

KASIM 2012

Yüksek Lisans-Biyoloji Bölümü

AHMET ÇAKMAK

GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

*Satureja hortensis* L. ÖZÜTÜNÜN  
EHRlich ASİT TÜMÖRÜ OLUŞTURULMUŞ  
*SWISS ALBINO* TÜRÜ FARELERDE  
*IN VIVO* ANTİTÜMÖRAL ETKİSİNİN  
ARAŞTIRILMASI

BİYOLOJİ BÖLÜMÜ  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

AHMET ÇAKMAK  
KASIM 2012

***Satureja hortensis* L. Özütünün Ehrlich Asit  
Tümörü Oluşturulmuş Swiss Albino Türü  
Farelerde *İn vivo* Antitümöral Etkisinin  
Araştırılması**

**Gaziantep Üniversitesi  
Biyoloji Bölümü  
Yüksek Lisans Tezi**

**Danışmanlar**

**Yrd. Doç. Dr. Hasan AKGÜL**

**Yrd. Doç. Dr. İ. Halil KILIÇ**

**Ahmet Çakmak**

**Kasım 2012**

©2012 [Ahmet akmak]

T.C. GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**Tezin Adı:** *Satureja hortensis* L. Özütünün Ehrlich Asit Tümörü Oluşturulmuş Swiss Albino Türü Farelerde *In vivo* Antitümöral Etkisinin Araştırılması  
**Öğrencinin, Adı Soyadı:** Ahmet ÇAKMAK  
**Tez Savunma Tarihi:**06/11/2012

Fen Bilimleri Enstitüsü onayı



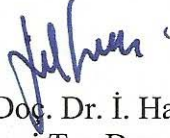
Doç. Dr. Metin BEDİR  
FBE Müdürü

Bu tezin yüksek lisans tezi olarak gerekli şartları sağladığını onaylıyorum.

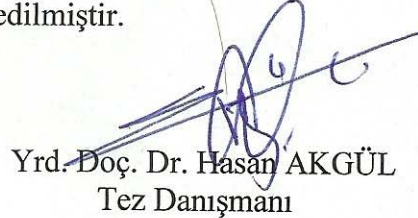


Prof. Dr. Mehmet ÖZASLAN  
Enstitü ABD Başkanı

Bu tez tarafımda (tarafımızca) okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.



Yrd. Doç. Dr. İ. Halil KILIÇ  
İkinci Tez Danışmanı



Yrd. Doç. Dr. Hasan AKGÜL  
Tez Danışmanı

Bu tez tarafımızca okunmuş, kapsam ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri:

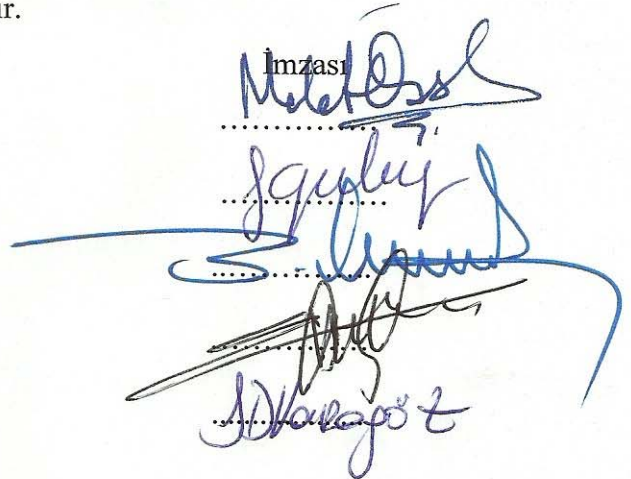
Prof. Dr. Mehmet ÖZASLAN

Doç. Dr. Filiz ÖZBAŞ GERÇEKER

Doç. Dr. Bektaş TEPE

Yrd. Doç. Dr. Hasan AKGÜL

Yrd. Doç. Dr. Işık Didem KARAGÖZ



İmzası  
.....  
.....  
.....  
.....  
.....

**İlgili tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilerek ilgili tezde yer aldığını beyan ederim.**



**Ahmet Çakmak**

## ABSTRACT

### Research of *In Vivo* Antitumoral Effect of *Satureja hortensis*. L. Extract Burden Ehrlich Ascites Tumour In Swiss Albino Mice

CAKMAK, Ahmet

M.Sc. in Biology

Gaziantep University

Graduate School of Natural and Applied Sciences Department of Biology

Supervisors: Asist. Prof. Hasan AKGUL- Asist. Prof. İ. Halil KILIC

November 2012, Pages: 47

The *in vivo* antitumoural effect of *S. hortensis* L. ethanol extract on Swiss albino mice induced with Ehrlich ascites tumour (EAT) was determined for the first time. In this study 60 Swiss albino mice were used which body weights were 28-30 g and ages are 8-10 weeks. 6 groups were formed with all animals randomly (n=10) and  $1 \times 10^6$  EAC cells suspended with 0.1 ml PBS were injected intraperitoneally to all groups except from control groups. *S. hortensis* ethanol extracts were given to experimental groups with 150-200-250 mg/kg/gün dosage per orally. The third day after tumor inoculation, extract was started to administration and it was limited only 10 days. At the same time the tap water was given to control groups. The effects of ethanol extract of *S. hortensis* on tumour growth were evaluated with food and water consumption, weight gain and also histopathologic parameters.

The administration of *S. hortensis* with 150 mg/kg/day dosage was reduced tumour burden arose from EAT. Histopathologic evaluations and reduced body weights in this group showed suppressed effects of *S. hortensis* on tumour cells.

**Key Words:** EAT, Swiss albino, *Satureja hortensis*

## ÖZ

### ***Satureja hortensis*. L. Özütünün Ehrlich Asit Tümörü Oluşturulmuş Swiss Albino Türü Farelerde *In vivo* Antitümöral Etkisinin Araştırılması**

Ahmet ÇAKMAK

Gaziantep Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Yöneticileri: Yrd. Doç. Dr. Hasan AKGÜL-Yrd. Doç. Dr. İ. Halil KILIÇ

Kasım 2012, Sayfa: 47

Bu çalışmada *in vivo* kanser modellerinde etkinliği değerlendirilmemiş olan *S. hortensis* bitkisi, Ehrlich asit tümörü (EAT) oluşturulmuş Swiss albino ırkı farelere gavaj yoluyla verilerek *in vivo* antitümöral etkisi araştırılmıştır.

Çalışma kapsamında 28-30 gr ağırlığında 8-10 haftalık 60 adet erkek Swiss albino soyu fare kullanılmıştır. Tüm hayvanlar randomize olarak 6 gruba bölünmüş (n=10) ve kontrol grupları hariç tüm gruplara 0,1 ml PBS'de süspanse edilmiş  $1 \times 10^6$  EAT hücresi intraperitoneal olarak enjekte edilmiştir. Deneme gruplarına ise *S. hortensis* özütü (150-200-250mg/kg/gün) olarak gavaj yoluyla verilmiştir. Özütün uygulamaya başlama zamanı tümör inokülasyonundan sonraki 3. gündür ve uygulama süresi 10 gün ile sınırlandırılmıştır. Kontrol gruplarına ise *S.hortensis* özütü yerine aynı hacimde çeşme suyu 10 gün boyunca gavaj yoluyla uygulanmıştır. Tümör gelişimi üzerine *S. hortensis* özütünün etkileri sırasıyla günlük besin ve su tüketimi, ağırlık artışı ve histopatolojik olarak değerlendirilmiştir.

EAT'den kaynaklanan tümör yükünü 150 mg/kg/gün *S. hortensis* uygulaması azaltmıştır. Bu grupta görülen ortalama vücut ağırlığındaki azalışın yanı sıra, histopatolojik değerlendirmeler *S. hortensis*'in tümör hücreleri üzerine baskılayıcı etkileri olduğu göstermiştir.

**Anahtar Kelimeler:** EAT, *Swiss albino*, *Satureja hortensis*

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca maddi manevi desteğiyle her zaman yanımda olan, bilgisi, deneyimi, çalışkanlığı, fedakarlığı ve dürüstlüğüyle örnek aldığım değerli hocam Prof. Dr. Mehmet ÖZASLAN'a,

İlgi, bilgi, ve maddi-manevi desteğini benden esirgemeyen, her konuda destek veren, değerli danışman hocalarım Yrd. Doç. Dr. İbrahim Halil KILIÇ ve Yrd. Doç. Dr. Hasan AKGÜL'e

Tezimin hazırlanmasında yardımcı olan, sabır, bilgi, beceri ve anlayışını benden esirgemeyen sevgili hocam Yrd. Doç. Dr. Işık Didem KARAGÖZ ve Kardiyoloji Uzmanı Dr. Alper KARAGÖZ'e

Tezin patolojik değerlendirmesinde büyük özveri gösteren Patoloji Ana Bilim Dalı Başkanlığı teknisyen kadrosuna ve özellikle de değerli hocalarım Prof. Dr. Metin KARAKÖK ve Yrd. Doç. Dr. Zehra BOZDAĞ'a

Deney çalışmaları boyunca bana yardımcı olan sevgili arkadaşlarım Bio. Ceyda UYAR, Yük. Biyolog İzzettin GÜLER, doktora öğrencisi arkadaşım Yük. Biyolog Mustafa IŞIK, Yük. Bio. Yağmur GÜRPINAR, Bio. Zeynep Gizem ATAY, Bio. Derya SÖNMEZ, Bio. Mehmet ERDEM, Bio. Ceren TEKİN, Mol. Bio. M. Tahir HÜSUNET'e,

Anlayışı, sabrı ve titizliğiyle bana örnek olan değerli hocam Doç. Dr. Bektaş TEPE'ye,

Tez konusunda tecrübelerinden faydalandığım Arş. Gör. Fatih Yayla'ya,

Maddi manevi destekleriyle tüm yaşamım ve eğitimim boyunca her zaman yanımda olan ve beni destekleyen AİLEM'e teşekkürü bir borç bilirim.



## İÇİNDEKİLER

SAYFA

BAŞLIK SAYFASI.....	i
TELİF HAKKI SAYFASI.....	ii
ONAY SAYFASI.....	iii
BEYAN SAYFASI.....	iv
ABSTRACT.....	v
ÖZ.....	vi
TEŞEKKÜR.....	vii
İÇİNDEKİLER.....	viii
TABLolar LİSTESİ.....	x
GRAFİKLER LİSTESİ.....	xi
RESİMLER LİSTESİ.....	xii
SEMBOLLER VE KISALTMALAR.....	xiii
1. GİRİŞ .....	1
1.1. . Deneysel Tümör Modelleri.....	4
1.1.1. Ehrlich Asit Tümörü (EAT).....	5
1.2. <i>Satureja hortensis</i> L. (Geyik Otu).....	8
1.2.1. Botanik Bilgiler.....	8
2. LİTERATÜR BİLDİRİMLERİ.....	11
2.1. Folklorik Kullanımı ve Ekonomik Önemi.....	11
2.2. Kimyasal İçeriği ile İlgili Çalışmalar.....	11
2.3. <i>S. hortensis</i> 'in Biyolojik Aktivite Potansiyeli.....	14
2.3.1. Antioksidan ve Serbest Radikal Süpürücü Etkisi.....	14
2.3.2. Antibakteriyal ve Anti-biofilm Etkisi.....	14
2.3.3 Antifungal Etkisi.....	15
2.3.4. Anti-İnflamatuar Etkisi.....	16
2.3.5. Analjezik Etkisi.....	17
2.3.6. İnsektisidal Etkisi.....	17

2.3.7. Antispazmodik ve İshal Kesici Etkisi.....	18
2.3.8. Genotoksisite Etkisi.....	18
2.3.9. Anti-Koagülatör Etki.....	18
2.3.10. Anti-Proliferatif Etki.....	19
2.3.11. Anti-Kanser Etki.....	19
3. MATERYAL METOD.....	20
3.1. Materyal.....	20
3.1.1. Kimyasal Maddeler.....	20
3.1.2. Cihazlar ve Diğer Gereçler.....	20
3.1.3. Araştırmada Kullanılan Deney Hayvanları.....	20
3.2. Metot.....	21
3.2.1. <i>Satureja hortensis</i> L. (Anık)'ın Toplanması ve Teşhisi.....	21
3.2.2. <i>Satureja hortensis</i> L. (Anık) Özütünün Eldesi.....	21
3.2.3. <i>Satureja hortensis</i> L. Özütünün Sıvı EAT Üzerine Olan Etkisinin Araştırılması.....	21
3.2.4. Tümör Gelişiminin Takip Edilmesi.....	21
3.2.5. EAT'nin Patolojik Olarak İncelenmesi.....	22
3.3. İstatistiksel Analiz.....	22
4. BULGULAR.....	23
4.1. Vücut Ağırlık Değişimi.....	23
4.2. Histopatolojik Değerlendirmeler.....	23
4.3. Ortalama Yaşam Süresi.....	30
5. TARTIŞMA SONUÇ.....	31
KAYNAKÇA.....	34

## TABLÖLAR LİSTESİ

	SAYFA
<b>Grafik 4.1.</b> Deney Gruplarına Ait Ortalama Tümör Tutulumu Miktarı.....	24
<b>Grafik 4.2.</b> Deney Hayvanlarına Ait Ortalama Ölüm Oranları.....	30
<b>Grafik 4.3.</b> Deney Hayvanlarına Ait Ortalama Yaşam Süreleri.....	30

## GRAFİKLER LİSTESİ

SAYFA

<b>Tablo 4.1.</b> Deneme Gruplarına ait Ortalama Vücut Ağırlıkları Değişimi.....	23
--	----

## RESİMLER LİSTESİ

	SAYFA
<b>Resim 1.1.</b> <i>S. hortensis</i> 'in arazi görüntüsü.....	9
<b>Resim 1.2.</b> <i>S. hortensis</i> 'in arazi görüntüsü.....	10
<b>Resim 1.3.</b> <i>S. hortensis</i> 'in arazi görüntüsü.....	10
<b>Resim 4.1.</b> Kontrol gruplarına ait histopatolojik resimler.....	25
<b>Resim 4.2.</b> İri hiperkromatik nükleuslu, belirgin nükleollü, eozinofilik sitoplazmalı atipik görünümlü tümör hücreleri.....	26
<b>Resim 4.3.</b> Grup IV'de periton dokusu yüzeyinde küçük gruplar halinde tümör hücresi.....	26
<b>Resim 4.4.</b> Grup I'de böbrek dokusu komşuluğunda tabaka halinde tümör hücreleri.....	27
<b>Resim 4.5.</b> Grup I'de periton dokusu yüzeyinde tek tek duran tümör hücreleri.....	27
<b>Resim 4.6.</b> Grup I'e ait karaciğer dokusu yüzeyinde serbest halde tek tek duran tümör hücreleri.....	28
<b>Resim 4.7.</b> Grup II'de serozal yüzde grup halinde tümör hücreleri.....	28
<b>Resim 4.8.</b> Grup III'de Karaciğer dokusu komşuluğunda bir kısmı nekrotik tümör hücre grubu.....	29
<b>Resim 4.9.</b> Grup III'de kalın bağırsak kas tabakası içerisinde tümör hücre infiltrasyonu.....	29

## SEMBOLLER/KISALTMALAR LİSTESİ

ATP	Adenozintrifosfat
DNA	Deoksiribonükleik asit
DPPH	2,2 Dipheniyl-1-picrylhydrazyl
EAT	Ehrlich Ascites Tumor
GC-FID	Gaz Kromatografisi Alev İyonizasyon Dedektörü
GC-MS	Gaz Kromatografisi Kütle Spektrofotometresi
HCl	Hidroklorik Asit
H&E	Hematoksilen-Eosin
i.p.	İntraperitoneal
kcal	Kilokalori
kGy	Kilogray
LC <sub>50</sub>	Letal Konsantrasyon 50
LD <sub>50</sub>	Letal Doz 50
MIC	Minimum İnhibitör Konsantrasyonu
M.Ö.	Milattan Önce
MPa	Megapaskal
M.S.	Milattan Sonra
MTC	Maksimum Tolerans Konsantrasyonu
NO	Nitrit oksit
PBS	Fosfat Tampon Çözeltisi
p.o.	Gavaj yoluyla
RP-HPLC	Ters Faz Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi
sc	Subkutan
TLC	İnce Tabaka Kromatografisi
TSTA	Tümör Spesifik Transplantasyon Antijenleri
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
y.y.	Yüz yıl

## BÖLÜM 1

### GİRİŞ

Bitki türleri arasında en fazla ticareti yapılan familya olan *Lamiaceae*, özellikle Akdeniz ülkelerinde doğal olarak yetişen ve ılıman iklim kuşağında yer alan, birçok ülkede de kültürü yapılan bitkilerin oluşturduğu, 200 kadar cins ve 7000'in üzerinde türü içeren zengin bir familyadır (Manuel, 2012).

Türkiye *Lamiaceae* familyasının önemli bir gen merkezi konumunda olup, bu familyaya ait 45 cins, 546 tür ve 731 takson bulunmaktadır. Ülkemizde endemizm oranı %44,2 olan bu familya, Türkiye'nin en zengin üçüncü familyasıdır. Bu familyanın antineoplastik aktiviteye sahip olduğu bilimsel olarak kanıtlanmıştır (Başer, 1993; Kocabaş ve Karaman, 2001; Dzhabazov, 2002; Zumrutdal, 2008).

*Lamiaceae* familyası bitkileri özellikle terpenik bileşikler (mono-,di-,triterpenler) flavonoid, fenolik asitleri içermesi nedeniyle önemli fizyolojik aktivitelere (antioksidan ve antimikrobiyal) sahiptir. Çoğu tıpta ve eczacılıkta (kansızlık, boğmaca, kellik, diş ve mide ağrıları, uyuz, nefes kokması, bağırsak, romatizma ile bazı kadın hastalıklarında, öksürük şurupları, pastil ve gargara içeriklerinde), gıdaların saklanması (doğal antioksidan olarak), böcek ve yabancı ot, nematot ve virüslerin kontrolünde organik hayvancılıkta yem hazırlanmasında doğal antibiyotik ve antihelmintik (parazit düşürücü) olarak kullanılabilir (Dzhabazov, 2002; Hajhashemi, 2002; Lin, 2002; Ana Pavla, 2009).

*Satureja hortensis* 'in antimikrobiyal aktivitesi, *in vitro* antiproliferatif etkisi ve karaciğer kanser hücreleri üzerine *in vitro* sitotoksik etkilerinin saptandığı çalışmalar bulunmaktadır (Lin, 2002; Sahin, 2003; Lampronti, 2006).

Türkiye'de yetiştirilen aromatik bitkiler arasında kekiğin güçlü antioksidan etkiye sahip olduğu bildirilmiştir. *Lamiaceae* familyasına ait *Origanum*, *Satureja*, *Thymbra*, *Thymus* ve *Corydothymus* cinsleri ile yapılan uçucu yağ analizinde monoterpenik yapıda olan thymol ve carvacrol'un ana bileşen olarak öne çıktığı görülmüştür. Carvacrol'un antibakteriyal, antifungal, antihelmintik, insektisidal, analjezik,

antikanser ve antioksidan olarak önemli rol oynadığını belirtilmektedir (Akgül, 1993; Arunasree, 2010).

Kanser hastalığı, yıllardır tüm dünyada en önemli ölüm nedenlerinden biridir. Bu yaygın hastalık, hem hastaya, hem çevresine hem de topluma getirdiği maddi ve manevi yükler nedeniyle de tıp dünyasının olduğu kadar tüm insanlığın sorunudur (Erlacin, 1990). Dünya genelinde 2008 yılının tamamı dikkate alınarak yapılan bir araştırmada 12,4 milyon yeni vaka ve 7,6 milyon kanser sebepli ölüm tespit edilmiştir (WHO, 2008). Bu sayının 2025 yılına gelindiğinde dünya nüfusunun artışıyla orantılı olarak artacağı ve 25-30 milyona ulaşması beklenmektedir. Kanser tedavisi ileri teknolojiye sahip ekipman ve donanımlı personel gerektirdiğinden gelişmekte olan ülkelerde sınırlı sayıda ve belirli illerde kanser hastanesi bulunmaktadır. Bu sebeple hastalıkla ilgili en büyük sorunlardan birisi de tedavinin uzun dönemde ve konaklanarak uygulanmasından kaynaklanan maddi yüküdür. Bilim adamları tarafından mortalitesi yüksek bir hastalık olan kansere karşı çeşitli tedavi yöntemleri geliştirilmiştir. Bunlar; cerrahi, radyoterapi ve kemoterapiden oluşan tedavi sürecidir. Bu tedavi sürecinin hastanın hayatta kalma süresini uzattığı ve ağrıları azalttığı ancak hastalığı tam anlamıyla ortadan kaldıramadığı çeşitli klinik çalışmalarda gösterilmiştir (Fisher 1980; Rossi, 1981; Weiss, 1981; Bonadonna, 1985a; Bonadonna, 1985b; Fisher, 1986). Tedavi sürecinin hastanın yaşam süresi, yaşam kalitesi ve ağrılara başlangıç safhasında olumlu, ileri evrelerinde olumsuz yanıt verdiği gözlenmiştir (De Vita, 1989; Bonadonna, 1990). Ayrıca 3 aşamalı bu tedavi sürecinde çeşitli hastalarda kemik iliğinin baskılanması, buna bağlı enfeksiyonların oluşması, ikincil tümör oluşumu ve tümör metastazı gibi yan etkiler tespit edilmiştir. (Krown, 1980; Mackay, 1984; Young, 1985; Brohee, 1990; Aykan, 1991).

İlaçların yan etkilerinden dolayı bitkisel tedaviye yönelim her geçen gün artış göstermektedir. Bitki kaynaklı doğal ürünlerden bazıları, antitümör ve antioksidan aktiviteleri içeren çeşitli farmakolojik özelliklerinden dolayı yıllardır ilgiyi üzerinde toplamaktadır (DeFeudis, 2003; Takeoka, 2003; Zumurtdal, 2008; Ozaslan, 2009). İşte bu noktada devreye yüksek antioksidan ve antikanser etkiye sahip aromatik bitkiler girmektedir. Aromatik bitkilerin antioksidan aktivitesi yapılarındaki fenolik bileşiklerle ilişkilidir. Aromatik bitkilerin kimyasal içeriği birçok etmene bağlı olarak değişiklik gösterdiğinden antioksidan etkileri de farklılık gösterir. Yapılan bir



çalışmada karanlıkta ve 850 lux ışık etkisinde yetiştirilen *S. hortensis* metanol özütünün; gama ışınına maruz bırakılan bitkilere ait özütlerin; antioksidan etkileri karşılaştırılmıştır ve birbirinden farklı oldukları rapor edilmiştir. Yine başka bir çalışmada, özütleme metodları ve bitki kurutma şekillerinin de kimyasal içeriği etkilediği gözlenmiştir (Madsen, 1998; Skerget, 2005; Sefidkon, 2006; Gumus, 2010). Ayrıca kimyasal kompozisyonu etkileyen diğer faktörler ise, yükseklik (rakım), iklim, toprak ve coğrafik bölgedir (Göksel, 2010).

Asırlardır, insanlar çok çeşitli hastalıkların tedavisinde tıbbi özelliklere sahip doğal ürünleri kullanmaktadırlar. Diğer taraftan, modern tıp ilaç olarak her zaman sentetik ürünler kullanır. Tıbbi özelliklere sahip çok sayıda doğal ürün diyetimizin bir parçası olmuştur ve bunlar kalıtsal adaptif bir mekanizmayla yan etkisiz olarak metabolize edilir. Bu durum allopatik tedavide kullanılan sentetik ilaçlar için geçerli değildir. Bu da alternatif tıp sistemlerinin örneğin Ayurveda (Yaşam bilgisi)'nin kabul edilebilirliğinin artışı için dayanak oluşturur. Doğal kaynaklar arasından anti-kanser ajanlarının araştırılması tüm dünyada başarılı bir şekilde devam etmektedir. Aktif bileşikler izole edilmiştir ve günümüzde insan tümörlerinin tedavisi için kullanılmaktadır. Etno-farmakolojik bilgiler, potansiyel olarak sitotoksik aktiviteli bitkilerin araştırılması için yardımcı kaynak olarak bildirilmektedir (Ozaslan, 2007).

Halk arasında birçok bitki bilinçli ya da bilinçsiz şekilde önerilmekte veya tüketilmektedir. Ancak bu bitkilerin aktiviteleri bilimsel olarak sorgulanmadığı için kişi bu bitkileri kontrol dışı kullanmakta olup tedavi yarardan çok zarar getirmektedir. Bitkisel kaynaklarında antikanser özellikli fitokimyasalları aramada en iyi yaklaşımlardan biri modern bilimin ışığında, etkinliği ve güvenilirliği test edilmiş bitkilerin seçimidir (Kirtikar, 1975).

Kanserin yüzden fazla türü mevcuttur. Onkolojide klinik davranışının değerlendirilmesine göre benign ve malign olarak ikiye ayrılır. 'Benign' tümör sitolojik ve gros özellikleri nisbeten masum yani çevredeki dokuya zarar vermeyen ve yayılmayan ve lokal cerrahi rezeksiyonla alınıp, hastanın sağ kalımını etkilemeyen türüdür. Malign tümörler komşu yapılara invaze olup, onları harap edebilir ve uzak bölgelere yayılarak (metastaz yaparak) ölüme yol açabilir (Karayel, 2009).

## 1.1. Deneysel Tümör Modelleri

Kanser çalışmalarıyla ilgili ilk yazılı kaynak olan 7 adet papirus ancak 19. yy.'da aydınlatılabilmektedir. Bunların en önemlilerinden olan Edwin Smith ve George Ebers papiruslarının içerdiği bilgilere göre kanser çalışmaları ilk defa M.Ö. 2500'lü yıllarda başlamış olup, M.Ö. 1600'lü yıllarda ise yazılı belgeler haline getirilmiştir. M.Ö. 400'lü yıllarda ise Yunanistan ve Roma'da Hipokrat ve Galen gibi hekimler kanserin tehlikeli olan ve olmayan formlarının olduğundan bahsetmişlerdir. Tam da bu dönemde Hipokrat tümörü yengece benzettiği için kansere; Yunancada yengeç anlamına gelen 'karkinoma' (karsinoma) adını vermiştir. Yengeç anlamına gelen bu benzetme tümörün merkezi bir yapısının olması ve bu yapılardan çıkan kollarla tümörün diğer organlara uzanan kollarından gelmektedir. M.S. 1000'li yıllara gelindiğinde Türk alimi İbn-i Sina'nın kısaca "Kanun" olarak adlandırılan eserinde tedavi ve farmakolojik açıdan kansere yaklaşımı dikkat çekmektedir. 16. y.y.'da beyaz arsenik ve arap zamkından yapılan "Marsden'in merhemi" kanserli deriler üzerine uygulanmıştır. Diğer taraftan 19. y.y.'ın ikinci yarısı itibariyle deneysel tümör modelleri bilimsel çalışmalarda kullanılmaya başlanmıştır. İlk olarak 1874-1878 yılları arasında Edinburgh Üniversitesi bünyesinde tavşanlarda meme kanseriyle ilgili araştırmalar yapılmış, 1910-1915 yıllarında ise; Jensen, Murray, Ehrlich, Little gibi bilim adamlarının geliştirdiği spontan veya indüklenmiş deneysel tümör modelleri kullanılmaya başlanmıştır. Bu iki çalışmayla birlikte kanser araştırmaları farklı bir yaklaşım üzerine ivme kazanmıştır. Bu çalışmaları takiben Ehrlich, 1907 yılında albino bir farenin meme bezindeki Ehrlich Mouse Carcinoma'dan türetilen EAT modelini ortaya koymuştur (Ozaslan, 2007).

1911 yılında Tokyo Üniversitesi bünyesinde tavuklarda viral kaynaklı kanser modeli uygulamaları yapılmıştır. Aynı üniversitede 1915 yılında tavşan derisine ilk defa kimyasal karsinojen (kömür katranı) uygulanmıştır. 1915 yıllarında "Jensen Rat Sarcoma" Jensen tarafından deneysel kanser çalışmalarına kazandırılmıştır. 1950'li yıllardan sonra transplante edilebilen sıçan renal tümör modelinin Wiln tarafından kullanılmaya başlanmasından sonra transplante edilebilen tümör modelleri ön plana çıkmıştır. Böylece çeşitli anti-kanserojen ajanların denenmesinde hızlı bir artış meydana gelmiştir. 1940'lı yıllarda Gilman'ın lenfomaya karşı alkilenmiş ajanlarla yaptığı sistemik kanser tedavisi ilk önemli ilaç etkilerini ortaya koymuştur. 20. yüzyılın ilk dönemlerinden itibaren kimyasal karsinojenler, hücre kültürü, tanı

teknikleri, kemoterapi ve genetik manipölasyonlar gibi alanlarda kanser araştırmalarının hızla arttığı gözlenmektedir.

Transplante edilebilen tümör modelleri spontan oluşan tümörlerden elde edilen süspansiyonlardan oluşturulmaktadır. Spontan tümörler idiyopatik olup, ileri dönemde ölçülebilir duruma gelmektedirler. Kanser çalışmalarında kullanılan spontan veya indüklenen tümör modelleri çok sayıda hayvan ve fazla miktarda maddi olanak ile uzun zaman gerektirdiğinden, bir çok araştırmacı tarafından daha az tercih edilmişlerdir. Bunun yanında transplante edilebilen tümörler, söz konusu dezavantajları avantaja çevirdiği için daha çok kullanılır olmuşlardır (Zeybek, 2003; Ozaslan, 2007; Karayel, 2009). Yapılan bilimsel çalışmalarla kanserin teşhis oranı durmadan artarken kanser nedeni ölüm oranı hemen hemen sabit kalmaktadır. Bu durum, kanserin bilimsel çalışmalarla kazanılabilir bir savaş olması yönünde ümit vericidir. Kanser, gelişimi uzun süren bir hastalıktır. Erken evrelerde teşhis edilmesi hastalığın tedavisinde kolaylık sağlar (Oylar ve Tekin, 2011). Bu teşhislerin daha etkin ve ivedi olması şüphesiz yapılan bilimsel çalışmaların artışıyla mümkün olacaktır.

### **1.1.1. Ehrlich Asit Tümörü (EAT)**

Deneysel hayvan tümörlerinden biri olan EAT ilk olarak dişi bir farede spontan meme adenokarsinoması olarak ortaya çıkmış ve Ehrlich&Apolant (1905) tarafından tümör parçaları fareden fareye deri altına transplante edilerek pasajlanmıştır (Aktaş., 1996; Taşkın, 2002; Zeybek, 2003; Ozaslan, 2011).

EAT diferansiye olmamış bir tümördür. Transplante edilebilme oranı yüksek olup, regresyon göstermeyen, hızlı proliferasyona, kısa yaşama süresine sahip, %100 ölüme götüren ve immünolojik açıdan tümör spesifik transplantasyon antijenlerine (TSTA) sahip olmayan bir tümördür (Kaleoğlu, 1977; Ozaslan, 2011).

Loewenthal ve Jahn (1932), bu tümörün fare peritonunda sıvı halde büyüyen formunu elde etmeyi başarmışlar. Tümörün sıvı formunun eldesiyle birlikte, çalışmalarda sıvı tümör kullanımının artış gösterdiği gözlenmiştir. Kullanımdaki artışın nedeni, sıvı formun serbest tümör hücrelerini içeren süspansiyon şeklinde olması ve sonuçta istenilen sayıdaki hücrenin bir başka hayvana transplante edilebilmesidir. Böylece hücre sayım yöntemiyle hem transplante edilen tümör hücre

sayısı hem de oluşan tümör büyüklüğü kolayca saptanabilmektedir (Ekinci, 2000; Ozaslan, 2011).

Peritonda hücrelerin yanı sıra asit sıvısı da oluştuğu için tümör Ehrlich Asit Tümörü adını almıştır. Tümör hücrelerinin herhangi bir vücut boşluğuna enjekte edilmesinden sonra orada çoğalmaları ile neoplastik hücreler içeren bir effüzyon meydana gelmesi, asit terimi ile ifade edilir. Genellikle tümörler tekrarlayan pasajlarla virulanslarını artırır. Bu gibi tümörlerin büyüme hızı artar. Heterotransplantabilite kabiliyeti kazanarak asit formuna dönüşebilir ve böyle bir effüzyon 0.1 ml'de yaklaşık 10 milyon neoplastik hücre içerir (Kaleoğlu, 1977; Aktaş, 1996; Taşkın, 2002).

Tümör hücrelerini içeren asit sıvısının deney hayvanına intraperitoneal (i.p.) yolla enjekte edilmesiyle asit form, subkutan (s.c.) yolla enjekte edilmesiyle solid form elde edilir (Zeybek, 1996; Okay, 1998; Ekinci, 2000). Pasajdan 4-6 gün sonra asit oluşur ve toplam 5-12 ml asit teşekkül eder (Lazebnik, 1991; Gümüshan, 2002).

EAT hücreleri, farenin peritoneal boşluğunda inokulasyonu takiben 2 fazda çoğalırlar. Bu fazlar, hücre sayısının eksponansiyel olarak arttığı çoğalma fazı ve bunu izleyen, hücre sayısının hemen hemen sabit kaldığı plato fazıdır (Skog, 1990; Lazebnik, 1991; Grune, 1992; Siems, 1993). Çoğalma fazından plato fazına geçiş sırasında EAT hücrelerinin canlılık oranlarında önemli oranda bir azalma görülmemiştir (Schmidt, 1991; Ozaslan, 2011).

EAT hücrelerinin çoğalma fazından plato fazına geçişleri boyunca, hücre kinetiklerinde meydana gelen değişikliklerin dışında, yapısal bozulmalar mitokondri sayısında azalma, DNA ve RNA biyosentezinde azalma, intrasellüler pürin, primidin nükleotidleri, nükleosidleri ve bazlarının kaybı, ATP içeriği ve ATP dönüşümünde azalma, protein sentezinde azalma, timidin kinaz aktivitesindeki azalmadan dolayı timidin konsantrasyonunda artış ve trigliseritlerin, kolesterol esterlerinin ve serbest yağ asitlerinin artması gibi morfolojik ve metabolik değişiklikler meydana gelir (Burns, 1969; Aktaş, 1996; Haris, 1970; Senger, 1983; Siems, 1989; Skog, 1989; Subiza, 1989; Schmidt, 1991; Grune., 1992; Siems, 1993; Schwendel, 1994; Latha, 2000; Lobo, 2000; Segura, 2001; Justo, 2003).

Tümör çoğalmasının erken evresinde peritoneal sıvıların immün baskılayıcı aktiviteyi ya zayıf gösterdikleri ya da hiç göstermemelerine rağmen, terminal safhadaki EAT sıvılarının immün baskılayıcı etkide oldukları yapılan araştırmalarla ortaya çıkarılmıştır (Gabrilovac, 1982; Parhar ve Lala, 1988; Subiza, 1989; Fecchio, 1990a; Fecchio, 1990b; Segura, 1997; Ruiz De Morales, 1999; Justo, 2000; Segura, 2000; Justo, 2003).

EAT hücreleri çoğalma periyodu boyunca sayılarını hücre bölünmeleri ile hızla artırır ve periton boşluğunu doldururlar. Tümör hücrelerinin bu artışına paralel olarak asit sıvısı birikimi de meydana gelir. Belli bir süre sonra da konak hayvan hem tümör hacminin oluşturduğu basınç hem de tümörün organizmaya verdiği hasar sonucu ölür (Öner, 1985; Aktaş, 1996; Altun, 1996).

Tümör hücrelerinin asit sıvısının birikimini ilerleten bir vaskular permeabilite faktörünü salgıladığı bildirilmiştir. EAT taşıyan hayvanların periton boşluğunda bulunan damarların kontrol grubu hayvanlarındaki aynı damarlara oranla önemli derecede fazla permeabilite gösterdiği gözlenmiştir. Artan permeabilitenin, normal plazma veya serumda bulunmayan etkili bir permeabilite faktörünün asit sıvısındaki varlığından kaynaklandığı kaydedilmiştir (Senger, 1983).

EAT hücre çoğalmasının plato fazında azalması ile asit sıvısı birikimindeki artış arasındaki ilişkiyi bağdaştıran çalışmalar mevcuttur. Yapılan bir araştırmada, *in vivo* şartlarda tümör çoğalmasının plato fazında hücrelerin geriye dönüşümlü olarak geç G2 fazında biriktiklerini ve bu dönemde asit sıvısı uzaklaştırıldığı taktirde senkron olarak mitoz fazını geçirip G1 fazına girdiklerini tespit etmiştir. Aynı araştırmacılar *in vitro* şartlarda asit sıvısı ihtiva eden ortamda hücrelerin G1 ve S fazlarını takiben G2 fazında biriktiklerini de gözlemlemişlerdir. Bu bulguların desteği ile, Ehrlich asit sıvısının hücre siklusunu G2 fazında durduran bir faktörün var olduğu fikrini ileri sürmüşlerdir (Lazebnik, 1991). Konuyla ilgili yapılan başka bir araştırmada ise EAT hücrelerinin G2 ve geç S fazlarında birikiminin hücre siklusunun uzaması ile paralellik gösterdiği görülmüştür (Benndorf, 1988).

EAT taşıyan farelerde, çoğalmanın plato fazında asit sıvısının önemli bir oranının boşaltılması ile tümörün çoğalmasında tekrar artış meydana gelir (Burns, 1968; Burns, 1969). Bu artış aynı tümörü plato fazında taşıyan başka bir fareden alınan hücresiz asit sıvısının enjektisi ile inhibe edilir (Bichel, 1970; Burns ve Solofy,

1970; Bichel, 1971). Bu araştırma sonuçlarından yola çıkılarak asit sıvısında çoğalmayı inhibe edici faktör ve/veya faktörlerin varlığı söylenebilir (Bichel, 1971).

EAT'li fareler üzerinde yapılan bir araştırmada tümör taşıyan farelerde tümör yaşıyla orantılı olarak kemik iliği hücrelerinde çoğalma hızının inhibisyonu gözlenmiştir. Bu gözlem, Ehrlich asit sıvısının ihtiva ettiği inhibitör faktörlerin konak hayvanın normal hücre popülasyonları üzerinde de etkili olduğunu göstermektedir (Altun, 1996).

Bu araştırmaların aksini gösteren, inhibitör etkinin gözlenmediği, hatta tümörün büyüme üzerine pozitif yönde stimüle edici etkiler gösterdiği çalışmalar da mevcuttur. Altun, EAT'li fareler üzerinde karaciğer rejenerasyonunu incelemiş ve tümöral büyümenin rejeneratif büyümeyi teşvik edici etkisini tespit etmiştir (Altun, 1996). Bir başka araştırmada ise, EAT transplantasyonundan sonra 4. ve 6. günlerde elde edilen peritoneal sıvıların, *in vitro* ortamda Ehrlich karsinoma hücrelerinin çoğalmaları üzerinde etki göstermemesine karşılık, tümör transplantasyonundan sonraki 15. günde toplanan peritoneal sıvıların hücrelerde DNA sentezini arttırdığını göstermişlerdir (Gabrilovac, 1982).

## **1.2. *Satureja hortensis* L. (Anık)**

### **1.2.1. Botanik Bilgiler**

*S. hortensis*, Lamiaceae / Labiatae (Ballıbabagiller) familyasına ait bir bitkidir. Bu familya üyeleri, tek yıllık 10-35 cm boyunda tüylü otsu bitkilerdir. Çiçeklenme dönemi 6. ve 9. aylar arasındadır. Kayalık aşınmış yamaçlar, taşlıklar, boş araziler ve yol kenarlarında yetişir. Deniz seviyesinden 1920 m'ye kadar yetiştiği gözlenmiştir. Türkiye'de Kuzey Anadolu, Orta Anadolu, Güney Anadolu'da ve özellikle Doğu Akdeniz'de yayılış gösterir.

Dünyada özellikle Güney Avrupa'da yaygındır. *Satureja* cinsinin ülkemizde 15 türü yetişmektedir ve türlerin 5'i endemiktir. Bu türler yetiştikleri bölgelere göre yerel isimler alırlar. Örneğin; İskenderun ve çevresinde "kekik" veya "zahter", Mersin civarında "Girit zahteri" veya "Kara kekik", Sivas-Malatya "anık" veya "anuğ", diğer bazı yörelerde ise "sater, zater, anık, çipriska, çupriza, geyik otu" olarak da bilinir (Baytop, 1997). (Resim 1.1-1.4).

*Satureja hortensis* L. aşağıda belirtilen sistematik kategorilerde yer almaktadır (Davis, 1982).

Bölüm (Divisio)	: Spermatophyta
Altbölüm (Subdivisio)	: Angiospermae
Sınıf (Classis)	: Dicotyledonae
Altsınıf (Subclassis)	: Dialypetalae
Takım (Ordo)	: Tubiflorae
Familya (Familia)	: Lamiaceae (Labiatae)
Cins (Genus)	: <i>Satureja</i>
Tür (Species)	: <i>Satureja hortensis</i>



**Resim 1.1.** *S. hortensis*'in arazi görüntüsü



**Resim 1.2.** *S. hortensis*'in arazi görüntüsü



**Resim 1.3.** *S. hortensis*'in arazi görüntüsü



## BÖLÜM 2

### LİTERATÜR BİLDİRİMLERİ

*S. hortensis* L. dünyanın her yerinde geleneksel tıpta farklı amaçlar için kullanılmaktadır. Bu nedenle araştırmacıların bu bitkiye olan ilgileri oldukça yoğundur. Yapılan çalışmaların çoğu ham özüt üzerinedir ve hem olumlu hem de olumsuz sonuçlar elde edilmiştir.

#### 2.1. Folklorik Kullanımı ve Ekonomik Önemi

Ülkemizde yetişen Satureja türleri başlıca baharat olarak kullanılır. Bu türler bazı yörelerde çay olarak da tüketilmektedir (Başer, 1995). Başta *S. hortensis* olmak üzere Satureja türleri aromatik (kokulu) bitkiler içerisinde özel bir öneme sahiptir. *S. hortensis* L. hem tedavi amaçlı hem de besin katkı maddesi olarak yaygın biçimde kullanılmaktadır. Yaprakları ve çiçekleri hem taze hem de kurutulmuş olarak yiyecek endüstrisinde kullanılır. Uçucu yağı içecek sanayiinde ve parfümeride kullanılır. (Svoboda, 1990). Ayrıca bu tür, halk arasında kramp ve kas ağrıları, mide bulantısı, sindirim bozukluğu, hazımsızlık, ishal ve enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır (Baytop, 1997). Satureja cinsine ait türlerin kurutulmuş otsu kısımları ülkemizin başlıca bitkisel ihraç ürünüdür (Azaz, 2002).

#### 2.2. Kimyasal İçeriği ile İlgili Çalışmalar

Satureja türlerinin folklorik, ekonomik ve akademik açıdan önemi; sahip oldukları uçucu (eterik) yağlarına ve fenolik bileşiklerine dayanır. Yine Satureja türlerinden elde edilen özütler de aromatik olmayan önemli kimyasal bileşikler içerirler. Özellikle alkoller, fenoller ve merkaptanlar fazla miktarda olup genelde glikozidik formdadırlar. Özüt içeriğinde en dikkat çekici ve önemli olan bileşikler, fenolik bileşiklerdir. Özellikle fenolik asitler (kafeik, sinnamik, labiatik ve rozmarinik asit) ve polifenoller, biyolojik aktiviteleri ile ünlü kimyasallar bileşiklerdir. (Exarchou, 2002; Mastelic ve Jerkovic, 2003).

Başer ve ark. (2004), *S. hortensis* bitkisinden toplanan 20 adet yabancı ve kültür örneklerinin GC-MS ile analiz edilmesi sonucu, yabancı formlarında uçucu yağ oranı %1.28-4.75 iken ana bileşen thymol (%29-43), kültür formlarda ise uçucu yağ oranı %1.30-2.67 olup, ana bileşen carvacrol (%42-63) olarak bulunmuştur. *S. hortensis*'in kültüre alınmış formlarında carvacrol, doğal formlarında ise thymol ana bileşen olarak belirlenmiştir.

Azaz ve ark. (2005), Malatya Karacaköy civarından topladıkları *S. hortensis* türünde uçucu yağ oranının %0.5 olduğunu, Kahramanmaraş Andırın bölgesinden toplanan *S. hortensis*'te ise uçucu yağ oranının % 0.7 olduğunu rapor etmişlerdir. Farklı iki bölgeden toplanan *S. hortensis* türündeki uçucu yağ ana bileşenlerinin p-cymene, thymol, carvacrol,  $\gamma$ -terpinene ve  $\alpha$ -pinen olduğunu ve bunların miktarının her iki bitkide de paralellik gösterdiğini bildirmişlerdir. Buna paralel bir çalışmada Adıgüzel ve ark. (2007), Artvin Yusufeli ilçesinde tam çiçeklenme döneminde toplanan *S. hortensis*'te uçucu yağın %1.13 oranında bulunduğunu ve uçucu yağ içerisinde 30 bileşen tespit edildiğini bildirmişlerdir. Ayrıca uçucu yağın ana bileşenlerinin thymol (%40.54),  $\gamma$ -terpinene (%18.56), carvacrol (%13.98) ve p-cymene (%8.97) olduğunu bildirmişlerdir.

Sefidkon ve ark. (2006), Albora Araştırma İstasyonu'ndan topladıkları *S. hortensis*'in farklı metodlarla elde edilen uçucu yağları ile farklı yöntemlerle kurutulan örneklerinden elde edilen uçucu yağlarının içeriklerini kendi aralarında karşılaştırmışlardır. Yapılan araştırma su ve buhar distilasyonu metodu ile elde edilen uçucu yağın içerik bakımından buhar distilasyonu ile elde edilen yağdan zengin olduğunu ortaya koymuşlardır. *Araştırma* sonuçlarına göre, su ve buhar distilasyonu ile elde edilen uçucu yağın temel bileşenleri %44 carvacrol, % 41.8  $\gamma$  -terpinene, %12.30 p-cymene, %3.4  $\alpha$ -terpinene olarak saptanırken, buhar distilasyonu ile elde edilen uçucu yağın temel bileşeni %12.3 carvacrol, % 70.4  $\gamma$  -terpinene, %6.5 p-cymene, %5.8  $\alpha$ -terpinene olarak kaydedilmiştir.

Hadian ve ark. (2010), İran'ın 30 farklı bölgesinden topladıkları *S. hortensis*'lerin uçucu yağlarının içeriklerini, kimyasal kompozisyonunu ve rosmanirik asit miktarını karşılaştırmışlardır. Marivan Bölgesi örneklerinin %0,5 ile en az, İsfahan Bölgesi türlerinin ise %2,9 ile en çok yağ içeriğine sahip olduğu görülmüştür. Farklı bölgelerden toplanan *S. hortensis*'lerin uçucu yağları GC-FID ve GC-MS ile analiz

edilmiştir. Bütün örneklerde  $\gamma$ -terpinene (%0.5-28.5), carvacrol (%42-83.3) ve *p*-cymene (%1-17.1) temel bileşen olarak görülmüş olup, toplam 29 bileşiğe rastlanmıştır. Rosmanirik asit içeriği kantitatif ve kalitatif TLC analiziyle belirlenmiştir. Rosmanirik asit içeriğinin Sanandaj Bölgesi'nde en düşük (%0.06) ve Tabriz Bölgesi'nde en yüksek (% 0.69) olduğu görülmüştür. Ayrıca iklimik şartların tür içerisinde çeşitliliği kısmen artıracığı rapor edilmiştir.

Khajeh (2011), basınç, sıcaklık, çözücü yüzdesi ve ekstraksiyon zamanı gibi değişken parametrelerin *S. hortensis*'in özüt verimine etkisini araştırmıştır. Sonuçlar, basınç, sıcaklık ve çözücü yüzdesi değişimlerinin özüt verimini etkilediğini, ekstraksiyon zamanının etkilemediğini işaret etmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre en verimli *S. hortensis* metanol özütü elde etmek için en uygun şartlar 35 MPa basınç, 72,6 °C sıcaklık ve %8,6 (v/w) metanoldür. Bu şartlarda elde edilen özütün %35,5  $\gamma$ -terpinene, %18,2 thymol ve %29,7 carvacrol içerdiği GC-FID ve GC-MS yöntemleriyle belirlenmiştir.

Tozlu ve ark. (2011), Erzurum'da toplayıp teşhisini yaptıkları *S. hortensis* türünün de içinde bulunduğu dört bitkinin uçucu yağlarının GC ve GC-MS cihazı yardımıyla kimyasal kompozisyonlarını belirlemişlerdir. *S. hortensis* uçucu yağının %55.74 oranıyla yüksek carvacrol içeriği ile karakterize olduğu görülmüştür. Yine aynı çalışma sonuçları, farklı metodlarla kurutulan bitkiden elde edilen uçucu yağların içerikleri arasında anlamlı bir fark olmadığını ortaya koymuştur. Bu anlamda farklı yöntemlerle kurutularak su distilasyonu metodu ile uçucu yağı elde edilen bitkinin yağ içeriklerinin şu şekilde olduğu görülmüştür: Gölgede kurutulduktan sonra %46.8 carvacrol, % 39.4  $\gamma$ -terpinene, %4.4 *p*-cymene, %3.3  $\alpha$ -terpinene, güneşte kurutulduktan sonra aynı yöntemle uçucu yağı elde edilen bitkinin yağ içeriğinde %44 carvacrol, % 41.8  $\gamma$ -terpinene, %12.30 *p*-cymene, %3.4  $\alpha$ -terpinene, 45°C'de kurutulduktan sonra aynı yöntemle uçucu yağı elde edilen bitkinin yağ içeriğinde %43.1 carvacrol, % 38.4  $\gamma$ -terpinene, %3.5 *p*-cymene, %3.4  $\alpha$ -terpinene olarak bulunmuştur. Araştırma sonuçları, farklı kurutma metodlarının temel bileşenlerin yüzdesi üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğunu gösterirken, burada kullanılan iki farklı yağ eldesi metoduyla elde edilen yağların içerikleri arasında anlamlı bir fark görülmemiştir. Ayrıca araştırmacılar *S. hortensis* uçucu yağı eldesi sırasında yüksek oranda carvacrol meydana getirmek için 45°C sıcaklıkta su distilasyonunun en uygun ve en hızlı metod olabileceğini rapor etmişlerdir.

## **2.3. *S. hortensis* Özütünün Biyolojik Aktivite Potansiyeli**

### **2.3.1. Antioksidan ve Serbest Radikal Süpürücü Etkisi**

Haziran 2001 döneminde Malatya'dan (800 m) toplanan *S. hortensis* L.'in farklı izolasyon yöntemleriyle elde edilmiş özütlerinin serbest radikal temizleme ve antioksidan aktiviteleri araştırılmıştır. Apolar ve polar özütler elde etmek için altı farklı özütleme yöntemi kullanılmıştır. Çözücü sistemi olarak hekzan, aseton, metanol-su kullanılmış ve bitki materyalinin uçucu yağları clevenger tipi su buharı damıtma cihazı ile ayrılmıştır. Serbest radikal temizleme aktivitesini belirlemek için kararlı serbest radikal 2,2' dipikrilhidrazil (DPHH)'ın metanolik çözeltisi kullanılmıştır. Antioksidan aktivite  $\beta$ -karoten- linoleik asit test sisteminde agar difüzyon ve spektrofotometrik yöntemlerle belirlenmiştir (Kartal, 2002).

Söz konusu bitki materyalinin polar çözücülerle hazırlanan özütlerinin güçlü serbest radikal temizleme aktivitesi gösterdiği bulunmuştur. Linoleik asit sisteminde ise çoğunlukla apolar çözücüler ile daha aktif özütler sağlanmıştır. Aktiviteden sorumlu olabilecek bileşikler belirlemek için özütlerin ince tabaka kromatografisi analizleri yapılmıştır. Uçucu yağların GC-MS analizi, fenolik bileşiklerin apolar özütlerin ana bileşenlerini oluşturduğunu ve aktivitenin bu bileşenlerden kaynaklandığını göstermiştir (Kartal, 2002).

Koşar ve ark. (2005), HCL asit uygulamasının *S. hortensis* metanol özütünün antioksidan aktivitesine etkisini araştırmışlardır. Asit muamelesi yapılan bitki özütü grubunun pozitif kontrole oranla daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği rapor edilmiştir.

### **2.3.2. Antibakteriyal ve Anti-biofilm Etkisi**

Şahin ve ark. (2003) tarafından *S. hortensis* L. metanol ve hekzan özütlerinin *Bacillus cereus*, *B. subtilis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* bakterilerine karşı disk difüzyon metodu kullanılarak antibakteriyal etkisi denenmiştir. Hekzan özütlerinin hiçbir bakteriye karşı etkisi görülmediği halde, metanol özütünün *B. subtilis* ve *Escherichia coli* bakterilerine karşı etkili olduğu gözlenmiştir.

Oussallah ve ark. (2007), 28 bitki uçucu yağının *E. coli O157:H7*, *Salmonella typhimurium*, *S. aureus* ve *Listeria monocytogenes* bakterilerinin büyümesi üzerinde inhibe edici etkilerini araştırmışlardır. *S. hortensis* yağı bütün bakteriler için MIC<0.1 ve MTC<0.025 değerlerle güçlü bir antibakteriyel etki göstermiştir.

Oussallah ve ark. (2006), 60 farklı uçucu yağın etten izole edilen *Pseudomonas putida* suşları üzerindeki inhibe edici etkisini araştırmışlardır. MIC ve MTC yöntemleri kullanılarak yapılan araştırmada *Cinnamomum cassia*, *Origanumcompactum*, *O. heracleoticum*, *S. hortensis*, *S. montana*, *T. vulgaris carvacroliferum*, *Thymus vulgaris thymoliferum* türlerinin *P. putida*'ya karşı en güçlü etkiyi gösterdiği rapor edilmiştir.

Adıgüzel ve ark. (2007), Artvin Yusufeli ilçesinde çiçeklenme döneminde toplanan *S. hortensis*'ten elde edilen uçucu yağın 25 bakteri, 8 mantar ve bir maya üzerinde inhibe edici etki gösterdiğini bildirmişlerdir.

Gursoy ve ark. (2009), aralarında *S. hortensis*'in de bulunduğu beş bitki türünü Mayıs-Temmuz 2006 döneminde Akdeniz Bölgesi'nden toplayıp teşhisini yapmışlardır. Teşhisi yapılan bitkilerin uçucu yağlarının *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Parvimonas micra*, *Tannerella forsythia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia* ve *Prevotella nigrescens*'e karşı antibakteriyel ve anti-biofilm etkileri araştırılmıştır. Minimum inhibitör konsantrasyonları agar dilüsyon metodu ile araştırılırken, anti-biofilm etkisi mikropate biofilm assay kullanılarak incelenmiştir. *S. hortensis* uçucu yağının beş bitki arasında en güçlü bakteri büyüme inhibitörü olduğu görülmüştür. Bitkiye ait güçlü inhibitör etkiyi sağlayan dozun altına inildiğinde ise sadece *Prevotella nigrescens* türüne karşı inhibitör etki gösterdiği görülmüştür. Araştırmacılar *S. hortensis* L. uçucu yağının ağızda yaşayan patojen bakterilerin artışını çok düşük konsantrasyonlarda durdurduğu halde, anti-biofilm etkisinin sınırlı olduğunu rapor etmişlerdir.

### **2.3.3 Antifungal Etkisi**

Dikbaş ve ark. (2008) tarafından 2006 Haziran döneminde Erzurum Şenkaya Gaziler Bölgesi'nden toplanan ve teşhisi yapılan *S. hortensis*'in metanol özütü ile uçucu

yağının *A. flavus* üzerindeki etkisi petri plate, sıvı kültür ve stok çözeltiler kullanılarak araştırılmıştır. 6,25µl/ml, 12,5µl/ml ve 25µl/ml olmak üzere üç farklı bitki konsantrasyonu uygulanarak yapılan çalışmada özellikle bitki uçucu yağının en düşük konsantrasyonda dahi *A. flavus* üzerinde çok güçlü etkisi olduğu görülmüştür. Metanol özütü ise sadece 25µl/ml'lik konsantrasyonda etkili olmuştur.

Abyaneh ve ark. (2008) İran'da topladıkları *S. hortensis*'in yapraklarına ait uçucu yağların *Aspergillus parasiticus* tarafından üretilen aflatoxin üretimi üzerine etkisi araştırmışlardır. Bitki uçucu yağlarının *Aspergillus parasiticus* tarafından üretilen aflatoksin B<sub>1</sub> ve G<sub>1</sub> üzerinde inhibitör etkisinin bulunduğu rapor edilmiştir. Bu etkinin bitkinin yapısında bulunan carvacrol ve thymol kaynaklı olduğu "silika jel kolon kromatografisi" ve "ters faz-yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (RP-HPLC)" cihazları yardımıyla ortaya çıkarılmıştır. *S. hortensis* yapraklarından elde edilen uçucu yağ bileşenlerinin tarlalarda ürünleri aflatoksin kontaminasyonuna karşı korumak amacıyla kullanılabileceği rapor edilmiştir.

Gumuş (2010), Mersin bölgesinden toplayıp teşhis ettiği *S. hortensis*, *T. vulgaris* ve *Thymbra spicata* bitkilerinin gama ışınına bağlı olarak *A. parasiticus* NRRL 2999 ve 465 üzerindeki antifungal zenginliğini araştırmıştır. Bitkilere ait yapraklar 1.2, 3 ve 5.1 kGy (kilogray) dozlarında 3, 5, 7 ve 10 günlük periyotlarda gama ışınına maruz bırakılmışlardır. Bu işlemi takiben metanol özütleri çıkarılmış olan bitkilerin antifungal aktiviteleri takip edilmiştir. Yapılan takip sonucunda gama ışınına maruz bırakılmayan *S. hortensis* ile 1,2 kGy dozunda gama ışınına maruz bırakılan *S. hortensis* bitkisine ait özütlerin *A. parasiticus* NRRL 2999'a karşı benzer inhibe edici etkileri görülmesinin yanı sıra, 3 ve 5.1 kGy dozunda ışınlarla maruz bırakılan bitki özütlerinin de birbirlerine benzer inhibe edici etki ettiği tespit edilmiştir.

Yazıcı ve ark. (2011), disk difüzyon yöntemini kullanarak *S. hortensis*'in lipozomal uçucu yağının *Candida albicans* üzerine antifungal etkisini araştırmışlardır. Yapılan çalışmanın sonuçları *S. hortensis* uçucu yağının *C. albicans*'e karşı antifungal aktivite gösterdiği yönündedir.

#### **2.3.4. Anti-İnflamatuvar Etkisi**

Hajhashemi ve ark. (2002) tarafından asetik asit ve formalin yardımıyla erkek ratların kuyruğunda oluşturulan iltihaplı yaralar üzerine uygulanan *S. hortensis*'e ait

hidroalkolik özüt, polifenolik fraksiyon ve uçucu yağlar denenmiştir. Ancak hiçbirinin iltihaplı yaralar üzerinde önemli bir etkisinin görülmediği rapor edilmiştir.

Ayrıca, Uslu ve ark. (2003) Erzurum Şenkaya Gaziler Bölgesi'nden toplanarak teşhisi yapılan *S. hortensis*'in polar özütünün rinosinüzit tavşanlar üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Araştırmada histolojik parametreler ve NO metabolitlerinin değişimleri dikkate alınmıştır. Tavşanlara verilen bitki özütünün NOS enzimlerinin aktivitesi ile NO metabolitlerinin konsantrasyonları üzerinde indirgeyici etkisi gözlenmiştir. Araştırmacılar tarafından *S. hortensis*'e ait polar özütün rinosinüzit tedavisinde ve anti-inflamatuvar ajan olarak kullanımının uygun olduğu belirtilmiştir.

### **2.3.5. Analjezik Etkisi**

Hajhashemi ve ark. (2002) tarafından fareler üzerinde asetik asit ve formalin yardımıyla meydana getirilen yaralardan kaynaklanan ağrılar üzerine *S. hortensis*'e ait hidroalkolik özüt, polifenolik fraksiyon ve uçucu yağlar uygulanmıştır. Hidroalkolik özüt (2000 mg/kg, p.o.) ile uçucu yağın (200 mg/kg, p.o.) asetik asitin neden olduğu ağrıları inhibe ettiği görülmüştür. Formalin testinde ise, hidroalkolik özüt (500-2000 mg/kg, p.o.), polifenolik fraksiyon (250-1000 mg/kg, p.o.) ve uçucu yağın (50-200 mg/kg, p.o.) analjezik aktivite gösterdiği rapor edilmiştir.

### **2.3.6. İnsektisidal Etkisi**

Aslan ve ark. (2004), *S. hortensis*, *Ocimum basilicum* ve *T. vulgaris*'den elde edilen uçucu yağların, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) ergin ve larvası ile *Bemisia tabaci* Genn. (Homoptera: Aleyrodidae) ergini üzerindeki toksisitesini test etmişlerdir. *S. hortensis*'den elde edilen uçucu yağın diğer ikisiyle karşılaştırıldığında bu iki böcek türüne karşı en etkili olduğu görülmüştür. Sonuçlar, *S. hortensis*'den elde edilen uçucu yağın *T. urticae* ve *B. tabaci*'ye karşı potansiyel kontrol ajanı olabileceğini göstermiştir.

Pavela (2009), aralarında Çek Cumhuriyeti'nden toplanan *S. hortensis* örneğinin de bulunduğu 22 aromatik bitkiden elde edilen uçucu yağların *Culex quinquefasciatus* sivrisinek larvası üzerindeki mortaliter etkisini araştırmıştır. *S. hortensis* 36µg/ml LC<sub>50</sub> ile en yüksek etkiyi gösteren üç bitkiden birisi olmuştur.

Tozlu ve ark. (2011), Erzurum ve Samsun'da toplayıp teşhisini yaptıkları *Achillea gypsicola*, *S. hortensis*, *Origanum acutidens* ve *Hypericum scabrum* uçucu yağlarının *Bruchus dentipes* türü böcekler üzerinde etkisini araştırmışlardır. *S. hortensis*'e ait uçucu yağın söz konusu böcek türü üzerinde uygulamanın 6. saatinden itibaren %100 mortalite gösterdiği ve *S. hortensis* bitkisine ait uçucu yağın *Bruchus dentipes* böcek türü ile mücadelede kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

### **2.3.7. Antispazmodik ve İshal Kesici Etkisi**

Hajhashemi ve ark. (2000), *S. hortensis* uçucu yağının *in vitro*'da ratlardan izole edilen ince barsak üzerindeki kasılmaya karşı etkisini ve *in vivo*'da fareler üzerine ishale karşı etkisini araştırmışlardır. Sonuçlar, bitki uçucu yağının ince bağırsakta oluşturulan spazma karşı rahatlatıcı etkisinin olduğunu göstermiştir. Buna ek olarak 0.1 ml/100 gr dozunda bitki uçucu yağının farelerde ishale karşı inhibe edici etkisi görülmüştür.

### **2.3.8. Genotoksik Etkisi**

Mosaffa ve ark. (2006), *S. hortensis* uçucu yağı ve etanol özütünün kromozomlar üzerinde hidrojen peroksit tarafından oluşturulan hasarı tedavi edici özelliklerini araştırmışlardır. Araştırma sonuçları, *S. hortensis* uçucu yağı ve etanol özütünün doza bağlı olarak kromozomlar üzerindeki hasarı tedavi edici etkisini rapor etmiştir.

Panahi ve ark. (2009) yenidoğan ratların fibroblastlarında Comet testi yöntemini kullanarak, Lomex ile *S. hortensis* özütünün genotoksitesini karşılaştırmalı olarak değerlendirmişlerdir. Lomex ve *S. hortensis* dört farklı konsantrasyonda kullanılmıştır (100, 400, 800 ve 1000 µL). Sonuçlar pozitif kontrol grubu ile karşılaştırıldığında Lomex ile *S. hortensis* özütünün *in vitro*'da önemli derecede genotoksik etkiye sahip olmadığı görülmüştür. Çalışma sonucunda bu iki bitkisel ürünün de mutajenik etkisinin olup olmadığı hakkında bilgi vermek için diğer testlerle desteklenmesi gerektiği rapor edilmiştir.

### **2.3.9. Anti-Koagülör Etki**

Yazdanparast ve ark. (2008), *Artemisia dracunculus*, *S. hortensis* ve *O. majorana*'nın metanol özütlerinin, doku tabakaları üzerinde kan adezyonunu inhibe edici özelliklerini araştırmışlardır. Çalışmadan elde edilen bulgular, 200 µg/mL *S.*



*hortensis* özütünün agregasyonu önleyerek, kalp damar hastalıklarında tedavi edici olarak kullanılabileceğini göstermiştir.

### 2.3.10. Anti-Proliferatif Etki

Lampronti ve ark. (2006), *S. hortensis* uçucu yağından elde edilen 15 farklı molekülün K562 eritrolösemik hücreler üzerindeki antiproliferatif etkisini araştırmışlardır. Bitkiden izole edilen bileşiklerden  $\alpha$ -pinen,  $\alpha$ -terpinol ve caryophyllene'nin söz konusu hücre hattı üzerinde yüksek oranda antiproliferatif etkisini rapor etmişlerdir.

### 2.3.11. Anti-Kanser Etki

Lamiaceae familyasının üyesi olan Satureja cinsiyle yapılan çalışmalarda bu cinse ait bitkilerin doza bağlı antikanserojen etkileri gözlenmiştir *Satureja sahendica* uçucu yağıyla yapılan çalışmada, 15,5-250  $\mu\text{g/mL}$  konsantrasyon aralığında insan kanser hücrelerine karşı sitotoksik etkisi rapor edilmiştir. (Yousefzadi, 2012).

Gohari ve ark. (2011), *Satureja spicigera* özütünün çeşitli kanser hücreleri üzerindeki etkisini *in vitro*'da denemişlerdir. Çalışmanın sonuçları, 98.7  $\mu\text{g/mL}$  IC<sub>50</sub> değerinde *S. spicigera* özütünün T47D hücre hattı üzerinde meme, ductal ve insan kanserlerine karşı sitotoksik etkisi olduğunu göstermiştir.

Kanada'da aralarında *S. hortensis*'in de bulunduğu, halk arasında çeşitli hastalıkları tedavi etmek amacıyla kullanılan 15 bitkinin *in vitro* koşullarda karaciğer kanseri üzerindeki tedavi edici etkisi araştırılmıştır. Yapılan araştırmanın sonucunda *S. hortensis*'in kanser hücre hatlarındaki büyümeyi %51 oranında azalttığı görülmüştür (Lin, 2002).

*S. hortensis*'in *in vitro* antikarsinojenik özelliğini destekleyen bulgular bulunmaktadır. Diğer yandan *in vivo* çalışmaların henüz bulunmaması önemli bir eksikliktir. Buradan yola çıkılarak, çalışmada *in vivo* kanser modellerinde etkinliği değerlendirilmemiş olan *S. hortensis* bitkisinin Ehrlich asit tümörü (EAT) oluşturulmuş Swiss albino ırkı farelere gavaj yoluyla verilerek *in vivo* antitümöral etkisinin araştırılması ve insanların bitkisel tedavi süreçlerine bilimsel anlamda ışık tutma amaçlanmıştır.

## BÖLÜM 3

### MATERYAL VE METOT

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Kimyasal Maddeler

Dietileter (Ak Kimya), Etil Alkol (Necm Kimya), Formaldehit (Merck), Ksilol (Leica), Parafin (UWR), Hematoksilen (Molekula), Eozin (Merck), Amonyak (Merck), Asit Alkol (HCl) (Merck), Eozin (Sigma), Entellan (Merck).

##### 3.1.2. Cihazlar ve Diğer Gereçler

Soxhlet Cihazı (Gerhardt EV 14), Rotary Evaporatör (Heidolph Heizbad HB Digit), Doku Takip Cihazı (Leica ASP300), Mikrotom (Leica RM2145), Doku Boyama Cihazı (Leica Auto Stainer XL), Lamel Kapatma Cihazı (Leica CV 5030), Doku Bloklama Cihazı (Leica EG1160), Etüv (Nüve EN 400), Hassas Terazi (Precisa 160M), Isıtıcı (Velp Scientifica), Işık Mikroskobu, (Micros MC 300A), Fotoğraf Makinesi (Fujifilm Fine Pix 600S zoom), 250 ml Hacimli Şilifli Balon (İso Lab NS 29/32), Motic Plus 2.0. Yazılım Programı ve Motic marka Kamera, Doku Kaseti (Sitotest), Lam-Lamel (Menzel Glaser).

##### 3.1.3. Araştırmada Kullanılan Deney Hayvanları

Araştırmada kullanılan deney hayvanları *Mus musculus* Swiss albino türü (30-35 gr ve 8-10 haftalık) erkek fareler Çukurova Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi'nden temin edilmiştir. Hayvanlar 23 °C'de 12 saat aydınlık-karanlık siklusuyla tel kafesler içinde laboratuvar ortamında yetiştirilmiştir. Deney hayvanlarının hiçbiri göz ya da kulak enfeksiyonu taşıyor, yamalı tüy ya da açık yara barındırmıyordu. Deney hayvanlarının beslenmesinde hazır pelet yem kullanılmıştır ve su *ad libitum* olarak verilmiştir. Hayvanların beslenmesinde kullanılan yem İpek Yem Fabrikasından (Gaziantep) getirilmiştir.

## **3.2. Metot**

### **3.2.1. *S. hortensis* L. (Anık)'ın Toplanması ve Teşhisi**

Lokal olarak "Gölbaşı Malatya üzeri 7. kilometresi Elbistan-Nurhak yol ayrımı Karabağşılı Köyü'nden" toplanan bitkinin teşhisi yapıldıktan sonra taze ve sağlıklı görülen toprak üstü kısımları çalışma için seçilmiştir. Bu kısımlar kullanılmadan önce distile suyla yıkanmış ve kurutulmuştur.

### **3.2.2. *S. hortensis* L. (Anık) Özütünün Eldesi**

Bitkinin etanol özütünü elde etmek için Soxhlet cihazı kullanılmıştır. 125gr bitki materyali 500ml etanolde oda sıcaklığında 12 saat özütlemeye tabi tutulmuştur. Bu süreç güvenilirlik açısından iki defa tekrar edilmiştir. Elde edilen özütler yüksek vakum altında "Rotary Evaporator"de 40°C'de yoğunlaştırılmıştır. 125gr *S. hortensis*'ten 23gr etanol özütü elde edilmiş, özüt verimi %18 olarak hesaplanmıştır. Elde edilen özütler +4 °C'de deney başlayana kadar muhafaza edilmiştir (Özcan, 2007).

### **3.2.3. *S. hortensis* L. Özütünün Sıvı EAT Üzerine Olan Etkisinin Araştırılması**

Çukurova Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi'nden temin edilen 28-30 g ağırlığında 8-10 haftalık 60 adet erkek Swiss albino soyu fare 6 gruba ayrılmıştır (n=10). IV. ve VI. grup dışında tüm hayvanlar 0.1 ml PBS'de süspansiyon edilmiş  $1 \times 10^6$  EAT hücresi i.p. olarak enjekte edilmiştir. Deneme gruplarına sırasıyla 150mg/kg, 200mg/kg ve 250mg/kg dozunda *S. hortensis* özütü sırasıyla gavaj yoluyla (p.o.) günlük verilmiştir. Sadece bitki özütü uygulanan sağlıklı kontrol grubuna ise en yüksek doz olan 250mg/kg *S. hortensis* özütü p.o yolla verilmiştir. Özütün uygulamaya başlama zamanı tümör inokülasyonundan sonraki 3. gündür ve uygulama süresi 10 gündür. IV. ve VI. gruplara ise özüt yerine aynı hacimde çeşme suyu verilmiştir.

### **3.2.4. Tümör Gelişiminin Takip Edilmesi**

Tümör gelişimi üzerine *S. hortensis* özütünün etkileri sırasıyla günlük besin ve su tüketimi, ağırlık artışı ve dokuların patolojisine bakılarak değerlendirilmiştir. Tümör gelişimini belirlemek için tümör inokülasyonundan önce belirlenen vücut ağırlıklarına kıyasla her gün hayvanlar tartılmıştır.

### **3.2.5. EAT'nin Patolojik Olarak İncelenmesi**

Çalışmanın 11. gününde tüm hayvanlar eter anestezi altında sakrifiye edilmiştir. Deneş süresi sona erene kadar hayvanların bazılarında tümör etkisi ve çalışma hatası sebebiyle ölümler görülmüştür. Hayvanlara ait karaciğer, böbrek, incebarsak, kalınbarsak ve periton ambulok çıkarılarak %10'luk tamponize formaldehit içeren şişelere alınmış ve Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji ABD. laboratuvarlarına gönderilmiştir. Her bir gruba ait organların tamamı gruplarına göre kodlanarak, standart patoloji piyes kasetlerine yerleştirilmiş ve doku takip işlemine geçilmiştir. Dokuların mikroskopik incelemeye hazır hale getirilmesi amacı ile yapılan, gömme ile sona eren işlemler dizisine doku takibi denilmektedir. Sırasıyla dehidratasyon, şeffaflandırma ve infiltrasyondan oluşan doku takibi aşamaları patoloji laboratuvarında otomatik olarak gerçekleştirilmiştir. Doku takip işlemi bittikten sonra bloklamaya geçilmiştir. Manuel olarak çalışılan bu aşamada, dokular uygun oryantasyonda 56°C eriyik parafınle kasetlere gömülerek bloklanmıştır. Parafının hızlı bir şekilde soğutulup kristal yapısına dönmesi sağlanmış, sertleşmesi sağlanan parafine gömülü dokunun kesit işlemine geçilmiştir. Dokulardan 5 mikron kalınlığında kesit alınmış, kesit suya bırakılıp, dikkatli bir şekilde lama alınmış ve sonrasında lamalar etüvde 56°C'de 1 saat tutularak deparafinize edilmiştir. Bu işlem sonrasında boyama işlemine geçilmiş, bunun için de histolojik boyalar içinde en geniş kullanımı olan, dokunun farklı bölgelerini farklı olarak boyayan Hematoksilen-Eosin (H&E) seçilmiştir. Boyamanın en son aşaması olan ksilenden çıktıktan sonra camın kurumasına fırsat verilmeden altı temiz bir gazlı bez ile silinerek entellan ile kapatılmıştır. Doku örneklerinden hazırlanan H&E kesitler binoküler ışık mikroskobunda incelenmiş ve değerlendirilmiştir. İncelemeler sırasında tüm büyütmeleler kullanılmıştır.

### **3.3. İstatistiksel Analiz**

İstatistiksel analiz ANOVA Tukey HSD testi uygulanarak yapılmıştır (Mosaffa, 2006).

## BÖLÜM 4

### BULGULAR

#### 4.1. Vücut Ağırlık Değişimi

Deneme süresince kaydedilen hayvanların vücut ağırlıklarındaki değişim sırasıyla; Grup III (5.7 gr), Grup IV (3.99gr), Grup V (1.06gr), Grup I (0.98gr) ve Grup II (0.7gr) olarak kaydedilmiştir. Gruplar arasındaki kilo artışı anlamlı olarak birbirinden farklıdır ( $p<0.05$ ). Deneme gruplarına ait vücut ağırlık değişimleri Tablo 4.1'de gösterilmiştir. Elde edilen bulgulara dayanarak en fazla kilo artışının 250 mg/kg/gün *S. hortensis* özütü verilen III. Grupta; en az kilo artışının ise 200 mg/kg/gün *S. hortensis* özütü verilen II. Grupta olduğu kaydedilmiştir. Tümör inokülasyonu yapılmayan sağlıklı kontrol grubunda ise 0.9 gr ağırlık kaybı gözlenmiştir.

**Tablo 4.1.** Deneme Gruplarına ait Ortalama Vücut Ağırlıkları Değişimi

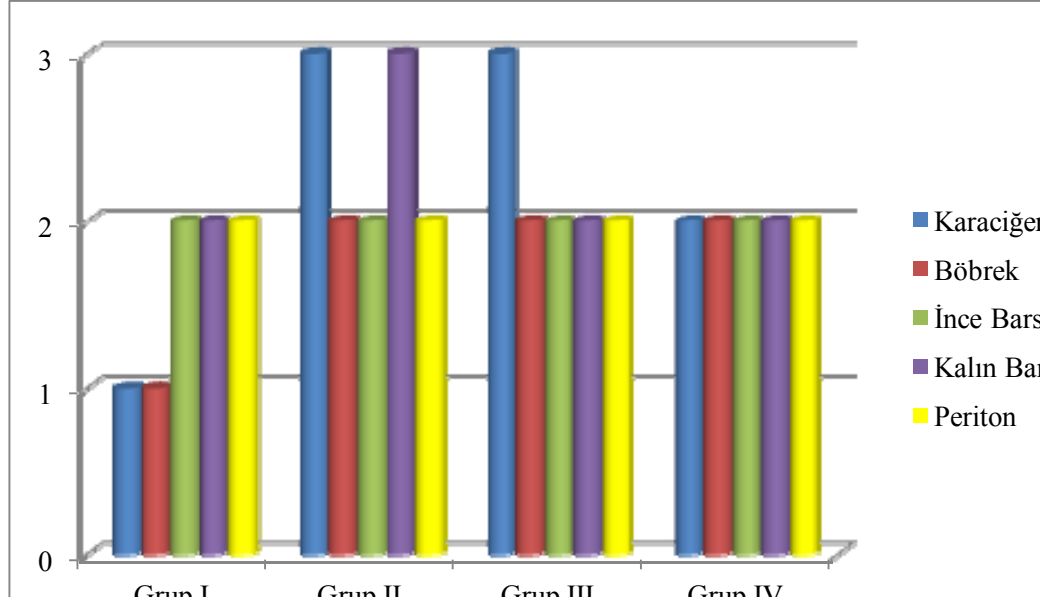
Grup No	Deneme Sonu Ort. Ağırlık (gr)	Deneme Başlangıcı Ort. Ağırlık (gr)	Ort. Ağırlık Artışı (gr)	Uygulanan İşlem
I. Grup	31,22	30,24	0,98	EAT+150 mg/kg/gün Bitki Özütü
II. Grup	31,39	30,69	0,7	EAT+200 mg/kg/gün Bitki Özütü
III. Grup	36,17	30,47	5,7	EAT+250 mg/kg/gün Bitki Özütü
IV. Grup	34,05	30,06	3,99	EAT+0,2 ml Çeşme Suyu
V. Grup	31,84	30,78	1,06	250 mg/kg/gün Bitki Özütü
VI. Grup	29,44	30,34	-0,9	0,2 ml Çeşme Suyu

#### 4.2. Histopatolojik Değerlendirmeler

Deneme sonrasında gruplara ait fare karaciğer, böbrek, periton, ince ve kalın bağırsak dokuları incelenmiştir. Sağlıklı kontrol gruplarına ait doku örnekleri Resim 4.1'de verilmiştir.

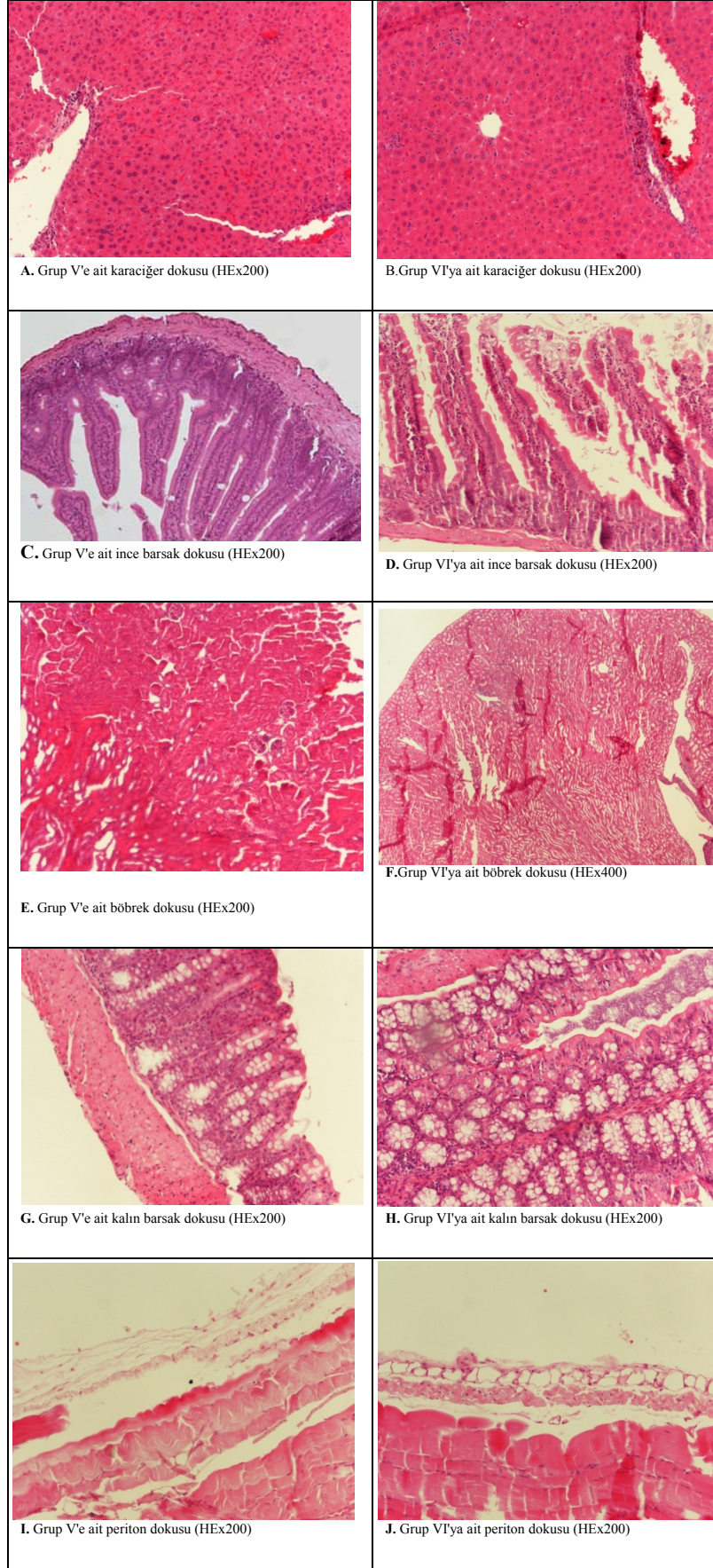
Sağlıklı kontrol grupları haricindeki tüm gruplara ait doku örneklerinde değişen yoğunlukta tümör hücreleri varlığı tespit edilmiştir. Histopatolojik olarak EAT

hücreleri iri hiperkromatik nükleuslu, belirgin nükleollü, eozinofilik sitoplazmalı, atipik görünümlü tümör hücreleri şeklinde görülmektedir (Resim 4.2). Çıkarılan doku örneklerinde tümör tutulum yoğunluğu derecelendirilmiştir (Grafik 4.1).



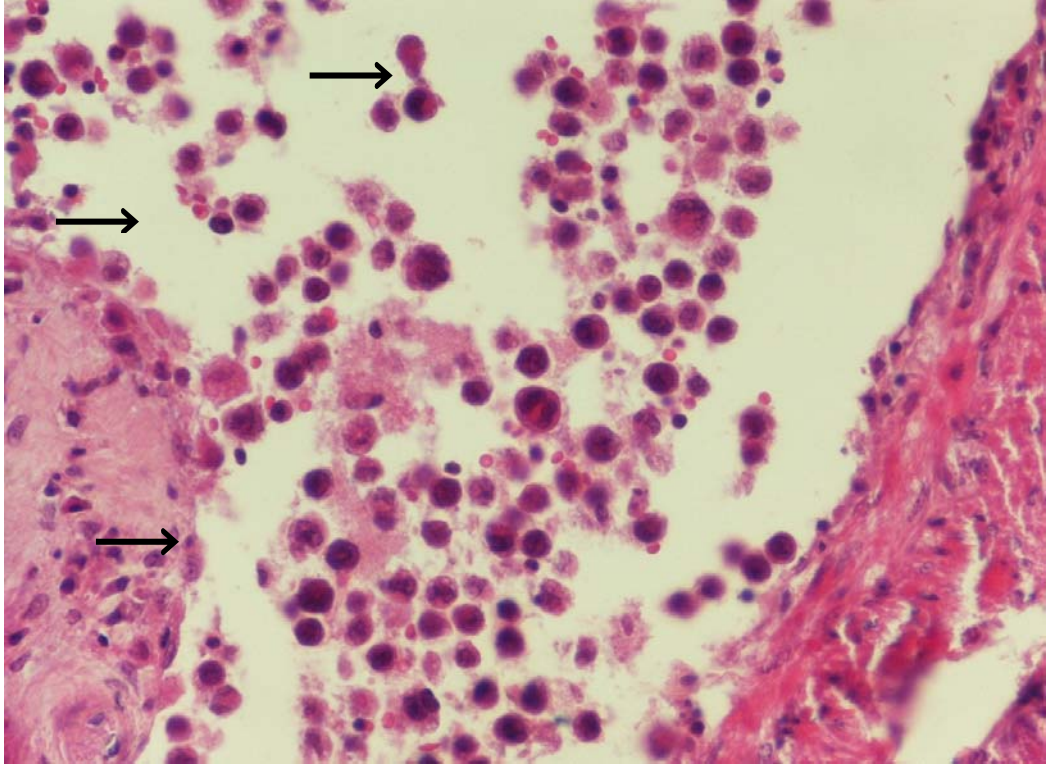
**Grafik 4.1.** Deney Gruplarına Ait Ortalama Tümör Tutulumu Miktarı

Sadece EAT taşıyan Grup IV dokularında ağırlıklı olarak serozal yüzeyde ve yer yer parankimde küçük gruplar halinde tümör hücresi varlığı (2+) saptanmıştır (Resim 4.3). Grup I'de ise ince bağırsak, kalın bağırsak ve periton dokularında genel olarak tümör yoğunluğu 2+ olarak saptanırken; karaciğer ve böbrek dokularında serozal yüzeyde tek sıralı tümör hücresi varlığı (1+) tespit edilmiştir (Resim 4.4, 4.5, 4.6). Grup II'ye ait dokuların histopatolojik değerlendirmesi sonucunda ise kalın bağırsak ve karaciğer dokularının genelinde yoğun nekrotik tümör tutulumu tespit edilmiş (3+) diğer dokularda ise tümör yoğunluğu 2+ olarak görülmüştür (Resim 4.7). Grup III'de ise sadece karaciğer dokularının önemli bir kısmında tümör yoğunluğu 3+ saptanmış olup bu gruba ait diğer dokularda tümör yoğunluğu 2+ olarak belirlenmiştir (Resim 4.8, 4.9). Gruplar arasında tümör yoğunluğu açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır ( $p>0,05$ ).

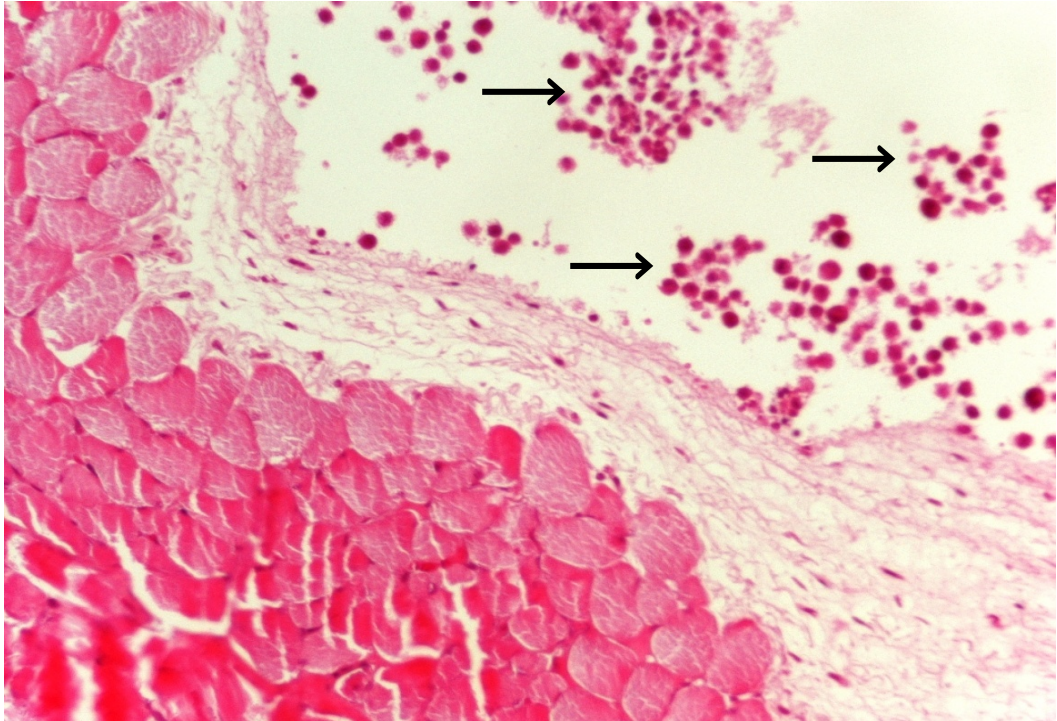


**Resim 4.1.**Kontrol gruplarına ait histopatolojik resimler



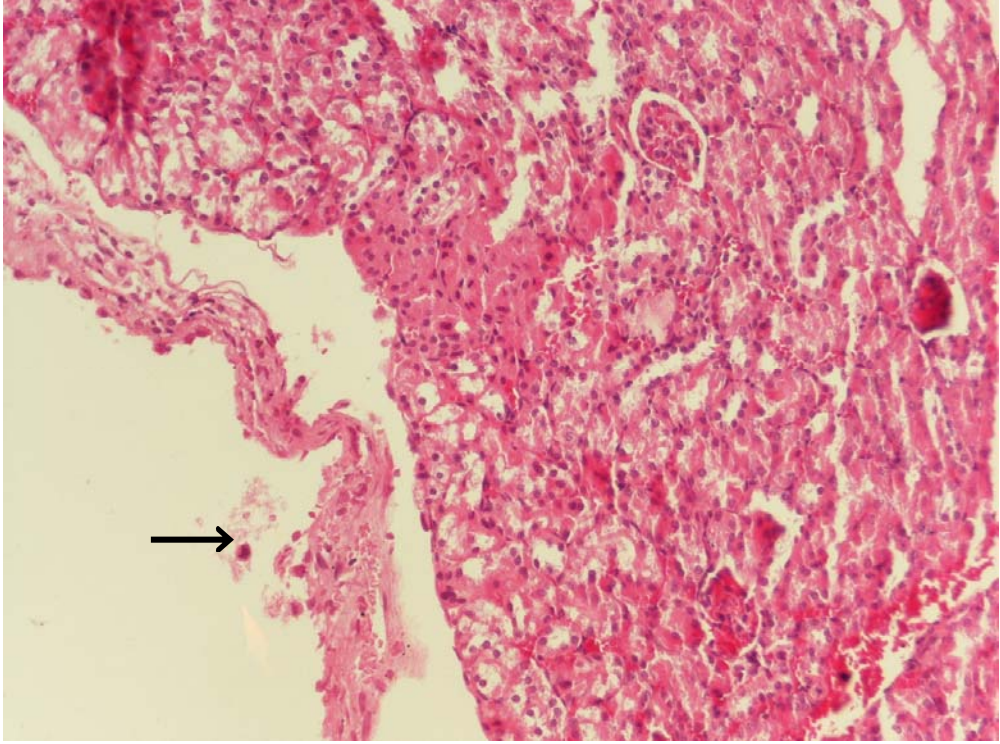


**Resim 4.2.** İri hiperkromatik nükleuslu, belirgin nükleollü, eozinofilik sitoplazmalı atipik görünümlü tümör hücreleri (HEEx400)

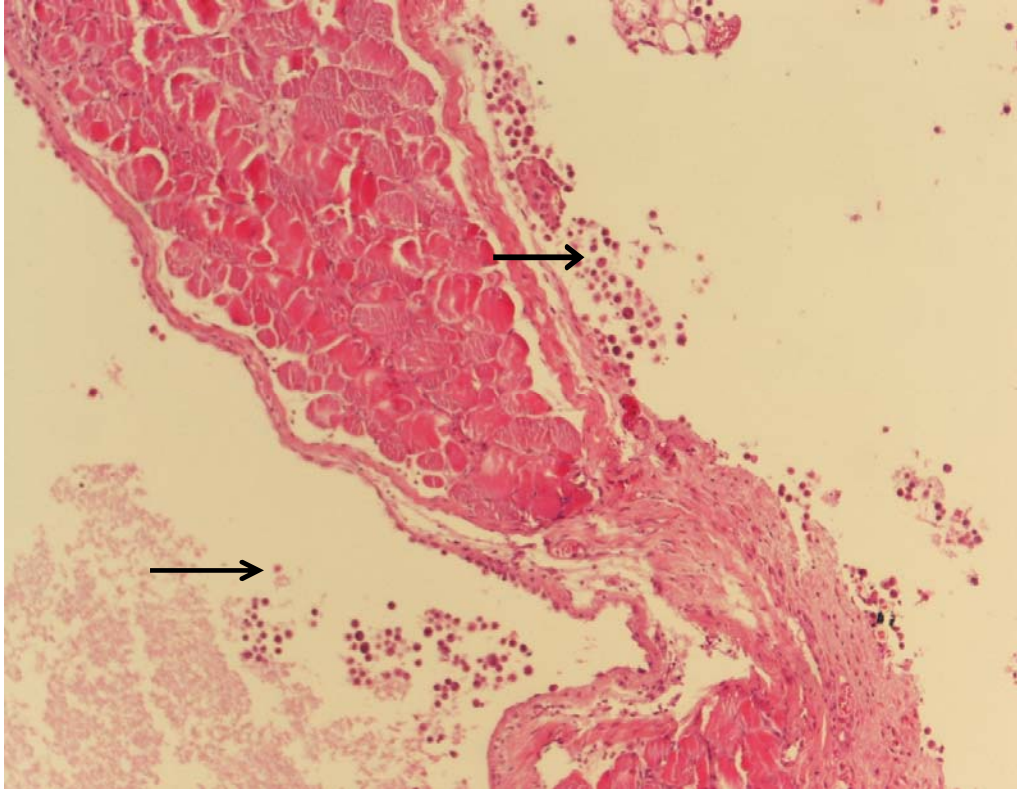


**Resim 4.3.** Grup IV'de periton dokusu yüzeyinde küçük gruplar halinde tümör hücreleri(HEEx200)



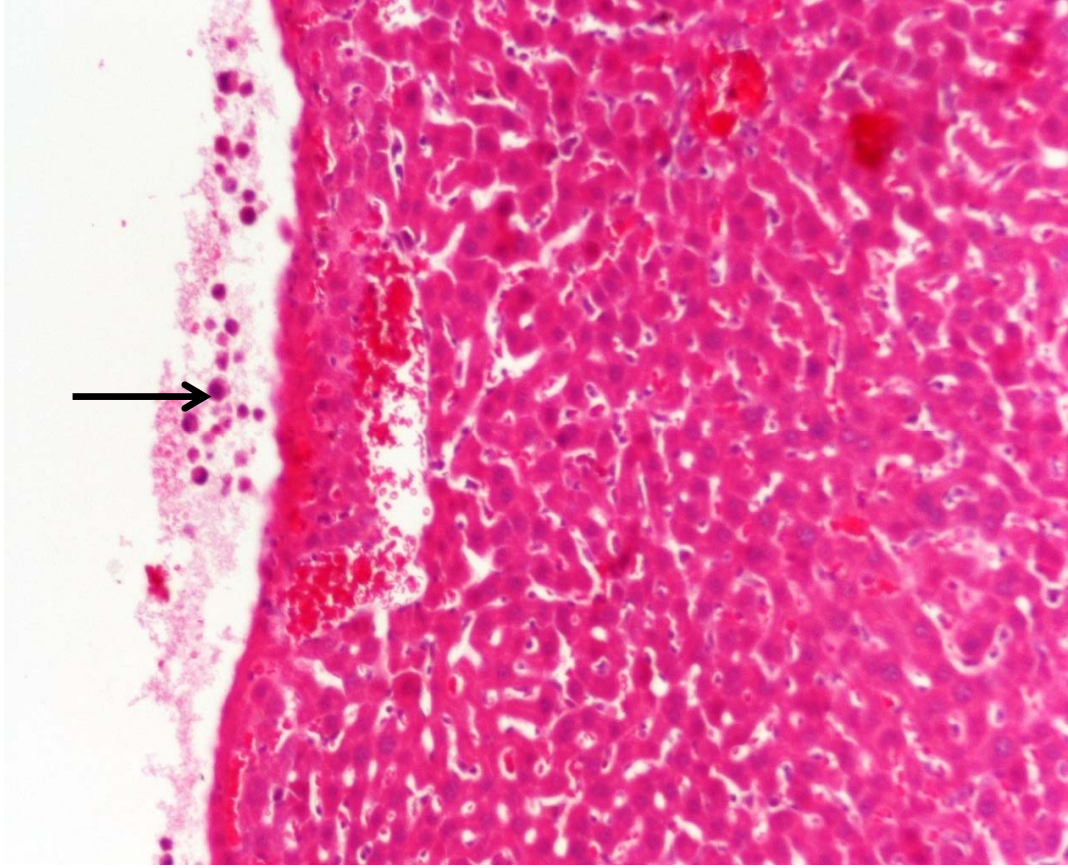


**Resim 4.4.** Grup I'de böbrek yüzeyinde tek tek duran tümör hücreleri (HEx200)

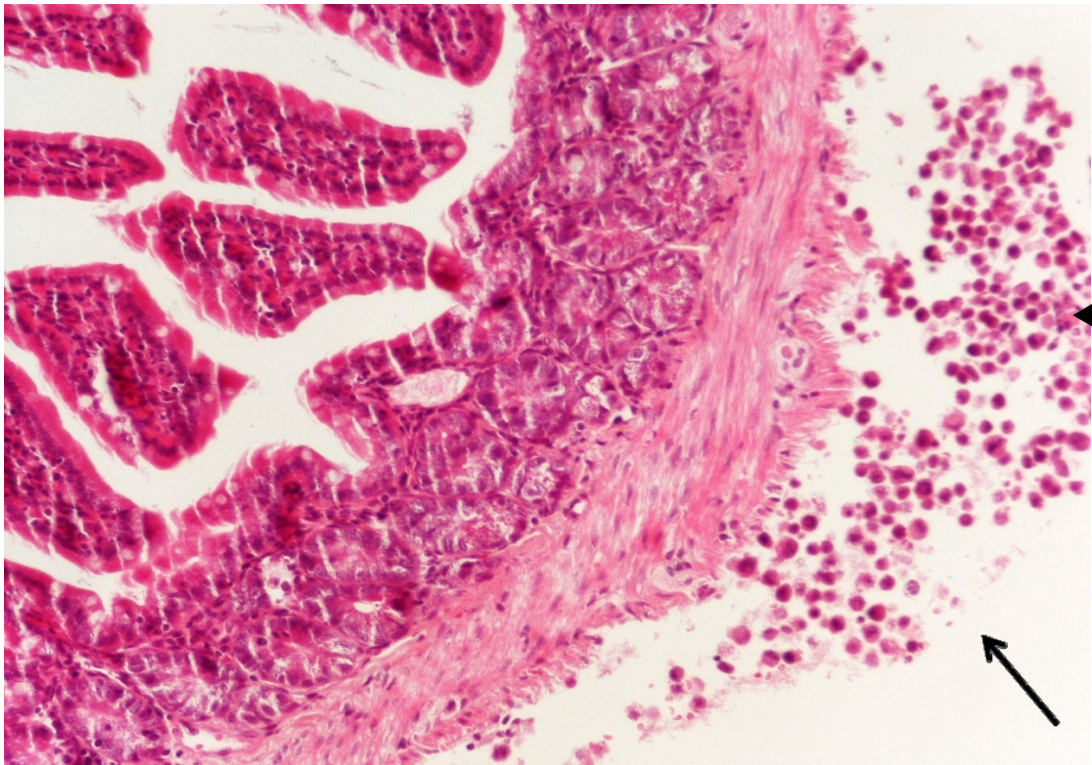


**Resim 4.5.** Grup I'de periton dokusu yüzeyinde küçük gruplar halinde duran tümör hücreleri (HEx100)



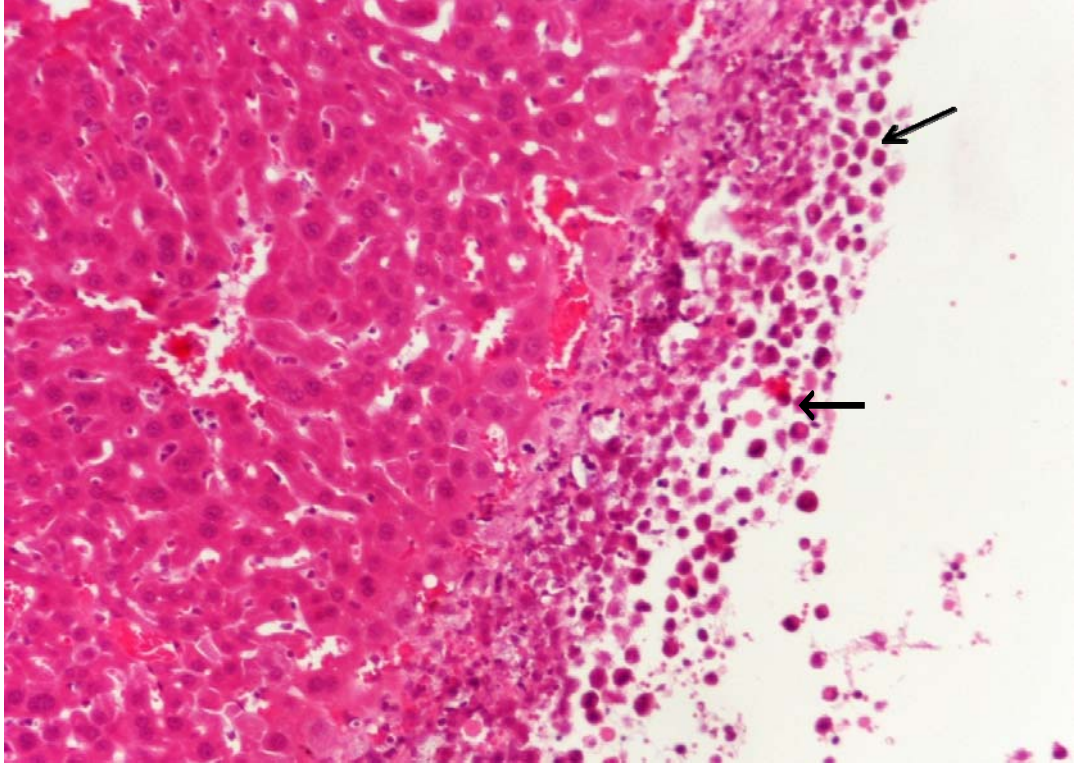


**Resim 4.6.** Grup I'e ait karaciğer dokusu yüzeyinde serbest halde tek tek duran tümör hücreleri(HEx200)

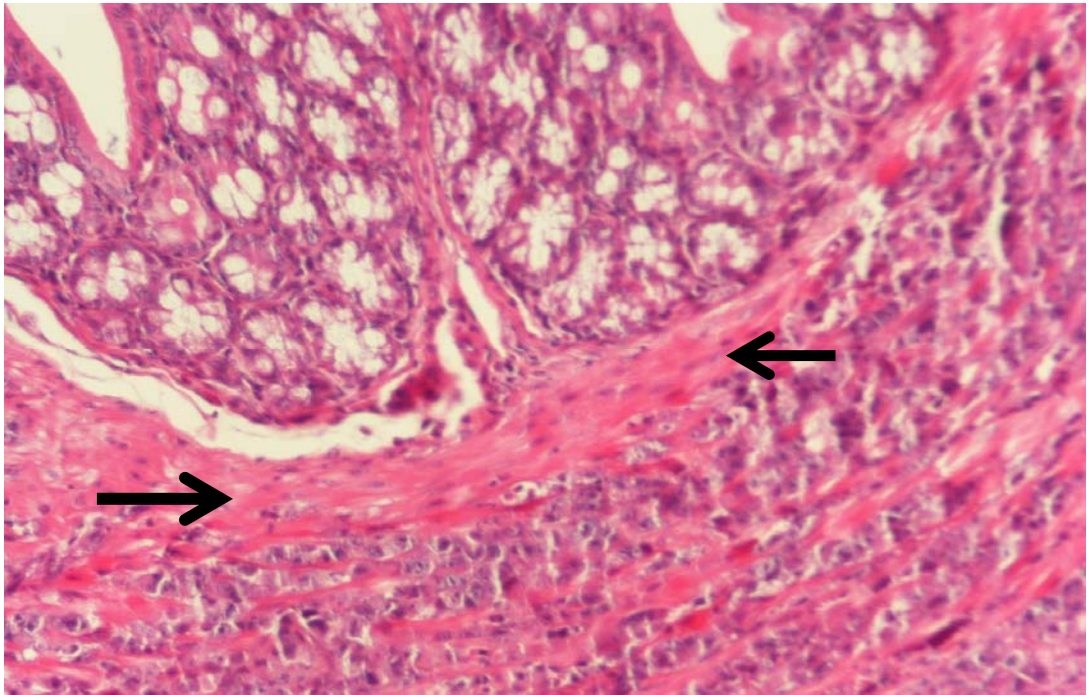


**Resim 4.7.** Grup II'de ince bağırsak serozal yüzde grup halinde tümör hücreleri (HEx200)





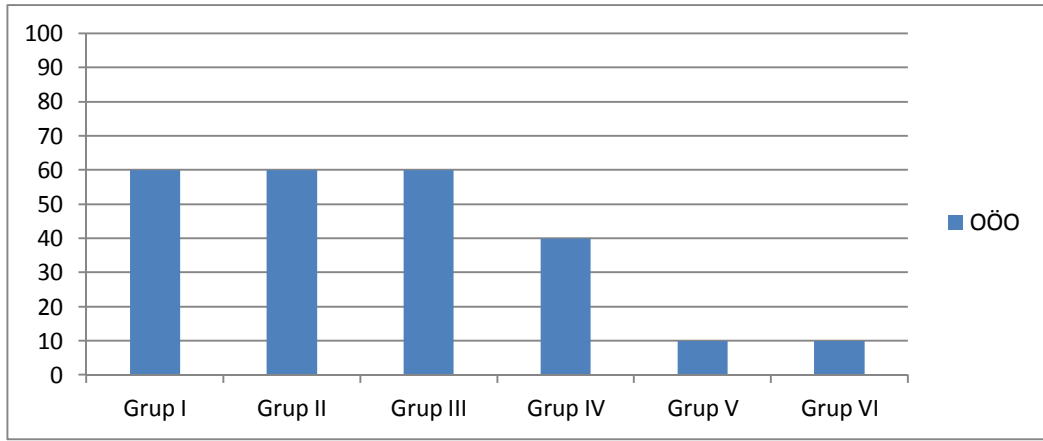
**Resim 4.8.** Grup III'de Karaciğer dokusu komşuluğunda bir kısmı nekrotik tümör hücre grubu (HEEx200)



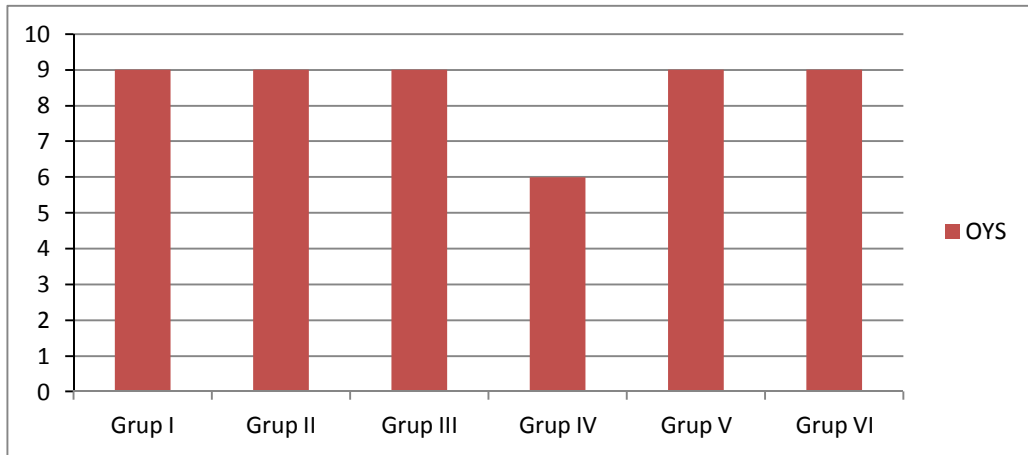
**Resim 4.9.** Grup II'de kalın bağırsak kas tabakası içerisinde tümör hücre infiltrasyonu (HEEx200)

### 4.3. Ortalama Yaşam Süresi

Deneme süresi içerisinde tüm gruplarda gerek tümör agresifliği gerekse uygulayıcı hataları (mal-praktis) sonucunda ölümler gözlenmiştir. Gruplara ait ölüm oranları (OÖO) Grafik 4.2'de verilmiştir ( $p < 0.05$ ). Sadece *S. hortensis* özütü uygulanan ve hiçbir uygulama yapılmayan sağlıklı kontrol gruplarında ve Grup II'de mal-praktis sonucu 1'er hayvanda ölüm gözlenmiştir. EAT uygulanan deneme gruplarında görülen diğer ölümler ise tümör agresifliğinden kaynaklanmaktadır. Bu hayvanlara ait veriler değerlendirme dışı bırakılmıştır. Tüm gruplara ait ortalama yaşam süreleri (OYS) 9 gün olarak tespit edilmiş olup en düşük ortalama yaşam süresi sadece EAT uygulanan Grup IV'te görülmüştür ( $p < 0.05$ ) (Grafik 4.3).



**Grafik 4.2.** Deney Hayvanlarına Ait Ortalama Ölüm Oranları [OÖO-(%)]



**Grafik 4.3.** Deney Hayvanlarına Ait Ortalama Yaşam Süreleri [OYS (Gün)]

## BÖLÜM 5

### TARTIŞMA ve SONUÇ

Günümüze kadar birçok bitkinin antikanser ajan potansiyelleri araştırılmıştır ve bu alanda yapılan çalışmalarda hızlı bir artış vardır (Majumder ve Gupta, 1998; Shimp, 2002; Guerra, 2003; Leyon ve Kuttan, 2004; Akev, 2007; Gruvayoorappan, 2007; Kumarappan ve Mandal, 2007; Dongre, 2008; Rao, 2008; Chandrasekhar, 2009; Joshua, 2010; Hamsa, 2010; Rekha ve Jayakar, 2011; Tepe, 2012). Özellikle aromatik bitkilerin antikanser potansiyelleri üzerine yapılan araştırmalardan umut verici sonuçlar alındığı rapor edilmektedir (Musa, 2004; Zumurtdal, 2008; Ozaslan, 2009; Saraydin, 2012). Vicente ve ark. (2012), *Rosmarinus officinalis* özütünün insan hepatoma hücreleri üzerinde doza bağlı olarak inhibisyon etkisini rapor etmişlerdir. Skoric ve ark. (2012), *Cistus creticus* etanol özütünün HeLa (serviks), MBA-MB-453 (meme) ve Femx (melanom) kanser hücre hatlarında sitotoksik etkiye sahip olduklarını bildirmişlerdir. Lin ve ark. (2012), *Melissa officinalis* etanol özütünün Hep G2, KB ve TSGH 9201 hücre hatları üzerine inhibe edici etkisinin varlığını tespit etmişlerdir. Fuentes ve ark. (2011), *Aeschynomene fascicularis* özütünün Hela ve KB hücre hatları üzerinde, *Bonellia macrocarpa* özütünün ise KB hücre hatları üzerinde sitotoksik etkisini tespit etmişlerdir. Namvar (2012), *Eucheuma cottonii* metanol özütünün MCF-7 ve MB-MDA-231 insan meme kanseri hücre hatlarına karşı sitotoksik etkisinin varlığını, normal hücre hatları üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığını bildirmişlerdir. Jun ve ark. (2012), *Lithospermum erythrorhizon*'dan izole ettikleri  $\beta$ ,  $\beta$ -Dimethylacrylshikonin maddesinin *in vivo* ve *in vitro* antitümoral etkisini araştırmışlardır. Yapılan araştırmanın sonuçları  $\beta$ ,  $\beta$ -Dimethylacrylshikonin maddesinin mide kanseri hücreleri üzerinde doza ve zamana bağlı olarak hem *in vivo* hem de *in vitro* antitümoral etkiye sahip olduğunu rapor etmişlerdir. Wang ve ark. (2012), *Rosmarinus officinalis*'den izole ettikleri carnosic asidin Wistar albino ratlar üzerindeki toksik etkisini araştırmışlardır. Çalışmanın sonuçları, carnosic asidin yüksek dozda kalp, karaciğer ve böbrek üzerinde histopatolojik değişimlere neden olduğunu göstermiştir. Lamiaceae familyası içerdiği aktif fitokimyasal maddelerden dolayı *in vitro* antineoplastik özelliklerinden dolayı

dikkat çeken familyalardan birisidir ( Dzhambazov, 2002; Ozaslan, 2007; Ozkan ve Erdoğan, 2011). Ancak bitkilerin çeşitli hastalıkların tedavisinde iyileştirici etkisi olduğu kadar Letal Doz'da kullanılması halinde yan etkileri de mevcuttur. Elufioye ve ark. (2009), *Tithonia diversifolia* etanol özütünün ratlar böbrek, karaciğer, kalp, dalak ve beyin üzerinde toksik etkisini araştırmışlardır. Sonuçlar özütün doza ve zamana bağlı olarak böbrek ve karaciğer üzerinde toksik etkisinin varlığını göstermiştir.

*In vitro* yapılan çalışmalarda kanser hücreleri üzerine Satureja cinsine ait *Satureja spicigera* ve *Satureja sahendica* uçucu yağlarının inhibe edici etkilerini gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Gohari, 2011; Yousefzadi, 2012). *S. hortensis*'in *in vitro* HepG2-C3A, HA22T-VGH ve SK-HEP-1 karaciğer kanser hücre hatları ve K562 insan eritrolösemik hücre hattı üzerine sitotoksik ve antiproliferatif etkisinin olduğu rapor edilmesine rağmen bu bitkinin *in vivo* antikanser potansiyelinin değerlendirildiği herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır (Lin., 2002; Lampronti, 2006). Bu çalışma, *S. hortensis*'in antitümöral aktivitesinin değerlendirildiği ilk *in vivo* çalışmadır.

*S. hortensis* özütünün önemli derecede *in vitro* genotoksik etkiye sahip olmadığı (Panahi, 2009) ayrıca bildirilen LD<sub>50</sub> değerinin 36µg/ml olmasından dolayı bu çalışmada uygulanan dozların güvenli olduğu fikri benimsenmiştir (Pavela, 2009). Fakat özüt uygulanan sağlıklı gruba nazaran tümörlü gruplarda ölümlerin gözlenmesi bitkinin seçilen dozlarda tümörü agresifleştirici etkide bulunduğu fikrini doğrulamıştır. Özüt uygulanan ve uygulanmayan sağlıklı kontrol gruplarında ölüm oranlarının aynı seviyede ve minimum düzeyde olması bitkinin tek başına toksik etkisi olmadığını; bunun yanısıra özüt uygulanan tümörlü gruplarda sadece tümörlü olan negatif kontrol grubundan daha fazla ölüm oranı görülmesi bitkinin tümörü indüklediğini göstermiştir.

Tüm gruplarda görülen ±1 gr'lık vücut ağırlığı değişimi beslenme rejiminin değişmesi ve çalışmanın yarattığı stres faktörleri dikkate alınca göz ardı edilebilir bir değişimdir. Nitekim sağlıklı kontrol grubunda 1gr vücut ağırlığında azalma tespit edilmiş ve bu değişim dikkate alınmamıştır. Genelde kanser vakalarında bireylerin vücut ağırlığında azalmalar görülürken deneysel bir kanser modeli olan EAT taşıyan

hayvanlarda periton içerisinde asit sıvı birikimine bağı olarak ağırlık artışı kaydedilir. Ayrıca kanser vakalarında görülen kaşeksi (kilo kaybı) kronik süreçte oluşan bir klinik tabloyken deneysel tümörler kısa sürede oluşturulan transplante edilebilir modellemelerdir. Dolayısıyla bu açıdan insan tümörlerini yansıtmaz ve tümör tutulumuna bağı bir parametre olarak değerlendirilir (Karagöz, 2011). Grup III'de kaydedilen kilo artışının negatif kontrol grubundan dahi fazla oluşu ölüm oranlarının değerlendirilmesiyle paralel olarak *S. hortensis*'in yüksek dozda tümörü indüklediğini göstermiştir. Grup I ve II'de ise vücut ağırlıklarında önemli bir artış saptanmamıştır.

Histopatolojik değerlendirmeler neticesinde de *S. hortensis*'in yüksek dozlarda tümör tutulumunu negatif kontrol grubuna göre daha fazla arttırdığı saptanmışken en az tümör tutulumu Grup I'de görülmüştür. Bu sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamasına rağmen ( $p>0.05$ ), vücut ağırlığı değişimiyle paralellik gösterirken ölüm oranı değerlendirmesi sadece Grup III'teki agresiflik ilişkisiyle paralellik göstermektedir. Grup I'e ait karaciğer ve böbrek dokularındaki tümör tutulumu en az seviyede tespit edilmiştir. Karaciğer dokusunda görülen tümör tutulumu inhibisyonu Lin ve ark. (2002) tarafından yapılan *in vitro* anti-hepatoma çalışmasının bulgularıyla koreledir. Söz konusu dokulardaki bu inhibisyon, Mosaffa ve ark. (2006) tarafından bildirilen *S. hortensis* uçucu yağı ve etanol özütünün DNA uç bölgeleri üzerindeki kırıkları onarıcı etkisinden kaynaklanabileceği gibi Kartal ve ark. (2002) tarafından önerilen *S. hortensis*'den hazırlanan özütlerin güçlü serbest radikal temizleme aktivitesinden de kaynaklanabilir. Ayrıca bu çalışmada bitkisel drog olarak hazırlanan *S. hortensis* bir ön ilaç gibi işlev görüyor ve karaciğer ve böbrek yoluyla atılımı sırasında parçalandığı sekonder metabolitlerden biri olan carvacrol'un antikanserojen etkisinden dolayı bu olumlu etkiyi gösteriyor olabilir (Arunasree, 2010). Zira bu sekonder metabolitin *S. hortensis* uçucu yağ içeriğinde yüksek miktarda bulunduğu daha çalışmalarda rapor edilmiştir (Abyaneh, 2008).

Sonuç olarak *S. hortensis* etanol özütünün EAT'ye karşı doza bağı olarak inhibitör etkisinin olabileceği söylenebilir. Fakat bu bitkiyle ve içerik maddeleriyle ve hatta etkin dozun belirlenmesiyle ilgili *in vivo*'da daha ayrıntılı antikanser çalışmaların yapılması gerekmektedir. Ayrıca çalışmanın bu konuda yapılacak bilimsel çalışmalara ışık tutacağı ve araştırmacıları bitkisel kökenli ilaç denemelerine yönlendireceği kanaatindeyiz.

## KAYNAKLAR

- Abyaneh, M.R., Ghahfarokhi, M.S., Yoshinari, T., Rezaee, M.B., Jaimand, K., Nagasawa, H., Sakuda, S. (2008). Inhibitory Effects of *Satureja hortensis* L. Essential Oil on Growth and Aflatoxin Production by *Aspergillus parasiticus*. *International Journal of Food Microbiology*. **123 (3)**, 228-233.
- Adıgüzel, A., Özer, H., Kılıç, H., Çetin, B., (2007). Screening of Antimicrobial Activity of Essential Oil and Methanol Extract of *Satureja hortensis* on Foodborne Bacteria and Fungi. *Czech J. Food Sci.*, **25 (2)**, 81-89.
- Akev, N., Turkey, G., Can, A., Gurel, A., Yildiz, F., Yardibi, H., Ekiz, E. E., Uzun, H. (2007). Tumour Preventive Effect of *Aloe vera* Leaf Pulp Lectin (Aloctin I) on Ehrlich ascites Tumours in Mice. *Phytotherapy Research*. **21**, 1070-1075.
- Akgül, A., Ayar, A. (1993). Yerli baharatların antioksidan etkileri. Doğa-TR. *Journal of Agriculture and Forestry*. **17**, 1061-1068.
- Aktaş, E. (1996). Ehrlich Asit Sıvısının L- Hücrelerinin Çoğalma Hızına Etkisi. *Yüksek Lisans Tezi*. İstanbul: İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Altun, S. (1996). Normal, Tümöral ve Rejeneratif Büyümler Arasındaki İlişkiler. *Doktora Tezi*. İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Ana Pavla A. Diniz Gurgel, Jackeline G. da Silva, Ana Ruth S. Grangeiro, Danielli C. Oliveira, Cyntia M. P. Lima, Aldo C. P. da Silva, Rinalda A.G. Oliveira, Ivone A. Souza (2009). In vivo study of the anti-inflammatory and antitumor activities of leaves from *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng (Lamiaceae). *Journal of Ethnopharmacology*. **125(2)**, 361-363.
- Arunasree, K. M. (2010). Anti-Proliferative Effects of Carvacrol on a Human Metastatic Breast Cancer Cell Line, MDA-MB 231. *Phytomedicine*. **17**, 581-588.
- Aslan, İ., Özbek, H., Çalmaşur, Ö., Şahin, F. (2004). Toxicity of Essential Oil Vapours to Two Greenhouse Pests, *Tetranychus urticae* Koch and *Bemisia tabaci* Genn. *Industrial Crops and Products*. **19**, 167-173.



Aykan F. N., (1991). Meme kanserinde adjuvan kemoterapinin bazı humoral immün sistem parametreleri üzerine etkisi. *Uzmanlık tezi*. İstanbul Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı, İstanbul.

Azaz, A.D., Kürkçüoğlu, M., Satıl, F., Başer, K.H.C. and Tümen G., (2005). In Vitro Antimicrobial Activity and Chemical Composition of Some *Satureja* Essential Oils. *Flavour and Fragrance Journal*. **20 (6)**, 587-591.

Azaz, D., Demirci, F., Satıl, F., Kürkçüoğlu, M., Başer, .K.H.C. (2002). Antimicrobial activity of some *Satureja* essential oils. *Z. Naturforsch.* **57**, 817-821

Başer, K. H. C., Özek T., Kırimer N. and Tümen G. (2004). A comparative study of the essential oils of wild and cultivated *Satureja hortensis*. *Journal of Essential Oil Research*. **16 (5)**, 422-424

Başer, K.H.C. (1995). Essential oils from aromatic plants which are used as herbal tea in Turkey. In: Flavours, Fragrance and Essential Oils. Proceedings of the 13th International Congress of Flavours, Fragrances and Essential Oils. *AREP Publications*, İstanbul, Turkey. **4**, 67-79.

Başer, K.H.C. (1993). Essential Oils of Anatolian *Labiatae*; A profile. *Acta Horticulture*, **333**, 217-237.

Baytop, T. (1997). Türkçe Bitki Adları Sözlüğü. Türk Dil Kurumu Yayınlar. Ankara. **2**, 578.

Benndorf, R., Nurnberg, P., Bielka, N. (1988). Growth Phase-Dependent Proteins of the Ehrlich Ascites Tumor Analyzed by One-and-Two-Dimensional Electrophoresis. *Experimental Cell Research*, **174 (1)**, 130-138.

Bichel, P. (1970). Tumor Growth Inhibiting Effect of JB-1 Ascitis Fluid-1, An *in vivo* Investigation, *European Journal of Cancer*, **6**, 291.

Bichel, P. (1971). Autoregulation of Ascites Tumour Growth by Inhibition of the G-1 and the G-2 Phase. *European Journal of Cancer*, **7 (4)**, 349-355.

Bonadonna, G., (1990). Does chemotherapy fulfill its expectations in cancer treatment? *Annals of Oncology*. **1 (1)**, 11-21.

- Bonadonna, G., Rossi, A., Valagussa, P. (1985a). Adjuvant CMF chemotherapy in operable breast cancer; Ten years later. *World Journal of Surgery*. **9 (5)**, 707-713.
- Bonadonna, G., Valagussa, P., Rossi, A. (1985b). Ten year experience with CMF-based adjuvant chemotherapy in resectable breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*. **5 (2)**, 95-115.
- Brohee, D. Vanhaeverbeek, M., Neve, P., Kennes, B. (1990). Cancer chemotherapy affect the CD-5 pattern of positivity of B-cells. Evidence for specific B-cytotoxicity. *Annals of Oncology*. 106.
- Burns, E.R. (1968). Initiation of DNA Synthesis in Ehrlich Ascites Tumor Cells in Their Plateau Phase of Growth. *The Journal of Cancer Research*. **28**, 1191-96.
- Burns, E.R. (1969). On the Failure of Self-Inhibition of Growth in Tumors. *Growth* **33**, 25.
- Burns, E.R., Solofy, B.L. (1970). Further Studies on the Recurrent Growth of the Ehrlich Ascites Tumor. *The Anatomical Record*, **166**, 285.
- Chandrasekhar, H. R., Raj, P. V., Rao, J. V., Udupa, N. (2009). Anticancer Activity of *Hypericum mysorence*. *Phytotherapy Research*. **978 (1)**, 4244-4764.
- Davis, P.H. (1982). Flora of Turkey and the East Aegean Islands University Press, Edinburgh. **7**, 1965-1984.
- De Vita., V. In De Vita, V. T., Jr, Hellman, S., Rosenberg, S.A. (1989). Principles of chemotherapy. *Cancer, Principles and Practice of Oncology*. **3**, 276-300.
- DeFeudis FV, Papadopoulos V, Drieu K. (2003). *Ginkgo biloba* extract and cancer. a research area in its infancy. *Fundamental Clinical Pharmacology*. **17 (4)**, 405-17.
- Dikbaş, N., Kotan, R., Dadaşoğlu, F., Şahin, F. (2008). Control of *Aspergillus flavus* essential oil and methanol extract of *Satureja hortensis*. *International Journal of Food Microbiology*, **124 (2)**, 179-182.
- Dongre, S. H., Badami, S., Godavarthi, A. (2008). Antitumor Activity of *Hypericum hookerianum* Against DLA Induced Tumor in Mice and Its Possible Mechanism of Action. *Phytotherapy Research*. **22**, 23-29.

Dzhambazov, B., Sashka, D., Adriana, M., and Nikola, P. (2002). *In Vitro* Screening for Antitumour Activity of *Clinopodium vulgare* L. (Lamiaceae) Extracts. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. **25 (4)**, 499-504.

Ekinci, G. (2000). Katı Ehrlich Ascites Tümörünün Büyüme Kinetiği. İstanbul: İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Elufioye, T. O., Alatise, O. I., Fakoya, F. A., Agbedahunsi, J. M., Houghton, P. J. (2009). Toxicity Studies of *Tithonia diversifolia* A. Gray (Asteraceae) in Rats. *Journal of Ethnopharmacology*. **122**, 410-415.

Erlacin, S., (1990). Selim ve Malign Meme Dokusunda Serum ile Kıyaslamalı Önemli Element Değişiklikleri. *Uzmanlık Tezi*. İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri. İstanbul.

Exarchou, V., Nenadis, N., Tsimidou, M., Gerathanassis, I. P., Troganis, A., Boskou, D. (2002). Antioxidant activities and phenolic composition of extracts from Greek oregano, Greek sage, and summer savory. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. **50**, 5294-5299.

Fecchio, D., Russo, M., Sirois, P., Braquet, P., Jancar, S. (1990a). Inhibition of Ehrlich Ascites Tumor *in vivo* by PAF Antagonists. *International Journal of Immunopharmacology*, **12 (1)**, 57-65.

Fecchio, D., Sirois, P., Russo, M., Jancar, S. (1990b). Studies on İnflammatory Response İnduced by Ehrlich Tumor in Mice Peritoneal Cavity. *Inflammation*, **14 (1)**, 125-132.

Fisher, B., Redmond, C., Fisher, E. R. (1980). The contribution of recent NSABP clinical trials of primary breast cancer therapy to an understanding of tumor biology: An overview of findings. *Cancer*. **46 (4)**, 1009-1025,.

Fisher, B., Fisher, E. R., Redmond, C. (1986). Ten year results from the NSABP clinical trial evaluating the use of L-phenylalanine mustard (L-PAM) in the management of primary breast cancer. *Journal of Clinical Oncology*. **4**, 929-941.

- Fuentes, E. C., Tapia, L. W. T., Polanco, P. S., Sanchez, S. R. P., Puc, R. M. (2011). Screening of Plants Used in Mayan Traditional Medicine to Treat Cancer-Like Symptoms. *Journal of Ethnopharmacology*. **135**, 719-724.
- Gabrilovac, J., Benkovic, B., Burek, B., Cepelak, I., Boranic, M. (1982). Immunoregulatory Activity of Cell-Free Peritoneal Washings of Mice with Ehrlich Ascitic Carcinoma. *Research of Experimental Medicine*, **180**, 147-154.
- Gohari, A. R., Ostad, S. N., Afrapoli, F. M., Malmir, M., Tavajohi, S., Akbari, H., Saeidnia, S. (2011). Evaluation of the Cytotoxicity of *Satureja spicigera* and Its Main Compounds. *The Scientific World Journal*. **2012**, 1-5.
- Grune, T., Siems, W., Uhlig, R., Jakstadt, M. (1992). Adenine Metabolism of Ehrlich Mouse Ascites Cells in Proliferating and Resting Phases of Tumor Growth. *Biochemical Int.* **26(2)**, 199-209.
- Guruvayoorappan, C., Kuttan, G. (2007). Immunomodulatory and Antitumor Activity of *Biophytum sensitivum* Extract. *Research Communication*. **8**, 27-32.
- Guerra, R. N. M., Pereira, H. -A. W., Silveira, L. M. S., Olea, R. S. G. (2003). Immunomodulatory Properties of *Alternanthera tenella* Colla Aqueous Extracts in Mice. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. **36**, 1215-1219.
- Gursoy, U.K., Gursoy, M., Gursoy, O.V., Cakmakci, L., Könönen, E., Uitto, V-J. (2009). Anti-biofilm properties of *Satureja hortensis* L. Essential Oil Against Periodontal Pathogens. *Anaerobe*, **15**, 164-167.
- Gumus, T. (2010). Determination of the Changes of Antifungal Properties of *Satureja hortensis*, *Thymus vulgaris* and *Thymbra spicata* exposed to gamma irradiation. *Radiation Physics and Chemistry*. **79**, 109-114,
- Gümüşhan, H. (2002). İP, İV, SC Yollarla Uygulanan Adriamycin'in Ehrlich Asit Tümörü (EAT) Taşıyan Farelere Etkileri Üzerine Bir Çalışma. *Yüksek Lisans Tezi*. Şanlıurfa: Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Hadijan, J., Ebrahimi, S. N., Salehi, P. (2010). Variability of Morphological and Phytochemical Characteristics among *Satureja hortensis* L. Accessions of İran. *Industrial Crops and Products*. **32**, 62-69.

- Hajhashemi, V., Ghannadi, A., Pezeshkian, S.K., (2002). Antinociceptive and Anti-inflammatory Effect of *Satureja hortensis* L. Extract and Essential Oil. *Journal of Ethnopharmacology*, **82**, 83-87.
- Hajhashemi, V., Sadraei, H., Ghannadi, A.R., Mohseni, M. (2000). Antispasmodic and Anti-diarrhoeal Effect of *Satureja hortensis* L. Essential Oil. *Journal of Ethnopharmacology*. **71**, 187-192.
- Hamsa, T. P., Kuttan, G. (2010). Evaluation of The Anti-Inflammatory and Anti-Tumor Effect of *Ipomoea obscura* (L) and Its Mode of Action Through The Inhibition of Pro Inflammatory Cytokines, Nitric Oxide and COX-2. *Inflammation*.
- Haris, W.J., Meyskens, F., Patt, M.H. (1970). Biochemical Studies of Cytokinetic Changes During Tumor Growth. *Cancer Research* **30**, 1937-1946.
- Joshua, L. S., Pal, V. C., Kumar, K. L. S., Sahu, R. K., Roy, A. (2010). Antitumor Activity of The Ethanol Extract of *Amaranthus spinosus* Leaves Against EAC Bearing Swiss Albino Mice. *Scholars Research Library*. **2(2)**, 10-15.
- Jun, S. Z., Yuan, Z. Y., Ying, F. Y., Ju, J. S., Jiao, Y., Wei, Z. X., Jian, C., Yao, X., Ming, Z. L. (2012).  $\beta,\beta$ -Dimethylacrylshikonin Exerts Antitumor Activity Via Notch-1 Signaling Pathway *In Vitro* and *In Vivo*. *Biochemical Pharmacology*. **84**, 507-512.
- Justo, G.Z., Duran, N., Queiroz, M.L.S. (2000). Myelopoietic Response in Tumour-Bearing Mice by an Aggregated Polymer Isolated from *Aspergillus oryzae*. *European Journal of Pharmacology*, **388 (3)**, 219-226.
- Justo, G.Z., Duran, N., Queiroz, M.L.S. (2003). Natural Killer Cell Activity, Lymphocyte Proliferation and Cytokine Profile in Tumour-Bearing Mice Treated with MAPA, a Magnesium Aggregated Polymer from *Aspergillus oryzae*. *Immunopharmacology and Immunotoxicology* **25**, 305-319.
- Kaleoğlu, Ö., İşli, N. (1977). Ehrlich-Lette Asit Tümörü. İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası, **40**, 978-984
- Karagöz, I. D. (2011). Deneysel Tümör Modelleri Ders Notları.

Karayel İ. (2009). Ehrlich Asit Tümörü İmplantı Edilen Deneklerde Oksidan Stresin İncelenmesi. *Yüksek Lisans Tezi*. Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Ana Bilim Dalı. Ankara.

Kartal N., (2002). Farklı İşlemlerle İzole Edilen Bitki Özütlerinin Antioksidan Özelliği ve Kromatografik Analizleri. *Yüksek Lisans Tezi*. Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı. Sivas.

Khajeh, M. (2011). Optimization of Process Variables for Essential Oil Components from *Satureja hortensis* by Supercritical Fluid Extraction Using Box-Behnken Experimental Design. *The Journal of Supercritical Fluids*. **55**, 944-948.

Kirtikar, K.R., Basu, B.D. (1975). Indian medicinal plants. Dehradun , India: Bishen Singh Mahendra Pal Singh. **2 (2)**, 842-844.

Kocabaş, Y. Z., Karaman, S. (2001). Essential oils of Lamiaceae family from South East Mediterran Region (Turkey), *Pakistan Journal of Biological Sciences* **4 (10)**, 1221-1223.

Koşar, M., Dorman, H. J. D., Hiltunen, R. (2005). Effect of an Acid Treatment on The Phytochemical and Antioxidant Characteristics of Extracts from Selected Lamiaceae Species. *Food Chemistry*. **91**, 525-533.

Krown, S. E., Pinsky, C. M., Wanebo, H. J., (1980). Immunologic reactivity and prognosis in breast cancer. *Cancer*, **46 (8)**, 1746-1752.

Kumarappan, C. T., Mandal, S. C. (2007). Antitumor Activity of Polyphenolic Extract of *Ichnocarpus frutescens*. *Experimental Oncology*. **29 (2)**, 94-101.

Lampronti, I (Lampronti, Ilaria); Saab, AM (Saab, Antoine M.); Gambari, R (Gambari, Roberto), (2006). Antiproliferative activity of essential oils derived from plants belonging to the Magnoliophyta division. *International Journal of Oncology*. **29 (4)**, 989-995.

Latha, P.G., Evans, D.A., Panakkar, K.R., Jayavardhanan, K.K. (2000). Immunomodulatory and Antitumor Properties of *Psoralea corylifolia* Seeds. *Fitoterapia* **71**, 223-231.

- Lazebnik, Y.A., Medvedeva, D.N., Zenin, V.V. (1991). Reversible G2 Block in the Cell Cycle of Ehrlich Ascites Carcinoma Cells. *Experimental Cell Research*, **195** (1):247-254.
- Leyon, P. V., Kuttan, G. (2004). Effect of *Withania somnifera* on B16F-10 Melanoma Induced Metastasis in Mice. *Phytotherapy Research*. **18**, 118-122.
- Liang-Tzung Lin., Li-Teh Liu, Lien-Chai Chiang, Chun-Ching Lin (2002). In vitro Anti-hepatoma Activity of Fifteen Natural Medicines from Canada. *Phytotherapy Research*. **16** (5), 440-444.
- Lin, J. T., Chen, Y. C., Lee, Y. C., Hou, C. W. R., Chen, F. L., Yang, D. J. (2012). Antioxidant, Anti-Proliferative and Cyclooxygenase-2 Inhibitory Activities of Ethanolic Extracts from Lemon Balm (*Melissa officinalis* L.) Leaves. *Food Science and Technology*. **49**,1-7.
- Lobo, C., Ruiz-Bellido, M.A., Aledo, J.C., Marquez, J., De Castro, I.N., Alonso, F.j. (2000). Inhibition of Glutaminase Expression by Antisense mRNA Decreases Growth and Tumorigenicity of Tumour Cells. *Biochemistry Journal* **348**, 257-261.
- Mackay, I. R., Goodyear, M. D., Riglar, C. (1984). Effect on immunologic and other indices of adjuvant cytotoxic chemotherapy including melphalan in breast cancer. *Cancer*. **53** (12), 2619-2627.
- Madsen, H. L., Sorensen, B., Skibsted, L. H., Bertelsen, G. (1998). The Antioxidative Activity of Summer Savory (*Satureja hortensis* L.) and rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) in Dressing Stored Exposed to Light or in Darkness. *Food Chemistry*, **63**(2),173-180.
- Majumder, P. K., Gupta, M. (1998). Effect of The Seed Extract of Carrot (*Daucus carota* Linn.) on The Growth of Ehrlich Ascites Tumour in Mice. *Phytotherapy Research*. **12**, 584-585.
- Manuel, A. C., Pamela, P., Diana, F., Nogueira, M., Miemberg, H. (2012). Development of Phylogenetic Markers From Single-Copy Nuclear Genes for Multi Locus, Species Level Analyses in The Mint Family (Lamiaceae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*. **63**, 758-767.

Mastelic, J., Jerkovic, I. (2003). Gas chromatography-mass spectrometry analysis of free and glycoconjugated aroma compounds of seasonally collected *Satureja montana* L. *Food Chemistry*, **80** (1), 135-140.

Mosaffa, F., Behravan, J., Karimi, G., Iranshahi, M. (2006). Antinotoxic Effects of *Satureja hortensis* L. on Rat Lymphocytes Exposed to Oxidative Stress. *Arch. Pharm. Res.* **29**(2), 159-164.

Musa, D., Dılsız, N., Gumushan, H., Ulakoglu, G., Bitiren, M. (2004). Antitumor Activity of an Ethanol Extract of *Nigella sativa* Seeds. *Biologia*. **59**(6), 735-740.

Namvar, F., Mohamed, S., Fard, S. G., Behravan, J., Mustapha, N. M., Alitheen, N. B. M., Othman, F. (2012). Polyphenol-Rich Seaweed (*Eucheuma cottonii*) Extract Suppresses Breast Tumour Via Hormone Modulation and Apoptosis Induction. *Food Chemistry*. **130**, 376-382.

Okay (1998). Deneysel EAT Oluşturulan Fare Karaciğer Plazmasında NitrikOksit Metabolizmasının İncelenmesi. *Yüksek Lisans Tezi*, İstanbul: İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya ABD.

Oussallah, M., Caillet, S., Saucier, L., Lacroix, M. (2006). Antimicrobial Effect of Selected Plant Essential Oils on The Growth of a *Pseudomonas putida* Strain Isolated from Meat. *Meat Science*. **73**, 236-244.

Oylar, Ö., Tekin, İ. ( 2011), Kanserin Teşhis Ve Tedavisinde Nanoteknolojinin Önemi. *Uludağ Üniversitesi Mühendislik-Mimarlık Fakültesi Dergisi*. **16** (1), 147-154.

Ozaslan, M., Karagöz, I.D., Kalender, M.E., Kılıç, İ.H., Sarı, İ., Karagöz, A. (2007). *In vivo* Antitumoral Effect of *Plantago major* L. Extract on Balb/C Mouse with Ehrlich Ascites Tumor. *The American Journal of Chinese Medicine*. **35** (5), 841-851.

Ozaslan, M., Zümrütdal, M. E., Dağlıoğlu, K., Kılıç, İ. H., Karagöz, I. D., Kalender, M. E., Tuzcu, M., Çolak, Ö., Cengiz, B. (2009). Antitumoral Effect of *L. inermis* in Mice with EAC. *International Journal of Pharmacology*. **5**(4),263-267.

Ozaslan, M., Karagöz, I. D., Kılıç, İ. H., Güldür, M. E. (2011). Ehrlich Ascites Carcinoma. *African Journal of Biotechnology*. **10**(13), 2375-2378.



Öner, D. (1985). Ehrlich Ascites Tümör Hücrelerinde Vincristin'e Karşı Duyarlılığın Tümör Yaşı ile İlişkisi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Radyoloji ve Sağlık Fizyolojik Araştırma ve Uygulama Merkezi, İstanbul.

Özcan, M. M., Ozkan, G. (2007). Türkiye'de Lamiaceae (Labiata) Familyasına Ait Baharat veya Çeşni Olarak Kullanılan Bazı Bitkilerin Fenolik Bileşenleri ile Antioksidan ve Antimikrobiyal Etkilerinin Belirlenmesi. *Doktora Tezi*. Selçuk Üni. Fen Bilimleri Ens. Gıda Müh. ABD. Konya.

Ozkan, A., Erdoğan, A. (2011 ). A Comparative Evaluation of Antioxidant and Anticancer Activity of Essential Oil from *Origanum onites* (Lamiaceae) and Its Two Major Phenolic Components. *Turk J. Biol.* **35** (2011), 735-742.

Panahi, M., Ahadi, P., Kalantari, H. (2009). Evaluation of Genotoxicity Effect of Lomex Oral Drop and Crude Extract of *Satureja hortensis* in Rat Neonate Cultured Fibroblast by Comet Assay. *Abstracts/Toxicology Letters*. **189S**, 140

Parhar, R.S., Lala, P.K. (1988). Prostaglandin E2-Mediated Inactivation of Various Killer Lineage Cells by Tumour-Bearing Host Macrophages. *Journal of Leukocyte Biology*, **44**, 185-190.

Pavela, R., (2009). Larvicidal Property of Essential Oils Against *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera:Culicidae). *Industrial Crops and Products*. **30**, 311-315.

Rao, S. K., Rao, P. S., Rao, N. (2008). Preliminary Investigation of The Radiosensitizing Activity of Guduchi (*Tinospora cordifolia*) in Tumor- Bearing Mice. *Phytotherapy Research*. **22**, 1482-1489.

Rekha, J. B., Jayakar, B. (2011). Anticancer Activity of Ethanolic Extract of Leaves of *Butea monosperma* (Lam) Taub. *Current Pharma Research*. **1(2)**, 106-110.

- Rossi, A., Bonadonna, G., Valagussa, P., Veronesi, U. (1981). Multimodality treatment in operable breast cancer: Five-year results of CMF programme. *Br. Medical Journal* **282**, 1427-1431.
- Roth, J.A. (1995). Molecular Events In Lung Cancer. *Lung Cancer*. **12 (2)**, 3-15.
- Ruiz De Morales, J., Velez, D., Subiza, J.L. (1999). Ehrlich Tumor Stimulates Extramedullar Hematopoiesis in Mice Without Secreting Identifiable Colony-Stimulating Factors and Without Engagement of Host T Cells. *Experimental Hematology*, **27(12)**, 1757-1767.
- Sahin, F., Karaman, I., Gulluce, M., Ogutcu, H., Sengul, M., Adiguzel, A., Ozturk, S., Kotan, R. (2003). Evaluation of antimicrobial activities of *Satureja hortensis* L. *Journal of Ethnopharmacology*, **87**, 61-65.
- Saraydin, S. U., Tuncer, E., Tepe, B., Karadayi, S., Özer, H., Şen, M., Karadayi, K., Inan, D., Elagöz, Ş., Polat, Z., Duman, M., Turan, M. (2012). Antitumoral Effects of *Melissa officinalis* on Breast Cancer *in vitro* and *in vivo*. *Research Communication*. **13**, 2765-2770.
- Schmidt, H., Siems, W., Müller, M., Dumdey, R., Rapoport, S.M. (1991). ATP-Producing and Consuming Processes of Ehrlich Mouse Ascites Tumor C ells in Proliferating and Resting Phases. *Experimental Cell Research* **194 (1)**, 122-127.
- Schwendel, A., Siems, W.G., Grune, T., Holzhütter, G.H. (1994). Transitions of Hepatic Purine Metabolism of Ehrlich Ascites Tumor Bearing Mice in Different Phases of Tumor Growth. *Biochemistry and Molecular Biology Int.* **34(3)**, 457-463.
- Sefidkon, F., Abbasi, K., Khaniki, G.B.(2006). Influence of Drying and Extraction Methods on Yield and Chemical Composition of The Essential Oil of *Satureja hortensis*. *Food Chemistry*, **90 (4)**, 19-23.
- Segura, J.A., Barbero, L.G., Marquez, J. (1997). Early Tumor Effect on Splenic the Lymphocytes in Mice. *Federation of European Biochemical Societies Letters*, **414 (1)**, 1-6.
- Segura, J.A., Barbero, L.G., Marquez, J. (2000). Ehrlich Ascites Tumour Unbalances Splenic Cell Populations and Reduces Responsiveness of T Cells to

*Staphylococcus aureus* Enterotoxin B Stimulation. *Immunology Letters*, **74 (2)**, 111-115.

Segura, J.A., Ruiz-Bellido, M.A., Arenas, M., Lobo, C., Marquez, J., Alonso, F.J. (2001). Ehrlich Ascites Tumor Cells Expressing Anti-Sense Glutaminase mRNA Lose Their Capacity to Evade the Mouse Immune System. *International Journal of Cancer* **91 (3)**, 379-384.

Senger, D.R., Gali, S.J., Dvorak, M.A., Peruzzi, C.A., Harvey, V.S., Dvorak, H.F. (1983). Tumor Cells Secrete a Vascular Permeability Factor That Promotes Accumulation of Ascites Fluid. *Science* **219 (4587)**, 983-986.

Shimpo, K., Ida, C., Chihara, T., Beppu, H., Kaneko, T., Kuzuya, H. (2002). *Aloe arborescens* Extract Inhibits TPA-Induced Ear Oedema, Putrescine Increase and Tumour Promotion in Mouse Skin. *Phytotherapy Research*. **16**, 491-493.

Siems, W. (1989). Changes in the Nucleotid Metabolism of Ehrlich Ascites Tumor Cells During Their Growth In vivo. *Cellular and Molecular Biology* **35(3)**, 252-262.

Siems, W.G., T., Schmidt, H., Tikhonov, Y.V., Pimenov, M.A. (1993). Purine Nucleotide Levels in Host Tissues of Ehrlich Ascites Tumor Bearing Mice in Different Growth Phases of the Tumor. *Cancer Research* **53**, 5143-5147.

Skerget, M., Kotnik, P., Hadolin, M., Hras, A.R., Simonic, M., Knez, Z. (2005). Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food Chemistry*. **89**, 191-198.

Skog, S., Ericsson, A., Nordell, B., Nishida, T., Tribukait, B. (1989). <sup>31</sup>P-NMR-Spectroscopy Measurements of Energy Metabolism of In Vivo Growing Ascites Tumours Following Addition of Glucose. *Acta Oncologica*. **28**, 277-281.

Skog, S., He, Q., Tribukait, B. (1990). Lack of Correlation Between Thymidine Kinase Activity and Changes of DNA Synthesis With Tumour Age: An In Vivo Study in Ehrlich Ascites Tumour. *Cell Proliferation*. **23 (2)**, 603-617.

Skoric, M., Todorovic, S., Gligorijevic, N., Jankovic, R., Zivkovic, S., Ristic, M., Radulovic, S. (2012). Cytotoxic Activity of Ethanol Extracts of *In Vitro* Grown

*Cistus creticus* subsp. *creticus* L. on Human Cancer Cell Lines. *Industrial Crops and Products*. **38**,153-159.

Subiza, J.L., Vinuela, J.E., Rodriguez, R., Gil, J., Figueiredo, M.A., De La Concha, E.G. (1989). Development of Splenic Natural Suppressor (NS) Cells in Ehrlich Tumour-Bearing Mice. *International Journal of Cancer* **44**, 307-313.

Svoboda, K. P.; Hay, R. K. M.; Waterman, P. G. (1990). "The Growth and Volatile Oil Yield of Summer Savory ( *Satureja hortensis*) in a Cool Wet Environment" *J. Horticult. Sci.*, **65** (6), 659-665

Takeoka, G.R., Dao, L.T. (2003). Antioxidant constituent of almond [*Prunus dulcis* (Mill.) D.A. Webb.] hulls. *J Agric Food* . **51**, 496-501

Taşkın, E.İ. (2002). Ehrlich Ascites Tümörü ile Balb-C Farelerde Oluşturulmuş Solid Tümör Modelinde Curcuminin Apoptoz Üzerine Etkileri. *Yüksek Lisans Tezi*. İstanbul: İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı.

Tepe, B., Tuncer, E., Saraydin, S. U., Özer, H., Şen, M., Karadayi, K., Inan, D. S., Karadayi, S., Polat, Z., Akpulat, A., Duman, M., Koksal, B., Turan, M. (2012). Antitumoral Effects of *Allium sivasicum* on Breast Cancer *in vitro* and *in vivo*. *Research Communication*.

Tozlu, E., Cakir, A., Kordali, S., Tozlu, G., Ozer, H., Akcin, T.A. (2011). Chemical Compositions and Insecticidal Effect of Essential Oils Isolated from *Achillea gypsicola*, *Satureja hortensis*, *Origanum acutidens* and *Hypericum scabrum* against broadbean weevil (*Bruchus dentipes*). *Scientia Horticulturae*, **130** (1), 9-17.

Uslu, C., Karasen, M.R., Sahin, F., Taysi, S., Akcay, F., (2003). Effect of Aqueous Extracts of *Satureja hortensis* L. On Rhinosinusitis treatment in rabbit. *Journal of Ethnopharmacology*, **88**, 225-228.

Vicente, G., Molina, S., Vallinas-Gonzalez, M., Garcia-Risco, M. R., Fornari, T., Reglero, G., Molina, A. R. (2012). Supercritical Rosemary Extracts, Their Antioxidant Activity and Effect on Hepatic Tumor Progression. *J. of Supercritical Fluids*. **2052**, 1-8.

- Wang, Q. L., Li, H., Li, X. X., Cui, C. Y., Wang, R., Yu, N. X., Chen, L. X. (2012). Acute and 30-Day Oral Toxicity Studies of Administered Carnosic Acid. *Food and Chemical Toxicology*. **50**, 4348-4355.
- Weiss, R. B., Henney, J. E., De Vita, V.T. (1981). Multimodal treatment of primary breast carcinoma. Analysis of accomplishments and problem areas. *The American Journal of Medicine*. **70(4)**, 844-851.
- WHO (2008). Uluslararası Kanser Araştırmaları Kurumu, Dünya Kanser Raporu, Lyon.
- Yazdanparast, R., Shahriyari, L. (2008). Comparative Effects of *Artemisia dracunculus*, *Satureja hortensis* and *Origanum majorana* on Inhibition of Blood Platelet Adhesion, Aggregation and Secretion. *Vascular Pharmacology*. **48**,32-37.
- Yazıcı, M., Duman, G., Aslan, İ., Durucan, A., Şahin, F. (2011). The Antifungal Activity of Liposomal Ointment Formulation of Essential Oil of *Satureja hortensis*. *Abstracts/Current Opinion in Biotechnology*. **22**, 108.
- Young, D., Canellos, G. P. (1985). Second malignancies and cancer therapy clinics in Oncology. *3-4*, 535-557.
- Yousefzadi, M., Madvar, A.R., Hadian, J., Rezaee, F., Rafiee, R. (2012). In vitro Cytotoxic and Antimicrobial Activity of Essential Oil from *Satureja sahendica*. *Toxicological&Environmental Chemistry*. **1**, 1-11.
- Zeybek, Ş.Ü. (2003). Deneysel Kanser Modelleri. *Kalitsal Hastalıklara Moleküler Tıp Açısından Bakış Sempozyumu*. 283-310
- Zumrutdal, M. E., Ozaslan, M., Tuzcu, M., Kalender, M. E., Dağlıoğlu, K., Akova, A., Karagöz, I. D., Kılıç, İ. H., Çolak, O., Köksal, F. (2008). Effect of *Lawsonia inermis* Treatment on Mice with Sarcoma. *African Journal of Biotechnology*. **7(16)**, 2781-2786.