

T.C.
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOKİMYA (VET) ANABİLİM DALI



**İN VİTRO PANKREATİK DUCTAL ADENOKARSİNOMDA LAVANDULA
STOECHAS ESANSİYEL YAĞININ SİTOTOKSİK ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Özge KALHAN

Danışman

Doç. Dr. Altuğ KÜÇÜKGÜL

HATAY/ 2019

T.C.
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOKİMYA (VET) ANABİLİM DALI

**İN VİTRO PANKREATİK DUCTAL ADENOKARSİNOMDA LAVANDULA
STOECHAS ESANSİYEL YAĞININ SİTOTOKSİK ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Özge KALHAN

Danışman

Doç. Dr. Altuğ KÜÇÜKGÜL

HATAY/ 2019

T.C.

MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOKİMYA (VET) ANABİLİM DALI

***İN VİTRO* PANKREATİK DUCTAL ADENOKARSİNOMDA *LAVANDULA*
STOECHAS ESANSİYEL YAĞININ SİTOTOKSİK ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Özge KALHAN

Bu tez aşağıda isimleri yazılı tez jürisi tarafından .. / .. / günü sözlü olarak yapılan tez savunma sınavında oy birliğiyle kabul edilmiştir.

Tez Jürisi: Prof. Dr. Penbe Sema TEMİZER OZAN.....

Doç. Dr. Pınar PEKER AKALIN.....

Doç. Dr. Altuğ KÜÇÜKGÜL

Bu tez enstitümüz Biyokimya (VET) Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

.....

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans tezım süresince bilgilerini ve deneyimini benden esirgemeyen danışmanım Doç.Dr. Altuğ KÜÇÜKGÜL' e, tezime yapmış olduğu katkılardan dolayı Dr. Öğr. Üye. Mehmet Mustafa İŐGÖR'e, ayrıca gösterdikleri maddi ve manevi destek ve anlayıőtan dolayı eőim Hasan Hüseyin Kalhan ve çocuklarım Ahlas Çađan-Bertuđ Kađan Kalhan' a; manevi desteklerinden dolayı eőimin ailesine; yaőamımın her aőamasında olduğu gibi Yüksek Lisans öğrenimimde de emeğini ve desteğini esirgemeyen annem Bengül Yılmaz, babam Atila Yılmaz, kardeőim Funda Ezgi YILMAZ'a teőekkürlerimi bir borç bilirim. Bununla birlikte lisansüstü eğitimimde emeği geçen tüm değerli, Fırat Üniversitesi Veteriner Fakóltesi Biyokimya A.D. öğretim üyelerine de tek tek teőekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
Kabul ve Onay.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER.....	I
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VI
GRAFİKLER DİZİNİ.....	VII
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	VIII
FOTOĞRAFLAR DİZİNİ.....	IX
KISALTMALAR DİZİNİ.....	X
ÖZET.....	XII
ABSTRACT.....	XIII
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİ.....	3
2.1. Kanser Nedenleri.....	3
2.2. Kanser Hücrelerinin Metabolizması.....	3
2.3. Hücre Siklusu.....	5
2.4. Protoonkogenler ve Onkogenler.....	7
2.4.1. Ras Geni.....	8
2.5. Tümör Baskılayıcı Genler.....	10
2.5.1. Retinoblastoma Geni.....	11
2.5.2. p53 Geni.....	11
2.6. Pankreas Kanseri.....	12
2.6.1. Pankreas Kanseri Nedenleri.....	13
2.6.2. Pankreatik Duktal Adenokarsinoma (PDAK).....	13
2.7. Lavandula Bitkisi (Lavanta).....	15
2.7.1. Lavandula Stoechas.....	17
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	19

3.1. Hücre Kültürü (İn Vitro Çalışma).....	19
3.2. MTT Viyabilite Testi.....	20
3.3. RNA İzolasyonu.....	20
3.4. Gen Ekspresyon Analizleri qRT PCR Analizleri.....	21
3.5. Lavandula Stoechas Esansiyel Uçucu Yağların Elde Edilme Yöntemi.....	21
3.6. İstatistiksel Metod.....	22
4. BULGULAR.....	23
4.1. Viyabilite Sonuçları.....	23
4.2. Gen Ekspresyon Analiz Sonuçları.....	24
4.2.1 EGFR Gen Ekspresyon Düzeyleri.....	24
4.2.2. K-Ras Gen Ekspresyon Düzeyleri.....	25
4.3. Hücre Görüntüleri.....	26
4.3.1. Kontrol Grubu Hücre Görüntüleri.....	26
4.3.2. LSEO 0.1 µg/ml Uygulanan Gruptaki Hücre Görüntüleri.....	27
4.3.3. LSEO 1 µg/ml Uygulanan Gruptaki Hücre Görüntüleri.....	28
5. TARTIŞMA.....	29
6.SONUÇ.....	33
7.KAYNAKLAR.....	34
8. ÖZGEÇMİŞ.....	39

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil.1. Warburg Etkisi.....	4
Şekil 2. Hücre siklusu.....	6
Şekil 3. Siklin bağımlı kinazlar ve hücre siklusu.....	7
Şekil 4. Temel K-Ras biyolojisi ve K-Ras ile inflamasyon arasındaki pozitif geri besleme döngüsü.....	9
Şekil 5. Pankreatik kanserde onkogenik K-Ras' ın etkisi.....	10
Şekil.6. Terpinen 4-ol'ün kimyasal yapısı.....	30

GRAFİKLER DİZİNİ

Sayfa No

Grafik 1. Tüm Yaş Gruplarındaki Kadın ve Erkeklerde En Sık Görülen Bazı Kanserlerin Bu Grup İçindeki Yüzde Dağılımları.....	1
Grafik 2. Değişik tümörlerde bildirilen p53 pozitifliği.....	12
Grafik.3. Farklı dozlardaki lavandula stoechas esansiyel yağlarının hücre canlılığı üzerine etkileri (24 saat).....	23
Grafik.4. 1 gün inkübasyondan sonra deneme gruplarındaki EGFR gen ekspresyon düzeyleri.....	24
Grafik.5. 24 saat uygulamılardan sonra gruplardaki K-Ras gen ekspresyon seviyeleri.....	25

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa No
Çizelge.1. <i>İn vitro</i> çalışma deneme gruplar.....	19
Çizelge.2. Araştırmada kullanılan gen spesifik primerler.....	22

FOTOĞRAFLAR DİZİNİ

	Sayfa No
Fotoğraf. 1. <i>Lavandula stoechas</i>	18
Fotoğraf.2. Kontrol grubu fotoğrafi.....	26
Fotoğraf .3. LS'in 1 µg/ml konsantrasyonda eklenen gruptaki hücre fotoğrafi.....	27
Fotoğraf .4. Hücelere LS'in 1 µg/ml konsantrasyonda eklenen gruptaki hücre fotoğrafi.....	28

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

- A-549: Akciğer kanseri
ASPC-1: İnsan pankreatik adenokarsinomu
ATP: Adenozin tri fosfat
BC-1: İnsan göğüs kanseri
BOS: Beyin omurilik sıvısı
CDK: Siklin bağımlı kinaz
COL-2: İnsan kolon kanseri
DEPC water: Dietilpirokarbonatlı su
DMEM: Dulbecco's modified eagle medium
DNA: Deoksiribo Nükleik asit
EGF:Epidermal graft factor
EGFR: Epidermal Graft Faktör
FBS: Fötal sığır serumu
GTP: Guanozin trifosfat
HB-EGF: Heparin bağımlı EGF
IL-1: İnterlökin-1
IPMN: İntraduktal papiller müsinoz neoplaziler
JNK: Jünkinaz
KB: İnsan epidermoid karsinom
Kont: Kontrol
LNCaP: İnsan prostat kanseri
LS: *Lavandula stoechas*
LSEO: Lavandula stoechas esansiyel yağı
LU-1: İnsan akciğer kanseri

MAPK: Mitojen aktivite protein kinaz
MCF-7: Meme kanseri
MCN: Müsinöz kistik neoaziler
MTT: Thiazolil blue tetrazolyum bromide
NADPH: Nikotinamid adenine dinükleotid
P-388: Fare lösemi kanseri
PAnIN: Pankreatik intraepitelyal neoplaziler
PARP: Poly (ADP-ribose) polymerase
PC-3: Prostat kanseri
PC-3: Rahimağzı kanseri
PDAK: Pankreatik duktal adenokarsinom
Rb: Retinoblastoma protein
RNA: Ribonükleik asit
TNF- α : Tümör nekroz factor α
UV: Ultraviyole

ÖZET

***In Vitro* Pankreatik Duktal Adenokarsinomda *Lavandula Stoechas* Esansiyel Yağının Sitotoksik Etkilerinin Araştırılması**

Pankreatik kanser, dünya genelinde ölüm oranı en yüksek kanser türlerinden biridir. Pankreatik kanserin ölüm oranının yüksek olmasının nedenleri; erken tanı zorluğu, hızlı metastaz kabiliyeti, radyoterapi ve kemoterapiye cevap vermemesidir. Bu nedenlerden dolayı konu hakkında araştırmalar doğal ürünlerden elde edilen etken maddelere yoğunlaşmıştır. Lavanta bitkisinin antibakteriyel, askarisidal, antifungal, kemoterapötik ilaçların yan etkilerini bertaraf etme, hepatoprotektif ve renoprotektif gibi birçok biyolojik aktiviteye sahip olduğu bilinmektedir. Bununla birlikte, lavanta ekstraktının birçok kanser çalışmasında sitotoksik etkileri olduğu da rapor edilmiştir. Çalışmanın amacını yöremizden toplanan esansiyel yağı su distilasyon yöntemiyle çıkarılan *Lavandula stoechas*'ın pankreatik duktal adenokarsinomda sitotoksik etkinliğinin araştırılması oluşturmaktadır.

Bu amaçla araştırmada deney materyali olarak insan orijinli AsPC-1 pankreatik adenokarsinom hücre hattı kullanılmıştır. Hücreler DMEM besiyerinde üretilerek, kontrol(kont) ve etken madde uygulanan gruplar (LS) olarak ayrılmıştır. *Lavandula stoechas* esansiyel yağı, su distilasyon yöntemiyle elde edilerek, farklı konsantrasyonlarda (0.1, 0.25, 0.5 ve 1 µg/ml) ve 24 saat hücrelere uygulanmıştır. Süre sonunda MTT metoduyla hücre canlılık testleri yapılarak etkin konsantrasyon tespiti gerçekleştirilmiştir. Alınan mRNA örneklerinden ise, pankreatik duktal adenokarsinoma hücrelerinin patogenezinde önemli rol oynayan EGFR ve K-Ras oncogenlerinin ekspresyon düzeyleri tam zamanlı kuantitatif polimeraz zincir reaksiyonuyla araştırılmıştır. Elde edilen verilere göre LS'in 1 µg/ml konsantrasyonunun etkin konsantrasyonu olduğu canlılık testleriyle ortaya konulmuştur. Yine yapılan gen ekspresyon analizlerinde etkin konsantrasyonda LS'in hem EGFR hem de K-Ras ekspresyonlarını down regüle ettiği tespit edilmiştir.

Tüm bu bilgilerin ışığında *lavandula stoechas* esansiyel yağ bileşenlerinin PDAK patogenezinde potansiyel bir ajan olarak düşünülebileceği kanısına varılmıştır. Bu konunun tam olarak söylenebilmesi için ise *in vivo* ve daha ileri seviye araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar kelimeler: Pankreatik duktal adenokarsinom, *Lavandula stoechas*, sitotoksitite.

ABSTRACT

Investigation of Cytotoxic Effects of *Lavandula Stoechas* Essential Oil in *In Vitro* Pancreatic Ductal Adenocarcinoma

Pancreatic cancer is one of the highest mortality types in the world. The reasons for the high mortality rate of pancreatic cancer include difficulty in early diagnosis, rapid metastasis ability and nonresponsiveness to radiotherapy and chemotherapy. For these reasons, research on the subject has focused on active substances derived from natural products. Lavender plant is known to have many biological activities such as antibacterial, ascarisidal, antifungal, protective effect against side effects of chemotherapeutic drugs, hepatoprotective and renoprotective. In addition, lavender extract has been reported to have cytotoxic effects in many cancer studies. The aim of this study is to investigate the cytotoxic efficacy of essential oils of *Lavandula stoechas* extracted by water distillation in pancreatic ductal adenocarcinoma.

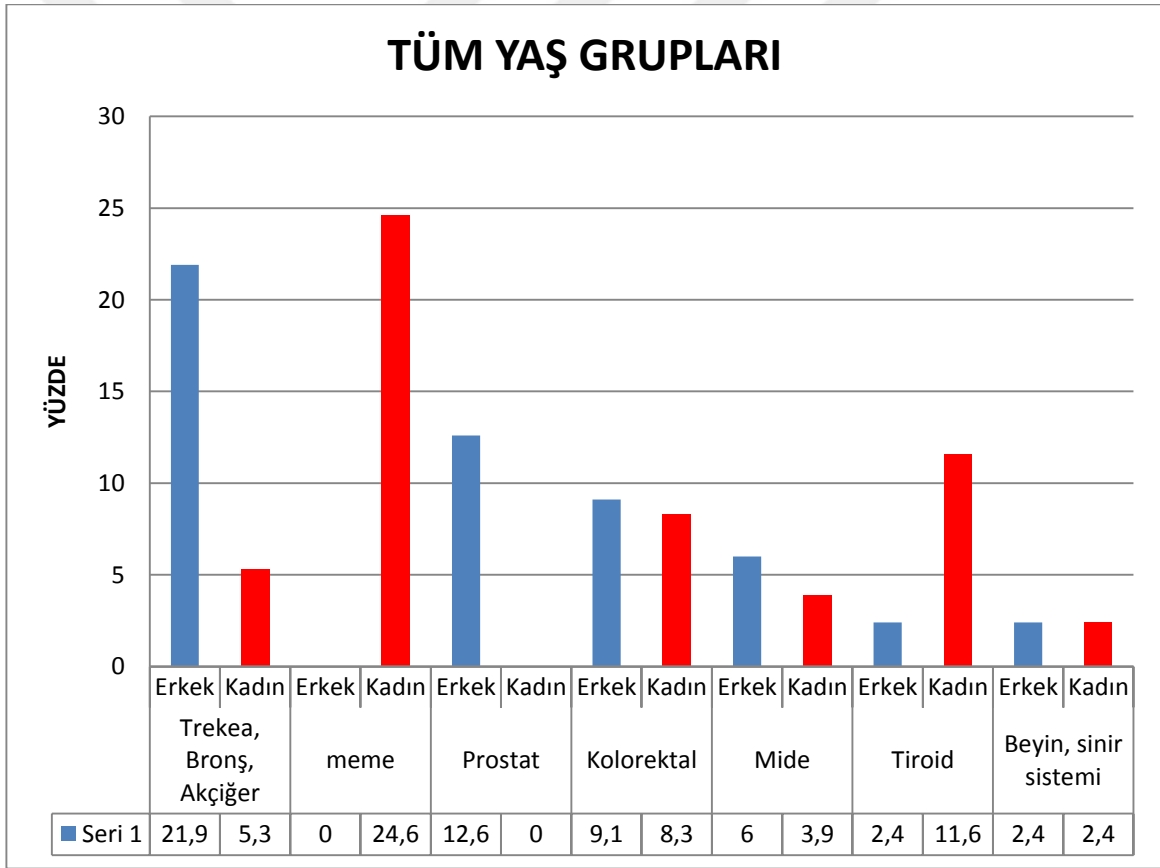
For this purpose, AsPC-1 pancreatic adenocarcinoma cell line of human origin was used as experimental material. Cells were produced on DMEM medium and separated into control and active agent applied group (LS). *Lavandula stoechas* essential oil was obtained by water distillation method and applied to cells at different concentrations (0.1, 0.25, 0.5 and 1 µg / ml) for 24 hours. At the end of the period, cell viability tests were performed by MTT method and effective concentration was determined. Expression levels of EGFR and K-Ras oncogenes, which play an important role in the pathogenesis of pancreatic ductal adenocarcinoma, were investigated by real-time quantitative polymerase chain reaction from mRNA samples taken after 24 hours incubation. According to the data obtained, viability tests showed that LS has the effective concentration of 1 µg / ml concentration. In gene expression analysis, it was found that effective concentration of LS downregulates the expression of both EGFR and Kras oncogenes.

In the light of all these data, it was concluded that essential oil components of *lavandula stoechas* could be considered as a potential agent in PDAK pathogenesis. In order to be able to say this subject in full, *in vivo* and further studies are needed.

Key words: Pancreatic ductal adenocarcinoma, *Lavandula stoechas*, cytotoxicity.

1. GİRİŞ

Kanser; hücrelerin DNA yapısında meydana gelen bozulmalar sonucunda kontrolsüz olarak çoğalması ve birikmesi ile karakterize komplike bir hastalıktır (Yokuş ve Çakır 2012). Etkilenen hücreler başka doku ve organlara yayılabilme yeteneğine de sahiptir (Baykara 2016). Oldukça hızlı gerçekleşen hücre bölünmesi için gerekli olan makromoleküllerin sentezi birçok onkogenik mutasyon ile gerçekleşmektedir. Yapılan çalışmalarda hala kanserogenezin moleküler mekanizmaları tam olarak belirleyememiştir (İzgi 2017).



Grafik 1. Tüm Yaş Gruplarındaki Kadın ve Erkeklerde En Sık Görülen Bazı Kanserlerin Bu Grup İçindeki Yüzde Dağılımları (Türkiye Birleşik Veri Tabanı, 2013).

Türkiye Halk Sağlığı Kurumu'nun 2016 yılında yayınlamış olduğu verilere göre; erkeklerde tüm yaş gruplarında en sık görülen kanser trake, bronş, akciğer kanseri (%21,9) iken kadınlarda tüm yaş gruplarında en sık görülen kanser meme kanseri (%24.6) olarak bildirilmiştir (Türkiye Halk Sağlığı Kurumu 2016 Raporu) .

Dünya Sağlık Örgütü' nün yayınlamış olduğu verilere göre kanser, dünyada ikinci önde gelen ölüm nedeni olmakla beraber, küresel olarak her altı ölümden biri kanserden kaynaklanmaktadır. 2018 yılında, kanser kaynaklı ölüm vakaları; mide (2.09 milyon olgu), meme (2.9 milyon olgu), kolorektal (1.8 milyon olgu), akciğer (1.76 milyon ölüm), kolorektal (876 bin olgu) ve mide (783 bin ölüm) olarak sıralanabilir (Dünya Sağlık Örgütü 2018 Raporu).



2.GENEL BİLGİLER

2.1.Kanser nedenleri

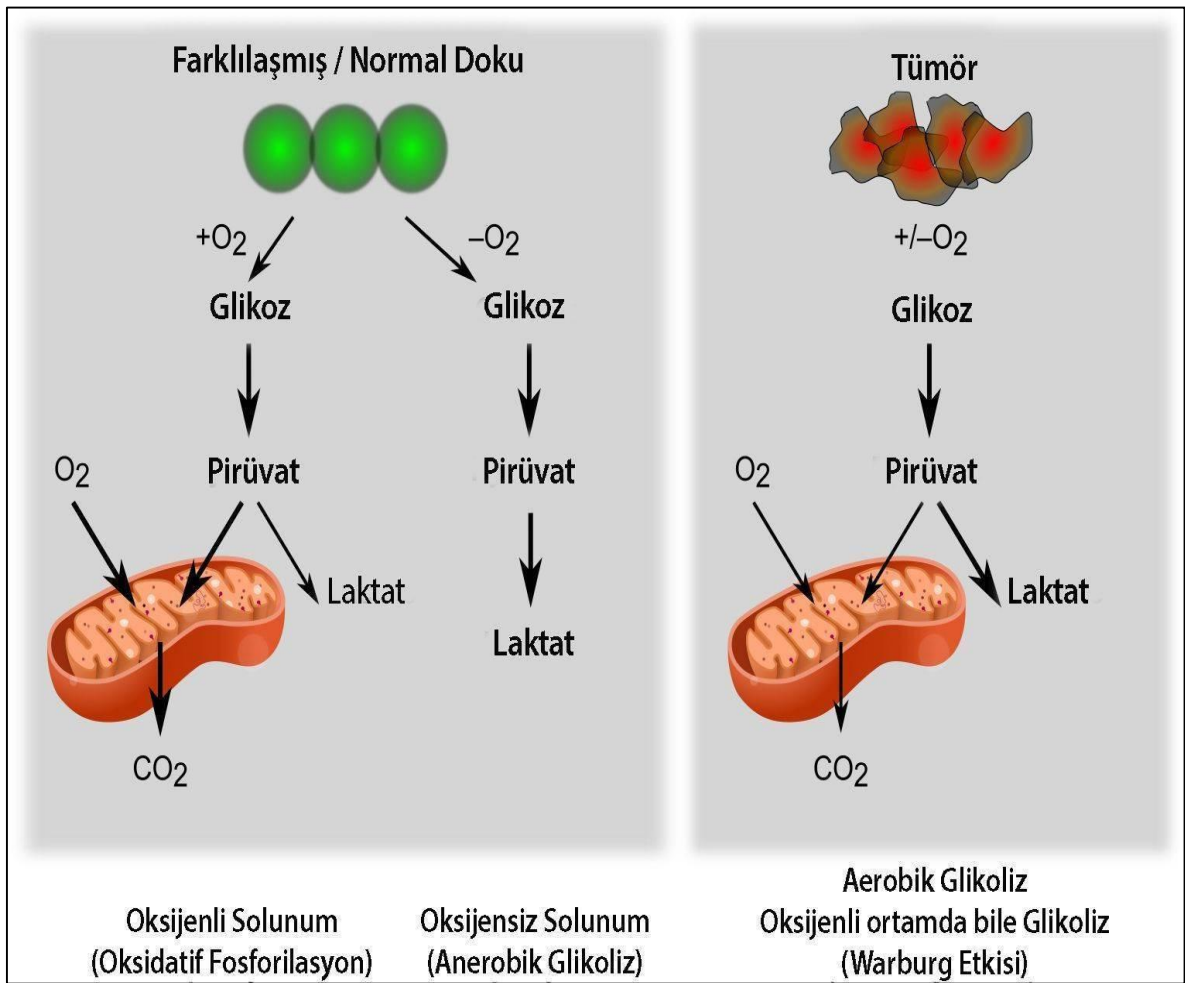
Kanserogenez, genetik ve çevresel etmenlerden kaynaklanmaktadır. Kanser vakalarının büyük çoğunluğu yaşam boyunca çeşitli mutajenlere maruz kalınması sonucunda hücre DNA'sında gerçekleşen mutasyonlar ve progresif değişiklikler ile oluşmaktadır. Bu mutajenler; fiziksel, kimyasal ve biyolojik faktörler olarak sınıflandırılabilir. Sigara, alkol tüketimi, kömür tozu ve benzen gibi maddeler kimyasal olarak kansere neden olurken; mekanik travmalar, güneş ışınları, ısı ve iyonize radyasyon ışınları fiziksel olarak kansere neden olabilmektedir. İyonize radyasyon ışınlarına (UV ışınları, X ışınları, Gama ışınlar) maruz kalınması doku hücresinde DNA'nın kopmasına ve mutasyonlara neden olabilmektedir. T hücreli lösemi virüsü, Helikobacter pylori, insan papillom virüsü gibi ajanlar ise biyolojik olarak kanser oluşturabilmektedir (Yokuş ve Çakır 2012; Özgenoğlu 2013).

Dünya Sağlık Örgütü'nün 2018 yılı verilerine göre, kanser için tütün en önemli risk faktörüdür. Kanser ölümlerinin %22'sinden sorumluyken, düşük ve orta gelirli ülkelerde Hepatit ve İnsan Papillom virüsü (HPV) gibi kansere neden olan enfeksiyonlar kanser vakalarının %25' ini oluşturmaktadır. Sigaranın onkogen veya tümör süpresör gen sisteminde mutasyonlar oluşturarak akciğer kanserine neden olduğu düşünülmektedir. Sigara tüketimi ile maruz kalınan benzo-(a)-piren diol epoksit maddesinin p53 geninin 157, 248 ve 273 lokasyonlarında nokta mutasyonuna neden olarak kanser oluşturduğu tespit edilmiştir (Denissenko ve ark. 1996).

2.2. Kanser Hücrelerinin Metabolizması

Kanser çok hızlı bölünme ve büyüme özelliği gösterdiği için gerekli olan metabolitlerini de normal hücrelerden farklı olarak karşılamaktadır. Normal hücreler dinlenme dönemine girdiğinde ATP üretimi ile hemostatik dengeyi sağlarken, proliferen olan hücreler replikasyon için gerekli olan enerjinin haricinde, makromoleküllerin metabolik ihtiyaçları ve redoks dengesi için gerekli enerjiyi sağlamalıdır. Kanser hücrelerinin hızlı proliferasyon özellikleri glikoz ihtiyaçlarını arttırmaktadır. Kanser hücrelerinin artan glikoz ihtiyaçlarını nasıl karşıladıkları ilk olarak "Otto Warburg" tarafından ortaya konulmuştur. Kanser hücreleri oksijen varlığında dahi glikoz'u laktata dönüştürerek glikoliz

gerçekleştirmektedir (“Warburg etkisi” veya “Aerobik Glikozis”). Tümör hücrelerinin hayatta kalması için gerekli ortam koşullarına adaptasyonunu sağlayan bu yöntem sonucunda; yan ürün olarak fazla üretilen NADPH, trans-aminasyon reaksiyonları ile esansiyel olmayan aminoasitlere azot kaynağı oluşturmakta ve oksijenli/oksijensiz ortam koşullarında varlığını sürdürmektedir (Warburg 1956; İzgi 2017; Kısaçam ve Ozan 2017). Kanser hücrelerinin karbonhidrat metabolizmasında oluşan değişimler; kanserin teşhis ve tedavisinde kullanılan yöntemlere rehberlik etmektedir ki; PET görüntüleme yöntemi ile kanser hücrelerinin glikoz metabolizmasındaki değişikliklere bakılarak kanser evreleri belirlenebilmektedir (Mızrak ve Akbulut 2015).



Şekil 1. Warburg Etkisi (Anonim, Erişim: <https://www.drozdogan.com/meme-kanserinin-tedavi-sonrasi-tekrarlamasi-yag-metabolizmasiyla-iliskilendirildi/>).

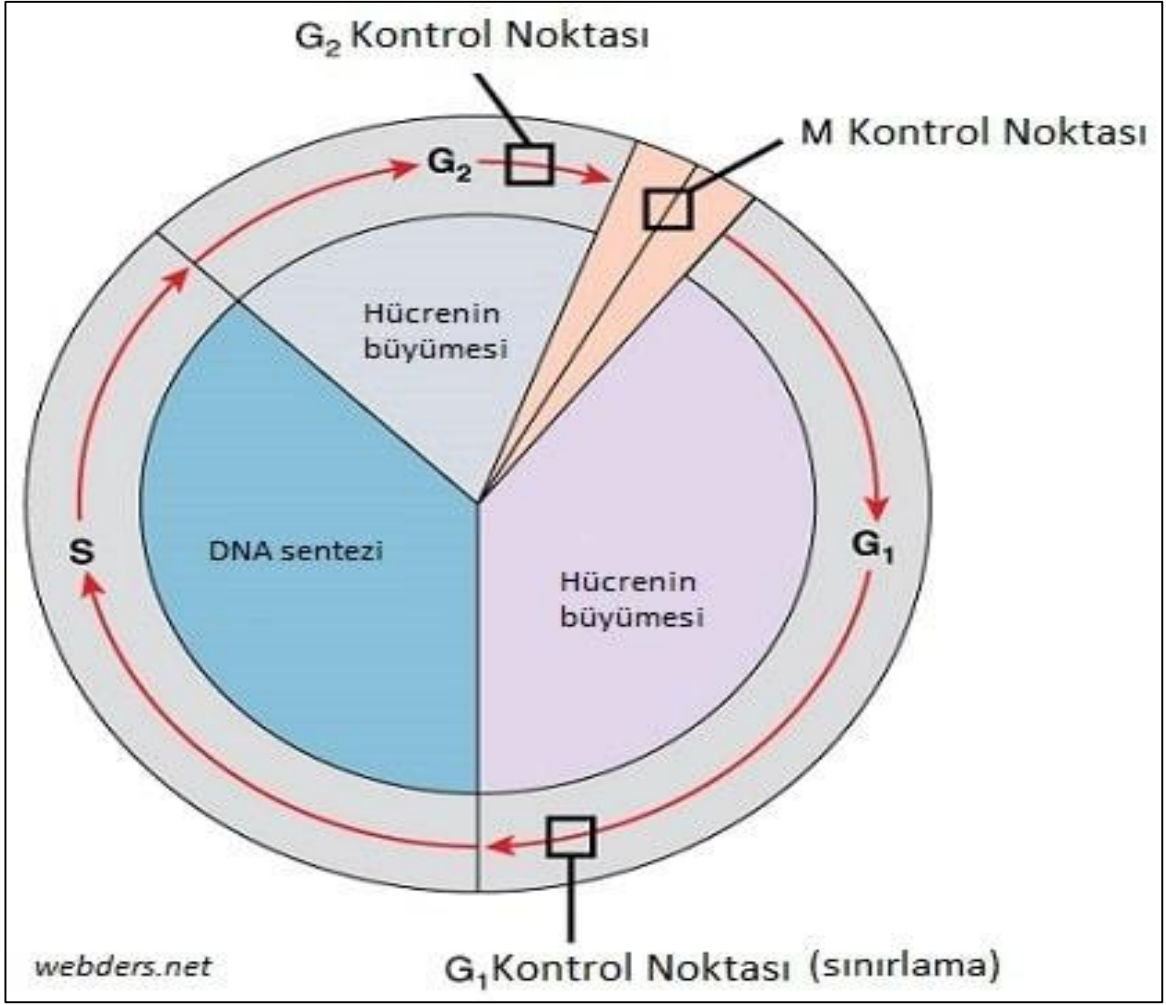
Tümör hücreleri oksidatif fosforilasyon gerçekleştirmediğinden ATP gereksinimini lipid metabolizmasından karşılamaktadır. Normal hücreler glikozdan ATP üretimi yeterli olmadığı durumlarda enerji ihtiyacını katabolik metabolizmayı reaktif ederek karşılamaktadır. Glikozdan ATP üretmeyen bu farklılaşmış hücreler henüz açıklanamamış

mekanizmalar ile lipolizi arttırmakta, serbest kalan yağ asitlerinin beta-oksidasyonunu arttırarak glutamin veya laktatın oksidatif kullanımı ile ATP sağlamaktadır (İzgi 2017).

Kanser hastalarında kaşeksinin altında yatan sebepler, İnsülin duyarlılığının azalması, bozulmuş glukoz toleransı, glikoneogenez artışı, laktat düzeyinde yükselmeler ve lipolizin artışı olarak sıralanabilir (Saka 2010). Kanser hastalarında kaşeksinin bir diğer nedeni ise, tümör varlığında immun sistem devreye girerek tümör nekroz faktör alfa (TNF- α) salınımını arttırır, ve dolayısıyla interlökin 1 (IL-1) salınımı da artar. Artan IL-1 plazmada ve beyin omurilik sıvısında (BOS) triptofan seviyesinin artmasına neden olur. Tüm bu olayların sonunda BOS'da serotonin miktarı artar ve tokluk hissi oluşur (Erdamar ve ark. 2014). TNF- α seviyesindeki artış sonucunda ubikuitin-proteozom yolu ile salınan proteoliz indükleyici faktör etkisi ile aşırı protein yıkımı gerçekleşerek, negatif nitrojen dengesi şekillenmektedir (Saka 2010).

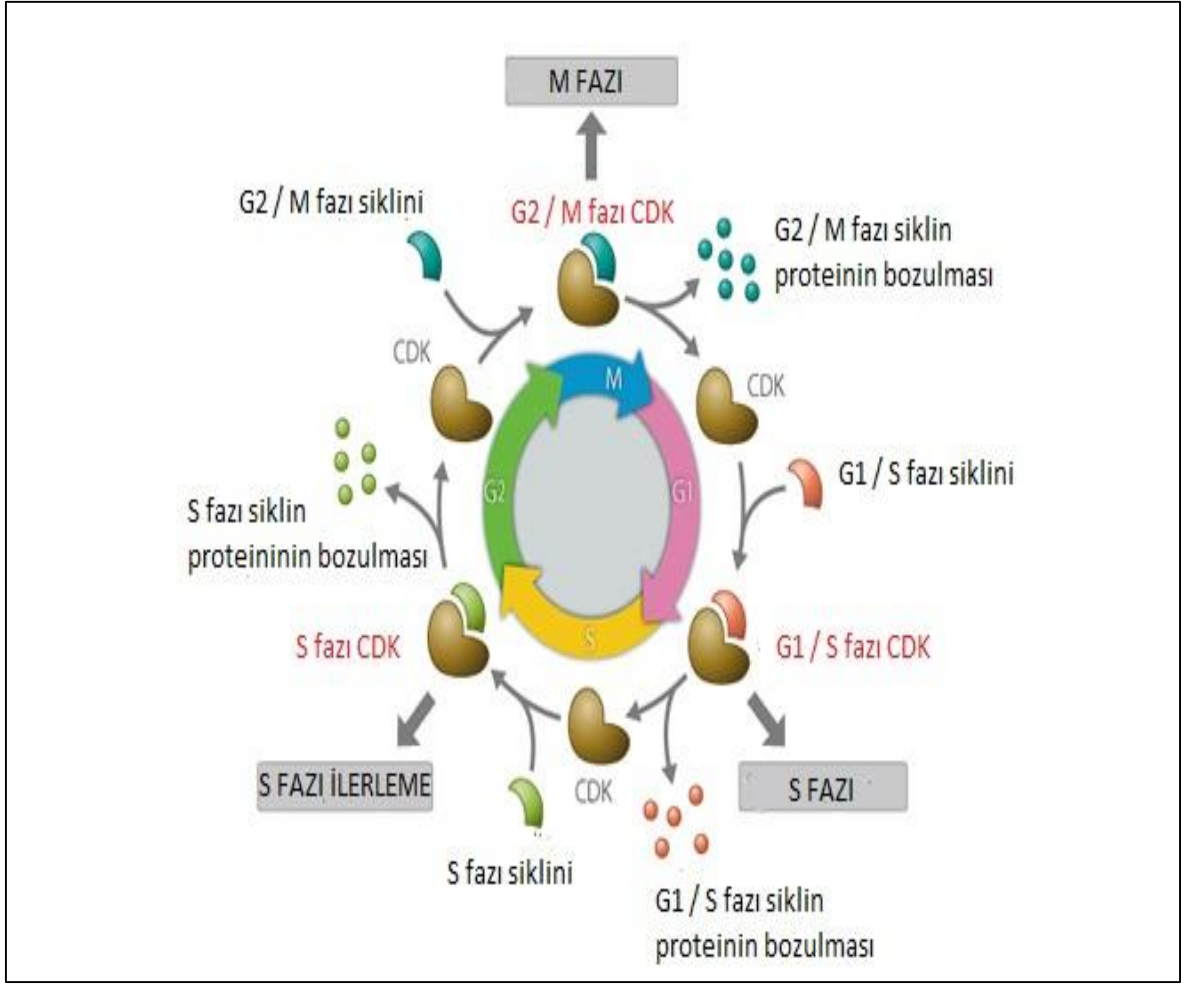
2.3. Hücre Siklusu

Hücresinin bölünmeye başlamasından, birbirine benzeyen iki hücre oluşmasına kadar geçen süreçte hücrede gerçekleşen geçici biyokimyasal aktivite ve morfolojik değişikliklerin görüldüğü süreç "Hücre siklusu" olarak adlandırılır. G (0) diye adlandırılan hücre dönemi hücrenin dinlenme evresidir ve hücre bölünme sinyali alması ile İnterfaz evresi denilen hazırlık sürecine girer ki bu evre G (1), S, G (2) olmak üzere üç aşamadan oluşur (Canpolat 2017). G (1) evresinde, S evresine geçiş için hazırlık yapılır. Hücrede bölünmeyi uyaracak olan proteinlerin (büyüme faktörleri) aktive olması sağlanır ve RNA ile protein sentezi gerçekleştirilir. G (1) evresinde yapılan sentezler tamamlandıktan sonra S evresi başlar ve bu evrede DNA replikasyonu, kromozom çiftlenmesi, RNA ve protein sentezi gerçekleşir. G (2) evresine geçildiğinde protein ve RNA sentezlerine devam edilir. Bunun sonunda mitoz bölünmenin gerçekleşeceği M evresine geçilebilir (Aktuğ 2014).



Şekil 2. Hücre siklusu (Anonim, Erişim: <http://webders.net/etiket/28/2/biyoloji.html>)

Kontrolsüz hücre çoğalmasının engellenmesi ve genomik hataların oluşmaması için hücre siklusu çeşitli mekanizmalar ile kontrol edilir. Siklus G (1) evresinden S evresine geçişte, G (2)'den M evresine geçişte ve metafaz- anafaz geçişinde yeralan kontrol noktaları ile denetlenir (Pazarbaşı ve Kasap 2013). Hücre siklusunu bu kontrol noktalarında oluşacak bir bozulma kanser gelişimine neden olur (Ustaoğlu 2009). Hücre bölünmesinde kontrol noktalarının denetimi, hücrenin metabolizması gibi durumlar siklin bağımlı kinazlar tarafından denetlenir (Pazarbaşı ve Kasap 2013).



Şekil 3. Siklin bağımlı kinazlar ve hücre siklusu (Erişim: <http://www.biyolojidefteri.com/index.php/siklin-bagimli-kinazlar>)

2.4. Protoonkogenler ve Onkogenler

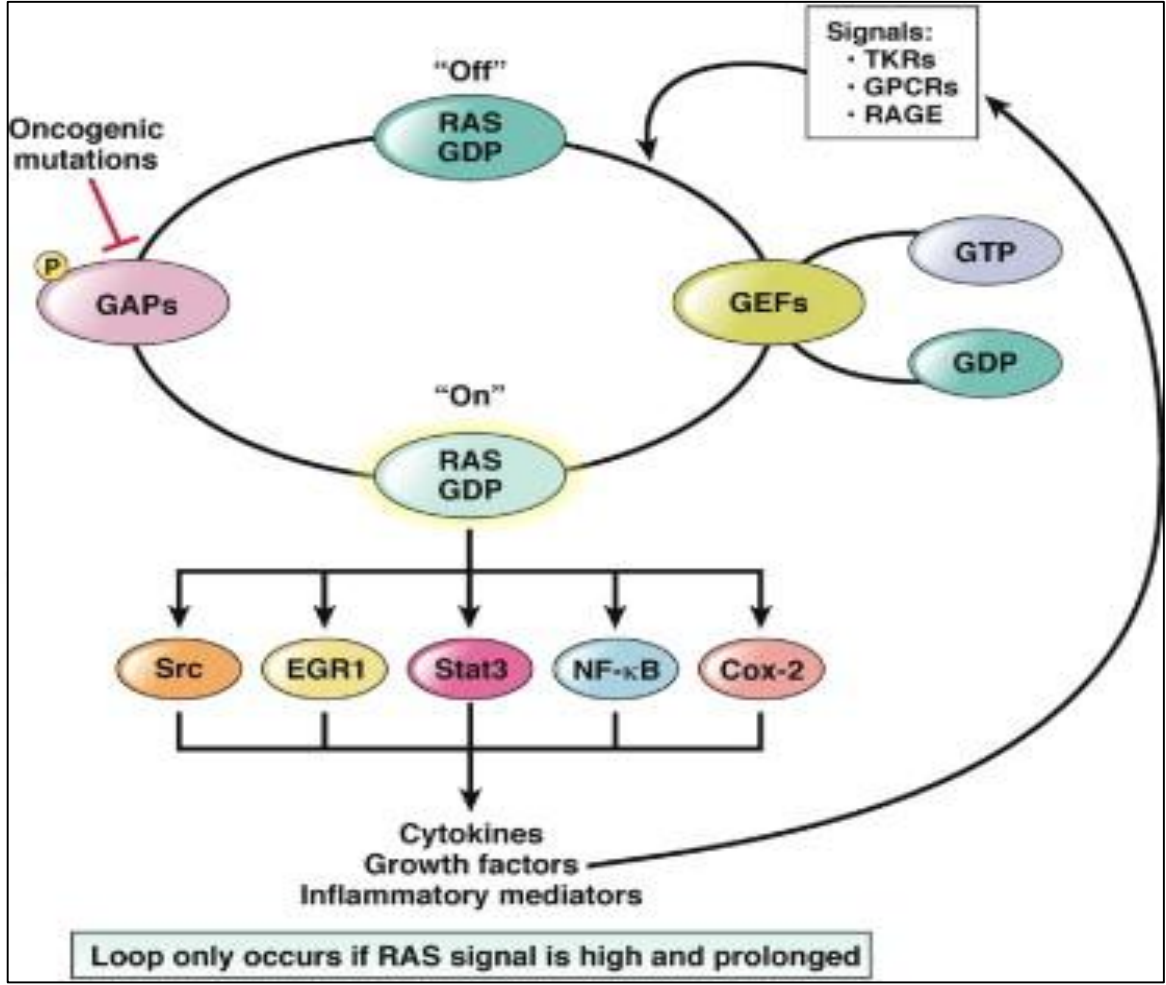
Kanserojenizde söz sahibi olan genler; onkogenler, tümör baskılayıcı genler ve DNA tamir genleridir. Proto-onkogenler, mutasyonlar, gen dublikasyonları, artmış gen ifadesi ve kromozomal yeni düzenlemeler sonucunda kansere neden olan onkogen haline gelebilmektedir (Baykara 2016). Protoonkogenler hücre bölünmesinde gerekli olan proteinleri kodladığı için gerçekleşen mutasyon sonucu aktifleşmesi hücrenin sürekli bölünmesine neden olmaktadır (Işıkdöğen ve ark. 2003; Erdoğan 2011). Ras, MYC ve Erk genlerindeki mutasyonlar, kansere neden olan en yaygın onkogenlerdir (Baykara 2016).

2.4.1 Ras Geni

Ras geni ailesi üyeleri, Guanosin trifosfata (GTP) bağlandığında proliferasyon, farklılaşma, apoptoz ve hücre göçü gibi aktiviteleri düzenleyen sinyal moleküllerini etkinleştirirler (Spaargaren ve ark. 1995). Tümör gelişiminde en çok görülen Ras genleri; K-Ras, N-ras ve H-ras' dır (Şimşek ve Cantürk 2013). Tüm tümörlerin yaklaşık % 30'unun Ras ailesi üyeleri, H-Ras, N-Ras ve K-Ras te onkojenik mutasyonlara uğradığı tahmin edilmektedir (Fernandez-Medarde ve Santos, 2011). Onkojenik K-Ras hemen hemen her pankreas tümöründe bulunur. (Jones ve ark. 2008; Biankin ve ark. 2012). GTP'nin K-Ras'a bağlanması, GTP yükleme oranını artıran, guanin nükleotit değişim faktörleriyle etkileşimin olmadığı durumlarda son derece düşüktür. Büyüme faktörleri, sitokinler, hormonlar, nörotransmitterler ve diğer regülatörler için birçok reseptör, doğrudan veya dolaylı olarak guanin nükleotit değişim faktörlerine erişimi artırarak K-Ras'ı aktive edebilir. K-Ras'taki spesifik nokta mutasyonları (öncelikle K-Ras GTPaz-aktive edici protein etkileşimlerini etkileyenler) GTP hidrolizini azaltır ve böylece K-Ras'ın aktif kalmasına neden olur (Scheffzek ve ark. 1997).

Birçok çalışma K-Ras aktivitesinin, K-Ras'in onkojenik formlarıyla transfeksiyonundan sonra arttığını, tümör yapıcı olarak aktif olduklarını gösterir. (Koeffler ve ark. 1991; Karnoub ve Weinberg 2008; Pylayeva-Gupta ve ark. 2011). Bununla birlikte, K-Ras aktivasyonu karmaşık bir fenomendir; GTP bağlanması aktif K-Ras'ı tanımlamak için yeterli değildir (Campbell ve ark. 1998; Campbell ve ark. 2006).

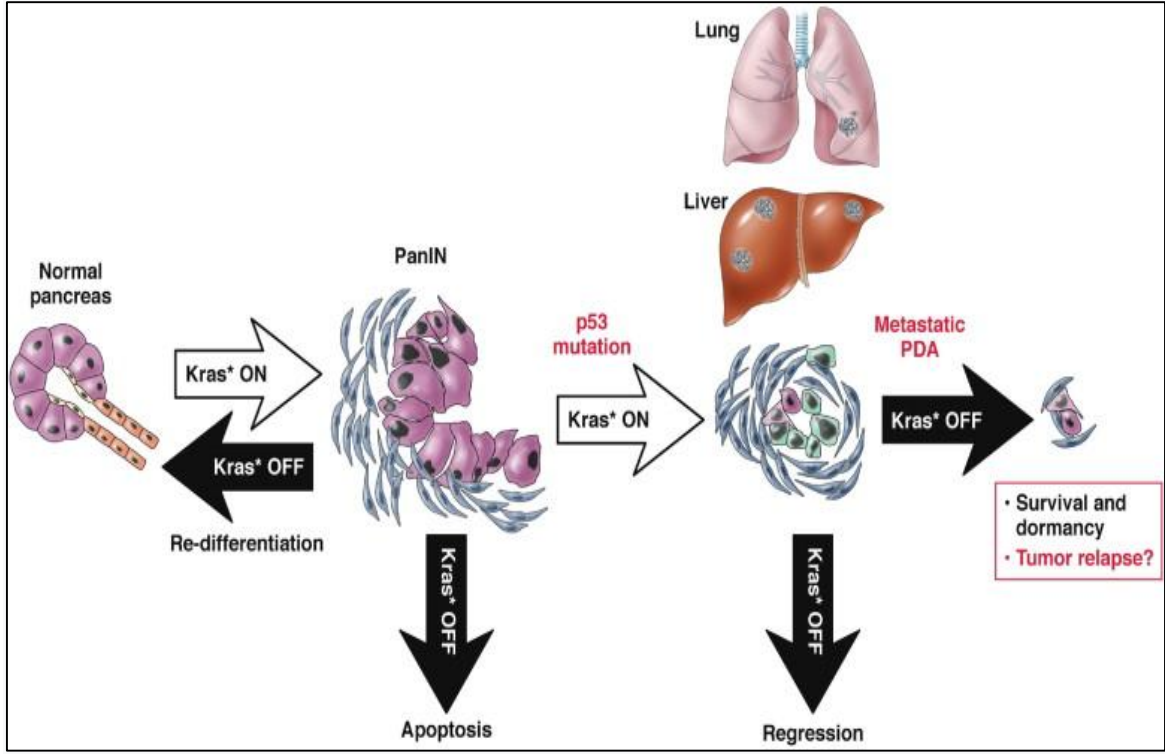
Pankreas, safra kesesi ve akciğer kanserlerinde K-ras mutasyonları, miyelomada K-Ras ve N-Ras mutasyonları daha çok görülmektedir. Ras protein ailesinin içinde bulunan GTP-az'lar hücre bölünmesi, farklılaşması, hücre büyüme faktörü sinyal iletimi ve gen düzenlenmesi gibi son derece önemli rollerde yer almaktadır. GTP-az'lar hücre içindeki çeşitli proteinler üzerinde etki göstererek (protein konformasyonel değişimleri ve fosforilasyonu gibi) hücre içi sinyal iletiminin başlamasını sağlarlar (Telkoparan ve Tazebay 2011).



Şekil 4. Temel K-Ras biyolojisi ve K-Ras ile inflamasyon arasındaki pozitif geri besleme döngüsü (Maglino ve Logsdon 2013).

Pankreas kanserlerinin patogeneğinde K-Ras mutasyonu büyük öneme sahiptir. Ayrıca akciğer, kolon ve diğer tümör türlerinde de sık rastlanır. Onkojenik mutasyonlar yerine GTP'az-aktif edici proteinlerdeki değişiklikler yoluyla, hepatoselüler karsinomun gelişimi için artırılmış K-Ras aktivitesi gereklidir. K-Ras efektörlerinin aktivitesinin artmış seviyeleri veya K-Ras inhibitörlerinin (veya bunların düzenleyici moleküllerinin) azalmış seviyeleri veya aktiviteleri de hepatik tümörogeneze neden olabilir (Jones ve ark., 2008). K-Ras, MAPK yolunun düzenleyicisidir. PDAK'da, normal olarak aktif K-Ras tarafından düzenlenen MAPK yolu içindeki birkaç molekül aşırı veya az baskı altındadır. Benzer şekilde, kanser hücrelerinde siklinlerin ve diğer hücre döngüsü düzenleyicilerinin ekspresyonu artar. Bu değişiklikler muhtemelen yüksek K-Ras aktivitesi seviyelerinin hücre proliferasyonunu artırması için seçilmiştir. Pankreas kanserinde K-Ras aktivitesini uyarıcı

değişikliklerin karmaşıklığına rağmen, *in vivo* veya *in vitro* birçok çalışmada, pankreas tümörogenesinde K-Ras mutasyonunun gerekli olduğu bildirilmiştir (Maglino ve Logsdon 2013).



Şekil 5. Pankreatik kanserde Onkogenik K-Ras'ın etkisi (Maglino ve Logsdon 2013).

2.5. Tümör Baskılayıcı Genler

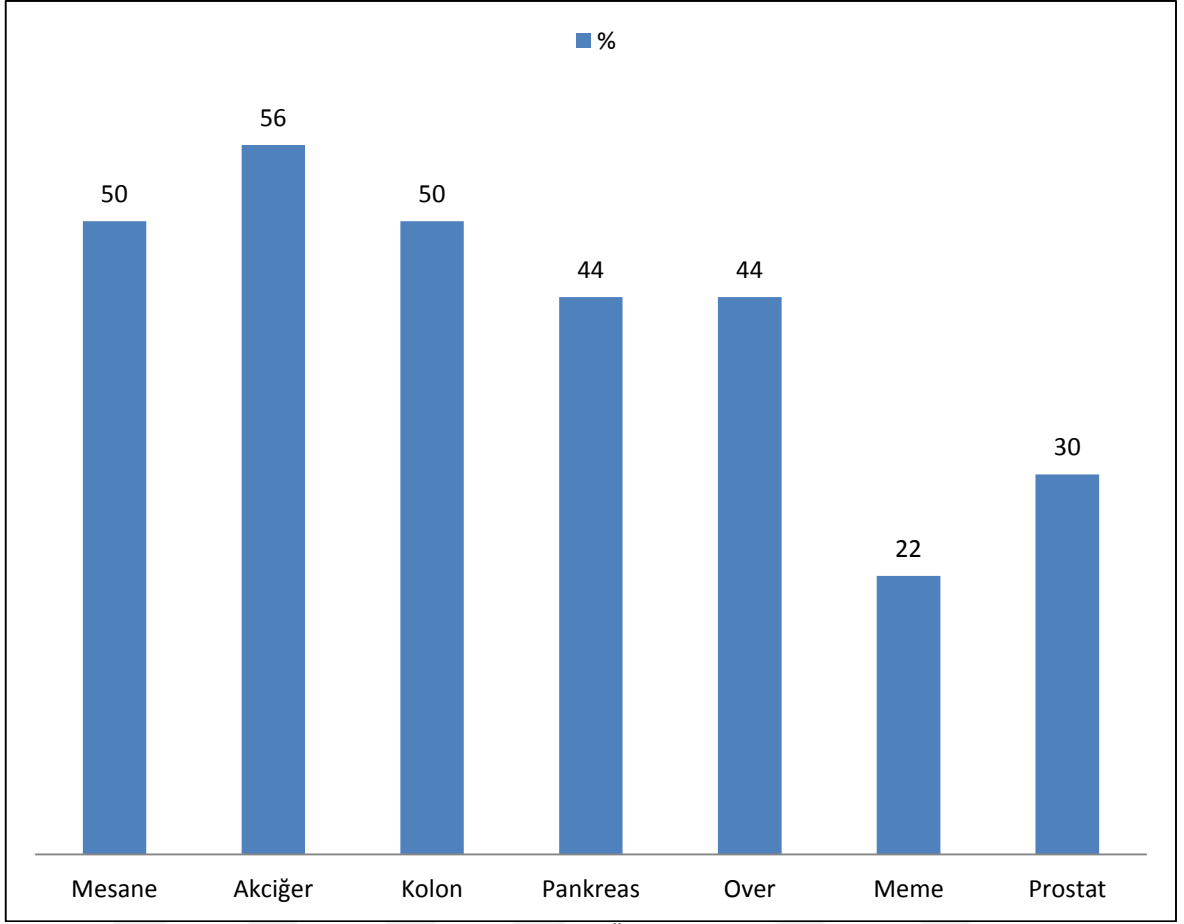
Tümör baskılayıcı genler hücre bölünmesi ve çoğalmasını kontrol ederek, hasar oluştuğunda düzelmesini sağlayan, düzeltilemeyecek olan büyük hasarlarda ise hücreyi apoptozise götüren gen grubudur (Baykara 2016). Kanser oluşumuna en çok neden olanları Retinoblastoma ve TP53 genleridir (Baykara 2016; Akgün 2018). Tümör supresör genlerinde oluşan mutasyonun kanser oluşturabilmesi için her iki alelde değişiklik olmalıdır. Tümör süpressör geninde oluşan ilk mutasyon zigotta gerçekleşmiş olabilir ya da sonradan ilgili dokuda gerçekleşebilir ve kanserin oluşması daha sonra aynı tümör süpressör geninde mutasyon meydana gelirse gerçekleşir (Pazarbaşı ve Kasap 2013).

2.5.1. Retinoblastoma Geni

Retinoblastoma geni Rb proteinini kodlar, bu protein siklin/siklin bağımlı kinazlar tarafından fosforile edilmektedir. Rb proteini E2F ile bağlanır ve hücre siklusunun kontrol noktalarından biri olan G (1) den S fazına geçiş bu şekilde durdurulur. Fosforile edilen Rb proteini E2F den ayrılır ve S evresine geçilir (Avcı 2009; İnci 2018). Rb geninde şekillenen bir mutasyon Rb proteinin yokluğuna veya fazla üretilmesine neden olmaktadır. Fazla miktarda üretilen Rb proteini uygunsuz fosforlanarak E2F ile bağlanamayarak, E2F gibi transkripsiyonel faktörlerin artmasına neden olmaktadır (Avcı 2009). Meme, mesane, osteosarkom, küçük hücreli akciğer kanseri gibi epitelial ve mezenşimal kanserler Retinoblastoma gen mutasyonu sonucu şekillenmektedir (İnci 2018).

2.5.2. p 53 Geni

TP53 gen mutasyon birçok kanser hücrelerinde tespit edilerek bu hücrelerin daha çok bölünüp, invaziv oldukları ve metastaz gerçekleştirdikleri yapılan çalışmalar sonucunda gösterilmiştir. TP53 DNA hasarı bulunan hücreyi tamir edilmek üzere G(1) fazında durdurarak CDK inhibitörü olan p21 transkripsiyonunu artırır. Artan p21 transkripsiyonu tamir mekanizmalarının başlamasını sağlayarak hasarın onarılması sağlanır. Düzeltilemeyecek hasar olması durumunda yine p53 geni Bax proteinini aktive ederek hücreyi apoptoza götürür (Gülsar ve ark 2016). P53 gen mutasyonları başlıca akciğer, mesane, kolon, pankreas, over, meme ve prostat kanserlerinde tespit edilmiştir. P53 pozitifliği ve % oranları Grafik 2' de gösterilmiştir.



Grafik 2. Değişik tümörlerde bildirilen p53 pozitifliği (Özdemir 1998).

2.6. Pankreas kanseri

Pankreas kanseri dünya genelinde kanser kaynaklı ölümlerin başlıca nedenleri arasında yer almaktadır. Pankreas kanseri tedavisinde cerrahi rezeksiyon, ancak lokal olarak ilerlemiş veya metastaz durumu düşük vakalarda az sayıda hastaya uygulanabilmektedir (Kaya 2014; Li 2018). Cerrahi müdahale yapılan vakalarda dahi 15-20 ay içerisinde rekürens görülmektedir. Kemoterapi, radyoterapi gibi yaklaşıma dirençli kanser hücreleri ise terapilerle tedaviyi sınırlandırmaktadır (Li 2018).

Amerika Birleşik Devletlerinde, pankreas kanseri insidansı 11. sırada bulunurken, kansere bağlı ölümler incelendiğinde ise 4. sırada yer almaktadır (Helvacı 2016). Yapılan araştırmalar sonucunda 2009 yılında Amerika Birleşik Devletlerinde 42.470 pankreas kanseri vakasının 35.240'ı ölümlerle sonuçlandığı bildirilmiştir (Jemal ve ark. 2009).

2.6.1. Pankreas Kanseri Nedenleri

Pankreas kanserinin etiyojisi kesin olarak belirlenemese de pankreas kanserine pek çok faktörün etkili olabileceği, bu faktörlerin de direk kanser oluşturmadığı bilinmektedir. Vakaların % 20-30' unun sigara kullanımı ile ilgisi bulunduğu tahmin edilmektedir (Ünek, 2010; İnan 2015). Sigaranın pankreas kanseri üzerine olan etkisi kesin olarak kanıtlanmasa da sigara içen insanların otopsi sonuçlarında pankreas nüvelerinde atipik değişimlerin olduğu ve ductus hücrelerinde hiperplazilerin olduğu görülmüştür (Alshair 2009). Yaş, obezite, metilksantin içeren içecekler (kahve gibi), radyasyon gibi mutajenlere maruz kalmak da pankreas kanseri için risk faktörüdür (İnan, 2015; Göral, 2014). Pankreas kanserinde hiperglisemi oluşumunun kötü prognoz ile ilişkisi olduğu düşünülmektedir. Hidrojen peroksit üretiminin kanser hücrelerinin invaziv ve göç yeteneklerinin artmasına neden olmaktadır (Li, 2011).

Tropik ve herediter pankreatik vakalarının pankreas kanserine yatkınlık oluşturduğu hatta herediter pankreatit hastalarında pankreas kanserine yakalanma oranı % 40' a ulaşmaktadır. Pankreatik intraepitelyal neoplaziler (PanIN), intraduktal papiller müsinöz neoplaziler (IPMN) ve müsinöz kistik neoplaziler (MCN) pankreatik kanserin gelişiminde bulunan öncü lezyonlardır (Avcı 2015). PAIN'ler çoğunlukla küçük pankreatik kanallarda lokalize olan noninvaziv mikroskopik epitelyal neoplazmalardır. IPMN; ana pankreatik kanal veya küçük kanallardan gelişip musin salgılayan asemptomatik yapılardır. Pankreasın tüm kistik tümörlerinin %20-50' sini oluştururken, yavaş ilerleme eğilimi göstermektedir ve sigara kullananlarda daha fazla görülür. MCN' ler nadir olarak görülür ve asemptomatik seyretmektedir (Göral 2014).

2.6.2. Pankreatik Duktal Adenokarsinom (PDAK)

Pankreatik kanser, dünya genelinde ölüm oranı en yüksek kanser türlerinden biridir. Son verilerde 4. sırada olduğu bildirilmektedir. Pankreatik kanserin ölüm oranının yüksek olmasının nedenleri; erken tanı zorluğu, hızlı metastaz kabiliyeti, radyoterapi ve kemoterapiye cevap vermemesi şeklinde sıralanmaktadır. Pankreatik kanserin erken dönemde saptamasının güçlüğü, pankreasın anatomik konumu, sinsi gelişmesi ve tümör belirteçlerinin olmamasından kaynaklanmaktadır (Gooiker ve ark. 2014).

Birçok kanserde olduğu gibi pankreatik kanserinin oluşumunda da rol alan önemli onkogenlerden biri de Ras gen grubudur. Ras gen ailesinin H-Ras, N-Ras ve K-Ras olmak üzere 3 üyesi bulunmaktadır. Pankreatik kanser araştırmalarında, K-Ras onkogen ürünü ve ilgili sinyal yolağı yoğun olarak çalışılan en önemli konulardan biridir (Magliano ve Logsdon 2013).

Tüm insan kanserlerinde %20 oranında saptanan K-Ras gen mutasyonu %95'lik oranla pankreas kanserinde en sık saptanan mutasyondur. K-Ras hücre çoğalması, hücre farklılaşması, hücre gelişimi gibi bir seri önemli hücresel süreç ile yakından ilişkilidir. 12p3'te yerleşim gösteren K-Ras geninde meydana gelen mutasyon, genellikle 12. kodonda nadir olarak da 13 ve 61. kodonda meydana gelen nokta mutasyonudur (Caldas ve Kern 1995).

Pankreas kanserinde en sık mutasyonun gözleendiği tümör baskılayıcı genler TP53, SMAD4/DPC4 ve CDKN2A/p16'dır (Hong ve ark. 2011). Kromozom 17p'de yerleşim gösteren TP53 geni tarafından kodlanan p53 proteini, hücre döngüsünün G(2)-M'de durdurulması, G(1)-S kontrol noktasının düzenlenmesi, apoptozun indüklenmesi ve DNA tamiri gibi mekanizmalarda rol oynamaktadır. TP53 geninde meydana gelen mutasyon sonucu p53 proteininde işlev kaybının olması, DNA hasarının meydana gelmesi durumunda hücrenin hayatta kalmasına ve bölünmenin devam etmesine sebep olur, bu da kanser gelişimine neden olabilecek genetik anomalilerin hücre içinde birikmesine yol açar (Vogelstein ve Kinzler 2004). Pankreas kanserlerinin %75'inde, TP53 geninde mutasyon mevcuttur (Scarpa ve ark. 1993; Moore ve ark. 2001). Ayrıca p53 genindeki değişiklikler K-Ras mutasyonu ile ilişkilidir (Sarkar ve ark. 2007).

Pankreatik kanserde H-Ras ve N-Ras gen mutasyonları çok nadir saptanmasına karşın, K-Ras gen mutasyonunun %95'lik oranla pankreatik kanserinde saptanan en sık mutasyon olduğu bildirilmektedir. Bu gende meydana gelen mutasyon tipi nokta mutasyonudur. K-Ras genindeki mutasyon pankreatik adenokarsinomun ilk evresinde meydana gelmektedir. Hücrenin gelişim, proliferasyon ve farklılaşma gibi fonksiyonlarını düzenlemektedir. Mutant K-Ras ekspresyonunun artmış mikro damarlanmayla (neovaskulizasyon) yoğun olarak korelasyon görülmektedir. Pankreatik kanser olgularında görülen "Epidermal Growth Factor (EGF)", "Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR)", TGF- α ve amfiregulin seviyesindeki artışın azalan yaşam süresiyle ilişkili olduğu

gösterilmiştir (Magliano ve Logsdon 2013). PDAK K-ras onkogeni (%95) i ve p16(%85) ; p53(%75) ve smad4 (%55) tümör baskılayıcı genlerde mutasyona yüksek frekansı ile ilişkilidir (Kern, 2000). Dahası aynı zamanda p16 geni mutasyona uğramadığı epigenetik olarak silindiği de bilinmektedir (Schutte ve ark., 1997). Aynı zamanda epidermal büyüme faktörü (EGF) ve reseptörü (EGFR), diğer tirozin kinaz reseptörleri ve diğer ligantlar ile transforming büyüme faktör beta (TGF- β) izoformlarının artan ekspresyonları da söz konusudur (Korc, 1998). EGFR'nin farklı yollarla aktivasyonu (mitojen aktive protein kinaz –MAPK, p38-MAPK ve jun kinaz-JNK) ile hücre otonom mitojenik ve otojenik sinyal kaskadları düzenlenir. Ayrıca PDAC'da tümör mikroçevresinde hücrelerin parakrin etkilerinin arttırdığına inanılan TGF- β 'nın smad bağımlı veya bağımsız sinyalleri aktive ettiği bilinmektedir (Citri ve Yarden 2006; Kang ve ark. 2009; Neesse ve ark. 2011). EGF ailesine ait (TGF- α , Heaprin bağlı EGF benzeri büyüme faktörü (HB-EGF) betasellülin ve amfiregulin gibi ligandlar) PDAK'ta yüksek seviyede ekspre olmaktadır ve PDAK'ın gelişiminde kanser hücrelerinde önemli düzeyde etkindirler (Korc 1998). Bu ligandlar tarafınadn EGFR aktivasyonu ile Ras/Raf/MAPK ve Rac/JNK/MAPK-p38 gibi karmaşık sinyal kaskadları uyarılır (Baldwin ve Korc 1993). EGFR ilgili diğer ligandlar EGFR'nin heterodimerizasyonu ile tümör progresyonunu arttıran Src, Raf1, B-raf, Crk ve Nck gibi sinyal yolaklarını da aktive edebilir (Hall ve ark. 1990). EGFR; K-Ras ve Smad 4 mutasyonu frekansındaki ve ekstraselüler matriksteki TGF- β artışlar sonucu tümörogenizde metastaz ve anjiyogenez ile epiteliyal mezensimal iletişimin şekillenmesinde önemli bir çok karmaşık hücre yolaklarında etkindir (Schutte ve ark. 1997; Hruban ve ark. 2000; Kern 2000; Rowland-Goldsmith ve ark. 2001; Rowland-Goldsmith ve ark. 2002; Kolb ve ark. 2007; Korc 2007; Neesse ve ark. 2011).

2.7. Lavandula bitkisi (Lavanta)

Lavanta, Laminaceae ailesinin önemli bir üyesidir. Lavandula türleri Akdeniz bölgesi, Fransa, İspanya ve İtalya' da yaygın olarak bulunur (Gören 2002; Hajhashemi ve ark. 2003). Lavanta ballıbabagiller familyasına aittir ve aromatik bitki yaprağı ve çiçeklere sahip olan, küçük ve yaprak dökmeyen bodur ağaçlarla yaklaşık 20 türden oluşur (Allaby 1992). İtalya'da 5 lavanta türü difüze oldu fakat asıl olarak ikisi, Karabaş otu ve Lavanta, yabaniye yetişir veya yetiştirilir (Pignatti 1982).

Lavanta yağlarının hoş kokusundan dolayı birçok kozmetik üründe kullanımının yanı sıra yüzyıllardır geleneksel tıp kullanımı da bulunmaktadır (McGimpsey ve Porter 1999). Geçmişten beri bitkisel tedavi amacıyla ilaç sektöründe kullanılan lavanta yağı; şampuan, deterjan, masaj yağı, yemek yapımı ve çay olarak da kullanılır (Basch ve ark. 2004; Denner, 2009; Hassiotis ve ark. 2014; Nadalin ve ark. 2014).

Lavanta yağının antineoplastikten antienflamatuar, antioksidan, antibakteriyel, antifungal, antiseptik, antiviral, antidepresif, sedatif ve immün uyarıcı etkilere kadar çeşitli farmakolojik aktivitelere sahip olduğu önerilmektedir (Cavanagh ve Wilkinson 2002; Atsumi ve Tonosaki 2007; Yang ve ark. 2010; Adaszynska ve ark. 2013; Nikolic ve ark. 2014; Carrasco ve ark. 2016; Shokri ve ark. 2017). Aynı zamanda lavanta yağının diğer kullanımları arasında, merkezi sinir sistemi bozukluklarında, kardiyovasküler ve solunum enfeksiyonlarında, kronik rahatsızlıklarının tedavisinde yer almaktadır (Dobetsberger ve Buchbauer 2011; Koulivand ve ark. 2013; Prusinowska ve Emigielski 2014; Wotman ve ark. 2017). Lavanta kompleks kimyasal yapısında lipofilik (esansiyel yağ) ve hidrofilik bileşenler (fenolik bileşenler, antosiyaninler, fitosteroller, tanin, flavon glikozidler) açısından zengin bir yapıya sahiptir (An ve ark. 2001; Shellie ve ark. 2002; Yang ve ark. 2010; Rajeshwari ve ark. 2014). Kök damıtması veya hidrodisilasyonu ile lavanta çiçeğinden elde edilen yağ linalool, linalil asetat, keton, kamfor, izomerik hidrokarbon (β -acimere), karyofilin, terpinol, lavanta, asetat gibi EO'nun 300 den fazla aktif biyolojik bileşik elde edilmiştir. Lavantada bulunan esansiyel yağ farmakolojik ve biyolojik özellikleri terpenoitler ve terpenlerin varlığından nitelendirilir (Umezu ve ark. 2006; Dupuy ve ark. 2014; Prusinowska ve Emigielski 2014; Carrasco ve ark. 2016; Coelho ve ark. 2017). Ek olarak, tüm lavanta yağlarının niteliksel ve niceliksel yapısı, önemli ölçüde genotipine, yetiştiği bölgeye, iklimsel koşullara, morfolojik özelliklerine bağlı olarak değişebilir (Cavanagh ve Wilkinson 2002; Emigielski ve ark. 2013; Lesage-Meessen ve ark. 2015; Fahim ve ark. 2017). Bazı çalışmalar lavanta esansiyel yağında bulunan bileşiklerin antinoseptif, immuunoredülatör ve antiinflammatuar özelliklerini araştırmıştır (Kim and Cho 1999; Peana ve ark. 2002). Bu çalışmalar, α -pipin, α -terpinon, terpin-4-ol, α -terpineol, linalil asetat ve linalool gibi farklı uçucu yağ bileşenlerinin etkileri üzerine olmuştur. Yapılan araştırmalar ele alındığında lavanta esansiyel yağında bulunan bileşiklerin doğrudan veya dolaylı olarak antienflamatuar veya antinoseptif aktivitelere sahip olabileceği sonucuna varılmıştır

(Gabriela ve ark. 2015). Bununla birlikte birçok kanser çalışmasında sitotoksik etkilerinin olduğu da rapor edilmiştir (Zu ve ark. 2010; Zamanian-Azodi ve ark. 2012; Ali ve ark. 2014).

Lavandula angustifolia batı Akdenize özgü Lavanta türüdür (Basch E ve ark. 2004; Denner 2009). Yağ çıkarma şeklinde, *L. angustifolia* çiçek ve yaprakları kullanılır (Cavanagh ve Wilkinson 2002). Çalışmalar, *L. angustifolia*'nın ayrılma ekstratının insan akciğer kanseri (A-549), meme kanseri (MCF-7), rahim ağzı kanseri (PC-3) ve prostat kanseri (PC-3) üzerinde sitostatik ve apoptatik etkileri olduğunu göstermiştir (Zu ve ark. 2010). *L. Angustifolia* damıtma ürünlerinin ana bileşenleri linalool (% 26-% 49) ve linalil asetat (% 17,6-% 53) ki bunlar karakteristik lezzet ve terapötik özelliklerinden sorumludur (Denner 2009; Budzynska 2011). *In vitro* çalışmalar, linaloolun apoptozu indükleyerek ve antitümör ünitesini aktive ederek SWG20, Hep G2, A-549 ve T47D hücrelerine karşı antiproliferatif aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir (Chang ve Shen 2004). Bir *in vivo* sarkom-180 tümör modeli çalışması, linaloolun antitümör potansiyelinin oksidatif stres modülasyonu ile elde edildiği belirtildi (Jana S 2014). Linalool ayrıca *Staphylococcus epidermis*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Candida albicans*'a karşı çok yüksek antimikrobiyel aktivite göstermiştir (Kundakovic 2014).

2.7.1. *Lavandula Stoechas*

Akdeniz Bölgesinde yaygın olarak görülen *Lavandula Stoechas* 45-50 cm yüksekliğe sahip, tüylü, çalimsı, çok yıllık bir bitki olmakla birlikte Hatay ilinde 100-700 metre yükseklikte doğal olarak yetişmektedir (Ayanoglu ve ark. 2000). Antiseptik, yara iyileştirici, balgam söktürücü, ağrı kesici, idrar yolları iltihaplarını giderici, epilepsi ve astımda yatıştırıcı özelliklerinden dolayı *Lavandula Stoechas*'ın tıbbi olarak kullanımı Anadolu halk arasında yaygındır (Öztürk ve ark. 2005).



Fotoğraf.1. *Lavandula stoechas* (Anonim Erişim: <http://www.agaclar.net/forum/ege-bolgesi/5202.html>)

Türkiye’de yetişen *Lavandula Stoechas* uçucu yağları; kafur, fenkon, borneol, terpinol, sineol, linalol, linalil asetat, bornil asetat ve kadinen içermektedir. Uçucu yağ % 30 kafur, % 18 fenkon içerdiğinden dolayı uçucu yağın yarısı ketondur ve bu özelliğıyle Avrupa’ da bulunan türlerinden farklıdır. Yine linalol oranı % 0,6 olduğundan Avrupada bulunan türlerin aksine linalol kaynağı değil, kafur kaynağıdır (Orhan 2007; Akgül 2014).

Tüm bu literatür bilgilerinin ışığında çalışmanın amacını; insan pankreatik adenokarsinomda *lavandula stoechas*’tan su destilasyon yöntemiyle elde edilen esansiyel yağların sitotoksik etkinliğı araştırılması oluşturmaktadır.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Hücre Kültürü (*İn Vitro* Çalışma)

Çalışmada insan Pankreatik adenokarsinom AsPC-1 (ATCC CRL-1682) hücre hattı kullanıldı. Hücreler, polietilenimin (sodyum borat tampon içerisinde 0.2 mg/ml, pH 8.3) ile kaplı 25 cm² lik hücre üretme kaplarına konuldu. Üzerlerine, içeriğinde % 10 oranında ısı ile inaktif edilmiş fetal sığır serumu (FBS) ve penisilin/streptomisin/amfoterisin B karışımı ihtiva eden yüksek glikozlu DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's) besiyeri eklendi. Hücreler 37°C, %5 CO₂ ve %95 hava bulunduran steril inkübatör şartlarında üretildi. Hücreler, besi yeri kabı tabanına %75-80 düzeylerinde yoğunluğa ulaştıklarında tripsinize (%0,025 Tripsin/EDTA) edilerek kaldırıldı. Devamında 200 g×5 dk süreyle santrifüj edilerek toplandı ve 1:3 oranında pasajlandı. Sonrasında hemositometrik hücre sayımı mikroskopta tripan mavisi boyası ile gerçekleştirilerek deneme grupları oluşturuldu. Deneme grupları hücre sayıları ml'de 1x10⁵ hücre olacak şekilde tasarlandı. *İn vitro* çalışma deneme grupları Tablo 2.' de verilmiştir.

Çizelge.1. *İn vitro* çalışma deneme grupları

Deneysel Çalışma Düzeni		
Deneme Grupları	Örnek sayısı x Grup Sayısı	Tekrar Sayısı
Deneme Grubu 1: AsPC-1 hücreleri	5x1	3
Deneme Grubu2: AsPC-1 hücreleri + <i>Lavanta Stoechas</i> esansiyel yağı	5x1	3

3.2. MTT Viyabilite Testi

Tiazolil Mavi Tetrazolyum Bromid (MTT) ayıracı, bir hücre topluluğundaki ancak canlı hücrelerin sahip olduğu mitokondrial redüktazların tetrazolyum halkasını parçalayarak canlı hücre popülasyonunu kantitatif ortaya koyabilmektedir. Parçalanma sonucu besiyerindeki sarı renkli ayıraç mavi-mor formazan rengine dönmektedir. Bu metotta 24 kuyucuklu besiyeri kaplarındaki hücelere, farklı konsantrasyonda LS esansiyel yağları (0.1, 0.25, 0.5 ve 1 µg/ml) 24 saat süre ile hücelere uygulandı ve sonra hücrelerin üzerilerindeki besiyeri alınarak, yerine içerisinde 20 µl MTT ayıracı (5 mg/ml besiyerinde çözülürük elde edilmiştir) bulunan 200 µl taze komple besiyeri eklendi. Sonrasında hücreler 4 saat, 37 °C’ de inkübe edildi. Ayıraç ile boyanan kristaller 100 µl 0.04 M HCL/isopropanol karışımı ile 15 dk süreyle çözdürüldü. Sonrasında tüplere alınan örnekler 12000 rpm ve +4 °C’de santrifüj edilerek ve 570 nm ışık dalga boyunda mikroye (µQuant ELISA reader) okuyucuda okutularak kaydedildi. Bu analiz ile lavanta bitkisinden elde edilen esansiyel yağın pankreatik adenokarsinom hücelere uygulanması sonucunda canlılığa etkileri araştırılarak proliferative ve sitotoksik etkinlikler ortaya konuldu.

3.3. RNA izolasyonu

İnkübasyonlar sonucu test gruplarının bulunduğu 25 cm² lik hücre kaplarında besiyeri uzaklaştırıldı. AsPC-1 hüceleri scraper aracılığıyla kaldırılarak steril tüplere alındı. Daha sonra tüpler 1 ml RNA izolasyon reaktifi (Trizol Reagent, Sigma) konuldu ve vortekslendi. Sonrasında örnekler oda ısısında 5 dk bekletilerek 12000 g × 4° C × 10 dk santrifüjlendi. Tüplerde üstte kalan sıvılar otoklavlanmış 1.5 ml’ lik yeni tüplere alınarak oda ısısında 5 dk süreyle bekletildi. Sonrasında üzerlerine 0.2 ml kloroform ilave edilerek, 15 sn vortekslendi. Bu işlemi takiben 25°C’ de 15 dk inkübe edilen örnekler 12000 g × 4°C×15 dk santrifüjlendi. Tüplerin üzerinde meydana gelen üç fazdan üstteki renksiz fazlar (RNA bulundurur) temiz tüplere alındı. Üzerlerine 0.5 ml izo-praonol (Merck) eklendi. Tüpler oda ısısında 5-10 dk inkübe edildikten sonra 12000 g × 10 dk santrifüjlenerek RNA çökeltilerinin meydana gelmesi gerçekleştirildi. Çökelekler üzerindeki üst sıvılar pipetlendikten sonra RNA’ lar 500 µl % 75’lik etil alkol (Merck) ile yıkandı. RNA içeren bu sıvı vortekslenerek 7500 g×5 dk yeniden santrifüjlendi. Sonrasında ise üst sıvılar atılarak, RNA’ ların 10-15 dk süre ile hava akımında kurutulması gerçekleştirildi. Tüplerdeki RNA çökelekleri üzerine 20 µl DEPC water (diethylpikarbonatlı su) eklenip, pipetlenerek

çözdürülmeleri gerçekleştirildi. Spektrofotometrede örneklerin RNA/DNA oranları (OD_{260}/OD_{280}) 1.7-2.0 aralığındaki örneklerin saflığı yüksek kabul edildi ve gen ekspresyon analizleri için bu örnekler kullanıldı.

3.4. Gen ekspresyon analizleri- qRT PCR analizleri

Polimeraz zincir reaksiyonu için “tek basamak nitelikli” hazır ticari ve “syber green” prob işaretli kitler kullanıldı (EurX, PL). Bu işlem için, kit protokolünde bulunan miktarda izole edilen RNA, master mix tampon çözeltisi, spesifik primerler (Oligomer/Türkiye firmasında dizaynı gerçekleştirildi) prosedürüne uygun miktarlarda bir strep özellikli 200 μ l’lik ependorf tüplerde toplanarak thermal syklırda (Bio RAD CFX96) cDNA dönüşümü ve PCR döngüleri sağlandı. Bu analizle çalışmanın inkübasyon süreleri sonrası deney gruplarından alınan RNA örneklerinde K-Ras ve EGFR gen ekspresyon düzeyleri kontrol gen GAPDH düzeyleriyle optimize edilerek araştırıldı ve ortaya konuldu. Araştırmada PCR döngüleri cDNA sentezi aşaması 50°C ’ de 30 dk, başlangıç inaktivasyonu ise 95°C ’ de 3 dk birer siklüs olarak gerçekleştirildi. Denatürasyon 94°C ’ de 15 sn, yapışma EGFR geni için 57°C ’ de 30 sn, K-Ras ve GADPH genleri için 60°C ’ de 45 sn uygulandı. Zincir uzama ise 72°C ’ de 30 sn olarak gerçekleştirildi. Döngüler 40 siklüs tekrarlı olarak gerçekleştirildi.

3.5. *Lavandula Stochas* Esansiyel Uçucu Yağların Elde Edilme Yöntemi:

Lavandula stochas, Eylül-Ekim arasında henüz çiçeklenmeye başladığı zamanda üniversitemizin ana yerleşkesinin bulunduğu lokasyonda dağ eteklerinden toplandı. Esansiyel yağlarının eldesi ise “Su Destilasyon Yöntemi” (Hidrodestilasyonu) ile On Dokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni anabilim dalı öğretim üyelerinden Doktor Öğrt. Üyesi Aydın ALTOP tarafından gerçekleştirildi. Sabit basınç altında kaynatılan bir sıvı karışım üzerinde oluşan buharın soğutucudan geçirilerek yoğunlaştırıldığı her işleme genel olarak “destilasyon” ya da “damıtma” denir. Bu işlem, kaynatılma ile bozulmayan bitkisel materyallere uygulanmakta ve bitkisel droglardan uçucu yağ ve aromatik su eldesinde kullanılmaktadır. Bu yöntem ile kısaca, yaklaşık 1 kg nemsiz ortamda kurutulmuş lavanta bitkisi “clavenger” cihazıyla kırılarak destilasyon cihazına yerleştirildikten sonra, üzerini örtecek kadar su ilave edildi. Dıştan ısıtılan sistemde buharlaşan su ve yağ

soğutucudan geçerek yoğunlaştırıldı ve toplama kabında biriktirildi. Elde edilen esansiyel yağları içeren koyu koruma kabı çalışma süresince +4⁰C’de tutuldu.

Çizelge.2. Araştırmada kullanılan gen spesifik primerler

Gen	Reverse	Forward
K-ras	5'-GGTCCTGCACCAGTAATATG-3'	5'-GGCCTGCTGAAAATGACTG-3'
EGFR	5'-CACACAGCAAAGCAGAAACT-3'	5'-ACCATCTCACAATTGCCA-3'
GAPDH	5 ¹ -CAT TGA ACT TGC CGT GGG TA-3 ¹	5 ¹ -GCTACCAGGGCTGCCTTCT-3 ¹

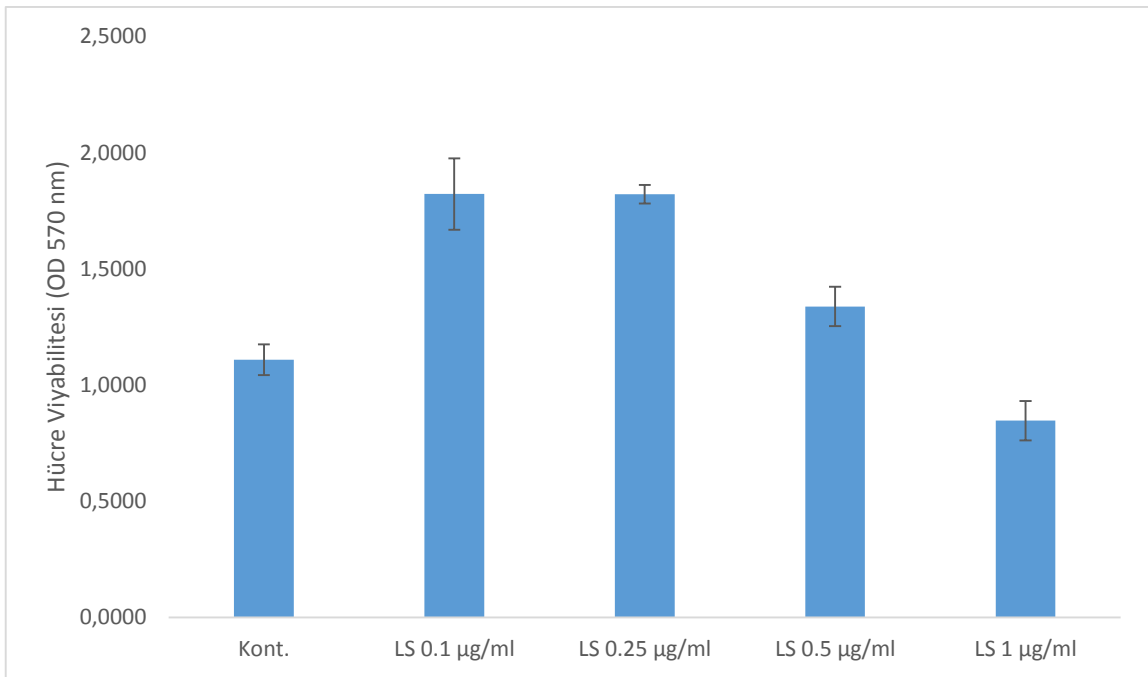
3.6. İstatistiksel Metod

Araştırmada elde edilen veriler, SPSS 21.0 programında, One-way ANOVA varyans analizi yöntemi ile gerçekleştirildi. Gruplar arasındaki istatistiksel farklar Duncan testi ile yapıldı. p<0.05 ve altı değerler istatistiksel olarak önemli kabul edildi. Değerler ortalama ±standart deviasyon ve standart hata (S.E) şeklinde verildi.

4. BULGULAR

4.1. Viyabilite sonuçları

Pankreatik duktal adenokarsinom hücrelerine değişik konsantrasyonda (0.1, 0.25, 0.5 ve 1 µg/ml) lavandula stoechas' tan elde edilen esansiyel yağlar uygulanarak 24 saat süreyle maruziyetleri sağlandı. Süre sonunda deneme kuyucuklarındaki hücrelerin canlılık seviyeleri MTT yöntemiyle analiz edildi.



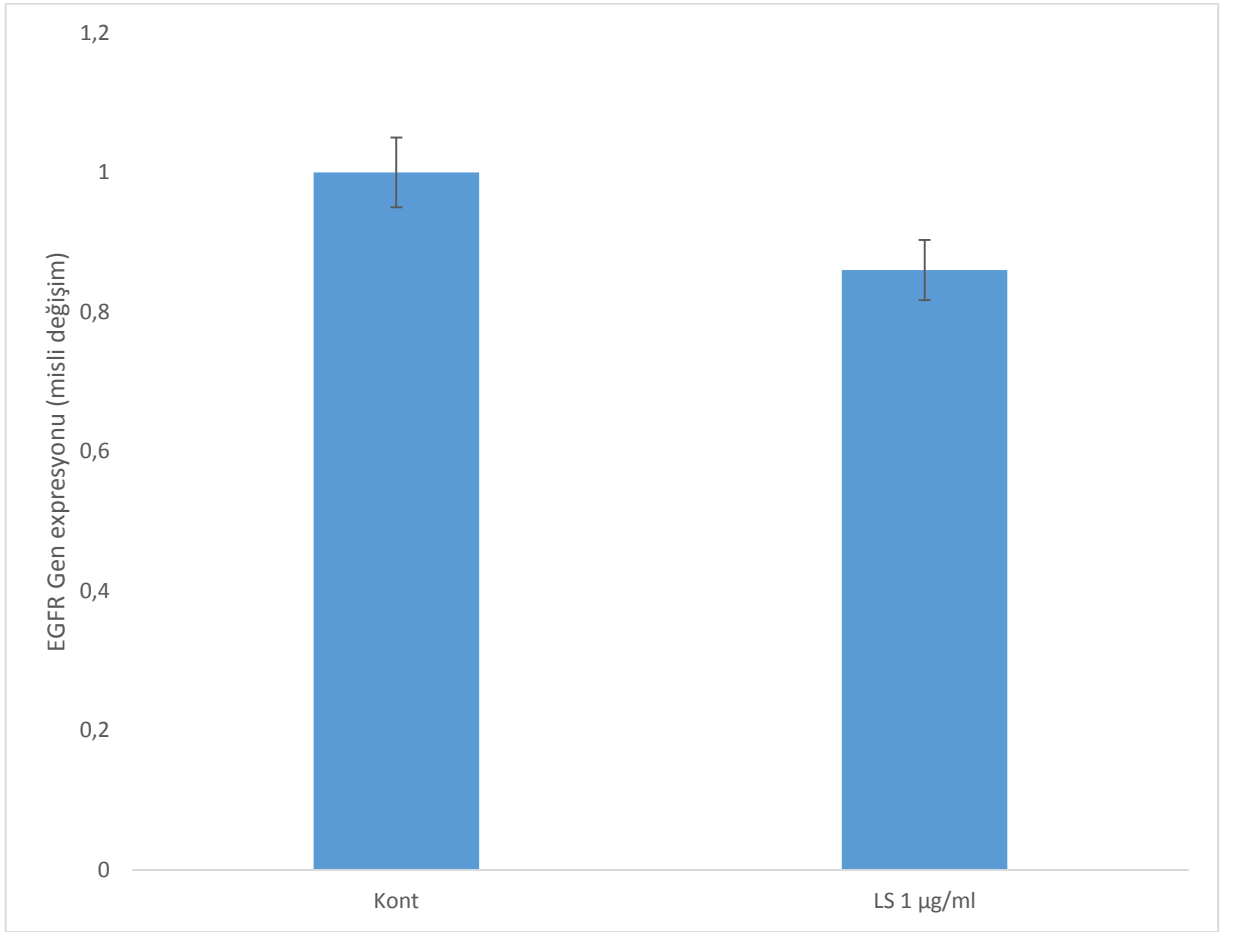
Grafik.3. Farklı dozlardaki *lavandula stoechas* esansiyel yağlarının hücre canlılığı üzerine etkileri (24 saat).

Analiz sonuçlarına göre viyabilite, kontrol grubuna göre sırasıyla LSEO'in 0.1, 0.25 ve 0.5 µg/ml konsantrasyonları sırasıyla % 64 (1.822 ± 0.343) ($p < 0.05$), % 64 (1.821 ± 0.088) ($p > 0.05$) ve % 20 (1.338 ± 0.189) ($p > 0.05$). düzeylerinde hücre artışına neden olmuştur. Ancak LS'nin 1 µg/ml konsantrasyonda hücrelere uygulanımı sonucu hücre yoğunluğu kontrol grubuna göre % 32 oranında azaldığı tespit edilmiştir (0.847 ± 0.189) ($p < 0.05$). Sonraki çalışmalar için bu konsantrasyon etkin doz olarak seçilmiştir.

4.2. Gen ekspresyon analiz sonuçları

AsPC-1 hücrelerine LS'in 1 µg/ml konsantrasyonda 24 saat uygulanımını takiben deneme gruplarından RNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Sonrasında ise bu örnekler tek basamaklı Syber Green kit ve gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu yöntemiyle EGFR ve K-Ras genlerinin ekspresyonları analiz edilmiştir. Çalışmada birbirinden bağımsız 3 örnek sonucunun ortalaması alınmış ve standart hatalar ise yüzdelik oranlara göre verilmiştir.

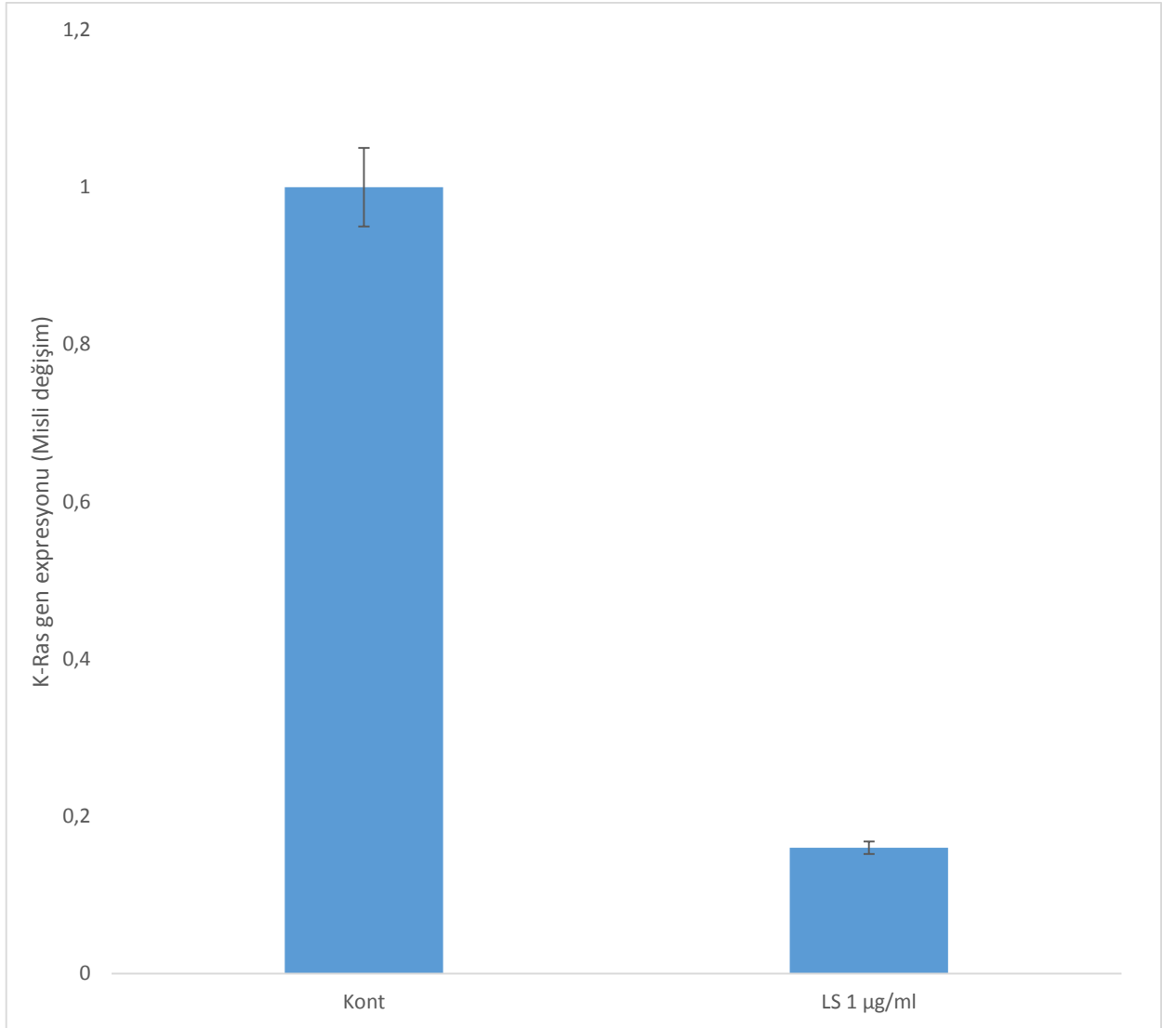
4.2.1. EGFR Gen ekspresyon düzeyleri



Grafik.4. 24 saat inkübasyondan sonra deneme gruplarındaki EGFR gen ekspresyon düzeyleri

Gerçek zamanlı PCR analizlerine göre LSEO'nun kontrol grubuna göre EGFR gen ekspresyon düzeyini 1.15 relatif misli değişimlerle down regüle ettiği tespit edilmiştir (n=3).

4.2.2. K-Ras Gen ekspresyon düzeyleri



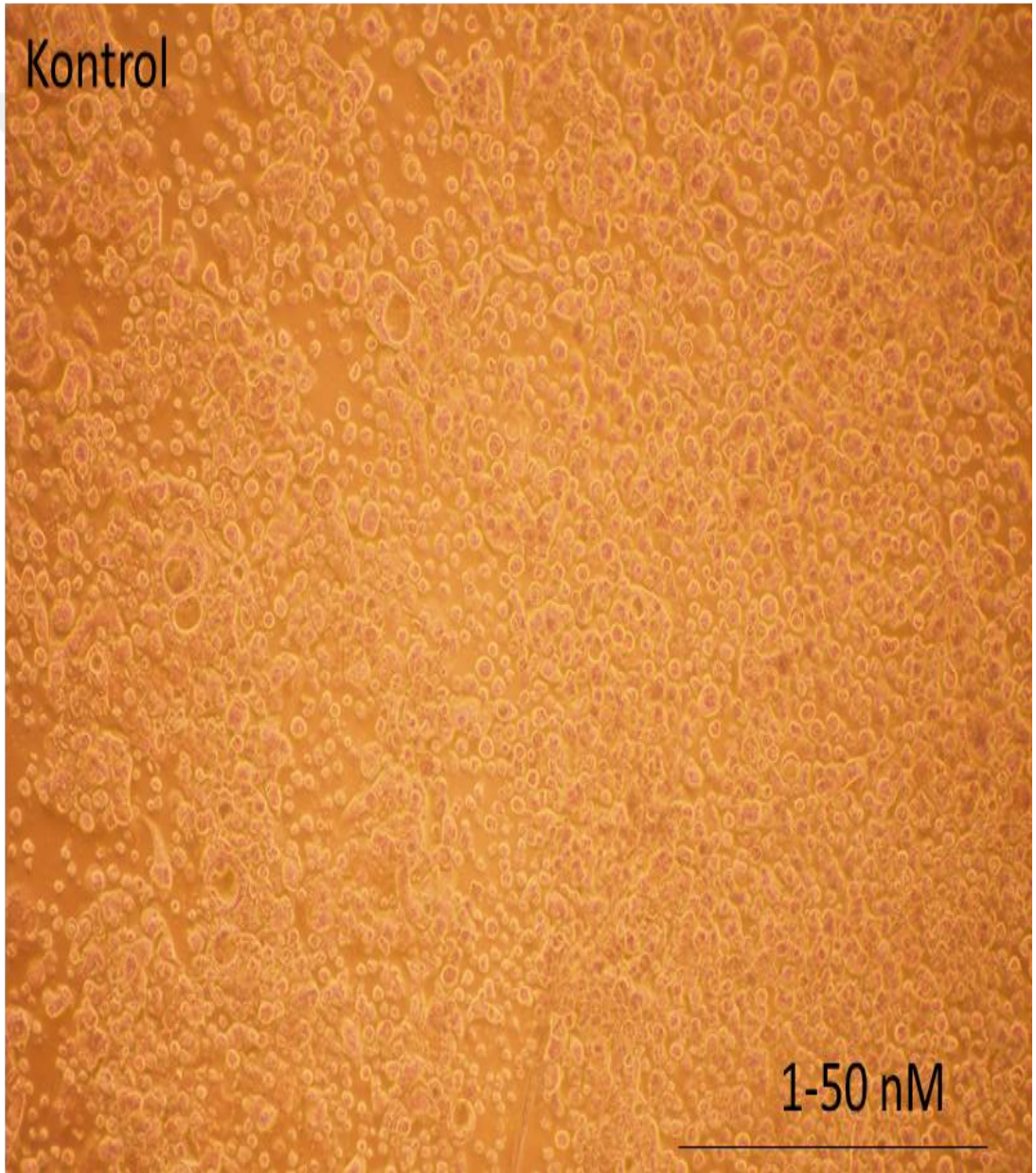
Grafik. 5. 24 saat uygulamılardan sonra gruplarındaki K-Ras gen ekspresyon seviyeleri

Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu analizlerine göre; LSEO'nun kontrol grubuna göre K-Ras ekspresyon düzeyini 6.41 relatif misli değişimlerle down regüle ettiği bulunmuştur (n=3).

4.3. Hücre Görüntüleri

Pankreatik adenokarsinomlara LS esansiyel yağlarının 24 saat süreyle uygulamaları sonucu hücre görüntüleri bir invert mikroskop (Olympus CK40,JP) ile 10x objektifiyle görüntülendi. Çalışmadan alınan fotoğraf görüntülerinde LS' in düşük konsantrasyonlarda etkileri proliferatifken, yüksek konsantrasyonlarının ise (1 $\mu\text{g/ml}$) kontrol grubuna göre sitotoksik etki gösterdiği ortaya konulmuştur.

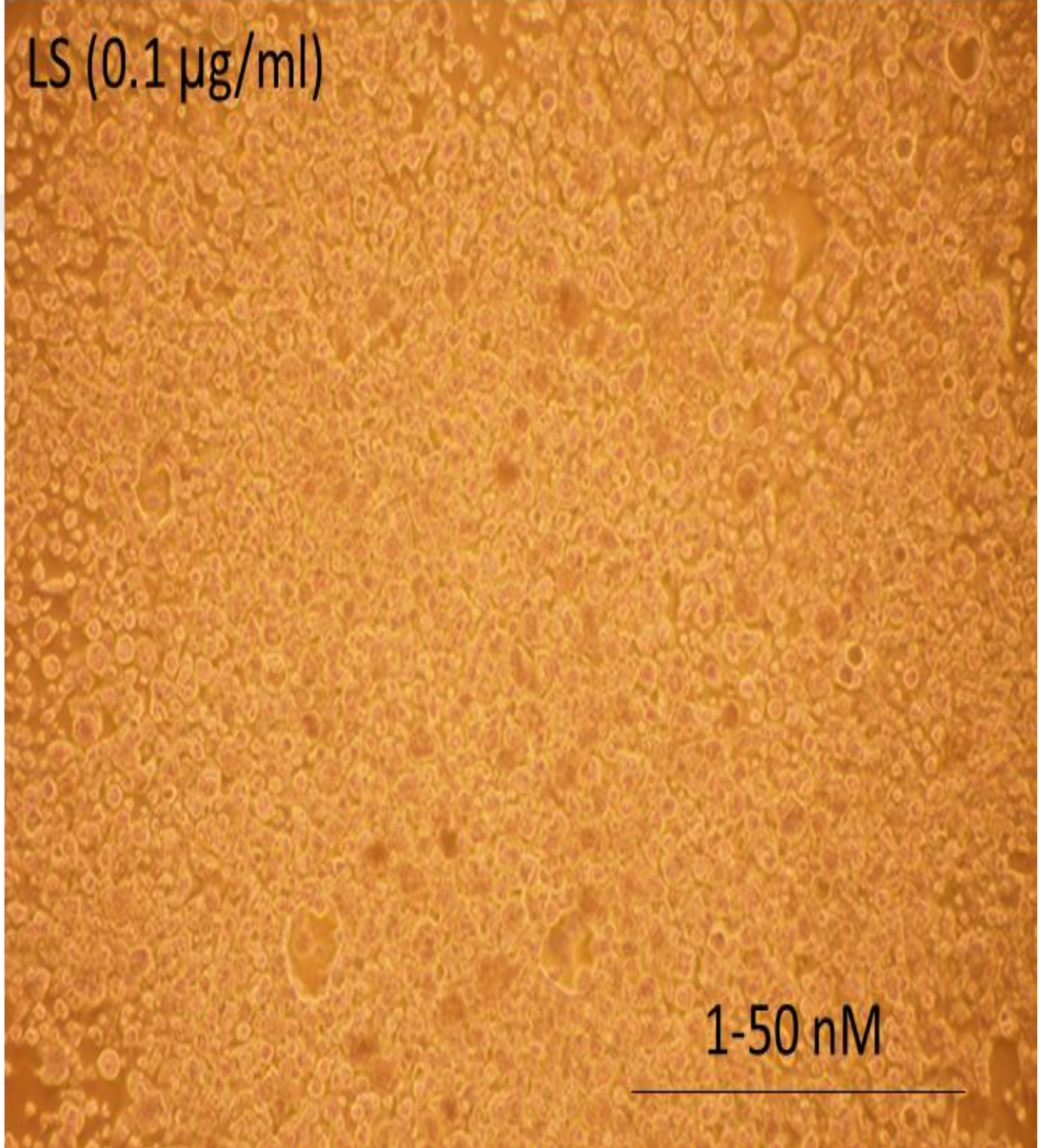
4.3.1. Kontrol grubu hücre görüntüleri



Fotoğraf.2. Kontrol grubu fotoğrafı (10x, skala bar 1-50 nm).

Çalışmada kontrol hücrelerinin morfolojilerinin normal pankreatik ductal adenokarsinom görünümüne sahip olmalarının yanında besi kabı tabanında homojen dağılım gösterdiği görülmektedir.

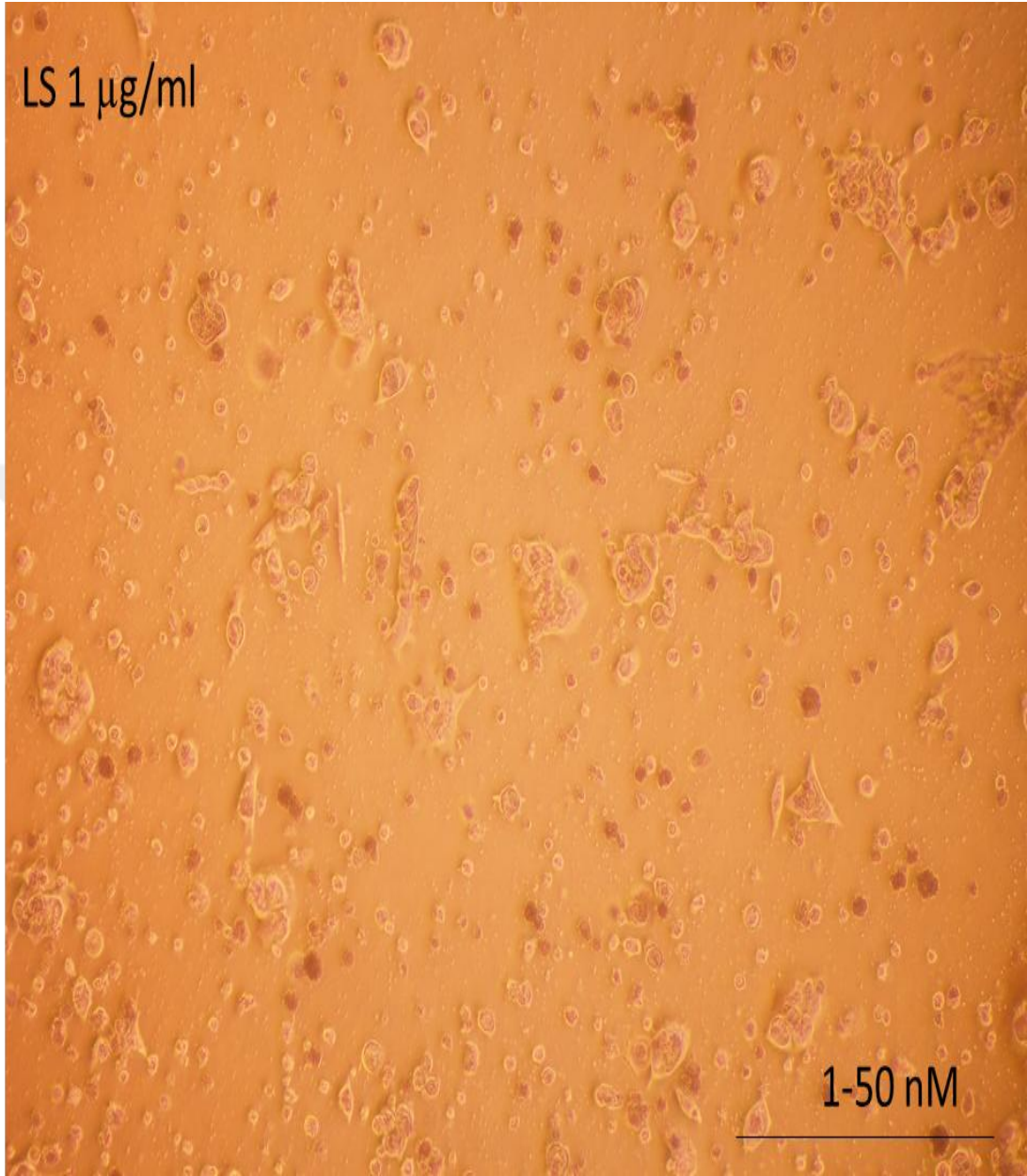
4.3.2. LSEO 0.1 µg/ml uygulanan gruptaki hücre görüntüleri



Fotoğraf .3. LSEO'in 1 µg/ml konsantrasyonda eklenen gruptaki hücre fotoğrafı (10x, skala bar 1-50 nm).

Hücrelere LSEO'nun 0.1 µg/ml ilavesi sonucu hücreler morfolojilerini korurken, hücre yoğunluğunun arttığı görülmektedir.

4.3.3. LSEO 1 µg/ml uygulanan gruptaki hücre görüntüleri



Fotoğraf .4. Hücelere LSEO'in 1 µg/ml konsantrasyonda eklenen gruptaki hücre fotoğrafı (10x, skala bar 1-50 nm).

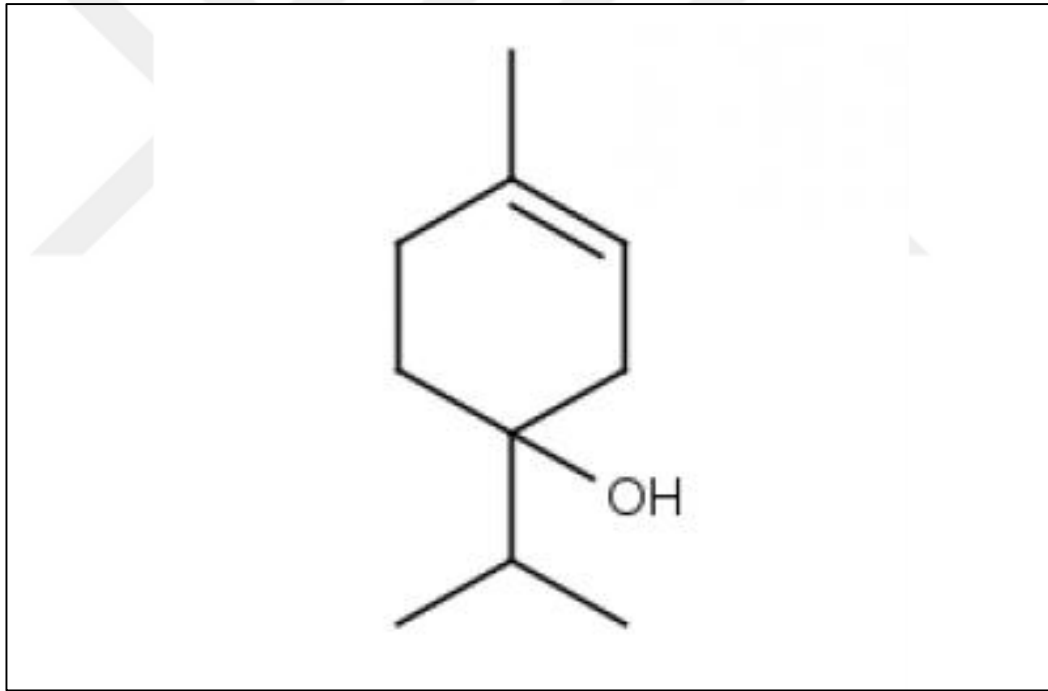
Adenokarsinomlara LSEO 1 µg/ml konsantrasyonda eklenerek 24 saat inkübasyonları sağlandı. Süre sonunda hücrelerin mikroskopik görüntülerinde, hücre yoğunluğunun önemli düzeyde azaldığı, ayrıca hücre morfolojilerinde dikkate değer şekilde farklılaştığı görüldü.

5. TARTIŞMA

Pankreas adenokarsinomları gelişmiş ülkelerde kansere bağlı ölümler arasında 10. sırayı almıştır. Avrupa’ da ortalama 40.000’in üzerinde, Amerika Birleşik Devletlerinde ise yaklaşık 30.000 ölüme neden olduğu belirtilmiştir. Pankreatik kanserinin teşhisi anatomik lokasyonundan dolayı çok zordur. Tedavide hali hazırda kullanılan kemoterapötik ajanlar yetersiz kalmakla birlikte birçok yan etkiye sahip olmaktadır. Bu nedenlerden dolayı tedavide araştırmalar özellikle doğal ürünlerden oluşan alternatiflere yönelmiştir. Fitoterapi tarih boyunca çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmıştır; günümüzde kanser tedavisinde de geniş kullanım alanları bulmaktadır.

Lavanta bitkisi geniş bir dağılıma sahip *Laminaceae* familyasına aittir. Lavanta yağlarının hoş kokusundan dolayı birçok kozmetik üründe kullanımının yanı sıra yüz yıllardır geleneksel tıp kullanımı da bulunmaktadır (McGimpsey and Porter 1999). Lavanta yağının temel bileşenleri linalool, linalyl acetate, 1,8-cineole, c-ocimene (cis ve trans-), terpinen-4-ol ve kamfordur. (Cavanagh ve Wilkinson 2002). Lavanta bitkisi esansiyel yağlarının içerisinde bulunan bileşiklerin, antibakteriyel (Nelson 1997), askarisidal (Perrucci 1996), antifungal (Antonov ve ark. 1997), kemoterapötik ilaçların yan etkilerini bertaraf edici (Nelson 1997), hepatoprotektif ve renoprotektif (Selmi ve ark. 2015) gibi birçok biyolojik özellikleri bulunmaktadır. Bununla birlikte birçok kanser çalışmasında sitotoksik etkilerinin olduğu da rapor edilmiştir (Zu ve ark. 2010; Zamanian-Azodi ve ark. 2012; Ali ve ark. 2014). Araştırmada elde edilen verilere göre LS esansiyel yağının PDAK hücreleri üzerine güçlü sitotoksik etkinlik gösterdiğini tespit ettik. Bu çalışmadaki bulgulara benzer olarak, Gören ve ark.(2002) *in vitro* LS esansiyel yağlarını farklı birçok kanser hattında (KB insan epidermoid karsinom, BC1 insan göğüs kanseri, LU1 insan akciğer kanseri, COL-2 insan kolon kanseri, P-388 fare lösemi kanseri ve LNCaP hormon bağımlı insan prostat kanseri) sitotoksik etkinlik gösterdiğini rapor etmişlerdir. Ancak aynı çalışmada özellikle ASK rat glioma hücreleri üzerine lavandula stoechas esansiyel yağlarının etkilerinin sınırlı olduğu da rapor edilmiştir. Yapılan bu çalışmadaki bulgulara benzer olarak Shapira ve ark. (2016) yaptıkları *in vitro* çalışmada, farklı gastrik kanser hücre hatları üzerine Terpinen-4-ol’ün sitotoksik etkinliğini araştırmış ve özellikle kolon ve pankreatik kanser hatlarında doz bağımlı olarak yüksek düzeyde sitotoksik etkinlik gösterdiğini rapor etmişlerdir. Araştırmacılar

bu etkinin özellikle apoptozu tetiklediğini ancak nekroz üzerine etkili olmadığını vurgulamışlardır. Benzer şekilde, Calcabrini ve ark. (2004) Terpinen-4-ol'ün melanoma hücrelerinde apoptotik etkinlik gösterdiğini belirtmişlerdir. Bunlara ek olarak Wu ve ark. (2012) yaptıkları *in vivo* ve *in vitro* çalışmada Terpinen-4-ol'ün büyük hücre insan akciğer kanseri modellemelerinde apoptozun uyarımıyla antikanser etkinliğini ortaya koymuşlardır. Nakayama ve ark. (2015) yaptıkları çalışmada xenograf *in vivo* fare kolorektal kanser modelinde Terpinen-4-ol'ün kaspaz 3/7 aktivasyonu ve mitokondriyal reaktif oksijen türlerinin artışı ile sitotoksik etkinlik gösterdiğini rapor etmişlerdir. Zu ve ark. (2010) yaptıkları *in vitro* çalışmada içerisinde lavandulanın da olduğu farklı esansiyel yağların sitotoksik etkinliklerini araştırmış ve özellikle prostat kanser hücreleri üzerine güçlü sitotoksik etkinlik gösterdiğini ortaya koymuştur. Aynı çalışmada bu esansiyel yağların akciğer ve göğüs kanser hücre hatlarında sınırlı etkilerinin de olduğu belirtilmiştir.



Şekil.6. Terpinen 4-ol'ün kimyasal yapısı (Anonim: Erişim: <https://www.extrasynthese.com/terpinen-4-ol.html>)

Pankreas kanserinde en sık mutasyonun gözlemlendiği tümör baskılayıcı genler TP53, SMAD4/DPC4 ve CDKN2A/p16'dır (Hong ve ark. 2011). Kromozom 17p'de yerleşim gösteren TP53 geni tarafından kodlanan p53 proteini, hücre döngüsünün G (2)-M'de durdurulması, G (1)-S kontrol noktasının düzenlenmesi, apoptozun indüklenmesi ve DNA tamiri gibi mekanizmalarda rol oynamaktadır. TP53 geninde meydana gelen mutasyon

sonucu p53 proteininde işlev kaybının olması, DNA hasarının meydana gelmesi durumunda hücrenin hayatta kalmasına ve bölünmenin devam etmesine sebep olur, bu da kanser gelişimine neden olabilecek genetik anomalilerin hücre içinde birikmesine yol açar (Vogelstein ve Kinzler 2004). Cha ve ark. (2010) yaptıkları in vitro çalışmada *Artemisia lavandulaefolia*'dan elde edilen esansiyel yağ ve 1,8-cineol'un KB ağız mukoza karsinoma hücrelerinde G (1) hücre siklüsünü durdurarak ve bununla birlikte PARP aktivasyonunu, DNA fragmentasyonunu, mitokondriyal stresi ve kaspaz aktivasyonunu tetikleyerek sitotoksik etki gösterdiğini rapor etmişlerdir. Greay ve ark. (2010) yaptıkları çalışmada Terpinen-4-ol'ün ilaç dirençli birçok kanser hücre türünde kaspaz uyarımlı apoptozu tetikleyerek antikanser etkinlik gösterdiğini ortaya koymuşlardır. Aynı araştırmacılar Terpinen-4-ol'ün B16 melanoma hücrelerinde özellikle apoptozu tetiklediğini AE17 mezotelioma hücrelerinde nekrozu tetikleyerek sitotoksik etkinlik gösterdiğini de rapor etmişlerdir. Araştırmacılar B16 melanom hücrelerinde bu monotERPEN bileşiğİN G (1) hücre siklüsünü bloke ettiğini de vurgulamışlardır.

Jardak ve ark. (2017) yaptıkları mcf7 göğüs kanseri üzerine biberiye esansiyel yağının anlamlı düzeyde sitotoksik etkinlik gösterdiğini rapor etmişlerdir. Araştırmacılar sitotoksik etkinliğin özellikle *Lavandula stoechas*ında kontentinde bulunan 1,8-cineole ve camphor gibi polyvalent etken maddelerden ileri geldiğini belirtmişlerdir. Yine Moteki ve ark. (2002) 1,8-cineole'ün 2 farklı lösemi kanser hattında apoptozu tetiklediği, ancak mide kanseri hücre hattında etkili olmadığını rapor etmişlerdir. Bununla birlikte Conforti ve arkadaşları yaptıkları in vitro çalışmada (2012) *Anthemis wiedemanniana* bitkisi esansiyel yağlarının bilşenleri olan (kamfor gibi) sayesinde melanoma ve akciğer kanser hücre hatlarında güçlü sitotoksik etkinlik gösterdiğini rapor etmişlerdir.

Pankreas kanserlerinin %75' inde, TP53 geninde mutasyon mevcuttur (Scarpa ve ark. 1993; Moore ve ark. 2001). Ayrıca p53 genindeki değişiklikler K-Ras mutasyonu ile ilişkilidir (Sarkar ve ark. 2007). Pankreatik kanserde H-Ras ve N-Ras gen mutasyonları çok nadir saptanmasına karşın, K-Ras gen mutasyonunun %95' lik oranla pankreatik kanserde saptanan en sık mutasyon olduğu bildirilmektedir. K-Ras Hücrenin gelişim, proliferasyon ve farklılaşma gibi fonksiyonlarını düzenlemektedir. Pankreatik kanser olgularında görülen "Epidermal Growth Factor (EGF)", "Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR)", TGF- α ve amfiregulin seviyesindeki artışın azalan yaşam süresiyle ilişkili olduğu gösterilmiştir

(Magliano ve Logsdon 2013). Epidermal Growth Factor (EGF) ailesine ait (TGF- α , Heparin bağı EGF benzeri büyüme faktörü (HB-EGF) betasellülin ve amfiregulin gibi ligandlar) PDAK'ta yüksek seviyede ekspre olmaktadır ve PDAK'ın gelişiminde kanser hücrelerinde önemli düzeyde etkindirler (Korc 1998). Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR); K-Ras ve Smad 4 mutasyonu frekansındaki ve ektstraselüler matriksteki TGF- β artışlar sonucu tümörögenizde metastaz ve anjiyogenez ile epiteliyal mezensimal iletişimin şekillenmesinde önemli birçok karmaşık hücre yollarında etkindir (Kern 2000; Rowland-Goldsmith ve ark. 2002; Neesse ve ark. 2011). Sunulan bu çalışmada, Lavandula stoechas esansiyel yağları uygulanan pankreatik kanser hücrelerinde, kanserogenezin önemli biyobelirteçlerinden olan K-Ras ve EGFR gen ekspresyonlarının önemli düzeyde down regule olduğu tespit edildi. Bu çalışmaya benzer olarak Shapira ve ark. 2016 kolorektal kanser hatlarında Lavandula türlerinde de bulunan Terpinen-4-ol'ün özellikle anti-EGFR terapiye dirençli K-Ras mutasyonunu tetikleyen promotörün aktivasyonunu inhibe ettiğini rapor etmişlerdir. Yapılan bu çalışmada elde edilen veriler, pankreatik duktal adenokarsinomda LS esansiyel yağının doz bağımlı olarak sitotoksik etkilerinin olduğu görüldü. Bu etkinin altında yatan hücresel ve biyokimyasal meknizmaların, yağın içerisinde bulunan 4 terpinol ve 1,8 linalool gibi bileşiklerin biyofonksiyonlarından kaynaklandığı düşünülmektedir. Her iki maddenin sitotoksik etkinliğinin altında yatan mekanizmalar, kanser hücrelerinde G (1) hücre siklusunun durdurulması, hücre içi ve mitokondriyal reaktif oksijen türleri artışı ve özellikle de kaspaz uyarımlı apoptozun tetiklenmesi gibi unsurlardan kaynaklanabilir.

6. SONUÇ

İnsan pankreatik adenokarsinomda *lavandula stoechas*'tan su destilasyon yöntemiyle elde edilen esansiyel yağların sitotoksik etkinliği araştırıldı. Araştırma sonuçlarına göre özellikle 1 µg/ml konsantrasyonda etkin olarak LS esansiyel yağları anlamlı derecede kanser hücre ölümlerine neden olduğu gösterildi. LSEO' nun bu etkinliğini ortaya koyabilmek için pankreatik adenokarsinomun patogenezinin sorumlu genlerin ekspresyonu da araştırıldı. Elde edilen verilere göre LSEO' ı K-Ras ve EGFR genlerinin ekspresyonlarını down regüle ettiği tespit edildi. Tüm literatür bilgileri ve bu araştırmann sonuçlarına göre, LSEO' ı pankreatik kanser tedavisinde potansiyel bir alternatif olabileceği kanısına varılmıştır. Bu tez çalışmasında alınan sonuçlar, LSEO' nun pankreatik kanserin hücrel mekanizmalarında ne gibi değişikler meydana getirdiği konusunda sonraki yapılacak kapsamlı çalışmalar için bir kaynak olarak kullanılabilceği gibi, aynı zamanda literatürdeki boşlukların doldurulmasına da büyük katkıları sağlayacağı düşünülmektedir.

7. KAYNAKLAR

1. **Adaszyńska M., Swarcewicz M., Dziêcio M. and Dobrowolska A.**, Comparison of chemical composition and antibacterial activity of lavender varieties from Poland., *Nat. Prod. Res.*, **2013**, 27(16): 1497- 1501.
2. **Akgül Y.**, İdrar Yolu Enfeksiyonlarına Neden Olan *Pseudomonas aeruginosa* ve *Klebsiella pneumoniae* İzolatlarına Karşı Bazı Bitki Ekstraktlarının Antibakteriyel Aktiviteleri., Yüksek Lisans Tezi, Hacı Bektaş Veli Üniversitesi, Nevşehir, **2014**.
3. **Akgün Ş., Küçükşayan H., Akça H.**, Kanser Moleküler Biyolojisi., *Tümör Baskılayıcı Genler*, Kısayol Yayınları, Özel Baskı, **2018**, s: 151-155.
4. **Aktuğ H.**, Apoptozis ve Hücre Döngüsü., *Ege Tıp Dergisi*, **2014**; 53(1): 60-64.
5. **Ali MA., Abul Farah M., Al-Hemaid FM., Abou-Tarboush FM.**, In vitro cytotoxicity screening of wild plant extracts from Saudi Arabia on human breast adenocarcinoma cells., *Genet Mol Res.* **2014**, 23; 13(2): 3981-3990.
6. **Allaby M.**, In *The Concise Oxford Dictionary of Botany.*, Oxford University Press: Oxford, U.K., **1992**.
7. **Alshair EE.**, Pilor Koruyucu Pankreatiko-Duodenoktomide Mortalite, morbidite ve Yaşam Süresi Üzerine Etkili Faktörler., İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Uzmanlık Tezi, **2009**.
8. **An, M., Haig T. and Hatfield P.** On-site field sampling and analysis of fragrance from living lavender (*Lavandula angustifolia* L.) flowers by solid-phase microextraction coupled to gas chromatography and ion-trap mass spectrometry., *J. Chromatogr. A.*, **2001**, 917(1-2): 245-250
9. **Anonim**, Hücre siklusu, Erişim: <http://webders.net/etiket/28/2/biyoloji.html>, **2019**, Erişim tarihi: 03.06.2019.
10. **Anonim**, *Lavandula stoechas*, Erişim: <http://www.agaclar.net/forum/ege-bolge/5202.html>, **2019**, Erişim tarihi:05.06.2019.
11. **Anonim**, Siklin bağımlı kinazlar ve hücre siklusu, Erişim: <http://www.biyolojidefteri.com/index.php/siklin-bagimli-kinazlar>, **2019**, Erişim tarihi: 04.06.2019.
12. **Anonim**, Terpinen 4-ol'ün kimyasal yapısı, Erişim: <https://www.extrasynthese.com/terpinen-4-ol.html>, **2019**, Erişim tarihi: 07.06.2019.
13. **Anonim**, Warburg Etkisi, Erişim: <https://www.drozdogan.com/meme-kanserinin-tedavi-sonrasi-tekrarlamasi-yag-metabolizmasiyla-iliskilendirildi/>. **2019**, Erişim tarihi: 03.06.2019.
14. **Antonov A, Stewart A, Walter M.**, Inhibition of conidium germination and mycelial growth of *Botrytis cinerea* by natural products. , *Proceedings of the 1997 New Zealand Plant Physiology Society 1997, Conference*. http://www.hortnet.co.nz/publications/nzpps/proceedings/97/97_159.html
15. **Atsumi T. and Tonosaki K.** , Smelling lavender and rosemary increases free radical scavenging activity and decreases cortisol level in saliva. *Psychiat. Res.*, **2007**, 150(1): 89-96.
16. **Avcı ÇB.**, Anaplastik Beyin Tümörlerinin Tanı ve Prognozunda Tümör Süpressör Genleri ve Onkogenlerin Rolü., Doktora Tezi, Ege Üniversitesi, **2009**.
17. **Avcı E.**, Juglonun BxPC-3 Pankreas Kanseri Hücrelerinde Sitotoksitesinin Değerlendirilmesi, İnvazyon ve Anjiyogenez Üzerine Etkisinin Araştırılması., Selçuk Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi, **2015**.
18. **Ayanoğlu F., Mert A., Kaya A.**, Hatay Florasında Yetişen Karabaş Lavantanın (*Lavandula stoechas* subsp. *stoechas* L.) Çelikle Köklendirilmesi Üzerine Farklı Lokasyonların ve Hormon Dozlarının Etkisi., Tübitak, *Turk J Agric for* **24**, **2000**, S: 607-610.
19. **Baldwin RL, Korc M** Growth inhibition of human pancreatic carcinomacells by transforming growth factor beta-1., *Growth factors*, **1993**, 8: 23-34.
20. **Basch E, Foppa I, Liebowitz R**, Lavender (*Lavandula angustifolia* Miller)., *J Herb Pharmacother.* **2004**, 4: 63-78.
21. **Baykara O.**, Kanser Tedavisinde Güncel Yaklaşımlar, *Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi*, **2016**, Cilt 5, Sayı 3, s: 154-165.
22. **Biankin AV., Waddell N., Kassahn KS.**, Pancreatic cancer genomes reveal aberrations in axon guidance pathway genes., *Nature*. **2012**, 491: 399-405
23. **Budzynska A, Wieckowska-Szakiel M, Sadowska B, Kalemba D, Rozalska B.**, Antibiofilm activity of selected plant essential oils and their major components., *Pol J Microbiol.* **2011**, 60: 35-41.
24. **Caldas C, Kern SE.** K-Ras mutation and pancreatic adenocarcinoma. *Int J Pancreatol*, **18**, **1995**, 1-6.
25. **Campbell PM., Singh A., Williams FJ.**, Genetic and pharmacologic dissection of Ras effector utilization in oncogenesis., *Methods Enzymol.* **2006**, 407: 195-217.

26. **Campbell SL., Khosravi-Far R., Rossman KL.,** Increasing complexity of Ras signaling., *Oncogene.*, **1998**, 17: 1395–1413.
27. **Canpolat F.,** Hücre Siklusu ve Apoptoz., *Güncel Dermatoloji Dergisi*, **2017**; Cilt 1, Sayı 1, s:11-17.
28. **Carrasco A., Tomas V., Tudela J. and Miguel MG.,** Comparative study of GC MS characterization, antioxidant activity and hyaluronidase inhibition of different species of Lavandula and Thymus essential oils., *Flavour Fragr. J.*, **2016**, 31(1): 57-69.
29. **Cavanagh HM, Wilkinson JM.** Biological activities of lavender essential oil., *Phytother Res.* **2002**, 16: 301-308.
30. **Chang MY, Shen YL.** Linalool exhibits cytotoxic effects by activating antitumor immunity., *Molecules.*, **2014**, 19: 6694-6706.
31. **Citri A, Yarden Y** EGF-ERBB signalling: towards the systems level., *Nat Rev Mol Cell Biol*, **2006** 7: 505–16.
32. **Coelho LS., Correa-Netto NF., Masukawa MY., Lima AC., Maluf S., Linardi A. and Santos-Junior JG.,** Inhaled Lavandula angustifolia essential oil inhibits consolidation of contextual-but not tone-fear conditioning in rats., *J. Ethnopharmacol.*, **2017**, 215: 34-41.
33. **Denissenko MF., Pao A, Tang MS, Pfeifer GP.** Preferential formation of benzo[a] pyrene adducts at lung cancer mutational hotspots in p53., *Science* **1996**, 274: 430-432
34. **Denner SS.,** Lavandula angustifolia Miller: English lavender., *Holist Nurs Pract.* ,**2009**; 23: 57-64.
35. **Dobetsberger C. and Buchbauer G.** Actions of essential oils on the central nervous system: An updated review., *Flavour Fragr. J.*, **2011**, 26(5): 300-316.
36. **Dupuy N., Gaydou V. and Kister J.,** Quantitative analysis of lavender (Lavandula angustifolia) essential oil using multiblock data from infrared spectroscopy., *Am. J. Analyt. Chem.*, **2014**, 5(10): 633.
37. **Dünya Sağlık Örgütü 2018 Verileri** www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer
38. **Erdamar H., Kazancı FH., Gök S.,** Kanserde Biyokimyasal Değişiklikler., *j Clin Anal Med*, **2014**; 5(suppl 3): 430-8.
39. **Erdoğan Ö.,** Kolorektal Kanser ve Öncü Lezyonlarında Kras ve Braf Mutasyon Analizleri Yoluyla Tanısal Yaklaşım ve Hedefe Yönelik Tedavi Seçimleri., Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, **2011**.
40. **Fernandez-Medarde A., Santos E.,** Ras in cancer and developmental diseases., *Genes Cancer.* **2011**; 2: 344–358.
41. **Göral V.,** Pankreas Kanseri: Patogenez ve Tanı., *Güncel Gastroenteroloji Dergisi*, **2014**, 407-414.
42. **Gören A., Topçu G., Bilsel G, Bilsel M, Aydoğmuş Z., Pezzuto JM.,** The chemical constituents and biological activity of Lavandula stoechas ssp. stoechas., *Z Naturforsch* , **2002** , 57: 797-800
43. **Gülsar MG, Özdemir HN., Çeviker K., Bağcı Ö., Tatar B., Yazkan R., Erdemoğlu E.,** Tümorengenezde p53 Geni ve Genetik Tedavi Yaklaşımları, *Mühendislik Bilimleri Tasarım Dergisi*, **2016**, 4(2), 133-135.
44. **Hajhashemi V., Ghannadi A., Sharif B.,** Anti- inflammatory properties of the leaf extracts and essential oil of Lavandula angustifolia Mill., *J Ethnopharmacol*, **2003**, 89: 67-71.
45. **Hall PA, Hughes CM, Staddon SL, Richman PI, Gullick WJ, et al.** (The cerbB-2 proto-oncogene in human pancreatic cancer., *Journal Pathol*, **1990** , 161: 195–200.
46. **Hassiotis C.N., Ntana F., Lazari DM, Poullos S., Vlachonasios KE.** , Environmental and developmental factors affect essential oil production and quality of Lavandula angustifolia during flowering period., *Ind. Crop. Prod.*, **2014**, 62: 359-366.
47. **Helvacı K., Üyetürk Ü., Sönmez Ö., Türker İ., Aslan ÜY.,** Pankreas Adenokarsinomlu Hastaların Demografik ve Klinikopatolojik Özelliklerinin Değerlendirilmesi, *Acta Onkologia Turcica*, **2016**, 49(2).
48. **Hong SM, Park JY, Hruban RH, Goggins M.,** Molecular signatures of pancreatic cancer. *Arch Pathol Lab Med*, **2011**, 135, 716-27.
49. **Hruban RH, Wilentz RE, Kern SE,** Genetic progression in the pancreatic ducts. *American J Pathol*, **2000**, 156: 1821–5.
50. **Işıkdogan A., Yalçın B., Akbulut H.** , Onkogenler ve Otoimmün Hastalıklar. , *Türkiye Klinikleri J Immunol Rheumatol.* **2003**; 3(1): 31-8.
51. **İnan S.,** Yüksek Fruktozlu Mısır Şurubu ve Sakkaroz Tüketen Sıçanlarda Dimetil Benzantrazen (DMBA) ile Oluşturulan Pankreas Adenokarsinomlarında Matriks Metalloproteinaz Aktivitelerinin İmmunohistokimyasal Yöntemle İncelenmesi, Doktora Tezi, Uludağ Üniversitesi, **2015** .
52. **İnci NS.,** İzole 13Q delesyonu Bulunan KLL Vakalarında Retinoblastoma Geni Delesyonunun İncelenmesi, Eskişehir Osman Gazi Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi, **2018**.

53. **İzgi K.**, Temel/Klinik Biyokimya., Kanser Biyokimyası., 1. Baskı, Pelikan Kitabevi, Ankara, **2017** s:821-831.
54. **Jana S, Patra K, Sarkar S**, Antitumorigenic potential of linalool is accompanied by modulation of oxidative stress: an in vivo study in sarcoma-180 solid tumor model., *Nutr Cancer*. **2014**; 66: 835-848.
55. **Jemal A., Siegel R., Word E., Hao Y., Xu J., Thun MJ.**, Cancer Statistic, CA. *A Cancer Journal for Clinicians*, **2009**, 59, 225-249.
56. **Jones S., Zhang X., Parsons**, Core signaling pathways in human pancreatic cancers revealed by global genomic analyses, *Science*, **2008**; 321: 1801–1806
57. **Jones, S., Zhang, X., Parsons** , Core signaling pathways in human pancreatic cancers revealed by global genomic analyses. *Science*. **2008**; 321: 1801–1806
58. **Kang JS., Liu C., Derynck R.**, New regulatory mechanisms of TGF-beta receptor function. *Trends Cell Biol.*, **2009**, 19: 385–94.
59. **Karnoub AE. and Weinberg RA.**, Ras oncogenes: split personalities., *Nat Rev Mol Cell Biol.* **2008**; 9: 517–531
60. **Kaya B.**, Pankreas Adenokarsinomu Tanısında Tümör Markırların Diagnostik Değeri, Konuralp Tıp Dergisi , **2014**, Cilt.6 , Sayı.1 , Sayfalar 70 – 73.
61. **Kern SE.**, Molecular genetic alterations in ductal pancreatic adenocarcinomas., *Med Clin North Am*, **2000**, 84: 691–5.
62. **Kısaçam MA., Ozan PST.** , Kanser Hücrelerinin Metabolik İhtiyaçları ve Bağımlılıkları, *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi*, **2017**, cilt 31, sayı:1, s:67-72.
63. **Koeffler HP., McCormick F., Denny C.**, Molecular mechanisms of cancer. *West J Med.*, **1991**; 155: 505–514.
64. **Kolb A, Kleeff J, Arnold N, Giese NA, Giese T**, Expression and differential signaling of heregulins in pancreatic cancer cells. *Int J Cancer*, **2007**, 120: 514–23.
65. **Korc M**, Role of growth factors in pancreatic cancer., *Surg Oncol Clin North America*, **1998**, 7: 25–41.
66. **Koulivand PH. ,Khaleghi Ghadiri M., Gorji A.** Lavender and the nervous system. *J. Evid. ,Based Complementary Altern. Med.*, **2013**, pp: 1-10.
67. **Kundakovic T, Stanojkovic T, Kolundzija B**, Cytotoxicity and antimicrobial activity of the essential oil from *Satureja montana* subsp. *pidisica* (Lamiaceae). *Nat Prod Commun.* **2014**; 9: 569-572.
68. **Lı W., Ma Q., Lı J., Guo K., Liu H., Han L., MA G.** , Hyperglycemia enhances the invasive and migratory activity of pancreatic cancer cells via hydrogen peroxide., *Oncology Reports*, **2011**, 25: 1279-1287.
69. **Li W., Song X., Yu H., Zhang M., Li F., Cao C., Jiang Q.**, Dendritik Cell-Based Cancer İmmunotherapy for Pancreatic Cancer., *Arab Journal of Gastroenterology*, (**2018**), 19 1-6.
70. **Magliano MP., Logsdon CD.** Roles for KRAS in Pancreatic Tumor Development and Progression, *Gastroenterology*. **2013** Jun; 144(6): 1220–1229.
71. **McGimpsey JA ve Porter NG.**, Lavender, A Grover’s Guide for Commercial Production. New Zeland Institute for Crop & Food Research Ltd., *New Zeland*, **1999** .
72. **Mızrak D., Akyaka H.**, Cancer patient and hunger, *Turkish Journal of Oncology*, **2015**, vol 30 , num 3.
73. **Moore PS, Sipos B, Orlandini S, Sorio C, Real FX, Lemoine NR, Gress T, Bassi C, Klöppel G, Kalthoff H, Ungefroren H, Löhner M, Scarpa A.**, Genetic profile of 22 pancreatic carcinoma cell lines: analysis of K-ras, p53, p16 and DPC4/Smad4., *Virchows Arch*, **2001**, 439, 798–802.
74. **Nađalin V., Lepojević Ž. , Ristić M., Vladiać J. , Nikolovski B , Adamovića D. ,** Investigation of cultivated lavender (*Lavandula officinalis* L.) extraction and its extracts. *Chem. Ind. Chem. Eng. Q.*, **2014**, 20(1):71-86.
75. **Neesse A, Michl P, Frese KK, Feig C, Cook N**, Stromal biology and therapy in pancreatic cancer. *Gut*, **2011**, 60: 861–8.
76. **Nelson NJ.** ,Scents or nonsense: Aromatherapy’s benefits still subject to debate. *J Natl Cancer Inst*, **1997**, 89: 1334–1336.
77. **Nelson RRS.**, *In vitro* activities of five plant essential oils against methacillin resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin resistant *Enterococcus faecium*., *J Antimicrob Chemother*, **1997**, 40: 305–306.
78. **Nikolić, M.; Jovanović, K.K.; Marković, T.; Marković, D.; Gligorićević, N.; Radulović, S. and Soković, M.** Chemical composition, antimicrobial, and cytotoxic properties of five Lamiaceae essential oils., *Ind. Crop. Prod.*, **2014** , 61: 225-232.
79. **Orhan S.** , Karabaşotu (*Lavandula Stoechas* L.). Bitkisinin Farklı İn Vitro Besi Ortamlarında Kültüre Alınması, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, İzmir, **2007**.

80. **Özdemir E.**, Ürotelyal Karsinogenezin Anlaşılmasında p53 Anahtarı., *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi*, **1998**; 18(5): 277-84 .
81. **Özgenoğlu S., Aydoğdu G. Dinçsoy AB., Taghidizaj AA. , Derici K., Yılmaz E., Aras S., Duman CD.**, Liken Sekonder Bileşiklerinin Farklı İnsan Kansere Hücre Tipleri Üzerine Anti-kanserojenik Etkisi., *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, **2013**; 70(4): 215-226.
82. **Öztürk B., Konyahoğlu S., Kantarcı G., Çetinkol D.**, İzmir Yöresindeki Yabani Lavandula stoechas L. Subsp Stoechas Taksonundan Elde Edilen Uçucu Yağın Bileşimi, Antibakteriyel, Antifungal ve Antioksidan Kapasitesi., *Anadolu Ege Tarımsal Araştırma Dergisi*, **2005**, Cilt 15, Sayı 1, s: 61-72.
83. **Pazarbaşı A. , Kasap M. ,** Kansere Genetiği., *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, **2013**, Cilt 12, Sayı 4.
84. **Perrucci S. ,** Acaricidal activity of some essential oils and their constituents against *Tyrophagus longior*, a mite of stored food., *J Food ,* **1995**, Prot 58: 560–563.
85. **Pignatti, S.** In Flora d'Italia; Edagricole: Bologna, Italy, **1982**; Vol. 2, pp 500-501.
86. **Prusinowska R., Emigielski KB.**, Composition, biological properties and therapeutic effects of lavender (*Lavandula angustifolia* L). A review. *Herba Pol.*, **2014**, 60(2): 56-66.
87. **Pylyayeva-Gupta Y., Grabocka E. and Bar-Sagi D.**, RAS oncogenes: weaving a tumorigenic web. *Nat Rev Cancer*. **2011**; 11: 761–774
88. **Pylyayeva-Gupta Y., Grabocka E., Bar-Sagi, D.**, RAS oncogenes: weaving a tumorigenic web., *Nat Rev Cancer*. **2011**; 11: 761–774
89. **Rajeshwari, C.U.; Shobha, R.I. and Andallu, B.** Phytochemicals in diet and human health with special reference to polyphenols. *Ann. Phytomed.*, **2014** ,3(2):4-25.
90. **Saka B.**, Kansere hastalarda Anoreksi-Kaşeksi Sendromu., *İç Hastalıkları Dergisi*, 2010; 17: 17-25.
91. **Sarkar FH, Banerjee S, Li Y.** Pancreatic cancer: pathogenesis, prevention and treatment., *Toxicol Appl Pharmacol*. **2007**; 224: 326-36.
92. **Scarpa A, Capelli P, Mukai K, Zamboni G, Oda T, Iacono C, Hirohashi S,** Pancreatic adenocarcinomas frequently show p53 gene mutations., *Am J Pathol*, **1993** , 142, 1534–1543.
93. **Scheffzek, K., Ahmadian, M.R., Kabsch, W. ,** The Ras-RasGAP complex: structural basis for GTPase activation and its loss in oncogenic Ras mutants. *Science*. **1997**; 277: 333–338
94. **Schutte M, Hruban RH, Geradts J, Maynard R, Hilgers W,** Abrogation of the Rb/p16 tumor-suppressive pathway in virtually all pancreatic carcinomas. *Cancer Res*, **1997**, 57: 3126–30.
95. **Selmi S, Jallouli M, Gharbi N, Marzouki L.** Hepatoprotective and Renoprotective Effects of Lavender (*Lavandula stoechas* L.) Essential Oils Against Malathion-Induced Oxidative Stress in Young Male Mice., *J Med Food*. **2015** Oct;18(10):1103-11.
96. **Shellie, R., Mondello, L., Marriott P. and Dugo G.**, Characterisation of lavender essential oils by using gas chromatography–mass spectrometry with correlation of linear retention indices and comparison with comprehensive two-dimensional gas chromatography., *J. Chromatogr. A*, **2002**, 970(1-2): 225-234.
97. **Shokri A., Saeedi M., Fakhar M., Morteza-Semnani K., Keyghobadi M., Teshnizi SH., Kelidari HR. and Sadjadi S. ,** Antileishmanial Activity of *Lavandula angustifolia* and *Rosmarinus officinalis* essential oils and Nano-emulsions on *Leishmania major* (MRHO/IR/75/ER)., *Iran. J. Parasitol.*, **2017**, 12(4): 622
98. **Spaargaren, M., Bischoff, J.R., and McCormick, F.** Signal transduction by Ras-like GTPases: a potential target for anticancer drugs. *Gene Expr.*, **1995**, 4: 345–356.
99. **Şimşek T., Cantürk NZ.**, Tiroid Karsinomlarının Genetik Temeli: Bir Derleme, *Okmeydanı Tıp Dergisi*, **2013** ,29(1): 1-7.,
100. **Telkoparan P., Tazebay UH.**, Ras Protein Ailesi: Hücre İşlevi, Moleküler Kontrolü, Onkogenezdaki Rolü, *Türk Biyokimya Dergisi*, 2011; 36 (4); 367–373.
101. **Türkiye Halk Sağlığı Kurumu**, Kansere İstatistikleri, Ankara. https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/kanser-db/istatistik/ANA_rapor_2013v01_2.pdf. **2016**.
102. **Umezue T., Nagano K., Ito H., Kosakai K., Sakaniwa M. and Morita M.**, Anticonflict effects of lavender oil and identification of its active constituents., *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **2006** , 85(4): 713-721.
103. **Ustaoglu MA.**, Temel Kansere Fizyopatolojisi., *Klinik Gelişim Dergisi*, 2009, Cilt 22, No 3, s:46.
104. **Ünek İT. ,** Pankreas Adenokarsinomunda Prognozu Belirleyen Faktörler, Tıbbi Onkoloji Uzmanlık Tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi, 2010.
105. **Vogelstein B, Kinzler KW.**, Cancer genes and the pathways they control. , *Nat Med.*, **2004** , 10, 789–99.
106. **Warburg O.**, *On the Origin of Cancer Cells. Science*, **1956**. 123(3191): p.309-314.

107. **Wotman M., Levinger J., Leung, L.; Kallush A., Mauer E. and Kacker A.** , The efficacy of lavender aromatherapy in reducing preoperative anxiety in ambulatory surgery patients undergoing procedures in general otolaryngology., *Laryngoscope Investig. Otolaryngol.*, **2017** ,2(6):437-441
108. **Yang SA., Jeon SK. , Lee EJ. , Shim CH. , Lee I.S.** Comparative study of the chemical composition and antioxidant activity of six essential oils and their components., *Nat. Prod. Res.* , **2010**, 24(2):140-151.
109. **Yokuş B. , Çakır ÜD.** , Kanser Biyokimyası, Dicle Üniv Vet Fak Dergisi **2012**: 1(2): 7-18
110. **Zamanian-Azodi M, Rezaie-Tavirani M, Heydari-Kashal S, Kalantari S, Dailian S, Zali H.**, Proteomics analysis of MKN45 cell line before and after treatment with Lavender aqueous extract. *Gastroenterol Hepatol Bed Bench*, 2012, Winter;5(1):35-42.
111. **Zu Y, Yu H, Liang L, Fu Y, Efferth T, Liu X, Wu N.** Activities of ten essential oils towards *Propionibacterium acnes* and PC-3, A-549 and MCF-7 cancer cells., *Molecules*. **2010** Apr 30;15(5): 3200-3210.



8. ÖZGEÇMİŞ

1988 yılında Burdur’da doğdu. İlkokulu Ceyhan Sakarya ilkokulu, ortaokulu Bağsaray Ünal Gürhan Ekiz İlköğretim Okulu (Burdur), liseyi Çeltikçi Lisesi (Burdur) ‘nde tamamladı. 2006 yılında Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi’ ni kazandı ve 2011 yılında mezun oldu. 2011 yılında Isparta’da bulunan yem fabrikasında ve aynı firmaya ait kombine (süt-besi) çiftliğinde yöneticilik yaptı. 2012 yılında evlendi ve eşi ile birlikte Hatay/Arsuz’da kendi kliniğini açtı. 2016 yılında Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Veteriner Fakültesi AD’da yüksek lisansa başladı. İki çocuk annesi.

