

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ
KOORDİNASYON BİRİMİ**



**ÇEMEN EKSTRAKTININ ANTİTÜMÖRAL ETKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Proje No: TDK-2014-5325

**Proje Türü
Doktora Tezi**

SONUÇ RAPORU

**Proje Yürütücüsü:
Prof. Dr. Harun ÜLGER
Tıp Fakültesi
Anatomi Anabilim Dalı**

**Araştırmacı:
Şerife ÇİNAR
Tıp Fakültesi
Anatomi Anabilim Dalı**

**Nisan 2016
KAYSERİ**

TEŞEKKÜR

Doktorada, tez konumun belirlenmesinde, planlanmasında ve yürütülmesinde bana destek olan ve eğitimim boyunca benden desteklerini esirgemeyen danışman hocam sayın Prof. Dr. Harun ÜLGER'e,

Doktora eğitimim boyunca her türlü konuda yardım, bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen sayın Prof. Dr. Kenan AYCAN, Prof. Dr. Erdoğan UNUR ve Doç.Dr Niyazi ACER hocalarıma,

Eğitimim boyunca ve tez dönemimde deneysel çalışmam sırasında ve sonrasında bilgi ve becerilerinden faydalandığım her türlü desteği benden esirgemeyen sayın Doç. Dr. Tolga Ertekin, Yrd. Doç. Dr. Mehtap Nisari ve Yrd. Doç. Dr Ayşe SAĞIROĞLU hocalarıma,

Deneylerim sırasında yardımlarını esirgemeyen Histoloji Embriyoloji Anabilimdalı Öğretim Üyesi Doç. Dr Arzu Yay'a, Histoloji Embriyoloji Anabilim Dalı asistanı Emin KAYMAK'a,

Tezin istatistiksel değerlendirmesinde sabırla bizden desteğini esirgemeyen sayın Doç. Dr. Ferhan ELMALI'ya,

Yükseklisans ve doktora eğitimini birlikte tamamladığım ve tez çalışmamda katkılarını esirgemeyen kıymetli arkadaşlarım Seher YILMAZ, Özlem ÖZÇELİK, Özge AL, Hatice SUSAR'a, Yükseklisans döneminden bu güne kadar her konuda desteğini gördüğüm yüksek lisans ve doktora arkadaşlarıma ve Anatomi Anabilim Dalı çalışanlarına,

Tez çalışmasına maddi destek veren Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne,

Desteğini ve emeğini benden esirgemeyen kıymetli AİLEM'e,

Teşekkürlerimi sunarım...

ÇEMEN EKSTRAKTININ ANTİTÜMÖRAL ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Şerife ÇİNAR

Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Anatomi Anabilimdalı Doktora Tezi Nisan 2016

Danışman: Prof. Dr. Harun ÜLGER

ÖZET

Kanser hücrelerin kontrolsüz bir şekilde çoğalması sonucu ortaya çıkan bir hastalıktır. Dünya sağlık örgütüne göre kanser önde gelen ölüm sebeplerinden biridir. Bundan dolayı kanser üzerine yapılan çalışmalar gün geçtikçe artmakta ve bazı bitki ekstrelerinin etkileri farklı kanser modelleri üzerinde çalışılmaktadır. Çemen (büyük oranda çemen otu, daha az oranlarda kırmızıbiber, sarımsak ve kimyon, çok az miktarlarda ise karabiber, karanfil, kişniş, tarçın, zencefil ve yenibahar'dan oluşur), Kayseri'de pastırma yapımında kullanılan ve aynı zamanda halk arasında yaygın olarak tüketilen bir besindir. Yapılan çalışmalar ile çemen karışımını oluşturan bitkilerin her birinin antikanserojen etkilerinin olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada çemenden elde edilen ekstraktın antitümöral etkisi Ehrlich asit tümörü (EAT) taşıyan Balb/C farelerde araştırıldı. Çemen ekstraktı konsantrasyonu in vivo çalışmada 200 ve 400 mg/kg, in vitro çalışmada ise 250 µg/ml, 500 µg/ml ve 1000 µg/ml olarak belirlendi. In vivo çalışmada deney hayvanlarında kilo takibi yapıldı. Deney sonunda karın içerisindeki assit sıvı hacmi hesaplandı ve hücre sayımı yapıldı. Çemen ekstraktının, tedavi gruplarında EAT hücrelerinin çoğalmasına bağlı kilo artışını geciktirdiği, assit sıvı içindeki hücre sayısında ise kontrol grubuna (67.60×10^6) göre 400 mg/kg çemen ekstresi verilen grupta (47.28×10^6) anlamlı bir azalmaya ($p=0.041$) sebep olduğu gözlemlendi. In vitro çalışmada ise 3 ve 24 saatlik hücre kültürü sonucunda canlı hücreler sayıldı. Hücre sayısında, 3 saatlik kültür sonucu kontrol grubu ile tedavi grupları arasında anlamlı bir fark gözlenmezken, 24 saatlik kültür sonucunda kontrol (5.9 ± 0.2) ile kültür ortamına 250, 500 ve 1000 µg/ml çemen ekstresi ilave edilen tedavi grupları (sırası ile 5.7 ± 0.2 , 5.7 ± 0.2 ve 5.6 ± 0.1) arasındaki fark anlamlıydı ($p=0.013$). Tedavi gruplarında özellikle 24 saat sonunda canlı hücre sayısındaki azalma in vivo çalışmada elde edilen sonuçları destekler nitelikteydi. In vivo deney sonunda karın içi organlarından alınan dokular histopatolojik olarak değerlendirildiğinde kontrol grubundan alınan dokulara EAT hücrelerinin yoğun bir şekilde tutunduğu gözlenirken tedavi gruplarında EAT hücre tutunmasının daha azdı. Bu azalma 400 mg/kg çemen

ekstresi verilen grupta daha belirgindi. Sonuç olarak, bu çalışmadan elde edilen bulgular çemen ekstresinin EAT hücreleri üzerinde antitümöral etkisinin olabileceğini göstermiştir. Elde edilen verilerin bundan sonra yapılacak çalışmalara yol gösterici olacağı ve insanlar tarafından kullanılan çemenin kanser üzerindeki muhtemel etkisinden dolayı tavsiye edilebilir bir besin olduğu kanaatindeyiz.

Anahtar kelimeler: Ehrlich Assit Tümör, Çemen, Çemen otu, Kırmızıbiber, Sarımsak

**INVESTIGATE THE ANTITUMOR EFFECTS OF CEMEN (FENUGREEK)
EXTRACT**

Şerife ÇİNAR

Erciyes University, Institute Of Medical Sciences

Department Of Anatomy

PhD Thesis, April 2016

Supervisor: Prof. Dr. Harun ÜLGER

ABSTRACT

Cancer is a disease that resulting of uncontrolled cell proliferation. According to the World Health Organization, cancer was identified of one of the leading causes of death. Therefore studies on cancer is increasing day by day and many plant extracts were studied on cancer models. Çemen that was made by mixture of fenugreek, red pepper, garlic, cumin, black pepper, clove, coriander, cinnamon, ginger and pimento, used in making of pastırma in Kayseri and also has a food widely consumed among the people. Each of plants that make up the çemen mixture are shows anticancer effect by studies. In this study, we investigated to antitumor effect of extract that derived from çemen on Ehrlich ascites tumor carrying Balb/C mice. Çemen extract concentration determined 200–400 mg/kg, 250–500 and 1000 µg/ml respectively in vivo and in vitro studies. In the end of in vivo studies, while the weight of experimental animals were estimated, acid fluid volume and cell number of intraperitoneal fluid were calculated. It was found that çemen extract delaying the weight gain due to proliferation of EAT cells. The number of cells in the assits fluid were statistically lower ($p=0.041$) in the group that given 400 mg/kg çemen extract (47.28×10^6) than control group (67.60×10^6). After 3 hours cultur period, there were no significant difference between control group and treatment group in the number of viable cells. After 24 hours cell cultures, the viable cells number were significantly decrease in the treatment groups (5.7 ± 0.2 , 5.7 ± 0.2 and 5.6 ± 0.1 respectively) that given 250, 500 and 1000 µg/ml çemen extract when compared to control group (5.9 ± 0.2) and ($p=0.013$). Reduction of the cell number in the treatment groups supports the results of the in vivo findigs. Tissues that taken from abdominal organs on control and treatment groups were evaluated histopathologically. While there was intensive EAT cells adhesion on the tissues that taken from control group, there was reduciton in the treatment groups, that was seen especially 400 mg/kg çemen extract given group. As a result, the çemen extract shows antitumor effect on

EAT cells. We believe that our studies will be guiding for new studies about çemen and çemen could be adviced as a food because of its anticancer effect.

Key words: Ehrlich ascites tumor, Cemen, Trigonella foenumgraecum L., Capsicum annuum L., Allium sativum L.

İÇİNDEKİLER

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI.....	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
ONAY:.....	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
TEŞEKKÜR.....	i
ÖZET	ii
ABSTRACT.....	iv
İÇİNDEKİLER	vi
KISALTMALAR.....	ix
TABLO VE ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xi
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1. Kanser Tedavisinde Bitkisel İlaç Kullanımı	5
2.2. Çemen	7
2.2.1. Çemen otu (<i>Trigonella foenumgraecum L.</i>)	8
2.2.2. Kırmızı biber (<i>Capsicum annuum L.</i>).....	11
2.2.3. Sarımsak (<i>Allium sativum L.</i>)	13
2.2.4. Kimyon (<i>Cuminum cyminum L.</i>).....	15
2.2.5. Karabiber (<i>Piper nigrum L.</i>).....	17
2.2.6. Karanfil (<i>Syzygium aromaticum L.</i>)	18
2.2.7. Kişniş (<i>Coriandrum sativum L.</i>)	19
2.2.8. Tarçın (<i>Cinnamomum cassia L.</i>)	20
2.2.9. Zencefil (<i>Zingiber officinale L.</i>)	21
2.2.10. Yenibahar (<i>Pimenta racemosa L.</i>).....	22
2.3. Kanser İle İlgili Deneysel Çalışmalar	23
2.4. Deneysel Kanser Modelleri.....	25
2.4.1 Ehrlich Assit Tümörü (EAT).....	25

2.4.1.1. Assit Form	26
3. GEREÇ VE YÖNTEM	28
3.1. Araştırmada Kullanılan Denek Cinsi, Sayısı ve Dağılımı	28
3.2. Deneysel Prosedür	28
3.3. Stok Fare Oluşturmak İçin Kullanılan Prosedür	28
3.4. Hücre Sayımı Prosedürü	29
3.5. Bitkisel Materyal	30
3.6. Çemen Ekstresinin Hazırlanışı	30
3.6.1. Kimyasal Kompozisyon Analizleri	31
3.6.1.1 Toplam Fenol Miktar Tayini	31
3.7. In Vivo Çalışmalar	31
3.7.1. Deney Grupları	31
3.7.2. Tümör Gelişiminin Takip Edilmesi	32
3.7.3. Sıvı Tümör Oluşturulan Deney Gruplarında Yapılan İncelemeler	32
3.7.4. Dokuların Histopatolojik İnceleme için Hazırlanması	32
3.7.5. Rutin Histopatolojik Takip ve İnceleme	33
3.8. In Vitro Çalışmalar	34
3.8.1. Hücre Kültürü Deneyleri	34
3.8.2. EAT Hücrelerinin In Vitro Olarak Değerlendirilmesi	35
3.9. İstatistiksel değerlendirme	35
4. BULGULAR	36
4.1. Çemen'in Analiz Bulguları	36
4.2. In Vivo Bulgular	36
4.2.1. Deney Gruplarında Kilo Takibi	36
4.2.2. Deney Gruplarında Periton İçi Assit Sıvısının Total Hacmi Ve Packet Volume Hesaplaması	38
4. 2. 3. Histopatolojik Bulgular	39

4.2.4.1. Böbrek Dokusunda Histopatolojik Değerlendirme	41
4.2.4.2. Karaciğer Dokusunda Histopatolojik Değerlendirme	43
4.2.4.3. Dalak Dokusuna Ait Histopatolojik Bulgular	44
4.2.4.4. Mide Dokusunda Histopatolojik Değerlendirme.....	46
4.2.4.5. İnce Bağırsak Dokusuna Ait Histopatolojik Bulgular	47
4.2.4.5. Kalın Bağırsak Dokusuna Ait Histopatolojik Bulgular	49
4.3. In Vitro Bulgular	50
4.3.1. Hücre Kültürü Yapılan EAT Hücreleri Üzerinde Çemen Ekstraktının Etkisi	50
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	52
6.KAYNAKLAR	59
EKLER	
ÖZGEÇMİŞ	

KISALTMALAR

TAT	: Tamamlayıcı ve alternatif tıp
G	: Gram
mg	: Miligram
µg	: Mikrogram
ml	: Mililitre
kg	: Kilogram
DAS	: Diallil sülfid
DADS	: Diallil disülfid
DAT	: Dialil trisülfid
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
VEGF	: Vasküler endotelyal büyüme faktörü
M.Ö	: Milattan önce
M.S	: Milattan sonra
y.y	: Yüzyıl
IP	: Intraperitoneal
SC	: Subkutan
EAT	: Ehrlich Assit Tümörü
DMSO	: Dimetil sülfoksit
GAE	: Gallik asit
SF	: Serum fizyolojik
dk	: Dakika
H-E	: Hematoksilen - Eozin
DMEM	: Dulbecco's Modified Eagle Medium

Ort	: Ortalama
Sd	: Standart sapma
NK	: Negatif kontrol
PK	: Pozitif kontrol
K200	: Kanser 200 mg/kg
K400	: Kanser 400 mg/kg
LP	: Lamina propria
TM	: Tunica muscularis
Ark.	: Arkadaşları

TABLO VE ŞEKİLLER LİSTESİ

Tablo 2.1. 2012 ve 2015 yılı 65 yaş altı ve üstü için erkek ve kadınlarda kanser oranı.....	4
Tablo 2.2. 100 gr <i>Trigonella foenum-graecum</i> tohumlarındaki kimyasal kompozisyon (33).....	11
Tablo 3.1. Dokuların histopatolojik inceleme için hazırlanmasında kullanılan takip listesi.....	33
Tablo 3.2. Hematoksilen-Eozin boyama için kullanılan takip listesi.....	34
Tablo 3.3. Hücre kültüründe kullanılan Çemen ekstresi, hücre ve besiyeri miktarları (Her bir grupta toplam 24 kuyucuk için verilen miktar).....	35
Tablo 4.1. Deney gruplarında vücut ağırlıklarının günlük kilo takip sonuçları (ortalama ort., sd.: standart sapma)	37
Tablo 4.2. Karın içerisinde çekilen assit sıvısının total, packet ve supernatant volüme sonuçları	39
Tablo 4.3. Deney gruplarında intraperitoneal assit sıvısında bulunan ortalama hücre sayısı	39
Tablo 4.4. Üç saat ve yirmidört saatlik hücre kültürü sonuçları	51
Şekil 3.1. Thoma lamında görülen canlı ve ölü hücreler.	30
Şekil 4.1. Deney gruplarında vücut ağırlıklarının sonuçlarının şematik gösterimi (NK: negatif kontrol, PK: pozitif kontrol, K200: kanser 200mg/kg, K400: kanser 400 mg/kg)	38
Şekil 4.2. EAT hücrelerinin histopatolojik görüntüsü (H&E 40X).	42
Şekil 4.3. Böbrek dokusunda sağlıklı kontrol grubuna ait histolojik, tedavi ve tümör uygulama gruplarına ait histopatolojik bulgular	42
Şekil 4.4. Tümör kontrol grubu böbrek dokusunda oluşan EAT hücrelerinin görüntüsü (H&E 40X).	43
Şekil 4.5. Karaciğer dokusunun sağlıklı kontrol ve EAT hücresi uygulanan grupların histopatolojik bulguları	44
Şekil 4.6. Tümör kontrol grubunda karaciğer dokusunu saran peritona tutunmuş EAT hücrelerinin görüntüsü (H&E 40X)	45
Şekil 4.7. Dalak dokusunun sağlıklı kontrol ve EAT hücresi uygulanan grupların histopatolojik bulgular.....	45
Şekil 4.8. Tümör kontrol grubunda dalak dokusunun kapsülünde oluşan EAT hücrelerinin görüntüsü (H&E 40X).....	46

Şekil 4.9. Mide dokusunun sağlıklı kontrol ve EAT hücresi uygulanan gruplara ait histopatolojik bulgular.....	47
Şekil 4.10. Tümör kontrol grubunda mide dokusunun kapsülünde oluşan EAT hücrelerinin görüntüsü (H&E 40X).....	48
Şekil 4.11. İnce bağırsak dokusunun proksimal bölümüne ait sağlıklı kontrol (histolojik), tümör kontrol ve tedavi gruplarının (histopatolojik) bulguları.....	48
Şekil 4.12. Tümör kontrol grubunda ince bağırsak dokusunun tunica seroza tabakasında oluşan EAT hücrelerinin görüntüsü. (H&E 40X).....	49
Şekil 4.13 Kalın bağırsak dokusunun orta hattından alınan sağlıklı kontrol ve tedavi gruplarının histopatolojik bulguları	50
Şekil 4.14. Tümör kontrol grubunda kalın bağırsak dokusunun tunica seroza tabakasında oluşan EAT hücrelerinin görüntüsü. (H&E 40X).....	50
Şekil 4.15. In vitro deney gruplarında canlı ve ölü EAT hücrelerinin thoma lamı üzerindeki görüntüleri	51
Resim 2.1. Kanser hücrelerinin çoğalması	3
Resim 2.2. Çemen otu (<i>Trigonella foenumgraecum L.</i>) ve tohumu	9
Resim 2.3. Kırmızı biber (<i>Capsicum annuum L.</i>).....	12
Resim 2.4. Sarımsak (<i>Allium sativum L.</i>).....	14
Resim 2.5. Kimyon (<i>Cuminum cyminum L.</i>)	16
Resim 2.6. Karabiber (<i>Piper nigrum L.</i>).....	17
Resim 2.7. Karanfil (<i>Syzygium aromaticum L.</i>)	19
Resim 2.8. Kışniş (<i>Coriandrum sativum L.</i>).....	20
Resim 2.9. Tarçın (<i>Cinnamomum cassia L.</i>)	21
Resim 2.10. Zencefil (<i>Zingiber officinale L.</i>).....	22
Resim 2.11. Yenibahar (<i>Pimenta racemosa L.</i>).....	23
Resim 4.1. Yedinci gün negatif kontrol (A) ve pozitif kontrol (B) deney hayvanlarının morfolojik görüntüsü.....	37
Resim 4.2. EAT hücresi verilmiş deney grubuna ait hayvanın karın organlarının genel görünümü	40

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Normal vücut hücreleri düzenli bir şekilde bölünür, büyür ve ölür. Kansere sebep olan hücreler ise kontrol dışı çoğalır. Kanserin birçok türü olmasına rağmen hepsinde gerçekleşen olay hücrelerin kontrol dışı çoğalmasındır. Bazı kanser türleri bir kitle şeklinde olurken lösemi gibi türler tümör oluşturmazlar. Kanser hücreleri genellikle bir organdan diğerine geçerek metastaz yaparlar. İnsan vücudunda gelişim gösteren tüm kitleler kötü huylu (malign) olmayıp iyi huylu (benign) tümörler de olabilir. İyi huylu tümörler metastaz yapmaz ve yaşamı tehdit edici hale getirmez (1).

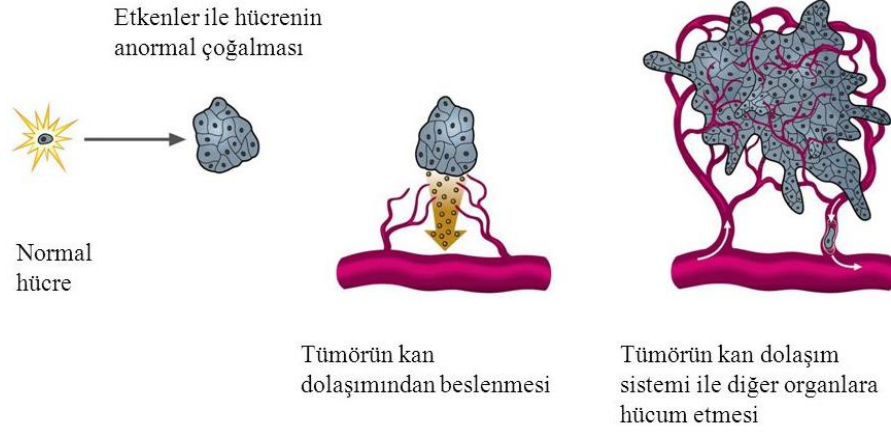
Geçmişten günümüze kanserin neden olduğu tehdidi azaltmak için çeşitli yaklaşımlar geliştirilmiştir. Bunlardan biri ve belki de en eskisi bitkisel ilaçlardır. Bitkilerden yeni ilaç tanımlamanın uzun ve başarılı bir geçmişi vardır. Bitkilerden elde edilen bazı antikanser bileşenleri binlerce yıldır geleneksel tıp sistemi içinde kullanılmaktadır. Doğada mevcut olan biyolojik çeşitlilik ve bunlardan elde edilecek yeni kimyasalların keşfi kanser tedavisi için yeni fırsatlar sağlayabilir (2).

Kanser araştırmalarında deneysel hayvan modellerinin önemi büyüktür. Bunlardan biri de Ehrlich ascites tümör (EAT) modelidir. EAT hücreleri spontan olarak fare meme adenokarsinomundan kökenlenmiştir. 1932 yılına kadar katı form halinde, bu tarihten sonra ise sıvı olarak fareden fareye aktarma ile üretilmiştir. EAT hücreleri farelerin periton boşluğunda süspansiyon halde çoğalır ve in vitro ortamda yüzeye yapışmaz. EAT hücreleri, farelerin periton boşluğuna inoküle edildikten sonra, hücre sayısının eksponansiyel olarak arttığı çoğalma fazı ile bunu izleyen hücre sayısının hemen hemen sabit kaldığı plato fazı olmak üzere iki fazda çoğalmaktadır. Yapılan araştırmalarda 3×10^6 EAT hücresinin intraperitoneal enjeksiyonundan sonra hücre sayısının dokuzuncu güne kadar eksponansiyel olarak arttığı dokuzuncu ve onuncu günden itibaren plato fazına girdiği görülmüştür (3).

Bileşiminde her biri ayrı ayrı antioksidan ve antikanserojen özellik taşıyan çemen otu, kırmızıbiber, sarımsak, kimyon ve bir kısım baharatları ihtiva eden bir besin olan Çemen'in deneysel olarak oluşturulan kanser modeli üzerinde anlamlı antikanserojenik etkisinin olduğunu düşünmekteyiz. Bu çalışmada, çemen karışımından elde edilecek ekstraktın Ehrlich assit tümörü taşıyan Balb/C ırkı farelerde in vivo ve in vitro olarak antitümöral etkisi incelendi.

2.GENEL BİLGİLER

Kanser, hücrelerde DNA'nın hasarı sonucu hücrelerin kontrolsüz veya anormal bir şekilde büyümesi ve çoğalmasıdır. Kanser normal dokuların gelişimini aşan ve normal dokulara uyum göstermeyen bir doku kitlesi oluşturur. Sağlıklı bir hücre ne zaman ve nerede bölünebileceğini bilme yeteneğine sahiptir. Buna karşın kanser hücreleri, bu bilinci kaybeder, kontrolsüz bölünmeye başlar ve çoğalır. Çoğalan hücreler kan dolaşımı ile beslenir (Resim 2.1) (4).



Resim 2.1. Kanser hücrelerinin çoğalması

Dünya sağlık örgütüne göre kanser önde gelen ölüm sebeplerinden biridir. 2008 yılında yaklaşık 7.6 milyon (%13) kişi kanserden hayatını kaybetmiştir. 2030 yılında yaklaşık 11 milyon kişinin kanserden öleceği tahmin edilmektedir (5, 6). Yapılan son istatistiklere göre 2012 yılı için dünyada kansere yakalanmış ve hayatta olan kişi sayısı 32.6 milyon, ölümle sonuçlanma 8.2 milyon ve yeni kansere yakalanmış kişi 14.1 milyondur. Türkiye'de 2012 yılı istatistiklerine göre kanserli hasta sayısı 65 yaş altı için

95 bin, 65 yaş üstü için 52 bin kişidir. 2015 yılı için ise bu sayının 65 yaş altı ve üstü için sırası ile 100 bin ve 65 bin olacağı tahmin edilmektedir (Tablo 2.1) (7).

Tablo 2.1. 2012 ve 2015 yılı 65 yaş altı ve üstü için erkek ve kadınlarda kanser oranı.

Yıl	Yaş aralığı	Erkek	Kadın	Her iki cinsiyet
2012	<65	51373	44401	95774
	≥65	34448	17742	52190
Toplam		85821	62143	147964
2015	<65	52727	48076	100803
	≥65	42338	23441	65779
Toplam		95065	71517	166582

Kanser üzerine yapılan araştırmalar 14. yy.'dan bu yana devam etmekte ve günümüzde kanser ile mücadelede çok ciddi çabalar ve yüksek miktarlarda bütçeler harcanmaktadır. Buna rağmen kanser, insan sağlığını tehdit eden ilk faktör olma özelliğini korumaktadır. İçerisinde bulunduğumuz modern çağın en ciddi hastalığı olan kanserden kaynaklanan ölümler gelişmiş toplumlarda ilk sırada yer alırken gelişmekte olan ülkelerde ise giderek artmaktadır. Bundan dolayı kanser üzerine yapılan çalışmalar gün geçtikçe artmakta, daha etkin ve daha az yan etkili tedavi arayışı sürmektedir (6).

Geçmiş yıllardan günümüze onkolojik bakımdan anlamlı ilerleme kaydedebilmek için kemoterapötik açıdan somut sonuçlara ulaşmak gerekmiş ve araştırmalar için çeşitli kimyasal bileşiklerden yararlanarak modeller oluşturulmuştur (8, 9). Yalnız hangi metot kullanılırsa kullanılsın ilaç geliştirme araştırmalarında hayvan modellerinden yararlanmak bir yerde zorunluluk göstermektedir. Çünkü son yıllarda ön plana çıkan hücre kültürü veya moleküler biyoloji tekniklerine rağmen, uygulanan ajanlara karşı metabolizma cevabında yaşanan eksiklikler, hayvan modellerinin kullanımını önemli kılmaktadır. Bununla birlikte hayvan modelleri ilaç dozuna bağımlı toksisiteyi belirlemede, ilacın metabolik özelliklerini veya doku ile hücrelerarası dağılımını gözlemede, doz şiddetini kolaylıkla sağlamada ve tümör ilerleme durumunu ortaya koymada artan bir öneme sahiptir. Ancak kanser ilaç araştırma ve geliştirmelerinde

kullanılacak deneysel modellerin seçimi çok önemlidir. Kullanılacak kanser modelinden en iyi cevap almak, uygulanacak tümörün biyolojik özelliklerinin ve ilaçların sitotoksik etkilerini istenildiği şekilde gösterecek deney hayvanını seçmek, tümör oluşma şansını arttırmak için en uygun tür, soy, yaş ve cinsiyeti saptamak önemlidir (10).

2.1. Kanser Tedavisinde Bitkisel İlaç Kullanımı

Geçmişten günümüze bitkisel ilaçlar insan hayatında önemli bir rol oynamıştır. Günümüzde fitoterapi, tamamlayıcı ve alternatif tedavi (TAT) yöntemi olarak tanımlanmaktadır. Kanser gibi hastalıkların tedavisinde destekleyici alanlardan biridir (11). Kemopreventifler (kansere önleyiciler) farmakolojik, biyolojik ve beslenme müdahaleleri ile birlikte kanserin önlenmesi üzerinde yenilikçi bir alandır. Yapılan çalışmalarda genellikle toksik olmayan meyve ve sebzeler fitokimyasallar olarak gösterilmiştir. Tüketilebilir fitokimyasallar tarafından sağlanan kemopreventif etki kolay erişilebilir bir yöntemdir (12). Tıp tarihi açısından bakıldığında, 20.yüzyıl kanser tedavisinde bir dönüm noktası olarak kabul edilmektedir. Kanser patofizyolojisini anlama, kanser gelişimini önleyici tedbirler alma ve tedavi etme konusunda 20. yüzyılda yeni bir çığır açılmıştır. Kanser konusunda yapılan ilk araştırmalarda kanserin tek bir sebepten kaynaklanan bir hastalık olmadığı, birçok sebeple gelişen ve çok çeşitli organ ve sistemleri tutabilen hastalıklar grubu olduğu anlaşılmıştır. Bugün kansere neden olan etmenleri saptama, daha etkili önleyici yöntemler geliştirme ve tedavi şekilleri bulma konusundaki bilimsel araştırmalar devam etmektedir (13).

Araştırmalar kanserin büyük ölçüde önlenabilir bir hastalık olduğunu göstermiştir. Kanser çeşitlerinin 2-3'ten daha fazlasının yaşam tarzındaki değişiklikler ile önlenabilir olduğu tahmin edilmektedir. Tüm kanser vakalarının % 5-10'u genetik faktörler ile ilişkili iken % 90-95'i sigara, diyet, alkol, hareketsiz yaşam tarzı, obezite ve güneşe maruz kalmanın yanı sıra enfeksiyon ve çevresel faktörlere bağlı olduğu bildirilmiştir. Kötü huylu tümörlerin ortaya çıkmasında beslenmesinde önemi büyüktür. Bu nedenle diyetlerde kanserden önleyici ya da koruyucu besinlerin tüketilmesi kanser türlerinin % 30-40'ını önleyebilir. Kanser önleyiciler olarak meyve, sebze ve baharatlar dahil olmak üzere doğal besin ajanları, kanserin erken aşamasında doğal ve sentetik bileşik kullanımı bilimsel topluluklarda büyük ilgi çekmiştir. Halk arasında ise doğal besin

ajanaları kanserin önlenmesi dahil olmak üzere sağlığın korunmasında binlerce yıldır geleneksel olarak kullanılmıştır (14, 15).

Beslenme alışkanlıkları ve beslenmenin kanserin önlenmesinde önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Çok sayıda epidemiyolojik çalışma, sebze ve meyvelerden yüksek bir beslenmenin çoğu kanser riskinin azalması ile ilişkili olduğunu göstermiştir (16). Kanser tedavisinde temel olarak cerrahi tedavi, kemoterapi, radyoterapi ve hormonal tedavi yöntemleri kullanılmaktadır. Bu tedavilerin bazı yan etkileri ve tedavilerin uzun süreli olması nedeniyle bazen hastalar başka arayışlar içerisine girebilmektedirler. Bu arayışlar içerisinde alternatif tedavi yolları tercih edilmektedir. Dünyada binlerce kanser hastası ilaç tedavisinin yanında tamamlayıcı ve alternatif tedavi yöntemlerini de kullanmaktadır (17).

Tamamlayıcı tıp, alternatif tıp ve tamamlayıcı ve alternatif tıpın anlamları ülkeden ülkeye, hekimden hekime hatta hastadan hastaya farklılık göstermektedir. Özellikle kanser tedavisinde bu sözcüklerin açıkça tanımlanması önemlidir. Tamamlayıcı tıp hastaların konvansiyonel tedavilere ilave olarak başvurdukları yöntemdir. Alternatif tıp ise konvansiyonel tedaviler yerine başvuru olan tedavi yaklaşımıdır. TAT konvansiyonel tedaviler dışında kalan uygulamalar için kullanılan bir kavramdır. Tüm dünyada konvansiyonel tıbbın önerileri dışında kalan tedaviler gittikçe daha fazla kabul görmektedir. Özellikle kanserli hastaların önemli bir kısmı TAT'ı tercih etmektedir. TAT tedavi yöntemlerinin pek azı ciddi olarak test edilmiş olsa da, çoğunluğu popüler olmasına karşın henüz test edilmemiştir. Yapılan iki çalışmanın sonuçlarına göre konvansiyonel tedavi yaklaşımı dışında tedavi alan hastaların yaşam kalitesi düşük bulunmuş ve daha kısa yaşamışlardır. Bu nedenle hekimlerin TAT konusunda bilgi sahibi olmaları gerekmektedir. Kanser hastalarını TAT kullanımına iten en güçlü motivasyon, denenmemiş hiçbir seçenek bırakmamak ve konvansiyonel tedavilerle tatmin olamamaktır (18).

Türkiye'de kanserli hastalarda TAT kullanım prevalansının yüksek olduğu ve TAT yöntemlerinden sıklıkla bitki karışımlarının kullanıldığı belirtilmiştir (19). Kanserde TAT kullanımı giderek artmaktadır. Literatürde TAT konusunda çeşitli ülkelerde yapılan çalışmalarda kullanım sıklığının %7 ile %64 arasında olduğu (ortalama %31.4) belirtilmektedir (20). Ülkemizin de içinde bulunduğu 14 Avrupa ülkesinde yürütülen

çalışmada kanserli hastalarda TAT kullanım oranının %36 olduğu ve %15-73 arasında geniş bir dağılım gösterdiği belirlenmiştir (21).

Bitki kaynaklı doğal ürünlerden bazıları, antitümör ve antioksidan gibi çeşitli farmakolojik özelliklerinden dolayı yıllardır ilgiyi üzerinde toplamaktadır. Son yıllarda doğal olarak oluşan biyolojik aktif maddeler ile diyet ve tıbbi bitkilerden mevcut olan kimyasal önleyici ajanlara odaklanılmıştır. Bu biyolojik olarak aktif maddelerin çoğu, hücre döngüsü ilerlemesini bloke etme ve apoptotik hücre ölümünün tetiklenmesi suretiyle kemoterapötik bir aktivite göstermektedir. Bu nedenle, bitkiden elde edilmiş biyolojik olarak aktif bir madde kullanılarak tümör hücrelerinde apoptoz indüksiyonunu artırarak kansere bağlı insan ölüm oranını azaltmak ve kontrol etmek için tedavi tümör yanıtının göstergesi haline gelmiştir (22).

Son zamanlarda geleneksel yöntemlerle kanserin kontrol edilmesinde, kemopreventif kavramı bilimsel anlamda önem kazanmıştır. Kemopreventif araştırmaların amacı insan popülasyonunda kanser gelişimini azaltabilecek maddelerin belirlenmesi ve bu maddeler hakkında bilgi kazanımı sağlamaktır (23). Baharatlar ve otlardan elde edilen fitokimyasal maddeler önemli kanser önleyici özelliklere sahiptirler (15). Bu baharatlar arasında antikanserojen etkisi rapor edilen Çemen otu (22, 24), Kırmızı biber (25), Sarımsak (26) ve Kimyon (27) gibi baharatlardan oluşan ve İç Anadolu'da bir besin olarak kullanılan Çemen'in muhtemel antikanserojen etkisi henüz çalışılmamıştır.

2.2. Çemen

Çemen, Kayseri ve yöresinde pastırma yapımında kullanılan bir karışım olmasının yanında halk arasında yaygın olarak tüketilen bir besindir. Kayseri ilinde Çemen üreten firmalardan alınan karışımın içeriğinin genelde aynı ürünleri ihtiva ettiği fakat oranlarında farklılıklar olduğu görülmüştür. Çemen bileşiminin %50'si su %50'si ise bitkisel karışımdan oluşmaktadır. Bitkisel karışım büyük oranda Çemen otu (%33-37), Kırmızı biber (%3.5-22.5), Sarımsak (%5-7) ve Kimyon'dan (%1-2.5) oluşmakta, bu karışıma her biri %1'in altında olmak kaydı ile Karabiber, Yenibahar, Zencefil, Pul biber, Kişniş, Karanfil ve Tarçın gibi baharat katılmaktadır. Günümüzde ticari olarak piyasada mevcut Çemen hamuru içinde değişik oranlarda buğday unu, burçak unu ve çeşitli boyalar da kullanılmaktadır. Bu alanda tam bir standardizasyon da

sağlanamamıştır. Çemen karışımının içeriğinin kaynaklarda verilen oranları; % 40 çemen unu, % 7.5 burçak unu, % 2.5 bugday unu, % 20 kırmızı toz biber (% 5 Kayseri, % 10 Nazilli ve % 5 Kahramanmaraş biberi), % 30 sarımsak ve % 0.1 boya (2/3 Pounceau 4R. E 124 + 1/3 Sunset Yellow E 120) olarak bildirilmiştir (28, 29).

2.2.1. Çemen otu (*Trigonella foenumgraecum* L.)

Çemenotu (*Trigonella foenumgraecum* L.) Leguminosae familyasının alt familyası olan Papilionaceae'a aittir. Tek yıllık aromatik otsu bir bitkidir. Yaygın olarak Akdeniz ülkelerinde ve Asya'da yetiştirilir. Çemen otu kendi kendine tozlaşma özelliğine ve tıbbi uygulamalarda geniş bir yelpazeye sahiptir. Hindistan ve Kuzey Afrika kökenli eski şifalı bitkilerden biridir (30, 31). Elliye yakın tür içeren tek yıllık bir bitki olan çemen otunun Türkiye'de kırk beşe yakın türü bulunmaktadır ve Akdeniz, Marmara, Güneydoğu Anadolu bölgelerinde *Trigonella foenumgraecum* L. türünün kültürü yapılmaktadır (32, 33).

Çemen dünya üzerinde geniş bir dağılım alanına sahiptir. Portekiz, İspanya, İngiltere, Almanya, Avusturya, İsviçre, Yunanistan, Türkiye, Mısır, Sudan, Etiyopya, Kenya, Tazmania, İsrail, Lübnan, Fas, Tunus, Hindistan, Pakistan, Çin, Japonya, Rusya, Arjantin ve Amerika'da kültüre alınmış bir üründür. Türkiye'de Trakya, Marmara, Orta, Güney ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinde yetişir, il il dağılış alanları, Konya (Akseki), Kayseri, Adana (Seyhan-Misis arası), Mersin (Kuyuluk mevkii), Gaziantep (Birecik-Kesre), Çeşitay (Belen'in kuzeyi), Urfa ve Mardin'dir (34).

Yaprak ve tohumlarının hem özütleri hem de tozları tıbbi preperatlarda yaygın olarak kullanılır. Tohumlar kalsiyum, fosfor, demir, çinko ve mangan gibi birçok unsurların temel kaynağıdır (Resim 2.2.) (30, 31, 35).



Resim 2.2. Çemen otu (*Trigonella foenumgraecum* L.) ve tohumu

Çemen otu alerjik ve enfeksiyon hastalıkları için tedavi edici özelliğe sahip olup geleneksel bir gıda olarak kullanılmaktadır. Ancak bu hastalıklara kullanımı ile birlikte anti-alerjik mekanizması henüz net bir şekilde açıklanmamıştır. Çemen otu baklagil ailesinin bir üyesi olup bitki geniş bir terapötik çeşitliliğe sahiptir. Farmakolojik çalışmalar bu bitkinden elde edilen ekstraktın antidiabetik, antihipertansif ve kolesterol düşürücü etkilerinin yanısıra immünomodülatör etki sergilediğini göstermiştir (30, 36, 37). Geleneksel olarak diyabet, yüksek kolesterol, yara iyileşmesi ve sindirim sistemi rahatsızlıklarında kullanılan çemen otunun son zamanlarda yapılan bir çalışmada meme kanseri hücreleri üzerinde apoptozisi artırıcı etki ve antikarsinogenik etki gösterdiği bildirilmiştir (22, 24).

Çemen otu ekstresinin antiinflamatuvar aktivite gösterdiği yapılan çalışmalarda belirtilmiştir (38). Tümör promotörlerinin bölgeye inflamatuvar hücreleri yerleştiği bilinmektedir ve aynı zamanda doku ya da bölgedeki inflamatuvarın ağırlaşması ile kanser gelişimini hareketlendirir (38, 39). Rosin ve ark. (40) çemen otunun inflamatuvar hücrelerinin genotoksik etkilerini indüklemeye kapasitesine sahip olduğunu ve bundan dolayı antitümör aktivitesiye sahip olabileceğini belirtmişlerdir.

Bitkisel besinlerde bulunan fitokimyasallar kanser dahil olmak üzere birçok kronik hastalıkları azaltmada etkili olmuştur. Çemen otu ekstresinin kimyasal bileşeninde polisakkaritler, saponinler, flavonoid, lif, trigonellin ve kolin vardır. Polisakkaritler makrofajların işlevini uyaran birçok çalışmada bağışıklık düzenleyici olarak tanımlanmıştır. Antikanser etkisi ve bağışıklık düzenleyici aktivite sergilediği belirtilmiştir (30, 36). Araştırmalar tohumların karaciğer kanserini önlediğini, kandaki

kolesterol seviyesini düşürdüğünü ve aynı zamanda antidiyabetik bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Hücre ölümünü indükleyen bazı kanser hücre hatlarına karşı bir parça sitotoksitesi de bulunmaktadır. Çemenin yararlı etkileri onun biyoaktif moleküllerine bağlanması ile olur. Bu bileşenlerden biri olan diosgenin insan hücre hatlarında apopitoz indüksiyonu ve hücre döngü sinyalinin inhibasyonu yolu ile çoğalmasını ve inflamasyonunu etkili bir şekilde tedavi edebilmektedir (15, 30, 31).

Testa içeren çemen fraksiyonu ve yağı alınmış çemen otu tohumunun hipoglisemik etkisi ile bağlantılı olduğu düşünülmektedir. Bu etkiler lipit ekstresi çalışmalarında gözlenmemiştir. Çemen otu tohumları %50 lif (%20 çözünmez, %30 çözünür) içermektedir (Tablo 2.2). Bu orandaki lif yemek sonrası (postprandiyal) glikoz emilimini yavaşlatabilir. Bu durumda kan şekerini düşürücü etki olarak ikinci bir mekanizma oluşturabilir (31).

Çemen bitkisinin gerek tohumları, gerekse vejetatif aksamı kullanılmaktadır. Tohumlar; %0.02 uçucu yağ, %27 protein, %7-10 ham yağ, azotlu bileşiklerden trigonellin, kolin, fitin, nikotinamid, sterol, flavonit, lesitin, feonugraesin, acılık bileşenleri, saponin, kumarin vb. içerir. Yapılan araştırmalar birçok hastalığın tedavisinde, ilaç hammaddesi olarak kullanılan diosgenin maddesinin sonucu çemen bitkisinde %1-2 oranında bulunduğu gösterilmiştir (39). Çemen otunun taze yaprak ve tohum içeriği tablo 2.2’de gösterilmiştir. Kanada’da araştırmacılar tarafından çemen otu çeşidinin antioksidan özelliği üzerine ait yapılan çalışmalarda bitkinin gelecekte potansiyel tıbbi bitkilerden biri olarak görülebileceği bildirilmiştir (41).

Tablo 2.2. 100 gr *Trigonella foenum-graecum* tohumlarındaki kimyasal kompozisyon (33)

Kimyasal kompozisyon	Çemen otu taze yaprak	Çemen otu tohum
Protein	4.4 g	30 g
Yağ	1.0 g	7.5 g
Fibrin	1.0 g	50 g
Sapogenin	----	2 gr
Trigonellin	----	380 mg
Kalsiyum	395 mg	160 mg
Magnezyum	67 mg	160 mg
Fosfor	51 mg	370 mg
Demir	16.5 mg	14 mg
Sodyum	76 mg	19 mg
Potasyum	31 mg	530 mg
Bakır	0.26 mg	33 mg
Kükürt	167 mg	16 mg
Klor	165 mg	165 mg
Mangan	----	1.5 mg
Çinko	----	7 mg
Bakır	----	0.1 mg
Kolin	1.35 g	50 mg
Vitamin C	52 mg	43 mg
B- Karoten	2.3 mg	96 µg
Tiyamin	40 µg	340 µg
Riboflavin	310 µg	290 µg
Nikotinik Asit	----	1.1 mg
Folik Asit	----	84 µg

2.2.2. Kırmızı biber (*Capsicum annuum L.*)

Kırmızı biber (***Capsicum annuum L.***) Asya, Afrika ve Akdeniz ülkelerinde açıkta ve örtü altında yetiştiriciliği yapılan, tüketici, üretici ve işleme endüstrisi açısından önemi olan bir kültür bitkisidir. Kırmızı pul-toz biber, Solanaceae familyasına ait olan *Capsicum annuum L.* türüne dahil biber türünün kurutulularak öğütülmesi sonucu elde edilen, yemeklere lezzet ve acılık vermek amacıyla kullanılan bir baharattır (Resim 2.3.) (42, 43).



Resim 2.3. Kırmızı biber (*Capsicum annuum L.*)

Capsicum annuum L. bileşeninde bulunan kapsaisin (capsaicin) kemopreventif özelliklerinden dolayı yaygın olarak çalışılmaktadır. Kapsaisin çeşitli kanser hücre hatlarının büyümesine engel olmaktadır. Bununla birlikte kansere karşı koruyucu etkisi gösterilirken tumoregenesiste kapsaisinin rolünün tartışmalı olduğu bildirilmiştir (44). Biberin acı özelliği kapsaisin varlığı nedeniyle baskındır. Kapsaisin in vitro ve in vivo yapılan çalışmalarda prostat kanseri hücrelerinin büyümesine karşı etkili olduğu bildirilmiştir (45).

Geniş kullanım alanı ile ekonomik önem taşıyan biberin ekstresi, biyoaktif bileşiklerin kaynağı olarak sağlıklı beslenme trendinde ve yeni ilaç arayışlarında önemli bulunmaktadır. Araştırmalar biber ekstresinin antikanserojen, antioksidan, antiinflatuar ve ülserle karşı etkili olduğunu kanıtlamıştır (46).

Dünya çapında en çok tüketilen sebze olan biber yüksek seviyelerde C vitamini, pro-vitamin A (karoten), vitamin E, karotenoid, kalsiyum ve fenolik bileşenleri içerir. Günlük 50-100 g biber alımında C ve A vitamini ihtiyacını sırasıyla %100 ve %60 oranında sağlamaktadır. Olgun biber meyveleri karotenoidler açısından zengin, antioksidan, anti-viral, anti-enflatuar ve antikanserojen kapasiteye sahip bileşikleri içerir (47–49). Bu bileşikler insanlarda kansere karşı potansiyel bir savunma, mide ülserine karşı koruma, kardiyovasküler hastalıkları önleme ve katarakt ve maküler dejenerasyona karşı koruma sağlar. Bunun yanında, yemeklerde, salatalarda, turşularda, sos yapımında, salça üretiminde ve konserve içeriğinde aromatik besin maddesi olarak kullanılmaktadır. Ülkemizde kullanılan baharatlar içerisinde ilk sırayı almaktadır (42, 50, 51).

Biber içerisinde diğer fitokimyasallar serbest radikallerin yıkımı ile ilişkili olan güçlü antioksidanlardır (52). Kırmızı pul-toz biber, bitkilerin tam olgunlaşmış meyvelerinin iyice kurutulup, saplı veya sapı alındıktan sonra çekirdekli veya çekirdeksiz, yarı öğütülerek pul (yaprak) hale getirilmiş, belirli oranlarda yemeklik bitkisel sıvı yağ ve tuz ilave edilmiş su ile tavllanmış seklidir. Askorbik asit ve karoten içeriği yönünden zengin olan kırmızıbiberlerin tüketimde kullanılması; baharat, yem maddesi ve antibiyotik hammaddesi seklindedir. 100 g kuru kırmızı biber; 318 kcal enerji, 148 mg Ca, 76 mg C vitamini, 8.1 g su, 2014 mg K, 12 g protein, 293 mg P, 15 mg B3 vitamini, 17.3 g yağ, 152 mg Mg, 2 mg B2 vitamini, 56.6 mg karbonhidrat, 30 mg Na, 1 mg B1 vitamini, 24.9 g lif, 8 mg Fe, renk (capsanthin) maddesi gibi organik bileşikler içerir (53). Çemen karışımında kullanılan kırmızıbiber oranı %20 olup cins olarak ta % 5 Kayseri, % 10 Nazilli ve % 5 Kahramanmaraş biberinin kullanıldığı bildirilmektedir (28, 29).

2.2.3. Sarımsak (*Allium sativum L.*)

Sarımsak (*Allium sativum L.*), soğan ailesinin bir türüdür (Resim 2.4). Profilaktik ve terapötik etkileri için tarih boyunca kullanılmıştır. Bağışıklık sistemini güçlendirme ve antitümör etkileri in vitro ve in vivo deneylerde gösterilmiştir (54). Dünyanın en eski ilaçlarından biri olan sarımsak sadece lezzet için değil, aynı zamanda antikanserojen, antiaterosklerotik, antitrombotik, antimikrobiyal, antienflamatuar ve antioksidan etkileri de dahil olmak üzere çeşitli biyolojik aktiviteleri bulunmaktadır. 4000 yıldır bir baharat, gıda ve ilaç olarak kullanılmıştır ve en çok araştırılan tıbbi bitkidir. Son 10-15 yıldır antioksidan özellikleri için yaşa bağlı hastalıklar ve kardiyovasküler hastalıkları önlemede sarımsağın rolü yoğun bir biçimde araştırılmaktadır. Bitkiler kimyasal karsinogenezin güçlü değiştiricileri olan bazı bileşikler için geniş bir çeşitlilik içerir. Antitümör özelliğe sahip bileşenleri içeren sarımsak 3500 yıl önce de Mısırlılar tarafından tümörlerin tedavisinde kullanılmıştır (26, 55, 56).



Resim 2.4. Sarımsak (*Allium sativum* L.)

Sarımsak tarihte kulak ağrılarında, cüzzam tedavisinde, şiddetli ishalde, düşük ateşte, parazitik enfeksiyonlarda ve mide ağrılarında kullanılmıştır. Sarımsak ve sarımsaktan elde edilen ekstre binlerce yıl enfeksiyon tedavisinde kullanılmıştır (57). Epidemiyolojik ve klinik öncesi çalışmalar sarımsağın kalp hastalığı riskini ve kanseri etkilediğini ve aynı zamanda antikanser diyet bileşeni olduğunu da belirtilmiştir. Sarımsağın ve bileşeninde bulunan sülfürün kanser riskini bastırdığı ve tümörlerin biyolojik davranışlarını değiştirdiğini de kanıtlanmıştır. Sarımsak ve sülfür bileşenlerinin meme, kolon, deri, rahim, yemek borusu ve akciğer kanserlerinde tümör insidansını bastırdığı bildirilmiştir (56, 57).

Sarımsak ekstresinde 200'den fazla kimyasal madde bulunmaktadır (54). Sarımsakta bulunan en önemli kimyasal bileşikler sülfür (Allisin, Ajoen ve Diallylsülfür) bileşikleridir. Bunlardan Allisin; antibakteriyel, antifungal, antiparazitik ve antikarsinojenik özelliği kanıtlanmış bir maddedir. Son yıllarda yapılan epidemiyolojik çalışmalarda sarımsak gibi sebzelerin tüketimi ile meme, serviks uteri, kolorektal, mide, akciğer ve özafagus kanser risklerini ikna edici şekilde azalttığı ve sarımsağı haftada 3'den fazla tüketen kişilerde mide kanseri riskinin az olduğu bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda sarımsağın kemopreventif etkisi taze sarımsak ekstraktı, yaşlı sarımsak, sarımsak yağı ve sarımsaktan türetilmiş organik bileşik çeşitleri ile değerlendirilmiştir. Sarımsağın organik bileşikleri sarımsağın sağlık için yararlarını ve tıbbi özelliklerini ortaya koymuştur. Hastalıklar üzerindeki olumlu etkisi bilinmekle birlikte bu etkinin

mekanizması henüz açıklanamamıştır (55, 58, 59). İnsanda ve deney hayvanlarında yapılan çalışmalarda fibrinolitik aktivite gösterdiği rapor edilmiştir. Bir antibiyotik etkinin hasarı, hipoglisemik etki, antitümör, antioksidan ve antitrombotik özellikleri sarımsak ekstralarında gösterilmiştir (55).

Sarımsak birçok farklı kültürde gastrointestinal hastalıklardan korunmada ve tedavisinde kullanılmaktadır. Çin, İtalya ve Amerikada yapılan epidemiyolojik araştırmalar sarımsağın düzenli tüketiminde kolon ve mide kanseri riskini azalttığını göstermiştir. Kanser önlenmesinde ve tedavi edilmesinde diyet bileşiklerinin rolü önemlidir. Bu bağlamda sarımsağın potansiyel kemopreventif etkisi, kanser hücrelerinin büyümesini inhibe eden ve karsinogenlerin aktivasyonlarını değiştiren sarımsağın içerdiği organosülfür bileşiklerden dolayı merak uyandırmıştır (60). Sarımsak kanser için çok yönlü olarak hem koruyucu hem de tedavi edici özeliğe sahiptir. Karsinogenez çalışmalar sarımsakta bulunan diallil sülfid (DAS), diallil disülfid (DADS) ve dialil trisülfid (DAT) gibi alil sülfidlerin kolon, meme ve akciğer kanserleri için hücre proliferasyonu inhibe ettiği ve hem kültür çalışmalarında hem de ksenograft fare modellerinde yapılan çalışmalarda apoptoza neden olduğu gösterilmiştir. Deney hayvanlarında yapılan çalışmalar bu koruyucu ve tedavi edici özelliğinin organosülfür bileşiklerden kaynaklı olduğunu göstermiştir (55, 61, 62).

2.2.4. Kimyon (*Cuminum cyminum L.*)

Kimyon (*Cuminum cyminum L.*), Umbellifereae ailesine ait tıbbi ve tedavi edici özellikleri bakımından önemli ve tohumları değerli bir aromaya sahip bitkidir (Resim 2.5). Kimyon Mısır, Türkistan ve Akdeniz kökenli, ancak yaygın olarak İran, Çin, Hindistan, Fas, Güney Rusya, Japonya, Endonezya, Cezayir ve Türkiye’de yetiştirilmektedir. Tohumu karışık baharatlarda, çorba, sos, ekmek ve kek için tatlandırıcı olarak kullanılır. Kimyon, karabiberden sonra dünyanın ikinci en popüler baharatlarından birisi olup tıbbi uygulamalarda hazımsızlık, gaz, diş ağrısı, dispepsi, ishal, epilepsi ve sarılık tedavisinde kullanılan bir baharattır (16, 63, 64).



Resim 2.5. Kimyon (*Cuminum cyminum L.*)

Tohumların besin bileşiminde sabit yağ (yaklaşık% 10), protein, selüloz, şeker, mineral elemanları ve uçucu yağ ihtiva etmektedir. Kimyon tohumuna karakteristik aromasını bileşeninde bulunan uçucu yağ (% 1-5) verir. Birçok fitokimyasal çalışma ile kimyon tohumunun uçucu yağı bugüne kadar araştırılmıştır. Kimyonun önemli bileşenlerinden biri aldehytlerdir. Türkiye, Pakistan ve İran kimyon tohumlarından elde edilen diğer önemli bileşenlerini ise kuminik alkol, γ -terpinen, p-simen ve β -pinen oluşturmaktadır (65).

Kimyon tohumları antioksidan aktiviteye sahip olduğu bilinen flavonoidler, apigenin ve luteolin içerir. Kimyon ve kimyon ürünleri (kimyon yağı gibi) ile yapılan deneylerde önemli antioksidan aktivite gösterdiği rapor edilmiştir (27, 66). Kimyonun etanol ekstresinin apoptotik faaliyetleri çeşitli insan kanser lösemi hücre hatlarında gösterilmiştir. Metanol ekstraktları MK-1, HeLa ve B16F10 hatlarında antiproliferatif aktivite göstermiştir. Bu kemopreventif ve antiproliferatif aktivasyonları biyoaktif polyacetylenic bileşiklerine ve diğer monoterpenleri, anethofuran, karvon ve limonen'e bağlı olduğu belirtilmiştir. Monoterpen alkoller, linalool, karvakrol, anetol ve estragole, flavonoidler ve polifenol bileşiklerin varlığında kimyon ve kimyon yağları yüksek antioksidan aktiviteye sahiptir. Aynı zamanda kimyon antimikrobiyal, antidiyabetik, antikanserojen / antimutajenik, antistres, antiülserojenik gibi çok yönlü farmakolojik özellikleri de bulunmaktadır (27).

Kimyonun β -glucuronidase aktivitesini azaltarak kolon kanserine karşı koruduğu gösterilmiştir. Aynı zamanda hepatokarsinogenez'e sebep olan 3'-metil-4 dimetil aminoaz-benzen'i önemli ölçüde inhibe ettiği gösterilmiştir (16). Kimyon

içeren diyet takviyeler ile sıçanlarda kolon kanserinin ortaya çıkışının önlendiği belirlenmiştir (27).

2.2.5. Karabiber (*Piper nigrum L.*)

Karabibergiller ailesinden olan piper cinsinin 700'den fazla türü vardır. Karabibergiller ailesi birçok biyolojik aktif fitokimyasal kaynağı ile tıbbi ve tarımsal kullanımı için potansiyeli olan bir gruptur. Piper cinsi baharatlar esas olarak alkaloid ve amidler olmak üzere sekonder metabolit bileşik dizisi içerir. Karabiber (*Piper nigrum L.*) yüksek ticari, ekonomik ve tıbbi özellikleri ile iyi bilinen türlerinden birdir (Resim 2.6). Aynı zamanda dünya çapında en eski bilinen baharatlardan biridir. Karabiber biyolojik etkileri geniş bir çeşitlilik gösterir. *Piper nigrum L.* merkezi sinir sistemini uyarıcı ve analjezik gibi biyolojik aktiviteye sahip olduğu bilinmektedir. Bronşit, sindirim sistemi hastalıkları ve astım için hint ilaçların da önemli bir bileşen olduğu belirtilmektedir (67–69). Biberde dahil olmak üzere baharatlardan izole edilen fitokimyasalların potansiyel anti-tümör ajanlara sahip olduğu belirtilmektedir (70). Merkezi sinir sistemi için bilinen bir antidepresan olup aynı zamanda antiinflamatuvar, antioksidan, antikanser ve antimikrobiyal etkileri gösterir (67, 71).



Resim 2.6. Karabiber (*Piper nigrum L.*)

Piperin bir alkaloid'tir. Çeşitli bilinen fizyolojik etkilerinde dolayı geleneksel Hint ve Çin tıbbında kullanılmıştır. Birçok hastalıktaki koruyucu etkilerinden dolayı biyolojik bir ilaç olarak kullanılabilirliği artmıştır. Piperin'in aynı zamanda akciğer fibroblast kanserlerinin metastazını ve gelişmesini önlediği daha önce yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir (72). Anti-tümör etkileri ile ilgili olarak, piperin B16F-10 melanoma

hücre ile uyarılan akciğer metastazı inhibe ettiği rapor edilmiştir ve fibrosarkoma hücreleri üzerinde piperine anti-invazif etkileri de rapor edilmiştir (22, 73). Yapılan çalışmalar sonucunda Piperin'in meme kanserinde koruyucu ve tedavi edici bir ajan olduğu düşünülmektedir (72). Piperin hücre döngüsünü bloke ederek ve apoptozu uyarak tümör büyümesini inhibe eder. Ayrıca in vitro yapılan çalışmada 4T1 tümör büyümesini ve metastazı bastırabildiği gösterilmiştir (68, 74).

2.2.6. Karanfil (*Syzygium aromaticum* L.)

Karanfil (*Syzygium aromaticum* L.) kurumuş çiçek tomurcuklarına sahip mersin ailesine ait bir ağaçtır (Resim 2.7). Karanfil genellikle diş ağrısını ve ağız kokusunu bastırmak için kullanılır (75, 76). Baharatların tat ve aroma vermelerinin yanında tıbbi değerlere de sahip oldukları bilinmektedir. Yaygın olarak kullanılan çeşitli baharat özlerinin antioksidan aktiviteleri en yüksekten en düşüğe doğru karanfil, tarçın, biber, zencefil, sarımsak olduğu belirlenmiştir (76, 77). Solunum ve sindirim hastalıklarını tedavi etmek için geleneksel tıpta kullanılan karanfil güçlü bir kemopreventif özellik gösterir. Antiseptik ve anti bakteriyel özelliklerinden dolayı ağız spreyi ve diş macunu gibi ürünlerde kullanılmaktadır (76–78). Karanfilde bulunan mevcut uçucu yağlar öjenol, kariyofilen, alfa-humulene, alphaterpinyl asetat, eugenyl metil öjenol, actyl öjenol, naftalen, kavikol, heptanon, seskiterpenler, metil salisilat pinen, vanilin'dir. Önemli kimyasal bileşenleri seskiter, uçucu yağlar (eugenol), kariyofilen, tanen ve zamlık içermektedir. Farklı uçucu yağlar içerisinde öjenol %81.1 oranı ile temel bileşeni oluşturmaktadır (76, 79). Uçucu yağların antikanserojen ve antimutajenik olduğu bildirilmiştir. PC-3 ve Hep G2 insan tümör hücre hatlarında sitotoksik bir etki göstermektedir. Karanfil yağı içerisinde bulunan bileşiklerden en önemli antioksidan öjenol'dür. Öjenol'un de insan tümör hücrelerinde apoptozu neden olduğu tespit edilmiştir (76, 80). Bir antikanserojen olarak öjenol'un MCF-7 insan meme kanser hücrelerinde apoptozu indüklediği ve hücre proliferasyonunu inhibe ettiği bildirilmiştir (81).



Resim 2.7. Karanfil (*Syzygium aromaticum* L.)

2.2.7. Kişniş (*Coriandrum sativum* L.)

Apiaceae familyasının en yaygın bilinen türü olan kişniş (*Coriandrum sativum* L.) tıbbi ve tatlandırıcı olarak kullanılan bir baharattır. Kökleri ve yaprakları aromatik tat bakımından zengindir. Kişniş tohumlarının esas bileşeni linalol'dur. Tohumlar genellikle medikal olarak kullanılmaktadır (Resim 2.8) (11, 82, 83). Yapılan bir çalışmada kişniş kökünden elde edilen ekstakt DNA hasarını inhibe etmiş ve antikanser etkisi göstermiştir (11). Kişniş tohumunun kimyasal bileşimini esansiyel yağ, şeker (glukoz, fruktoz ve sakroz), alkaloidler, flavonlar, reçine, tanen içermektedir. Kişniş'in genç yapraklarının kimyasal bileşiminde ise uçucu yağ, proteinler, flavonoidler, glikozitler (quercetin, isoquercitrin ve rutin), kafeik asit ve iz yağ, mineraller (kalsiyum, fosfor ve demir gibi), karoten, lif ve karbonhidrat bulunur (83, 84). Kişniş tohumu esansiyel yağ olarak linalol içerir. Yaprakları ise önemli miktarda kafeik asit, ferulik asit, gallik asit ve klorojenik asit içerir. Bitkinin tohumları ve toprak üstü kısımları spazm, romatizma, nevralji, mide rahatsızlıkları, ishal, dizanteri gibi sağlık sorunlarında geleneksel tıpta kullanılmaktadır (85). Daha önce yapılan çalışmalarda bu bitkinin antidiyabetik, antioksidan, kolesterol düşürücü, antibakteriyel, antikanser ve anksiyolitik etkinlikleri gösterilmiştir. Son çalışmalarda karbonhidrat metabolizması üzerinde etkileri ve hipoglisemik etkisi gösterilmiştir (11, 82).



Resim 2.8. Kişniş (*Coriandrum sativum* L.)

2.2.8. Tarçın (*Cinnamomum cassia* L.)

Tarçın (*Cinnamomum cassia* L.) yaprak dökmeyen Lauraceae familyasına ait bir ağaçtır. Tarçın ağacın iç kabuğundan elde edilir. Ancak sadece kabuğu değil ağacın çiçekleri, meyvesi ve kökleri de kullanılmaktadır (Resim. 2.9) (86). Bitkiden elde edilen ekstre içeriğinde sinamik aldehit ve sinnamil aldehit gibi aktif bileşenler, tanen, mukus ve karbonhidrat içermektedir. İçerisinde bulunan aktif bileşenler antioksidan, antimikrobiyal, antiinflamasyon, antidiyabetik ve antitümoral biyolojik fonksiyonlara sahiptir (87–89). Sinamaldehitler meme, ovaryum, akciğer ve kolon kanseri gibi çeşitli insan kanser hücre hatlarında proliferasyonu kontrol ettiği belirtilmiştir (90). Kwon ve ark. (89) tarafından tarçından elde edilen ekstrakt ile yapılan çalışmada antitümör ve sitotoksik aktivitesi belirtilmiştir. Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), iskemik dokuların kollateral damar oluşumu ve inflamasyonunun tümör gelişiminde mitojenik ve anjiyojenik bir faktördür. Vasküler endotelial büyüme faktörü anjiyogenezin uyarılmasında önemli bir faktördür. Besinlerde doğal olarak oluşan VEGF inhibitörlerinin tanımlanması alternatif bir yaklaşım olacaktır. Tarçın ekstresinin aktif bileşenlerinin in vitro olarak VEGF indüklenmesini endotel hücre proliferasyonu inhibe ederek sağlar. Böylece tarçın ekstresinin VEGF'in doğal inhibitörü olarak tanımlanır ve kanseri önlemede ya da tedavi etmede faydalı olabileceği belirtilmiştir (91). Deney hayvanlarında in vitro ve in vivo yapılan çalışmalarda kolon kanseri riskini azalttığı, kardiyovasküler hastalıkları azalttığı, antimikrobiyal aktivitesi ve antiinflamatuvar özellikleri gösterilmiştir. Gönüllü 54 bireyin günlük çay ile 100 mg/30ml tarçın tüketimi sonucunda kontrol ile karşılaştırıldıklarında önemli ölçüde lipid peroksidasyonunda

indirgeme, total antioksidan güçte ve total tiyolle moleküllerinde artma gözlenmiştir (86).



Resim 2.9. Tarçın (*Cinnamomum cassia L.*)

2.2.9. Zencefil (*Zingiber officinale L.*)

Zencefil (*Zingiber officinale L.*), zencefilgiller familyasından bir metreye kadar boylanabilen, ince-uzun yapraklı, sarı-kırmızı renklerde çiçekler açan, kök yumruları baharat ve ilaç olarak kullanılan, çok yıllık bir bitkidir (Resim 2.10.). Zencefil dünyada hem baharat olarak hem de işlenmemiş ilaç olarak sıklıkla kullanılan bir bitkidir. Zencefil sindirim sistemi hastalıklarında, hazımsızlıkta, mide bulantısı, gastrit ve ishal gibi rahatsızlıklarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Zencefil ekstresinde biyoaktif madde olarak 6-gingerol (6G), 8-gingerol (8G), 10- gingerol (10G) ve 6-shogaol (6S) içerdiği rapor edilmiştir. Zencefil ekstraktının in vivo ve in vitro prostat kanser modellerinde yararlı olduğu gösterilmiştir (92–94). 6- Gingerol’ün pankreas, prostat mide ve lösemi kanser hücrelerinde antiproliferatif etki gösterdiği belirtilmiştir. Aynı zamanda 6-Shogaol’ün de antiproliferatif etki göstererek meme kanserine karşı antikanerojen aktivite sergilediği bildirilmiştir (94). Zencefilin ana bileşeni olan gingerol termal işlenmesinden sonra shogal bileşenini oluşturur. Bu bileşende yüksek bir anti-kanserojen etki gösterir. Yapılan çalışmalarda gingerol’e göre shagol insan akciğer tümör hücrelerinde, kolon kanseri hücrelerinde daha yüksek anti-proliferatif etki göstermiştir. (12).



Resim 2.10. Zencefil (*Zingiber officinale* L.)

2.2.10. Yenibahar (*Pimenta racemosa* L.)

Yenibahar (*Pimenta racemosa* L.), mersingiller familyasına ait bir bitki türüdür (Resim 2.11). Yenibahar baharat, çeşni, koku verici, iştah açıcı ilaç gibi geleneksel olarak kullanılmaktadır. Bitkinin farklı parçaları romatizmal ağrılar, diş ve kas ağrıları, menstural kramplar, sinüzit, bronşit, depresyon ve sinir yorgunluğu gibi hastalıklarda kullanılmaktadır. Farklı coğrafyalarda antiinflamatuvar ve analjezik özellikleri için kullanılır. Bitkiden elde edilen ekstrenin güçlü bir antioksidan özelliği olduğu gösterilmiştir. İçerisinde aktif bileşen olarak fenolik asitler, flavonoidler, fenilpropanlar, diterpen, lupeol bulunmaktadır (95–97). % 1.5 – 4.5 oranında uçucu yağ yaprak ve meyvelerinden elde edilir. Karanfilde baskın olarak elde edilen uçucu yağ olan ojenol yenibaharda da baskın olarak elde edilen uçucu yağdır. Bitkiden elde edilen uçucu yağların yüksek aktiviteye sahip anti inflamatuvar ve antioksidan olduğu bilinmektedir (79, 97, 98). Ekstreden elde edilen pedungulagin'in katı tümör hücrelerine karşı sitotoksik bir bileşen olduğu gösterilmiştir. Aynı zamanda T-lenfositlerin ve makrofajların çoğalmasında engellediği bildirilmiştir. Yenibahar T hücresi türevli lenfositik lösemi hücre hattında apoptozu uyardığı bulunmuştur (99). Yapılan bir çalışmada yenibahardan elde edilen ekstrenin prostatsat kanserine karşı antikanserojen etki gösterdiği bildirilmiştir. Bu çalışma sonrasında yapılan diğer bir çalışmada devam eden bir çalışma ile birlikte meme kanserinde de antitümöral etki gösterdiği bildirilmiştir (100, 101).



Resim 2.11. Yenibahar (*Pimenta racemosa* L.)

2.3. Kanser İle İlgili Deneysel Çalışmalar

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 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 (102).

İnsanlarda kansere sebep olan kimyasalların belirlenmesi için kemirgenler üzerinde yapılan laboratuvar çalışmaları önemlidir. Epidemiyolojik araştırmalar da laboratuvar hayvanlarındaki uzun süreli çalışmalar kanserojen potansiyeli belirlemek için en iyi yöntemlerden biri olmuştur. 1918 yılında ilk defa laboratuvar hayvanları kimyasal karsinojenlere maruz bırakılmıştır. Bu dönem karsinojenlerin kimyasal dönemi olarak söylenebilir ve bu dönemdeki bulgular insanlar üzerindeki etkilerinin öğrenilmesi için önem arz eden bir dönem olmuştur (103). Sentetik ya da doğal yollar ile oluşan kimyasallar insanlarda potansiyel olarak karsinojen olarak kabul edilir. İnsanlarda

kanserle ilişkili olan tanımlanmış kimyasalların laboratuvar hayvanlarında da kansere neden olduğu gösterilmiştir. Türler arasındaki karsinogenez mekanizma benzerliklerinin bilinmesi insanlarda kanser risklerini sunma açısından deney hayvanlarının dikkate alınması gerektiğini göstermektedir (104).

1950'lerin başında fare tümör modelleri yeni ilaçların antitümör etkilerinin araştırılması için kullanılmaya başlanmıştır. İlk başlarda lösemi hücre hatları üzerinde odaklanılmış, bu yaklaşımdan 10 yıl sonra hızla büyüyen tümörlere karşı bileşikler için tümör modeli tercihleri değiştirilmiştir. Solid tümör modelleri gibi B16 melanoma ve Lewis akciğer karsinom gibi katı tümör modelleri tanıtılmıştır. Bu tümör modellerinde de klinik etkinliğinin korelasyonunun düşük olmasından dolayı katı tümör modelleri ksenograf yaklaşımlarla değiştirilmiştir (105).

Kanser araştırmalarında kullanılacak deneysel modellerin seçimi çok önemlidir. Araştırmalarda tercih edilecek modellerin; seçilen modelin geçerliliği, özellikle transplante tümörler için üretilme verimlilikleri, tümörün uygulanma kolaylığı, uygulanan tümörün oluşma zamanı, ret olma yüzdesi, metastatik yeteneği, immünolojik (antijenik yapıları) ve genetik özelliklerinin uygun olması gerekir. Deneysel kanser araştırmaların geçmişine baktığımızda özellikle kimyasal karsinojenler ile spontan veya transplante edilebilen tümörlerin kullanıldığı görülmektedir. Çünkü bu modeller her araştırma biriminde kolaylıkla üretilebilen, özellikleri iyi tanımlanmış, saklanabilen, uygulanması da diğer modellere nazaran daha kolay olan yöntemleri içermektedir. Son 35 yılda önce ksenograft çalışmaları, sonra transgenik hayvan üretimlerinde hızlı gelişmeler kaydedilmiş ve bilimsel amaçlı bu üretim alanı, bir ticaret sektörü halini almaya başlamıştır (9, 10).

Kullanılacak kanser modeline en iyi cevap alınacak, uygulanacak tümörün biyolojik özelliklerini ve ilaçların sitotoksik etkilerini istenildiği şekilde gösterecek en uygun deney hayvanını seçmek deneysel kanser çalışmalarında önemlidir. Aynı zamanda deney hayvanı seçiminde genç erişkin yaştaki grupla çalışmak tümörün tutma oranını da artırmaktadır. Deney hayvanları kullanılarak yapılan kanser çalışmalarında, hem hayvanların biyolojik yapıları hem de tedaviye yönelik uygulamaların özellikleri dikkate alındığında günümüzde farklı modellerin kullanıldığı görülmektedir (9, 10).

2.4. Deneysel Kanser Modelleri

Çeşitli kimyasal ajanları, deney hayvanlarına farklı yollarla vererek (intraperitoneal, intravenöz, subkutan) birbirinden farklı özellikte tümör modelleri oluşturulabilmektedir. Transgenik hayvan, yabancı bir gen enjekte edilmiş fertilize bir yumurtanın pronuklesundan elde edilen progen sonucunda ortaya çıkar, modeli onkogenik fenotip araştırmalarında harika model olabilir. İlk dönemlerde timektomi, steroidler ve radyasyon içermeyen ışınlar ile immün sistemi hasara uğratılmış farelerde insan tümör xenograftı çalışılırken, 1969'da Glasgow Ruchill hastanesi virüs laboratuvarında albino fare üretim bölümünde ilk nude farenin spontan olarak ortaya çıkmasıyla xenograft araştırmaları için çok uygun bir model yerini almıştır. Bir diğer tümör modeli mikroenkapsüle tümör modeli olup bu modelde tümör hücreleri yarı geçirgen jeller içerisinde kapsülendir. Mikrokapsüller deney hayvanlarının periton boşluğuna inoküle edilir. Yarı geçirgen kapsül konak hücre ortamının immün sitotoksitesinden tümör hücrelerini korurken sistemik sitotoksik ajanlar tümör hücrelerine diffüze olur ve kapsüle ulaşır. İntravenöz ilaç uygulanmasını takiben anti-kanser etki mikrokapsüllerin geri alınmasından sonra değerlendirilir. Spontan veya transplante edilebilen tümör modelleri ise spontan oluşan tümörlerden elde edilen süspansiyonlardan türetilmektedir. Spontan tümörler genelde idiyopattir. Geç dönemde ölçülebilir duruma gelir. İnsan kanser tiplerine kinetik özellik açısından benzerlik gösterir. Ayrıca karsinogenezin biyolojisinin anlaşılmasında, kemopreventif ve kemosüpretif ilaçların geliştirilmesinde önemli rol oynayan modellerdir. Solid tümörler, subkutan, intradermal, intramuskuler, intraperitoneal veya intravenöz yolla hücre süspansiyonlarının inokulasyonu sonucunda transplante edilir. Transplante edilen tümörler, kökenlendikleri spontan tümörlere erken oluşum fazları açısından oldukça benzerlik gösterir. Bu modele uygun örneklerden biri ise Ehrlich Assit Tümörüdür (9, 10).

2.4.1 Ehrlich Assit Tümörü (EAT)

Günümüzde tedavide başarılı olmak ve kansere karşı yeni yöntemler geliştirmek üzere yapılan çalışmalar deney hayvanlarında oluşturulan deneysel hayvan tümörleri üzerinde sürdürülmektedir. Elde edilişinden bu yana pek çok araştırmaya konu olan deneysel hayvan tümörlerinden biri olan EAT, ilk olarak dişi bir farede spontan meme adenokarsinoması olarak ortaya çıkmış ve Ehrlich ve Apolant (1905) tarafından tümör

parçaları fareden fareye deri altına transplante edilerek deneysel tümör haline getirilmiştir. 1932 yılında Loewenthal ve Jahn (1932) bu tümörün farelerin peritonunda sıvı halde büyüyen formunu elde etmeyi başarmışlar ve peritonda hücrelerin yanı sıra asit sıvısı da olduğu için tümör Ehrlich Ascites Tümörü adını almıştır. Klinikte genellikle assit, kanserin ilerleyen safhalarında gelişir ve bu durum kötü prognoz ile ilişkilidir. Bu nedenle assit tümör ile ilgili daha etkili anti-kanser tedavilere ihtiyaç vardır (8, 106). Lettre ve ark. ise, bu tümörü kalitatif ve kantitatif bakımdan kanser araştırmaları için uygun bir test sistemi haline getirmiş, seri transplantasyonlarla üretimleri sırasında heterojen karyotipli çok sayıda alt soyların gelişimini sağlamıştır. EAT hücrelerinin in vitro ortamlarda yüzeye yapışmaksızın suspansiyon kültüründe yetiştirilmesi ile mutant Ehrlich Lettre ascites hücre suşu HD33 elde edilmiştir (3). Orijinal olarak hiperdiploid olan EAT hücrelerinin, Hauschka tarafından 1953 yılında, kromozom sayısı tetraploid olan altsoyu elde edilmiştir. Daha sonra yapılan bazı araştırmalarda da diploid, hipertetraploid, hipotetraploid altsoyları elde edilmiştir. Kolsisine dirençli tümör ırkını ve Glikojen + ve Glikojen Ø Ehrlich tümör ırklarını elde etmişlerdir (3, 106).

EAT'nin sıvı formunun elde edilmesiyle birlikte, çalışmalarda yoğun bir şekilde sıvı tümör kullanılmıştır. Kullanımdaki yoğunluğun nedeni, sıvı formun serbest tümör hücrelerini içeren süspansiyon şeklinde olması ve bunun sonucunda istenilen sayıdaki hücrenin bir başka hayvana transplante edilebilmesidir. Dolayısıyla alışılmış basit sayma yöntemleriyle hem transplante edilen tümör hücre sayısı, hem de oluşan tümör büyüklüğünün kolay bir şekilde saptanabilmesi mümkün olmaktadır. EAT amaca göre asit form veya solid form olarak kullanılmaktadır. Eğer tümör hücresi içeren asit sıvısı deney hayvanına intraperitoneal (İ.P) yolla enjekte edilirse assit form, subkutan (S.C) yolla enjekte edilirse solid form elde edilir (8, 9).

2.4.1.1. Assit Form

Tümör hücrelerinin herhangi bir vücut boşluğuna enjekte edilmesinden sonra orada çoğalmaları ile neoplastik hücreler ihtiva eden bir effüzyon meydana gelmesi assit (ascites) terimiyle ifade edilir. Genellikle tümörler tekrarlayan pasajlarla virülanslarını arttırmaları. Bu gibi tümörlerin büyüme hızı artar. Diferansiyasyon git gide kaybolur, kontrol eden başlıca mekanizmalardan sıyrılır, heterotransplantabilite kabiliyeti kazanır

ve nihayet assit formuna dönüşebilir. EAT hücreleri, farelerin peritoneal boşluğunda süspansiyon halinde çoğalır ve in vitroda yapay yüzeylere yapışmaz. Pasajdan 4-6 gün sonra assit oluşmaya başladığı anlaşılabılır ve toplamda ortalama 5-12 cc assit ihtiva eder (8, 9, 107).

EAT hücreleri, farenin peritoneal boşluğuna 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. 3×10^6 EAT hücrelerinin intraperitoneal enjeksiyonundan sonra hücre sayısının 9. güne kadar eksponansiyel olarak arttığı, 9. ve 10. günden itibaren de plato fazına girildiği görülmüştür. Diğer bir çalışmada ise EAT hücrelerinin çoğalma hızları 4 faz olarak karakterize edilmiştir. Burada 10^7 tümör hücrelerinin intraperitoneal enjeksiyonunu takiben 4 ile 5 gün süren logaritmik faz, 5. ile 13. günlerde hücre sayısında önemli bir artışın gözlemlenmediği plato fazının takip ettiği ve 13. ile 15. günlerde hücre sayısındaki geçici artışı, 15. ile 18. günlerde 2. plato fazının izlediği bulunmuştur. EAT hücrelerinin sayıları çoğalma periyodu boyunca hızlı hücre bölünmeleri ile artar ve periton boşluğunu doldurur. Tümör hücrelerindeki bu çoğalmaya paralel olarak assit sıvısının birikimi de meydana gelir. Belli bir zaman sonra da konak hayvan hem tümör hacminin oluşturduğu basınç hem de tümörün organizmaya verdiği hasar sonucunda ölür (108). Bu çalışmada kullanacağımız tümör modeli olan EAT, transplante edilebilir bir tümör modeli olup ve farelere özgü olmasından dolayı EAT'nin çalışılması tümör değerlendirmesi ve izlenmesi açısından kolaylık sağlayacaktır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma sırasında hayvanlar üzerinde yapılan uygulamaların hayvan hakları ve hayvan deneyleri etiğine uygunluğu, Erciyes Üniversitesi, Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulunun 12.03.2014 tarih ve 14/053 numaralı kararı ile onaylanmış (Ek 1) ve çalışma Hakan Çetinsaya Deneysel Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde (DEKAM) gerçekleştirilmiştir.

3.1. Araştırmada Kullanılan Denek Cinsi, Sayısı ve Dağılımı

Çalışmada ağırlıkları 25-30 gr arasında değişen, 40 adet, 8 haftalık erkek Balb-c türü fare kullanıldı. Farelerden 30 tanesi deney grupları için, 10 tanesi ise stok oluşturmak için kullandı. Hayvanlar her bir grupta 10 adet fare olacak şekilde 4 gruba ayrıldı. Çalışmada negatif (-) kontrol grubu “Ehrlich Assit Tümörü Enjekte Edilen Farelerde Rhamnetin'in Etkisinin Araştırılması” isimli tez çalışması ile ortak kullanıldı.

3.2. Deneysel Prosedür

Fareler araştırma süresince 21°C sabit sıcaklıkta ve 12 saat aydınlık/karanlık dönemlerin bulunduğu, otomatik olarak klimatize edilen odalarda korundu ve normal pellet cinsi yem ile beslendi. Çalışmada Balb/C türü farelerde Ehrlich Assit Tümör (EAT) hücreleri kullanılarak sıvı tümör oluşturulurken EAT hücreleri kültür ortamında çoğaltılarak Çemenin EAT hücreleri üzerindeki etkileri in vivo ve in vitro olarak araştırıldı. Sıvı tümör modelinde ve hücre kültüründe kullanılacak hücreler stok fare oluşturularak elde edildi.

3.3. Stok Fare Oluşturmak İçin Kullanılan Prosedür

%10 Dimetil sülfoksit (DMSO) bulunan besi ortamında -80 derecede dondurulup saklanan EAT hücreleri kullanıldı. Bu amaçla, dondurulmuş hücreler 37 °C'de su

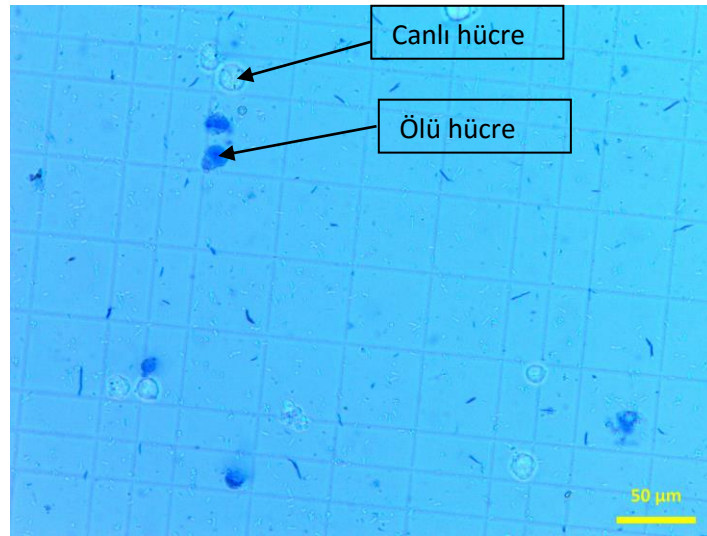
banyosunda çözdürüldü. Stok hayvana 0.1 cc assit sıvısı (10^6 tümör hücresi) olacak şekilde sol arka bacağı ile karın bölgesinin birleşim yerinden intraperitoneal olarak enjekte edildi. Stok hayvanda 6-7 gün içerisinde assit tümör oluşumu karın bölgesinde büyük bir şişlik oluşumu ile gözlemlendi. Stok hayvan oluşturulmasından sonra stok farelerden alınan EAT assit sıvısı sıvı tümör oluşumu ve hücre kültürü için kullanıldı. Stok hayvandan enjektör yardımı ile çekilen assit sıvısı 0.1 ml PBS içerisinde süspanse edildi. Thoma lamında sayılan 1×10^6 EAT hücresi 8-10 haftalık farelere intraperitoneal olarak verildi ve sıvı tümör oluşturuldu.

Hücre kültürü için yine stok hayvandan enjektör yardımı ile çekilen assit sıvısı içinde bulunan hücreler sayılarak steril kültür kaplarına alındı ve in vitro şartlarda kültüre edildi.

3.4. Hücre Sayımı Prosedürü

- Stok hayvandan 10. günde 1ml abdominal bölgeden assit sıvısı çekildi.
- Bu sıvı üzerine 1 ml PBS konuldu ve bununla birlikte toplam 2 ml oldu.
- 2 ml sıvıdan 100 mikrolitre çekildi, ependorf tüpüne konuldu.
- 100 mikrolitre sıvının üzerine 100 mikrolitre tripan blue ilave edildi ve toplamda 200 mikrolitre oldu.

Karışımdan 50 mikrolitre çekilip, Thoma lamının sayım alanına enjekte edildi. 40'lık objektifte canlı hücreler büyük karelerde sayıldı. Ölü hücreler maviye boyanmış olduğu için kolayca fark edildi (Şekil 3.1.). Thoma lamının her iki sayma alanından 5'er büyük kare seçilerek içindeki canlı hücreler sayılmıştır. Ortalamasını almak amacıyla sayılan tüm hücreler toplanarak 10'a bölünür ve thoma lamının bir sayma alanında 16 büyük kare bulunduğu için çıkan sonuç 16 ile çarpılmıştır. Bu sonuç ise 10^6 ile çarpıldığında 1ml'deki hücre sayısı bulunmuştur.



Şekil 3.1. Thoma lamında görülen canlı ve ölü hücreler.

3.5. Bitkisel Materyal

Çemenin %50'sini oluşturan su bir yana bırakıldığında geri kalan bitkisel karışım olarak Çemen otu (%35), Kırmızıbiber (%5), Sarımsak (%5), Kimyon (%2), Karabiber (%0.5), Karanfil (%0.5), Kişniş (%0.5), Tarçın (%0.5), Zencefil (%0.5) ve Yenibahar (%0.5) bir araya getirilerek toz çemen karışımı elde edildi.

İn vitro olarak yapılan çalışmada Çemen otundan elde edilen ekstraktın kanser hücreleri üzerindeki etkileri 10-1000 µg/ml arasında değişen oranlarda denenmiş 250 µg/ml ve üzerinde verilen ekstrakt oranında canlı hücre sayısında azalma olduğu belirtilmiştir (109). Bir başka çalışmada ise intraperitoneal uygulamalarda 200 mg/kg çemen ekstraktının tümör hücreleri üzerinde %70 oranında hücre çoğalımını engellediği görülmüştür (38).

Biz de bu çalışmalarda denenen dozlardan yola çıkarak yapacağımız bu çalışmada 250, 500 ve 1000 µg/ml oranlarında çemen karışımından elde edilen ekstrakt, EAT hücrelerinin kültür ortamına katılarak in vitro etkisine, 200 mg/kg ve 400mg/kg çemen ekstraktı intraperitoneal verilerek sıvı tümör hücreleri üzerinde in vivo etkisi araştırıldı.

3.6. Çemen Ekstresinin Hazırlanışı

Çemen tozu (500 g) %70'lik metanol ile çalkalamalı su banyosunda 37 °C'de 24'er saat süreyle üç kez ekstre edildi. Elde edilen ekstreler birleştirilip vakum altında rotavaporda

(37-38 °C) yoğunlaştırıldı. Ekstre liyofilize edildi ve analiz anına kadar -20 °C’de saklandı. Çemen ekstresi kullanım öncesinde %5 etanol çözeltisi içinde çözüldü.

3.6.1. Kimyasal Kompozisyon Analizleri

Bitkisel materyallerden elde edilen ekstrefenolik bileşikler bakımından spektrofotometrik olarak incelendi.

3.6.1.1 Toplam Fenol Miktar Tayini

Ekstrenin içerdiği toplam fenol miktarı gallikasite eşdeğer olarak Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılarak hesaplandı (110). 6 mL distile su içeren 10 ml’lik kap içerisine 100 µL örnek çözeltisi ve 500 µL Folin-Ciocalteu reaktifi ilave edildi. 1 dakika sonra 1,5 mL %20’lik sulu Na₂CO₃ ilave edilip 10 ml’ye su ile tamamlandı. Kontrol olarak ekstre içermeyen reaktif karışımı kullanıldı. 25 °C’de 2 saat inkübe edildikten sonra 760 nm’de absorbansı ölçüldü ve gallik asit (GAE) kalibrasyon eğrisi ile karşılaştırıldı. Toplam fenolik madde miktarı gallikasite eşdeğer olarak hesaplandı. Deneyler üç paralel olacak şekilde yapıldı ve sonuçlar ortalama değerler olarak verildi.

3.7. In Vivo Çalışmalar

3.7.1. Deney Grupları

Grup 1: Negatif Kontrol (- kontrol): Bu grupta kanser oluşturulmadı ve hayvanlar 7 gün boyunca normal diet ile beslendi. 7 gün boyunca intraperitoneal olarak serum fizyolojik (SF) uygulandı.

Grup 2: Pozitif Kontrol (+ kontrol): Bu grupta yer alan farelere 0. gün karın bölgesine içerisinde 1×10^6 EAT hücresi bulunan 0.1 ml asit sıvısı intraperitoneal uygulandı. 0. günden itibaren 7 gün süreyle farelere 0.5 ml SF intraperitoneal enjekte edildi.

Grup 3: 200 mg/kg: Bu grupta yer alan farelere 0. gün karın bölgesine içerisinde 1×10^6 EAT hücresi bulunan 0.1 ml asit sıvısı intraperitoneal uygulandı. 0. günden itibaren 7 gün süreyle farelere 200 mg/kg/gün çemen ekstraktı intraperitoneal enjekte edildi.

Grup 4: 400 mg/kg: Bu grupta yer alan farelere 0. gün karın bölgesine içerisinde 1×10^6 EAT hücresi bulunan 0.1 ml assit sıvısı intraperitoneal uygulandı. 0. günden itibaren 7 gün süreyle farelere 400 mg/kg/gün çemen ekstraktı intraperitoneal enjekte edildi.

Gruplardaki tüm hayvanlardan 8. gün intraperitoneal assit sıvısı çekildi ve hücre sayımı yapıldı. Bu işlem sonrasında karın içi organlar alınıp histolojik inceleme için dokular hazırlandı.

3.7.2. Tümör Gelişiminin Takip Edilmesi

Tümör gelişimi üzerine Çemen ekstresinin etkileri sırasıyla günlük besin ve su tüketimi, ağırlık artışı ve dokuların patolojisine bakılarak değerlendirildi. Tümör gelişimini belirlemek için tümör inokulasyonundan önce belirlenen vücut ağırlıklarına kıyasla her gün hayvanlar tartıldı. Ayrıca genel morfolojik görünümleri (tüy dökülmesi, dışkılama bozuklukları ve anal lezyonlar açısından) makroskobik olarak değerlendirildi.

3.7.3. Sıvı Tümör Oluşturulan Deney Gruplarında Yapılan İncelemeler

Tümör oluşturulan tüm gruplarda 8. gün intraperitoneal sıvıda hücre sayımı yapıldı. Bununla birlikte karın içindeki assit sıvısının tamamı enjektör yardımı ile çekildi ve santrifüj tüpünde toplandı. Bu sıvı 1000 rpm de 5 dk santrifüj edildi. Supernatant kısmı alındı ve geriye kalan hücre miktarı packet volume olarak belirlendi. Tüm gruplardaki farelerde 8. günde ketamin (0.1 mg kg^{-1}) ve xylazin (0.05 mg kg^{-1}) ile intramüsküler genel anestezi altında abdominal bölgesinde disseksiyon yapılarak karın içi organlardan parçalar (karaciğer, dalak, böbrek ve sindirim kanalı) alındı ve alınan organlar rutin histopatolojik inceleme için %10'luk soğuk formaldehit içinde tespit edildi. Daha sonra hayvanlar dekapitasyon yöntemi ile kurban edildi.

3.7.4. Dokuların Histopatolojik İnceleme için Hazırlanması

Formaldehitte iki günlük fiksasyondan sonra dokular %50, %70, %80, %90, %96 ve %100'lük alkol serilerinde sırasıyla 1'er saat tutularak dehidrate edildi. Alkol serisinden geçirilen dokuların şeffaflaşması için üç seri xylol serisinden geçirildi. Üç ayrı erimiş parafin içerisinde 2'şer saat tutularak dokular daha sonra parafin bloklara gömüldü (Tablo 3.1.)

Tablo 3.1. Dokuların histopatolojik inceleme için hazırlanmasında kullanılan takip listesi

Sıra	Yapılan işlem	Süre
1	Musluk suyu	1 saat
2	% 50 alkol	1 saat
3	% 70 alkol	1 saat
4	% 80 alkol	1 saat
5	% 96 alkol	1 saat
6	% 100 alkol	1 saat
7	% 100 alkol	1 saat
8	% 100 alkol	1 saat
9	Ksilen 1	20 dakika
10	Ksilen 2	20 dakika
11	Ksilen 3	20 dakika
12	Parafin	2 saat
13	Parafin	2 saat
14	Parafin	2 saat

3.7.5. Rutin Histopatolojik Takip ve İnceleme

Histolojik inceleme için hazırlanan parafin bloklardan 5 µm'lik kesitler polilizinli lamlara alındı. Dokudaki histolojik yapının gözlenmesi amacıyla hematoksilen-eozin (H-E) uygulaması için, kesitler 2 saat 60°C'de tutulduktan sonra ksilen ve dereceli alkol serilerinden geçirilerek yıkandı ve 8 dakika hematoksilen ile boyandı. Kesitler tekrar yıkanarak 5 dakika eozin ile muamele edildikten sonra dehidrate edildi ve ksilenden geçirilerek kapatıldı (Tablo 3.2). Daha sonra ışık mikroskobunda incelendi ve dokulardaki metastaz odakları değerlendirildi.

Tablo 3.2. Hematoksilen-Eozin boyama için kullanılan takip listesi

Sıra	Yapılan işlem	Süre	Sıra	Yapılan işlem	Süre
1	Etüv (60 °C)	2 saat	14	Eozin	3-5 dakika
2	Ksilen I	10 dakika	15	Akarsu	1 dakika
3	Ksilen II	10 dakika	16	%50 Alkol	1 dakika
4	Ksilen III	10 dakika	17	%70 Alkol	1 dakika
5	Absolu Alkol I	5 dakika	18	%80 Alkol	1 dakika
6	Absolu Alkol II	5 dakika	19	%96 Alkol	1 dakika
7	%96 Alkol	5 dakika	20	Absolu Alkol I	1 dakika
8	%80 Alkol	5 dakika	21	Absolu Alkol II	1 dakika
9	%70 Alkol	5 dakika	22	Absolu Alkol III	1 dakika
10	%50 Alkol	5 dakika	23	Ksilen I	5 dakika
11	Akarsu	5 dakika	24	Ksilen II	5 dakika
12	Hematoksilen	6-8 dakika	25	Ksilen III	5 dakika
13	Akarsu	5 dakika	26	Entellanla kapatılır	

3.8. In Vitro Çalışmalar

3.8.1. Hücre Kültürü Deneyleri

In vitro çalışma için içerisinde % 10 fetal sıgır serumu, 100 U penicilin ve 100 mg/ml streptomisin içeren (Dulbecco's Modified Eagle Medium) DMEM besiyeri hazırlandı. Çemen ekstresi 0.02 ml çözücü içerisinde çözdürüldü. Her bir grup için besiyeri miktarı ve EAT hücre sayısı eşit tutulurken, çemen ekstresi 3 farklı dozda verildi. Stok hayvan'dan alınan EAT hücreleri sayılarak 2.5×10^6 hücre belirlendi (Tablo 3.3). Her bir grup için 24 kuyucuğa ekim yapıldı. Buna bağlı olarak bir kuyucuğa 104166 hücre ekilmiş oldu. Kontrol grubunda besiyeri içinde sadece EAT hücreleri bulunurken, deney gruplarına EAT hücreleri ile birlikte 250, 500 ve 1000 µg/ml oranlarında çemen karışımından elde edilen ekstrakt eklendi. Kültür kapları 37 C° 'de %5'lik CO₂'li Inkübatörde 3 saat ve 24 saat kültüre edildi.

Tablo 3.3. Hücre kültüründe kullanılan Çemen ekstresi, hücre ve besiyeri miktarları (Her bir grupta toplam 24 kuyucuk için verilen miktar)

	Ekstre	Hücre miktarı	Besiyeri
Kontrol	-	2.5x10 ⁶ hücre (1 ml)	4 ml (besiyeri)
Grup 1	1250 µg cemen+0,02 ml çözücü	2.5x10 ⁶ hücre (1 ml)	3.98 ml (besiyeri)
Grup 2	2500 µg cemen+0,02 ml çözücü	2.5x10 ⁶ hücre (1 ml)	3.98 ml (besiyeri)
Grup 3	5000 µg cemen+0,02 ml çözücü	2.5x10 ⁶ hücre (1 ml)	3.98 ml (besiyeri)

3.8.2. EAT Hücrelerinin In Vitro Olarak Değerlendirilmesi

3 ve 24 saat süre ile kültür ortamında tutulan hücrelerden 100 µl eppendorf tüplere transfer edildikten sonra üzerine 100 Trypan blue eklenerek pipetaj yapıldı. Thoma lamı düz bir zemin üzerine kondu ve lamelin yapışması gereken sayım alanı çerçevesinin üzerine lamel kapatıldı. Hazırladığımız hücre + tyripan blue hücre solusyonundan 50 µl alındı. Thoma lamının her iki yanında bulunan kanalların ortasında kalan sayım alanında lamelin lam ile birleştiği noktaya pipetin ucunu dayayarak tam orta noktasından yavaşça hücre solusyonu sayım alanına pipetlendi. Thoma lamı mikroskopun tablasına yerleştirilerek x40'lık objektifte sayım alanı bulundu. Her bir kuyucuktan alınan suspansiyon içindeki canlı (şeffaf görünümlü) hücrelerle cansız (sitoplazma içinde mavi renkte boya ihtiva eden) hücreler tek tek sayılarak not edildi.

3.9. İstatistiksel değerlendirme

Veriler IBM SPSS Statistics 22.0 (IBM Corp., Armonk, New York, ABD) istatistik paket programında değerlendirildi. Tanımlayıcı istatistikler olarak birim sayısı (n), yüzde (%), ortalama±standart sapma ($\bar{x} \pm ss$), ortanca (25.-75.yüzdelik) değerleri olarak verildi. Sayısal değişkenlere ait verilerin normal dağılımı Shapiro Wilk normallik testi ve Q-Q grafikleri ile değerlendirildi. Normal dağılım gösteren değişkenlerde grupların zamana göre karşılaştırmaları tekrarlı ölçümlerde iki yönlü varyans analizi, çoklu karşılaştırmaları ise Tukey HSD testi ile yapıldı. Normal dağılım göstermeyen değişkenlerde gruplar arası karşılaştırmalar Kruskal-Wallis analizi ile yapıldı. Kruskal-Wallis analizi sonucu fark bulunması durumunda çoklu karşılaştırma testi olarak Dunn testi kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen değişkenlerde grup içi karşılaştırmalarda Wilcoxon analizinden yararlanıldı. p<0.05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Çemen'in Analiz Bulguları

Erciyes Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi Bölümü tarafından ölçülen Çemen ekstresinin fenolik madde içeriği 51.832 ± 1.632 mg GAE/ g olarak bulundu.

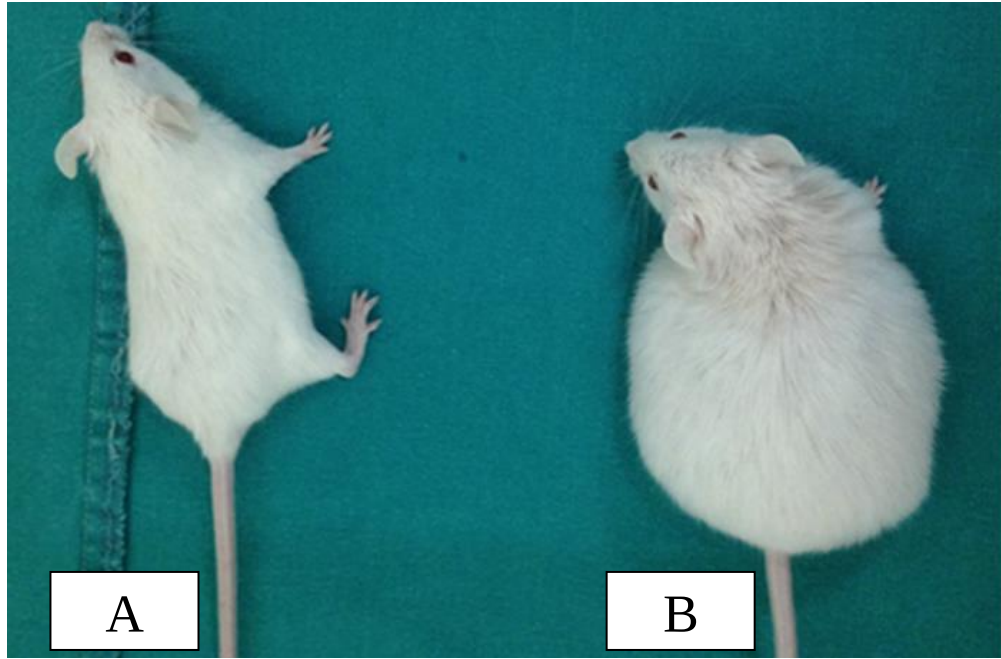
4.2. In Vivo Bulgular

4.2.1. Deney Gruplarında Kilo Takibi

Deney başlangıcında deney gruplarına negatif kontrol grup hariç pozitif kontrol ve Çemen verilen gruplara verilen 1×10^6 EAT hücresi deney gruplarında 4.-5. günden itibaren karın bölgesinde şişlik oluştu. Karın bölgesinde görülen bu şişlik 7. günden itibaren deney hayvanının yürümesine engel olacak düzeye ulaşmıştı (Resim 4.1).

Deney gruplarındaki hayvanların günlük kilo artışına bakıldığında negatif kontrol grubunu oluşturan hayvanların ortalama kilo artışında bir fark gözlenmezken diğer grupların ağırlıklarında bir artışı söz konusu idi (Tablo 4.1 ve Şekil 4.1).

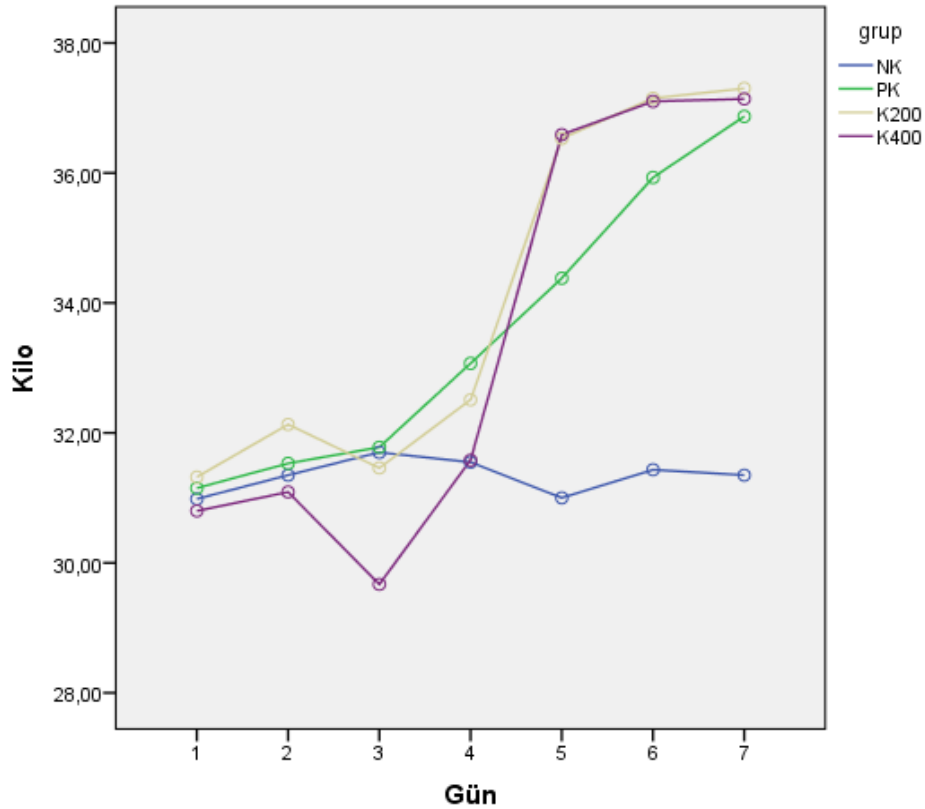
Kilo artışı görülen grupların ağırlıklarındaki günler arası değişim karşılaştırıldığında pozitif kontrol grubunun ilk günki ağırlığı ile 4. gün ağırlığı arasında anlamlı bir fark olduğu ($p=0.006$) ve bu farkın 5., 6. ve 7. günde artarak devam ettiği tespit edildi. 200 ve 400 mg/kg çemen verilen gruplarda ise günler arası yapılan karşılaştırma sonucunda 1. gün ile 5. gün arasında anlamlı bir fark olduğu ($p=0.001$) ve bu farkın daha sonraki günlerde arttığı görüldü. Deney gruplarında anlamlı kilo artışının 5. günde başlaması çemenin kilo artışının bir gün geciktirmiş olduğunu göstermektedir.



Resim 4.1. Yedinci gün negatif kontrol (A) ve pozitif kontrol (B) deney hayvanlarının morfolojik görüntüsü

Tablo 4.1. Deney gruplarında vücut ağırlıklarının günlük kilo takip sonuçları (ortalama ort., sd.: standart sapma)

Gruplar	1. Gün ort.±sd.	2. Gün ort.±sd.	3. Gün ort.±sd.	4. Gün ort.±sd.	5. Gün ort.±sd.	6. Gün ort.±sd.	7. Gün ort.±sd.
Negatif kontrol	30.98±2.3	31.35±2.3	31.70±2.3	31.55±2.2	31.00±2.0	31.43±2.2	31.35±2.0
Pozitif kontrol	31.15±1.7	31.53±2.3	31.78±1.9	33.07±2.2	34.38±2.5	35.93±2.3	36.87±2.3
200 mg/kg	31.32±1.0	32.13±1.5	31.46±1.6	32.51±1.7	36.53±1.3	37.15±1.5	37.30±1.9
400 mg/kg	30.80±1.3	31.09±1.0	29.67±2.3	31.58±2.1	36.59±2.0	37.10±2.3	37.14±2.6



Şekil 4.1. Deney gruplarında vücut ağırlıklarının sonuçlarının şematik gösterimi (NK: negatif kontrol, PK: pozitif kontrol, K200: kanser 200mg/kg, K400: kanser 400 mg/kg)

4.2.2. Deney Gruplarında Periton İçi Assit Sıvısının Total Hacmi Ve Packet (Çökelti) Volume Hesaplaması

Deney sonunda karın içerisinde biriken assit sıvısı tüm hayvanlarda enjektör yardımı ile çekildi ve çekilen sıvının tamamı total volume olarak hesaplandı. Daha sonra bu sıvı 1000 rpm'de 5 dk santrifüj edildi ve supernatant kısmı atılarak geride kalan kalan kısmın hacmi packet volume olarak hesaplandı. Pozitif kontrol ve tedavi gruplarında sırası ile total volume sonuçları 6.4 ± 1.9 cc, 6.7 ± 1.7 cc ve 6.9 ± 2.2 cc olarak elde edildi. Total volumün tedavi gruplarında pozitif kontrol grubuna göre daha fazla olduğu, bununla birlikte packet volümün ise (sırasıyla 4.3 ± 1.0 cc, 4.0 ± 1.1 cc ve 4.2 ± 1.7 cc) daha az olduğu görüldü. Supernatanat volum ise pozitif kontrol ve tedavi gruplarında sırası ile 2.1 ± 1.4 cc, 2.7 ± 0.9 cc ve 3.0 ± 1.3 cc olarak hesaplandı (Tablo 4.2.).

Deney sonunda pozitif kontrol ve tedavi gruplarını oluşturan hayvanlardan alınan assit sıvısı içindeki hücreler tripan blue ile boyanarak sayıldığında 1 ml'deki ortalama canlı hücre sayısı (sırasıyla 67.60×10^6 , 55.08×10^6 ve 47.28×10^6) olup (Tablo 4.3) pozitif

kontrole göre tedavi gruplarında bir azalma mevcuttu ve bu azalma 400 mg/kg çemen grubunda istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0.041$).

Pozitif kontrol grubuna göre tedavi gruplarında assit sıvısının total volümünde artış olmakla birlikte hücre miktarını gösteren packet volum'ün azalması assit sıvısında azalmaya neden olmadığını ancak çemen ekstratının EAT hücrelerinin çoğalmasını engellemiş olabileceğini göstermekte ve Tablo 4.3'de verilen ortalama hücre sayıları bu tezi doğrulamaktadır.

Tablo 4.2. Karın içerisinde çekilen assit sıvısının total, packet ve supernatan volüme sonuçları

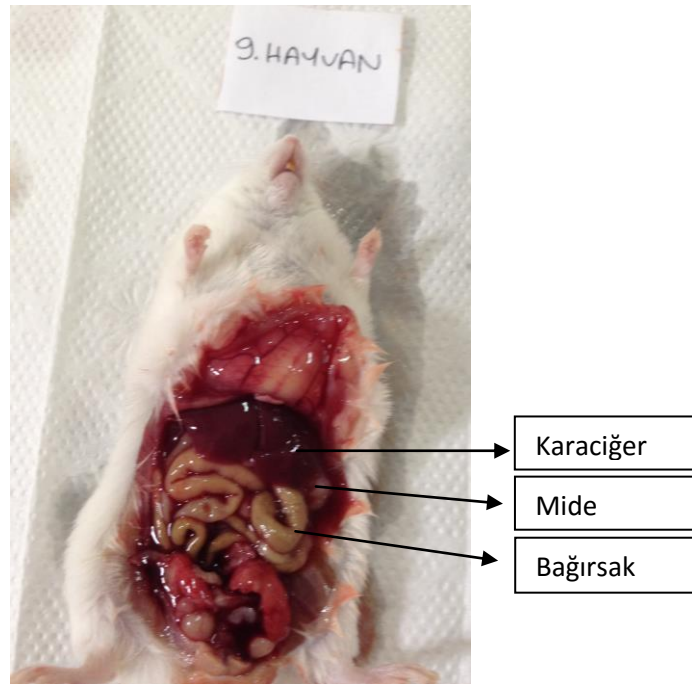
Grup	Total volume	Packet volume	Supernatant
Negatif kontrol	---	---	---
Pozitif kontrol (n=10)	6.4±1.9 cc	4.3±1.0 cc	2.1±1.4 cc
EAT hücresi + 200 mg/kg çemen (n=10)	6.7±1.7 cc	4.0±1.1 cc	2.7±0.9 cc
EAT hücresi + 400 mg/kg çemen (n=10)	6.9±2.2 cc	4.2±1.7 cc	3.0±1.3 cc

Tablo 4.3. Deney gruplarında intraperitoneal assit sıvısında bulunan ortalama hücre sayısı

Grup	Ortalama hücre sayısı (1 ml)
Negatif kontrol	---
Pozitif kontrol (n=10)	67.60 x 10 ⁶
EAT hücresi + 200 mg/kg çemen (n=10)	55.08 x 10 ⁶
EAT hücresi + 400 mg/kg çemen (n=10)	47.28 x 10 ⁶

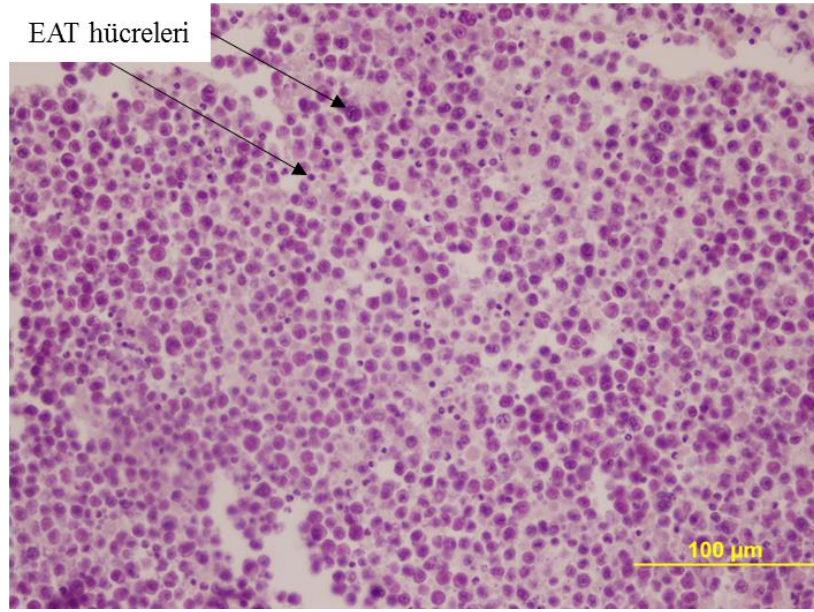
4. 2. 3. Histopatolojik Bulgular

Deney gruplarındaki tüm farelerde 8. günde ketamin (0.1 mg kg⁻¹) ve xylazin (0.05 mg kg⁻¹) ile intramüsküler genel anestezi altında abdominal bölgesi açılarak böbrek, karaciğer, dalak, mide, ince ve kalın bağırsak organları alındı. EAT hücresi intraperitoneal olarak enjekte edilen hayvanların karın içi organlarını sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında morfolojik olarak bir farklılık gözlenmedi (Resim 4.2).



Resim 4.2. EAT hücresi verilmiş deney grubuna ait hayvanın karın organlarının genel görünümü

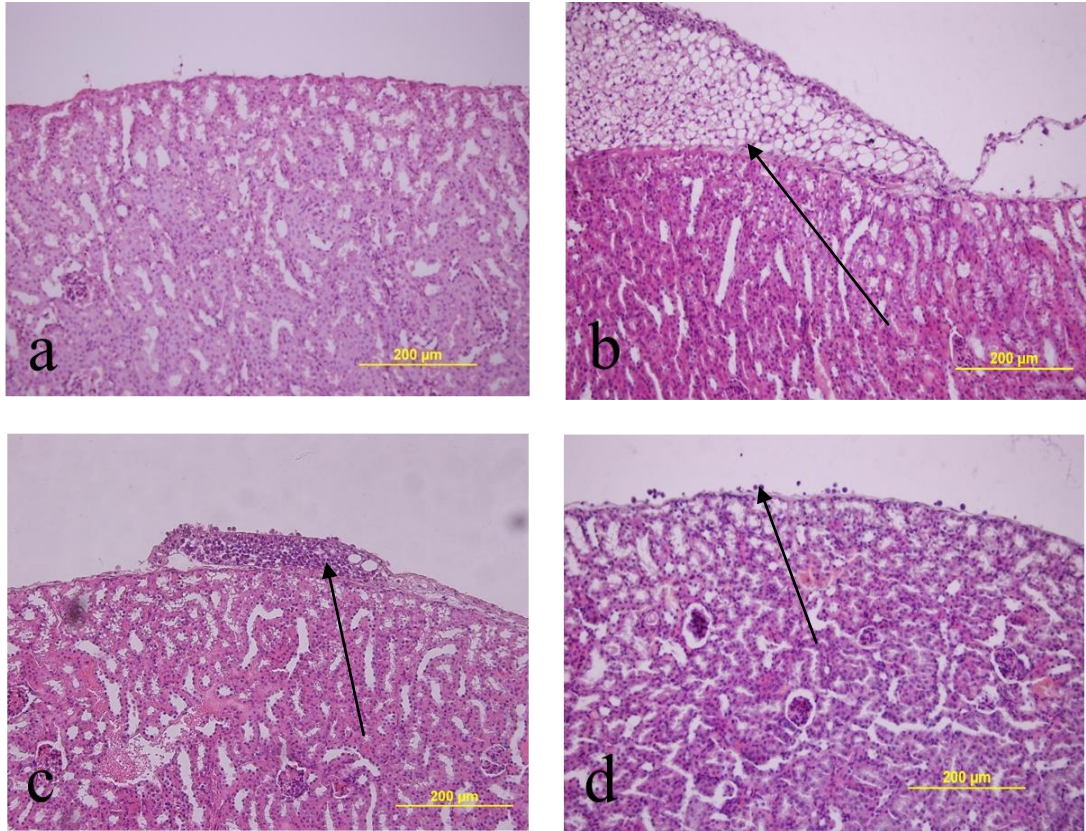
Gruplara ait farelerden alınan dokulara rutin histopatolojik takip yapıldı. Daha sonra elde edilen parafin bloklardan 5 mikron kalınlığında kesitler alındı ve dokular hematoksilin-eozin (H-E) boyama yöntemi ile boyandı. Yapılan histopatolojik incelemeler sonrasında sağlıklı kontrol gruplarının dokuları normal histolojik özellikler gösterirken, EAT hücresi verilen gruplarda bağ dokusu şeklinde doku kapsülünde dağınık halde EAT hücre toplulukları gözlemlendi. EAT hücreleri histopatolojik olarak incelendiğinde iri hiperkromatik nükleuslu ve eozinofilik sitoplazmalı farklı büyüklük ve şekilde hücreler olarak gözlemlendi (Şekil 4.2).



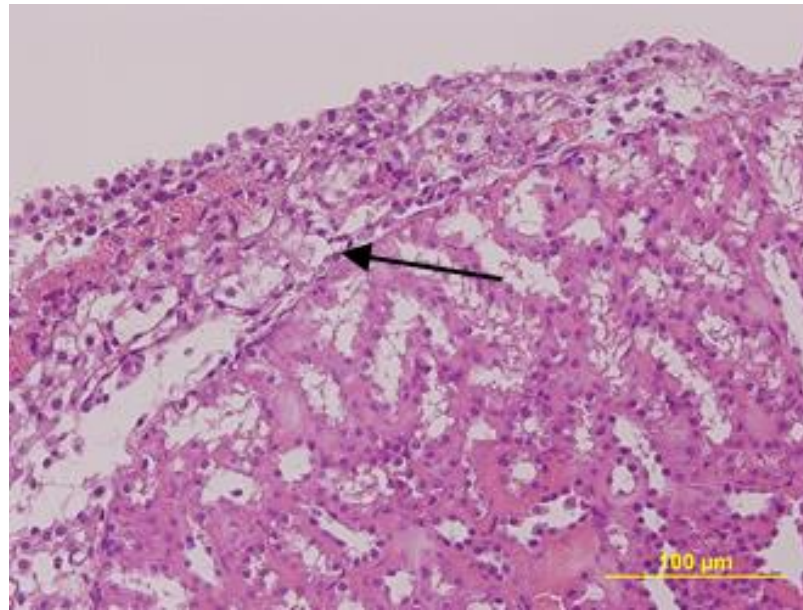
Şekil 4.2. EAT hücrelerinin histopatolojik görüntüsü (H&E 40X).

4.2.4.1. Böbrek Dokusunda Histopatolojik Değerlendirme

Sağlıklı kontrol grubuna ait böbrek dokularında bağ dokusu kapsülü ve böbrek parankiması normal görünmekte olup (Şekil 4.3.a), renal korpuskülleri, proksimal ve distal tübüller, peritübüler kapillerler normal histolojik bulgular gösterdi. EAT hücresi uygulanan grupta (tümör kontrol grubu) böbrek dokusu kapsülüne invaze şekilde EAT hücreleri gözlemlendi. Bu gruba ait böbrek kesitleri incelendiğinde, dokunun kapsülüne invaze tümör hücrelerinin farklı yoğunluklarda olduğu tespit edildi (Şekil 4.3.b, Şekil 4.4). 200 mg/kg çemen grubunun böbrek kapsülünde tümör kontrol grubunda gözlemlenen özellikteki tümör hücrelerinin varlığı saptanmıştır, ancak EAT hücreleri tümör grubundaki hücre yoğunluğu kadar yoğun değildi (Şekil 4.3.c). 400 mg/kg çemen grubuna ait dokuların bazı kesitlerinde dokunun bağ dokusu kapsülünde tümör hücresi uygulanan gruptan ve 200 mg/kg çemen uygulanan gruptan daha az kümeleşmiş EAT hücre gruplarının varlığı tespit edildi (Şekil 4.3.d).



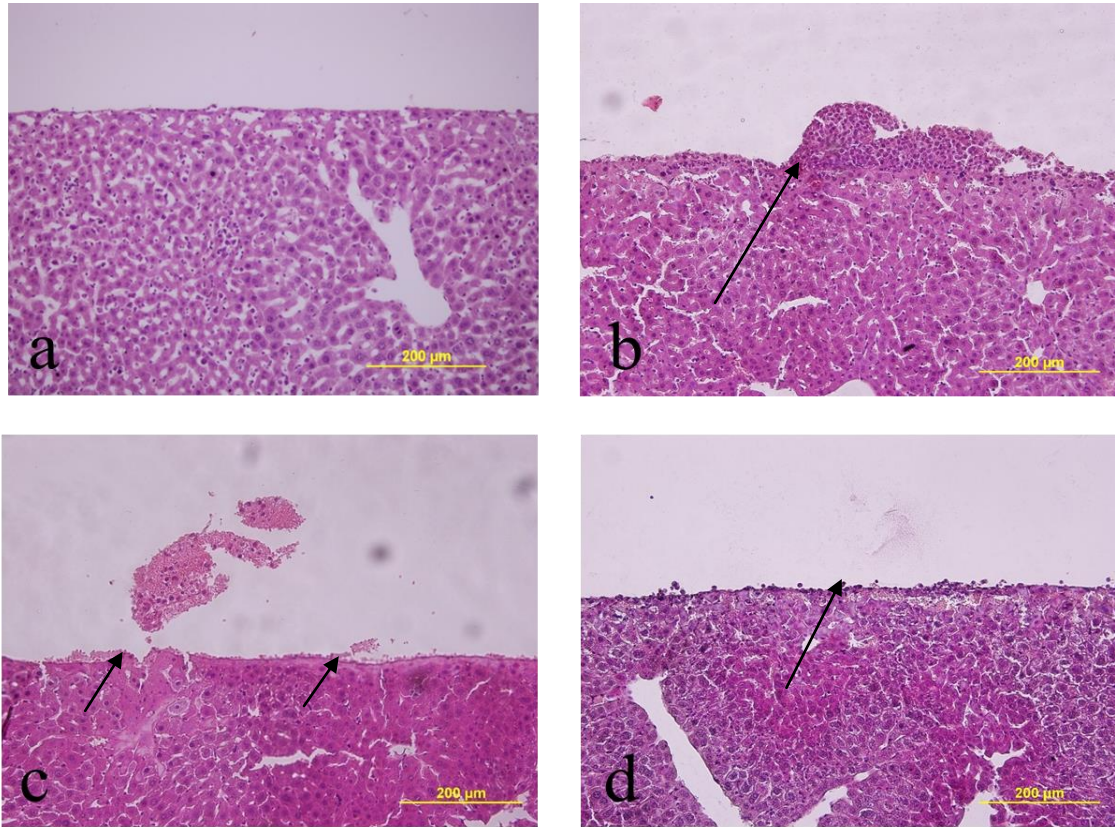
Şekil 4.3. Böbrek dokusunda sağlıklı kontrol grubuna ait histolojik, tedavi ve tümör uygulama gruplarına ait histopatolojik bulgular **a)**Sağlıklı kontrol grubu (H&E, 20X). **b)**Tümör kontrol grubu (H&E, 20X). **c)**200 mg/kg çemen uygulanan grup (H&E, 20X). **d)**400 mg/kg çemen uygulanan grup (H&E, 20X). Siyah ok: Böbrek kapsülüne invaze EAT hücrelerini göstermektedir.



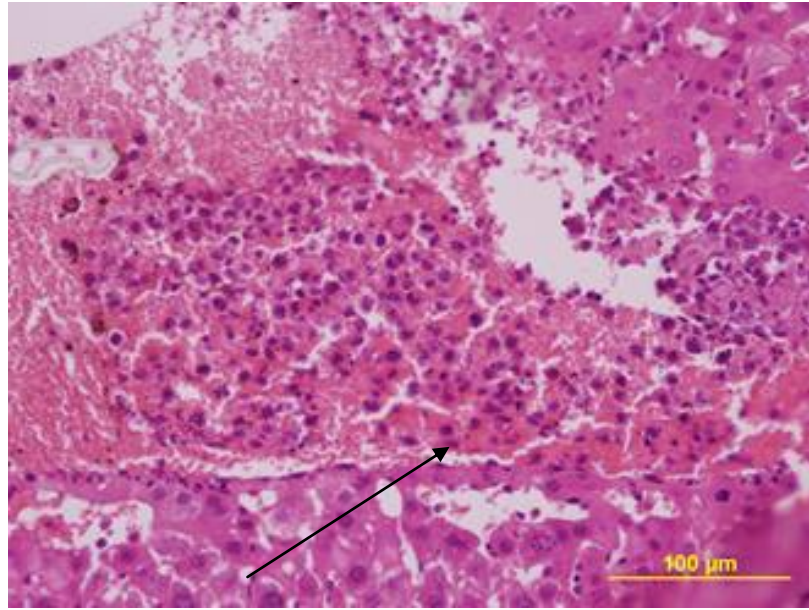
Şekil 4.4. Tümör kontrol grubu böbrek dokusunda oluşan EAT hücrelerinin görüntüsü (H&E 40X). Siyah ok=Böbrek kapsülüne invaze EAT hücrelerini göstermektedir.

4.2.4.2. Karaciğer Dokusunda Histopatolojik Değerlendirme

Histolojik değerlendirmeler sonucunda sağlıklı kontrol grubuna ait karaciğer dokularında normal parankimal yapıya ait özellikler mevcut iken (Şekil 4.5a), EAT hücresi uygulanan gruba ait karaciğer dokularında, dokunun etrafını saran periton tabakasına tutunmuş belirgin ve çok sayıda EAT hücresinin bulunduğu gözlemlendi (Şekil 4.5b ve Şekil 4.6). 200 mg/kg çemen uygulanan grupta karaciğer dokusunu saran peritona tutunmuş şekilde EAT hücrelerinin varlığı gözlenirken (Şekil 4.5c), 400 mg/kg çemen verilen gruplarda EAT hücrelerinin varlığı, 200 mg/kg çemen uygulanan gruba göre daha az olduğu tespit edildi (Şekil 4.5d).



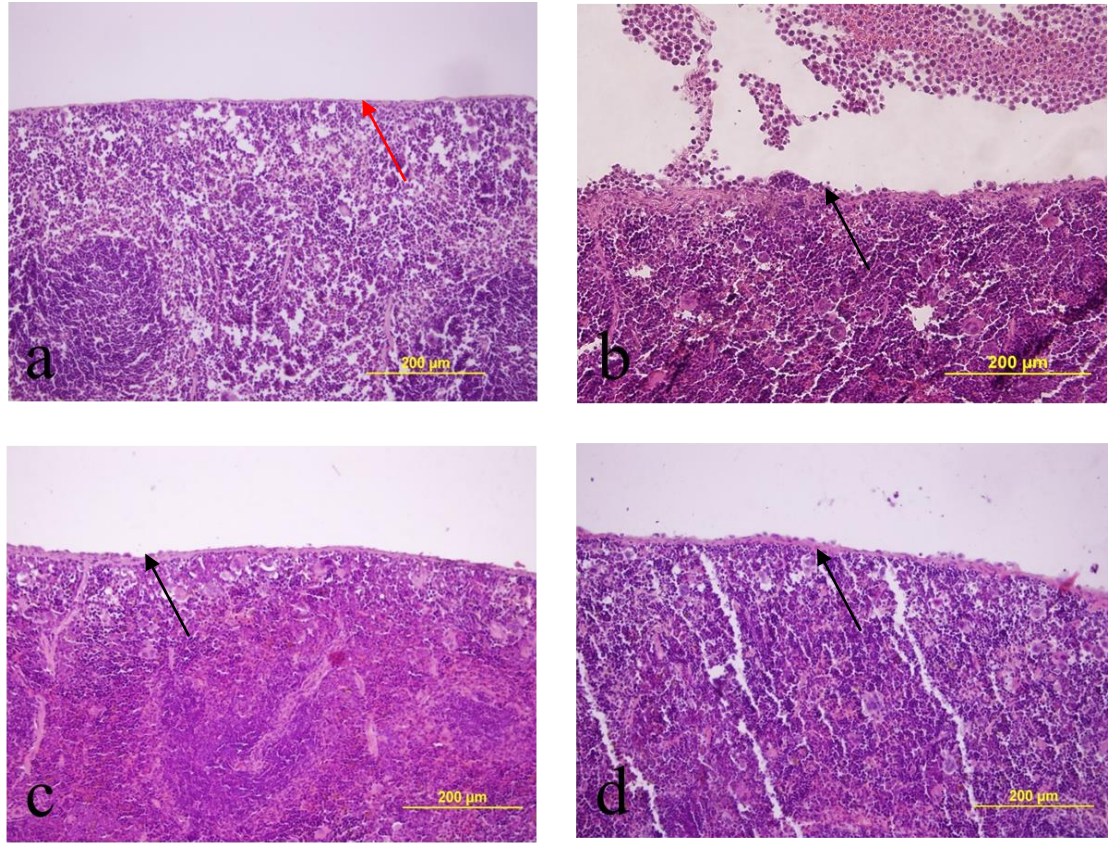
Şekil 4.5. Karaciğer dokusunun sağlıklı kontrol ve EAT hücresi uygulanan grupların histopatolojik bulguları. **a)**Sağlıklı kontrol grubu (H&E, 20X). **b)**Tümör kontrol grubu (H&E, 20X). **c)**200 mg/kg çemen uygulanan grup (H&E, 20X). **d)**400 mg/kg çemen uygulanan grup (H&E, 20X). Siyah ok=Karaciğer dokusunu saran peritona tutunmuş EAT hücresini göstermektedir.



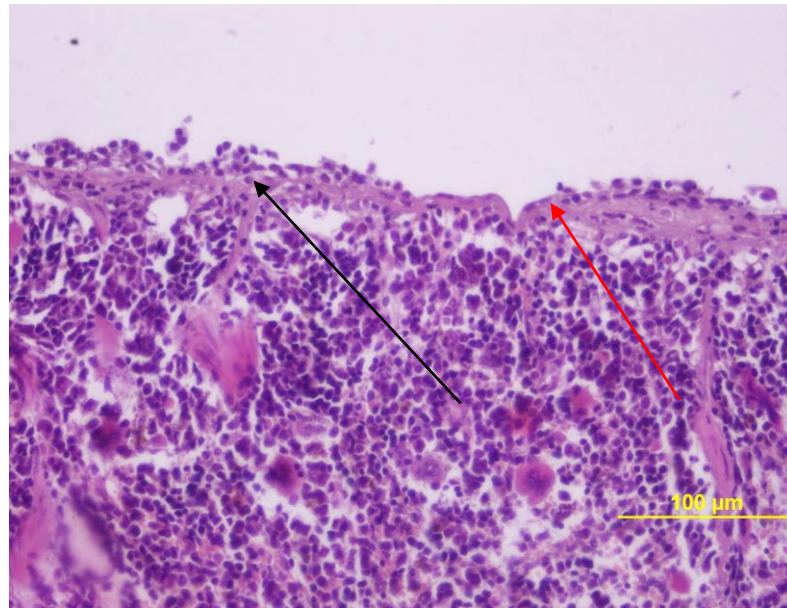
Şekil 4.6. Tümör kontrol grubunda karaciğer dokusunu saran peritona tutunmuş EAT hücrelerinin görüntüsü (H&E 40X). Siyah ok=Karaciğer dokusunu saran peritona tutunmuş EAT hücrelerini göstermektedir.

4.2.4.3. Dalak Dokusuna Ait Histopatolojik Bulgular

Histolojik değerlendirmeler sonucunda deney gruplarına ait dalak dokularının dış kısımlarında kapsül ile sarılı idi. Sağlıklı gruptaki dalak dokularının genel yapısal özelliğine sahip olduğu gözlenirken (Şekil 4.7a), tümör grubunda ve tedavi grularında EAT hücreleri kapsüle tutunmuş ve invaze olduğu gözlendi (Şekil 4.7 ve Şekil 4.8). Tümör hücresi verilen grupta, EAT hücre toplulukları dokuyu saran kapsül etrafında yoğun bir şekilde kümelenirken (Şekil 4.7b), 200 mg/kg ve 400 mg/kg çemen uygulanan gruplar pozitif kontrol grubu ile karşılaştırıldığında EAT hücrelerinin kümelenmediği gözlendi (Şekil 4.7c, Şekil 4.7d).



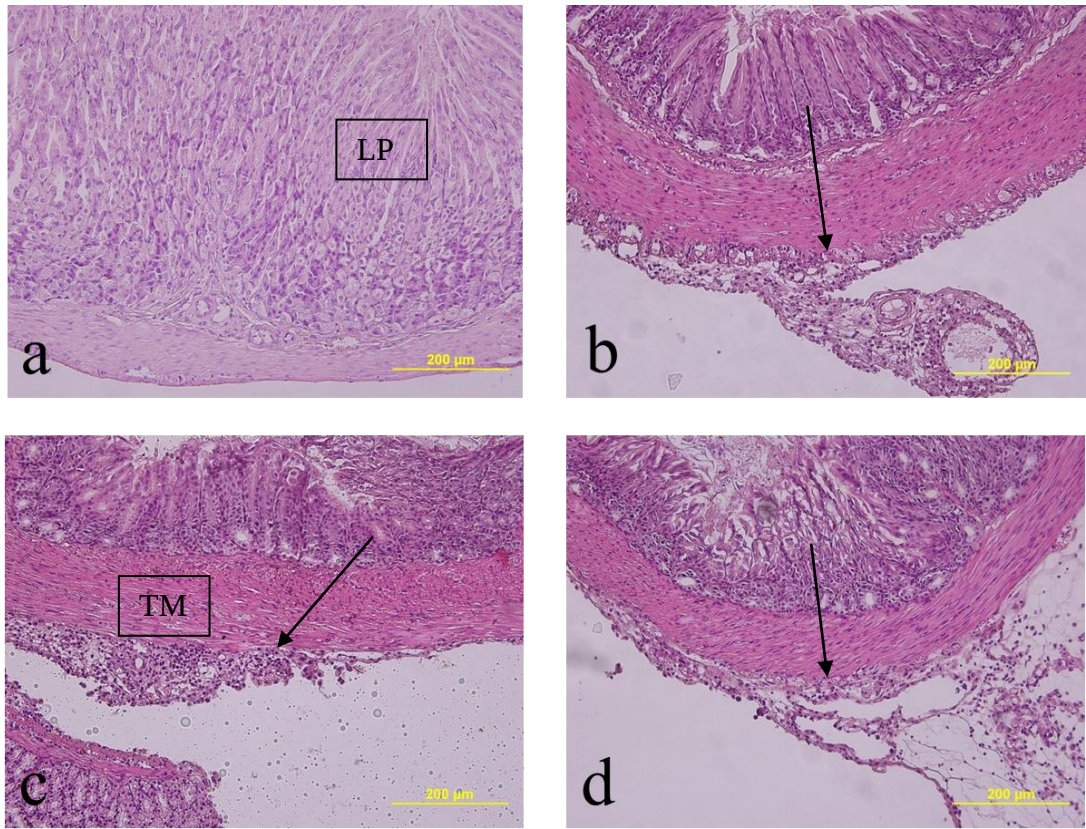
Şekil 4.7. Dalak dokusunun sağlıklı kontrol ve EAT hücresi uygulanan grupların histopatolojik bulgular. **a)**Sağlıklı kontrol grubu (H&E, 20X). **b)**Tümör kontrol grubu (H&E, 20X). **c)**200 mg/kg çemen uygulanan grup (H&E, 20X) **d)**400 mg/kg çemen uygulanan grup (H&E, 20X). Kırmızı ok: doku kapsülü, siyah ok: dalak dokusu kapsülüne invaze olmuş EAT hücresini göstermektedir.



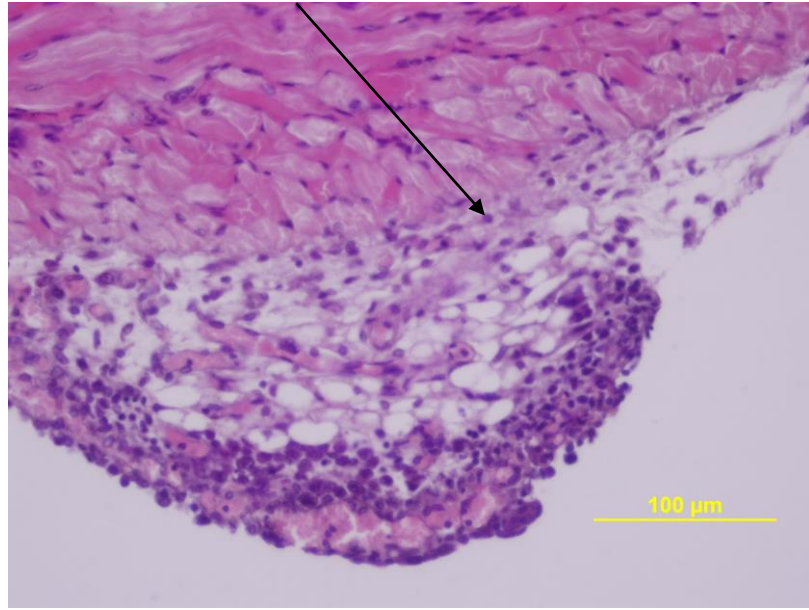
Şekil 4.8. Tümör kontrol grubunda dalak dokusunun kapsülünde oluşan EAT hücrelerinin görüntüsü (H&E 40X). Kırmızı ok: doku kapsülü, siyah ok=dalak dokusunun kapsülüne invaze EAT hücresini göstermektedir.

4.2.4.4. Mide Dokusunda Histopatolojik Değerlendirme

Histolojik değerlendirmeler sonucunda sağlıklı grupta mide bezleri dallı basit tübüler bez yapısı göstermektedir. Tunika muscularisin içten dışa oblik, sirküler ve longitudinal seyreden üç tabakalı düz kas liflerinden oluştuğu gözlemlendi (Şekil 4.9a). EAT hücresi uygulanan gruba ait dokunun en dış tabakasını oluşturan, gevşek bağ dokusu özelliğindeki seroza tabakasına tutunmuş EAT hücrelerinin invaze olduğu tespit edildi (Şekil 4.9b, Şekil 4.10). 200 mg/kg çemen verilen grupta mide dokularında seroz tabakaya tutunmuş EAT hücre kümelerinin olduğu gözlemlenirken (Şekil 4.9c), 400 mg/kg çemen uygulanan grupta, 200 mg/kg çemen uygulanan gruba oranla seroz tabakasında, daha az EAT hücresi vardır. 400 mg/kg çemen uygulanan grupta, kontrol ve 200 mg/kg grubuna göre hücrelerin dağınık olarak yerleşim gösterdiği gözlemlendi (Şekil 4.9d).



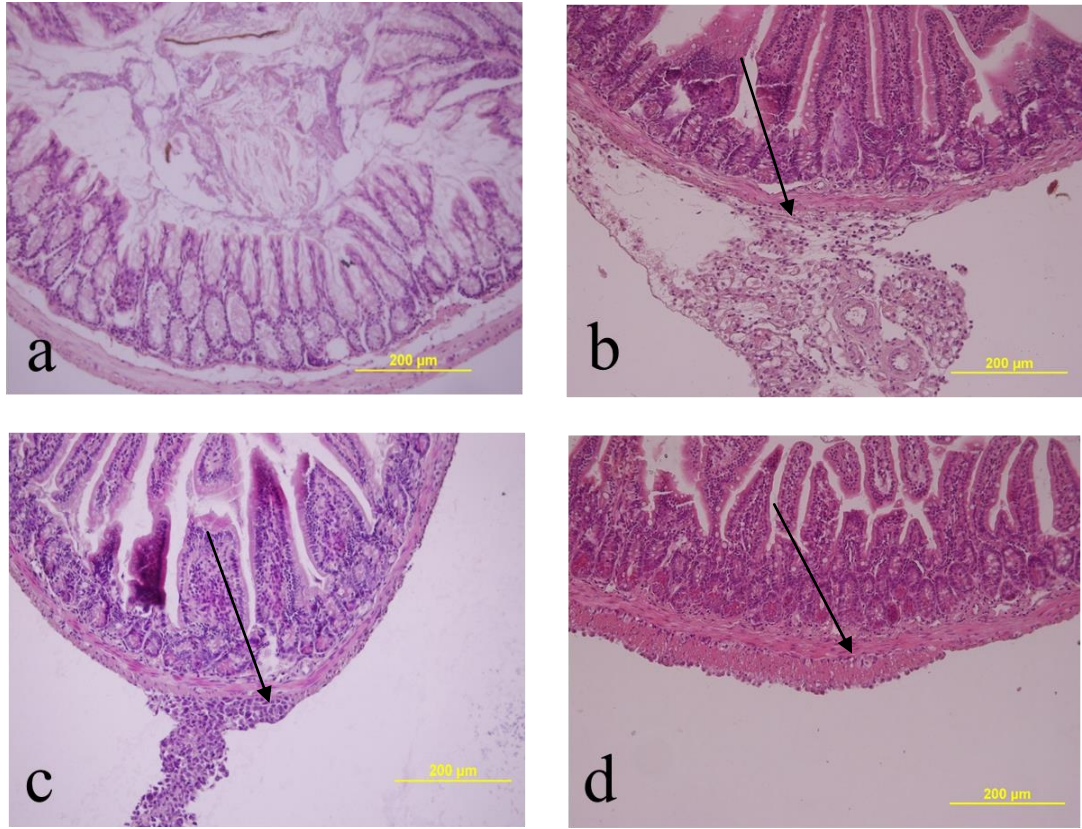
Şekil 4.9. Mide dokusunun sağlıklı kontrol ve EAT hücresi uygulanan gruplara ait histopatolojik bulgular. **a)**Sağlıklı kontrol grup (H&E, 20X). LP= Lamina propria, TM= Tunica muscularis **b)**Tümör kontrol grubu (H&E, 20X). **c)**200 mg/kg çemen uygulanan grup (H&E, 20X). **d)**400 mg/kg çemen uygulanan grup (H&E, 20X). Siyah ok=Mide dokusunun kapsülüne invaze EAT hücresini göstermektedir.



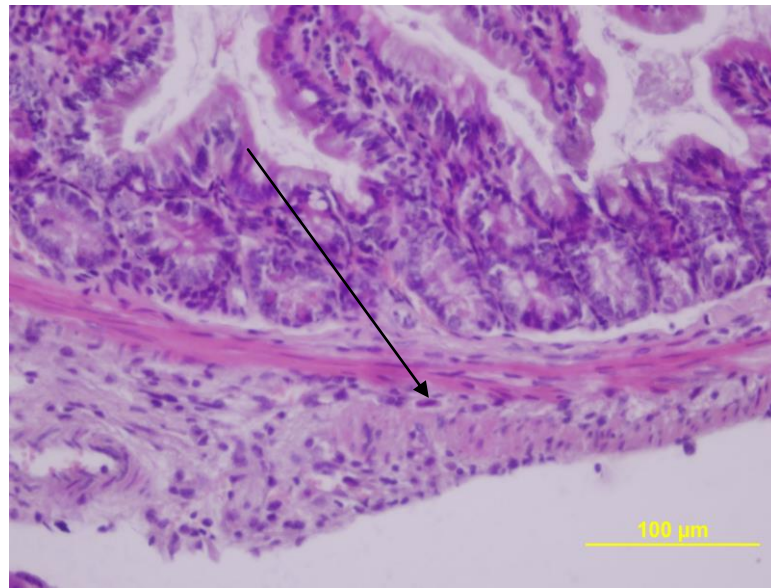
Şekil 4.10. Tümör kontrol grubunda mide dokusunda tunica serozaya tutunmuş ve invaze olmuş EAT hücrelerinin görüntüsü (H&E 40X). Siyah ok=mide dokusunun kapsülüne invaze EAT hücrelerini göstermektedir.

4.2.4.5. İnce Bağırsak Dokusuna Ait Histopatolojik Bulgular

Histopatolojik değerlendirme için deney sonunda ince bağırsağın proksimal, orta hat ve distal bölümlerinden dokular alındı (Şekil 4.11). Sağlıklı deney grubunda normal histolojik bulgular gözlenirken (Şekil 4.11a), tümör hücresi verilen kontrol grubundan alınan dokularda tunika seroza tabakası etrafında EAT hücreleri yoğun bir şekilde kümeleşme göstermiştir (Şekil 4.11b ve Şekil 4.12). 200 mg/kg çemen verilen grupta tümör hücresi verilen grupla aynı histopatolojik bulgular belirlenirken (Şekil 4.11c), 400 mg/kg çemen verilen gruptan alınan dokularda ise gevşek bağ dokusu içinde invaze olmuş hücrelerin varlığı belirlendi ancak hücre yoğunluğu daha az idi (Şekil 4.11d).



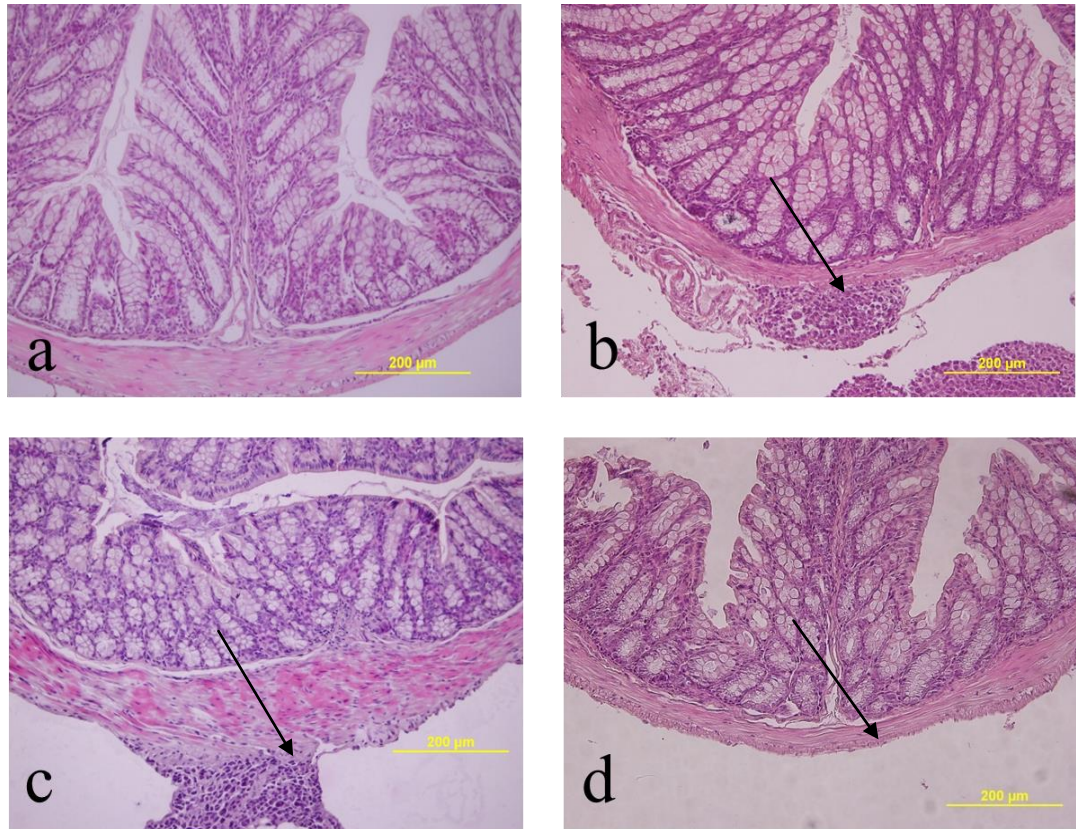
Şekil 4.11. İnce bağırsak dokusunun proksimal bölümüne ait sağlıklı kontrol (histolojik), tümör kontrol ve tedavi gruplarının (histopatolojik) bulguları. **a)** Sağlıklı deney grubu (H&E, 20X) **b)** Tümör hücresi verilen kontrol grubu (H&E, 20X) **c)** 200 mg/kg çemen uygulanan grup (H&E, 20X) **d)** 400 mg/kg çemen uygulanan grup (H&E, 20X). Siyah ok=İnce bağırsak dokusunda görülen EAT hücresini göstermektedir.



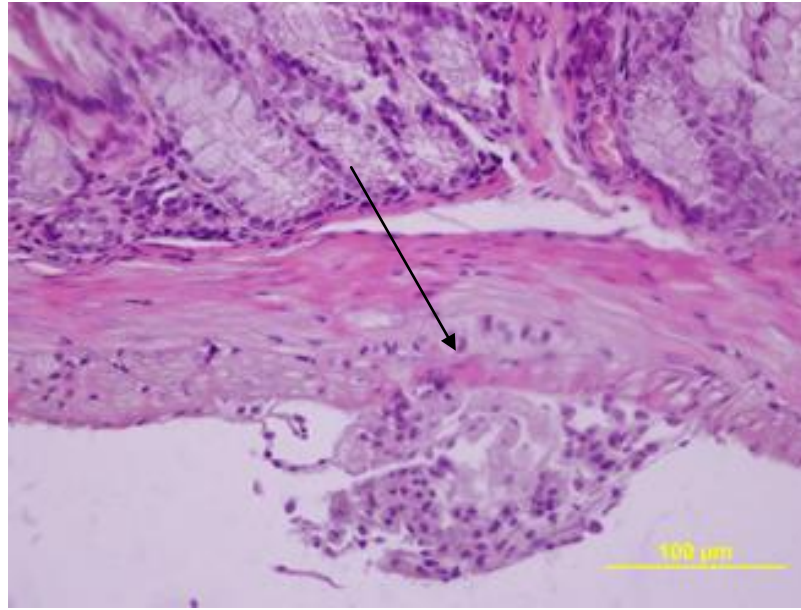
Şekil 4.12. Tümör kontrol grubunda ince bağırsak dokusunun tunica seroza tabakasında oluşan EAT hücrelerinin görüntüsü. (H&E 40X). Siyah ok=İnce bağırsak dokusunda görülen EAT hücresini göstermektedir.

4.2.4.5. Kalın Bağırsak Dokusuna Ait Histopatolojik Bulgular

Çalışmamızda histopatolojik değerlendirme için deney sonunda kalın bağırsağın proksimal, orta hat ve distal bölümlerinden dokular alındı (Şekil 4.13 ve Şekil 4.14). Sağlıklı kontrol grubunda kalın bağırsak dokusuna ait kesitler incelendiğinde normal histolojik bulgular vardı (Şekil 4.13a). Tümör hücresi verilen kontrol grubunda kalın bağırsak dokusunda tunika seroza tabakasına invaze olmuş değişik yoğunlukta tümör hücrelerinin varlığı saptandı (Şekil 4.13b). 200 mg/kg çemen uygulanan grupta, incelenen dokularda da EAT hücreleri kümelenmiş olarak seroz tabakaya invaze olmuş durumda iken (Şekil 4.13c), 400 mg/kg çemen uygulanan gruptan alınan dokularda ise 200 mg/kg çemen uygulanan gruba göre tunika seroza tabakasında daha az EAT hücrelerinin olduğu gözlemlendi (Şekil 4.13d).



Şekil 4.13 Kalın bağırsak dokusunun orta hattından alınan sağlıklı kontrol ve tedavi gruplarının histopatolojik bulguları. **a)**Sağlıklı kontrol grubu (H&E, 20X). **b)**Tümör kontrol grubu (H&E, 20X). **c)**200 mg/kg çemen uygulanan grup (H&E, 20X) **d)**400 mg/kg çemen uygulanan grup (H&E, 20X). Siyah ok=Kalın bağırsak dokusunda görülen EAT hücrelerini göstermektedir.



Şekil 4.14. Tümör kontrol grubunda kalın bağırsak dokusunun tunica seroza tabakasında oluşan EAT hücrelerinin görüntüsü. (H&E 40X). Siyah ok=Kalın bağırsak dokusunda görülen EAT hücresini göstermektedir.

4.3. In Vitro Bulgular

4.3.1. Hücre Kültürü Yapılan EAT Hücreleri Üzerinde Çemen Ekstraktının Etkisi

Çemen ekstraktının EAT hücreleri üzerindeki in vitro etkisi 3 saatlik ve 24 saatlik kültür sonuçları ile değerlendirildi. Hücre kültüründe, literatür tarama sonucunda çemen ekstre miktarı 250 µg/ml, 500 µg/ml ve 1000 µg/ml olarak belirlendi. EAT hücreleri üzerine eklenen çemen ekstresinin 3 ve 24 saatlik inkübatörde bekletilme süresi sonrasında hücre sayımı yapıldı. Pozitif kontrol grubunda 3 saatlik ve 24 saatlik hücre kültürü sonucunda, canlı ve ölü hücre sayısı sırası ile 5.3 ± 0.2 , 0.7 ± 0.1 ve 5.9 ± 0.2 , 5.3 ± 0.2 idi. 250 µg/ml çemen grubunda sırası ile 5.4 ± 0.2 , 0.7 ± 0.1 ve 5.7 ± 0.2 , 5.5 ± 0.1 idi. 500 µg/ml çemen grubunda sırası ile 5.3 ± 0.2 , 0.7 ± 0.1 ve 5.7 ± 0.2 , 5.5 ± 0.1 idi. 1000 µg/ml çemen grubunda sırası ile 5.2 ± 0.2 , 0.7 ± 0.1 ve 5.6 ± 0.2 , 5.7 ± 0.1 idi (Tablo 4.4).

Yapılan istatistik değerlendirme sonucunda 3 saat kültüre edilen gruplar arasındaki ölü hücreler ve canlı hücrelerin sayısal farklılıkları anlamlı değildi. 24 saat kültüre edilen gruplarda canlı hücre sayısında pozitif kontrol ile 250 µg/ml arasındaki fark ($p=0.013$), pozitif kontrol ile 500 µg/ml arasındaki fark ($p=0.029$), pozitif kontrol ile 1000 µg/ml arasındaki fark ($p=0.000$) anlamlı idi.

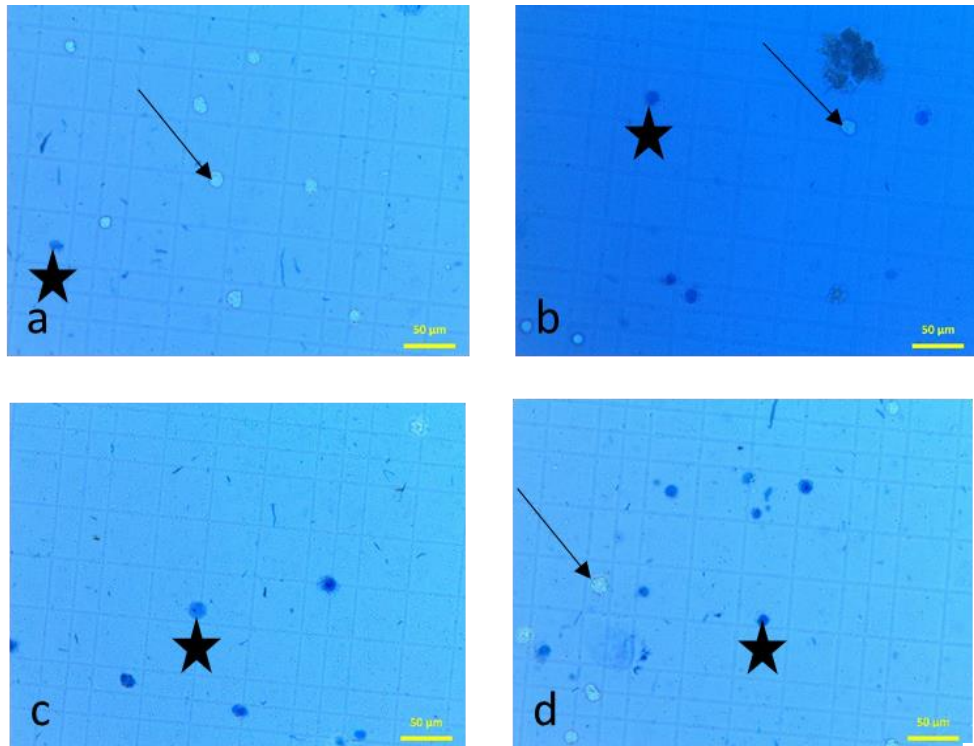
24 saat kültüre edilen gruplarda ölü hücre sayısında pozitif kontrol ile 250 µg/ml arasındaki fark ($p=0.024$), pozitif kontrol ile 500 µg/ml arasındaki fark ($p=0.000$),

pozitif kontrol ile 1000 µg/ml arasındaki fark ($p=0.000$), 250 µg/ml ile 500 µg/ml arasındaki fark ($p=0.033$) anlamlı idi.

Tablo 4.4. Üç saat ve yirmi dört saatlik hücre kültürü sonuçları
(İstatistiksel değerlendirmede verilerin logaritması alınmıştır)

Grup	Ortalama canlı hücre sayısı±sd (3 saatlik)	Ortalama ölü hücre sayısı±sd (3 saatlik)	Ortalama canlı hücre sayısı±sd (24 saatlik)	Ortalama ölü hücre sayısı±sd (24 saatlik)
Pozitif kontrol	5.3±0.2	0.7±0.1	5.9±0.2	5.3±0.2
EAT hücresi + 250 µg/ml	5.4±0.2	0.7±0.1	5.7±0.2	5.5±0.1
EAT hücresi + 500 µg/ml	5.3±0.2	0.7±0.1	5.7±0.2	5.7±0.1
EAT hücresi + 1000 µg/ml	5.2±0.2	0.7±0.1	5.6±0.1	5.7±0.2

Hücre kültüründe çoğalan EAT hücreleri 20x objektifte görüntülendi ve fotoğrafları çekildi (Şekil 4.15.). Elde edilen görüntülerde artan konsatrasyonlarda ölü hücrelerin arttığı gözlemlendi.



Şekil 4.15. In vitro deney gruplarında canlı ve ölü EAT hücrelerinin thoma lamı üz görüntüleri. Ok=Canlı EAT Hücreleri, yıldız=Ölü EAT Hücreleri. **a)** Tümör grubu **b)** 250 µg/ml çemen grubu. **c)** 500 µg/ml çemen grubu. **d)** 1000 µg/m grubu. (20X)

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Kanser tedavisinde kemoterapi ile birlikte doğal diyet bileşikleri de kullanılmaktadır. Bu diyetler yaygın olarak flavonoid ve fenolik bileşikler içermektedir. İnsan diyetinin çok önemli bir parçasını oluşturan fenolik bileşikler antioksidan, antiinflamasyon ve antikanserojen özelliklere sahip olması nedeniyle ilgiyi üzerine çekmektedir. Birçok bitki türünün antikarsinojen etkilerinin olduğunu gösteren çalışmalar vardır. Bundan dolayı bu tür bitkilerin diyet katılması ile birlikte kanser oranının azalması arasında bir bağlantı olabileceği düşünülmektedir (111). Karışımında büyük oranda Çemen otu bulunmakla birlikte daha az oranlarda Kırmızıbiber, Sarımsak ve Kimyon, çok az miktarlarda ise Karabiber, Karanfil, Kişniş, Tarçın, Zencefil ve Yenibahar ihtiva eden Çemen, Kayseri ve yöresinde pastırma yapımında kullanılan bir karışım olmasının yanında halk arasında yaygın olarak tüketilen bir besindir.

Çemen karışımını oluşturan bitkilerle yapılan çalışmalarda bu bitkilerin antikanserojen etkiye sahip olduğu bildirilmektedir. Çemen otundan elde edilen ekstraktın kanser hücreleri üzerindeki etkileri in vitro olarak 10-1000 µg/ml arasında değişen oranlarda denenmiş 250 µg/ml ve üzerinde verilen ekstrakt oranında canlı hücre sayısında azalma olduğu bildirilmiştir (109). In vivo olarak yapılan diğer bir çalışmada ise intraperitoneal uygulamalarda 200 mg/kg çemen otu ekstraktının tümör hücreleri üzerinde %70 oranında hücre çoğalmasını engellediği görülmüştür (38). Thoennissen ve ark.'nın yapmış oldukları çalışmada in vitro olarak kırmızı biber'i etken maddesi olan kapsaisin'in doz miktarını 2×10^{-4} M olarak belirlerken, in vivo olarak yapmış oldukları çalışmada ise katı tümörün gelişimini inhibe eden doz miktarını 5 mg/kg/günlük olarak rapor etmişlerdir (112). Ban ve ark.'nın (60) yapmış oldukları çalışmada sarımsaktan elde edilen ekstraktın değişen dozlardaki (30 – 150 µg/ml) etkisi kolon kanseri üzerindeki etkisi araştırılmıştır. SW620 kolon kanseri üzerinde etkili dozun 105 µg/ml olduğu, HCT116 kolon kanseri üzerinde 130 µg/ml dozun etkili olduğu gösterilmiştir. Pradeep ve ark. (73) tarafından yapılan çalışmada farelerde karabiber'in B16F-10

melanom hücreleri ve indüklenen akciğer metastazı üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Çalışmalarında karabiber'in etken maddesi olan piperinin doz miktarı 10–100 µg/ml aralığında belirlenmiş olup, 100 µg/ml uygulanan dozda %100 oranında etki olduğu bildirilmiştir. Dwivedi ve ark. (76) farklı kanser hücre hatlarında 100µl/ml, 200µl/ml ve 300µl/ml dozlarında karanfil ekstresinin etkisine bakmışlar ve 24 saatlik hücre kültürü sonucunda 300µl/ml karanfil ekstresi verilen gruplarda maksimum 80% hücre ölümünün gözlemlendiği bildirilmiştir. Flores ve ark.'nın (113) yaptıkları çalışmada kişniş'in lenfoma hücreleri üzerindeki antitümöral etkisini rapor etmişlerdir. Kwon ve ark. (89) tarafından yapılan çalışmada tarçın ekstresinin B16F10 ve Clone M3 fare melanom hücreleri üzerindeki etkilerini hem gavaj yolu ile hem de tümör içine enjekte ederek araştırmışlar ve her iki uygulamada da tümör gelişimini engellediğini bildirmişlerdir. Karna ve ark. (93) zencefil ekstresinin etkisini prostat kanser hücrelerinde hem in vivo olarak hemde in vitro olarak araştırmışlardır. In vivo uygulamalarında tümör hacmini azalttığını, in vitro uygulamalarında ise yüksek konsantrasyonun (1000 µg/ml) daha kısa süreli hücre kültüründe etkili olurken, düşük konsantrasyonun (50 µg/ml) ise daha uzun süreli hücre kültüründe etkili olduğunu bildirmişlerdir. Jenny ve ark.'nın (114) yapmış oldukları çalışmada da T hücresi türevli lenfositik lösemi hücre hattı üzerinde içerisinde yenibahar ekstresinin de bulunduğu bitkisel karışımın etkisini 0.4 mg/ml, 1.0 mg/ml dozları ile değerlendirmişler ve yüksek konsantrasyonda etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Bu çalışmada çemenin farelerde oluşturulan EAT modeli üzerinde antitümöral etkisi araştırıldı. Çemen karışımının oranlarını literatür taraması ve piyasa araştırması sonucunda elde edilen miktarlara göre belirlendi (28, 29). Çalışmamızda kullanmış olduğumuz çemen, Çemen otu (%35), Kırmızıbiber (%5), Sarımsak (%5), Kimyon (%2), Karabiber (%0.5), Karanfil (%0.5), Kişniş (%0.5), Tarçın (%0.5), Zencefil (%0.5) ve Yenibahar (%0.5) baharatlarının karışımından oluşmaktaydı. In vitro ve in vivo deneylerde kullanılan dozlar ise yukarı verilen literatür bilgisi doğrultusunda belirlendi. Kaynaklarda kullanılan çemen otu ekstresi miktarlarını referans alarak 250, 500 ve 1000 µg/ml oranlarında çemen karışımından elde edilen ekstraktın EAT hücrelerinin kültür ortamına katılarak in vitro etkisini, 200 mg/kg ve 400 mg/kg çemen ekstraktı intraperitoneal verilerek sıvı tümör hücreleri üzerinde in vivo etkisi araştırıldı.

Bitkilerin ikincil metabolizma ürünleri olarak tanımlanan fenolik bileşikler bitkilerde en yaygın bulunan maddeler grubunu oluşturur. Meyveler, özellikle içerdikleri fenolik bileşiklerin antioksidatif ve antimikrobiyal etkilerine bağlı olarak sağlık üzerine olumlu etkilerinden dolayı fonksiyonel gıda olarak değerlendirilmektedir. Çemen karışımını oluşturan baharatların fenol içeriklerinin farklı oranlarda olduğu yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir. Omezzine ve ark.'nın yapmış oldukları çalışmada çemen otunun total fenolik madde içeriği 13.98 mg GAE/g (115); Vega-Gálvez ve ark.'nın (116) yapmış oldukları çalışmada kırmızıbiberin total fenolik madde içeriği 43.2 mg GAE/g; Chen ve ark.'nın (117) yapmış oldukları çalışmada sarımsağın total fenolik madde içeriği 21.27 - 33.96 mg GAE/g aralığında olduğu; Alinian ve ark.'nın (118) yapmış oldukları çalışmada kimyonun total fenolik madde içeriği 11.9 - 14.4 mg GAE/g; Ahmad ve ark.'nın (119) yapmış oldukları çalışmada kimyonun total fenolik madde içeriği 1.86 - 9.91 mg GAE/g aralığında olduğu; Adefegha ve ark.'nın (120) yapmış oldukları çalışmada karanfil'in total fenolik madde içeriği 0.88 mg GAE/g; Tang ve ark.'nın (11) yapmış oldukları çalışmada kişniş'in total fenolik madde içeriği 1.73 - 1.38 mg GAE/g aralığında olduğu; Krisnan ve ark.'nın (121) yapmış oldukları çalışmada tarçın'ın total fenolik madde içeriği 11.11 - 12.4 mg GAE/g aralığında olduğu; Simon-Brown ve ark.'nın (122) yapmış oldukları çalışmada zencefil'in total fenolik madde içeriği 7.74 mg GAE/g olduğunu bulmuşlardır. Çalışmamızda çemen karışımının total fenolik içeriği 51.832 ± 1.632 mg GAE/g olarak bulunmuş olup genel anlamda çemen karışımını oluşturan bitkilerin her birinin fenol içeriğinden daha fazla olduğu gözlenmiştir. Çemen karışımının yüksek fenol içeriği antioksidatif ve anti kanserojen etkisinin de daha fazla olma ihtimaline işaret edebilir.

Çemen otu geniş bir terapötik çeşitliliğe sahip olup farmakolojik çalışmalar bu bitkinden elde edilen ekstraktın antidiabetik, antihipertansif, kolesterol düşürücü ve antiinflamatuvar etkilerinin yanısıra (30, 36, 37) içeriğinde bulunan bileşenlerin antioksidan etkilerinin olduğunu da göstermiştir (23, 41). Alshatwi AA ve ark. (22) çalışmalarında MCF-7 hücreleri üzerinde çemen otu ekstresinin doza ve zamana bağlı olarak apopitozu artırdığını bildirmişlerdir. Amin ve ark. (23) tarafından yapılan çalışmada 200 mg/kg çemen otu tohumu ekstresinin meme kanserini indükleyen 7,12-dimethylbenz(a)anthracene indüklemesini inhibe ettiği, bir diğer çalışmada ise çemen otu tohumundan elde edilen çemen otu yağının kanser hücre hatlarında (HEp-2, MCF-7,

WISH) hücre canlılığı oranında azalmaya neden olduğunu bildirmişlerdir (109). Yapılan çalışmalarda T-cell lenfoma, B-cell lenfoma, Tiroid Papiller karsinom and insan meme kanseri (MCF7) hücreleri üzerinde çemen otu tohumu ekstresinin sitotoksik etkisinin olduğu belirtilmiş ve 300 µg/ml çemen otu tohumu ekstresinin normal hücrelere oranla kanser hücrelerinde anlamlı derecede yüksek apoptoza neden olduğu bildirilmiştir (123, 124). Sur ve ark. (38) EAT hücreleri üzerinde in vivo olarak çemen otu tohumu ekstresini tedavi gruplarında 100 mg/kg ve 200 mg/kg olarak denemişler ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında tümör hücrelerinin %70 oranında inhibe olduğunu bildirmişlerdir.

Çemen karışımında kullanılan bir diğer baharat kırmızıbiber'dir. Araştırmalar biber ekstresinin antikanserojen, antioksidan, antiinflamatuvar ve ülserle karşı etkili olduğu gösterilmiştir (25, 48, 125). Mori ve ark. (45) tarafından yapılan çalışmada kırmızı biber ekstresinin bileşenlerinden olan kapsaisin'in farklı prostat kanseri hücre hatları üzerinde etkisini araştırılmış ve doza bağlı olarak kapsaisin'in apoptoza neden olduğu, bir başka çalışmada ise kapsaisin'in in vitro olarak farklı meme kanseri hücreleri üzerinde %80 oranında apoptotik hücre artışına neden olduğu bildirilmiştir (112).

Sarımsak ile yapılan çalışmalarda antibiyotik etkisinin yanı sıra, hipoglisemik, antitümör, antioksidan ve antitrombotik özelliklerinin de olduğu bildirilmiştir (55). Sarımsak bileşenlerinde bulunan organosülfür bileşiklerin antikarsinogenik etkileri deney hayvanları üzerinde yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir (126). Yapılan çalışmalarda beslenmeye katılan sarımsak tozu, sarımsaktan elde edilen metanol ekstresinin, sarımsak yağının ve sarımsak ekstresinden elde edilen bileşenlerin kolon, meme bezi, özofagus, akciğer, deri ve mide kanseri türlerini inhibe ettiği ve bunlara karşı koruyucu etkisi olduğu bildirilmiştir (56, 58, 62). Schaffer ve ark. (127) iV-methyl-N-nitrosourea (aM NU) ile oluşturulan meme kanseri üzerinde sarımsak tozunun tümör oluşumunu geciktirdiği bildirilmiştir. Ban ve ark. (60) sarımsak ekstresinin kolon kanser hücreleri (HCT116) üzerinde ki etkilerini in vitro olarak değerlendirmişler ve 150 µg/ml konsantrasyon için apoptotik hücre sayısında %98 oranlarda artış olduğu bildirilmiştir.

Kimyon çemen karışımı bileşenlerinden antikanserojen ve antoksidan özeliğe sahip olan bitkilerden biridir. Yapılan çalışmalarda kimyonun diyetle katılması kansere karşı önleyici etki oluşturduğu gösterilmiştir (63, 16). Deney hayvanlarında 1,2-dimentihidrazin (DMH) tarafından uyarılan sıçan kolon kanseri oluşumunu engellediği,

histopatolojik çalışmalarda da kimyon ile tedavi edilen gruplarda kolonlarının submukoza tabakasında kontrol grubuna göre daha az invaze olmuş hücreler gözlemlendiği bildirilmiştir (27).

Karabiber bileşeninde bulunan piperin birçok kanser modeli üzerinde antikanserojen özelliği gösterilmiştir (70, 72, 74). Pradeep ve ark. (73) tarafından yapılan çalışmada farelerde B16F-10 melanom hücreleri üzerinde 100 µg/ml piperin uygulanan grupta %100 toksik etki gösterdiği ve önemli oranda metastazı azalttığı gözlemlenmiştir. Lai ve ark. (68) piperinin (0, 35, 70, 100, 140, and 280 µmol/L) 4T1 meme kanser hücreleri üzerinde artan konsantrasyonlarda hücre canlılığı oranının azaldığını, in vivo olarak 5 mg/kg piperin verilen grupta ise primer tümör büyümesinin bastırıldığını spontan metastazın etkili bir şekilde kontrol edildiğini göstermişlerdir.

Solunum ve sindirim hastalıklarını tedavi etmek için geleneksel tıpta kullanılan karanfil antikanserojen etkiye de sahiptir. Karanfil'in antikarsinogenez etkileri, tümör hücreleri üzerinde sitotoksik ve apoptozu indükleyici etkisi gösterilmiştir (80). Dwivedi ve ark. (76) karanfil'in HeLa (cervical cancer), MCF-7 ve MDA-MB-23 meme kanseri, DU-145 prostat kanseri ve TE-13 özafagus kanser hücre hatları üzerindeki antikanserojen etkilerini araştırmışlardır. 24 saatlik hücre kültürü sonucunda 300µl/ml karanfil ekstresi verilen gruplarda maksimum 80% hücre ölümünün gözlemlendiği bildirilmiştir.

Medikal bir bitki olan kişnişin yaprakları, kökleri ve tohumları halk arasında yaygın bir biçimde kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalarda in vitro olarak, L5178Y-R lenfoma hücreleri üzerinde kişniş ekstraktın antitümöral etkisini araştırmışlar ve su ekstresinde 31 mg/ml konsantrasyonunun, metanol ekstresinde ise 7-62 mg/ml konsantrasyonlarında hücre toksisitesi üzerinde etkisinin anlamlı olduğu bildirilmiştir (113, 128). Tang ve ark.'nın (11) yapmış olduğu çalışmada ise kişniş ekstresinin MCF-7 meme kanseri hücre hattı üzerinde yüksek antiproliferatif etki gösterdiği ve H₂O₂ tarafından indüklenen kanser hücrelerinin göçünü engellediği gösterilmiştir. Nithya ve ark. (129) H-29 kolon kanseri hücreleri üzerinde in vitro olarak kişniş ekstraktının (10 – 100 µg/ml) artan konsantrasyonlarda antioksidan ve antikanserojen etkilerini rapor etmiştir.

Yapılan çalışmalarda tarçın ekstresinin B16F10 ve Clone M3 fare melanom hücreleri üzerindeki vivo ve in vitro antitümör aktivitesi bildirilmiştir. İn vivo uygulamalarında tarçın gavaj yolu ve tümör içine enjekte yolu ile verilmiştir. Her iki uygulamada da

tarçın'ın tümör gelişimini, metastazı ve melanomların neo-vaskülarizasyon ilerlemesini önemli oranda inhibe ettiği bildirilmiştir (88, 89).

Liu ve ark.'nın (95) yapmış oldukları çalışmada zencefil ekstresinin (2.5 µg/ml) endometrial kanser hücreleri üzerinde hücre profilerasyonunu anlamlı olarak inhibe ettiğini göstermişlerdir. Ayrıca Karna ve ark. (93) zencefil ekstresinin etkisini prostat kanser hücrelerinde hem in vivo olarak hem de in vitro olarak araştırmışlardır. İn vivo sonuçlar tümör hacminde istatistiksel olarak anlamlı bir azalmanın olduğunu, 72 saatlik hücre kültürü sonucunda kanser hücrelerinin canlılık oranının zencefil ekstresinin artan konsantrasyona (1, 10, 100, 1000 µg/ml) bağlı olarak azalmaya neden olduğunu göstermişlerdir. Marzouk ve ark. (96) yapmış oldukları çalışmada yenibahar ekstresinin meme kanseri, kolon kanseri ve lenfoblastik lösemi hücreleri üzerinde artan konsantrasyonlarda antikanserojen etki gösterdiğini bildirilmiştir. Yapılan diğer çalışmalarda ise yenibahar ekstresinden elde edilen pedungulagin'in katı tümör hücreleri üzerinde sitotoksik etki gösterdiği, aynı zamanda T hücreli türevli lenfositik lösemi hücre hattında apoptozu uyardığı ve tedavi gruplarında (0.4 mg/ml; 1.0 mg/ml ekstre) hücre proliferasyonunda azalmaya neden olduğu gösterilmiştir (99, 114).

Yukarıda verilen literatür bilgisi çemen oluşumunda kullanılan bitki ekstrelerinin her birinin ayrı ayrı hem in vivo hem de in vitro olarak antikanserojen etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Bu bitkiler halk arasında genelde yiyecekler içerisinde baharat, çesni, koku verici ve iştah açıcı olarak kullanılırken, Kayseri ve İç Anadolu bölgesinde kullanılan çemen örneğinde olduğu gibi ya tek başına bir besin ya da pastırma gibi gıdaların etrafında bir koruyucu olarak kullanılmaktadır. Ayrıca bu baharatların geleneksel tıp alanında önemli yerinin olduğu ve ilaç olarak da kullanıldığı bilinmektedir.

Mevcut çalışmada çemen ekstresinin EAT hücreleri üzerindeki etkileri in vivo ve in vitro olarak araştırılmıştır. İn vivo sonuçlar intraperitoneal olarak verilen EAT hücrelerinin kontrol grubun hayvanlarda hızlı bir kilo artışına sebep olduğunu, günlük 200 ve 400 mg/kg çemen ekstresi verilen tedavi gruplarında ise kilo artışında bir gecikmenin olduğunu göstermiştir. Ayrıca deney sonunda deney hayvanlarından periton içerisindeki asit sıvı bir enjektörle çekilerek hücre sayımı yapılmış ve tedavi gruplarında canlı hücre sayısının azaldığı gözlenmiştir. Kilo artışının geç olması ve hücre sayısındaki azalma çemen ekstresinin tedavi gruplarında periton içine enjekte

edilen EAT hücrelerinin hızlı bir şekilde çoğalmasını engellemiş olabileceğini göstermektedir. Daha sonra kontrol ve tedavi grubundaki hayvanların karın içi organlarından alınan dokularda yapılan histopatolojik değerlendirmeler EAT hücrelerinin kontrol grubundan alınan dokulara daha yoğun bir şekilde tutunduğu, 400 mg/kg çemen ekstresi uyguladığımız tedavi grubunda daha belirgin bir şekilde olmak üzere tedavi gruplarında dokulara kanserli hücre tutunmasının daha az olduğu tespit edildi. In vitro bulgular ise in vivo bulguları destekler nitelikteydi. 3 ve 24 saatlik kültür sonucunda artan konsantrasyonlardaki (250, 500 ve 1000 µg/ml) çemen ekstratının EAT hücreleri üzerindeki canlılık oranını azalttığı belirlendi.

Sonuç olarak, bu çalışmadan elde edilen bulgular uygulanan konsantrasyondaki çemen ekstresinin EAT hücrelerinin çoğalmasını tamamen engellemediği ancak canlı hücre sayısında azalmaya neden olduğunu göstermiştir. Bu sonuçlar yukarıda verilen literatür bilgisi ile uygunluk göstermekte olup bu konuda yapılacak çalışmalara katkı sağlayacaktır. Diğer taraftan bölgesel olarak kullanılan bir besin olan çemenin kullanımının yaygınlaşmasının günümüzün en önemli sağlık sorunlardan biri olan kanser oluşumu ve gelişimini yavaşlatmada faydalı olabileceği kanaatindeyiz.

6.KAYNAKLAR

1. <http://aboutcancer.com/cancer.htm> (15.02.2016)
2. Agrawal SS, Saraswati S, Mathur R, Pandey M. Antitumor properties of Boswellic acid against Ehrlich ascites cells bearing mouse. Food and Chemical Toxicology 2011;49:1924–1934.
3. Topuz A. Aromataz inhibitörlerinden aromasin'in ehrlich ascites tumorü üzerine etkisi. İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Biyoloji Anabilim Dalı Genel Biyoloji Programı. Ocak 2009.
4. Sarı S. Farelerde Ehrlich Asit Solid tümör modelinde thymus sipyleus ve taurinin, böbrek MDA, Glutasyon, AOPP düzeylerine ve SOD aktivitesine etkileri. Gazi üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı. Ankara 2008.
5. Berrington D, Lall N. Anticancer Activity of Certain Herbs and Spices on the Cervical Epithelial Carcinoma (HeLa) Cell Line. Evid Based Complement Alternat Med. 2012;2012:564927.
6. Çevik Ö, Aydın U, Gürsoy M. Kanser tedavisinde lenfatik hedeflendirme. Hacettepe üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi 2012;32:67-90.
7. http://globocan.iarc.fr/Pages/burden_sel.aspx (15.02.2016)
8. Afacan ID. Ehrlich asit tümörü taşıyan balb/c ırkı farelerde *Plantago major* l. Ekstraktının antitümöral etkisinin invivo olarak araştırılması. Gaziantep Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü. Ocak 2006.
9. Yenidoğan G. Döteryumu azaltılmış suyun ehrlich ascites tümörü taşıyan balb/c türü farelerin karaciğer ve kan parametreleri üzerinde etkisinin incelenmesi. Marmara üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Biyokimya Anabilim Dalı. İstanbul 2010.

10. Zeybek Ü. Kanser Araştırmaları Ve Deneysel Modeller. Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Dergisi 2013;3:1–12.
11. Tang ELH, Rajarajeswaran J, Fung S. Y, Kanthimathi MS. Antioxidant activity of *Coriandrum sativum* and protection against: DNA damage and cancer cell migration. Complementary and Alternative Medicine 2013;13:347.
12. Zhu Y, Warin R. F, Soroka D. N, Chen H, Sang S. Metabolites of Ginger Component [6]-Shogaol Remain Bioactive in Cancer Cells and Have Low Toxicity in Normal Cells: Chemical Synthesis and Biological Evaluation 2013;8:1-13.
13. Işık M, Akçay F. Kanser Tedavisinde Tamamlayıcı ve Alternatif Tıp. Türkiye Klinikleri J Fam Med-Special Topics 2014;5:28–36.
14. Zaletok SP, Gulua L, Wicker L et al. Green tea, red wine and lemon extracts reduce experimental tumor growth and cancer drug toxicity. Exp Oncol 2015;37:262–71.
15. Chatterjee S, Kumar M, Kumar A. Chemomodulatory Effect of *Trigonella foenum graecum* (L.) Seed Extract on Two Stage Mouse Skin Carcinogenesis. Toxicol Int 2012;19:287–94
16. Gagandeep SD, Ester M, Rao AR, Raosaheb KK. Chemopreventive effects of *Cuminum cyminum* L. in chemically induced forestomach and uterine cervix tumors in murine model systems. Nutrit Cancer 2003;47:171–80.
17. Yavuz M, İlçe AÖ, Kaymakçı Ş, Bildik G, Dıramalı A. Meme kanserli hastaların tamamlayıcı ve alternatif tedavi yöntemlerini kullanma durumlarının incelenmesi. Türkiye Klinikleri J Med Sci 2007:680–686.
18. Uğurluer G, Karahan A, Edirne T, Şahin HA. Ayaktan kemoterapi ünitesinde tedavi alan hastaların tamamlayıcı ve alternatif tıp uygulamalarına başvurma sıklığı ve nedenleri. Van Tıp Dergisi 2007;14:68–73.
19. Kav S, Hanoğlu Z, Algier L. Türkiyede kanserli hastalarda tamamlayıcı ve Alternatif tedavi yöntemlerinin kullanımı: literatür taraması. UHOD. 2008;18:32–38.
20. Ernst E, Cassileth BR. The Prevalence of Complementary/Alternative Medicine in Cancer. Cancer 1998;83:777–782.

21. Molassiotis A, Fernandez-Ortega P, Pud D. et al. Use of complementary and alternative medicine in cancer patients: a European survey. *Annals of Oncology* 2005;16:655–663.
22. Alshatwi AA, Shafi G, Hasan TN, Syed NA, Khoja KK. Fenugreek induced apoptosis in breast cancer mcf-7 cells mediated independently by fas receptor change. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention* 2013;14:5783–5788.
23. Amin A, Alkaabi A, Al-Falasi S, Daoud S. Chemopreventive activities of *trigonella foenum graecum* (fenugreek) against breast cancer. *Cell Biology International* 2005;29:687–694.
24. Raju J, Jagan Patlolla MR, Swamy MV, Rao CV. Diosgenin, a Steroid Saponin of *Trigonella foenum graecum* (Fenugreek), Inhibits Azoxymethane-Induced Aberrant Crypt Foci Formation in F344 Rats and Induces Apoptosis in HT-29 Human Colon Cancer Cells. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2004;13:1392–1398.
25. Luo XJ, Peng J, Li YJ. Recent advances in the study on capsaicinoids and capsinoids. *European Journal of Pharmacology* 2011;650:1–7.
26. Capasso A. Antioxidant Action and Therapeutic Efficacy of *Allium sativum* L. *Molecules* 2013;18:690-700.
27. Johri RK. *Cuminum cyminum* and *Carum carvi*: An update. *Pharmacogn Rev.* 2011;5:63–72.
28. Doğruer Y, Nizamlioğlu M, Gürbüz Ü. Çeşitli Çemen Karışımlarının Pastırma Kalitesine Etkisi II: Mikrobiyolojik Nitelikler. *Journal of Veterinary and Animal Sciences.* 1998;22:221–229.
29. Nizamlioğlu M, Doğruer Y, Gürbüz Ü. Çeşitli Çemen Karışımlarının Pastırma Kalitesine Etkisi I: Kimyasal ve Duyusal Nitelikler. *Journal of Veterinary and Animal Sciences* 1998;22:299–308.
30. Chatterjee S, Goswami N, Bhatnagar P, Kumar M, Kumar A. Antimutagenic and chemopreventive potentialities of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) seed extract. *Oxid Antioxid Med Sci* 2013;2:45–53.
31. Basch E, Ulbricht C, Kuo G, Szapary P, Smith M. Therapeutic applications of fenugreek. *Altern Med Rev* 2003;8:20–7.
32. Gözde A. Streptozotocin ile diyabet oluşturulan sıçanlarda oksidatif stres, diyabet ve tnf-alfa düzeyi üzerine krom ve *trigonella foenum-graecum*'un

- (fenugreek) koruyucu etkileri. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı. Elazığ 2014.
33. Srinivasan K. Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*): A Review of Health Beneficial Physiological Effects. Food Reviews International 2006;22:203–224.
 34. Mutlu S. Farklı orjinli çemenlerin (*Trigonella foenum-graecum* L.) Bazı fenolojik, morfolojik ve verim özelliklerinin belirlenmesi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Samsun 2011.
 35. Işıklı ND, Karababa E. Rheological characterization of fenugreek paste (cemen). Journal of Food Engineering 2005;69:185–190.
 36. Bae MJ, Shin HS, Choi DW, Shon DH. Antiallergiceffectof *Trigonella foenum-graecum* L. extracts on allergic skin inflammation induced by trimellitic anhydride in BALB/cmice. Journal of Ethnopharmacology 2012;144:514–522.
 37. Sindhu G, Ratheesh M, Shyni GL, Nambisan B, Helen A. Anti-inflammatory and antioxidative effects of mucilage of *Trigonella foenum graecum* (Fenugreek) on adjuvant induced arthritic rats. International Immunopharmacology 2012;12:205–211.
 38. Sur P, Das M, Gomes A, Vedasiromoni JR, Sahu NP, Banerjee S, Sharma RM, Ganguly DK. *Trigonella foenum graecum* (fenugreek) seed extract as an antineoplastic agent. Phytother Res. 2001;15:257–269.
 39. Debranjana D, Tara S. A study of anti-inflammatory activity of alcoholic extract of seeds of *trigonella foenum graceum* (fenugreek) on wister strain rat. Int Journal Of Pharma Research And Development 2010;9:81–85.
 40. Rosin MR, Anwar WA, Ward AJ. Inflammation, Chromosomal Instability, and Cancer: The Schistosomiasis Model 1994;54:1929–1933.
 41. Acharya SN, Acharya K, Paul S, and Basu SK. Antioxidant and antileukemic properties of selected fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) genotypes grown in western Canada. Can. J. Plant Sci 2011;91:99–105.
 42. Silva LR, Azevedo J, Pereira MJ, Valentão P, Andrade PB. Chemical assessment and antioxidant capacity of pepper (*Capsicum annuum* L.) seeds. Food and Chemical Toxicology. 2013;53:240–248.
 43. Duman AD, Zorlugenç B, Evliya B. Kahramanmaraş'ta Kırmızı Biberin Önemi ve Sorunları. KSÜ Fen ve Mühendislik Dergisi 2002;5:111–117.

44. Srinivasan K. Biological Activities of Red Pepper (*Capsicum annuum L.*) and Its Pungent Principle Capsaicin: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2015;13:1–53.
45. Mori A, Lehmann S, O’Kelly J, et al. Capsaicin, a Component of Red Peppers, Inhibits the Growth of Androgen-Independent, p53 Mutant Prostate Cancer Cells. *Cancer Res* 2006;66:3222–3229.
46. Asnin L, Park SW. Isolation and Analysis of Bioactive Compounds in *Capsicum Peppers*. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 2015;55:254–289.
47. Mateos RM, Jiménez A, Román P. et al. Antioxidant Systems from Pepper (*Capsicum annuum L.*): Involvement in the Response to Temperature Changes in Ripe Fruits. *Int. J. Mol. Sci* 2013;14:9556–9580.
48. Maoka T, Mochida K, Kozuka M. et al. Cancer chemopreventive activity of carotenoids in the fruits of red paprika *Capsicum annuum L.* *Cancer Letters* 2001;172:103–109. Khana FA.,
49. Mahmooda T, Alia M, Saeedb A, Maalika A. Pharmacological importance of an ethnobotanical plant: *Capsicum annuum L.* *Nat Prod Res*. 2014;28:1267-74.
50. Akbay C, Boz İ, Yıldız G, Candemir S, Arpacı BB. Kahramanmaraş ve gaziantep illerinde kırmızıbiberin üretim yapısı ve kurutma yöntemleri. *KSU J. Nat. Sci* 2012;15:1–10.
51. Kim WR, Kim EO, Kang K et al. Antioxidant Activity of Phenolics in Leaves of Three Red Pepper (*Capsicum annuum L.*) Cultivars. *Agric. Food Chem* 2014;62:850 –859.
52. Hwang IG, Shin YJ, Lee S. et al. Effects of Different Cooking Methods on the Antioxidant Properties of Red Pepper (*Capsicum annuum L.*). *Prev Nutr Food* 2012;17:286–292.
53. Yalçın D. Kırmızı Pul Biber Üretiminde Kritik Kontrol Noktaları ve Tehlike Analizleri. *KSÜ Fen ve Mühendislik Dergisi* 2008;11:129–137.
54. Fallah-Rostami F, Tabari MA, Esfandiari B, Aghajanzadeh H, Behzadi MY. Immunomodulatory activity of aged garlic extract against implanted fibrosarcoma tumor in mice. *N Am J Med Sci* 2013;5(3):207–212.
55. Thomson M, Ali M. Garlic [*Allium sativum*]: A Review of its Potential Use as an Anti-Cancer Agent. *Current Cancer Drug Targets* 2003;3:67–81.

56. Shukla Y, Kalra N. Cancer chemoprevention with garlic and its constituents. *Cancer Lett* 2007;18:247:167–181.
57. Omar SH, Al-Wabel NA. Organosulfur compounds and possible mechanism of garlic in cancer. *Saudi Pharm J* 2010;18:51–58.
58. Yun HM, OB Jung, Park KR. et al. Potential therapeutic effects of functionally active compounds isolated from garlic. *Pharmacology & Therapeutics* 2013;1–13.
59. Oommen S, Anto RJ, Srinivas G, Karunakaran D. Allicin (from garlic) induces caspase-mediated apoptosis in cancer cells. *Eur J Pharmacol.* 2004;6:97–103.
60. Ban JO, Yuk DY, Woo KS. et al. Inhibition of cell growth and induction of apoptosis via inactivation of NF-kappaB by a sulfur compound isolated from garlic in human colon cancer cells. *J Pharmacol Sci.* 2007;104:374–383.
61. Lee YY. Induction of apoptosis by S-allylmercapto-L-cysteine, a biotransformed garlic derivative, on a human gastric cancer cell line. *International Journal of Molecular Medicine* 2008;21:765–770.
62. Schäfer G, Kaschula CH. The immunomodulation and anti-inflammatory effects of garlic organosulfur compounds in cancer chemoprevention. *Anticancer agents Med Chem* 2014;14:233-240.
63. Sowbhagya HB. Chemistry, Technology, and Nutraceutical Functions of Cumin (*cuminum cyminum L*): An Overview. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 2013;53:1–10.
64. Pajohi MR, Tajik H, Farshid AA, Hadian M. Synergistic antibacterial activity of the essential oil of *Cuminum cyminum L.* seed and nisin in a food model. *J Appl Microbiol.* 2011;110:943–951.
65. Rebey IB, Karoui IJ, Sellami IH. et al. Effect of drought on the biochemical composition and antioxidant activities of cumin (*Cuminum cyminum L.*) seeds. *Industrial Crops and Products* 2012;36:238–245.
66. Rebey IB, Zakhama N, Karoui IJ, Marzouk B. Polyphenol composition and antioxidant activity of cumin (*Cuminum cyminum L.*) seed extract under drought. *J Food Sci* 2012;77:734-739.
67. Pradeep C. R., Kuttan G. Effect of Piperine on the Inhibition of Nitric Oxide (NO) and TNF- α Production. *Immunopharmacology and immunotoxicology.* 2003;25:337–346.

68. Lai L, Fu Q, Liu Y et al. Piperine suppresses tumor growth and metastasis in vitro and in vivo in a 4T1 murine breast cancer model. *Acta Pharmacologica Sinica* 2012;33:523–530.
69. Ee GCL, Lim CM, Rahmani M, Shaari K, Bong CFJ. Pellitorine, a Potential Anti-Cancer Lead Compound against HL60 and MCT-7 Cell Lines and Microbial Transformation of Piperine from *Piper Nigrum*. *Molecules* 2010;15:2398–2404.
70. Ouyang D, Zeng L, Pan H et al. Piperine inhibits the proliferation of human prostate cancer cells via induction of cell cycle arrest and autophagy. *Food and Chemical Toxicology* 2013;60:424–430.
71. Li S, Lei Y, Jia Y, Li N, Wink M, Ma Y. Piperine, a piperidine alkaloid from *Piper nigrum* re-sensitizes P-gp, MRP1 and BCRP dependent multidrug resistant cancer cells. *Phytomedicine* 2011;19:83–87.
72. Do MT, Kim HG, Choi JH, Khanal T, Park BH, Tran TP, Jeong TC, Jeong HG. Antitumor efficacy of piperine in the treatment of human HER2-overexpressing breast cancer cells. *Food Chem.* 2013;141:2591–2599.
73. Pradeep CR, Kuttan G. Effect of piperine on the inhibition of lung metastasis induced B16F-10 melanoma cells in mice. *Clin Exp Metastasis* 2002;19:703–708.
74. Yaffe PB, Doucette DC, Walsh M, Hoskin DW. Piperine impairs cell cycle progression and causes reactive oxygen species-dependent apoptosis in rectal cancer cells. *Experimental and Molecular Pathology* 2013;94:109–114.
75. Arung ET, Matsubar E, Kusuma IW, Sukaton E, Shimizu K, Kondo R. Inhibitory components from the buds of clove (*Syzygium aromaticum*) on melanin formation in B16 melanoma cells. *Fitoterapia* 2011;82:198–202.
76. Dwivedi V, Shrivastava R, Hussain S, Ganguly C, Bharadwaj M. Comparative Anticancer Potential of Clove (*Syzygium aromaticum*) - an Indian Spice - Against Cancer Cell Lines of Various Anatomical Origin. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention* 2011;12:1989–1993.
77. Saleh A, Murugan K, Lakshimi G, Anandraj K. Xerophilic aflatoxigenic black tea fungi and their inhibition by *Elettaria cardamomum* and *Syzygium aromaticum* extracts. *Saudi Journal of Biological Sciences* 2011;18:387–394.

78. Banerjee S, Panda CK, Das S. Clove (*Syzygium aromaticum* L.), a potential chemopreventive agent for lung cancer. *Carcinogenesis* 2006;27:1645–1654.
79. Banerjee S, Das S. Anticarcinogenic effects of an aqueous infusion of cloves on skin carcinogenesis. *Asian Pac J Cancer Prev* 2005;6:304–308.
80. Chaieb K, Hajlaoui H, Zmantar T et al. The Chemical Composition and Biological Activity of Clove Essential Oil, *Eugenia caryophyllata* (*Syzygium aromaticum* L.): A Short Review. *Phytother. Res* 2007;21:501–506.
81. Anita Y, Radifar M, Kardono LB, Hanafi M, Istyastono EP. Structure-based design of eugenol analogs as potential estrogen receptor antagonists. *Bioinformation*. 2012;8:901–906.
82. Wangensteen H, Samuelsen AB, Malterud KE, Antioxidant activity in extracts from coriander. *Food Chemistry* 2004;88:293–297.
83. Nair V, Singh S, Gupta YK. Evaluation of disease modifying activity of *Coriandrum sativum* in experimental models. *Indian J Med Res* 2012;135:240–245.
84. Cioanca O, Hritcu L, Mihasan M, Hancianu M. Cognitive-enhancing and antioxidant activities of inhaled coriander volatile oil in amyloid β (1–42) rat model of Alzheimer's disease. *Physiology & Behavior* 2013;120:193–202.
85. Sreelatha S, Inbavalli R. Antioxidant, antihyperglycemic, and antihyperlipidemic effects of *Coriandrum sativum* leaf and stem in alloxan-induced diabetic rats. *J Food Sci* 2012;77:119–123.
86. Ranasinghe P, Pigera S, Premakumara GAS, Galappaththy P, Constantine GR, Katulanda P. Medicinal properties of ‘true’ cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*): a systematic review. *Complementary and Alternative Medicine* 2013;13:1–10.
87. Unlu M, Ergene E., Unlu GV, Zeytinoglu HS, VuralN. Composition, antimicrobial activity and in vitro cytotoxicity of essential oil from *Cinnamomum zeylanicum* Blume (*Lauraceae*). *Food and Chemical Toxicology* 2010;48:3274–3280.
88. Kwon H, Hwang J, So J et al. Cinnamon extract induces tumor cell death through inhibition of NF- κ B and AP1. *Cancer* 2010;10:1–10.

89. Kwon H, Jeon W, Hwang J et al. Cinnamon extract suppresses tumor progression by modulating angiogenesis and the effector function of CD8⁺ T cells. *Cancer Letters* 2009;278:174–182.
90. Moon EY, Lee MR, Wang AG et al. Delayed occurrence of H-ras12V-induced hepatocellular carcinoma with long-term treatment with cinnamaldehydes. *Eur J Pharmacol* 2006;530:270–275.
91. Qin B, Panickar KS, Anderson RA. Cinnamon: potential role in the prevention of insulin resistance, metabolic syndrome, and type 2 diabetes. *J Diabetes Sci Technol*. 2010;4:685–693.
92. Brahmabhatt M, Gundala SR, Asif G, Shamsi SA, Aneja R. Ginger phytochemicals exhibit synergy to inhibit prostate cancer cell proliferation. *Nutr Cancer*. 2013;65:263–272.
93. Karna P, Chagani S, Gundala SR et al. Benefits of whole ginger extract in prostate cancer. *British Journal of Nutrition* 2012;107:473–484.
94. Plengsuriyakarn T, Viyanant V, Eursitthichai V, Tesana S, Chaijaroenkul W, Itharat A, Na-Bangchang K. Cytotoxicity, toxicity, and anticancer activity of *Zingiber officinale* Roscoe against cholangiocarcinoma. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012;13:4597–4606.
95. Liu Y, Whelan RJ, Pattnaik BR. Terpenoids from *Zingiber officinale* (Ginger) Induce Apoptosis in Endometrial Cancer Cells through the Activation 2012;7:53-62.
96. Marzouk MSA, Moharrem FA, Mohamed MA et al. Anticancer and Antioxidant Tannins from *Pimenta dioica* Leaves. *Z. Naturforsch* 2007;62:526–536.
97. Jirovetz L, Buchbauer G, Stoilova I, Krastanov A, Stoyanova A, Schmidt E. Spice plants: Chemical composition and antioxidant properties of *Pimenta Lindl.* essential oils, part 2: *Pimenta racemosa* (Mill.) J.W. Moore leaf oil from Jamaica. *Ernährung/nutrition* 2007;2:55–62.
98. Alitonou GA, Noudogbessi JP, Sessou P et al. Chemical composition and biological activities of essential oils of *Pimenta racemosa* (Mill.) J. W. Moore. from Benin. 2012;2:1–12.
99. Rao PS, Navinchandra S, Jayaveera KN. An important spice, *Pimenta dioica* (Linn.) Merrill: A Review. *Pharmaceutical Journal* 2012;1:221–225.

100. Shamaladevi N, Lyn DA, Shaaban KA et al. Ericifolin: a novel antitumor compound from allspice that silences androgen receptor in prostate cancer. *Carcinogenesis* 2013;34:1822–1832.
101. Zhang L, Shamaladevi N, Jayaprakasha GK, Patil BS, Lokeshwar BL. Polyphenol-rich extract of *Pimenta dioica* berries (Allspice) kills breast cancer cells by autophagy and delays growth of triple negative breast cancer in athymic mice. 2015;6:16379–16395.
102. Çakmak A. Sature jahortensis l. özütünün Ehrlich Asit Tümörü oluşturulmuş swiss albino türü farelerde in vivo antitümöral etkisinin araştırılması. Gaziantep Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Biyoloji Bölümü. Gaziantep 2012.
103. Huff J. Absence of morphologic correlation between chemical toxicity and chemical carcinogenesis. *Environ Health Perspect* 1993;101:45–53.
104. Huff J, Cirvello J, Haseman J, Bucher J. Chemicals associated with site-specific neoplasia in 1394 long-term carcinogenesis experiments in laboratory rodents. *Environ Health Perspect* 1991;93:247–270.
105. Goodwin R, Giaccone G, Calvert H, Lobbezoo M, Eisenhauer EA. Targeted agents: how to select the winners in preclinical and early clinical studies? *Eur J Cancer* 2012;48:170–178.
106. Özaslan M, Karagöz ID, Kılıç IH, Güldür ME. Ehrlich ascites carcinoma. *African Journal of Biotechnology* 2011;10:2375–2378.
107. Kalish SV, Lyamina SV, Usanova EA, Manukhina EB, Larionov NP, Malyshev IY. Macrophages reprogrammed in vitro towards the m1 phenotype and activated with lps extend lifespan of mice with ehrlich ascites carcinoma. *Med Sci Monit Basic Res* 2015;16:226–234.
108. Ergül L. Ehrlich asit tümörlerinin sitogenetik açıdan incelenmesi. Gaziantep üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Gaziantep 2011.
109. Al-Oqail MM, Farshori NN, Al-Sheddi ES, Musarrat J, Al-Khedhairi AA, Siddiqui MA. In vitro cytotoxic activity of seed oil of fenugreek against various cancer cell lines. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2013;14:1829–1832.
110. Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventó'S RM. Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent. In *Methods in Enzymology*, Packer L (ed.), Academic Press, San Diego, CA, 1999;299:152–315.

111. Yang CS, Landau JM, Huang MT, Newmark HL. Inhibition of carcinogenesis by dietary polyphenolic compounds. *Annu Rev Nutr* 2001;21:381–406.
112. Thoennissen NH, O'Kelly J, Lu D et al. Capsaicin causes cell-cycle arrest and apoptosis in ER-positive and -negative breast cancer cells by modulating the EGFR/HER-2 pathway. *Oncogene* 2010;29:285–296.
113. Flores RG, Martínez HH, Guerra PT et al. Antitumor and immunomodulating potential of *Coriandrum sativum*, *Piper nigrum* and *Cinnamomum zeylanicum*. *Journal of Natural Products*. 2010;3:54–63.
114. Jenny M, Schwaiger W, Bernhard D, Wrulich OA, Cosaceanu D, Fuchs D, Ueberall F. Apoptosis induced by the Tibetan herbal remedy PADMA 28 in the T cell-derived lymphocytic leukaemia cell line CEM-C7H2. *J Carcinog*. 2005;2:1–15.
115. Omezzine F, Haouala R. Effect of *Trigonella foenum-graecum* L. Development stages on some phytochemicals content and allelopathic potential. *Scientia Horticulturae* 2013;160:335–344.
116. Vega-Gálvez A, Scala KD, Rodríguez K. Et al. Effect of air-drying temperature on physico-chemical properties, antioxidant capacity, colour and total phenolic content of red pepper (*Capsicum annuum*, L. var. Hungarian). *Food Chemistry* 2009;117:647–653.
117. Chen S, Shen X, Cheng S et al. Evaluation of Garlic Cultivars for Polyphenolic Content and Antioxidant Properties. 2013;11:1–12.
118. Aliniana S, Razmjooa J, Zeinalib H. Flavonoids, anthocynins, phenolics and essential oil produced incumin (*Cuminum cyminum* L.) accessions under different irrigationregimes. *Industrial Crops and Products*. 2016;81:49–55.
119. Ahmad N, Abbasi BH, Fazal H, Khan MA, Afridi MS. Effect of reverse photoperiod on in vitro regeneration and piperine production in *Piper nigrum* L. *CR Biol*. 2014;337:19–28.
120. Adefegha SA, Oboh G. Inhibition of key enzymes linked to type 2 diabetes and sodium nitroprusside-induced lipid peroxidation in rat pancreas by water extractable phytochemicals from some tropical spices. *Pharm Biol* 2012;50:857–865.

121. Krishnan KR, Sivarajan M, Babuskin S et al. Kinetic modeling of spice extraction from *S. aromaticum* and *C. cassia*. Journal of Food Engineering. 2013;117:326–332.
122. Simon-Brown K, Solval KM, Chotiko A et al. Microencapsulation of ginger (*Zingiber officinale*) extract by spray drying technology. LWT - Food Science and Technology 2016;70:19–125.
123. Alsemari A, Alkhodairy F, Aldakan A et al. The selective cytotoxic anti-cancer properties and proteomic analysis of *Trigonella Foenum-Graecum*. BMC Complement Altern Med 2014;29:14–114.
124. Khoja KK, Shaf G, Hasan TN et al. Fenugreek, a naturally occurring edible spice, kills MCF-7 human breast cancer cells via an apoptotic pathway. Asian Pac J Cancer Prev. 2011;12:3299–3304.
125. Asnin L, Park SW. Isolation and Analysis of Bioactive Compounds in *Capsicum Peppers*. Critical Reviews in Food Science and Nutrition 2015;55:254–289.
126. Herman-Antosiewicz A, Singh SV. Signal transduction pathways leading to cell cycle arrest and apoptosis induction in cancer cells by *Allium* vegetable-derived organosulfur compounds: a review. Mutat Res. 2004;555:121–131.
127. Schaffer EM, Liu JZ, Green J, Dangler CA, Milner JA. Garlic and associated allyl sulfur components inhibit N-methyl-N-nitrosourea induced rat mammary carcinogenesis. Cancer Lett. 1996;102:199–204.
128. Laribi B, Kouki K, M'Hamdi M, Bettaieb T. Coriander (*Coriandrum sativum* L.) and its bioactive constituents. Fitoterapia. 2015;103:9–26.
129. Nithya TG, Sumalatha D. Evaluation of *invitro* anti-oxidant and anticancer activity of *coriandrum sativum* against human colon cancer ht- 29 cell lines. Int J Pharm Pharm Sci 2014;6:421–424.

Conforti F, Statti GA., Menichini F. Chemical and biological variability of hot pepper fruits (*Capsicum annuum* var. *acuminatum* L.) in relation to maturity stage. Food Chemistry 2007;102:1096–1104.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Şerife ÇİNAR

Doğum Tarihi: 20 Temmuz 1985

Tel. ve Email: 0530922772, serifecinar@ymail.com

Öğrenim Durumu:

Derece	Bölüm/Program	Üniversite	Yıl
Lisans	Biyoloji	Erciyes Üniversitesi	2002-2007
Y. Lisans	Sağlık Bilimleri Enstitüsü / Anatomi Programı	Erciyes Üniversitesi	2007-2011
Doktora	Sağlık Bilimleri Enstitüsü / Anatomi Programı	Erciyes Üniversitesi	2012-2016

Yüksek Lisans Tez Başlığı ve Tez Danışman(lar)ı: Yetişkin Türk Bireylerde Yüzün Sefalometrik Ve Antropometrik Değerlerinin Belirlenmesi

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Harun ÜLGER

Doktora Tezi Başlığı ve Danışman(lar)ı: Çemen Ekstraktının Antitümöral Etkisinin Araştırılması

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Harun ÜLGER

Görevler:

Görev Unvanı	Görev Yeri	Yıl
Biyolog	Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı	2009-2013
Öğretim Görevlisi	Balıkesir Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu	2013-2015
Araştırma Görevlisi	KTO Karatay Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı	2015-Devam etmekte

ESERLER

A. Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler :

A1. Nisari M, Ertekin T, Özçelik O, Çınar S, Doğanay S, Acer N. Stereological Evaluation of The Volume and Volume Fraction of Newborns' Brain Compartment and Brain in Magnetic Resonance Images. Surg Radiol Anat, 2012;34(9):825-832.

A2. Ertekin T, Acer N, İçer S, Vurdem ÜE, **Çınar Ş**, Özçelik Ö. Volume estimation of the subcortical structures in Parkinson's disease using magnetic resonance imaging: A methodological study. Neurology Asia 2015;20(2):143 – 153

B. Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında (Proceedings) basılan bildiriler :

B1. Nisari M, Ulger H, Ertekin T, Ersoy A, **Çınar S**, Mortas T. The effect of Interleukin-12, as an antiangiogenic factor, on endothelial cells obtained from umbilical cord. XIIIth National Congress of Anatomy with International Participation, 28th October - 1st November, 2010, Kyrenia, Turkish Republic of Northern Cyprus.

B2. **Çınar S**, Ulger H, Baysal A, Ertaş ET, Nisari M, Uysal T. Determination of normal cephalometric values of adults Turkish society living in Anatolia. Joint Meeting of Anatomical Societies, 19–22 May 2011, Bursa, Turkey.

B3. Özçelik Ö, Acer N, Doğanay S, Ertekin T, **Çınar Ş**. Stereological Evaluation of The Volume of Newborns Brain in Magnetic Resonance Images. Asian and African Stereology Congress, J. Exp. Clin. Med., 2012;29:393, 6-8 November 2012, Samsun, Turkey

B4. Ertekin T., Acer N., Vurdem Ü. E., **Çınar Ş.**, Özçelik Ö. Volume Estimation of The Subcortical Structures in Parkinson's Disease Using Cavalieri Technique. Asian and African Stereology Congress, J. Exp. Clin. Med., 2012;29:398, 6-8 November 2012, Samsun, Turkey

C. Yazılan uluslararası kitaplar veya kitaplarda bölümler :

Bulunmamaktadır.

D. Ulusal hakemli dergilerde yayımlanan makaleler :

D1. Özçelik O, **Çınar S**, Sağiroğlu A, Aycan K, Çay M, Sabancıoğulları V, Koşar İ , Çimen M. Klival Kanalın Varyasyonları. Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi. 2012;21:195-199.

D2. **Çınar Ş**, Ertekin T, Nisari M, Sağiroğlu A, Aycan K. Akciğerlerde ilave lob ve ilave fissur varyasyonları: iki ayrı olgu sunumu. Erciyes Üniversitesi, Sağlık bilimleri dergisi. 21(3) 148-152, 2012.

D3. Özçelik O, Acer N, Doğanay S, Ertekin T, **Çınar S**. Estimation of Cerebral Surface Area of the Newborn Brain Using Stereological Methods. Erciyes Med J 2013; 35: 136-41.

E. Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler:

E1. Cınar S, Ertekin T, Nisari M, Ersoy A, Ayca K. The variation of the extra lobe and extra fissure in the lung: two cases report. XIIIth National Congress of Anatomy with International Participation, 28th October - 1st November, 2010, Kyrenia, Turkish Republic of Northern Cyprus.

E2. Ozcelik O, Cınar S, Eroy A, Ayca K, Cay M, Sabancıogulları V, Kosar MI, Cimen M, Klival Kanalin Varyasyonları. 13th Ulusal Anatomi Kongresi, Ekim 2010, Girne-Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti.

E3. Unur E., Ertekin T., Acer N., Cınar S., Özçelik O. Names Which Originate from Plants within Terminologia Anatomica. 14. Ulusal Anatomi Kongresi, Anatomy; International Journal of Experimental and Clinical Anatomy 2012;6:117, 28 Haziran-1 Temmuz 2012, Ankara

E4. Nisari M, Cınar S, Ertekin T, Ayca K, Unur E. Anthropometric measurements of infraorbitale foramen. 14th National Congress of Anatomy, 28 June-1 July 2012, Ankara, Turkey.

E5. Cınar S., Ertekin T., Nisari M., Özçelik O., Ülger H. Morphology and Morphometry of Supraorbital Foramen. 14. Ulusal Anatomi Kongresi, Anatomy; International Journal of Experimental and Clinical Anatomy 2012;6:148, 28 Haziran-1 Temmuz 2012, Ankara

E6. Nisari M, Ertekin T, Cınar Ş, Özçelik Ö, Öztürk Ö, Ülger H, Ayca K. Olgu sunumu: Foramen Transversarium Varyasyonu. 15. Ulusal Anatomi Kongresi, Bildiri Özetleri Kitabı, S102, 5-8 Eylül 2013, Samsun.

E7. Cınar Ş, Özçelik Ö, Yılmaz S, Öztürk Ö, Nisari M, Ertekin T, Unur E. Vaka Sunumu: Arteria Superior Cerebelli Dublikasyonu. 15. Ulusal Anatomi Kongresi, Bildiri Özetleri Kitabı, S160, 5-8 Eylül 2013, Samsun.

E8. Atay E, Cınar Ş, Özçelik Ö, Tokpınar A, Soysal H. Anket Çalışması: Tıp Fakültesi Dönem 1 Öğrencilerinin Sosyo-Demografik Özellikleri Ve Anatomi Eğitimi Hakkındaki Düşünceleri. Anatomi Günleri 2013, 18-20 Ocak, Kayseri-2013 (Poster Bildiri). P1

E9. Özçelik Ö, Cınar Ş, Atay E, Akargöl S, Unur E. Anket Çalışması: Tıp Fakültesi Dönem 2 Öğrencilerinin Sosyo-Demografik Özellikleri Ve Anatomi Eğitimi Hakkındaki Düşünceleri. Anatomi Günleri 2013, 18-20 Ocak, Kayseri-2013 (PosterBildiri). P2

E10. Çınar Ş, Özçelik Ö, Atay E, Arslan A, Aycan K. Anket Çalışması: Tıp Fakültesi Dönem 6 Öğrencilerinin Sosyo-Demografik Özellikleri Ve Anatomi Eğitimi Hakkındaki Düşünceleri. Anatomi Günleri 2013, 18-20 Ocak, Kayseri-2013 (Poster Bildiri). P5

E11. Çınar Ş, Tokpınar A, Özçelik Ö, Ertekin T, Nisari M. Morphometry of distal femur. 16. National Congress of Anatomy, International Journal of Experimental and Clinical Anatomy 2014;8:20, 11-14 September 2014, Malatya.

F. Diğer yayınlar:

Bulunmamaktadır

I. Katıldığı ulusal/uluslararası bilimsel toplantılar:

I11 10th Congress of European Association of Clinical Anatomy, September, 02–05, 2009, Istanbul – Turkey.

I2. 13. Ulusal Anatomi Kongresi, 28 Ekim- 1 Kasım 2010, Girne - Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti.

I3. 1.Tüba Kök Hücre Kursu, 5. Kök Hücre Sempozyumu, Haziran 2010, Ankara-Türkiye

I4. 11. Uluslararası Anatomi Kongresi, Mayıs 2011, Bursa-Türkiye

I5. 14. Ulusal Anatomi Kongresi, Haziran 2012, Ankara-Türkiye

I6. 44. Uluslararası Klinik ve Uygulama Anatomi Sempozyumu, Haziran 2012, Ankara-Türkiye

I7. 4th International Symposium of Clinical and Applied Anatomy (ISCAA), June 28 to 1 July 2012, Ankara –Turkey

I8. Anatomi Günleri 2013, 18-20 Ocak 2013, Kayseri-Türkiye

I9. 15. Ulusal Anatomi Kongresi. 5-8 Eylül 2013, Samsun – Türkiye

I10. 16. Ulusal Anatomi Kongresi, 11-14 Eylül 2014, Malatya-Türkiye

I11. Antropoloji, Radyoloji Ve Anatomi Kongresi, 12-13 Kasım 2015, Ankara-Türkiye

İ. Katıldığı Kurs ve Seminerler:

İ1. “DTI ile Beyin Parselasyon ve Traktografi Hazırlama” Kursu, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi ABD. 30 Ekim-1 Kasım 2013. Kayseri-Türkiye

İ2. “MriStudio ile Beyin Parselasyon Hazırlama” Kursu, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi ABD, 8-9 Mayıs 2014. Kayseri-Türkiye

J. Kongre, Sempozyum ve Panellerde aldığı görevler:

J1. 18-20 Ocak 2013 tarihleri arasında Kayseri’de düzenlenen ‘Anatomi Günleri 2013’ isimli kış toplantısının düzenleme kurulunda görev yapmıştır.