

Kurkuminin SK-MEL-30 İnsan Melanoma Hücrelerine Etkisinin Araştırılması

Bahar KARTAL, Ebru ALİMOĞULLARI, Tuba ÖZDEMİR SANCI

Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara.

ÖZET

Melanoma en agresif kanser türüdür ve tedavilerin yetersiz olmasından kaynaklı ileri aşamalarda kötü prognoz ile karakterizedir. Kurkuminin kolon, pankreas, prostat, karaciğer ve multipl miyelom dahil olmak üzere çeşitli kanserlerdeki lezyonlara karşı etkili olduğu kanıtlanmıştır. Bizde çalışmamızda kurkuminin malign melanoma hücrelerine etkisini araştırmayı amaçladık. Çalışmamızda SK-MEL – 30 insan melanoma hücre hattı kullanıldı. SK-MEL – 30 melanoma hücreleri kültüre edildikten sonra 2.5 µg, 6.75 µg, 12.5 µg, 15 µg ve 25 µg kurkumin ile 24 ve 48 saat süre ile inkübe edildi. Annexin V/PI ve Caspase 3/7 analizleri ile apoptozis değerlendirildi. Annexin V/PI analizi sonucunda 25 µg kurkuminin 48 saat süre sonunda malign melanoma hücrelerinde yaklaşık %50 oranında canlılığı azalttığı tespit edildi. Bunlara ek olarak benzer şekilde Caspase 3/7 analizi sonuçlarında da doz oranı arttıkça hücre ölümünün gerçekleştiği ve 25 µg kurkumin uygulamasının melanoma hücrelerinde apoptozu indükleyerek hücre ölümüne neden olduğu gösterildi. Sonuç olarak bu çalışma ile kurkuminin malign melanoma hücrelerine karşı antiproliferatif ve apoptozu indükleyici etkisi olduğu belirlendi. Kurkuminin klinik etkilerinin tespit edilebilmesi için daha kapsamlı çalışmaların yapılması gerektiğini önermekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Annexin V/PI. Kanser. Caspase 3/7. Kurkumin. SK-MEL – 30 İnsan Melanoma Hücre Hattı.

The Investigation of the Effects of Curcumin on SK-MEL-30 Human Melanoma Cell Line

ABSTRACT

The most aggressive form of skin cancer, melanoma, has a terrible prognosis its advanced stages due to treatments' limited efficacy and significant side effects. Curcumin has been shown to be effective against lesions in many cancer types such as colon, prostate, pancreas, liver and multiple myeloma. The aim of the study was to investigate the effects of curcumin on malignant melanoma cells. In the present study we used SK-MEL – 30 human melanoma cell line. The cultured cells were incubated with different doses with the range of 2.5 µg, 6.75 µg, 12.5 µg, 15 µg and 25 µg curcumin for 24 and 48 hours. Annexin V/PI and caspase 3/7 kit analyzes were used to determine the cell survival and apoptosis. Annexin V/PI analyzes was revealed that 25 µg dose of curcumin treatment decreased the melanoma cell survival approximately %50 for 48 hours. Furthermore caspase3/7 experimental analyzes shown that the 25µg curcumin also induced the apoptosis for 48 hours. In conclusion in the present study we demonstrated antiproliferative and apoptotic effects of curcumin on melanoma cells. We can suggest that further research is required to determine the clinical effects of curcumin.

Keywords: Annexin V/PI. Cancer, Caspase3/7. Curcumin, SK-MEL – 30 Human Melanoma Cell Line.

Melanom en sık görülen malignitelerden biridir ve cilt kanserinin agresif bir formunu temsil eder. Melanom tedavisi, prognozun önemli ölçüde iyileştigi dair kanıt olmaksızın zayıf etkinlik ile karakterizedir. Ayrıca hastaların yaşam kalitesini olumsuz etkileyen birçok yan etkisi vardır¹.

Zerdeçal bitkisinin (*Curcuma longa*) kök sapından (*Rhizoma curcuma*) elde edilen başlıca biyoaktif bileşenlerin en önemlisi olan kurkumin, Zingiberaceae familyasına ait sarı çiçekli ve büyük yapraklı çok yıllık bir bitkidir. Antibakteriyel, antiviral ve antifungal aktiviteye sahip olduğu belirtilen kurkuminin sentetik türevleri oluşturulmaya çalışılmıştır².

Kurkumin güvenliği ve etkinliği üzerine gerçekleştirilen çok sayıda in vitro ve in vivo çalışma, kurkuminin koruyucu ve terapötik rolünü onaylamaktadır. Kurkuminin sistemik veya topikal kullanımının terapötik etkilerine ilişkin klinik araştırmalarda, çeşitli kanserler, enflamatuvar hastalıklar, ülserasyon, romatoid artrit, osteoartrit, kardiyovasküler ve nörodejeneratif hastalıklar, metabolik hastalıklar, cilt hastalıkları ve mikrobiyal durumlara karşı etkinlik gösterilmiştir^{3,4}. Ek olarak,

Geliş Tarihi: 11.Kasım.2022
Kabul Tarihi: 03.Mart.2023

Dr. Bahar KARTAL
Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı,
Ankara.
Tel: 0532 153 98 87
E-posta Adresi: bahar.kartal@outlook.com

Yazarların ORCID Bilgileri:

Bahar KARTAL: 0000-0001-9558-4122
Ebru ALİMOĞULLARI: 0000-0002-9557-3631
Tuba ÖZDEMİR SANCI: 0000-0002-9468-4719

kurkuminin antioksidan özellikleri ile alkol, radyasyon, ilaçlar ve ağır metallerin çeşitli organlara verdiği zararı önlediği bulunmuştur⁵.

Kurkumin'in mükemmel farmakodinamik profili nedeniyle klinik denemeler yapılmasına rağmen, düşük biyoyararlanımı nedeniyle başarılı bir ilaç meydana gelemediği⁶. Kurkumin'in anti-tümör aktivitesi, düşük moleküler ağırlığı ve toksik olmaması kendisini öne çıkararak potansiyel kemoterapötik ajanların gelişimi için ideal bir öncü molekül yapar⁷.

Meme kanserinde akciğer metastazlarının insidansının kurkumin kullanımı ile önemli ölçüde azaldığı bildirilmiştir⁸. Klinik öncesi çalışmalarda, meme kanseri hastalarına kurkumin merhem uygulanmış ve lezyon boyutunu, kaşıntıyı ve ağrıyı önemli ölçüde azalttığı bulunmuştur⁹.

Kurkumin ve analoglarının kemik kanseri hücreleri üzerinde antitümör etkileri olduğu gösterilmiştir. Kurkumin, kondrosarkom hücrelerinde MMP-13 ekspresyonunu baskılar. Sentetik kurkumin analoglarının çeşitli mekanizmalar yoluyla fibrosarkom hücrelerine karşı etkili olduğu gösterilmiştir. Radyoterapi ve kurkumin kombinasyonunun, fibrosarkomlu farelerde tümör hücreleri büyümesini baskıladığı ve radyorezistansı azalttığı gösterilmiştir¹⁰.

Kurkuminin melanom hücrelerinde çoklu ilaç direncini tersine çevirdiği gösterilmiştir¹¹. Başka bir çalışmada kurkuminin fare derisinde UV kaynaklı dermatiti baskıladığı gösterilmiştir¹².

Çalışmalar, kurkuminin çeşitli dokularda meydana gelen sitotoksositeye karşı koruyucu etkilerinin antioksidan, antiinflamatuvar ve antikanser etkilerine bağlanabileceğini göstermiştir. Bizde çalışmamızda kurkuminin melanoma hücrelerine antikarsinojen, antiproliferatif ve apoptotik etkisini araştırmayı amaçladık.

Gereç ve Yöntem

Hücre Kültürü

SK-MEL – 30 (03010901, Rockland,USA) malign melanoma hücreleri %10 fetal sığır serumu (FBS), 100 units/mL penisilin, 100 µg/mL streptomisin ve 1 mM glutamin içeren DMEM'de (Dulbecco's modified Eagle's medium), 37°C, %5 CO₂ ve %95 nemlendirilmiş hava içeren karbondioksit inkübatöründe standart hücre kültürü tekniği ile çoğaltıldı.

Annexin V/PI Analizi

SKML-30 melanom hücreleri 25 cm² hücre kültürü kaplarına ekildi ve 2.5 µg, 6.75 µg, 12.5 µg, 15 µg ve 25 µg kurkumin ile 24 ve 48 saat süreyle muamele edildi¹³. İnkübasyon süresinin sonunda besiyerinde

ölü hücreler toplandı. Tabana yapışık hücreler, %0.05 tripsin ile kaldırıldı. Flaskın zemininden kaldırılan ve besiyerinden toplanan hücreler bir araya getirildi.

Hücreler PBS ile yıkandı ve konsantrasyonları 1X bağlama tamponu ile 1x10⁵ hücre/100 µl'ye ayarlandı. Elde edilen hücre solüsyonundan 12x75 mm'lik polystrene bir tüpe alındı ve 1X Annexin Binding buffer ile 5'er µl Annexin V-FITC ve PI eklendi. Hücreler, ACEA novocytte akım sitometri cihazı (Agilent) ile ölçümden önce 15 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi. Yapılan akım sitometrik ölçüm sonucunda, PI negatif, Annexin V negatif olan hücreler canlı; PI negatif, Annexin V pozitif olan hücreler erken apoptotik hücreler; PI pozitif, Annexin V pozitif olan hücreler geç apoptotik, ve PI pozitif, Annexin V negatif olan hücreler nekrotik değerlendirildi.

Kaspaz 3/7 Analizi

Hücrelerin apoptotik yolağı Kaspaz 3/7 aracılığıyla kullandığını göstermek amacıyla The Muse® Caspase-3/7 Kiti kullanılarak analiz yapıldı. Bu analiz için de için 25cm²'lik hücre kültür flasklarına SK-MEL-30 melanoma hücreleri ekildi ve etkin olduğu belirlenen 2.5µg, 6.75µg, 12.5µg, 15µg ve 25 µg dozları ile 24 ve 48 saat süreyle muamele edildi. İnkübasyon süreleri sonunda, besiyerindeki ölü hücreler toplandı. Zeminde yapışık olan hücreler ise % 0.05 Tripsin ile kaldırıldı. Flaskın zemininden toplanan hücreler Muse Caspas3/7 kiti protokolüne göre çalışıldı. Ardından ACEA Novocytte (Agilent) akım sitometri cihazında ölçüm ve analiz yapıldı. Tüm ölçümler üç kez tekrar edildi ve verilerde ortalama standart sapma kullanıldı.

İstatistiksel Analiz

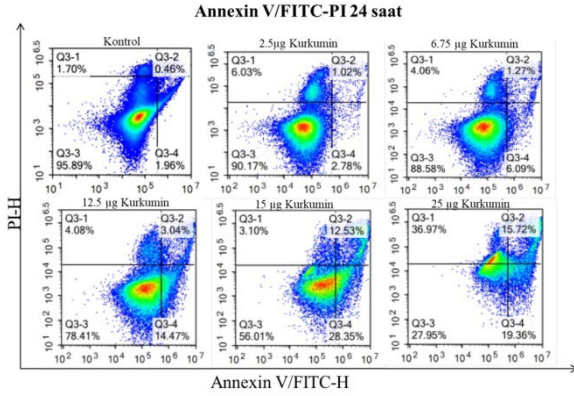
İstatistiksel analiz GraphPad Prism version 8.4.2. programı kullanılarak yapıldı. Gruplar arasındaki karşılaştırmalar için Two-way Anova testi kullanıldı. Ortalamalar ve kontrol grubu arasındaki farklar Tukey testi ile değerlendirildi. Karşılaştırma verileri ortalama ± standart sapma olarak verildi. İstatistiksel anlamlılık düzeyi p<0.05 olarak kabul edildi.

Bulgular

Kurkuminin Hücre Canlılığına Etkisinin Annexin V/PI Analizi ile Belirlenmesi

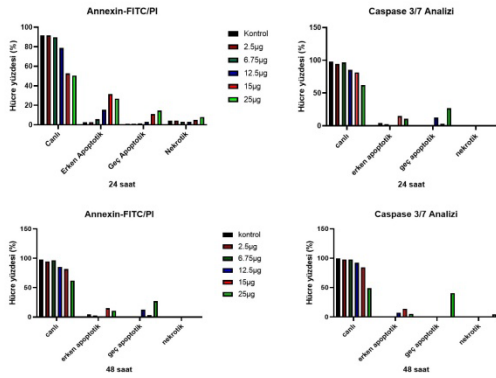
SK-MEL-30 melanoma hücrelerinin kurkumin ile 24 ve 48 saatlik inkübasyonu sonunda AnnexinV /PI analizi yapılarak hücre canlılığı ve apoptotik hücre yüzdeleri belirlenmiştir. Kurkuminin hücre canlılığı 2.5µg, 6.75µg, 12.5µg, 15µg ve 25µg dozları açısından karşılaştırıldığında 24 saatte en düşük canlılığın 25 µg'da olduğu görüldü. Kontrol grubuna kıyasla doz arttıkça hücre canlılığının giderek azaldığı ve özellikle 12.5 µg (p<0.05), 15 µg (p<0.01) ve 25 µg (p<0.001) kurkumin verilen gruplarda istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu saptandı (Şekil 1, Şekil 2).

Kurkuminin Melanomaya Etkisi



Şekil 1.

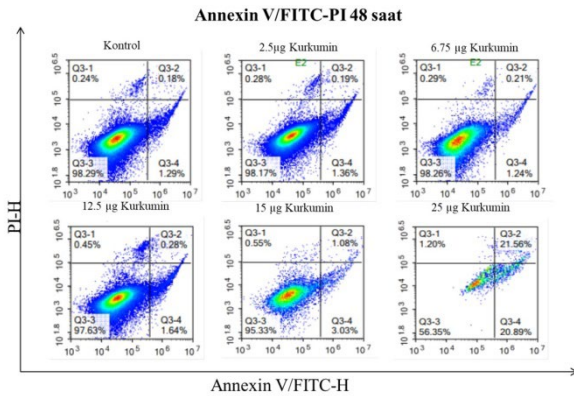
Farklı dozlarda kurkuminin uygulanan SK-MEL 30 hücrelerinde 24 saat sonunda Annexin V/PI ile hücre canlılığı analizi.



Şekil 2.

Annexin V/PI ile hücre canlılığının ve Kaspaz 3/7 aktivasyonunun akış sitometrisi ile istatistiksel analizi.

48 saatlik uygulama sonrası Annexin V/PI analizleri değerlendirildiğinde tüm dozlarda kontrol grubuna kıyasla bir azalma olduğu belirlendi. Ayrıca 24 saatte etkili olan 12,5 µg ve 15 µg dozlarının anlamlı derecede etkili olmadığı 25 µg kurkumin dozunun yaklaşık %50 hücre canlılığı ile etkili olduğu görüldü (Şekil 2, Şekil 3).

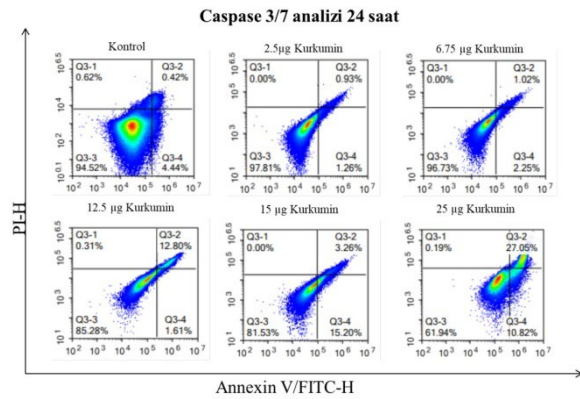


Şekil 3.

Farklı dozlarda kurkuminin uygulanan SK-MEL 30 hücrelerinde 48 saat sonunda Annexin V/PI ile hücre canlılığı analizi.

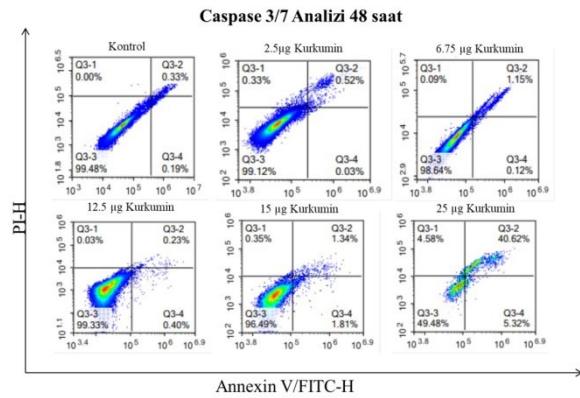
Kurkuminin Hücre Ölümünde Etkisinin Kaspaz 3/7 Analizi ile Belirlenmesi

Annexin V/PI analizleri sonrasında gerçekleştirilen Kaspaz 3/7 analizleriyle apoptoz başlangıcında rol oynayan kaspaz 3/7'nin aktivasyonunun uygulanan farklı kurkumin dozlarında apoptotik etkileri belirlendi. Annexin V sonuçlarıyla benzer şekilde özellikle 24 saatte 12,5 µg, 15 µg ve 25 µg dozlarında artan kaspaz aktivasyonu görüldü ve apoptoz oranı arttı (Şekil 4). Kontrolle kıyasla bu üç dozda erken ve geç apoptotik hücre yüzdesi açısından istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu gözlemlendi (p<0.001, Şekil 2). Kırksekiz saatlik kurkumin uygulamasında ise özellikle 25 µg da geç apoptotik hücre sayısında ve kaspaz 3/7 aktivasyonunda artış görüldü (Şekil 2; Şekil 5).



Şekil 4.

Farklı dozlarda kurkumin uygulanan SK-MEL 30 hücrelerinde 24 saat sonunda Kaspaz 3/7 aktivasyonunun akış sitometrisi ile analizi.



Şekil 5.

Farklı dozlarda kurkumin uygulanan SK-MEL 30 hücrelerinde 48 saat sonunda Kaspaz 3/7 aktivasyonunun akış sitometrisi ile analizi.

Tartışma

Kanser, kardiyovasküler hastalık veya nörodejeneratif bozukluklarla ilişkili tedaviler için kullanılan oldukça güçlü bitkisel moleküller vardır¹⁴. Doğal ürünler,

sentetik bileşiklerden daha az toksik olduğundan, özellikle kanser ve komplikasyonlarının tedavisinde giderek daha fazla çalışılmaktadır^{15,16}. Kurkumin doğal polifenol bir bitkidir^{17,18}. Kurkuminin antiinflamatuvar, antibakteriyel, antiviral, antifungal, antidiyabetik, antikoagülan, antiülser, hipotansif ve hipokolesteremik etkileri bulunmaktadır. Bunlara ek olarak kurkuminin sitokinlerin, büyüme faktörlerinin, inflamasyondan sorumlu moleküllerin düzenlenmesinde rol aldığı belirtilmiştir¹⁹.

Anti-kanser etkinliği olduğu bilinen kurkumin sağlıklı hücelere zarar vermeden kanserli hücelerde apoptoza neden olduğu bildirilmiştir. Kurkumin çoğalan hücelerin bölünme sürecini yavaşlatmaz veya değiştirmez. Büyüme inhibisyonu kurkuminin dozuna bağlıdır ve hücelerde toksik etkilere neden olmaz. Kurkuminin hücre döngüsü olaylarını etkilediği gösterilmiştir. Kurkumin uygulanmış hücre kültürlerinde, hücelerin sentez (S) evresinde yavaşladıkları veya durdukları ve DNA sentezinin kurkuminli grupta, kurkuminsiz gruba kıyasla aktif olmadığı düşünülmektedir²⁰. Kurkuminin tümör ilerlemesi ve büyümesi evrelerinde anjiyogenezise etki ederek kanseri önlediği in vivo ve in vitro çalışmalarda saptanmıştır²¹. Hayvan modelleri üzerine yapılan çalışmalarda, kurkuminin özefagus, mide, duodenum ve kolon kanserlerini önleyici etkileri ispatlanmıştır²². Kurkuminin özellikle farklı kanser türleri için farklı hücre dizilerinde etkisini gösterirken izlediği yolu anlamak çok önemlidir. Literatürde yer alan bir çalışmada, insan ovaryum kanseri modeli oluşturmak amacıyla yaşlı yumurta tavukları kullanılmış ve diyetlerine farklı dozlarda (0, 200, 400 mg / kg yem) kurkumin eklenerek, ovaryum dokusunda apoptozda önemli role sahip olan kaspaz 3 ve 9 bax ve bcl 2 protein ekspresyonları araştırılmıştır. Sonuç olarak kurkumin dozunun yüksek olduğu grupta diğer gruplara oranla, bax, kaspaz 3 ve 9 protein ekspresyonlarının arttığı; bcl 2 protein ekspresyonunun anlamlı ölçüde azaldığını göstermişlerdir²³.

Apoptoz ve kanser hüceleri arasındaki ilişki uzun yıllardır araştırılan bir konudur. Kanser hücelerinde kurkuminin etkinliği ile ilgili yapılan çalışmalar kurkuminin apoptotik sinyal yollarında yer alan molekülleri indüklediği bildirilmiştir. Prasad ve arkadaşları MCF-7 ve MDA-MB-231 meme kanseri hücre dizileri üzerinde yapmış oldukları bir çalışmada, kurkuminin zaman ve doza bağlı olarak antiproliferatif ve apoptotik etkiyi arttırdığını bulmuşlardır²⁴.

Bu çalışmada SK-MEL-30 melanoma hüceleri farklı dozlarda (6.75 µg, 12.5 µg, 15 µg ve 25 µg) kurkumin ile 24 ve 48 saat inkübe edilmiştir. Kurkuminin melanoma hüceleri üzerindeki canlılık ve apoptotik etkisini belirlemek amacıyla annexinV/PI analizi yapılmıştır. Annexin V/PI analiz sonuçlarımız doğrultusunda 2.5 µg, 6.75 µg, 12.5 µg, 15 µg ve 25

µg kurkumin dozları karşılaştırıldığında, kontrol grubuna göre kurkuminin dozu arttıkça hücre canlılığının giderek azaldığı ve 25 µg kurkuminin 48 saatte hücre canlılığını en düşük seviyeye getirdiği tespit edilmiştir.

Apoptoz, hücelerin inflamasyona neden olmadan kendilerini yok etmesidir. Genler, RNA, protein sentezi ve enerjiyle düzenlenir ve kontrol edilir. Apoptoz programlanmış bir hücre ölüm mekanizmasıdır^{25,26}. Normal koşullarda apoptoz gelişim, yaşlanma ve hücelerin devamlılığını sağlamak için homeostatik mekanizma olarak fonksiyon göstermektedir. Ancak patofizyolojik koşullar altında ve hücelerin zararlı ajanlara maruz kalması sonucunda veya immun reaksiyonlarda da gelişebilmektedir²⁷.

Özellikle apoptoz ve inflamasyonda görev alan kaspazlar, aspartik asit kalıntıları ve proteinleri parçalayan sistein proteazlardır. Pro-kaspaz 32-55 kDa ağırlığında tek bir polipeptid zinciri olarak sentezlenir^{28,29}. Kurkuminin hücre canlılığını ve çoğalmasını, kaspaz aktivasyonunu, tümör baskılayıcıyı özelliklerini mitokondriyal ve protein kinaz sinyal yollarını etkileyerek normal hüceleri etkilemeden öldürme yeteneğine sahip olduğu bildirilmiştir³⁰. Literatürde yer alan SHI-1 akut monositik lösemi hücelerinin kullanıldığı bir çalışmada, kurkuminin hücre apoptozunu indüklediği saptanmıştır³¹. Kurkuminin, kanser hücelerinde kaspaz-8'i aktive ederek dış apoptotik yolağı, sitokrom c salınımı ve kaspaz-3,9 aktivasyonu ile iç apoptotik yolları etkilediği gösterilmiştir³².

Araştırmacılar, 24 saat 50 µM, 48 saat 75 µM ve 72 saat 100 µM kurkumin uygulamasının insan kolon adenokarsinoma hücre hattı (CCL-228-SW 480) üzerindeki proliferasyon ve apoptoz için etkinliğini analiz etmişlerdir. Çalışmalarının sonucunda kontrol grubuna oranla kurkumin uygulanan gruplarda hücre canlılığı ve çoğalmasında belirgin bir azalma ve zamana ve doza bağlı apoptozda artma olduğunu bulmuşlardır³³.

Biz de çalışmamızda apoptoz başlangıcında rol oynayan kaspaz 3/7'nin aktivasyonunu uygulanan farklı kurkumin dozlarında araştırdık. Annexin V sonuçlarıyla benzer şekilde özellikle 24 saatte 12.5 µg, 15 µg ve 25 µg dozlarında artan kaspaz aktivasyonu ile birlikte apoptoz oranının da arttığı saptanmıştır. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 12.5 µg, 15 µg ve 25 µg kurkumin uygulamasının erken ve geç apoptotik hücre yüzdesinin istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir (p<0.001). 48 saatlik kurkumin uygulamasında ise özellikle 25 µg da geç apoptotik hücre sayısında ve kaspaz 3/7 aktivasyonunda artış görülmüştür.

Sonuç olarak bu çalışma ile kurkuminin malign melanoma hüceleri üzerinde zaman ve doz bağımlı olarak hücre canlılığını azalttığı ve apoptozu

Kurkuminin Melanomaya Etkisi

indükleyerek hücre ölümünü arttırdığı belirlenmiştir. Çalışmamızın bulguları literatürdeki diğer çalışmaların çıktılarını desteleyecek nitelikte olup, kurkuminin antiproliferatif ve antikanserijen etkisi tespit edilmiştir. Kurkuminin klinik etkilerinin saptanması için daha kapsamlı çalışmaların yapılması gerektiği görüşündeyiz.

Etik Kurul Onay Bilgisi:

Çalışmada hücre hattı kullanıldığı için etik kurul onayı alınmasına gerek yoktur. SK-MEL-30 malign melanoma hücreleri ticari olarak satın alınmıştır.

Araştırmacı Katkı Beyanı:

Fikir ve tasarım: B.K.; Veri toplama ve işleme: E.A., T.Ö.S.; Analiz ve verilerin yorumlanması: B.K.;E.A.;T.Ö.S.; Makalenin önemli bölümlerinin yazılması: B.K.

Destek ve Teşekkür Beyanı:

Bu makalede yer alan çalışmalar herhangi bir kurum tarafından desteklenmemiştir

Çıkar Çatışması Beyanı:

Makale yazarlarının çıkar çatışması beyanı yoktur.

Kaynaklar

1. Lellia D, Pedonea C, Sahebkar A. Curcumin and treatment of melanoma: The potential role of microRNAs. *Biomed Pharmacother* 2017; 88: 832–834 88 (2017).
2. Anand P, Kunnumakkara Ab, Newman Ra, Aggarwal Bb. Bioavailability of curcumin: problems and promises. *Mol Pharm* 2007; 4: 807-818.
3. Shishodia S, Sethi G, Aggarwal BB. Curcumin: getting back to the roots. *Ann N Y Acad Sci* 2005;1056:206-17.
4. Pari L, Tewas D, Eckel J. Role of curcumin in health and disease. *Arch Physiol Biochem* 2008;114(2):127-49
5. Ushida J, Sugie S, Kawabata K et. al. Chemopreventive effect of curcumin on Nnitrosomethylbenzylamine- induced esophageal carcinogenesis in rats. *Jpn J Cancer Res* 2000; 91(9): 893-898.
6. Cheng AL, Hsu CH, Lin JK. et al. Phase I clinical trial of curcumin, a chemopreventive agent, in patients with high-risk or pre-malignant lesions. *Anticancer Res* 2001; 21: 2895–2900.
7. Sharma RA, McLelland HR, Hill KA. Et al.Pharmacodynamic and pharmacokinetic study of oral Curcuma extract in patients with colorectal cancer. *Clin. Cancer Res* 2001; 7: 1894–1900
8. Aggarwal BB, Shishodia S, Takada Y. Et al. Curcumin suppresses the paclitaxel-induced nuclear factor-kappaB pathway in breast cancer cells and inhibits lung metastasis of human breast cancer in nude mice." *Clin Cancer Res* 2005; 11(20): 7490-7498.
9. Aggarwal BB, Yuan W, Li S, Gupta SC. Curcumin-free turmeric exhibits anti-inflammatory and anticancer activities: Identification of novel components of turmeric. *Mol Nutr Food Res* 2013; 57(9): 1529-1542.
10. Kumar Mitra A, Krishna M. *In vivo* modulation of signaling factors involved in cell survival. *J. Radiat. Res* 2004; 45: 491–495.
11. Depeille P, Cuq P, Passagne I, Evrard A, Vian L. Combined effects of GSTP1 and MRP1 in melanoma drug resistance. *BJC* 2005; 93, 216–223.
12. Goel A, Kunnumakkara AB, Aggarwal BB. Curcumin as Curecumin: fromkitchentoclinic, *Biochem. Pharmacol* 2008; 75(4), 787-809.
13. Dilara D. Bitkisel Ve Antioksidan İçerikli Vital Pulpa Tedavi Ajanlarının Sitotoksitesite Ve Alkalen Fosfataz Düzeylerinin Değerlendirilmesi (Doktora Tezi). İstanbul: İstanbul Üniversitesi; 2020.
14. Pulido-Moran M, Moreno-Fernandez J, Ramirez-Tortosa C, Ramirez-Tortosa M. Curcumin and Health. *Molecules* 2016; 21: 1–22.
15. Bar-Sela G, EpelbaumR, Schaffer M, Curcumin as an anti-cancer agent: review of the gap between basic and clinical applications.*Curr. Med Chem* 2010; 17: 190–197.
16. Panahi Y, Saadat A, Beiraghdar F, SahebkarA. Adjuvant therapy with bioavailability-boosted curcuminoids suppresses systemic inflammation and improves quality of life in patients with solid tumors: a randomized double-blind placebo-controlled trial. *Phytother Res* 2014; 28: 1461–1467.
17. Sahebkar A. Dual effect of curcumin in preventing atherosclerosis: the potential role of pro-oxidant-antioxidant mechanisms. *Nat Prod Res* 2015; 29: 491–492.
18. Esmaily H, Sahebkar A, Iranshahi M, Ganjali S, Mohammadi A, Ferns G, Ghayour-Mobarhan M. An investigation of the effects of curcumin on anxiety and depression in obese individuals: A randomized controlled trial. *Chin J Integr Med* 2017;21: 332-338.
19. Kunnumakkara AB, Bordoloi D, Harsha C, Banik K, Gupta SC, Aggarwal BB.Curcumin mediates anticancer effects by modulating multiple cell signaling pathways. *Clin. Sci* 2017; 131(15): 1781–1799.
20. Duvoix A, Blasius R, Delhalle S, Schnekenburger M, Morceau F, Henry E.Chemopreventive and therapeutic effects of curcumin. *Cancer Lett* 2005; 223: 181-190.
21. Aggarwal BB, Sundaram C, Malani N, Ichikawa H .Curcumin: The Indian solid gold. *Adv Exp Med Biol* 2007; 595:1–75.
22. Manikandan PSM, Aishwarya S, Manohar BM, Lokanadam B, Puvanakrishnan R Curcumin modulates free radical quenching in myocardial ischaemia in rats. *Int J Biochem Cell Biol* 2004; 36:1967- 80.
23. Beşir Er. Rasyona Katılan Kurkuminin İnsan Ovaryum Kanseri İçin Preklinik Bir Model Olan Yumurta Tavuklarında Bazı Apoptotik Markerlar Üzerine Etkileri. (Yüksek Lisans Tezi.) Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü; 2016.
24. Prasad C P, Rath G, Mathur S, Bhatnagar D, Ralhan R. Potent growthsuppressive activity of curcumin in human breast cancer cells: Modulation of Wnt/β-catenin signaling. *Chemico-biological interactions*. 2009;181(2):263-71.
25. Yu CX, Zhang XQ, Kang LD, Zhang PJ, Chen WW, Liu WW.Emodin induces apoptosis in human prostate cancer cell LNCaP. *Asian J. Androl*.2008;10(4):625-34.
26. Tomatır AG. Apoptoz: Programlı Hücre Ölümü. *Turk. Klin. J. Med.* 2003;23(6):499-508.
27. Eröz R, Alkoç OA, Baltacı D, Oktay M, Çolakoğlu S. Apoptozis Hakkında Bilinenler. *Düzce Tıp Fak Derg* 2012;14(2):87-101.
28. Berta T, Qadri YJ, Chen G, Ji RR. Microglial Signaling in Chronic Pain with a Special Focus on Caspase 6, p38 MAP Kinase, and Sex Dependence, *Journal of Dental Research* 2016; 1–8.
29. Cadena SG, Massieu L Caspases and their role in inflammation and ischemic neuronal death. *Focus on caspase-12, Apoptosis* 2016; 21,763–777.
30. Ravindran J, Prasad S, Aggarwal BB. Curcumin and cancer cells: how manyways can curry kill tumor cells selectively? *AAPS J.* 2009;11(3):495-510.
31. Zhu GH, Dai HP, Shen Q, et al. Curcumin induces apoptosis and suppresses invasion through MAPK and MMP signaling in human monocytic leukemia SHI- 1 cells. *Pharm. Biol* 2016; 54(8): 1303-1311
32. Aggarwal BB, Kumar A, Bharti AC. Anticancer potential of curcumin: preclinical and clinical studies. *Anticancer Res* 2003; 23(1A): 363-398.

33. Yavuz Türel. Curcuma Longa (Zerdeçal) Bitkisinden Elde Edilen Kurkumin Etken Maddesinin Kolon Kanseri Hücre Hattı Üzerine Apoptotik Etkisinin Araştırılması. Doktora Tezi. Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı. Isparta – 2017