

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

***OLEA EUROPAEA, NIGELLA SATIVA VE ROSEMARINUS  
OFFICINALIS* BİTKİLERİNDEN HAZIRLANAN YAĞ  
KOMBİNASYONUNUN ANTİVİRAL VE YARA İYİLEŞMESİNE  
ETKİLERİNİN *İN VİTRO* ARAŞTIRILMASI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Sevinç YANAR**

**Enstitü Anabilim Dalı : Histoloji ve Embriyoloji**

**Tez Danışmanı : Prof. Dr. Elvan ÖZBEK**

**HAZİRAN-2015**

T.C.  
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

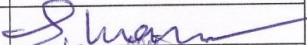


*OLEA EUROPAEA, NİGELLA SATİVA VE ROSEMARİNUS  
OFFİCINALİS* BİTKİLERİNDEN HAZIRLANAN YAĞ  
KOMBİNASYONUNUN ANTİVİRAL VE YARA İYİLEŞMESİNE  
ETKİLERİNİN *İN VİTRO* ARAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Sevinç YANAR

Enstitü Anabilim Dalı : Histoloji ve Embriyoloji

“Bu tez .../201.. tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Oybirliği / Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.”

JÜRİ ÜYESİ	KANAATI	İMZA
Prof.Dr.Elvan Özbek	BAŞARILI	
Doç.Dr. Mustafa Kemal Gökçe	Başarılı	
Doç.Dr. Mehmet Köröğül	Başarılı	

## BEYAN

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

10/06/2015

Sevinç Yanar



## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca her konuda ilgi ve desteğini benden esirgemeyen, öneri ve eleştirileriyle beni daima yönlendiren tez danışmanım değerli hocam Sayın Prof. Dr. Elvan Özbek'e, tez çalışmamın planlanması ve yürütülmesi süresince bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşarak bana yol gösteren sayın hocam Doç. Dr. Ahmet Özbek'e, lisans eğitimimden bu yana ilgi ve desteğini her zaman arkamda hissettiğim ve her türlü imkânı bana sunan değerli hocam Prof. Dr. Fikrettin Şahin'e, yüksek lisansım süresince bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım Doç.Dr. Nurettin Cengiz'e, tezime sağladığı değerli katkıları için Doç. Dr. Mehmet Köroğlu'na,

Laboratuvar çalışmalarım süresince kıymetli tecrübesi ile bana her aşamada destek olan sevgili arkadaşım Burçin Asutay'a ve Serli Canikyan'a, çalışma arkadaşlarım Zehra Yüce ve Kasım Güneş'e,

Eğitimimin her aşamasında ve hayatımın her alanında maddi ve manevi desteklerini benden esirgemeyen aileme, bilhassa her zaman yanımda olan ve aldığım her kararda beni destekleyen sevgili eşim Meriç Yanar'a ve mutluluk kaynağımız sevgili oğlum Ali Aras Yanar'a teşekkürü bir borç bilirim.

## İÇİNDEKİLER

BEYAN.....	i
TEŞEKKÜR.....	ii
İÇİNDEKİLER .....	iii-iv
KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ .....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
TABLolar DİZİNİ .....	vii
RESİMLER DİZİNİ.....	viii
1.GİRİŞ VE AMAÇ .....	1-2
2.GENEL BİLGİLER .....	3
2.1. GELENEKSEL, TAMAMLAYICI VE ALTERNATİF TIP.....	3
2.1.1. Tanımı ve Kapsamı.....	3
2.1.2. Geleneksel, Tamamlayıcı ve Alternatif Tıp Alanında Güncel Durum ....	4-6
2.1.3. Geleneksel, Tamamlayıcı ve Alternatif Tıp Yöntemleri .....	6-7
2.1.4. Bitkisel Tedaviler.....	7-8
2.2. <i>OLEA EUROPAEA</i> .....	8
2.2.1. Genel Özellikleri.....	8-9
2.2.2. Biyoaktif Bileşenler ve Sağlık Üzerine Etkileri .....	9-11
2.3 <i>NİGELLA SATİVA</i> .....	11
2.3.1. Genel Özellikleri.....	11-13
2.3.2. Biyoaktif Bileşenler ve Sağlık Üzerine Etkileri .....	13-15
2.4. <i>ROSMARİNUS OFFİCİNALİS</i> .....	15
2.4.1. Genel Özellikleri.....	15-16
2.4.2. Biyoaktif Bileşenler ve Sağlık Üzerine Etkileri .....	17-18
2.5. DERİ.....	18-19
2.5.1. Epidermis.....	19-20
2.6. YARA.....	21
2.6.1. Yara Çeşitleri .....	21

2.6.2. Yara İyileşmesi .....	21-22
2.6.3. Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler .....	22
3.GEREÇ VE YÖNTEM .....	23
3.1. KİMYASALLAR VE EKİPMANLAR .....	23
3.1.1. Kimyasallar .....	23
3.1.2. Laboratuvar Ekipmanları .....	23-24
3.1.3. Hücre Hatları ve Virüs Suşları.....	25
3.1.4. Bitkisel Yağlar .....	25
3.2. HÜCRE KÜLTÜRÜ .....	25
3.2.1. Hücre Kültürü Medyumunun Hazırlanışı .....	25-26
3.2.2. Hücrelerin Pasajlanması .....	26
3.2.3. Hücrelerin Dondurulması ve Saklanması .....	26
3.3. YAĞ KOMBİNASYONUNUN DOZUNUN BELİRLENMESİ .....	27
3.3.1. Hücre Proliferasyon Analizi .....	27-28
3.4. YARA İYİLEŞMESİ TESTİ.....	29-30
3.5. ANTİVİRAL ETKİNLİK ANALİZİ .....	30
3.5.1. Virüs Titrasyonunun Belirlenmesi.....	31
3.5.2. Temiz ve Kirlili Ortam Hazırlığı .....	31
3.5.3. Antiviral Etkinliğin Belirlenmesi .....	31-32
3.6. İSTATİSTİKSEL ANALİZ.....	33
4.BULGULAR .....	34
4.1. YAĞ KOMBİNASYONUNUN SİTOTOKSİK ETKİSİNİN BELİRLENMESİ .....	34-36
4.2. YARA İYİLEŞME HIZININ DEĞERLENDİRİLMESİ.....	36-46
4.3. ANTİVİRAL ETKİNLİĞİN BELİRLENMESİ.....	46-48
5.TARTIŞMA VE SONUÇ .....	49-58
6. ÖZET.....	59
KAYNAKLAR .....	61-77
ÖZGEÇMİŞ .....	78-80

## KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ

BSA	Bovine Serum Albumin
CAM	Complementary and Integrative Health
DMEM	Dulbecco's Modified Essential Medium
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
EPA	Environmental Protection Agency
FBS	Fetal bovin serum
GTAT	Geleneksel, Tamamlayıcı ve Alternatif Tıp
HIV-1	Human Immunodeficiency Virus type 1
HSV	Herpes Simplex Virus
ILTV	Enfeksiyöz Laringo-Trakeitis Virüsü
LDL	Low Density Lipoprotein
MCMV	Murin Sitomegalovirüs
MEM	Minimum Essential Medium
MTS	3-(4,5-dimethyl-thiazol-2-yl)-5-(3-carboxy-methoxyphenyl)-2-(4-sulfo-phenyl)-2H-tetrazolium
NCCAM	National Center for Complementary and Integrative Health
NIH	National Institute Of Health (Ulusal Sağlık Enstitüsü)
PBS	Phosphate Buffered Saline
PSA	Penisilin Streptomisin Amfoterisin B
TSE	Türk Standartları Enstitüsü
T80	Tween 80
VHSV	Viral Hemorajik Septisemi Virüsü

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<b>Şekil 1.</b> Farklı T80 konsantrasyonlarında HaCat hücre viabilitesi .....	35
<b>Şekil 2.</b> Farklı yağ kombinasyonu konsantrasyonlarında HaCat hücre viabilitesi ....	36
<b>Şekil 3.</b> T80 grubunda yara kapanma miktarı.....	45
<b>Şekil 4.</b> Yağ kombinasyonu grubunda yara kapanma miktarı.....	46
<b>Şekil 5.</b> Farklı sürelerde temiz ortamda T80 ve yağ kombinasyonu uygulanan deney gruplarında adeno virüs titresi.....	47
<b>Şekil 6.</b> Farklı sürelerde kirli ortamda T80 ve yağ kombinasyonu uygulanan deney gruplarında adeno virüs titresi.....	47
<b>Şekil 7.</b> Farklı sürelerde temiz ortamda T80 ve yağ kombinasyonu uygulanan deney gruplarında polio virüs titresi .....	48
<b>Şekil 8.</b> Farklı sürelerde kirli ortamda T80 ve yağ kombinasyonu uygulanan deney gruplarında polio virüs titresi .....	48



## TABLolar DİZİNİ

<b>Tablo 1.</b> <i>Olea europae</i> L. Bitkisinin bilimsel sınıflandırması.....	8
<b>Tablo 2.</b> <i>Nigella sativa</i> bitkisinin bilimsel sınıflandırması .....	12
<b>Tablo 3.</b> <i>Rosmarinus officinalis</i> bitkisinin bilimsel sınıflandırması.....	13

## RESİMLER DİZİNİ

<b>Resim 1.</b> ELISA plak okuyucu .....	24
<b>Resim 2.</b> 96 kuyucuklu plak .....	28
<b>Resim 3.</b> İnvirt mikroskop .....	30
<b>Resim 4.</b> İnkübatör.....	32
<b>Resim 5.</b> Yağ kombinasyonu uygulanan grubun ve kontrol grubunun hücre kültüründe çizik oluşturulduktan hemen sonra invert mikroskop görüntüsü.....	37
<b>Resim 6.</b> Yağ kombinasyonu uygulanan grubun ve kontrol grubunun hücre kültüründe çizik oluşturulduktan 12 saat sonra invert mikroskop görüntüsü .....	38
<b>Resim 7.</b> Yağ kombinasyonu uygulanan grubun ve kontrol grubunun hücre kültüründe çizik oluşturulduktan 24 saat sonra invert mikroskop görüntüsü .....	39
<b>Resim 8.</b> Yağ kombinasyonu uygulanan grubun ve kontrol grubunun hücre kültüründe çizik oluşturulduktan 36 saat sonra invert mikroskop görüntüsü .....	40
<b>Resim 9.</b> T80 uygulanan grubun ve kontrol grubunun hücre kültüründe çizik oluşturulduktan hemen sonra (0. Saatte) invert mikroskop görüntüsü .....	41
<b>Resim 10.</b> T80 uygulanan grubun ve kontrol grubunun hücre kültüründe çizik oluşturulduktan 12 saat sonra invert mikroskop görüntüsü .....	42
<b>Resim 11.</b> T80 uygulanan grubun ve kontrol grubunun hücre kültüründe çizik oluşturulduktan 24 saat sonra invert mikroskop görüntüsü .....	43
<b>Resim 12.</b> T80 uygulanan grubun ve kontrol grubunun hücre kültüründe çizik oluşturulduktan 36 saat sonra invert invert mikroskop görüntüsü .....	44

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Geleneksel, Tamamlayıcı ve Alternatif Tıp (GTAT) modern tıbbi tedaviye ek olarak veya onun yerine kullanılan bir takım tedavi yöntemlerini tanımlamaktadır. GTAT uygulamaları tüm dünyada ve tüm yaş gruplarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Çeşitli kanser türleri, multipl skleroz, romatolojik hastalıklar, HIV enfeksiyonu ve astım gibi hastalıklarda kullanım sıklığının iki kat daha fazla olduğu bildirilmektedir (Zollman and Vickers 1999, Kurt, Bavbek, Pasaoğlu, Abadoğlu, Misirligil 2004, Moquin and Blackman 2009).

Son yıllarda hem sağlığı koruma hem de çeşitli hastalıkların tedavisi konusunda GTAT kullanımında tüm dünya genelinde bir artış olduğu görülmektedir (CAM Research Methodology Conference 1995, Karayağız 2008). Halk arasında kullanımının yanı sıra biyomedikal literatürde de GTAT oldukça popüler hale gelmiştir. Bu popülerite birçok faktörü içerir; tamamlayıcı ve alternatif tedavi ürünlerine kolayca erişilmesi, toplumun inançlarının alternatif tıbbın etkili olduğu yönünde olması, karşılanamayan sağlık gereksinimleri, sosyokültürel özellikler, davranışlar ve tutumlar bunlar arasında sayılabilir (Herman, Allen, Hunt, Prasad and Brady 2004). Diğer bütün dünya ülkelerinde olduğu gibi ülkemizde de GTAT yöntemleri hastalıkların tedavisinde çeşitli aşamalarda tercih edilmektedir. Özellikle kanser, migren gibi tıbbi tedavilerinde zorluk yaşanan hastalıkların, şeker hastalığı, yüksek tansiyon, bronşiyal astım, epilepsi gibi süreğen hastalıkların, üst solunum yolu enfeksiyonları gibi sık görülen hastalıkların tedavisinde başta bitkisel terapiler olmak üzere GTAT yöntemlerinden sıklıkla faydalanılmaktadır (Kalpaklıoğlu 2005, Karayağız 2008).

Bitkisel tıp tüm dünyada en sık kullanılan GTAT yöntemlerinden birisidir. Halen dünya nüfusunun %80'inin sağlıklarını koruma ve çeşitli rahatsızlıkların tedavisinde

bitkisel ürünlere başvurduğu tahmin edilmektedir (Topuz 2008). Son yıllarda sentetik ilaç kullanımıyla ortaya çıkan ciddi yan etkiler, modern tıp yöntemleri ile birçok kronik hastalığın tam olarak iyileşememesi ve doğal ürünlerin etkili ve zararsız olacağı düşüncesi gibi faktörlere bağlı olarak bitkisel tedavi yeniden popülerlik kazanmıştır (Şarışen ve Çalışkan 2005).

*Olea europaea* (zeytin) güçlü antioksidan etkisi çeşitli çalışmalar ile kanıtlanmış (Burak ve Çimen 1999) bunun yanı sıra antimikrobiyal özelliklere sahip (Coşkun 2006), antitrombotik, antiinflamatuvar, hipokolesterolemik, antimikrobiyal ve antiviral gibi çok yönlü biyolojik etkileri olduğu ortaya konmuş bir bitkidir (Aktas ve Basmacıoğlu-Malayoğlu 2011). Ayrıca zeytinin hipotansif, hipoglisemik, antihelmantik, antiseptik olarak ve ayrıca saç dökülmesine karşı kullanıldığı da belirtilmiştir (Ziyyat et al 1997). *Nigella sativa* (çörekotu) ile yapılan bilimsel çalışmalar bu bitkinin antikanserojenik (Kaseb et al 2007), antitümöral (Badary 1999), antiülserojenik (Kanter, Coşkun, Budancamanak 2005), antibakteriyel (Halawani 2009), antiinflamatuvar, analjezik (Abdel-Fattah, Matsumoto, Watanabe 2000), antioksidan (Badary, Abdelnaim, Abdel-Wahap, Farid, Hamada 2000), hipoglisemik (Badary, Al-Shabanah, Nagı, Al Bekarı, Elmazar 1998, Badary 1999) ve bağışıklık sistemini güçlendirici (Salem 2005) etkilerinin olduğunu göstermektedir. *Rosmarinus officinalis* L. (biberiye) de benzer olarak antibakteriyel, antioksidan, antiviral, immunojen etkileri çeşitli araştırmalar ile gösterilmiş ve aynı zamanda kanamayı durdurucu, antiseptik, mideyi iyileştiren ve karminatif etkiye sahip bir bitkidir (Gachkar et al 2007, Banyai, Tulok, Hgedüs, Renner and Varga 2003). *R. officinalis* L. bitkisinden elde edilen uçucu yağ ve ekstratların; antikanser, antimikrobiyal, anti-HIV gibi önemli bir dizi biyolojik aktiviteye daha sahip olduğu da ortaya konmuştur (Sotelo-Felix et al 2002).

Bu çalışmada geleneksel tıpta çok yönlü etkileriyle bilinen *Olea europaea*, *Nigella sativa* ve *Rosmarinus officinalis* L. bitkilerinden özel olarak hazırlanan, Orta ve Doğu Anadolu'da pek çok rahatsızlığın tedavisinde kullanılan bir karışımın antiviral etkinliğini belirlemeyi ve yara iyileşme sürecine katkısını irdelemeyi amaçlamaktayız.

## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1. GELENEKSEL, TAMAMLAYICI VE ALTERNATİF TIP**

Hem sağlığı koruma hem de çeşitli hastalıkların tedavisi konusunda son yıllarda gelişmiş ülkelerde de modern tıp dışındaki yollara başvurma oranında bir artış olduğu gözlemlenmektedir (Ernst and White 2000, Furnham 2002, Tindle, Davis, Phillips and Eisenberg 2005). Bu yollar genel olarak geleneksel, tamamlayıcı veya alternatif tıp olarak isimlendirilmektedir.

#### **2.1.1. Tanımı ve Kapsamı**

Geleneksel, Tamamlayıcı ve Alternatif Tıp (GTAT) konvansiyonel temel tıbbi tedaviye ek olarak veya onun yerine kullanılan bir dizi tedavi yöntemlerini tanımlamaktadır. Tamamlayıcı tıp, alternatif tıp ve GTAT'ın tanımları ülkeden ülkeye, hekimden hekime hatta hastadan hastaya farklılık göstermektedir. Tamamlayıcı tıp hastaların konvansiyonel tedavilerin yanında ilave olarak başvurdukları tedavi yaklaşımıdır. Alternatif tıp ise konvansiyonel tedaviler yerine başvuru alan yöntemlerdir. GTAT konvansiyonel tedaviler dışında kalan tüm uygulamalar için kullanılan genel bir tanımdır (Uğurluer, Karahan, Edirne, şahin 2007). Bu yöntemlerin çoğu bilimsel araştırmalarla desteklenmemiş, uzun süreli tecrübeye ve geleneklere dayanan tedavi şekilleridir (Özçelik ve Akyol 2005). Birleşmiş Milletler Ulusal Sağlık Enstitüsü tarafından yapılan tanımlamaya göre GTAT; belirli bir zaman dilimi içinde, belli bir toplum veya kültürdeki politik olarak baskın olan sağlık sisteminin dışında kalan bütün sağlık hizmetlerini, yöntemlerini, uygulamalarını ve bunlara eşlik eden teori ve inançları kapsayan geniş bir sağlık alanıdır (CAM Research Methodology Conference 1995). GTAT yöntemlerinin etkinliği bilimsel olarak kanıtlamak ve güvenilirliğini incelemek amacıyla 1991'de Amerika Birleşik Devletleri'nde Ulusal Sağlık Enstitüsü'ne (NIH) bağlı Ulusal Tamamlayıcı ve Alternatif Tıp Merkezi (NCCAM) kurulmuştur. Bu merkez, GTAT'ı

geleneksel tıbbın bir parçası olarak kabul edilmeyen ürünler, uygulamalar ve sağlık bakım sistemleri olarak tanımlamaktadır (<http://nccam.nih.gov>, Erişim tarihi: Mart 2011)

### **2.1.2. Geleneksel, Tamamlayıcı ve Alternatif Tıp Alanında Güncel Durum**

GTAT uygulamaları tüm dünyada ve tüm yaş gruplarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Çeşitli kanser türleri, multipl skleroz, romatolojik hastalıklar, HIV enfeksiyonu ve astım gibi hastalıklarda kullanım sıklığının iki kat daha fazla olduğu bildirilmektedir (Zollman and Vickers 1999, Kurt ve ark 2004, Moquin and Blackman 2009). Son yıllarda GTAT kullanımında tüm dünya genelinde bir artış olduğu görülmektedir (CAM Research Methodology Conference 1995, Karayağız 2008). Sadece internette ve medyada değil, aynı zamanda biyomedikal literatürde de önemli bir yere sahip hale gelmiştir. 1966 yılından bu yana sadece Medline’da başlıklarında veya özetlerinde tamamlayıcı tıp, alternatif tıp veya GTAT terimini taşıyan 46 binden fazla referans olduğu görülmektedir (Ramos-Remus 2008). GTAT’ın bu kadar popüler olmasının nedenleri birçok faktörü içerir; tamamlayıcı ve alternatif tedavi ürünlerine kolayca erişilmesi, toplumun inançlarının alternatif tıbbın etkili olduğu yönünde olması, karşılanamayan sağlık gereksinimleri, sosyokültürel özellikler, davranışlar ve tutumlar bunlar arasında sayılabilir. Öte yandan bitkisel ilaçların tanıtımının medya ve internet siteleri aracılığıyla kolaylıkla yapılabilmesi, yayınlanan popüler kitaplar ve genellikle besin desteği olarak pazarlanabilmesi ilgiyi daha da artırmıştır (Herman et al 2004). Günümüzde kronik hastalıkların başlıca hastalık veya ölüm nedeni olması ve pek çoğunda modern tıp tedavilerinin tam başarı sağlayamaması gibi nedenlerle hem hastalar hem de sağlık profesyonelleri zaman zaman değişik arayışlara girmektedir. Yine sağlık hizmetlerine ulaşmadaki güçlükler de bu tür arayışları artırmaktadır (Zollman and Vickers 1999). Yapılan çalışmalarda yetişkinlerde tamamlayıcı ve alternatif tedavilerin kullanım prevalansının %9-65 oranında değiştiğini ve kullanım oranlarının yıllara göre giderek arttığı saptanmıştır (Yavuz, İlçe, Kaymakçı, Bildik ve Dıramalı 2007).

GTAT başlıca gelişen dünyanın tüm bölgelerinde ve endüstrileşmiş ülkelerde hızla yayılmaktadır. Avrupa, Kuzey Amerika ve endüstrileşmiş diğer bölgelerde toplumun

%50'den fazlası GTAT yöntemlerinden en az birini kullanmaktadır. San Francisco, Londra ve Güney Afrika'da HIV/AIDS'li insanların %75'i alternatif tıbbi kullanmaktadır. 1995-2000 yılları arasında doğal tıbbi ilaçları alanlarla karşılaşan doktor sayısı hemen hemen iki katına çıkmıştır (<http://www.who.int>).

GTAT'a adanmış dergilerin çeşitliliği ve çokluğu, ayrıca bu dergilerin ortaya çıktığı ülkeler oldukça ilginç bir olgudur. Ulrich Global Serials Directory'ye göre GTAT dergisi olarak sınıflandırılan 358 aktif bilimsel dergiler vardır. Şaşırtıcı olmamakla beraber, Çin, GTAT dergi yayınlarında lider ülke konumundadır. Birçok popüler alternatif tıp yöntemleri Çin kökenli olup buradan Batı tıp ve kültürüne yayılmıştır. Aynı durum yüzyıllardır çeşitli alternatif tıp yöntemlerinin uygulandığı Hindistan için de geçerlidir. Amerika Birleşik Devletleri, Kanada, Kuzey Amerika ve Avrupa'da Birleşik Krallık, Almanya, Fransa gibi önde gelen Batılı ülkelerin bu konuda lider durumda olduklarını görmek ise ilginç bir durumdur. Bu durum GTAT yöntemlerinin Batı dünyasında yüksek bir kullanım oranına sahip olduğunun bir göstergesidir (Halevi 2013).

Son yıllarda GTAT dergilerinin sayısındaki artış GTAT alanına karşı artan bilimsel ilgi hakkında çok şey anlatmaktadır. Konuyla ilgili yayınlanan dergilerin sayısında artış en çok 1960'lı yıllardan 1980'li yıllara ve 1990'lardan 2000'lere geçişte görülmektedir. GTAT odaklı bilimsel dergilerdeki büyüme konuyla ilgili araştırma projelerine sağlanan maddi desteğin artmasıyla da ilişkilendirilmektedir. Örneğin, Amerika Birleşik Devletleri'nde NIH'e bağlı olarak kurulan NCCAM, GTAT araştırmaları için üniversite-tabanlı merkezleri finanse etmektedir. Bu fon hibe için başvuran araştırmacı sayısını arttırarak bu alandaki çalışmaların hızlanmasına katkıda bulunmuştur. Avrupa'da bulunan benzer bir fon 50'den fazla vakıf, üniversite ve araştırma merkezi bünyesinde GTAT çalışmalarını desteklemektedir (Halevi 2013).

Geleneksel ve tamamlayıcı tıp konusu yıllardan beri Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) Genel Kurullarının gündemine gelmektedir. *Geleneksel Tıp Alanında Araştırma ve Eğitimin Geliştirilmesi* (1977), *Tıbbi Bitkiler* (1978), *Geleneksel Tıp* (1987), *Geleneksel Tıp ve Tıbbi Bitkiler* (1988), *Geleneksel Tıp ve Modern Sağlık Hizmetleri*

(1989, 1991) başlıkları altında kararlar kabul edilmiştir. Bu sürede akupunktur ve bitkisel tedavileri konu alan birçok rapor yayımlanmıştır. “*Geleneksel Tıp Araştırma ve Değerlendirme Metodolojileri Rehberi (2000)*” ve “*Geleneksel Tıp /Alternatif ve Tamamlayıcı Tıbbın Dünyadaki Yasal Durumu (2001)*” ile “*DSÖ Geleneksel Tıp Stratejisi 2002-2005*”adlı dokümanlar yayımlanmıştır. Küresel sağlık politikalarının geliştirilmesi ve uygulanmasında aktif rol oynayan DSÖ’nün geleneksel tıp konusunda da kayıtsız kalmadığı görülmektedir (Tokaç 2013).

### **2.1.3. Geleneksel, Tamamlayıcı ve Alternatif Tıp Yöntemleri**

GTAT yöntemlerini NCCAM; alternatif tıp sistemleri, zihin-beden tıbbı, biyoloji bazlı terapiler, manipülatif ve beden bazlı yöntemler ve enerji terapileri olmak üzere beş başlık altında toplayarak gruplandırmıştır (<http://nccam.nih.gov/news/camstats/costs>, Erişim: Mart 2012):

**1.Alternatif Tıp Sistemleri:** Ayurvedik Tıp, Geleneksel Çin Tıbbı, Geleneksel Tibet Tıbbı gibi geleneksel doğu tıp sistemlerini ve Homeopati, Naturopati gibi batıda gelişen terapi sistemlerini kapsar.

**2.Zihin-Beden Tıbbı:** Zihinsel uygulamalarla beden sağlığını etkilemeyi amaçlayan yöntemlerdir. Müzik terapisi, spiritual iyileşme, meditasyon, psikolojik görüşmeler, dua ve yoga bu yöntemlerdendir.

**3.Biyoloji Bazlı Terapiler:** Bitkiler, vitaminler, diyet destek ürünleri, tıbbi bitki çayları ve diğer doğal ürünler bu guruptandır.

**4.Manipülatif ve Beden Bazlı Yöntemler:** Bedenin hareketine dayalı yöntemlerdir. Şiropatik, Osteopati, Cranio-Sakral Terapi, Masaj, Alexander Tekniği bu tür yöntemlerdendir.

**5-Enerji Terapileri:** Bedenin doğal enerji alanlarıyla çalışan iki tür enerji terapisi vardır: bedenin biyo-elektromanyetik enerji alanıyla çalışanlar ve bedenin “biyoalanları” veya “sübtıl enerji” alanlarıyla çalışanlar. Biyo-elektromanyetik



terapiler; mıknatıslar ve değişken ya da doğrudan akım alanları ile uygulanan terapilerdir. Biyo-alan terapileri ise akupunktur, akupresür, biyoenerji, nefes çalışması, çakra terapisi, duygusal özgürleşme teknikleri, qi gung, refleksoloji, reiki, shiatsu, tai chi gibi terapileri içerir (<http://nccam.nih.gov/news/camstats/costs>, Erişim: Mart 2012).

#### **2.1.4. Bitkisel Tedaviler**

Bitkisel tıp (Herbalizm, Fitoterapi) tüm dünyada en sık kullanılan GTAT yöntemlerinden birisidir. Halen dünya nüfusunun %80'inin sağlıklarını koruma ve çeşitli rahatsızlıkların tedavisinde bitkisel ürünlere başvurduğu tahmin edilmektedir. Dünyadaki az gelişmiş ülkelerin büyük çoğunluğunda bitkisel terapiler, bütün hastalık türlerinin tedavisinde ilaç amaçlı kullanılan tedavi şeklidir (Topuz 2008). Bitkilerin tedavide kullanımları insanlık tarihiyle birlikte başlamıştır. Modern tıpta kullanılan pek çok ilaç da bitkilerden elde edilmiştir. Geleneksel bitkisel tedavi farklı yaklaşımlara rağmen hemen her kültürün bir ögesidir. Batı herbalizminde bitkiler sıklıkla tek kullanılırken, Çin tıbbında karışımlar ağırlıktadır (Altun ve Özden 2004 ).

Bitkisel tedavi yöntemlerinin tarihi M.Ö. 3000'li yıllara kadar uzanmaktadır. Bu konuda ilk yazılı belge olan M.Ö. 3000 yıllarına ait Ninova tabletleri, Mezopotamya'da kurulan Sümer, Akat, Asur medeniyetlerinde bitkisel ve hayvansal ilaçlarla tedavilerin mevcut olduğunu kanıtlamaktadır. Hint tıbbının önemli isimlerinden Rig Veda eserlerinde 1000'e yakın, Yunan tıbbının önemli adlarından Eskulap ve modern tıbbın temeli olarak kabul edilen Hipokrat 400'e yakın ve "Tıp Kanunu" adlı eseri yazan İbn-i Sina ve Al Gafini 800'e yakın hayvansal ve bitkisel tedavilerden bahsetmişlerdir. Hastalıkları bitkiler kullanarak tedavi etme fikrinin ilk somut örneği 17. yüzyılda Fransa'da görülmektedir. "Fitoterapi" teriminin ilk kez 1870-1953 yılların arasında yaşamış Fransız hekimi Henri Lenclerc tarafından La Presse Medical adlı dergide kullanıldığı iddia edilmiştir (Şarışen ve Çalışkan 2005).

On dokuzuncu ve yirminci yüzyılda kimya ve biyokimya alanlarındaki laboratuvarlarda birçok ilaç geliştirilmesine imkân sağlamış, laboratuvar ortamında bitkiden gerekli etken madde alınarak modern ilaçlar üretilmeye başlamıştır. Ancak

geliştirilen ilaçların sadece dörtte biri bitkisel kökenlidir ve bunların birçoğunda bitkiden elde edilmek istenen etken madde, laboratuvar ortamında kopya edilmektedir. Son yıllarda sentetik ilaç kullanımıyla ortaya çıkan ciddi yan etkiler, modern tıp yöntemleri ile birçok kronik hastalığın tam olarak iyileşmemesi ve doğal ürünlerin etkili ve zararsız olacağı düşüncesi gibi faktörlere bağlı olarak bitkisel tedavi yeniden popülerlik kazanmıştır (Şarışen ve Çalışkan 2005).

## 2.2. OLEA EUROPAEA

### 2.2.1. Genel Özellikleri

*Olea europaea* (zeytin) *Oleaceae* familyasının *Olea* cinsine ait bir meyve türüdür. Zeytinin de dahil olduğu *Olea* cinsine ait 30 kadar tür, Akdeniz havzası ve çevresinde geniş bir yayılım göstermektedir (Besnard and Bervillé 2002). *Olea* cinsi çok sayıda tür ve alt türleri içermekte olup, bunların çoğu çalı formundadır. *O. europaea*'nın sistematikteki yeri tablo 1'de gösterilmiştir.

**Tablo 1.** *Olea europaea* L. bitkisinin bilimsel sınıflandırması

Bilimsel Sınıflandırma	
Âlem	Plantae (Bitkiler)
Bölüm	Magnoliophyta (Kapalı tohumlular)
Sınıf	Magnoliopsida (İki çenekliler)
Takım	Lamiales
Familya	Oleaceae (Zeytingiller)
Cins	<i>Olea</i>
Tür	<i>Olea europaea</i>
İkili adı	<i>Olea europaea</i> L.

Zeytinin kültüre alınmasının ilk kez M.Ö. 4000'lerde Anadolu, Doğu Akdeniz ve Güney Önasya'da Samiler tarafından gerçekleştirildiği düşünülmektedir. Zeytin fideleri, Fenikeliler aracılığı ile M.Ö. 2600-1600 arasında güneyde Mısır'a, batıda Kıbrıs ve Girit'e, M.Ö. 1400-1200'lerde Anadolu yoluyla Yunanistan'a, M.Ö. 700'lerde Kuzey Afrika'da Libya ve Tunus'a taşınmış ve zeytin kültürü bu şekilde Akdeniz'in iki yakasına yayılmıştır. Zeytin, dünyanın belirli bölgelerinde ekolojik açıdan kendine uygun yaşam alanları bulmuştur. (Davis 1978).

Ekonomik anlamda bakıldığında dünyanın 38 ülkesinde zeytin üretimi yapılmakta olup bu ülkelerin 30'u kuzey yarım kürede, 8'i ise güney yarım kürede yer almaktadır (Öztürk 2006). Kuzey yarım kürede bulunan üretim alanlarının büyük kısmı Akdeniz Havzası'nda yer almakla birlikte dünya zeytin üretiminin % 99'u buradan karşılanmaktadır. Bu nedenle, zeytin, Akdeniz ülkelerinin ekonomisinde, beslenmesinde ve kültüründe önemli bir yere sahiptir (Zamora, Alaiz and Hidalgo 2001). Dünya zeytin üretiminde önemli bir payı olan Türkiye'de 37 ilde zeytin yetiştiriciliği yapılmakta olup 157 155 819 adet zeytin ağacı bulunmaktadır (www.fao.org, Erişim tarihi: 20.02.2012).

Türkiye'nin ham tane zeytin üretimi ise 2007-2010 yılları ortalamasına göre 1 311 438 tondur. Bu sayılar göz önüne alındığında ülkemiz dünya genelinde zeytin üretimi bakımından 4. sırada, zeytin üretim alanı bakımından 5. sırada yer almaktadır (Aktas 2008).

### **2.2.2. Biyoaktif Bileşenler ve Sağlık Üzerine Etkileri**

Zeytin ve ürünlerinin tedavi edici etkilere sahip olması yapılarında bulunan çok yönlü biyoaktif bileşiklere dayandırılır. Zeytin tanesinin kimyasal bileşiminin önemli bir kısmını su ve yağ oluştururken protein, selüloz, şeker, mineral maddeler, bileşimde yer almaktadır. Zeytin yapısında bulunan ve minör bileşenler olarak adlandırılan fenolik bileşikler, tokoferoller, hidrokarbonlar, steroller ve lezzet bileşikleri önemli biyoaktif bileşenler olarak da tanımlanmaktadır. Fenolik bileşikler, yapısında bir benzen halkası ile bu benzen halkasına bağlı bir veya daha çok sayıda hidroksil grupları içeren antioksidan bileşiklerdir. (Cemeroğlu 2004, Turan 2005).

Zeytin meyvesinin fenolik madde bileşiminin en önemli kısmını fenolik asitler (vanilik asit, gallik asit, kumarik asit, sirenjik asit, ferulik asit, kafeik asit), fenolik alkoller (hidroksitirozol, tirozol), flavonoidler (apigenin, luteolin, siyanidin, kuersetin) ve secoiridoidler (oleuropein, ligrosit, verbaskosit) oluşturur (Montedoro et al 1993, Saija et al 1998, Keçeli 2000, Vinha 2005).

Son yıllarda zeytin fenollerinin etkilerini inceleyen epidemiyolojik çalışmalarda, doğal antioksidanlar ile yüksek beslenmenin, hastalık yapıcı serbest radikal düzeyini azalttığı belirlenmiştir (Saija et al 1998). Zeytin ve zeytinyağında bulunan fenolik bileşikler, güçlü antioksidan etkileri ile vücutta düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) oksidasyonunu inhibe ederek, yüksekliği koroner arter hastalığı için risk oluşturan LDL kolesterol oluşumunu engeller. Bu sebepten dolayı, fenolik madde alımının artması koroner arter hastalığı riskinin azalmasını sağlar (Burak ve Çimen 1999).

Fenolik bileşikler antioksidan özellikte olmalarının yanı sıra antimikrobiyal özelliklere sahip olmaları bakımından da farmakolojide geniş kullanım alanına sahiptir (Coşkun 2006). Tokoferoller, zeytin ve zeytinyağın bileşiminde bulunan ve antioksidan özelliği gösteren bir başka bileşiktir (Can, Özçelik ve Güneş 2005). Hidrokarbonlar, zeytin ve zeytinyağdaki minör bileşik gruplarındandır. (Kiritsakis and Marakakis 1987, Kiritsakis and Min 1989). Zeytinin ve yağının kendine has koku ve lezzetinin olmasını sağlayan maddeler ise lezzet bileşikleri olarak isimlendirilir. Aldehitler, alifatik ve aromatik hidrokarbonlar, alkoller, ketonlar, eterler, furan ve thioterpen türevleri zeytin ve zeytinyağının başlıca lezzet bileşikleridir (Kiritsakis and Marakakis 1987).

Zeytin ağacının meyve ve yapraklarının mikroorganizmalara ve böcek saldırılarına karşı doğal olarak dirençli olduğu bilinmektedir. Lezzet bileşikleri olarak adlandırılan maddelerin çoğu, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Escherichia coli*, *Candida utilis* ve *Aspergillus niger*'e karşı antimikrobiyal aktivite göstermektedir (Kubo, Lunde and Kubo 1995). Yapılan çalışmalarla zeytin meyvesi ve yapraklarındaki fenolik bileşiklerin, mikroorganizmaların gelişimi üzerine engelleyici ve geciktirici etkileri olduğu, zeytin yaprak ekstraktının antioksidan

özelliğinde olduğu (Karagözler, Aktaş, Uygun, Kavas ve Kırgil 2005), ayrıca potansiyel bir antifungal madde kaynağı olup gıda sanayinde katkı maddesi olarak ve ilaç endüstrisinde kullanılabilmesi belirlenmiştir (Korukluoğlu, Şahan ve Yiğit). Yapılan başka bir çalışmada ise zeytinin yağa işlenmesi ile elde edilen yan ürünlerden zeytin yaprağı ve zeytin karasuyunun antioksidan, antitrombotik, antiinflamasyon, hipokolesterolemik, antimikrobiyal ve antiviral gibi çok yönlü biyolojik aktiviteleri olduğu ortaya konmuştur (Aktas ve Basmacıoğlu 2011).

*O. europaea* bitkisinin farklı kısımlarının dünya genelinde ve ülkemizde kullanımı oldukça yaygındır. İtalya'da yapraklardan hazırlanan dekoksilyonun ateş düşürücü olarak kullanıldığı rapor edilmiştir (Capasso, Simone and Senatore 1982). Fas'ta yapılan bir çalışmada, *Olea europaea* yapraklarının halk arasında hipotansif, hipoglisemik, antihelmantik, antiseptik olarak ve ayrıca saç dökülmesine karşı kullanıldığı belirlenmiştir (Ziyyat et al 1997). Agalias ve arkadaşları, yapraklardan hazırlanan dekoksilyonun halk tıbbında hipertansiyon, aritmi, intestinal kas spazmları ve kanser tedavisinde kullanıldığını rapor etmişlerdir (Agalias et al 2005). Ülkemizde ise *Olea europaea* yaprakları ve gövde kabuğundan hazırlanan %5'lik infüzyon, idrar arttırıcı, kabızlık önleyici, ateş düşürücü olarak kullanılmakta ve ayrıca şeker hastalığında da önemli etkisi olduğu düşünülmektedir. Haricen ise cerahatli yaraların temizlenmesinde ve pansumanında kullanılmaktadır (Baytop 1999). Ayrıca yapraklarından hazırlanan dekoksilyon, yüksek tansiyona karşı, kan şekerini düşürmek için, kolesterol düşürücü olarak kullanılmaktadır. Meyvelerinden, çekirdeği ile birlikte ezildikten sonra haricen, romatizma tedavisinde, ağrı ve şişliklerin giderilmesinde faydalanılmaktadır (Tuzlacı 2006).

## **2.3 NİGELLA SATİVA**

### **2.3.1. Genel Özellikleri**

Ranunculaceae familyasına ait olan *Nigella sativa* bitkisi ülkemizde çörekotu, ekilen çörek otu, kara çörek otu, siyah kimyon, siyah tohum veya bereket tanesi olarak da bilinmektedir. Geniş bir tıbbi kullanım alanına sahip bitki ismini tohumlarının siyah renginden almıştır. 'Nigella' kelimesi Latince siyahımsı anlamına gelen 'nigellus'tan

türetilmiştir (Baytop 1984). Çörek otu, 2000 yılı aşkın süredir Orta Doğu ve Uzak Doğu ülkelerinde birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır. Bazı unlu gıdalarda süs unsuru olarak kullanılan çörek otu, bazı gıdalarda da lezzet vermesi amacıyla kullanılmaktadır. *N. sativa*'nın sistematikteki yeri tablo 2'de gösterilmiştir.

**Tablo 2.** *Nigella sativa* bitkisinin bilimsel sınıflandırması

<b>Bilimsel Sınıflandırma</b>	
<b>Âlem</b>	Plantae (Bitkiler)
<b>Bölüm</b>	Magnoliophyta (Kapalı tohumlular)
<b>Sınıf</b>	Magnoliopsida (İki çenekliler)
<b>Takım</b>	Ranunculales
<b>Familya</b>	Ranunculaceae (Düğün çiçeğigiller)
<b>Cins</b>	<i>Nigella</i>

*N. sativa*'nın anavatanı Doğu Akdeniz ülkeleri, Doğu ve Güney Avrupa'dır. Çörek otu diğer ülkelere buradan yayılmıştır. Bu bitkinin ikinci vatanının Kuzey Afrika, Hindistan ve Türkiye olduğu söylenebilir. Bu bitki, Türkiye'de çoğunlukla Afyon, Burdur, Isparta, Kütahya ve Konya yörelerinde üretilmektedir (Baytop 1984).

Tarihsel olarak, *N. sativa*'nın eski Mısır ve Yunan hekimleri tarafından baş ağrısı, burun tıkanıklığı, diş ağrısı ve bağırsak kurtlarını tedavi etmek için ve ayrıca, menstürasyonu düzenleyici ve süt artırıcı olarak hastalara önerildiği bilinmektedir. Astım, bronşit, baş ağrısı, dizanteri, enfeksiyonlar, şişmanlık, sırt ağrısı, hipertansiyon ve mide barsak yolları problemleri dâhil geniş bir hastalık grubunun tedavisinde geleneksel ilaç olarak Orta Doğu ve Uzak Doğuda halk arasında yüzyıllardır kullanılmaktadır. Ayrıca egzama ve deri hastalıklarında da yaygın olarak kullanılmaktadır (Salem 2005). Hippokrates ve Dioscorides eserlerinde çörekotundan Melanthion ismiyle bahsetmektedirler. Eski Mısır kralı Tutankhamen'nin mezarında

çörek otu tohumlarına rastlanmıştır. Kleopatra çörek otu yağını güzel ve sağlıklı görünmek için kullanmıştır. Özellikle Tıbbi Nebevi’de geçtiği için, İslam ülkelerinde özel bir öneme sahiptir. Hz. Muhammed’in bir hadislerinde "Çörekotuna kıymet verin, zira o ölümden başka her derde şifadır” demiştir (Çağırın 1996). Büyük Türk tıp bilgini ve filozofu olan İbn-i Sina eserlerinde çörek otunun tedavi edici çok yönlü etkilerini açıklamıştır. Çörek otu taneleri ayrıca farenjit, grip, paralizisi, karın ağrısı ve birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır (Kanter ve ark 2005).

### **2.3.2. Biyoaktif Bileşenler ve Sağlık Üzerine Etkileri**

Hasat mevsimine, çeşidine ve yetiştirildiği iklime bağlı olarak farklılık göstermekle birlikte *N. sativa*'nın tohumlarının yapısında, uçucu yağlar (% 0.4-0.45), sabit yağlar (% 32-40), proteinler (% 16-19.9), amino asitler, alkaloidler, tanenler, saponinler, lifler (5.5%), karbonhidratlar (% 33.9), mineraller (% 1.79-3.44), askorbik asit, tiamin, niasin, pridoksin ve folik asit bulunmaktadır. Sabit yağın yapısında doymamış yağ asitlerinden oleik asit, linoleik asit, eikozadienoik, araşidonik asit ve linolenik asit bulunurken, doymuş yağ asitlerinden ise miristik asit, palmitik asit ve stearik asit bulunmaktadır. Uçucu yağın yapısında ise nigellon, karvakrol, p-cymene, d-limonen,  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen'in yanı sıra farmakolojik olarak aktif temel bileşenlerden başlıca timokinon, ditimokinon, timohidrokinon ve timol yer almaktadır (Baytop 1984, Randhawa and Al-Ghamdi 2002,). Kahire yakınlarında yetiştirilen çörek otu tohumlarından elde edilen uçucu yağın, 67 bileşik ihtiva ettiği ve bu bileşenlerin miktarca en önemlilerinin: p-simen, TQ,  $\alpha$  pinen ve  $\beta$ -pinen olduğu belirlenmiştir. Ülkemizde yapılan bir araştırmada; çörek otu tohumlarında % 6,4 su, %4 kül, % 32 yağ, % 20,2 ham protein, % 6,6 ham lif ve % 37,4 karbonhidrat bulunduğu belirlenmiştir. Sabit yağın; % 1,2 miristik, % 8,4 palmatik, % 2,9 stearik, %17,9 oleik, % 60,8 linoleik, az miktarda araşidik ve % 1,7 eikosadienoik asitlerden oluştuğu bildirilmiştir (Nergiz ve Ötles 1993). Çörek otu tohumlarındaki etkin madde nigellon ancak 1959'da kristal halinde izole edilebilmiştir (Mahfouz and El-dakhkhny 1960).

Yapılan bilimsel çalışmalar çörek otu tohumu ve bileşenlerinin antikanserojenik (Kaseb et al 2007), antitümöral (Badary 1999), antiülserojenik (Kanter ve ark 2005),

antibakteriyel (Halawani 2009), antiinflamatuvar ve analjezik (Abdel-Fattah et al 2000), antioksidan (Badary et al 2000), hipoglisemik (Badary et al 1998, Badary 1999) bağımsızlık sistemini güçlendirici (Salem, 2005) etkilerinin olduğunu göstermektedir. Çörek otunun çeşitli kanser hücrelerine karşı sitotoksik etkisi olduğu (Swamy and Tan 2000), hücrel aktivasyonu ve tümöre özel antikorların üretimini artırdığı bildirilmiştir (Medenica, Mukerjee, Huschart, Koffskey and Corbit 1993).

Çörek otunun uçucu yağ asitlerinin; bakterilere, mantarlara, tenyaya ve halk arasında şerit olarak bilinen sestodlara karşı tesirli olduğu tespit edilmiştir (Agarwal, Khorya and Shrivastaga 1979, Rathee, Mishra, Kaushal 1982, Akhtar and Akhtar 1991). Çörek otu tohumunun hastalığa yol açan mikroorganizmalara karşı etkilerini araştırmak üzere çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Bitkinin farklı yoğunluklardaki ekstraktları; *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *E. Coli* ve *Candida albicans* gibi hastalık yapan mikroorganizmalar üzerinde denenmiş ve *N. sativa*'nın *Staphylococcus aureus*'un üremesini durdurduğu, ancak diğer mikroorganizmalar üzerinde tesirli olmadığı tespit edilmiştir (Ağaoğlu, Berktaş ve Güdücüoğlu 1999).

Çörek otunun halk arasında tedavi amaçlı kullanım alanları çeşitlilik göstermekle birlikte en çok antimikrobiyal ve antifungal özellikleri için kullanılmaktadır (Raza, Asif, Yasin 1999, www.ashad.org. Erişim Tarihi: 20.06.2011). Çörek otunun hem tane hem de yağ formu antimikrobiyal amaçla kullanılmakta, yağı, mantar hastalıklarında antifungal olarak etki göstermektedir. Sitotoksik etkisi nedeniyle zehirlenmelerde sıklıkla antidot olarak yararlanılmakta, diüretik etkiye sahip olduğu için de idrar yolları ve böbrek hastalıklarında kullanılmaktadır (Al-Ghamdi 2003, Kumar, Negi, Sankar 2010). Çörek otu yağının düz kasları gevşetici özelliği nedeniyle pek çok durumda antispazmodik olarak etki gösterdiği ve mide barsak şikayetlerini gidermede etkili olduğu bilinmektedir. Antitümoral etkisinden dolayı kanser hastalıklarında, antiastmatik etkisinden dolayı da göğüs hastalıklarında tedavi amaçlı kullanılmaktadır. Ayrıca kadın hastalıkları ve doğum alanında da sıklıkla kullanılmaktadır. Genç kadınlarda çörek otu tohumları ağızdan alındığında adet kanamasını uyarmaktadır. Menstrüel siklusu düzenlemek ve doğum sırasında da



uterus kasılmalarını artırmak için de yararlanılmaktadır. Çörek otu tohumu taneleri hipertansif/hipotansif etkileri iyi bilindiğinden tansiyonun düzenlenmesinde, yağ metabolizması üzerine olan etkileri nedeniyle kan lipid seviyesinin düzenlenmesinde etkili olmaktadır (Alhaj, Shamsudin, Alipiah, 2010, Kumar et al 2010). Çörek otu taneleri ayrıca farenjit, grip, paralizi, karın ağrısı ve birçok hastalığın tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Kanter ve ark 2005).

## 2.4. *ROSMARINUS OFFICINALIS*

### 2.4.1. Genel Özellikleri

Lamiaceae (Labiatae) familyasına ait olan *Rosmarinus officinalis* L. (biberiye) bitkisi önemli bir tıbbi ve aromatik bitki türüdür. Ülkemizde, kuşdili, hasalban, pürem, akpüren ve urum çiçeği gibi farklı isimlerle de anılmaktadır. (Baytop 1984). *Rosmarinus*, Latince kelimesi, "denizin çiği" ya da "deniz nemi" anlamına gelmektedir. Genellikle deniz kenarlarında çok yaygın bulunmasından ve deniz iklimini çok sevmesinden dolayı bitki bu ismi almıştır (Sasikumar 2004). *R.officinalis*'in sistematikteki yeri tablo 3'te gösterilmiştir.

**Tablo 3.** *Rosmarinus officinalis* bitkisinin bilimsel sınıflandırması

Bilimsel Sınıflandırma	
Âlem	Plantae (Bitkiler)
Bölüm	Magnoliophyta (Kapalı tohumlular)
Sınıf	Magnoliopsida (İki çenekliler)
Takım	Lamiales
Familya	Lamiaceae (Ballıbabagiller)
Cins	<i>Rosmarinus</i>
Tür	<i>R. officinalis</i>
İkili adı	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.

Akdeniz makiliklerinde doğal olarak bulunan biberiye dünyada Fransa'nın güney bölgesinden başlayarak, ülkemizin de dahil olduğu bir kuşak üzerinde ve Afrika'nın kuzeyinde yer alan ülkelerden Tunus ve Cezayir kıyılarında doğal olarak yayılış göstermekte olup pek çok ülkede süs bitkisi olarak yetiştirilmektedir (Anonim 1987). Türkiye'nin batı ve güney kıyılarında doğal olarak yetişmekle birlikte yaygın olarak Çanakkale, Mersin, Adana, Tarsus, Hatay illerinde geniş yayılım göstermiştir. (Özgüven ve ark 2005). Ülkemizde biberiyenin kültürü yapılmamasına rağmen Fransa, İtalya, İspanya, Portekiz, Yunanistan gibi ülkelerde ekimi ve kültürü yaygındır.

Eski Yunan ve Romalılar döneminde hem gıdaların lezzetlendirilmesinde hem de tıbbi tedavi amacıyla kullanılan biberiye günümüzde kozmetik, parfümeri, aromaterapi, eczacılık ve gıda gibi birçok alanda kullanılmaktadır. Antik çağlardan beri hafızayı artırıcı etkisi olduğuna inanılan biberiye, Eski Yunanlılar tarafından hafızayı güçlendirmek ve konsantrasyonu arttırmak için kullanılmıştır. Biberiyenin, İkinci Dünya Savaşı sırasında mikrobik hastalıkların bulaşmasını engellemek ve hastalıkları tedavi etmek için, hasta odalarında yakılmak suretiyle havanın temizlenmesinde kullanıldığı bilinmektedir (Kırpık 2005). Bunun yanı sıra, biberiye "bağlılık" sembolü olarak kabul edilerek düğün törenlerinde, "unutulmayacak olmanın" simgesi olarak da cenaze törenlerinde kullanılmıştır (Türker, Gülbaba, Taşdelen ve Polat 2011). Ayrıca; biberiye ve biberiyeden elde edilen ekstratler, anti-bakteriyel ve antioksidan etkiye sahip olup et ve yağların kalitesinin bozulmadan saklanması da kullanılmaktadır (Gülbaba, Özkurt, Kürkçüoğlu ve Başer 2002). Biberiye bitkisi genel olarak sindirim, dolaşım problemleri, kabızlık, idrar yolları enfeksiyonları, depresyon, halsizlik, unutkanlık, uykusuzluk, egzama, siyatik, selülit, saç dökülmesi, romatizma, kas ağrıları, hafif spazmlar, kolestrol, karaciğer, migren, şeker, astım, bronşit, nefes darlığı, kansızlık, ağrı, dişeti iltihapları ve yara tedavisinde kullanılmaktadır. Ateş düşürücü ve idrar söktürücü etkiye de sahiptir (Erme 2013).

#### 2.4.2. Biyoaktif Bileşenler ve Sağlık Üzerine Etkileri

Yapılan bilimsel çalışmalarla *R. officinalis*'in antibakteriyel, antioksidan, antiviral, bağışıklık sistemini iyileştirici etkileri ortaya konmuştur (Gachkar et al 2007). Bitkinin çiçek ve yapraklarından elde edilen uçucu yağlar anti-inflamatuar, kanamayı durdurucu, antiseptik, mideyi iyileştiren ve karminatif etkiye sahiptir. Biberiyenin anti-inflamatuar etkisi rosmarinic asit, ursolic asit ve apigenin aracılığı ile sağlanmaktadır. Ayrıca, biberiyenin güçlü bir antioksidan aktiviteye sahip olduğu da gösterilmiştir (Banyai, Tulok, Hgedüs, Renner and VargaI 2003). Biberiyede bulunan önemli antioksidan aktivite fenolik diterpenlerden; karnosol, karnosik asit ve rosmarinik asitten ileri gelir. Yapraklarının preslenmesiyle elde edilen suyu *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* ve *Bacillus subtilis*'e karşı güçlü antibakteriyel etki göstermektedir. Boraks ile birlikte infüzyon halinde saç dökülmesine karşı saç yıkamada kullanılmaktadır. Yapılan bir bilimsel çalışmada kekik, lavanta ve sedir ağacından elde edilen esansiyel yağlarla birlikte kullanıldığında kısmi kelliğe karşı 7 ay boyunca uygulaması sonrasında %44 oranında saç gelişmesi sağlanmıştır (Khare 2007).

Yapılan çalışmalar *R. officinalis* L. bitkisinden elde edilen uçucu yağ ve ekstraların; antikanser, antimikrobiyal, anti-HIV, ve anti-ülserojenik gibi önemli bir dizi biyolojik aktiviteye daha sahip olduğunu ortaya koymuştur (Sotelo-Felix et al 2002). Pek çok çalışma; *Rosmarinus officinalis* L. ekstralarının meme, prostat, lökemiya, akciğer, karaciğer ve ovaryum hücre hatlarını içeren bir dizi insan kanser hücre hattı karşısında önemli anti-proliferatif aktivitelere sahip olduğunu göstermiştir.

*R. officinalis* L. bitkisi üzerine yapılan bazı çalışmalarda insektisit ve fungusit gibi etkilerinin de bulunduğu belirtilmiştir. İnsektisit olarak *Sitophilus granarius*'a ve *Acanthoscelides obtectus*'e karşı etkilidir. *Listeria monocytogenes*'i ve *Aspergillus niger*'ı yok edici özelliğe sahiptir. Bitki patojeni olan *Streptomyces scabies*'i yok edici olduğu da laboratuvar çalışmalarında görülmüştür (Sasikumar 2004). *R. officinalis* L., bu özellikleri ile bitkisel, doğal pestisit olarak kullanılmaktadır.

Biberiye bitkisinin kimyasal kompozisyonu ile antioksidan aktivitesinin ortaya konduğu bilimsel çalışmalarda, biberiyenin ya direkt kendisi ya da su buharı-su distilasyonu ile elde edilen uçucu yağı veya farklı ekstraksiyon yöntemleri (solvent veya süper kritik CO<sub>2</sub>) ile elde edilen ekstresi kullanılmıştır. Biberiyeden elde edilen uçucu yağ ve ekstrenin ana bileşenleri farklılık gösterir. Yapılan çalışmalarda biberiye uçucu yağının ana bileşenleri 1,8-cineole,  $\alpha$ - pinene, camphor, camphene, borneol,  $\beta$ -caryophyllene, bornly acetate, verbenone, linalool, limonene, sabinene,  $\alpha$ -terpineol (Fu et al 2007, Gachkar et al 2007); biberiye ekstresinin ise karnosol, karnosik asit, rosmanol, rosmadial, epirosmanol, isorosmanol, rosmaridifenol, rosmariquinon ve rosmarinik asit (Bracco, Lölinger, Viret 1981) saptanmıştır. Uçucu yağ ve bu yağın temel bileşenlerinin oranları; bitkinin yetiştiği bölgeye, iklim türüne, hasat zamanına, bitkinin gelişim evresine, genetik yapıya ve ekstraksiyon metotlarına bağlı olarak değişiklik göstermektedir (Okoh, Sadimenko, Afolayan 2010).

Geleneksel tıpta; biberiye yaprakları, dahilen dispeptik rahatsızlıklarda kullanılmaktadır. Solunum sistemi bozukluklarında özellikle astımda, solunum borusu ve gırtlak iltihaplarında, ağız içi mukozası iltihabında kullanılmasının yanında stimulan ve emanagog etkisi de bulunmaktadır. Harici olarak; genelde lapa şeklinde uygulanarak iltihaplı yaraların ve egzamanın tedavisinde kullanılmaktadır. Biberiye yaprakları; çorbalarda, balık, et ve sebze yemeklerinde, salatalarda lezzet verici olarak tüketilmektedir. Biberiye uçucu yağı ise; romatizma, kas ve baş ağrılarında, düşük basınçtan kaynaklanan kronik dolaşım bozukluklarında, hipertansiyonda, sinir sistemi bozukluklarında, kan akımını hızlandırmada, burkulma ve ezilmelerde kullanılmaktadır. Bu kullanımların yanı sıra; uçucu yağ, gıda maddelerinde, parfümeride ve kozmetikte de kullanılmaktadır (Albu, Joyce, Paniwnyk, Lorimer, Mason 2004, Haksel 2013)

## **2.5. DERİ**

Yetişkinlerde vücut ağırlığının %16'sını oluşturan, vücudun en ağır ve en büyük organı olan deri vücudu dış saldırılara karşı koruma ve hissetme gibi birçok hayati işleve sahiptir. Deri, ektodermden köken alan bir epitel katmanı olan, ince ve çok

sayıda hücre içeren epidermis tabakasından ve mezodermden köken alan, epidermise göre daha az sayıda hücre içeren, kollajenden zengin dermis tabakasından meydana gelir. Epidermal türevler tırnaklar, kıllar, ter ve yağ bezlerini içerir. Dermisin altında hipodermis (subkutan tabaka) yer alır. Derinin bir parçası olmayan hipodermis, komşu dokuları deriye gevşekçe bağlar (Junquiera 2006, Arslan 2010). Dermis çoğunlukla ekstraselüler matriksten (kollagen, elastin ve glikozaminoglikanlar) oluşur ve az sayıda fibroblastların hücresel bileşenlerini içerir. Bu tabaka deriye esneklik sağladığı kadar mekanik kuvvet de sağlamaktadır ve lenfatik sistemi, sinirleri ve damarları desteklemektedir (Zhong, Zhang and Lim 2010).

### **2.5.1. Epidermis**

Derinin en üst tabakası olan epidermis, yüksek geçirgenliğe sahip olup vücudu dış saldırılara karşı korur ve su kaybını kontrol eder. Derideki renk, elastikiyet ve belirli bir deformite veya skar (yara) bu katmanda kendini gösterir. Çok katlı yassı keratinize epitelden meydana gelir ancak başta melanositler, Merkel hücreleri ve Langerhans hücreleri olmak üzere 3 farklı hücre tipi daha ihtiva eder. Keratinize epidermal hücreler keratinositlerdir. Derinin bariyer görevi keratinositlerin epidermal tabakada sıkıca bir araya gelmesiyle sağlanmaktadır (MacNeil 2008).

Keratinositler epiderminin %95'ini oluşturur ve bazal tabaka tüm çoğalan keratinositlerin kaynağıdır. Yara iyileşmesindeki epidermal cevaptan primer olarak bu keratinositler sorumludur (Hom 1998). Keratinositler, beş tabaka halinde düzenlenmişlerdir: Stratum bazale, stratum spinosum, stratum granulosum, stratum lusidum, stratum korneum.

Melanositler, melanin pigmentini sentezlemekle görevli ve keratinositler arasında yerleşmiş hücrelerdir. Merkel hücreleri, duysal fonksiyonlu nöroendokrin hücreler olup bazal tabakada bulunurlar. Bu hücrelerin duysal mekanoreseptörler olarak da işlevlerinin olduğuna dair kanıtlar mevcuttur (Junquiera 2006, Ross 2010).

En fazla stratum spinosum tabakasında bulunan Langerhans hücreleri kemik iliğinden köken alırlar, deriye kan yoluyla taşınır ve antijenleri bağlama ve T lenfositlere sunma yeteneğine sahiptirler (Junquiera 2006).

## **2.6. YARA**

Deri ve/veya mukozayı oluşturan yapıların travma, cerrahi girişim, hastalıklar gibi farklı nedenlerle bütünlüğünün bozulması ya da kaybı ile var olan fizyolojik özelliklerinin geçici veya tamamen kaybolmasına yara denir. Genellikle “normal deri bütünlüğünün ortadan kalkması” olarak tanımlanır (Witte and Barbul 1997, Broughton, Janis, Attinger 2006, Gurtner and Geoffrey 2007, Charles 2007).

### **2.6.1. Yara Çeşitleri**

Yaralar tiplerine ve etiyolojilerine göre akut ya da kronik olarak ikiye ayrılır (Altıparmak 2012).

**Akut yaralar:** Geçici bir etkenin neden olduğu ve kabul edilebilir bir sürede iyileşen yaralardır. Akut yara tipleri; açık yara ve kapalı yara şeklindedir. Açık yaralar; yaralanmaya neden olan objelere göre; insizyon, laserasyon, abrazyon, delici yaralar, kesici yaralar, ateşli silah yaraları ve yanıklar olarak sınıflandırılır. Kapalı Yaralar; açık yaralardan daha tehlikelidirler ve kontüzyon, hematom, ekimoz ve ezilme olmak üzere dört temel başlıkta sınıflandırılırlar.

**Kronik Yaralar:** Genelde üç ay içinde iyileşmeyen veya tekrarlayan yaralardır. Genellikle inflamatuvar aşamada uzama olur. Akut yaralarda anabolik ve katabolik fazlarda tam bir denge varken, kronik yaralarda bu denge kaybolmuştur ve katabolizma ön plandadır. Kronik yaraların büyük bir kısmı ya tamamen iyileşmez veya iyileşme süreci uzun süre devam eder (Altıparmak 2012).

### **2.6.2. Yara İyileşmesi**

Yaralanma sonucu dokuda, yara iyileşmesi ile sonlanan organize ve karmaşık birtakım hücresel ve hümorale süreçler yaşanır (Nursal, Baykal, Hamaloglu 1999, Seraslan, Altug, Kontas 2007). Yara iyileşmesi, yaralanmadan hemen sonra başlar

ve doğal iyileşme süreci olarak adlandırılan özel bir sırayı izler. İyileşme işleminin etkili ve verimli olması, yaralanan bölgeye, yaranın büyüklüğüne ve ciddiyetine göre farklılıklar gösterirse de, iyileşme sürecindeki sıra değişmez (Yalçın ve Özkalp 2005).

Yaralanmayı takiben amacı devitalize dokuları uzaklaştırmak ve invaziv enfeksiyonun önüne geçmek olan inflamatuvar aşama başlangıçta yer alır. Bunun ardından, skar oluşumu ve doku rejenerasyonunun dengelenmesi sırasında ortaya çıkan bir proliferatif aşama gelir. Son olarak yara iyileşmesinin en uzun ve en az anlaşılmiş aşaması olan yeniden şekillendirme ortaya çıkar (Phillips 2000). İlk aşamada hemostaz, vazokonstriksiyon oluşturarak, kan kaybının önlenmesine, plateletlerin hapsediği fibrinöz ağı meydana getirerek yara iyileşmesinin inflamatuvar fazının tetiklenmesine yol açar. Bunu takiben humoral kaskadın oluşturduğu hücrese cevapla farklı tipte hücrelerin yara yerine akın etmesiyle yeni ekstrasellüler matriks ve kan damarları oluşumu gerçekleşir. Proliferatif fazda epitelizasyon, kontraksiyon ve kollagen üretimi meydana gelir. Yara iyileşmesinin son fazı olan olgunlaşma ve yeniden yapılanma safhasında, kollagen organize olur ve angiogenez ön plana çıkar (Krizek and Harries 1997).

### **2.6.3. Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler**

Yara iyileşmesini etkileyen birçok lokal ve sistemik faktörün varlığı bilinmektedir. Son yıllarda moleküler biyoloji, immünohistokimya ve biyomühendislik alanlarında sağlanan gelişmeler sayesinde yara iyileşmesinin metabolik, humoral ve hücrese düzeyde anlaşılması kolaylaşmıştır. Yara iyileşmesini etkileyen birçok lokal ve sistemik faktör belirlenmiştir (Nursal ve ark 1999, Toy 2005, Mustoe, O'Shaughnessy, Loeters 2006, MacNeil 2008, Shaw and Martin 2009, Zhong et al 2010).

**Lokal faktörler** cerrahi alanının doku kan akımı (oksijenizasyon), iskemi, enfeksiyon, yabancı cisimler, ödem, yara yerinde hematoma ve seroma gelişimi, cerrahi teknikte yetersizlik ve yanlış sütür materyali, çok baskılı pansuman, **Sistemik faktörler** ise doku perfüzyonunu etkileyen kardiyovasküler sistem hastalıkları, kan oksijenizasyonunu etkileyen respiratuvar sistem hastalıkları, obezite, metabolik hastalıklar (üremi, kronik anemi), endokrin hastalıklar, renal ve hepatik hastalıklar,

yaşlılık, hipotermi, ağrı, sepsis, beslenme bozuklukları, sigara, kortikosteroid, kemoterapotik ilaçlar olarak sınıflandırılmaktadır. (Nursal ve ark 1999, Toy 2005, Mustoe et al 2006, MacNeil 2008, Shaw and Martin 2009, Zhong et al 2010).



### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. KİMYASALLAR VE EKİPMANLAR

##### 3.1.1. Kimyasallar

Sitotoksosite ve Scratch Assay deneylerinde kullanılmak üzere;

- Dulbecco's modified essential medium (DMEM), Fetal bovine serum (FBS), Penisilin Streptomisin Amfoterisin B (PSA), Trypsin-EDTA Invitrogen, Gibco'dan (Paisley, UK)
- MTS assay (CellTiter 96 Aqueous One Solution) Promega'dan (Madison, USA).
- PBS ThermoScientific'ten (Utah; USA) temin edildi.

Antiviral testlerinde kullanılmak üzere:

- Minimum Essential Medium (MEM), Fetal bovine serum, PSA, Trypsin-EDTA Invitrogen, Gibco'dan (Paisley, UK)
- PBS ThermoScientific'ten (Utah; USA)
- Sodyum bikarbonat AppliChem'den (Darmstadt, Germany) temin edildi.

##### 3.1.2. Laboratuvar Ekipmanları

Hücre kültürü çalışmaları sırasında kullanılan laboratuvar cihaz ve ekipmanlarının listesi aşağıdaki şekildedir:

- ELISA plak okuyucu (Biotek; Winooski, USA)
- İnvart mikroskop (Nikon Eclipse Nikon, Tokyo, Japan)
- Vorteks (Thermo; Utah, USA)
- Santrifüj (Beckman Coulter; İstanbul, Türkiye)
- Biyogüvenlik Kabini Class 2 (Heal Force, Shanghai, China)
- İnkübatör (Thermo; Utah, USA)

- 96 kuyucuklu Elisa plakları (BIOFIL, China)
- 24 kuyucuklu Elisa plakları (BIOFIL, China)
- 12 kuyucuklu Elisa plakları (BIOFIL, China)
- Çok kanallı pipetler (Sigma; Paisley, UK)
- Steril petri kapları (Isolab, Germany)
- 15 mL falcon tüpleri (Sigma; Paisley, UK)
- 50 mL falcon tüpleri (Sigma; Paisley, UK)
- T-75 flasklar (Zelkultur Flaschen, Germany)
- T-25 flasklar (Zelkultur Flaschen, Germany)

Ayrıca deneylerin farklı aşamalarında pipetler, mikropipetler, pipet uçları, plastik ve cam Erlenmayer, beherler, Eppendorf tüpler kullanılmıştır.



**Resim 1.** ELISA plak okuyucu

### 3.1.3. Hücre Hatları ve Virüs Suşları

- HaCat hücre hattı,
- HEp-2 hücre hattı

Yeditepe Üniversitesi Genetik ve Biyomühendislik Moleküler Tanı Laboratuvarı'ndan,

- Poliovirüs tip 1 Chat suşu,
- Human adenovirüs tip 5 Adenoid 75 suşu

Yeditepe Üniversitesi Genetik ve Biyomühendislik Viroloji Laboratuvarı'ndan temin edildi.

### 3.1.4. Bitkisel Yağlar

- *Olea europaea*,
- *Nigella sativa* ve
- *Rosemarinus officinalis*

bitkilerinden hazırlanmış olan yağ kombinasyonu NBV İlaç, Doğal Ted. Ürün Koz. Gıda ve Mad. Paz. San. LTD ŞTİ.'den (Konya, Türkiye) temin edildi.

## 3.2. HÜCRE KÜLTÜRÜ

### 3.2.1. Hücre Kültürü Medyumlarının Hazırlanışı

MTS testi ve scratch assay için kullanılmak üzere;

- 500 ml DMEM
- %10 FBS
- %5 PSA

maddeleri eklenerek kullanıma hazır hücre kültür medyumu elde edildi.

Virüs testlerinde kullanılmak üzere;

- 500 ml MEM
- %10 FBS
- 40IU/ml penicilin, 0,04 mg/ml streptomycin, 0,5 mg/ml glutamin
- %1 Sodyum bikarbonat

maddeleri eklenerek kullanıma hazır hücre kültür medyumu elde edildi.

Virüs inokulasyonunda kullanılan besiyerine ise %1 PSA ve %1 Sodyum bikarbonat eklendi, FBS konulmadı

### **3.2.2. Hücrelerin Pasajlanması**

Üremekte olan hücreler yaklaşık %80 yoğunluğa ulaşıncaya yeniden pasajlandı. Pasajlama yapılırken aşağıdaki basamaklar izlendi:

- Flaskların içerisindeki besiyeri pipetle çekilerek steril PBS (150 cm<sup>2</sup> için 8 ml) ile yıkandı.
- Ardından PBS pipetle uzaklaştırıldı ve hücreleri kaldırmak için 8 ml tripsin-EDTA solüsyonu eklenerek 37°C etüvde 2-3 dk bekletildi.
- Hücreler kaldırıldıktan sonra süspansiyon halindeki hücre+tripsin-EDTA solüsyonu 15 ml'lik bir falkon tüpe alındı. Solüsyonun üzerine tripsini inhibe etmek için tripsin hacminin 2 katı kadar medyum eklendi.
- Süspansiyon 1300 rpm'de 5 dk santrifüj edildikten sonra tripsin-EDTA solüsyonu uzaklaştırıldı ve hücreler taze medyum ile süspanse edilerek 3 adet 150 cm<sup>2</sup>'lik flaska bölünerek yeniden pasajlandı.
- Pasajlanan hücreler 37°C ve %5 CO<sub>2</sub> ayarlı inkübatörde inkübe edildi.

### **3.2.3. Hücrelerin Dondurulması ve Saklanması**

- Flask yüzeyine yapışık halde olan hücreler tripsin-EDTA ile kaldırılarak santrifüj edildi ve tripsin besiyerinden uzaklaştırıldı.
- Hücre pelleti 1 ml besiyeri ile çözüldükten sonra sayıldı.
- Tripsin, hacminin iki katı serumlu besiyeri eklenerek inhibe edildi.
- Hücreler pipetlenerek tek hücre süspansiyonu haline getirilip bir falkon tüpe aktarıldı. Üzerine 2-3 ml daha medyum ilave edildi.
- Hücre süspansiyonu 1300 rpm'de 5 dakika santrifüjlenerek süpernatant uzaklaştırıldı.
- Pelet 900 µl hücre medyumuna ile sulandırılarak sayıldı.
- Dondurma tüpleri içerisine 100 µl dimetil sülfoksit (DMSO) ve 900 µl hücre medyumuna ile süspanse edilen hücre solüsyonu eklendi.
- Tüpler -80°C'de gerektiğinde kullanılmak üzere saklandı.

### 3.3. YAĞ KOMBİNASYONUNUN DOZUNUN BELİRLENMESİ

Yağ kombinasyonunun hücelere toksik olmayan uygun dozunun belirlenmesi amacıyla 96 kuyucuklu plağa eşit sayıda hücreler konuldu. Daha sonra %10; %5; %0,5; %0,05 ve %0,005'lik yağ kombinasyonları hücre medyumlarına katıldı ve hücreler inkübe edildi. 24 saatlik inkübasyon sürelerinin ardından MTS analiz yöntemi ile hücre viabilitesi değerlendirildi.

Yağ kombinasyonunun farklı dozları, gıda ve farmasötik endüstrilerinde sıklıkla kullanılan yüzey aktif bir madde olan Tween 80 (T80) kullanılarak hazırlandı (Chou, Krishnamurthy, Randolph, Carpenter, Manning 2005). T80, Su ve etanolde çözünen T80; proteinlerin çözülmesi, hücre kültüründe nükleusların hücrelerden izolasyonu ve *Mycobacterium tuberculosis*'in kültür ortamında üretilmesi gibi biyokimyasal uygulamalarda da kullanılır. Gıda endüstrisinde ise katkı maddesi, emülgatör ve stabilizatör olarak kullanım alanına sahiptir (Ema et al 2008)

#### 3.3.1. Hücre Proliferasyon Analizi

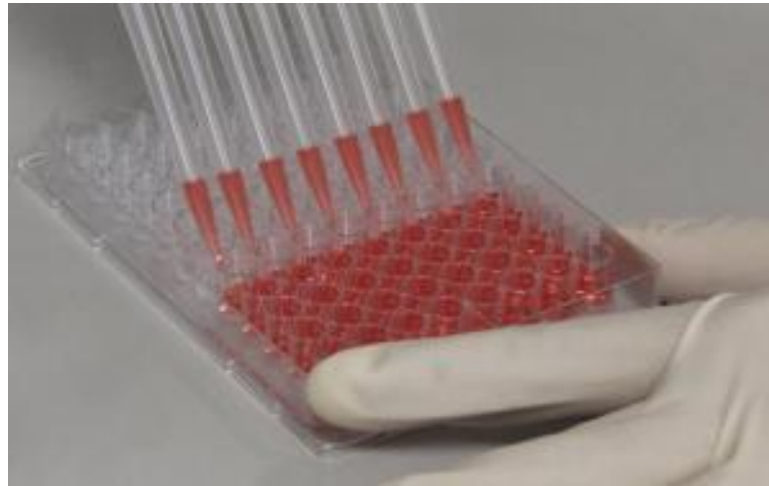
##### MTS Testi

MTS (3-(4,5-dimethyl-thiazol-2-yl)-5-(3-carboxy-methoxyphenyl)-2-(4-sulfo-phenyl)-2H-tetrazolium, inner salt) mitokondriyal dehidrogenaz enziminin aktivitesini ölçmek için kullanılan kolorimetrik bir test yöntemidir. Bu yöntemle kullanılacak olan herhangi bir terapötik ajanın hücre üzerindeki sitotoksik ya da proliferatif etkileri belirlenebilmektedir. Dehidrogenaz enzimi MTS'i formazan boyalarına indirgeyerek mor bir rengin ortaya çıkmasını sağlar. Boyanan formazan ürünü direkt olarak 490 nm'de okunabilir.

MTS yöntemi güvenilir, uygulaması kolay olması ve hızlı bir şekilde toksisitenin tayinine olanak vermesi sebebiyle araştırmacılar tarafından sıklıkla kullanılan bir tekniktir (Rotter 1993).

MTS testi kullanarak yağ karışımlarının viabilite değerlendirilmesi yapılırken aşağıdaki basamaklar izlendi:

- HaCat hücreleri 96'lık plak içerisine her bir kuyucuğa 3000 hücre olacak şekilde ekildi.(Resim 4)
- Mikroplak 37°C ve %5 CO<sub>2</sub> ayarlı inkübatörde 24 saat bekletilerek hücrelerin yüzeye tutunmaları sağlandı.
- Yağ karışımı T80 ile seyreltikten sonra 10% (v/v) fetal bovine serum (FBS) ve 1 % (v/v) PSA içeren DMEM eklenerek %10; %5; %0,5; %0,05 ve %0,005'lik konsantrasyonlar hazırlandı.
- 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda hazırlanan maddeler kuyucuklara eklendi.
- MTS testi üreticinin talimatlarına göre uygulandı. Hücreler farklı konsantrasyonlardaki maddelerle inkübe edildikten 24, 48 ve 72 saat sonra 10 µl MTS maddesi 100 µl besiyeri ile birlikte kuyucuklara eklendi
- MTS maddesi ile 37°C'de 3 saatlik inkübasyon sonrasında ELISA plak kullanılarak 490 nm'de absorban ölçümü yapıldı
- Microsoft Excel programı yardımı ile uygulanan doz ve % hücre viabilite ilişkisi hesaplanarak, Graphpad programında ilgili grafikler çizildi.



**Resim 2.** 96 kuyucuklu plak

### 3.4. YARA İYİLEŞMESİ TESTİ

#### ***In vitro* Scratch Assay**

Hücrelerin hareketi ve göçü doku yenilenmesi ve yara iyileşmesi gibi pek çok fizyolojik süreç için anahtar rol oynamaktadır. Tek tabaka halindeki hücrelerde çizik meydana getirilince hücre-hücre bağlantılarında hasarlar meydana gelir. Hücreler buna tepki olarak yara yerinde büyüme faktörü ve sitokin miktarlarını arttırarak hücrelerin çoğalmasını ve göç etmesini sağlar. (Liang, Park and Guan 2007). Yara iyileşme aktivitesini *in vitro* test etmek için hücrelerin göç kapasitelerini ve hızlarını incelemek pek çok araştırmacı tarafından kullanılan, pratik ve kullanışlı bir modeldir. (Adetutu, Morgan and Corcoran 2011).

Hücre popülasyonunun belirli bir alana yayılmasını inceleyen *in vitro* scratch assay, tek tabaka halindeki hücrelerde yara (çizik) oluşturulması temeline dayanır (Fronza, Heinzmann, Hamburger, Laufer and Merfort 2009). Testin yapılması için aşağıdaki basamaklar izlendi:

- MTS testi sonucunda belirlenen yağ kombinasyon dozunun yara iyileşmesine etkisinin incelenmesi için öncelikle HaCat hücreleri 12 kuyucuklu plağa her kuyucukta 100 000 hücre olacak şekilde ekildi
- Mikroplak 37°C ve %5 CO<sub>2</sub> ayarlı inkübatörde 24 saat bekletilerek hücrelerin yüzeye tutunmaları sağlandı.
- Tek tabaka halindeki hücreler üzerinde steril pipet ucu kullanılarak çizik oluşturuldu.
- Hemen ardından hücreler üzerindeki besi yeri çekilerek kuyucuklara %0,005'lik yağ kombinasyonu içeren besiyeri kondu.
- Hücreler ve oluşturulan çizik 0., 12., 24. ve 36. saatlerde olmak üzere invert mikroskop (Nikon Eclipse TE200:Nikon, Tokyo, Japan) altında incelendi ve fotoğraflandı.
- Çekilen fotoğraflar daha sonra Image-J software kullanılarak çizik farklı zaman aralıklarındaki boyutlarını ölçmek için analiz edildi.

- Çiziklerin 0. Saatten 36. Saate kadar kapanma miktarları ölçülerek hücrelerin % göç oranı aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı:

$$\% \text{ göç oranı} = \frac{0.\text{saatte çizik mesafesi} - \text{belirlenen saatte çizik mesafesi}}{0.\text{saatteki çizik mesafesi}} \times 100$$



**Resim 3.** İvert mikroskop

### **3.5. ANTİVİRAL ETKİNLİK TESTİ**

Yağ kombinasyonunun antiviral etkinliği Türk Standartları Enstitüsü (TSE)'nün TS EN 14476 (Mart 2007) standartlarına göre test edildi. Bu standarda göre enstrüman ve yüzey dezenfektanlarının antiviral etkinliği incelenirken referans organizma olarak zarfsız RNA virüsü poliovirüs tip 1 ve zarfsız DNA virüsü adenovirüs tip 5 kullanılır. Virüs titresi (ml'deki virüsün logaritmik TCID<sub>50</sub> değeri) ve madde uygulanan virüs titresi Spearman-Karber metodu kullanılarak hesaplanır. TCID<sub>50</sub> değeri virüs süspansiyonunun %50 enfeksiyöz dozu olarak ifade edilir.



### 3.5.1. Virüs Titrasyonunun Belirlenmesi

- Virüs titrasyonunun belirlenmesi için referans Poliovirüs tip 1 Chat suşu, Hep-2 hücrelerine seri dilüsyonlar yapılarak ekildi.
- İnvirt mikroskopta gözle görülebilir sitopatik etki oluşturan virüs dilüsyonu baz alınarak, virüsün titresini Spearman-Karber metodu kullanılarak hesaplandı (TS EN 14476).

### 3.5.2. Temiz ve Kirli Ortam Hazırlığı:

TS EN 14476'ya göre maddelerin antiviral etkinlikleri 'temiz' ve 'kirli' ortamda incelenir. Temiz ortam, tatmin edici bir temizleme programı uygulanmış veya minimum seviyede organik ve/veya inorganik madde içerdiği bilinen yüzeyleri temsil etmek için kullanılır. Kirli ortam ise organik ve/veya inorganik madde içerdiği bilinen yüzeyleri temsil eder. Bu ortamların hazırlanması için aşağıdaki basamaklar izlendi:

- Temiz ortam için 100 ml steril su içerisinde 0,3 g Bovine Serum Albumin Fraction V (BSA) çözüldü. Hazırlanan solüsyon filtre edilerek steril hale getirildi.
- Kirli ortam için 100 ml steril su içerisinde 3 g BSA çözüldü. Daha sonra 3 ml koyun eritrositi 97 ml BSA'ya tamamlandı.
- Eritrositin hazırlanması: 8 ml taze koyun kanı 800 G'de 10 dakika döndürüldü. Süpernatant atıldıktan sonra üzerine 8 ml PBS konularak pipetaj yapıldı ve tekrar 800 G'de 10 dakika döndürüldü.
- Temiz içerikli ve kirli içerikli maddelerden 35 µl alınarak iki ayrı falkonda hazırlanmış olan %0,005'lik yağ kombinasyonlarının üzerine eklendi.

### 3.5.3. Antiviral Etkinliğin Belirlenmesi

- 96 kuyucuklu plağın ilk sırasına sadece virüs geri kalan kuyucuklarına ise besiyeri konulacak şekilde iki ayrı plak hazırlandı.
- İlk kuyucuktaki virüslerden seri dilüsyonlar yapılarak medyumların üzerine virüs eklenmiş oldu.

- Plağın ilk yarısına temiz içerikli maddeden, diğer yarısına ise kirli içerikli maddeden eklendi.
- Plaklardan biri 5 dakika diğer ise 60 dakika oda sıcaklığında bekletildi.
- Bekleme sürelerinin sonunda 24 saat önce ekilen ve tek tabaka olmuş Hep-2 hücreleri 37°C inkübatörden çıkartıldı ve üzerlerindeki medyum aspire edildi.
- Süreleri dolmuş olan plakların içeriği hücrelerin üzerine aktarıldı ve 72 saat bekletildi.
- Virüs titresi Spearman-Karber metodu kullanılarak hesaplandı. Bu metoda göre hesaplama aşağıdaki formüle göre yapıldı:

$$M = xk + d [0,5 - 1 / n (r) ]$$

xk: kullanılan en yüksek doz

r: Ölüm olmayan kuyucuklar

d: dilüsyon aralığı

n: dilüsyon yapılan kuyucuklar

- Aynı metot Human adenovirüs tip 5 Adenoid 75 suşu için tekrarlandı.



**Resim 4.** Inkbatr

### 3.6. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Bulgular istatiksels olarak *one-way analysis of variance* kullanılarak analiz edildi.  $P \leq 0,05$  olan değerler istatiksels olarak önemli bulundu.

## 4. BULGULAR

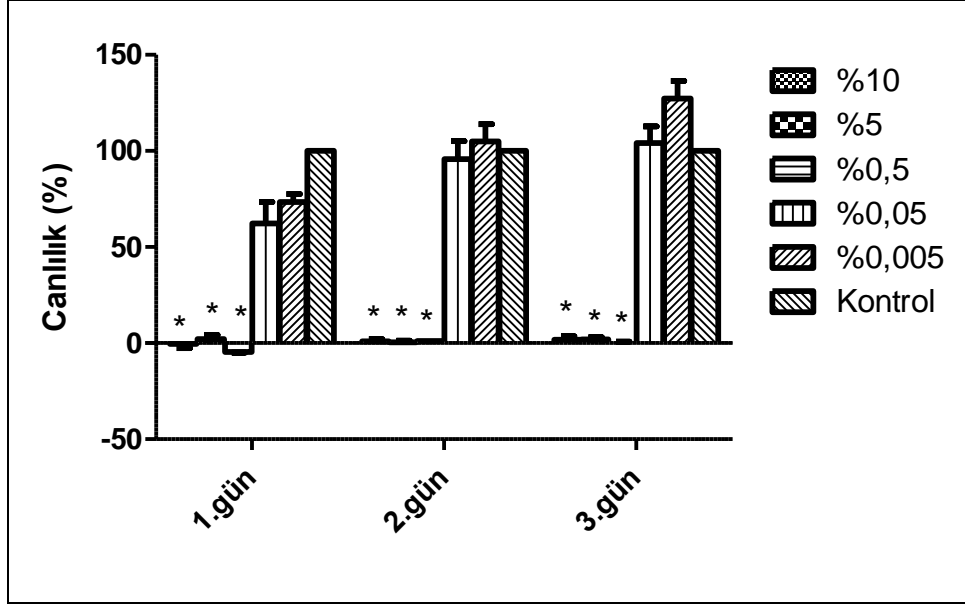
### 4.1 YAĞ KOMBİNASYONUNUN SİTOTOKSİK ETKİSİNİN BELİRLENMESİ

HaCat keratinosit hücre hattı üzerine, en etkin ve toksik olmayan dozu belirleyebilmek amacıyla farklı dozlarda yağ kombinasyonu uygulandı. Ardından hücre yoğunluğu, spektrofotometrik olarak ölçme metotuna dayanan MTS testi ile belirlendi. 96 kuyucuklu plak içerisine HaCat hücre hattı ekildikten 24 saat sonra metabolik fonksiyonlarını düzenleyen hücrelerin medyumu içerisine, T80 ile seyreltilen çeşitli konsantrasyonlarda yağ kombinasyonu eklendi. Hücreler farklı konsantrasyonlardaki maddelerle inkübe edildikten 24, 48 ve 72 saat sonra MTS yöntemi ile absorbans ölçümü yapıldı.

Yağ kombinasyonları T80 ile seyreltildiği için T80'in sitotoksitesisi de araştırıldı. Bunun için yapılan MTS testi sonucunda T80'in %0,05 ve %0,005'lik konsantrasyonlarının kontrol grubu ile kıyaslandığında aralarında istatistiksel açıdan önemli bir fark bulunmadığı tespit edildi. Bu sonuç, %0,05 ve %0,005'lik konsantrasyonların hücelere toksik bir etkisinin olmadığını göstermektedir.

%10, %5 ve %0,5'lik T80 konsantrasyonlarının ise kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak önemli derecede toksik olduğu gözlemlendi.

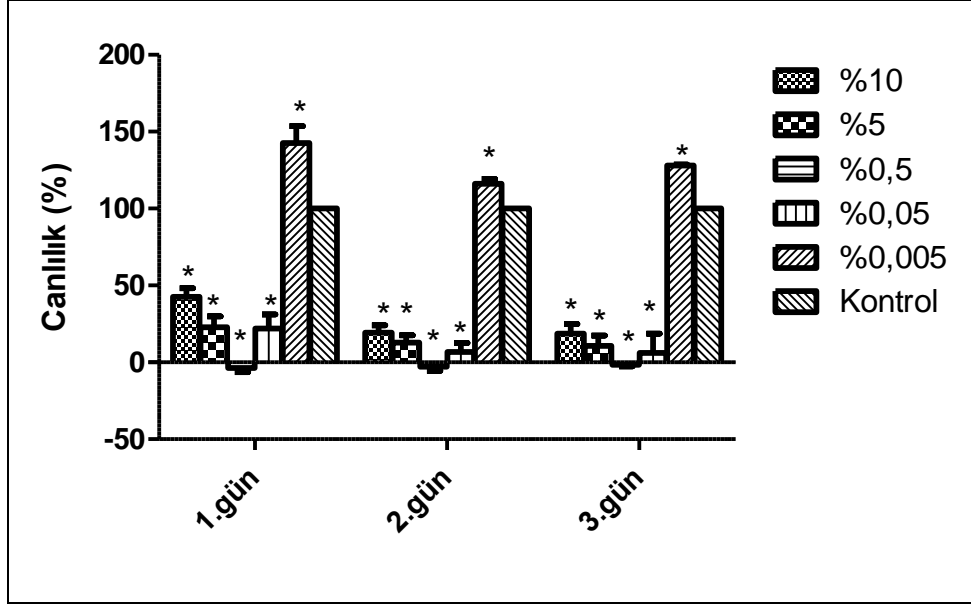
Değişen T80 konsantrasyonlarında hücre viabilitesi şekil 1'de gösterilmiştir.



**Şekil 1.** Farklı T80 konsantrasyonlarında HaCat hücre viabilitesi ( $p < 0,05$ )

Hücreler farklı konsantrasyonlardaki yağ kombinasyonlarıyla inkübe edildikten 24, 48 ve 72 saat sonra yapılan viabilite değerlendirmesinde %0,005'lik kombinasyonun hücre canlılığını istatistiksel olarak önemli miktarda artırdığı, %10, %5 ve %0,5'lik diğer deney gruplarının ise hücre canlılığını istatistiksel olarak önemli derecede düşürdüğü görülmektedir.

Şekil 2 değişen yağ kombinasyonlarının hücre viabilitesi üzerine etkisini göstermektedir.



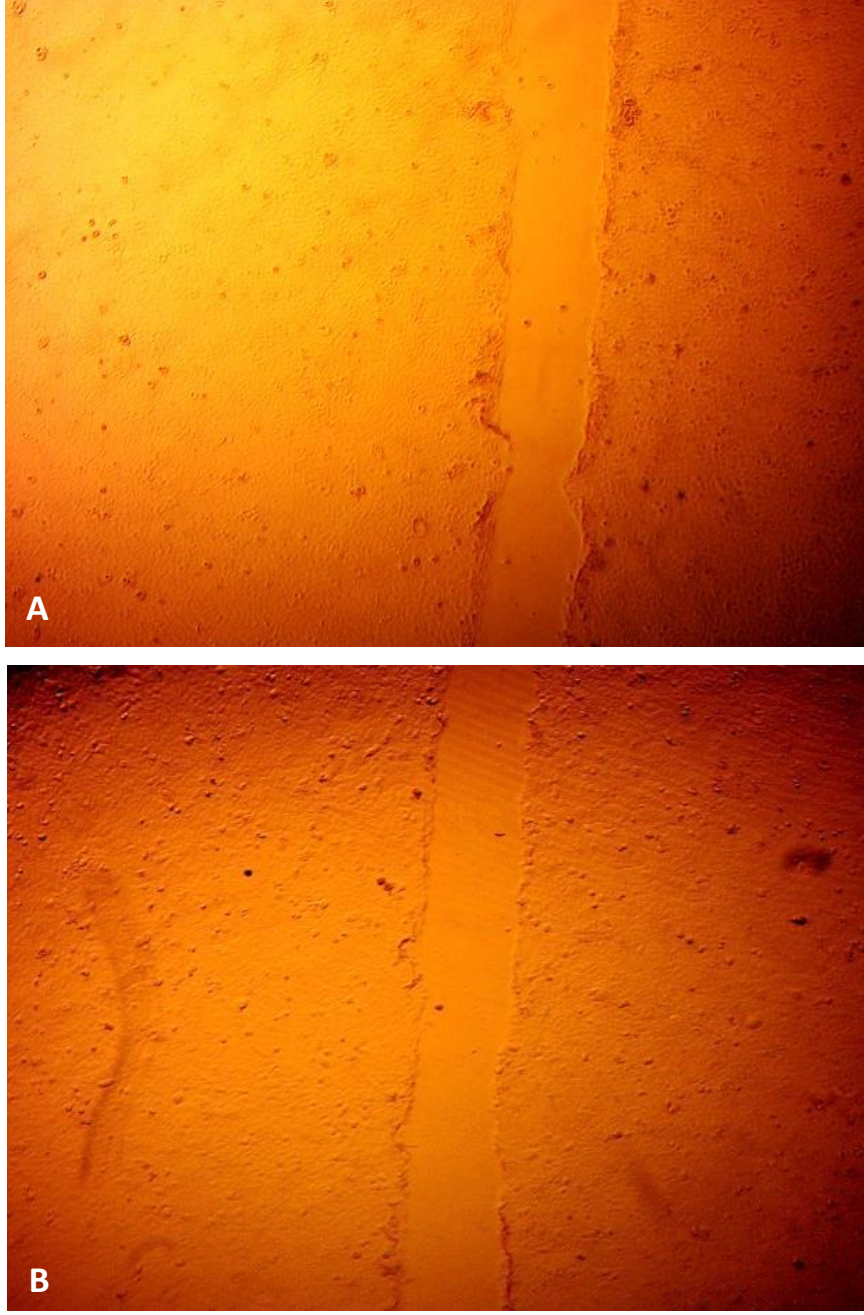
**Şekil 2.** Farklı yağ kombinasyonu konsantrasyonlarında HaCat hücre viabilitesi (p < 0,05)

#### 4.2. YARA İYİLEŞME HIZININ DEĞERLENDİRİLMESİ

MTS testi sonucunda toksik olmağı gösterilen %0,005'lik yağ kombinasyonunun ve T80'in yara iyileşmesi üzerine etkisi *in vitro* scratch assay kullanılarak değerlendirildi. Yağ kombinasyonu uygulanan grupta çizigin 24 saat sonunda neredeyse tamamen kapandığı kontrol grubundaki çizigin ise 24 saat sonunda henüz kapanmamış olduğu gözlemlendi (Resim 5, 6, 7, 8). T80 uygulanan grupta ise yara iyileşme hızının kontrol grubuna göre daha yavaş olduğu, 36. saat sonunda kontrol grubunda çizik kapanırken, T80 grubunda hala kapanmamış olduğu görüldü (Resim 9, 10, 11, 12).



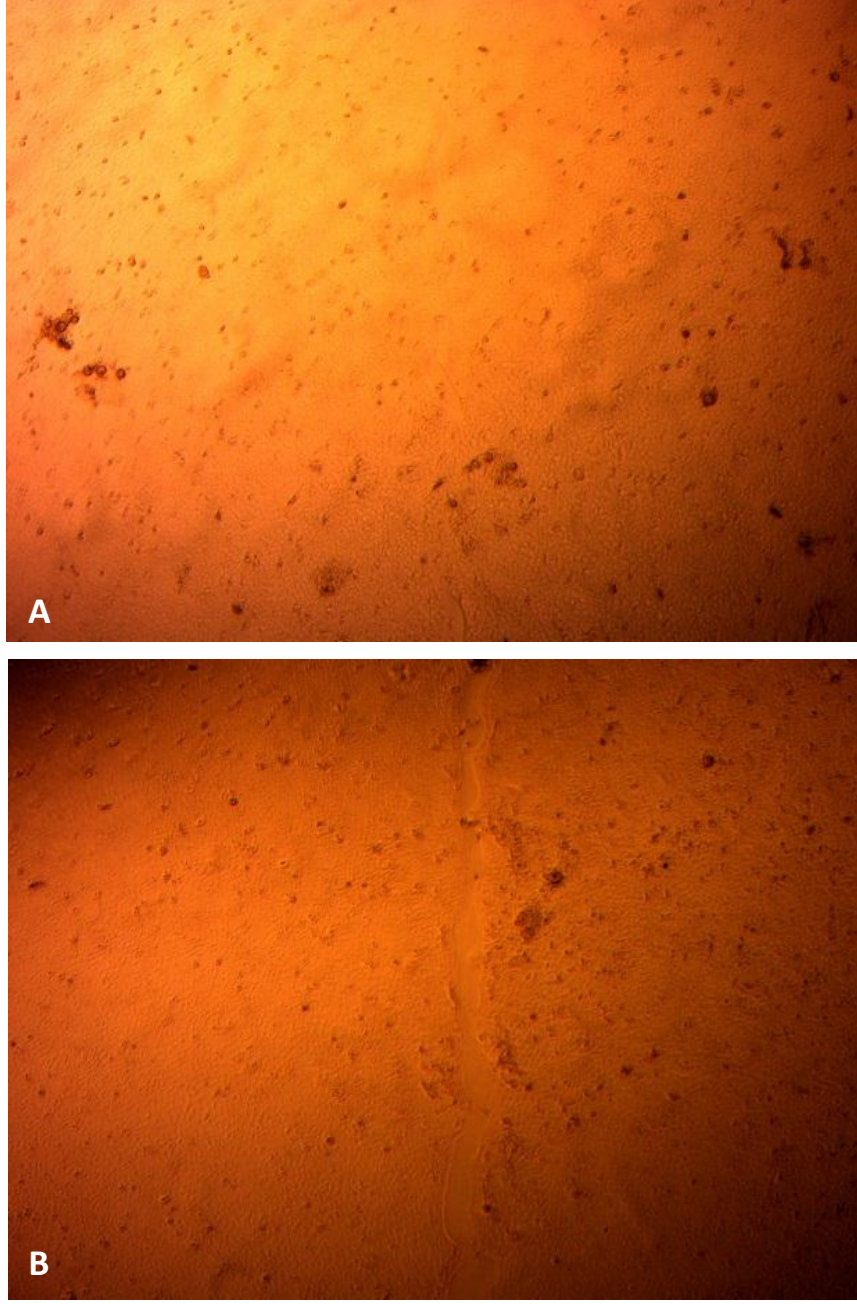
**Resim 5.** Yağ kombinasyonu uygulanan grubun (A) ve kontrol grubunun (B) hücre kültüründe çizik oluşturulduktan hemen sonra (0. saatte) invert mikroskop görüntüsü (x10)



**Resim 6.** Yağ kombinasyonu uygulanan grubun (A) ve kontrol grubunun (B) hücre kültüründe çizik oluşturulduktan 12 saat sonra invert mikroskop görüntüsü (x10)

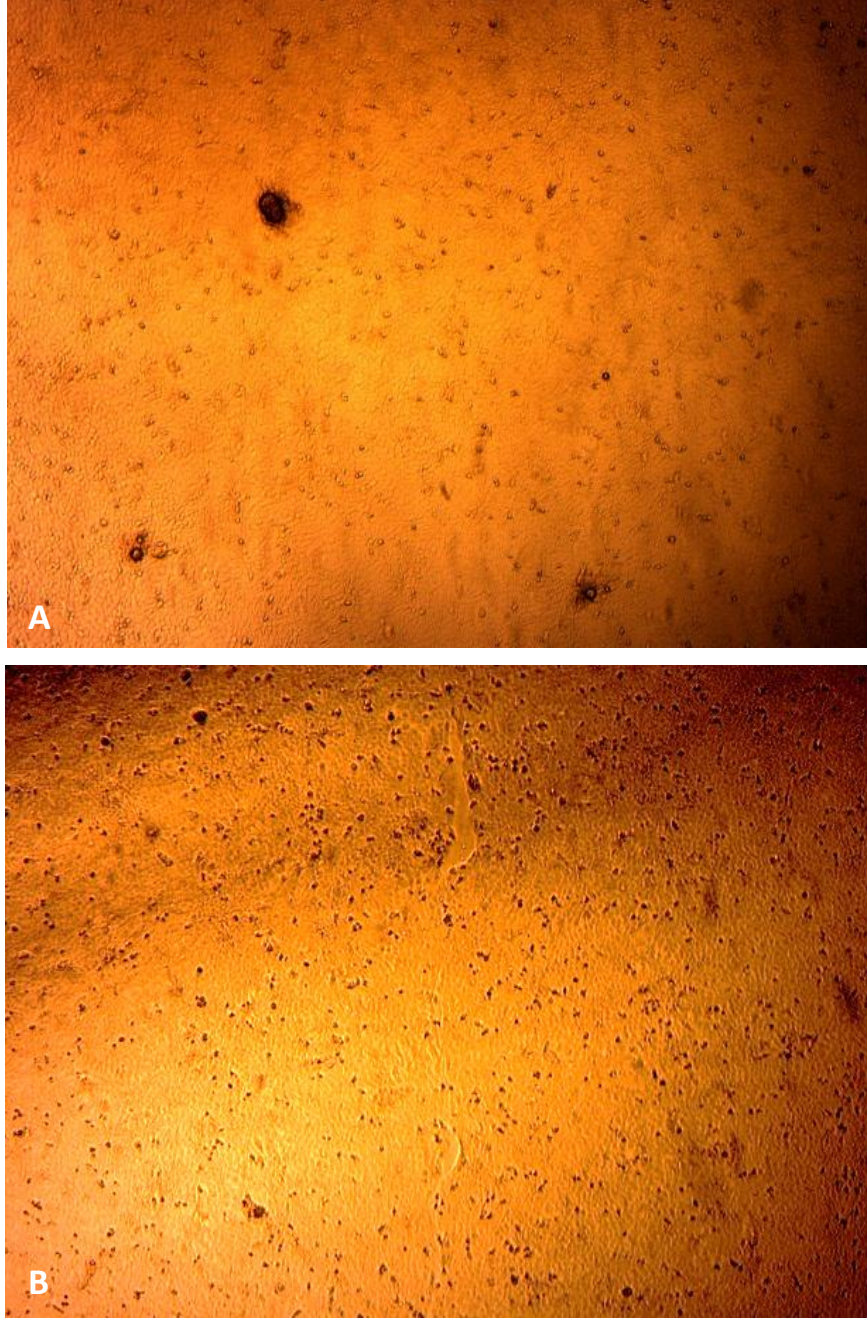
12. saat sonunda madde uygulanan ve uygulanmayan grupta hücre göçlerinin başladığı ve çizikin küçülmeekte olduğu gözlemlendi.



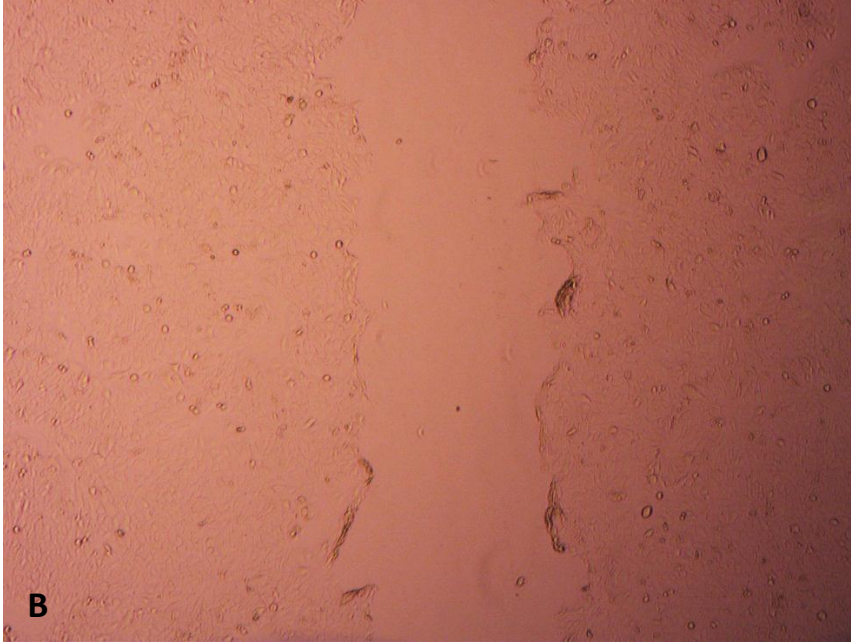


**Resim 7.** Yağ kombinasyonu uygulanan grubun (A) ve kontrol grubunun (B) hücre kültüründe çizik oluşturulduktan 24 saat sonra invert mikroskop görüntüsü (x10)

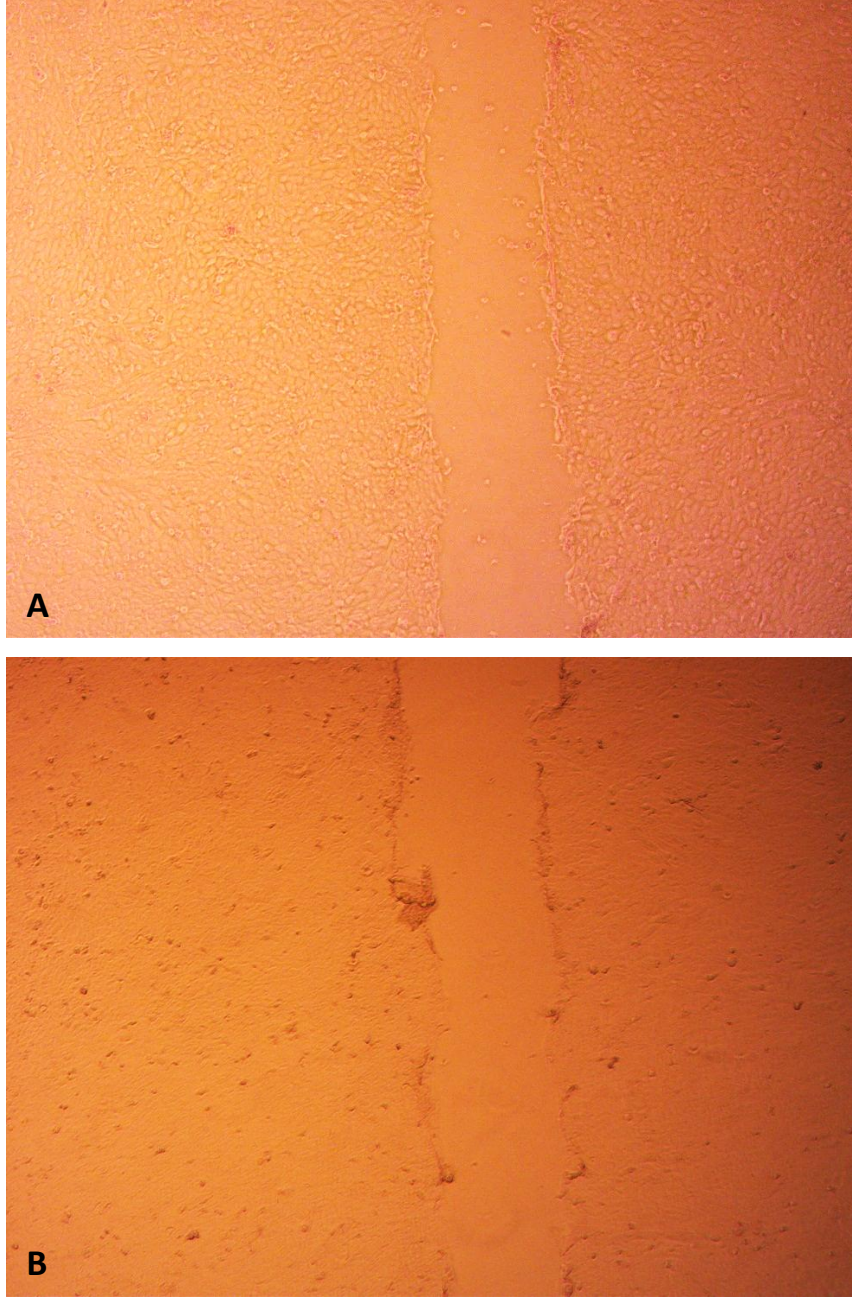
Yağ kombinasyonunun uygulanması keratinosit hücrelerinin migrasyon hızını arttırarak 24. saat sonunda çizikğin tamamen kapanmasını sağladı.



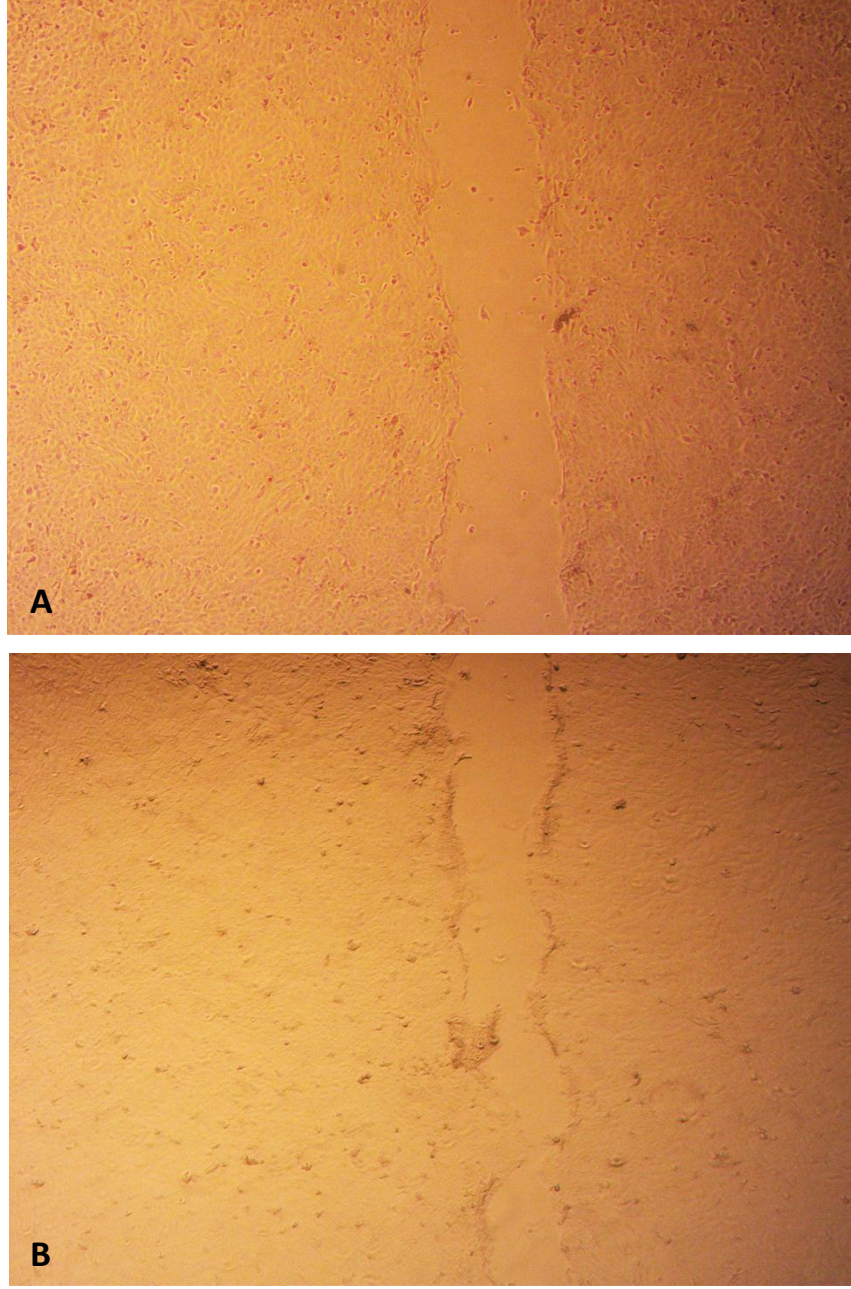
**Resim 8.** Yağ kombinasyonu uygulanan grubun (A) ve kontrol grubunun hücre kültüründe çizik oluşturulduktan 36 saat sonra invert mikroskop görüntüsü (x10)



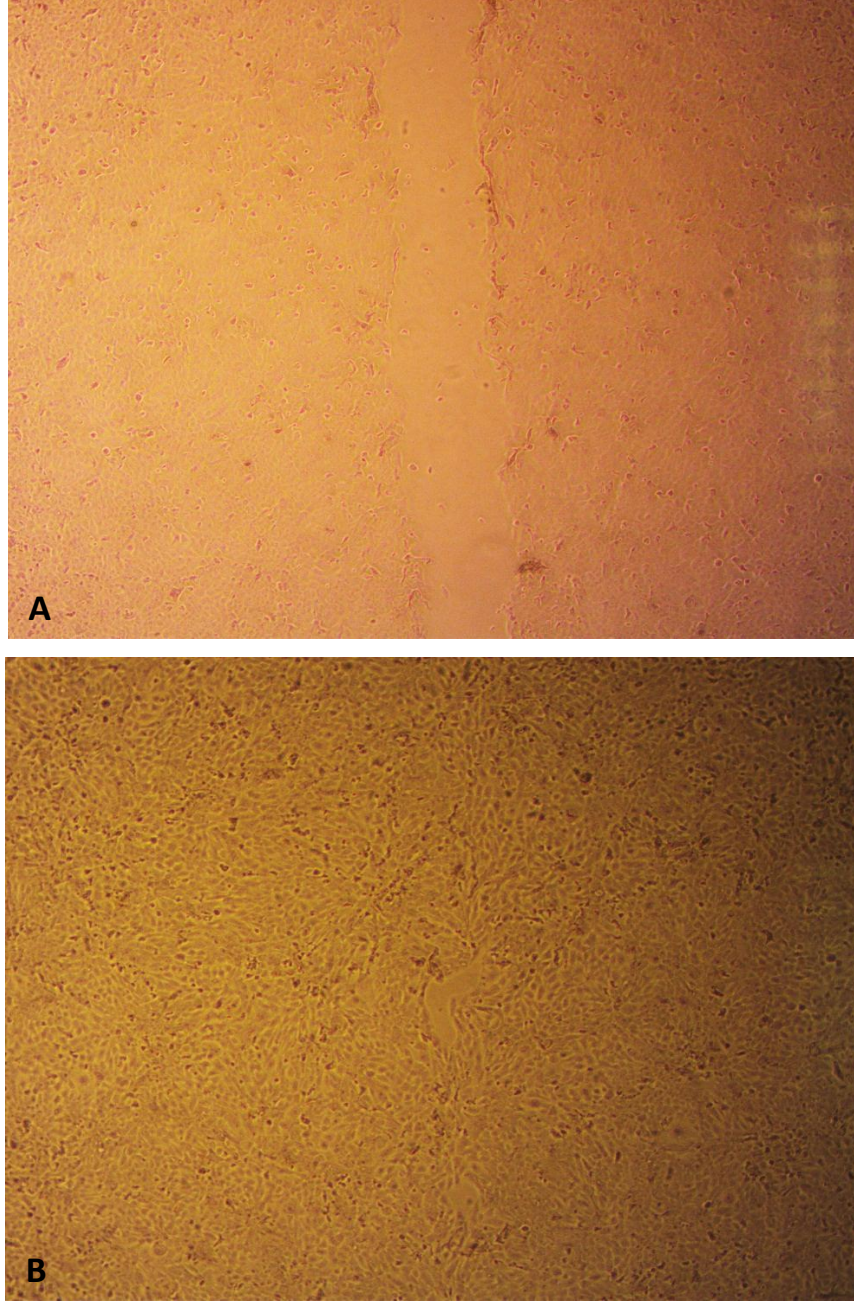
**Resim 9.** T80 uygulanan grubun (A) ve kontrol grubunun (B) hücre kültüründe çizik oluşturulduktan hemen sonra (0. Saatte) invert mikroskop görüntüsü (x10)



**Resim 10.** T80 uygulanan grubun (A) ve kontrol grubunun (B) hücre kültüründe çizik oluşturulduktan 12 saat sonra invert mikroskop görüntüsü (x10)

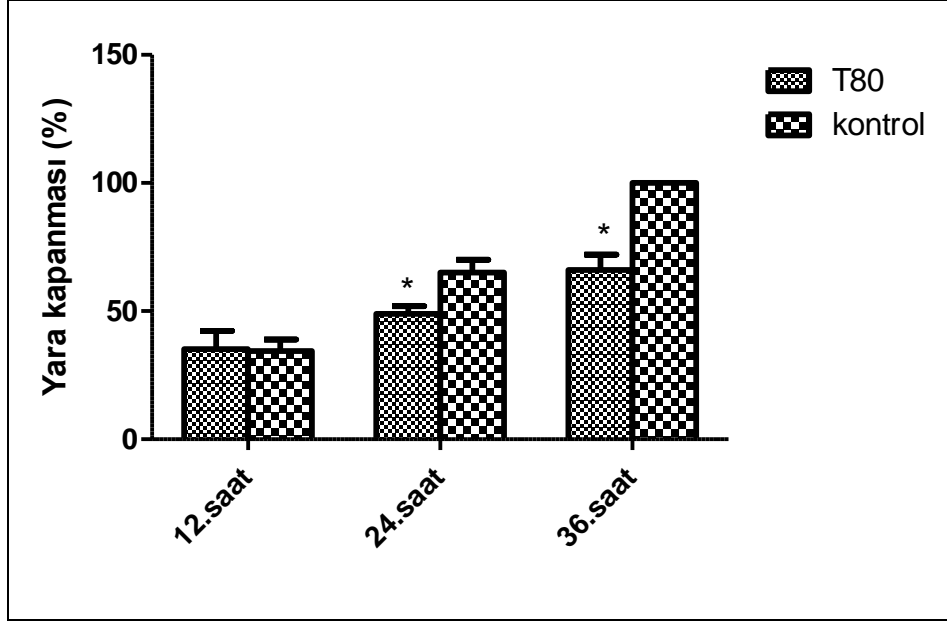


**Resim 11.** T80 uygulanan grubun (A) ve kontrol grubunun (B) hücre kültüründe çizik oluşturulduktan 24 saat sonraki invert mikroskop görüntüsü (x10)



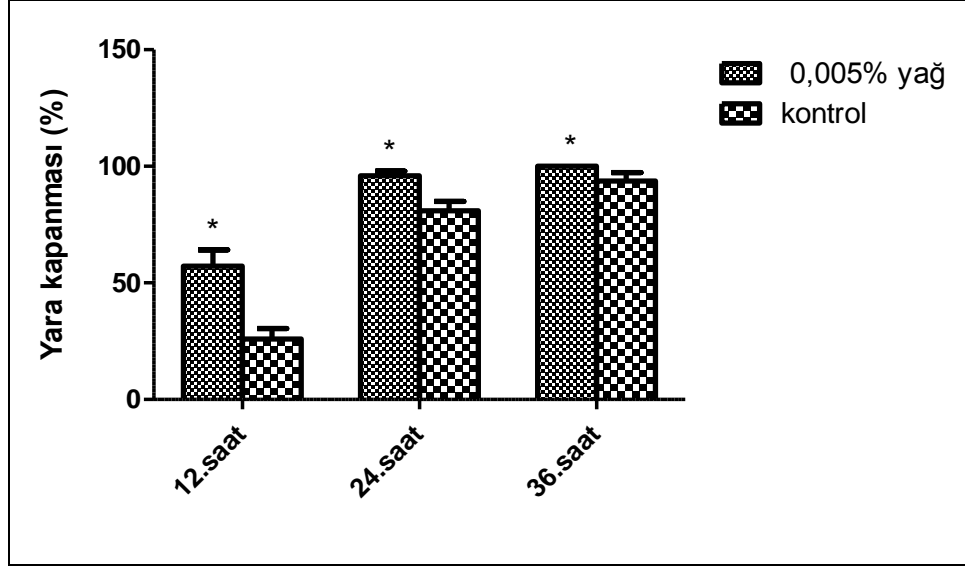
**Resim 12.** T80 uygulanan grubun (A) ve kontrol grubunun (B) hücre kültüründe çizik oluşturulduktan 36 saat sonraki invert invert mikroskop görüntüsü (x10)

Çiziklerin küçülme hızını ölçmek için resimler Image-J software kullanılarak analiz edildi. Çiziklerin 0. Saatten 36. Saate kadar kapanma miktarları ölçülerek hücrelerin % göç oranları hesaplandı ve buna göre saate bağlı olarak yara kapanma yüzdesini gösteren grafikleri çizildi. (Şekil 3 ve Şekil 4)



**Şekil 3.** T80 grubunda yara kapanma miktarı. %0,005’lik T80 uygulanan grubun ve kontrol grubunun 12., 24. ve 36. saat sonunda yara kapanma yüzdeleri ( $p < 0,05$ )

T80 uygulanan grupta yara kapanma hızının daha yavaş olduğu, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 24. ve 36. saat sonunda istatistiksel olarak önemli fark mevcut olduğu görüldü.



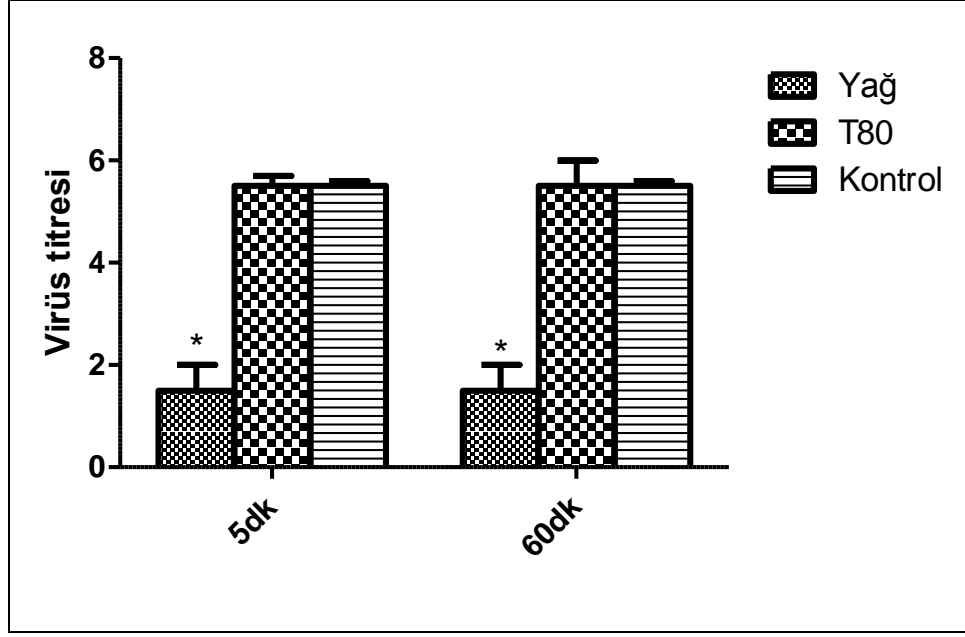
**Şekil 4.** Yağ kombinasyonu grubunda yara kapanma miktarı. %0,005'lik yağ kombinasyonu uygulanan grubun ve kontrol grubunun 12., 24. ve 36. saat sonunda yara kapanma yüzdeleri (p <0,05)

%0,005'lik yağ kombinasyonu uygulanan grupta yara kapanma hızının daha fazla olduğu, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 12., 24. ve 36. saat sonunda istatistiksel olarak önemli fark mevcut olduğu görüldü.

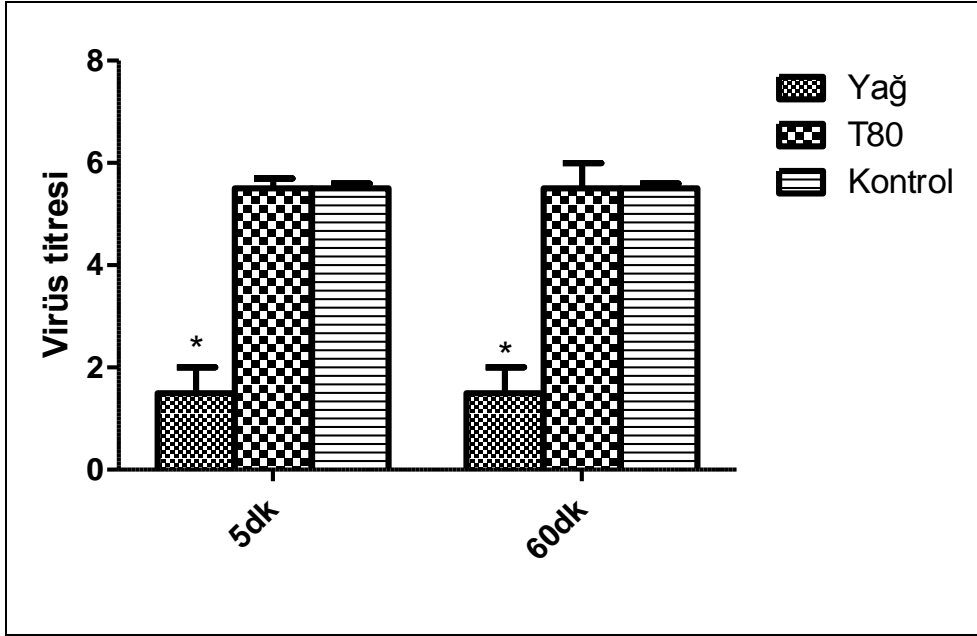
### 4.3. ANTİVİRAL ETKİNLİĞİN BELİRLENMESİ

Test sonucunda yapılan hesaplamalarda yağ kombinasyonunun 1/1'lik oranı oda ısısında (20<sup>0</sup>C), temiz ve kirli koşullarda 5 ve 60 dakikalık uygulama süreleri sonucunda her iki virüsün titresinde bütün deney koşullarında en az 4 log azalmaya neden olduğu saptandı (Şekil 5, 6, 7, 8). Antimicrobial Division US Environmental Protection Agency (EPA) standartlarına göre dezenfektanların virüsidal etkinlikleri için 4 log veya daha fazla virüs titresini düşürmesi gerekmektedir. Sonuç olarak yağ kombinasyonu direkt olarak kullanıldığında oda ısısında (20<sup>0</sup>C), 5 ve 60 dakikalık uygulama sürelerinde Human adenovirüs tip 5 ve Poliovirüs Type 1 virüslerine karşı % 99,99 etkili olduğu saptandı. T80 uygulanan deney grubunda ise kontrol ile aralarında istatistiksel olarak önemli fark tespit edilmedi.

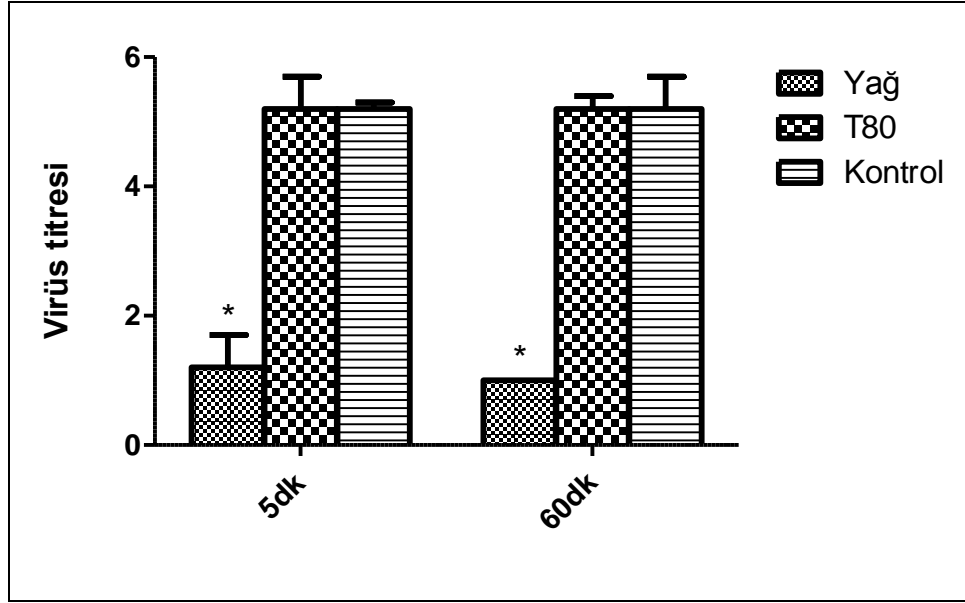




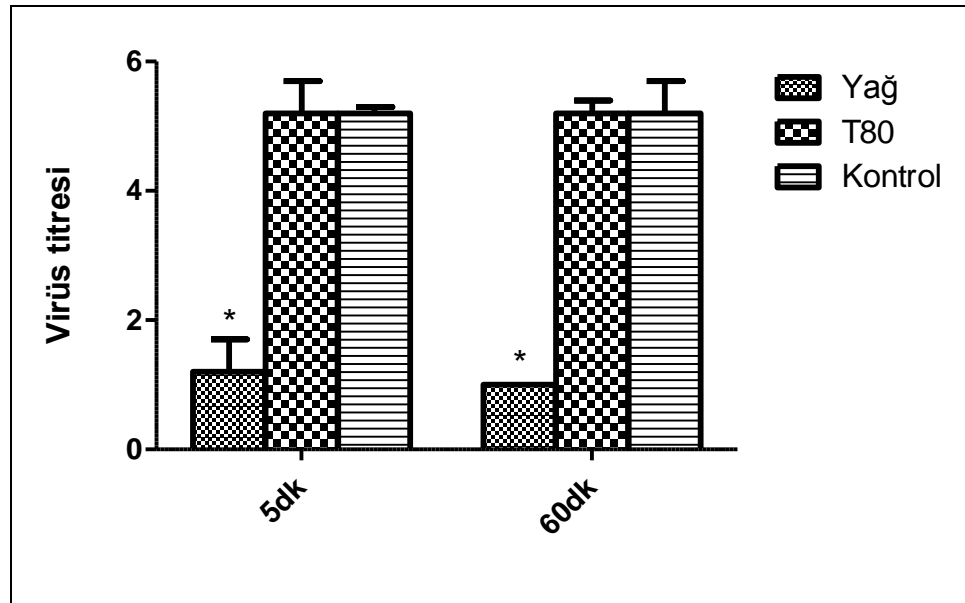
Şekil 5. Farklı sürelerde temiz ortamda T80 ve yağ kombinasyonu uygulanan deney gruplarında adeno virüs titresi ( $p < 0,05$ )



Şekil 6. Farklı sürelerde kirli ortamda T80 ve yağ kombinasyonu uygulanan deney gruplarında adeno virüs titresi ( $p < 0,05$ )



Şekil 7. Farklı sürelerde temiz ortamda T80 ve yağ kombinasyonu uygulanan deney gruplarında polio virüs titresi ( $p < 0,05$ )



Şekil 8. Farklı sürelerde kirli ortamda T80 ve yağ kombinasyonu uygulanan deney gruplarında polio virüs titresi ( $p < 0,05$ )

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Konvansiyonel temel tıbbi tedaviye ek olarak veya onun yerine kullanılan çeşitli tedavi yöntemlerini tanımlayan GTAT tekniklerinin son yıllarda dünya genelinde giderek arttığı ve konu ile ilgili yapılan bilimsel çalışmalarda da artış olduğu gözlemlenmektedir. Hastaların kendi tedavilerinde daha fazla kontrol sahibi olma istekleri, alternatif tıbbın etkili olduğunun düşünülmesi, semptomları azaltıcı girişimlere ulaşma çabaları, sağlık ekibinden yeterli destek alınamaması ve sağlık gereksinimlerinin yüksek maliyetli olması gibi sebeplerin GTAT'a olan ilgiyi arttırdığı bildirilmiştir (Herman et al 2004). Tüm dünyada ve tüm yaş gruplarında yaygın olarak kullanılan GTAT uygulamalarının çeşitli kanser türleri, multipl skleroz, romatolojik hastalıklar, HIV enfeksiyonu ve astım gibi hastalıklarda iki kat daha fazla olduğu bildirilmektedir (Zollman and Vickers 1999, Kurt ve ark 2004, Moquin ve Blackman 2009).

NCCAM'nin alternatif tıp sistemleri, zihin-beden tıbbı, biyoloji bazlı terapiler, manipülatif ve beden bazlı yöntemler ile enerji terapileri olarak 5 grupta topladığı GTAT yöntemlerinden bitkisel tedavi (biyoloji bazlı terapiler) dünya nüfusunun yaklaşık %80'i tarafından çeşitli rahatsızlıkların tedavisi için kullanılmaktadır. Ayrıca, pek çok gelişmiş ülkede reçeteli ilaçların yaklaşık % 25'ini vimbilastin, kinin veya aspirin gibi bitkisel kökenli etken maddeler oluşturmaktadır. Son yıllarda tıbbi ve aromatik bitkilerin yeni kullanım alanlarının keşfedilmesi ve bitkisel ürünlere olan talebin artması; bu bitkilerin kullanım hacmini her geçen gün arttırmakta ve bu alanda yapılan bilimsel çalışmalara da ivme kazandırmaktadır (Kumar 2009). Sanayileşmenin giderek yaygınlaşması ve kitle üretiminin hızlanması ile birlikte sentetik ilaçların üretiminde de artış olmuş ve bu durum bitkisel ürünlerin kullanımında azalmaya neden olmuştur. Ancak zaman içerisinde sentetik ilaçların kullanımını sonucu ciddi yan etkilerin ve bunların yol açtığı medikal ve ekonomik sorunların ortaya çıkması bitkilerle tedaviyi yeniden gündeme getirmiştir (Özbek

2005). Tıbbi bitkilerin daha değerli hale gelmesinin önemli bir nedeni de hastalık etmenlerinin geliştirdikleri direnç sonucu ortaya çıkan dirençli suşlardır. Bu bitkilerden yapılan ürünler çok yönlü etkiye sahip olduklarından yeni suşlara karşı yüksek etkiye sahiptirler (Ceylan 1995).

Diğer bütün dünya ülkelerinde olduğu gibi ülkemizde de GTAT yöntemleri hastalıkların tedavisinde çeşitli aşamalarda tercih edilmektedir. Özellikle kanser, migren gibi tıbbi tedavilerinde zorluk yaşanan hastalıkların, şeker hastalığı, yüksek tansiyon, bronşiyal astım, epilepsi gibi süregelen hastalıkların, üst solunum yolu enfeksiyonları gibi sık görülen hastalıkların tedavisinde başta bitkisel terapiler olmak üzere GTAT yöntemlerinden sıklıkla faydalanılmaktadır (Karadeniz 2000, Tan ve ark 2004, Kalpaklıoğlu 2005, Karayağız Muslu 2008). Türkiye’de toplumun tamamlayıcı ve alternatif tıp uygulamaları ile ilgili bilgi ve kullanım düzeylerine ilişkin çalışmalar, kanser hastaları dışında oldukça sınırlıdır (Bülbül, Turgut ve Köylüoğlu 2009). Son yapılan çalışmalar, çocuklarda da GTAT kullanımının oldukça yaygın olduğunu ve kullanılma sıklığının %18.4-95.0 arasında değiştiğini göstermektedir (Ernst 2000, Sanders et al 2003). Orhan ve arkadaşları 1-16 yaş arası Türk çocuklarında bazı GTAT yöntemlerinin kullanımının bir yıl içinde %38’den %49’a yükseldiğini göstermişlerdir. Toplum tarafından yaygın kullanılmasına rağmen, toplumun yöntem çeşitliliği ve bu uygulamaların zarar ve yan etkileri konusundaki bilgisinin yeterli olmadığı da aynı çalışmada vurgulanmıştır (Orhan ve ark 2003). Diğer yandan, bireylerin GTAT’ı bilinçsiz bir şekilde kullanmaları, bilimsel dayanağı olan tedavilerden yararlanma şanslarını kaybetmelerine ya da tedavinin gecikmesine neden olabilmektedir (Chan 1994, Pearce and Simpson 1998, Ernst 2003). Bitkisel ürünlerin güvenli olduğu varsayımı, daha çok kullanma isteğine ve buna bağlı aşırı dozda kullanıma neden olarak çeşitli organ hasarlarına yol açabilmektedir (De Smet 1995, Boyce 1999, Dahl 2001, Niggemann and Grüber 2003, World Health Organization (WHO) 2004).

GTAT kullanımına dair Türkiye’de yapılan araştırmalar, çoğunlukla kanser hastalarıyla yapılmıştır (Çetingöz 2000, Ceylan 2002, Algier 2005). Kanser hastaları dışında, yetişkinlerin bu tür tedaviler konusundaki bilgi ve kullanım düzeylerine

ilişkin çalışmalar ise oldukça sınırlıdır. Türkiye'nin Doğu bölgesinde yaşayan yetişkinlerle yapılan bir çalışmada örneklemin %70'inin GTAT yöntemlerinden birini kullandığı ve bitkisel tedavinin en sık kullanılan GTAT yöntemi olduğu belirlenmiştir (Tan, Uzun, Akçay 2004). Dermatoloji kliniğine başvuran bir grup hastada ise, alternatif tedaviler hakkındaki bilgi sahibi olanların oranı % 60, bir ya da daha fazla alternatif tedavi uygulamış olanların oranı ise %36 olarak saptanmıştır (Özeren, Altunay, Köşlü 2004).

Bitkisel ekstraktlar yüzyıllardır yara iyileşmesinde kullanılmakta olup, günümüzde de bu durum geçerliliğini korumaktadır. Bazı bitkiler taze yaraların tedavisinde kullanılırken diğerleri kronikleşmiş yaraların tedavisinde kullanılmaktadır (Khalil 2007). Yara iyileşmesinin koagülasyon, inflamasyon, kollagen yapımı, epitel oluşumu gibi çeşitli aşamalarına etki eden tıbbi bitkiler bilimsel literatürde yerini almıştır.

Sıcak ve nemli iklimlerde kolaylıkla yetişen ve tropik bitki olan *Aloe vera* uzun yıllardan beri yanık tedavisinde kullanılmaktadır. Çeşitli formlarında kullanılan *A. vera*'nın 1. ve 2. Dereceden yanıkların tedavi süresini kısalttığı, iyileşme ve epitel oluşum hızını artırdığı belirlenmiştir (Maenthaisong 2007). Crockett ve arkadaşları ise *Hypericum empetrifolium* bitkisinin fitokimyasal içeriklerini araştırmışlar ve Türkiye'de endemik olan bu türün açıl floroglucinol türevleriyle *in vitro* anti-inflamatuar aktivite gösterdiğini ifade etmişlerdir. *Hypericum* türleri antihelmintik ve diüretik olarak ayrıca yara iyileşmesini hızlandırmak için dışarıdan yıkamak suretiyle kullanılmaktadır (Crockett 2008). Devi ve arkadaşları gastrik ülser oluşturulmuş ratlara uygulanan *Terminalia arjuna* ekstraktının ülser yarasının iyileşmesinde etkili olduğunu gözlemişlerdir (Devi, Narayan, Vani and Devi 2007). Sumitra ve arkadaşları *Butea monosperma*'nın atlarda deri yaraları üzerinde iyileştirici etkisini incelemişlerdir (Sumitra et al 2005).

*Onosma* (emzik otu) cinsine ait bazı türler Türkiye'de yara iyileşmesi ve yanıklar için kullanılmaktadır. Yapılan çalışmada bu bitkilerin köklerinden n-hekzan diklorometan ile elde edilen ekstraktın insan embriyosundaki amniyon kılıfı

fibroblastların büyümesini uyarıp uyarmadığı araştırılmıştır. Bitki köklerinde mevcut olan shikanin derivatının yara iyileşmesinde etkili olabileceği bulunmuştur (Ozgen 2006). Hindistan'da *Embelia* cinsinin bazı türlerinde bitkinin tamamı romatizma ve ateş gibi rahatsızlıkların giderilmesinde anti-inflamatuar olarak kullanılmaktadır. Yaprakları ise deri yaralanmalarında kullanılmaktadır. *Embelia* türlerinin yapraklarından ekstrakte edilen embelin etkisini kollagen liflerin arasında meydana gelen çapraz bağların oluşumunu artırarak göstermektedirler. Kollagen içeriğindeki artışa bağlı olarak yeni oluşan dokunun sağlamlığı da artmaktadır. Kumara Swamy ve arkadaşları ratlarla yapmış olduğu çalışmada Embelin uygulanan yaralarda epitelizasyon periyodunun azaldığını ve yara kontraksiyonunun arttığını gözlemlemişlerdir (Kumara et al 2007).

*O. europaea* bitkisi ile dünya genelinde ve ülkemizde çok sayıda çalışma yapılmıştır. Bitkinin ateş düşürücü olarak kullanıldığı (Capasso, Simone and Senatore 1982), ayrıca hipotansif, hipoglisemik, antihelmentik, antiseptik etkilere sahip olduğu belirlenmiştir (Ziyyat et al 1997). Ülkemizde *Olea europaea* yaprakları ve gövde kabuğundan hazırlanan %5'lik infüzyon, idrar arttırıcı, kabızlık önleyici, ateş düşürücü olarak kullanılmaktadır. Meyvelerinden ise romatizma tedavisinde, ağrı ve şişliklerin giderilmesinde faydalanılmaktadır (Tuzlacı 2006).

*N. sativa* ile yapılan bilimsel çalışmalar çörek otu tohumu ve bileşenlerinin, antitümöral (Badary 1999, Kaseb et al 2007), antiülserojenik (Kanter ve ark 2005), antibakteriyel (Halawani 2009), antiinflamatuar ve analjezik (Abdel-Fattah et al 2000), antioksidan (Badary et al 2000), hipoglisemik (Badary et al 1998, Badary 1999) bağışıklık sistemini güçlendirici (Salem, 2005) etkilerinin olduğunu göstermektedir. Çörek otunun çeşitli kanser hücrelerine karşı sitotoksik etkisi olduğu (Swamy and Tan 2000), hücrel aktivasyonu ve tümöre özel antikorların üretimini artırdığı bildirilmiştir (Medenica, Mukerjee, Huschart, Koffskey and Corbit 1993).

*R. officinalis* ile yapılan bilimsel çalışmalarla bitkininin antibakteriyel, antiviral ve bağışıklık sistemini iyileştirici etkileri ortaya konmuştur (Gachkar et al 2007). Bitkinin çiçek ve yapraklarından elde edilen uçucu yağlar anti-inflamatuar, kanamayı

durdurucu, antiseptik, mideyi iyileştiren ve karminatif etkiye sahiptir. Ayrıca, biberiyenin güçlü bir antioksidan aktiviteye sahip olduğu da gösterilmiştir (Banyai, Tulok, Hgedüs, Renner and VargaI 2003). *O. europaea*, *N. sativa* ve *R. officinalis* bitkileri ile yapılan çeşitli çalışmalar bu bitkilerin çok yönlü etkilerinin olduğunu ortaya koymaktadır. Biz de bu çalışmamızda, bu bitkilerden hazırlanan özel bir kombinasyonunun antiviral etkinliğini belirlemek ve yara iyileşme üzerine etkisini araştırmak istedik. Hazırlanan karışım Orta Anadolu'da yüzyıllardır çeşitli hastalıkların tedavisi için kullanılmaktadır. Yağ kombinasyonunun virüslere karşı etkinliğini araştırarak çeşitli viral hastalıklarda ya da dezenfeksiyon amaçlı olarak da kullanılabileceğini ve yara iyileşmesine katkısını inceleyerek de çeşitli yaraların tedavisinde de faydalanılabileceğini göstermeyi amaçladık.

Yağ karışımının yara iyileşmesine etkisi ve antiviral özelliklerini araştırmak için öncelikle bu karışımın ve karışımı seyreltmede kullandığımız T80'in hücrelere toksik olmayan konsantrasyonunu belirledik. Bunun için MTS testi ile farklı konsantrasyonlarda hücre viabilitesini inceledik. Mitokondriyal dehidrogenaz enziminin aktivitesini ölçmek için kullanılan kolorimetrik bir test yöntemi olan MTS ile herhangi bir terapötik ajanın hücre üzerindeki sitotoksik ya da proliferatif etkileri belirlenebilmektedir. Biz de çalışmamızda, 24 saat süreyle yağ kombinasyonu ile inkübe ettiğimiz HaCat hücrelerine 24, 48 ve 72 saat sonra uyguladığımız MTS analizi sonucunda %0,005'lik kombinasyonun hücre canlılığını istatistiksel olarak önemli miktarda artırdığını, %10, %5 ve %0,5'lik diğer deney gruplarının ise hücre canlılığını istatistiksel olarak önemli derecede düşürdüğü gözlemledik. Bu sonuçlardan yola çıkarak yara iyileşmesi ve antiviral etkinlik testlerinde toksik olmayan %0,005'lik konsantrasyonu kullandık. T80 ile yapılan analiz sonucunda ise %0,005 ve %0,05'lik konsantrasyonların toksik olmadığı görüldü.

Antik dönem tıbbi incelendiğinde zeytinyağının (*O. europaea*) merhem gibi ilaçların hazırlanmasında, yara ve yanıkların tedavisinde kullanıldığı görülmektedir. (Jackson 1999, Freedman 2008). Halk arasında, yanıklarda yara tazeyken zeytinyağı ile hiç hava almayacak şekilde sarıldığında yanık izinin oluşmasını engellediği bilinir (Kaplan 2010). Deri ülserlerinde ve inflamatuvar yaralarda merhem olarak

kullanıldığı bilinen *O. europaea* bitkisinin yara iyileşmesi üzerine etkinliğinin belirlenmesi için çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Koca ve arkadaşları yaptıkları çalışmada *O. europaea* bitkisinin yapraklarından hazırladıkları *n*-Hekzan ve sulu ekstraktların yara iyileştirici etkisini *in vivo* yara modeli kullanarak araştırmışlardır. Bunun için çizgisel eksizyon ve dairesel eksizyon modellerini uyguladıkları çalışmada *n*-Hekzan ekstraktının yara iyileştirici etkisi olduğunu ortaya koymuşlardır. Sulu ekstraktın yüksek performanslı sıvı kromatografisi ile yapılan analizinde ise secoiridoid oleuropein (% 4.6059) major aktif bileşen olarak belirlenmiştir (Koca, Süntar, Akkol, Yilmazer ve Alper 2011).

*N. sativa* bitkisinin yara iyileşmesi üzerine etkisinin incelenmesi için yapılan çalışmalar bu bitkinin yara iyileşmesini hızlandırdığını ortaya koymuştur. Yaman ve arkadaşları *N. sativa* ile gümüş sulfadiazinin ratlarda yanık yaralarının iyileşmesi üzerine etkilerini karşılaştırdıkları çalışmalarında *N. sativa*'nın gümüş sulfadiazin ve kontrol grubuna göre yara iyileştirmesini önemli ölçüde hızlandırdığını ortaya koymuşlardır (Yaman, Durmus, Ceribasi ve Yaman 2010). Abu-Zinadah ise *N. sativa* yağının tavşanlarda yara iyileşmesine katkısını yanık modeli ile araştırmıştır. Konsantre HCl ile oluşturduğu yanık modelinde *N. sativa* yağının yara iyileşmesini hızlandırdığını tespit etmiştir (Abu-Zinadah 2009).

*R. officinalis* bitkisi yara tedavisinde kullanılan bitkiler arasındadır. Özellikle Ürdün halk tıbbında yara tedavisinde bu bitki sıklıkla kullanılmaktadır. Abu-Al-Basal yaptığı çalışmasında *R. officinalis*'in sulu ekstraktının ve esansiyal yağının diyabetik BALB/c fareler üzerindeki iyileştirici etkisini incelemiştir. Araştırması sonucunda diyabetik yaraların iyileşmesinde en çok esansiyal yağın etkili olduğunu ortaya koymuştur. Böylelikle bu çalışma *R. officinalis*'in yara iyileşmesinde geleneksel kullanımına bilimsel kanıt sağlamıştır (Abu-Al-Basal 2010)

*O. europaea*, *N. sativa* ve *R. officinalis* bitkilerinin yara iyileşmesine etkisini inceleyen birçok *in vivo* çalışma olmasına rağmen konuyla ilgili *in vitro* çalışma bulunmamaktadır. Biz de çalışmamızda bu bitkilerden hazırlanan yağ kombinasyonunun yara iyileşmesine etkisini *in vitro* olarak inceldik. Yara iyileşme



aktivitesini *in vitro* test etmek için hücrelerin göç kapasitelerini ve hızlarını hücre popülasyonunun belirli bir alana yayılmasını ölçerek inceleyen scratch assay, tek tabaka halindeki hücrelerde yara (çizik) oluşturulması temeline dayanır (Adetutu, Morgan and Corcoran 2011). MTS testi sonucunda toksik olmağı gösterilen %0,005'lik yağ kombinasyonunun ve T80'in yara iyileşmesi üzerine etkisi scratch assay ile değerlendirildiğinde T80 uygulanan grupta yara kapanma hızının daha yavaş olduğu, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 24. ve 36. saat sonunda istatistiksel olarak önemli fark mevcut olduğu görüldü. %0,005'lik yağ kombinasyonu uygulanan grupta ise yara kapanma hızının daha fazla olduğu, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 12., 24. ve 36. saat sonunda istatistiksel olarak önemli fark mevcut olduğu tespit edildi. Bu durum, yağ kombinasyonunun yara iyileşmesini hızlandırmada önemli bir etkiye sahip olduğunu ortaya koymaktadır. T80'in yarayı iyileştirmede kontrolden daha yavaş olması ise yağ kombinasyonunun etkisinin T80'den kaynaklanmadığını göstermektedir.

Gelişmiş ülkelerde meydana gelen hastalıkların %60'ının viral enfeksiyonlar tarafından ortaya çıktığının belirlenmesi ile virüslere karşı aktif ilaçların geliştirilmesine yönelik çalışmalar hızlanmış ve pek çok bitki antiviral aktivitelerinin ölçülmesi için test edilmiştir (Modamed and Thomas 1990). Antibiyotikler, bakterilere özgü pek çok farklı mekanizma olması ve spesifik olarak bunları inhibe etmeleri sayesinde bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde büyük başarı göstermektedir. Ancak virüsler genellikle konağın sentez mekanizmalarını kullandıkları için virüslere özgü metabolik yollar oldukça sınırlıdır. Bu nedenle spesifik olarak viral metabolizmaya etki ederek viral enfeksiyonlarda tedaviyi sağlayacak doğal ve sentetik ilaçların keşfi oldukça zor ve kısıtlı olmaktadır (Karagöz 1997).

*O. europaea*'nın antiviral özelliklere sahip olduğu pek çok bilimsel araştırma ile gösterilmiştir. Lea-Huang ve arkadaşları zeytin yaprağının Human Immunodeficiency Virüs tip 1 (HIV-1)'e karşı olan antiviral etkinliğini araştırdıkları çalışmada bitkinin bu virüse karşı yüksek antiviral özelliğe sahip olduğunu ortaya koymuşlardır (Lee-Huang et al 2003). Micol ve arkadaşları zeytin yaprağından elde

edilen oleuropein isimli bileşiğin bir salmonid rhabdovirüs olan viral haemorrhagic septicaemia virüsüne (VHSV) olan etkinliğini araştırmış ve bu molekülün virüsün infektivitesini inhibe ettiğini göstermişlerdir (Micol et al 2005). Yamada ve arkadaşları zeytinin yaprak ve meyvesinde bulunan hidroksitirosol isimli küçük fenolik bileşiğin H1N1, H3N2, H5N1, ve H9N2 alt tipleri dahil olmak üzere influenza A virüslerini inaktive ettiğini yaptıkları çalışma ile kanıtlamışlardır. Ayrıca hidroksitirosolün Newcastle hastalığı virüsünü de inaktive ettiği ancak bovin rotavirüsü üzerine etki etmediğini bildirmişlerdir (Yamada et al 2009).

*N. sativa*'nın antiviral etkinliğini belirlemek için çeşitli virüslerle yapılan çalışmalarda bu bitkinin ve tohumlarının virüslere karşı oldukça etkili olduğu ortaya konmuştur. Salem ve Hossain, murin sitomegalovirüsü (MCMV) model olarak kullandıkları çalışmalarında *N. sativa* tohumlarından elde edilen yağın antiviral etkisini incelemişlerdir. Çalışma sonucunda yağın MCMV'ye karşı çok kuvvetli bir antiviral etkiye sahip olduğunu göstermişlerdir (Salem and Hossain 2000). Zaher ve arkadaşları ise yaptıkları çalışmada *N. sativa* tohumlarının Enfeksiyöz Laringo-Tracheitis Virüsüne (ILTV) karşı antiviral etkinliğe sahip olduğunu göstermişlerdir (Zaher, Ahmed and Zerizer 2008).

Antiviral özellikleri araştırılan pek çok diğer bitkiden bir tanesi de *R. officinalis*'tir. Hindistan'da Vijayan ve arkadaşları halk arasında tedavi amaçlı olarak kullanılan 18 bitkiyi Herpes simplex virüsüne (HSV) karşı antiviral etkinliklerini belirlemek için test etmişlerdir. Bu bitkiler arasından üçünün çok yüksek antiviral etki gösterdiklerini saptarken *R. officinalis* esansiyal yağının kısmi etki gösterdiğini belirlemişlerdir (Vijayan, Raghu, Ashok, Dhanaraj and Suresh 2004). *R. officinalis* esansiyal yağının HSV üzerine antiviral etkisi Minami ve arkadaşlarının yaptığı çalışma ile de tespit edilmiştir (Minami et al 2003). Ayrıca *R. officinalis* ekstraktını oluşturan karnosol ve karsonik asit HIV virüsünün bulaşmasını engelleme konusunda da etkinliğe sahip olduğu gösterilmiştir (Sasikumar, 2004).

*O. europaea*, *N. sativa* ve *R. officinalis* bitkilerinin antiviral etkilerini çeşitli virüs modelleri kullanarak kanıtlayan çalışmaların sonuçlarından yola çıkarak biz de çalışmamızda bu bitkilerden hazırlanan yağ kombinasyonunun antiviral etkinliğini Human adenovirüs tip 5 ve Poliovirüs Tip 1 kullanarak gösterdik. Bu analizi TS EN 14476 standartlarına göre gerçekleştirdik. Bu standarda göre enstrüman ve yüzey dezenfektanlarının antiviral etkinliği incelenirken referans organizma olarak zarfsız RNA virüsü poliovirus tip 1 ve zarfsız DNA virüsü adenovirüs tip 5 kullanılır. Virüs titresini ve madde uygulanan virüs titresini Spearman-Kärber metodu kullanılarak hesaplanır. Test sonucunda yapılan hesaplamalar yağ kombinasyonunun 1/1'lik oranının oda ısısında, temiz ve kirli ortamlarda, 5 ve 60 dakikalık uygulama süreleri sonucunda her iki virüsün titresinde en az 4 log azalmaya neden olduğunu ve kontrol grubu ile aralarında önemli derecede istatistiksel fark olduğunu ortaya koymaktadır. Antimicrobial Division US EPA standartlarına göre dezenfektanların virüsidal etkinlikleri için 4 log veya daha fazla virüs titresini düşürmesi gerekmektedir. Temiz ortam, tatmin edici bir temizleme programı uygulanmış veya minimum seviyede organik ve/veya inorganik madde içerdiği bilinen yüzeyleri temsil etmek için kullanılır. Kirli ortam ise organik ve/veya inorganik madde içerdiği bilinen yüzeyleri temsil eder. Deney sonuçları analiz edildiğinde yağ kombinasyonunun direkt olarak kullanıldığında Human adenovirüs tip 5 ve Poliovirüs Tip 1 virüslerine karşı % 99,99 etkili olduğu ortaya çıkmaktadır. T80 uygulanan deney grubunda ise kontrol ile aralarında istatistiksel olarak önemli fark tespit edilmemesi antiviral etkinin T80'den kaynaklanmadığını göstermektedir.

TS EN 14476 standartlarına doğrultusunda DNA'lı model virüs örneği olarak Human Adenovirüs Tip 5'e ve RNA'lı model virüs örneği olarak Poliovirüs Tip 1'e karşı virüsidal etkinliği araştırılan bu maddenin laboratuvarında pratik olarak test edilemeyen HBV gibi diğer zarflı ve zarfsız DNA'lı virüslere ve HCV, HIV gibi diğer zarflı ve zarfsız RNA'lı virüslere de en az yukarıda belirtilen çözünürlük ve sürelerde kullanılmak şartıyla aynı virüsidal etkiyi gösterdiği kabul edilir.

Sonuç olarak, *O. europaea*, *N. sativa* ve *R. officinalis* bitkilerinden hazırlanan yağ kombinasyonu yara iyileşmesini önemli derecede hızlandırmaktadır. Geleneksel olarak yüzyıllardır Orta Anadolu'da kullanılan kombinasyon ayrıca antiviral özellik de sergilemektedir. Bu etkilerine bakıldığında karışımın yara iyileştirme sürecinde ve viral enfeksiyonların tedavisine yardımcı ya da dezenfektan amaçlı olarak kullanılabilir bir ajan olabileceği sonucuna varılmaktadır.

## 6. ÖZET

**GİRİŞ VE AMAÇ:** Modern tıp yöntemlerine ek olarak kullanılan tedavi yöntemlerini tanımlayan Geleneksel, tamamlayıcı ve alternatif tıp (GTAT) kullanımında son yıllarda tüm dünya genelinde bir artış meydana gelmiştir. En sık kullanılan GTAT yöntemlerinden biri olan bitkisel tıp dünya nüfusunun yaklaşık %80'i tarafından çeşitli rahatsızlıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Bu çalışmada geleneksel tıpta çok yönlü etkileriyle bilinen *Olea europaea*, *Nigella sativa* ve *Rosmarinus officinalis* bitkilerinden özel olarak hazırlanan, Orta ve Doğu Anadolu'da yüzyıllardır kullanılan bir karışımın antiviral etkinliğini belirlenmesi ve yara iyileşme sürecine katkısını irdelemeyi amaçladık.

**GEREÇ VE YÖNTEM:** Öncelikle yağ karışımının sitotoksik olmayan konsantrasyonu MTS testi ile belirlendi. Toksik olmayan konsantrasyonun *in vitro* scratch assay testi kullanılarak yara iyileşmesine etkisini incelendi. Bunun için kültüre edilmiş keratinosit hücre tabakasında çizik oluşturulduktan sonra yağ kombinasyonu uygulandı. Mikroplakalar invert mikroskopta incelenerek farklı zaman aralıklarında resimleri çekildi. Yağ kombinasyonunun antiviral etkinliği TS EN 14476 Standardına göre araştırıldı..

**BULGULAR:** toksik etkisi olmadığı MTS testi ile belirlenen %0,005'lik yağ kombinasyonu uygulanan grupta yara kapanma hızının kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 12., 24. ve 36. saat sonunda istatistiksel olarak önemli derecede fazla olduğu tespit edildi. Antiviral etkinlik analizi sonucunda yağ kombinasyonunun 1/1'lik virüs titresinde en az 4 log azalmaya neden olarak Human adenovirüs tip 5 ve Poliovirüs Tip 1 virüslerine karşı % 99,99 etkili olduğu ortaya kondu.

**SONUÇ:** Çalışma sonuçları yağ kombinasyonunun yara iyileşmesini hızlandırıcı etkisi olduğunu ayrıca antiviral etkinliğe de sahip olduğunu göstermektedir.

**Anahtar kelimeler:** *Olea europaea*, *Nigella sativa*, *Rosmarinus officinalis*, antiviral, yara iyileşmesi

## SUMMARY

**INTRODUCTION AND AIM:** Complementary and alternative medicine (CAM), defined as treatment methods that are used in addition to modern medicine methods, has an increasing usage in the last decades throughout the world. Herbal medicine, the most commonly preferred CAM, is used in the treatment of various disorders by approximately 80% of the world's population. In this study, we aimed to determine the antiviral activity and wound healing potential of a special herbal mixture prepared from *Olea europaea*, *Nigella sativa* and *Rosmarinus officinalis* that has been used for centuries in Middle and East Anatolia.

**MATERIALS AND METHODS:** Firstly, the nontoxic concentration of the herbal mixture is determined by MTS assay. This concentration is investigated for its wound healing potential by using *in vitro* scratch assay. To execute the scratch assay, a scratch is made on a cultured keratinocyte cell layer and the herbal mixture is added to the culture medium. Microplates are observed under inverted microscope and pictures are taken at different time intervals. The antiviral activity of the mixture is determined according to TS EN 14476 Standards.

**RESULTS:** The nontoxic concentration, % 0,005 of herbal mixture as determined by the MTS assay, was found to show statistically higher wound healing rate in compare to control group at the end of 12, 24 and 36 hours. Antiviral activity test showed thatAccording to antiviral efficacy test, 4 log of reduction in virüs titer was seen in 1/1 herbal mixture. This reduction meant that the mixture was % 99,99 effective against Human adenovirüs type 5 and Poliovirüs type 1.

**DISCUSSION:** The study shows that the special herbal mixture speed up wound healing and it also has antiviral activity.

**Key Words:** *Olea europaea*, *Nigella sativa*, *Rosmarinus officinalis*, antiviral, wound healing

## KAYNAKLAR

- Abdel-Fattah AFM, Matsumoto K, Watanabe H. (2000). Antinociceptive effects of *Nigella sativa* oil and its major component, thymoquinone in mice. *Eur J Pharmacol*, 400: 89-97
- Abu-Al-Basal MA. (2010). Healing potential of *Rosmarinus officinalis* L. on full-thickness excision cutaneous wounds in alloxan-induced-diabetic BALB/c mice. *J Ethnopharmacol*. 15;131(2):443-50.
- Abu-Zinadah OA. (2009). Using *Nigella sativa* oil to treat and heal chemical induced wound of rabbit skin. *JKAU*, 21(2): 335-346
- Agalias A, Melliou E, Magiatis P, Mitaku S, Gikas E, Tsarbopoulos A. (2005). Quantitation of oleuropein and related metabolites in decoctions of *Olea europaea* leaves from ten Greek cultivated varieties by HPLC with diode array detection (HPLCAD). *J Liq Chromatogr Relat Technol.*, 28: 1557-1571.
- Agarwal R, Khorya MD and Shrivastaga R. (1979). Antimicrobial and antelmintic activities of the essential oil of *Nigella sativa* L., *J Exper Biol*, 17, 11, 1214-1215.
- Akhtar MS, Riffat S. (1991). Field trial of *Saussurea lappa* roots against nematodes and *Nigella sativa* seeds against cestodes in children, *J Pak Med Assoc*, 41, 8, 185-187.
- Ağaoğlu S, Berktaş M, Güdücüoğlu H. (1999). Çörek otu (*Nigella sativa*) tohumunun antimikrobiyal aktivitesi üzerine bir araştırma. *Yüüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 5, 1-2, 15-17.

- Aktaş B ve Basmacıoğlu-Malayoğlu H. (2011). Zeytinyağı işleme yan zeytin yaprağı ile zeytin karasuyunun antimikrobiyal ve antioksidan etkileri. *Hayvansal Üretim*, 52(1); 49-58.
- Aktaş E. (2008). Zeytin üretimindeki gelişmeler ve Çanakkale. Çanakkale-Küçükkuşu Değerleri Sempozyumu, 12 s., Çanakkale.
- Albu S, Joyce E, Paniwnyk L, Lorimer JP, Mason TJ.( 2004). Potential for the use of ultrasound in the extraction of antioxidants from *Rosmarinus officinalis* for the food and pharmaceutical industry. *Ultrasonic Sonochemistry*, 11: 261.
- Al-Ghamdi MS. (2003). Protective effect of *Nigella sativa* seeds against carbon tetrachloride-induced liver damage. *Am J Chin Med*, 31: 5, 721-728.
- Algier L, Hanoğlu Z, Özden G, Kara F. (2000). The use of complementary and alternative (non-conventional) medicine in cancer patients in Turkey. *Eur J Oncol Nurs*, 9: 138-146.
- Alhaj NH, Shamsudin MN, Alipiah NM, Zamri HF. (2010). Characterization of *Nigella sativa* L. essential oil-loaded solid lipid nanoparticles. *Am J Pharmacol Toxicol*, Vol. 5, No.1, 52-57.
- Altıparmak M. (2012). Diabetik ratlarda kantaronun deriyarasi üzerine etkisi. Tıpta uzmanlık tezi, Erciyes Üniversitesi, Kayseri. (Danışman: Doç. Dr. Teoman Eskitaşçioğlu).
- Altun R, Özden A. (2004). Tamamlayıcı ve alternatif tıp. *Güncel gastroenteroloji*, Eylül 231-234.
- Anonim (1987). Ülkemizdeki bazı orman tali ürünlerinin teşhis ve tanıtım kılavuzu. Tarım Orman ve Köyisleri Bak., Yayın No: 659, Seri No: 8.



- Badary OA. (1999). Thymoquinone attenuates ifosfamide-induced Fanconi syndrome in rats and enhances its antitumor activity in mice. *J Ethnopharmacol*, 67:135-142.
- Badary OA, Al-Shabanah OA, Nagı MN, Al Bekarı AM, Elmazar MMA. (1998). Acute and subchronic toxicity of thymoquinone in mice. *Drug Development Research*, 44: 56-61.
- Badary OA, Abdelnaim AB, Abdel-Wahap MH, Farid MA, Hamada FMA. (2000). The influence of thymoquinone on doxorubicin-induced hyperlipidemic nephropathy in rats. *Toxicology*, 143: 219-226
- Banyai ES, Tulok MH, Hgedüs A, Renner C and Varga I.S. (2003). Antioxidant effect of various rosemary (*Rosmarium officinalis* L.) clones. *Acta Biologica Szegediensis*. 47(1-4): 111-113.
- Baydar, H. (2009). Tıbbi ve aromatik bitkiler bilimi ve teknolojisi. SDÜ Ziraat Fakültesi, Yayın No: 51, ss.122-123.
- Baytop T. (1984). Türkiye'de bitkiler ile tedavi, İ.Ü. Yayınları No:3255, İstanbul.
- Baytop T. (1999). Türkiye'de bitkiler ile tedavi. 2. Baskı, Nobel Tıp Kitapevi, s: 369, İstanbul.
- Besnard, G. and Bervillé, A. (2002). On chloroplast DNA variations in the olive (*Olea europae* L.) complex: comparison of RFLP and PCR polymorphisms. *Theor Appl Genet*, 102; 1157-1163.
- Boyce N. (1999). Unknown quantity. *New Sci*, 161:18-19.
- Bracco U, Löliger J, Viret JL. (1981). Production and use of natural antioxidants. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 58:686-690.

- Broughton G, Janis JE, Attinger CE. (2006). Wound healing: An overview. *Plast. Recons. Surg*, 117, 1-31.
- Burak M, Çimen Y. (1999). Flavonoidler ve antioksidan özellikleri. *T Klin Tıp Bilimleri*, 19: 296–304.
- Can A, Özçelik B, Güneş G. (2005). Meyve sebzelerin antioksidan kapasiteleri. Gap IV. Tarım Kongresi Bildiriler, 21–23 Eylül, Şanlıurfa.
- Capasso F, Simone F, Senatore F. (1982). Traditional phytotherapy in the Agri Willey, Lucania, Southern Italy. *J Ethnopharmacol*, 6: 243-250.
- Cemeroğlu B. (2004). Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi, Cilt 1, 670 s, Ankara.
- Ceylan S, Hamzaoğlu O, Kömürcü S, Beyan C, Yalçın A. (2002). Survey of the use of complementary and alternative medicine among Turkish cancer patents. *Complement Ther Med*, 10: 94- 99.
- Ceylan, A. (1995). Tıbbi Bitkiler I. E.Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları III. Basım No:312. Bornova/İzmir.
- Chan TY. (1994). The prevalence use and harmful potential of some Chinese herbal medicines in babies and children. *Vet Hum Toxicol*, 36:238-240.
- Charles K. (2007). Management of acute wounds. *Clin Plastic Surg*; 34(4): 685-95
- Chou Dk, Krishnamurthy R, Randolph Tw, Carpenter Jf, Manning Mc. (2005). Effects of tween 20 and tween 80 on the stability of albutropin during agitation. *J Pharm Sci*, 94(6): 1368-1381.

- Coşkun F. (2006). Gıdalarda bulunan doğal koruyucular. Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi (2) 27-33. [www.teknolojikarastirmalar.com/pdf/tr/02\\_010206\\_3\\_coskun\\_tr.pdf](http://www.teknolojikarastirmalar.com/pdf/tr/02_010206_3_coskun_tr.pdf)
- Crockett SL. (2008). Anti-inflammatory phloroglucinol derivatives from *Hypericum empetrifolium*. *Phytochem Lett*, 1: 37–43.
- Çağırın Ö. (1996). Tıbbi Nebevi. 1. Baskı , Boğaziçi Yayınları , İstanbul.
- Çetingöz R, Tanrıver Y, Ataman ÖU, Kınay M. (2000). Kanser hastalarında tıp dışı tedavi yöntemlerinin araştırılması. *Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*; 14 (3): 245-249.
- Dahl NV. (2001). Herbs and supplements in dialysis patients: panacea or poison? *Semin Dial*, 14:186–192.
- Davis, P. H. (1978). Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Vol.6, Edinburg: Edinburg University Press, s.: 145.
- De Smet PA. (1995). Health risks of herbal remedies. *Drug Saf*, 13:81–93.
- Defining and describing complementary and alternative medicine (1997). Panel on Definition and Description, CAM Research Methodology Conference, April 1995. *Altern Ther Health Med*,3(2):49-57
- Devi RS, Narayan S, Vani G, Devi CSS. (2007). Gastroprotective effect of Terminalia arjuna bark on diclofenac sodium induced gastric ulcer. *Chem Biol Interact*, 167:71–83.
- Emaa M, Hara H, Matsumoto M, Hirata-Koizumia M, - Hirose A, Kamata E. (2008). Evaluation of developmental neurotoxicity of polysorbate 80 in rats. *Reproductive Toxicology*, 25: 89–99.

- Erme Y. (2013). Biberiye (*Rosmarinus Officinalis* L.) Bitkisinin *in vitro* koşullarda klonal çoğaltimi üzerine araştırmalar. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul (Danışman: Prof. Dr. Aynur Gürel)
- Ernst E, White A. (2000). The BBC survey of complementary medicine use in the UK. *Complement Ther Med*, 8: 32-36.
- Ernst E. (2000). Prevalence of use of complementary/alternative medicine: a systematic review. *Bull World Health Organ*; 78: 252-257.
- Ernst E. (2003). Serious adverse effects of unconventional therapies for children and adolescents: a systematic review of recent evidence. *Eur J Pediatr*, 162:72-80.
- Fu Y, Zu Y, Chen L, Shi X, Wang Z, Sun S, Efferth T. (2007). Antimicrobial activity of clove and rosemary essential oils alone and in combination. *Phytother Res*, 21: 989-994.
- Furnham A. (2002). Complementary and alternative medicine. *Psychologist*, 15: 228-231.
- Gachkar L, Yadegari D, Rezaei MB, Taghizadeh M, Astaneh SA, Rasooli I. (2007). Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Food Chemistry*, 102:898-904.
- Gurtner, Geoffrey C. (2007). Wound healing: Normal and abnormal. In: Charles H. Thorne, et al. *Grabb and Smith's Plastic Surgery* 6th Edition. Philadelphia: Lippincott-Williams and Wilkins, 15-22.
- Gülbaba, AG, Özkurt N, Kürkçüoğlu M, Başer, KHC. (2002). Mersin Ve Adana yöresindeki doğal biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.) populasyonlarının tespiti ve uçucu yağ verim ve bileşimlerinin belirlenmesi. T.C. Orman

Bakanlığı, Doğu Akdeniz Ormancılık Araştırma Enstitüsü Teknik Bülten  
No: 16, Tarsus, Mersin

Halawanı E. (2009). Antibacterial activity of thymoquinone and thymohydroquinone of *Nigella sativa* L. and their interaction with some antibiotics. *Advances in Biological Research*, 3(5-6): 148-152.

Herman CJ, Allen P, Hunt WC, Prasad A, Brady TJ. (2004). Use of complementary therapies among primary care clinic patients with arthritis. *Prev Chronic Dis*. Oct; 1(4):A12.

Hızel Bülbül S, Turgut M, Köylüoğlu S. (2009). Çocuklarda tıp dışı alternatif uygulamalar konusunda ailelerin görüşleri. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*; 52: 195-202.

Hom DB. (1998). Wound healing in relation to scarring. *Facial Plast Surg Clin North Am*.;6:11.

Junquiera LC, Carneiro J. (2006). Deri. Aytekin Y, Solakoğlu S (Editörler). Temel Histoloji'de. Nobel Tıp Kitap Evleri, 369-81.

Kalpaklıoğlu AF. (2005). Alternative therapies in asthma. *Türkiye Klinikleri J Int Med Sci*;1:64-72.

Kanter M, Demir H, Karakaya C, Özbek H. (2005). Gastroprotective activity of *Nigella sativa* L oil and its constituent, thymoquinone against acute alcohol-induced gastric mucosal injury in rats. *World Journal of Gastroenterology*, 11(42): 6662-6666

Kanter M, Coşkun Ö, Budancamanak M. (2005). Hepatoprotective effects of *Nigella Sativa* L and *Urtica Dioica* L on lipid peroxidation, antioxidant enzyme

systems and liver enzymes in carbon tetrachloride-treated rats. *World J Gastroenterol*, 11:42, 6684-6688.

Kaplan, Melike. (2010). Geleneksel tıbbın yeniden üretim sürecinde kadın-Ankara Kent

Karadeniz C. (2000). Cancer and alternative therapy. *Turkiye Klinikleri J Peditr*; 9:1-5.

Karagözler AA, Aktaş D, Uygun M, Kavas C, Kırgil A. (2005). Zeytin (*Olea europaea* L.) yaprağının antioksidan özelliklerinin incelenmesi. XIX. Ulusal Kimya Kongresi BKP113, 30 Eylül-4 Ekim 2005, Kuşadası.

Karayağız Muslu G, Öztürk C. (2008) Tamamlayıcı ve alternatif tedaviler ve çocuklarda kullanımı. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*; 51:62-67.

Kaseb AO, Chinnakannu K, Chen D, Sivanandam A, Tejwani S, Menon M, Dou QP, Reddy GP. (2007). Androgen receptor and E2F-1 targeted thymoquinone therapy for hormone-refractory prostate cancer. *Cancer Res*, 67: 7782-8.

Keçeli T. (2000). Antimicrobial and antioxidant activity of olive oil phenolics. *Food Science and Technology*. The University of Reading, 312 s.

Khalil EA. (2007). Evaluation of the wound healing effect of some Jordanian traditional medicinal plants formulated in Pluronic F127 using mice (*Mus musculus*). *J Ethnopharmacol*, 109:104–112.

Khare,CP. (2007), Indian Medicinal Plants, An Illustrated Dictionary, Springer Science and Business Media, LLC

- Kırpık M. (2005). Çukurova bölgesi kıraç ve taban arazi koşullarında yetiştirilen biberiye (*Rosmarinus Officinalis* L.) çeşitlerinin verim ve kalitesi üzerine araştırmalar. Doktora Tezi, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Adana.
- Kiritsakis A, Marakakis P. (1987). Olive oil: a review. *Adv Food Res*, 31: 453-482.
- Kiritsakis A, Min DB. (1989). Flavour chemistry of olive oil. In: Flavour Chemistry of Lipid Foods, ed Min DB & Smouse T H. American Oil Chemists Society, Champaign, IL, USA, pp 196-221.
- Koca U, Süntar I, Akkol EK, Yilmazer D, Alper M. (2010) Wound repair potential of *Olea europaea* L. leaf extracts revealed by *in vivo* experimental models and comparative evaluation of the extracts' antioxidant activity. *J Med Food*. 14(1-2):140-6.
- Korukluoğlu M, Şahan Y, Yiğit A. (2008). antifungal properties of olive leaf extracts and their phenolic compounds. *J Food Saf*, 28: 76–87.
- Krizek TJ, Harries RHC. (1997). Biology and tissue injury and repair. In: Georgiade Plastic, Maxillofacial and Reconstructive Surgery. 3. Edition Ed: Georgiade GS, Williams and Wilkins;1-9.
- Kubo A, Lunde CS, Kubo I. (1995). Antimicrobial activity of the olive oil flavor compounds. *J Agric.Food Chem*, 43: 1629-1633.
- Kumar S, Negi PS, Sankar U. (2010). Antibacterial Activity of *Nigella sativa* L. Seed Extracts. *Br J Pharmacol* 1(2): 96-100.
- Kumar, S.A. (2009). Plants-based medicines in India. <http://pib.nic.in/feature/feyr2000/fmay2000/f240520006.html>. Erişim Tarihi: 06.06.2010.

- Kumara Swamy HM. (2007). Wound healing activity of embelin isolated from the ethanol extract of leaves of *Embelia ribes* Burm. *J Ethnopharmacol*, 109: 529–534.
- Kurt E, Bavbek S, Pasaoglu G, Abadoglu O, Misirligil Z. (2004). Use of alternative medicines by allergic patients in Turkey. *Allergol Immunopathol (Madr)*, 32(5): 289-94
- Lee-Huang S, Zhang L, Huang PL, Chang YT, Huang PL. (2003). Anti-HIV activity of olive leaf extract (OLE) and modulation of host cell gene expression by HIV-1 infection and OLE treatment. *Biochem Biophys Res Commu*, 307(4):1029-37.
- MacNeil S. (2008). Biomaterials for tissue engineering of skin. *Materials today* 11:26-35.
- Maenthaisong R. (2007). The efficacy of aloe vera used for burn wound healing: A systematic review. *Burns*, 33:713-718
- Mahfouz M, El-dakhakhny M. (1960). Isolation of a crystalline active principle from *Nigella sativa* L. Seeds. *J. Pharmaco. Sci*, U.A.R.; 1:1.
- Medenica R, Mukerjee S, Huschart T, Koffskey J, Corbit W. (1993). *Nigella sativa* plant extract increases number and activity of immune component cell in humans. *Exper Hematol*, 21:1186.
- Micol V, Caturla N, Pérez-Fons L, Más V, Pérez L, Estepa A. (2005) The olive leaf extract exhibits antiviral activity against viral haemorrhagic septicaemia rhabdovirus (VHSV). *Antiviral Res.* 66(2-3):129-36.



- Minami M, Kita M, Nakaya T, Yamamoto T, Kuriyama H, Imanishi J. (2003). The inhibitory effect of essential oils on herpes simplex virus type-1 replication *in vitro*. *Microbiol Immunol*. 47(9):681-4.
- Montedoro GF, Servili M, Baldioli M, Selvaggini R, Miniati E, Macchioni A. (1993). Simple and hydrolyzable compounds in virgin olive oil. 3. spectroscopic characterizations of the secoiridoid derivatives. *J. Agric. Food Chem*, 41: 2228-2234.
- Moquin B, Blackman MR, Mitty E, Flores S. (2009). Complementary and alternative medicine (CAM). *Geriatr Nurs*, 30(3): 196-203.
- Mustoe TA, O'Shaughnessy K, Loeters O. (2006). Chronic wound pathogenesis and current treatment strategies: a unifying hypothesis. *Plast Reconstr Surg*. 117: 35-41.
- Nergiz C, Ötles S. (1993). Chemical composition of *Nigella sativa* L. Seeds. *Food Chem*, 48:259-261.
- Niggemann B, Grüber C. (2003). Side-effects of complementary and alternative medicine. *Allergy*, 5:707-716.
- No authors listed. Defining and describing complementary and alternative medicine. Panel on Definition and Description, CAM Research Methodology Conference, April 1995. *Altern Ther Health Med* 1997; 3: 49-57.
- Nursal TZ, Baykal A, Hamaloglu E. (1999). Y aslılarda Yara İyileşmesi: Fark Var mı? *Geriatric Dergisi*, 2 (1): 29-32.
- Okoh OO, Sadimenko AP, Afolayan AJ. (2010). Comparative evaluation of the antibacterial activities of the essential oils of *Rosmarinus officinalis* L.

obtained by hydrodistillation and solvent free microwave extraction methods. *Food Chemistry*, 120: 308-312.

Orhan F, Sekerel BE, Kocabaş CN, Saçkesen C, Adalıoğlu G, Tuncer A. (2003). Complementary and alternative medicine in children with asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol*; 90: 611-615.

Ozgen U. (2006). Fibroblast growth stimulation by extracts and compounds of *Onosma argentatum* roots. *J Ethnopharmacol*, 104 (6): 100–103.

Özbek, H., (2005) Cinsel ve jinekolojik sorunların tedavisinde bitkilerin kullanımı. *Van Tıp Dergisi*: 12 (2):170-174.

Özçelik S, Akyol M. (2005). Balneotherapy and alternative treatments in psoriasis (kangal hot spring). *Türkiye Klinikleri J Int Med Sci*, 1(13): 89-94.

Özeren M, Altunay İK, Köşlü A. (2004). Psoriasis hastalarında alternatif tıp tedavisi yöntemlerinin araştırılması, Şişli Etfal Hastanesi Tıp Bülteni.; 38 (4): 27-32

Özgüven M, Sekil S, Gürbüz B, Şekeroğlu N, Ayanoglu F, Ekren S. (2005). Tütün, tıbbi ve aromatik bitkiler üretimi ve ticareti. Türkiye Ziraat Mühendisliği VI. Teknik Kongresi, Ankara.

Öztürk F. (2006). Türkiye’de ve Dünya’da zeytincilik sektörünün genel görünümü. TAYEK, Ege tarımsal araştırma enstitüsü müdürlüğü, yayın no: 125, 45-62.

Pearce A, Simpson N. (1998). A paediatrician’s guide to complementary medicine. *Current Paediatrics*, 8:62-67.

Phillips SJ. (2000). Physiology of wound healing and surgical wound care. *ASAIO J*; 49: 89 – 96.

- Ramos-Remus C. (2008). Complementary and alternative practices in rheumatology. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*, Vol.22, No. 4, pp. 741–757, 2008.
- Randhawa MA, Al-Ghamdi MS. (2002). A review of the pharmaco-therapeutic effectes of *Nigella sativa*. *Pakistan J Med Res*, 41(2): 77 83.
- Rathee PS, Mishra SH, Kaushal R. (1982). Antimicrobial activity essential oil, fixed oil and unsaponifiable matter of *Nigella sativa* L, *Indian J Pharmac Sci*, 44, 8-10.
- Raza A, Asif AR, Yasin G. (1999). Uses of *Nigella sativa* (Ranunculae): A traditional Medicine. *International Journal of Agriculture and Biology*, 3:184-18.
- Ross MH, Pawlina W. Integumentary system. (2010). In *Histology: A Text and Atlas*. 6th ed. Lippincott Williams & Wilkins. 472-506
- Saija A, Trombetta D, Tomaino A, Lo Cascio R, Princi P, Uccella N, Bonina F, Castelli F. (1998). *In vitro* evaluation of the antioxidant activity and biomembrane interaction of the plant phenols oleuropein and hydroxytyrosol. *International Int J Pharm*, 166: 123-133. .
- Salem ML. (2005). Immunomodulatory and immunotherapeutic properties of the *Nigella sativa* L. seed. *Int Immunopharmacol*, 5(13-14): 1749-1770
- Salem ML, Hossain MS. (2000). Protective effect of black seed oil from *Nigella sativa* against murine cytomegalovirus infection. *Int J Immunopharmacol*. 22(9):729-40.

- Sanders H, Davis MF, Duncan B, Meaney FJ, Haynes J, Barton LL. (2003). Use of complementary and alternative medical therapies among children with special health care needs in Southern Arizona. *Pediatrics*; 111: 584-587.
- Sasikumar B. (2004). Rosemary: Hand Book of Herbs and Spices Volume: 2, Peter KV, Woodhead Publishing Limited, Cambridge, England, pp: 243–255.
- Seraslan G, Altug ME, Kontas T. (2007). Kafeik asid fenetil ester'in insizyonel yara modelinde plazma lipid peroksidasyonu, antioksidan durum ve nitrik oksit seviyesi üzerine etkisi. *Türkderm*, 41: 11-14.
- Shaw TJ, Martin P. (2009). Wound repair at a glance. *J Cell Sci*. 122: 3209-3213.
- Sotelo-Felix JI, Martinez-Fong D, Muriel P, Santillan RL, Castillo D, Yahuaca P. (2002). Evaluation of the effectiveness of *Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae) in the alleviation of carbon tetrachloride-induced acute hepatotoxicity in the rat. *J. Ethnopharmacol*, 81: 145-154.
- Sumitra M. (2005). Efficacy of *Butea monosperma* on dermal wound healing in rats. *Int J Biochem Cell*, 37:566– 573.
- Swamy SM, Tan BK. (2000). Cytotoxic and immunopotentiating effects of ethanolic extract of *Nigella sativa* seeds. *J Ethnopharmacol*, 70:1-7.
- Şarışen Ö, Çalışkan D. (2005). Fitoterapi; bitkilerle tedaviye dikkat. *STED*, 14:182–187.
- Tan M, Uzun O, Akçay F. (2004). Trends in complementary and alternative medicine in eastern Turkey. *J Altern Complement Med*; 10:861-865.

- Tindle HA, Davis RB, Phillips RS, Eisenberg DM. (2005). Trends in use of complementary and alternative medicine by US adults. 1997-2002. *Altern Ther Health Med.*, 11: 42-49.
- Tokaç M, Geleneksel tıbbi akademik yaklaşım: Gettam, tamamlayıcı ve alternatif tıp. *SD*, Sonbahar 2013.
- Topuz E. (2008)., Kanserde alternatif ve tamamlayıcı tıp (Bilimsel Yaklaşım) 7.bs, İletişim Yayınları, İstanbul.
- Toy LW. (2005). Matrix metalloproteinases: their function in tissue repair. *J. Wound Care*; 14:202-22.
- Turan E. (2005). Sarı ulak Tarsus zeytini ve siyah çaydan elde edilen fenolik ekstraktların antioksidan etkilerinin araştırılması. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, 49 s, Adana.
- Tuzlacı E. (2006). Şifa Niyetine (Türkiye'nin Bitkisel Halk İlaçları). Alfa Yayınları, s: 218-220, İstanbul.
- Türker AH, Gülbaba AG, Taşdelen A, Polat S. (2011). Doğu Akdeniz Bölgesi biberiyelerinin (*Rosmarinus officinalis* L.) gen kaynaklarının korunması ve klon seçimi. T.C. Orman ve Su İşleri Bakanlığı Orman Genel Müdürlüğü Doğu Akdeniz Ormancılık Araştırma Enstitüsü Teknik Bülten No: 40, Tarsus, Mersin.
- Uğurluer G, Karahan A, Edirne T, Şahin HA. (2007). Ayaktan kemoterapi ünitesinde tedavi alan hastaların tamamlayıcı ve alternatif tıp uygulamalarına başvurma sıklığı ve nedenleri. *Van Tıp Dergisi*, 14 (3): 68-73

- Vijayan P, Raghu C, Ashok G, Dhanaraj SA, Suresh B. (2004). Antiviral activity of medicinal plants of Nilgiris. *Indian J Med Res.* 120(1):24-9.
- Vinha AF, Ferreres F, Silva BM, Vanlenta P, Gonçalves A, Pereira JA, Oliveria MB, Seabre RM, Andrade PB. (2005). Phenolic profiles of Portuguese olive fruits (*Olea europaea* L.) influences of cultivar and geographical origin. *Food Chemistry*, 89 (4) 561-568.
- Witte MB, Barbul A. (1997). General principles of wound healing. *Surg. Clin. North. Am*, 77, 509-28.
- World Health Organization. (2004). Guidelines on developing consumer information on proper use of traditional, complementary and alternative medicine.
- Yalçın H. ve Özkalp B. (2005). Vücut hijyeninin önemi ve yara bakımında yeni gelişmeler. 4. Ulusal Sterilizasyon Dezenfeksiyon, Samsun, 287-308.
- Yamada K ,Ogawa H, Hara A, Yoshida Y, Yonezawa Y, Karibe K, Nghia VB, Yoshimura H, Yamamoto Y, Yamada M, Nakamura K, Imai K.(2009). Mechanism of the antiviral effect of hydroxytyrosol on influenza virus appears to involve morphological change of the virus. *Antiviral Res.* 83(1):35-44.
- Yaman I, Durmus AS, Ceribasi S, Yaman M. (2010) Effects of *Nigella sativa* and silver sulfadiazine on burn wound healing in rats. *Veterinari Medicina*, 55(12): 619–624
- Yavuz M, İlçe A, Kaymakçı Ş, Bildik G, Dıramalı A. (2007). Meme kanserli hastaların tamamlayıcı ve alternatif tedavi yöntemlerini kullanma durumlarının incelenmesi. *Türkiye Klinikleri J Med Sci*; 27: 680-686.

- Zaher KS, Ahmed WM, Zerizer SN. (2008). Observations on the biological effects of black cumin seed (*Nigella sativa*) and green tea (*Camellia sinensis*). *Global Veterinaria* 2(4):198-204.
- Zamora R, Alaiz M., Hidalgo FJ. (2001). Influence of cultivar and fruit ripening on olive (*Olea europaea*) fruit protein content, composition, and antioxidant activity. *J. Agric. Food Chem*, 49 (9), 4267-4270.
- Zhong SP, Zhang YZ, Lim CT. (2010). tissue scaffolds for skin wound healing and dermal reconstruction. *WIREs Nanomedicine and Nanotechnology* 2:510-520.
- Ziyyat A, Legssyer A, Mekhfi H., Dassouli A, Serhrouchni M, Benjelloun W. (1997). Phytotherapy of hypertension and diabetes in oriental Morocco. *J Ethnopharmacol*, 58: 45-54.
- Zollman C, Vickers A. (1999). ABC of complementary medicine: users and practitioners of complementary medicine. *BMJ*, 319: 836-838

## ÖZGEÇMİŞ

### I- Bireysel Bilgiler

Adı-Soyadı: Sevinç Yanar  
Doğum yeri ve tarihi: Erzincan 1985  
Uyruğu: TC  
Medeni durumu: Evli  
İletişim adresi ve telefonu: Adapazarı/ Sakarya  
Yabancı dili: İngilizce

### II- Eğitimi

2013- Sakarya Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Programı  
2009- 2012 Yeditepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Yüksek Lisans Programı  
2004- 2009 Yeditepe Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Genetik ve Biyomühendislik Bölümü  
1999-2004 İstanbul Erkek Lisesi

### III- Ünvanları

2009 Gen Mühendisi ve Biyomühendis  
2012 Araştırma Görevlisi

### IV- Mesleki Deneyimi

2013- Araştırma Görevlisi (Sakarya Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı)  
2009- 2012 Araştırma Görevlisi (Yeditepe Üniversitesi, Genetik ve Biyomühendislik Bölümü)  
2008 Stajyer Gen Mühendisi (GENAR Enstitüsü (Gentest) Biyoteknoloji ve Moleküler Genetik Araştırma ve Tanı Laboratuvarı)

### V- Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

Türk Histoloji ve Embriyoloji Derneği

### VI- Bilimsel İlgi Alanları

#### Makaleler:

- 1- Genotype-based Nutrition: Dietary Intervention for the Prevention of Diet-Related Diseases and Improvement of Life Quality. **S. Secer (Yanar)**, A. Ozden, S. Gulluoglu, F. Y. Ekinci. Academic Food 9(4) 51-59, 2011



- 2- An immunosuppressive protein supporting embryonic implantation and having an important role in cell proliferation: The Early Pregnancy Factor. E Ozbek, N Cengiz, **S Yanar**. Sakaryamj. 2013; 3(3): 157-164
- 3- The comparison of the viability of crushed, morselized and diced cartilage grafts: a confocal microscopic study. Kayabasoglu G, Ozbek E, **Yanar S**, Sahin F, Keles ON, Yilmaz MS, Guven M. Eur Arch Otorhinolaryngol. 2015, 272: 1135-1142.

#### **Sözlü Bildiriler:**

- 1- Long-term Cryopreservation of Human Tooth Germ Cells. ME Yalvac, AK Shafigullina, M Tekguc, S Aydın, **S Secer (Yanar)**, M Ramazanoglu, F Sahin, AA Rizvanov. XVI. National Congress of Biotechnology, December 2009 Antalya, Turkey
- 2- Morphometric Changes of Sperm Samples From Obese Rats. E Ozbek, T Demirci, A Ozbek, **S Yanar**. The Second Women & Health Congress with International Participation, May 2013 Sakarya, Turkey

#### **Poster Bildirileri:**

- 1- Health-Environmental interrelationships: DNA bound lipids' FAME profile lability as a result of genome instability due to enviromental factors. Salafutdinov I., Gulluoglu S., **Secer (Yanar) S.**, Ibragimova M., Arslan A., Sahin F., Zhdanov R. 13<sup>th</sup> Biomedical Science and Technology Symposium, August 2007 Istanbul, Turkey.
- 2- Morphological Changes of Rat Testes Caused by Obesity. E Ozbek, A Ozbek, T Demirci, **S Yanar**. The Second Women & Health Congress with International Participation, May 2013 Sakarya, Turkey
- 3- Demans hastalıklarının tedavisinde yeni umut: lipit salları. **Yanar S**, Özbek E, Cengiz N. 1.Ulusal Tıp Kongresi: Geleceğin Tıbbı, Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi, 25-27 Nisan 2014 Sakarya, Türkiye
- 4- Apoptotic Pathway Activation and Cytotoxicity of Melatonin in Cultured MCF-7 Cells. E Özbek, A Ozbek, S Gedikli, A Kara, A Tatar, **S Yanar**. 3rd International Congress of the Molecular Biology Association of Turkey, September 2014 Izmir, Turkey
- 5- Potential Effect of Traditional Preparation from Some Medical Plants on Wound Healing. E Ozbek, **S Yanar**, A Ozbek, F Sahin. 3rd International Congress of the Molecular Biology Association of Turkey, September 2014 Izmir, Turkey
- 6- Investigation of the cytotoxicity of a special essential oil combination that has a prominent antimicrobial activity. E Ozbek, **S Yanar**, A Ozbek, B Asutay, S Canikyan, F Sahin. 5th European Workshop on Lipid Mediators, October 2014 İstanbul, Turkey.
- 7- High fat diet-induced obesity causes deleterious alterations in myocardium: An electron microscopic study using a rat model. E Ozbek, A Ozbek, T Demirci, **S**

**Yanar.** 5th European Workshop on Lipid Mediators, October 2014 Istanbul, Turkey.

- 8-** İkiz gebeliklerde risk değerlendirmesi: Merkezi sinir sistemi malformasyonları. **Yanar S**, Özbek E. 8. Hücresel Sinir Bilim Günleri, P65, Sakarya Üniversitesi, 29-30 Kasım 2014 Sakarya, Türkiye.
- 9-** Konfokal mikroskopik bir çalışma: Farklı yöntemlerle elde edilen kıkırdak greftlerinin canlılıklarının değerlendirilmesi. Kayabaşoğlu G, Özbek E, **Yanar S**, Şahin F, Keleş ON, Yılmaz MS, Güven M. SAÜ Tıp Fakültesi SAUTTAT, II. Ulusal Tıp Kongresi-Geleceğin Tıbbı II, 18-20 Nisan 2015 Sakarya, Türkiye.
- 10-** İnsan meme kanseri MCF-7 hücre hattında melatoninin apoptoz aktivasyonunun ve sitotoksitesinin araştırılması. Özbek E, Özbek A, Gedikli S, **Yanar S**. SAÜ Tıp Fakültesi SAUTTAT, II. Ulusal Tıp Kongresi-Geleceğin Tıbbı II, 18-20 Nisan 2015 Sakarya, Türkiye.

### **VII- Bilimsel Etkinlikleri**

**Aldığı burslar: Ödüller:** İkinci En İyi Araştırma Ödülü, 35. Türk Ulusal Kulak Burun Boğaz Ve Baş Boyun Cerrahisi Kongresi

### **VIII- Diğer Bilgiler**

- Scientific Writing, 2014, Sakarya
- Laboratory Animal Use Approval Program, 2013, Istanbul
- Elsevier Scopus and Science Direct Database Training, 2013, Sakarya