan bir çalışmada ise, fibrokarsinomali deney hayvanlarına 100, 200 ve 300 mg/kg dozlarında oral yolla verilen arı sütünün, kontrol grubuna oranla deney grubunda tümör boyutlarını küçülttüğü (Shirzad, Kordyazdi, Shahinfard, & Nikokar, 2013), ayrıca arı sütünün lösemi hücreleri üzerinde terapötik etkileri olduğu belirtilmiştir (Taniguchi ve ark., 2003). Bincoletto ve arkadaşları, Ehrlich-Lettre asit karsinomlu farelere 500, 1000 ve 1500 mg / kg'lık dozlarda 33 gün boyunca uygulanan arı sütünün, hem anti-tümörük etkili olduğunu hem de vücut bağışıklık sistemini modüle ettiğini bildirmişlerdir (Bincoletto ve ark., 2005).

Arı sütünün kanser hücreleri üzerine olumlu etkilerinin yanı sıra, reproduktif sistemde de oosit ve sperm kalitesini arttırarak hem dişi hem de erkeklerde fertilitiyi olumlu yönde etkilemektedir (Lewis, 2004). Kridli ve arkadaşları koyunlarda yaptıkları bir çalışmada, arı sütünün östrojenik etkisiyle dişi fertilitesinde önemli bir rol oynadığını (Kridli, Husein, & Humphrey, 2003), diğer bir çalışmada ise arı sütünün sperm hacmi, spermatozoon mobilitesi ve konsantrasyonunu arttırarak spermatogenezisi indüklediği belirtilmiştir (Gorpichernko & Gurjenko, 2013). Arı sütü, immatur dişi sıçanlarda ovaryum hormon seviyelerini etkileyerek, progesteron/östrojen seviyelerini arttırır ve follikülogenezisi indükler (Ghanbari ve ark., 2018). Bununla birlikte, oosit olgunlaşması üzerinde de arı sütünün olumlu etkileri bulunmaktadır (Abd-Allah, 2012).

Son yıllarda gerek reproduktif sistem üzerine gerekse farklı türlerdeki kanserlerin tedavisinde kullanılan arı sütünün, ovaryum kanser hücreleri üzerine etkisi ile ilgili bir çalışmaya rastlanmamıştır. Dolayısıyla sunulan tez çalışmasının amacı, ilk kez ovaryum kanser hücre hatlarından biri olan Skov-3 üzerine arı sütünün süre ve doza bağımlı etkilerini hem proliferatif bir belirteç olan Ki-67, hem de

apoptotik parametreler göz önüne alınarak apoptoz belirteçlerinden aktif caspase-3, aktif PARP-1R ve TUNEL yöntemi aracılığıyla belirlemektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Ovaryum Kanseri

Ovaryum kanseri, gelişmiş ülkelerdeki kadınlarda kansere bağlı ölümlerde dördüncü sırada yer almaktadır. On yıllık sağkalım olasılığı %35'in altında olan ovaryum kanseri jinekolojik maligniteler arasında en yüksek vaka/ölüm oranına sahiptir (Baldwin ve ark., 2012; Coleman ve ark., 2011). Ovaryum kanserinin erken teşhisi nadirdir ve vakaların %75'inden fazlası yalnızca evre III veya IV'te rapor edilmektedir. Bu nedenle hastalık, jinekolojik kanserler arasında en yüksek ölüm oranlarından biri ile karşımıza çıkmaktadır (Coleman ve ark., 2011). Bunun nedeni, çoğunlukla erken semptomların klinik olarak spesifik olmaması ve rahim ağzı kanseri (pap smear), prostat kanseri (prostat muayenesi ve prostat spesifik antijen için kan testi) ve meme kanseri (mamogramlar) için mevcut olanlar gibi uygun tarama testlerinin bulunmamasıdır. Ayrıca ovaryum tümörleri, hastalar arasında histoloji ve patogeneze geniş heterojenlik gösterir. Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) sınıflandırmasına göre, çoğu ovaryum tümörü normal olarak köken aldıkları anatomik dokuya göre üç ana kategoriye ayrılmıştır;

- Epitelyal over kanserleri (EOC)
- Gonadal stromal tümörleri ve
- Germ hücre tümörleri (Kaku ve ark., 2003).

2.1.1. Epitelyal Over Kanserinin (EOC) Histotipleri ve Patogenezi

Klinik olarak rapor edilen ovaryum kanser vakalarının büyük çoğunluğu, ovaryum yüzey epitelinden (OSE) kaynaklanmaktadır. Epitelyal over kanserleri, üreme sisteminde bulunan hücre tiplerine göre; seröz (insidans: 7/10), müsinöz (insidans: 1/10), endometrioid (insidans: 1/20), şeffaf hücreli (insidans: 3/100) ve transisyonel hücre (insidans: 1/10) olmak üzere beş grupta sınıflandırılır (Al-Alem & Curry, 2015; Bast, Hennessy, & Mills, 2009).

Seröz tipteki ovaryum kanseri, primer tümörün ilerlemesine bağlı olarak klinik olarak dört aşamada sınıflandırılır;

Evre I; kanser büyümesinin bir veya her iki ovaryumda sınırlı olduğu zamandır.

Evre II; kanserin pelvik bölgeye yayılmasını içerir.

Evre III; pelvisin ötesinde karın zarına ve periton boşluğu içindeki organlara ve/veya lenf düğümlerine tümörün ilerlemesini içerir.

Evre IV: lokal ve viseral organlara yaygın metastazın gözleendiği seröz ovaryum kanserinin en ileri evresini içerir (Bast ve ark., 2009; Morrison, 2005; Vang, Shih, & Kurman, 2009).

Seröz ovaryum kanserinin alternatif bir sınıflandırması; patolojisine, genetik değişikliklerine ve ilerlemesine dayanmaktadır. Çoğunlukla adenofibromlardan veya düşük malignite potansiyeline sahip (LMP) tümörlerden kaynaklanan düşük dereceli seröz karsinomlar (LGSC'ler) daha az mitotik figürlere sahipken, yüksek dereceli seröz karsinomlar (HGSC'ler), çok sayıda mitotik figüre sahip olup, hızla metastatik hastalığa ilerler ve nispeten daha yüksek bir ölüm oranına sahiptir (Auersperg ve ark., 1998; Vang ve ark., 2009). LGSC'ler çoğunlukla invaziv değildir ve yüksek dereceli tümörlerden daha iyi sonuçlara sahiptir. HGSC'ler, bildirilen tüm seröz ovaryum kanseri vakalarının yaklaşık üçte birini ve tüm ovaryum neoplazmalarının yaklaşık %50'sini oluşturur (Coleman ve ark., 2011; Kaku ve ark., 2003).

Genetik olarak, LGSC'ler, iyi huylu durumdan kötü huylu duruma yavaş geçişlerinde kademeli bir somatik mutasyon birikimi gösterir. Bu mutasyonlar en yaygın olarak büyüme kontrolünde ve hücre bölünmesinin düzenlenmesinde rol oynayan K-Ras (Kirsten rat sarcoma virus), BRAF (v-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1) ve PPP2R1A (Protein Phosphatase 2 Scaffold Subunit Aalpha) yollarında gözlenir (Shih ve ark., 2011). Öte yandan HGSC'ler, çoğunlukla tümör baskılayıcı p53 (Tp53) veya meme kanseri duyarlılık proteinleri tip 1 ve II (BRCA1 / BRCA2) DNA onarım yollarındaki mutasyonlardan şekillenir (Crum ve ark., 2007; Geisler, Hatterman-Zogg, Rathe, & Buller, 2002; Tone ve ark., 2008). Ayrıca teşhis edilen tüm HGSC vakalarının %10'u kalıtsal BRCA1/BRCA2 germ hattı mutasyonlarından kaynaklanmaktadır (Risch ve ark., 2006).

2.1.2. Epitelyal Ovaryum Kanseri - Hastalık Biyolojisi

Baslangıç

Seröz yumurtalık kanserinin kökeninde ve başlamasında, anatomik olarak farklı, ancak birbirine yakın bölgeler rol oynamaktadır.

Ovaryum yüzey epiteli (OSE), uzun süredir seröz yumurtalık kanserinin en yaygın kaynağıdır. Bunun nedeni OSE'nin ovulasyonu takiben, ovaryum yüzeyindeki yarayı örtmek için tekrarlayan büyüme ve onarım döngüleridir, bu da malign dönüşüme yol açan iyi huylu kist oluşumuna neden olur (Auersperg, Edelson, Mok, Johnson, & Hamilton, 1998). Buna karşılık, fallop epiteli, tamamen farklılaşmış tek katlı silli, prizmatik epitel hücre tabakasıdır. OSE gelişimsel olarak sölomik epitelden köken alırken, buna yakın uterus, serviks ve fallop tüpleri, mezodermden kaynaklanan paramezonefrik kanallardan köken alır. Buna rağmen OSE'den köken alan ovaryum kanserinin histolojisi, normal fallop tüpü ve endometriyumdaki hücrelere benzerdir, bu da basit epitel hücrelerinin paramezonefrik kanaldan köken alan dokuların epitellerine malign olarak dönüşümüdür (Dubeau, 2008).

Diğer bir teori ise, dinamik ovulasyon sürecinin OSE'de fallop türevli hücrelerin birikmesine yol açmasıdır, bu da daha sonra iyi huylu inklüzyon kistleri oluşturmaya devam eder ve ardından maligniteye yol açar (Kurman, & Shih, 2010).

İlerleme

Epitelyal over kanserinin klinik aşamalar boyunca ilerlemesi, genellikle meme, prostat ve kolon karsinomlarında yaygın olarak gözlenen klasik hematogen ve lenfatik metastaz yollarından farklı bir biyoloji gösterir. Spesifik olarak, kanser hücrelerinin tek hücreler veya malign asitler olarak doğrudan periton boşluğuna yayıldığı düşünüldüğünde, organize çok aşamalı intravazasyon ve ekstravazasyon süreci EOC'de daha az önemlidir (Gupta & Massague, 2006; Cannistra, 2004; Dubeau, 2008). Ovaryum kanseri periton boşluğunun doku ve organlarında etkili bir şekilde yayılır ve büyürken, viseral organlara ilerleme, çoğunlukla çok ileri evre IV hastalarda ortaya çıkan ancak nadir görülen bir durumdur (Bast ve ark., 2009; Rosen ve ark., 2009). Hematojen metastaz, EOC metastazının ilk yolu olmasa da, EMT (epitelyal-mezenkimal geçiş) metastatik ilerleme için çok önemlidir. EMT, gelişme ve kanserin merkezinde yer alan karmaşık ve dönüştürücü bir süreçtir. Normal veya dönüştürülmüş epitel hücrelerinin hücre-hücre yapışmasını ve apikal-bazal polaritesini kaybetmesi ve hücre hareketliliği, ve apoptoza karşı direnç kazanmasıyla sonuçlanan bir dizi moleküler ve hücresel olaydan oluşur (Kalluri & Weinberg, 2009). Dönüştürülen hücreler, geçirdiği moleküler değişiklikleri temsil eden

karakteristik bir "fibroblastik" veya "mezenkimal" şekle bürünür. Bunlar spesifik olarak E-cadherin'in ifadesi gibi önemli epitelyal özelliklerin kaybını ve N-cadherin, vimentin ve fibronektin gibi mezenkimal belirteçlerin eş zamanlı kazanımını içerir (Christiansen & Rajasekaran, 2006; Guarino, Rubino, & Ballabio, 2007).

Mikroçevrenin, çeşitli solid epitelyal kanser formlarında EMT sürecini tetiklemedeki rolü gösterilmiştir (Lee, Dedhar, & Erik, 2006; Vergara ve ark., 2010). Özellikle TGFβ (Dönüştürücü Büyüme Faktörü Beta) sinyal yolu ve bununla ilişkili sitokinler, kanser patogeneğinde EMT'nin indükleyicileri olarak kapsamlı bir şekilde araştırılmıştır (Massague, 2008; Xu, Lamouille, & Derynck, 2009). Ayrıca, gelişen solid tümörlerin çekirdeklerinde EMT'yi tetikleyebilen bir süreç olarak hipoksinin rolü, çeşitli kanser türlerinde de gösterilmiştir (Kalluri, & Weinberg, 2009). Spesifik olarak, tümör damarlarındaki anjiyojenik stres veya terapötik obliterasyon nedeniyle tümör çekirdeklerindeki hipoksik koşullar, hipoksi ile indüklenebilir büyüme faktörü 1 alfa (HIF-1α), VEGF (Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü) ve PDGF (Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktör) gibi proanjiyogenik moleküllerin yukarı regülasyonunu işaret eder, bu da tümör hücrelerinin EMT'sini ve hızlı yayılmasını sağlar (Tsai & Wu, 2012). EOC'nin evre I/II'den evre III'e ilerlemesi, solid tümör kapsüllenmesinin bozulmasına ve tümör hücrelerinin hücre sel agregatlarının yayılmasına ilişkin anahtar süreci içermektedir. Bu nedenle, EOC bağlamında EMT, hücre-hücre ve hücre-matris yapışmasını düzenleyen dezmozomların gevşemesine izin vererek hücrelerin hareketli ve istilacı olmasının yolunu açması bakımından önemlidir. Genel olarak, asit sıvısında yayılan kanser hücrelerinde E-cadherin ekspresyonunun ya kaybolduğu ya da birincil tümör içindeki hücrelerden önemli ölçüde daha düşük olduğu gösterilmiştir. Düşük E-cadherin ekspresyonuna sahip EOC hücreleri daha istilacıdır (Veatch, Carson, & Ramakrishnan, 1994). Ek olarak, EOC hastalarında E-cadherin kaybı, zayıf sağkalımı öngörmektedir (Darai ve ark., 1997).

Peritonda malign asit hücrelerin varlığı ovaryum kanserinin bir başka benzersiz klinik özelliğidir ancak asitin ikincil organlara ilerlemiş daha ileri bir hastalığın belirtisi olup olmadığı veya gerçekten de birincil tümörden ilk yayılma için bir biyobelirteç olup olmadığı açık değildir. Ayrıca, tek tek yayılmış hücrelerin sferoidler oluşturmak için bir araya gelip toplanmadıkları veya hücrelerin toplu kümeler halinde ayrılıp ayrılmadığı da kesin değildir (Cannistra, 2004). Proteolitik

aktivite, kanser hücrelerinin, ovaryum yüzey epitelindeki bazal membrandan ayrılmasında da oldukça önemlidir. MMP'ler (matriks metalloproteinaz), özellikle MMP-2 ve MMP-14, bu proteolitik bozunma sürecinin belirteçleri olarak gösterilmiştir. MMP-2, EOC hücrelerinin kültürlerinden ziyade sferoidlerde ifade edilirken (Davidson ve ark., 2001), aktive edilmiş MMP-14'ün, matriksin bozulmasına katkıda bulunan $\alpha 3$ -integrini parçaladığı gösterilmiştir (Moss ve ark., 2009).

Mezotelyum, EOC metastazının tercih edilen ana hedefidir. Öncelikle, periton, bağırsak serozası, omentum ve diyafram gibi periton boşluğu organlarının bazal membranına bağlı hücreler mezotelyal tabakadır ve sonuç olarak evre III/IV ovaryum kanseri metastazının en yaygın bölgeleridir (Cannistra, 2004). Mezotelyum, fibroblastlar ve makrofajlar tarafından salgılanan kollajen tip I ve IV, laminin ve fibronektin açısından zengindir. Serbest dolaşan tek tümör hücreleri veya sferoidler, mezotelyal tabakaya yapışmak ve onu istila etmek için bu faktörleri kullanır (Kenny ve ark., 2009). Mezotelyal hücrelerden gelen vasküler hücre adezyon molekülünün (VCAM-1) tümör hücreleri üzerindeki $\alpha 4\beta 1$ integrine bağlandığı gösterilmiştir (Lössner, Abou-Ajram, Bengel, & Reuning, 2008). Ayrıca çoğu ovaryum kanseri hücresinde ifade edilen hyaluronik asit için bir hücre yüzeyi reseptörü olan CD44'ün de yapışmaya yardımcı olduğu belirtilmiştir (Cannistra, 2004).

Mezotel tabakasına ve buna bitişik organlarda yapışma ve proteolitik bozunma mekanizması erken metastazı tetiklese de, ovaryum kanserlerinde metastazının ileri aşamalara ilerlemesini yöneten süreçler tam olarak anlaşılammaktadır. Bu öncelikle, hastalığın klinik ilerlemesi ile korelasyon gösteren deneysel modellerin bulunmamasından kaynaklanmaktadır. Bazı genomik çalışmalar, ilerlemiş metastatik hastalığa ilişkin bilgiler içerir. Ovaryum kanserlerinin küresel genomik verilerini analiz eden ilk çalışmalardan biri, EOC'lerin önemli bir bölümünün, ilerledikçe çok fazla genomik değişikliğe uğramadığını ve büyük ölçüde klonal olduklarını bildirmiştir (Jacobs ve ark., 1992). Bunu takip eden çalışmalar, bu gözlem için daha fazla kanıt sağlayarak primer ve metastatik bölgelerden tümörlerin karşılaştırmalı gen ekspresyonunun (mRNA) sadece 64 (Hibbs ve ark., 2004) ve 35 (Adib ve ark., 2004) gen ile farklılık gösterdiğini belirtmiştir. Bu çalışmalar, karşılaştırmalı genomik hibridizasyon (İsrail ve ark.,

2004) ve SNP analizi (Tek Nükleotid Polimorfizmleri) (Haverty, Hon, Kaminker, Chant, & Zhang, 2009) ile daha da doğrulanmıştır. Bu, tümörlerin önemli genomik heterojenlik gösterdiği ve metastatik hastalığa doğru ilerledikçe evrimleştiği, meme kanseri (Ding ve ark., 2010; Poplawski ve ark., 2010) ve melanomdan (Riker ve ark., 2008; Turajlic ve ark., 2012) biyolojik olarak oldukça farklı olduğu görülmektedir. Bununla birlikte, EOC'deki yayılma mekanizmasının oldukça pasif olması ve tümör hücrelerinin hematojen metastaz için gerekli olan adımlardan geçmiyor oluşu, EOC'nin temel biyolojisine de uygundur.

2.1.3. Epitelyal Ovaryum Kanseri -Tedavi ve Prognoz

2.1.3.1. Tanı, Tedavi ve Direnç

Daha önce de belirtildiği gibi, EOC'nin erken tespiti nadirdir ve çoğu hasta klinik olarak evre II/III'te, lokal olarak periton, omentum, abdominal ve genital organlara metastazı sonrasında tedaviye başvurur (Cannistra, 2004). Gastrointestinal sistemin peritoneal veya omental tümörler tarafından tıkanması nedeniyle, hafif ile majör rahatsızlık durumunda ilk semptom teşhis edilir. Daha önceki yıllarda, EOC'nin 'ilk tedavisi', etkilenen yerlerdeki üreme organlarının ve kolon bölümlerinin toplu rezeksiyonu ve primer veya metastatik tümörün cerrahi müdahale ile kitlesel olarak çıkarılmasıyla sınırlı kaldı. Bu tür cerrahi müdahaleler, yalnızca periton sıvısındaki yayılmış hücrelerin karın/periton boşluğu içinde kaldığı ve ikincil organlara invazyonun yüzeysel kaldığı durumlarda etkilidir. Ek olarak, tam rezeksiyon genellikle imkansızdır ve kalıntı primer tümör daha fazla invaziv hastalığı da tetikler (Ledermann, & Kristeleit, 2010). Aslında klinik açıdan cerrahi olarak tümör rezeksiyonu (optimal debulking) primer tümörün 1cm'den küçük olduğu durumları ifade eder (Schorge, Garrett, & Annekathryn-Goodman, 2011). Bununla birlikte, bu sınırlamalara rağmen, çalışmalar, primer hastalığın cerrahi müdahalesinin hasta sağkalımını önemli ölçüde iyileştirdiğini göstermiştir (Bristow, Tomacruz, Armstrong, Trimble, & Montz, 2002; Winter ve ark., 2007). Ameliyat sonrası tedavi, platin bazlı kemoterapi ajanlarından (carboplatin veya cisplatin) ve taksanlardan (paklitaksel/taxol veya docetaxel) oluşur (Ledermann, & Kristeleit, 2010). Kemoterapinin intraperitoneal (i.p.) uygulanması yüksek derecede abdominal toksisiteye yol açsa da, III. evre EOC hastasında, intravenöz (i.v.) uygulama

yollarına kıyasla progresyonsuz sağkalımda (PFS) orta derecede bir artış göstermektedir (Armstrong ve ark., 2006). Geleneksel carboplatin/paklitaksel uygulamasının ilk yanıt oranları yaklaşık %70-80'dir; ancak hastaların büyük çoğunluğunda hastalık yeniden nüks eder. Bu nedenle, bu tür tedavi nadiren PFS'de önemli bir fark yaratırken, genel sağkalım oranları, muhtemelen daha iyi bir bakım standardı ile artmaktadır (Kyrgiou, Salanti, Pavlidis, Paraskevaıdis, & Ioannidis, 2006).

Birinci basamak tedaviden sonra hastalık tekrarının başlıca nedenlerinden biri platin direncidir (Cree ve ark., 2007). Bununla birlikte, yapılan çalışmalar, carboplatin ve haftalık paklitakselin doz fraksiyonlu tedavisinin platin direncini belirli bir dereceye kadar yenebileceğini göstermiştir (Cadron ve ark., 2007; Sharma ve ark., 2009). Platin direnci olan ve kemoterapiye toleransı düşük olan hastalarda hormon tedavisi diğer bir alternatiftir (Makar, 2000). Bununla birlikte, klinik deneyler, EOC hastalarında geleneksel kemoterapiye kıyasla, tamoksifen veya leuprorelin gibi hormon tedavilerinin önemli bir hayatta kalma avantajı sağlayamadığını göstermiştir (Du Bois ve ark., 2002; Kristensen ve ark., 2008).

2.1.3.2. Prognoz - Anahtar Belirteçler ve Moleküler Alt Tipler

Hastanın sağkalımı ile önemli ölçüde ilişkili olan epidemiyolojik fenotiplere "prognostik" faktörler denir. Yaş, parite durumu, histolojik alt tip, tümör derecesi, sunum ve/veya cerrahi sırasındaki hastalık evresi ve cerrahi debulking sonrası kalan tümör hacmi, EOC'de bağımsız prognostik faktörlerdir (Berman, 2003; Clark, Stewart, Altman, Gabra, & Smyth, 2001; Winter ve ark., 2007).

1981'de tanımlanan ve yüksek moleküler ağırlıklı bir glikoprotein olan Kansere Antijeni 125 (CA125), EOC'nin en çok çalışılan moleküler prognostik belirteçlerinden biridir (Bast ve ark., 2009). CA125'in yüksek serum ekspresyonu, ilerlemiş EOC hastalarının ~%90'ında ve evre I 'deki hastaların ~%50'sinde gözlenir (Nustad ve ark., 1996). Bu nedenle, her kemoterapi seansından sonra serum CA125'in değerlendirilmesi, standart bakım tedavisi olarak kabul edilir (Guppy & Rustin, 2002; Markman, 2003).

Sitokinler ve bağışıklık hücreleri de EOC'nin prognostik belirteçleri olarak gösterilmiştir. Spesifik olarak, serum IL-6 ve yüksek IL-6 ekspresyonu, kötü prognoz ve azalmış PFS ile ilgilidir (Lane, Matte, Rancourt, & Piche, 2011; Scambia ve ark., 1995). Yüksek CSF-1 (clony stimulated factor I) (Chambers, Kacinski, Ivins, & Carcangiu 1997) ve FGF18 (Fibroblast büyüme faktörü 18) (Wei ve ark., 2013) seviyeleri de önemli ölçüde sağkalıma yol açmaktadır. Bunların aksine, CD20 (cluster of differentiate 20), FoxP3 (forkhead box P3) ve TIA-1'in (T-cell intracytoplasmic antigen-1) bir anti-enflamatuar bağışıklık belirteci olmalarına rağmen gelişmiş ölüm oranlarıyla ilişkileri bulunmuştur (Milne ve ark., 2009).

Genomik analiz tekniklerindeki hızlı ilerlemeler, EOC'nin yeni moleküler tabanlı alt tiplerini tanımlamaya yönelik araştırmaları da kolaylaştırmıştır (Bowtell, 2010).

2.2. Arı Sütü

2.2.1. Arı Sütü İçeriği

Arı sütü, genç işçi bal arılarının hipofaringeal ve mandibular bezleri tarafından üretilen ve larvaları üç güne kadar, kraliçe arıyı ise larva ve ergin dönem boyunca beslemek için kullanılan süt beyazı renkli bir salgıdır (Munstedt, & Von Georgi, 2003). Bu özel yiyecek, kraliçe arının, işçi arılardan farklılaşması, gelişimi ve üremesinde önemli bir rol oynar. Arı sütü, benzersiz kimyasal bileşimi nedeniyle en önemli arı ürünlerinden biridir. Yoğunluğu 1.1 g/mL olan ve suda kısmen çözünen arı sütü, bekledikçe sarımtırak bir renge dönüşerek keskin kokulu ve ekşimsi bir tat alır. Optimum kalite için donmuş halde saklanmalıdır (Takenaka, Yatsunami, & Echigo, 1986).

Arı sütünün ana içeriği % 60-70 oranında su, kuru maddeleri ise karbonhidratlar, proteinler, amino asitler ve yağdan oluşur. Daha az miktarda mineral ve vitamin mevcuttur (Tablo 1).

Tablo 1. Arı sütünün içeriği (Sabatini ve ark., 2009)

	Taze	Liyofilize
Su%	60 – 70	< 5
Yağlar %	3 - 8	8 – 19
10-hydroxy-2-decenoic acid%	> 1.4	> 3.5
Protein%	9 - 18	27 - 41
Fruktoz, glukoz, sukroz%	7 – 18	-
Fruktoz %	3 -13	-
Glukoz %	4 - 8	-
Sukroz%	0.5 – 2.0	-
Kül içeriği %	0.8 – 3.0	2 - 5
pH	3.4 - 4.5	3.4 – 4.5
Asidite (ml) 0.1N NaOH/g	3.0 - 6.0	-

Proteinler ve peptitler

Arı sütünün kuru ağırlığının %17-45'ini proteinler ve peptidler oluşturur (Lercker, Caboni, Vecchi, Sabatini, & Nanetti, 1992). Bunların ise yaklaşık %97-98'ini azotlu maddeler oluşturur ve bunların yaklaşık % 60'ı suda çözünür (Lee ve ark., 1999). En belirgin amino asitler prolin ve lizindir (Boselli ve ark., 2003). Yapılan çalışmalarda 4°C'de 10 ay depolamanın ardından amino asitlerde önemli bir değişiklikte karşılaşılmamıştır ancak oda sıcaklığında depolamadan sonra prolin ve lizin içeriğinin arttığı görülmüştür (Boselli ve ark., 2003). Bunun proteolitik enzim aktivitesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Lipidler

Arı sütünün kuru ağırlığı'nın % 3-19'una sahip lipidler, proteinlerden hemen sonra gelmektedir (Boselli ve ark., 2003). Lipid fraksiyonunun % 80-90'ı serbest yağ asitlerinden oluşur, geri kalanı ise nötr lipidler, steroller ve hidrokarbonlardır (Kodai ve ark., 2008; Lercker ve ark., 1992).

Serbest organik asitlerin modelleri ve kantitatif analizi arı sütü ile ilgili kriterlerin belirlenmesinde önemlidir (Caboni, Sabatini, & Lercker, 2004).

Arı sütünün ana asiti olan 10-hidroksi-2-dekenoik (HDA), arı sütüne has olan antibakteriyal özellikte doymamış bir asittir. HDA'nın antibakteriyel ve immün aktive edici (Bachanova ve ark., 2002; Bilikova, Wu, & Simuth, 2001) bağışıklık düzenleyici, kanser önleyici (Filipič ve ark., 2015), anti-inflamatuar (Chen, Wang, Zhang, Zheng, & Hu, 2016), diyabet önleyici (Okuda ve ark., 1998), kollajen teşvik edici ve cilt koruyucu (Koya-Miyata ve ark., 2004), ülser önleyici (Fang, Zhou, Xu,

& Xing, 1994), beyin hücrelerinin farklılaşmasını kolaylaştırıcı (Hattori, Nomoto, Fukumitsu, Mishima, & Furukowa, (2007), fare deneylerinde antidepresan (Ito ve ark., 2011; Ito ve ark., 2011), antihipertansif, antihiperlipidemiye destekleyici (Izuta ve ark., 2009; Matsui ve ark., 2002), östrojenik (Moutsatsou ve ark., 2010), antiromatizmal (Yang ve ark., 2010) gibi biyoaktif etkileri bulunmaktadır.

Karbonhidratlar

Arı sütünün, ağırlıklı olarak fruktoz, glikoz ve sakkarozdan oluşan üçüncü önemli bileşenidir. Ayrıca eser miktarda maltoz, trehaloz, melibioz, riboz ve erlos da içermektedir (Lercker ve ark., 1996).

Mineraller

Mineraller, arı sütünün taze maddesinin % 0,8-3'ünü oluşturur. Ana elementler K, P, S, Na, Ca, Al, Mg, Zn, Fe, Cu ve Mn'dir ancak eser miktarda (0.01-1 mg/100 g) Ni, Cr, Sn, W, Sb, Ti ve Bi bulunmaktadır. Arı sütünün sodyum içeriği 100 g'da 11-14 mg arasında değişir (Stocker ve ark., 2005).

Vitaminler

Arı sütündeki vitamin konsantrasyonları geniş bir spektruma dağılmıştır; oldukça homojen değerler gösteren vitaminler riboflavin, tiamin, niasin ve folik asittir. Aynı şekilde piridoksin, biotin, pantotenik asit ve inositol de mevcuttur. Sadece eser miktarda C vitamini bulunurken, A, D, E ve K vitamini gibi yağda çözünen vitaminler içermez (Schmith, & Buchmann, 1992).

Az miktarda diğer bileşenler

Arı sütünde çeşitli kimyasal kategorilere ait çok sayıda küçük bileşik tanımlanmıştır. Bunlar arasında sırasıyla 25 ve 5 µg/g taze ağırlıkta biopterin ve neopterin olmak üzere iki heterosiklik madde vardır (Rembold, & Dietz, 1965). Bu bileşikler işçi arı larvalarının gıdalarında da bulunur, ancak bu konsantrasyonun yaklaşık onda biri kadardır. Tanımlanan diğer maddeler arasında serbest bazlar (adenosin, üridin, guanozin, iridin ve sitidin) olarak birkaç nükleotid, AMP, ADP ve

ATP, asetilkolin ve glukonik asit bulunmaktadır (Nagai, 2001). Ayrıca benzoik asit, az miktarda malik, laktik ve sitrik asit de içermektedir (Matsuka, 1993).

Tüm bu zengin içeriğinden dolayı arı sütünün, antioksidan ve nöroprotektif etkileri, enflamasyon ve oksidatif stres üzerine etkileri, üreme sistemi üzerine destekleyici etkileri bulunmaktadır.

2.2.2. Arı Sütünün Antioksidan ve Nöroprotektif Etkileri

Arı sütünün antioksidan ve nöroprotektif etkileri arasındaki ilişkiye odaklanan birçok araştırma bulunmaktadır. Mohamed ve arkadaşları, yaygın olarak kullanılan sentetik bir azo boyası olan tartrazininin olası nörotoksik etkisini ve arı sütünün potansiyel modülatör rolünü araştırarak, tartrazin alan sıçan grubunda antioksidan biyobelirteçlerde bozulmaların yanı sıra beyin korteksinde çok sayıda apoptotik hücre ve beyin nörotransmitter konsantrasyonunda şiddetli bir azalma gözlerken, arı sütü ile birlikte yapılan tedavinin, antioksidan biyobelirteçleri ve nörotransmitter seviyelerini iyileştirdiğini gözlemişlerdir (Mohamed, Galal, & Elewa, 2015). Aslan ve arkadaşları, arı sütünün oksidatif stres üzerindeki nötralize edici etkisi ile nörotoksisite arasındaki ilişkiyi inceleyerek, tavşanlarda deneysel omurilik yaralanmasından sonra arı sütünün ikincil nöronal hasarı azalttığını bildirmişlerdir. (Aslan ve ark., 2012). Bu çalışmada arı sütü ile tedavinin, lipid peroksidasyonu önlediği ve endojen enzimatik veya enzimatik olmayan antioksidatif savunma sistemlerinin düzeylerini arttırdığı, omurilik yaralanmasının neden olduğu apoptotik hücre sayısının önemli ölçüde azaldığını gözlemişlerdir. Ayrıca araştırmacılar, kontrol grubuna kıyasla arı sütü grubunda istatistiksel olarak daha yüksek askorbik asit seviyeleri kaydettiği için, arı sütünün oksidatif strese karşı koruyucu etkisinin askorbik asit ile ilişkili olabileceğini öne sürmüşlerdir (Aslan ve ark., 2012). Teixeira ve arkadaşları, arı sütünün antioksidan ve nöroprotektif etkilerinin varlığını ancak dirençli ve soğuk stres koşulunda gösterebileceğini öne sürmüştür. Araştırmacılar striatum bölgesinde gözlemlenen arı sütünün antioksidan aktivitesinin, ağırlıklı olarak striatumda ifade edilen reseptörler (A2A adenosin reseptörleri) aracılığıyla nöronal fonksiyonları düzenleyebilen adenosin monofosfat N1-okside (arı sütünün eşsiz bileşiği) karşılık gelebileceğini belirtmişlerdir. Bunun yanısıra bu reseptör

aktivasyonlarının apoptozu da önleyebileceğini bildirmişlerdir (Teixeira ve ark., 2017).

Arı sütünün nörolojik bozukluklar üzerindeki etkilerini araştırmak için hayvan modelleri üzerinde de çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Yaşlanma süreci nedeniyle, zayıf zihinsel performans durumu ve Alzheimer hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıklar yaşlılar arasında en yaygın olanlarıdır. Arı sütünün, nöroprotektif etkisi ile zihinsel işlevleri uyardığı düşünülmektedir. Günlük arı sütü alımının, bal arıları ve sıçanlarda hafıza yeteneklerini ve öğrenme becerilerini pekiştirdiği bildirilmiştir (Zamani, Reisi, Alaei, & Pilehvarian, 2012). Ayrıca, bu doğal ürün, nöron gelişimini de uyarak hipokampüsteki granül hücrelerinin yenilenmesini indükler ve merkezi sinir sistemini oksidatif yaralanmalara karşı korur (Cihan, Arsav, & Göcen, 2012; Hattori, Nomoto, Fukumitsu, Mishima, & Furukawa, 2010). Arı sütü alımı, menopoza bağlı nörolojik bozuklukların hafifletilmesinde de etkilidir. Bununla birlikte, kolesterol ve beta-amiloid düzeylerini azaltması, östrojen düzeylerini arttırması ve kan-beyin bariyerini iyileştirmesi, arı sütünün nöroprotektif etkileri arasındadır (Hattori ve ark., 2006). Zhang ve arkadaşları, kolesterolle beslenen tavşanlarda saflaştırılmış arı sütü peptitlerinin beta sekretazın düzenlenmesi yoluyla β -amiloid 40 ve 42'yi inhibe edebileceğini ve Alzheimer hastalığı gibi hastalıkları iyileştirmede faydalı olabileceğini, ayrıca kolin asetiltransferazın artmasıyla ilişkili olarak vücut ağırlığı, lipid, beta-amiloid ve asetil-kolinesteraz düzeylerinin azaldığını gözlemişlerdir (Zang ve ark., 2019). Pyrzanowska ve arkadaşları, yaşlı sıçanlara 8 hafta boyunca günde iki kez 50 veya 100 mg/kg arı sütü tozu gastrik gavaj yoluyla uygulayarak, kontrol gruplarına göre 50 mg/kg toz ile tedavi edilen sıçanlarda, hafıza performansında önemli bir gelişme gözlemişlerdir (Pyrzanowska ve ark., 2014). Sunulan bir diğer çalışmada, 82 günlük arı sütü alımından sonra ovaryumları alınmış sıçanlarda uzamsal hafıza ve depresyon benzeri davranışlar değerlendirilmiş ve bu doğal ürünün, hafıza performanslarını ve depresyon benzeri davranışları iyileştirdiğini gözlemlemişlerdir (Ito ve ark., 2011).

2.2.3. Arı sütünün Enflamasyon ve Oksidatif Stres ile İlişkisi

Enflamasyon ve oksidatif stres, kanser önleyici ajanın neden olduğu toksisitelerle yakından ilişkilidir (Hajra, Patra, Basu, & Bhattacharya, 2018;

Pugazhendhi, Edison, Velmurugan, Jacob, & Karuppusamy, 2018). Arı sütünün çeşitli fizyolojik ve patolojik koşullar altında inflamasyon ve oksidatif stresin düzenlenmesinde önemli rolü olduğu ve ilgili moleküllerdeki olumlu değişikliklerin arı sütü tarafından modüle edildiği bildirilmektedir (Kolaylı ve ark., 2016; Yang ve ark., 2018).

Oksidatif stres, çeşitli organ ve doku bozuklukları dahil olmak üzere patolojik durumlarla ilişkilidir (Daenen ve ark., 2018; Matsuzaki, & Ochiya, 2018) bununla birlikte antioksidanların oksidatif stresin neden olduğu hasarı önlediği tahmin edilmektedir (Schmidt ve ark., 2015; Valko, Rhodes, Moncol, Izakovic, & Mazur, 2006). Glutasyon (GSH), glutasyon peroksidaz (GSH-Px), süperoksit dismutaz (SOD) ve glutasyon-S-transferaz (GST) bilinen endojen antioksidanlar ve antioksidan parametreleridir (Schmidt ve ark., 2015).

Yapılan çalışmada, yaygın olarak oksidatif stresin biyobelirteçleri olarak kullanılan malondialdehit (MDA) düzeylerinin Cis (cisplatin/cis-diamminedichloroplatinum) ve arı sütü ile tedavi edilen sıçanların böbrek veya karaciğer dokularında, yalnız Cis ile tedavi edilenlere kıyasla önemli ölçüde düşük olduğu gösterilmiştir (Khoubnasabjafari, Ansarin, & Jouyban, 2015). Bir diğer araştırmada, farelerin böbrek dokularındaki GSH ve MDA düzeylerinde benzer anlamlı değişiklikler gözlemlenmiştir (Yapar, Cavuşoğlu, Oruç, & Yalçın, 2009). Ayrıca, arı sütünün anti-kanserojenik ajan olan bleomisin ile tedavi edilen sıçanların akciğer dokusunda, artan MDA seviyesini düşürdüğü bildirilmiştir (Zargar ve ark., 2017). Bununla birlikte, Siklofosfamid ve arı sütü uygulanan sıçanlarda, prostattaki glutasyon peroksidaz-(GSH-Px) düzeyinin yalnızca siklofosfamid uygulananlara göre anlamlı olarak daha yüksek olduğu (Abdel-Hafez, Rifaai, & Abdelzاهر, 2017), bleomisin ile tedavi edilen sıçanların akciğerinde de benzer bulguların gözlemlendiği bildirilmiştir (Zargar ve ark., 2017). Metotreksat (MTX) ile tedavi edilen sıçanlarda, MTX ve arı sütü ile kombine tedavi edilen gruptaki plazma MDA seviyeleri, yalnızca MTX ile tedavi edilen gruptakilerden önemli ölçüde daha düşük, plazma süperoksit dismutaz (SOD) ve GSH-Px seviyelerinde ise anlamlı bir artış gözlenir (Kaynar ve ark., 2012). Bu sonuçlar çeşitli kanser önleyici ajanların neden olduğu oksidatif strese karşı arı sütünün bir antioksidan olan rolünü desteklemektedir.

Sıçan prostat dokularının endotelial hücrelerinde, siklofosamid ve arı sütü ile tedavi edilen gruptaki eNOS ifadesi, siklofosamid grubuna kıyasla önemli ölçüde daha düşük bulunmuştur (Chen ve ark., 2018).

Enflamasyon ile ilgili olarak, siklofosamidin (CP) sıçanlarda c-reaktif protein (CRP) ve tümör nekroz faktörü (TNF)- α 'nın serum seviyelerini arttırdığı; bununla birlikte, tedavi öncesi, mide tüpü ile 14 gün boyunca oral arı sütü (300 mg) uygulanan ve sonrasında siklofosamidin uygulanan sıçanlarda böyle bir artış gözlenmediği bildirilmiştir (Abdel-Hafez ve ark., 2017). Bununla birlikte, bleomisin ile tedavi edilen sıçanların bronkoalveolar lavaj sıvısındaki (BALF) TNF- α seviyelerinde benzer bir sonuç bildirilmiştir (Zargar ve ark., 2017).

Arı sütünün insan ve hayvan diabetes mellitus modelinde de antioksidan etkileri belirlenmiştir. Ancak arı sütünün hem in vitro hem de in vivo modellerde bulunan antioksidan özelliklerine rağmen, etkinliğini doğrulayan insan üzerinde sadece birkaç çalışma mevcuttur. Yapılan bir çalışmada, tip 2 diyabetli gönüllü 50 kadına 8 hafta boyunca rastgele arı sütü (günde bir kez 1000 mg) veya plasebo verilmiştir. Tedavi öncesi ve sonrası glisemik ve antioksidatif/oksidatif kan parametreleri belirlenerek, plaseboya kıyasla arı sütü destekli grupta açlık kan şekeri (FBG) ve serum glikosillenmiş hemoglobin (HbA1c) seviyelerinde azalma ve artan insülin konsantrasyonu belirlenmiştir (Pourmoradian, Mahdavi, Mobasseri, Faramarzi, & Mobasseri, 2014). Benzer şekilde, tip 2 diyabetli 46 hastaya arı sütü (8 hafta boyunca 1000 mg, günde 3 kez) veya plasebo verilerek, arı sütü grubunda, plasebo grubuna kıyasla antioksidan kapasitesinin arttığı kaydedilmiştir (Shidfar ve ark., 2015).

Ayrıca diyabet hayvan modeli kullanılarak, arı sütü takviyesi sonrası oksidatif-antioksidan ve biyokimyasal parametrelerin yanı sıra histopatolojik değişikliklerde iyileşmeler gözlenmiştir (Ghanbari, Nejati, & Khazaei, 2016). Sonuçlar tip 2 diyabetin patogenezinde dolaylı olarak reaktif oksijen türlerinin rolünü doğrulamıştır. Bu durumda arı sütünün, antioksidan etkisiyle insülin direncini iyileştirebileceği ve arı sütü ile takviyenin diyabetik hastalar için faydalı olabileceği düşünülmektedir. Ancak arı sütü etkisinin diyabetik parametreler üzerindeki kesin mekanizmasını netleştirmek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç bulunmaktadır.

2.2.4. Arı Sütünün Üreme Sistemi Üzerine Etkileri

Dişilerde östrojen, genital organların farklılaşması, gelişmesi ve ovogeneziste anahtar role sahiptir (Shirwalkar, Modi, & Maitra, 2007). Arı sütü, 5 ila 15 günlük işçi bal arıları tarafından salgılanan en önemli ürünlerden biridir (Fujita ve ark., 2013). Yukarıda da belirtildiği gibi, antitümör etkisi, antioksidan aktivite ve menopoza semptomlarının ve infertilitenin iyileştirilmesi gibi sağlığı teşvik edici özelliklere sahiptir (Pavel ve ark., 2011). Arı sütünde östrojen reseptörlerine (ER'ler) β -bağlanma aktivitesi gösteren dört doymamış yağ asidi bileşiği vardır (10H2DA, 2DEA, 10HDA ve 24MET) ve bu bileşikler, gen ekspresyonu ve hücre proliferasyonunda değişikliklere yol açan ER'ler ile etkileşimlerin aracılık ettiği, östrojenik etkiler sergiler (Suzuki ve ark., 2008). Bununla birlikte, arı sütü eksojen östrojenin erkek üreme sistemi üzerindeki zararlı etkilerini engeller (Nakaya ve ark., 2007).

Yapılan çalışmalar, arı sütü tedavisinin, koyunlarda plazma progesteron seviyelerini arttırdığı, gebelik oranı ve kuzulama oranını iyileştirmede etkili olduğunu bildirmektedir (Husein, & Kridli, 2002; Kridli, & Al-Khetib, 2006). Ancak, arı sütünün üreme fonksiyonu üzerindeki etki mekanizması tam olarak açık değildir, hormon sekresyonlarını değiştirerek veya hormon benzeri bileşikler içererek etkilerini gösterebileceği düşünülmektedir (Husein ve ark., 2002). Bununla birlikte, in vitro fertilizasyon (IVM) sırasında koyun oositlerinin 10 mg/mL arı sütü ile muamelesinin, hem oosit hem de kumulus hücrelerinde antioksidan enzimlerin artmasına bağlı olarak, oosit maturasyon hızının, dölleme hızının ve blastosist oluşumunun arttığını gözlemişlerdir (Eshtiyaghi, Deldar, Pirsaraei, & Shohreh, 2016). Bal ile birlikte arı sütü tedavisinin astenozoospermiye bağlı infertilite tedavisinde etkili bir yaklaşım olabileceği de bildirilmiştir (Abdelhafiz, & Muhamad, 2008).

Sunulan bir çalışmada, olgunlaşmamış diş sığırcılara farklı dozlarda arı sütü verilmesi, serum steroid hormonlarında, vücut, genital kanal ve ovaryum ağırlıklarında dikkate değer artışa yol açmıştır. Bu sonuçlar, östrojenik etkilerinin bir sonucu olarak, arı sütünün hem ovaryum hem de genital kanallar üzerinde yararlı üreme etkisine sahip olabileceğini düşündürmektedir (Mishima ve ark., 2005). Daha önce yapılan araştırmalar, ergin olmayan kemirgenlerde diyetle östrojenik

bişiklerin tüketilmesinin dişinin cinsel olgunlaşmasını desteklediğini göstermiştir (Thigpen ve ark., 2003). Böceklerde, arı sütünde farklı biyoaktif bişiklerin, hücre büyümesini, hücrenin hayatta kalmasını ve hücre farklılaşmasını desteklediği bildirilmiştir (Ramadan, & Al-Ghamdi, 2012). Sunulan başka bir çalışmada ise, arı sütü ile tedavinin, luteal fazda progesteron seviyelerindeki bir artış ile ilişkili olarak ovulasyon oranını olumlu yönde etkileyebileceği gösterilmiştir (Husein, & Kridli, 2002).

Kridli ve arkadaşları, arı sütü uygulamasının, östrusun başlangıcına kadar olan aralıkta foliküler gelişim ve büyüme üzerindeki etkilerinin az olduğunu bildirmiştir (Kridli ve ark., 2003). Ayrıca arı sütü, folikül gelişimini ve büyümesini artırarak davranışsal östrus, lüteinizan hormon (LH) dalgalanması ve ovulasyonu uyarmak için gerekli östradiol sekresyonunu sağlamaktadır (Husein, & Kridli, 2002; Ghanbari ve ark., 2018) .

Arı sütünün antioksidan etkisi de erkek üreme sistemi üzerinde geniş çapta incelenmiştir (Ghanbari ve ark., 2016).

Ovaryumda nitrit oksit (NO) üretiminin, oositin olgunlaşmasında ve ovulasyonda önemli bir rol oynar. Ayrıca, ovulasyon sırasında NO, ovulasyon için gerekli olan folikül duvarının somatik hücreleri için bir sinyal işlevi görmektedir (Jablonka-Shariff, & Olson, 1998). Ancak sunulan bir çalışmada (Ghanbari ve ark., 2018) ergin olmayan dişi sıçanlarda serum NO seviyelerinin, arı sütü uygulamasıyla önemli ölçüde azaldığı bildirilmiştir. Serum NO'daki bu azalmanın, serumda artan Antioksidan gücü (FRAP) ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Silici ve arkadaşları, Cisplatin ile tedavi edilen sıçanlara arı sütü (100mg/kg) verilmesinin antioksidan enzim aktivitelerini (SOD), katalazı (CAT) ve glutatyon-peroksidazı arttırdığını, malondialdehit düzeylerini ise azalttığını göstermiştir (Silici, Ekmekcioglu, Eraslan, & Demirtas, 2009). Sonuçta arı sütünün uygun şekilde uygulanmasının, antioksidan ve östrojenik etkileri nedeniyle kadınlarda doğurganlığı etkileyebileceği düşünülmektedir.

2.2.5. Östrojenik Etki

Arı sütünün östrojenik etkisi hem in vitro hem de in vivo yapılan pek çok çalışmada gösterilmiştir. Bu etki, arı sütünün östrojen reseptör (ER) etkileşimiyle

sağlanır. Sıçanlarda günlük arı sütü uygulaması, ovaryum hormonlarını ve foliküler gelişimi destekleyerek doğurganlık parametrelerini iyileştirir ve oosit maturasyonunu destekler (Eshtiyaghi ve ark., 2016). Ayrıca, ekzojen progesteron ile birlikte arı sütü uygulamasının, İvesi koyunlarında gebelik oranını ve östrojenik yanıtı benzer şekilde arttırdığı gösterilmiştir (Husein, & Kridli, 2002).

Arı sütünün, hayvanlarda döl verimini arttırdığının kanıtlanmasıyla, insanlarda da doğurganlığı olumlu yönde etkileyebileceği düşünülmektedir (Abdelhafiz, & Muhamad, 2008).

Arı sütünün erkeklerde sperm, kadınlarda oosit kalitesini artırarak doğurganlığı olumlu yönde etkilediği (Lewis, 2004), kadın ve erkek infertilitesi açısından önemli olduğu bildirilmiştir (Ghanbari ve ark., 2018). Ayrıca bal ve arı sütü karışımının intravajinal uygulaması, spermlerde motiliteyi arttırmakta ve fetal membranlar üzerinde kollajen benzeri bir teşvik edici etki ile kadın infertilitesini tedavi etmedeki etkisi vurgulanmıştır (Abdelhafiz, & Muhamad, 2008).

Arı sütünün diyetlerle tüketiminin, yağ asitleri, özellikle 10-hidroksil-2-dekenoik asit içeriği nedeniyle ovogenezis üzerinde olumlu bir etki gösterdiği bildirilmiştir. Bu bileşik östrojen sentezini artırır ve serum FSH ve LH seviyelerini düzenlenmesinde rol oynar. Ayrıca, 10-hidroksil-2-dekenoik asit, yaşlanmaya bağlı follükül rezervini korunmasında ve hormonal regülasyonun sağlanmasında oldukça etkilidir (Imai ve ark., 2012).

Ovarektomi uygulanan sıçanlar üzerinde yapılan araştırma, arı sütünün ER α ve ER β 'yi bağlamak için E2 ile rekabet ettiğini, ancak afinitesinin fitoöstrojenler veya dietilstilbestrol ile karşılaştırıldığında daha zayıf olduğunu gösterdi (Lercker, Capella, Conte, Ruini, & Giordani, 1982). Ayrıca MCF-7 hücrelerinde 100 mg/ml arı sütünün, gen transkripsiyonunu artırarak VEGF ifadesini düzenlediği, 20 mg/kg dozdaki arı sütünün ise hem uterusu hem de beyinde 17 β -estradiol ifadesini etkilediği belirlenmiştir (Mishima ve ark., 2005).

Klinik bir çalışma, arı sütünün (1 g/gün) oral yoldan verilmesinin, ergin kadınlarda adet öncesi sendromun şiddetini azaltabildiğini ve yaşam kalitesini iyileştirebildiğini göstermiştir (Taavoni, Barkhordari, Goushegir, & Haghani, 2014). Ayrıca menopoza süresince ve menopoza sonrası dönemdeki kadınlarda arı sütünün,

kadınların en sık şikâyetlerinden biri olan genitoüriner sendromunu iyileştirdiği bildirilmiştir (Seyyedi, Rafiean-Kopaei, & Miraj, 2016).

Arı sütü takviyesinin amaçlarından biri de menopoza sonrası dönemde yaşam kalitesini iyileştirmektir. Sharif ve arkadaşları, yaşları 45 ile 60 arasında değişen toplam 200 kadının dahil olduğu çalışmada, 2 ay boyunca bir gruba arı sütü kapsülü (günlük 1 g), diğer bir gruba ise plasebo ilaçları vererek, 8 haftalık arı sütü alımından sonra menopoza belirtilerinin plasebo grubuna kıyasla önemli bir düşüş kaydettiğini belirlediler (Sharif, & Darsareh, 2019). Ayrıca 42 postmenopozal kadınlardan rastgele bir gruba 800 mg dekstrin, diğer bir gruba 800 mg enzim içeren arı sütü 3 ay boyunca verildiğinde, arı sütü grubunda hem kaygı düzeyi hem de sırt ağrısının plasebo grubuna göre önemli ölçüde azaldığı görülmüştür (Asama ve ark., 2018).

2.2.6. Arı Sütü ve Kansere İlişkisi

2.2.6.1. Anti kanser etkisi

Arı sütünün diğer faydalı etkileri, tümör hücrelerinin büyümesinin inhibisyonu, tümörle ilişkili anjiyogenez ve bağışıklık fonksiyonlarının aktivasyonundan oluşur. Kansere, yaşlı popülasyonda sık görülen bir patolojidir ve kansere bağlı yorgunluk, bu hastaların yaşam kalitesini daha da düşüren bir komplikasyondur. Bu durumlarda, semptomları minimum yan etki ile iyileştirmek için tamamlayıcı tıp değerli bir seçimdir. Mofid ve arkadaşları, kanser hastalarının %50'sinin kansere bağlı yorgunluk yaşadığını ve hem arı sütü hem de işlenmiş bal uygulanmasının semptomları hafifletebileceğini bildirmişlerdir. 26 hastaya bir ay boyunca günde iki kez 5 ml arı sütü, 5 ml işlenmiş bal ve bunlardan oluşan kombine tedavi uygulanmış ve araştırmanın sonucunda, bal alımının arı sütü ile desteklenmesinin kansere bağlı yorgunluğun iyileştirilmesinde daha etkili olduğu bildirilmiştir (Mofid ve ark., 2016).

Kadınlarda en sık görülen kanserler jinekolojik kanserlerdir. Menopozda ise en sık görülen kanser türü meme kanseridir ve arı sütü kanserde tamamlayıcı tedavi olma özelliğindedir. Bisfenol A (BPA), östrojenlerle yapısal bir benzerlik gösteren, dünya çapında en yaygın kimyasallardan biridir. Bu özellik, BPA'nın insan östrojeni ile ilişkili reseptör γ 'ye (ERR γ) güçlü bir şekilde bağlanmasına izin verir (Takayanagi ve ark., 2006). Bu koşullarda BPA, zamana ve doza bağlı olarak meme kanseri için

bir risk faktörüdür. Nakaya ve arkadaşları, MCF-7 hücre hatlarına arı sütü uygulayarak BPA'nın hücre çoğalmasını teşvik edici etkisini inhibe ettiğini, BPA'nın yokluğunda ise arı sütünün hücrel çoğalmayı etkilemediğini bildirmiştir. Ek olarak, arı sütünün bu anti-kanser etkilerine, östradiolün östrojen reseptörüne bağlanması yoluyla değil, hücre proliferasyonunda östradiol ile ilgili sinyalleşmenin baskılanması yoluyla aracılık etmiştir (Nakaya ve ark., 2007).

RJP₃₀, amonyum sülfat ile çökeltilerek elde edilen bir arı sütü fraksiyonudur. In vitro olarak bu fraksiyon insan servikal karsinom hücreleri (HeLa hücre soyu) için sitotoksiktir. Yapılan bir çalışmada, insan servikal karsinom hücrelerine RJP₃₀ uygulamasından 7 gün sonra, hücrel yoğunluğun yaklaşık 2,5 kat azaldığı görülmüştür (Salazar-Olivo, & Paz-González, 2005). Shirzad ve arkadaşları, 28 erkek Balb/c faresinde tümör oluşturarak hayvanlara farklı dozlarda arı sütü (100, 200 veya 300 mg/kg) uygulamışlar ve tümör boyutunun, 5. günden itibaren her 2 günde bir ölçerek, tümör boyutunda önemli bir azalma gözlemişlerdir (Shirzad ve ark., 2013).

Arı sütünün rahim ağzı kanserinde hormona bağlı anti-kanser etkisi belirsizdir, ancak başka bir arı ürünü olan arı ekmeğinin rahim ağzı kanseri hücrelerinin tümör oluşturmasını engellediği rapor edilmiştir (Sobral ve ark., 2017). Bununla birlikte, sadece arı sütü uygulamasının kanser üzerine direkt bir inhibisyon etkisinde henüz bildirilmemiştir. Sunulan bazı çalışmalar, arı sütünün astrositom, glioblastoma multiforme ve astroglia kanser hücrelerinde, tümör gelişimini baskılama eğiliminde olduğunu gösterse de, bu anti-kanser etkileri yeterli sayıda çalışma yapılmamasından dolayı birincil öncelikli olarak kabul edilemez ve arı sütü monoterapisi önerilemez (Borawska ve ark., 2014; Filipič ve ark., 2015). Bununla birlikte arı sütünün ve IFN- α 'nın kombine tedavisinin kolorektal kanser hücre hattı (CaCo-2) için anti-proliferatif bir aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Filipič ve ark., 2015).

Meme kanserinin fare modelinde yapılan in vivo bir çalışmada, oral yolla verilen arı sütünün, bir profilaktik-terapötik yöntem olarak tümör büyümesini önemli ölçüde engellediği, bununla birlikte tümör hücresi inokülasyonunun ardından verilen arı sütünün böyle bir anti-kanser etkisi göstermediği belirlenmiştir (Zhang, Shao, Geng, & Su, 2017).

Arı sütü uygulaması ve hayatta kalma arasındaki ilişki ile ilgili olarak; arı sütü uygulamasının kontrol grubu hayvanlara kıyasla fare Ehrlich asit tümör modelinde doza bağlı olarak hayatta kalma süresini uzatabileceği bildirilmiştir (Bincoletto ve ark., 2005).

Arı sütünün kendine has bileşiklerinden biri olan ve çeşitli biyolojik aktivitelere sahip 10-Hidroksi-2-Dekenoik Asitin de (10-HDA) anti-kanser etkisinden sıkça bahsedilmektedir (Makino ve ark., 2016) (Şekil 1).



Şekil 1. 10HDA'nın moleküler yapısı

Arı sütündeki 10-HDA içeriğinin %0.8-6.5 olduğu bildirilmektedir, ayrıca 10-HDA diğer arı ürünleri de dahil olmak üzere başka hiçbir doğal hammaddede tespit edilmediği için arı sütünün benzersiz bir bileşeni olarak bilinir (Honda ve ark., 2015; Kanelis ve ark., 2015; Kolayli ve ark., 2016). 10-HDA'nın lösemi ve asit tümörlerinde anti-kanser etkileri ilk olarak yaklaşık 60 yıl önce rapor edilmiştir (Townsend ve ark., 1960). Fare lösemi, 6CSHED lenfosarkom, TAS meme karsinomu ve Ehrlich karsinomlu farelerde yapılan çalışmada 10-HDA'nın dört tip malign hücrede tümör oluşumunu tamamen önlediği belirtilmiştir (Townsend ve ark., 1960). Ayrıca, 10-HDA'nın inflamatuvar fonksiyonları ve oksidatif stresin düzenlenmesinde önemli bir rolü olduğu bildirilmektedir (Borawska ve ark., 2014). Buna karşılık, daha önce de belirtildiği gibi arı sütünün meme kanser hücrelerinde Bisfenol A ile indüklenen proliferasyonu inhibe ettiğini gösteren çalışmalar olsa da, 10-HDA'nın benzer anti-proliferatif aktivite göstermediği belirtilmiştir (Nakaya ve ark., 2007). 10-HDA'nın anti-kanser etkileri veya biyolojik aktiviteleri hakkında çalışmalar yetersizdir. Bu nedenle, terapötik bir ajan olarak 10-HDA'nın faydasını ve sınırlamalarını doğrulamak için daha fazla malignite türünde, moleküler seviyelerde daha ayrıntılı bir analiz gerekmektedir.

2.2.7. Arı Sütünün Kanser Tedavisine Bağlı Toksikiteye Karşı Etkileri

Kemoterapi, tümör özgünlüğünün olmaması ve bunun sonucunda normal dokular üzerindeki etkileri nedeniyle, genellikle kemik iliği baskılanması, gastrointestinal sistem bozuklukları, böbrek ve karaciğer fonksiyon bozukluğu gibi çeşitli olumsuz olaylara yol açar. Semptomlar ve etki şiddetinin bireye bağlı olmasına karşın, sistematik kanser tedavisinin neden olduğu yan etkiler kaçınılmazdır. Anti-kanser tedavilerinin neden olduğu olumsuz olayların insidansını ve şiddetini azaltmak, kanserli hastaların yaşam kalitesi açısından büyük önem taşımaktadır. Bazı anti-kanser ajanlarının, düşük dozda uygulandıklarında bile, önemli yan etkilere neden olduğu bildirilmektedir (Khan ve ark., 2004; Porta ve ark., 2014). Bu nedenle, toksisiteyi azaltan ajanların geliştirilmesi oldukça önemlidir ve günümüzde de kanser araştırmalarının ana konularından biridir. Buna ek olarak, birçok araştırmacı, terapötik doğal maddeler ile farmakoterapiye özel olarak önem vermektedir.

Bleomisin ile tedavi edilen hastalardaki en ciddi yan etkilerden biri olan pulmoner fibroz, yalnızca yaşam kalitesinin azalmasıyla değil, aynı zamanda ölümcül solunum rahatsızlığıyla da ilişkilidir. Sıçanlarda, bronkoalveolar lavaj sıvısındaki proinflatuar ve profibrotik sitokinlerin hücre sayısı ve içeriği, intratrakeal bleomisin (7.5 IU/kg) uygulanmasıyla arttırılmıştır ancak bleomisin uygulamasından önce ardışık 7 gün boyunca arı sütünün (50 ve 100 mg/kg) oral yolla verilmesiyle tersine çevrilmiştir (Zargar ve ark., 2017). Arı sütünün ayrıca bleomisin ile tedavi edilen sıçanlarda serum testosteron seviyesini ve sperm parametrelerini iyileştirdiği de bildirilmiştir (Amirshahi, Najafi, & Nejati, 2014).

Cisplatinin sentetik spektrumlu bir anti- nörotoksikite, alopesi ve yorgunluk gibi gözlemlenen çok çeşitli yan etkileri nedeniyle klinik yararlılık açısından etkileri sınırlıdır. Bu yan etkilerden nefrotoksikite ve hepatotoksikite kanserli hastalar için ölümcül olabilmektedir (Cersosimo, 1993; Taguchi, Nazneen, Abid, & Razzaque, 2005). Sonuç olarak, Cis'in neden olduğu bu büyük olayların baskılanması, ilacın anti-kanser etkisini olumlu yönde etkileyebilir. Nefrotoksikite ile ilgili olarak yapılan çalışmalarda, deney hayvanlarında arı sütünün Cis tedavileri sırasında böbrek fonksiyonu üzerine koruyucu etkiler gösterdiği bildirilmiştir (İbrahim, Eldaim, & Abdel-Daim, 2016; Karadeniz ve ark., 2011; Silici, Ekmekcioglu, Kanbur, & Deniz,

2001). Sunulan bir çalışmada tek doz intraperitoneal Cis enjeksiyonunu (7 mg/kg) (2.15 ± 0.55 mg/dL) takiben 15 gün boyunca ardışık olarak oral yolla verilen arı sütü dozu (300 mg/kg), sıçanlarda serum kreatin seviyelerini tek başına Cis uygulananlara göre (3.15 ± 0.50 mg/dl) önemli ölçüde düşürmüştür ($p < 0.05$) (Karadeniz ve ark., 2011). Benzer sonuçların elde edildiği başka bir çalışmada, ön tedavi olarak (1 mg/kg Cis intraperitoneal uygulamasından 1 saat önce) 100 mg/kg arı sütü uygulaması tek başına verilen Cis tedavisinden sonra gözlenen üre, kreatinin ve ürik asit dahil olmak üzere serum parametrelerindeki değişiklikleri olumlu yönde etkilemiştir (İbrahim ve ark., 2016). Ayrıca, arı sütünün bir sıçan modelinde Cis'in neden olduğu testis hasarını da baskıladığı bildirilmiştir (Silici ve ark., 2009). Bu çalışmada, arı sütü verilmesi malondialdehit seviyesinde azalmaya ve süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon-peroksidaz aktivitelerinde artışa yol açtığı; ek olarak, arı sütünün antioksidan aktiviteleri nedeniyle Cis'in neden olduğu sperm toksisitesini baskılayabileceği bildirilmiştir (Silici ve ark., 2009).

Bir başka anti kanser ajanı olan Siklofosfamid, kanser tedavisinde sıklıkla kullanılan sitotoksik etkili alkilleyici bir ajandır. Bir sıçan modelinde, arı sütü, siklofosfamidin neden olduğu prostat kanseri hasarına (Abdel-Hafez ve ark., 2017) ve folat yoluyla anti-kanser etkileri olan MTX tarafından indüklenen ince bağırsağa verilen histolojik hasara karşı sıçanlarda antagonist aktivite ile önemli koruyucu etkiler göstermiştir (Kaynar ve ark., 2012).

Anti kanser aktivite gösteren bir başka bileşik Paklitaksel, Pasifik porsuk ağacı *Taxus brevifolia*'dan ekstrakte edilir ve mikrotübüllerin ayrılmasını engellemek için tübülün bağlanması yoluyla aktivitesini gösterir. Geleneksel tedaviler için yaygın olarak ve çeşitli malignite türlerinin tedavisi için klinik denemelerde kullanılır (Miyata ve ark., 2015). Arı sütü uygulamasının yaygın ödem, kanama, tıkanıklık, hiyalin eksüdatları ve nekroz gibi paklitaksel kaynaklı histopatolojik hasara ve kreatin kinaz seviyesinin kardiyak biyobelirteçlerine karşı oksidatif ve nitrozatif stresin baskılanması yoluyla koruduğu bildirilmektedir (Malekinejad ve ark., 2016).

Ancak, hayvan modellerinde moleküler hedefli terapi veya immün kontrol noktası inhibitörleri tarafından indüklenen toksisitelere karşı arı sütünün koruyucu etkileri hakkında yeteri kadar bilgi bulunmamaktadır.

2.2.8. Arı Sütünün Apoptoz ve Proliferasyon ile İlişkisi

Apoptoz, hücre büzüşmesi, nükleer parçalanma, kromatin yoğunlaşması ve kromozomal DNA parçalanması ile karakterize programlanmış bir hücre ölümü türüdür (Wyllie, 1997). Birçok kemoterapötik ajan türü, sadece malign hücrelerde değil, aynı zamanda normal hücrelerde de apoptozu indükler. Cisplatin, sıçanların böbrek ve karaciğerinde apoptozun önemli bir aracısı olan kaspaz-3'ün ekspresyonunu önemli ölçüde artırır. Bununla birlikte, arı sütü tedavisi böbrek ve karaciğer dokularının proksimal tübüllerinde kaspaz-3 aktivitesini azaltmaktadır (Karadeniz ve ark., 2011). Sunulan bir çalışmada, bir apoptoz inhibitörü olan Bcl-xL'nin, Cis ile tedavi edilen sıçanların böbrek ve karaciğerinde kontrol sıçanlarına göre daha düşük olduğu ve bu azalmanın, Cis ve arı sütü kombine tedavisi sürecinde geri kazanıldığı gösterilmektedir (Karadeniz ve ark., 2011). Diğer araştırmacılar, siklofosfamidinin, sıçanların prostatik asinilerinin çoğunda apoptozun uyarıcısı olan Bax'ın ekspresyonunu arttırdığını, Bax ekspresyonundaki bu artışın Cis ve arı sütünün birlikte uygulanmasıyla desteklemiştir (Abdel-Hafez ve ark., 2017). Ayrıca, Bax immünoreaktivitesinin modülasyonu aracılığı ile Cis'in neden olduğu bazı patolojik değişiklikler arı sütü tarafından baskılanmıştır (Abdel-Hafez ve ark., 2017).

Yaygın olarak hücre proliferasyonunun bir belirteci olarak kullanılan bromodeoxyuridine (BrdU) ekspresyonunun, sıçanlarda Cisplatin uygulaması ile renal tübül epitel hücrelerinde baskılandığını bildiren çalışmalara karşın bu değişikliğin diyetle alınan arı sütü uygulaması ile desteklendiği görülmüştür (İbrahim ve ark., 2016). Bu nedenle, hayvan modellerinde, arı sütü, proapoptotik aktiviteden ve birkaç normal dokuda çeşitli anti-kanser ajanlarının neden olduğu anti-proliferatif etkilere karşı koruyuculuk gösterir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Deneysel Prosedür

Hücre Kültürü ve Deneyin Uygulanması: Çalışmamızda kullanılan arı sütü B.U.Ü Arıcılık Geliştirme-Uygulama ve Araştırma Merkezinden saf olarak temin edildi. Skov-3 insan over adenokarsinoma hücre soyundaki hücreler yeterli sayıda çoğalana kadar %10 FBS ve %0,1 penicillin-streptomycin içeren McCoy (Alonso- Alconada ve ark., 2020) besiyerinde, 37 °C ve %5 CO₂ içeren inkübatörde inkübe edildi. Hücreler yeterli düzeyde çoğaldıklarında 6'lı well platelere ekilerek ve %30 yaygınlığa ulaşınca, 1000 mg arı sütü 10 ml distile suda çözdürülerek hazırlanan stok solüsyondan (Filipiç ve ark., 2015) uygun konsantrasyonlarda (1 mg/ml, 5 mg/ml, 10 mg/ml, 20 mg/ml, 50 mg/ml) medyuma eklendi. Hücreler arı sütü içeren medyumalarda 24, 48 ve 72 saat boyunca inkübe edildi.

3.1.1. Hücre Canlılığı Testi

Canlılık testi için kontrol ve deney gruplarındaki hücreler Tripsin (Gibco 25300054) ile ekili oldukları kuyucuklardan kaldırıldı ve mL'de bulunan hücre sayısı, üzerinde üçlü çizgilerle ayrılmış 16 büyük kareden oluşan 1mm² lik alan ve 0,1 mm derinliğe sahip Thoma lamı yardımıyla sayılarak 10.000 çalışma faktörü ile çarpıldı ve toplam hücre sayısı belirlendi. Tripin Blue (Sigma T6146) ile 1:1 oranında hücre süspansiyonu hazırlandı ve Thoma lamı üzerinde hücreler sayılıp canlı hücre sayısı tespit edildi.

$$\text{Toplam hücre sayısı} - \text{Ölü hücre sayısı} = \text{Toplam canlı hücre sayısı} \times 10.000$$

Toplam hücre sayısı	Toplam canlı hücre sayısı
100	x

$$\text{Hücre Canlılığı \%}$$

3.1.2. İmmunositokimyasal Analiz

Canlılık testi sonucunda arı sütü dozlarının, ovaryum kanser hücre hattı üzerindeki proliferatif ya da apoptotik etkilerinin belirlenmesi amacıyla;

-Proliferatif etkinin belirlenmesi için; proliferasyon markırlarından **Ki-67** (Lab Vision SP6) ve

-Apoptotik etkinin belirlenmesi için; apoptoz markırlarından **aktif caspase-3** (Cell Signaling ASP175-9661) ve aktif **PARP-1R** (Santa-Cruz Biotechnology, sc-23461-R) kullanılarak, farklı doz ve sürelerde arı sütü uygulanan hücrelerdeki ifadeleri immunositokimyasal yöntemle belirlendi. Ayrıca hücrelerdeki aktif caspase-3'ün ifadesi, DNA üzerindeki kırıklar ve apoptotik sinyallerin tespit edilmesi yöntemi olarak bilinen **TUNEL yöntemi** ile de doğrulandı.

İmmunositokimyasal boyamanın uygulanması için, yuvarlak lamel yerleştirilmiş 24 kuyucuklu plakaların her bir kuyucuğuna, 4×10^4 adet hücre ekildi. Hücrelerin ekilmesinden sonra hücrelerin tutunma durumları kontrol edilerek, medyumlarına farklı konsantrasyonlarda (1 mg/ml, 5 mg/ml, 10 mg/ml, 20 mg/ml, 50 mg/ml) hazırlanan arı sütü ilave edildi (Abandansari ve ark., 2018; Valiollahpoor-Amiri, Deldar, & Pirsaraei, 2016). Hücrelerin 24, 48 ve 72 saat sonra invert mikroskop altında morfolojik durumları incelendi ve hücrelerin medyumları çekilerek hücreler PBS ile yıkandı. Daha sonra hücrelere immunositokimya boyama prosedürü uygulandı (Yaba, Bianchi, Borini & Johnson, 2008).

- Yıkama (PBS) 3x5
- Yuvarlak lamelleri well platelerden çıkarma ve hücreler üste gelecek şekilde lam üzerine yerleştirme
- Tespit (Paraformaldehit (Sigma: P6148) 15dk
- Yıkama (PBS) 3x5
- Permeabilizasyon (% 0,1 Triton X-100 Sharlow TR0447) 10 dk
- Yıkama PBS 3x5
- Bloklama 20 dk (Anti-rabbit IgG /MP 7401)
- Primer Antikor (Ki-67 (1/500), Aktif caspase-3 (1/200) , Aktif PARP-1R (1/300)) 1 gece +4°C

- Yıkama (PBS) 3x5
- Sekonder Antikor (Anti-rabbit IgG /MP 7401) 30 dk
- Yıkama PBS 3x5
- 3,3'- Diaminobenzidine (DAB) (Invitrogen:00-2020) 5dk
- Zıt Boyama (Harris Hemotoksilen) 30 saniye
- Çeşme suyunda yıkama (mavileşinceye kadar)
- Distile suda yıkama 3dk
- Well platelerden yuvarlak lamelleri çıkarma
- Hızlıca seri alkollerlerden geçirme ve ksilolde parlatma
- Yuvarlak lamelleri entellan damlatılan lamaların üzerine ters kapatma
- Işık mikroskobunda değerlendirme

3.1.3. İmmunfloresan Boyama

Immunositokimyasal yöntemin sonuçlarına ek olarak arı sütü uygulanan Skov-3 kanser hücre hattında Ki-67, aktif caspase-3 ve aktif PARP-1R'ün ifadeleri immunfloresan (IF) boyama yöntemiyle de desteklendi. Bu amaçla;

Yuvarlak lamel yerleştirilmiş 24 kuyucuklu plakaların herbir kuyucuğuna 4×10^4 adet hücre ekildi. Hücrelerin tutunma durumları kontrol edildi (1-2 gün) ve medyuma farklı konsantrasyonlarda (1 mg/ml, 5 mg/ml, 10 mg/ml, 20 mg/ml, 50 mg/ml) arı sütü ilave edilerek 24, 48 ve 72 saat inkübasyon süresi sonunda hücrelere immunfloresan (IF) boyama protokolü uygulandı (Yaba ve ark., 2008).

- Yıkama (PBS) 3x5
- Yuvarlak lamelleri well platelerden çıkarma ve hücreler üste gelecek şekilde lam üzerine yerleştirme
- Tespit (Paraformaldehit (Sigma P6148) 15dk
- Yıkama (PBS) 3x5
- Permeabilizasyon (% 0,1 Triton X-100) 10 dk
- Bloklama (% 0.5 BSA sc-2323) 1 saat
- Primer Antikor (Ki-67 (1/500), Aktif caspase-3 (1/200), Aktif PARP-1R (1/300)) 1 gece +4°C
- Yıkama (PBS) 3x5

- Sekonder Antikor (Alexa Fluor 488 Conjugate 4412S (1/2000)) 1 saat karanlıkta
- Yıkama (PBS) 3x5
- Yuvarlak lamelleri Mounting Medium (DAPI-Ultracruz sc-24941) damlatılan lamaların üzerine ters kapatma
- Floresan mikroskobu altında değerlendirme

3.1.4. TUNEL Yöntemi

Hücrelerdeki aktif caspase-3 ve aktif PARP-1R'ün ifadesini doğrulamak amacıyla, DNA üzerindeki kırıklar ve apoptotik sinyallerin tespit edilmesi yöntemi olarak bilinen TUNEL (Terminal Deoxynucleotidyl Transferase Mediated dUTP Nick End Labeling) yöntemi, TUNEL Apoptozis Kit (Elabscience E-CK- A320) içerisindeki protokole göre uygulandı.

Yuvarlak lamel yerleştirilmiş 24 kuyucuklu plakaların her bir kuyucuğuna 4×10^4 adet hücre ekildi. Hücrelerin tutunma durumları kontrol edildi (1-2 gün) ve medyuma farklı konsantrasyonlarda (1 mg/ml, 5 mg/ml, 10 mg/ml, 20 mg/ml, 50 mg/ml) arı sütü ilave edilerek 24, 48 ve 72 saat inkübasyon süresi sonunda hücrelere TUNEL yöntemi uygulandı.

- Yıkama (PBS) 3x5
- Yuvarlak lamelleri well platelerden çıkarma ve hücreler üste gelecek şekilde lam üzerine yerleştirme
- %10 formaldehit ile fiksasyon 20dk
- Yıkama (PBS) 15 dk
- Proteinaz K (Oda sıcaklığı) 10dk
- Yıkama (PBS) 2X5 dk
- Triton X 100 (%0.1 lik) buz üzerinde 5 dk
- Karanlık chamber içerisinde TUNEL enziminin 1/3 oranında dilüsyon buffer ile dilusyonu (5 µl'ye 45 µl label) 37°C 1saat.
- Pozitif kontrol preparatlarına DNase uygulaması 37 °C, 10dk

- Negatif kontrol preparatlara enzim (terminal deoksinükleotidil transferaz (TdT)) ilave edilmeden sadece label solusyonunda karanlık etüv içerisinde inkübasyonu (37°C 1 saat)
- Yıkama (PBS) 2x5
- POD solüsyonu (ROCHE In Situ Cell Death Detection Kit POD 11684817910) inkübasyon 37 °C, 30 dk
- Yıkama (PBS) 2x5
- 3,3'- Diaminobenzidine (DAB) 5dk
- Zıt Boyama (Harris Hemotoksilen) 30 saniye
- Çeşme suyunda yıkama (mavileşinceye kadar)
- Distile suda yıkama 3dk
- Well platelerden yuvarlak lamelleri çıkarma
- Hızlıca seri alkollerlerden geçirme ve ksilolde parlatma
- Yuvarlak lamelleri entellan damlatılan lamaların üzerine ters kapatma
- Işık mikroskobunda değerlendirme

3.2. Değerlendirme

Her bir doz ve süre sonunda arı sütü uygulanan hücreler, immunositokimya, immunfloresan ve TUNEL boyama sonrası, bağımsız iki gözlemci tarafından değerlendirildi.

-Proliferasyon indeksin hesaplanması; Ki-67 pozitif ve negatif hücreler en az 3 lamelde rastgele seçilen 5 farklı alanda sayılarak; Ki-67 pozitif hücrelerin sayısı/total hücre sayısı x100 olarak hesaplandı.

-Apoptotik indeksin hesaplanması; TUNEL, aktif caspase-3 ve aktif PARP-1R pozitif ve negatif hücreler en az 3 lamelde rastgele seçilen 5 farklı alanda sayılarak; apoptotik hücrelerin sayısı/total hücre sayısı x100 olarak hesaplandı (Birchall, Winterford, Allan, & Harmon, 1995; Jain, Maheshwari, Alam, Mehdi, & Sharma, 2009; Macluskey ve ark., 2000).

3.3. İstatistiksel Analiz

Çalışmadan elde edilen verilerin istatistiksel analizleri SPSS 23.0 (Statistical Package For Social Sciences) programı kullanılarak yapıldı. İstatistiksel farklılıklar

Non-Parametrik Kruskal Wallis testi ile araştırıldı. Gruplar arasındaki farklılığın hangi grup ya da gruplardan kaynaklandığını belirlemek için 2'li bağımsız değişken arasında istatistiki önemi analiz eden Mann-Whitney U testi kullanıldı. Güven düzeyini göstermede $p \leq 0,001$, $p \leq 0,05$ simgeleri kullanıldı (Godbole, Srinivasaiah, & Skiena, 2007).

4. BULGULAR

Sunulan tez çalışmasında arı sütünün Skov-3 epitelyal over kanser hücre hattı üzerine gösterdiği proliferatif ve apoptotik etkiler incelenmiş olup çalışma esnasında;

-Hücre canlılığı testi (Tripan Blue ile)

-İmmunositokimya (Ki-67, Aktif caspase-3, Aktif PARP-1R)

-İmmunfloresan (Ki-67, Aktif caspase-3, Aktif PARP-1R)

-TUNEL yöntemleri uygulandı ve elde edilen sonuçlar istatistiki olarak değerlendirildi.

4.1. Hücre Canlılığı Testi

Skov-3 ovaryum kanser hücrelerine 1 mg/ml, 5 mg/ml, 10 mg/ml, 20 mg/ml ve 50 mg/ml arı sütü ilave edildi ve 24, 48, 72 saatlerde inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda tripan blue ile canlılık testleri yapıldı. Kontrol ve deney gruplarının canlılık oranları 10.000 çalışma faktörü ile çarpılarak canlılık değerleri % olarak belirlendi. Buna göre tüm grupların canlılık değerlerinin yüzdeleri Tablo 2'de belirtildi.

Tablo 2. Arı sütünün zamana ve doza bağımlı hücre canlılık değerleri (%).

Zaman/ Doz (µl)	Kontrol Mean±SE	1mg/ml Mean±SE	5mg/ml Mean±SE	10mg/ml Mean±SE	20mg /ml Mean±SE	50mg /ml Mean±SE
24 saat	79,30±2,56	80,98±3,29	81,00±3,44	83,56±2,01	79,84±2,08	80,78±3,52
48 saat	79,80±2,12	80,56±2,71	80,40±2,79	82,52±1,99	82,16±2,30	78,58±1,82
72 saat	79,00±1,18	76,88±1,32	75,56±1,92	78,52±0,73	78,06±0,74	76,94±1,66

Süreye ve doza bağımlı yapılan istatistiki değerlendirmede, tüm gruplarda doz ve süreye bağılı olarak istatistiki önem gözlenmedi ($p \geq 0,05$).

4.2. İmmunositokimyasal ve İmmunfloresan Bulgular

4.2.1 Hücre Proliferasyon Bulguları

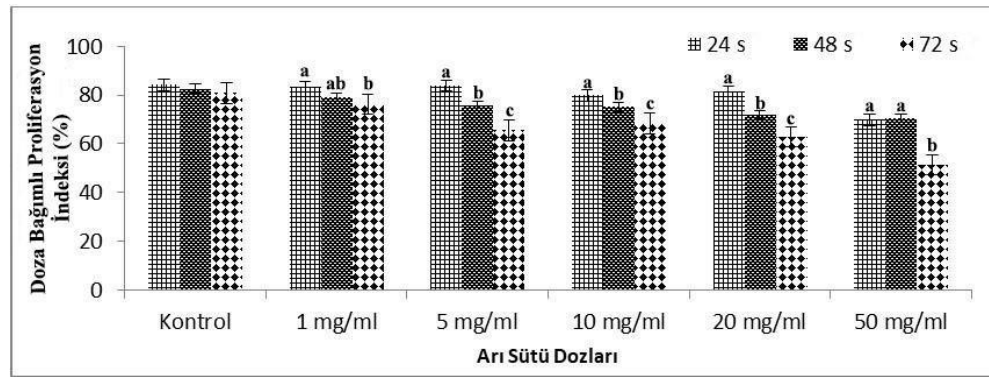
Skov-3 kanser hücre hattında arı sütünün doza ve süreye bağımlı proliferasyon indeksi Ki-67 immunositokimya ve immunfloresan boyama yöntemi ile değerlendirildi. İmmunositokimyasal ve immunfloresan boyamada Ki-67 ifadesi hücrelerin çekirdeklerinde (Şekil 2, 3, 4, 5, 6, 7) gözlemlendi.

Deneyin sonunda gruplararası farklılıklar ve proliferatif indeks hem zamana hemde doza bağımlı olarak sırasıyla Tablo 3, 4, Grafik 1 ve 2’de sunuldu.

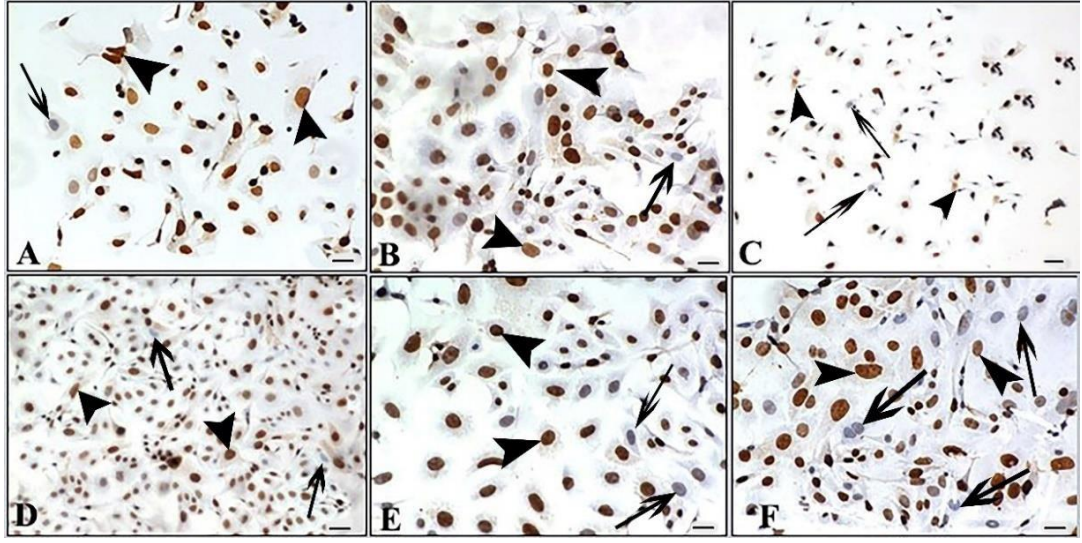
Doza bağımlı yapılan değerlendirmede, 1mg/ml arı sütü dozunun 24 ila 48 saat uygulaması arasında ve 48 ila 72 saat arasında istatistiki bir fark gözlenmezken ($p \geq 0,05$), 72 saatlik aynı dozun uygulamasının 24 saatlik uygulama süresine kıyasla hücre proliferasyonunda anlamlı bir azalmaya neden olduğu gözlemlendi ($p \leq 0,05$). Arı sütünün 5mg/ml, 10mg/ml ve 20 mg/ml’lik dozlarının, süreye bağımlı olarak hücre proliferasyonunu baskıladığı belirlendi ($p \leq 0,05$). Arı sütünün 50mg/ml’lik dozunun 72 saat uygulamasında ise, hücre proliferasyonunun tüm doz ve zamanlar içinde en düşük proliferatif etkiyi gösterdiği gözlemlendi ($p \leq 0,05$). (Tablo 3, Grafik 1, Şekil 2, 3, 4, 5, 6, 7).

Tablo 3. Farklı zamanlarda doza bağımlı Ki-67 immunreaksiyonu. Aynı sütunda farklı harfler istatistiki olarak önemlidir ($p \leq 0,05$).

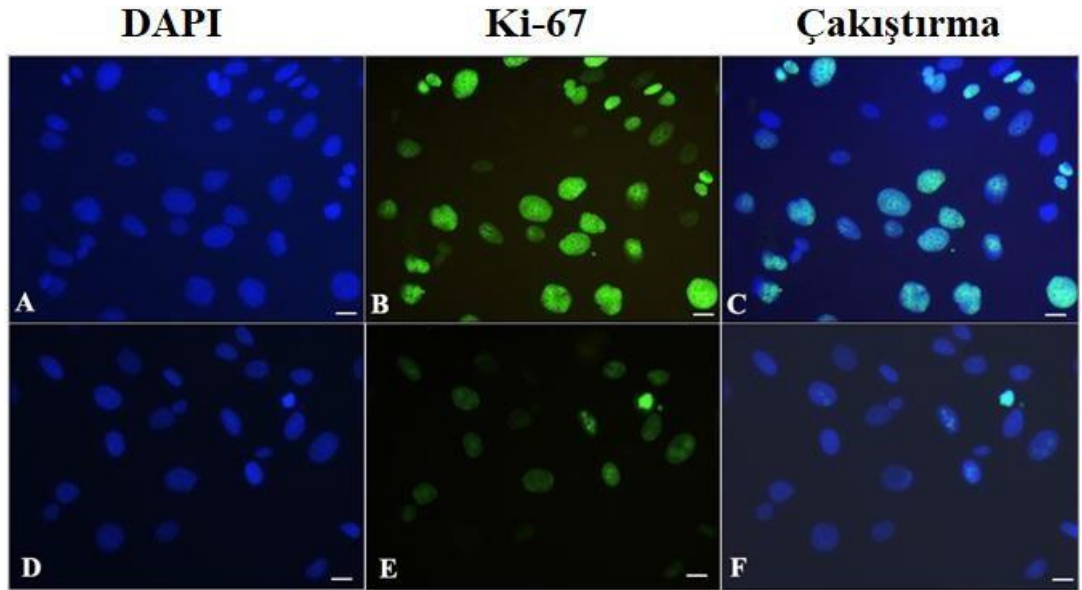
Zaman/ Doz (μ l)	Kontrol Mean \pm SE	1 mg/ml Mean \pm SE	5 mg/ml Mean \pm SE	10 mg/ml Mean \pm SE	20 mg/ml Mean \pm SE	50 mg/ml Mean \pm SE
24 saat	84,17 \pm 0,85	83,51 \pm 0,47 ^a	83,75 \pm 1,64 ^a	79,75 \pm 1,27 ^a	81,42 \pm 0,45 ^a	69,79 \pm 2,84 ^a
48 saat	82,55 \pm 1,91	79,08 \pm 41 ^{ab}	75,63 \pm 0,84 ^b	74,92 \pm 1,59 ^b	71,92 \pm 1,06 ^b	70,45 \pm 4,07 ^a
72 saat	80,68 \pm 1,72	76,15 \pm 1,28 ^b	65,58 \pm 3,12 ^c	68,27 \pm 1,55 ^c	62,83 \pm 0,97 ^c	51,33 \pm 0,82 ^b



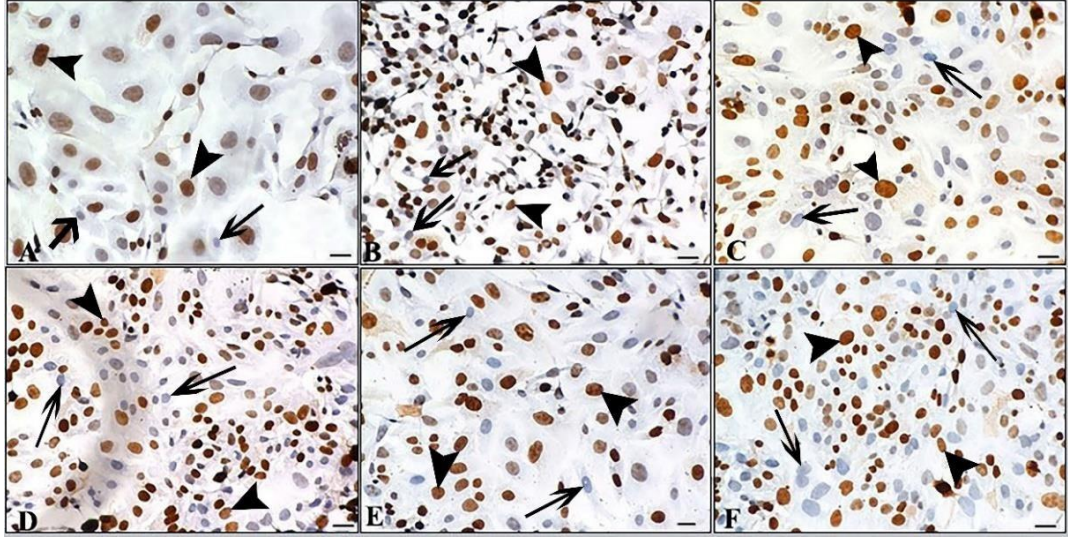
Grafik 1. Farklı zamanlarda doza bağımlı Ki-67 immunreaksiyonu. Dozlarda farklı harfler istatistiki olarak önemlidir ($p \leq 0,05$). s: saat.



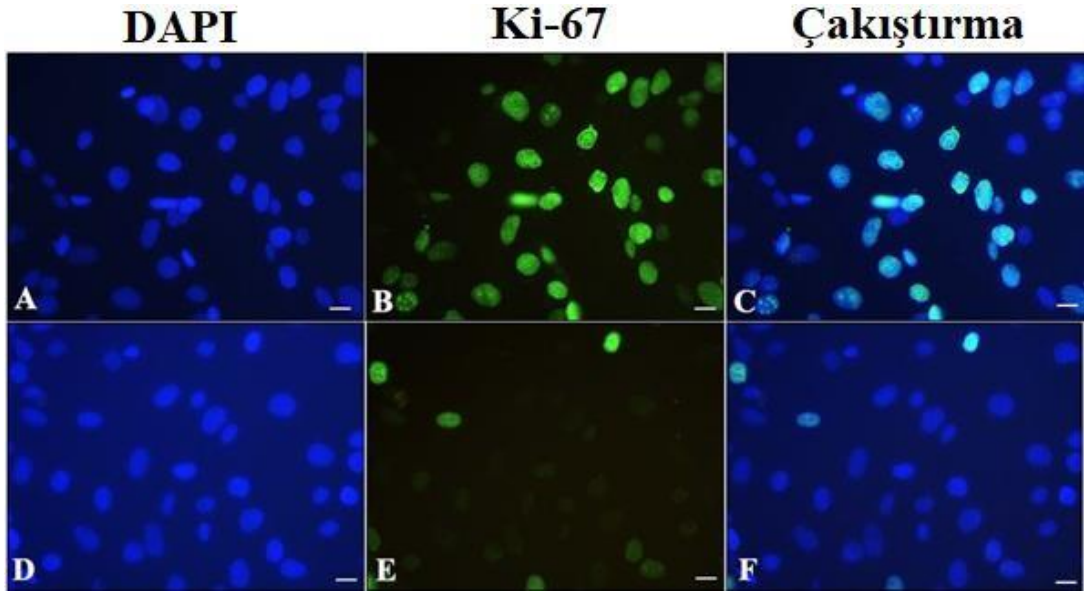
Şekil 2. 24 saat arı sütü uygulaması sonucu Ki-67 ifadesi. **A:** Kontrol grubu **B:** 1 mg/ml doz arı sütü, **C:** 5 mg/ml doz arı sütü, **D:** 10 mg/ml doz arı sütü, **E:** 20mg/ml doz arı sütü, **F:** 50 mg/ml doz arı sütü. **Ok:** Ki-67 negatif reaksiyon, **ok başı:** Ki-67 pozitif reaksiyon. İmmünohistokimyasal boyama. Bar 50 µm.



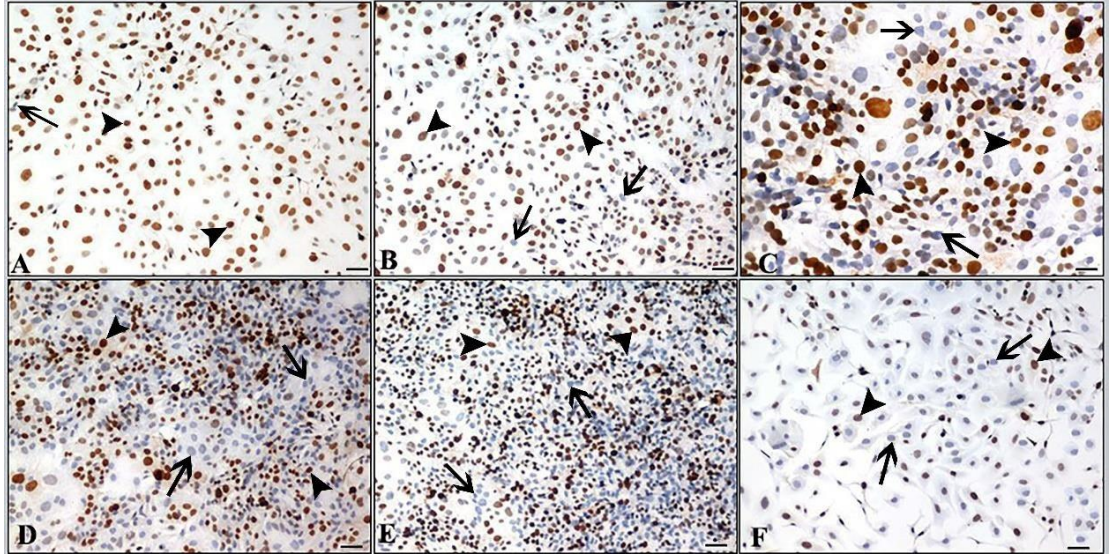
Şekil 3. 24 saat arı sütü uygulaması sonucu Ki-67 ifadesi. **A-B-C:** Kontrol grubu, **D-E-F:** 50mg/ml doz arı sütü. **A-D:** DAPI ile boyanan hücre çekirdekleri, **B-E:** Ki-67 protein ifadesi **C-F:** Çakıştırma. İmmünofloresans boyama. Bar 50 µm.



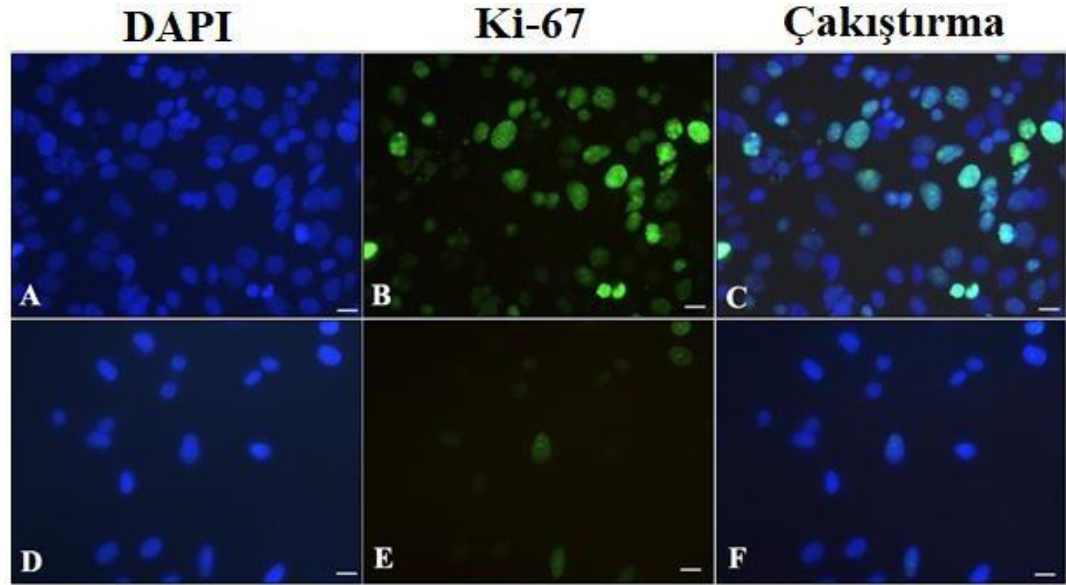
Şekil 4. 48 saat arı sütü uygulaması sonucu Ki-67 ifadesi. **A:** Kontrol grubu **B:** 1 mg/ml doz arı sütü, **C:** 5 mg/ml doz arı sütü, **D:** 10 mg/ml doz arı sütü, **E:** 20mg/ml doz arı sütü, **F:** 50 mg/ml doz arı sütü. **Ok:** Ki-67 negatif reaksiyon, **ok başı:** Ki-67 pozitif reaksiyon. İmmünotokimyasal boyama. Bar 50 µm.



Şekil 5. 48 saat arı sütü uygulaması sonucu Ki-67 ifadesi. **A-B-C:** Kontrol grubu, **C-D-E-F:** 50mg/ml doz arı sütü. **A-D:** DAPI ile boyanan hücre çekirdekleri, **B-E:** Ki-67 protein ifadesi **C-F:** Çakıştırma. İmmünofloresans boyama. Bar 50 µm.



Şekil 6. 72 saat arı sütü uygulaması sonucu Ki-67 ifadesi. **A:** Kontrol grubu **B:** 1 mg/ml doz arı sütü, **C:** 5 mg/ml doz arı sütü, **D:** 10 mg/ml doz arı sütü, **E:** 20mg/ml doz arı sütü, **F:** 50 mg/ml doz arı sütü. **Ok:** Ki-67 negatif reaksiyon, **ok başı:** Ki-67 pozitif reaksiyon. Immunositokimyasal boyama. Bar 50 µm.



Şekil 7. 72 saat arı sütü uygulaması sonucu Ki-67 ifadesi. **A-B-C:** Kontrol grubu, **D-E-F:** 50mg/ml doz arı sütü. **A-D:** DAPI ile boyanan hücre çekirdekleri, **B-E:** Ki-67 protein ifadesi **C-F:** Çakıştırma. İmmunofloresans boyama. Bar 50 µm.

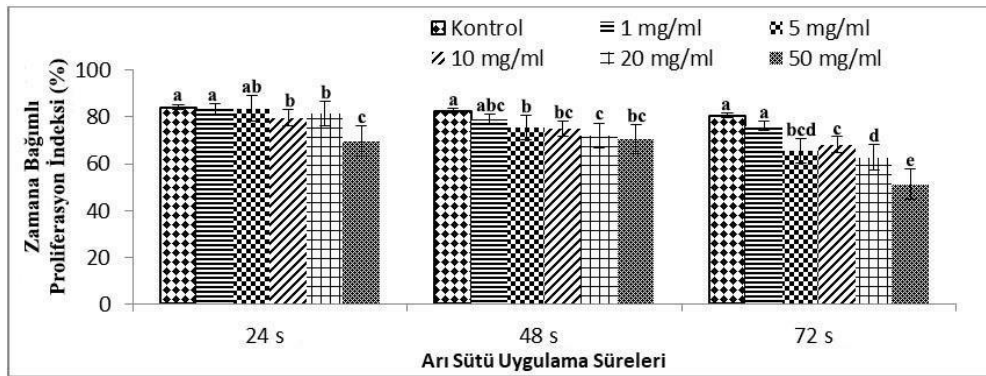
Arı sütü dozlarının 24 saat uygulamasının hücre proliferasyonu üzerine etkisi; Kontrol grubu ile 1 mg/ml ve 5 ml/mg'lik dozlar arasında istatistiki bir fark gözlenmezken ($p \geq 0,05$), 5mg/ml'nin 50 mg/ml ile, 10 mg/ml ve 20 mg /ml'lik dozların ise kontrol ve 50 mg/ml'lik dozlarla arasında istatistiki bir önem belirlendi ($p \leq 0,05$). Doz artışıyla hücre proliferasyonun baskılandığı gözlemlendi (Tablo 4, Grafik 2, Şekil 2, 3, 4, 5, 6, 7).

Arı sütü dozlarının 48 saat uygulamasının hücre proliferasyonu üzerine etkisi; Kontrol grubu ile 5mg/ml, 10mg/ml, 20mg/ml ve 50 mg/ml'lik dozlar arasında istatistiki bir önem belirlenirken ($p \leq 0,05$), 5 mg/ml arı sütü dozunun 20mg/ml arasında istatistiki önem belirlenmiştir. 10 mg/ml, 20 mg/ml ve 50 mg/ml arı sütü dozları arasında istatistiki önem gözlenmezken ($p \geq 0,05$), en düşük proliferasyon düzeyi sayısal olarak 50mg/ml arı sütü dozunda belirlendi (Tablo 4, Grafik 2, Şekil 2,3,4,5, 6,7).

Arı sütü dozlarının 72 saat uygulamasının hücre proliferasyonu üzerine etkisi; Kontrol grubu ile 5mg/ml, 10mg/ml, 20mg/ml ve 50 mg/ml'lik dozlar arasında istatistiki bir fark belirlenirken ($p \leq 0,05$), en düşük proliferasyon düzeyi 50mg/ml arı sütü dozunda gözlemlendi ($p \leq 0,05$) (Tablo 4, Grafik 2, Şekil 2, 3, 4, 5, 6, 7).

Tablo 4. Farklı dozların zamana bağımlı Ki-67 immunreaksiyonu. Aynı sütunda farklı harfler istatistiki olarak önemlidir ($p \leq 0,05$).

Zaman / Doz (µl)	24 saat Mean±SE	48 saat Mean±SE	72 saat Mean±SE
Kontrol	84,17±0,85 ^a	82,55±1,91 ^a	80,68±1,72 ^a
1 mg/ml	83,51±0,47 ^a	79,08±4,1 ^{abc}	76,15±1,28 ^a
5 mg/ml	83,75±1,64 ^{ab}	75,63±0,84 ^b	65,58±3,12 ^{bcd}
10 mg/ml	79,75±1,27 ^b	74,92±1,59 ^{bc}	68,27±1,55 ^c
20 mg/ml	81,42±0,45 ^b	71,92±1,06 ^c	62,83±0,97 ^d
50 mg/ml	69,79±2,84 ^c	70,45±4,07 ^{bc}	51,33±0,8 ^e



Grafik 2. Farklı dozların zamana bağımlı Ki-67 immunreaksiyonu. Dozlarda farklı harfler istatistiki olarak önemlidir ($p \leq 0,05$). s: saat.

4.2.2. Apoptozis Bulguları

Arı sütünün Skov-3 kanser hücreleri üzerine apoptotik etkileri, aktif caspase-3 ve aktif PARP-1R'ün ifadeleri immunositokimyasal ve immunfloresan yöntem ile belirlendi (Şekil 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19). Ayrıca arı sütünün apoptotik etkilerini belirlemek amacıyla TUNEL yöntemi uygulandı (Şekil 20, 21, 22, 23).

4.2.2.1. Aktif Caspase-3 ve aktif PARP-1R'ün İmmunositokimyasal ve İmmunfloresan Bulguları

Aktif Caspase-3

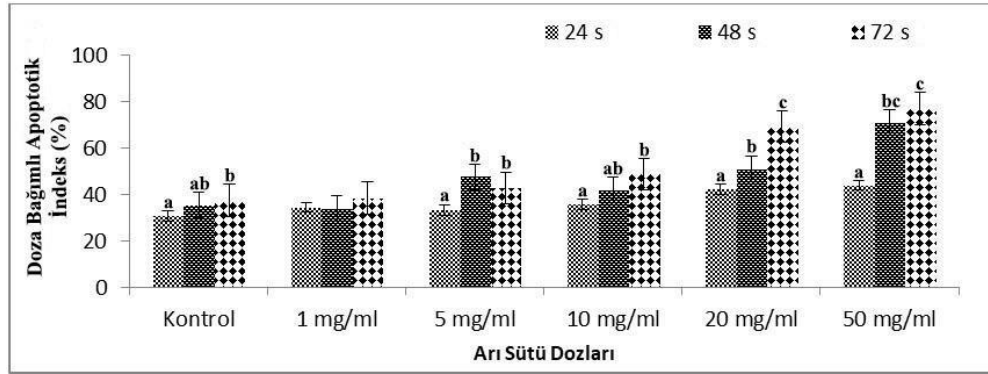
Aktif caspase-3 immunreaksiyonu, immunositokimyasal ve immunfloresan boyamada hem hücre çekirdeğinde hemde sitoplazmada gözlemlendi (Şekil 8, 9, 10, 11, 12, 13).

Deneme sonunda gruplararası farklılıklar ve apoptotik indeks hem zamana hemde doza bağımlı olarak sırasıyla Tablo 5, 6, Grafik 3 ve 4'de sunuldu.

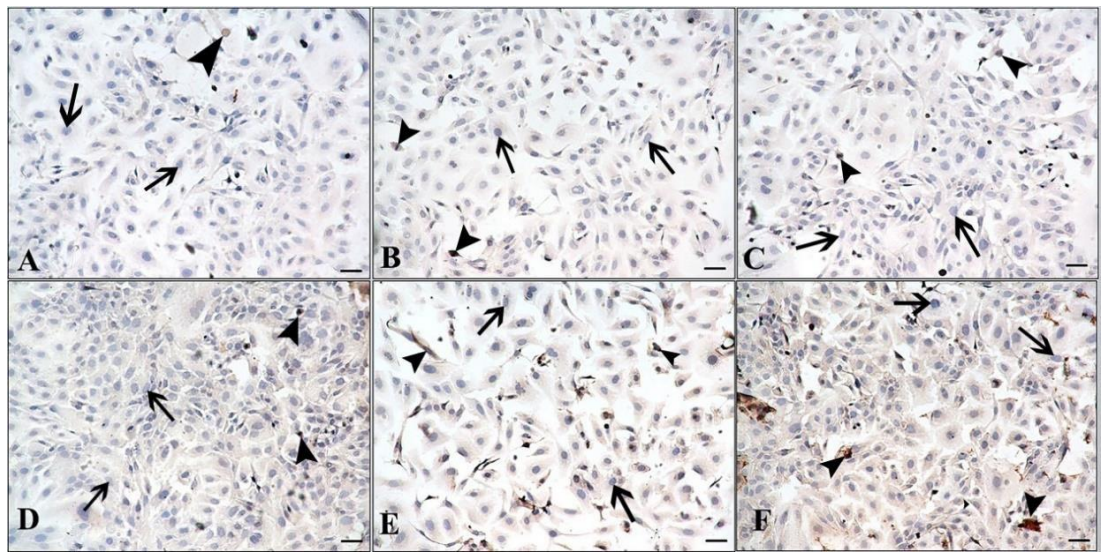
Doza bağımlı arı sütü uygulamasının, Skov-3 ovaryum kanser hücreleri üzerindeki apoptotik etkisi incelendiğinde, 1mg/ml arı sütü dozunun 24, 48 ve 72 saat uygulamaları arasında istatistiki bir fark gözlenmedi ($p \geq 0.05$). 5mg/ml arı sütü dozu için, 24 saat uygulama süresi ile 48 ve 72 saatlik uygulama süreleri arasında anlamlı bir fark gözlenirken ($p \leq 0,05$), 48 ve 72 saatlik uygulama süreleri arasında anlamlı bir fark belirlenmedi ($p \geq 0,05$). 10 mg/ml arı sütü dozu için 24 ve 72 saat uygulama süreleri incelendiğinde, aktif caspase-3'ün 72 saatteki ifadesinin arttığı ($p \leq 0,05$), 20 mg/ml arı sütü dozunun ise tüm zamanlar arasında istatistiki önem gösterdiği belirlendi ($p \leq 0,05$). 50mg/ml arı sütü dozu, 48 ve 72 saat sonunda Skov- 3 hücreleri üzerinde doza bağımlı olarak en yüksek aktif caspase-3 ifadesini gösterdi (Tablo 5, Grafik 3, Şekil 8, 9, 10, 11, 12, 13).

Tablo 5. Farklı zamanlarda doza bağımlı aktif caspase-3 immunreaksiyonu. Aynı sütunda farklı harfler istatistiki olarak önemlidir ($p \leq 0,05$).

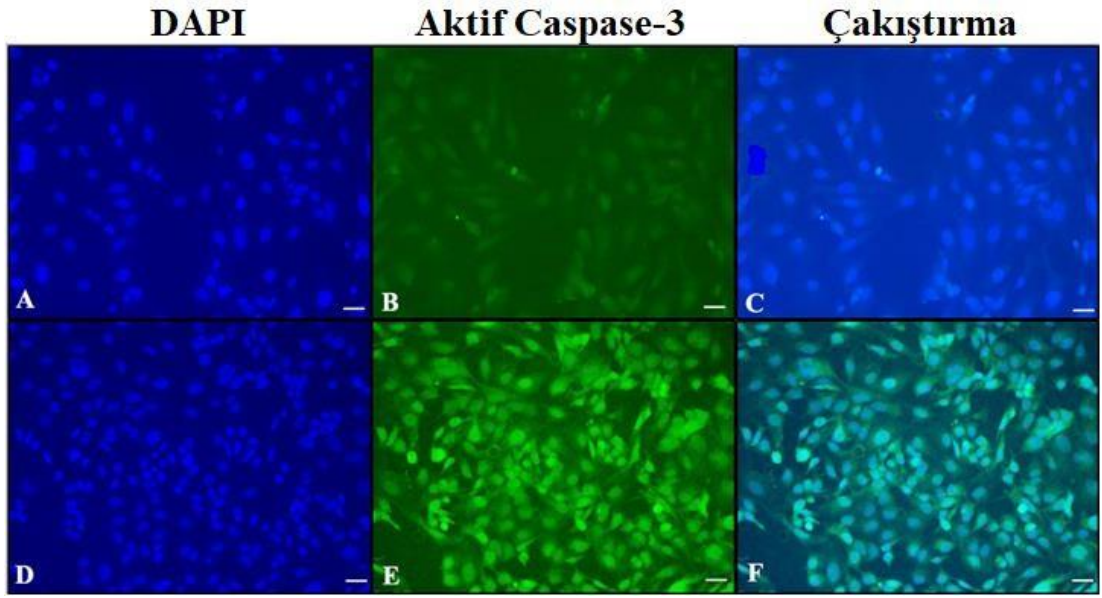
Zaman/ Doz (μ l)	Kontrol Mean \pm SE	1 mg/ml Mean \pm SE	5 mg/ml Mean \pm SE	10 mg/ml Mean \pm SE	20 mg/ml Mean \pm SE	50 mg/ml Mean \pm SE
24 saat	30,77 \pm 1,35 ^a	34,43 \pm 0,51	33,33 \pm 1,92 ^a	35,65 \pm 0,89 ^a	42,22 \pm 1,60 ^a	44,00 \pm 1,58 ^a
48 saat	35,45 \pm 2,11 ^{ab}	34,12 \pm 1,21	47,73 \pm 20,25 ^b	42,14 \pm 5,11 ^{ab}	51,00 \pm 1,80 ^b	71,05 \pm 3,97 ^{bc}
72 saat	37,50 \pm 1,27 ^b	38,54 \pm 3,34	42,92 \pm 2,67 ^b	48,94 \pm 1,25 ^b	69,29 \pm 3,06 ^c	77,14 \pm 3,36 ^c



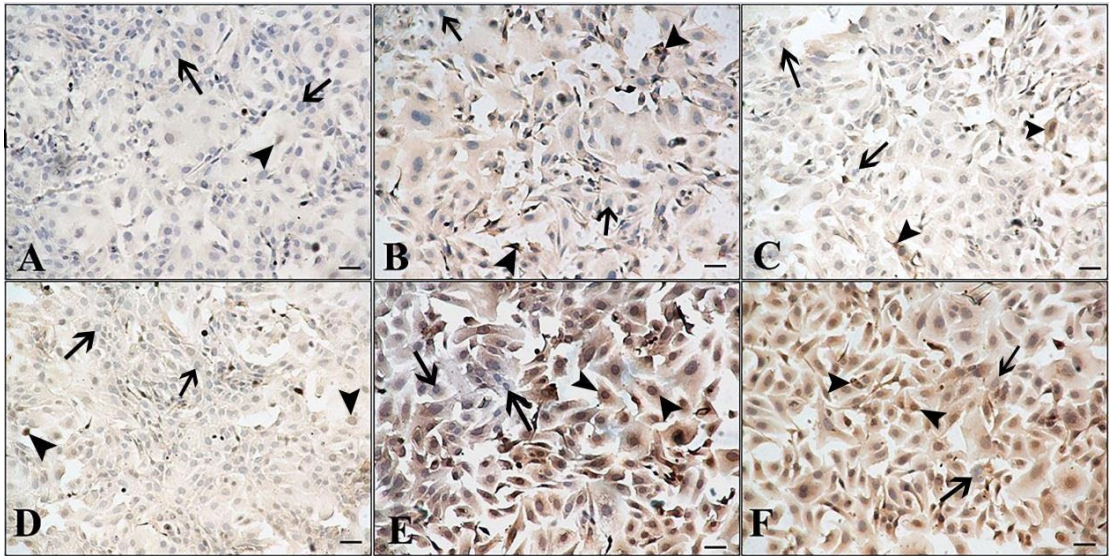
Grafik 3. Farklı zamanlarda doza bağımlı aktif caspase-3 immunreaksiyonu. Dozlarda farklı harfler istatistiki olarak önemlidir ($p \leq 0,05$). s: saat.



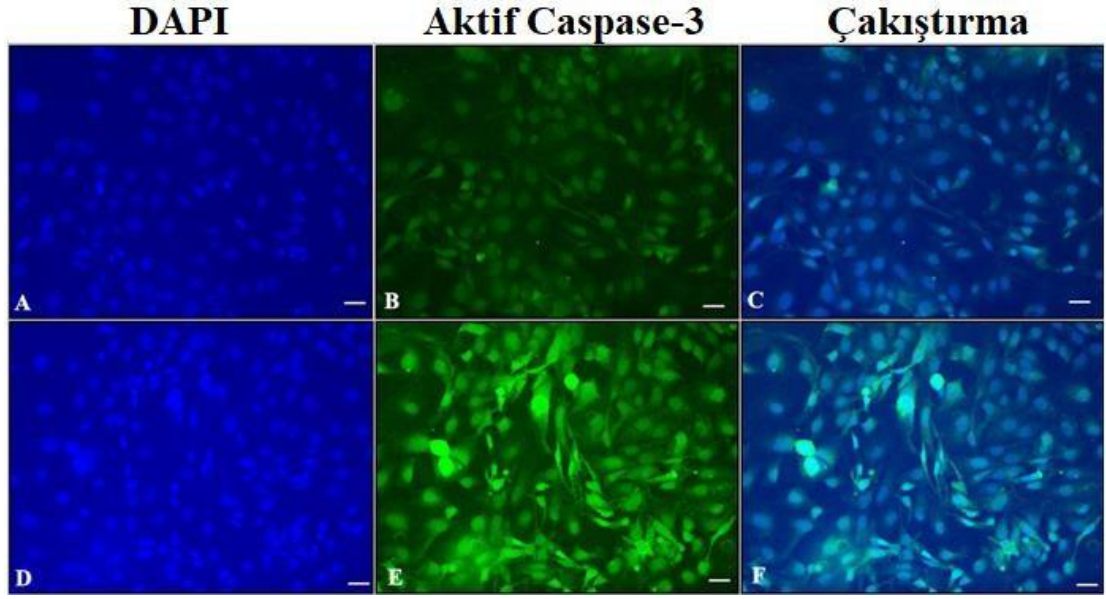
Şekil 8. 24 saat arı sütü uygulaması sonucu aktif caspase-3 ifadesi. **A:** Kontrol grubu **B:** 1 mg/ml doz arı sütü, **C:** 5 mg/ml doz arı sütü, **D:** 10 mg/ml doz arı sütü, **E:** 20mg/ml doz arı sütü, **F:** 50 mg/ml doz arı sütü. **Ok:** aktif caspase-3 negatif reaksiyon, **ok başı:** aktif caspase-3 pozitif reaksiyon. Immunositokimyasal boyama. Bar 50 μ m.



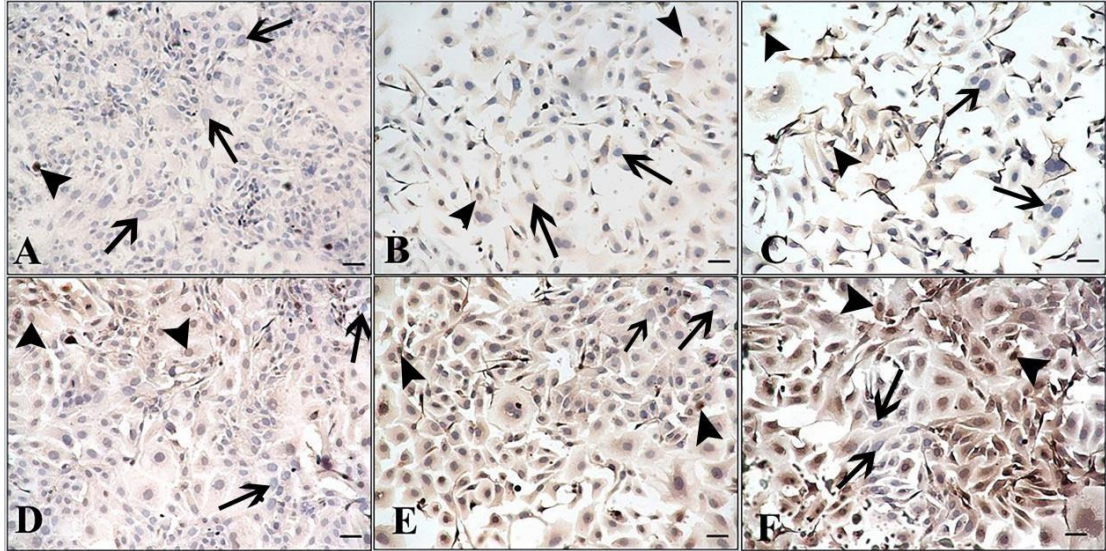
Şekil 9. 24 saat arı sütü uygulaması sonucu aktif caspase-3 ifadesi. **A-B-C:** Kontrol grubu, **D-E-F:** 50 mg/ml doz arı sütü. **A-D:** DAPI ile boyanan hücre çekirdekleri, **B-E:** Aktif caspase-3 protein ifadesi **C-F:** Çakıştırma. İmmunfloresan boyama. Bar 50 µm.



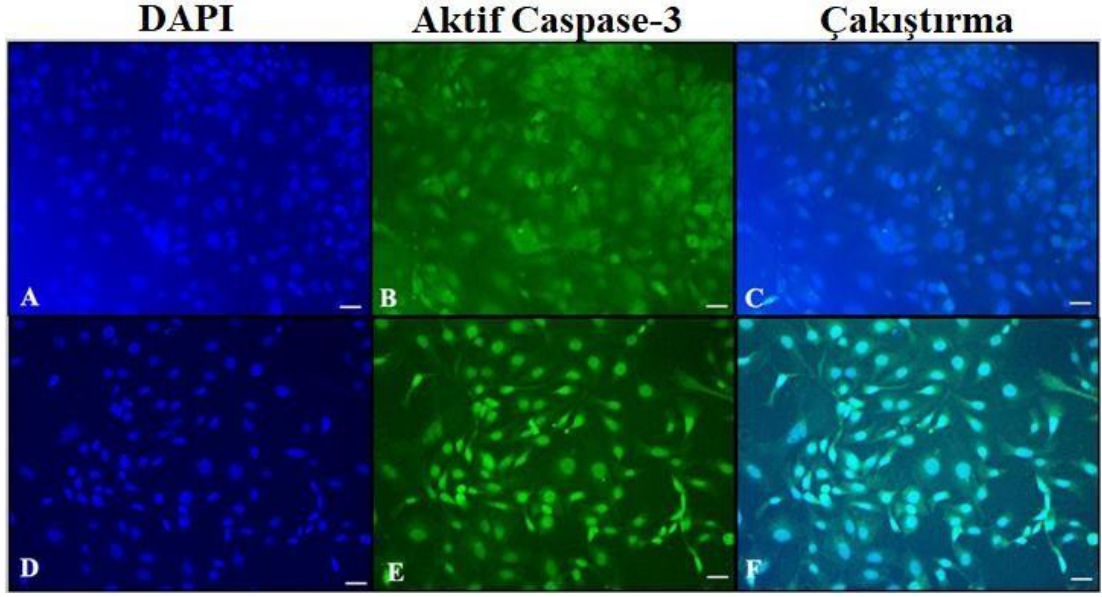
Şekil 10. 48 saat arı sütü uygulaması sonucu aktif caspase-3 ifadesi. **A:** Kontrol grubu **B:** 1 mg/ml doz arı sütü, **C:** 5 mg/ml doz arı sütü, **D:** 10 mg/ml doz arı sütü, **E:** 20mg/ml doz arı sütü, **F:** 50 mg/ml doz arı sütü. **Ok:** Aktif caspase-3 negatif reaksiyon, **ok başı:** aktif caspase-3 pozitif reaksiyon. İmmunohistokimyasal boyama. Bar 50 µm.



Şekil 11. 48 saat arı sütü uygulaması sonucu aktif caspase-3 ifadesi. **A-B-C:** Kontrol grubu, **D-E-F:** 50mg/ml doz arı sütü. **A-D:** DAPI ile boyanan hücre çekirdekleri, **B-E:** Aktif caspase-3 protein ifadesi **C-F:** Çakıştırma. İmmüno Floresan boyama. Bar 50 µm.



Şekil 12. 72 saat arı sütü uygulaması sonucu aktif caspase-3 ifadesi. **A:** Kontrol grubu **B:** 1 mg/ml doz arı sütü, **C:** 5 mg/ml doz arı sütü, **D:** 10 mg/ml doz arı sütü, **E:** 20mg/ml doz arı sütü, **F:** 50 mg/ml doz arı sütü. **Ok:** aktif caspase-3 negatif reaksiyon, **ok başı:** aktif caspase-3 pozitif reaksiyon. İmmünohistokimyasal boyama. Bar 50 µm.



Şekil 13. 72 saat arı sütü uygulaması sonucu aktif caspase-3 ifadesi. **A-B-C:** Kontrol grubu, **D-E-F:** 50mg/ml doz arı sütü. **A-D:** DAPI ile boyanan hücre çekirdekleri, **B-E:** Aktif caspase-3 protein ifadesi **C-F:** Çakıştırma. İmmunfloresan boyama. Bar 50 µm.

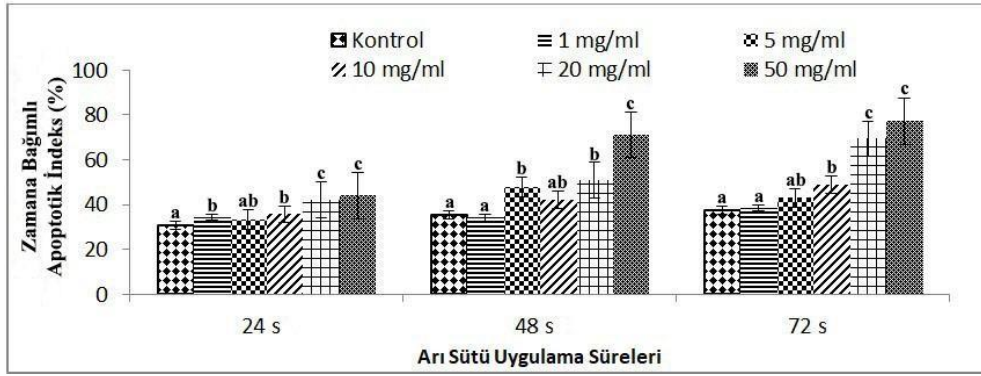
Arı sütü dozlarının 24 saat uygulamasının apoptozis üzerine etkisi; Kontrol grubu ile 1mg/ml, 10mg/ml, 20mg/ml ve 50mg/ml arı sütü dozları arasında istatistiki önem gözlemlendi ($p \leq 0,05$). 20mg/ml ve 50 mg/ml'lik arı sütü dozlarında diğer tüm dozlardan daha yüksek bir aktif caspase-3 ifadesi belirlendi ($p \leq 0,05$). (Tablo 6, Grafik 4, Şekil 8,9,10,11,12,13).

Arı sütü dozlarının 48 saat uygulamasının apoptozis üzerine etkisi; Kontrol grubu ile 1mg/ml ve 10 mg/ml arasında anlamlı bir fark gözlenmezken ($p \geq 0,05$), kontrol grubunun diğer gruplarla arasında istatistiki önem belirlendi ($p \leq 0,05$). En yüksek aktif caspase-3 ifadesi 50 mg/ml arı sütünün 48 saat uygulaması sonunda belirlendi ($p \leq 0,05$) (Tablo 6, Grafik 4, Şekil 8, 9, 10, 11, 12, 13).

Arı sütü dozlarının 72 saat uygulamasının apoptozis üzerine etkisi; Kontrol grubu ile 10 mg/ml, 20mg/ml ve 50mg/ml arı sütü dozları arasında istatistiki açıdan önem gözlemlendi ($p \leq 0,05$). 20mg/ml ve 50 mg/ml'lik arı sütü dozları arasında anlamlı bir fark gözlenmezken ($p \geq 0,05$), bu iki doz ile diğer tüm dozlar arasında (kontrol grubu, 1 mg/ml, 5 mg/ml, 10 mg/ml) anlamlı bir fark belirlendi ($p \leq 0,05$). (Tablo 6, Grafik 4, Şekil 8, 9, 10, 11, 12, 13).

Tablo 6. Farklı dozların zamana bağımlı aktif caspase-3 immunreaksiyonu. Aynı sütunda farklı harfler istatistiki olarak önemlidir ($p \leq 0,05$).

Zaman/ Doz (μ l)	24 saat Mean \pm SE	48 saat Mean \pm SE	72 saat Mean \pm SE
Kontrol	30,77 \pm 1,35 ^a	35,45 \pm 2,11 ^a	37,50 \pm 1,27 ^a
1 mg/ml	34,43 \pm 0,51 ^b	34,12 \pm 1,21 ^a	38,54 \pm 3,34 ^a
5 mg/ml	33,33 \pm 1,92 ^{ab}	47,73 \pm 20,25 ^b	42,92 \pm 2,67 ^{ab}
10 mg/ml	35,65 \pm 0,89 ^b	42,14 \pm 5,11 ^{ab}	48,94 \pm 1,25 ^b
20 mg/ml	42,22 \pm 1,60 ^c	51,00 \pm 1,80 ^b	69,29 \pm 3,06 ^c
50 mg/ml	44,00 \pm 1,58 ^c	71,05 \pm 3,97 ^c	77,14 \pm 3,36 ^c



Grafik 4. Farklı dozların zamana bağımlı aktif caspase-3 immunreaksiyonu. Dozlarda farklı harfler istatistiki olarak önemlidir ($p \leq 0,05$). s: saat.

Aktif PARP-1R

Aktif PARP-1R immunreaksiyonu, immunositokimyasal ve immunfloresan boyamada hem hücre çekirdeğinde hemde sitoplazmada gözlemlendi (Şekil 14, 15, 16, 17, 18, 19).

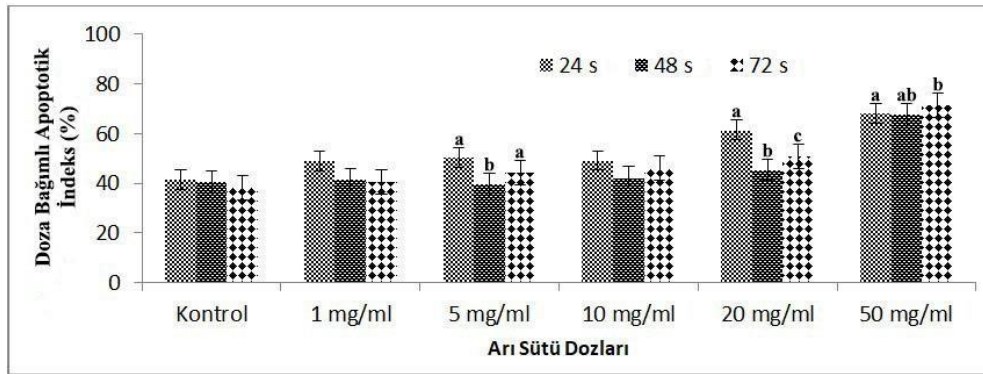
Deneme sonunda gruplararası farklılıklar ve apoptotik indeks hem zamana hemde doza bağımlı olarak sırasıyla Tablo 7, 8, Grafik 5 ve 6'da sunuldu.

Doza bağımlı arı sütü uygulamasının, Skov-3 ovaryum kanser hücreleri üzerindeki apoptotik etkisi apoptozis yolağının farklı bir basamağında yer alan aktif PARP-1R'ün ifadesi incelenerek belirlendi. Kontrol grubu, 1mg/ml ve 10 mg/ml arı sütü doz uygulamalarında tüm zamanlar için istatistiki bir önem gözlenmedi ($p \geq 0,05$). 5 mg/ml arı sütü dozu için, 24 saat ve 48 saat uygulama süresi arasında istatistiki bir

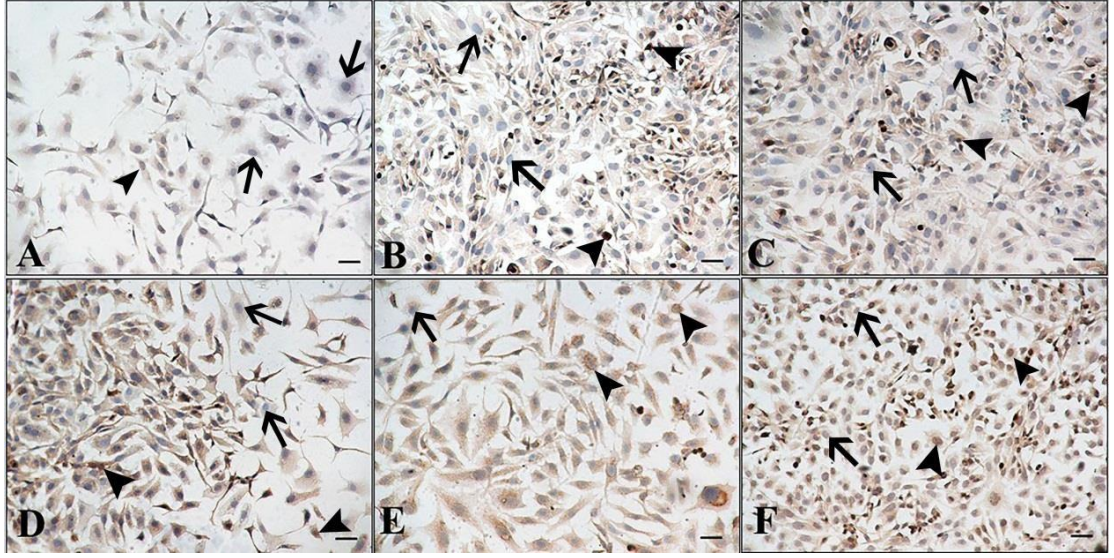
fark gözlenirken ($p \leq 0,05$), 20 mg/ml'lik arı sütü dozunun tüm uygulama süreleri arasında istatistiki önem gösterdiği belirlendi ($p \leq 0,05$). 50mg/ml arı sütü dozu, 24 saate göre, 48 ve 72 saat sonunda Skov- 3 hücreleri üzerinde doza bağımlı olarak en yüksek aktif PARP-1R ifadesini gösterdi ($p \leq 0,05$) (Tablo 7, Grafik 5, Şekil 14, 15 16, 17, 18, 19).

Tablo 7. Farklı zamanlarda doza bağımlı aktif PARP-1R immunreaksiyonu. Aynı sütunda farklı harfler istatistiki olarak önemlidir ($p \leq 0,05$).

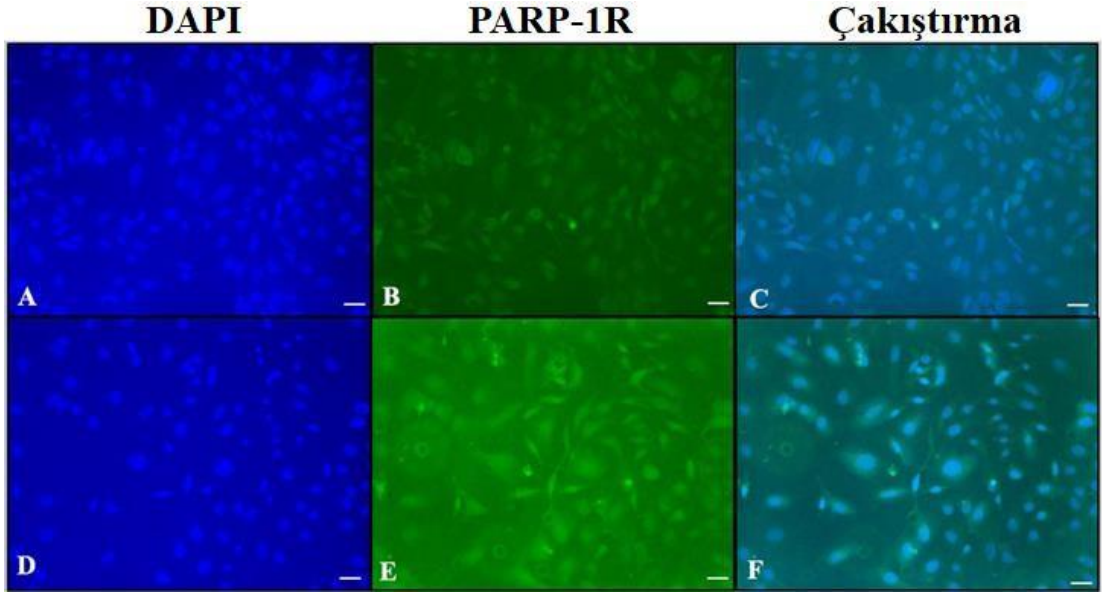
Zaman/ Doz (μ l)	Kontrol Mean \pm SE	1 mg/ml Mean \pm SE	5 mg/ml Mean \pm SE	10 mg/ml Mean \pm SE	20 mg/ml Mean \pm SE	50 mg/ml Mean \pm SE
24 saat	41,52 \pm 1,80	48,92 \pm 3,98	50,34 \pm 3,24 ^a	49,17 \pm 2,43	61,38 \pm 2,49 ^a	63,62 \pm 2,18 ^a
48 saat	40,65 \pm 2,42	41,41 \pm 1,89	39,46 \pm 0,53 ^b	42,19 \pm 1,27	45,37 \pm 1,18 ^b	68,15 \pm 1,61 ^{ab}
72 saat	38,09 \pm 0,72	40,69 \pm 0,88	44,43 \pm 1,80 ^a	45,99 \pm 1,27	50,81 \pm 1,64 ^c	73,76 \pm 1,98 ^b



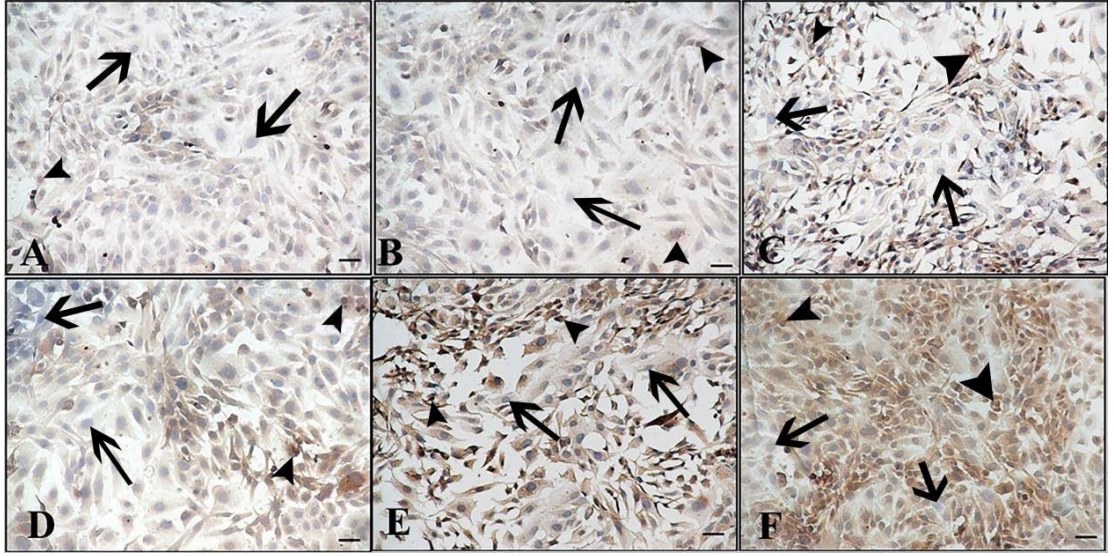
Grafik 5. Farklı zamanlarda doza bağımlı aktif PARP-1R immunreaksiyonu. Dozlarda farklı harfler istatistiki olarak önemli ($p \leq 0,05$). s: saat.



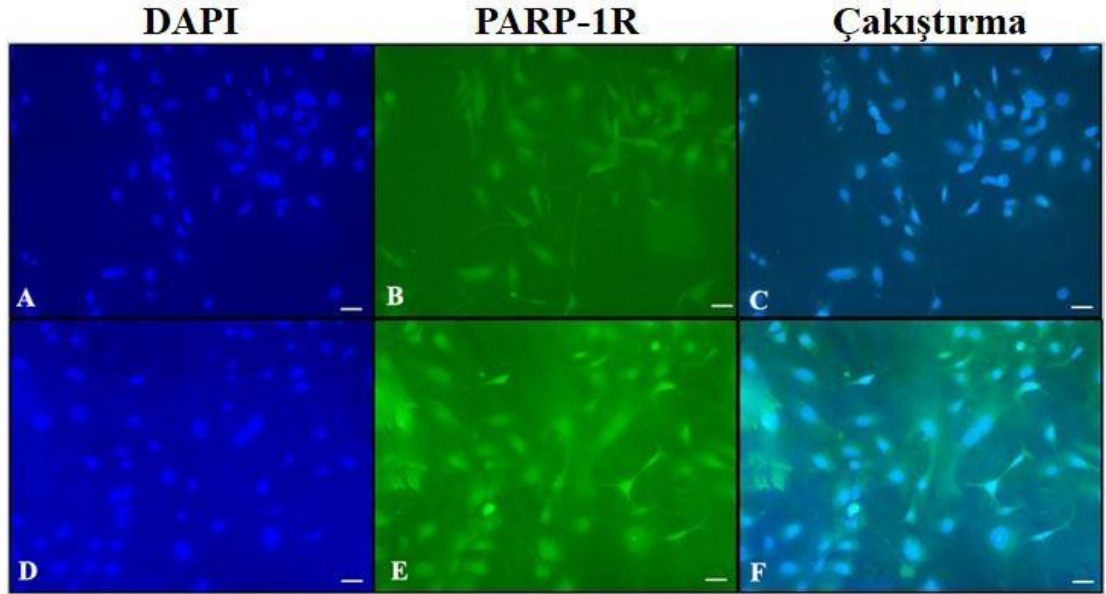
Şekil 14. 24 saat arı sütü uygulaması sonucu aktif PARP-1R ifadesi. **A:** Kontrol grubu **B:** 1 mg/ml doz arı sütü, **C:** 5 mg/ml doz arı sütü, **D:** 10 mg/ml doz arı sütü, **E:** 20mg/ml doz arı sütü, **F:** 50 mg/ml doz arı sütü. **Ok:** aktif PARP-1R negatif reaksiyon, **ok başı:** aktif PARP-1R pozitif reaksiyon. İmmünohistokimyasal boyama. Bar 50 μ m.



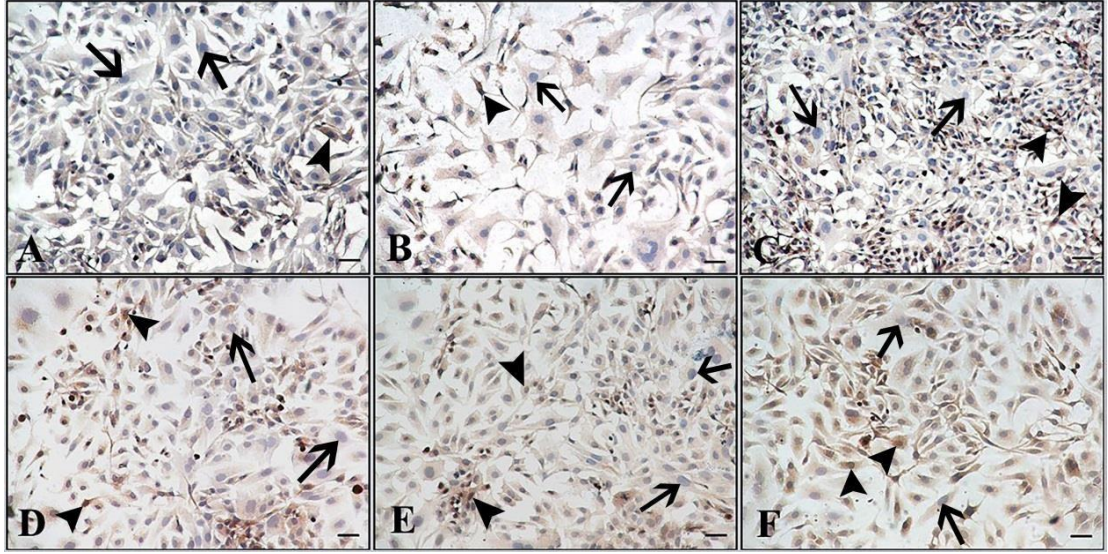
Şekil 15. 24 saat arı sütü uygulaması sonucu aktif PARP-1R ifadesi. **A-B-C:** Kontrol grubu, **D-E-F:** 50mg/ml doz arı sütü. **A-D:** DAPI ile boyanan hücre çekirdekleri, **B-E:** aktif PARP-1R protein ifadesi **C-F:** Çakıştırma. İmmünohistokimyasal boyama. Bar 50 μ m.



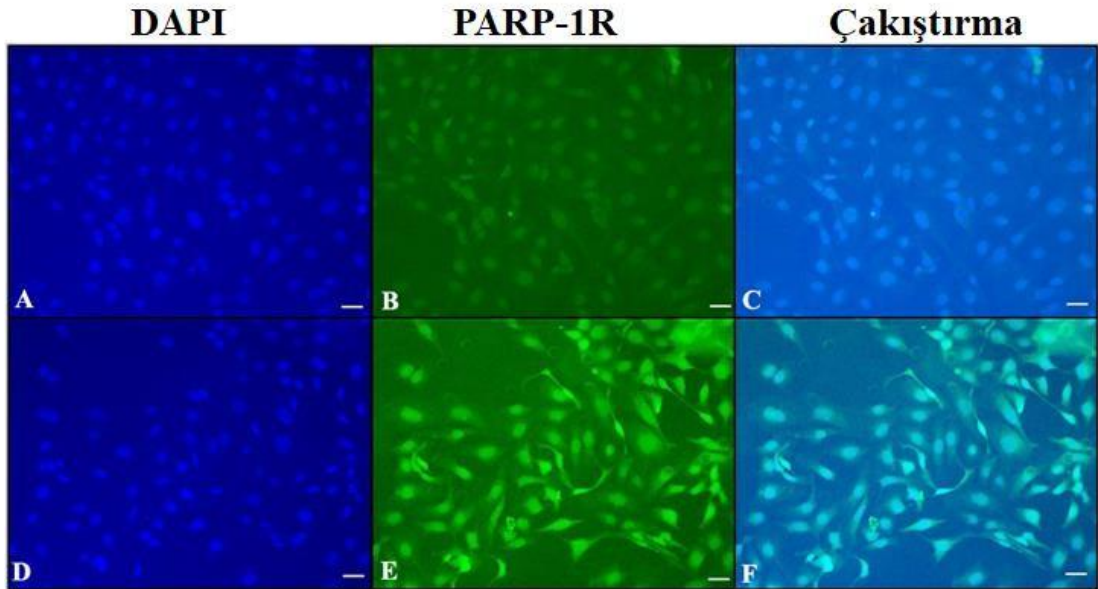
Şekil 16. 48 saat arı sütü uygulaması sonucu aktif PARP-1R ifadesi **A:** Kontrol grubu **B:** 1 mg/ml doz arı sütü, **C:** 5 mg/ml doz arı sütü, **D:** 10 mg/ml doz arı sütü, **E:** 20mg/ml doz arı sütü, **F:** 50 mg/ml doz arı sütü. **Ok:** aktif PARP-1R negatif reaksiyon, **ok başı:** aktif PARP-1R pozitif reaksiyon. İmmünohistokimyasal boyama. Bar 50 μ m.



Şekil 17. 48 saat arı sütü uygulaması sonucu aktif PARP-1R ifadesi. **A-B-C:** Kontrol grubu, **D-E-F:** 50mg/ml doz arı sütü. **A-D:** DAPI ile boyanan hücre çekirdekleri, **B-E:** aktif PARP-1R protein ifadesi **C-F:** Çakıştırma. İmmüno Floresan boyama. Bar 50 μ m.



Şekil 18. 72 saat arı sütü uygulaması sonucu aktif PARP-1R ifadesi. **A:** Kontrol grubu **B:** 1 mg/ml doz arı sütü, **C:** 5 mg/ml doz arı sütü, **D:** 10 mg/ml doz arı sütü, **E:** 20mg/ml doz arı sütü, **F:** 50 mg/ml doz arı sütü. **Ok:** aktif PARP-1R negatif reaksiyon, **ok başı:** aktif PARP-1R pozitif reaksiyon. İmmünohistokimyasal boyama. Bar 50 µm.



Şekil 19. 72 saat arı sütü uygulaması sonucu aktif PARP-1R ifadesi. **A-B-C:** Kontrol grubu, **D-E-F:** 50mg/ml doz arı sütü. **A-D:** DAPI ile boyanan hücre çekirdekleri, **B-E:** aktif PARP-1R protein ifadesi **C-F:** Çakıştırma. İmmüno Floresan boyama. Bar 50 µm.

Arı sütü dozlarının 24 saat uygulamasının apoptozis üzerine etkisi; Kontrol grubu ile 5 mg/ml, 20mg/ml ve 50 mg/ml arı sütü dozları arasında istatistiki açıdan önem gözlendi ($p \leq 0,05$). 20 mg/ml arı sütü dozu ile 10 mg/ml ve 50 mg/ml'lük arı sütü dozları arasında anlamlı bir fark gözlenmezken ($p \geq 0,05$), 50 mg/ml'lik arı sütü dozu ile kontrol grubu, 1mg/ml, 5mg/ml ve 10mg/ml arı sütü dozları arasında istatistiki önem belirlendi ($p \leq 0,05$) (Tablo 8, Grafik 6, Şekil 14, 15, 16, 17, 18, 19).

Arı sütü dozlarının 48 saat uygulamasının apoptozis üzerine etkisi;

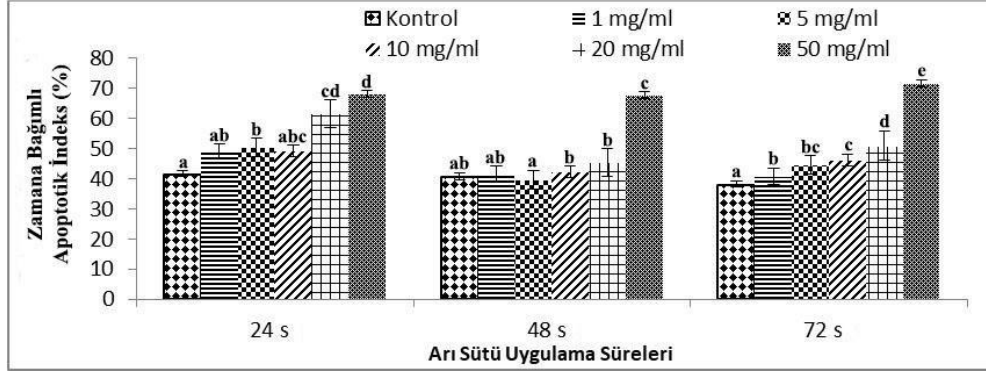
Arı sütünün 5 mg/ml 'lik dozu ile 10 mg/ml, 20mg/ml ve 50mg/ml arı sütü dozları arasında istatistiki açıdan önem gözlendi ($p \leq 0,05$). 50mg/ml arı sütü ile tüm dozlar arasında anlamlı bir fark belirlendi ($p \leq 0,05$) (Tablo 8, Grafik 6, Şekil 14, 15, 16, 17, 18, 19).

Arı sütü dozlarının 72 saat uygulamasının apoptozis üzerine etkisi;

Kontrol grubu ile diğer tüm dozlar arasında istatistiki açıdan önem gözlendi ($p \leq 0,05$). Hem 20mg/ml hem de 50mg/ml arı sütü dozunun diğer tüm gruplarla arasında anlamlı bir fark belirlenirken ($p \leq 0,05$), söz konusu olan dozlar arasında da istatistiki önem gözlendi ($p \leq 0,05$). 72 saat için en yüksek PARP-1R ifadesi 50mg/ml arı sütü dozu için tespit edildi ($p \leq 0,05$) (Tablo 8, Grafik 6, Şekil 14, 15, 16, 17, 18, 19).

Tablo 8. Farklı dozların zamana bağımlı aktif PARP-1R immunreaksiyonu. Aynı sütunda farklı harfler istatistiki olarak önemlidir ($p \leq 0,05$).

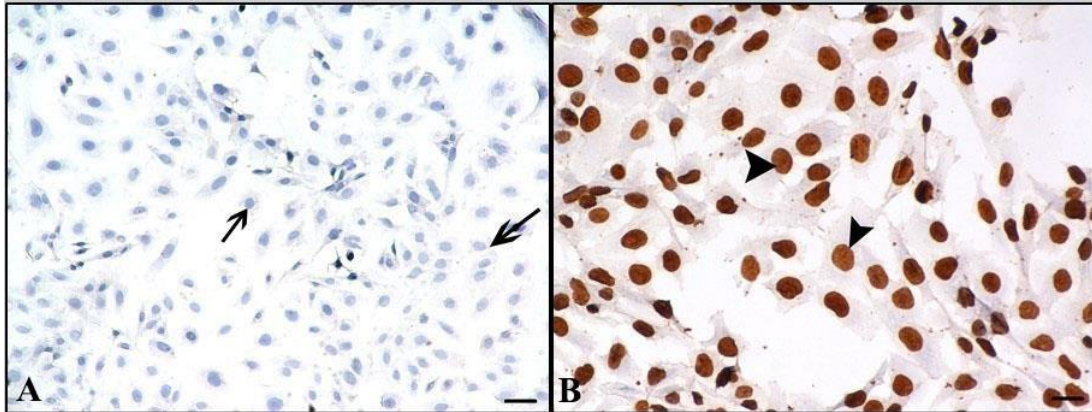
Zaman/ Doz (µl)	24 saat Mean±SE	48 saat Mean±SE	72 saat Mean±SE
Kontrol	41,52±1,80 ^a	40,65±2,42 ^{ab}	38,09±0,72 ^a
1 mg/ml	48,92±3,98 ^{ab}	41,41±1,89 ^{ab}	40,69±0,88 ^b
5 mg/ml	50,34±3,24 ^b	39,46±0,53 ^a	44,43±1,80 ^{bc}
10 mg/ml	49,17±2,43 ^{abc}	42,19±1,27 ^b	45,99±1,27 ^c
20 mg/ml	61,38±2,49 ^{cd}	45,37±1,18 ^b	50,81±1,64 ^d
50 mg/ml	63,62±2,18 ^d	68,15±1,61 ^c	73,76±1,98 ^e



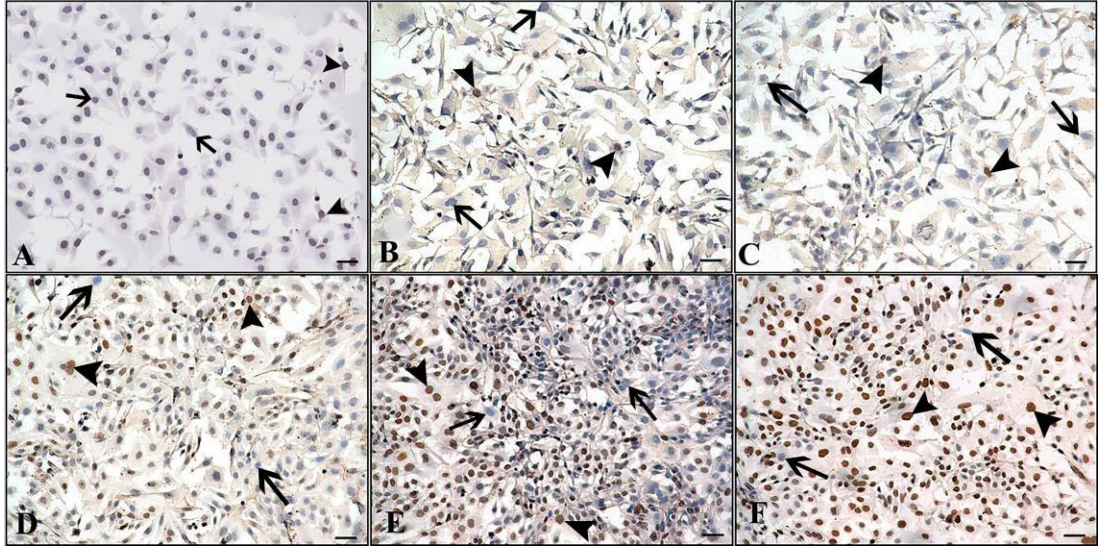
Grafik 6. Farklı dozların zamana bağımlı aktif PARP-1R immunreaksiyonu. Dozlarda farklı harfler istatistiki olarak önemlidir ($p \leq 0,05$). s: saat.

4.2.2.2.TUNEL Bulguları

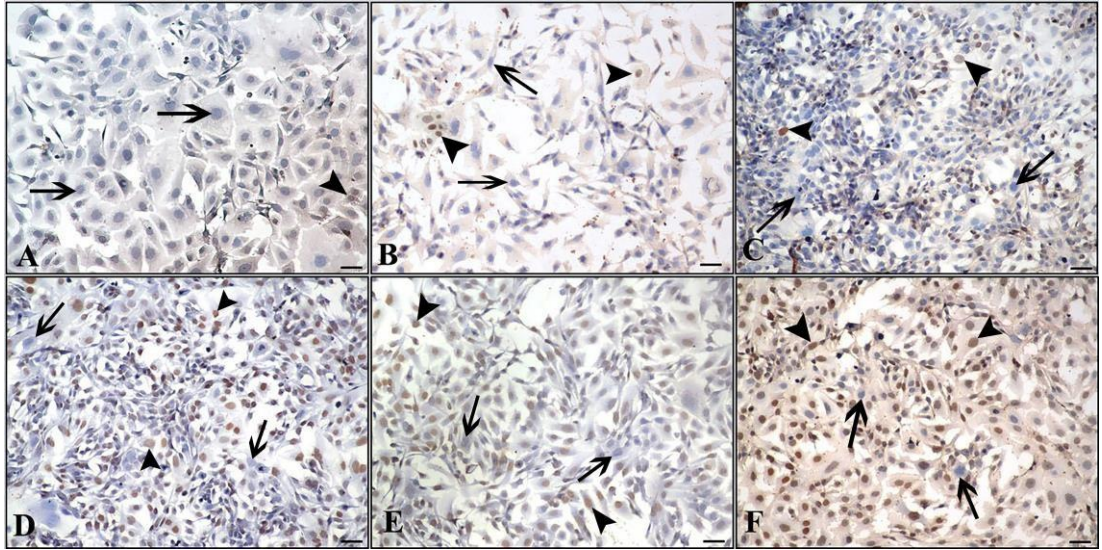
TUNEL pozitif reaksiyon hücre çekirdeklerinde gözlemlendi (Şekil 20 B, 21, 22, 23). TUNEL negatif ve pozitif reaksiyon sırasıyla Şekil 20 A- B' de sunuldu.



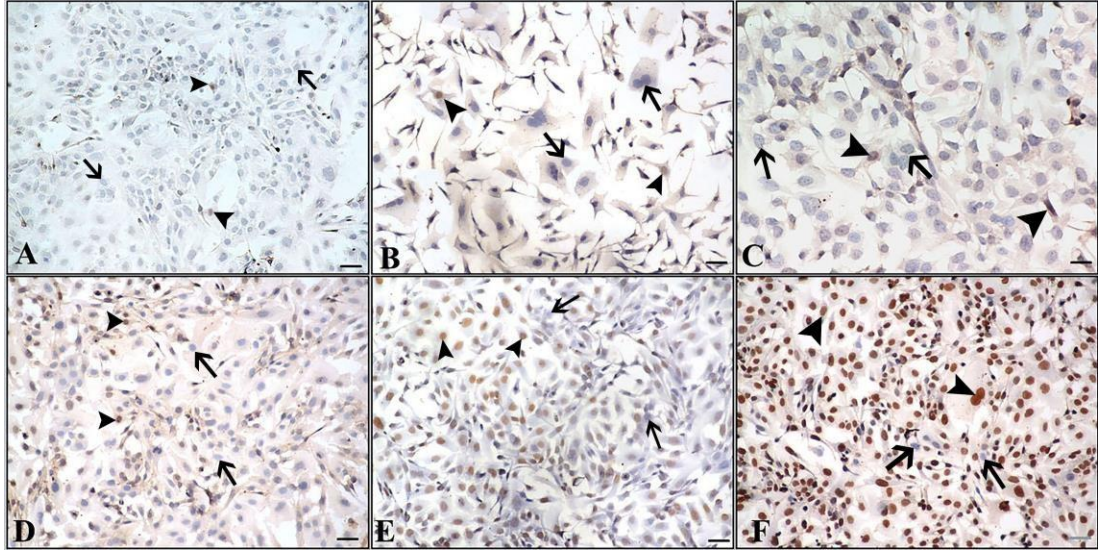
Şekil 20. 24 saat arı sütü uygulaması sonucu; **A:** Enzim (TdT) ilave edilmeden sadece label solüsyonu uygulanan TUNEL negatif kontrol grubu, **B:** DNase uygulanan TUNEL pozitif kontrol grubu. **Ok:** TUNEL negatif reaksiyon, **ok başı:** TUNEL pozitif reaksiyon. Bar 50 μ m.



Şekil 21. 24 saat arı sütü uygulaması sonucu TUNEL reaksiyonu. **A** Kontrol grubu, **B:** 1 mg/ml doz arı sütü, **C:** 5 mg/ml doz arı sütü, **D:** 10 mg/ml doz arı sütü, **E:** 20 mg/ml doz arı sütü, **F:** 50 mg/ml doz arı sütü. **Ok:** TUNEL negatif immunreaksiyon, **ok başı:** TUNEL pozitif immunreaksiyon. Bar 50 μ m.



Şekil 22. 48 saat arı sütü uygulaması sonucu TUNEL reaksiyonu. **A:** Kontrol grubu, **B:** 1 mg/ml doz arı sütü, **C:** 5 mg/ml doz arı sütü, **D:** 10 mg/ml doz arı sütü, **E:** 20 mg/ml doz arı sütü, **F:** 50 mg/ml doz arı sütü. **Ok:** TUNEL negatif immunreaksiyon, **ok başı:** TUNEL pozitif immunreaksiyon. Bar 50 μ m.



Şekil 23. 72 saat arı sütü uygulaması sonucu TUNEL reaksiyonu. **A:** Kontrol grubu, **B:** 1 mg/ml doz arı sütü, **C:** 5 mg/ml doz arı sütü, **D:** 10 mg/ml doz arı sütü, **E:** 20 mg/ml doz arı sütü, **F:** 50 mg/ml doz arı sütü. **Ok:** TUNEL negatif immunreaksiyon, **ok başı:** TUNEL pozitif immunreaksiyon. Bar 50 µm.

Düşük doz arı sütünün (1mg/ml, 5mg/ml) 24 saat ve 72 saat uygulaması sonucunda TUNEL pozitif hücre yoğunluğunun (Şekil 21 A, B, C, 23 A, B, C), yüksek doz arı sütü uygulanan gruplara (10 mg/ml, 20mg/ml 50mg/ml) göre daha az yoğunlukta olduğu gözlemlendi (Şekil 21 D, E, F, 23 D, E, F). Bununla birlikte apoptotik hücre yoğunluğunun, 48 saat uygulama sonucunda 20mg/ml ve 50mg/ml arı sütü dozlarında (Şekil 22 E, F) TUNEL pozitif hücre yoğunluğu, kontrol grubu, 1mg/ml, 5mg/ml ve 10 mg/ml’lik arı sütü gruplarına (22 A, B, C, D) göre daha yoğun gözlemlendi.

Tüm zamanlarda uygulanan 50mg/ml arı sütü dozu, en yoğun TUNEL pozitif reaksiyonunun görüldüğü doz olarak belirlendi (21 F, 22 F, 23 F).

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Kemoterapi, kanser tedavisi için yaygın olarak kullanılmakta ancak kemoterapi ajanlarının yan etkileri, normal hücelere verdiği zararlar ve tümör hücrelerinin bu ajanlara karşı direnç göstermesi bu tedavi yönteminin en büyük sınırlamalarıdır. Bu nedenle, bu sınırlamaların üstesinden gelmek için daha etkili olabilecek destekleyici doğal bileşiklere ihtiyaç duyulmaktadır.

Arı sütünün antitümörük (Nakaya ve ark., 2007), antiviral (Stocker ve ark., 2005), antibakterial (Fratini ve ark., 2016), antialerjik (Arzi ve ark., 2015), antikanserojenik (Premratanachai, & Chanchao, 2014) immünomodulator, (Gasic ve ark., 2007), östrojenik (Ghanbari ve ark., 2018) ve antidiabetik (Nomura ve ark., 2007) gibi pek çok biyolojik aktiviteye sahip olduğu bildirilmektedir. İn vivo/invitro ortamlarda farklı canlılar ve hücreler üzerinde kullanılan dozlar ve uygulama süreleri farklı olsa da arı sütü ile yapılan çalışmalarda pek çok olumlu sonuç ortaya konmuştur. Ancak kanser üzerine yapılan çalışmalarda, ovaryum kanseri ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu sebeple sunulan tez çalışmasında epitelyal ovaryum kanserleri içinde görülme sıklığı en fazla olan seröz tipte epitelyal over kanser hücre hattı (SKOV-3) üzerine arı sütünün proliferatif ve apoptotik etkileri araştırılmıştır.

Arı sütünün farklı kanser türlerinde antiproliferatif etkisi incelendiğinde, arı sütünün yavaş büyüyen kanserlerde önemli bir antiproliferatif aktivite gösterdiği, ancak hızlı büyüyen kanser türlerinde aynı düzeyde bir etki göstermediği bildirilmektedir (Tamura, Fuji, & Kuboyama, 1987). Nakaya ve arkadaşları, arı sütünün, çevresel bir östrojen olan Bisphenol A'nın (BPA) MCF7 hücreleri üzerindeki büyümeyi teşvik edici etkisini inhibe ettiğini ve arı sütünün östrojen kaynaklı hücre proliferasyon sinyallerini bozduğunu belirtmişlerdir (Nakaya ve ark., 2007). SW480 (kolon kanser hücreleri) ve EAhy 926 (normal insan endotelyal kanser hücre soyu) hücre soylarıyla yapılan bir çalışmada, hücreler üzerine uygulanan GE132+Natural kombinasyonunun (Reishi mantarı, Arı sütü, Resveratrol, Likopen ve Sulforaphane içeren), 1-4 saat 750 µg/ml uygulamasının hücre hatları üzerinde antiproliferatif etkiler gösterdiği bildirildi (Okic-Djordjevic ve ark., 2013). GE132+Natural kombinasyonu uygulanmasındaki doz ve sürenin, sunulan tez

çalışmasında kullanılan 1mg/ml ve 24 saat uygulama süresinden daha az olmasına rağmen, göstermiş olduğu antiproliferatif etkinin kullanılan arı sütü kombinasyonundan ileri geldiğini düşünmekteyiz. Çalışmamızda en düşük doz ve sürede arı sütünün antiproliferatif etkisi gözlenmezken, süre ve doz artışıyla birlikte arı sütünün ovaryum kanser hücreleri üzerine antiproliferatif etkileri belirlendi.

Arı sütünün içerdiği ve kendine has bir protein bileşiği olan 10HDA'nin 1.5mM ve 5mM dozunun B16F10 melanoma kanser hücrelerine 24 saat uygulanmasının hücreler üzerinde sitotoksik etki yarattığı ancak aynı sürede 0.1, 0.5 ve 1mM 10-HDA konsantrasyonlarının kanser hücrelerinde sitotoksik etkili olmadığı bildirilmektedir (Peng, Sun, Lin, Kuo, & Li, 2017). Ancak çalışmamızda kullanılan dozların Peng ve arkadaşlarının kullandığı dozlardan daha düşük olması sebebiyle yapılan hücre canlılık testinde benzer bir sonuca rastlanılmamıştır.

Arı sütünün (0.1g/ml) insan interferon-alfa (HuIFN-aN3) (1000 I.U. mL-1) ile 2:1 oranındaki kombinasyonunun, insan kolorektal adenokarsinom hücreleri üzerindeki antiproliferatif etkisinin, tek başına uygulanan arı sütü dozuna karşın daha güçlü olduğu bildirilmektedir (Filipiç ve ark., 2015). Çalışmamızda kullanılan en yüksek dozun (50mg/ml) antiproliferatif etkinliğini destekleyen bu çalışma, arı sütünün kombine ilaç tedavileri ile denenmesinin daha etkili sonuçlar oluşturabileceğini düşündürmektedir.

Apoptoz, kromatin yoğunlaşması, DNA parçalanması ve apoptotik cisimciklerin oluşumunu içeren karakteristik morfolojik değişikliklerle bağlantılı hücre ölümünün ana biçimlerinden biridir (Wyllie, 1997). Apoptotik mekanizmaya katkıda bulunan ve kaspaz enzimleri (özellikle kaspaz 3, 8 ve 9) olarak adlandırılan sistein proteazları ve Bcl-2 ailesi bu süreçte aktif rol oynamaktadır. Kaspaz ailesinin en önemli üyesi olan kaspaz-3, nükleer ve sitozolik substratların bölünmesine, kromatin yoğunlaşmasına, DNA'nın parçalanmasına ve apoptotik cisimciklere yol açan apoptozun birçok biyokimyasal mekanizmasından sorumludur (Salvesen, & Dixit, 1997; Zhan, Van-deWater, Wang, & Stevens, 1999). Arı ürünlerinin prostat, akciğer ve karaciğer kanserleri dahil olmak üzere çok sayıda kanserli hücre soyunda in vitro hücre ölümü indüklediği rapor edilmiştir (Ayna ve ark., 2021). Biyolojik olarak aktif bu doğal ürünler, meme ve kolon kanserleri de dahil olmak

üzere çeşitli kanser türleri için yenilikçi bir tedavinin de parçası olarak kabul edilmektedir (Premratanachai, & Chanchao, 2014). Arı sütünün farelerde potansiyel bir antitümör aktiviteye sahip olduğu (Kimura, 2008), tümör hücrelerinde apoptotik ve antiproliferatif yolları indüklediği dolayısıyla antikanserojenik bir aktiviteye sahip olduğu pek çok farklı çalışmada kanıtlanmıştır (Kocot, Kiełczykowska, Luchowska-Kocot, Kurzepa, & Musik, 2018; Tamura ve ark., 1987; Zhang ve ark., 2017). Sunulan tez çalışmasında arı sütünün farklı doz ve süreleri uygulanarak, apoptozisin farklı yollarında yer alan aktif caspase-3 ve aktif PARP-1R proteinlerinin ifadeleri incelenmiştir. Arı sütünün doz konsantrasyonunun artması ve uygulama süresinin uzaması ile ovaryum kanser hücreleri üzerindeki apoptotik etkileri diğer kanser hücreleri ile yapılan çalışmaları destekler nitelikte bulunmuştur (Bincoletto ve ark., 2005; Izuta ve ark., 2009 ; Nakaya ve ark., 2007).

Ovaryum kanseri tedavisinde cerrahi yöntem birincil yaklaşım olmasına karşın kemoterapi, cerrahinin mümkün olmadığı durumlarda, ileri ve tekrarlayan ovaryum kanser tedavisinde kullanılan yaygın bir yöntemdir (Jemal ve ark., 2009). Bununla birlikte, platin analogları (cisplatin ve karboplatin), taksanlar (paklitaksel ve docetaxel) ve doksorubisin gibi kemoterapötik ilaçların klinik performansı, duyarlılık, direnç ve yan etkiler nedeniyle sınırlıdır (Coleman, Monk, Sood, & Herzog, 2013; Fung ve ark., 2007). Bu sebeple, mevcut ovaryum kanseri tedavisini iyileştirmek için yeni ilaçlar veya gelişmiş entegre kemoterapötik stratejilere ihtiyaç duyulmaktadır.

Kolon, meme, akciğer veya diğer kanser türlerinde, antioksidan bakımından zengin arı ürünlerinin, kanser hastaları için hastalığın rekürrens ihtimalini ve/veya yan etkilerini azaltması açısından biyoterapötik bir ajan olarak kullanıldığı bildirilmektedir (Turan ve ark., 2015). Ovaryum kanseri için de, kemoterapinin klinik performansının sınırlı olduğu ve yan etkilerinin bulunduğu bilinmektedir (Pokhriyal, Hariprasad, Kumar, & Hariprasad, 2019). Kanser tedavilerinde mevcut kemoterapötik ilaçları, yeni antitümör doğal bileşenlerle entegre etmek, ovaryum kanserinin klinik performansını artırır (Borawska ve ark., 2014; Wang ve ark., 2015). SKOV-3 kanser hücre hattıyla yapılan çalışmada, arı sütü gibi doğal bir bileşen olan *Solanum nigrum* yapraklarının (AE-SN) sulu özütünün aktif caspase-3'ü

indüklediği belirtilmiştir (Wang ve ark., 2015). Glioblastoma multiform (U87MG) hücre hattına, çalışmamızda kullanılan doza benzer olarak 30 mg / mL arı sütünün 20 mM temozolomid (TMZ) ile kombinasyonunun kanser hücrelerinde DNA sentezini inhibe ettiği bildirilmektedir (Borawska ve ark., 2014). Sunulan tez çalışmasında da benzer dozların ovaryum kanser hücre hattı üzerinde apoptozu indüklediği belirlendi.

Arı sütü, *in vitro* alışmaların yanında *in vivo* alışmalarda da kullanılmaktadır. Fibrokarsinomalı deney hayvanlarına 100, 200 ve 300 mg/kg dozlarında oral yolla verilen arı sütünün tümör boyutlarını küçülttüğü görülmektedir (Shirzad ve ark., 2013). Ayrıca Bincoletto ve arkadaşları, Ehrlich-Lette asit karsinomlu farelere 500, 1000 ve 1500 mg / kg'lık dozlarda 33 gün boyunca uygulanan arı sütünün, hem anti-tümörük etkili olduğunu hem de vücut bağışıklık sistemini modüle ettiğini bildirmişlerdir (Bincoletto ve ark., 2005). *In vivo* alışmalarda kullanılan doz ve süreler çalışmamızdaki doz ve sürelere göre farklılık gösterse de çalışmamızdan elde edilen sonuçlar yukarıdaki gerek *in vivo* gerekse *in vitro* alışmalarla tutarlıdır.

Sunulan çalışmada, arı sütünün farklı doz ve sürelerinin antikanserojenik etkisi hem hücre proliferasyonu hem de apoptozis açısından değerlendirildi ve ilk kez ovaryum kanseri üzerinde arı sütünün antikanserojenik etkisi ortaya konuldu. Çalışmamızda kanser hücre hattı üzerine uyguladığımız arı sütünde en yüksek doz ve süre hücre proliferasyonunu baskıladı ve dolayısıyla hücrelerde apoptozisi indükledi. Elde edilen bulgular ışığında gelecekteki çalışmalarda, alternatif bir tedavi olarak arı sütünün ovaryum kanseri üzerine, gerek monoterapik gerekse kombine kullanımının yeni deneysel protokollere temel oluşturabileceğini düşünmekteyiz.

6. KAYNAKLAR

- Abandansari, R. M., Parsian, H., Kazerouni, F., Porbagher, R., Zabihi, E., & Rahimipour, A. (2018). Effect of simultaneous treatment with Royal Jelly and Doxorubicin on the survival of the prostate cancer cell line (PC3). *International Journal of Cancer Management*, 4, 9.
- Abd-Allah, S. M. (2012). Effect of Royal Jelly on Viability and in vitro maturation of Egyptian Sheep oocytes in serum supplemented medium. *British Journal of Pharmacology Toxicology*, 3, 29-32.
- Abdelhafiz, A. T., & Muhamad, J. A. (2008). Midcycle pericoital intravaginal bee honey and royal jelly for male factor infertility. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*, 101(2), 146-149
- Abdel-Hafez, S. M. N., Rifaai, R. A., & Abdelzaher, W. Y. (2017). Possible protective effect of royal jelly against cyclophosphamide induced prostatic damage in male albino rats; a biochemical, histological and immuno-histo-chemical study. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 90, 15–23.
- Adib, T.R., Henderson, S., Perrett, C., Hewitt, D., Bourmpoulia, D., Ledermann, J., & Boshoff, C. (2004). Predicting biomarkers for ovarian cancer using gene-expression microarrays. *British Journal of Cancer*, 90, 686-692.
- Al-Alem, L., Curry, T.E. (2015). Ovarian cancer: involvement of the matrix metalloproteinases. *Reproduction*, 150, R55–R64.
- Alonso-Alconada, L., deLa-Fuente, A., Santacana, M., Ferreiros, A., Lopez-Lopez, R., Matias-Guiu, X., & Abal, M. (2020). Biomimetic device and foreign body reaction cooperate for efficient tumour cell capture in murine advanced ovarian cancer. *Disease models & Mechanisms*, 13(6), 36-53.
- Amirshahi, T., Najafi, G., & Nejati, V. (2014). Protective effect of royal jelly on fertility and biochemical parameters in bleomycin-induced male rats. *Iranian Journal of Reproductive Medicine*, 12, 209–216.
- Armstrong, D. K., Bundy, B., Wenzel, L., Huang, H. Q., Baergen, R., Leie, S., ... Burger, R. A. (2006). Intraperitoneal cisplatin and paclitaxel in ovarian cancer. *New England Journal of Medicine*, 354, 34-13.
- Arzi, A., Olapour, S., & Yaghooti, H. (2015). Effect of royal jelly on formalin induced- inflammation in rat hind paw. *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products*, 10, 44-66.
- Asama, T., Matsuzaki, H., Fukushima, S., Tatefuji, T., Hashimoto, K., & Takeda, T. (2018). Royal jelly supplementation improves menopausal symptoms such as backache, low back pain, and anxiety in postmenopausal Japanese women. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 12, 68-71.
- Aslan, A., Cemek, M., Buyukokuroglu, M. E., Altunbas, K., Bas, O., & Yurumez, Y. (2012). Royal jelly can diminish secondary neuronal damage after

- experimental spinal cord injury in rabbits. *Food and Chemical Toxicology*, 50(7), 2554-2559.
- Auersperg, N., Edelson, M. I., Mok, S.C., Johnson, S. W., & Hamilton, T. C. (1998). The biology of ovarian cancer. *Seminars in Oncology*, 25, 281-304.
- Ayna, A., Tunç, A., Özbolat, S., Bengü, A., Aykutoğlu, G., Canli, D., ... Darendelioglu, E. (2021). Anticancer, and antioxidant activities of royal jelly on HT-29 colon cancer cells and melissopalynological analysis. *Turkish Journal of Botany*, 45, 809-819.
- Aztopal, N., Erkisa, M., Celikler, S., Ulukaya, E., & Ari, F. (2016). Antigrowth and apoptosis inducing effects of *Hypericum olympicum* L. and *Hypericum adenotrichum* Spach. on lung cancer cells in vitro. Involvement of DNA damage. *Journal of Food Biochemistry*, 40, 559-566.
- Bachanova, K., Klaudiny, J., & Kopernický, J. (2002). Identification of honeybee peptide active against *Paenibacillus* larvae larvae through bacterial growth-inhibition assay on polyacrylamide gel. *Apidologie*, 33, 259-269.
- Baldwin, L. A., Huang, B., Miller, R. W., Tucker, T., Goodrich, S. T., Podzielinski, I., ... Seamon, L.G. (2012). Ten-year relative survival for epithelial ovarian cancer. *Obstetrics & Gynecology*, 120, 612-618.
- Bast, R. C., Hennessy, B., & Mills, G. B. (2009). The biology of ovarian cancer: new opportunities for translation. *Nature Reviews Cancer*, 9, 415-428.
- Berman, M. L. (2003). Future directions in the surgical management of ovarian cancer. *Gynecologic Oncology*, 90, S33-9.
- Bermúdez-Soto, M. J., Tomás-Barberán, F., & García-Conesa, M. (2007). Stability of polyphenols in chokeberry (*Aronia melanocarpa*) subjected to in vitro gastric and pancreatic digestion. *Food Chemistry*, 102, 865-874.
- Bilikova, K., Wu, G. S., & Simuth, J. (2001). Isolation of a peptide fraction from honeybee royal jelly as a potential antifoulbrood factor. *Apidologie*, 32 (3): 275-283.
- Bincoletto, C., Eberlin, S., & Figueiredo, C.A. (2005). Effects produced by Royal Jelly on haematopoiesis: relation with host resistance against Ehrlich ascites tumour challenge. *International Immunopharmacology*, 5, 679-88.
- Birchall, M. A., Winterford, C. M., Allan, D. J., & Harmon, B. V. (1995). Apoptosis in normal epithelium, premalignant and malignant lesions of the oropharynx and oral cavity: a preliminary study. *European Journal of Cancer Part B Oral Oncology*, 31, 380-383.
- Borawska, M. H., Markiewicz-Żukowska, R., Naliwajko, S. K., Moskwa, J., Bartosiuk, E., Socha, K., ... Mariak Z. (2014). The interaction of bee products with temozolomide in human diffuse astrocytoma, glioblastoma multiforme and astroglia cell lines. *Nutrition and Cancer*, 66, 1247-1256.

- Boselli, E, Caboni, M. F., Sabatini, A. G., Khoramjouy, M., Marcazzan, G. L., & Lercker, G. (2003). Determination and changes of free amino acids in royal jelly during storage. *Apidologie*, 34(2), 129-137.
- Bowtell, D. D. L. (2010). The genesis and evolution of high-grade serous ovarian cancer. *Nature Reviews Cancer*, 10, 803-808.
- Bristow, R. E., Tomacruz, R. S., Armstrong, D. K., Trimble, E.L., & Montz, F.J. (2002). Survival effect of maximal cytoreductive surgery for advanced ovarian carcinoma during the platinum era: a meta-analysis. *Journal of Clinical Oncology*, 20, 1248-1259.
- Caboni, M. F., Sabatini, A. G., & Lercker, G. (2004). La gelatina reale: origine, proprietà e composizione/Royal jelly: origin, properties and composition. *APOidea*, 1: 72-79.
- Cadron, I., Leunen, K., Amant, F., Van Gorp, T., Neven, P., & Vergüte, I. (2007). The “Leuven” dose-dense paclitaxel/carboplatin regimen in patients with recurrent ovarian cancer. *Gynecologic Oncology*, 106, 354-361.
- Cannistra, S. A. (2004). Cancer of the ovary. *New England Journal of Medicine*, 351, 2519-2529.
- Cersosimo, R. J. (1993). Hepatotoxicity associated with cisplatin chemotherapy. *Annals of Pharmacotherapy*, 27, 438-441.
- Chambers, S., Kacinski, B., Ivins, C., & Carcangiu, M. (1997). Overexpression of epithelial macrophage colony-stimulating factor (CSF-1) and CSF-1 receptor: a poor prognostic factor in epithelial ovarian cancer, contrasted with a protective effect of stromal CSF-1. *Clinical Cancer Research*, 3, 999-1007.
- Chen, Y. F., Wang, K., Zhang, Y. Z., Zheng, Y. F., & Hu, F. L. (2016). In Vitro anti-inflammatory effects of three fatty acids from royal jell. *Mediators of Inflammation*, 16, 11.
- Chen, W., Huang, C., Yang, C., Ge, X., Huang, W., Li, X., Yang, S., & Liu, S. (2018). Danggui sini decoction protected endothelial cell survival from hypoxic damage via PI3K/Akt/eNOS pathway. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 10, 52-57.
- Choi, J. H., Wong, A.S., & Huang, H. F. (2007). Gonadotropins and ovarian cancer. *Endocrine Reviews*, 28, 440-61.
- Christiansen, J. J., & Rajasekaran, A. K. (2006). Reassessing epithelial to mesenchymal transition as a prerequisite for carcinoma invasion and metastasis. *Cancer Research*, 66, 8319-8326.
- Cihan, Y., Arsav, V., & Göcen, E. (2012). Royal jelly in the prevention of radiation-induced brain damages. *Journal of Neurology Science*, 28, 475-486.
- Clark, T. G., Stewart, M. E., Altman, D. G., Gabra, H., & Smyth, J.F. (2001). A prognostic model for ovarian cancer. *British Journal of Cancer*, 85, 944-952.

- Coleman, M. P., Forman, D., Bryant, H., Butler, J., Rächet, B., Maringe, C., ... Hatcher, J. (2011). Cancer survival in Australia, Canada, Denmark, Norway, Sweden, and the UK, 1995-2007 (the International Cancer Benchmarking Partnership): an analysis of population-based cancer registry data. *Lancet* 377, 127-138.
- Coleman, R. L., Monk, B. J., Sood, A. K., & Herzog, T.J.. (2013). Latest research and treatment of advanced-stage epithelial ovarian cancer. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 10, 211-224.
- Cree, I. A., Kurbacher, C. M., Lamont, A., Sharma, S., Hindley, A. C., & Love, S. (2007). A prospective randomized controlled trial of tumour chemosensitivity assay directed chemotherapy vs physician's choice in patients with recurrent platinum-resistant ovarian cancer. *Anticancer Drugs*, 18, 1093-1101.
- Crum, C. P., Drapkin, R., Kindelberger, D., Medeiros, F., Miron, A., & Lee, Y. (2007). Lessons from BRCA: the tubal fimbria emerges as an origin for pelvic serous cancer. *Clinical Medicine & Research*, 5, 35-44.
- Daenen, K., Andries, A., Mekahli, D., Van Schepdael, A., Jouret, F., & Bammens, B. (2018). Oxidative stress in chronic kidney disease. *Pediatric Nephrology*, 12, 345-362.
- Darai, E., Scoazec, J. Y., Walker-Combrouze, F., Mlika-Cabanne, N., Feldmann, G., Madelenat, P., & Potet, F. (1997). Expression of cadherins in benign, borderline, and malignant ovarian epithelial tumors: a clinicopathologic study of 60 cases. *Human Pathology*, 28, 922-928.
- Davidson, B., Goldberg, L, Bemer, A., Nesland, J. M., Givant-Horwitz, V., Bryne, M., ... Kopolovic, J. (2001). Expression of membrane-type 1, 2, and 3 matrix metalloproteinases messenger RNA in ovarian carcinoma cells in serous effusions. *American Journal of Clinical Pathology*, 115, 517-524.
- Ding, L., Ellis, M. J., Li, S., Larson, D.E., Chen, K., Wallis, J. W.,..., Fulton, L. L. (2010). Genome remodelling in a basal-like breast cancer metastasis and xenograft. *Nature*, 464, 999-1005.
- Dubeau, L. (2008). The cell of origin of ovarian epithelial tumours. *Lancet Oncology*, 9, 1191-1197.
- Du Bois, A., Meier, W., Luck, H. J., Emons, G., Moebus, V., Schroeder, W., ... Jackisch, C. (2002). Chemotherapy versus hormonal treatment in platinum- and paclitaxel- refractory ovarian cancer: a randomised trial of the German Arbeitsgemeinschaft Gynaekologische Onkologie (AGO) Study Group Ovarian Cancer. *Annals of Oncology*, 13, 251-257.
- Eshtiyaghi, M., Deldar, H., Pirsaraei, Z. A., & Shohreh, B. (2016). Royal jelly may improve the metabolism of glucose and redox state of ovine oocytes matured in vitro and embryonic development following in vitro fertilization. *Theriogenology*, 86(9), 2210-2221.

- Fang, E., Zhou, H., Xu, H., & Xing, M. (1994). Antiulcer effects of 10-hydroxy-2-decenoic acid in rats. *Zhongguo Yaolixue Tongbao* 10(2), 9-42.
- Filipič, B., Gradišnik, L., Rihar, K., Šooš, E., Pereyra, A., & Potokar, J. (2015). The influence of royal jelly and human interferon-alpha (HuIFN- α N3) on proliferation, glutathione level and lipid peroxidation in human colorectal adenocarcinoma cells in vitro. *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology*, 66, 269–274.
- Fratini, F., Cilia, G., & Mancini, S. (2016). Royal Jelly: An ancient remedy with remarkable antibacterial properties. *Microbiological Research*, 192, 130-141.
- Fujita, T., Kozuka-Hata, H., Ao-Kondo, H., Kunieda, T., Oyama, M., & Kubo, T. (2013). Proteomic analysis of the royal jelly and characterization of the functions of its derivation glands in the honeybee. *Journal of Proteome Research*, 12(1), 404-411.
- Fung, F. K. M., Oliver, T., Elit, L., Oza, A., Hirte, H. W., & Bryson, P. (2007). Optimal chemotherapy treatment for women with recurrent ovarian cancer. *Current Oncology*, 14, 195-208.
- Gasic, S., Vucevic, D., Vasilijic, S., Atunovic, M., Chinou, I., & Colic, M. (2007). Evaluation of the immunomodulatory activities of royal jelly components in vitro. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 29, 521-536.
- Geisler, J. P., Hatterman-Zogg, M. A., Rathe, J. A., & Buller, R. E. (2002). Frequency of BRCA1 dysfunction in ovarian cancer. *Journal of the National Cancer Institute*, 94, 61-67.
- Ghanbari, E., Nejati, V., & Khazaei, M. (2016). Antioxidant and protective effects of royal jelly on histopathological changes in testis of diabetic rats. *International Journal of Reproductive BioMedicine*, 14(8), 519-529.
- Ghanbari, E., Khazaei, M. R., & Khazaei, M. (2018). Royal Jelly promotes ovarian follicles growth and increases steroid hormones in immature rats. *International journal of fertility & sterility*, 11, 263–269.
- Godbole, N., Srinivasaiah, M., & Skiena, S. (2007). Large-scale sentiment analysis for news and blogs. *International Conference on Web and Social Media*, 7(21), 219–222.
- Gorpichernko, I. & Gurjenko, J. (2013). Efficiency of the preparation Enduran Forte, based on Royal Jelly in the therapy of excretory chronic male infertility. *Male Health (Russ)*, 2, 66-69.
- Gupta, G. P., & Massague, J. (2006). Cancer metastasis: building a framework. *Cell*, 127, 679-695.
- Guarino, M., Rubino, B., & Ballabio, G. (2007). The role of epithelial-mesenchymal transition in cancer pathology. *Pathology*, 39, 305-318.

- Guppy, A. E., & Rustin, G. J. S. (2002). CA125 response: can it replace the traditional response criteria in ovarian cancer? *Oncologist*, 7, 437-443.
- Hajra, S., Patra, A. R., Basu, A., & Bhattacharya, S. (2018). Prevention of doxorubicin (DOX)-induced genotoxicity and cardiotoxicity: Effect of plant derived small molecule indole-3-carbinol (I3C) on oxidative stress and inflammation. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 101, 228–243.
- Hattori, N., Nomoto, H., Mishima, S., Inagaki, S., Goto, M., Sako, M., & Furukawa, S. (2006). Identification of AMP N1-oxide in royal jelly as a component neurotrophic toward cultured rat pheochromocytoma PC12 cells. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 70, 897-906.
- Hattori, N., Nomoto, H., Fukumitsu, H., Mishima, S., & Furukawa, S. (2007). Royal jelly and its unique fatty acid, 10-hydroxy-trans-2-decenoic acid, promote neurogenesis by neural stem/progenitor cells in vitro. *Biomedical Research-Tokyo*, 28(5), 261-266.
- Hattori, N., Nomoto, H., Fukumitsu, H., Mishima, S., & Furukawa, S. (2010). AMP N1- Oxide, a unique compound of royal jelly, induces neurite outgrowth from PC12 Vells via signaling by protein kinase a independent of that by mitogen-activated protein kinase. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 7, 97-174.
- Haverty, P. M., Hon, L. S., Kaminker, J. S., Chant, J., & Zhang, Z. (2009). High-resolution analysis of copy number alterations and associated expression changes in ovarian tumors. *Medical Genomics*, 2, 21.
- Hibbs, K., Skubitz, K. M., Pambuccian, S. E., Casey, R. C., Burleson, K. M., Oegema, T.R., ... Skubitz, A. P. N. (2004). Differential gene expression in ovarian carcinoma: identification of potential biomarkers. *American Journal of Pathology*, 165, 397-114.
- Honda, Y., Araki, Y., Hata, T., Ichihara, K., Ito, M., Tanaka, M., & Honda, S. (2015). 10- Hydroxy-2-decenoic acid, the major Lipid component of royal jelly, extends the lifespan of caenorhabditis elegans through dietary restriction and target of rapamycin signaling. *Journal of Aging Research*, 42, 52-61.
- Husein, M. Q., & Kridli, R. T. (2002). Reproductive responses following royal jelly treatment administered orally or intramuscularly into progesterone-treated Awassi ewes. *Animal Reproduction Science*, 74(1-2), 45-53.
- Ibrahim, A., Eldaim, M. A., & Abdel-Daim, M. M. (2016). Nephroprotective effect of bee honey and royal jelly against subchronic cisplatin toxicity in rats. *Cytotechnology*, 68, 1039–1048.
- Imai, M., Qin, J., Yamakawa, N., Miyado, K., Umezawa, A., & Takahashi, Y. (2012). Molecular alterations during female reproductive aging: Can aged oocytes remind youth? *Journal of Embriology*, 5, 12-27.

- Israeli, O., Gotlieb, W. H., Friedman, E., Korach, J., Friedman, E., Goldman, B., ... Rienstein, S. (2004). Genomic analyses of primary and metastatic serous epithelial ovarian cancer. *Cancer Genetics and Cytogenetics*, 154, 16-21.
- Ito, S., Nitta, J., Fukumitsu, H., Soumiya, H., Ikeno, K; Nakamura, T., & Furukawa, S. (2011). Antidepressant-like activity of 10-hydroxy-trans-2-decenoic acid, a unique unsaturated fatty acid of royal jelly, in stress-inducible depression-like mouse model. *Evid Based Complement and Alternat Medicine*, 12, 13-40.
- Izuta H., Shimazawa, M., Tsuruma, K., Araki, Y., Mishima, S., & Hara, H. (2009). Bee products prevent VEGF-induced angiogenesis in human umbilical vein endothelial cells. *Complement Alternative Medicine*, 9, 1-10.
- Jablonka-Shariff, A., & Olson, L. M. (1998). The role of nitric oxide in oocyte meiotic maturation and ovulation: meiotic abnormalities of endothelial nitric oxide synthase knock-out mouse oocytes. *Endocrinology*, 139(6), 2944-2954.
- Jacobs, I. J., Kohler, M. F., Wiseman, R. W., Marks, J. R., Whitaker, R., Kerns, B. A., ... Bast, R. C. (1992). Clonal origin of epithelial ovarian carcinoma: analysis by loss of heterozygosity, p53 mutation, and X-chromosome inactivation. *Journal of the National Cancer Institute*, 84, 1793-1798
- Jain, A., Maheshwari, V., Alam, K., Mehdi, G., Sharma, S. C. (2009). Apoptosis in premalignant and malignant squamous cell lesions of the oral cavity: a light microscopic study. *Indian Journal of Pathology and Microbiology*, 52, 164-166.
- Jemal, A., Siegel, R., Ward, E., Hao, Y., Xu, J., & Thun, M. J. (2009). Cancer statistics. *Cancer Journal for Clinicians*, 59, 225-249.
- Jurikova, T., Mlcek, J. & Skrovankova, S. (2017). Fruits of Black Chokeberry *Aronia melanocarpa* in the Prevention of Chronic Diseases. *Molecules*, 2(6), 944.
- Kaku, T., Ogawa, S., Kawano, Y., Ohishi, Y., Kobayashi, H., Hirakawa, T., & Nakano, H. (2003). Histological classification of ovarian cancer. *Medical Electron Microscopy*, 36, 9-17.
- Kalluri, R., & Weinberg, R.A. (2009). Review series The basics of epithelial-mesenchymal transition. *Nature Reviews Cancer*, 11(6), 1420-1428.
- Kanelis, D., Tananaki, C., Liolios, V., Dimou, M., Goras, G., Rodopoulou, M. A., Karazafiris, E., & Thrasyvoulou, A. (2015). A suggestion for royal jelly specifications. *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology*, 66, 275–284.
- Karadeniz, A., Simsek, N., Karakus, E., Yildirim, S., Kara, A., Can, I., ... Turkeli, M. (2011). Royal jelly modulates oxidative stress and apoptosis in liver and kidneys of rats treated with cisplatin. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 11, 98-108.

- Kaynar, L., Cetin, A., Hacıoglu, S. K., Eser, B., Koçyigit, İ., Canöz, Ö., ... Saraymen, R. (2012). Efficacy of royal jelly on methotrexate-induced systemic oxidative stress and damage to small intestine in rats. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 9, 412–417.
- Kenny, H. A., Dogan, S., Zillhardt, M., K Mitra, A., Yamada, S. D., Krausz, T., & Lengyel, E. (2009). Organotypic models of metastasis: A three-dimensional culture mimicking the human peritoneum and omentum for the study of the early steps of ovarian cancer metastasis. *Cancer Treatment and Research*, 149, 335-351.
- Khan, T. S., Sundin, A., Juhlin, C., Wilander, E., Oberg, K., & Eriksson, B. (2004). Vincristine, cisplatin, teniposide and cyclophosphamide combination in the treatment of recurrent or metastatic adrenocortical cancer. *Medical Oncology*, 21, 167–177.
- Khoubnasabjafari, M., Ansarin, K., & Jouyban, A. (2015). Reliability of malondialdehyde as a biomarker of oxidative stress in psychological disorders. *Bioimpacts*, 5, 123-127.
- Kimura, Y. (2008). Antitumor and antimetastatic actions of various natural products. *Studies in Natural Products Chemistry*, 34: 35-76.
- Kocot, J., Kiełczykowska, M., Luchowska-Kocot, D., Kurzepa, J., & Musik, I. (2018). Antioxidant potential of propolis, bee pollen, and royal jelly: possible medical application. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 18, 1-29.
- Kodai, T., Umebayashi, K., Nakatani, T., Wen, H., Ishiyama, K., & Noda, N. (2007). Compositions of royal jelly II. Organic acid glycosides and sterols of the royal jelly II. Organic acid glycosides and sterols of the royal jelly of honeybees (*Apis mellifera*). *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 55(10), 1528-1531.
- Kolayli, S., Sahin, H., Can, Z., Yildiz, O., Malkoc, M., & Asadov, A. (2016). A member of complementary medicinal food: Anatolian royal jellies, their chemical compositions and antioxidant properties. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 21, NP43–NP48.
- Koya-Miyata, S., Okamoto, I., Ushio, S., Iwaki, K., Ikeda, M., & Kurimoto, M. (2004). Identification of a collagen production-promoting factor from an extract of royal jelly and its possible mechanism. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 68(4), 767-773.
- Kridli, R. T., & Al-Khetib, S. S. (2006). Reproductive responses in ewes treated with eCG or increasing doses of royal jelly. *Animal Reproductive Science*, 92(1-2), 75-85.
- Kridli, R. T., Husein, M. Q., & Humphrey, W. D. (2003). Effect of royal jelly and GnRH on the estrus synchronization and pregnancy rate in ewes using intravaginal sponges. *Small Ruminant Research*, 49, 25-30.

- Kristensen, T. G., Kaem, J., Baekelandt, M., Skeie-Jenssen, R., dePont Christensen, E., Ävall- Lundqvist, M., Bergdahl, R., & Sandvei, T. H. (2008). Chemotherapy versus hormonal treatment in patients with platinum and taxane resistant ovarian cancer: A NSGO study. *Journal of Clinical Oncology*, 26, 15.
- Kurman, R.J., and Shih, I.-M. (2010). The origin and pathogenesis of epithelial ovarian cancer: a proposed unifying theory. *American Journal of Surgical Pathology*, 34, 433-443.
- Kyrgiou, M., Salanti, G., Pavlidis, N., Paraskevaidis, E., & Ioannidis, J. P. A. (2006). Survival benefits with diverse chemotherapy regimens for ovarian cancer: meta-analysis of multiple treatments. *Journal of the National Cancer Institute*, 98, 1655-1663.
- Ledermann, J. A., Kristeleit, R. S. (2010). Optimal treatment for relapsing ovarian cancer. *Annals of Oncology*, 7(7), 218-222.
- Lane, D., Matte, L, Rancourt, C., & Piche, A. (2011). Prognostic significance of IL-6 and IL-8 ascites levels in ovarian cancer patients. *Cancer*, 77, 210-219.
- Lee, A., Yeh, M., Wen, H., Chern, J., Lin,, J., & Hwang, W. (1999). The application of capillary electrophoresis on the characterization of protein in royal jelly. *Journal of Food and Drug Analysis*, 7 (1), 73-82.
- Lee, J. M., Dedhar, S., & Erik, W. (2006). The epithelial-mesenchymal transition : new insights in signaling, development, and disease. *Cell Biology*, 172(7), 973-981
- Lercker, G., Capella, P., Conte, L. S., Ruini, F., & Giordani, G. (1982). Components of royal jelly II. The lipid fraction, hydrocarbons and sterols. *Journal of Apicultural Research*, 21, 178–184.
- Lercker, G., Caboni, M. F., Vecchi,, M. A., Sabatini, A. G., & Nanetti, A. (1992). Characterization of the main constituents of royal jelly. *Apicoltura* (8), 27-37.
- Lercker, G., Caboni, M. F., Vecchi,, M. A., Sabatini, A. G., Nanetti, A., & Piana, L. (1996). Composizione della frazione glucidica della gelatina reale e della gelatina delle api operaie in relazione all'eta larvale. *Apicoltura*, 1: 123- 139.
- Lewis, R. (2004). *The Infertility Cure, the Ancient Chinese Wellness Program for getting pregnant and having healthy babies*. Newyork, USA: Little Brown and Company Press.
- Liu, X. D., Liu, Y., Gong, T.T., & Guo, J. Y. (2018). Prognostic influence of the time interval between surgery and chemotherapy in epithelial ovarian cancer. *Cancer*, 9, 4172-4178.
- Lössner, D., Abou-Ajram, C., Bengel, A., & Reuning, U. (2008). Integrin alphavbeta3 mediates upregulation of epidermal growth-factor receptor expression and

- activity in human ovarian cancer cells. *International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 40, 2746-2761.
- Macluskey, M., Chandrachud, L. M., Pazouki, S., Green, M., Chisholm, D. M., Ogden, G. R., Schor, S. L., & Schor, A. M. (2000). Apoptosis, proliferation, and angiogenesis in oral tissues. Possible relevance to tumour progression. *Journal of Pathology*, 191, 368-375.
- Makar, A. (2000). Hormone therapy in epithelial ovarian cancer. *Endocrine-Related Cancer*, 7, 85-93.
- Makino, J., Ogasawara, R., Kamiya, T., Hara, H., Mitsugi, Y., Yamaguchi, E., Itoh, A., & Adachi, T. (2016). Royal Jelly constituents increase the expression of extracellular superoxide dismutase through histone acetylation in monocytic THP-1 cells. *Journal of Natural Products*, 79, 1137–1143.
- Malekinejad, H., Ahsan, S., Delkhosh-Kasmaie, F., Cheraghi, H., Rezaei-Golmisheh, A., Janbaz-Acyabar, H. (2016). Cardioprotective effect of royal jelly on paclitaxel- induced cardio-toxicity in rats. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 19, 221-227.
- Mannoor, M. L., Shimabukuro, I., Tsukamotoa ,M., Watanabe, H; & Yamaguchi, K. (2009). Honeybee royal jelly inhibits autoimmunity in SLE-prone NZB x NZW F1 mice. *Lupus*, 1, 44-52.
- Markman, M. (2003). Optimizing primary chemotherapy in ovarian cancer. *Hematology/Oncology Clinics of North America*, 17, 957-968,.
- Massague, J. (2008). TGFbeta in Cancer. *Cell* 134, 215-230.
- Matsui, T., Yukiyoishi, A., Doi, S., Sugimoto, H., Yamada, H; & Matsumoto, K. (2002). Gastrointestinalenzyme production of bioactive peptides from royal jelly protein and their antihypertensive ability in SHR. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 13(2), 80-86.
- Matsuka, M. (1993). Content of benzoic acid in royal jelly and propolis. *Honeybee Science* 14(2), 79-80.
- Matsuzaki, J., & Ochiya, T. (2018). Extracellular microRNAs and oxidative stress in liver injury: A systematic mini review. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 63, 6-11.
- Milne, K., Köbel, M., Kalloger, S. E., Barnes, R. O., Gao, D., Gilks, C. B., ... Nelson, B. H. (2009). Systematic analysis of immune infiltrates in high-grade serous ovarian cancer reveals CD20, FoxP3 and TIA-1 as positive prognostic factors. *PLoS One*, 4, e6412.
- Mishima, S., Suziki, K. M., Isohama, Y., Kuratsu, N., Araki, Y., Inoue, M., & Miyata, T. (2005). Royal jelly has estrogenic effects in vitro and in vivo. *Journal of Ethnopharmacology*, 101(1-3), 215-220.

- Miyata, Y., Asai, A., Mitsunari, K., Matsuo, T., Ohba, K., & Sakai, H. (2015). Safety and efficacy of combination therapy with low-dose gemcitabine, paclitaxel and sorafenib in patients with cisplatin-resistant urothelial cancer. *Medical Oncology*, 32, 235.
- Mofid, B., Rezaeizadeh, H., Termos, A., Rakhsha, A., Mafi, A.R., Taheripanah, T., ... Kashi, A.S.Y. (2016). Effect of processed honey and royal jelly on cancer-related fatigue: A double-blind randomized clinical trial. *Electronic Physics*, 8, 2475-2482.
- Mohamed, A. A., Galal, A. A., & Elewa, Y. H. (2015). Comparative protective effects of royal jelly and cod liver oil against neurotoxic impact of tartrazine on male rat pups brain. *Acta Histochemica*, 117(7), 649–658.
- Moss, N. M., Barbolina, M. V., Liu, Y., Sun, L., Munshi, H. G., & Stack, M. S. (2009). Ovarian cancer cell detachment and multicellular aggregate formation are regulated by membrane type 1 matrix metalloproteinase: a potential role in I.p. metastatic dissemination. *Cancer Research*, 69, 7121-7129.
- Morrison, J. (2005). Advances in the understanding and treatment of ovarian cancer. *Journal of the British Menopause Society*, 11, 66-71.
- Moutsatsou, P., Papoutsis, Z., Kassi, E., Heldring, N., Zhao, C., Tsiapara, A., ... Wright, K. (2010). Fatty acids derived from Royal Jelly are modulators of estrogen receptor functions. *Plos One*, 5: e15594.
- Munstedt, K., Von Georgi, R. (2003). Royal jelly - A miraculous product from the bee hive? *American Bee Journal*, 143(8), 647-650.
- Nagai, T. (2001). Properties and functions of gluconic acid and its salts. *Honeybee Science*, 22 (4), 171-174.
- Nakaya, M., Onda, H., & Sasaki, K. (2007). Effect of royal jelly on bisphenol A-induced proliferation of human breast cancer cells. *Biosci Biotechnol Biochem*, 71, 253–255.
- Nomura, M., Maruo, N., Zamami, Y., Takatori, S; Doi, S, & Kawasaki, H. (2007). Effect of long-term treatment with royal jelly on insulin resistance in Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) rats. *Yakugaku Zasshi*, 127(11), 1877-1882.
- Nustad, K., Bast, R. C., Brien, T. J., Nilsson, O., Seguin, P., Suresh, M. R., ... de Bruijn, H. W., (1996). Specificity and affinity of 26 monoclonal antibodies against the CA 125 antigen: first report from the ISOBM TD-1 workshop. International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine. *Tumour Biology*, 17, 196-219.
- Okic-Djordjevic, I., Trivanovic, D., Krstic, J., Jaukovic, A., Mojsilovic, S., & Santibanez, J. F. (2013). GE132+Natural: Novel promising dietetic supplement with antiproliferative influence on prostate, colon, and breast cancer cells. *Journal of the Balkan Union of Oncology*, 18(2), 504-510.

- Okuda, H., Kameda, K., Morimoto, C., Matsuura, Y., Chikaki, M., & Ming, J. (1998). Studies on insulinlike substances in royal jelly and other substances in royal jelly which inhibit angiotensin-converting enzyme. *Honeybee Science* 19 (1), 9-14.
- Özlük, A. A., Oytun, M.G. & Güneç, D. (2017). Kanser İmmünoterapisi. *Istanbul Bilim Univ Florence Nightingale Transplant Journal*, 8, 21-3.
- Pavel, C. I., Mărghitaş, L. A., Bobiş, O., Dezmirean, D. S., Şapcaliu, A., & Radoi, I. (2011). Biological activities of royal jelly-review. *Animal Science and Biotechnologies*, 44(2), 108-118.
- Peng, C. C., Sun, H. T., Lin, I. P., Kuo, P. C., & Li, J. C. (2017). The functional property of royal jelly 10-hydroxy-2-decenoic acid as a melanogenesis inhibitor. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 17(1), 392.
- Premratanachai, P., & Chanchao, C. (2014). Review of the anticancer activities of bee products. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 4(5), 337–344.
- Pokhriyal, R., Hariprasad, R., Kumar, L., & Hariprasad, G. (2019). Chemotherapy resistance in advanced ovarian cancer patients. *Biomarkers in Cancer*, 11, 1179299X19860815.
- Poplawski, A. B., Jankowski, M., Erickson, S. W., Diaz de Stähl, T., Partridge, E. C., Crasto, C., ... Bruder, C. E. (2010). Frequent genetic differences between matched primary and metastatic breast cancer provide an approach to identification of biomarkers for disease progression. *European Journal of Human Genetics* 18, 560-568.
- Porta, C., Levy, A., Hawkins, R., Castellano, D., Bellmunt, J., & Nathan, P., ... McCaffrey, J. (2014). Impact of adverse events, treatment modifications and dose intensity on survival among patients with advanced renal cell carcinoma treated with first-line sunitinib: A medical chart review across ten centers in five European countries. *Cancer Medicine*, 3, 1517-1526.
- Pourmoradian, S., Mahdavi, R., Mobasser, M., Faramarzi, E., & Mobasser, M. (2014). Effects of royal jelly supplementation on glycemic control and oxidative stress factors in type 2 diabetic female: a randomized clinical trial. *Chinese Journal of Integrative Medicine*, 20(5), 347-352.
- Pugazhendhi, A., Edison, T. N. J. I., Velmurugan, B. K., Jacob, J. A., & Karuppusamy, I. (2018). Toxicity of Doxorubicin (Dox) to different experimental organ systems. *Life Science*, 200, 26–30.
- Pyrzanowska, J., Piechal, A., Blecharz-Klin, K., Joniec-Maciejak, I., Graikou, K., Chinou, I., & Widy-Tyszkiewicz E. (2014). Long-term administration of Greek Royal Jelly improves spatial memory and influences the concentration of brain neurotransmitters in naturally aged Wistar male rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 155, 343–351.

- Ramadan, M. F., & Al-Ghamdi, A. (2012). Bioactive compounds and health-promoting properties of royal jelly: a review. *Journal of Functional Foods*, 4, 39-52.
- Rembold, H., & Dietz, A. (1965). Biologically active substances in royal jelly. *Vitamines and Hormones*, 23, 359-383.
- Riker, A. I., Enkemann, S. A., Fodstad, O., Liu, S., Ren, S., Morris, C., ... Samant, R. S., (2008). The gene expression profiles of primary and metastatic melanoma yields a transition point of tumor progression and metastasis. *BMC Medical Genomics*, 7,13.
- Risch, H. A., McLaughlin, J. R., Cole, D. E. C., Rosen, B., Bradley, L., Fan, I., ... Shaw, P. A. (2006). Population BRCA1 and BRCA2 mutation frequencies and cancer penetrances: a kin-cohort study in Ontario, Canada. *Journal of the National Cancer Institute*, 98, 1694-1706.
- Rosen, D. G., Yang, G., Liu, G., Mercado-Uribe, L, Chang, B., Xiao, X. S., ... Liu, J. (2009). Ovarian cancer: pathology, biology, and disease models. *Frontiers in Bioscience*, 14, 2089-2102.
- Sabatini, A. G., Marcazzan, G., Caboni, M. F., Klaudiny, J., Bogdanov, S., & Almeida- Muradian, L. B. (2009). Quality and standardisation of royal jelly. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 1: 1-6.
- Salazar-Olivo, L.A., & Paz-González, V. (2005). Screening of biological activities present in honeybee (*Apis mellifera*) royal jelly. *Toxicology in Vitro*, 19, 645-651.
- Salvesen, G. S., & Dixit, V. M. (1997). Caspases: intracellular signaling by proteolysis. *Cell*, 91(4), 443-446.
- Seyyedi, F., Rafiean-Kopaei, M., & Miraj, S. (2016). Comparison of the effects of vaginal royal jelly and vaginal estrogen on quality of life, sexual and urinary function in postmenopausal women. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 10, QC01.
- Scambia, G., Testa, U., Benedetti Panici, P., Foti, E., Martucci, R., Gadducci, A., ... Mancuso, S. (1995). Prognostic significance of interleukin 6 serum levels in patients with ovarian cancer. *British Journal of Cancer*, 71, 354-356.
- Schmid, J. O. (1996). *Bee products: Chemical composition and application, Bee Products: Properties, Applications and Apitherapy*. Springer Science MA, Press, New York,
- Schmidt, H. H., Stocker, R., Vollbracht, C., Paulsen, G., Riley, D., Daiber, A., & Cuadrado, A. (2015). Antioxidants in Translational Medicine. *Antioxidants & Redox Signaling*, 23, 1130-1143.

- Schmith, J. O., & Buchmann, S. L., Graham, J.M. (Ed.). (1992). *Other products of the hive*. in: *The Hive and the Honey Bee* Dadant & Sons. (pp.927-988). Hamilton, IL.
- Schorge, J. O., Garrett, L. A., & Annekathryn-Goodman, M. D. (2011). Cytoreductive surgery for advanced ovarian cancer: quo vadis? *Oncology*, 25(10), 928.
- Sharif, S. N., & Darsareh, F. (2019). Effect of royal jelly on menopausal symptoms: A randomized placebo-controlled clinical trial. *Complement. Therapies in Clinical Practice*, 37, 47-50.
- Sharma, R., Graham, J., Mitchell, H., Brooks, A., Blagden, S., & Gabra, H. (2009). Extended weekly dose-dense paclitaxel/carboplatin is feasible and active in heavily pre-treated platinum-resistant recurrent ovarian cancer. *British Journal of Cancer*, 100, 707-712.
- Shi, C. & Wang, M. (2018). LINC01118 Modulates paclitaxel resistance of epithelial ovarian cancer by regulating Mir-134/ABCC1. *Medical Science Monitor*, 6, 8831- 8839.
- Shidfar, F., Jazayeri, S., Mousavi, S. N., Malek, M., Hosseini, A. F., & Khoshpey, B. (2015). Does supplementation with royal jelly improve oxidative stress and insulin resistance in type 2 diabetic patients? *Iranian Journal of Public Health*, 44(6), 797-803.
- Shih, I. M., Panuganti, P. K., Kuo, K. T., Mao, T. L., Kuhn, E., Jones, S., ... Wang, T. L. (2011). Somatic mutations of PPP2R1A in ovarian and uterine carcinomas. *American Journal of Pathology*, 178, 1442-1447.
- Shirwalkar, H, Modi, D. N., & Maitra, A. (2007). Exposure of adult rats to estradiol valerate induces ovarian cyst with early senescence of follicles. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 272(1-2), 22-37.
- Shirzad, M., Kordyazdi, R., Shahinfard, N., & Nikokar, M. (2013). Does royal jelly affect tumor cells? *Journal of Herbmed Pharmacology*, 2, 45-48.
- Silici, S., Ekmekcioglu, O., Kanbur, M., & Deniz, K. (2001). The protective effect of royal jelly against cisplatin-induced renal oxidative stress in rats. *World Journal of Urology*, 29, 127-132.
- Silici, S., Ekmekcioglu, O., Eraslan, G., & Demirtas, A. (2009). Antioxidative effect of royal jelly in cisplatin-induced testes damage. *Urology*, 74(3), 545-551.
- Sobral, F., Calhelha, R. C., Barros, L., Dueñas, M., Tomás, A., Santos-Buelga, C., ... Ferreira, I. C. (2017). Flavonoid composition and antitumor activity of bee bread collected in northeast Portugal. *Molecules*, 22, 248.
- Stocker, A., Schramel, P., & Kettrup, A. (2005). Trace and mineral elements in royal jelly and homeostatic effects. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 19, 183-189.

- Sugiyama, T., Takahashi, K., & Mori, H. (2012). Royal jelly acid, 10-hydroxy-trans 2-decenoic acid, as modulator of the innate immune response. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders*, 12, 368–76.
- Suzuki, K., Isohama, Y., Maruyama, H., Yamada, Y., Narita, Y. & Ohta, S. (2008). Estrogenic activities of fatty acids and a sterol isolated from royal jelly. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 5(3), 295-302.
- Sver, L., Orsolic., N., Tadic., Z., Njari, B., Valpotić, I., & Basić, I. (1996). A royal jelly as a new potential immunomodulator in rats and mice. *Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases*, 19, 31-38.
- Taavoni, S., Barkhordari, F., Goushegir, A., & Haghani, H. (2014). Effect of royal jelly on premenstrual syndrome among Iranian medical sciences students: A randomized, triple-blind, placebo-controlled study. *Complementary Therapies in Medicine*, 22, 601-606.
- Taguchi, T., Nazneen, A., Abid, M. R., & Razzaque, M. S. (2005). Cisplatin-associated nephrotoxicity and pathologicalevents. *Contributions to Nephrology*, 2005, 148, 107-121.
- Thigpen, J. E., Haseman, J. K., Saunders, H. E, Setchell, K. D. R., Grant, M. G., & Forsythe, D. B. (2003). Dietary phytoestrogens accelerate the time of vaginal opening in immature CD-1 mice. *Comparative Medicine*, 53(6), 607-615.
- Takayanagi, S., Tokunaga, T., Liu, X., Okada, H., Matsushima, A., & Shimohigashi, Y. (2006). Endocrine disruptor bisphenol A strongly binds to human estrogen-related receptor gamma (ERRgamma) with high constitutive activity. *Toxicology Letters*, 167, 95-105.
- Takenaka, T., Yatsunami, K., & Echigo, T. (1986). Changes in quality of royal jelly during storage. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* 33(1), 1-7.
- Tamura, T., Fuji, A., & Kuboyama, N. (1987). Anti-tumor effects of royal jelly. *Nippon Yakurigaku Zasshi* 89(2), 73-80.
- Tamura, S., Kono, T., Harada, C., Yamaguchi, K., & Moriyama, T. (2009). Estimation and characterisation of major Royal Jelly proteins obtained from the honeybee *Apis merifera*. *Food Chemistry*, 114, 1491-1497.
- Taniguchi, Y., Kohno, K., Inoue, S., Koya-Miyata, S., Okamoto, I., Arai, N., ... Kurimoto, M. (2003). Oral administration of royal jelly inhibits the development of atopic dermatitis-like skin lesions in NC/Nga mice. *International Immunopharmacology*, 3, 1313-24.
- Teixeira, R. R., de Souza, A.V., Peixoto, L. G., Machado, H. L., Caixeta, D. C., Vilela, D. D., ... Espindola, F. S. (2017). Royal jelly decreases corticosterone levels and improves the brain antioxidant system in restraint and cold stressed rats. *Neuroscience Letters*, 655, 179–185.

- Tone, A.A., Begley, H., Sharma, M., Murphy, J., Rosen, B., & Brown, T.J.(2008). Gene expression profiles of luteal phase fallopian tube epithelium from BRCA mutation carriers resemble high-grade serous carcinoma. *Clinical Cancer Research*, 14, 4067-1078.
- Townsend, G. F., Morgan, J. F., Tolnai, S., Hazlett, B., Morton, H. J., Shuel, R. W. (1960). Studies on the in vitro antitumor activity of fatty acids. I. 10-Hydroxy-2-decenoic acid from royal jelly. *Cancer Research*, 20, 503–510.
- Tsai, Y. P., & Wu, K. J. (2012). Hypoxia-regulated target genes implicated in tumor metastasis. *Journal of Biomedical Science*, 19, 102.
- Turajlic, S., Fumey, S. J., Lambros, M. B., Mitsopoulos, C., Kozarewa, I., Geyer, F. C., ... Lord, C. J. (2012). Whole genome sequencing of matched primary and metastatic acral melanomas. *Genome Research*, 22, 196-207.
- Turan, I., Demir, S., Misir, S., Kilinc, K., Mentese, A., & Aliyazicioglu, Y. (2015). Cytotoxic effect of Turkish propolis on liver, colon, breast, cervix and prostate cancer cell lines. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 14(5), 777-782.
- Valiollahpoor-Amiri, M., Deldar H., & Pirsaraei, Z. A. (2016). Impact of supplementary royal jelly on in vitro maturation of sheep oocytes: genes involved in apoptosis and embryonic development, *Systems Biology in Reproductive Medicine*, 62:1, 31-38.
- Valko, M., Rhodes, C. J., Moncol, J., Izakovic, M., & Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, 160, 1-40.
- Vang, R., Shih, I. M., &Kurman, R. J. (2009). Ovarian low-grade and high-grade serous carcinoma: pathogenesis, clinicopathologic and molecular biologic features, and diagnostic problems. *Advances in Anatomic Pathology*, 16, 267-282.
- Veatch, A. L., Carson, L. F., and Ramakrishnan, S. (1994). Differential expression of the cell- cell adhesion molecule E-cadherin in ascites and solid human ovarian tumor cells. *International Journal of Cancer*, 58, 393-399.
- Vergara, D., Merlot, B., Lucot, J. P., Collinet, P., Vinatier, D., Fournier, L, & Salzet, M. (2010). Epithelial-mesenchymal transition in ovarian cancer. *Cancer Letters*, 291, 59-66.
- Wang, C. W., Chen, C. L., Wang, C. K., Chang, Y. J., Jian, J. Y., Lin, C. S., Tai, C. J., & Tai, C. J. (2015). Cisplatin-, Doxorubicin-, and Docetaxel-Induced cell death promoted by the aqueous extract of *Solanum nigrum* in human ovarian carcinoma cells. *Integrative Cancer Therapies*, 14(6), 546-55.
- Wei, W., Mok, S. C., Oliva, E., Kim, S., Mohapatra, G., & Birrer, M. J. (2013). FGF18 as prognostic and therapeutic biomarker in ovarian cancer. *Journal of Clinical Investigation*, 123, 4435-4448.

- Winter, W. E., Maxwell, G. L., Tian, C., Carlson, J. W., Ozols, R. F., Rose, P. G., ... McGuire, W. P. (2007). Prognostic factors for stage III epithelial ovarian cancer: a Gynecologic Oncology Group Study. *Journal of Clinical Oncology*, 25, 3621-3627.
- Wyllie, A. H. (1997). Apoptosis: an overview. *British Medical Bulletin*, 53(3), 451–465.
- Xu, J., Lamouille, S., & Derynck, R. (2009). TGF-beta-induced epithelial to mesenchymal transition. *Cell Research*, 19, 156-172.
- Yaba, A., Bianchi, V., Borini A., & Johnson J. A. (2008). A putative mitotic checkpoint dependent on mTOR fuction controls cell proliferation and survival in ovarian granulosa cells. *Reproductive Sciences*, 15, 128-138.
- Yang, X. Y., Yang, D. S. Wel, Z., Wang, J. M., Li,, C. Y., Ye, H., ... Wang, J. G. (2010). 10-Hydroxy-2-decenoic acid from Royal jelly: A potential medicine for RA. *Journal of Ethnopharmacology*, 128 (2), 314-321.
- Yang , Y., Chou, W., & Widowati, D. A. (2018). 10-hydroxy-2-decenoic acid of royal jelly exhibits bactericide and anti-inflammatory activity in human colon cancer cells. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 18, 202.
- Yapar, K., Cavuşoğlu, K., Oruç, E., & Yalçın, E. (2009). Protective effect of royal jelly and green tea extracts effect against cisplatin-induced nephrotoxicity in mice: A comparative study. *Journal of Medicinal Food*, 12, 1136-1142.
- Zamani, Z., Reisi, P., Alaei, H., & Pilehvarian, A. A. (2012). Effect of royal jelly on spatial learning and memory in rat model of streptozotocin-induced sporadic Alzheimer's disease. *Advanced Biomedical Research*, 1:26.
- Zargar, H. R., Hemmati, A. A., Ghafourian, M., Arzi, A.; Rezaie, A., & Javad-Moosavi, S. A. (2017). Long-term treatment with royal jelly improves bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats. *Cancer Journal of Physiology and Pharmacology*, 95, 23–31.
- Zhan Y, Van-deWater B., Wang, Y., & Stevens, J. L. (1999). The roles of caspase-3 and bcl-2 in chemically-induced apoptosis but not necrosis of renal epithelial cells. *Oncogene*, 18(47), 6505-6512
- Zhang, G. Y., Ahmed, N & Riley, C. (2005). Enhanced expression of peroxisome proliferator-activated receptor gamma in epithelial ovarian carcinoma. *British Journal of Cancer*, 92,113-119.
- Zhang, S., Shao, Q., Geng, H., & Su, S. (2017).The effect of royal jelly on the growth of breast cancer in mice. *Oncology Letters*, 14,7615-7621.
- Zhang, X., Yu, Y., Sun, P., Fan, Z., Zhang, W., & Feng, C. (2019). Royal jelly peptides: Potential inhibitors of β -secretase in N2a/APP695swe cells. *Scientific Reports*, 9, 168. doi: 10.1038/s41598-018-35801

7. SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler	Açıklama
µm	Mikron metre
°C	Santigrat / Derece
µl	Mikrolitre
µg	Mikrogram
Kısaltmalar	Açıklama
2DEA	2-decenoic acid
6CSHED	Lenfosarkom
10-HDA	10-hidroksi-2-dekenoik asit
24MET	24-methylene cholesterol
ADP	Adenozin difosfat
Al	Aliminyum
AMP	Adenozin monofosfat
ATP	Adenozin trifosfat
A2A	Adenosin reseptörleri
A549	Human alveolar epithelial cells
BALF	Bronkoalveolar lavaj sıvısındaki
Bcl-xl	B-cell lymphoma-extra large
Bi	Bizmut
BPA	Bisfenol A
BRAF	v-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1
BRCA1/BRACA2	BReast CAncer1/ BReast CAncer 2
BrdU	Bromodeoxyuridine
Ca	Kalsiyum
CA125	Cancer Antigen 125
CaCo2	Kolorektal adenokarsinom
CAT	katalaz
CD20	Cluster of differentiate 20
CD44	Cluster of differentiation 44
Cis	Cisplatin
cm	Santimetre
CP	Sklofosfamidin
Cr	Krom
CRP	C-reaktif protein
CSF-1	Clony stimulated factor I
Cu	Bakır
DAB	3,3'- Diaminobenzidini
DAPI	4',6-diamidino-2-phenylindole
DNA	Deoksiribo nükleik asit
EMT	Epitelyal-mezenkimal geçiş
eNOS	Endothelial nitric oxide synthase
EOC	Epitelyal over kanseri
ER	Östrojen reseptörü
ERRγ	Östrojen ilişkili reseptör γ

E α	Östrojen reseptörü α
E β	Östrojen reseptörü β
FBG	Açlık kan şekeri
FBS	Fetal bovine serum
Fe	Demir
FGF18	Fibroblast büyüme faktörü 18
FITC	Fluorescein isothiocyanate
FoxP3	Forkhead box P3
FRAP	Artan Antioksidan Gücü
g	Gram
GSH	Glutathione
GSH-Px	Glutasyon peroksidaz
GST	Glutasyon-S-transferaz
HbA1c	Glikosillenmiş hemoglobin
HGSC	yüksek dereceli seröz karsinom
HIF-1 α	Hipoksi ile indüklenebilir büyüme faktörü 1 alfa
HuIFN- α N3	Interferon-alfa
IF	Immunfloresan
IL-6	Interleukin-6
IVM	In vitro fertilizasyon
K	Potasyum
kg	Kilogram
kDa	Kilo Dalton
K-Ras	Kirsten rat sarcoma virüs
LGSC'ler)	Düşük dereceli seröz karsinom
LH	Luteinleştirici hormon
LMP	Düşük malignite potansiyeline sahip
MDA	Malondialdehit
MCF-7	Michigan Cancer Foundation-7
mg	Miligram
Mg	Magnezyum
ml	Mililitre
mM	Milimol
MMP	Matriks metalloproteinaz
Mn	Mangan
mRNA	Messenger RNA
MTX	Metotreksat
Na	Sodyum
Ni	Nikel
NO	Nitrit oksit
OSE	ovaryum yüzey epiteli
P	Fosfor
PARP-1R	Poly-ADP ribose polymerase receptore
RJP ₃₀	Arı ütü protein Fraksiyonu
PBS	Phosphate-buffered Saline
PC3	Prostate cancer cell line
PDGF	Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktör
PFS	Progresyonsuz sağkalımda

PPP2R1A	Protein Phosphatase 2 Scaffold Subunit Aalpha
S	Kükürt
Sb	Antimon
Sn	Kalay
SNP	Tek Nükleotid Polimorfizmleri
SOD	Süperoksit dismutaz
TAS	Meme karsinomu
TGF β	Dönüştürücü Büyüme Faktörü Beta
Ti	Titanyum
TIA-1'	T-cell intracytoplasmic antigen-1
TMZ	Temozolomid
TNF- α	Tümör nekroz faktörü
Tp53	Tümör Protein 53
U87MG	Glioblastoma multiform
W	Tungsten
VEGF	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
VCAM-1	Vasküler hücre adezyon molekülü
Zn	Çinko

8. TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca ve tez çalışmam süresince benden bilimsel ve manevi desteğini asla esirgemeyen, bilgi ve tecrübeleriyle gerçekten yetişmemi sağlayan, bir danışmandan çok akıl hocam olarak gördüğüm ve onun öğrencisi olarak yetiştiğimden her zaman gururla bahsedeceğim çok değerli Danışmanım Prof. Dr. Berrin ZİK'a (Bursa Uludağ Üniversitesi) sonsuz saygı, minnet ve teşekkürlerimi sunuyorum.

Tez çalışmam boyunca ihtiyacım olduğunda rahatlıkla iletişime geçebildiğim, bilimsel bakış açısına ve bilgisine sonsuz güven ve saygı duyduğum çok değerli hocam Prof. Dr. Korhan Altunbaş'a (Afyon Kocatepe Üniversitesi) teşekkürü bir borç bilirim.

Ayrıca, tezimin fikir aşamasında ve laboratuvar aşamasındaki sonsuz desteğini benden esirgemeyen Prof. Dr. Zekariya Nur'a teşekkürlerimi sunuyorum

Bununla birlikte tüm yaşamım boyunca her anlamda yanımda olan, benden maddi ve manevi desteklerini asla esirgemeyen, canım annem Tülin Arıkana'a ve ablam Doç. Dr. Ayşenur Ceren Asmaz'a sonsuz sevgi, saygı ve özlemlerle teşekkür ederim.

Sunulan tez çalışması Bursa Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (BAP) tarafından TDK-388 nolu proje kapsamında desteklenmiştir.

9. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı :Ender Deniz Asmaz
Doğum Yeri ve Tarihi :
Yabancı Dil :İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum veYıl)
Lise : 50. Yıl Sabancı İnsa Lisesi /2007
Lisans : BUÜ/Biyoloji Anabilim Dalı/2015
Yüksek Lisans : BUÜ/Biyoloji Anabilim Dalı/2017
Doktora : BUÜ/Histoloji Embryoloji Anabilim Dalı 2022

İletişim (e-posta) :