



**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DOKTORA
TEZİ**

**7,12-DİMETİLBENZANTRASEN İLE OLUŞTURULAN
DENEYSEL ORAL KANSER MODELİNDE HYPERİCUM
PERFORATUM EKSTRESİNİN ETKİLERİNİN
İNCELENMESİ**

DİLARA NUR ÖZTÜRK

AĞIZ, DİŞ VE ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

ARALIK 2019



**7,12-DİMETİLBENZANTRASEN İLE OLUŞTURULAN DENEYSEL ORAL
KANSER MODELİNDE HYPERİCUM PERFORATUM EKSTRESİNİN
ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

Dilara Nur ÖZTÜRK

**DOKTORA TEZİ
AĞIZ, DİŞ VE ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

ARALIK 2019

Dilara Nur ÖZTÜRK tarafından hazırlanan “7,12-DİMETİLBENZANTRASEN İLE OLUŞTURULAN DENEYSEL ORAL KANSER MODELİNDE HYPERİCUM PERFORATUM EKSTRESİNİN ETKİLERİNİN İNCELENMESİ” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ / ~~OY ÇOKLUĞU~~ ile Gazi Üniversitesi Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalında DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. İnci Rana KARACA
Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Başkan : Prof. Dr. Derviş YILMAZ
Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı, Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~

Üye : Prof. Dr. Hakan Alpay KARASU
Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı, Ankara Üniversitesi
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~

Üye : Prof. Dr. Aysel UĞUR
Temel Bilimler Anabilim Dalı, Tıbbi Mikrobiyoloji Bilim Dalı, Gazi Üniversitesi
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~

Üye : Doç. Dr. Süleyman BOZKAYA
Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Merve ÇAKIR
Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı, Okan Üniversitesi
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~

Tez Savunma Tarihi: 10/12/2019

Jüri üyeleri tarafından DOKTORA tezi olarak uygun görülmüş olan bu tez Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararı ile onaylanmıştır.

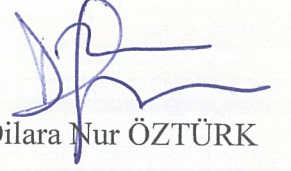
Prof. Dr. Mustafa ASLAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.



Dilara Nur ÖZTÜRK

10/12/2019

7,12-DİMETİLBENZANTRASEN İLE OLUŞTURULAN DENEYSEL ORAL KANSER
MODELİNDE HYPERİCUM PERFORATUM EKSTRESİNİN ETKİLERİNİN
İNCELENMESİ
(Doktora Tezi)

Dilara Nur ÖZTÜRK

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Aralık 2019

ÖZET

Ağız kanserleri oral kavitenin herhangi bir yerinde ortaya çıkabilen ve erken dönemde teşhis edilip tedavisine başlanmadıkça yüksek mortalite oranlarıyla seyreden kanserlerdir. Bu kanserlerin yaklaşık %90'ını oral skuamoz hücreli karsinomlar oluşturmaktadır. Günümüzde alternatif kanser tedavi araçları bulmak amacıyla pek çok çalışma yürütülmektedir. Özellikle gelişmekte olan ülkelerde çeşitli bitkiler, bitki ekstraktları ve bitkilerden elde edilen kimyasalların kemopreventif etkinliğini inceleyen pek çok araştırma yapılmaktadır. H. perforatum insan için pek çok yararlı etkiye sahip olduğu bilinen, geçmişten günümüze dünyada çeşitli yerlerde geleneksel tıpta kullanılagelmiş bir bitki türüdür. Bu çalışmanın amacı, 7,12-dimetilbenz(a)antrasen ile oluşturulan rat oral skuamoz hücreli karsinom modelinde H. perforatum ekstresinin kemopreventif etkinliğinin ve antioksidan savunma sistemleri üzerindeki etkilerinin incelenmesidir. Bu çalışmada, H. perforatum'un antioksidan etkinliği, radikal giderici aktivitesi ve fenolik madde içeriği in vitro olarak belirlenmiş ve çalışmanın in vivo kısmında kullanılmak üzere ekstre hazırlanmıştır. In vivo çalışma protokolünde 30 adet Wistar erkek rat kontrol grubunda 6 diğer gruplarda 8'er hayvan olacak şekilde rastgele 4 gruba ayrılmıştır (Grup 1: kontrol, Grup 2: DMBA grubu, Grup 3: HP+DMBA grubu, Grup 4: HP grubu). Uygulama yapılan dokulardaki ve kandaki antioksidan savunma mekanizmaları biyokimyasal ve immünohistokimyasal olarak, bağ dokudaki kanseröz değişiklikler immünohistokimyasal olarak, dokuda meydana gelen epitelyal değişikliklerin mevcudiyeti ve dereceleri ise histopatolojik olarak değerlendirilmiştir. Ekstrenin antioksidan savunma sistemi üzerinde özellikle kanserojenle birlikte uygulandığında bazı antioksidan enzimleri baskılayıcı etki gösterdiği görülmüştür. İmmünohistokimyasal incelemede bağ dokusuna kadar invaze olan lezyonların oluşmadığı değerlendirilmiştir. Histopatolojik inceleme sonuçlarına göre H. perforatum ekstresinin kanseröz değişiklikleri %100 önlemese de kemopreventif etki gösterdiği tespit edilmiştir. Bu bitkinin umut vadeden bir kemopreventif ajan olduğu ve bu çalışmanın sınırlılıklarının aşıldığı araştırmalar ve doz çalışmaları yapılarak ekstrenin tam potansiyelinin değerlendirildiği çalışmalara ihtiyaç olduğu sonucuna varılmıştır.

Bilim Kodu : 1003

Anahtar : Hypericum perforatum, antioksidan, ağız kanseri, oral skuamoz hücreli
Kelimeler karsinom

Sayfa Adedi : 88

Danışman : Prof. Dr. İnci Rana KARACA

EVALUATION OF THE EFFECTS OF HYPERICUM PERFORATUM EXTRACT ON
7,12-DIMETHYLBENZANTHRACENE-INDUCED EXPERIMENTAL ORAL CANCER
MODEL

(Ph. D. Thesis)

Dilara Nur ÖZTÜRK

GAZİ UNIVERSITY
INSTITUTE OF HEALTH SCIENCES

December 2019

ABSTRACT

Oral cancers may emerge from anywhere in the oral cavity and unless diagnosed at an early stage and treatment is initiated immediately they demonstrate high mortality rates. Nearly 90% of all oral cancers are oral squamous cell carcinomas. Today, there are many ongoing studies in order to find alternative curative agents against cancer. There are many studies investigating the chemopreventive properties of various plants, plant extracts and plant-derived chemicals, especially in developing countries. *H. perforatum* is known to have many beneficial properties for the organism and has been used for traditional medicine in various cultures. The purpose of this study was to investigate the chemopreventive properties of *H. perforatum* on 7,12-dimethylbenz(a)anthracene-induced rat oral squamous cell carcinoma model and the plant's effects on the antioxidant defence mechanisms. In the study, the in vitro antioxidant efficacy, radical scavenging activity and phenolic compound content of *H. perforatum* was determined and an extract was prepared to be used in the in vivo part of the study. In the in vivo study protocol, 30 Wistar male rats were divided randomly into 4 groups as 6 in the control and 8 in each of the other groups (Group 1: control, Group 2: DMBA group, Group 3: HP+DMBA group, Group 4: HP group). The antioxidant defence mechanisms in tissue and blood samples were evaluated biochemically and immunohistochemically, the cancerous changes in connective tissue were investigated immunohistochemically and epithelial changes in the tissue samples were evaluated histopathologically. The extract revealed an inhibitory effect on some antioxidant enzymes especially when it is applied together with the carcinogen. Immunohistochemical evaluations revealed no invasive changes in the connective tissue. According to the histopathological results, *H. perforatum* showed chemopreventive effects although it did not prevent carcinomatous changes in the epithelium to 100%. The results of this study shows that *H. perforatum* is a promising chemopreventive agent and further studies without the limitations of this one and dose determination studies may be able to evaluate the full potential of this plant.

Science Code :1003

Key Words : Hypericum perforatum, antioxidant, oral cancer, oral squamous cell carcinoma

Page Number : 88

Advisor : Prof. Dr. İnci Rana KARACA

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca desteğini esirgemeyen, tez çalışmam boyunca sabır ve hoşgörü ile bana yaklaşan, diğer akademik çalışmalarında bilgi ve tecrübelerinden faydalanmama müsaade eden değerli hocam ve doktora danışmanım Prof. Dr. İnci Rana KARACA'ya,

Tez çalışmamın yürütülmesi ve değerlendirilmesinde yardımcı olan değerli hocalarım Prof. Dr. Aysel UĞUR, Doç. Dr. Nurdan SARAÇ, Prof. Dr. Fevziye Figen KAYMAZ, Doç. Dr. Ayşegül FIRAT ve Prof. Dr. Hasan Serdar ÖZTÜRK'e,

Doktora hayatım boyunca klinik ve teorik anlamda öğrendiğim pek çok şeyi borçlu olduğum, hiçbir konudaki bilgi ve tecrübesini benden esirgemeyen, her daim manevi desteğini bana hissettiren Doç. Dr. Süleyman BOZKAYA'ya

Doktora eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan tüm bölüm hocalarıma,

Hayatım boyunca maddi manevi benden hiçbir desteğini esirgemeyen, her zaman kanatlarını üzerimde hissettiğim, bugün olduğum kişinin asıl mimarları olan sevgili annem Dr. Jale ÖZTÜRK, babam Prof. Dr. Hasan Serdar ÖZTÜRK, ağabeyim Dr. Fatih Alp ÖZTÜRK ve canımın yarısı Uzm. Dr. Tuğçe Asena ÇETİNER başta olmak üzere, parçası olmaktan büyük mutluluk ve gurur duyduğum, her zaman arkamda olduklarını hissettiğim büyük aileme,

Doktora hayatım boyunca destek ve sevgilerini her zaman hissettiğim tüm yakın dostlarıma ve başta Dt. Öykü ÖZTÜRK, Dr. Dt. Yeliz KILINÇ, Dr. Dt. Ezgi KARAÇELEBİ, Dr. Dt. Sharif RZAYEV, Uzm. Dt. Hamed DEVECİ, Dr. Dt. Semih AYRIKÇİL, Uzm. Dt. Hümeysra YAZAR, Dt. Ali GİZLİ, Dt. Ahmet CANPOLAT, Dt. Mert GÜNDÖĞDU, Dt. Halil Erhan ERSOY ve Dt. Afra Nur NAZLI olmak üzere tüm asistan arkadaşlarıma,

Yardımlarından ötürü tüm GÜDAM veteriner hekimleri ve çalışanlarına, bu çalışmaya 03/2017-15 kodu ve "Hypericum Perforatum Ekstraktının Antioksidan Özelliğinin Oral Kanserlerin Önlenmesi Üzerindeki Etkinliği" ismi ile maddi olarak destek veren Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xi
RESİMLERİN LİSTESİ	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiv
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Ağız Mukozası	5
2.1.1. Ağız mukozasının fonksiyonu.....	5
2.1.2. Sağlıklı ağız mukozasının histolojik katmanları	5
2.2. Kanser	6
2.2.1. Oral kanser tanımı ve oral kanserlerin insidansı	7
2.2.2. Oral kanserlerin risk faktörleri	7
2.2.3. Oral kanser tipleri.....	9
2.3. Ağız Mukozasının Prekanseroz Lezyonları	11
2.3.1. Ağız mukozasının prekanseröz lezyonların histolojik ilerleyişi/sınıflaması.....	11
2.4. Reaktif Oksijen Türleri ve Bunların Biyolojik Sistemler Üzerine Etkileri.....	14
2.5. Kimyasal Karsinogenler.....	16
2.6. Kanserin Önlenmesinde Kullanılan Bitkisel Kaynaklı Ürünler.....	17
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	21
3.1. Bitkinin Elde Edilmesi	21
3.2. Ekstraksiyon	21

Sayfa

3.3. Toplam Fenolik Madde Miktarının Belirlenmesi	22
3.4. DPPH Serbest Radikal Giderim Aktivitesinin Belirlenmesi.....	22
3.5. β -Linoleik Asit Metodu Kullanılarak Toplam Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi	23
3.6. Deney Grupları.....	23
3.6.1. Kullanılan malzemeler	24
3.6.2. Deneysel çalışma ve kontrol grupları.....	24
3.6.3. DMBA ve <i>H. perforatum</i> ekstresi uygulama protokolü.....	25
3.6.4. Sakrifikasyon	26
3.7. Histopatolojik Yöntem	26
3.8. İmmünohistokimyasal Yöntem	28
3.9. Biyokimyasal Yöntem.....	30
3.10. İstatistiksel Yöntem.....	31
4. BULGULAR.....	33
4.1. <i>H. perforatum</i> 'un In Vitro Antioksidan Aktivitesinin Ve Toplam Fenolik Madde Miktarının Belirlenmesi	33
4.1.1. DPPH serbest radikal giderim aktivitesinin belirlenmesi	33
4.1.2. Toplam antioksidan aktivitenin belirlenmesi	33
4.1.3. Toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi	34
4.2. Histopatolojik Bulgular	34
4.2. İmmünohistokimyasal Bulgular	40
4.4. Biyokimyasal Bulgular.....	52
4.4.1. Mukoza bulguları	52
4.4.2. Serum bulguları	53
5. TARTIŞMA	57
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	67
KAYNAKLAR	69

Sayfa

EKLER.....	81
EK-1: Etik kurul onayı.....	82
ÖZGEÇMİŞ.....	84



ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 3.1. Histopatolojik skrolama kriterleri.....	28
Çizelge 4.1. <i>H. perforatum</i> ekstresinin DPPH radikal giderim aktivitesi.....	33
Çizelge 4.2. <i>H. perforatum</i> ekstresinin toplam antioksidan aktivitesi.....	33
Çizelge 4.3. Çalışma gruplarındaki ratların yanak mukoza örneklerinde yapılan histopatolojik inceleme sonucunda belirlenen epitel değışiklik skorları	35
Çizelge 4.4. Çalışma gruplarındaki ratların yanak mukoza örneklerinde yapılan histopatolojik inceleme sonucunda belirlenen epitel değışiklik görölme sıklıkları istatistiksel analizi.....	40
Çizelge 4.5. Çalışma gruplarındaki ratların mukoza örneklerinden elde edilen histopatolojik skorların istatistiksel analizi.....	40
Çizelge 4.6. Çalışma gruplarındaki ratların yanak mukoza örneklerinde yapılan immünohistokimyasal inceleme sonucunda belirlenen antikor pozitivite skorları ve insidansları	41
Çizelge 4.7. Çalışma gruplarındaki ratların mukoza örneklerinden elde edilen immünohistokimyasal boyanma skorlarının istatistiksel analizi.....	51
Çizelge 4.8. Kontrol ve çalışma gruplarındaki ratların mukozalarında incelenen biyokimyasal parametrelerin istatistiksel analizi	53
Çizelge 4.9. Kontrol ve çalışma gruplarındaki ratların serumlarında incelenen biyokimyasal parametrelerin istatistiksel analizi	54
Çizelge 4.10. Kontrol ve çalışma gruplarındaki ratların karaciğer fonksiyon testleri ve böbrek fonksiyon testlerinden elde edilen verilerin istatistiksel analizi.....	55

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 4.1. Gallik asit standart grafiği	34



RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 2.1. Sarı kantaron bitkisi.....	18
Resim 3.1. 7,12-dimetilbenz(a)antrasen.....	24
Resim 3.2. (a) Uygulamalarda kullanılan sulu boya fırçası ve ekstrenin muhafaza edildiği Eppendorf tüpü, (b) Deney hayvanının ağzına fırça ile yapılan uygulama.....	26
Resim 3.3. Deney hayvanından çıkarılan yanak mukozası örneği	27
Resim 4.1. Kontrol grubuna ait hematoxilen - eozin x1000 büyütmede histolojik kesit	35
Resim 4.2. DMBA grubuna ait hematoxilen - eozin x400 büyütmede histolojik kesit	36
Resim 4.3. HP+DMBA grubuna ait hematoxilen-eozin x1000 büyütmede histolojik kesit	37
Resim 4.4. HP+DMBA grubuna ait hematoxilen-eozin x400 büyütmede histolojik kesit	38
Resim 4.5. HP grubuna ait hematoxilen - eozin x400 büyütmede histolojik kesit	39
Resim 4.6. HP grubuna ait hematoxilen - eozin x400 büyütmede histolojik kesit	39
Resim 4.7. Kontrol grubuna ait CAT antikoru ile immün işaretleme yapılmış immünoperoksidaz, hematoxilen x400 büyütmede histolojik kesitler.....	42
Resim 4.8. Kontrol grubuna ait SOD antikoru ile immün işaretleme yapılmış immünoperoksidaz, hematoxilen x400 büyütmede histolojik kesitler.....	42
Resim 4.9. Kontrol grubuna ait MMP antikoru ile immün işaretleme yapılmış immünoperoksidaz, hematoxilen x400 büyütmede histolojik kesitler.....	42
Resim 4.10. Kontrol grubuna ait VEGF antikoru ile immün işaretleme yapılmış immünoperoksidaz, hematoxilen x400 büyütmede histolojik kesitler	43
Resim 4.11. DMBA grubuna ait CAT antikoru ile immün işaretleme yapılmış immünoperoksidaz, hematoxilen x400 büyütmede histolojik kesitler	44
Resim 4.12. DMBA grubuna ait SOD antikoru ile immün işaretleme yapılmış immünoperoksidaz, hematoxilen x400 büyütmede histolojik kesitler	44
Resim 4.13. DMBA grubuna ait MMP antikoru ile immün işaretleme yapılmış immünoperoksidaz, hematoxilen x400 büyütmede histolojik kesit.....	45
Resim 4.14. DMBA grubuna ait VEGF antikoru ile immün işaretleme yapılmış immünoperoksidaz, hematoxilen x400 büyütmede histolojik kesitler	45

Resim	Sayfa
Resim 4.15. HP+DMBA grubuna ait CAT antikoru ile immün işaretleme yapılmış immünoperoksidaz, hematoksilen x400 büyütmede histolojik kesitler	46
Resim 4.16. HP+DMBA grubuna ait SOD antikoru ile immün işaretleme yapılmış immünoperoksidaz, hematoksilen x400 büyütmede histolojik kesitler	47
Resim 4.17. HP+DMBA grubuna ait MMP antikoru ile immün işaretleme yapılmış immünoperoksidaz, hematoksilen x400 büyütmede histolojik kesit	47
Resim 4.18. HP+DMBA grubuna ait VEGF antikoru ile immün işaretleme yapılmış immünoperoksidaz, hematoksilen x400 büyütmede histolojik kesitler	48
Resim 4.19. HP grubuna ait CAT antikoru ile immün işaretleme yapılmış immünoperoksidaz, hematoksilen x400 büyütmede histolojik kesitler	49
Resim 4.20. HP grubuna ait SOD antikoru ile immün işaretleme yapılmış immünoperoksidaz, hematoksilen x400 büyütmede histolojik kesitler	49
Resim 4.21. HP grubuna ait MMP antikoru ile immün işaretleme yapılmış immünoperoksidaz, hematoksilen x400 büyütmede histolojik kesitler	50
Resim 4.22. HP grubuna ait VEGF antikoru ile immün işaretleme yapılmış immünoperoksidaz, hematoksilen x400 büyütmede histolojik kesit	50

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklamalar
%	Yüzde
°C	Santigrat derece
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre
g	Gram
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
mg	Miligram
ml	Mililitre
Na ₂ CO ₃	Sodyum bikarbonat
nm	Nanometre
O ₂	Oksijen
O ₂ ⁻	Süperoksit anyonu
OH ⁻	Hidroksil iyonu
α	Alfa
β	Beta
κ	Kappa

Kısaltmalar	Açıklamalar
ALT	Alanin aminotransferaz
ANOVA	<i>Analysis of Variance</i> (Varyans analizi)
AST	Aspartat transaminaz
BUN	<i>Blood Urea Nitrogen</i> (Kan üre nitrojeni)
CAT	<i>Catalase</i> (Katalaz)

Kısaltmalar	Açıklamalar
DAB	3,3'-diaminobenzidin
DMBA	7,12-dimetilbenz(a)antrasen
DNA	Deoksiribonükleik asit
DPPH	1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
EBV	<i>Ebstein-Barr virus</i>
FCR	Folin & Ciocalteu reaktifi
FDA	<i>U.S. Food and Drug Administration</i> (Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi)
GAE	Gallik asit eşdeğeri
GSH	İndirgenmiş glutatyon
GSH-Px	Glutathione peroxidase (Glutatyon peroksidaz)
GSSG	Yükseltgenmiş glutatyon
GÜDAM	Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi
HIV	<i>Human immunodeficiency virus</i>
HP	<i>H. perforatum</i> 'un grup isimlerindeki kullanım şekli
HPV	<i>Human papilloma virus</i>
MDA	Malondialdehit
MMP	Matriks metalloproteinaz
NADP	Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat)
NADPH	İndirgenmiş NADP
NBT	Nitroblue tetrazolium
NF-κβ	Nükleer faktör-κβ
OSHK	Oral skuamoz hücreli karsinom
RNA	Ribonükleik asit
ROT	Reaktif oksijen türleri
SHK	Skuamoz hücreli karsinom
SOD	Süperoksit dismutaz

Kısaltmalar	Açıklamalar
SPSS	<i>Statistical Package for the Social Sciences</i>
TAS	Total antioxidant status (Total antioksidan durum)
TBA	Tiyobarbütirik asit
TBARS	TBA ile reaksiyona giren maddeler
TNF-α	Tümör nekrozis faktör- α
TOS	Total oxidant status (Total oksidan durum)
VEGF	Vascular endothelial growth factor (Vasküler endotelial büyüme faktörü)

1. GİRİŞ

Kanser, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından normal hücre boyutlarını aşacak şekilde büyüme gösterebilen anormal hücreler ile karakterize, vücutta komşu olduğu diğer bölgelere ilerleme veya organlara yayılma özelliğine sahip bir hastalık grubu olarak tanımlanmıştır [1]. 2025 yılına kadar her yıl yeni kanser teşhisi koyulan hasta sayısının 20 milyonun üzerine çıkacağı tahmin edilmektedir [2]. Kanserın dünya çapında kardiyovasküler hastalıklardan sonra en sık ölümle sonuçlanan hastalık olduğu bildirilmiştir [3].

Oral kanserler tüm kanser tipleri içinde dünya çapında en sık görülen 6. kanser tipidir. Oral kanser terimi, oral kaviteden orijin alan kanserlerin tamamını kapsamaktadır [3]. DSÖ'nün 2014 yılında yayınladığı Dünya Kanser Raporu'nda 2012 yılında dünya çapında 529 000 yeni oral kavite ve farinks kanseri vakası tespit edilmiş ve 292 000 kişinin oral kavite ve farinks kanseri nedeniyle öldüğü bildirilmiştir [2].

Oral skuamoz hücreli karsinomlar (OSHK) tüm oral kanser tipleri içinde %90 oranında görülmektedir; bu oran da tüm kanser tipleri içinde yaklaşık olarak %2-3'lük bir orana denk gelmektedir [4, 5]. OSHK oral mukozada çok katlı yassı epitel seviyesinde başlayan hücresel seviyedeki değişikliklerin daha derin tabakalara ilerleyerek oluşturduğu bir hastalıktır ve oral mukozada ortaya çıkan premalign lezyonlardan köken aldığı bilinmektedir [6]. Her premalign lezyon kansere dönüşmemektedir ve hangi lezyonun kansere dönüşme potansiyelinin daha yüksek olduğunu belirlemek için henüz bir yöntem bulunmamıştır, ancak oral kanserlerin erken teşhis ve tedavisinin, hastalığın prognozunu olumlu yönde etkilediği bilinmektedir [5]. Bununla birlikte pek çok vaka (%60-80) geç safhada tanı almakta, bu da %30-60 oranında hastaların 5 yıllık sağkalım oranlarını düşürmektedir. Günümüzde geç dönem teşhislerin ve düşük sağkalım oranlarının önüne geçebilmek için alternatif tedavi seçenekleri ve erken tanı yöntemleri için arayış sürmektedir [7].

Günümüzde, kanserin de aralarında bulunduğu pek çok patofizyolojik durumda serbest radikallerin ve reaktif oksijen türlerinin (ROT) rol oynadığı bir kısım araştırmacı tarafından dökümanite edilmiştir. Oksijenin redüksiyonu esnasında ortaya çıkan ara ürünlerin DNA (deoksiribonükleik asit), protein ve lipitler gibi hücresel komponentler

üzerinde zararlı etkileri olduğu bilinmektedir. ROT'nin zararlı etkileri enzimatik (süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, katalaz) ve non-enzimatik (C ve E vitaminleri, ürik asit, bilirubin, indirgenmiş glutatyon) antioksidanlar aracılığıyla dengelenmektedir. Antioksidan savunma mekanizmalarının bozulması hücre ve dokularda oksidatif hasara yol açmaktadır. Oksidan ve antioksidanlar arasındaki dengenin oksidanlar lehine bozulması ise karsinogenezin başlamasında rol oynamaktadır [8-10].

Kanser araştırmalarında sıklıkla kullanılan bir kimyasal olan 7,12-dimetilbenz(a)antrasen (DMBA), organ ve bölgeye özgü, potent bir karsinojen olup, bukkal mukozada OSHK oluşumunun indüklendiği çalışmalarda da yaygın olarak kullanılmaktadır [9]. Karsinojenik etkilerini DNA eklentileri oluşturarak, kronik inflamasyona neden olarak, ROT üretimini indükleyerek ve oksidatif DNA hasarına neden olarak gösteren bu kimyasal, OSHK dışında cilt ve meme dokularında kanser oluşturmak için de kullanılmaktadır [11, 12]. DMBA ile oluşturulan lezyonların morfolojik ve histolojik özellikleri, gösterdiği invaziv ve metastatik özellikler, DMBA'nın indüklediği biyokimyasal ve moleküler belirteçler (*marker*) ve oluşturduğu prekanseröz lezyonlar OSHK ile benzerlik göstermektedir [13]. Bu nedenle doğal ürünlerin kemopreventif potansiyelinin değerlendirildiği çalışmalarda sıklıkla kullanılan bir kanserojendir [9].

Son yıllarda antioksidan ajanlar gibi doğal ürünler ve ilaçlar dikkat çekmektedir ve özellikle gelişmekte olan ülkelerde sağlık problemlerine alternatif çözümler bulmak amacıyla çalışmalara konu olmaktadır [14]. Literatürde özellikle hamster bukkal kese karsinogenez modeli kullanılarak oral karsinogenezin önlenmesi üzerine üzüm çekirdeği ve elma ekstresi gibi bitki ekstraktlarından, 6-paradol bileşiği, yeşil çay polifenoller ve lupeol gibi çeşitli bitkilerden elde edilen bileşiklerden ve *Pleurotus ostreatus* mantarı ve safran gibi bitkilerden yararlanılan pek çok çalışma mevcuttur [9, 15-21].

Hypericum familyası ot ve çalı formunda 1000'den fazla türden oluşan bir bitki familyasıdır ve bu farklı türlerin çoğu dünyanın farklı yerlerinde geleneksel tıpta kullanılmaktadır [14]. Bu türler içerisinde *Hypericum perforatum* (*H. perforatum*); naftodiantronlar, floroglusinoller, flavonoidler, biflavonlar, fenilpropanlar, proantosiyanidinler, tanenler, ksantonlar, esansiyel yağlar ve aminoasitler gibi bileşenlerden oluşur. İçerdiği bu bileşenler sayesinde organizmada yara iyileştirici, antiinflamatuvar, antibakteriyel, antimikrobiyal, antiviral, antifungal, antiproliferatif,

antioksidan, antidepresan, antimalaryal, antineoplastik ve analjezik etkiler göstermektedir [22, 23].

Yapılan literatür taramasında *H. perforatum*'un antioksidan etkinliğinin *in vivo* olarak değerlendirildiği ve bu bitkinin oral kanser oluşumu üzerine etkilerinin araştırıldığı herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmanın amacı, DMBA ile oluşturulan rat OSHK modelinde *H. perforatum* ekstresinin antioksidan etkinliğinin ve ekstrenin bu hayvan modelindeki kanseröz değişiklikleri önleyebilirliğinin değerlendirilmesidir. Yapılan bu çalışmanın sonunda uygulama yapılan dokulardaki antioksidan savunma mekanizmaları biyokimyasal olarak, bağ dokuda kanseröz değişiklikler ve antioksidan savunma sistemi ile ilgili değişiklikler immünohistokimyasal olarak, dokuda meydana gelen epitelyal değişikliklerin mevcudiyeti ve dereceleri ise histopatolojik olarak değerlendirilmiştir. Bu bitkisel kaynaklı ekstrenin oral mukozada meydana gelen prekanseröz/kanseröz değişiklikleri önleme potansiyeli değerlendirilmiştir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Ağız Mukozası

Anatomik olarak oral kavite dudaklar, diş etleri, retromolar üçgen, sert damak, bukkal mukoza, dilin ön 2/3'lük kısmı ve ağız tabanından; orofarinks ise tonsiller, yumuşak damak, dilin 1/3 arka kısmı ve posterior farinks duvarından oluşmaktadır. Oral kavitenin tamamını döşeyen, çok katlı yassı epitelden oluşan doku ise ağız mukozası olarak adlandırılmaktadır. Her iki anatomik bölgede de çok katlı yassı epitel kesintisiz bir şekilde devamlılık göstermektedir. Bu sebeptir ki geçmişten günümüze bu iki bölge arasında net bir ayırım yapılmamıştır [24].

2.1.1. Ağız mukozasının fonksiyonu

Ağız mukozasının çeşitli fonksiyonları vardır. Çok katlı keratinize epitel yüzeyiyle fiziksel ve kimyasal travmalara karşı koruyucu görev yapar. Mikroorganizmaların ve toksik materyallerin geçişine karşı seçici geçirgen özellik gösterir, immünolojik komponentleriyle patojenik mikroorganizmaları ve yabancı antijenleri tespit eder ve yanıt verir. Bunların yanı sıra sıvı ve müsin sekresyonu ile ağız içindeki yüzeylerin kayganlaştırılması ve nemlendirilmesi görevini gerçekleştirir. Ağız içindeki genel ve özel hislerin algılanmasını sağlayan serbest ve enkapsüle sinir uçlarına ve tat tomurcuklarına ev sahipliği yapar [25].

2.1.2. Sağlıklı ağız mukozasının histolojik katmanları

Ağız mukozası vücudun diğer kısımlarındaki epitel ile bazı benzerlikler gösterir. Bu benzerliklerden biri epitelin hemen altında bulunan lamina propria tabakasıdır. Bu tabaka papiller tabaka ve derin retiküler tabaka tarafından oluşturulmaktadır. Papiller tabakada bağ dokusu epitelin içine doğru cep şeklinde girintiler yapar. Bu da, epitelin damar ve sinir uçları ile temas yüzeyini artırır. Retiküler tabakanın içinde bağ doku tarafından desteklenen derin damar pleksusları ve sinirler bulunmaktadır. Retiküler ve papiller tabakalar, lamina propriaya destek olur. Lamina proprianın altında ise submukoza yer alır [26].

Ağız mukozası 3 katmandan oluşur: yüzey epiteli, gevşek bağ dokusu katmanından oluşan destekleyici papiller tabaka ve yoğun, düzensiz bağ dokusundan oluşan retiküler tabaka. Ağız mukozasının daha da altında submukoza yer almaktadır ve bu tabaka da yoğun, düzensiz bağ dokusundan oluşmaktadır. Submukozada genellikle minör tükürük bezleri ve bazı alanlarda yağ dokusu bulunmaktadır. Ağız mukozasının lamina propria aracılığıyla direkt olarak kemik veya kasa bağlı olduğu bazı alanlarda submukoza dokusu bulunmayabilir [25].

Ağız mukozası çok katlı yassı epitelden oluşmaktadır ve bu yapı 3 farklı fonksiyon görecektir şekilde özelleşmiştir. Bunlardan biri yanaklar, dudaklar, yumuşak damak, dilin ventral yüzü ve ağız tabanını kaplayan, yumuşak ve katlanabilir yapıda olan örtücü mukozadır ve çok katlı yassı non-keratinize epitelden oluşmaktadır. İkincisi, sert damak, dişeti ve alveoler yapıların üzerini kaplayan, parakeratinize veya keratinize epitelden oluşan ve çiğneme esnasında yemekle direkt temas halinde olan mastikatör mukozadır. Mastikatör mukoza, içinde kan damarları, sinir uçları, seröz, müköz ve mikst bezlerin bulunduğu lamina dura ile ilişkili birkaç tabaka epitel hücre dizisinden oluşmaktadır. Sonuncusu ise dilin dorsal yüzeyini kaplayan özelleşmiş mukozadır ve bu mukoza da çiğneme esnasında fonksiyon görür [25, 26].

2.2. Kanser

Kanser, hücre DNA'sında meydana gelen mutasyonlar sonucunda ortaya çıkmaktadır. Bu mutasyonlar, aminoasit dizilerinde değişikliklere ve nihayetinde hücre içinde üretilen proteinlerin farklılaşmasına yol açmaktadır. DNA mutasyonları spontan olarak, özellikle oksidasyon ve serbest radikallerin neden olduğu kimyasal hasarla birlikte meydana gelmektedir ve çeşitli risk faktörlerinin bu tür mutasyonların oluşma ihtimalini önemli derecede arttırdığı bilinmektedir. Kanser oluşumunda, normal bir hücrenin malign hücreye dönüşmesi için devreye pek çok moleküler ve hücresel olayın girdiği bilinmektedir; ancak, bu etkenler arasında insan karsinogenezinde en önemli etkenlerden birinin oksidatif stres olduğu güçlü kanıtlarla ortaya konmuştur. Oksidatif stres, vücutta serbest radikal oluşumu ve buna karşı olan antioksidan savunma mekanizmaları arasında ortaya çıkan dengesizliklerden kaynaklanmaktadır. Vücutta ROT'nin artması aralarında kanserin de bulunduğu pek çok hastalığın ortaya çıkmasında rol oynamaktadır. [27]. ROT adı verilen hücre içinde oluşan bu oksijen ara ürünleri sadece DNA'ya saldırmakla kalmayıp lipid ve

protein gibi hücresel komponentlere de saldırmakta ve bunun sonucunda DNA bazlarıyla direkt olarak bağlanabilen reaktif türlerin ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Bu yollarla oluşan DNA hasarının yanlış veya eksik şekilde tamir edilmesi de mutasyon ve kanseröz transformasyonlara yol açabilmektedir [8].

2.2.1. Oral kanser tanımı ve oral kanserlerin insidansı

Baş ve boyun kanserleri, oral ve nazal kaviteler, farinks, larinks ve paranasal sinüsleri içeren bir terimdir; ancak bazı anatomik bölgelerin (dil kökü ve yumuşak damak gibi) oral kaviteye veya orofarinkse dâhil olması ile ilgili kesin bir ayrım olmadığı için oral kanser teriminin standart bir tanımı yoktur. Oral kaviteye genellikle dudağın mukozal kısmı, dilin ön 2/3'lük kısmı, ağız tabanı, dişeti, retromolar üçgen, bukkal mukoza ve sert damak dâhil edilmektedir [28]. Oral kanser, ağız boşluğundan köken alan tüm malignansileri içeren bir terimdir. Tüm kanser tipleri içinde dünya çapında altıncı sırada yer almaktadır [3]. Oral kavite ve farinks kanserlerinin sıklıkla gözlemlendiği dudak, oral kavite, nazofarinks ve farinks ayrı ayrı değerlendirildiğinde insidansları yüksek görülme de aynı başlık altında değerlendirildiğinde görülme insidansı olarak en sık görülen 7. kanser tipi ve ölüme en sık sebebiyet veren 9. kanser tipidir [2]. Oral kanserlerin %90'ını skuamoz hücreli karsinomlar (SHK) oluşturmaktadır ve bu hastalıktan dünya çapında her yıl yaklaşık olarak 300 000 kişi etkilenmektedir [28].

2.2.2. Oral kanserlerin risk faktörleri

Kanser için risk faktörlerini temel olarak eksojen faktörler oluşturmaktadır. Bunların arasında en önemlileri tütün ve alkol olmakla birlikte, betel, çeşitli kimyasallar, radyasyon (gün ışığı veya iyonize), bazı enfeksiyonlar (*human papilloma virus* (HPV)), beslenme veya immün yetmezlik de sayılmaktadır. Bu eksojen faktörlerin yanında bazı kanser türlerinin oluşmasında genetik ve çevresel faktörler de rol almaktadır [29].

Tütün ve tütün ürünleri

Tütün ürünlerinin karsinojen olduğu literatürde oldukça açık bir şekilde kanıtlanmıştır ve oral kanserlerin %25'inden fazlası tütün kullanımıyla ilişkilendirilmektedir. Tütün ürünlerinin kullanımının akciğer, oral kavite, nazal kavite, larinks, orofarinks, hipofarinks,

özofagus, mide, karaciğer, pankreas, mesane, üreter, böbrek, serviks kanserleri ve miyeloid lösemi ile bağlantılı olduğu düşünülmektedir. Sigara dumanında 60'tan fazla karsinogen bulunduğu, hatta yanmamış tütünde bile en az 16 adet karsinogen bulunduğu bildirilmiştir [30]. Tütün kullanımı esnasında tütün bitkisinin doğal kısımlarından tütüne-özü nitrozaminler ve çeşitli antioksidan enzimlerde değişiklikler meydana getiren serbest radikaller ortaya çıkmaktadır [29].

Alkol

Alkol kullanımı kanser oluşumu için majör risk faktörlerinden biri olarak tanımlanmıştır. Yapılan çalışmalarda sigara kullanımı ile beraber orta ilâ ağır seviyede alkol kullanımı hikâyesi olan kişilerde oral kanser oluşumu riskinin 3-9 kat daha fazla olduğu gösterilmiştir. Hatta sigara ve alkolün birlikte kullanılması sinerjistik etki gösterdiği için, ciddi sigara tiryakiliği ve alkol kullanımı hikâyesi olan bireylerde bu riskin 100 kattan daha fazla olduğu bildirilmiştir [31]. Alkol kullanımı ve oral kanser arasındaki ilişki tam olarak anlaşılamamış olsa da etanolün metabolize edilmesi esnasında ortaya çıkan yan ürünlerden biri olan asetaldehitin etkili olduğu düşünülmektedir. Alkollü içeceklerin içinde bulunan diğer kimyasalların da karsinogenik etkisi olabileceği düşünülmektedir [32].

Betel tütünü

Betel tütünü, genellikle areka cevizi, betel yaprakları ve kireç kaymağı karıştırılarak yapılır. Bu karışıma bazen bölgesel tercihler doğrultusunda tütün, baharatlar, tatlandırıcılar ve esanslar eklenebilmektedir [33]. Bu ürünün kullanımı genellikle prekanseröz bir lezyon olan oral submüköz fibrozisle ilişkilendirilmektedir [31].

Human papilloma virus

Viral HPV genotiplerinden en az 12 tanesinin (HPV16, 18, 31, 33...) servikal skuamöz hücreli karsinomların büyük çoğunluğu ile ilişkili olduğu kesin olarak biliniyorsa da, OSHK ve oral premalign lezyonlarla ilişkisi halen tartışmalıdır. Chaitanya ve ark. tarafından yapılan bir meta-analizde kanser grubu hastalarında HPV saptanma prevalansının kontrol grubu hastalara göre belirgin derecede fazla olduğu saptanmıştır [34,

35]. Oral ve orofaringeal skuamoz hücreli karsinomlarda özellikle HPV16 ve 18'e rastlandığı bildirilmektedir [33].

Beslenme

Beslenme bozuklukları ve/veya yetersizliklerinin oral kavite ve faringeal kanserlerin %11-15'inden sorumlu olduğu düşünülmektedir. Bazı çalışmalarda bu ilişkinin farinks kanserlerine nazaran oral kavite kanserleri üzerinde daha fazla etkisi olduğu bildirilmiştir [33, 36]. Sebze ve meyvelerden zengin diyetin oral kanser riskini azalttığı, hatta nişastalı kök bitkilerin, tahılların ve zeytinyağı tüketiminin koruyucu etkileri olduğu savunulmaktadır. Sebze ve meyvelerin oral kanseri önleyici etkilerinin içerdikleri vitamin ve antioksidan ajanlardan kaynaklandığı düşünülmektedir [32].

İmmünosupresyon

Kanser hastalarının çoğunda bir dereceye kadar immünosupresyon mevcuttur ve bu durum mevcut malignitenin kötüleşmesine neden olmaktadır. İmmünosupresyonun bazı hastalarda oral kanser riskini arttırdığı bildirilmektedir. Ancak, kanser hastalarında immün yetmezliğin malignitenin bir sonucu olarak mı ortaya çıktığı yoksa hastaların immün sistemi zaten bir şekilde baskılanmış olduğu için mi malignite oluştuğu halen tartışılmaktadır [3]. Literatürde bazı çalışmalarda HIV (*human immunodeficiency virus*) ile enfekte hastalarda Kaposi sarkomu ve lenfomaların görülme sıklığının arttığı bildirilmektedir. Organ transplantlı immünosuprese hastalarda da dudak kanseri insidansının arttığı gösterilmiş; ancak bu durumun güneşe maruz kalmakla veya tütün kullanımıyla da ilişkili olabileceği rapor edilmiştir [37]. Bu konuda farklı görüşler mevcut olmasına rağmen genel olarak, çeşitli kimyasallar ve ilaçlar veya bazı viral enfeksiyonlar (HIV, *Ebstein-Barr virus* (EBV)) nedeniyle ortaya çıkan immünosupresyonun oral kanser riskini arttırdığı düşünülmektedir [3].

2.2.3. Oral kanser tipleri

Oral kanserlerin %90'ından fazlası oral skuamoz hücreli karsinomlardır. Bunun dışında ağız içinde epitelden, bağ dokusundan, minör tükürük bezlerinden, lenfoid dokulardan, melanositlerden gelişen kanserler veya metastatik kanserler de görülebilmektedir [38].

Skvamoz hücreli karsinom

DSÖ'nün 2005 yılında baş ve boyun patolojileri ile ilgili yayınladığı rehberde SHK, özellikle 50-60'lı yaşlarda ortaya çıkan, alkol ve sigara kullanımı ile ilişkili, yaygın erken dönem lenf nodu metastazları görülen ve farklı derecelerde skuamoz değişikliklerin gözlendiği invaziv epitelyal neoplazmlar olarak tanımlanmıştır [39].

Oral kavite ve orofarinksteiki malign neoplazmların %90'ından daha fazlası SHK'lardır. Erkeklerde kadınlardan daha fazla görülmektedir ve bunun genellikle erkeklerin alkol ve sigara kullanım alışkanlığının daha fazla olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir [39].

Ağız içinde bukkal mukozada, serbest ve yapışık dişetinde, retromolar bölgede, sert ve yumuşak damakta, dilin ön 2/3'lük kısmının dorsal, lateral ve ventral yüzeylerinde ve ağız tabanında görülebilir. Ancak, özellikle ağız tabanı ve dilde (%50) daha çok ortaya çıkmaktadır. Dudak SHK'larının (%40) ise bazı coğrafik bölgelerde daha sık görüldüğü ve büyük çoğunluğunun alt dudakta (> %90) ortaya çıktığı bilinmektedir [3, 4, 39, 40].

Küçük boyuttaki SHK'lar genellikle asemptomatik olur veya hafif semptomlara eşlik eden minimal klinik bulgularla kendini gösterir. Bu yüzden, özellikle sigara ve alkol kullanma alışkanlığı olan riskli hasta gruplarında küçük lezyonların teşhis edilebilmesi için dikkatli muayene gerekmektedir. Klinik muayene esnasında kırmızı lezyonlar, kırmızı-beyaz mikst lezyonlar veya beyaz plaklar şeklinde tespit edilebilir [31, 39].

Pek çok hastaya lokal olarak ilerlemiş hastalık bulguları mevcutken tanı koyulmaktadır. Bu aşamada mukozal büyümeler, ülserasyonlar, ağrı, kulağa yansıyan ağrı, ağız kokusu, konuşmada zorluk, ağız açıklığında kısıtlılık, çiğneme problemleri, yutkunma esnasında ağrı ve zorlanma, parestezi, kanama, dişlerde mobilite, kilo kaybı ve boyunda şişlik gibi bulgular görülebilir. SHK'ların daha ileri evrelerinde ise ağız içinde ülseroproliferatif büyümeler, nekroz alanları ve kas, kemik ve cilt gibi çevre yapılara ilerleme görülmektedir. Terminal dönem hastalarda orokutanöz fistüller, durdurulamayan kanamalar, şiddetli anemi ve kaşeksi bulguları mevcuttur [4, 5, 39].

Günümüzde, oral kanserlerin erken teşhisi halk sağlığı açısından bir öncelik haline gelmiştir. Erken teşhis edilen kanserlerde uygulanan tedavilerin hastaya daha az zarar

verdiği ve prognozu iyileştirdiği bildirilmektedir. Pek çok hasta uzman doktorlardan ziyade öncelikle pratisyen hekimler veya diş hekimleri tarafından muayene edildiğinden bu meslek gruplarına erken teşhis ve detaylı muayene açısından büyük bir görev düşmektedir [3, 31].

2.3. Ağız Mukozasının Prekanseroz Lezyonları

Oral kavite ve orofarinkste görülen epitelyal kökenli lezyonlar, ortaya çıktıkları bölgeden bağımsız olarak, SHK'ya ilerleme potansiyeline sahiptir. Oral kavitede malign potansiyele sahip olduğu düşünülen ve en sık görülen lezyonlar lökoplaki ve eritroplakilerdir. Bununla birlikte, OSHK'ların yaklaşık olarak %50'sinin klinik olarak normal mukozadan köken aldığı bilinmektedir. Farklı lezyonların prognostik açıdan önemi henüz tam olarak bilinmemektedir ve bunu değerlendiren geniş çaplı prospektif çalışmalar henüz literatürde mevcut değildir. Bu nedenle, günümüzde oral kavitede malign potansiyele sahip lezyonların değerlendirilmesinde hematoksilen - eozinle boyanmış kesitlerde, genel olarak epitelyal displazi olarak adlandırılan yapısal ve hücrel değişikliklerin varlığının mikroskopik olarak incelenmesi altın standarttır [6].

2.3.1. Ağız mukozasının prekanseroz lezyonların histolojik ilerleyişi/sınıflaması

Malign potansiyeli olan oral lezyonların değerlendirilmesinde mikroskopik tanı ve hücrel atipinin derecelendirilmesi baz alınmaktadır. Literatürde derecelendirme ile ilgili farklı görüşler mevcuttur; ancak DSÖ'nün 2005 yılında yayınladığı sınıflamada hücrel ve yapısal değişikliklerin meydana geldiği derinlik baz alınarak daha objektif bir değerlendirme yöntemi tavsiye edilmiştir. Buna göre oral epitelyal değişikliklerin farklı dereceleri hiperplazi, hafif displazi, orta şiddette displazi, şiddetli displazi ve karsinoma in situ olarak belirlenmiştir. Buna göre malign potansiyeli olan oral lezyonların (genellikle lökoplaki) histolojik değerlendirmesi esnasında lezyonların yalnızca %50'sine yakın kısmında displazik değişiklikler görüldüğü, geri kalanlarda ağırlıklı olarak non-spesifik hiperplazi ve hiperkeratozların görüldüğü akıldan çıkarılmamalıdır [6].

Her ne kadar malign potansiyele sahip oral lezyonların ve epitelyal displazilerin kansere dönüşme ihtimalinin normal mukozaya göre daha fazla olduğu istatistiksel açıdan ortaya konmuş olsa da bununla ilgili esas mekanizmalar hali hazırda tam olarak anlaşılmış

değildir ve her displazik lezyon kansere dönüşmemektedir. Günümüzde hangi lezyonların malign dönüşüme uğrayıp uğramayacağını gösteren spesifik moleküler belirteçler bilinmemektedir ve bu konuda yapılmış uzun dönem prospektif çalışmalar mevcut değildir [41, 42]. Dolayısıyla, günümüzde oral lezyonların potansiyel ilerleyişi ile ilgili en güvenilir veri mevcut displazinin derecesidir. Şiddetli epitelyal displazilerde malign transformasyon görülme oranlarının %7-50 arasında değişkenlik gösterdiği, ancak bu oranın ortalama %16 civarında olduğu bildirilmektedir. Orta şiddette displazilerde malign transformasyon görülme oranı %3-15 arasında değişirken, hafif displazilerde bu oran %5'in altında olup düşük risk olarak değerlendirilmektedir [42].

Hiperkeratoz

Hiperkeratoz terimi, oral mukoza epitelinde mikroskopik düzeyde kalınlaşmış parakeratin ve/veya ortokeratin tabakasını tanımlar. Kalınlaşmış keratin tabakasından ötürü beyaz bir görünümü vardır; hatta bu nedenle oral mukozada görülen beyaz lezyonlar etiyolojilerine bakılmaksızın genellikle hiperkeratoz olarak değerlendirilir. Hiperkeratozun en önemli sebeplerinden biri kronik irritasyon veya sürtünmeye bağlı keratozdur. Bu tip lezyonlar takibi iyi yapılması gereken lezyonlardır [43].

Hiperplazi

Hiperplazi terimi artmış hücre sayısını tarif eder. Bu durum spinoz tabakada ve/veya bazal/parabazal hücre tabakasında ortaya çıkabilir. Bu aşamada epitelde yapısal açıdan bir bozukluk yoktur, stratifikasyon normaldir ve hücrel atipi mevcut değildir [39].

Hafif displazi

Hafif displazide epitelin alt 1/3'lük kısmını aşmayacak şekilde bazal ve parabazal tabakalarda hücre proliferasyonu ve hiperplazi görülmektedir. Hücrel atipi genellikle hafif dereceli olup hücrelerde veya çekirdekte hafif pleomorfizmle karakterizedir. Mitozlar çok belirgin değildir ve mitozların görüldüğü durumlarda da bu, genellikle bazal seviyede yer alır ve normal görünümlüdür [6].

Orta şiddette displazi

Orta şiddette displazide epitelin orta 1/3'lük kısmına uzanan atipik hücre proliferasyonu mevcuttur. Hücresel değişiklikler hafif displaziye göre daha şiddetlidir, hiperkromatizm ve belirgin hücre ve çekirdek pleomorfizmi izlenebilir. Artmış ve anormal mitozlar görülebilir; ancak, bunlar genellikle bazal seviyededir [6].

Şiddetli displazi

Şiddetli displazide bazal tabakadan epitelin üst 1/3'lük kısmına uzanan, hatta epitelin tüm tabakalarını içerebilen anormal proliferasyon mevcuttur. Hücresel ve yapısal değişiklikler oldukça belirgindir. Hafif ve orta şiddetteki displazilerde görülen tüm değişiklikler burada da görülür. Bunlara ilave olarak sıklıkla belirgin ve çok sayıda çekirdekçiği olan anormal derecede büyük çekirdeğe sahip pleomorfik hücreler izlenebilir. Genellikle suprabazal seviyede belirgin mitozlar mevcuttur ve anormal tripolar veya yıldız şekilli hücreler görülebilir. Apoptotik hücreler de göze çarpabilir. Bu aşamada şiddetli yapısal değişiklikler mevcuttur ve sıklıkla stratifikasyon tamamen bozulmuştur, derin dokularda anormal keratinizasyon izlenir ve keratin incileri oluşmuş olabilir. Rete peg yapıları bozulmuştur, bulböz rete yapıları şiddetli displazinin belirgin özelliklerinden biri olarak kabul edilmektedir. Çevreye uzanan küçük dallar veya lateral uzantılar şeklinde anormal rete yapıları da görülebilir. Bu yapılar derin dokulara invazyonun erken belirtileridir. Bazı durumlarda şiddetli yapısal bozulmalarla birlikte belirgin akantoliz de görülebilir. Epitel kalınlaşması söz konusu olabilir, ancak bazı şiddetli displazi durumlarında epitelyal atrofi de görülebilmektedir. Bu durum genellikle ağız tabanı, dilin ventral yüzü veya yumuşak damakta ortaya çıkan eritroplaki şeklindeki lezyonlarda görülür. Epitelyal atrofisinin eşlik ettiği bu lezyonlarda stratifikasyon veya keratinizasyon gözlenmez ve atipik hücreler epitel yüzeyine kadar ulaşmıştır [6].

Karsinoma in situ

Epitelyal displazinin en şiddetli formudur ve tam kalınlıkta hücresel ve yapısal değişikliklerle karakterizedir. Oral kavitede bu tip değişiklikler nadirdir ve sıklıkla şiddetli atipi mevcudiyetinde bile epitel yüzeyinde bütünlüğü bozulmamış bir keratinize tabaka mevcuttur. Karsinoma in situ bir kısım araştırmacı tarafından bir premalign lezyon olarak

değerlendirilirken, bir başka grup araştırmacı tarafından henüz invazyona sebep olmamış malignte olarak değerlendirilmektedir [6].

2.4. Reaktif Oksijen Türleri ve Bunların Biyolojik Sistemler Üzerine Etkileri

Serbest radikaller yörüngelerinde eşleşmemiş elektronları bulunan, stabil olmayan, kısa ömürlü ve yüksek reaktiviteye sahip moleküllerdir. Genellikle en yakınında bulunan stabil bir molekülle reaksiyona girerek elektron alır. Bunun sonucunda stabilken elektronunu kaybeden molekülün kendisi bir serbest radikal halini alır ve bu döngünün bu şekilde devam etmesi hücre dinamiğini bozar. ROT'nin çoğu mitokondrideki elektron taşıma zincirinde ara ürün olarak ortaya çıkan moleküllerdir [8]. Burada taşıma komplekslerinden ayrılan elektronlar ortamda bulunan oksijenle reaksiyona girerek bir reaktif oksijen türü olan süperoksit anyonunu (O_2^-) oluşturmaktadır ve bu süperoksit anyonu başka bir reaktif oksijen türüne (H_2O_2 , OH^- ve organik peroksitler) dönüşebilmektedir. Fizyolojik koşullarda ROT'nin oluşumu ve eliminasyonu arasında bir denge mevcuttur; ancak, ROT üretiminde artış, antioksidan kapasitede azalma veya bu iki durumun bir arada meydana gelmesi halinde oksidatif stres oluşmaktadır [44, 45].

Oksijenin zararlı etkilerinin oksijenin serbest radikallerinin oluşmasına bağlı olarak ortaya çıkabileceğinden ilk defa 1954 yılında Gerschman ve ark. bahsetmiştir [46]. Günümüzde serbest radikallerin ve ROT'nin, aralarında kanserin de bulunduğu bazı patofizyolojik durumların oluşumundaki rolü pek çok araştırmacı tarafından dökümanite edilmiştir [47-50]. Oksijenin indirgenmesi esnasında ortaya çıkan ara ürünler DNA'ya ve lipitler, proteinler gibi hücresel komponentlere saldırmaktadır ve böylelikle DNA bazlarına bağlanabilen reaktif türler ortaya çıkmaktadır. Bunun sonucunda oluşan DNA hasarının eksik veya yanlış tamiri de mutageneze ve dolayısıyla kanseröz değişikliklere yol açmaktadır. ROT'nin zararlı etkileri non-enzimatik ve enzimatik antioksidanlarla dengelenmektedir. Ancak, antioksidan savunma sistemlerinin bozulduğu durumlarda sağlıklı hücre ve dokularda oksidatif hasar oluşmaktadır. Vücutta oksidan ve antioksidanlar arasındaki bu hassas dengenin bozulması karsinogeneze neden olabilmektedir [8, 45]. Hastalık ve serbest radikaller arasındaki ilişki Sies tarafından "oksidatif stres" adı altında açıklanmıştır. Sies oksidatif stresi oksidan ve antioksidanlar arasındaki dengenin oksidanlar lehine bozulması ve bu bozulmanın neden olduğu hasar olarak tanımlamıştır [51].

Kanser oluşumu tek bir hücre içinde meydana gelen birkaç olayın kümülatif etkisiyle ve 3 aşamada meydana gelmektedir. ROT bu aşamaların her birinde rol almaktadır. Oksidatif stresin karsinogenezin herhangi bir aşaması üzerine etkisi direkt olarak süreçte görev alan radikallerin tipi ve reaktivitesi ile ilişkilidir. Başlangıç aşamasında normal bir hücrede DNA mutasyonu meydana gelmekte ve mutasyona uğrayan DNA'nın duplikasyona uğramasıyla birlikte mutasyon kalıcı hale gelmektedir. Kanser bu başlangıç aşamasında ROT'nin etkisi kanserli dokularda oksidatif DNA modifikasyonlarının görülmesiyle desteklenmiştir. Sonraki aşamada başlangıç aşamasından geçmiş olan hücrelerde hücre proliferasyonunun gerçekleşmesi veya apoptozun önlenmesiyle birlikte mutasyona uğrayan hücrelerin çoğalması söz konusu olmaktadır. ROT bu aşamada hücre proliferasyonu veya ölümüyle ilgili mekanizmalara müdahil olarak ve hücre büyümesi ve onkogeneze ile ilişkili bazı transkripsiyon faktörlerinin aktivitesini regüle ederek mutasyona uğrayan hücrelerin sayısının artmasına neden olmaktadır. Bu aşamada düşük seviyede oksidatif stres hücre bölünmesini stimüle etmekte ve sonuçta tümöral büyümelere neden olmaktadır. Bu durum kanser gelişiminin bu aşamasında ROT oluşumunun, ROT-ilişkili tümör gelişmesinde etkili olan temel mekanizma olduğunu düşündürmektedir. Karsinogenezin son aşamasında ise tüm hücrelerde fazla miktarda ortaya çıkan ROT mutasyonlara, antiproteinazların inhibisyonuna, matriks metalloproteinazların (MMP) üretiminin artmasına ve lokal doku hasarına neden olmaktadır. Artmış sayıda oksidatif modifikasyona uğramış DNA bazlarının mevcudiyeti tamamen oluşmuş kanser içindeki tümöral hücrelerin metastatik potansiyelini artırır ve genetik instabiliteye neden olur. Bunların yanı sıra, ROT'nin kanser metastazlarında özellikle önemli olan anjiogenik cevabı tetiklediği rapor edilmiştir [8, 27].

ROT'nin zararlı etkilerine karşı vücudun antioksidan enzimler, besin kaynaklı ve endojen antioksidanlar, oksidatif hasara uğramış hücre bileşenlerinin (protein, lipid ve DNA gibi) tamiri gibi savunma mekanizmaları mevcuttur. Antioksidan enzimler, ROT'yi ve serbest radikal zincir reaksiyonları sonucu oluşan metabolik artıkları toksik olmayan ürünlere dönüştürebilmek için onlarla reaksiyona girmektedir. Besin kaynaklı antioksidanlar (E vitamini, flavonoidler...) ve endojen antioksidanlar (ürik asit) da serbest radikal zincir reaksiyonlarını sonlandırabilmektedirler [49, 50]. Antioksidan enzimlere örnek olarak süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve katalaz (CAT)'dan bahsedilebilir.

SOD enzimi süperoksit radikalinin O_2 'ye dönüştürülmesini sağlayan ve sonuçta süperoksit radikale göre daha az reaktivite gösteren H_2O_2 molekülünün oluşmasını sağlayan enzimdir. Süperoksit radikalının serbest radikal zincir reaksiyonlarının güçlü başlatıcılarından olduğu göz önünde bulundurulduğunda, SOD tarafından bu radikalın temizlenmesi vücudun oksidatif strese karşı oluşturduğu primer savunma mekanizmalarından biri olarak kabul edilir [50, 52]. SOD'nin farklı tipleri mevcuttur özellikle mitokondri yerleşimli olan SOD2'nin yerleşim yeri itibarıyla antioksidan savunma sisteminin ilk basamağında yer aldığı, antitümöral etkilerinin olduğu ve yüksek konsantrasyonlarda sentezlendiğinde tümör oluşumunu baskılayıcı etki gösterip insanlarda kanser büyümesinin önüne geçtiği bildirilmiştir [53-55].

GSH-Px hücre içinde mitokondri ve sitozolde bulunan ve peroksizomların dışında oluşan H_2O_2 'nin üretimini ortadan kaldırmakla görevli olan antioksidan enzimdir. H_2O_2 'yi parçalayarak hücreleri oksidatif hasara karşı korumaktadır ve antioksidan savunma sisteminin en önemli mekanizmalarından birini oluşturur [50, 52].

CAT ise hücre içinde esas olarak peroksizomlarda bulunan ve H_2O_2 'nin su ve oksijene parçalanmasını sağlayan antioksidan savunma sisteminin önemli parçalarından biridir. Bu enzim peroksizomların fazlaca bulunduğu karaciğer, böbrek gibi organlarda daha çok bulunmakta ve fonksiyon görmektedir [50, 52, 56].

2.5. Kimyasal Karsinojenler

Kanser oluşumunun temelini genetik hasar oluşturur. Genetik hasara neden olan karsinojenik faktörlerden biri de kimyasal karsinojenlerdir. Doğrudan ve dolaylı etki mekanizmaları ile çalışan çeşitli kimyasal karsinojenler mevcuttur. Bunlar arasından doğrudan etki gösteren karsinojenler metabolize edilmeden kanser oluşturabilmektedir. Bu gruptaki kimyasallar genellikle zayıf karsinojenlerdir. Dolaylı etki gösteren karsinojenler ise karsinojenik etki gösterebilmeleri için metabolize olması gereken kimyasallardır. Bunların arasında polisiklik ve heterosiklik hidrokarbonlar (benzo(a)piren, DMBA), aromatik aminler (2-naftilamin) gibi kimyasal bileşikler vardır. Hidrokarbonların çoğundaki aktif ürünlerin hücre içinde DNA, RNA (ribonokleik asit) ve protein yapılarına bağlandığı bilinmektedir [57].

DMBA güçlü bir prokarsinojen olup hayvan çalışmalarında sıklıkla kullanılan bir ajandır. Doğal ürün ve sentetik ajanların kemopreventif etkilerinin değerlendirildiği pek çok çalışmada bukkal mukoza, meme ve cilt kanseri modeli oluşturmada kullanılmıştır. DMBA, karsinogenez mekanizmasına kronik inflamasyon oluşturarak, fazla miktarda ROT açığa çıkmasına neden olarak, antioksidan savunma mekanizmalarına zarar vererek ve detoksifikasyon ajanları üzerinde etki göstererek katkıda bulunur [9, 12, 20, 58]. Detoksifikasyonda görevli faz 1 ve faz 2 enzimleri vardır. DMBA öncelikle faz 1 enzimleri tarafından metabolize edilir, böylelikle DNA ile kovalent bağlar oluşturabilen aktif metabolitler ortaya çıkar. Faz 2 enzimler ise ortaya çıkan bu reaktif metabolitlerin inaktif metabolitlere dönüşümünde görevlidir. DMBA'nın metabolize edilmesi esnasında fazla miktarda ROT açığa çıkmaktadır. Bu ROT lipid peroksidasyonuna neden olarak hücre içinde protein, lipid ve DNA hasarına neden olmaktadır [59].

2.6. Kanserın Önlennmesinde Kullanılan Bitkisel Kaynaklı Ürünler

Suresh ve ark. 2010 yılında zencefilin içinde bulunan 6-paradol bileşığının DMBA ile oluşturulan hamster bukkal kese karsinogenezi üzerindeki kemopreventif ve antioksidan etkinliğini değerlendirmek için bir çalışma yapmıştır. Çalışma sonucunda serbest radikal giderici özelliğı bulunan 6-paradol bileşığının oral karsinogenezi önleyici potansiyele sahip olduğı bulunmuştur [9]. Srinivasan ve ark.'nın 2008 yılında yaptıkları bir çalışmada 4-nitrokinolin-1-oksit ile kanser oluşturulan ratlarda yeşil çay polifenollerinin kemopreventif ve terapötik etkinliğini değerlendirilmiş ve çalışma sonucunda karsinogeneze katkıda bulunan enzimlerde azalma görülürken detoksifikasyona yardımcı enzimlerde artış gözlenmiştir [18]. Baskaran ve ark. 2018 yılında krizantem çiçeğinden elde edilen partenolit adlı kimyasalın DMBA uygulanan hamsterlar üzerindeki etkilerini değerlendirmişler ve partenolit tedavisinin güçlü antioksidan, antikanser ve apoptotik etkiler gösterdiğini bildirmişlerdir [60]. Yine 2018 yılında Vinoth ve ark.'ın vanilik asit ile yaptıkları oral kanser çalışmasında vanilik asidin kanserli hayvanların karaciğerinde faz 1 ve faz 2 enzim seviyelerini yükselttiğı bildirilmiştir [61]. Literatürde bunlar gibi pek çok kemoprevensiyon çalışmasına rastlamak mümkündür. Bu gibi antioksidan etkinliği yüksek olan bitkilerle yapılan çalışmaların sayısı gitgide artmakta ve umut vadecici sonuçlar elde edilmektedir [15-17]. Bu çalışmada kullanılan *H. perforatum* da pek çok yararlı özelliğı olduğı bilinen, bu alanda da pozitif etkiler göstereceğı düşünölen bir bitkidir.

2.6.1. *H. perforatum* (Sarı kantaron)

H. perforatum diğ er adıyla sarı kantaron, dünya üzerinde 400'den fazla türü olan *Hypericum* familyasına mensup bir bitkidir. Avrupa, Asya, Kuzey Afrika, Kuzey Amerika, Yeni Zelanda ve Avustralya gibi pek çok ülkede yetiştiğı bilinmektedir [23]. Çok yıllık otsu bir bitkidir, boyu ortalama 1 metreye kadar ulaşır. Bitkinin en tepesinde uzunca oval yaprakları ve sarı çiçekleri vardır (Resim 2.1.). Yapraklarında yağı içerikli ışık geçirgen benekler bulunur. Çiçekleri ezildiğinde kırmızı renkli sıvı açığa çıkarır [62, 63].



Resim 2.1. Sarı kantaron bitkisi

Son yıllarda *H. perforatum*'dan elde edilen ürünlerin kullanımında ciddi bir artış görülmekte olup dünya üzerinde medikal amaçlı en çok kullanılan bitkiler arasında yerini almıştır. Cilt yaraları, egzama, yanıklar, gastrointestinal sistem ile ilgili sorunlar ve psikolojik bozukluklarda geniş bir kullanım alanı bulmaktadır [22].

H. perforatum'un milattan önce 5. yüzyıldan beri yara iyileştirici olarak kullanılmakta olduğu bildirilmektedir. Geçmişten günümüze pek çok farklı kültürde, yara iyileştirici, di oretik, öksürük ilacı, ateş düşürücü, antiseptik, hemostatik, zehirli hayvan ısırık/sokmalarına karşı ilaç, ülser ilacı, gastrointestinal sistem hastalıklarına karşı ilaç ve histeri depresyon gibi psikolojik bozukluklara karşı ilaç olarak kullanılagelmiştir [22].

H. perforatum, son 30-40 yıl içinde farmasötik öneme sahip ilaç özelliği olan bitkiler listesine girmiş ve pek çok klinik ve laboratuvar çalışmaya konu olmuştur. Bu çalışmalarda bitkinin önemli fizyolojik, kimyasal, farmakolojik ve farmakokinetik özellikleri olduğu bildirilmiştir. Yapısında pek çok farklı kimyasal bulunmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda bitkinin antidepresan, antikanser, yara iyileştirici, antibakteriyel, antiinflamatuvar, antifungal, antimikobakteriyal ve antiviral özellikleri üzerinde yoğunlaşmıştır [22, 23, 62].

H. perforatum'un içeriğindeki kimyasallar ve özellikleri

H. perforatum bitkisinin oldukça kompleks bir yapısı vardır. Bu bitki üzerinde yapılan çalışmalarda, bitkinin hidroalkolik ekstrelerinin içeriğinde naftodiantronlar (hiperisinler, psödohiperisinler), biflavonlar, flavonoidler (kaempferol, luteolin, mirisetin, kuersetin, hiperin, rutin, kuersitrin, izokuersitrin), fenolik bileşikler (hiperforinler), fenilpropanlar (kumarik asit, kafeik asit, klorojenik asit, ferulik asit), esansiyel yağlar, proantosiyanidinler (tanenler), ksantonlar ve aminoasitler gibi aktif bileşenler bulunur [22, 63, 64]. *H. perforatum*'un; içeriğinde bulunan hiperforin, hiperisin, kuersetin ve klorojenik asit bileşenleri aracılığıyla antiproliferatif özellik gösterdiği ve bu etkinin bazı kanserli hücre dizileri üzerinde antiproliferatif ve sitotoksik etki oluşturduğu bildirilmiştir. Bitki içeriğindeki bu bileşiklerin meme kanseri, kolon kanseri, malign melanom, skuamoz hücreli karsinom, kronik miyeloid lösemi ve lenfoma hücre dizileri üzerinde proliferasyonu önleyici etki gösterdiği ve bu nedenle umut vadeden bir antikanser ajan olabileceği düşünülmektedir [65-68]. *H. perforatum*'un içeriğindeki bileşenler arasında en önemlileri hiperisin ve hiperforindir. Hiperforin sıklıkla bitkinin antidepresan özelliği ile ilişkilendirilen lipofilik bir bileşendir. Seratonerjik, noradrenerjik, dopaminerjik, kolinerjik ve opioid aktiviteye sahip olduğuna ve antibakteriyel etkisi olduğuna dair araştırmalar mevcuttur [22, 23]. Hiperforinin aynı zamanda kanserli hücre dizileri üzerinde sitotoksik etki gösterdiği düşünülmekte ve bu etki apoptoz mekanizmasıyla açıklanmaktadır [65]. Schempp ve ark. hiperforinin apoptozun erken evrelerini indüklediğini bildirmişlerdir [67]. Hiperisin güçlü floresan kırmızı bir pigment olup, tümör hücrelerinde apoptoza neden olduğu bilinmektedir [22, 23]. Hiperisinin de kanserli hücre dizileri üzerinde antiproliferatif etki gösterdiği ve bu etkinin de apoptoz aracılığıyla gerçekleştiği bildirilmiştir [65]. Hiperisinin hücre sinyalizasyonu üzerinde çok yönlü etkileri olduğu bilinmektedir. Tümör nekrozis faktör- α (TNF- α) aracılı nükleer faktör- $\kappa\beta$ (NF- $\kappa\beta$)

aktivasyonu yaptığı, epidermal büyüme faktör reseptörü olan tirozin kinazı, insülin reseptörlerini ve protein kinaz C'yi inhibe ettiği ve prostoglandin-E2 ve interlökin 6 sentezini azalttığı bildirilmiştir. Bu bahsedilen hücre sinyalizasyon mekanizmaları bitkinin antiinflamatuvar ve antitümöral etkinliği ile ilişkilidir [69]. Diğer bir bileşen olan flavonoidlerin antimikrobiyal, antiinflamatuvar, analjezik, antialerjik, sitotoksik ve antioksidan aktiviteye sahip olduğu bilinmektedir. Bitkinin yapısında bulunan proantosiyanidinlerin ise antioksidan, antiviral ve antimikrobiyal etkilere katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Bitkinin içeriğindeki esansiyel yağların ve flavonoidlerin de antifungal etkilerden sorumlu olduğu düşünülmektedir [22, 23].

H. perforatum'un antioksidan özelliği ve etki mekanizması

H. perforatum'un içeriğindeki kimyasallar nedeniyle pek çok yararlı etkiye sahip olduğu bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda *H. perforatum*'un antioksidan etkinliğinden sorumlu olan kimyasalların ağırlıklı olarak flavonoidler olduğu bildirilmiştir. Bu bileşiklerin şelasyon yapıcı, hidrojen verici ve singlet oksijeni söndürücü antioksidan özellikleri olduğu bilinmektedir. *H. perforatum*'un içeriğinde bulunup bu bitkinin antioksidan özelliğine esas katkıda bulunan flavonoidlerin kuersetin aglikon ve kuersetin glikozitleri (izokuersetin, rutin, kuersitrin,) olduğu bildirilmiştir [70].

H. perforatum'un güvenilirliği ve yan etkileri

H. perforatum ekstresi bitkinin sap, tohum, çiçek, yaprak gibi kısımları kullanılarak elde edilebilmektedir ve bitkinin farklı kısımlarından elde edilen bu ürünlerin pek çok kozmetik ve terapötik ürünün kompozisyonuna dâhil olduğu bildirilmiştir. Yapılan güvenlik analizinde *H. perforatum*'un çeşitli kısımlarından elde edilen ekstrelerin içinde bulunduğu kozmetik ve terapötik ürünlerin güvenli bulunduğu bildirilmiştir [71]. Bununla birlikte Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (*U.S. Food and Drug Administration* (FDA)) tüm bitkisel kaynaklı ürünlerin dikkatli kullanım gerektirdiği konusuna değinmektedir. Piyasadaki ilaçların sıkı incelemeye maruz kaldığını, yan etkilerinin ve ilaç etkileşimlerinin prospektüslerinde yazdığını ama bitkisel kaynaklı ürünlerin yan etkilerinin tam olarak bilinmediğini, dolayısıyla daha dikkatli kullanılması gerektiğini bildirmiştir [68, 72].

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmaya Gazi Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı'nın 09.05.2017 tarih ve 66332047-604.01.02- sayılı izni alınarak başlanmıştır (G.Ü.ET-17.033). Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir (03/2017-15).

Çalışmanın *in vitro* kısmı Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde ve Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda yapılmıştır. Çalışmanın *in vivo* deneysel kısmı Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi'nde (GÜDAM), histopatolojik ve immünohistokimyasal incelemeler Hacettepe Üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda, biyokimyasal incelemeler ise Ankara Üniversitesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'nda yapılmıştır.

3.1. Bitkinin Elde Edilmesi

Muğla Bölgesi'nde doğal olarak yayılış gösteren *H. perforatum* örneklerinin toprak üstü kısımları çiçeklenme döneminde toplanmış (Mayıs-Haziran 2017) ve oda sıcaklığında kurutulmuştur. Kurutma işlemi tamamlanınca toz haline getirilmiş ve daha sonra incelenmek üzere uygun koşullarda saklanmıştır.

3.2. Ekstraksiyon

Kurutulmuş ve toz haline getirilmiş bitki örnekleri (25 g) %99,9'luk etanol (Merck) (300 ml) ile Soxhlet aparatı kullanılarak ekstrakte edilmiştir. Son ekstre renksiz olana kadar (yaklaşık 3-4 saat) ekstraksiyon işlemine devam edilmiştir. Elde edilen ekstrelerin etanol içeriği evaporatörde uzaklaştırılmış ve kuru ekstreler kapaklı, koyu renkli cam şişelere alınarak +4°C'de saklanmıştır.

In vitro antioksidan aktivite testleri için ekstre dilüsyonları %99,9'luk etanol ile hazırlanmıştır. *In vivo* çalışma için önce 10 mg'lık *H. perforatum* ekstresi 1 ml etanolde (%99,9) çözülmüştür (10 mg/ml konsantrasyon). Daha sonra 1 ml gliserol eklenmiş ve etanol içeriği buharlaştırılarak uzaklaştırılmıştır. Bu şekilde gliserolde 10 mg/ml

konsantrasyonda *H. perforatum* ekstresi elde edilmiştir. Elde edilen ekstre solüsyonları steril opak şişelerde buzdolabında +4°C’de muhafaza edilmiştir.

3.3. Toplam Fenolik Madde Miktarının Belirlenmesi

Toplam fenolik madde konsantrasyonu Folin & Ciocalteu reaktifi (FCR) kullanılarak mg gallik asit eşdeğeri (GAE) olarak belirlenmiştir [73, 74]. Alkolik ekstrenin 1 mg/ml’lik dilüsyonundan 200’er µl alınmış ve üzerine 100’er µl FCR eklenip 3 dakika beklenmiştir. Sonra %5’lik Na₂CO₃’ten 2 ml eklenmiş ve 2 saat bekledikten sonra 760 nm’de absorbans ölçümü alınmıştır. Gallik asit standart grafiğinin denkleminde yararlanılarak ekstredeki toplam fenolik madde miktarı hesaplanmıştır.

Fenolik bileşik içeriği ekstrenin her mg’ında µg gallik asit eşdeğeri (µg GAE/mg ekstre) olarak belirlenmiştir. Bu değer, $y = 0,0094x + 0,0844$, $R_2 = 0,9642$ kalibrasyon eğrisini temel alan lineer denklem kullanılarak hesaplanmıştır. Tüm ölçümler 3 paralel yapılmıştır.

3.4. DPPH Serbest Radikal Giderim Aktivitesinin Belirlenmesi

Ekstrenin antioksidan aktivitesi stabil olan 1,1-difenil-2-pikril hidrazil (DPPH) serbest radikali ile reaksiyona girebilme yetisi temel alınarak belirlenmiştir [75]. Ekstrenin 50 µl’si (etanolda 10, 5, 1, 0,1 ve 0,01 mg/ml konsantrasyonda) etanoldeki 5 ml’lik DPPH solüsyonuna (%0,004) eklenmiştir. Tüm örnekler oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edildikten sonra 517 nm’de absorbanları ölçülmüştür. Tüm ölçümler 3 paralel yapılmıştır. DPPH serbest radikalının %50’sinin giderilmesi için gerekli olan örneğin konsantrasyonu (IC₅₀) belirlenmiştir. α-tokoferol ve askorbik asit pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Serbest radikal giderim aktivitesi aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$\% \text{ İnhibisyon} = (A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}} / A_{\text{kontrol}}) \times 100$$

A_{kontrol} : kontrol reaksiyonunun absorbansı,

$A_{\text{örnek}}$: test örneğinin absorbansı.

3.5. β -Linoleik Asit Metodu Kullanılarak Toplam Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi

Ekstrenin toplam antioksidan aktivitesi β -karoten-linoleik asit yöntemi kullanılarak belirlenmiştir [76]. 0,5 mg β -karoten 1 ml kloroform içerisinde çözülmüş ve 25 μ l linoleik asit ile 200 mg Tween 40 (polioksietilen sorbitan monopalmitat) ilave edilerek karıştırılmıştır. Ardından karışımdaki kloroform vakumlu evaporatör kullanılarak tamamen uzaklaştırılmış ve üzerine, 30 dakika boyunca oksijenlenmiş 100 ml distile su eklenerek kuvvetlice çalkalanmıştır. Bu reaksiyon karışımından tüplere 1600'er μ l aktarılmış ve ekstrenin seri dilüsyonlarından (10, 5 ve 1 mg/ml) 400'er μ l eklenmiştir. Kontrol olarak alkol, pozitif kontrol olarak α - tokoferol ve askorbik asit kullanılmıştır. 0. saat ölçümü ile birlikte saat başı 450 nm'de absorbans değerleri ölçülmüştür.

Bu süre içerisinde tüpler 50°C'de inkübasyona bırakılmış ve kontrolün absorbans değeri 0,1 OD civarına düştüğünde inkübasyon sonlandırılmıştır. β -karoten-linoleik asit yöntemine göre antioksidan aktivite aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır.

$$AA = [(R_{\text{kontrol}} - R_{\text{örnek}}) / R_{\text{kontrol}}] \times 100$$

AA: Antioksidan aktivite (%)

$$R = \ln(a/b)/t$$

ln: Doğal logaritma

t: Son ölçüm için geçen süre

a: 0. saatteki absorbans değeri

b: Son saatteki absorbans değeridir.

Tüm ölçümler 3 paralel yapılmıştır.

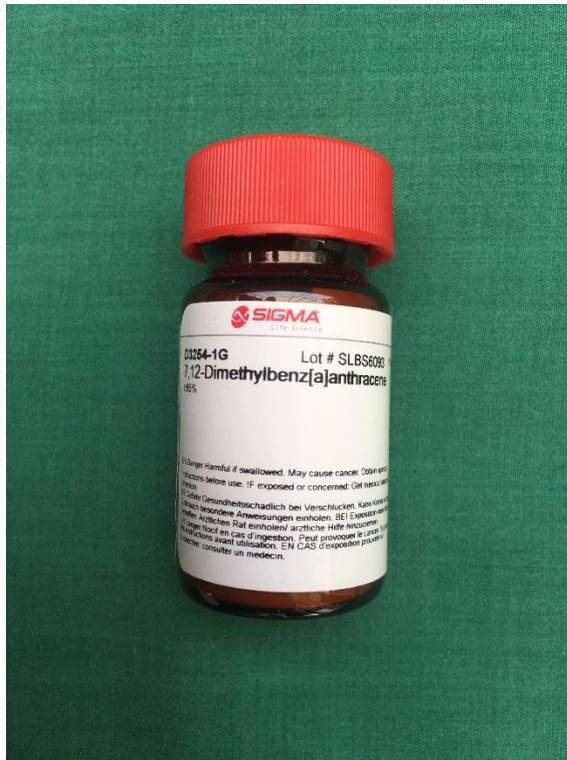
3.6. Deney Grupları

Çalışmada ortalama 250-300 gr ağırlığında, 2,5-3 aylık, 30 adet, *Wistar* cinsi erişkin, erkek rat kullanılmıştır. Deney hayvanları, GÜDAM'dan temin edilmiştir. Çalışma süresince bakımları GÜDAM'da yapılmıştır. Çalışma ortamına alışmaları açısından hayvanlar 1 hafta süreyle herhangi bir işleme tâbi tutulmadan bekletilmiştir. Bütün deney hayvanlarının bakımları aynı oda içerisinde, her kafese 3-4 adet rat yerleştirilerek yapılmıştır. Ratlar 12 saatlik aydınlık/karanlık döngüsü altında, 21-24°C'de, %30-40 nem oranına sahip

odalarda, standart polikarbonat kafeslerde muhafaza edilmiştir. Çalışma süresince ratlar, standart kuru pelet yem ve su ile beslenmiştir.

3.6.1. Kullanılan malzemeler

Bu çalışmada ağız içi patoloji oluşturma amacı ile DMBA (Sigma-Aldrich, Milwaukee, WI, USA) kullanılmıştır (Resim 3.1.). Daha önce yapılan benzer hayvan çalışmalarında kullanılan protokollere göre DMBA %0.5 oranında likit parafin ile seyreltilmiştir [77]. DMBA oda sıcaklığında, ışık görmeyen raflarda saklanmıştır.



Resim 3.1. Çalışmada kullanılan prokarsinojen ajan 7,12-dimetilbenz(a)antrasen

Deney hayvanlarında oluşturulan oral patolojilerin tedavisi amacıyla 10 mg/ml konsantrasyonda hazırlanmış *H. perforatum* ekstresi uygulanmıştır.

3.6.2. Deneysel çalışma ve kontrol grupları

Çalışmada denek olarak kullanılacak 30 adet *Wistar* rat dört gruba ayrılmıştır. Bunlardan birincisi kontrol grubu, diğerleri deney grupları olarak belirlenmiştir. Gruplar, kontrol

grubunda 6, deney gruplarında 8'er hayvan olacak şekilde ayrılmıştır. Deney süresi 16 hafta olarak belirlenmiştir.

1. grup (Kontrol grubu) (n=6): Bu gruptaki ratların sol yanak mukozasına 16 hafta boyunca haftada 3 kere birer gün arayla (pazartesi, çarşamba, cuma) yalnızca sıvı parafin uygulanmıştır.

2. grup (DMBA grubu) (n=8): Bu gruptaki ratların sol yanak mukozasına 16 hafta boyunca haftada 3 kere birer gün arayla (pazartesi, çarşamba, cuma) sıvı parafin içinde %0,5'lik konsantrasyonda çözündürülmüş DMBA uygulanmıştır.

3. grup (HP+DMBA grubu) (n=8): Bu gruptaki ratların sol yanak mukozasına 16 hafta boyunca haftada 3 kere birer gün arayla (pazartesi, çarşamba, cuma) sıvı parafin içinde %0,5'lik konsantrasyonda çözündürülmüş DMBA ve arada kalan günlerde (salı, perşembe) *H. perforatum* ekstresi uygulanmıştır.

4. grup (HP grubu) (n=8): Bu gruptaki ratların sol yanak mukozasına 16 hafta boyunca haftada 2 kere birer gün arayla (salı, perşembe) *H. perforatum* ekstresi uygulanmıştır.

3.6.3. DMBA ve *H. perforatum* ekstresi uygulama protokolü

İşlemler esnasında deney hayvanlarına herhangi bir anestezi uygulaması yapılmamıştır. DMBA likit parafin kullanılarak seyreltilmiş ve %0,5'lik DMBA çözeltisi elde edilmiştir. DMBA çözeltisi 4 numaralı sulu boya fırçası kullanılarak hayvanların sol yanaklarına sürülmüştür. *H. perforatum* ekstresi de DMBA uygulamasına benzer şekilde uygulanmıştır (Resim 3.2.).

Hayvanlara 16 hafta boyunca uygulama yapılmıştır. DMBA grubundaki her bir hayvana haftada 3 kere olacak şekilde toplamda 48, HP grubundaki her bir hayvana haftada iki kere olacak şekilde toplamda 32 ve HP+DMBA grubundaki her bir hayvana haftada 3 kere DMBA, 2 kere *H. perforatum* ekstresi olacak şekilde toplamda 80 uygulama yapılmıştır.

3.6.4. Sakrifikasyon

16 haftalık deney süresinin sonunda hayvanlara %10'luk Ketamin (45 mg/kg Ketamol, İnterhas, Ankara, Türkiye) ve %2'lik Ksilazin (5 mg/kg, Alfazyne, Egevet, İzmir, Türkiye) intraperitoneal olarak enjekte edilmiş, hayvanlarda yeterli derinlikte anestezi sağlandıktan sonra intrakardiyak kan alınarak sakrifiye edilmiştir.

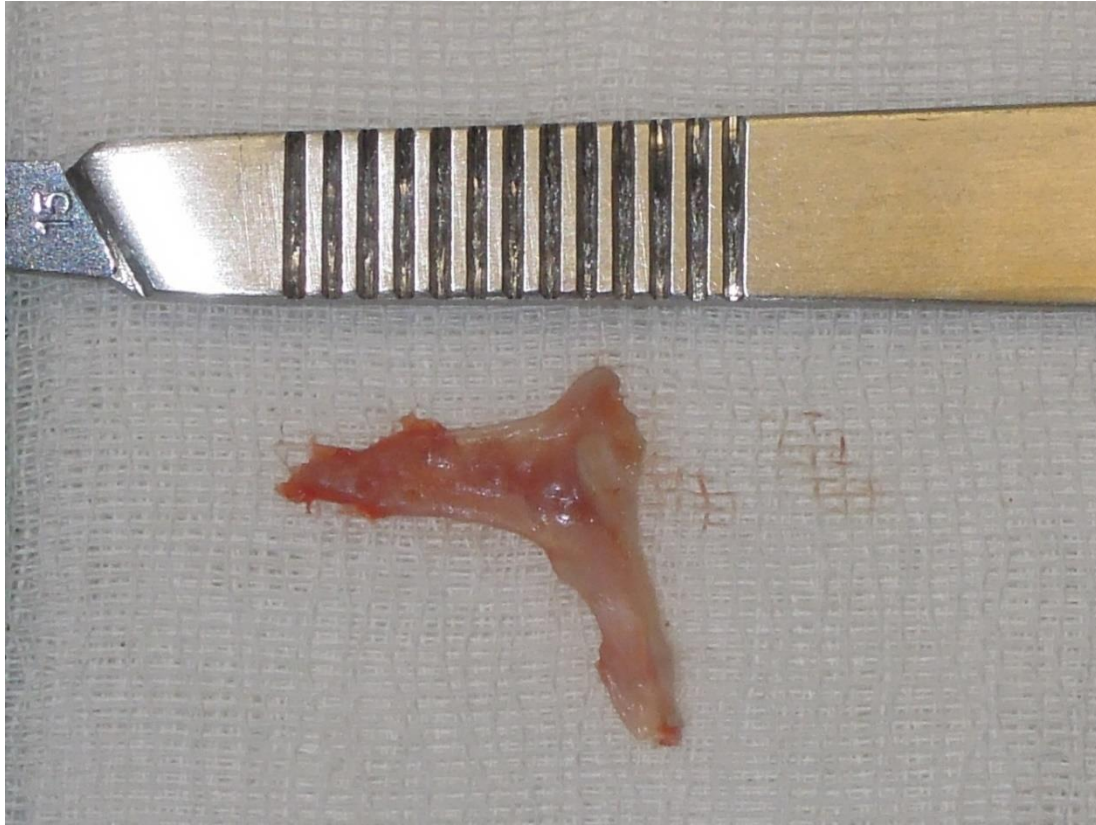


Resim 3.2. (a) Uygulamalarda kullanılan 4 numaralı sulu boya fırçası ve önceden hazırlanmış *H. perforatum* ekstresinin muhafaza edildiği Eppendorf tüpü, (b) Deney hayvanının ağzına fırça ile yapılan uygulama

3.7. Histopatolojik Yöntem

Ratların materyal uygulanan sol yanak mukozasından doku örnekleri alınmıştır. Hayvanların sol yanak mukozası orbita tabanından alt çene sınırına kadar diseksiyon yapılarak çıkarılmış (Resim 3.3) ve biyokimyasal incelemeler için bir kısmı ayrıldıktan sonra kalan doku parçası sıvı nitrojen (-196°C) dondurulmuştur. Kriyomikrotom

kullanılarak dondurulmuş dokudan 5 µm kalınlıkta kesitler alınmıştır. Alınan kesit örneklerinin epitelleri hızlı hematoksilin - eozin boyaması yapılarak değerlendirilmiştir. 5 µm kalınlığındaki kesitler önce %80 alkol ile bir dakika fikse edilip ardından distile su ile yıkanmıştır. Örnekler bir dakika hematoksilin boyasında tutulup ardından akar suda iyice yıkanmıştır. Sırasıyla %95 ve %80 alkollere batırılıp çıkarıldıktan sonra eozin ile 30 saniye boyama yapılmıştır. Tekrar seri alkollere (sırasıyla %95, %80, %80) batırılıp çıkarılan örnekler, bir dakika ksilen içinde tutulup ardından üzeri lamel ile kapatılmıştır. Örneklerin değerlendirmesi Leica DMR (Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, Germany) ışık mikroskobuyla x40 ve x100 büyütme objektiflerinde yapılmıştır. Kesitlerin fotoğraf çekimleri de Leica Application System (LAS Version 4.2.0, Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, Germany) programı kullanılarak yapılmış, x400 ve x1000 büyütmede görüntüler elde edilmiştir.



Resim 3.3. Deney hayvanından çıkarılan sol yanak mukozası örneği

Epitelin histopatolojik değerlendirmesi için Speight tarafından bildirilen DSÖ'nün oral epitelyal displazi sınıflaması [6] baz alınarak 6 dereceli bir skorelama yapılmış, epitelin yapısı ve hücre yapısı göz önünde bulundurulmuştur (Çizelge 3.1.).

Çizelge 3.1. Histopatolojik skrolama kriterleri

Skor	Hücre yapısı	Epitel yapısı
Normal epitel (0)	Değişiklik yok	Değişiklik yok
Hiperplazi (1)	Değişiklik yok	Normal matürasyon olmakla birlikte epitelde kalınlaşma ve hiperkeratoz
Hafif displazi (2)	Epitel alt 1/3 kısmında hücre ve çekirdek şekillerinde farklılaşmalar	Epitel alt 1/3 kısmında kalınlaşma, hücre yönelimlerinin bozulması
Orta şiddette displazi (3)	Epitel orta 1/3'lük kısmına kadar hücre ve çekirdek şekillerinde farklılaşmalar	Epitel orta 1/3'lük kısmına kadar hücre sayısında artma, epitelin kalınlaşması, hücre yönelimlerinin tamamen bozulması
Şiddetli displazi (4)	Epitelin tam kat hücre yapısının bozulması	Bozulmuş epitel yapısına ek olarak bazal laminadan lamina propriaya atipik hücrelerin göç etmesi
Karsinoma in situ (5)	Tüm değişiklikler mevcut	Tam kat yapısal değişiklikler ve katmanların bozulması

3.8. İmmünohistokimyasal Yöntem

İmmünohistokimyasal inceleme için boyama öncesinde kesitler -20°C'deki aseton ile 10 dakika fikse edilerek oda ısısında kurutulmuştur. Ardından örnekler %0,3'lük H₂O₂ ile 10 dakika muamele edilmiştir. Bunu takiben fosfat tamponlu salin ile 3 kere 5 dakika süre ile yıkanmıştır (bütün yıkama aşamalarında fosfat tamponlu salin kullanılmıştır). Yıkama sonrasında 10 dakika süre ile örnekler serum blokajı yapılmıştır. Bu hazırlık aşamalarından sonra örnekler 1'er saat süreyle, daha önceden belirlenen konsantrasyonlarda SOD (1/100), CAT (1/100), VEGF (vasküler endotelial büyüme faktörü) (1/100) ve MMP-9 (1/100) primer antikoları uygulanmıştır. SOD ve CAT antikoları aynı isimli antioksidan enzimlerin antijenlerine yönelik olarak kullanılmıştır.

VEGF antikoru kanseröz değişiklikler esnasında ortaya çıkan anjiogenezin tespit edilmesi, MMP-9 antikoru ise tümör invazyonu veya metastaz varlığının belirlenmesi amacıyla kullanılmıştır. Antikor uygulaması bittikten sonra fosfat tamponlu salin ile yıkama yapılmış ve oda sıcaklığında 20 dakika süreyle 1/2000 konsantrasyonda biyotinli sekonder antikor (Thermoscientific UltraVisionDetection System Anti-Polyvalent, HRP) uygulanmıştır. Sekonder antikor uygulaması sonrasında tekrar yıkama yapılmış ve kesitler 20 dakika süreyle peroksidaz solüsyonu ile muamele edilmiştir. Kesitlere kromojen olarak 3-10 dakika süreyle 3,3'-diaminobenzidin (DAB) damlatılmıştır. DAB ile boyanan kesitler ardından distile su ile 5 dakika süre ile üç defa yıkanmış ve bu işlemi takiben 40 saniye süreyle hematoksilin ile boyanmıştır. Sırasıyla 80, 96, 96 derece oranlarında etil alkoller ile dehidratasyon yapılmış ve ksilen ile 10 dakika şeffaflandırma uygulanmıştır. Ksilen sonrası kesitlerin üzeri kanada balzamu ile yapıştırılan lamel ile kapatılmıştır. Kesitler Leica DM 6000B trinokuler upright araştırma mikroskobu ile incelenmiştir ve DC 490 renkli dijital kamera ile x400 büyütmede görüntüler elde edilmiştir.

Deney dokularının, uygulanan antikorlara cevabını immünohistokimyasal olarak değerlendirmek için semikantitatif bir skrolama sistemi kullanılmıştır. İmmünohistokimyasal olarak pozitif boyanma kriteri dokuda kahverengi tonlarında görülen hücrelerdir. Dokunun antikorlara verdiği yanıtı değerlendirmek için kullandığımız skrolama sisteminde rastgele seçilen beş ayrı alanda pozitif boyanma gösteren hücrelerin bu alandaki boyanmamış hücrelere yüzde olarak oranlarının ortalaması esas alınmıştır. Her örnek için sonuç değer rastgele seçilmiş beş alanın ortalama değeri olarak hesaplanmıştır. Bu değerlendirmede pozitif boyanmış hücrelerin yüzdesine bakılarak;

Boyanma oranı <%5 olan örnekler	0 (negatif boyanma)
Boyanma oranı %5-25 arasında olanlar	1 (hafif reaksiyon)
Boyanma oranı %25-50 arasında kalanlar	2 (orta şiddette reaksiyon)
Boyanma oranı >%50 olan örnekler	3 (şiddetli reaksiyon) şeklinde skorlanmıştır.

Skrolama kriterleri belirlenirken örneklerin boyanma paternleri ve bu alanda yapılmış deney raporları ve derlemeler dikkatle incelenmiş [78, 79] ve çalışmaya özgü olarak belirlenmiştir.

3.9. Biyokimyasal Yöntem

Biyokimyasal incelemelerde kullanılmak üzere sakrifikasyon esnasında intrakardiyak kan alınmıştır. Alınan kan örneklerinin serumları ayrılmış ve çalışılana kadar -80°C 'de saklanmıştır. Ratların materyal uygulanan sol yanak mukozasından alınan ve biyokimyasal incelemeler için ayrılan doku örnekleri Eppendorf tüplere konulmuş ve hızlı bir şekilde -20°C 'ye alınmıştır. Örnekler, doku homojenizasyonu yapılan kadar -80°C 'de muhafaza edilmiştir. Doku analizleri için -80°C 'den çıkarılan örneklerin çözülmesi beklenmiş ve serum fizyolojik içinde (%20 w/v) homojenize edilmiştir. Elde edilen doku homojenatları 5000 devir/dakika'da, 30 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrasında elde edilen süpernatant kısımları biyokimyasal analizler için kullanılmıştır. Çalışmada analizi yapılan parametrelerden SOD, CAT, GSH-Px enzim aktiviteleri; örneklerdeki malondialdehit (MDA), total antioksidan durum (TAS) seviyeleri serum ve doku örneklerinde çalışılmıştır. Bunların yanı sıra, hayvanlardan elde edilen serum örneklerinde total oksidan durum (TOS) seviyesi, karaciğer fonksiyon testleri (ALT (alanin aminotransferaz), AST (aspartat transaminaz)) ve böbrek fonksiyon testleri (BUN (kan üre nitrojeni), kreatinin) ölçülmüştür.

SOD Enzim Aktivitesi: Ratların serum ve yanak dokusunda çalışılmıştır. Bu yöntem, ksantin-ksantin oksidaz sistemi tarafından oluşturulan süperoksit radikalının SOD enzimi tarafından ortadan kaldırılamadığında ortamda bulunan nitroblue tetrazolium (NBT) bileşiğinin indirgenmesi temeline dayanır. İndirgenmiş NBT 560 nm dalga boyunda en uygun absorbanı veren menekşe rengi oluşumuna neden olur. Ortamda SOD aktivitesi varlığında bu renk oluşumu önlenecektir. Buna göre SOD enzim aktivitesi (1 U), NBT'nin indirgenmesini %50 inhibe eden enzim miktarı olarak tanımlanmıştır [80, 81].

GSH-Px Enzim Aktivitesi: Ratların serum ve yanak dokusunda çalışılmıştır. Bu yöntem GSH (indirgenmiş glutatyon) ile H_2O_2 'in GSH-Px enziminin etkisiyle su ve GSSG'ye (yükseltgenmiş glutatyon) çevrilmesini takiben GSH redüktaz enziminin GSSG miktarına bağlı olarak NADP'nin (nikotinamid adenin dinükleotit fosfat) indirgenmiş hali olan NADPH'ı okside etmesi temeline dayanır. Reaksiyonda GSSG oluştuğu sürece NADPH yükseltgenerek NADP'ye dönüşür. Spektrofotometrik olarak 340 nm dalga boyunda NADPH absorbanının düşmesinin takibiyle GSH-Px aktivitesi belirlenir [82].

CAT Enzim Aktivitesi: Ratların serum ve yanak dokusunda çalışılmıştır. Bu yöntem CAT enzimi tarafından kataliz edilen reaksiyon sırasında H_2O_2 'nin 240 nm dalga boyunda verdiği absorbans değerinin azalma göstermesi ve bu azalmanın spektrofotometrik olarak takip edilmesi temeline dayanır. Absorbans değerindeki dakikalık azalma hızı enzim aktivitesiyle doğru orantılıdır [83].

MDA Düzeyi: Ratların serum ve yanak dokusunda çalışılmıştır. MDA lipid peroksidasyonunun son ürünlerinden olup oksidasyon göstergesi olarak kullanılmaktadır. MDA ölçümünün temeli MDA ile tiyobarbitirik asidin (TBA) oluşturduğu pembe renkli kompleksin 532 nm dalga boyunda verdiği absorbansın spektrofotometrik ölçümü esasına dayanır. MDA dışındaki bazı maddeler de bu reaksiyonu verebildiği için bu yöntemdeki sonuçlar TBA ile reaksiyona giren maddeler (*substances*) anlamında kullanılan TBARS olarak adlandırılmaktadır [84].

TAS Ölçümü: Ratların serum ve yanak dokusunda çalışılmıştır. Rel Assay Total Antioksidan Status Test Kiti (Mega Tıp San. ve Tic. Ltd. Şti., Gaziantep, Türkiye) kullanılarak spektrofotometrik olarak ölçülmüştür.

TOS Ölçümü: Ratların serumlarında çalışılmıştır. Rel Assay Total Oksidan Status Test Kiti (Mega Tıp San. ve Tic. Ltd. Şti., Gaziantep, Türkiye) kullanılarak spektrofotometrik olarak ölçülmüştür.

3.10. İstatistiksel Yöntem

Sonuçların istatistiksel analizi 'SPSS 11.5 for Windows' paket programıyla yapılmıştır.

Parametrik test varsayımları sağlanmadığında, tanımlayıcı istatistikler; dağılımı normal olmayan değişkenler için medyan (min-maks) olarak gösterilmiştir. Gruplar arasında ortanca (medyan) değerler yönünden farkların önemliliği Kruskal Wallis Varyans Analizi ile değerlendirilmiştir. Kruskal Wallis Varyans Analizi ile ortancaların eşit olmadığı saptandığında "post-hoc" çoklu karşılaştırma yöntemi olarak, yanılma düzeyi aşağı çekilerek, Mann-Whitney U testi uygulanmıştır.

Parametrik test varsayımları sağlandığında, tanımlayıcı istatistikler; dağılımı normal olan değişkenler için ortalama $\pm$ standart sapma (Ort. $\pm$ SS) olarak gösterilmiştir. Gruplar

arasında ortalamalar yönünden farkların önemliliği ANOVA testiyle değerlendirilmiştir. ANOVA testinde, gruplar arasındaki farklılığı hangi grubun ortaya çıkardığını bulabilmek için “post-hoc” testlerinden Tukey yöntemi kullanılmıştır.

İki nitel değişken arasındaki ilişkiyi değerlendirmek için Fisher Exact testi kullanılmıştır.

Tüm değerler açısından anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ kabul edilmiştir.



4. BULGULAR

4.1. *H. perforatum*'un In Vitro Antioksidan Aktivitesinin Ve Toplam Fenolik Madde Miktarının Belirlenmesi

4.1.1. DPPH serbest radikal giderim aktivitesinin belirlenmesi

Ekstrenin DPPH radikal giderim aktivitesi 10 mg/ml konsantrasyonda %74,29 olarak ölçülmüştür. DPPH radikal giderim aktivitesi için IC₅₀ değeri 5,01 mg/ml olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.1.).

Çizelge 4.1. *H. perforatum* ekstresinin DPPH radikal giderim aktivitesi

Materyal	Konsantrasyon (mg/ml)					IC ₅₀ (mg/ml)
	10	5	1	0.1	0.01	
	Radikal giderimi (%)					
<i>H. perforatum</i> ekstresi	74,29	49,91	11,34	10,61	9,92	5,01
Askorbik asit	-	94,53	-	-	-	-
α -tokoferol	-	64,85	-	-	-	-

4.1.2. Toplam antioksidan aktivitenin belirlenmesi

Etanolik ekstrenin maksimum antioksidan aktivitesi 10 mg/ml konsantrasyonda %85,97 olarak belirlenmiştir. β -karoten linoleik asit test sistemine göre belirlenen IC₅₀ değeri 3,39 mg/ml'dir (Çizelge 4.2.).

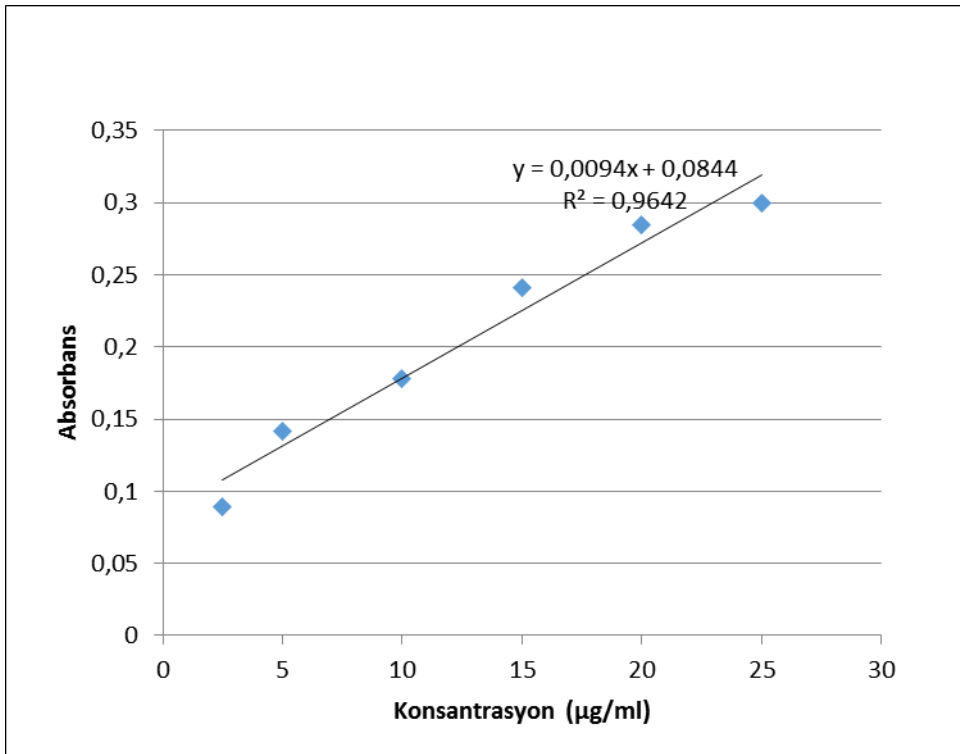
Çizelge 4.2. *H. perforatum* ekstresinin toplam antioksidan aktivitesi

Materyal	Konsantrasyon (mg/ml)			IC ₅₀ (mg/ml)
	10	5	1	
	Antioksidan aktivite (%)			
<i>H. perforatum</i> ekstresi	85,97±3,58	60,39±5,05	34,52±4,68	3,39
Askorbik asit	-	42,82±8,32	-	-
α-tokoferol	-	86,02±6,64	-	-

4.1.3. Toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi

Toplam fenolik madde miktarı FCR kullanılarak μgGAE olarak belirlenmiştir. Öncelikle 2,5-25 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyon aralığında standart gallik asit çözeltileri kullanılarak gallik asit standart grafiği çizilmiştir (Şekil 4.1.).

Alkolik ekstrenin 1 mg/ml'lik dilüsyonundaki toplam fenolik madde miktarı gallik asit standart grafiğinin denkleminde yararlanılarak 82,65 $\mu\text{gGAE/mg}$ olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4.1. Gallik asit standart grafiği

4.2. Histopatolojik Bulgular

Elde edilen örneklerden alınan kesitler gereç ve yöntemde belirtilen 6 dereceli skarlama kullanılarak histopatolojik olarak değerlendirilmiştir (Çizelge 4.3.). Gruplar ve epitel değişiklikleri arasındaki ilişki Fisher exact testine göre $p < 0,001$ bulunmuştur. Gruplar ve epitel değişiklikleri arasındaki ilişki bu anlamlılık düzeyine göre yorumlanmıştır. Gruplar arası karşılaştırmalar Kruskal-Wallis testi ile yapılmış, $p < 0,05$ bulunduğu için gruplar arası ikili karşılaştırmalar Mann-Whitney U testi kullanılarak yapılmıştır. Kontrol grubu,

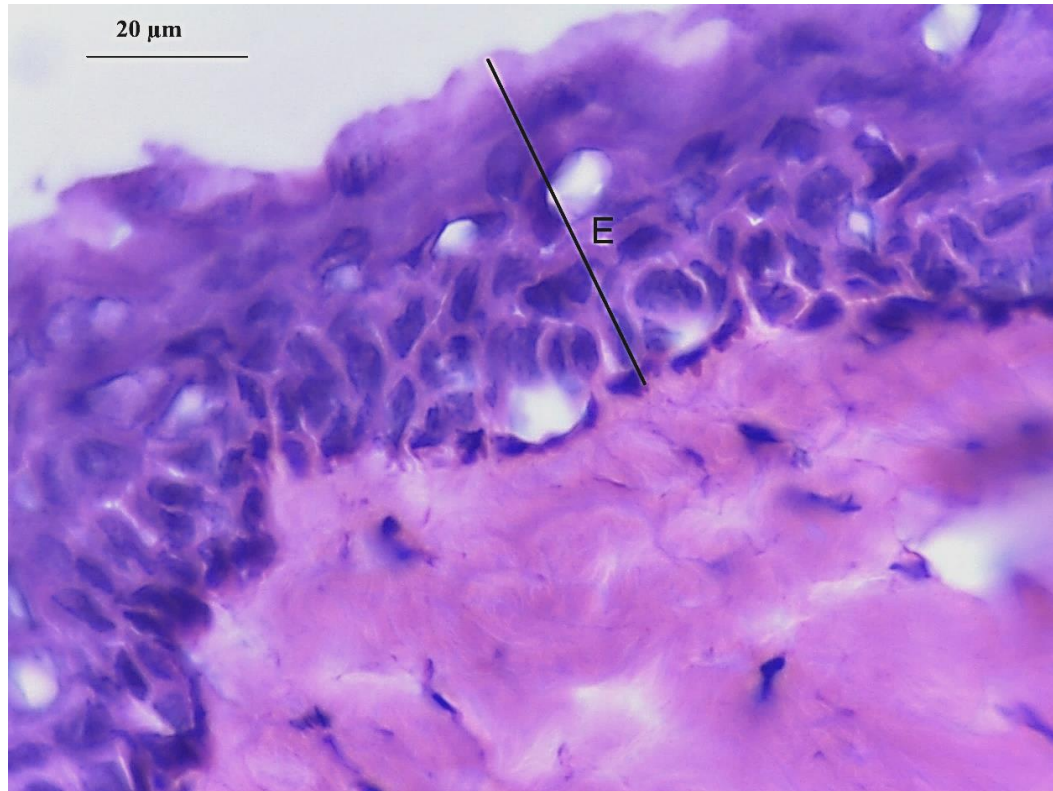
örneklerde herhangi bir değişiklik bulunmaması ve tüm örneklerin normal epitel yapısında izlenmesi nedeniyle istatistiksel analize dâhil edilmemiştir.

Çizelge 4.3. Çalışma gruplarındaki ratların yanak mukoza örneklerinde yapılan histopatolojik inceleme sonucunda belirlenen epitel değişiklik skorları

Grup	Normal epitel (0) n	Epitelyal hiperplazi (1) n	Hafif displazi (2) n	Orta şiddette displazi (3) n	Şiddetli displazi (4) n	Karsinoma in situ (5) n
Kontrol (n=6)	6	0	0	0	0	0
DMBA (n=8)	0	0	0	1	2	5
HP+DMBA (n=8)	0	0	5	2	1	0
HP (n=8)	0	5	1	2	0	0

Kontrol grubu

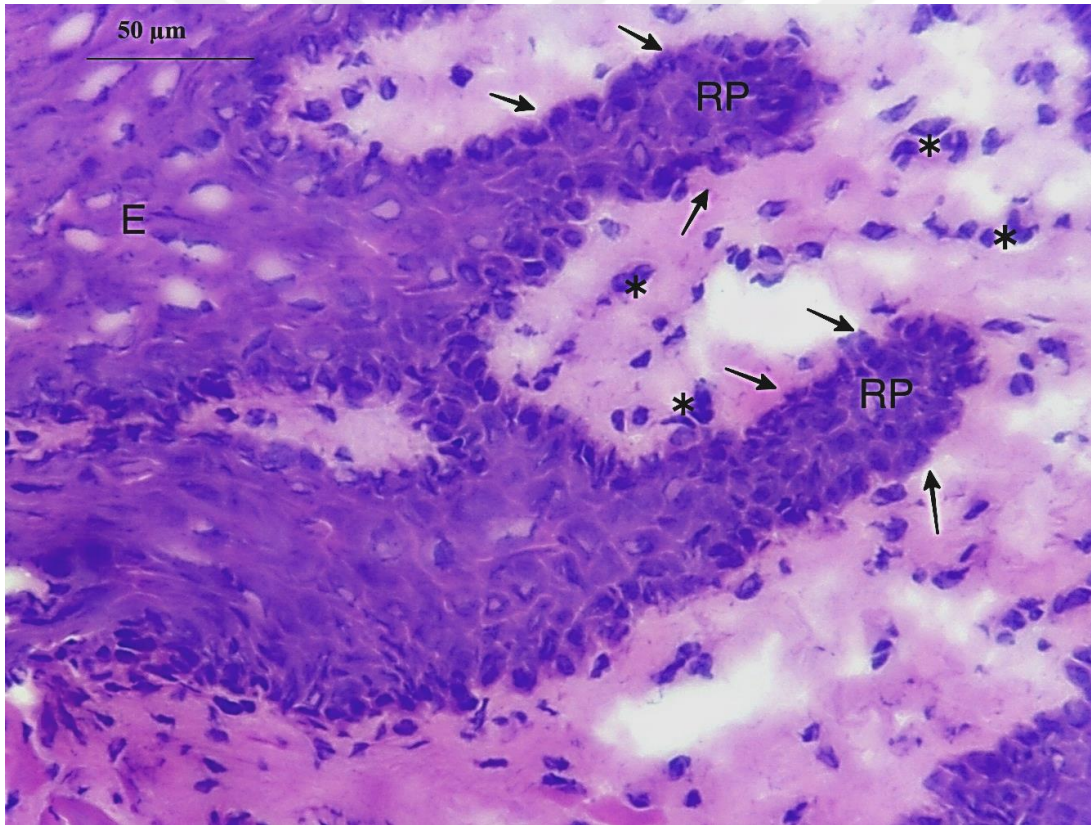
Bu gruba ait 6 rat ağız mukozası örneğinde, epitel ve hücre yapısında değişiklik görülmemiştir (Resim 4.1.).



Resim 4.1. Kontrol grubu örneklerinde epitel (E) normal epitel görünümündedir (Hematoksilen - eozin, x1000)

DMBA grubu

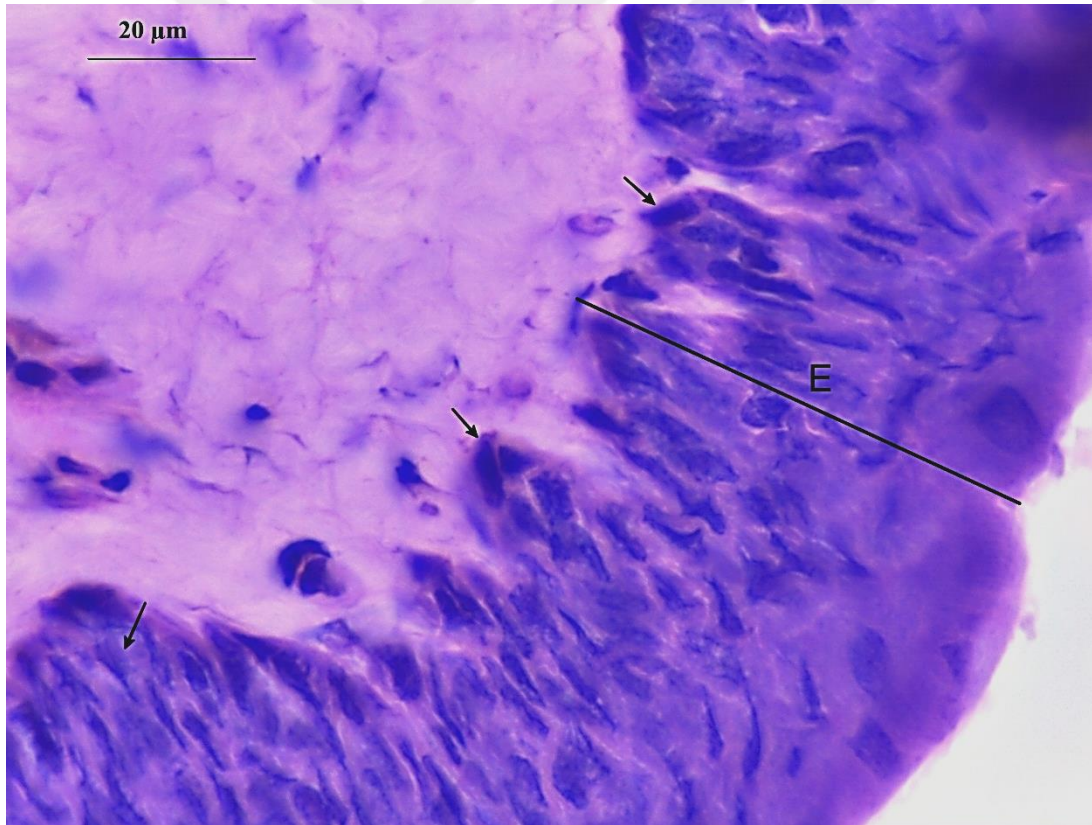
DMBA uygulanan 8 örneğin ağız mukozaları incelendiğinde, genellikle epitelin kalınlaştığı, hücre yapısının ve rete peg yapılarının bozulduğu izlenmiştir. Grupta 5 örnekte karsinoma in situ ile uyumlu, bazal laminadan lamina propriaya doğru göç eden, yapısı ve oryantasyonu bozulmuş, nükleer farklılıklar gösteren hücelere rastlanmıştır (Resim 4.2.). İki örnekte şiddetli, bir örnekte orta şiddette displazi gözlenmiştir (Çizelge 4.4.). Bu sonuçlara göre DMBA uygulanan grupta karsinoma in situ görülme insidansının diğer gruplara göre daha yüksek olması klinik olarak anlamlı bulunmuştur. Bu grupta histopatolojik skorların medyan (min-maks) değeri 5 (3-5) olarak belirlenmiştir ve diğer grupların medyan (min-maks) değerleriyle karşılaştırıldığında anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0,05$) (Çizelge 4.5.).



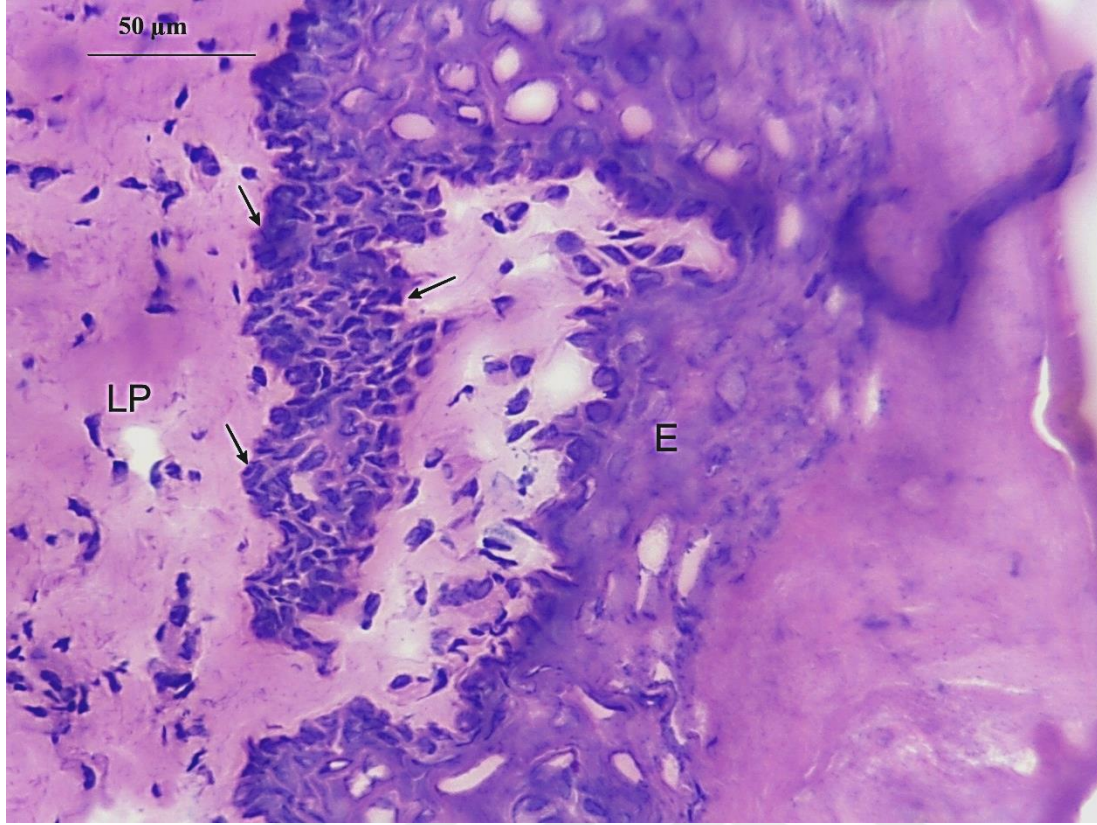
Resim 4.2. DMBA grubu örneklerinde rete peglerde (RP) yapısal değişiklikler, epitelin (E) bağ dokusuna doğru verdiği rete peg uzantıları (oklar), lamina propriaya doğru göç eden atipik, kromatini artmış hücreler (yıldızlar) (Hematoksilen - eozin, x400)

HP+DMBA grubu

HP+DMBA uygulanan gruptan alınan 8 örnek incelenmiştir. 5 örnekte epitelde yapısal değişiklik alt 1/3 lük kısımda lokalizedir, bu nedenle hafif kalınlaşma izlenmiştir (Resim 4.3.). Artmış bazal hücrelerle beraber bazı örneklerde hücrelerde yapısal değişimler, nükleer farklılaşmalar ve hücresel dizilimde değişiklikler gözlenmiştir. Bu grupta sadece bir örnekte lamina propriaya doğru göç eden hücreler izlenmiştir (Resim 4.4.). 2 örnekte orta şiddette displazi, 1 örnekte de şiddetli displazi izlenmiştir (Çizelge 4.4.). Bu grup örneklerinde hiç karsinoma in situ görülmemesi ve DMBA grubuna göre daha düşük dereceli epitelyal değişiklikler saptanmış olması klinik olarak anlamlı bulunmuştur. Bu gruptaki örneklerin histopatolojik skor medyan (min-maks) değeri 2 (2-4)'tür ve DMBA grubu ile kıyaslandığında anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p=0,029$) (Çizelge 4.5.).



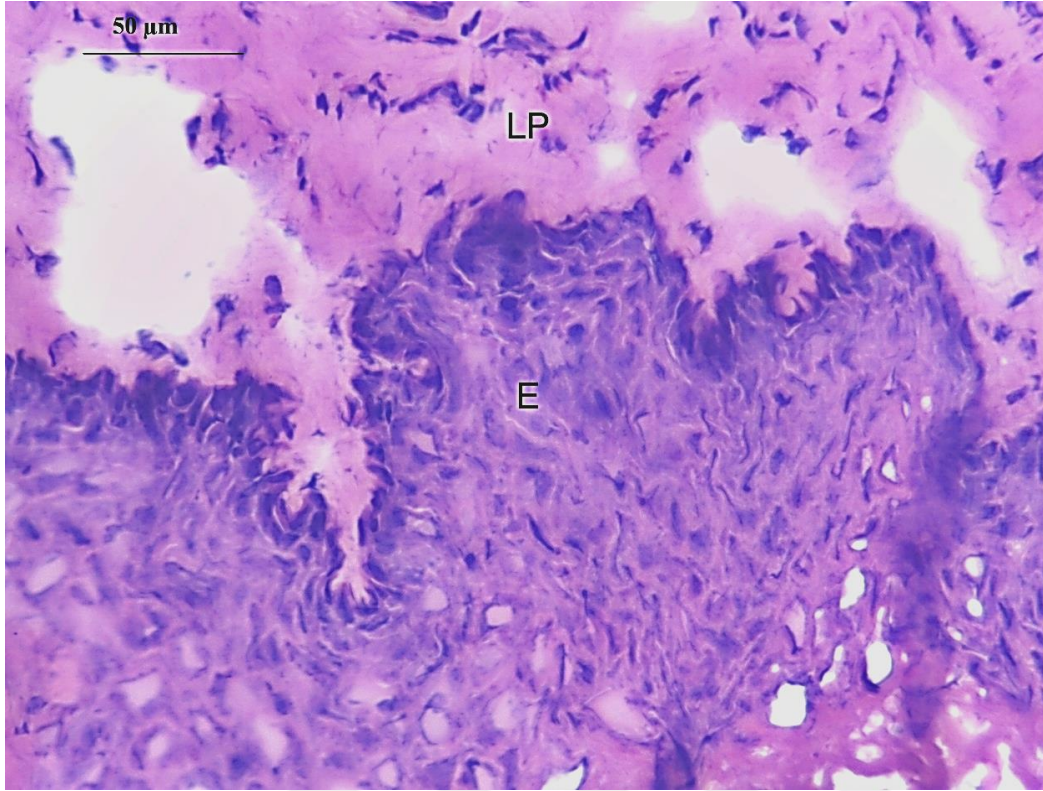
Resim 4.3. HP+DMBA grubu örneklerinde epitelde (E) bazal kısımlarda hücre sayısında artma (oklar) (Hematoksilen - eozin, x1000)



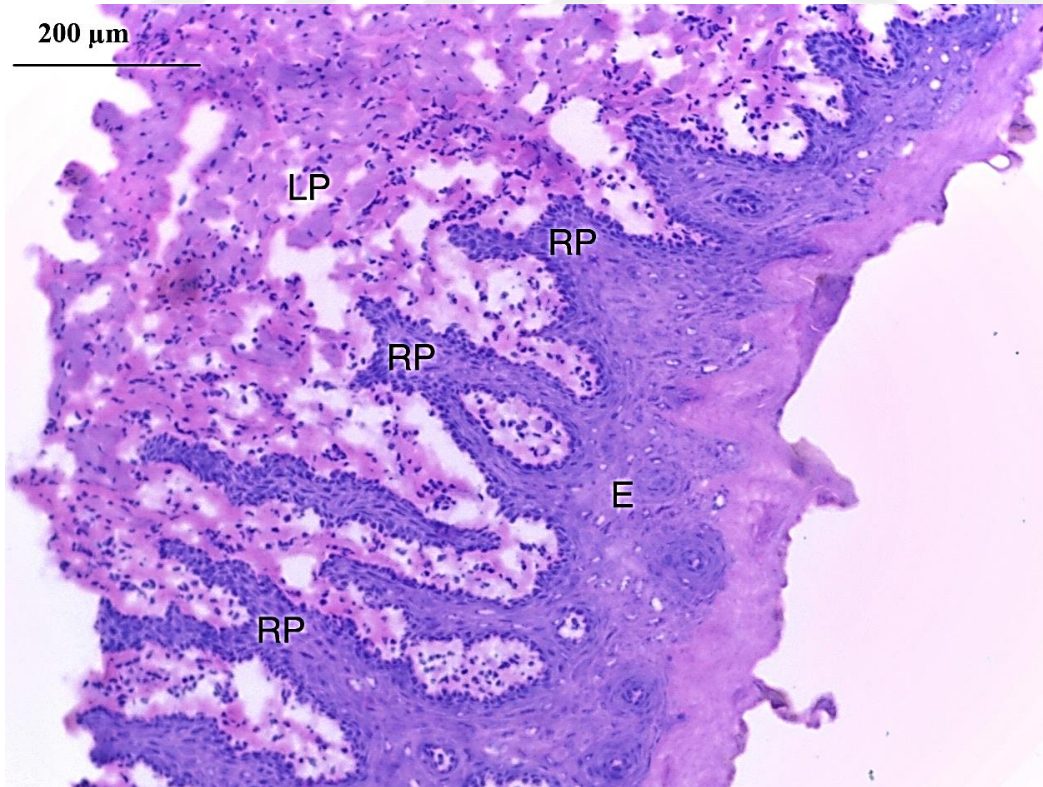
Resim 4.4. HP+DMBA grubu örneklerinde epitelden (E) lamina propriaya (LP) göç eden hücreler (oklar) (Hematoksilen - eozin, x400)

HP grubu

H. perforatum uygulanan 8 adet rat ağız mukozası örneğinde, 2 örnekte orta şiddette displazi, epitel orta kısmına uzanan hücre tabakalarında artma ve hücrelerde yapısal farklılıklar izlenmiştir (Resim 4.5.). Bu grupta iki örnekte uzamış rete peg yapıları dikkat çekmiştir (Resim 4.6.). Bir tane örnekte hafif displazi, 5 örnekte ise sadece hiperplazik bulgular görülmüştür (Çizelge 4.4.). Gruplar ve epitel değişiklikleri arasındaki ilişki değerlendirildiğinde, bu grupta hem DMBA hem de HP+DMBA gruplarına göre daha düşük dereceli epitelyal değişikliklerin sayıca fazla olması klinik açıdan anlamlı olarak değerlendirilmiştir. Bu grupta incelenen örneklerin histopatolojik skor medyan (min-maks) değeri 1 (1-3) olarak belirlenmiştir ve DMBA grubu ile arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,001$) (Çizelge 4.5.).



Resim 4.5. HP grubu örneklerinde epitel (E) orta kısmına kadar artmış tabakalanma (Hematoksilen - eozin, x400) (LP-lamina propria)



Resim 4.6. HP grubu örneklerinde rete peg (RP) yapılarında uzama (Hematoksilen - eozin, x400) (E-epitel, LP-lamina propria)

Çizelge 4.4. Çalışma gruplarındaki ratların yanak mukoza örneklerinde yapılan histopatolojik inceleme sonucunda belirlenen epitel değişiklik görülme sıklıkları ve gruplar ve epitel değişiklikleri arasındaki ilişkinin istatistiksel analizi

Grup	Normal epitel (0) n (%)	Epitelyal hiperplazi (1) n (%)	Hafif displazi (2) n (%)	Orta şiddette displazi (3) n (%)	Şiddetli displazi (4) n (%)	Karsinoma in situ (5) n (%)	Fisher exact testi
Kontrol (n=6)	-	-	-	-	-	-	-
DMBA (n=8)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (12,5)	2 (25,0)	5 (62,5)	p<0,001
HP+DMBA (n=8)	0 (0)	0 (0)	5 (62,5)	2 (25,0)	1 (12,5)	0 (0)	
HP (n=8)	0 (0)	5 (62,5)	1 (12,5)	2 (25,0)	0 (0)	0 (0)	

Çizelge 4.5. Çalışma gruplarındaki ratların mukoza örneklerinden elde edilen histopatolojik skorların istatistiksel analizi ve gruplar arası karşılaştırmalarda Mann-Whitney U testi ile elde edilen istatistiksel veriler

Grup	Histopatolojik skorlama Medyan(min-maks)	
Kontrol (n=6)	-	
DMBA (n=8)	5 (3-5)	
HP+DMBA (n=8)	2 (2-4)	
HP (n=8)	1 (1-3)	
	Mann Whitney U testi	
DMBA – HP+DMBA	p	0,029
DMBA – HP		< 0,001
HP+DMBA – HP		0,543

4.2. İmmünohistokimyasal Bulgular

Elde edilen örneklerden alınan kesitler gereç ve yöntemde belirtilen 4 dereceli skorlama kullanılarak immünohistokimyasal olarak değerlendirilmiştir (Çizelge 4.6.). Her bir parametre için gruplar arası karşılaştırmalarda Kruskall-Wallis testi kullanılmış, $p < 0,05$ bulunduğu durumlarda gruplar arası ikili karşılaştırmalar Mann-Whitney U testi kullanılarak yapılmış, $p > 0,05$ olduğu durumlarda gruplar arası farklılık anlamlı kabul edilmemiştir. Kontrol grubu, hiçbir örnekte hiçbir antikör için pozitif işaretlenme izlenmemesi nedeniyle istatistiksel analize dâhil edilmemiştir.

Çizelge 4.6. Çalışma gruplarındaki ratların yanak mukoza örneklerinde yapılan immünohistokimyasal inceleme sonucunda belirlenen antikor pozitivite skorları ve insidansları

Grup	Antikor	Negatif (0) n (%)	Hafif (1) n (%)	Orta şiddette (2) n (%)	Şiddetli (3) n (%)
Kontrol (n=6)	CAT	6 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	SOD	6 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	MMP	6 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	VEGF	6 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
DMBA (n=8)	CAT	0 (0)	4 (50,0)	4 (50,0)	0 (0)
	SOD	3 (37,5)	4 (50,0)	1 (12,5)	0 (0)
	MMP	2 (25,0)	6 (75,0)	0 (0)	0 (0)
	VEGF	4 (50,0)	4 (50,0)	0 (0)	0 (0)
HP+DMBA (n=8)	CAT	1 (12,5)	6 (75,0)	1 (12,5)	1 (12,5)
	SOD	1 (12,5)	1 (12,5)	5 (62,5)	1 (12,5)
	MMP	3 (37,5)	4 (50,0)	1 (12,5)	0 (0)
	VEGF	1 (12,5)	6 (75,0)	1 (12,5)	0 (0)
HP (n=8)	CAT	0 (0)	0 (0)	3 (37,5)	5 (62,5)
	SOD	0 (0)	2 (25,0)	6 (75,0)	0 (0)
	MMP	1 (12,5)	5 (62,5)	2 (25,0)	0 (0)
	VEGF	4 (50,0)	4 (50,0)	0 (0)	0 (0)

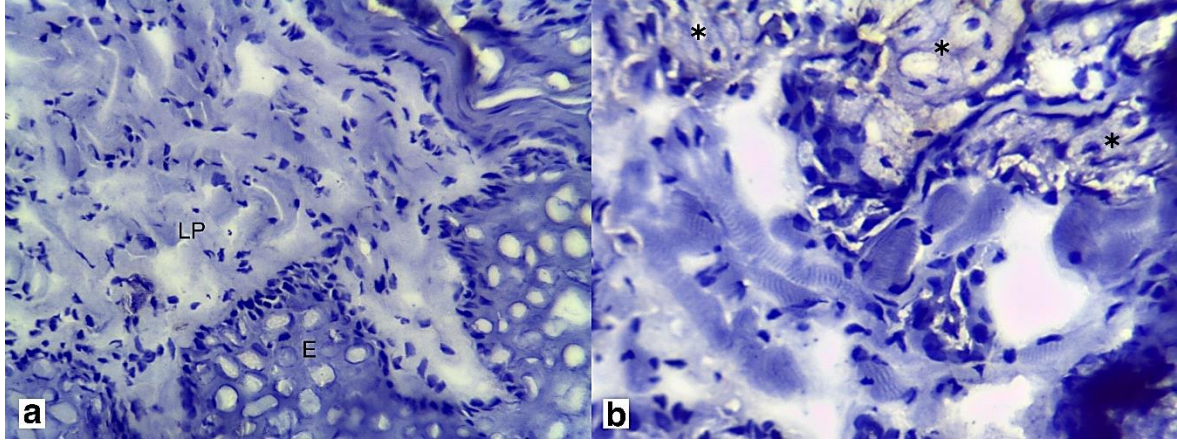
Kontrol grubu

Bu örneklerde CAT antikoru ile ağız mukozasında pozitif işaretlenme izlenmemiştir (Resim 4.7. a, b).

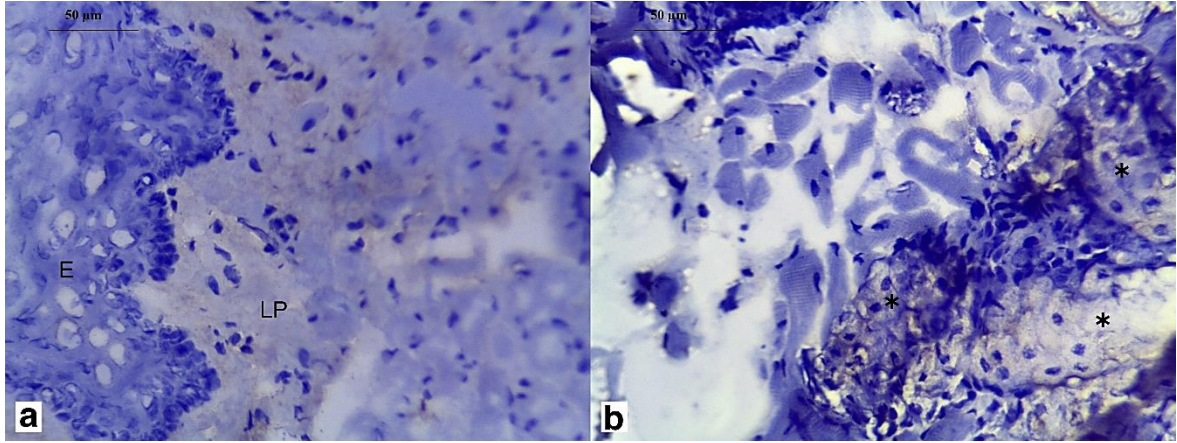
Bu grup örneklerde SOD antikoru ile immün işaretlenme izlenmemiştir (Resim 4.8. a, b).

MMP ile immün işaretleme yapılan örneklerde reaksiyon görülmemiştir (Resim 4.9. a, b).

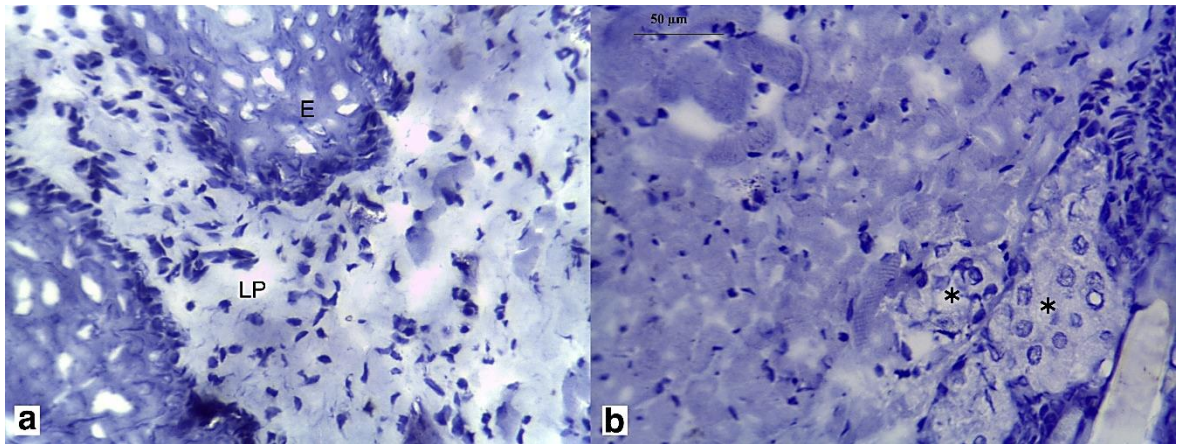
VEGF ile işaretlenen örneklerde lamina propriada bir tane pozitif damar gösterilmiştir. Alınan örneklerde zayıf ve az sayıda damarın boyandığı görülmüştür (Resim 4.10. a, b).



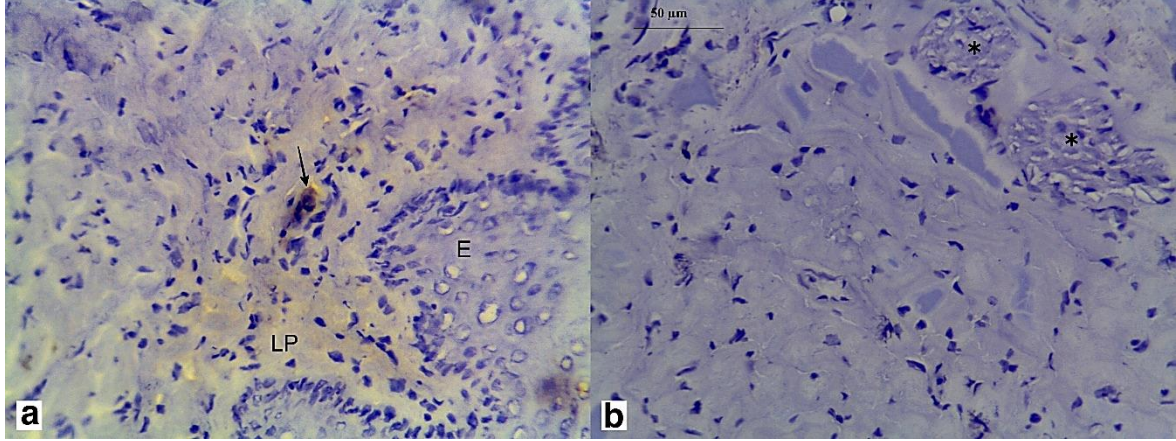
Resim 4.7. CAT antikoru ile immün işaretleme yapılan kontrol grubu kesitleri; (a) epitel (E) ve lamina propria (LP) negatif olarak izlendi, (b) Sebace bezler (yıldızlar) negatif olarak izlendi (İmmünoperoksidaz, hematoxilen, x400)



Resim 4.8. SOD antikoru ile immün işaretleme yapılan kontrol grubu kesitleri; (a) epitel (E) ve lamina propria (LP) negatif olarak izlendi, (b) Sebace bezler (yıldızlar) negatif olarak izlendi (İmmünoperoksidaz, hematoxilen, x400)



Resim 4.9. MMP antikoru ile immün işaretleme yapılan kontrol grubu kesitleri; (a) epitel (E) ve lamina propria (LP) negatif olarak izlendi, (b) Sebace bezler (yıldızlar) negatif olarak izlendi (İmmünoperoksidaz, hematoxilen, x400)



Resim 4.10. VEGF antikoruna immün işaretleme yapılan kontrol grubu kesitleri; (a) epitel (E) negatif olarak izlendi, lamina propriada (LP) bir tane pozitif damar izlendi (ok), (b) Sebace bezler (yıldızlar) negatif olarak izlendi (İmmünoperoksidaz, hematoxilen, x400)

DMBA grubu

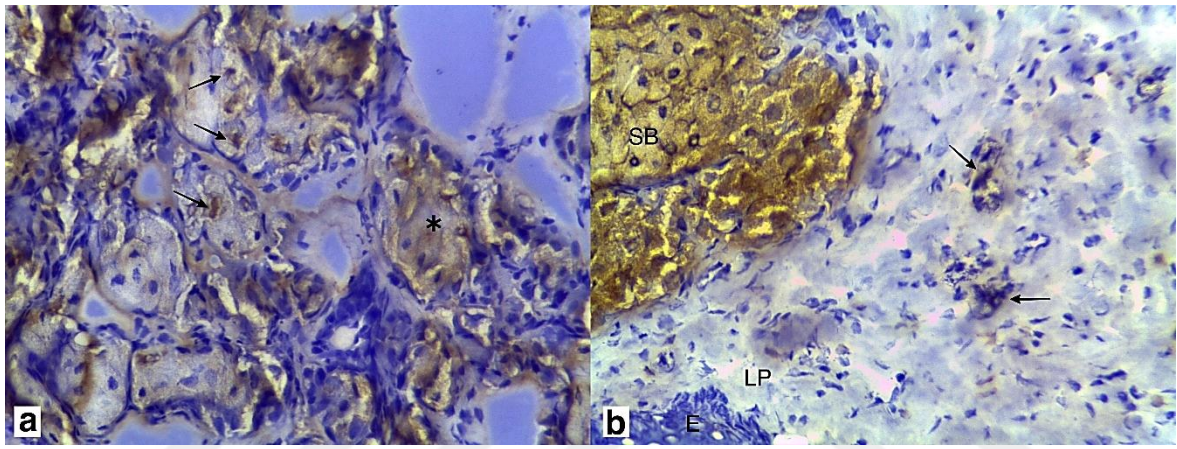
CAT antikoruna ile işaretleme yapılmış örneklerde sebace bezlerde nükleer ve sitoplazmik işaretlemler değerlendirilmiştir (Resim 4.11. a). CAT ile işaretleme yapılmış örneklerde sebace bezlerde orta ve şiddetli dereceli reaksiyonlar birlikte olup, lamina propriada az sayıda pozitif granüler hücre izlenmiştir (Resim 4.11. b). CAT ile kıl folikülleri ve epitelde reaksiyon görülmemiştir. DMBA uygulanan grupta CAT antikoruna için boyanma pozitifliği açısından HP grubuyla arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p=0,03$) (Çizelge 4.7.).

SOD ile immün işaretleme yapılan örneklerde lamina propriada granüler hücrelerde ve sebace bez hücrelerinde zayıf pozitif reaksiyon izlenmekle beraber, epitelde ve kıl foliküllerinde immün işaretleme görülmemiştir (Resim 4.12. a). Bez hücrelerindeki reaksiyon granüler hücrelerden daha zayıftır ve bez çevresindeki myoepitel hücrelerde belirgindir (Resim 4.12. b). Diğer gruplarla karşılaştırıldığında SOD antikoruna ile immün reaksiyonun hem bağ dokusunda hem de sebace bezlerde şiddet ve sayısının azaldığı gözlenmiştir. Bu grupta SOD antikoruna için hücre pozitifliği açısından diğer çalışma gruplarıyla arasında anlamlı fark saptanmıştır ($p<0,05$) (Çizelge 4.7.).

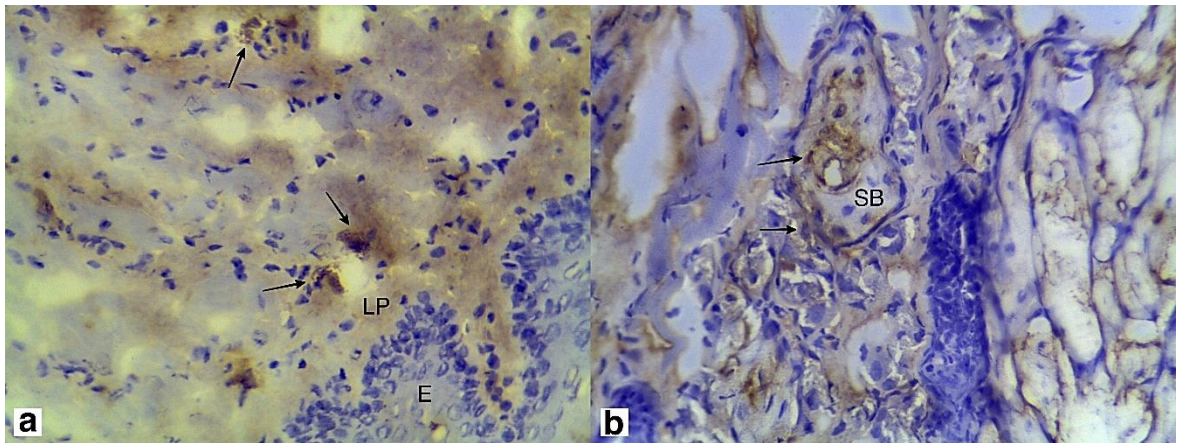
Ağız mukozası MMP ile işaretleme yapılmış örneklerde, sebace bezlerde hücre membranında orta şiddette ve lamina propriada da az sayıda granüler hücrede zayıf pozitif işaretleme gözlenmiştir (Resim 4.13.). Granüler hücreler bezlere yakın konumlanmıştır. Kıl

foliküllerinde pozitif işaretlenme görülmemiştir. DMBA uygulaması ile MMP antikoru için hücre pozitifliği açısından gruplar arasında anlamlı farklılıklar saptanmamıştır ($p>0,05$) (Çizelge 4.7.).

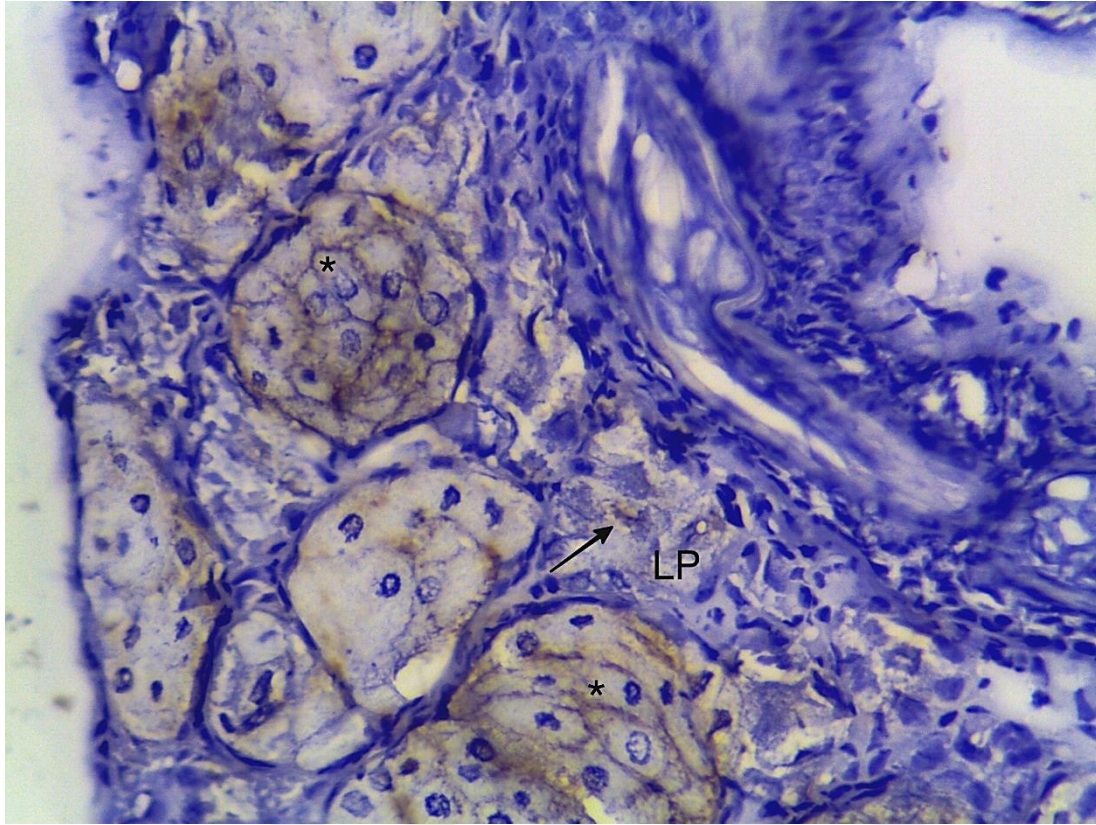
VEGF ile örneklerde kıl folikülü çevresinde orta şiddette ve lamina propriada az sayıda işaretli bağ dokusu hücresi izlenmiştir (Resim 4.14. a, b). Bu gruptaki ratlara yapılan DMBA uygulaması ile VEGF antikoru için boyanma pozitifliği açısından gruplar arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır ($p>0,05$) (Çizelge 4.7.).



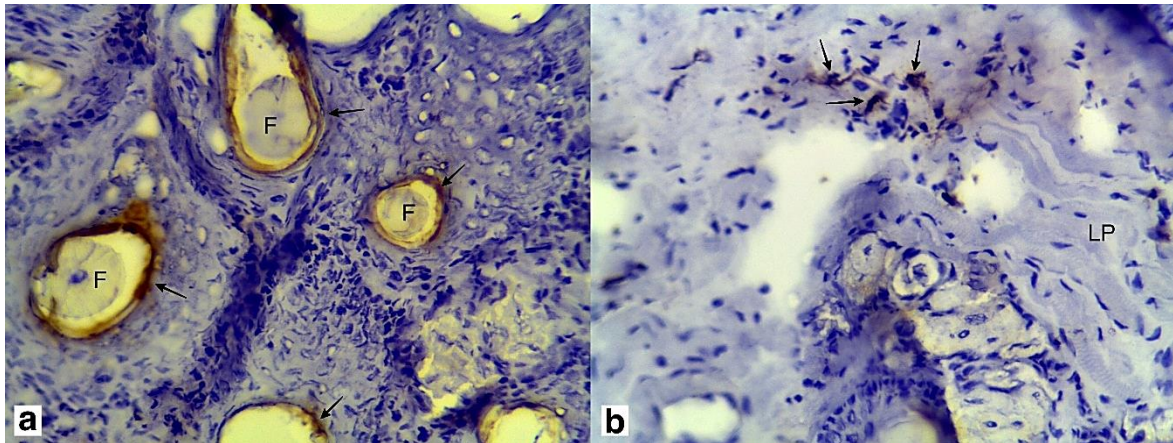
Resim 4.11. CAT antikoru ile immün işaretleme yapılan DMBA grubu kesitleri; (a) sebace bezlerde nükleer (oklar) ve sitoplazmik (yıldız) işaretlenmeler, (b) epitel (E) negatif olarak izlendi, sebace bezler (SB) ve lamina propriadaki (LP) granüler hücreler (oklar) pozitif olarak izlendi (İmmünoperoksidaz, hematoxilen, x400)



Resim 4.12. SOD antikoru ile immün işaretleme yapılan DMBA grubu kesitleri, (a) lamina propriada (LP) granüler yapıda pozitif işaretlenmiş hücreler (oklar), epitel (E) negatif olarak izlendi, (b) Sebace bezlerde (SB) pozitif hücreler (oklar) izlendi (İmmünoperoksidaz, hematoxilen, x400)



Resim 4.13. MMP antikorü ile immün işaretleme yapılan DMBA grubu kesitlerinde pozitif işaretlenmiş sebase bez (yıldızlar) ve lamina propriada (LP) granüler yapıda hücreler (ok) izlendi (İmmünoperoksidaz, hematoksilen, x400)



Resim 4.14. VEGF antikorü ile immün işaretleme yapılan DMBA grubu kesitleri; (a) VEGF antikorü ile işaretlenmiş kıl folikülü (F) epitelü (oklar), (b) Lamina propriada (LP) pozitif hücreler (oklar) izlendi (İmmünoperoksidaz, hematoksilen, x400)

HP+DMBA grubu

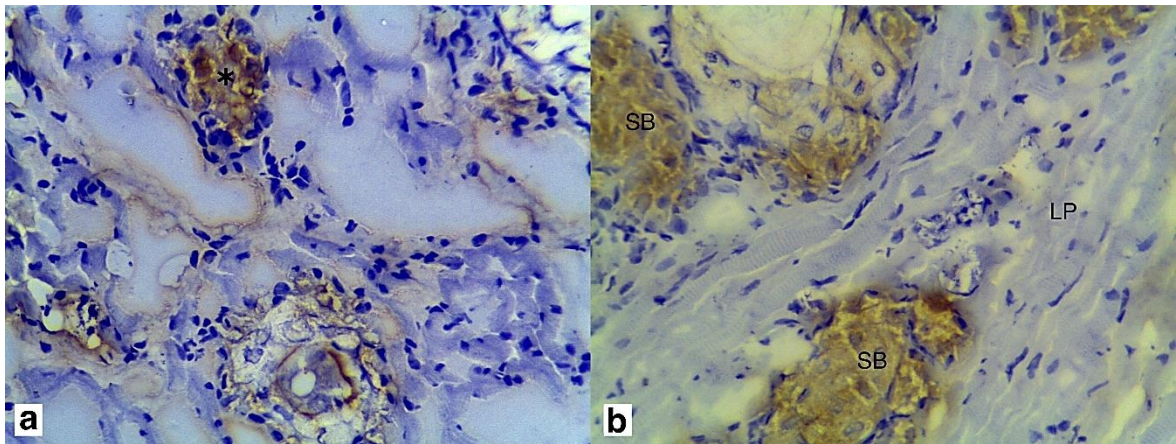
CAT antikorü ile immün işaretleme yapılan örneklerde epitelde ve yüzeye yakın lamina propriada reaksiyon izlenmemiştir. CAT antikorü lamina proprianın derinlerinde sebase

bezleri diffüz olarak ve kıl foliküllerini de orta şiddette pozitif olarak işaretlemiştir (Resim 4.15. a, b). Bağ dokusunda pozitif reaksiyon izlenmemiştir. Bu grupta CAT pozitifliğinin HP grubuna göre daha az olduğu görülmüş ve gruplar arası farklılık anlamlı bulunmuştur ($p<0,001$) (Çizelge 4.7.).

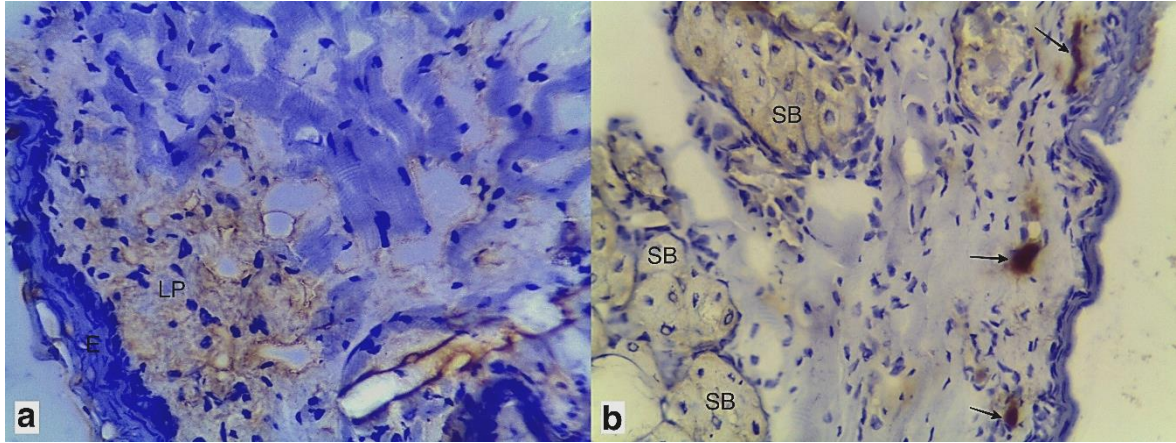
Bu grupta SOD antikoru ile işaretlenmiş ağız mukozasında lamina propriada kesit alanında birkaç alanda diffüz pozitif işaretlenme izlenmiştir (Resim 4.16. a). Epitelin hemen altında az sayıda ancak şiddetli pozitif işaretlenmiş bağ dokusu hücreleri ve orta şiddette boyanmış sebase bezler izlenmiştir (Resim 4.16. b). DMBA grubu ile karşılaştırıldığında bu grupta SOD antikoru boyanma pozitifliğinde anlamlı artış saptanmıştır ($p<0,038$) (Çizelge 4.7.).

MMP antikoru ile boyanan ağız mukozası örnekleri incelendiğinde lamina propriada az sayıda ve hafif boyanmış pozitif hücre izlenmiştir (Resim 4.17.). HP+DMBA uygulaması ile MMP pozitifliği açısından diğer gruplarla arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmamıştır ($p>0,05$) (Çizelge 4.7.).

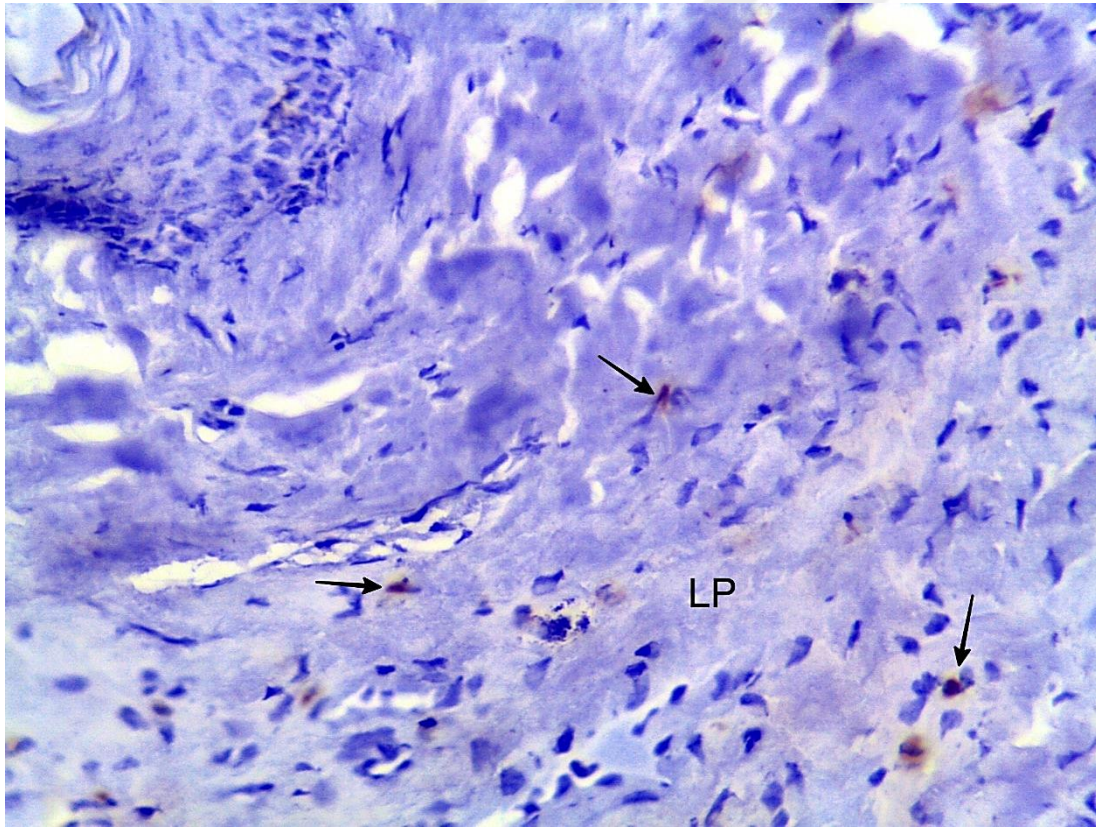
Bu grupta VEGF ile immün işaretleme yapıldığında kıl folikülleri, sebase bez myoepiteli ve duktuslarının çevresindeki küçük damarlarda orta şiddette pozitif boyanma izlenmiştir (Resim 4.18. a). Lamina propriada küçük damarlarda orta şiddette pozitif işaretlenme dikkati çekmiştir (Resim 4.18. b). Diğer gruplarla kıyaslandığında bu grupta boyanma daha fazla olmakla birlikte aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$) (Çizelge 4.7.).



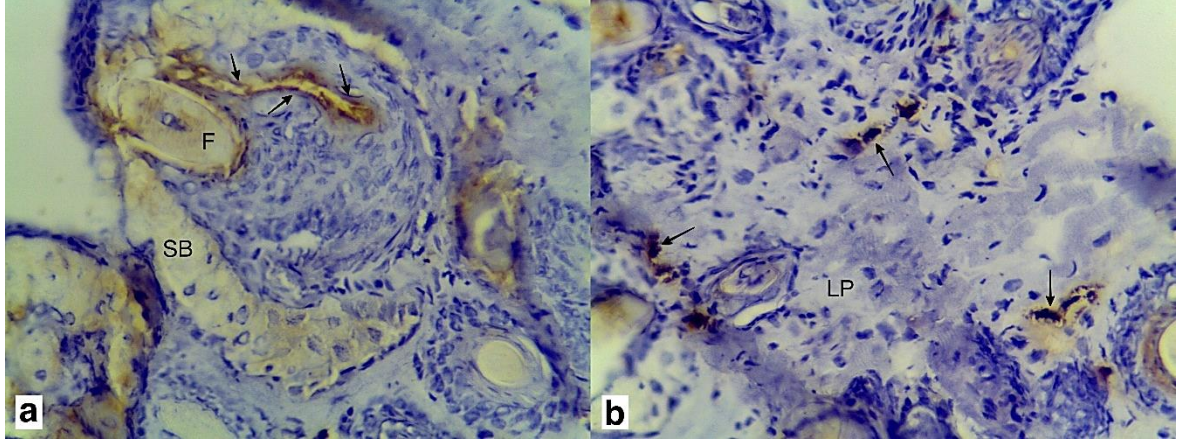
Resim 4.15. CAT antikoru ile immün işaretleme yapılan HP+DMBA grubu kesitleri; (a) kıl folikülünde pozitif immün işaretlenme (yıldız), (b) Sebase bezlerde (SB) diffüz pozitif immün işaretlenme, lamina propriada (LP) negatif görüntü izlendi (İmmünoperoksidaz, hematoksilin, x400)



Resim 4.16. SOD antikoru ile immün işaretleme yapılan HP+DMBA grubu kesitleri; (a) lamina propriada (LP) diffüz pozitif immün işaretlenme, (b) Sebace bezler (SB) ile bazı bağ doku hücrelerinde (oklar) pozitif immün işaretlenme izlendi (İmmünoperoksidaz, hematoksilin, x400)



Resim 4.17. MMP antikoru ile immün işaretleme yapılan HP+DMBA grubu kesitlerinde lamina propriada (LP) bağ doku hücrelerinde (oklar) pozitif boyanma izlendi (İmmünoperoksidaz, hematoksilin, x400)



Resim 4.18. VEGF antikoruna ile immün işaretleme yapılan HP+DMBA grubu kesitleri; (a) kıl folikülünün (F) çevresinde ve bez (SB) duktusunda (oklar) pozitif immün işaretleme, (b) Lamina propriada (LP) pozitif işaretleme damarlar (oklar) izlendi (İmmünoperoksidaz, hematoxilen, x400)

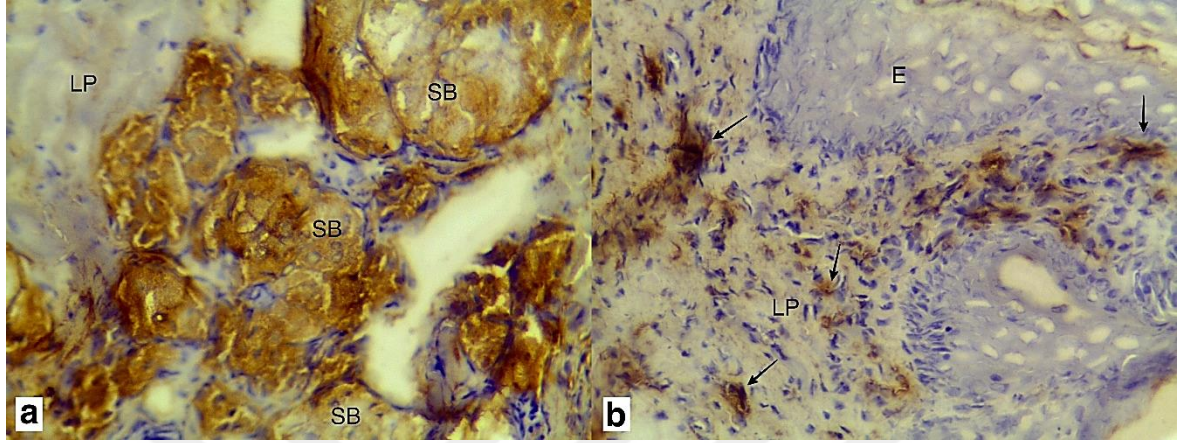
HP grubu

CAT ile işaretli örneklerde çok sayıda sebace bezde şiddetli boyanma izlenmiştir. Bezlerde ve lamina propriada çok sayıda bağ dokusu hücresinde pozitif immün reaksiyon izlenmiştir (Resim 4.19. a, b). CAT antikor boyanma pozitifliğinin bu grupta diğer gruplara göre daha fazla olduğu görülmüştür. HP grubunda CAT pozitifliğinin artışı dikkate alındığında diğer çalışma gruplarıyla arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$) (Çizelge 4.7.).

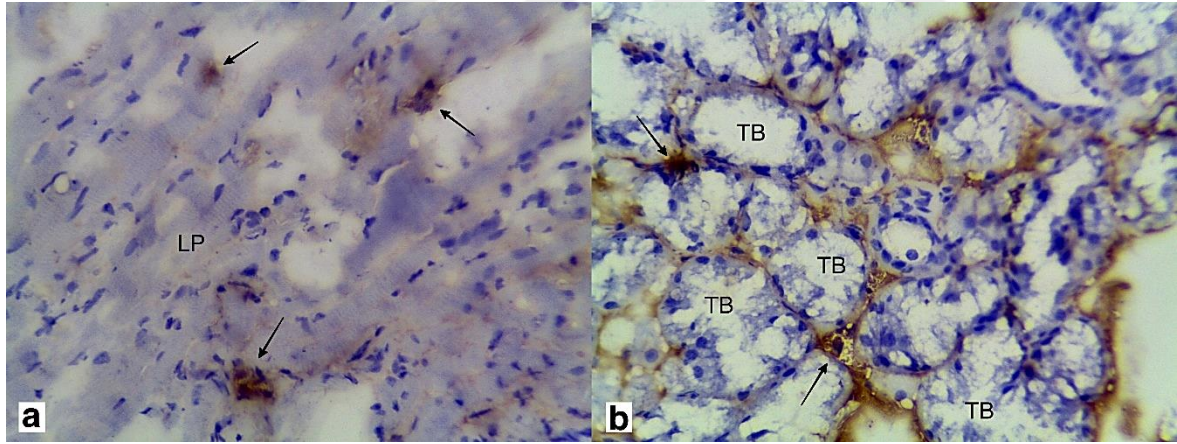
H. perforatum uygulaması sonrası alınan ağız mukozası örneklerinde lamina propriada belirgin pozitif hücre artışı ve diffüz görünümde SOD işaretleme dikkat çekmiştir (Resim 4.20. a). Bezlerin arasında da SOD ile işaretleme pozitif bağ dokusu hücreleri gözlenmiştir (Resim 4.20. b). SOD antikor boyanma pozitifliğinin bu grupta DMBA grubuna göre daha fazla olduğu görülmüştür. HP grubunda SOD pozitifliğinin artışı göz önüne alındığında DMBA grubu ile arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,042$) (Çizelge 4.7.).

MMP ile işaretleme örneklerde özellikle lamina propriada ve bezlerin çevresinde işaretleme hücre sayısında artış en fazla bu grupta izlenmiştir (Resim 4.21. a, b). MMP pozitifliği açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Çizelge 4.7.).

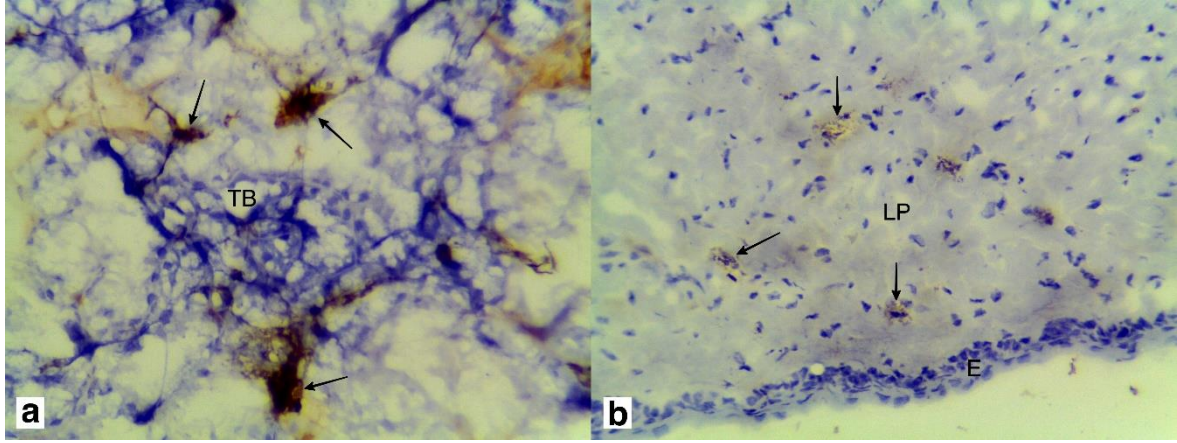
Bu grupta VEGF ile lamina propriada, epitelin hemen altında bazı alanlarda orta şiddette boyanma izlenmiştir. Lamina propria içinde de az sayıda pozitif damar izlenmiştir (Resim 4.22.). Ancak, bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$) (Çizelge 4.7.).



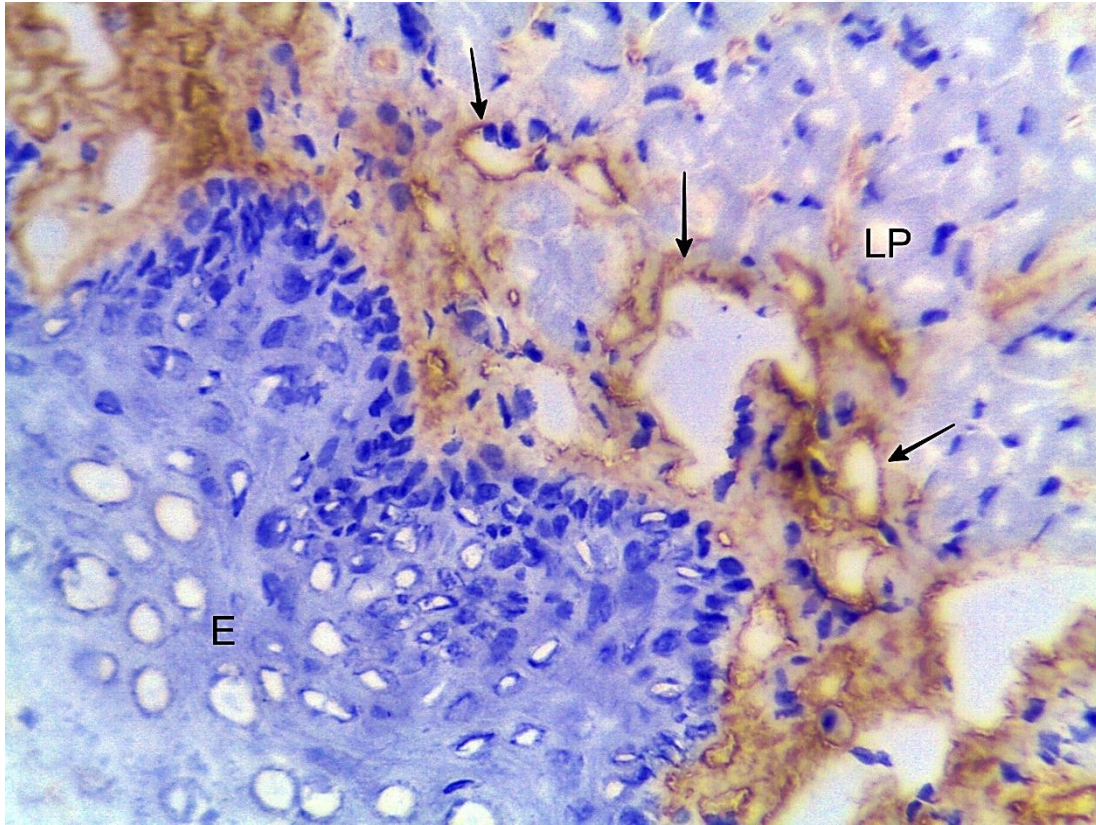
Resim 4.19. CAT antikoruna immün işaretleme yapılan HP grubu kesitleri; (a) Pozitif işaretleme alanları sebase bezler (SB), (b) Lamina propriada (LP) pozitif işaretleme alanları bağ doku hücreleri (oklar) izlendi (İmmünoperoksidaz, hematoxilen, x400)



Resim 4.20. SOD antikoruna immün işaretleme yapılan HP grubu kesitleri; (a) lamina propriada (LP) pozitif işaretleme alanları bağ doku hücreleri (oklar), (b) Tükürük bezlerinin (TB) arasında bağ doku hücreleri (oklar) izlendi (İmmünoperoksidaz, hematoxilen, x400)



Resim 4.21. MMP antikoru ile immün işaretleme yapılan HP grubu kesitleri; (a) tükürük bezleri (TB) etrafında pozitif işaretlenmiş hücreler (oklar), (b) Lamina propriada (LP) pozitif işaretlenen hücreler (oklar) izlendi (İmmünoperoksidaz, hematoksilen, x400)



Resim 4.22. VEGF antikoru ile immün işaretleme yapılan HP grubu kesitlerinde lamina propriada (LP), epitelin (E) hemen altında pozitif işaretlenen damarlar (oklar) izlendi (İmmünoperoksidaz, hematoksilen, x400)

Çizelge 4.7. Çalışma gruplarındaki ratların mukoza örneklerinden elde edilen immünohistokimyasal boyanma skorlarının istatistiksel analizi ve gruplar arası karşılaştırmalarda Mann-Whitney U testi ile elde edilen istatistiksel veriler

Grup	Antikor	İmmünohistokimyasal skorlama Medyan (min-maks)
Kontrol (n=6)	CAT	-
	SOD	-
	MMP	-
	VEGF	-
DMBA (n=8)	CAT	1,5 (1-2)
	SOD	1,0 (0-2)
	MMP	1,0 (0-1)
	VEGF	0,5 (0-1)
HP+DMBA (n=8)	CAT	1,0 (0-2)
	SOD	2,0 (0-3)
	MMP	1,0 (1-2)
	VEGF	1,0 (0-2)
HP (n=8)	CAT	3,0 (2-3)
	SOD	2,0 (1-2)
	MMP	1,0 (0-2)
	VEGF	0,5 (0-1)
		Mann Whitney U testi
DMBA – HP+DMBA	CAT	0,664
	SOD	0,038
	MMP	-
	VEGF	-
DMBA – HP	CAT	0,030
	SOD	0,042
	MMP	-
	VEGF	-
HP+DMBA – HP	CAT	< 0,001
	SOD	1,000
	MMP	-
	VEGF	-

4.4. Biyokimyasal Bulgular

4.4.1. Mukoza bulguları

Alınan doku örneklerinde CAT, SOD, GSH-Px enzim aktiviteleri ve örneklerdeki MDA, TAS seviyeleri ölçülmüştür ve veriler elde edilmiştir.

Yanak mukoza dokusunda; CAT ve GSH-Px testleri için gruplar arasında ortalamalar yönünden farkların önemliliği ANOVA testiyle araştırılmıştır. CAT için ANOVA testinde, gruplar arasındaki farklılığı hangi grubun ortaya çıkardığını bulabilmek için “post-hoc” testlerinden Tukey yöntemi kullanılmıştır. SOD, MDA ve TAS testleri için gruplar arasında medyan değerler yönünden farkların önemliliği ise Kruskal Wallis Varyans Analizi ile araştırılmıştır. Anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olduğu durumlarda gruplar arasındaki farklılığı hangi grubun ortaya çıkardığını bulabilmek için Mann-Whitney U testi kullanılmıştır.

Elde edilen verilere göre CAT enzim aktivitesinin DMBA ve HP+DMBA gruplarında kontrol ve HP gruplarına göre daha düşük olduğu bulunmuştur. Bu fark yalnızca HP+DMBA ile HP grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p = 0,016$). SOD enzim aktivitesinin tüm çalışma gruplarında kontrol grubuna göre düştüğü görülmüştür. Ancak bu değişiklik istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$). GSH-Px enzim aktivitesi tüm çalışma gruplarında kontrol grubuna göre daha düşük bulunmuştur; ancak, gruplar arasındaki bu farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$). MDA seviyesi tüm çalışma gruplarında kontrol grubundan daha düşük bulunmuştur. HP+DMBA grubu ile kontrol ve HP grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır (sırasıyla, $p = 0,01$ ve $p = 0,03$). TAS değeri HP+DMBA grubunda; diğer gruplara göre daha düşük bulunmuştur. HP+DMBA grubu ile kontrol, DMBA ve HP grupları arasındaki bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (sırasıyla, $p = 0,007$, $p = 0,004$ ve $p = 0,005$) (Çizelge 4.8.).

Çizelge 4.8. Kontrol ve çalışma gruplarındaki ratların mukoza dokularındaki CAT (IU/mg), SOD (U/mg), GSH-Px (mIU/mg), MDA (nmol/mg), TAS (µmol Trolox eq/L) verilerinin istatistiksel analizi

Grup	CAT (Ort.±SS)	SOD Medyan (min-maks)	GSH-Px (Ort.±SS)	MDA Medyan (min-maks)	TAS Medyan (min-maks)
Kontrol (n=6)	16,11±5,69	5,68 (4,20-11,47)	91,83±38,31	7,10 (2,93-13,55)	0,67 (0,63-1,29)
DMBA (n=8)	12,80±4,12	5,06 (3,71-8,44)	58,25±12,52	3,37 (2,08-5,02)	0,72 (0,61-0,81)
HP+DMBA(n=8)	10,57±3,30	5,26 (3,60-7,64)	59,38±15,78	2,13 (1,31-4,40)	0,46 (0,28-0,54)
HP (n=8)	17,30±3,68	5,00 (3,99-8,20)	65,00±24,28	4,68 (2,94-12,72)	0,69 (0,58-0,92)
İstatistiksel analiz					
Kontrol – DMBA	0,469	0,851	0,053	0,443	1,000
Kontrol – HP	0,951			1,000	1,000
Kontrol – HP+DMBA	0,090			0,010	0,007
DMBA – HP	0,161			1,000	1,000
DMBA – HP+DMBA	0,709			0,839	0,004
HP – HP+DMBA	0,016			0,032	0,005

4.4.2. Serum bulguları

Deneklerden sakrifikasyon esnasında elde edilen kan örneklerinde CAT, SOD, GSH-Px enzim aktiviteleri; örneklerdeki MDA, TAS ve TOS seviyeleri ölçülmüştür ve veriler elde edilmiştir. Kan örneklerinde bunların yanı sıra karaciğer fonksiyon testleri (ALT, AST) ve böbrek fonksiyon testleri (BUN, kreatinin) seviyeleri ölçülmüştür.

Serumda; CAT, GSH-Px, AST, BUN ve kreatinin için gruplar arasında ortalamalar yönünden farkların önemliliği ANOVA testiyle araştırılmıştır. Anlamlılık düzeyi ANOVA testinde $p < 0,05$ bulunduğunda gruplar arasındaki farklılığı hangi grubun ortaya çıkardığını bulabilmek için “post-hoc” testlerinden Tukey yöntemi kullanılmıştır. SOD, MDA, TAS, TOS ve ALT için gruplar arasında medyan değerler yönünden farkların önemliliği ise Kruskal Wallis Varyans Analizi ile araştırılmıştır. Anlamlılık düzeyi $p > 0,05$ bulunduğu için gruplar arası ikili karşılaştırmalar yapılmamıştır.

Elde edilen verilere göre CAT enzim aktivitesi tüm çalışma gruplarında kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur. Kontrol grubu ile DMBA, HP+DMBA ve HP grupları arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (sırasıyla, $p=0,012$, $p=0,009$ ve $p=0,043$). SOD enzim aktivitesinin tüm çalışma gruplarında kontrol grubuna göre yükseldiği görülmüştür. Ancak bu değişiklik istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). GSH-Px enzim aktivitesi HP+DMBA grubunda; diğer gruplara göre daha düşük bulunmuştur. HP+DMBA grubu ile kontrol, DMBA ve HP grupları arasındaki bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (sırasıyla, $p=0,007$, $p=0,004$ ve $p=0,005$). MDA seviyesi açısından grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır. TAS değeri açısından gruplar arası belirgin farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$). TOS değerinin tüm çalışma gruplarında kontrol grubuna göre yükseldiği görülmüştür. Ancak bu değişiklik istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$) (Çizelge 4.9.).

Çizelge 4.9. Kontrol ve çalışma gruplarındaki ratların serum CAT (IU/mg), SOD (U/mg), GSH-Px (mIU/mg), MDA (nmol/mg), TAS ($\mu\text{mol Trolox eq/L}$) ve TOS ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ eq/L}$) verilerinin istatistiksel analizi

Grup	CAT (Ort. $\pm$ SS)	SOD Medyan (min-maks)	GSH-Px (Ort. $\pm$ SS)	MDA Medyan (min-maks)	TAS Medyan (min-maks)	TOS Medyan (min-maks)
Kontrol (n=6)	41,48 $\pm$ 5,98	10,16 (6,12-10,86)	150,50 $\pm$ 22,23	4,84 (3,71-5,89)	2,07 (1,93-2,75)	0,20 (0,20-6,25)
DMBA (n=8)	64,05 $\pm$ 16,01	10,46 (8,62-12,80)	156,63 $\pm$ 41,86	5,12 (3,31-9,84)	2,14 (1,79-2,71)	0,73 (0,20-27,50)
HP+DMBA (n=8)	60,39 $\pm$ 7,58	11,36 (8,59-12,37)	99,63 $\pm$ 24,10	4,76 (4,36-7,50)	2,18 (0,32-2,36)	0,73 (0,20-22,50)
HP (n=8)	64,97 $\pm$ 15,37	11,57 (7,82-13,17)	154,13 $\pm$ 23,65	5,44 (4,60-6,94)	1,95 (1,61-2,54)	7,50 (0,20-20,00)
İstatistiksel analiz						
Kontrol – DMBA	0,012	0,058	0,980	0,462	0,784	0,153
Kontrol – HP	0,009		0,996			
Kontrol – HP+DMBA	0,043		0,018			
DMBA – HP	0,999		0,998			
DMBA – HP+DMBA	0,935		0,004			
HP – HP+DMBA	0,882		0,005			

Elde edilen kan örneklerinde tüm gruplar arasında karaciğer fonksiyon testleri (ALT, AST) ve böbrek fonksiyon testleri (BUN, kreatinin) açısından anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$) (Çizelge 4.10.).

Çizelge 4.10. Kontrol ve çalışma gruplarındaki ratların karaciğer fonksiyon testleri (AST ve ALT) ve böbrek fonksiyon testleri (BUN ve kreatinin) verilerinin istatistiksel analizi

Grup	ALT Medyan (min-maks)	AST (Ort.±SS)	BUN (Ort.±SS)	Kreatinin (Ort.±SS)
Kontrol (n=6)	33,50 (25,00-57,00)	130,17±38,62	22,33±3,93	0,228±0,069
DMBA (n=8)	38,50 (17,00-91,00)	180,38±56,39	21,75±2,44	0,278±0,082
HP+DMBA (n=8)	28,00 (25,00-42,00)	170,75±47,03	21,00±2,39	0,251±0,030
HP (n=8)	50,00 (26,00-82,00)	186,00±57,18	22,86±5,55	0,226±0,105
	Kruskal Wallis testi	ANOVA		
p	0,090	0,224	0,794	0,534



5. TARTIŞMA

2009 yılında Sağlık Bakanlığı Kansere Savaş Daire Başkanlığı'nın yayınladığı raporda kanserin tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de en sık ikinci ölüm sebebi olduğu ve ülkemizde kansere bağlı ölüm oranının %22 olduğu bildirilmiştir. Bu raporda 2030 yılında 24 milyon insanın kanser tanısı alacağı, 17 milyon insanın ise aynı yıl içinde kanser nedeniyle hayatını kaybedeceği öngörülmüştür. Bu yüksek oranlar ve güncel veriler göz önünde bulundurulduğunda kanser ciddi bir halk sağlığı problemi olarak karşımıza çıkmaktadır. Teknolojinin ve araştırma olanaklarının gelişmesine rağmen hâlen kanser hastalarının yaklaşık olarak %80'i ileri evrelerde tanı almaktadır. Bu sebeple kanserin erken teşhisi, önlenmesi ve tedavisi ile ilgili pek çok çalışma yürütülmektedir [85].

Günümüzde, pek çok araştırmacı kanserin önlenmesi ile ilgili çalışmalarda farmakolojik olarak aktif doğal ve sentetik ajanların kemopreventif potansiyelini tanımlamak için hatırı sayılır derecede emek vermektedir [59]. Kemoprevensiyon, kanserin sitotoksik olmayan doğal veya sentetik ajanlar kullanılarak önlenmeye çalışıldığı, deneysel onkoloji açısından umut vadeden cazip bir yöntemdir. Kemopreventif ajanlar, kanserojenlerin metabolik aktivasyonunu inhibe ederek veya kanser oluşumu esnasında ortaya çıkan metabolik artıkların detoksifikasyonunu arttırarak kanser oluşumunu baskılayabilir, inhibe edebilir, durdurabilir veya tersine çevirebilirler. Bunların yanı sıra, kemopreventif ajanların fazla ROS oluşumunu inhibe ederek veya antioksidan savunma sistemini güçlendirerek tümör oluşumunu da baskılayabilecekleri düşünülmektedir [58].

DMBA ile oluşturulan hamster bukkal kese karsinogenez modeli yaygın olarak kabul edilmiş bir deneysel oral kanser modeli olup, çeşitli ajanların kemopreventif potansiyelinin belirlenmesi için kullanılmaktadır [59]. Bu model ilk olarak Salley tarafından 1954 yılında kullanılmış [86], daha sonra Morris ve Shklar tarafından modifiye ve standardize edilmiştir [87, 88]. Hamster bukkal kese karsinogenez modeline alternatif olarak rat oral kavite kanser modeli oluşturulmuştur. Her iki model de kanser oluşum mekanizmalarının anlaşılması açısından başarılı sonuçlar vermiştir [89]. Bu çalışmada, Nagini ve Kowshik [77] tarafından 2009 yılında tarif edilen protokol, Hsu ve ark.'nın [90] uyarlaması ile birlikte uygulanmıştır. Bu hayvan modelinin avantajları arasında, uygulanan protokolün basit ve tekrarlanabilir olması, uygulama yapılırken anesteziye ihtiyaç duyulmaması, uygulama yapılan bölgenin kolay ulaşılabilir olması, DMBA ile oluşan kanserin aşama

aşama izlenebilmesi ve oluşan kanserli dokunun insanda görülen OSHK ile benzerlikler göstermesi sayılabilir [13, 77]. Bu çalışmada Nagini ve Kowshik tarafından önerilen hayvan modelinden farklı olarak hamster yerine rat kullanılmıştır. Ratların hamsterlara nazaran daha kolay elde edilebilmesi, bakımının daha kolay olması, ratların bağışıklık sisteminin daha güçlü olması ve dolayısıyla deneysel çalışmalarda daha az kayıp verilmesi gerekçesiyle rat tercih edilmiş olup, çalışma boyunca herhangi bir hayvan kaybı olmamıştır.

ROT üretimindeki artışın, radikal giderim aktivitesine sahip endojen antioksidanların hızlı tüketimi ile sonuçlandığı bilinmektedir. Bunun önlenmesi için pek çok araştırmacı bu oksidatif saldırının önüne geçebilmek ve oksidatif strese bağlı olarak oluşan hasarı önleyebilmek amacıyla radikal giderici olarak eksojen antioksidanların denendiği çalışmalar yürütmektedir [19, 21, 91]. Polifenoller, flavonoidler, terpenler ve çeşitli bitki ekstrelerinin de arasında bulunduğu bir takım bitki ürünlerinin antioksidan aktiviteye sahip olduğu bilinmektedir [14, 92, 93]. Bu çalışmada *H. perforatum* ekstresinin kullanılmasına karar verilmesinin sebebi, daha önce yapılan *in vitro* çalışmalarda bu bitkinin güçlü antioksidan aktiviteye sahip olduğunun bildirilmesi [94-96] ve yukarıda bahsedilen bilgiler ışığında bu antioksidan aktivitenin OSHK oluşumunu önlemeye yardımcı etki gösterebileceğinin düşünülmesidir. Bu çalışma, literatürde *H. perforatum*'un *in vivo* olarak kanser modeli üzerindeki etkilerinin incelendiği ilk çalışmadır.

Bu çalışmanın *in vitro* kısmında *H. perforatum* ekstresinin DPPH radikal giderim aktivitesi, toplam antioksidan aktivitesi ve içeriğindeki fenolik madde konsantrasyonu ölçülmüştür. Ekstrenin DPPH radikal giderim aktivitesi 10 mg/ml konsantrasyonda %74,29 olarak bulunmuş, IC50 değeri 5,01 mg/ml olarak belirlenmiştir. Ekstrenin maksimum antioksidan aktivitesi 10 mg/ml konsantrasyonda %85,97 olarak bulunmuş, IC50 değeri 3,39 mg/ml olarak belirlenmiştir. Ekstrenin 1 mg/ml'lik dilüsyonundaki toplam fenolik madde 82,65 mikrogram gallik asit eşdeğeri/mg olarak hesaplanmıştır. Bu veriler daha önce *Hypericum* türleri kullanılarak yürütülen çalışmalarla uyumludur. Zorzetto ve ark. 2015 yılında 3 farklı *Hypericum* türü (*H. reflexum*, *H. canariense*, *H. grandifolium*) ile yaptıkları *in vitro* çalışmada, aralarında farklılıklar bulunmakla birlikte bu 3 türün de tümör hücreleri üzerinde sitotoksik aktivite ve belirgin derecede antioksidan özellik gösterdiklerini bildirmişlerdir [95]. Benzer şekilde Boran ve ark. 2017 yılında *H. lydium*'un antioksidan özelliklerini araştırmış ve elde ettikleri verilere ve *Hypericum* türleri

üzerinde yapılan benzer çalışmalara göre *Hypericum* genusuna ait bitkilerin antioksidan kaynağı olabileceği görüşünü öne sürmüşlerdir [96].

Alınan doku örneklerinde yapılan histopatolojik inceleme sonucunda elde edilen bulgulara göre kontrol grubunda yalnızca normal epitel dokusu izlenmiştir. DMBA uygulanan gruptaki ratların 2 tanesinde şiddetli, 1 tanesinde orta şiddette displazi gözlenmiş, geri kalan örneklerde karsinoma-in-situ görünümüne rastlanmıştır. HP+DMBA uygulanan gruptaki ratların 5 tanesinde hafif displazi izlenirken, 2 örnekte orta şiddette, 1 örnekte ise şiddetli displazi saptanmıştır. Yalnızca HP uygulanan grupta ise 5 hayvanda hiperplazi, 2 hayvanda orta ve 1 hayvanda şiddetli epitelyal displazi saptanmıştır.

Elde edilen verilere göre epitelyal değişiklikler göz önünde bulundurulduğunda tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ($p<0,001$). Örneklerinde herhangi bir değişiklik bulunmaması ve tüm örneklerin normal epitel yapısında izlenmesi nedeniyle kontrol grubu istatistiksel analize dâhil edilmemiştir. HP+DMBA grubundaki deneklerde yalnızca DMBA uygulanan gruba göre epitelyal değişikliklerin azaldığı, DMBA grubunda %62,5 oranında karsinoma in situ görülürken bu oranın HP+DMBA grubunda %0 olduğu ve şiddetli displazik değişikliklerin de HP+DMBA grubunda daha az görüldüğü tespit edilmiştir. Bu durum *H. perforatum*'un, DMBA'nın dokuda oluşturduğu prekanseröz nitelikteki değişiklikleri azaltıcı etki gösterdiği şeklinde yorumlanmıştır.

Gerek 4-nitrokinolin-1-oksit, gerekse DMBA ile oluşturulan hamster bukkal kese karsinogenez modelinin kullanıldığı başka bitki ve kimyasal bileşiklerle yapılan benzer çalışmalarda DMBA grubunda bulunan hamsterlerin yaklaşık olarak %100'e yakınında şiddetli displazik değişiklikler, karsinoma in situ veya OSHK geliştiği bildirilmiştir [9, 19, 97, 98]. Bizim çalışmamızda bu sayının daha az olmasının nedeninin çalışmada hamsterlara göre daha dayanıklı olan ratların deney hayvanı olarak kullanılmasının olduğu düşünülmektedir. Ancak, tüm örneklerde prekanseröz epitelyal değişikliklerin başlamış olması süre uzatıldığı takdirde tüm ratlarda daha şiddetli displazik veya karsinomatöz değişikliklerin oluşabileceğini düşündürmüştür. HP+DMBA uygulanan grupta epiteldeki patolojik değişikliklerin azaldığı ve derecesinin düştüğü görülmüştür. Literatürde farklı bitki ve doğal ürünlerin (emodin, naringenin) kullanıldığı başka çalışmalarda da bitki ekstresi ile birlikte DMBA uygulanan gruplarda histopatolojik değişikliklerin oluşumunun azaldığı ve derecesinin düştüğü bildirilmiştir [99, 100].

2010 yılında Suresh ve ark. 6-paradol bileşiğinin DMBA ile oluşturulan hamster bukkal kese karsinogenez modeli üzerindeki kemopreventif ve antioksidan etkilerini değerlendirmişlerdir. Bu çalışmanın sonucunda serbest radikal giderici aktiviteye sahip olan 6-paradol bileşiğinin karsinogenezi önleyici potansiyele sahip olduğu bulunmuştur. Yalnızca DMBA uygulanan grupta %100 tümör oluşumu görülürken 6-paradol'un kanserojenle birlikte uygulandığı grupta 2 hayvanda iyi diferansiye OSHK görülmüş, diğer hayvanlarda hiperplazi, displazi ve keratoz gibi daha hafif değişiklikler izlenmiştir [9]. Srinivasan ve ark.'nın bir çalışmasında 4-nitrokinolin-1-oksit ile oluşturulan rat karsinogenez modeli kullanılmış; kemopreventif ve terapötik etkileri olduğu bilinen yeşil çay polifenollerini ile yapılan çalışmada bu doğal ajanın kanser oluşum sürecinde görevli olan enzimleri azalttığı ve detoksifiye edici enzimlerin miktarını arttırdığı bildirilmiştir. Aynı çalışmada kanserojenle birlikte yeşil çay polifenollerinin uygulandığı grupta kanseröz değişikliklerin derecesinin ve görülme prevalansının azaldığı bildirilmiştir [18].

H. perforatum'un insan malign hücre dizileri üzerindeki sitotoksik ve pro-apoptotik etkilerini araştıran pek çok çalışmaya rastlanmıştır. Hostanska ve ark. *H. perforatum*'un kronik miyeloid lösemi, histiyositik lenfoma ve glioma hücre dizileri üzerindeki etkilerini araştırmış ve her üç hücre dizisi üzerinde apoptozu tetikleyici ve hücre büyümesini inhibe edici etki gösterdiğini saptamışlardır. Bu çalışmada aynı zamanda normal astrositler üzerindeki etkileri de araştırılmış ve onlar üzerinde de büyümeyi inhibe edici etki gösterdiği bildirilmiştir [101]. Bir başka çalışmada meme adenokarsinomu üzerindeki etkileri değerlendirilmiş ve malign hücre dizileri üzerinde gösterdiği sitotoksik etki sonucunda kemopreventif bir ajan olduğu ve anti-neoplastik ilaç geliştirilmesi için iyi bir aday olduğu sonucuna varılmıştır [102]. Bitkinin içeriğindeki bileşenler kullanılarak yapılan çalışmalara da rastlanmıştır. Bunlar arasında hiperisinin glioma, nöroblastoma, adenoma, mezotelyoma, melanoma, karsinoma, sarkoma ve lösemi hücrelerinin büyümesini inhibe ettiğine dair çalışmalar mevcuttur [103-105]. Hiperforinin de insan epidermoid karsinoma, melanoma, akut T hücreli lösemi, meme adenokarsinoma, over karsinoma ve kolon karsinoma hücre dizileri ve rat prostat karsinoma, pankreas karsinoma, glioblastoma, fibrosarkoma, meme adenokarsinoma hücre dizileri üzerindeki etkileri araştırılmış ve tüm hücre dizileri üzerinde apoptozu tetikleyici ve büyümeyi inhibe edici etki gösterdiği belirlenmiştir [67].

Literatürde bizim çalışmamızdakine benzer hayvan modeli ve farklı bitki ekstraktları ve bitkilerden elde edilen kimyasallar kullanılarak yürütülen pek çok çalışmaya rastlanmıştır. Bu çalışmalarda emodin, safran, hint ginsengi, ferulik asit, partenolit, vanilik asit, aeskuletin ve kumarin kullanılmıştır; ancak, *H. perforatum*'un kullanıldığı bir çalışmaya rastlanmamıştır. Dolayısıyla bu çalışma *H. perforatum*'un etkilerinin *in vivo* oral kanser modelinde araştırıldığı ilk çalışmadır. Benzer çalışmalarda bitki ekstraktlarının veya bitkilerden elde edilen kimyasalların tek başına uygulandığı gruplarda epitelyal değişikliklere rastlanmadığı bildirilmiştir [20, 58, 60, 61, 100, 106-108]. Bizim çalışmamızda tek başına *H. perforatum* ekstresi uygulanan grupta hiperplazik ve displazik değişiklikler saptanmıştır. Amjadi ve ark. tarafından 2018 yılında yürütülen bir çalışmada *H. perforatum* ekstresinin ösofageal SHK ve normal skuamöz hücre dizileri üzerindeki etkileri incelenmiş ve ekstrenin her iki hücre dizisi üzerinde hücre canlılığını (cell viability) dolayısıyla hücre büyümesini (cell growth) azaltıcı etki gösterdiği bulunmuştur. Normal hücre dizisi üzerindeki bu etkinin kanserli hücre dizisine kıyasla az olduğu, kanserli hücre dizisinde yaklaşık olarak %57 oranında azalma saptanırken, normal hücre dizileri için bu oranın %17-29 aralığında olduğu tespit edilmiştir [109]. *H. perforatum*'un ağırlıklı olarak içeriğindeki hiperisin ve hiperforin aracılığıyla çeşitli kanserli hücre dizileri üzerinde sitotoksik ve pro-apoptotik etki gösterdiği bilinmektedir [67, 102]. Hatta Hostanska ve ark.'nın farklı *Hypericum* türlerinin fitokimyasal analizini yaptıkları çalışmada hiperisin ve hiperforinin insan malign hücre dizilerine karşı sinerjistik olarak apoptotik aktivite gösterdikleri bildirilmiştir [101]. Hiperisinin ışığa duyarlı bir pigment olduğu ve fotoaktivasyonla apoptotik aktiviteyi düzenleyici etki gösterdiği düşünülmektedir. Hiperforinin de hücre büyümesini inhibe ettiği ve bunu apoptozu indükleyerek gerçekleştirdiği düşünülmektedir [66, 102]. Hiperforin kaspazların aktivasyonu sonucunda mitokondriden sitokrom c salınımını tetiklemektedir, bu da hiperforin aracılı apoptozun erken safhası olarak kabul edilmektedir [66-68]. Bcl-2 gen ailesi apoptozun düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır ve pro-apoptotik ve anti-apoptotik proteinler olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır [110]. Mitokondri aracılı apoptozda pro-apoptotik proteinler (Bax ve Bak) aktive olurken anti-apoptotik proteinler (Bcl-2 ve Bcl-xL) inhibe olur. Bax ve Bak isimli pro-apoptotik enzimler dimerize olarak mitokontri membranına tutunurlar. Böylelikle mitokondri zarında, sitokrom c ve diğer mitokondriyel proteinlerin sitozole geçebileceği kanallar oluştururlar. Sitokrom c, kaspaz 9 aktivasyonu yaparken diğer mitokondriyel proteinler de sitozoldeki anti-apoptotik kaspaz antagonistlerini inhibe ederler [57]. Bcl-2 proteininin oral displazi ve karsinomla ilişkisinin

incelendiği bir çalışmada elde edilen sonuçlara göre Bcl-2 seviyesindeki değişikliklerin oral premalign ve malign lezyonların görülme olasılığını artırıyor olabileceği ve oral karsinogenezin erken safhalarında anahtar rol oynuyor olabileceği bildirilmiştir [111]. Loro ve ark. Bcl-2 ve Bax proteinlerinin normal oral epitel, hiperplastik oral epitel ve oral epitelyal displazilerde proliferasyon ve apoptozla ilişkisini araştıran bir çalışma yürütmüş ve Bcl-2 miktarındaki azalmanın orta şiddette ve şiddetli oral epitelyal displazide epitelin bazal kısımlarında artmış proliferasyon ve apoptozla ilişkili olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmanın sonuçlarına göre apoptotik hücre ölümü ve Bcl-2/Bax oranı arasında ters ilişki olduğu ve daha ileri safha displazik lezyonlarda Bcl-2 seviyesinde meydana gelen azalmaya bağlı olarak Bcl-2/Bax oranının düştüğü bildirilmiştir [110]. Yukarıda bahsedilen mekanizmalar ve apoptoz esnasında azalan Bcl-2 proteininin oral karsinogenezin erken safhaları ile ilişkisi, bizim çalışmamızda HP grubunda görülen hiperplazik ve hafif ve orta şiddetteki displazik değişikliklerin, *H. perforatum* ektresinin sağlıklı oral mukozada az da olsa apoptozu tetikleyici ve Bcl-2 seviyesini azaltıcı etki göstermesi sonucunda oluşmuş olabileceğini düşündürmüştür.

Çalışmamızda, alınan doku örneklerinde yapılan immünohistokimyasal incelemelerde CAT, SOD, MMP ve VEGF antikoru değerlendirilmiştir. CAT immün boyanmasının HP+DMBA grubunda DMBA grubuna göre daha zayıf immün boyanma gösterdiği tespit edilmiştir. Yapılan literatür taramalarında hamster bukkal kese karsinogenez modeli kullanılarak yapılan çalışmalarda bahse konu antikoru immünohistokimyasal incelemesine rastlanmamıştır. Ancak, Lauer ve ark.'nın kolon kanserinde peroksizomal biyogenezin bozulması ile ilgili yaptıkları çalışmada kolon kanserli dokuda sağlıklı dokuya göre peroksizomal enzim proteinlerinden olan CAT'ın aktivitesinin azaldığı ve daha zayıf immün boyanma gösterdiği bildirilmiştir [112]. Bu çalışmada HP+DMBA grubunda DMBA grubuna göre CAT reaksiyonunun azalması *H. perforatum*'un DMBA ile birlikte uygulandığında CAT enzim transkripsiyonunu baskılayıcı etki göstermiş olabileceğini düşündürmüştür. Bu hipotezin desteklenmesi için bu mekanizmanın deneysel olarak araştırıldığı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Bu çalışmada, SOD antikoru ile boyanan örneklerde HP+DMBA grubunda DMBA grubuna göre daha güçlü boyanma izlenmiştir. Kan hücre neoplazmlarının ve kolon, meme, pankreas ve skuamöz hücreli karsinom gibi farklı kanser tiplerine ait hücre dizilerinin aktif NF- κ B sentezi yaptığı, dolayısıyla NF- κ B sentezinin hücre

proliferasyonunu arttırdığı bildirilmiştir. NF- κ B'nin aynı zamanda SOD2 gen aktivasyonu yaparak SOD sentezini arttırdığı, ancak fazla miktarda oksidatif stresin NF- κ B aktivitesini baskılayıcı etki gösterebileceği rapor edilmiştir [45]. Bunun yanı sıra, skuamöz hücreli karsinomda bulunan hiperproliferatif keratinositlerde SOD sentezinin azaldığı bildirilmiştir [113]. Çalışmamızda elde edilen SOD ile ilgili bulguların, DMBA'nın uygulandığı gruptaki yoğun oksidatif stres sonucu NF- κ B sentezinin inhibisyonundan ve dolayısıyla SOD sentezinin azalmasından kaynaklandığı değerlendirilmiştir. *H. perforatum* ile birlikte DMBA uygulanan grupta SOD sentezinin artmış bulunmasının ise *H. perforatum*'un oksidatif stresi azaltıcı etkisinden kaynaklanmış olabileceği düşünülmüştür.

MMP'ler farklı histogenetik kökene sahip malign tümörlerin metastaz ve invazyon yapması ile ilişkilendirilen proteazlardır [45]. Ekstraselüler matriks komponentlerini parçalayabilmektedirler ve inflamasyon, doku iyileşmesi, tümör invazyonu ve metastaz gibi patolojik süreçlerde ve anjiogeneizde görev almaktadırlar [114, 115]. Hem deri hem de oral mukozadaki epitel ve bağ dokusu hücreleri tarafından sentezlenirler. Literatürde oral ve baş-boyun bölgesi kanserlerinde hastalardan alınan örneklerde MMP sentezi olduğuna dair bilgiler mevcuttur [116]. Ancak, MMP-9'un OSHK'daki rolünü inceleyen 2013 yılında yayınlanan bir makalede, MMP-9'un genellikle agresiv baş ve boyun kanserleri ile ilişkilendirilmekle birlikte bazı güncel çalışmalarda karsinogenez ve metastazlara karşı koruyucu etkinlik gösterdiği bildirilmiştir [117]. Örneğin, tükürük bezi miyoepitelyal karsinomunda MMP-9 varlığının daha iyi sağ-kalım oranlarına işaret ederken, baş boyun kanserlerinin rejyonel metastazlarında MMP-9 gen ekspresyonunun azaldığı belirlenen çalışmalar mevcuttur [118, 119]. Dolayısıyla, MMP-9'un karsinomlarda hem koruyucu hem de ilerlemesine yardımcı etki gösterebildiği ve bu etkinin spesifik duruma bağlı olarak, hasta özellikleri, karsinomun derecesi ve tümör lokasyonu gibi faktörlerden etkilenebileceği bildirilmiştir [117]. Bu çalışmada MMP pozitifliği açısından gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmamış olmasının MMP'nin farklı lezyon tip ve derecelerinde üstlendiği farklı rollerden kaynaklanmış olabileceği düşünülmüştür.

VEGF tümöral büyüme ve metastazların ilerlemesi esnasında meydana gelen anjiogenezin temel düzenleyicilerindendir. Örneğin kolon adenokarsinomunda tümör hücrelerinde VEGF miktarı artarken çevredeki normal epitelde hafif pozitiflik izlendiği bildirilmiştir [120]. Ancak, bizim çalışmamızda belirgin bir tümör oluşumu veya metastaz evresine

ulaşan kanseröz lezyonlar olmadığından gruplar arasında VEGF immün boyamalarında belirgin farklılıklar saptanmamıştır.

Hayvanlardan elde edilen mukoza dokularında antioksidan enzim aktiviteleri incelendiğinde HP+DMBA uygulanan grupta kontrol grubuna göre CAT enzim aktivitesinin azaldığı, SOD enzim aktivitesi açısından gruplar arasında anlamlı fark görölmediği, GSH-Px enzim aktivitesinin ise istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte kontrol grubuna göre her üç grupta da azaldığı belirlenmiştir. CAT enzim aktivitesindeki düşüşün muhtemelen *H. perforatum*'un DMBA ile etkileşimi sonucu CAT enzim aktivitesini baskılayan bir yan ürünün oluşması sebebiyle ortaya çıkmış olabileceği değerlendirilmiştir. CAT enzimiyle ilgili bulgularımızın bu konuda yapılan çalışmalarla uyumlu olduğu gözlenmiştir [9, 59, 99, 121]. GSH-Px enzim aktivitesindeki düşüşün *H. perforatum* ve DMBA'nın tek başlarına veya birlikte GSH-Px enzim aktivitesi üzerindeki baskılayıcı etkilerinden kaynaklanabileceği değerlendirilmiştir. GSH-Px enziminin hücre proliferasyonu üzerinde düzenleyici etki gösterdiği bazı araştırmacılar tarafından vurgulanmıştır [59, 99]. DMBA'nın, uygulandığı dokuda ROT miktarını arttırıcı etki gösterdiği bilinmektedir [12, 58]. Az miktarda ROT oluşumu hücre proliferasyonunu tetiklerken bu miktar arttığında hücre apoptozunun veya nekrozunun tetiklendiği bildirilmiştir [122]. Bizim alışmamızda hayvanlara uygulanan DMBA'nın ROT seviyesinde artışa neden olmasının; hücre proliferasyonunu azaltıcı ve buna bağlı olarak GSH-Px aktivitesini baskılayıcı etki göstermiş olabileceği düşünölmüştür.

DMBA, fazla miktarda ROT açığa çıkmasına neden olan oksidan bir ajandır [9, 20]. Bu konuda yapılan farklı çalışmalarda oksidasyonun göstergesi olarak lipid peroksidasyon ürünlerinin tespit edildiği TBARS veya MDA olarak isimlendirilen belirteçler kullanılmaktadır. Bu çalışmada, kanserojen uygulanan dokularda MDA seviyesinin azaldığı gözlenmiştir, bu veri literatürdeki diğer çalışmalarla uyumludur [107, 123]. DMBA'ya kronik maruziyet sonucunda hücrelerde oksidasyona uğrayacak organik bileşenlerin büyük oranda okside olması sebebiyle bu bileşenlerin tüketilmesi ve dolayısıyla oksidasyon son ürünlerinin oluşmaması sonucunda MDA seviyesinin azaldığı değerlendirilmiştir. Nitekim oral karsinogenez esnasında çoklu doymamış yağ asitlerinin miktarının azaldığı pek çok araştırmacı tarafından dökümante edilmiştir, bu da mevcut çalışma verilerini destekler niteliktedir [59, 107, 123]. HP+DMBA grubunda TAS

değerinin düşük olması ise bu grupta CAT enzim seviyesindeki düşüşün TAS değerine yansımaları şeklinde yorumlanabilir.

Çalışmamızda serum örneklerindeki antioksidan enzim aktivitelerine bakıldığında, CAT enzim aktivitesinin kontrol grubuna göre her üç grupta da arttığı, SOD enzim aktivitesinin değişmediği, GSH-Px aktivitesinin ise *H. perforatum* ile birlikte DMBA uygulanan grupta diğer gruplara göre daha düşük olduğu belirlenmiştir. CAT enzim aktivitesindeki bu artışın vücudun maruz kaldığı kanserojenin sistemik etkilerine karşı verdiği savunma tepkisi olarak değerlendirilebileceği düşünülmüştür. Bu çalışmadan farklı olarak daha önce yapılmış olan benzer çalışmalarda bu değerin azaldığı tespit edilmiş ve bu durum ilgili enzimlerin fazla aktivite sonucu yorulması şeklinde yorumlanmıştır [20, 108]. Ancak literatürde enzimlerin fonksiyonları ve işleyişi ile ilgili yorulma ya da tüketilme gibi bir bilgi bulunmamaktadır [124].

Hayvanlardan elde edilen serum örneklerinde oksidan-antioksidan sistem hakkında genel değerlendirme parametreleri MDA, TAS ve TOS olup bu değerler açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar saptanmamıştır. DMBA grubunda uygulanan kanserojenin kısmi sistemik etkisiyle oksidasyonu bir miktar arttırması sonucu istatistiksel olarak anlamlı olmasa da MDA seviyesinde bir artış görülmüştür; buna cevap olarak CAT, SOD ve GSH-Px enzimlerinin indüklenmiş olabileceği değerlendirilmiştir.

Çalışmada, ratların karaciğer ve böbrek fonksiyon testleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak herhangi bir fark olmadığı ve lokal olarak uygulanan kanserojen ve ekstrenin hem karaciğer, hem de böbrek üzerine toksik etki oluşturmadığı tespit edilmiştir. Yapılan literatür taramasında benzer çalışma modellerinde kullanılan farklı ekstrelerin karaciğer ve böbrek fonksiyonları üzerindeki etkilerinin incelendiği bir çalışmaya rastlanmamıştır. *H. perforatum*'un hepatotoksik olduğuna işaret eden herhangi bir çalışma bulunmamakla beraber, bu konuda yayınlanan makalelerdeki ortak ifade bu gibi bitkisel ürünlerin yan etkilerinin tam olarak bilinemeyeceği, hepatotoksisite yaratma potansiyeline sahip oldukları ve dikkatli kullanılmaları gerektiği yönündedir [125-127].



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

DMBA kullanılarak oluşturulan oral kanser modelinde *H. perforatum* ekstresinin etkilerini değerlendirmek amacıyla gerçekleştirilen bu çalışmada;

- *H. perforatum*'un güçlü *in vitro* antioksidan aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir.
- DMBA uygulanan ratlarda orta şiddette ve şiddetli displazik değişiklikler ve karsinoma *in situ* olduğu belirlenmiştir. Karsinoma *in situ* görülme oranının belirgin şekilde daha fazla olduğu görülmüştür.
- DMBA ile birlikte *H. perforatum* ekstresi uygulanan ratlarda en fazla hafif olmak üzere, hafif, orta şiddette ve şiddetli displazik değişiklikler meydana gelmiştir. Hiçbir örnekte karsinoma *in situ*ya rastlanmamıştır. Dolayısıyla, *H. perforatum*'un, DMBA'nın dokuda oluşturduğu prekanseröz değişiklikleri azaltıcı etki gösterdiği görülmüştür.
- *H. perforatum* uygulamasının sağlıklı oral mukozada hiperplazik ve displazik değişikliklere neden olduğu saptanmıştır.
- *H. perforatum*'un, DMBA ile birlikte uygulandığında CAT enzim aktivitesini baskılayıcı etki gösterdiği saptanmıştır.
- *H. perforatum*'un ve DMBA'nın tek başlarına veya birlikte uygulandıklarında GSH-Px aktivitesini azaltıcı etki gösterdiği saptanmıştır.
- Elde edilen histopatolojik bulgular oksidan antioksidan sistem parametreleri ile birlikte değerlendirildiğinde, ortaya çıkan kemopreventif etkinin bu çalışma sınırları içerisinde antioksidan savunma mekanizmaları üzerinden gerçekleşmediği görülmüştür.
- *H. perforatum*'un oral mukozaya uygulanmasının hepatotoksik ve nefrotoksik etki göstermediği saptanmıştır.

Bu sonuçlar göz önünde bulundurulduğunda, *H. perforatum* ekstresinin kemopreventif bir ajan olduğu ve anti-neoplastik ilaç geliştirilmesi için iyi bir aday olabileceği görülmektedir. Bu çalışmada kullanılan *H. perforatum*'un farklı konsantrasyonlardaki ve farklı dozlardaki uygulamalarının etkilerinin değerlendirilememesi çalışmayı sınırlandıran faktörler olmuştur. *H. perforatum*'un antikanser etkisi konusundaki bilgilerin artırılması için söz edilen kısıtlamaların giderildiği, kemopreventif etkinin mekanizmasını, doz bağımlı olup

olmadığını ve vücutta başka dokularda da bu tür etkiler gösterip göstermediğini araştıran daha kapsamlı deneysel ve klinik çalışmalara ihtiyaç olduğu görölmektedir. Bu çalışmanın, *H. perforatum*'un farklı dozlarda ortaya çıkardığı kemopreventif etkilerinin ve kemoprevensiyon mekanizmalarının araştırıldığı yeni çalışmalara rehber olacağı düşünülmektedir.



KAYNAKLAR

1. İnternet: World Health Organization. (2019). Cancer. Web: https://www.who.int/health-topics/cancer#tab=tab_1, Son Erişim Tarihi: 05 Kasım 2019
2. Stewart, B. W. and Wild, C. P. (2014). *World Cancer Report 2014*. Lyon: IARC Press, 16-54, 374-383.
3. Ogbureke, K. U. E. and Bingham, C. (2012). Overview of Oral Cancer. In K. U. E. Ogbureke (Ed.), *Oral Cancer*, Croatia: InTech, 3-20.
4. Bagan, J., Sarrion, G. and Jimenez, Y. (2010). Oral cancer: Clinical Features. *Oral Oncology*, 46(6), 414-417.
5. Kademani, D. (2007). Oral cancer. *Mayo Clinic Proceedings*, 82(7), 878-887.
6. Speight, P. M. (2007). Update on oral epithelial dysplasia and progression to cancer. *Head and Neck Pathology*, 1(1), 61-66.
7. Martinez, V. D., MacAulay, C. E., Guillaud, M., Lam, W. L., Zhang, L., Corbett, K. K. and Rosin, M. P. (2014). Targeting of chemoprevention to high-risk potentially malignant oral lesions: challenges and opportunities. *Oral Oncology*, 50(12), 1123-1130.
8. Choudhari, S. K., Chaudhary, M., Gadail, A. R., Sharma, A. and Tekade, S. (2014). Oxidative and antioxidative mechanisms in oral cancer and precancer: a review. *Oral Oncology*, 50(1), 10-18.
9. Suresh, K., Manoharan, S., Vijayaanand, M. A. and Sugunadevi, G. (2010). Chemopreventive and antioxidant efficacy of (6)-paradol in 7,12-dimethylbenz(a)anthracene induced hamster buccal pouch carcinogenesis. *Pharmacological Reports*, 62(6), 1178-1185.
10. Ozturk, B., Ozer, O., Durak, Z. E., Billur, D., Kizil, S., Durak, I. and Ozturk, H. S. (2016). High cholesterol diet leads to oxidant load and peroxidation in the rabbit kidney tissue. *Bratislavske Lekarske Listy*, 117(4), 235-241.
11. Alias, L. M., Manoharan, S., Vellaichamy, L., Balakrishnan, S. and Ramachandran, C. R. (2009). Protective Effect of Ferulic Acid on 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-induced Skin Carcinogenesis in Swiss Albino Mice. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 61(3), 205-214.
12. Baskaran, N., Manoharan, S., Balakrishnan, S. and Pugalandhi, P. (2010). Chemopreventive Potential of Ferulic Acid in 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-induced Mammary Carcinogenesis in Sprague-Dawley Rats. *European Journal of Pharmacology*, 637(1-3), 22-29.
13. Nagini, S. (2009). Of humans and hamsters: the hamster buccal pouch carcinogenesis model as a paradigm for oral oncogenesis and chemoprevention. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 9(8), 843-852.

14. Raghu Chandrashekhar, H., Venkatesh, P., Ponnusankar, S. and Vijayan, P. (2009). Antioxidant activity of *Hypericum hookerianum* Wight and Arn. *Natural Product Research*, 23(13), 1240-1251.
15. Kathiresan, S. and Govindhan, A. (2016). [6]-shogaol, a novel chemopreventor in 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-induced hamster buccal pouch carcinogenesis. *Phytotherapy Research*, 30(4), 646-653.
16. Ribeiro, F. A., de Moura, C. F., Gollucke, A. P., Ferreira, M. S., Catharino, R. R., Aguiar, O., Jr., Spadari, R. C., Barbisan, L. F. and Ribeiro, D. A. (2014). Chemopreventive activity of apple extract following medium-term oral carcinogenesis assay induced by 4-nitroquinoline-1-oxide. *Archives of Oral Biology*, 59(8), 815-821.
17. Yen, C. Y., Hou, M. F., Yang, Z. W., Tang, J. Y., Li, K. T., Huang, H. W., Huang, Y. H., Lee, S. Y., Fu, T. F., Hsieh, C. Y., Chen, B. H. and Chang, H. W. (2015). Concentration effects of grape seed extracts in anti-oral cancer cells involving differential apoptosis, oxidative stress, and DNA damage. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 15(94), 1-9.
18. Srinivasan, P., Suchalatha, S., Babu, P. V., Devi, R. S., Narayan, S., Sabitha, K. E. and Shyamala Devi, C. S. (2008). Chemopreventive and therapeutic modulation of green tea polyphenols on drug metabolizing enzymes in 4-Nitroquinoline 1-oxide induced oral cancer. *Chemico-Biological Interactions*, 172(3), 224-234.
19. Palanimuthu, D., Baskaran, N., Silvan, S., Rajasekaran, D. and Manoharan, S. (2012). Lupeol, a bioactive triterpene, prevents tumor formation during 7,12-dimethylbenz(a)anthracene induced oral carcinogenesis. *Pathology Oncology Research*, 18(4), 1029-1037.
20. Manoharan, S., Wani, S. A., Vasudevan, K., Manimaran, A., Prabhakar, M. M., Karthikeyan, S. and Rajasekaran, D. (2013). Saffron reduction of 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-induced hamster buccal pouch carcinogenesis. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 14(2), 951-957.
21. Krishnamoorthy, D. and Sankaran, M. (2016). Modulatory effect of *Pleurotus ostreatus* on oxidant/antioxidant status in 7, 12-dimethylbenz (a) anthracene induced mammary carcinoma in experimental rats--A dose-response study. *Journal of Cancer Research and Therapeutics*, 12(1), 386-394.
22. Saddiqe, Z., Naeem, I. and Maimoona, A. (2010). A review of the antibacterial activity of *Hypericum perforatum* L. *Journal of Ethnopharmacology*, 131(3), 511-521.
23. Yousuf, M., Aslam, K., Wani, B., Aslam, N., Dar, N. and Nawchoo, I. (2012). In vitro antibacterial activity and phytochemical studies of methanolic extract of leaves of *Hypericum perforatum* L. growing wild in Kashmir Himalaya. *Asian Journal of Plant Science and Research*, 2(4), 414-420.
24. Westra, W. H. and Lewis, J. S., Jr. (2017). Update from the 4th edition of the World Health Organization classification of head and neck tumours: oropharynx. *Head and Neck Pathology*, 11(1), 41-47.

25. Hand, A. R. and Frank, M. E. (2014). *Fundamentals of Oral Histology and Physiology*. Oxford: Wiley Blackwell, 1-3, 165-178.
26. Avery, J. K. and Chiego, D. J. (2006). *Essentials of Oral Histology and Embryology A Clinical Approach* (Third edition). St. Louis, Missouri: Mosby Elsevier, 18-35, 168-183.
27. Ziech, D., Anastopoulos, I., Hanafi, R., Voulgaridou, G. P., Franco, R., Georgakilas, A. G., Pappa, A. and Panayiotidis, M. I. (2012). Pleiotrophic effects of natural products in ROS-induced carcinogenesis: the role of plant-derived natural products in oral cancer chemoprevention. *Cancer Letters*, 327(1-2), 16-25.
28. Galvao-Moreira, L. V. and da Cruz, M. C. F. N. (2017). Screening and early detection of oral cancer: current controversies. *Acta Odontologica Scandinavica*, 75(5), 361-365.
29. Scully, C. and Petti, S. (2010). Overview of cancer for the healthcare team: aetiopathogenesis and early diagnosis. *Oral Oncology*, 46(6), 402-406.
30. Petti, S. (2009). Lifestyle risk factors for oral cancer. *Oral Oncology*, 45(4-5), 340-350.
31. Neville, B. W. and Day, T. A. (2002). Oral cancer and precancerous lesions. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 52(4), 195-215.
32. Foulkes, M. (2013). Oral cancer: risk factors, treatment and nursing care. *Nursing Standard*, 28(8), 49-57.
33. Radoi, L. and Luce, D. (2013). A review of risk factors for oral cavity cancer: the importance of a standardized case definition. *Community Dentistry and Oral Epidemiology*, 41(2), 97-109, e178-191.
34. Chaitanya, N. C., Allam, N. S., Gandhi Babu, D. B., Waghray, S., Badam, R. K. and Lavanya, R. (2016). Systematic meta-analysis on association of human papilloma virus and oral cancer. *Journal of Cancer Research and Therapeutics*, 12(2), 969-974.
35. Tornesello, M. L., Losito, S., Benincasa, G., Fulciniti, F., Botti, G., Greggi, S., Buonaguro, L. and Buonaguro, F. M. (2011). Human papillomavirus (HPV) genotypes and HPV16 variants and risk of adenocarcinoma and squamous cell carcinoma of the cervix. *Gynecologic Oncology*, 121(1), 32-42.
36. Freedman, N. D., Park, Y., Subar, A. F., Hollenbeck, A. R., Leitzmann, M. F., Schatzkin, A. and Abnet, C. C. (2008). Fruit and vegetable intake and head and neck cancer risk in a large United States prospective cohort study. *International Journal of Cancer*, 122(10), 2330-2336.
37. Kumar, M., Nanavati, R., Modi, T. G. and Dobariya, C. (2016). Oral cancer: Etiology and risk factors: a review. *Journal of Cancer Research and Therapeutics*, 12(2), 458-463.
38. Montero, P. H. and Patel, S. G. (2015). Cancer of the oral cavity. *Surgical Oncology Clinics of North America*, 24(3), 491-508.

39. Barnes, L., Eveson, J. W., Reichart, P. and Sidransky, D. (2005). *World Health Organization Classification of Tumours: Pathology and Genetics of Head and Neck Tumours*. Lyon: IARC Press, 141, 168-171.
40. Bagan, J. and Scully, C. (2011). Oral Cancer: Comprehending the Condition, Causes, Controversies, Control and Consequences. 5. Clinical Features and Diagnosis of Cancer. *Dental Update*, 38(3), 209-211.
41. Scully, C., Sudbo, J. and Speight, P. M. (2003). Progress in determining the malignant potential of oral lesions. *Journal of Oral Pathology and Medicine*, 32(5), 251-256.
42. Bouquot, J. E., Speight, P. M. and Farthing, P. M. (2006). Epithelial Dysplasia of the Oral Mucosa - Diagnostic Problems and Prognostic Features. *Current Diagnostic Pathology*, 12(1), 11-21.
43. Stefanac, S. J. and Nesbit, S. P. (2017). *Diagnosis and Treatment Planning in Dentistry* (Third edition). St. Louis, Missouri: Elsevier, 33.
44. Lu, W., Ogasawara, M. A. and Huang, P. (2007). Models of reactive oxygen species in cancer. *Drug Discovery Today: Disease Models*, 4(2), 67-73.
45. Reuter, S., Gupta, S. C., Chaturvedi, M. M. and Aggarwal, B. B. (2010). Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked? *Free Radical Biology and Medicine*, 49(11), 1603-1616.
46. Gerschman, R., Gilbert, D. L., Nye, S. W., Dwyer, P. and Fenn, W. O. (1954). Oxygen poisoning and x-irradiation: a mechanism in common. *Science*, 119(3097), 623-626.
47. McCord, J. M. (2000). The evolution of free radicals and oxidative stress. *American Journal of Medicine*, 108(8), 652-659.
48. Aruoma, O. I. (1998). Free Radicals, Oxidative Stress, and Antioxidants in Human Health and Disease. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 75(2), 199-212.
49. Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M. and Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 39(1), 44-84.
50. Smith, C., Marks, A. D. and Lieberman, M. (2005). *Marks' Basic Medical Biochemistry: A Clinical Approach*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 437-456.
51. Sies, H. (1986). Biochemistry of oxidative stress. *Angewandte Chemie. International Ed. In English*, 25(12), 1058-1071.
52. Mates, J. M., Perez-Gomez, C. and Nunez de Castro, I. (1999). Antioxidant enzymes and human diseases. *Clinical Biochemistry*, 32(8), 595-603.

53. Bag, A. and Bag, N. (2008). Target Sequence Polymorphism of Human Manganese Superoxide Dismutase Gene and Its Association with Cancer Risk: a Review. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*, 17(12), 3298-3305.
54. Bowler, R. P. and Crapo, J. D. (2002). Oxidative Stress in Airways: Is There a Role for Extracellular Superoxide Dismutase? *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 166(12 Pt 2), S38-43.
55. Tamimi, R. M., Hankinson, S. E., Spiegelman, D., Colditz, G. A. and Hunter, D. J. (2004). Manganese superoxide dismutase polymorphism, plasma antioxidants, cigarette smoking, and risk of breast cancer. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*, 13(6), 989-996.
56. Sözmen, E. Y. (2006). Yaşlanma Biyokimyası., T. Onat, K. Emerk ve E.Y. Sözmen (Editörler), *İnsan Biyokimyası*. Ankara: Palme Yayıncılık, 743-758.
57. Kumar, V., Abbas, A. K. and Aster, J. C. (2013). *Robbins Basic Pathology* (Ninth edition). Philadelphia: Elsevier, 18-21, 198-200.
58. Baskaran, N., Manoharan, S., Karthikeyan, S. and Prabhakar, M. M. (2012). Chemopreventive Potential of Coumarin in 7, 12-dimethylbenz[a] anthracene Induced Hamster Buccal Pouch Carcinogenesis. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 13(10), 5273-5279.
59. Manoharan, S., Sindhu, G., Vinothkumar, V. and Kowsalya, R. (2012). Berberine prevents 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-induced hamster buccal pouch carcinogenesis: a biochemical approach. *European Journal of Cancer Prevention*, 21(2), 182-192.
60. Baskaran, N., Selvam, G. S., Yuvaraj, S. and Abhishek, A. (2018). Parthenolide Attenuates 7,12-dimethylbenz[a]anthracene Induced Hamster Buccal Pouch Carcinogenesis. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 440(1-2), 11-22.
61. Vinoth, A. and Kowsalya, R. (2018). Chemopreventive potential of vanillic acid against 7,12-dimethylbenz(a)anthracene-induced hamster buccal pouch carcinogenesis. *Journal of Cancer Research and Therapeutics*, 14(6), 1285-1290.
62. Hodžić, S., Osmanović, S., Huseinović, S. and Grbić, S. (2010). In vitro inhibitory effect of Hypericum perforatum L. ethanol extract on microbial growth. *Acta Agriculturae Serbica*, 15(29), 95-101.
63. Males, Z., Brantner, A. H., Sovic, K., Pilepic, K. H. and Plazibat, M. (2006). Comparative phytochemical and antimicrobial investigations of Hypericum perforatum L. subsp. perforatum and H. perforatum subsp. angustifolium (DC.) Gaudin. *Acta Pharmaceutica*, 56(3), 359-367.
64. Aksu, Ö. ve Altınterim, B. (2015). Kantaron Otu (Hypericum perforatum) ve Hiperisin. *Tunceli Üniversitesi Bilim ve Gençlik Dergisi*, 3(1), 58-64.

65. Kladar, N., Mrdanovic, J., Anackov, G., Solajic, S., Gavaric, N., Srdenovic, B. and Bozin, B. (2017). *Hypericum perforatum*: Synthesis of Active Principles during Flowering and Fruitification-Novel Aspects of Biological Potential. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2017(2), 1-11.
66. Dell'Aica, I., Garbisa, S. and Caniato, R. (2007). The Renaissance of *Hypericum perforatum*: Bio-Medical Research Catches Up with Folk Medicine. *Current Bioactive Compounds*, 3(2), 109-119.
67. Schempp, C. M., Kirkin, V., Simon-Haarhaus, B., Kersten, A., Kiss, J., Termeer, C. C., Gilb, B., Kaufmann, T., Borner, C., Sleeman, J. P. and Simon, J. C. (2002). Inhibition of tumour cell growth by hyperforin, a novel anticancer drug from *St. John's wort* that acts by induction of apoptosis. *Oncogene*, 21(8), 1242-1250.
68. Klemow, K. M., Bartlow, A., Crawford, J., Kocher, N., Shah, J. and Ritsick, M. (2011). Medical Attributes of *St. John's Wort* (*Hypericum perforatum*). In I. F. F. Benzie and S. Wachtel-Galor (Eds.), *Herbal Medicine: Biomolecular and Clinical Aspects* (Second edition). Boca Raton, Florida: CRC Press/Taylor&Francis, 211-238.
69. Yi, J., Yang, X., Zheng, L., Yang, G., Sun, L., Bao, Y., Wu, Y., Huang, Y., Yu, C., Yang, S. N. and Li, Y. (2015). Photoactivation of hypericin decreases the viability of RINm5F insulinoma cells through reduction in JNK/ERK phosphorylation and elevation of caspase-9/caspase-3 cleavage and Bax-to-Bcl-2 ratio. *Bioscience Reports*, 35(3), 1-13.
70. Wise, K., Selby-Pham, S., Bennett, L. and Selby-Pham, J. (2019). Pharmacokinetic properties of phytochemicals in *Hypericum perforatum* influence efficacy of regulating oxidative stress. *Phytomedicine*, 59, 152763.
71. Becker, L. C., Bergfeld, W. F., Belsito, D. V., Hill, R. A., Klaassen, C. D., Liebler, D. C., Marks, J. G., Jr., Shank, R. C., Slaga, T. J., Snyder, P. W. and Andersen, F. A. (2014). Amended Safety Assessment of *Hypericum perforatum*-derived Ingredients as Used in Cosmetics. *International Journal of Toxicology*, 33(3 Suppl), 5S-23S.
72. Clement, K., Covertson, C. R., Johnson, M. J. and Dearing, K. (2006). *St. John's wort* and the treatment of mild to moderate depression: a systematic review. *Holistic Nursing Practice*, 20(4), 197-203.
73. Chandler, S. F. and Dodds, J. H. (1983). The effect of phosphate, nitrogen and sucrose on the production of phenolics and solasodine in callus cultures of *solanum laciniatum*. *Plant Cell Reports*, 2(4), 205-208.
74. Slinkard, K. and Singleton, V. (1977). Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. *American Journal of Enology and Viticulture*, 28(1), 49-55.
75. Yamasaki, K., Hashimoto, A., Kokusenya, Y., Miyamoto, T. and Sato, T. (1994). Electrochemical method for estimating the antioxidative effects of methanol extracts of crude drugs. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 42(8), 1663-1665.

76. Jayaprakash, G. K. and Rao, L. J. (2000). Phenolic constituents from the lichen *Parmotrema stippeum* (Nyl.) Hale and their antioxidant activity. *Zeitschrift für Naturforschung. Teil C: Biochemie, Biophysik, Biologie, Virologie*, 55(11-12), 1018-1022.
77. Nagini, S. and Kowshik, J. (2016). The Hamster Buccal Pouch Model of Oral Carcinogenesis. *Methods in Molecular Biology*, 1422, 341-350.
78. Fedchenko, N. and Reifenrath, J. (2014). Different approaches for interpretation and reporting of immunohistochemistry analysis results in the bone tissue - a review. *Diagnostic Pathology*, 9, 221.
79. Gibson-Corley, K. N., Olivier, A. K. and Meyerholz, D. K. (2013). Principles for valid histopathologic scoring in research. *Veterinary Pathology*, 50(6), 1007-1015.
80. Durak, I., Canbolat, O., Kavutcu, M., Ozturk, H. S. and Yurtarslani, Z. (1996). Activities of total, cytoplasmic, and mitochondrial superoxide dismutase enzymes in sera and pleural fluids from patients with lung cancer. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 10(1), 17-20.
81. Sun, Y., Oberley, L. W. and Li, Y. (1988). A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clinical Chemistry*, 34(3), 497-500.
82. Paglia, D. E. and Valentine, W. N. (1967). Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 70(1), 158-169.
83. Aebi, H. (1974). Catalase. In H. U. Bergmayer (Ed.), *Methods of Enzymatic Analysis*. New York: Academic Press Inc, 673-677.
84. Dahle, L. K., Hill, E. G. and Holman, R. T. (1962). The thiobarbituric acid reaction and the autoxidations of polyunsaturated fatty acid methyl esters. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 98, 253-261.
85. Tuncer A. M. (2009). Kanserin ülkemiz ve dünyadaki önemi, hastalık yükü ve kanser kontrol politikaları., M. Tuncer, N. Özgül, E. Olcayto, ve M. Gültekin (Editörler). *Türkiye'de Kanser Kontrolü*. Ankara. Koza Matbaacılık, 5.
86. Salley, J. J. (1954). Experimental carcinogenesis in the cheek pouch of the Syrian hamster. *Journal of Dental Research*, 33(2), 253-262.
87. Morris, A. L. (1961). Factors influencing experimental carcinogenesis in the hamster cheek pouch. *Journal of Dental Research*, 40, 3-15.
88. Shklar, G. (1972). Experimental oral pathology in the Syrian hamster. *Progress in Experimental Tumor Research*, 16, 518-538.
89. Patil, S., Rao, R. and Raj, T. (2015). Animal Models--Decoding the Molecular Biology of Oral Cancer. *Journal of Contemporary Dental Practice*, 16(4), i-ii.

90. Hsu, W. H., Lee, B. H. and Pan, T. M. (2011). Effects of red mold dioscorea on oral carcinogenesis in DMBA-induced hamster animal model. *Food and Chemical Toxicology*, 49(6), 1292-1297.
91. Sanchez-Reus, M. I., Gomez del Rio, M. A., Iglesias, I., Elorza, M., Slowing, K. and Benedi, J. (2007). Standardized Hypericum perforatum reduces oxidative stress and increases gene expression of antioxidant enzymes on rotenone-exposed rats. *Neuropharmacology*, 52(2), 606-616.
92. Liu, F. and Ng, T. B. (2000). Antioxidative and free radical scavenging activities of selected medicinal herbs. *Life Sciences*, 66(8), 725-735.
93. Maggioni, D., Biffi, L., Nicolini, G. and Garavello, W. (2015). Flavonoids in oral cancer prevention and therapy. *European Journal of Cancer Prevention*, 24(6), 517-528.
94. Fale, P. L., Amaral, F., Amorim Madeira, P. J., Sousa Silva, M., Florencio, M. H., Frazao, F. N. and Serralheiro, M. L. (2012). Acetylcholinesterase inhibition, antioxidant activity and toxicity of Peumus boldus water extracts on HeLa and Caco-2 cell lines. *Food and Chemical Toxicology*, 50(8), 2656-2662.
95. Zorzetto, C., Sanchez-Mateo, C. C., Rabanal, R. M., Lupidi, G., Petrelli, D., Vitali, L. A., Bramucci, M., Quassinti, L., Caprioli, G., Papa, F., Ricciutelli, M., Sagratini, G., Vittori, S. and Maggi, F. (2015). Phytochemical analysis and in vitro biological activity of three Hypericum species from the Canary Islands (Hypericum reflexum, Hypericum canariense and Hypericum grandifolium). *Fitoterapia*, 100, 95-109.
96. Boran, R., & Ugur, A. (2017). The Mutagenic, Antimutagenic and Antioxidant Properties of Hypericum lydium. *Pharmaceutical Biology*, 55(1), 402-405.
97. Goncalves Vde, P., Ortega, A. A., Guimaraes, M. R., Curylofo, F. A., Rossa Junior, C., Ribeiro, D. A. and Spolidorio, L. C. (2015). Chemopreventive activity of systemically administered curcumin on oral cancer in the 4-nitroquinoline 1-oxide model. *Journal of Cellular Biochemistry*, 116(5), 787-796.
98. Oghumu, S., Casto, B. C., Ahn-Jarvis, J., Weghorst, L. C., Maloney, J., Geuy, P., Horvath, K. Z., Bollinger, C. E., Warner, B. M., Summersgill, K. F., Weghorst, C. M. and Knobloch, T. J. (2017). Inhibition of Pro-inflammatory and Anti-apoptotic Biomarkers during Experimental Oral Cancer Chemoprevention by Dietary Black Raspberries. *Frontiers in Immunology*, 8, 1325.
99. Sulfikkarali, N., Krishnakumar, N., Manoharan, S. and Nirmal, R. M. (2013). Chemopreventive efficacy of naringenin-loaded nanoparticles in 7,12-dimethylbenz(a)anthracene induced experimental oral carcinogenesis. *Pathology Oncology Research*, 19(2), 287-296.
100. Manimaran, A. and Manoharan, S. (2018). Tumor Preventive Efficacy of Emodin in 7,12-Dimethylbenz[a]Anthracene-Induced Oral Carcinogenesis: a Histopathological and Biochemical Approach. *Pathology Oncology Research*, 24(1), 19-29.

101. Hostanska, K., Reichling, J., Bommer, S., Weber, M. and Saller, R. (2003). Hyperforin a constituent of St John's wort (*Hypericum perforatum* L.) extract induces apoptosis by triggering activation of caspases and with hypericin synergistically exerts cytotoxicity towards human malignant cell lines. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 56(1), 121-132.
102. Mirmalek, S. A., Azizi, M. A., Jangholi, E., Yadollah-Damavandi, S., Javidi, M. A., Parsa, Y., Parsa, T., Salimi-Tabatabaee, S. A., Ghasemzadeh kolagar, H. and Alizadeh-Navaei, R. (2015). Cytotoxic and apoptogenic effect of hypericin, the bioactive component of *Hypericum perforatum* on the MCF-7 human breast cancer cell line. *Cancer Cell International*, 16(3), 1-9.
103. Couldwell, W. T., Gopalakrishna, R., Hinton, D. R., He, S., Weiss, M. H., Law, R. E., Apuzzo, M. L. and Law, R. E. (1994). Hypericin: a potential antiglioma therapy. *Neurosurgery*, 35(4), 705-710.
104. Fox, F. E., Niu, Z., Tobia, A. and Rook, A. H. (1998). Photoactivated hypericin is an anti-proliferative agent that induces a high rate of apoptotic death of normal, transformed, and malignant T lymphocytes: implications for the treatment of cutaneous lymphoproliferative and inflammatory disorders. *Journal of Investigative Dermatology*, 111(2), 327-332.
105. Thomas, C. and Pardini, R. S. (1992). Oxygen dependence of hypericin-induced phototoxicity to EMT6 mouse mammary carcinoma cells. *Photochemistry and Photobiology*, 55(6), 831-837.
106. Manoharan, S., Panjamurthy, K., Menon, V. P., Balakrishnan, S. and Alias, L. M. (2009). Protective effect of Withaferin-A on tumour formation in 7,12-dimethylbenz[a]anthracene induced oral carcinogenesis in hamsters. *Indian Journal of Experimental Biology*, 47(1), 16-23.
107. Balakrishnan, S., Menon, V. P. and Manoharan, S. (2008). Ferulic Acid Inhibits 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-induced Hamster Buccal Pouch Carcinogenesis. *Journal of Medicinal Food*, 11(4), 693-700.
108. Selvasundaram, R., Manoharan, S., Buddhan, R., Neelakandan, M. and Murali Naidu, R. (2018). Chemopreventive potential of esculetin in 7,12-dimethylbenz(a)anthracene-induced hamster buccal pouch carcinogenesis. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 448(1-2), 145-153.
109. Amjadi, I., Mohajeri, M., Borisov, A. and Hosseini, M. S. (2019). Antiproliferative Effects of Free and Encapsulated *Hypericum perforatum* L. Extract and Its Potential Interaction with Doxorubicin for Esophageal Squamous Cell Carcinoma. *Journal of Pharmacopuncture*, 22(2), 102-108.
110. Loro, L. L., Johannessen, A. C. and Vintermyr, O. K. (2002). Decreased expression of bcl-2 in moderate and severe oral epithelia dysplasias. *Oral Oncology*, 38(7), 691-698.

111. Singh, B. B., Chandler, F. W., Jr., Whitaker, S. B. and Forbes-Nelson, A. E. (1998). Immunohistochemical evaluation of bcl-2 oncoprotein in oral dysplasia and carcinoma. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics*, 85(6), 692-698.
112. Lauer, C., Volkl, A., Riedl, S., Fahimi, H. D. and Beier, K. (1999). Impairment of peroxisomal biogenesis in human colon carcinoma. *Carcinogenesis*, 20(6), 985-989.
113. Robbins, D. and Zhao, Y. (2011). The role of manganese superoxide dismutase in skin cancer. *Enzyme Research*, 2011, 409295.
114. Hiratsuka, S., Nakamura, K., Iwai, S., Murakami, M., Itoh, T., Kijima, H., Shipley, J. M., Senior, R. M. and Shibuya, M. (2002). MMP9 induction by vascular endothelial growth factor receptor-1 is involved in lung-specific metastasis. *Cancer Cell*, 2(4), 289-300.
115. Lipari, L., Mauro, A., Tortorici, S., Burruano, F., Leone, A., Spatola, G. F., Gerbino, M. B. and Tete, S. (2009). Immunohistochemical and transcriptional expression of the matrix metalloproteinases MMP-2 and MMP-9 in normal and pathological human oral mucosa. *Journal of Biological Regulators and Homeostatic Agents*, 23(4), 259-267.
116. Bennett, J. H., Morgan, M. J., Whawell, S. A., Atkin, P., Roblin, P., Furness, J. and Speight, P. M. (2000). Metalloproteinase Expression in Normal and Malignant Oral Keratinocytes: Stimulation of MMP-2 and -9 by Scatter Factor. *European Journal of Oral Sciences*, 108(4), 281-291.
117. Vilen, S. T., Salo, T., Sorsa, T. and Nyberg, P. (2013). Fluctuating roles of matrix metalloproteinase-9 in oral squamous cell carcinoma. *Scientific World Journal*, 2013, 920595.
118. Stokes, A., Joutsa, J., Ala-Aho, R., Pitchers, M., Pennington, C. J., Martin, C., Premachandra, D. J., Okada, Y., Peltonen, J., Grenman, R., James, H. A., Edwards, D. R. and Kahari, V. M. (2010). Expression profiles and clinical correlations of degradome components in the tumor microenvironment of head and neck squamous cell carcinoma. *Clinical Cancer Research*, 16(7), 2022-2035.
119. Luukkaa, H., Klemi, P., Leivo, I., Makitie, A. A., Irish, J., Gilbert, R., Perez-Ordonez, B., Hirsimaki, P., Vahlberg, T., Kivisaari, A., Kahari, V. M. and Grenman, R. (2010). Expression of matrix metalloproteinase-1, -7, -9, -13, Ki-67, and HER-2 in epithelial-myoepithelial salivary gland cancer. *Head and Neck*, 32(8), 1019-1027.
120. van der Loos, C. M., Meijer-Jorna, L. B., Broekmans, M. E., Ploegmakers, H. P., Teeling, P., de Boer, O. J. and van der Wal, A. C. (2010). Anti-human vascular endothelial growth factor (VEGF) antibody selection for immunohistochemical staining of proliferating blood vessels. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 58(2), 109-118.
121. Manoharan, S., Vasanthaselvan, M., Silvan, S., Baskaran, N., Kumar Singh, A. and Vinoth Kumar, V. (2010). Carnosic acid: a potent chemopreventive agent against oral carcinogenesis. *Chemico-Biological Interactions*, 188(3), 616-622.

122. Redza-Dutordoir, M. and Averill-Bates, D. A. (2016). Activation of apoptosis signalling pathways by reactive oxygen species. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1863(12), 2977-2992.
123. Kolanjiappan, K., Ramachandran, C. R. and Manoharan, S. (2003). Biochemical changes in tumor tissues of oral cancer patients. *Clinical Biochemistry*, 36(1), 61-65.
124. Bisswanger, H. (2017). *Enzyme Kinetics: Principles and Methods* (Third ed.). Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co.
125. Dominguez Jimenez, J. L., Pleguezuelo Navarro, M., Guiote Malpartida, S., Fraga Rivas, E., Montero Alvarez, J. L. and Poyato Gonzalez, A. (2007). [Hepatotoxicity associated with Hypericum (St. John's wort)]. *Gastroenterología y Hepatología*, 30(1), 54-55. doi:10.1157/13097456
126. Agollo, M. C., Miszputen, S. J. and Diament, J. (2014). Hypericum perforatum-induced hepatotoxicity with possible association with copaiba (*Copaifera langsdorffii* Desf):case report. *Einstein*, 12(3), 355-357.
127. Douros, A., Bronder, E., Andersohn, F., Klimpel, A., Kreutz, R., Garbe, E. and Bolbrinker, J. (2016). Herb-Induced Liver Injury in the Berlin Case-Control Surveillance Study. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(1).





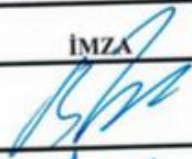
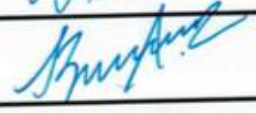
EKLER

EK-1: Etik kurul onayı

Evrak Tarih ve Sayısı: 09/05/2017-E.67715		
	T.C. GAZİ ÜNİVERSİTESİ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı	
Sayı : 66332047-604.01.02- Konu : Değerlendirme ve Onay		
Sayın Prof. Dr. İnci Rana KARACA Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı Başkanlığı - Öğretim Üyesi		
Araştırmacı grubu İnci Rana KARACA, Dilara Nur ÖZTÜRK, Aysel UĞUR, Nurdan SARAÇ, Fevziye Figen KAYMAZ, Ayşegül FIRAT, Hasan Serdar ÖZTÜRK'ten oluşan G.Ü.ET-17.033 kod numaralı ve "<i>Hypericum Perforatum'un Antioksidan Özelliğinin Oral Kanserlerin Önlenmesi Üzerindeki Etkinliği</i>" başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.		
Bilgilerinizi rica ederim.		
It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-17.033 and entitled "<i>The efficacy of the antioxidant property of Hypericum perforatum on prevention of oral cancers</i>" is in compliance with Gazi University Animal Experiments Local Ethics Committee regulations.		
With my best regards.		
e-imzalıdır Prof. Dr. Abdulkadir BEDİRLİ Kurul Başkanı		
Hayvan Türü : Rat Wistar (Erkek) Hayvan Sayısı : 30		
Ek:1 Liste		
Ankara Tel:0 (312) 202 20 57 - 0 (312) 2... Faks:0 (312) 202 38 76 e-Posta :hadyek@gazi.edu.tr İnternet Adresi :http://hadyek.gazi.edu.tr/	Bilgi için :Esengül BOŞNAK Genel Evrak Sorumlusu	
Bu belge 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. Maddesi gereğince güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.		

EK-1. (devam) Etik kurul onayı

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU TOPLANTI KATILIM
LİSTESİ

TOPLANTI TARİHİ :05.05.2017		TOPLANTI SAYISI : 04	
ADI-SOYADI		İMZA	
Prof.Dr.Abdulkadir BEDİRLİ (Başkan)			
Uzm.Dr.Mürşide Ayşe DEMİREL (Başkan Yrd.)			
Prof.Dr.Suna ÖMEROĞLU		KATILAMADI	
Prof.Dr.Tuncay PEKER			
Prof.Dr.Fatma AKAR			
Prof.Dr.Emin Ümit BAĞRIAÇIK		KATILAMADI	
Doç.Dr.Mecit Orhan ULUDAĞ			
Doç.Dr.Süleyman YEŞİL			
Doç.Dr.Emre BARIŞ			
Doç.Dr.İpek SÜNTAR		KATILAMADI	
Doç.Dr.Neşet Volkan ASAR			
Vet.Hek.Burcu AVCI			
Osman İÇ		KATILAMADI	

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : ÖZTÜRK, Dilara Nur
 Uyruğu : T.C.
 Doğum tarihi ve yeri : 16.12.1990, Selçuklu/KONYA
 Medeni hali : Bekar
 Telefon : 05065040706
 e-mail : dilaranurozturk@gmail.com



Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Doktora	Gazi Üniversitesi Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı	Devam Ediyor
Lisans	Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	2014
Lise	Ankara Atatürk Anadolu Lisesi	2008

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2015-devam ediyor	Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	Doktora Öğrencisi

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar

- KARACA İR, ÖZTÜRK DN, ULUTÜRK H. Re: Byung-Do Lee, Wan Lee, Kyung-Hwan Kwon, Moon-Ki Choi, Eun-Joo Choi and Jung-Hoon Yoon. Glandular Odontogenic Cyst Mimicking Ameloblastoma in a 78-Year-Old Female: A Case Report. Imaging Science In Dentistry 45(2), 137-138 (2015). (Alan indeksi)
- KARACA İR, ULUĞ B, KODAZ T, ÖZTÜRK DN. Re: Significantly Decreased Recurrence Rates in Keratocystic Odontogenic Tumor with Simple Enucleation and Curettage Using Carnoy's Versus Modified Carnoy's Solution? Journal of Oral and Maxillofacial Surgery. 74(6), 1103-1104 (2016). (SCI)

3. KARACA İR, **ÖZTÜRK DN**. Diş Hekimliği Açısından Riskli Sistemik Hastalıklar ve Bu hastalıklara Bağlı Oluşabilecek Acil Durumlar: Bölüm 1- Sistemik Hastalıklar. Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi Supplement 16, 147-156 (2016). (ULAKBİM, TR DİZİN)
4. **ÖZTÜRK DN**, KARACA İR. Diş Hekimliği Açısından Riskli Sistemik Hastalıklar ve Bu hastalıklara Bağlı Oluşabilecek Acil Durumlar: Bölüm 2- Sistemik Acil Durumlar ve Müdahaleleri. Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi Supplement 16, 157-163 (2016). (ULAKBİM, TR DİZİN)
5. **ÖZTÜRK DN**, KARACA İR. Çenelerde Görülen Osteomyelit. Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi Supplement 16, 164-169 (2016). (ULAKBİM, TR DİZİN)
6. KARACA İR, ERGÜN G, **ÖZTÜRK DN**. Is Low-level laser therapy and gaseous ozone application effective on osseointegration of immediately loaded implants?. Nigerian Journal of Clinical Practice, 21(6), 703-710 (2018). (SCI-E)
7. UĞUR A, SARAÇ N, KARACA İR, **ÖZTÜRK DN**. Determination of the Free Radical Scavenging and Antimutagenic Activity of Mineral Trioxide Aggregate, Root Canal Treatment Material Used In Dentistry. International Journal of Medical Science and Clinical Invention, 5(10), 4110-4114 (2018). (Alan indeksi)
8. KARACA İR, **ÖZTÜRK DN**. Oral cancer: Etiology and risk factors. Journal of Cancer Research and Therapeutics, 15(3), 739 (2019). (SCI-E)
9. KARACA İR, **ÖZTÜRK DN**, AKINCI HO. Mandibular Torus Harvesting for Sinus Augmentation: Two-Year Follow-Up. Journal of Maxillofacial and Oral Surgery, 18(1), 61-64 (2019). (e-SCI)

Bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında (Proceeding) basılan bildiriler

1. YAMAN D, BOZKAYA S, BARIŞ E, **ÖZTÜRK D**, SEÇKİN A. (2015) Orta yaşlı kadın hasta palatinalde lokalize low-grade mukoeypidermoid karsinoma: olgu sunumu. Turkish Association of Oral and Maxillofacial Surgery 22nd International Scientific Congress, Bodrum, TURKEY. (Poster)
2. GİZLİ A, **ÖZTÜRK DN**, ÖĞÜTLÜ F, BOZKAYA S. (2016) Enucleation of comprehensive dentigerous cyst may cause pathological fracture case report. Turkish Association of Oral and Maxillofacial Surgery 23rd International Scientific Congress, Bodrum, TURKEY. (Poster)
3. RZAYEV S, SADIGOV O, **ÖZTÜRK DN**, BOZKAYA S. (2016) New surgical approach to disimpaction of an impacted maxillary canine: a case report. Turkish Association of Oral and Maxillofacial Surgery 23rd International Scientific Congress, Bodrum, TURKEY. (Poster)

4. ÖĞÜTLÜ F, **ÖZTÜRK DN**, GİZLİ A, CANPOLAT A, RZAYEV S. (2016) Surgically assisted maxillary expansion – a case report. Turkish Association of Oral and Maxillofacial Surgery 23rd International Scientific Congress, Bodrum, TURKEY. (Poster)
5. KARACA İR, AKINCI O, **ÖZTÜRK DN**. (2017) Mandibular Torus Harvesting for Sinus Augmentation: Two year follow up. FDI World Dental Congress 2017. Madrid, SPAIN. International Dental Journal, 67 Supplement 1: 2-247 (Poster)
6. KARACA İR, YAZAR H, **ÖZTÜRK D**. (2017) A traumatic ulcer mimicking malignancy in lateral margin of the tongue – a case report. Turkish Association of Oral and Maxillofacial Surgery 24th International Scientific Congress, Bodrum, TURKEY. (Poster)
7. **ÖZTÜRK DN**, AYRIKÇİL S, YÜCEL E. (2017) Management of a large dentigerous cyst in maxilla containing multiple impacted teeth. Turkish Association of Oral and Maxillofacial Surgery 24th International Scientific Congress, Bodrum, TURKEY. (Poster)
8. **ÖZTÜRK DN**, RAD DAVAJİ HN, BOZKAYA S, BARIŞ E. (2017) Staged approach in the treatment of a large nasopalatine duct cyst – a case report. Turkish Association of Oral and Maxillofacial Surgery 24th International Scientific Congress, Bodrum, TURKEY. (Poster)
9. BOZKAYA S, DUYGU N, BOZKAYA E, **ÖZTÜRK DN**. (2017) Treatment of an ankylosed permanent incisor with an implant supported porcelain crown in a sixteen-year-old man. Turkish Association of Oral and Maxillofacial Surgery 24th International Scientific Congress, Bodrum, TURKEY. (Poster)
10. UGUR A, SARAÇ N, KARACA İR, **ÖZTÜRK DN** (2018). The Inhibition of Oxidative Stress with St. John's Wort for Prevention of Oral Cancer. Turkish Association of Oral and Maxillofacial Surgery 25th International Scientific Congress, Girne, KKTC. (Poster)
11. **ÖZTÜRK DN**, ÖZTÜRK Ö, BOZKAYA S (2018). Resolution of idiopathic trigeminal neuralgia via cryoablation: 1-year follow up. Turkish Association of Oral and Maxillofacial Surgery 25th International Scientific Congress, Girne, KKTC. (Poster)
12. ATAÇ MS, **ÖZTÜRK DN**, GÜNDOĞDU M (2018). Submandibular hilar sialolith removal via intraoral approach. Turkish Association of Oral and Maxillofacial Surgery 25th International Scientific Congress, Girne, KKTC. (Poster)
13. KARACA İR, YAZAR H, **ÖZTÜRK DN** (2018). Diş Hekimlerinin Oral Kanserle İlişkili Şüpheli Lezyonlar/ Durumlar Hakkındaki Farkındalıkları. TDB 24. Uluslararası Dişhekimliği Kongresi ve Expodental 2018, Ankara, TURKEY. Türkiye Klinikleri Diş Hekimliği Bilimleri Dergisi, 24 Supplement 2: s304 (Sözlü Sunum)

14. **ÖZTÜRK DN**, FIRAT A, KAYMAZ FF, KARACA İR (2019). Comparison of the effects of *Hypericum perforatum* and *Liquidambar orientalis* extracts on carcinogen applied rat oral mucosa. Turkish Association of Oral and Maxillofacial Surgery 26th International Scientific Congress, Girne, KKTC. (Sözlü sunum)
15. **ÖZTÜRK DN**, ÖZTÜRK HS, KARACA İR (2019). Comparison of the Effects of *Hypericum perforatum* and *Liquidambar orientalis* Extracts on the Oxidant-Antioxidant System in Experimental Cancer Model. Turkish Association of Oral and Maxillofacial Surgery 26th International Scientific Congress, Girne, KKTC. (Sözlü sunum)
16. **ÖZTÜRK DN**, ÖZTÜRK HS, KARACA İR (2019). The effects of *Liquidambar orientalis* oil extract on carcinogen applied rat oral mucosa. Turkish Association of Oral and Maxillofacial Surgery 26th International Scientific Congress, Girne, KKTC. (Sözlü sunum)
17. **ÖZTÜRK DN**, ÖZTÜRK HS, KARACA İR (2019). The effects of *Hypericum perforatum* extract on the oxidant-antioxidant system in carcinogen applied rat oral mucosa. Turkish Association of Oral and Maxillofacial Surgery 26th International Scientific Congress, Girne, KKTC. (Sözlü sunum)
18. **ÖZTÜRK DN**, ÖZTÜRK HS, KARACA İR (2019). Kanserojen Uygulanan Ratların Dil Dokusunda Sığla Yağı Ekstresinin Etkileri. TDB 25. Uluslararası Dişhekimliği Kongresi 2019, İstanbul, TURKEY. Türkiye Klinikleri Bilimsel Oturumlar: s180 (Sözlü Sunum)
19. **ÖZTÜRK DN**, ÖZTÜRK HS, KARACA İR (2019). *Hypericum Perforatum* Ekstresinin Oksidan / Antioksidan Sistem Üzerine Etkileri. TDB 25. Uluslararası Dişhekimliği Kongresi 2019, İstanbul, TURKEY. Türkiye Klinikleri Bilimsel Oturumlar: s787 (Poster)

Yazılan kitaplar veya kitap bölümleri

1. BOZKAYA S, KILINÇ Y, **ÖZTÜRK DN**, ÖZTÜRK Ö. (2019). Otojen Greft Uygulamalarında İntraoral Donör Bölgeler. UZEL İ, KÜRKÇÜ M (Ed.), Güncel Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Çalışmaları I (s. 135-162) içinde. Ankara: Akademisyen Yayınevi.
2. KARACA İR, **ÖZTÜRK DN**. (2019). Diş Hekimliği Pratiğinde Medikal-Acil Durumlar ve Tedavileri. UZEL İ, KÜRKÇÜ M (Ed.), Güncel Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Çalışmaları I (s. 191-214) içinde. Ankara: Akademisyen Yayınevi.

Projeler

1. Hypericum perforatum ekstraktının antioksidan özelliğinin oral kanserlerin önlenmesi üzerindeki etkinliği (03/2017-15). Yükseköğretim Kurumları tarafından destekli Bilimsel Araştırma Projesi (BAP), Yardımcı araştırmacı, 27.07.2017-17.12.2018 (ULUSAL)
2. Oral kanserlerin önlenmesinde yeni bir yaklaşım: Sığla yağı (styrax liquidus) (03/2017-19). Yükseköğretim Kurumları tarafından destekli Bilimsel Araştırma Projesi (BAP), Yardımcı araştırmacı, 28.09.2017-18.02.2019 (ULUSAL)

Bilimsel Kuruluşlara Üyelikler

- Türk Dişhekimleri Birliği
- Türk Oral ve Maksillofasial Cerrahi Derneği
- International Team for Implantology

Hobiler

Yüzme, voleybol, sinema, tiyatro, müzik, kitap okumak



GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR..

