

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**PAKLİTAKSEL VE MİRTAZAPİNİN A2780 HÜCRELERİNE
ETKİLERİNİN PROLİFERASYON VE APOPTOZİS
YÖNÜNDEN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Tuğba KOÇ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI

YRD. DOÇ. DR. Gökhan CÜCE

KONYA/2017

TEZ ONAY SAYFASI

Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Öğrencisi **'Tuğba Koç'**un **"Paklitaksel ve Mirtazapinin A2780 hücrelerine etkilerinin proliferasyon ve apoptozis yönünden değerlendirilmesi"** başlıklı tezi tarafımızdan incelenmiş; amaç, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

N. Erbakan Üni. Meram Tıp Fakültesi, 04.07.2017

Tez Danışmanı

Yrd. Doç Dr. Gökhan CÜCE

N. Erbakan Üni. Meram Tıp Fakültesi



Jüri Üyesi

Prof. Dr. S. Serpil KALKAN

N. Erbakan Üni. Meram Tıp Fakültesi



Jüri Üyesi

Prof. Dr. Ender ERDOĞAN

Selçuk Üni. Tıp Fakültesi

Yukarıdaki tez, Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun **14/07/2017** tarih ve **14./..11.** sayılı kararı ile onaylanmıştır.



Prof. Dr. Kısmet Esra NURULLAHOĞLU ATALIK

Enstitü Müdürü

APPROVAL

We certify that we have read this dissertation entitled “**Evaluation of the effects of paclitaxel and mirtazapine on A2780 cells in terms of proliferation and apoptosis**” by “**Tuğba KOÇ**” that in our opinion it is fully adequate, in scope and quality, as dissertation for the degree of **Master of Degree** in the Department of “**Histology and Embryology**”, Institute of Health Sciences, University of Necmettin Erbakan
Konya, Turkey / 04.07.2017

Principal Advisor

Asistant Professor Gökhan CÜCE

University of Necmettin Erbakan,

Faculty of Meram Medicine



Examination Committee Member

Professor S. Serpil KALKAN

University of N. Erbakan,

Faculty of Meram Medicine



Examination Committee Member

Professor Ender ERDOĞAN

University of Selçuk,

Faculty of Medicine

This thesis has approved for the University of Necmettin Erbakan Institute of Health Sciences.



Professor Kismet Esra NURULLAHOĞLU ATALIK

Director of Institute of Health Sciences

Date and Signature

BEYANAT

Bu tezin tamamının kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynaklar listesine aldığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

04.07.2017

Tuğba KOÇ



preferences

turnitin

Orijinallik Raporu

İşleme konu: 2017年07月10日 13:49 EEST

NUMARA: 829992390

Kelime Sayısı: 9728

Gönderildi: 1

Paklitaksel ve Mirtazapinin A2780 hücrelerine...
Tuğba Koç tarafından

Benzerlik Endeksi

%6

Kaynağa göre Benzerlik

Internet Sources: %5

Yayınlar: %1

Öğrenci Ödevleri: %3

Doküman Görüntüleyici

alıntıları dahil etbibliyografyayı dahil et5 kelime > çıkarılan eşleşmeler

mod: en yüksek eşleşme oranlarını bir arada göster

TÜRKİYE CUMHURİYETİ NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

PAKLİTAKSEL VE

6

MİRTAZAPİNİN A2780 HÜCRELERİNE ETKİLERİNİN PROLİFERASYON VE APOPTOZİS YÖNÜNDEN DEĞERLENDİRİLMESİ Tuğba KOÇ

YÜKSEK LİSANS TEZİ HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ

ANABİLİM DALI TEZ

11

DANIŞMANI

YRD. DOÇ. DR. Gökhan CÜCE KONYA/ 2017 TEZ ONAY SAYFASI Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Öğrencisi

5

'Tuğba Koç'un "Paklitaksel ve Mirtazapinin A2780 hücrelerine etkilerinin proliferasyon ve apoptozis yönünden değerlendirilmesi"

başlıklı tezi tarafımızdan incelenmiş; amaç, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir. N. Erbakan Üni. Meram Tıp Fakültesi,

5

04.07.2017 Tez Danışmanı Yrd. Doç Dr. Gökhan CÜCE N. Erbakan Üni. Meram Tıp Fakültesi Jüri Üyesi Prof. Dr. S. Serpil KALKAN N. Erbakan Üni. Meram Tıp Fakültesi Jüri Üyesi Prof. Dr. Ender ERDOĞAN Selçuk

1

%1 eşleşme (02-Eyl-2016 tarihli öğrenci ödevleri)
Submitted to Konya Necmettin Erbakan University

x

2

%1 eşleşme (01-Oca-2015 tarihli internet)
http://www.kemalarikan.com

x

3

%< 1 eşleşme (04-Kas-2015 tarihli internet)
http://www.konya.edu.tr

x

4

%< 1 eşleşme (04-May-2016 tarihli internet)
http://www.openaccess.hacettepe.edu.tr:808

x

5

%< 1 eşleşme (28-Nis-2016 tarihli öğrenci ödevleri)
Submitted to Trakya University

x

6

%< 1 eşleşme (11-May-2015 tarihli internet)
http://www.konya.edu.tr

x

7

%< 1 eşleşme (17-May-2016 tarihli internet)
http://www.alliedacademies.org

x

8

%< 1 eşleşme (03-Eyl-2015 tarihli internet)
http://www.researchgate.net

x

9

%< 1 eşleşme (yayınlar)
AVCI, Ç. S., SÜSLÜER YILMAZ, S., ŞIVGA DOĞAN, Ö., SÖĞÜTLÜ, F., DÜNDAR, M. and GÜNDÜZ, C.. "Rapamisinin prostat kanseri hücre hatlarındaki etkisi", Ege Üniversitesi, 2013.

x

https://turnitin.com/newreport.asp?r=94.6219207336789&svr=338&lang=tr&oid=829992390&pbd=2&ft=1&ro=

1/1

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezimin yürütülmesinde ve sonuçlandırılmasında emeğini esirgemeyen danışman hocam Yrd. Doc. Dr. Gökhan CÜCE'ye ve benzer şekilde desteğini esirgemeyen Histoloji ve Embriyoloji Bölüm Başkanı Prof. Dr. S. Serpil KALKAN'a teşekkürü bir borç bilirim. Ayrıca bölümdeki diğer hocalarım Prof. Dr. Aydan ÖZGÖRGÜLÜ, Prof. Dr. Selçuk DUMAN, Prof. Dr. T. Murad AKTAN, Öğr. Gör. Burcu GÜLTEKİN ve bölümdeki asistan arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Hayatım boyunca maddi ve manevi desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, her konuda bıkmadan yanımda olup beni bu günlere getiren aileme sevgi dolusu teşekkür ve minnetimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

<i>İç Kapak</i>	ii
<i>Tez Onay Sayfası</i>	iii
<i>Approval</i>	iv
<i>Beyanat</i>	v
<i>Turnitin</i>	vi
<i>Önsöz ve/veya Teşekkür</i>	vii
<i>İçindekiler</i>	viii
<i>Kısaltmalar ve Simgeler Listesi</i>	xi
<i>Resimler Listesi</i>	xiii
<i>Tablolar listesi</i>	xiv
<i>Özet</i>	xv
<i>Abstract</i>	xvi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. <i>Ovaryum Anatomisi</i>	2
2.1.1. <i>Ovaryumun Yapısı</i>	3
2.1.2. <i>Ovaryumun Damar ve Sinirleri</i>	4
2.2. <i>Ovaryum Embriyolojisi</i>	5
2.2.1. <i>Gonadların Gelişimi</i>	5
2.2.2. <i>Farklılaşmamış Gonad</i>	5
2.2.3. <i>Primordial Germ Hücresi</i>	6

2.2.4. Cinsiyetin Belirlenmesi.....	6
2.2.5. Ovaryum Gelişimi.....	6
2.3. Ovaryum Histolojisi.....	7
2.3.1. Ovaryum Medullası.....	8
2.3.2. Ovaryum Korteksi.....	8
2.3.3. Ovaryumun Erken Gelişimi.....	9
2.3.4. Ovaryum Folikülleri.....	9
2.3.4.1. Primordial Foliküller.....	10
2.3.4.2. Primer Foliküller.....	10
2.3.4.3. Sekonder Foliküller.....	12
2.3.4.4. Tersiyer Foliküller.....	12
2.3.5. Ovulasyon ve Hormonlar.....	13
2.3.6. Korpus Luteum.....	15
2.3.7. Atrezi.....	16
2.4. Hücre Hattı.....	17
2.5. Paklitaksel.....	18
2.6. Mirtazapin.....	18
2.7. Akridin Oranj/Etidyum Bromid (AO/EB).....	19
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	20
3.1 A2780 İnsan Ovaryum Kanseri Hücre Hattı.....	20
3.2. Hücre Hattı Grupları.....	20
3.3. DMEM Besiyerinin Hazırlanması.....	23
3.4. MTT Testi.....	23

3.5. Hücre Hattıyla Hücre Kültürünün Yapılması	23
4. BULGULAR.....	26
4.1. Apoptotik ve Nekrotik İndeks	30
4.2. Hücre Ölümünün Floresan Mikroskopik Analizi	30
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	34
6. KAYNAKLAR.....	37
7. ÖZGEÇMİŞ.....	40

KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

A2780	İnsan ovaryum kanseri hücre hattı
AO/EB	Akridin oranj/etidyum bromid
cm	Santimetre
COC	Kumulus oosit kompleksi
CO ₂	Karbondioksit
DMEM	Dulbecco's modification of eagles medium
DMSO	Dimethyl sulfoxide
EDTA	Etilenamin tetraasetik asit
FBS	Fetal bovine serum
FSH	Folikül uyarıcı hormon
GAG	Glikozaminoglikan
GER	Granüllü endoplazmik retikulum
GnRH	Gonadotropin salgılayıcı hormon
gr	Gram
HCG	İnsan koryonik gonadotropin
IC	İnhibitory concentration
LH	Luteinizan hormon
MTT	3-(4,5-Dimetilthiazol-2-yl)-2,5- difeniltetrazolyum bromide
ml	Mililitre
MTZ	Mirtazapin

PAS	Periyodik asit schiff
PBS	Phosphate buffered saline
rpm	Revolutions per minute
μM	Mikromolar
μm	Mikrometre
μl	Mikrolitre

RESİMLER LİSTESİ

RESİM 1: <i>Flask içerisindeki A2780'lerin faz kontrast mikroskopunda görünümü...</i>	23
RESİM 2: <i>Mirtazapin ve paklitaksel verilen 96 kuyucuklu plaklara ekilmiş olan A2780'lerin plakta görünümü.....</i>	25
RESİM 3: <i>Mirtazapin ve paklitaksel verilen 96 kuyucuklu plaklara ekilmiş olan A2780'lere MTT eklenmiş olarak plakta görünümü.....</i>	25
RESİM 4: <i>Kontrol grubu, AO/EB ile boyanmış hücreler. Yeşil ok: Normal hücreler. Kırmızı ok: Nekrotik hücreler. Mavi ok: Geç apoptotik hücreler.....</i>	31
RESİM 5: <i>Mirtazapin grubu, AO/EB ile boyanmış hücreler. Kırmızı ok: Nekrotik hücreler. Mavi ok: Erken apoptotik hücreler.....</i>	32
RESİM 6: <i>Paklitaksel grubu, AO/EB ile boyanmış hücreler. Kırmızı ok: Nekrotik hücreler. Mavi ok: Geç apoptotik hücreler.....</i>	32

TABLÖLAR LİSTESİ

GRAFİK 1: <i>Mirtazapin dozlarının A2780 hücre hattı canlılığına etkisi, MTT sonuçlarının yüzde olarak değerlendirilmesi</i>	26
GRAFİK 2: <i>Paklitaksel dozlarının A2780 hücre hattı canlılığına etkisi, MTT test sonuçlarının yüzde olarak değerlendirilmesi</i>	26
GRAFİK 3: <i>Mirtazapini çözdüirmede kullanılan distile su dozlarının A2780 hücre hattı canlılığına etkisi, MTT test sonuçlarının yüzde olarak değerlendirilmesi</i>	27
GRAFİK 4 : <i>48 saat sonunda paklitaksel dozlarının A2780 hücre hattı canlılığına etkisi, MTT test sonuçlarının yüzde olarak değerlendirilmesi</i>	27
GRAFİK 5: <i>48 saat sonunda mirtazapin dozlarının A2780 hücre hattı canlılığına etkisi, MTT sonuçlarının yüzde olarak değerlendirilmesi</i>	28
GRAFİK 6: <i>Mirtazapin 0,5 mikromolar dozu + tüm paklitaksel dozları</i>	28
GRAFİK 7: <i>Mirtazapin 1 mikromolar dozu + tüm paklitaksel dozları</i>	29
GRAFİK 8: <i>Mirtazapin 2,5 mikromolar dozu + tüm paklitaksel dozları</i>	29
GRAFİK 9: <i>AO/EB ile boyanmış hücrelerde apoptotik indeks. Sütunlardaki farklı harfler istatistiksel olarak anlamlı farklılığı ifade etmektedir ($p < 0.05$)</i>	30
GRAFİK 10: <i>AO/EB ile boyanmış hücrelerde Nekrotik indeks. Sütunlardaki farklı harfler istatistiksel olarak anlamlı farklılığı ifade etmektedir ($p < 0.05$)</i>	31

ÖZET

T.C. NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Paklitaksel Ve Mirtazapinin A2780 Hücrelerine Etkilerinin Proliferasyon Ve Apoptozis Yönünden
Değerlendirilmesi

Tuğba KOÇ

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı
YÜKSEK LİSANS TEZİ/ KONYA-2017

A2780 ovaryum kanseri hücre hattına paklitaksel ve mirtazapinin değişik dozları tek tek veya kombine olarak uygulandı. 24 ve 48 saatlik ilaç uygulaması sonrası hücre canlılığı MTT testi değerlendirildi. 24 saatlik uygulamada akridin oranj ve etil bromid ile boyanan hücrelerde apoptotik ve nekrotik hücreler sayıldı. İstatistiksel olarak değerlendirildi.

Çalışmamızda 24 saat süreyle uygulanan mirtazapin IC_{50} dozunda, AO/EB ile boyanan hücrelerde apoptozis ve nekrozisin kontrol grubuna göre anlamlı derecede arttığı ve mirtazapinin tek başına A2780 hücrelerinde apoptozise göre hücrelerde nekrozisi arttırdığı belirlendi.

24 saat süreyle uygulanan paklitaksel IC_{50} dozunda, AO/EB ile boyanan hücrelerde apoptozis ve nekrozisin kontrol grubuna göre anlamlı derecede arttığı ve paklitakselin tek başına A2780 hücrelerinde nekrozise oranla hücrelerde apoptozisi arttırdığı belirlendi.

24 saat süreli mirtazapinin 1 mikromolar dozu, paklitakselin IC_{50} dozu olan 7,5 mikromolar dozu, 0,5 mikmolara düşürdü. Kemoterapinin yan etkilerini azaltabilecek ve daha güvenli bir doz aralığı sunan veriler elde edilmiş oldu. Bu veriler eşliğinde kemoterapinin yan etkilerini azaltabilecek bir tedavi yaklaşımı elde edilmiş olabilir.

Anahtar kelimeler: A2780, Apoptozis, Mirtazapin, Paklitaksel

ABSTRACT

TC. UNIVERSITY OF N. ERBAKAN FACULTY OF MERAM MEDICINE
INSTITU OF HEALTH SCIENCES

Evaluation of the effects of paclitaxel and mirtazapine on A2780 cells in terms of proliferation and apoptosis

Tuğba KOÇ

Department Of Histology-Embriyology (Medicine)
MASTER OF DEGREE/KONYA-2017

Different doses of paclitaxel and mirtazapine were administered individually or in combination in the A2780 ovarian cancer cell line. cell viability and was investigated by MTT assay after 24 and 48 hours of drug administration. Apoptotic and necrotic cells were counted in cells stained with acridine orange and ethyl bromide for 24 hours treatment. It was evaluated statistically.

At the dose of mirtazapine IC_{50} applied for 24 hours in our study, apoptosis and necrosis in cells stained with AO/EB increased significantly compared to the control group and mirtazapine alone has been shown to increase necrosis in cells according to apoptosis in A2780 cells.

At the dose of paclitaxel IC_{50} applied for 24 hours, apoptosis and necrosis in cells stained with AO/EB increased significantly compared to the control group and that paclitaxel alone increased apoptosis in cells according to necrosis in A2780 cells.

1 micromolar dose of mirtazapine treatment for 24 hours, reduced IC_{50} dose of paclitaxel from 7.5 micromolar to 0.5 micromolar. Thus it was possible to reduce the side effects of chemotherapy and provide a more safe dose range. In the presence of this data, a treatment approach may be obtained that may reduce the side effects of chemotherapy.

Key words: A2780, Apoptosis, Mirtazapine, Paclitaxel

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Ovaryum kanserleri jinekolojik kanserler içinde mortaliteye sebep olan önemli bir sağlık sorunudur. Paklitaksel epitelyal ovaryum kanseri tedavisinde sık kullanılan kemoterapötik ajanlardan biridir. Mirtazapine (MTZ) bir antidepresan ilaçtır ve major depresyonun tedavisinde kullanılmaktadır.

Farklı anti depresan ilaçlar şu anda kanser hastalarında depresyon tedavisinde kullanılmaktadır. Depresyonun kanser hastalarının sadece yaşam kalitesini düşürmekle kalmayıp, aynen kalp hastalarında olduğu gibi bu kişilerin hayatta kalma olasılığını da azaltabileceği ifade edilmiştir. Çalışmada paklitaksel ve mirtazapinin A2780 hücrelerine etkilerinin proliferasyon ve apoptozis yönünden değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. OVARYUM ANATOMİSİ

Üreme sayesinde insanlığın neslindeki süreklilik devam eder. Üreme organları erkek ve dişide fonksiyonuyla ilişkili olarak; farklı şekil, yer ve yapıda bulunmaktadır. Üremede dişi ve erkeğin her ikisinin de rolü olmasına rağmen dişinin üstlendiği rol daha fazladır (Yıldırım 2013). Dişi üreme sistemi, erkeğe göre epey karmaşık bir yapıya sahiptir. Üreme hücresi olan zigot için gerekli yumurtayı üretir, döllenmenin ardından zigotu besler, taşır, embriyo şeklinde gelişiminin ardından koruyucu görev üstlenir. Embriyonal dönem, fetal dönem ve doğum aşamaları hepsi dişi bireyde gerçekleşir. Doğumun ardından onu meme bezlerinin salgısıyla yavrunun beslenmesi için gerekli süt de anne tarafından sağlanır. Bebeğin ruhsal gelişimi açısından önemli olan anne şefkati de dişi bireyde oluşur (Yıldırım 2013; Aktümsek ve ark. 2009).

Dişide üreme organları iç ve dış üreme organları olarak iki kısma ayrılır. Dişideki iç üreme organları; ovaryum, tuba uterina, uterus ve vajinadır. Dişideki dış üreme organları ise; vulva, pubis, labia major, labia minor, clitoris, bulbus vestibuli ve gll vestibularestir (Yıldırım 2006).

Sağda ve solda bir çift olacak şekilde pelvis boşluğunun dış yan duvarlarında bulunan ovaryumlar, lig. latum uteri'nin arka kısımlarında mesoovarium ile uterusun yan duvarında tuba uterinanın tutunma yerinin yakınlarında lig. uteroovaricum ile tutunur. Ovaryumlar kadında ana üreme organlarıdır ve erkek üreme organı olan testisin homoloğudur. Her bir ovaryum gri-pembe renge sahip olup, badem şeklinde, solid, yüzeyi nodüler olmasına rağmen menopoza dönemindeki kadınlar ve gençlerde düzdür. 1 cm kalınlık, 2 cm genişlik, 3 cm uzunluk ve 3-5 gr ağırlığındadır (Yıldırım 2004a; Yıldırım 2004b; Aktümsek ve ark. 2009; Yıldırım 2013).

Seksüel açıdan olgun olan bir bireyde ovaryum; ergenliğin ardından bazı hormonların dolaşımdaki miktarlarının periyodik şekilde değişmesiyle orantılı olarak her ay dişi üreme hücresi yani yumurtayı üretir ve steroid yapıda olan dişi seks hormonları olan progesteron ve östrojeni salgılar. Ovaryumlar crista gonadalis'ten gelişerek, erken fetal dönemde L 1-2 seviyesinde böbreklerin yakınında yer alırken; fetüsün gelişimiyle desensus görülür ve hamilelik sırasında uterusun büyümesiyle

yukarıya doğru karın başluğuna ovaryumlar itilir. Doğumun ardından lig. latum uteri gevşeyerek ovaryumların pelvis içerisinde normal yerlerine dönmesine ve farklı şekillerde bulunmasına fırsat verir. (Yıldırım 2004a; Aktümsek ve ark. 2009; Aktümsek 2010).

Ovaryumlar sıklıkla hemen yakınında bulunan fossa ovarica denilen pelvis lateral duvarında bulunan küçük çukur içerisinde bulunurlar. Lig. latum uterinin arka kısmında; ön tarafında oblitere umbilikal arter, arka tarafında vasa iliaca interna (iç kalça damarları) ile üreter, yukarı tarafında ise vasa iliaca externa (dış kalça damarları) ile fossa ovaricanın sınırları belirlenir. Fimbriae tubae ile iç yanda çevrelenir ve bu kısımda periton aracılığıyla damarlar ile ayrımı sağlanır (Yıldırım 2004a; Yıldırım 2004b).

Ovaryum; extremitas tubaria (lateral) ve extremitas uterina (medial) denilen iki tane uca, margo mesovaricus (ön) ve margo liber (arka) denilen iki tane kenara, facies medialis ve facies lateralis denilen iki tane yüze sahiptir. Hilum ovariiye gelen ven, arter ve lenfatiklerle sinirler mesovariumun alt ve üst kenarları arasında yer edinir. Lig. suspensorium ovarii; lig. latum uterinin pelvis duvarıyla mesovariumun tutunduğu yer arasında bulunan parçasına denilir ve ovaryumun pelvik duvara bağlanmasını sağlar. Lig. ovarii proprium; cornu uteriyle mesovariumun alt extremitas uterinası arasında yer alır (Yıldırım 2004a; Yıldırım 2004b; Yıldırım 2006).

2.1.1. Ovaryumun Yapısı

Ovaryumun en dış yüzeyini epithelium superficiale denilen tek katlı kübik epitel bir peritonla sarılıdır. Eskiden epithelium germinativum olarak adlandırılmış olmasıyla birlikte bu kısımda yumurta üretimi olmaz. Tunica albuginea denilen sıkı bağ dokusunun kalınlaşmasıyla oluşan bu yapı epithelium superficialeinin altında bulunur. Tunica albugineanın alt kısmındaki ovaryumun dokusu; iç kısmında medulla ovarii ve dış kısmında cortex ovarii denilen iki kısımdan oluşur. Medulla kısmında fazla miktarda damar ile elastik lif bulunur. Korteks kısmında ise; farklı gelişim ve yıkım aşamalarında foliküller bulunur. Primordiyal folikül, primer folikül, sekonder folikül ve tersiyer folikül olarak dört farklı aşamada foliküller yer alır. Ovulasyonun ardından olgun folikül yırtılarak geçici endokrin bez özelliği taşıyan

corpus luteum (sarı cisim) meydana gelir. Yumurta döllemesiyle hamilelik görülürse; bu süreçte menstruasyon görülmez, corpus luteumun devamlılığı sağlanır ve büyür. Bu yapı corpus luteum graviditalis olarak adlandırılır. Hamilelik görülmemesi durumunda iki hafta süresince progesteron salınımını gerçekleştiren corpus luteum vazifesini tamamlamış olur. Buna ise, corpus luteum cyclicum denilir. Corpus luteumun gerilemeye başlamasıyla corpus luteum regressing adını alır. Bunun zaman içerisinde bağ dokusuyla donatılması sonucu fonksiyonsuz olarak meydana gelen yapı ise corpus albicans olarak adlandırılır (Yıldırım 2004a; Yıldırım 2004b; Yıldırım 2006; Sancak ve ark. 2008; Yıldırım 20013).

Doğum ile birlikte ovaryumunda 100,000-400,000 tane primordiyal follikül bulundururken, ergenlik süresine kadar çoğunluğu yok olduğundan 10,000-20,000 tane primer folikül kalır. Dişinin ovulasyon süresince bunlardan yalnız 400 tanesi yumurta olabilecek olgunluğa ulaşır. Ergenlik döneminden önce pürüzsüz yüzeye sahip ovaryum, ergenliğin ardından oluşan corpus luteum oluşumlarıyla pürüzlü bir görünüm alır. Menapozun ardından ovaryumda küçülme görülür ve nedbe dokusundan dolayı minik çukurluklar meydana gelir (Yıldırım 2006; Yıldırım 20013).

2.1.2. Ovaryumun Damar ve Sinirleri

Ovaryumdaki ana arter aorttan L2 hizasında dallanarak ayrılan ovaryumun beslenmesiyle görevli a. ovaricadır. Ayrıca ramus ovaricus olarak adlandırılan a. uterinanın dalı ovaryumun beslenmesine katkı sağlar. Plexus pampiniformisin oluşturulmasında görevli venler hilum ovariiden gelirler. Ardından plexus pampiniformis v. ovaricayı meydana getirir. V. ovarica ovaricayla birlikte pelvis minordan ayrılır. V. cava inferiora sağ ovarica, v. renalis sinistraya ise v. ovarica gelir. A. ovaricayı takip eden nodi aortici laterales ve nodi preaorticiye gelen lenf damarlarıyla ovaryuma ait lenf drenajı elde edilir. Ovaryumda inervasyon plexus ovaricus ile yapılır. Plexus aorticus, plexus hypogastricus superior, plexus hypogastricus inferior, plexus renalisten gelen dallar pleksusu meydana getiren sinirlerdir. Bunlar aşağıya a. ovaricayla inerek ovaryumla beraber tuba uterina ve lig. latum uteride yayılır. N. vagustan parasempatik lifler, medulla spinaliste T10-T11 segmentlerinden ise sempatik lifler oluşur (Yıldırım 2004a; Yıldırım 2004b; Yıldırım 2006; Sancak ve ark. 2008).

2.2. OVARYUM EMBRİYOLOJİSİ

Embriyoya ait genetik ve cinsiyetini belirleyen kromozom, yumurtayı döllemede görevli spermle dölleme sürecinde oluşur. Buna rağmen üreme sisteminde gelişim 1-6. haftalarda embriyoda cinsiyetin ne olduğu belirlenemez yani 7. haftaya kadar dişi ve erkek genital sistemde farklılık gözlenmez. Her iki cinsin de genital sistemleri ilk dönemlerde benzer olmasından dolayı, genital gelişmedeki bu ilk aşamaya seksüel gelişimin farklılaşmamış evresi denilir (Yıldırım ve ark. 2002; Demir 2006; Müftüoğlu ve ark. 2009).

2.2.1. Gonadların Gelişimi

Gonadlarda (yumurtalıklar ve testisler) gelişimin kökeni, 3 kaynaktan meydana gelir;

- Mezotel (karın duvarını örten mezodermal epitelyum)
- Altında bulunan mezenşim (embriyonik bağ dokusu)
- Primordiyal germ hücreleri (Yıldırım ve ark. 2002; Müftüoğlu ve ark. 2009).

2.2.2. Farklılaşmamış Gonad

5. haftada mezonefrozun medial kısmında mezotelde kalınlaşmanın oluşmasıyla gonad gelişiminin ilk aşamaları görülmeye başlar. Gonadal (genital) kabartı olarak adlandırılan, bu epitelin ve alt kısmında bulunan mezenşimin çoğalmasıyla mezonefrozun medial kısmında bir çıkıntı meydana gelir. Kısa zamanda alt kısımlarında bulunan mezenşimin içine doğru, parmak şeklinde epitelyum kordonlar (primer cinsiyet kordonları=gonadal kordonlar) büyümektedir. Artık farklılaşmış gonad iç kısmında bulunan medulla ve dış kısmında bulunan korteksten meydana gelir. XY cinsiyet kromozom kompleksi bulunduran embriyonun; korteksi artık olan kalıntılar haricinde gerileyerek bozulduğu görülür ve medullası testise farklılaşır. XX cinsiyet kromozom kompleksi bulunduran embriyonunsa; medullasında gerileme görülür ve korteksi yumurtalığa farklılaşır (Yıldırım ve ark. 2002; Müftüoğlu ve ark. 2009).

2.2.3. Primordial Germ Hücreleri

4. haftanın başlarında servikal primitif cinsiyet hücreleri, allantoisin başlangıç kısmının yakınlarında vitellus kesesinin duvarında endodermal hücrelerin aralarında oluşmaya başlarlar. Embriyo katlanmaları görüldüğü süreçte vitellus kesesine ait dorsal kısım embriyonun içine karışır. Bunlar gerçekleşirken bağırsağın dorsal mezenteri doğrultusunda gonadal kabartıların olduğu yere yönelerek yerleşen primordial germ hücreleri; 6. haftada alt kısımlarında bulunan mezenşim içerine girerek gonadal kordonlara katılır ve sonucunda spermiler ve oosite farklılaşır (Yıldırım ve ark. 2002; Müftüoğlu ve ark. 2009).

2.2.4. Cinsiyetin Belirlenmesi

Genetik ve kromozomal cinsiyet döllenmeyle oluşur. X kromozomu bulunduran oosit ile X kromozomu ya da Y kromozomu bulunduran spermin döllenmesiyle cinsiyet belirlenir. 7. haftanın öncesinde her iki cinsteki bulunan gonadlar aynı görünüme sahip olduğundan farklılaşmamış gonadlar denilir. Embriyonun cinsiyet kromozom kompleksi gelişmiş gonadların tipinin (XX ya da XY) oluşmasını sağlar. Y kromozomu erkek fenotipin gelişiminde gereklidir. Ama Y kromozomunun kısa kollu cinsiyeti tayininde belirleyicidir. Y kromozomundaki cinsiyet belirleyici kısımda SRY geni testis belirleyici faktör için bulunmalıdır. XY kromozom kompleksine sahiptir. Gelişimi için X kromozomuna ihtiyacı olan dişi fenotipin X kromozomunda bulunan bir seri gen ve bulunduğu yer cinsiyetin belirlenmesinde etkilidir. XX kromozom kompleksine sahiptir (Yıldırım ve ark. 2002; Müftüoğlu ve ark. 2009; İrez ve Erkan 2016).

2.2.5. Ovaryum Gelişimi

Gonad gelişimi dişi embriyolarda yavaş olur. Over gelişimi amacıyla genleri taşıyan X kromozomu bir otozomal geninde over organogenezinde de etkisi olduğu belirtilmiştir. Yumurtalığın, gelişimin yaklaşık 10. haftasına kadar olan süresinde histolojik yönden ayrımı yapılamaz. Medullanın iç kısmına sokulan gonadal kordonlar rete ovarii denilen rudimenter yapıyı oluşturur. Daha sonra bu yapı dejenere olur ve erken fetal dönemde yumurtalığın yüzeyindeki epitelden kökenlenen, alt kısmında yer alan mezenşim içine girer. Boyutları artarak büyüyen kortikal kordonlar içerisine primordiyal germ hücreleri girmesiyle, bu kortikal

kordonlardan 16. haftada kortikal kordonlar; her biri kortikal kordonlardan meydana gelen tek tabakalı yassı foliküler hücrelerin çevrelediği, primordiyal germ hücresinden oluşan oogonyumu içinde bulunduran primordiyal foliküller denilen hücre grupları şeklinde parçalanır. Aktif mitoz sayesinde fetal yaşam sürecinde binlerce oogonyum oluşur (Yıldırım ve ark. 2002; Müftüoğlu ve ark. 2009; İrez ve Erkan 2016).

Doğum sonrasında oogonyum oluşumu görülmez. Çoğu doğum öncesinde bozulmasına rağmen doğumun ardından bu oogonyumların yaklaşık 2 milyonu primer oositi oluşturmak amacıyla kalır. Doğumun ardından yumurtalığın yüzey epiteli düzleşerek tek tabakalı şekilde olan hücreler, yumurtalığın hilusunda peritona ait mezotel ile devam eder. Tunica albuginea denilen ince fibröz kapsül sayesinde kortekste bulunan foliküllerle yüzey epitelinin ayrımı sağlanır. Yumurtalık gerileme görülen mezonefroza ayrılarak mezovaryum denilen kendine ait mezenteri ile asılı şekilde bağlı kalır (Yıldırım ve ark. 2002; Müftüoğlu ve ark. 2009; İrez ve Erkan 2016).

2.3. OVARYUM HİSTOLOJİSİ

Dişi üreme sistemi; ovaryumlar, tuba uterinalar (Fallop tüpleri), uterus, vajina olan iç genital organlar ve toplu halde vulva adı verilen dış genital organlardan oluşur (Tanyolaç 1993). Ovaryum ve tuba uterina biri sağda diğeri solda olmak üzere çifttir, diğerleri tek olarak bulunur. Bu sistemde dişi gametler üretilir, döllenmeye uygun ortam oluşturulur ve embriyo fetal dönemden başlayarak doğuma kadar olan tüm gelişim sürecinde taşınır (Solakoğlu ve ark. 2015).

Bu sistemde ovaryumlar; gamet üretilmesinden dolayı (gametogenez) ekzokrin bez, steroid yapılı eşey hormonları üretilmesinden dolayı endokrin bez olarak adlandırılır. Bu hormonlar üreme sistemi organlarını denetler, diğer organları etkiler (Solakoğlu ve ark. 2015; Eşrefoğlu 2004). Menarş başlamasıyla oluşan ilk adet olduğunda nörohormonal mekanizma ile denetlenen üreme sisteminde aylık olarak yapısal ve işlevsel değişimler oluşur. Menapoz bu değişim döngülerinin düzeninin bozulması ve daha sonra yok olduğu dönemdir. Bu dönemin ardından üreme organları zamanla işlevini yitirir (Solakoğlu ve ark. 2015).

Ovaryumlar sağda ve solda pelvis boşluğunun yan duvarlarına yerleşmiş, iri bir badem şeklinde iki tane ve simetrik organlardır (Eşrefoğlu 2004; Kayalı 1984). Hilus kısmından mezovaryum denilen bir periton katlantısı ile uterustaki geniş ligamente arkadan bağlanır. Hilusda bulunan mezovaryum, her ovaryumun yüzeyini örten ve tunika albuginea denilen sıkı bağ dokusu tabakasını örten germinal epitel denilen tek katlı kübik epitelle devam eder (Eşrefoğlu 2004). Histolojik olarak ovaryum dış kısımda korteks ve iç kısımda medulla olmak üzere iki kısımdan meydana gelir (Tanyolaç 1993).

2.3.1. Ovaryum Medullası

İç kısımda bulunan medullanın temel yapısında bağ dokusu bulunur. Kollajen lif, elastik lif ve ayrıca az sayıda kas telleri bulunur. Bağ doku içerisinde sayıca çok kan damarları, lenf damarları ve sinir teli içerir. Bol kan damarı içermesinden dolayı medullaya zona vaskuloza denilir (Tanyolaç 1993). Buradaki damarlar işlevseldir ve korteks bölgesindeki foliküllere ulaşır. Medullada bulunan stroma, korteks kısmındaki stromaya temas eder, ama korteks kısmından daha az hücre bulundurur (Kayalı 1984).

2.3.2. Ovaryum Korteksi

Dış kısımda bulunan korteks; hücresel bağ dokusuyla yoğun bir stroma, primordiyal oositler, menarşın ardından çeşitli boyutlarda bulunan birçok ovaryum folikülünden oluşur ve ovaryumların büyük kısmını oluşturur (Solakoğlu ve ark 2015). Ovaryumun fonksiyonel bölümü olduğundan dolayı zona parenşimatoza da denilir (Tanyolaç 1993). Ovaryumun korteks kısmı ile medulla kısmı arasında net bir sınır bulunmaz (Solakoğlu ve ark 2015).

Ovaryumun korteks kısmında bulunan foliküllerde değişik gelişim aşamaları gözlenebilir. Pubertenin öncesinde yalnız primordiyal foliküller görülür. Pubertenin sonrasında primer foliküller, sekonder foliküller ve tersiyer foliküller görülür. Foliküllerin haricinde, bu foliküllerden meydana gelen korpus luteum ve atretik foliküller de cinsel olgunluğun olduğu dönemde görülür (Eşrefoğlu 2004).

2.3.3. Ovaryumun Erken Gelişimi

Emrionik dönemin 1. ayı içinde, vitellus kesesinden gonad taslaklarına doğru primordial germ hücrelerinin bir kısmı göç eder, burada bölünür ve oogonyum şeklinde değişirler. 2. ayında olan embriyonun gelişmiş olan ovaryumunda yaklaşık 600,000 kadar, 5. ayında 7 milyonun üzerinde oogonyum bulunur. Oogonyumlar embriyonun 3. ayının başlarında 1. mayoz bölünmenin profazına başlar, rekombinasyon ve sinapsi bitirdikten sonra mayoz bölünmenin diğer evrelerine geçmeden duraklar. Mayoz bölünmede kalan bu hücrelere primer oositler denilir ve her biri ovaryum foliküllerini oluşturmak amacıyla foliküler hücreler denilen yassı destek hücreleriyle sarılmaya başlar. 7. aya gelindiğinde foliküllerde bulunan oogonyumların büyük kısmı primer oosite dönüşür. Primer oositlerin büyük kısmı atrezi denilen üreme çağı süresince sürekli devam eden yıkım süreciyle atılırlar. Ergenlik döneminde ovaryumda bulunan oosit sayısı 300.000 kadardır. Genellikle her oluşan menstural siklusa (ortalama 28 gün) bir tane oosit olgunlaşır ve mayoz bölünmenin devamını sağlar. Bir kadının doğurganlık süresi yaklaşık 30-40 yıl sürdüğünden dolayı yalnız 450-500 kadar oosit olgunlaşır diğerleri ise atrezi ile atılır. Oosit gelişme sürecinde olan ve ovum olgunlaşan gametlerdir (Eşrefoğlu 2004; Solakoğlu ve ark. 20015).

2.3.4. Ovaryum Folikülleri

Histolojik açıdan foliküller; primordial foliküller, gelişen foliküller (primer ve sekonder foliküller) ve olgun olan foliküller (tersiyer foliküllü) olarak üç şekilde foliküller gruplandırılır (Eşrefoğlu 2004). Ovaryum foliküllerinin tamamında, bazal laminayla beraber bir ya da birden çok folikül epitel hücre tabakasının bir oositin (yavru sayısı fazla olanlarda birden çok) etrafını sarmasıyla oluşur (Solakoğlu ve ark 2015; Tanyolaç 1993). Yuvarlak, büyük ve ökromatin bir çekideğe, net bir çekirdekçiğe sahip olan oositler ihtiyacı olan besinini çevresini saran folikül epitel hücreleri sayesinde alırlar. Bu epitelleri dışarıdan saran bazal membran ile damarları bulunduran stroma ve foliküllerin arasında belirli bir sınır oluşturur (Tanyolaç 1993). Pubertenin ardından ileri gelişme gösteren foliküller, foliküler epitelyum hücreleri ve oositlerinin çoğalması ve stromasının farklılaşmasıyla devam eder (Eşrefoğlu 2004). Folikül uyarıcı hormon (FSH) ve luteinleştirici hormon (LH) hipofiz hormonlarındandır. Bu hormonlar; folikülün büyümesinde, olgunlaşmasında,

yumurtlamada, progesteron ve östrojenin yapımından sorumlu olmasının yanı sıra FSH ve LH uyarılmasıyla atrezi olmayan foliküllerin gelişimi ve olgunlaşmasını sağlamada görevlidir (Demir 2013).

2.3.4.1. Primordial Foliküller

Primordial foliküller fetal dönemin 3. ayıyla birlikte görülmeye başlar, yani foliküler gelişimin ilk safhasıdır. Foliküllerin büyük çoğunluğu primordial foliküllerdir. Bu foliküller ovaryumun korteksinde, tunika albugineanın hemen altındadır (Eşrefoğlu 2004). Tek katlı yassılaştırmış foliküler hücrelerin primer oositi çevrelemesiyle primordial folikül oluşur. Bu foliküller içerisinde bulunan oositler; enli veziküler şekide, iri ve yaklaşık 25 µm çapa sahip yuvarlak şekilde belirgin bir ya da birden fazla, birinci mayozun profazında bulunan kromozomların içinde bulunduğu çekirdeğe sahiptir. Ayrıca hücreler organel açısından zengindir ve bu organeller çekirdeğe yakın olarak bulunurlar. Sayısız mitokondri, Golgi, granüllü endoplazmik retikulum, lizozom, vezikül hücre içerisindeki organellerdir (Eşrefoğlu 2004; Solakoğlu ve arkadaşları 2015).

2.3.4.2. Primer Foliküller

Ergenliğin başlamasıyla beraber folikül uyarıcı hormon (FSH) hipofizden salgılanır. Pirmordial foliküllerden az bir kısmı her ay foliküler büyümeye başlar. Bu aşama oositlerin büyüyüp, folikül hücrelerinin farklılaşması ve artmasının yanı sıra her bir folikülün etrafındaki stromal fibroblastların değişmesini ve çoğalmasını da kapsar. Folikül epitellerinin oluşturduğu zona pellusida denilen, glikozaminoglikan ve glikoprotein açısından zengin bir zar, primer oositin büyüme aşamasında çevresini sarar. Zona pellusidanın periyodik asit schiff (PAS) boyama yöntemiyle boyanması sonucu pozitifdir (Eşrfoğlu 2004; Tanyolaç 1993). Bu zar; preparatların azan ile boyanmasıyla mavi renkte, preparatların Masson ile boyanmasıyla yeşil renkte, preparatların Hematoksilen+van Gieson ile boyanmasıyla ise kırmızı renkte görülür (Kayalı 1984). Işık mikroskobu ile incelendiğinde homojen ve camsı bir görüntü elde edilirken, elektron mikroskobu ile incelendiğinde zona pellusida içerisine oosit mikrovilluslarıyla, folikül hücre uzantıları uzandığı görülür (Eşrefoğlu 2004; Tanyolaç 1993).

Oositler FSH ile uyarılır ve ardından, foliküler gelişiminin başlarında yaklaşık olarak 120 µm çapa ulaşınca kadar olan sürede büyümesi hızlıdır. Oositin farklılaşması sürecinde; hücre ve çekirdeği büyür, mitokondri çok fazla sayıda olur, GER daha fazla yaygınlaşır, Golgi gelişerek kenarlara doğru gider, oositin plazma zarının içine doğru uzanan ve döllenmenin erken evresinde ekzositozla atılan adına kortikal granüller denilen içerisinde değişik proteazların bulunduğu özelleşmiş salgı üreten granüller oluşur (Solakoğlu ve ark 2015).

Mitoz bölünme geçiren primordiyal folikülerin yassı hücreleri gelişerek, kübik ardından prizmatik hücrelere farklılanarak, büyüyen oositin etrafını sarar. Tek katmanlı (unilaminar) primer folikül, bu folikül hücrelerinin tek katlı kübik hücreler şeklinde değişmiş haline denir. Bu folikül hücrelerinin çoğalmasıyla tek kat olan epitel, hücrelerin gap junction türü bağlantılar ile iletişim halinde olduğu granüloza denilen çok katlı epitel halinde gelir. Bu durumdaki folikül hücrelerine granüloza hücreleri denilir ve bazal membran ile sarılı olan bu folikül çok katmanlı (multilaminar) primer folikül olarak adlandırılır (Solakoğlu ve ark. 2015). Büyüyen her primer folikül epitellerini çevreleyen, bazal membranın dış kısmında bağ dokusu hücreleriyle (fibrositler) bağ dokusu fibrillerinin (kollagen ve retikulum fibrilleri) oluşturduğu sıkı bağ doku teka folikülü olarak adlandırılır (Tanyolaç 1993). Bu yapı ileri süreçte folikülün etrafında iki değişik dokuya farklılanır. Granüloza ile teka folikülü arasında camsı membran olarak adlandırılan bazal membran bulunur. Teka folikülleri tarafından ileri süreçte, bol kan damarlarının bulunduğu iç kısımda bulunan teka interna denilen tabaka ve düz kas hücreleriyle kollagen fibrillerinin bol bulunduğu dış kısımda bulunan teka eksterna denilen tabaka meydana gelir (Eşrefoğlu 2004). Büyüyen foliküller etrafını saran granüloza hücrelerinde FSH reseptörleri bulundurur. Ovayum foliküllerinin büyüme ve olgunlaşmasını kontrol eden FSH ayrıca teka internanın hücrelerinin gelişmesini tetikler. Gelişmenin ardından, androjenik steroid öncü maddelerinin salgılanmalarını sağlamak amacıyla luteinizan hormon (LH) tarafından teka interna hücreleri uyarılır. Bu maddelerin foliküllerin içerisine girmesiyle, folikülün granüloza hücreleri FSH'a cevap olarak, bunları aromataz enzimiyle östrojene çevirir. Granüloza hücrelerinin çoğalmasında, foliküllerin boyut olarak büyümesinin uyarımında östrojen etkilidir. Östrojenler, folikülü sarmış olan stromaya dönüşür ve tüm vücuda dolaşım ile iletilir (Demir 2013).

2.3.4.3. Sekonder Foliküller

Ovaryumun korteksinde bulunan primer foliküller büyüyerek daha iç kısımlara doğru ilerler. Granüloza hücrelerinin 8-12 katlı çok katlı prizmatik epitel olarak değişmesiyle, bu hücreler şeffaf foliküler sıvıyı salgıladığından granülozalar aralarında düzensiz küçük boşluklar belirir. Foliküler sıvının birikmesiyle bu boşluklar büyüyerek birbirleriyle birleşmeye başlarlar ve bu boşluklara artık antrum denilir. Bu antrumların etrafındaki granüloza hücreleri veziküler veya antral folikül olarak adlandırılır. Yani diğer bir deyişle sekonder foliküller denilir. Foliküler sıvı içerisinde; glikozaminoglikan (GAG) hiyaluronik asit, bağlayıcı proteinlerle büyük konsantrasyona sahip steroid (östrojen, progesteron, androstenedion), büyüme faktörleri, fibrinojen, antikoagulant heparan sülfat proteoglikan ve plazminojen bulunur. Gelişmekte olan folikül içerisindeki antrum, içerisindeki foliküler sıvının çoğalmasıyla büyür ve antrumun büyümesiyle etrafını granüloza hücrelerinin sardığı oosit, folikül içerisinde kenar kısma doğru ilerler. Oosit etrafını saran granüloza hücreleriyle birlikte antruma doğru adına kumulus ooforus denilen çıkıntıyı yaparlar. Birkaç kattan oluşan folikül duvarı epitelinin iç kısmında bulunan epitelleri antrumu sınırlarken, dış kısmında bulunanlarsa bazal membrana tutunur. Antrumu saran ve antrum ile bazal membran arasındaki folikül duvarını yapan folikül epitelyum tabakası stratum granulozum olarak adlandırılır. Korona radiata ise; yüksek, prizmatik, çok yüzlü hücelere sahip, oositi taç şeklinde ilk çevreleyen granüloza hücrelerine denilir. Membrana pellusida denilen korona radiata ile oosit arasında jelimsi bir yapı bulunur (Tanyolaç 1993; Şeftalioğlu 1998; Eşrefoğlu 2004; Solakoğlu ve ark. 2015).

2.3.4.4. Tersiyer Foliküller

Folikülün büyüme süreciyle yumurta da büyümede devamlılık göstererek yumurtlamanın öncesinde birinci olgunluk bölünmesini sonlandırır. 17. yüzyıldan sonra ilk kez bulup yazan araştırmacının, Regnier De Graaf'ın adından dolayı Graaf folikülü de denilen tersiyer folikül, büyük olgun bir antrumun foliküler sıvı ile dolmasıyla 2 cm veya daha da büyük bir çap oluşturur ve içerisindeki oosit artık sekonder oosit olur. Membrana granüloza denilen antrumun etrafını saran granüloza hücrelerinin oluşturduğu çok katlı hücre tabakası oluşur. Yumurtlamadan önce makula pellusida ya da stigma denilen ovaryum yüzeyinde bir çıkıntı olduğu

görülür. Bu kısımda kanlanma bozulduğundan dolayı antrumun büyümesine kıyasla hücreler çoğalamadığından dolayı granüloza tabakası incelir. Tersiyer folikülün teka tabakası kalındır ve genel olarak primordial folikülünden 90 gün gibi bir süreçte gelişir. Yumurtlamada stigma incelir ve patlar (Eşrefoğlu 2004; Solakoğlu ve ark. 2015).

2.3.5. Ovulasyon ve Hormonlar

Ovulasyon hormonların uyarıldığı ve oositin ovaryumdan atıldığı bir dönemdir. Folikül sıvısının basıncında ve hacminde artma olması, kumulus oosit kompleksiyle (COC) granüloza aralarında GAG toplanması, folikül duvarının proteaz enzimiyle parçalanması, teka internada bulunan düz kasların prostoglandinler tarafından kasılması; ovulasyona etki eden etkenlerdir (Solakoğlu ve ark. 2015; Eşrefoğlu 2004).

Genelde 28 gün olan menstural siklusun yarısında (yaklaşık 14. gününde) döllenme için gerekli olan bir sekonder oositin oluşması siklusun işlevidir. İnsan ovaryumunda bulunan 400,000 kadar folikül içerisinde bir tanesinin seçilmesiyle bu olay gerçekleşir. Tersiyer folikül, foliküler fazın başlangıcından 14 gün kadar sonrasında membrana pellusida ve korona radiyata ile sarılı olmaya devam eden sekonder oositin, tuba uterinaya giderken peritoneal boşlukta bırakılması amacıyla parçalanır ve bu olaya ovulasyon denilir (Aktümsek 2010). Ovulasyon gerçekleşmeden birkaç saat öncesinde tersiyer folikül tunika albugineya çıkıntı yaparak sıkışır ve kan akışını engelleyerek dokunun beslenmesini engelleyen, şeffaf, beyazımsı bir görünümde olan stigmanın oluşumu gerçekleşir. Folikül epitel hücrelerinden salınan proteaz enzimiyle; germinatif epitel, tunika albugineya ait bağ doku ve tekayı eritmeyi sağlar. Bu sırada kanda östrojen miktarı maksimum seviyeye ulaşmasıyla fazlaca LH hipofizin ön kısmından salınır. Germinatif epitelde stigma incelir ve patlar. Bunun ardından tersiyer folikülün çevresindeki baskı kalmaz ve içerisindeki basınç çok fazla olduğundan patlar. Yani ovulasyona sebep olur. (Tanyolaç 1993; Solakoğlu ve ark 2015).

Fetal dönemde primordiyal foliküldeki oositte birinci mayozun profazının diploteninde kalan bölünme ovulasyondan önce bitirilir. Böylelikle yaklaşık 12-15 yıl bu aşamada kalır. Olgunlaşan folikülde bitirilen birinci mayoz bölünmenin

ardından, iki hücreye kromozomlar eşit olarak bölünse de sadece bir tanesi stoplazmanın çoğunu alır ve bu hücreye sekonder oosit denilir. Diğeri ise; birinci kutup cisimciğı olarak adlandırılır ve bunun dışarıya atılmasının ardından, sekonder oosite ait çekirdekte ikinci mayoz bölünme gerçekleşerek metafazda kalır. Foliküler sıvı içerisinde ovaryum yüzeyinde sıkı olmayacak şekilde yapışan, ovulasyonla serbest kalan sekonder oosit döllemenin gerçekleşeceği yumurta kanalına girer ve burada bozulma görülmeden yaklaşık 24 saat bekler ve canlı kalır. Sekonder oositte bir dölleme görülünceye kadar ikinci mayozu bitiremez. Oluşan dölleme yumurta kanalının ampullasındadır. Sekonder oosit sperm ile döllemesiyle ikinci mayozu tamamlar ve sonucunda olgun bir yumurta ile ikinci kutup cisimciğı oluşur, ardından da kutup cisimciğı dejenere olarak yok olur (Eşrefoğlu 2004; Solakoğlu ve ark. 2015).

Genellikle her menstural siklusta sadece bir tane oosit atılır fakat bazen iki ya da ikiden çok oosit aynı zamanda atılabildiğı ya da hiç oosit atılamadığı durumlar da görülür (Solakoğlu ve ark. 2015).

Normalde yalnız bir folikül gelişerek baskın folikül olur ve oositin yumurta hücresine gelişimi gözlenir. Diğerleri bozulur veya atretik şekle dönüşür. FSH a bağımlılığı azalan baskın folikül inhibin denilen hormonu üreterek FSH'ın hipofizden salınımını engeller. Östrojenin fazla olması hipotalamustan salınan gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) ve hipofizden salınan FSH'ın salınımını engeller. FSH'ın da azalmasıyla gelişme görülen diğer foliküllerin atrezi olması uyarılır (Demir 2013).

Ovulasyonun hemen öncesinde veya menstural siklusun ortalarında östrojen en fazla olduğu ana gelir ve hipofizde pozitif cevap oluşur. Bunun sonucunda LH'ın hipofizin ön kısmından salınımı sağlanır. Az miktarda da FSH salınır. FSH ve LH'ın artmasıyla bazı farklılıklar görülür. Ovulasyonun öncesinde primer oositte birinci mayoz bölünme tamamlanır, birinci kutup cisimciğı oluşur ve sekonder oosit tuba uterinaya bırakılır. Ovaryum olgunlaşması tamamlanır, menstural siklusun ortalarında (yani 14. gün) sekonder oositin yumurtlaması sağlanır, yumurtlamanın ardından yıkılır ve oositi saran granüloza hücreleriyle teka interna hücrelerinin farklılaşmasıyla geçici olarak endokrin bir bez olan korpus luteumun oluşumu

görülür. Damarlanan korpus luteum ve LH'a cevap olacak şekilde östrojen ve progesteron üretiminin fazlaştığı gözlemlenir (Solakoğlu ve ark. 2015; Demir 2013).

2.3.6. Korpus Luteum

Ovülasyonun ardından folikül duvarlarında granüloza ve teka tabakaları yığılarak kıvrım şeklinde görülür. Büyük geçici endokrin bir bez olan korpus luteum granüloza ve teka interna hücrelerinin farklılaşması sonucunda meydana gelir. Korpus hemarojikum denilen teka internadaki kapillerde hasar oluşmasıyla folikülün önceden antrum olan kısmında biraz kanlanma görülür. Granüloza kapillerle dolar. LH etkisiyle granüloza ve teka interna hücreleri işlevsel yönden ve histolojik açıdan farklılık göstererek östrojenin yanı sıra fazlaca progesteron üretimi yapar (Eşrefoğlu 2004; Solakoğlu ve ark. 2015).

Granüloza hücreleri bölünmeden genişliği artarak (20-35mm cap), enli veziküler çekirdekli, canlı görünümde olmayan şekilde boyanan hücrelere farklılanırlar. Stoplazmaları zayıf lipid damarlarla donatılan korpus luteumun yaklaşık %80'lik kısmını oluşturan bu hücreler, granüloza lutein hücreleri olarak isimlendirilirler. Bu hücrelerde parlak sarı renkte pigment bulunur ve progesteron sentezi yapar. Büzüşüp kıvrımlanan granülozayı dıştan saran teka interna hücreleri büyüyerek teka lutein hücreleri olarak isimlendirilir ve korpus luteumun geri kalan kısmını oluşturur. Granüloza lutein hücrelerinin yarısı kadar büyüklükte olan teka lutein hücreleri, ovulasyonun öncesindeki gibi östrojen salgılamaya devam eder. Heterokromatik yapıda küçük bir çekirdeğe sahip olan teka lutein hücreleri korpus luteum duvarında bulunan katlantılarda bulunur ve LH'ın etkisiyle progesteronun fazla miktarda üretimini sağlar. Teka lutein hücreleriyle granüloza lutein hücreleri arasında fazlaca kapiller bulunur ve bu kapiller teka eksternadan gelir. Korpus luteumun içerisinde fibroblast boldur (Eşrefoğlu 2004; Tanyolaç 1993; Solakoğlu ve ark. 2015).

Korpus luteumun dejenere olup olmaması döllenmeye bağlıdır. Korpus luteumun aktif olduğu dönemde progesteronun kandaki seviyesi daima yüksektir ve böylelikle ovaryumda faaliyet gözlenmez, foliküllerde gelişme olmaz (Tanyolaç 1993). Ovulasyondan dolayı yükselen LH miktarı, progesteronun korpus luteumdan 10-12 gün gibi sürede salınımına sebep olur. Korpus luteumun hücrelerince üretilen

steroid, bu LH etkisi olmadığında ve hamilelik gözlenmediğinde üretilemez ve apoptoz görülür. Progesteron salınımının azalmasıyla bir kısım uterus mukozası dökülmeye başlar ve buna menstrasyon denilir. Korpus luteumun etkin olduğu dönemde ürettiği östrojenin hipofize etkisiyle FSH salınımı önlenir. Korpus luteumun bozulmasıyla birlikte kandaki steroid miktarı azalır ve folikül büyümesinin ve menstrual siklusun tekrar başlaması için FSH miktarı yeniden fazlalaşır. Menstruasyon korpus luteumu, sadece bir menstrual siklus sürsince bulunan korpus luteuma denilir. Gerileme sürecinde geride kalanlar makrofajlar ile yok edilir ve ardından fibroblastların gelmesiyle korpus luteum aşamalı şekilde bağ dokusundan beyaz renkte olan skor (nedbe) dokusu olan korpus albicansı meydana getirir (Eşrefoğlu 2004; Solakoğlu ve ark. 2015).

Eğer hamilelik ile sonuçlanırsa, embriyonun kaybedilmemesi için uterus mukozasında menstruasyon siklusu görülmez. Kandaki progesteron seviyesinin azalmasını önlemek amacıyla uterusu tutunan embriyonun trofoblast hücreleri etki ettiği yer ve işleviyle LH ile aynı özelliğe sahip, insan koryonik gonadotropin (HCG) denilen glikoprotein yapıdaki hormonu oluşturur. HCG; uterus mukozasının bozulmasını engellemek amacıyla progesteron salınımını uyarır, korpus luteinin aktif kalmasında ve büyümesinde etkilidir. Hamilelik durumunda korpus luteumun gelişmesiyle gebelik korpus luteumu meydana gelir. Hamilelikte korpus luteum oldukça büyür. HCG ile 4-5 ay plasentanın uterus mukozasının bozulmasını engellemek için gerekli miktarda progesteron ve östrojen üretimi sağlanıncaya kadar gebelik korpus luteumunda büyüme gözlenir. Sonrasında gerilemeye başlar ve doğumun ardından bozulur. Ardından meydana gelen korpus albicans, menstruasyon korpus luteumu tarafından gelişene göre daha büyüktür (Eşrefoğlu 2004; Solakoğlu ve ark. 2015).

2.3.7. Atrezi

Ovaryumda doğuştan bulunan oositlerin çoğunluğu, olgunlaşma sürecine girerek ovulasyona kadar gelemmez. Ovaryum foliküllerinin çoğu, foliküler hücrelerle oositin canlılığını kaybettiği ve fagositoz yapan hücrelerce yok edildiği adına atrezi denilen dejeneratif aşamaya uğrarlar (Solakoğlu ve ark. 2015; Tanyolaç 1993).

Gelişme evrelerinde farklı büyüklüğe sahip foliküllerde, yenidoğan sürecinde primordial foliküller sayıca yaklaşık 400,000 kadar olup olgunlaşmadan doğumdan sonraki aşamada ve ergenliğin ardından atrezi gerçekleşir. Primordial foliküllerin atrezi olmasıyla yerine stromal bağ dokusu yerleşir. Folikülün atreziye uğraması ilk olarak oositlerin ve ardından foliküler hücrelerin dejenerasyonu ile olur. Zona pellusida şişkin net bir hal aldığından bu dejenerasyondan sonra bile net bir şekilde görülebilir. Makrofajlar foliküllere giderek yoğunlaşır ve dejenere olan granuloza hücrelerini çevreler. Teka internayla folliküler hücrelerin arasında bulunan bazal membran genişleyerek bant şeklinde kalın hiyalinize bir hal alır. Atrezinin son aşamalarında teka hücrelerinin dejenerasyonu gerçekleşir ve bu kısma bağ dokusu yerleşir. Atrezi sonrası ovaryumda korpus albikansa benzemesine rağmen daha küçük yapıda olan nedbe dokusu oluşur ve buna artık folikül denilir. Folikül gerileme aşamasına başladığında yerine oluşan skar dokusunun büyüklüğünde foliküldeki gelişmişliğin artmasıyla farklılık olduğu görülür ve follikül gelişmişliği artmasıyla skar dokusu da daha irileşir. Doğum öncesinden menapozun ardından birkaç yıl daha devam eden folliküller atrezi doğum sonrası, ergenlik ve hamilelik dönemlerinde çok fazladır. Doğumun ardından yeni yumurta hücreleri oluşmaz ve foliküller sayıca azdır. İleri yaşlarda kortekste yalnız birkaç tane primer follikül görülür (Solakoğlu ve ark. 2015; Tanyolaç 1993; Eşrefoğlu 2004).

2.4. Hücre Hattı

İnsana ait tümörden oluşturulan hücre hatları, kişinin antikanser ajanlarını değerlendirme açısından önemli bir modeldir. Kültürü yapılan kanser hücreleriyle doğal yolla gelişen hücrelerin karşılaştırılması sonucunda farklı özellikler bulundurabilmelerine rağmen genomik teknoloji sayesinde bu hücre hatlarının analiz edilmesini sağlayan son teknolojiler kullanılarak, kanser ilaçlarının klinik kullanımının değerlendirilmesi ve biyolojik yönden belirtilerinin keşfedilmesi amacıyla hücre hatlarının kullanımı yeniden artmıştır. (Sharma ve ark. 2010).

Ovaryum kanserinde erken teşhisin zorluğu ve ilaca karşı direnç oluşturup tekrar etmesi, onu jinekolojik olarak kadınlarda dünya çapında en ölümcül olan kötü huylu kanserlerden biri yapmaktadır. Ovaryum kanserinde başlangıç tedaviye hastaların %80 duyarlı olmasına rağmen, optimal sitoredütf cerrahi ve ardından görülen platin bazlı kemoterapiye rağmen hastalığın kendini tekrar göstermesi ve

ilaca karşı direnç oluşturmaları sebebiyle hastaların %70'inde ölümcül şekilde olduğu gözlemleniyor (Choi 2017; Zhao 2017).

İnsana ait ovaryum kanserlerinden oluşturulan hücre hatları ve onların ölümsüzleştirdiği kötü huylu olmayan eşdeğerleri tümörlerin oluşumuna sebep olan olguların moleküler açıdan araştırılıp analizinin yapılması için çok önemlidir ve hastalığa etkili olan yeni ilaçların geliştirilmesinde etkin kolaylık sağlar (Korch 2012).

2.5. Paklitaksel

En önemli kanser kemotöteropötiklerinden olan takson sınıfı bileşiklerden, doğal ve etkili antitümör ajanı olan Taxol (paklitaksel); ABD'de 1971 senesinde Wall, Wani ve arkadaşları tarafından, kuzeybatı pasifiğinin içeri bölümünde bulunan dağlar ve kıyılarınca yetişen Pasifik Porsuğu olarak da adlandırılan *Taxus brevifolia* Nutt.'nın kabuğundan az miktarda izolasyonu sağlanmıştır (Croteau ve ark. 2006; Şener 1999, 2000; Wall ve Wani 1995).

Taksol; birçok asimetrik merkezi olan ve eşsiz yapısal özelliklere sahip diterpen esteridir. Bu eşsiz mekanizması ile tübüline sıkıca bağlanır. Paklitaksel hücre içerisinde bulunan mikrotübül toplanımını çoğaltıp depolimerizasyonunu engelleyerek, mikrotübüllerin stabil halde kalmasını sağlayan antitümör görevi görür (Şener 2000; Wall ve Wani 1995).

Paklitaksel ovaryum kanseri, küçük hücreye sahip olmayan akciğer kanseri ve meme kanserinde kullanılmaktadır. Boyun, baş, mesane ve özofagus kanserleri gibi kanserlerin ileri aşamalarında etkilerini azaltmakta ve ilk terapi, yeni terapide çok büyük etki göstermesi muhtemel görünmektedir (Rowinsky 1997; Şener 1999).

2.6. Mirtazapin

Mirtazapin ilk noradrenerjik ve spesifik serotonerjik antidepresandır. Oral olarak tekli ve çoklu uygulama sonrasında hızlı ve iyi bir şekilde emilimi sağlanır. 2 saat içerisinde tepe plazma konsantrasyonuna ulaşır (Burrows ve Kremer 1997; Timmer ve ark. 2000).

Presinaptik alfa 2-adrenerjik otoresptörlerin antogonisti ve hem norepinefrin hem de serotonin (5-HT) presinaptik aksonlar üzerindeki iletimi güçlendirir. 5-TH2 ve 5-TH3 reseptörlerinin çalışmasını durdurarak sinirsel iletimde görevli nörotransmitterlerin iletiminin daha fazla olmasını sağlar. 5-TH1 A reseptörünün etkisini artırır (Ağargün ve Ebrinç 1998; Stimmel ve ark. 1997).

Eşsiz farmakolojik profili sayesinde, antikolinerjik, adrenolitik ve serotonin ile alakalı meydana gelen yan etkilerinden neredeyse yoksundur (Burrows ve Kremer 1997).

2.7. Akridin Oranj/Etidyum Bromid (AO/EB)

Akridin oranj hem canlı hem de ölü hücreleri boyar. Etidyum bromid, sadece plazma membran bütünlüğü bozulmuş hücreleri boyar. Floresan mikroskobu ile gözlemlenen ikili akridin oranj/etidyum bromid (AO/EB) floresan boyama apoptoz sürecinde hücre zarının apoptozise bağlı değişikliklerini tanımlamak amacıyla kullanılır (Liu ve Wu 2015).

EB'e karşı geçirgenlik göstermeyen canlı hücreler AO'a karşı geçirgenlik gösterir ve AO, asidik özellikteki yapıların kırmızıya boyanmasını sağlar. Ölü olan hücrelerin AO ve EB her ikisine de karşı geçirgen olduğu bilinmektedir. EB, DNA'nın kırmızıya boyanmasını sağlar.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. A2780 İnsan Ovaryum Kanseri Hücre Hattı

A2780 insan ovaryum hücre hattı kullanıldı. Bu hücre hatları -78.5°C olan kuru buz ile muhafaza edilmiş şekilde geldi. -196°C olan sıvı nitrojen (sıvı Azot) tankı içerisinde işleme başlayıncaya kadar bekletildi.

3.2. Hücre Hattı Grupları

A2780 hücre hattına ilaçların uygulanmasıyla 4 ayrı grup oluşturuldu. Bunlar; 1. grup; kontrol, 2. grup; paklitaksel (Taksen, Koçak Farma) ilaç verilmesiyle, 3. grup; mirtazapin (Remeron, MSD) ilaç verilmesiyle, 4. grup; paklitaksel ve mirtazapinin birlikte verilmesiyle oluşturuldu.

Kontrol Grubu; 24 saatlik çalışma için; 1 gün, 48 saatlik çalışma için; 2 gün 96 kuyucuklu plakalara ekilmiş A2780'lere yalnızca DMEM (Dulbesco's Modification of Eagles Medium) eklendi.

200 μl DMEM

Paklitaksel Grubu; 24 saatlik çalışma için; 1 gün, 48 saatlik çalışma için; 2 gün, günde 1 kez olarak 96 kuyucuklu plakalara ekilmiş A2780'lere DMEM ve Paklitaksel farklı dozlarda eklendi.

PAKLİTAKSEL

100 μl çekip 10 ml besiyerine eklendi ve 100 μM 'lık stok olarak kabul edildi.

100 μM paklitaksel	200 μl stok	
75 μM paklitaksel	150 μl stok	50 μl DMEM
50 μM paklitaksel	100 μl stok	100 μl DMEM
25 μM paklitaksel	50 μl stok	150 μl DMEM
10 μM paklitaksel	20 μl stok	180 μl DMEM
7.5 μM paklitaksel	15 μl stok	185 μl DMEM
5 μM paklitaksel	10 μl stok	190 μl DMEM
2.5 μM paklitaksel	5 μl stok	195 μl DMEM

1 µM paklitaksel	1 µl stok	199 µl DMEM
0.1 µM paklitaksel	0.5 µl stok	199.5 µl DMEM

Mirtazapin grubu; 24 saatlik çalışma için; 1 gün, 48 saatlik çalışma için; 2 gün, günde 1 kez olarak 96 kuyucuklu plakalara ekilmiş A2780'lere DMEM ve Mirtazapin farklı dozlarda eklendi.

MİRTAZAPİN 1

10 ml distile suda 5 tablet çözdürüldü ve 50 µM stok çözelti olarak kabul edildi.

50 µM mirtazapin	200 µl stok	
40 µM mirtazapin	160 µl stok	40µl DMEM
30 µM mirtazapin	120 µl stok	80 µl DMEM
20 µM mirtazapin	80 µl stok	120 µl DMEM
10 µM mirtazapin	40 µl stok	160 µl DMEM
7.5 µM mirtazapin	30 µl stok	170 µl DMEM
5 µM mirtazapin	20 µl stok	180 µl DMEM
2.5 µM mirtazapin	10 µl stok	190 µl DMEM
1 µM mirtazapin	4 µl stok	196 µl DMEM
0.5 µM mirtazapin	2 µl stok	198 µl DMEM

MİRTAZAPİN 2

10 ml distile suda 5 tablet çözdürüldü ve 50 µM stok çözelti olarak kabul edildi.

0.5 µM mirtazapin	2 µl stok	198 µl DMEM
0.6 µM mirtazapin	2.4 µl stok	197.6 µl DMEM
0.7 µM mirtazapin	2.8 µl stok	197.2 µl DMEM
0.8 µM mirtazapin	3.2 µl stok	196.8 µl DMEM
0.9 µM mirtazapin	3.6 µl stok	196.4 µl DMEM
1 µM mirtazapin	4 µl stok	196 µl DMEM

Paklitaksel + mirtazapin grubu; 24 saatlik çalışma için; 1 gün, 48 saatlik çalışma için; 2 gün günde 1 kez olarak 96 kuyucuklu plakalara ekilmiş A2780'lere DMEM ve her iki ilaç farklı dozlarda eklendi.

MİX 1

0.5 µM mirtazapin + 0.5 µM paklitaksel	2.5 µl stok	197.5 µl DMEM
0.5 µM mirtazapin + 1 µM paklitaksel	3 µl stok	197 µl DMEM
0.5 µM mirtazapin + 2.5 µM paklitaksel	7 µl stok	193 µl DMEM
0.5 µM mirtazapin + 5 µM paklitaksel	12 µl stok	188 µl DMEM
0.5 µM mirtazapin + 7.5 µM paklitaksel	17 µl stok	183 µl DMEM
0.5 µM mirtazapin + 10 µM paklitaksel	22 µl stok	178 µl DMEM

MİX 2

1 µM mirtazapin + 0.5 µM paklitaksel	4.5 µl stok	195.5 µl DMEM
1 µM mirtazapin + 1 µM paklitaksel	5 µl stok	195 µl DMEM
1 µM mirtazapin + 2.5 µM paklitaksel	9 µl stok	191 µl DMEM
1 µM mirtazapin + 5 µM paklitaksel	14 µl stok	186 µl DMEM
1 µM mirtazapin + 7.5 µM paklitaksel	19 µl stok	181 µl DMEM
1 µM mirtazapin + 10 µM paklitaksel	24 µl stok	176 µl DMEM

MİX 3

2.5 µM mirtazapin + 0.5 µM paklitaksel	10.5 µl stok	189.5 µl DMEM
2.5 µM mirtazapin + 1 µM paklitaksel	11 µl stok	189 µl DMEM
2.5 µM mirtazapin + 2.5 µM paklitaksel	15 µl stok	185 µl DMEM
2.5 µM mirtazapin + 5 µM paklitaksel	20 µl stok	180 µl DMEM
2.5 µM mirtazapin + 7.5 µM paklitaksel	25 µl stok	175 µl DMEM
2.5 µM mirtazapin + 10 µM paklitaksel	30 µl stok	170 µl DMEM

3.3. DMEM Besiyerinin Hazırlanması

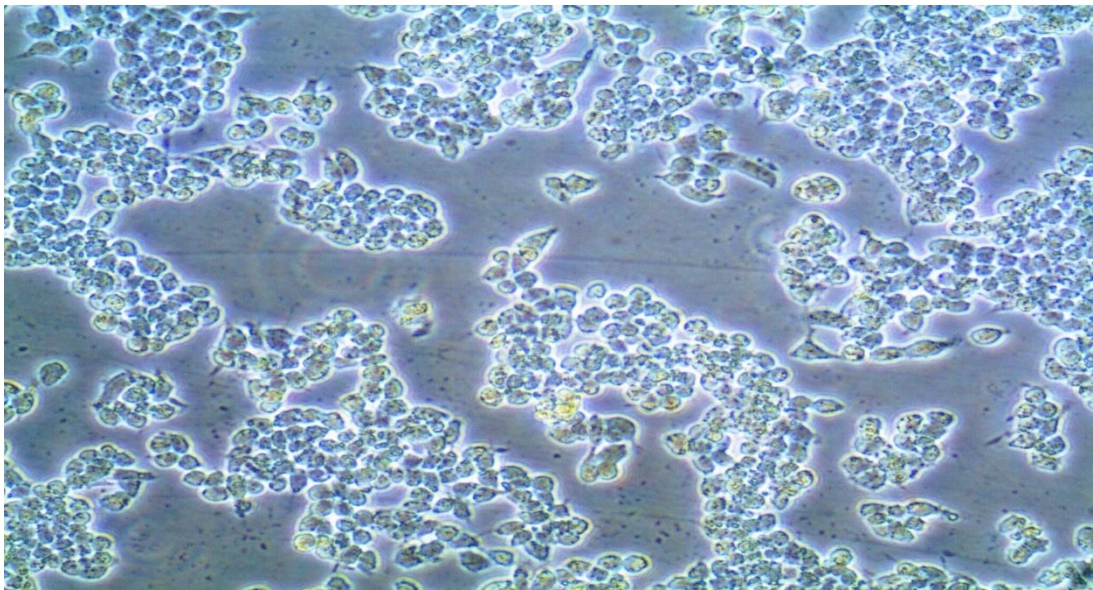
555 ml besiyerinin hazırlanması için; 500 ml DMEM, 50 ml FBS ve 5 ml penicillin-streptomycin karıştırıldı. +4°C’de muhafaza edildi.

3.4. MTT Testi

5mg/ml MTT (3-(4,5-Dimetilthiazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolyum bromide), PBS içerisinde çözündürüldü. Plaklar içerisindeki ilaç uygulanmış hücrelerin besiyerlerinin üzerine 20 µl eklendi. CO₂ inkübatör içerisinde 4 saat bekletildi. Daha sonra MTT atılıp, hücrelerin üzerine 100µl DMSO eklendi. Oda sıcaklığında 30 dakika bekletildi. Bu sürenin ardından plaklar elisa reader (Biotek, epoch) ile okutuldu.

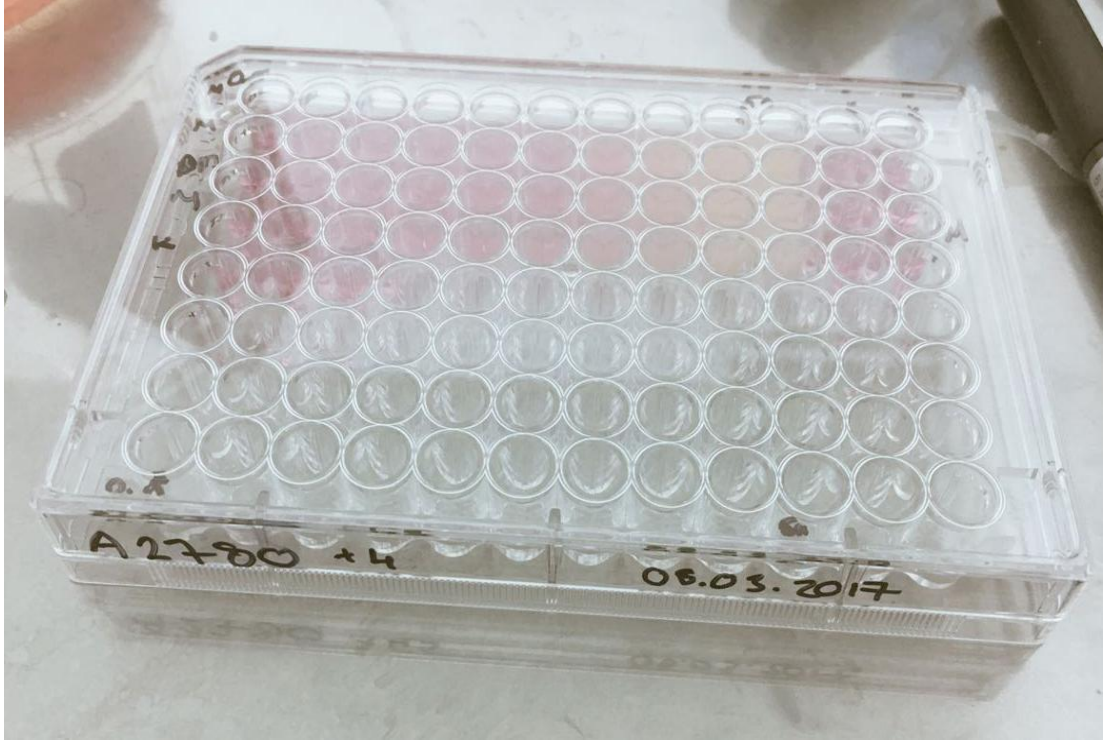
3.5. Hücre Hattıyla Hücre Kültürünün Yapılması

A2780 hücre hattı öncelikle sıvı azot tankından çıkarılıp 37°C’de çözündürüldü. Çözündürülen A2780’ler, hücre flaskları içerisine koyulan 37°C’de benmaride ısıtılmış medyum içerisinde pipetaj yaparak ekildi. Yapılan bu işlemler steril ortam olan laminar flow kabin içerisinde gerçekleştirildi. Daha sonra A2780’lerin ekili olduğu bu flasklar 37°C’de ayarlı CO₂ inkübatör içerisine koyularak hücrelerin flaskta tutunup çoğalmaları beklenildi. Çoğalma aşamasında hücrelerin beslenmesi amacıyla medyumunu değiştirildi. Flask içerisindeki hücrelerin flaskta tutunup çoğalması faz kontrast mikroskobu ile gözlemlendi (Resim 1).



Resim 1: Flask içerisindeki A2780’lerin faz kontrast mikroskobunda görünümü.

Hücrelerin flaskın zeminini kaplaması yani konfluensin %80 civarına ulaşmasının ardından flaskın içerisindeki medyum atıldı. Daha sonra flaskın içerisine PBS (Phosphate Buffered Saline) ekleyerek 1 dakika bekletildi. Ardından PBS atıldı ve içerisine Tripsin-EDTA (Etilendimetil tetraasetik asit) ekleyerek 4 dakika CO₂ inkübatörünün içerisinde bekletildi. Faz kontrast mikroskopunda kontrol edilerek hücreler ayrışmaya kadar tripsinizasyona devam edildi. Böylelikle flaskta tutunmuş olan hücrelerin ayrışmasıyla pipetaj yapılarak 15 ml'lik falkon tüpü içerisine koyulup üzerine de medyum eklenerek 3000 rpm'de 3 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası oluşan pellet kısmında hücreler bulunuyor ve süpernatant kısmı atılarak pellet kısmına medyum eklenerek dilue edildi. İçinden 5µl çekilerek alındı ve tripan blue ile boyanarak hücrelerin canlılık analizi yapıldı. Thoma lamına damlatılıp ışık mikroskopunda bakılarak canlı hücreler hücre zarından boya geçirmediğinden parlak bir görünümde, ölü hücreler ise hücre zarından boyayı geçirmesiyle mavi-mor renk boyanmış görünüm elde edildi. Canlı hücrelerin sayısına oranla 96 kuyucuklu plaklara her kuyucuğa 5×10^3 hücre olacak şekilde ekilerek medyum eklendi ve CO₂ inkübatör içerisinde koyuldu. Ertesi gün plaklara tutunan hücrelere kontrol grupları hariç, bir gruba kemoterapötik olarak paklitaksel, diğer gruba antidepresan olarak mirtazapin ve mix şeklinde farklı dozlarda verildi (Resim 2). 24 saatlik çalışma için ertesi gün üzerine MTT ekleyip 4 saat CO₂ inkübatörde bekletildi (Resim 3). Daha sonra MTT atılarak DMSO (Dimethyl Sulfoxide) eklendi ve oda sıcaklığında 30 dakika bekletildi. Bu işlemin ardından hücre canlılığının analizi için plaklar elisa reader ile okutuldu. 48 saatlik çalışma için ise 24 saatin ardından aynı saatte ilaçlar tekrar verildi ve 48 saatin ardından aynı işlem gerçekleştirilerek hücre canlılığı analiz edildi.

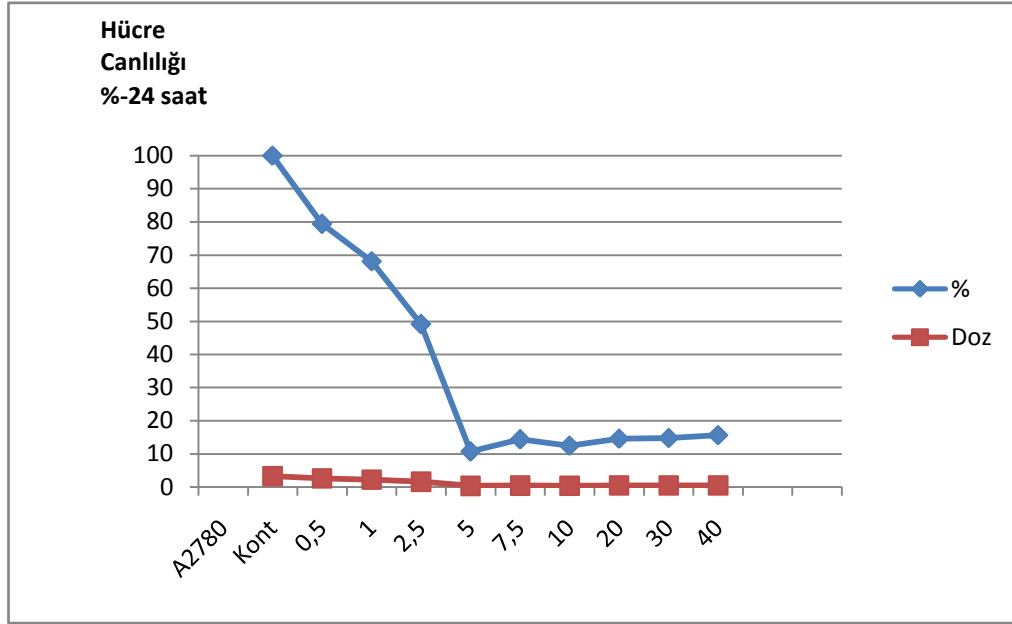


Resim 2: Mirtazapin ve paklitaksel verilen 96 kuyucuklu plaklara ekilmiş olan A2780'lerin plakta görünümü.



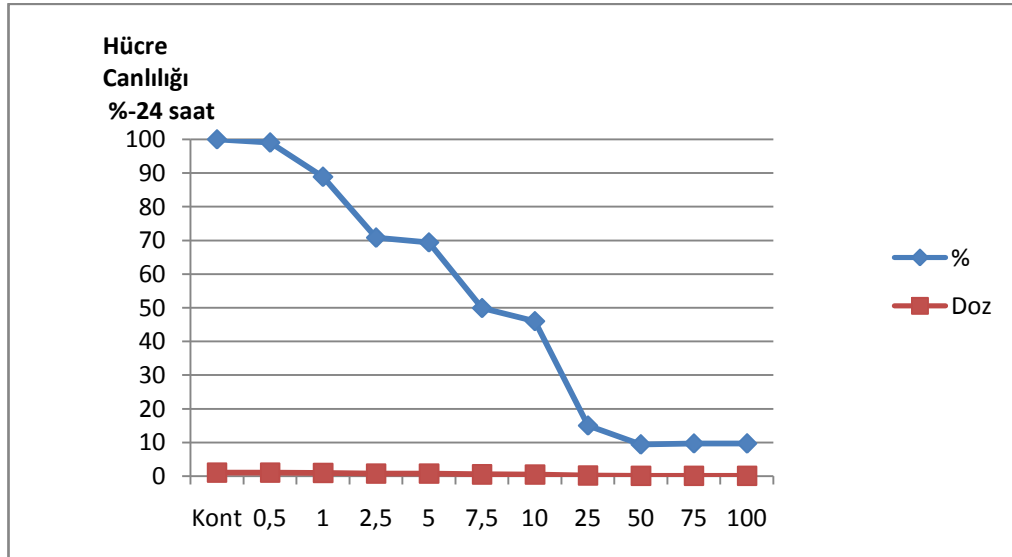
Resim 3: Mirtazapin ve paklitaksel verilen 96 kuyucuklu plaklara ekilmiş olan A2780'lere MTT eklenmiş olarak plakta görünümü.

4.BULGULAR



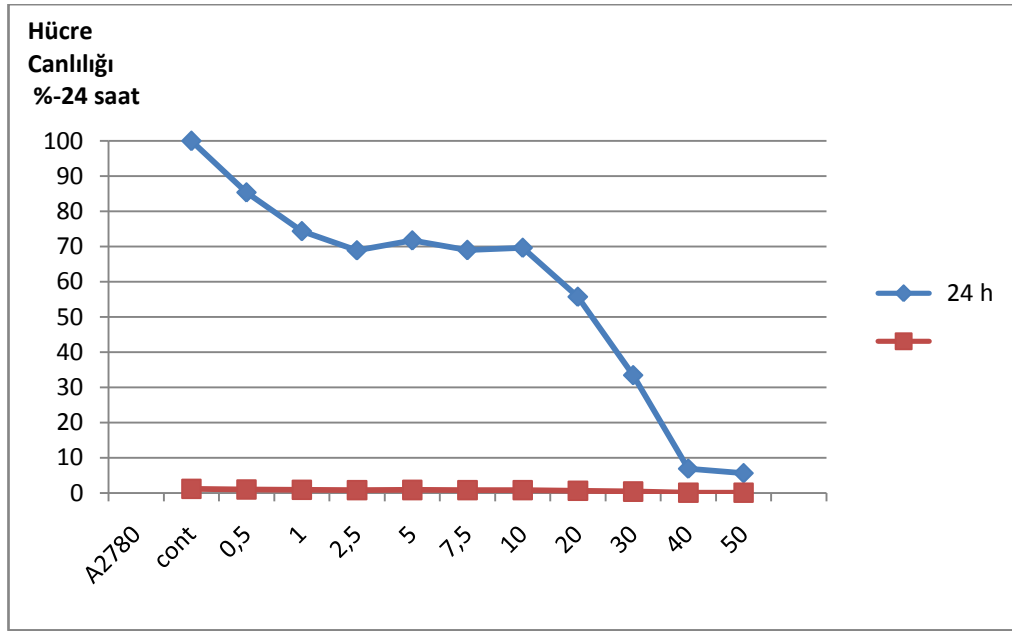
Grafik 1: Mirtazapin dozlarının A2780 hücre hattı canlılığına etkisi, MTT sonuçlarının yüzde olarak değerlendirilmesi.

A2780 hücre hattında mirtazapinin 2,5 mikromolar konsantrasyonu toksik doz olarak kabul edildi (Grafik 1).



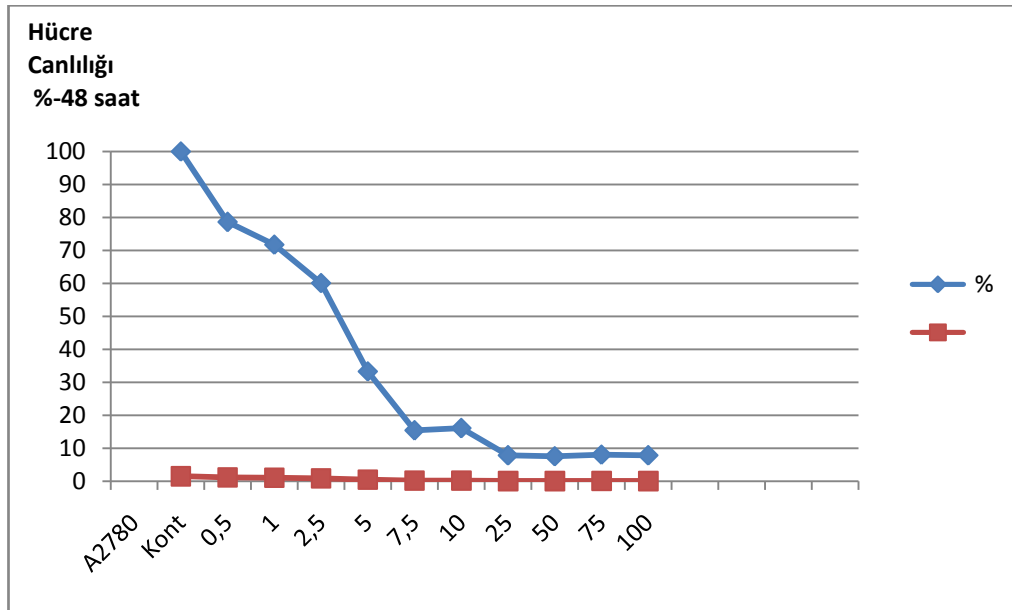
Grafik 2: Paklitaksel dozlarının A2780 hücre hattı canlılığına etkisi, MTT test sonuçlarının yüzde olarak değerlendirilmesi.

A2780 hücre hattında paklitakselin 7,5 mikromolar konsantrasyonu toksik doz olarak kabul edildi (Grafik 2).



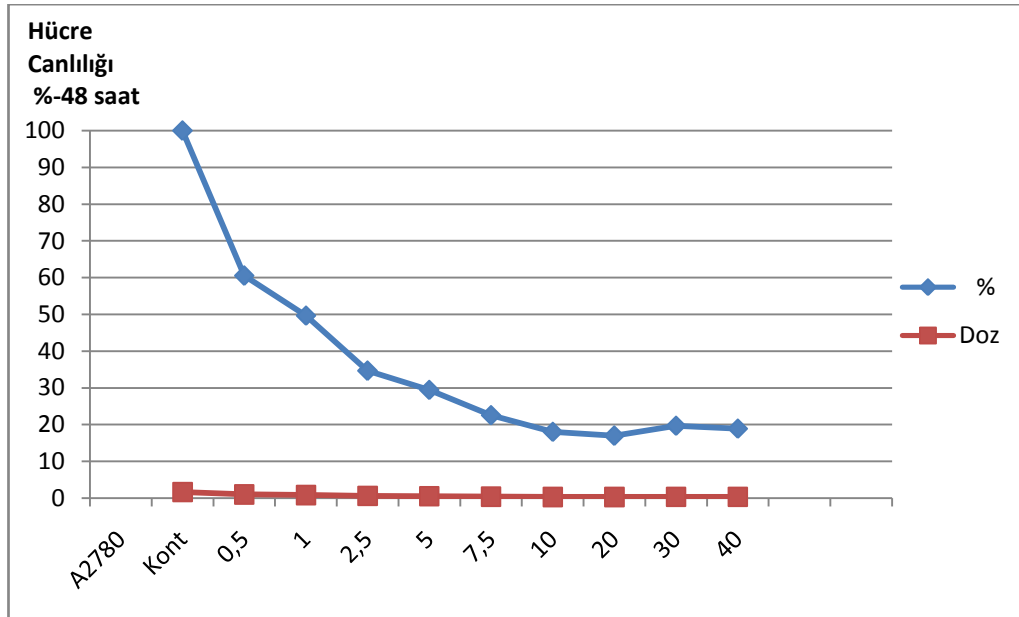
Grafik 3: Mirtazapini çözdürmede kullanılan distile su dozlarının A2780 hücre hattı canlılığına etkisi, MTT test sonuçlarının yüzde olarak değerlendirilmesi.

A2780 hücre hattında distile suyun 20 ve 30 mikromolar konsantrasyon aralığı toksik doz olarak kabul edildi (Grafik 3).



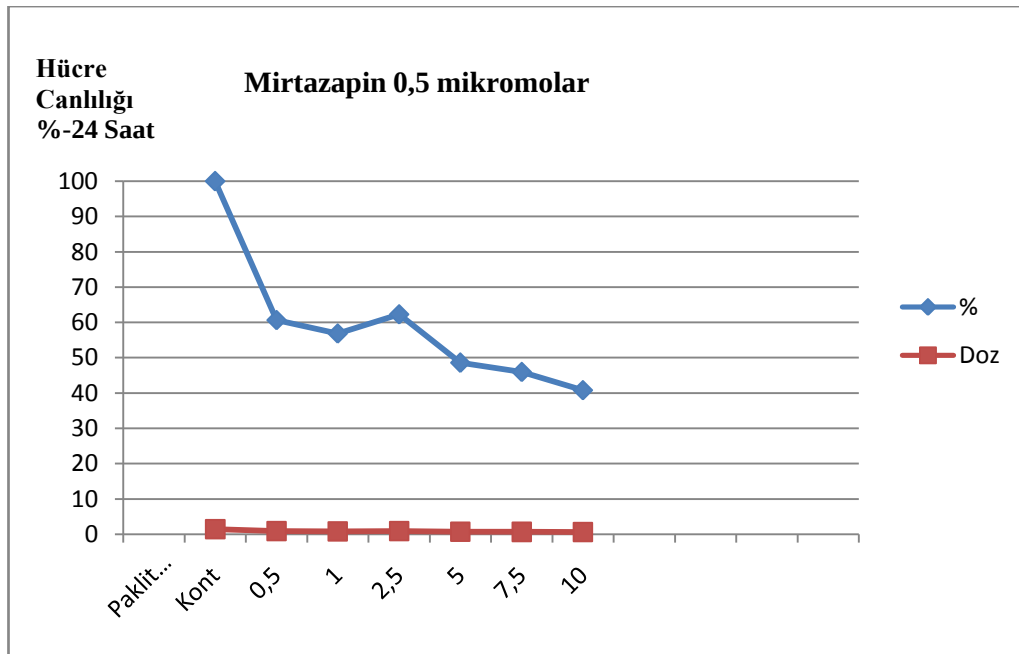
Grafik 4 : 48 saat sonunda paklitaksel dozlarının A2780 hücre hattı canlılığına etkisi, MTT test sonuçlarının yüzde olarak değerlendirilmesi.

A2780 hücre hattında paklitakselin 2,5 mikromolar konsantrasyonu toksik doz olarak kabul edildi (Grafik 4).



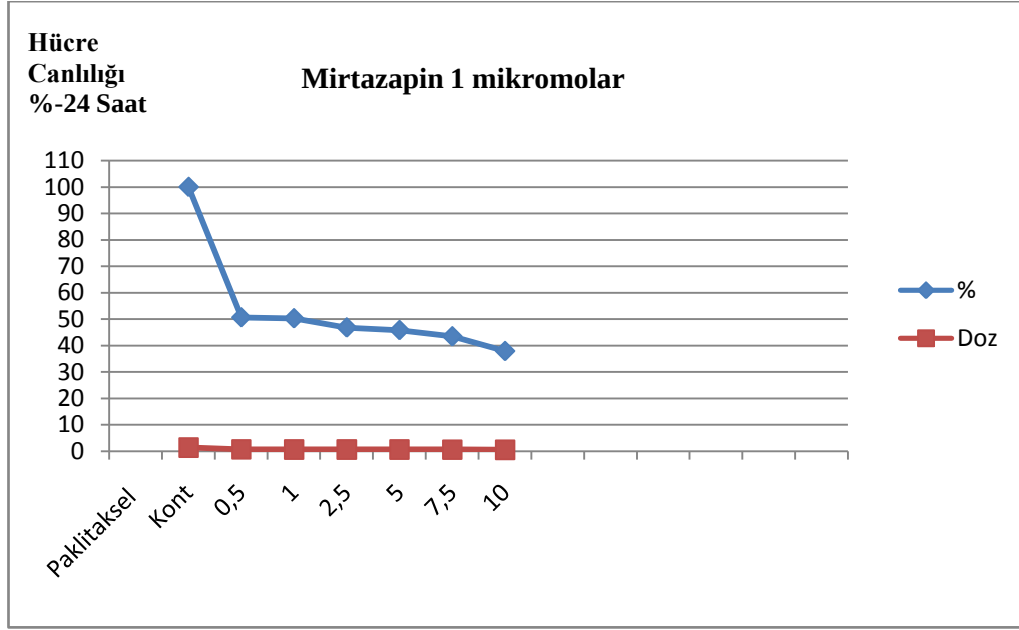
Grafik 5: 48 saat sonunda mirtazapin dozlarının A2780 hücre hattı canlılığına etkisi, MTT sonuçlarının yüzde olarak değerlendirilmesi.

A2780 hücre hattında 1 mikromolar konsantrasyonu toksik doz olarak kabul edildi (Grafik 5).



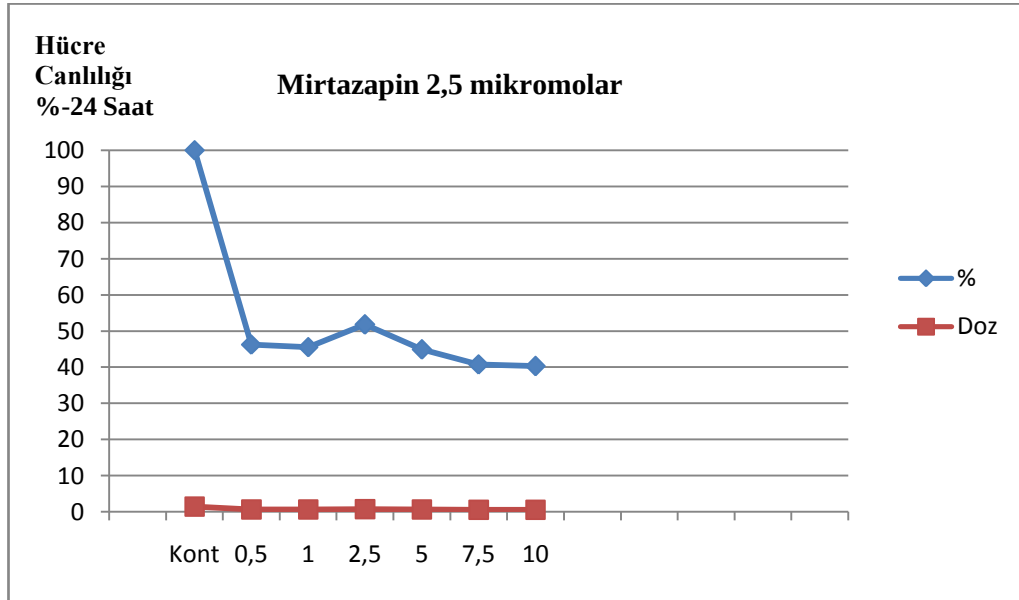
Grafik 6: Mirtazapin 0,5 mikromolar dozu + tüm paklitaksel dozları.

Mirtazapin 0,5 mikromolar dozunda; paklitakselin 5 mikromolar dozu IC dozu olarak kabul edildi (Grafik 6).



Grafik 7: Mirtazapin 1 mikromolar dozu + tüm paklitaksel dozları.

Mirtazapin 1 mikromolar dozunda; paklitakselin 0,5 dozu IC dozu olarak kabul edildi (Grafik 7).



Grafik 8: Mirtazapin 2,5 mikromolar dozu + tüm paklitaksel dozları.

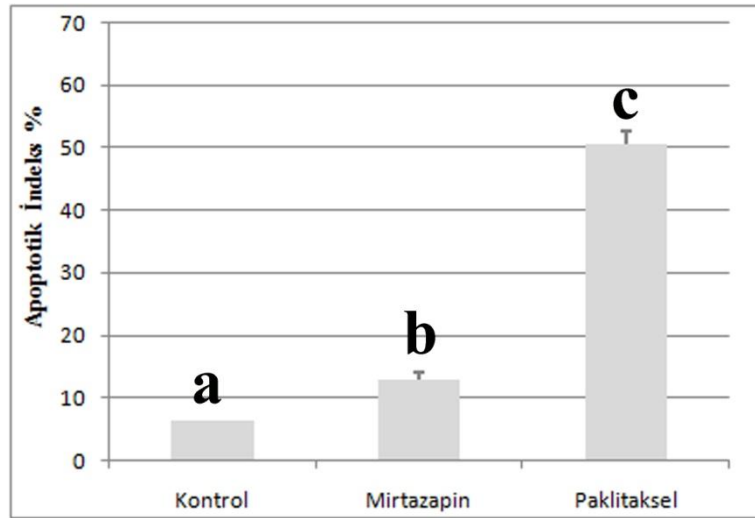
Mirtazapin 2,5 mikromolar dozunda paklitakselin 0,5 mikromolar dozu IC dozu olarak kabul edildi (Grafik 8).

4.1. Apoptotik ve Nekrotik İndeks

Hücreler, 200 büyütme ile bir floresans mikroskopu (Olympus BH-20, Almanya) altında analiz edildi. Apoptotik ve nekrotik hücrelerin sayısı, toplam hücre sayısı üzerinden hesaplandı ve yüzde olarak çevrildi. Hücreler beş rastgele alanda floresan mikroskopu altında sayıldı (Ganji-Harsini ve ark. 2016).

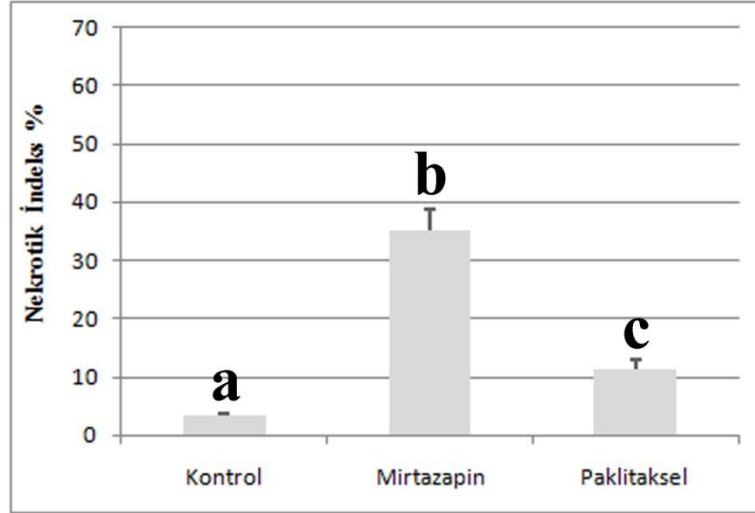
4.2. Hücre Ölümünün Floresan Mikroskopik Analizi

1. Normal hücreler; organize yapıya sahip parlak yeşil kromatin,
2. Erken apoptotik hücreler; yüksek derecede kondanse veya parçalanmış parlak yeşil kromatin,
3. Geç apoptotik hücreler; yüksek derecede kondanse veya parçalanmış parlak turuncu kromatin,
4. Nekrotik hücreler; derin doymuş kırmızı hücreler olarak kabul edildi (Ebrahim ve ark. 2014).



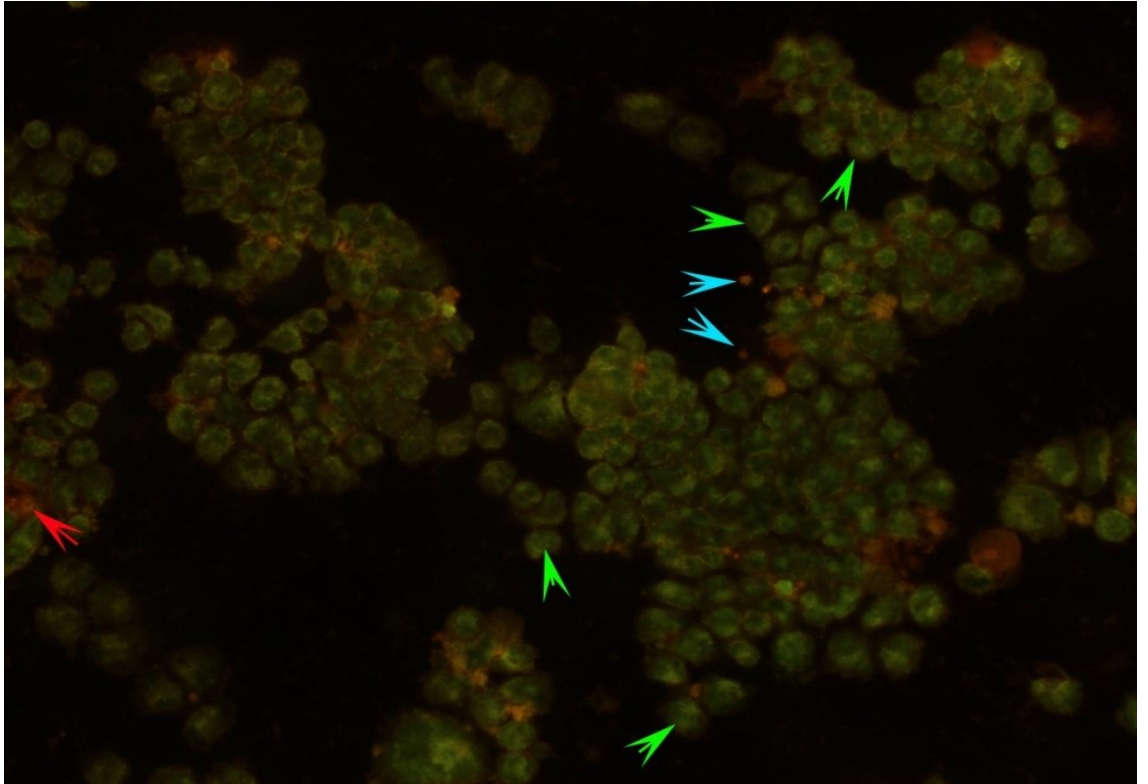
Grafik 9: AO/EB ile boyanmış hücrelerde apoptotik indeks. Sütunlardaki farklı harfler gruplar arasında istatistiksel olarak, anlamlı farklılığı ifade etmektedir ($p < 0.05$).

AO/EB ile boyanmış apoptotik hücreler sayıldığında tüm gruplar arasında apoptotik indeks bakımından anlamlı farklılık tespit edildi. Paklitaksel grubunda apoptotik indeks, mirtazapin grubuna göre daha yüksek bulundu (Grafik 9).

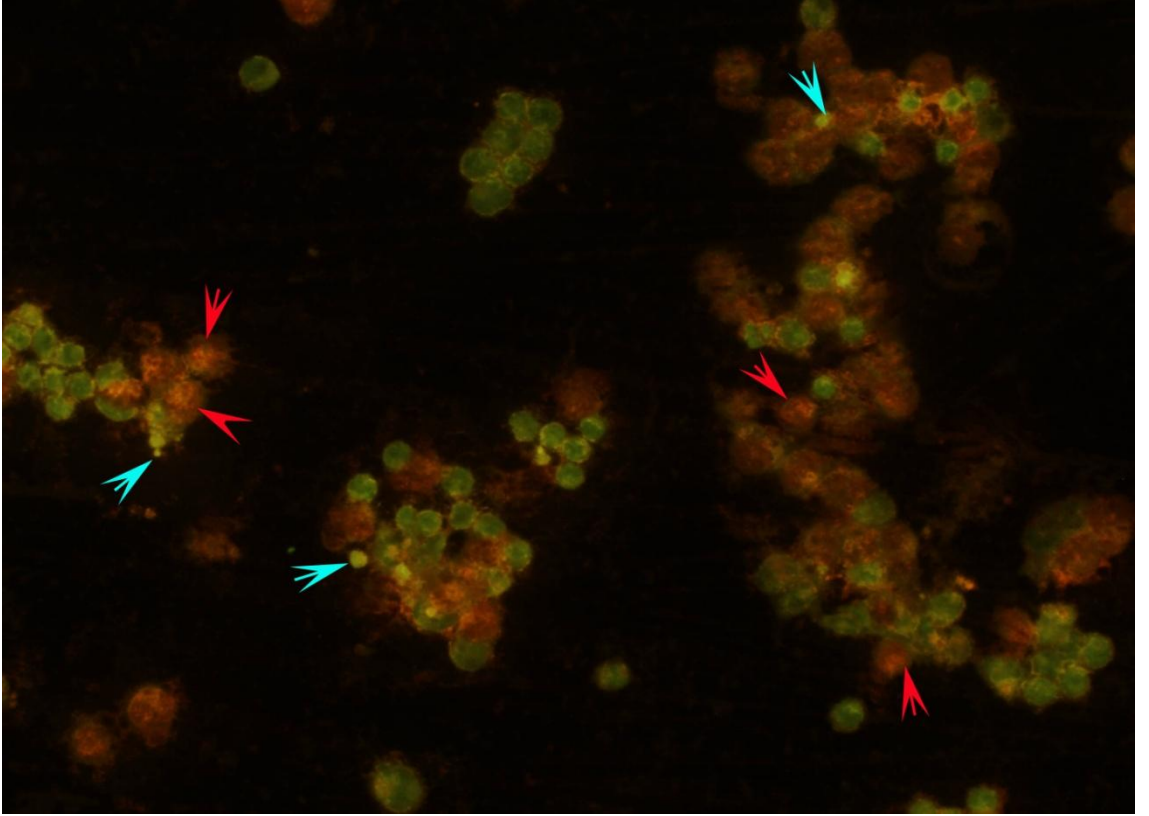


Grafik 10: AO/EB ile boyanmış hücrelerde Nekrotik indeks. Sütunlardaki farklı harfler gruplar arasında istatistiksel olarak, anlamlı farklılığı ifade etmektedir ($p < 0.05$).

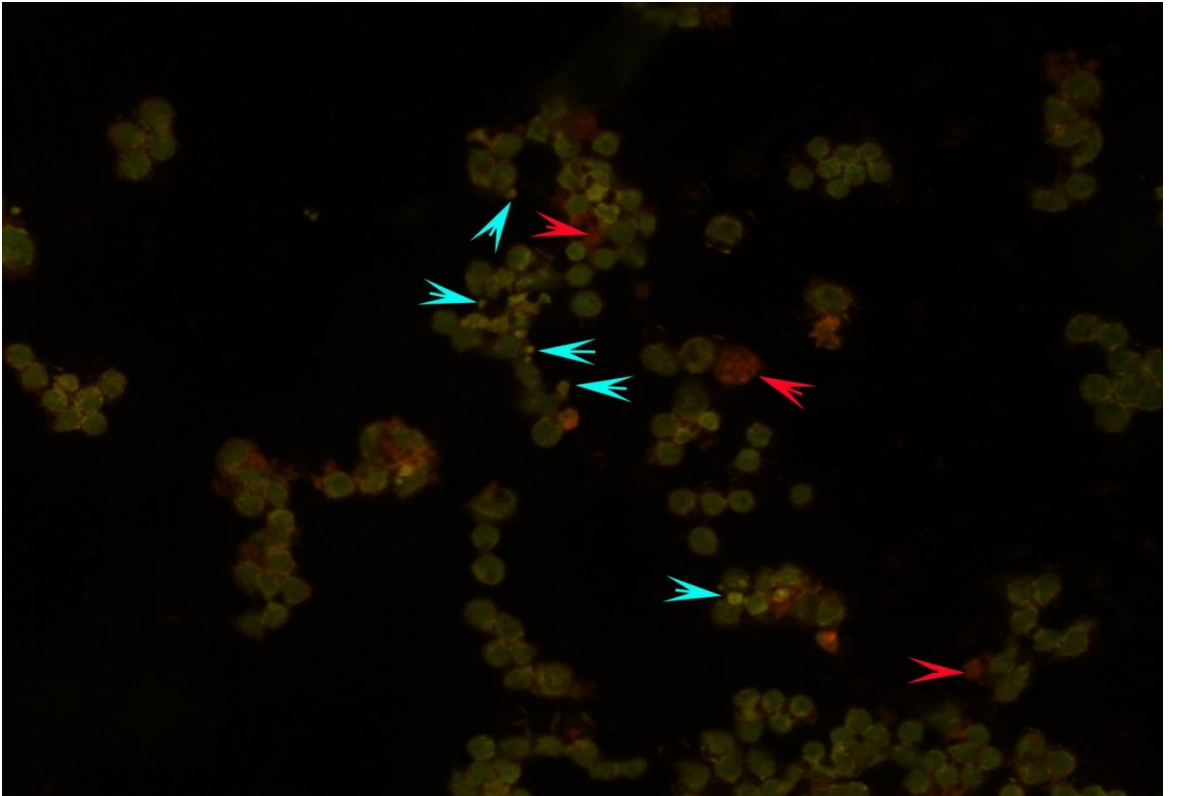
AO/EB ile boyanmış nekroza giren hücreler sayıldığında tüm gruplar arasında nekrotik indeks bakımından anlamlı farklılık tespit edildi. Mirtazapin grubunda nekrotik indeks, paklitaksel grubuna göre daha yüksek bulundu (Grafik 10).



Resim 4: Kontrol grubu, AO/EB ile boyanmış hücreler. Yeşil ok: normal hücreler, kırmızı ok: Nekrotik hücreler, mavi ok: geç apoptotik hücreler.



Resim 5: Mirtazapin grubu, AO/EB ile boyanmış hücreler. Kırmızı ok: Nekrotik hücreler, mavi ok: erken apoptotik hücreler.



Resim 6: Paklitaksel grubu, AO/EB ile boyanmış hücreler. Kırmızı ok: Nekrotik hücreler. Mavi ok: Geç apoptotik hücreler.

Kontrol hücrelerinin çoğunluğunun yuvarlak ve yeşil floresan renk verdiği gözlemlendi (Resim 4). Mirtazapin grubunun hücrelerinde; hücre zar bütünlüğünün kaybolduğu gözlemlendi. Kırmızı floresan renk veren ölü hücreler (nekrotik) çoğunlukta idi. Nükleer yoğunlaşma ve apoptotik bulgular daha az gözlemlendi (Resim 5).

Paklitaksel grubunda apoptotik bulgular daha sık gözlemlendi. Turuncu floresan ve kırmızı renk veren apoptotik cisimler ve nükleer yoğunlaşma bulguları gözlemlendi (Resim 6).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Çalışmamızda 24 saat süreyle uygulanan mirtazapin IC₅₀ dozunda, AO/EB ile boyanan hücrelerde apoptozis ve nekrozisin kontrol grubuna göre anlamlı derecede arttığı ve mirtazapinin tek başına A2780 hücrelerinde apoptozise göre hücrelerde nekrozisi arttırdığı belirlendi.

24 saat süreyle uygulanan paklitaksel IC₅₀ dozunda , AO/EB ile boyanan hücrede apoptozis ve nekrozisin kontrol grubuna göre anlamlı derecede arttığı ve paklitakselin tek başına A2780 hücrelerinde nekroze oranla hücrelerde apoptozisi arttırdığı belirlendi.

Paklitaksel 24 saat süreli A2780 hücrelerine uygulandığında; IC₅₀ dozu 7,5 mikromolar olarak tespit edildi. 48 saat IC₅₀ dozu ise; 2,5 mikromolar olarak tespit edildi. Mirtazapin 24 saat süreli A2780 hücrelerine uygulandığında; IC₅₀ dozu 2,5 mikromolar, 48 saat süreli A2780 hücrelerine uygulandığında ise; IC₅₀ dozu 1 mikromolar olarak kabul edildi.

24 saat süreyle hücrelere, mirtazapinin toksik dozu olarak kabul edilen 0,5 mikromolar sabit tutularak, çalışmamızda kullandığımız diğer paklitaksel dozları birlikte uygulandı. Mirtazapinin 0,5 mikromolar sabit dozunda, paklitakselin IC₅₀ dozu 5 mikromolar değerine geriledi. Mirtazapinin 1 ve 2,5 mikromolar dozunda ise; paklitakselin IC₅₀ dozu 0,5 mikromolar olarak kabul edildi. Aynı sonucu verdiği için mirtazapinin sabit doz olarak kullanıldığı 1 mikromolar dozunda, paklitakselin 0,5 molar dozu IC₅₀ dozu olarak kabul edildi.

Ovaryum kanserleri jinekolojik kanserler içinde yükselen mortaliteye sebep olan önemli bir sağlık sorunudur (Vital-Reyes ve ark. 2006). Kansere bağlı ölümlerde beşinci sıradadır (Smith ve ark. 2005). Son 20 yılda erken tanı ve yeni tedavilerin gelişmesi, önemli sağ kalım oranına yol açsa bile bugüne kadar, yumurtalık kanseri kötü seyirli bir hastalık olmaya devam etmektedir (Tonini ve ark. 2004). Hastaların çoğu tümörlerinin cerrahi olarak çıkarılması sonrası ek tedavi alması gerekmektedir (Tomek ve ark. 2004).

Paklitaksel epitelyal ovaryum kanseri tedavisinde kullanılan kemoterapötik ajanlardan biridir (Munkarah ve ark. 2003).

Paklitaksel tübüline bağlanır, tübülün polimerizasyonunu artırılması ve mikrotübül ayrılmasını inhibe eder, böylece mitoz tamamlanmasını engeller ve G2-M bloğu oluşturur (Chen ve ark. 2005).

Yaygın duygusal sıkıntı, uyum bozucu baş etme yöntemleri, anksiyete ile depresyon gibi psikiyatrik bozuklukların kanser hastalarında sık görüldüğünü, bu kişilerin %25 ila %30' unda bu sıkıntıların saptanabileceği belirtilmiştir. Farklı anti depresan ilaçlar şu anda kanser hastalarında depresyon tedavisinde kullanılmaktadır. Depresyonun; kanser hastalarının sadece yaşam kalitesini düşürmekle kalmayıp, aynen kalp hastalarında olduğu gibi bu kişilerin hayatta kalma olasılığını da azaltabileceği ifade edilmiştir. Metastazlı meme kanseri hastalarında depresyon semptomlarının azalması durumunda daha uzun yaşama şansının arttığı ortaya koyulmuştur (Giese-Davis ve ark. 2011).

Mirtazapine (MTZ) antidepresan bir ilaçtır ve major depresyonun tedavisinde kullanılmaktadır. Antidepresan etkisinin yanında antioksidan etkisi de mevcuttur (Khedr ve ark. 2015). Mirtazapinin enzimatik ve non-enzimatik antioksidan mekanizmaları aktive ettiği ve bazı toksik oksidan mekanizmaları da inhibe ettiği bildirilmiştir (Bilici ve ark. 2009). Cisplatin nefrotoksisitesine karşı, mirtazapinin sıçanlarda antioksidan etkisi ile koruyucu bir özellik gösterdiği bildirilmiştir. Mirtazapin malondialdehit, kreatinin, kan üre azotu ve myeloproksidaz aktivitesini düşürmektedir. Tüm dozlarda total glutasyon seviyesini de yükseltmektedir (Sener ve ark. 2012). Aynı zamanda, sıçan ovaryumunda cisplatinin indüklediği oksidatif stresin infertiliteye sebep olduğu ve mirtazapinin bunu doza bağımlı bir şekilde tersine çevirdiği bildirilmiştir (Altuner ve ark. 2013).

24 saat süreli mirtazapinin 1 mikromolar dozu, paklitakselin IC₅₀ dozu olan 7,5 mikromolar dozu, 0,5 mikromolara düşürdü. Kemoterapinin yan etkilerini azaltabilecek ve daha güvenli bir doz aralığı sunan veriler elde edilmiş oldu. Bu veriler eşliğinde kemoterapinin yan etkilerini azaltabilecek bir tedavi yaklaşımı elde edilmiş olabilir. Bu yaklaşımı kuvvetlendirebilmek için deney hayvanları ile

deneysel çalıřmalar eşliğinde moleküler ve genetik verilerin elde edilmesi gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. Ağargün, M. Y., & Ebrinç, S. (1998). Mirtazapin: 3ir Gözden Geçirme. *Klinik Psikofarmakoloji Bulteni*, 8(2).
2. Aktümsek A, Ünsal S, Kalyoncu L, Genel Zooloji, Nobel Yayın Dağıtım, 2009.4. baskı, Ankara s:172
3. Altuner D, Gulaboglu M, Yapca OE, Cetin N. The effect of mirtazapine on cisplatin-induced oxidative damage and infertility in rat ovaries. *ScientificWorldJournal*. 2013;2013:327240.
4. Bilici M, Ozturk C, Dursun H, Albayrak F, Saglam MB, Uyanik A, et al. Protective effect of mirtazapine on indomethacin-induced ulcer in rats and its relationship with oxidant and antioxidant parameters. *Dig Dis Sci* 2009; 54(9):1868-75.
5. Burrows, G. D., & Kremer, C. M. (1997). Mirtazapine: clinical advantages in the treatment of depression. *Journal of clinical psychopharmacology*, 17(2), 34S-39S.
6. Chen T, Pengetnze Y, Taylor CC. Src inhibition enhances paclitaxel cytotoxicity in ovarian cancer cells by caspase-9-independent activation of caspase-3. *Mol Cancer Ther*. 2005;4(2):217-24.
7. Choi, B. Y., Joo, J. C., Lee, Y. K., Jang, I. S., Park, S. J., & Park, Y. J. (2017). Anti-cancer effect of *Scutellaria baicalensis* in combination with cisplatin in human ovarian cancer cell. 17(1), 277. doi: 10.1186/s12906-017-1776-2
8. Croteau, R., Ketchum, R. E., Long, R. M., Kaspera, R., & Wildung, M. R. (2006). Taxol biosynthesis and molecular genetics. *Phytochemistry Reviews*, 5(1), 75-97
9. Dudek R W, BRS: Embriyoloji Eds: İrez T, Erkan M, İstanbul Tıp Kitapevi, 2016, 6. Baskı, İstanbul s:169-171
10. Ebrahim K, Shirazi FH, Vatanpour H, Zare A, Kobarfard F, Rabiei H. Anticancer Activity of Cobra Venom Polypeptide, Cytotoxin-II, against Human Breast Adenocarcinoma Cell Line (MCF-7) via the Induction of Apoptosis. *J Breast Cancer*. 2014;17(4):314-22.
11. Eraschenko V P, diFiore's Atlas of Histology with Functional Correlations, Eds: Demir R, Palme Yayıncılık, 2013,12. Baskı, Ankara s:505-507
12. Ganji-Harsini S, Khazaei M, Rashidi Z, Ghanbari A. Thymoquinone Could Increase The Efficacy of Tamoxifen Induced Apoptosis in Human Breast Cancer Cells: An In Vitro Study. *Cell J*. 2016;18(2):245-54.
13. Giese-Davis J, Collie K, Rancourt KM, Neri E, Kraemer HC, Spiegel D. Decrease in depression symptoms is associated with longer survival in patients with metastatic breast cancer: a secondary analysis. *J Clin Oncol*. 2011;29(4):413-20.
14. Eşrefoğlu M, Genel ve Özel Histoloji, Pelikan Yayıncılık, 2004, Malatya s:283-289
15. Kayalı H, Özel Histoloji, Taş Matbaası, 1984, İstanbul s:247-250
16. Khedr NF. Protective effect of mirtazapine and hesperidin on cyclophosphamide-induced oxidative damage and infertility in rat ovaries. *Exp Biol Med (Maywood)* 2015.
17. Kierszenbaum A L, Histology and Cell Biology Eds: Demir R, Palme Yayıncılık, 2006, Ankara s:566-575
18. Korch, C., Spillman, M. A., Jackson, T. A., Jacobsen, B. M., Murphy, S. K., Lessey, B. A., Bradford, A. P. (2012). DNA profiling analysis of endometrial and ovarian cell lines reveals misidentification, redundancy and contamination. *Gynecol Oncol*, 127(1), 241-248. doi: 10.1016/j.ygyno.2012.06.017
19. Liu, K., Liu, P.-c., Liu, R., & Wu, X. (2015). Dual AO/EB staining to detect apoptosis in osteosarcoma cells compared with flow cytometry. *Medical science monitor basic research*, 21, 15.

20. McLaughlin D, Stamford J, White D, Human Physiology, Eds: Owen E, Lyons k, Aktümsek A, Nobel Yayın Dağıtım, 2010, 1. Baskı, Ankara s:382-389
21. Mescher A L, Junqueira's Basic Histology Eds: Solakoğlu S, Erdoğan A, Mutlu H S, Nobel Tıp Kitapevleri, 2015, İstanbul s:449-459
22. Moore K L, Persaud T V N, Before We Are Born Essentials of Embryology and Birth Defects, Eds: Müftüoğlu S, Kaymaz F, Atilla P, Güneş Tıp Kitapevleri, 2009, 7. Baskı, Ankara s:173-178
23. Moore K L, Persaud T V N, Clinically Oriented Ebryology Eds: Yıldırım M, Okar İ, Dalçık H, Nobel Tıp Kitapevler, 2002, İstanbul s:323-325
24. Munkarah AR, Genhai Z, Morris R, Baker VV, Deppe G, Diamond MP, Saed GM. Inhibition of paclitaxel-induced apoptosis by the specific COX-2 inhibitor, NS398, in epithelial ovarian cancer cells. *Gynecol Oncol.* 2003;88(3):429-33.
25. Rowinsky, M., Eric K. (1997). The development and clinical utility of the taxane class of antimicrotubule chemotherapy agents. *Annual review of medicine*, 48(1), 353-374.
26. Sancak B, Akşit D, Cumhur M, İlgi S, Kural E, Taner D, Başar R, Önderoğlu S, Tuncel M, Çelik H, Yener N, Durgun B, Atasever A, Sargan M F, Sürücü H S, Erbil M, Aldur M, Taşçıoğlu B, Özkul E, Fonksiyonel Anatomi, Eds: Sancak B, Cumhur M, Tuncel M, Çelik H, Sargan M F, Sürücü H S, ODTÜ Yayıncılık, 2008, 4. Basım, Ankara s:298-300
27. Sharma, S. V., Haber, D. A., & Settleman, J. (2010). Cell line-based platforms to evaluate the therapeutic efficacy of candidate anticancer agents. *Nat Rev Cancer*, 10(4), 241-253. doi: 10.1038/nrc2820
28. Smith JA, Ngo H, Martin MC, Wolf JK. An evaluation of cytotoxicity of the taxane and platinum agents combination treatment in a panel of human ovarian carcinoma cell lines. *Gynecol Oncol.* 2005;98(1):141-5.
29. Sener MT, Sener E, Tok A, Polat B, Cinar I, Polat H, Akcay F, Suleyman H. Biochemical and histologic study of lethal cisplatin nephrotoxicity prevention by mirtazapine. *Pharmacol Rep.* 2012;64(3):594-602.
30. Snell R S, Clinical Anatomy for Medical Students, Eds: Yıldırım M, Nobel Tıp Kitapevleri, 2004, 6. Baskı, İstanbul s:328-330
31. Stimmel, G. L., Dopheide, J. A., & Stahl, S. M. (1997). Mirtazapine: an antidepressant with noradrenergic and specific serotonergic effects. *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy*, 17(1), 10-21.
32. Şeftalioğlu A, Genel ve Özel İnsan Embriyolojisi, Tıp & Teknik Yayıncılık, 1998, 3. Baskı, Ankara s:41-53
33. Şener, N. E. B. (1999). Taksol Ve Türevlerinin Biyosentezi. *J. Fac. Pharm*, 28(2), 99-116.
34. Şener, N. E. B. (2000). Taksan Sinifi Bileşiklerin Antitümör Etkileri. *J. Fac. Pharm*, 29(1), 77-90.
35. Tanyolaç A, Özel Histoloji, Yorum Basın Yayın Sanayi LTD. ŞTİ. 1993, Ankara s:141-147
36. Timmer, C. J., Sitsen, J., & Delbressine, L. P. (2000). Clinical pharmacokinetics of mirtazapine. *Clinical pharmacokinetics*, 38(6), 461-474.
37. Tomek S, Horak P, Pribill I, Haller G, Rössler M, Zielinski CC, Pils D, Krainer M. Resistance to TRAIL-induced apoptosis in ovarian cancer cell lines is overcome by co-treatment with cytotoxic drugs. *Gynecol Oncol.* 2004;94(1):107-14.
38. Tonini T, Gabellini C, Bagella L, D'Andrilli G, Masciullo V, Romano G, Scambia G, Zupi G, Giordano A. pRb2/p130 decreases sensitivity to apoptosis induced by camptothecin and doxorubicin but not by taxol. *Clin Cancer Res.* 2004;10(23):8085-93.

39. Vital-Reyes V, Rodríguez-Burford C, Chhieng DC, Oelschlager DK, Reyes-Fuentes A, Barnes M, Grizzle WE. Celecoxib inhibits cellular growth, decreases Ki-67 expression and modifies apoptosis in ovarian cancer cell lines. *Arch Med Res.* 2006;37(6):689-95.
40. Yıldırım M, *Topografik Anatomi, Nobel Tıp Kitapevleri*, 2004, 2. Baskı, İstanbul s:302-303
41. Yıldırım M, *İnsan Anatomisi, Nobel Tıp Kitapevleri*, 2013, 7. Baskı, İstanbul s:237-239
42. Yıldırım M, *İnsan Anatomisi 2 , Nobel Tıp Kitapevleri*, 2006, İstanbul s:167-169
43. Zhao, R., Qin, W., Qin, R., Han, J., Li, C., Wang, Y., & Xu, C. (2017). Lectin array and glycogene expression analyses of ovarian cancer cell line A2780 and its cisplatin-resistant derivate cell line A2780-cp. *Clin Proteomics*, 14, 20. doi: 10.1186/s12014-017-9155-z
44. Wall, M. E., & Wani, M. C. (1995). *Paclitaxel: from discovery to clinic*: ACS Publications.

ÖZGEÇMİŞ

Tuğba Koç 1989 yılında Konya’da doğdu. İhsan Özkaşıkçı İlköğretim Okulunu 2003 yılında, Meram Konya Lisesini 2007 yılında Konya’da tamamladı. 2009 yılında Konya Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü’nde lisans eğitimine başladı. 2011 yılında 1 ay süre ile Özel Büyükşehir Hastanesi Laboratuvarında gönüllü stajerlik yaptı. 2012 yılında 2 ay süre ile Konya Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji alanında gönüllü stajerlik yaptı. 2013 yılında Konya Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü’nden mezun oldu. 2013 yılında Konya Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı’nda yüksek lisans eğitimine başladı.