

**MEMELİ HÜCRE KÜLTÜRLERİNDE BAZI BİTKİ
EKSTRELERİNİN AKTİN HÜCRE İSKELETİ
ÜZERİNE OLAN ETKİLERİNİN *İN VİTRO*
ARAŞTIRILMASI**

Nilay ÇEVİK
Yüksek Lisans Tezi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı
Şubat – 2006

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Nilay Çevik'in "Memeli Hücre Kültürlerinde Bazı Bitki Ekstrelerinin Aktin Hücre İskeleti Üzerine Olan Etkilerinin *İn Vitro* Araştırılması" başlıklı Biyoloji Anabilim Dalındaki, Yüksek Lisans tezi.....tarihinde, aşağıdaki jüri tarafından Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

	Adı-Soyadı	İmza
Üye (Tez Danışmanı)	: Yard. Doç. Dr. A. Tansu KOPARAL
Üye	:Yard. Doç. Dr. Melih ZEYTİNOĞLU
Üye	: Yard. Doç. Dr. Ayşe MERCANGÖZ

Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun tarih ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Enstitü Müdürü

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

MEMELİ HÜCRE KÜLTÜRLERİNDE BAZI BİTKİ EKSTRELERİNİN AKTİN HÜCRE İSKELETİ ÜZERİNE OLAN ETKİLERİNİN *İN VİTRO* ARAŞTIRILMASI

NİLAY ÇEVİK

Anadolu Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Yard. Doç. Dr. A. Tansu Koparal

2006, 83 sayfa

Bu tezde A549, V79 379A ve CHO hücreleri üzerine değişik dozlarda bitki ekstraktları (monoterpenler, esansiyel yağlar) uygulanmıştır. Kullanılan monoterpenler; timol, karvakrol, L-mentol ve 1, 8 sineol; kullanılan esansiyel yağlar ise; *Salvia fruticosa* (adaçayı), *Laurus nobilis* (defne), *Origanum onites* (kekik) ve *Pimpinella anisum* (anason) dur. Hücre iskeletinin elemanı olan aktin filamentleri, hücrenin bölünme ve gelişmesinde, hareketinde, hücre şeklinin gelişme ve korunmasında rol oynamaktadır. Bu A549, V79 379A ve CHO hücrelerinde bazı monoterpen ve esansiyel yağların aktin filamentleri üzerine olan etkileri incelenirken, Phalloidin(FITC) kullanılmıştır. Bu test maddelerinde doz artışına bağlı olarak F-aktin filamentlerinde bozulmalar ve hücre morfolojisinde değişiklikler saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Esansiyel Yağlar, F-Aktin, Hücre İskeleti, Monoterpenler, Phalloidin (FITC)

ABSTRACT

Master of Science Thesis

***IN VITRO* RESEARCH OF SOME PLANT EXTRACT'S EFFECT ON ACTIN CYTOSKELETON IN MAMMALIAN CELL CULTURES**

NİLAY ÇEVİK

**Anadolu University
Graduate School of Sciences
Biology Program**

Supervisor: Assist. Prof. Dr. A. Tansu Koparal

2006, 83 pages

In this thesis, A549, V79 379A, CHO cells are treated by various doses of plant extracts (monoterpenes, essential oils). Monoterpenes are; thymol, carvacrol, L-menthol and 1, 8 cineol; essential oils are; *Salvia fruticosa* (garden sage), *Laurus nobilis* (laurel), *Origanum onites* (garden thyme) and *Pimpinella anisum* (anise). Actin filaments are elements of the cell cytoskeleton that functions are cell division and progress, cell motility. Effects of some monoterpenes and essential oils on F-actin filaments in A549, V79 379A and CHO cells were studied. In these studies we used Phalloidin (FITC). Increasing of these test doses are caused some changes of cell morphology and F-Actin filaments.

Keywords: Essential Oils, F-Actin, Cell Cytoskeleton, Monoterpenes, Phalloidin (FITC).

TEŞEKKÜR

Bu tezin meydana gelmesinde en büyük paya sahip olan ve benden değerli bilgilerini esirgemeyen sevgili Danışman Hocam; Yard. Doç. Dr. A. Tansu KOPARAL' a ve bana yardımlarını esirgemeyen Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Bölümü Hocalarıma ve arkadaşlarıma teşekkürü bir borç bilirim.

Nilay ÇEVİK

Şubat-2006

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	x
1. GİRİŞ	1
1.1. Doku Kültürü.....	2
1.2. Hücre İskeleti.....	3
1.2.1. Mikrotübüller.....	5
1.2.2. Mikrofilamentler.....	7
1.2.2.1. aktin filamenti.....	8
1.2.2.2. miyozin filamenti.....	12
1.2.3. Ara (İntermedyer) Filamentler.....	12
1.2.4. Aktin Filamenti ile Mikrotübüllerin Polimerizasyon Dinamiği.....	13
1.3. Kanser.....	14
1.3.1. Kanserli Hücreler.....	15
1.3.2. Hücre Siklusu, Hücre Bölünmesi ve Kanser.....	16
1.3.3. Aktin Filamenti ve Kanser.....	16
1.3.4. Kanser ve Metastaz.....	17
1.4. Tezde Kullanılan Test Maddeleri ve Uygulanan Yöntem Hakkında Bilgiler.....	18
1.4.1. Kullanılan Test Maddeleri.....	18

1.4.1.1. esansiyel yağlar ve monoterpenler.....	18
1.4.1.1.1. timol ve karvakrol.....	19
1.4.1.1.2. L-mentol.....	21
1.4.1.1.3. 1,8 sineol.....	21
1.4.1.1.4. <i>Salvia fruticosa</i> (<i>Salvia triloba</i> , adaçayı).....	22
1.4.1.1.5. <i>Laurus nobilis</i> (defne).....	23
1.4.1.1.6. <i>Origanum onites</i> (<i>Origanum smyranaeum</i> , Kekik).....	23
1.4.1.1.7. <i>Pimpinella anisum</i> (anason).....	23
1.4.2. Yöntemler Hakkında Bilgiler.....	24
1.4.2.1. hücre sayımları.....	24
1.4.2.2. immunofloresans çalışmalar.....	24
2. MATERYAL VE YÖNTEM.....	26
2.1. Kullanılan Bitki Ekstreleri.....	26
2.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	26
2.3. Kullanılan Sarf Malzemeler.....	26
2.4. Kullanılan Aletler.....	27
2.5. Hücre Kültüründe Kullanılan Hücreler.....	27
2.5.1. A549 Hücre Kültürü	27
2.5.2. V79 379A Hücre Kültürü	27
2.5.3. CHO Hücre Kültürü.....	28

2.6. Test Maddelerinin Dozların Hazırlanması.....	28
2.6.1. Esansiyel Yağlar ve Monoterpenlerin Dozlarının Hazırlanması.	28
2.6.1.1. timol dozlarının hazırlanması.....	28
2.6.1.2. karvakrol dozlarının hazırlanması.....	28
2.6.1.3. L-mentol dozlarının hazırlanması.....	29
2.6.1.4. 1,8 sineol dozlarının hazırlanması.....	29
2.6.1.5. <i>Salvia fruticosa</i> dozlarının hazırlanması.....	29
2.6.1.6. <i>Laurus nobilis</i> dozlarının hazırlanması.....	29
2.6.1.7. <i>Origanum onites</i> dozlarının hazırlanması.....	29
2.6.1.8. <i>Pimpinella anisum</i> dozlarının hazırlanması.....	30
2.7. Kullanılan Araç ve Gereçlerin Hazırlanması.....	30
2.8. Yöntem.....	30
2.8.1. Hücre Kültürü.....	30
2.8.2. İmmunofloresans Boyama	30
2.9. Mikroskopi.....	31
2.10. Fotoğrafi.....	31
3. BULGULAR	32
3.1. Esansiyel Yağlar ve Monoterpenlere Ait Bulgular.....	32
3.1.1. Timol'ün F-Aktin Hücre İskeleti Üzerine Etkileri.....	32
3.1.2. Karvakrol'ün F-Aktin Hücre İskeleti Üzerine Etkileri	32
3.1.3. L-Mentol 'ün F-Aktin Hücre İskeleti Üzerine Etkileri.....	33
3.1.4. 1,8 Sineol'ün F-Aktin Hücre İskeleti Üzerine Etkileri	33
3.1.5. <i>Salvia fruticosa</i> 'nın F-Aktin Hücre İskeleti Üzerine Etkileri.....	34
3.1.6. <i>Laurus nobilis</i> 'in F-Aktin Hücre İskeleti Üzerine Etkileri.....	34
3.1.7. <i>Origanum onites</i> 'in F-Aktin Hücre İskeleti Üzerine Etkileri	34

3.1.8. *Pimpinella anisum* ' un F-Aktin Hücre İskeleti Üzerine Etkileri...35

4. TARTIŞMA VE SONUÇ.....60

KAYNAKLAR.....63

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
1.1. Hücre iskeleti filamentleri	4
3.1.1.1. Timol uygulanan A549 hücrelerinin görüntüleri	36
3.1.1.2. Timol uygulanan V79 379A hücrelerinin görüntüleri	37
3.1.1.3. Timol uygulanan CHO hücrelerinin görüntüleri	38
3.1.2.1. Karvakrol uygulanan A549 hücrelerinin görüntüleri	39
3.1.2.2. Karvakrol uygulanan V79 379A hücrelerinin görüntüleri	40
3.1.2.3. Karvakrol uygulanan CHO hücrelerinin görüntüleri	41
3.1.3.1. L-Mentol uygulanan A549 hücrelerinin görüntüleri	42
3.1.3.2. L-Mentol uygulanan V79 379A hücrelerinin görüntüleri	43
3.1.3.3. L-Mentol uygulanan CHO hücrelerinin görüntüleri	44
3.1.4.1. 1,8 Sineol uygulanan A549 hücrelerinin görüntüleri	45
3.1.4.2. 1,8 Sineol uygulanan V79 379A hücrelerinin görüntüleri	46
3.1.4.3. 1,8 Sineol uygulanan CHO hücrelerinin görüntüleri	47
3.1.5.1. <i>Salvia fruticosa</i> uygulanan A549 hücrelerinin görüntüleri	48
3.1.5.2. <i>Salvia fruticosa</i> uygulanan V79 379A hücrelerinin görüntüleri	49
3.1.5.3. <i>Salvia fruticosa</i> uygulanan CHO hücrelerinin görüntüleri	50
3.1.6.1. <i>Laurus nobilis</i> uygulanan A549 hücrelerinin görüntüleri	51
3.1.6.2. <i>Laurus nobilis</i> uygulanan V79 379A hücrelerinin görüntüleri	52
3.1.6.3. <i>Laurus nobilis</i> uygulanan CHO hücrelerinin görüntüleri	53
3.1.7.1. <i>Origanum onites</i> uygulanan A549 hücrelerinin görüntüleri	54
3.1.7.2. <i>Origanum onites</i> uygulanan V79 379A hücrelerinin görüntüleri	55
3.1.7.3. <i>Origanum onites</i> uygulanan CHO hücrelerinin görüntüleri	56
3.1.8.1. <i>Pimpinella anisum</i> uygulanan A549 hücrelerinin görüntüleri	57
3.1.8.2. <i>Pimpinella anisum</i> uygulanan V79 379A hücrelerinin görüntüleri	58
3.1.8.3. <i>Pimpinella anisum</i> uygulanan CHO hücrelerinin görüntüleri	59

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

1.1. Mikrofilamentlerin ve Mikrotübüllerin Özelliklerinin Karşılaştırılması	8
---	---

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

- DMSO** : Dimetil sülfoksit
EDTA : Etilen- diamin tetra asetik asit
DMEM : Dulbecco' s Modified Eagle' s Medium
FBS : Fetal Bovine Serum
HBSS : Hanks Balanced Salt Solution
NaHCO₃: Sodyum bikarbonat
ATP : Adenozin Tri Fosfat
EO : Esansiyel Yağlar

1. GİRİŞ

Hücre ve doku kültürü günümüzde yaşam bilimlerinde kullanılan temel yöntemlerden biri haline gelmiştir.

Hücre ve doku kültürü bazı önemli alanlarda temel role sahip olmuştur. Bu alanlar; model sistemler, toksisite testleri, kanser araştırmaları, viroloji, genetik, genetik mühendisliği, gen terapileri, ilaç geliştirilmesi gibi alanlardır.

Hücre kültürleri, çalışmalarda, güzel model sistemleri sağlamaktadır. Örneğin; temel hücre biyolojisi ve biyokimya, hücreler arası etkileşimler, hücrelere ilaçların etkisi, yaşlanmanın başlaması ve gıda çalışmalarında etkili bir model oluşturmaktadır.

Hücre kültürü tek başına veya hayvan testlerinde yeni ilaçların etkisinin araştırılmasında ve kozmetikte kullanılmaktadır.

Kanser araştırmalarında, normal hücreler ve kanser hücreleri kültürde yetiştirilmekte ve aralarındaki farklar üzerinde çalışmalar yapılabilmektedir.

Virolojide; aşıların üretiminde, hücre kültürü kullanılarak, virüsler replike edilmektedir.

Genetikte; hamile bayanlardaki fetal hücre kültürleriyle rahatsızlıklar teşhis edilebilmektedir.

Gen terapisinde, hastalarda fonksiyonel gen çıkarılarak veya zarar verilerek, tekrar yerleşmesi engellenmektedir. Hücre kültürü kullanılarak, hücreler yetiştirilmekte ve tekrar hastaya yerleştirilmektedir.

Günümüzde kanser araştırmalarında hücre kültürü önemli bir yer tutmaktadır. Hücre kültürü kullanılarak, kanserli ve normal hücrelerde bazı maddeler denenerek, kanserde bir umut ışığı aranmaktadır. Günümüzde sıkça kullanılan monoterpenler ve esansiyel yağlar da kanserde yeni bir umut olabilir. Kanser yüzünden günümüzde birçok insan ölmekte ve her geçen gün de kanserli hastalara bir yenisi eklenmektedir. Erken teşhis kanserin tedavisinde oldukça önemli olmaktadır. Kanser hücrelerinin metastaz olayının engellenmesi, hücrenin çoğalma ve gelişmesinde görevli aktin filamentleri ile yapılmaktadır. Aktin filamentleri, hücre iskeletinin önemli elemanlarından biridir.

1.1. Doku Kültürü

Biyolojik araştırmalarda canlılar ya bir bütün olarak ya da organ, doku veya hücre gibi yapıları alınarak *in vitro* şartlarda incelenmektedirler.

İnsanların ve hayvanların biyolojik farklılıkları sebebiyle deneylerden elde edilen sonuçlar kesin değildir. Bu tip çalışmalar için en uygun yöntem " doku veya hücre kültürü" dür (Ozban 1988). Doku veya hücre kültüründe birçok canlı organizmalardan alınan doku veya hücreler laboratuvarında çoğaltılarak deneylerde kullanılmaktadır.

1950'li yıllara kadar yapılan çalışmalarda, canlı organizmalardan alınan doku parçaları kullanılmış, fakat hücrelerin doku içindeki hareketi engellendiğinden üremeleri sınırlı olmuştur. Organizma bedeninden canlı olarak alınan doku parçalarından ayrılan hücrelerin incelenmesi amacıyla doku kültürü ilk olarak yirminci yüzyılın başlarında Harrison (1907) ve Carel (1912) adlı araştırmacılar tarafından geliştirilmiştir (Kiremitçi 1993).

Doku kültürü; canlıdan izole edilen doku parçalarının yapay hazırlanan uygun besiyerlerinde ve *in vitro* şartlarda çoğaltılması esasına dayanmaktadır (Hızal ve Bilsel 1994).

Doku kültürü 3' e ayrılmaktadır (Freshney 1994):

1. Primer Kültür (öncül kültür): Bir organizmadan cerrahi yöntemlerle ayrılmış olan organ, doku ve hücreler uygun bir kültür ortamına konulduklarında, burada yüzeye bağlanmakta ve bölünerek çoğalmaktadırlar. Bu 'primer kültür' olarak adlandırılmaktadır. Bu hücreler canlı doku parçalarından gelen ve kültür kabının yüzeyine yapışan ilk hücrelerdir (Jakoby ve Paston 1979).
2. Sekonder Kültür (ikincil kültür): Öncül kültür sonucu elde edilen hücrelerin enzimatik yollarla başka bir ortama aktarılması ile elde edilen hücrelerin oluşturduğu kültürdür (Ozban 1988).
3. Sürekli Kültür Hücresi: *İn vitro* şartlarda sürekli büyüyen kültür hücre tipidir. Bu hücre tiplerine en iyi örnek; He La (insan serviks kanser hücresi) gösterilmektedir. Bu hücreler pek çok nesil boyunca çoğaltılırlarsa, periyodik olarak replikasyon fazına girmekte ve genetik olarak değişikliğe

uğrayarak geldikleri dokunun özelliklerini kaybetmekte ve kromozom sayıları değişmektedir (Gürtürk 1977, Berns 1983).

1.2. Hücre İskeleti

Ökaryotik hücrelerin çeşitli Şekilleri ve hareketleri sitoplazmanın başından sonuna kadar uzanan kompleks protein filament ağıyla gerçekleşmektedir. Bu ağa **hücre iskeleti** denilmektedir (Alberts ve ark. 1994). Bazı yüksek organizmalar ve ökaryotik hücreler, bir çekirdek (bazı istisnai durumlar hariç) ve hücre iskeleti içermektedirler (Salman ve ark. 2002, Block ve ark. 1990, Svoboda ve ark. 1993, Vale ve ark. 1996, Coppin ve ark. 1996, Wang ve ark. 1995, Meyhoefer ve Howard 1995). Hücre iskeleti zincirler halinde dizilmiş protein moleküllerinden oluşmaktadır (Balkwil ve Ralıp 2001). Hücre iskeleti; hücrelerin hareketini, Őeklini ve subsellüler organellerin hücre içi dağılımını organize eden bir protein filamenti demetidir (Turner ve ark. 2004, Alberts ve ark. 1994, Cooper 1997, Lodish ve ark. 1999, Sheeler ve Bianchi 1980). Diğer bir deyişle; hücrede sillerin ve kamçıların çarpması, kasın kasılması, hücrenin bulunduğu zemin üzerinde yer değiştirmesi, kromozomların hareketi, hücrenin Őekli gibi olaylar sitoplazmada bulunan kompleks protein telleri aracılığı ile yapılmaktadır. Bu tellere topluca **hücre iskeleti** denilmektedir (Karol ve ark. 1995). Kısacası; hücre iskeleti, hücreye Őeklini veren, desteklik veren ve hareket sağlayan yapıdır. Hücrenin yapısını ve Őeklini koruyan tellerden oluşmaktadır (Gonzalez ve ark. 1998, Maccioni ve Cambiazo 1995, Maccioni ve ark. 1995). Hücre iskeleti elementleri hücresel hareket, fagositoz, transport, sitoplazmik organellerin lokalizasyonu, hücre bölünmesi boyunca mitotik iğlerin formasyonu gibi birçok hücresel fonksiyonlar katılmaktadır (Grzanka 2001, Alberts ve ark. 1989).



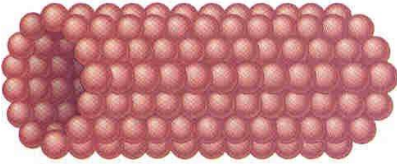
Hücre iskeleti, hücresel fonksiyonları olan bir makine gibidir ve esasen yapısal role sahip aktin filamentleri tarafından kullanılır (Calcabrini ve ark. 2004). Aktin, hücre iskeletinin önemli komponentlerinden biridir (Grzanka 2001, Abercrombie 1980). Hücre iskeletindeki değişimler ise farklı faktörler tarafından

(oksijen türü reaktifler gibi) ilerletilir (Calcabrini ve ark. 2004, Mentura ve Pelicci 2002).

Aslında hücre iskeleti terimi yanlıştır. Hücre iskeleti transparan olduğu için hem ışık hem de elektron mikroskobu preparatlarında görülememektedir. Önemli bir hücre komponentidir.

Hücre iskeleti çevresinde, hücre iskeletindeki glikoliz sonucu ATP mevcut olduğu kanıtlanmıştır (Penso ve Beitner 2002, Beirner 1993). Bu ATP'nin varlığı bize plazma membranı üzerinde membran içi olaylar olduğunu göstermiştir (Penso ve Beitner 2002, Geiger 1983).

Hücre iskeletinin 3 tip filamentten oluştuğu bulunmuştur: mikrotübüller, mikrofilamentler, ara (intermedyer) filamentler (Şekil 1.1) (Berdyeva ve ark. 2005, Grupta ve Grupta 2005, Morales ve ark. 2005, Gunaratnam ve Grant 2004, Gagesu ve ark. 2000, Gonzalez ve ark. 1998, Maccioni ve Cambiazo 1995, Maccioni ve ark. 1995, Alberts ve ark. 1994). Mikrofilamentler aktin filamentlerini temsil etmektedirler. Mikrofilamentler ve mikrotübüller hücre hareketleriyle birleşerek, hücre yapısını korumaktadırlar. Bazı kimyasallar, oksidatif baskı, radyasyon ve virüsler hücre iskeletinde zararlara sebep olmaktadır (Gunaratnam ve Grant 2004, Molitoris 1997, Corcoran ve ark. 1994, Hinshaw ve ark. 1986).

	<u>Hücre İskeleti Filamentleri</u>	<u>Çap (nm)</u>	<u>Protein Altbirimi</u>
	Mikrofilament	7	Aktin
	İntermedyer filament	10	Bazı proteinler
	Mikrotübül	25	Tübülün

Şekil 1.1. Hücre iskeleti filamentleri

Her tip filament farklı protein ünitelerinden oluşmaktadır. Aktin ile aktin filamentleri, tübülün ile mikrotübüller ve vimentin veya lamin ile ara filamantler oluşmaktadır. Aktin ve tübülün ökaryotların gelişimini başından sonuna kadar muhafaza etmektedirler (Alberts ve ark. 1994).

1.2.1. Mikrotübüller

Mikrotübüller, sitoplazmadaki boru şeklindeki yapılardır (Kiziroğlu 1998). Mikrotübüller düz yapıdadırlar ve dallanma göstermemektedirler. Kalınlıkları ise 20-25 nm arasında değişmektedir (Alberts ve ark. 1994, Cooper 1997, Lodish ve ark. 1999). Mikrotübüller, kamçılama hareketi ile veya sıvıyı hücre yüzeyi boyunca iterek hücreyi hareket ettiren ve birçok ökaryotik hücrenin yüzeyinde bulunan tüye benzer siller ve kamçıların, ve hücre iskeletinin önemli bileşenidir (Turner ve ark. 2004). Uzun silindirler şeklinde olan mikrotübüllerin çapı 240 \AA 'dur. Enine kesitleri yuvarlak olup, ortası boş olarak görülmektedir. Mikrotübüllerin duvarında paralel olarak uzanan protofilamentler yer almaktadır. Çoğunlukla paralel demetler halinde bir araya gelmektedirler. Yan yana gelen mikrotübüller arasında enine köprüler oluşmaktadır ve demetlere sağlamlık kazandırmaktadırlar (Fawcett 1981, Hood ve ark. 1975). Mikrotübüller, çekirdek çevresinde yoğun olmaktadır ve serbest uçları plazma zarına doğru ışınal uzanmaktadır (Karol ve ark. 1995). Mikrotübüller intraselüler hareketlerle birleşerek, organizasyon merkezi oluşturmaktadırlar (Salman ve ark. 2002, Block ve ark. 1990, Svoboda ve ark. 1993, Vale ve ark. 1996, Coppin ve ark. 1996, Wang ve ark. 1995, Meyhoefer ve ark. 1995).

Mikrotübüller; α ve β tübülün denilen protein alt birimlerinden oluşmaktadırlar (Hauser ve Eys 1976). 25 nm çapındaki α ve β tübülün monomerleri silindirik yapılardır. Bu, α ve β tübülün monomerleri birleşerek protofilamentleri oluşturmaktadırlar (Alberts ve ark. 1994). α ve β tübülün monomerleri baş-kuyruk olarak alt alta dizilerek, protofilamentleri oluşturmaktadırlar. 13 protofilament, sarmal şeklinde, tübülünlerin bağlanması sonucu mikrotübülleri oluşturmaktadırlar (Hood ve ark. 1975). Mikrotübüllerdeki

ortak hücre fonksiyonları α ve β tübülün izoformları üzerinde bazı biyokimyasal değişikliklere neden olmaktadır (Gonzalez ve ark. 1998, Cross ve ark. 1993, Chapin ve Bulinski 1992, Mandelkow ve Mandelkow 1994, Maccioni ve ark. 1998). α ve β tübülün alt birimlerinden oluşan çözeltiye, mikrotübül parçaları eklenirse, bunların polimerizasyonu hızlanmaktadır. Önce tübülün spiralleri gibi ara yapılar oluşmaktadır. Tübülün, ya doğrudan spirale eklenmektedir veya tabaka katlanarak mikrotübülleri meydana getirmektedir (Watson 1976, Wolfe 1981).

Hücrede mikrotübüller, hareketi gerçekleştiren yerlerde bulunduğu halde kendisi sabittir; ama oralarda hareket olmaktadır ve bu haliyle sabit borular bir nevi hücre iskeletini oluşturmaktadır. Böylece hücrenin şekil kazanmasına yardım etmektedir (Kızıroğlu 1998, Libbert 1979).

Mikrotübüller çekirdek bölünmesinde önemli rol üstlenmektedir. Kromatinleri hücre kutuplarına taşımaktadır. Bunlar asbest iplikçiklerinin en önemli kısmını oluşturmaktadırlar (Kızıroğlu 1998). Mikrotübüller hücre bölünmesi sırasında sayılarını arttırmaktadırlar.

Mikrotübüller, sitoplazmadaki tübülün ünitelerinden çok çabuk yapılabilmekte ve aynı çabuklukta yıkılabilmektedirler. Mikrotübüller, özellikle elektron mikroskopunda mitoz ve mayoz sırasında görülebilmektedirler. Tübülün, aktinden sonra ökayotlarda en sık rastlanan ikinci proteindir ve globüler proteindir (Hoffee 1998, Klug 1999).

Mikrotübüller, hücre şekillenmesi (örneğin; sinir hücresi akson ve dendritlerinde) ve hücrelerde mekanik destek, molekül ve organel taşınması ve lokalizasyonunda, pseudopod hücre hareketinde, sil ve spermium (kamçı hareketi), mitoz-mayoz hücre bölünmesi sırasında kromozomların kutuplara hareketinde işlevseldirler. Mikrotübüllerde motor hareketler, iki asıl protein ile sağlanmaktadır: Kinezin ve sitozolik dyneinler. Kinezinler, yüklerini (granül veya organelleri), protofilamentlerin daha çabuk uzayan (+) ucuna doğru, dyneinler ise daha yavaş uzayan (-) ucuna doğru göndermektedirler (Alberts ve ark. 1994, Cooper 1997, Lodish ve ark. 1999, Hoffee 1998, Klug 1999). Kolşisin ise tübülünlere bağlanıp, mikrotübül polimerizasyonunu engellemektedir. Kolşisin (mitoz zehiri) yalancı bir alkaloid olup, tübülün dimerlerine bağlanmaktadır. Kolşisinin, tübülün için bir bağlanma noktası vardır. Böylece mikrotübül

polimerizasyonunu engelleyerek, zehir etkisi yapmaktadır (Kiziroğlu 1998, Bielka 1973, Paolillo 1970). Bitkilerden elde edilen kolşisin, metafazdaki bitki ve hayvan hücrelerinin bölünmesini durdurmaktadır ve mikrotübüllerden oluşan iğ teşekkülü yapılamamaktadır. Kolşisinin kromozom yoğunlaşmasında bir etkisi yoktur, ancak oluşan kromozomlar iğ teşekkül edemediği için kutuplara doğru harekete geçememektedirler (Karol ve ark. 1995).

Vinblastin, Vinkristin (Karol ve ark. 1995) ve Podofilotoksin (Kiziroğlu 1998) gibi bitkisel maddeler mikrotübül polimerizasyonunu engelleyerek hücre bölünmesini önlemeleri sebebiyle kansere karşı kullanılmaktadırlar (Karol ve ark. 1995).

1.2.2. Mikrofilamentler

Kasılğan yapıları oluşturarak sitoplazmik harekete neden olmaktadır (Turner ve ark. 2004). Hücrede iki tip mikrofilament bulunmaktadır. Bunlardan biri aktin, diğeri ise miyozin filamentidir. Aktin, küresel bir proteindir ve kas hücrelerinin temel proteini. Bütün ökaryot hücrelerde aktin bulunmaktadır. Birçok hücrede de aktin, en çok kullanılan sitoplazma proteini olup, mikrofilamentler şeklinde bulunmaktadır (Karol ve ark. 1995). Hücre korteksinde önemli bir protein olan aktin, içteki plazma membranına çabuk bir şekilde lokalize olan ve hücre iskeletinin önemli yapısal komponentidir. Sitoplazmik matriksin yapısında ve hücresel bütünlüğü sağlamada çok önemli rol oynamaktadır (Banan ve ark. 2000, Small 1998, Luna ve Hitt 1992, Cooper 1991, Stossel 1989, Bretscher 1987, Meyer ve Howard 1987, Bray ve ark. 1986, Howard ve Oresajo 1985, Bliktsad ve Carlsson 1982, Abercrombie 1980).

Hücre iskeletinin protein polimerleri olan mikrotübüller ve aktin filamentleri, hücrenin bölünme ve gelişmesinde, hareketinde, hücre şeklinin gelişme ve korunmasında rol oynamaktadırlar (Jordan ve Wilson 1998, Lodish ve ark. 1995). Ne mikrotübüller ne de aktin filamentleri basit denge polimerleri değildir; tam tersine bunlar, nükleozit trifosfatın hidrolizi ile sağlanan enerjinin kullanıldığı kompleks polimerizasyon dinamiği göstermektedirler. Bu reaksiyonların dengesiz dinamiği, iki iskelet proteininin hücresel fonksiyonları

için büyük önem taşımaktadır (Çizelge 1.1) (Jordan and Wilson 1998, Mitchison and Kirschner 1984).

Çizelge 1.1. Mikrofilamentlerin ve Mikrotübüllerin Özelliklerinin Karşılaştırılması (Sheeler ve Bianchi 1980)

	MİKROFİLAMENT	MİKROTÜBÜL
<i>ÇAP</i>	30-60 Å ⁰	100-250 Å
<i>BİÇİM</i>	Çift Helikal Protofilament	13 Protofilament
<i>PROTEİN</i>	Aktin veya benzeri Protein	Tübülin
<i>AYIRICI VEYA ENGELLEYİCİ FAKTÖR</i>	Sitokalazin B	Kolşisin, Vinblastin veya Vinkristin
<i>ÜNİTE BAĞLAYICI FAKTÖR</i>	ATP	GTP

Miyozin filamentleri kas hücrelerinde aktin ile sıkı bir birlik içindedir. Ayrıca kas hücreleri dışındaki hücrelerde de (epitelyum, sinir v.s.) miyozin bulunmaktadır.

Çeşitli mikrofilamentlerin farklı aktine bağlanma proteinleri vardır. Özel yapılar oluşması veya özel hücre fonksiyonlarının yapılması böylece mümkün olmaktadır (Karol ve ark. 1995).

Plazma bölünmesi, kas hareketinde etkili aktin ve miyozin filamentlerinin etkisi ile olmaktadır (Kiziroğlu 1998).

1.2.2.1. aktin filamentleri

Aktin, hücre iskeletinde çok önemli ve yaygın bir komponenttir. Aktin, hücre hareketi ve hücre bölünmesi (Fujiwara ve ark. 2004, Pollard ve Borisov 2003) gibi çeşitli hücre fonksiyonları düzenleyen, hücre iskeletinin protein

polimerleridir (Fujiwara ve ark. 2004). Bütün ökaryotik hücreler aktin içermektedirler. Hücre iskeleti proteinleri ökaryotik hücrelerde oldukça bol bulunmaktadır. Toplam hücre proteinlerini %5 veya daha fazlasını içermektedirler. *In vitro* çalışmalarda çoğunlukla, omurgalı kas hücrelerindeki aktin kullanılmaktadır. Eğer kaslar, çok sulu tuz solüsyonuyla muamele edilirse, aktin filamentleri aktin ünitelerine ayrılmaktadırlar. Bazı küçük ökaryotlar, bira mayası gibi, sadece bir tane aktin genine sahiptirler ve basit bir protein şifrelemektedirler. Bununla birlikte, bütün yüksek ökaryotlar, aktin gen toplulukları ile çeşitli izoformlarda protein şifrelemektedirler. Memeli dokularında en az 6 tip aktin görülmektedir ve bunlar izoelektrik noktalarından bağlanmaktadır (Alberts ve ark. 1994).

Önemli hücre iskeleti proteini olan aktin, hücredeki çeşitli hücresel işlemlerde önemli bir rol oynamaktadır (Liu ve ark. 2004, Kuroda 1990, Williamson 1993, Staiger ve ark. 1994). Aktin, *in vivo* çalışmalarda hücre fonksiyonlarının düzenlenmesinden sorumlu olmaktadır (Visegrady ve ark. 2005, Pollard ve ark. 2000, Pollard ve Borisy 2003). Son yıllarda yapılan çalışmalarda aktin ve aktine bağlı ligandlar arasındaki kompleks etkileşimler anlaşılmağa çalışılmıştır. Bazı temel model uygulamalarında, aktine bağlı ilaçların, aktin filamentleri içindeki moleküler mekanizmaya etkileri olduğu kanıtlanmıştır (Visegrady 2005, Bremer ve ark. 1991, Cano ve ark. 1992, Drewes ve Faulstich 1993, Bubb ve ark. 1994, Bremer ve ark. 1994, Orlova ve ark. 1995, Steinmetz ve ark. 1997, Steinmetz ve ark. 1998, Steinmetz ve ark. 2000, Bubb ve ark. 2000, De La Cruz ve ark. 2000, Oda ve ark. 2003, Pettit ve ark. 1997). Aktin iskeleti, hücre fonksiyonlarını düzenlemeye yardım etmektedir. Bununla beraber, membranın yapısında düzenleyici rol oynamaktadır (Lader ve ark. 1999). Son yapılan araştırmalara göre aktin filamentleri, hücre iskeletinde karmaşık ağ şeklinde olup, hücresel yapılar arasındaki etkileşimlerde yapısal görev yapmaktadır ve bu aktin filamentleri birçok iyon kanalı kurmakta, membranda da taşıyıcı görevi yapmaktadır (Li ve ark. 2004).

Aktin filamentleri, yapısal destek görevinin yanısıra hücre hareketini de sağlamaktadır (Li ve ark. 2004, Stossel 1993). Bununla beraber son zamanlarda edinilen kanıtlar, temel aktin iskeletinin farklı hücre tiplerinde plazma

membranlarındaki iyon kanalları aktivitesi ile ilgili olduğunu göstermiştir. Örneğin; aktin filamentleri insandaki ağız kas hücreleri (Li ve ark. 2004, Strege ve ark. 2003) içindeki sodyum kanallarını düzenlemektedirler. Ayrıca bağımsız voltaj kanallarını da düzenlemektedirler. Örneğin; aktin filamentlerinin nöron hücrelerindeki bağımsız sodyum voltaj kanallarıyla ilişkileri olmaktadır (Li ve ark. 2004).

Aktin, protein monomerlerinden oluşan ve çapı 8 nm kadar olan ince filament yapılarıdır (Alberts ve ark. 1994). Plazma zarının hemen altında bulunmaktadırlar ve mekanik gerilmelere direnç oluşturmaktadırlar. Sitoplazma bölünmesinde kasılma halkası oluşumunu sağlamaktadırlar. Sitoplazmik akışta (lökosit ve amiplerde), miyozinle etkileşerek çizgili kas kasılmasında işlevseldir. Aktin, çeşitli hücrel olaylarla ve kas kasılmalarıyla ilgili olmaktadır (Singer ve Berg 1991). Bütün aktin filamentlerinin toplam uzunluğu, mikrotübüllerin toplam uzunluğundan en az 30 kez daha büyüktür. Aktin filamentleri mikrotübüllerden daha ince esnek ve kısırdırlar (Alberts ve ark. 1994).

Aktin filamentleri esasen transforme hücrelerde değişmektedir ve aktin iskeletindeki bu değişimler düzenleyici proteinlerle uyum içinde meydana gelmektedir. Bu değişikliklerde, anormal olarak büyüyen tümör hücreleri bağlanmaktadır ve dokulara yapışarak metastazda artışa neden olmaktadır. Son zamanlarda kanser kemoterapisinde, bu alanda meydana gelen patlama(Jordan ve Wilson 1998, Janmey ve Chaponnier 1995, Sigmond 1996, Tapon ve Hall 1997, Assoian ve Zhu 1997), aktin filamentleri ile onların düzenleyici proteinlerinin hedefte seçici davranabileceklerini göstermiştir. Örneğin; yapılan bir çalışmada, ilk önce, transforme hücrelerle transforme olmayan hücreler karşılaştırılmıştır ve polimerize aktin oranından çözünür aktin oranına doğru bir azalma meydana geldiği anlaşılmıştır (Stournaras 1996). Bu çalışmada, tümör hücrelerinin Sitokalazin-B' ye normal hücrelerden daha duyarlı oldukları bulunmuştur (Rao ve ark. 1996). Çözünür aktindeki bu artıştan dolayı, polimerize aktin miktarında azalma olmuştur. Bu iki formdaki aktin hücrelerinin oranları değerlendirildiğinde kanser riski olacağı kanıtlanmıştır (Rao ve ark. 1996). İlginç olan; aktinden ayrı bir protein olan gelsolinin fonksiyonlarında artış olduğu ileri sürülmüştür (Asch ve ark. 1996).

Mikrotübüller gibi aktin filamentleri de polar bir yapıya sahiptirler. Bir tane artı (+) ve bir tane eksi(-) uç bulunmaktadır. Kompleks formdaki aktin filamentleri 'ok başı' görünümündedirler. Eksi (-) uç, sivri uç; artı (+) uç ise dikenli uç olarak tanımlanmaktadır. Üç boyutlu yapıdaki aktin molekülü, X-ışınları difraksiyon yöntemi ile çökmektedir ve bu olay da tek olarak aminoasitlerin ortaya çıkmasına neden olmaktadır (Alberts ve ark. 1994).

Aktin filamentleri, G-aktin denilen alt birimlerin polimerize olması ile oluşmaktadır (Karol ve ark.1995). Aktin, G-aktin monomerleri ve F-aktin filamentlerini içeren, hücre iskeletindeki yapısal komponenttir (Zhang ve ark. 2004). G-aktin denilen bu küçük küresel protein birimleri, sarmal yaparak ipliksi protein olan F-aktini oluşturmaktadırlar (Karol ve ark. 1998). Yani F-aktin denen aktin filamentleri G-aktin denen 375 aminoasitten oluşan (Alberts ve ark. 1994), 43000 molekül ağırlıklı küresel alt birim proteinlerinin polimerleridir (Zhang ve ark. 2004, Pollard ve Cooper 1986, Colucci ve Bretscher 1989). Başka bir deyişle; her ne kadar aktin molekülleri globüler proteinlerse de, iki heliks zincirinin sarmal şeklinde düzenlenmesiyle meydana gelmektedirler ve bunların her birine protofilament denilmektedir. Yani; aktin monomerlerinin polimerizasyonu ile çift helikal zincirli F-aktin meydana gelmektedir (Zhang ve ark. 2004, Estes ve ark. 1992, Sheterline 1995). Protofilamentlerin bu polimerik formuna F-aktin denilmektedir (Sheeler ve Bianchi 1980). Aktin filamentleri, G-aktin denilen alt birimlerin uçlara eklenmesi ile uzamaktadır. Bu uçlardan biri büyüyen uç olup, bu uca daha hızlı alt birimler eklenmektedir (Karol ve ark. 1995). Son zamanlarda yapılan araştırmalar aktin filamentinin, hücre adhezyonu, sinyal uyumu, iyon kanallarının modülasyonu ve diğer birçok karışık biyolojik aktiviteyle ilgili olduğunu göstermiştir (Zhang ve ark. 2004, Heldmen 1993, Gavin 1997, Atencia ve Asumendi 2000, Titu ve Gilbert 1999, Luo 2002, Critchley ve ark. 1999). Aktinin moleküler yapısı ve fizyolojik fonksiyonları hücresel konuları ve yapısal olarak araştırmalarda biyolojide çok önemli yer tutmaktadır (Zhang ve ark. 2004).

Aktin filamentleri, ATP ve Ca^{+2} iyonları varlığında ve düşük Na^{+} ve K^{+} kanyonları da bulunduğu zaman G alt birimlerine ayrılmaktadır. Yüksek konsantrasyonda Na^{+} ve K^{+} ile Mg^{+2} varlığında iplik şeklinde polimerize olmaktadır (Karol ve ark. 1995).

1.2.2.2. miyozin filamenti

Aktin filamentlerinden başka mikrofilamentlerden miyozin filamentleri (kalın filamentleri) bulunmaktadır (Sheeler ve Bianchi 1987).

Miyozin; hayvanlarda, yüksek bitkilerde, ökaryot organizmalarda hem kas hem de kas olmayan hücrelerde bulunmaktadır. Tip 1 miyozin ve Tip 2 miyozin olmak üzere iki çeşidi vardır. Miyozin-1' in ipliksi uzantısı yoktur. Bu tip sadece kas olmayan hücrelerde bulunur ve çeşitli hücre hareketlerine katılır. Miyozin-2' nin aktinin bağlandığı küresel bir bölgesi ile iplik şeklinde bir uzantısı vardır (Karol ve ark. 1995).

Işık mikroskobu ile çizgili kasta A bandı denilen koyu bantların I bandı denilen renkli bantlarla ard arda düzenli olarak bulunmaktadır ve I bandı ortasında Z diski denilen dar bir çizgiyi görmek mümkün olmuştur. Bantlar kasın kasılma yönüne dik olarak uzanmaktadır. İki Z diski arası bir sarkomerdir.

Her hücreye bir kas teli denilmektedir. Kas teli, 100 kadar çekirdek ile kas telciği (miyofibril) denilen iplik demetlerinden yapılmıştır. Her kas telciği tekrarlanan sarkomerlerden oluşmaktadır. Elektron mikroskobu ile her sarkomerde miyozin denilen kalın iplikler ile aktin denilen ince iplikler (miyofilamentler) bulunduğu gösterilmiştir (Karol ve ark. 1995, Darnell ve ark. 1990).

1.2.3. Ara (İntermedyer) Filamentler

Keratinin de içine alan çok çeşitli proteinler içermektedirler ve hücre yapısını da sağlamlaştıran değişik fonksiyonlara sahiptirler (Turner ve ark. 2004, Pumphlin ve Bloch 1993). Beş farklı sınıftaki proteinler hücrelerdeki ara filamentlerden ve dokulardan oluşmaktadır. Bunlar; kas hücrelerindeki desmin, mezenşim hücrelerindeki vimentin, epitel hücrelerindeki sitokeratinler, sinir hücrelerindeki nörofilament proteinler ve astrositlerdeki gliol fibril asidik protein. Bunlar alt birim proteinleridir.

Ara filamentler yapısal role sahiptirler. Örneğin; epidermal ve mezenşim hücrelerindeki ara filamentlerin lifleri, basket potası şeklinde çekirdeğin etrafını sarar ve çekirdek zarı ile porlar arasında ilişki kurmaktadır. Bu filamentler, ışın

halinde yayılmaktadırlar ve desmozomlarda son bulmaktadırlar (Sheeler ve Bianchi 1980).

Ara filamentler en sağlam hücre iskeleti filamentleridir. Polimerizasyon ve depolimerizasyon özelliği yoktur. Her hücre türünde bulunmaz. Hücre türüne göre değişik yapıdadır ve hücrenin türünü belirlemede kullanılır.

80-120 Å çapında ipliklerdir. Aktinden kalın, miyozinden incedirler (Alberts ve ark. 1994, Cooper 1997, Lodish ve ark. 1999).

Ara filamentler diğer iki hücre iskeleti sisteminden farklıdır. Çeşitli hücrelere özgü birden fazla ara filament alt birim proteinleri vardır. Aktin ve Tubulin çok geniş yayılıma sahiptirler. Bu iki protein monomerlerin bir araya gelmesi veya ayrılmasıyla dinamik bir şekilde polimerize ve depolimerize olmaktadır. Hücreler dağıldığı zaman mikrotübüller ve mikrofilamentler çözülür. Fakat ara filamentlerin alt birim proteinleri %99' dan çok polimerize kalmaktadırlar ve birçok fizyolojik şartta çözünmeden durmaktadırlar. Aktin ve tubulin küresel proteinlerdir ve ip şeklinde polimer oluşturmaktadırlar (Alberts ve ark. 1994, Cooper 1997, Lodish ve ark. 1999, Hoffee 1998).

1.2.4. Aktin Filamenti ile Mikrotübüllerin Polimerizasyon Dinamiği

ATP hidrolizi polimerizasyonu gerektirmektedir, fakat bu olay depolimerizasyonu teşvik etmektedir (eğer ADP' ye dönüştüyse). Bu bakımdan mikrotübüller gibi davranmaktadır ve GTP hidrolizi için depolimerizasyona ihtiyaç duymaktadır.

ATP hidrolizi, aktin filamentlerinin polimerizasyonu sırasında dengesiz bir hareket göstermektedir (Jordan ve Wilson 1998, Lodish ve ark. 1995, Wang 1985, Theriot ve Mitchison 1991). Saf aktin polimerizasyonunda ATP ve K⁺ ve Mg⁺² iyonlarına ihtiyaç duyulmaktadır. K⁺ ve Mg⁺² iyonları ATP varlığında monomerik aktin molekülüne eklenirler. Bu gecikmiş fazda, meydana gelen yeni filamentler çekirdeklidirler ve sonra hızlı polimerizasyon fazında, bu kısa filamentler uzamaktadırlar (Alberts ve ark. 1994).

Bir molekül, aktin filamentinin içine dahil olduktan sonra ATP hidrolizi gerçekleşmektedir. ADP, aktin filamentinin içinde depolimerize olana kadar tuzağa düşmektedir. Sonra tekrar değiş-tokuş olabilmektedir.

Mikrotübüllerin, artı(+) ucu eksi(-) ucundan daha kararsız bir davranış göstermektedir (Jordan ve Wilson 1998, Margolis ve Wilson 1978, Margolis ve Wilson 1981). Hücrelerdeki bağımsız mikrotübüller mitozda son derece önemlidir. Mitoz başladığı zaman hücre iskeletindeki mikrotübül ağı, parçalara ayrılmaktadır ve iğ şeklinde dizilerek kromozomları bağlamaktadırlar ve iki uca doğru kromozomları hareket ettirmektedirler. Mikrotübül hareketi interfazda nispeten daha yavaştır, fakat mitozda 20-100 katı kadar artış göstermektedirler (Jordan ve Wilson 1998)

1.3. Kanser

Kanser, ölüm nedeni olarak, dünyada kardiyovasküler hastalıklardan sonra ikinci sırada yer almaktadır. Bu hastalık, çeşitli organlarda fonksiyon ve yapı bozukluğuna neden olmaktadır (Murray ve ark. 1998).

Kanser, bir seri genetik hasarların birikimi ve çevresel etmenlerin etkisiyle ortaya çıkmaktadır. Genetik hasar denilen mutasyonlardan bazıları, hücre çoğalmasının kontrolünü etkilemekte, diğerleri de tümör hücrelerinin buldukları noktalardan taşınmasını veya tümörün büyümesi için gerekli anjiyogenik işlemleri etkilemektedir.

Birçok farklı kanserde, mutasyonlar somatik hücrelerde meydana gelmektedir ve gelecek nesillere aktarılamamaktadır. Ancak kanser vakalarının % 1' inde eşey-kök hücrelerinin çeşitli genlerinde meydana gelen mutasyonlar sonraki nesillere aktarılmaktadır ve bu değişim yeni neslin kansere yatkınlığını da arttırmaktadır. Bazen de kalıtsal mutasyonlar tek başlarına kanser oluşumunda etkili olmamaktadırlar. Kanseri oluşumunun tamamlanması ve homozigot genlerin oluşması için homolog lokuslarda oluşan somatik mutasyonların meydana gelmesi gerekmektedir. Bütün bu olasılıklardan hangisi etken olursa olsun, kanser, hücre seviyesinde genetik bir bozukluk olarak kabul edilmektedir (Klug ve Cummings 2000).

Genomda meydana gelen değişiklikler, kanserin genel özelliğini oluşturmaktadır. Bu değişiklikler, hastalığın teşhisi, seyri ve şiddeti ile ilgili tahminlerde kullanılmaktadırlar. Son yıllarda yapılan araştırmalarda, sinyal

aktarım yollarının bulunması, genomiklerin kullanılması ve insan genlerinin dizi analizleri sonucunda potansiyel kanser tedavi hedeflerinin sayısında artış olmuştur (McMahon ve Woods 2001).

Kanser öyle bir hastalıktır ki, o bir hücrede başlamakta ve komşu hücreleri harcama pahasına bencilce gelişmekte ve sonunda tüm hücreli birliğe hasara uğratarak ölüme sebep olmaktadır (Bahçeci 1999).

1.3.1. Kanserli Hücreler

Kanserli hücrelerin temel olarak üç özelliği bulunmaktadır:

- 1) Büyüme kontrolleri bulunmamaktadır.
- 2) Lokal dokulara invazyon olmaktadır.
- 3) Vücudun diğer yerlerine yayılmakta veya metastaz görülmektedir.

Benign (iyi huylu) tümör hücrelerinde büyümede azalmış bir kontrol bulunmaktadır, Fakat bunlar lokal dokuları istila etmemektedirler.

Kanser hücreleri genellikle nukleuslarının büyüklüğü ve şekilleri bakımından anormal bir değişkenlik göstermektedirler

Genellikle hayvansal hücrelerin plazma zarının yüzeyinde bulunan glikoproteinler, glikolipitler ve polisakkaritler hücreye biyokimyasal bir kimlik kazandırmaktadırlar ve onlar genetik kontrol altında bulunmaktadırlar. Bu moleküllerin görevlerinden biri, hücre reseptörleri olarak iş görmek ve bu arada kontak inhibisyonu sağlamaktır.

Bir hücrede kontak inhibisyon özelliği ortadan kalkınca, yani hücre yeni yüzey karakterleri kazanınca sürekli olarak çoğalmakta, bir başka deyişle kanser hücresine dönüşmektedir(Tripathy 2000).

1.3.2. Hücre Siklusu, Hücre Bölünmesi ve Kanser

Hücre bölünmesi ve olgunlaşması embriyonik gelişimde ve doku tamirlerinde görülmektedir. Bu olayların düzeninin bozulması, anormal hücre gelişmesine neden olmaktadır (Tripathy 2000).

Bölünen bir hücrenin ikinci kez bölününceye kadar geçirdiği devreye 'hücre siklusu' , bir bölünmenin bitişi ve yeni bölünmenin başlaması arasındaki devreye ise 'interfaz siklusu' denilmektedir. Hücre siklusu dört belirgin safhaya ayrılmaktadır. Hücre bölünmesinden hemen sonra başlayan G_1 peryodunda hücre diploittir. Bundan sonra gelen S fazında DNA sentezlenmekte ve kromatin replike olmaktadır. S fazının sonuna ulaşan hücre, normal diploit hücrenin sahip olduğunun iki katı kadar kromatin içermektedir. S fazından sonra G_2 fazı gelmekte ve bunun arkasından da mitoz bölünme başlamaktadır. G_1 ve G_2 , hücre siklusunun interfaz safhasındaki ($G_1+S+G_2=$ interfaz) aralıkları temsil etmektedirler ve bu aralıklarda DNA sentezi yapılmamaktadır. Fakat bu iki safhada S fazındaki kadar yoğun metabolik aktivite, hücre büyüme ve farklılaşması sürmektedir. G_2 safhasının sonunda hücre hacmi iki kat artmakta ve DNA replike olmaktadır. Artık bundan sonra mitoz bölünme (M) başlamaktadır.

Bazı hücrelerin aktiviteleri, hücre siklusu sırasında geçici veya sürekli olarak durdurulmaktadır. Bu görünüme G_0 fazı veya istirahat fazı denilmektedir. Bu evreye DNA sentezinin başlamasından hemen önceki G_1 safhasında girilmektedir (Bahçeci 1999).

1.3.3. Aktin Filamenti ve Kanser

Aktin, hücre iskeletinde çok önemli bir komponenttir.

Aktin filamentleri S fazının sonunda kontraktıl kofulda yoğunlaştığı halde, G_0/G_1 fazında hücre iskeletinin önemli bileşiklerinden stres ipliklerine yardımcı olmaktadır (Fujiwara ve ark. 2004). Stres iplikleri, hücrelerin bir yere yapışmasında, ayak ya da filopodya oluşumu sırasında meydana gelen, hücre sitoplazmasındaki aktin ipliklerinin fasin, α -aktinin, fimbrin, filamin, villin gibi yardımcı proteinlerle oluşturdukları uzun bantlardır (Karol ve ark. 1998). G_2

fazında bu kontraktıl koful, ortadan boğumlanmaktadır. Sonra hücre içi köprü durumu bulunan bu form, iki hücreye ayrılmaktadır (Fujiwara ve ark. 2004, Robinson ve Spudich 2000). Bu kontraktıl koful formu, daha önce de var olan aktin filamentlerinin yeniden düzenlenmesi için gerekmektedir. Bu, aktin iskeletini yeniden tanımaktadır. Jasplakinolid, birçok tümör hücresinin büyümesini engellemektedir (Senderowicz ve ark. 1995). Çünkü aktin filamentlerini bağlamakta ve stabilize etmektedir (Fujiwara ve ark. 2004, Senderowicz ve ark. 1995). Aktin iskeletinin değişimi ve aktin filamentlerinin birleşerek oluşturduğu regülatör proteinlerin anormal büyüme özelliğindeki tümör hücrelerine bulaştığı düşünülmektedir (Fujiwara ve ark. 2004, Jordan ve Wilson 1998).

Aktin filamentleri, antikanser ilaçlarının gelişiminde kullanılan en önemli bileşiklerdir (Fujiwara ve ark. 2004).

1.3.4. Kanser ve Metastaz

Kanser hastalarının %90 'ı metastazdan ölmektedir. Bu nedenle kanser terapilerinde amaç; primer tümör yerlerinden özel organlara kanserin yayılmasını engellemek ve böylece metastaz meydana gelmesini engellemeye çalışmaktır (Hayot ve ark. 2005).

Kanserin ilerlemesi, primer tümör kütesinden uzaktaki tümör hücrelerine birçok basamakta ilerlemektedir ve bu olay metastazda başrol oynamaktadır. Eğer kanser erken teşhis edilirse; kanseri meydana getiren primer tümör hücresi başarılı bir şekilde yok edilerek, tedavi edilmektedir. Kanser hastalarında, ölüm oranının %90' ından fazlası, bu primer tümör hücresinin engellenememesinden ve metastazın ilerlemesinden ileri gelmektedir (Hayot ve ark. 2005, Entschladen ve ark. 2004., Sporn 1996).

Yeni ve modern kanser stratejileri çoğalma ve yayılma faktörlerini hedefleyerek, metastazı engellemektedirler (Hayot ve ark.2005). Bununla beraber bazı tümör hücreleri bu tip bir kemoterapiden etkilenmemektedirler. Bazı hücreler, aylarca hatta yıllarca uyku halinde kalarak, daha sonra yeni tümör

hücreleri yetiştirmektedirler (Hayot ve ark. 2005, Entschladen ve ark. 2004, Naumov ve ark. 2002).

Patolojik durumlarda, doğru olmayan hücre göçleri, tümör akınına ve metastaza neden olmakta, bu olay da kansere yol açmaktadır. Bütün bu oluşumlarla birlikte; primer tümörler, hücrelerden ayrılarak, dokuları geçmekte ve kan yoluyla yeni organları istila etmektedir. Metastazın meydana gelmesinde aktin sistem önemli bir yer tutmaktadır. Bu da kanserin ne kadar kompleks bir hastalık olduğunu göstermektedir (Lambrechts ve ark. 2004).

1.4. Tezde Kullanılan Test Maddeleri ve Uygulanan Yöntem Hakkında Bilgiler

1.4.1. Kullanılan Test Maddeleri

1.4.1.1. esansiyel yağlar ve monoterpenler

Esansiyel yağlar (EO), “uçucu ya da etheral yağlar” olarak da adlandırılmaktadırlar (Burt 2004, Guenther 1948). Bu sıvı haldeki aromatik yağlar, bitki kısımlarından (çiçekler, tohumlar, tomurcuklar, yapraklar, ince dallar, ağaç kabuğu, otlar, odun ve kökler) sağlanmaktadır. Esansiyel yağlar ezme, fermentasyon ve ekstraksiyon ile elde edilmektedirler, fakat EO’ların üretiminde en çok kullanılan yöntem; buhar distilasyonu metodudur (Van De Braak ve Leijten 1999). “ Esansiyel yağ” terimi, *Quinta essenti* isimli bir ilaçtan esinlenerek, isveç tıp bilimcisi, Paracelsus Von Hoenheim tarafından verilmiştir (Burt 2004, Guenther 1948). Günümüzde 3000 kadar esansiyel yağ bulunmakta ve bunların yaklaşık 300 tanesi ticari amaçlı kullanılmaktadır (Van De Braak ve Leijten 1999). Bazı esansiyel yağlar, antimikrobiyal özellikleriyle tanınmaktadır (Burt 2004, Boyle 1955, Guenther 1948). Antibakteriyel özelliklerinin yanısıra (Mourey ve Canillac 2002, Carson ve ark. 1995, Deans ve Ritchie 1987), esansiyel yağlar veya onların komponentleri; antiviral (Bishop 1995), antimikototik (Mari ve ark. 2003, Jayashree ve Subramanyam 1999, Akgül ve Kıvanç 1988, Azzouz ve Bullerman 1982), antitoksijenik (Juglal ve ark. 2002, Ultee ve Smid 2001, Akgül ve ark. 1991) antiparasitik ve insektisit (Pessoa ve ark. 2002, Pandey ve ark. 2000)

özellikler içermektedirler. Bütün bu özelliklerin, belki de içerdikleri bitki bileşiklerinin özellikleriyle ilgisi bulunmaktadır ve 10-C atomu içeren isoprenoid grubuna sahiptirler (Burt 2004, Mahmoud ve Croteau 2002, Guenther 1948).

Monoterpenler, çeşitli bitki özlerindeki yağlardan elde edilmektedir. Aynı zamanda çeşitli ilaçların da içinde kullanılmaktadır (Vaddi ve ark. 2002, Kunta ve ark. 1997, Godwin ve Michniak 1999).

Monoterpenler, esansiyel yağların en önemli komponentleridir (Mühlbauer ve ark. 2003).

Monoterpenler; hidrokarbonlar, alkoller, oksitler ve diğerleri gibi çeşitli kimyasal sınıflara aittir (Vaddi ve ark. 2002, Godwin ve Michniak 1999, Gao ve Singh 1998).

Monoterpenler ve uçucu yağlar, hoş bir koku ve tada sahiptirler. Düşük konsantrasyonda kullanılmaktadırlar. Eski zamanlarda, monoterpenlerin özü, yeneyen ve yenemeyen bitkilerden çıkarılmıştır. Şimdi ise yiyeceklere katkı maddesi olarak kullanılmaktadır (Mühlbauer ve ark. 2003).

Esansiyel yağlar ve monoterpenler lipofilik bileşiklerdir, kolaylıkla hücre membranlarından geçerler ve bu nedenle deri ve akciğer tarafından absorbe edilmektedirler (Mühlbauer ve ark. 2003).

1.4.1.1.1. timol ve karvakrol

Timol ve karvakrol *thyme* (kekik) bitkisinin yapraklarından elde edilen doğal bir terpenoiddir ve antiseptik olarak geniş bir kullanım alanına sahiptir (Tamura ve Iwamoto 2004, Margossian ve Lowey 1982).

Thyme veya *oregano* yiyeceklerde tatlandırıcı, aroma veya yiyecekleri muhafaza etmek amacıyla, ve eskiden beri Yunan, Mısır ve Romalılarda halk hekimliğinde kullanılmaktadır. *Lamiacea* familyasına ait *thyme* bitkisinin yapraklı kısımları yıllardır; et, balık ve yiyecek ürünlerine katılarak tüketilmektedir. Türkiye, *Lamiacea* familyasının merkezi konumunda bulunmaktadır ve toplam 39 türü Türkiye’ de yetişmektedir. Bunlardan 19’ u endemiktir (Aydın ve ark. 2005, Baser 1994, Baser 1993). *Thyme* bitkisinin komponentleri başlıca; timol ve karvakroldür. Timol, yapısal olarak karvakrole çok benzemektedir, fenolik halkada hidroksil grubu farklı bir yerde bulunmaktadır (Burt 2004). Bunlar

antioksidant aktivite göstermektedirler (Aydın ve ark. 2005, Miura ve ark. 2002, Lee ve Shibamoto 2001, Nakatani 2000, Lagouri ve ark. 1993).

Karvakrol ve Timol, hücre zarının dışında gram-negatif bakteriler tarafından parçalanmaktadırlar. Bunun sonucunda, lipopolisakkaritler (LPS) serbest kalmakta ve hücre zarının ATP geçirgenliği artmaktadır (Burt 2004, Helander ve ark. 1998).

Önemli bir antiseptik olan Timol; tıpta, tarımda, kozmetikte ve yiyecek endüstrisinde kullanılmaktadır (Szentandrassy ve ark. 2003, Aeschbach ve ark. 1994, Lee ve ark. 1997, Manou ve ark. 1998). Ayrıca, fenolik bir bileşik olan Timol (2-izopropil-5-metilfenol) güçlü fungusit, bakterisit ve antioksidan etkilerden dolayı dişçilikte ağız infeksiyonlarının tedavisinde kullanılmaktadır (Evans ve Martin 2000, Szentandrassy ve ark. 2003, Twetman ve ark. 1995, Shapiro ve Guggenheim 1995, Ogaard ve ark. 1997). Güçlü bir iltihap önleyicidir (Szentandrassy ve ark. 2003, Skold ve ark. 1998, Yucel-Lindberg ve ark. 1999). Bununla beraber Timol iskelet ve kalp kasındaki uyarma ve kasılmalarda etkilidir (Tamura ve Iwamoto 2004, Sakai ve ark. 1967).

Timol, hızlı ve hareketli kaslara sahip kemirgen hayvanlarda uyarılarak kasılmayı sağlamaktadır. Timol, sarkoplazmik retikulumdan kalsiyumu salmakta ve böylece depolarizasyon artışına neden olmaktadır (Szentesi ve ark. 2004). Günümüzde yiyeceklerin bozulmasını önleyen ve bitkilerden elde edilen antimikrobial bileşiklerin kullanılmasında bir artış olmuştur. Buna örnek olarak; doğal antimikrobial bir bileşik olan Karvakrol verilebilir(Ultee ve ark. 2002, Arrebola ve ark. 1994, Lagouri 1993).

Karvakrolün birçok patojenin büyümesini engellediği birçok yerde yayınlanmıştır (Ultee ve ark. 2002, Conner 1993, Juven 1994, Kıvanç ve Akgül 1988, Lagouri ve ark. 1993).

Karvakrol, çok sayıda aromatik bitkilerden oluşan bir komponenttir.

Karvakrol, mutajenik çalışmalarda zayıf bir aktivite göstermiştir. Metabolizmik çalışmalarda ise Karvakrol, 24 saat sonra büyük miktarda ürün ile birlikte dışarı atılmış veya tekrar dönüşmüş veya glukoronik ve sülfat bileşikleri olarak görülmüştür (De Vincenzi ve ark. 2004).

1.4.1.1.2. L-mentol

Mentol, nanenin farklı türlerindeki (*Mentha arvensis* ve *Mentha piperita*) bitkilerin uçucu yağlarından elde edilen bir monoterpendir (Spichiger ve ark. 2004, Galeotti ve ark. 2002, Eccles 1994). Mentol; yiyeceklerde, likörlerde, parfümlerde, sigarada, pastillerde, nefes açıcı ilaçlarda kullanılmaktadır (Lin ve ark. 2005, Merck 2001, Eccles 1994, Spichiger ve ark. 2004). Ayrıca kaşıntılar, sindirim güçlükleri, migren ve spor incinmeleri gibi rahatsızlıkların bitkisel tedavisinde de kullanılmaktadır (Spichiger ve ark. 2004).

Yapılan çalışmalarda araştırmacılar, mentolün genotoksik ve sitotoksik etkilerini değerlendirmişler ve mentolün DNA çift ipliğinde kırılmalara ve ikinci derecede sitotoksositeye neden olduğunu rapor etmişlerdir (Hartman ve Speit 1997). Ayrıca farelerde mentol ve bazı monoterpenlerin etkileri gözlenmiş ve kemik erimesini önlediği anlaşılmıştır (Spichiger ve ark. 2004, Mühlbauer ve ark. 2003, Madyastha ve Srivatsan 1988, Yamaguchi ve ark. 1994).

Mentol, 3 asimetrik karbon atomuna sahip, doğal bir bileşiktir ve bundan dolayı dört çift optik izomeri bulunmaktadır: (+) ve (-)-Mentol, (+) ve (-)-Neomentol, (+) ve (-)-İzomentol, (+) ve (-)-Neoizomentol (Galeotti ve ark. 2002).

1.4.1.1.3. 1,8 sineol

1,8 Sineol, *Salvia officinalis* L. ve *Rosmarinus officinalis*' ten elde edilmektedir. 1,8 Sineol (Sineol, Ökalyptol) doğal aromatik bitkilerden ve bu bitkilerden elde edilen uçucu yağ fraksiyonlarından oluşmaktadır (De Vincenzi ve ark. 2002, Santos ve ark. 2004). 1,8 Sineol, tatlandırıcı faktör olarak yiyeceklerde, bazı semptomların tedavisinde, aromaterapide deri canlandırıcı olarak ve cilt banyolarında kullanılmaktadır (Santos ve ark. 2004, De Vincenzi ve ark. 1996, Pattnaick ve ark. 1997). Farmasötik endüstride, deri yolu ile tedavilerde ve öksürük tedavilerinde de sıkça kullanılmaktadır (Santos ve ark. 2004, Laude ve ark. 1994, Levison ve ark. 1994, Gao ve Singh 1998). Ayrıca Sineol Antimikrobial (Santos ve ark. 2004, Pattnaick ve ark. 1997) ve antitümöral özelliklere (Santos ve ark. 2004, Moteki ve ark. 2002) sahiptir.

1.4.1.1.4. *Salvia fruticosa* (*Salvia triloba*, adaçayı)

Genetik adı; *Salvia libanotica* olarak kullanılmaktadır. Güçlü aromatik bir Akdeniz şurubudur (Farhat ve ark. 2001, Mouterde 1970, Bellomaria ve ark. 1992, Rivera ve ark. 1994). *Salvia fruticosa*, *Salvia triloba* veya *Salvia cypria* olarak da bilinmektedir (Farhat ve ark. 2001, Mouterde 1970). *Salvia fruticosa*, Doğu Akdeniz bölgesinde bulunan endemik bir bitkidir (Farhat ve ark. 2001, Gali-Muhtasib ve ark. 2000). Labiatae famiyasına aittir (Farhat ve ark. 2001, Nehme 1978, Hay ve Svoboda 1993). Bu bitkinin yaprakları üç loblu, yaprak uçları geniş, buruşuk, pürüzlü ve gri-yeşil renğinde görülmektedir (Farhat ve ark. 2004, Meikle 1985, Nehme 1978).

Yapraklardan elde edilen uçucu yağ (elma yağı), %60 kadar sineol taşımaktadır, bu bakımdan oldukça değerlidir. Çiçekli ve yapraklı dallar toplanır, kurutulur ve ihraç edilir. Yurdumuzda çay halinde kullanılmaktadır (Baytop 1996). Bu bitki su içinde kaynatılarak (Elbetieha ve ark. 1998), Orta Doğuda soğuk algınlığı, öksürük ve mide ağrılarının giderilmesi için kullanılmaktadır (Farhat ve ark. 2001, Gali-Muhtasib ve ark. 2000, Rivera ve ark. 1994). Aynı zamanda ağızdaki iltihaplar için de kullanılmaktadır (Farhat ve ark. 2001, Schilcher 1985, Newall ve ark. 1996).

Son zamanlarda yapılan çalışmalar, bu bitkiden elde edilen uçucu yağın önemli ölçüde antibakteriyel etkilerinin olduğunu (Farhat ve ark. 2004, Hefnawy ve ark. 1993, Hilan ve ark. 1997) ve fare derisi üzerinde yapılan çalışmalarda da tümör oluşumunu engelleyici etkilerinin bulunduğunu göstermiştir (Farhat ve ark. 2004, Gali-Muhtasib ve Affara 2000). Ayrıca erkek ve dişi farelerdeki üremeyi düzenlediği görülmüştür (Elbetieha ve ark. 1998). Bununla beraber, vücuda çok fazla miktarda *Salvia fruticosa* bitkisinin özü verildiğinde toksik etki yapmakta ve kalıcı beyin zararlarına yol açmaktadır (Farhat ve ark. 2004, Newall ve ark. 1996, Arnold 1988). *Salvia fruticosa* bitkisinin bütün bu iyileştirici etkilerine rağmen, tıp alanında bu bitkiyle ilgili deneysel çalışmalara son derece az rastlanmaktadır (Farhat ve ark. 2001).

1.4.1.1.5. *Laurus nobilis* (defne)

Akdeniz havzasında yetişen, kışın yaprak dökmeyen dioik bir ağaçtır. Yaprakları derimsi, özel kokulu, kenarları dalgalıdır. Meyve bir tohumlu, parlak siyah renkli, zeytin büyüklüğünde bir bakkadır. Meyveler, serbest yağ bakımından zengindir.

Bu yağ, defne yağı ve tehnel yağı adları altında merhem halinde kullanılmaktadır (Baytop 1996).

1.4.1.1.6. *Origanum onites* (*Origanum smyrnaeum*, İzmir kekiği)

Güneybatı Anadolu’ da yaygın olarak bulunmaktadır. Çiçek dalları, İzmir yöresinde “peynir kekiği” adı altında satılmaktadır (Baytop 1996). Thyme ve oregano türlerinin yağlarının temel bileşenleri; timol, karvakrol ve γ - terpinendir (Aydın ve ark. 2005). *Thyme* ve *oregano*, aflatoksin üretimini engellemektedirler (Vaughn ve ark. 1993, Llewellyn ve ark. 1981). Kekik bileşenlerinin antiplasmodik ve antiplatelet toplanma aktiviteleri rapor edilmiştir (Okazaki ve ark. 2002, Meister ve ark. 1999).

1.4.1.1.7. *Pimpinella anisum* (anason)

Çok eski bir kültür bitkisidir. Kökeni tam olarak belli değildir. Sıcak iklim bölgelerinde daha yaygın olarak bulunmaktadır. Birçok ülkede kültürü yapılmaktadır. 30-50 (70) cm yükselebilen tek yıllık otsu bir bitkidir. Kök ince, oldukça kısa iğ şeklinde olmaktadır. Yaprakları halımsı tüylüdür. Bitki toprak üstünün son üçte birinde dallanmakta ve bu dalların ucunda şemsiye tipinde seyrek tipli çiçek kümeleri bulunmaktadır. Meyve, yanlardan hafifçe basık armut şeklinde iki parçadan oluşmaktadır.

Pimpinella anisum, başlangıçtaki gelişme devresinde rutubetli havalardan hoşlanmasına karşın, özellikle çiçeklenme döneminde serin ve nemli havalar bitkilerin hastalıklara yakalanmasına neden olmaktadır.

Pimpinella anisum meyvesi uçucu yağ içermektedir. Bunun oranı % 1,5-3 arasında değişmektedir. Uçucu yağın en önemli maddesi Transanethol'dur. *Pimpinella anisum*'un kendine özgü kokusu ve tatlımsı tadı bu maddenin varlığından ileri gelmektedir.

Pimpinella anisum mideyi, karminatif, iştah açıcı ve koku verici etkilere sahiptir. Karminatif etkisi mide ve bağırsaklarda fermentasyona engel olmasından ileri gelmektedir. Ayrıca *Pimpinella anisum* bazı içkilerin hazırlanmasında da kullanılmaktadır (Sahraei ve ark. 2002).

1.4.2. Yöntemler Hakkında Bilgiler

1.4.2.1. hücre sayımları

Flasklarda yetiştirdiğimiz A549, V79 379A ve CHO hücreleri flask yüzeylerinin %70' ini kapladıklarında, flaskların içindeki besiyeri atılmış ve Tripsin- EDTA solüsyonu kullanılarak hücrelerin flaskların tabanından ve birbirlerinden ayrılması sağlanmıştır. Daha sonra bu hücreler trypan blue ile boyanmış ve Thoma Lamı kullanılarak sayılmışlardır.

1.4.2.2. immunofluoresans çalışmalar

Aktin filamentlerinin floresan mikroskopunda incelenmesinde Rhodamin Phalloidin (RhPh) genellikle kullanılmaktadır (Balaz ve Mansson 2005, Homsher ve ark. 1992, Borejdo ve Burclacu 1992, Borovikov ve ark. 1996, Gordon ve ark. 1997, Klinth ve ark. 2003). Mikroenjeksiyonda floresan özelliği gösteren Phalloidin, *in vivo* ortamda bitki hücrelerinde aktin filamentlerinde F-aktini görebilmek için en etkili yöntem olmuştur (Liu ve ark. 2004, Schmit ve Lambert 1990, Valster ve ark. 1997).

Phalloidin, aktin filamentlerini sınıksıkı sarmakta ve onların yapısını stabilize etmektedir (Balazs ve ark. 2004, Miyamoto ve ark. 1986, Faulstich ve ark. 1977). Aktin filamentlerini stabilize eden Phalloidin, daha çok *in vitro* çalışmalarda kullanılmaktadır. Ayrıca intrasellüler çalışmalardaki Phalloidin

floresan türevleri, floresan mikroskopik yöntemlerde aktin iskeletinin mimarisinin tasarlanmasında uygulanmaktadır (Balazs ve ark. 2004, Bubb ve ark. 1994).

Hücre iskeletindeki zararları görebilmek amacıyla FITC (floresan izosiyonat)- Phalloidin boyaması yapılarak F-aktin iskeletine bakılmaktadır (Gunaratnam ve Grant 2004, Wulf ve ark. 1979).

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Kullanılan Bitki Ekstreleri

Karvakrol; Flutarom (İsrail) firmasından, L-mentol; Polaron (Polonya) firmasından, kekik, defne, adaçayı, anason yağları ile adaçayı esansiyel yağının önemli bir bileşeni olan 1,8 sineol ve kekik esansiyel yağının önemli bir bileşeni olan thymol; Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı'ndan temin edilmiş olup, yağların elde edildiği bitkinin kaynağı ve yağların kompozisyonu tam olarak bilinmemektedir.

1.4. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Dulbecco' s Modified Eagle' s Medium (DMEM)(Yüksek Glikozlu)(Sigma), Fetal Bovine Serum (FBS) (Sigma), Penicilin-Streptomycin (Sigma), 10X Trypsin- EDTA Solüsyonu (Sigma), Sodyum Bikarbonat (Sigma), Dimethyl Sülfokside (DMSO) (Merck), Triton X-100 (Sigma), Phalloidin FITC (Sigma), 10X Hanks Balanced Salt Solution (HBSS) (Sigma), Formaldehit (Merck), Trypan Blue (Merck), Propidium İodide (Sigma), NaCl (Merck), KCl (Merck), KH₂PO₄ (Merck), NaH₂PO₄ (Merck).

1.5. Kullanılan Sarf Malzemeler

20 ml' lik Enjektörler, Flasklar, 6' lık Plakalar, 100, 250, 500 ve 1000 ml' lik Durham Şişeler, 1, 2, 5 ve 10 ml' lik Cam Pipetler, Thoma Lamı, Yuvarlak lameller.

1.6. Kullanılan Aletler

Su banyosu (Clifton), soğutmalı ve yüksek devirli santrifüj (Heraeus), otoklav, derin dondurucu, buzdolabı, steril kabin (Heraeus), otomatik pipetler, Kar-Buz makinesi (Scotsman), inverted mikroskop, karbondioksit inkübatörü (Heraeus).

1.7. Hücre Kültüründe Kullanılan Hücreler

2.5.1. A549 Hücre Kültürü

A549 hücreleri inaktif hale getirilmiş %10' luk Fetal Bovine Serum, Nutrient Mixture F12 (HAM) ve Penicilin Streptomycin içeren besiyerinde yetiştirilmiş, %95 hava ve %5 CO₂' li gaz ortamında 37⁰ C'deki CO₂ inkübatöründe inkübe edilmişlerdir (Huober ve ark. 2000).

Dünyada kansere bağlı ölümlerin en başında akciğer kanseri gelmektedir. Akciğer kanserinin büyük bir bölümü küçük hücreli olmayan akciğer kanserleridir. Bunların arasında adenokarsinoma yer almaktadır. Bunlar agresif tümörlerdir. A549 kanser hücreleri küçük hücreli olmayan epitelyal akciğer adenokarsinomudur. A549 hücreleri Institute of Fermentation Osaka (Tokyo, Japonya) dan satın alınmıştır. 58 yaşında Orta Asyalı bir erkekten alınmıştır ve keratin üretmektedir (Delarue ve ark. 2001, Evdokiou ve Cowled 1998).

2.5.2. V79 379A Hücre Kültürü

V79 379A hücreleri inaktif hale getirilmiş %10' luk Fetal Bovine Serum (FBS), Dulbecco's Modified Eagles Medium (DMEM), % 9,2'lik Sodyum Bikarbonat ve Penicilin Streptomycin içeren besiyerinde yetiştirilmiş, %95 hava ve %5 CO₂' li gaz ortamında 37⁰ C'deki CO₂ inkübatöründe inkübe edilmişlerdir.

Chinese Hamster Akciğer fibroblast benzeri hücrelerdir. Bu hücreler birçok araştırmacı tarafından yaygın olarak kullanılmaktadır (Chalmers ve ark. 2004, Hartman ve ark. 1984). Bu hücreler Institute of Fermentation Osaka (Tokyo, Japonya) dan satın alınmıştır.

2.5.3. CHO Hücre Kültürü

CHO hücreleri inaktif hale getirilmiş %10' luk Fetal Bovine Serum, Nutrient Mixture F12 (HAM) ve Penicilin Streptomycin içeren besiyerinde yetiştirilmiş, %95 hava ve %5 CO₂' li gaz ortamında 37⁰ C'deki CO₂ inkübatöründe inkübe edilmişlerdir.

Chinese Hamster Ovaryum epitelyal benzeri hücrelerdir. Bu hücreler East Anglia Üniversitesi (İngiltere), Biyolojik Bilimler Okulu, Moleküler Biyoloji Bölümünden sağlanmıştır.

1.8. Test Maddelerinin Dozların Hazırlanması

1.8.2. Esansiyel Yağlar ve Monoterpenlerin Dozlarının Hazırlanması

"Bazı monoterpen ve bazı uçucu yağların sitotoksik ve genotoksik etkilerinin araştırılması" adlı proje kapsamında belirlenen dozlar bu çalışmada kullanılmıştır.

2.6.1.1. timol dozlarının hazırlanması

Timol, DMSO (Merck) içinde çözülerek 50mM, 100mM, 200mM ve 400mM' lık dozlar hazırlanmıştır. Timol, DMSO içinde çözüldüğü için negatif kontrol olarak DMSO kullanılmıştır. Timol' ün hazırlanan dozları (+4°C)' de saklanmıştır.

2.6.1.2. karvakrol dozlarının hazırlanması

Karvakrol, DMSO (Merck) içinde çözülerek 100mM, 200mM, 400mM ve 800mM' lık dozlar hazırlanmıştır. Karvakrol, DMSO içinde çözüldüğü için negatif kontrol olarak DMSO kullanılmıştır. Karvakrol' ün hazırlanan dozları (+4°C)' de saklanmıştır.

2.6.1.3. L-mentol dozlarının hazırlanması

L-Mentol, DMSO (Merck) içinde çözülerek 125mM, 250mM, 500mM ve 1000mM'lık dozlar hazırlanmıştır. L-Mentol, DMSO içinde çözüldüğü için negatif kontrol olarak DMSO kullanılmıştır. L-Mentol'ün hazırlanan dozları (+4°C)'de saklanmıştır.

2.6.1.4. 1,8 sineol dozlarının hazırlanması

1,8 sineol, DMSO (Merck) içinde çözülerek 5000mM, 10000mM, 20000mM ve 30000mM'lık dozlar hazırlanmıştır. 1,8 sineol, DMSO içinde çözüldüğü için negatif kontrol olarak DMSO kullanılmıştır. 1,8 sineol'ün hazırlanan dozları (+4°C)'de saklanmıştır.

2.6.1.5. *Salvia fruticosa* dozlarının hazırlanması

Salvia fruticosa DMSO (Merck) içinde çözülerek ana stok hazırlanmış ve hazırlamak istenilen 12,5mM, 25mM, 50mM ve 100mM'lık dozlar uygun besiyerine eklenmiştir.

2.6.1.6. *Laurus nobilis* dozlarının hazırlanması

Laurus nobilis DMSO (Merck) içinde çözülerek ana stok hazırlanmış ve hazırlamak istenilen 12,5mM, 25mM, 50mM ve 100mM'lık dozlar uygun besiyerine eklenmiştir.

2.6.1.7. *Origanum onites* dozlarının hazırlanması

Origanum onites DMSO (Merck) içinde çözülerek ana stok hazırlanmış ve hazırlamak istenilen 12,5mM, 25mM, 50mM ve 100mM'lık dozlar uygun besiyerine eklenmiştir.

2.6.1.8. *Pimpinella anisum* dozlarının hazırlanması

Pimpinella anisum DMSO (Merck) içinde çözülerek ana stok hazırlanmış ve hazırlamak istenilen 12,5mM, 25mM, 50mM ve 100mM'lık dozlar uygun besiyerine eklenmiştir.

1.9. Kullanılan Araç ve Gereçlerin Hazırlanması

Çalışmalarda kullanılacak cam ve metal malzemeler alüminyum folyolara sarılı olarak sterilizatörde 180° C'de 2 saat, sıvı solüsyonlar ise 121° C 1,5 atm/Hg' de 20 dakika steril edilmiştir. Kullanılan tüm sıvı kimyasallar, selüloz nitrat filtreden geçirilerek steril edilmişlerdir.

1.10. Yöntem

1.10.2. Hücre kültürü

A549, V79 379A ve CHO hücreleri uygun besiyerlerinde ve 25 cm²'lik flasklarda yetiştirilmiş ve % 95 hava ve % 5 CO₂'li gaz ortamında 37° C' deki CO₂ inkübatöründe inkübe edilmişlerdir.

1.10.3. İmmünofluoresans boyama

25 cm²'lik flasklarda büyütülen A549, V79 379A ve CHO hücreleri Tripsin- EDTA solüsyonu kullanılarak flask tabanından kaldırıldıktan sonra, içlerinde 2'şer adet steril yuvarlak lam bulunan her bir kuyucuğa 200.000 hücre gelecek şekilde 6'lık plakalara ekilmişlerdir. %95 hava ve %5 CO₂'li gaz ortamında 37° C' deki CO₂ inkübatöründe 24 saat inkübe edilmişlerdir. 24 saatlik inkübasyondan sonra besiyerleri 6'lık plakadaki kuyucuklardan uzaklaştırılmıştır. Lameller üzerine yapışmış hücreler üzerine belirlenen maddelerin dozları medyum içinde ilave edilmiş ve tekrar 24 saat inkübe edilmişlerdir. 24 saatlik inkübasyondan sonra immünofluoresans boyama yapılmıştır.

Test maddelerini içeren medyum hücreler üzerinden uzaklaştırılmıştır. Ardından hücreler steril fosfat tampon tuz çözeltisi (PBS: 137 μ M NaCl, 2.7 μ M KCl, 15 μ M KH_2PO_4 , 8 μ M NaHPO_4 ; pH 7.3) ile 3 kere yıkanmıştır. Sonra %3,7' lik Formaldehit ile 37⁰ C' de tespit edilmişlerdir. Tekrar 3 kere PBS ile yıkanan hücreler Triton X-100 ile 1,5 dakika muamele edilmiştir. Ardından 3 kez PBS ile yıkanan hücreler, 1mM' lik Phalloidin FITC ile 2 saat kapalı ve karanlık ortamda 22⁰ C 'de bekletilmiştir. Daha sonra 3 kez PBS ile yeniden yıkanan hücreler 5 saniye 100mg/ml' lik Propidium İodide ile boyanmış, son defa 3 kere PBS ile yıkanmış, üzerinde 10 μ l PBS bulunan lamalar üzerine kapatılarak, sabitlenmiştir.

2.9. Mikroskopi

A549, V79 379A ve CHO hücreleri Soif XSZ-D2 inverted mikroskopla incelenmiştir. Kültür hücreleri boyandıktan sonra Olympus BX50 araştırma mikroskobu altında ve değişik büyütme oranlarında incelenmişlerdir. A549, V79 379A ve CHO hücrelerinin immünohistokimyasal yapıları Olympus U- UHK floresans mikroskopla incelenmiştir.

2.10. Fotoğrafi

A549, V79 379A ve CHO kültür hücrelerinin mikroskop altında saptanan uygun görüntüleri Olympus PM-30 otomatik fotomikrografi aracı kullanılarak fotoğraflanmıştır.

3. BULGULAR

3.1. Esansiyel Yağlar ve Monoterpenlere Ait Bulgular

3.1.1. Timol' ün F-Aktin Hücre İskeleti Üzerine Etkileri

Negatif kontrol grubundaki A549 hücreleri, aktin hücre iskeleti bakımından incelendiklerinde, düzenli demetler halinde aktin polimerlerine sahip oldukları gözlenmiştir. Doz arttıkça negatif kontrol grubundaki hücrelerle karşılaştırıldığında, düzenli aktin polimer demetlerinin kaybolduğu, monomer aktinin hücre yapısında yoğunlaştığı belirlenmiştir (Şekil 3.1.1.1).

V79 379A hücreleri, negatif kontrol grubundaki hücrelere kıyasla, doz artışında, hücre içindeki aktin filamentlerinin organizasyonunun bozulduğu saptanmıştır (Şekil 3.1.1.2).

Aynı şekilde CHO hücrelerinde, negatif kontrol grubunda, hücre iskeleti, sitoplazma boyunca uzanan ince stres fiberleri şeklinde görülmektedir. Doz arttıkça, hücre morfolojisinde bozulmalar görülmüştür (Şekil 3.1.1.3).

1.4.2. Karvakrol' ün F-Aktin Hücre İskeleti Üzerine Etkileri

A549 hücrelerinde, hücre iskeleti plazma membranının iç tarafında kalın bir korteks ve sitoplazma boyunca uzanan daha ince stres fiberleri şeklinde görülmektedir. Doz arttıkça, aktin hücre iskeletinin yoğunluğu azalmıştır (Şekil 3.1.2.1).

Negatif kontrol grubundaki V79 379A hücreleri, aktin hücre iskeleti bakımından incelendiklerinde düzenli demetler halinde aktin polimerlerine sahip oldukları görülmüştür. Doz arttıkça, hücre morfolojisinde bozulmalara rastlanmıştır (Şekil 3.1.2.2).

CHO hücrelerinde negatif kontrol grubundaki hücrelerde hücre iskeletinde birbirine paralel ince stres fiberlerine rastlanmaktadır. Doz artışında, bu paralellik gösteren ince stres fiberlerinin bozulduğu görülmüştür (Şekil 3.1.2.3).

3.1.3. L-Mentol ' ün F-Aktin Hücre İskeleti Üzerine Etkileri

A549 hücrelerinde, Şekil 3.1.3.1'de a ve b'de pozitif ve negatif kontrol hücrelerindeki F-aktin dağılımı görülmektedir. Doz arttıkça, aktin hücre iskeleti giderek bozulmuştur (Şekil 3.1.3.1).

V79 379A hücrelerinde, negatif ve pozitif kontrol grubundaki hücrelerde aktin hücre iskeleti, düzenli ve birbirine paralel uzanan ince stres fiberleri şeklinde görülmektedir. Doz arttıkça, polimer aktin fibrillerinin sayısında azalma olmuştur (Şekil 3.1.3.2).

CHO hücrelerinde, Şekil 3.1.3.3'de a ve b'de pozitif ve negatif kontrol grubundaki ince stres fiberleri, doz arttıkça, yavaş yavaş bozulmaya başlamıştır. 1000 μM 'lık dozda hücreler tamamen bozulmuştur (Şekil 3.1.3.3).

3.1.4. 1,8 Sineol' ün F-Aktin Hücre İskeleti Üzerine Etkileri

Şekil 3.1.4.1'de A549 hücrelerinin a ve b'de pozitif ve negatif kontrol hücreleri incelendiğinde, F-aktinin normal dağılımının üç farklı alanda olduğu görülmektedir. Bu hücrelerde; hücre membranının iç tarafında çapraz fiberler şeklinde, sitoplazma içinde uzanan uzun stres fiberleri şeklinde ve pseudopodlar şeklinde uzanan çok ince kısa fiberler şeklinde görülmektedir. Doz arttıkça, bu dağılımın giderek bozulduğu görülmüştür (Şekil 3.1.4.1).

V79 379A hücreleri, negatif ve pozitif kontrol grubundaki hücrelerle karşılaştırıldığında, doz artışıyla, aktin polimerleri giderek görünmez hale gelmiştir (Şekil 3.1.4.2).

Aynı şekilde CHO hücrelerinin de, pozitif ve negatif kontrol grubundaki hücreler karşılaştırıldığında, dozun artmasıyla, aktin hücre iskeletinin yoğunluğu azalmıştır (Şekil 3.1.4.3).

3.1.5. *Salvia fruticosa*'nın F-Aktin Hücre İskeleti Üzerine Etkileri

Şekil 3.1.5.1’de a ve b’deki pozitif ve negatif kontrol grubunda A549 hücrelerinde F-aktinin sitoplazma içinde uzun stres fiberleri, hücre membranının iç tarafında çapraz bağlı fiberler şeklinde ve pseudopodlar şeklindeince kısa fiberler görülmektedir. Bunun tersine, *Salvia fruticosa* ile muamele edilen hücrelerde doz artışına bağlı olarak hücre iskeletinde önemli bir bozulma ve çökme görülmektedir (Şekil 3.1.5.1).

Şekil 3.1.5.2’deki V79 379A hücrelerinde de pozitif ve negatif kontrol grubunda sitoplazma boyunca uzanan ince stres fiberler görülürken, doz artışıyla aktin filamentlerinin organizasyonu bozulmuştur (Şekil 3.1.5.2).

CHO hücrelerine bakıldığında, Şekil 3.1.5.3’de a ve b’de pozitif ve negatif kontrol hücrelerinde, aktin filamentleri sitoplazma boyunca uzanmaktadır. Dozun artmasıyla, aktin filamentlerinin bozulduğu görülmüştür (Şekil 3.1.5.3).

3.1.6. *Laurus nobilis*’ in F-Aktin Hücre İskeleti Üzerine Etkileri

Negatif ve pozitif A549 hücrelerinin aktin hücre iskeleti incelendiğinde, düzenli demetler halinde aktin polimerlerine sahip oldukları saptanmıştır. *Laurus nobilis* ile hücreler muamele edildiğinde, doz artışıyla aktin hücre iskeleti yoğunluğu giderek azalmıştır (Şekil 3.1.6.1).

V79 379A hücrelerinin aktin hücre iskeleti, negatif ve pozitif kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında, dozun artmasıyla bozulmuştur (Şekil 3.1.6.2).

Şekil 3.1.6.3’de a ve b’de, CHO hücrelerinde, negatif ve pozitif kontrol grubundaki düzenli demetler halindeki aktin polimerleri, doz attıkça giderek görünmez hale gelmiştir (Şekil 3.1.6.3).

3.1.7. *Origanum onites*’ in F-Aktin Hücre İskeleti Üzerine Etkileri

Origanum onites uygulanan A549 hücrelerinde, aktin filamentlerinin, doz arttıkça, giderek bozuldukları görülmüştür (Şekil 3.1.7.1).

Şekil 3.1.7.2’deki V79 379A hücrelerinin, pozitif ve negatif kontrol gruplarında, aktin hücre iskeleti ince stres fiberleri şeklinde sitoplazmada birbirine paralel uzanmaktadır. Fakat *Origanum onites* ile muamele edilen hücrelerin

morfolojisinde ve stres fiberlerinde bozulmalar olduğu saptanmıştır (şekil 3.1.7.2).

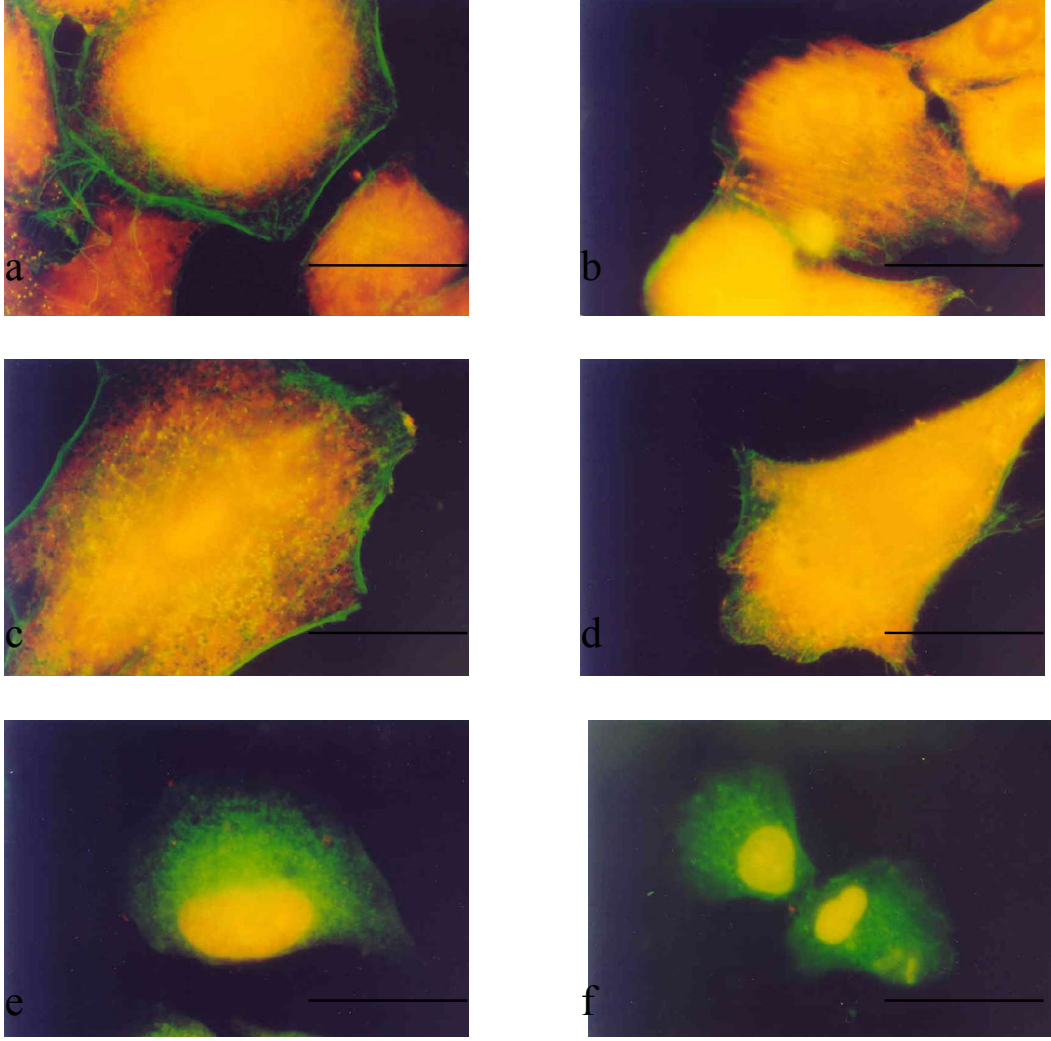
CHO hücrelerinin aktin hücre iskeleti, negatif ve pozitif kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında, *Origanum onites* ile muamele edilen hücrelerde dozun artmasıyla bozulmalar görölmüştür (şekil 3.1.7.3).

i. *Pimpinella anisum*' un F-Aktin Hücre İskeleti Üzerine Etkileri

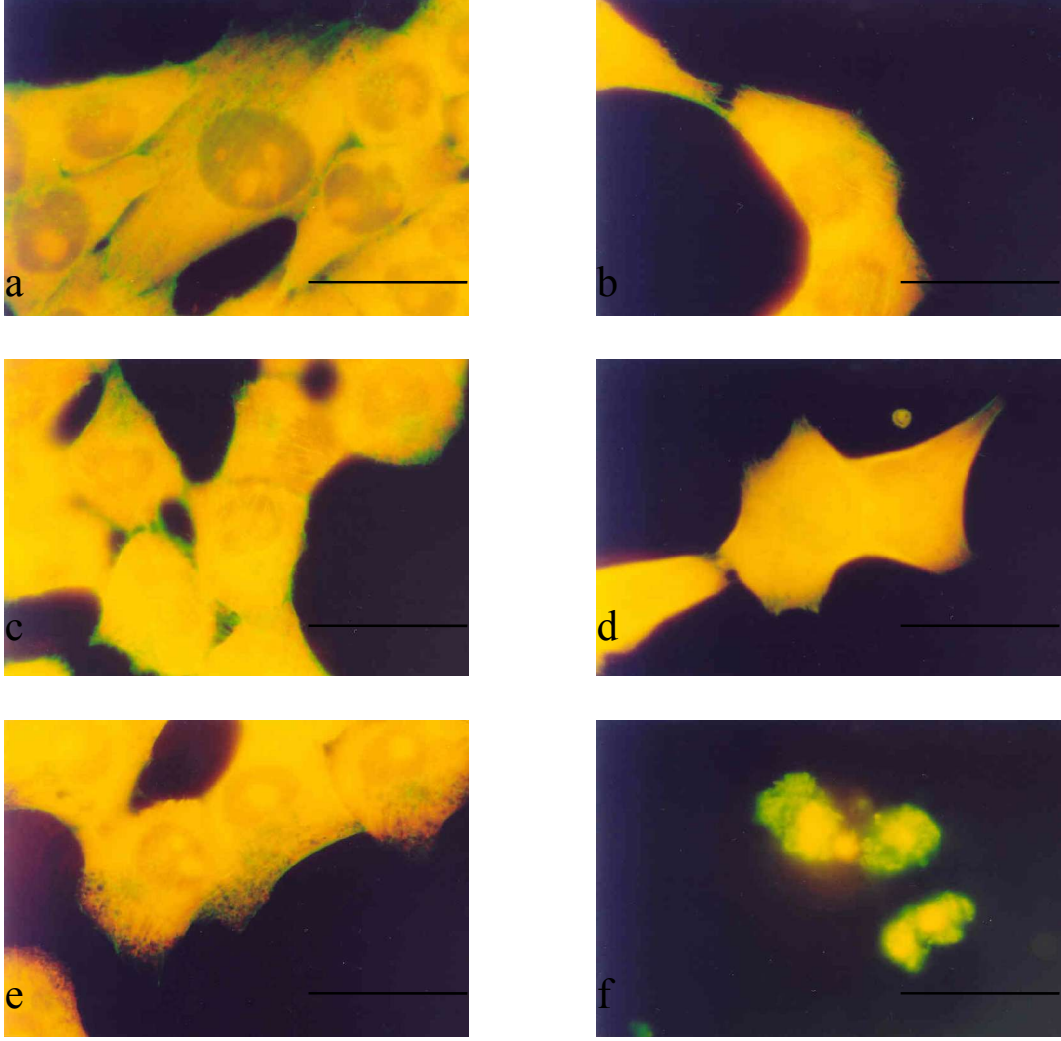
A549 hücrelerinde, hücre iskeleti, plazma membranının iç tarafında kalın bir korteks ve sitoplazma boyunca uzanan daha ince stres fiberleri şeklinde görölmektedir. Doz arttıkça, aktin hücre iskeletinin yoğunluğu azalmış ve sonuçta görünmez hale gelmiştir (şekil 3.1.8.1).

V79 379A hücreleri, şekil 3.1.8.2'de a ve b'de negatif ve pozitif kontrol grubunda, düzenli demetler halinde aktin polimerlerine sahiptir. *Pimpinella anisum* ile muamele edilen hücrelerde, dozun artmasıyla, bulutsu görünümdeki monomer aktin oranında artma gözlenmiştir (şekil 3.1.8.2).

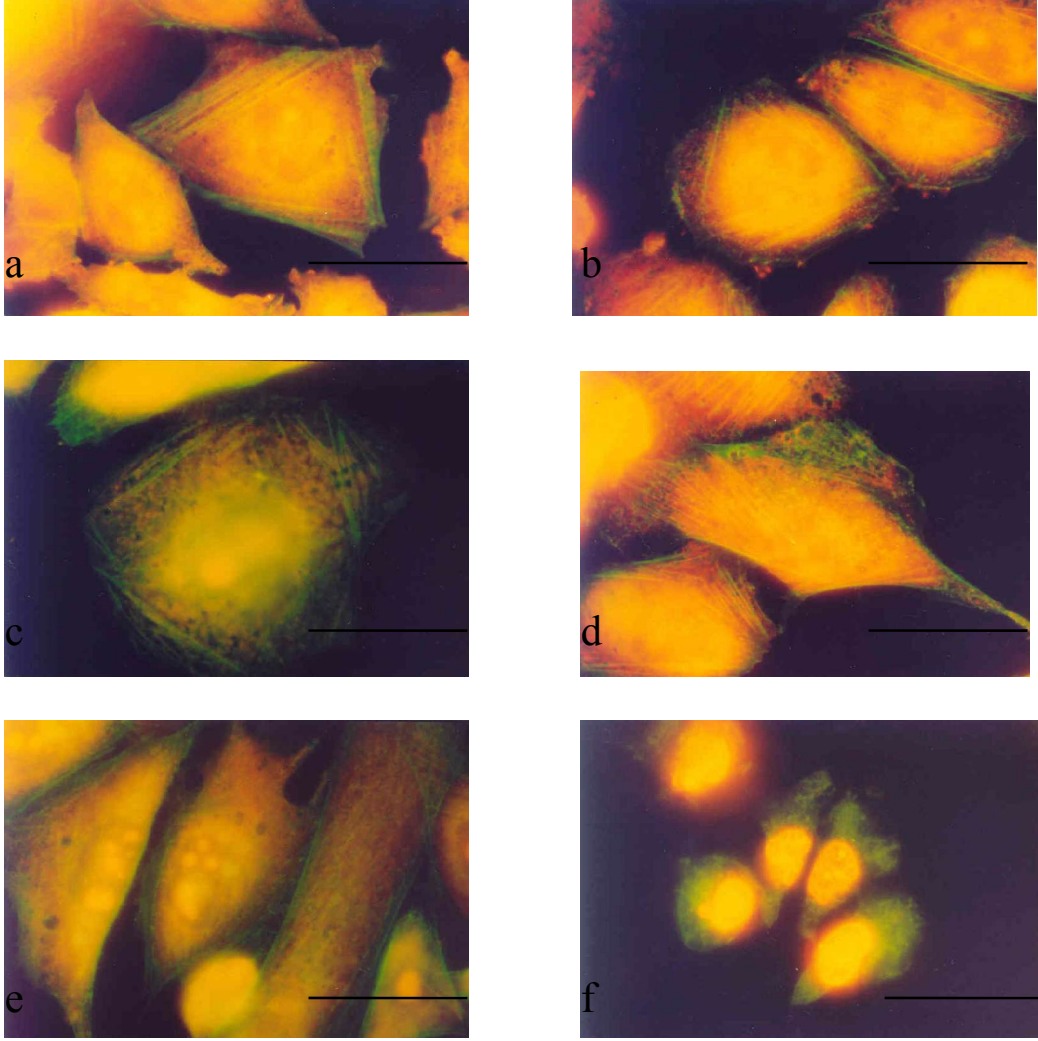
şekil 3.1.8.3'deki CHO hücrelerinde, negatif ve pozitif kontrol grubundaki hücrelerin aktin hücre iskeleti incelendiğinde, birbirine paralel ince stres fiberleri görölmektedir. *Pimpinella anisum* ile muamele edilen hücrelerde, doz arttıkça, hücrelerdeki aktin hücre iskeletinde bazı değişmeler gözlenmiştir. Bu değişimler, aktin hücre iskeletinin bozulduğu yönünde olmuştur (şekil 3.1.8.3).



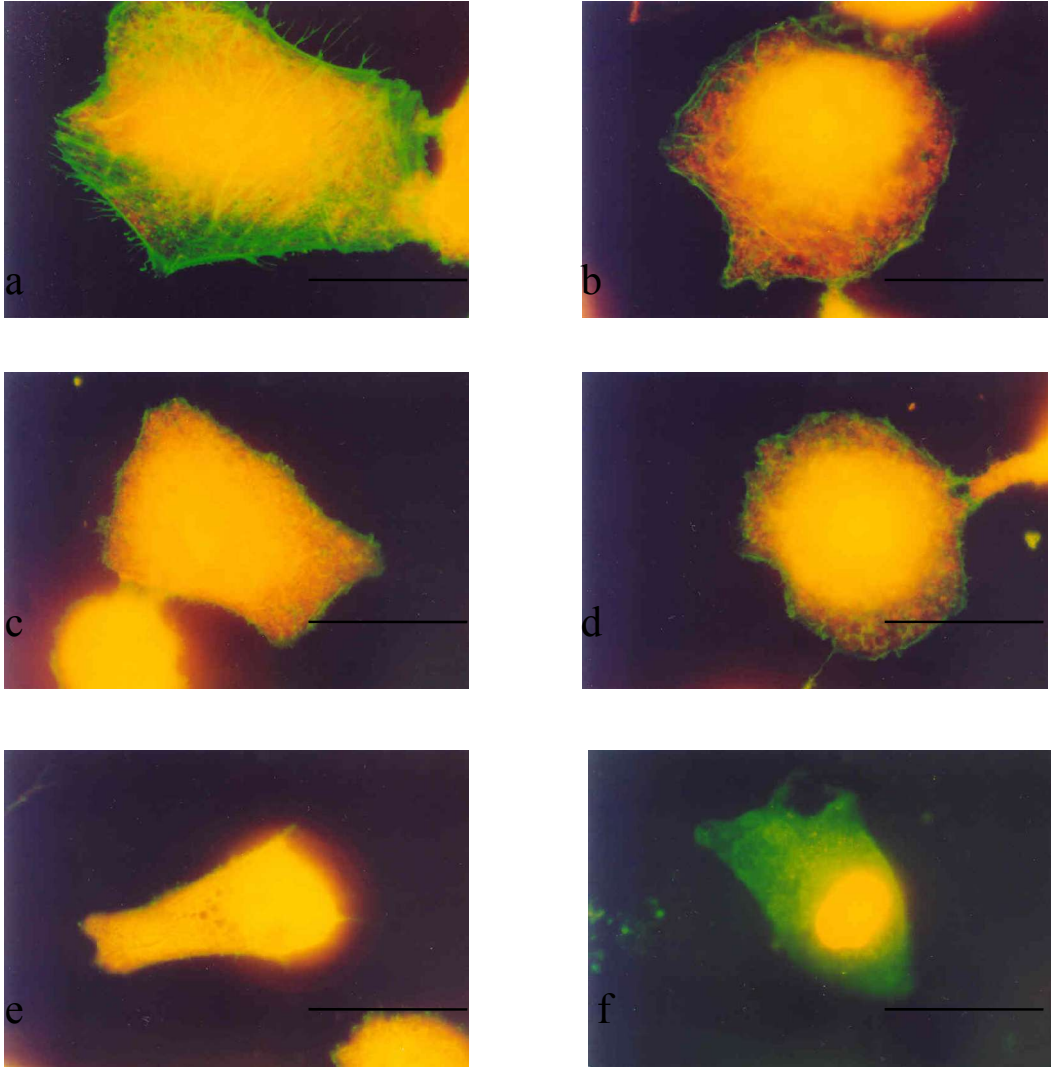
Şekil 3.1.1.1. Timol uygulanan A549 cell line hücrelerinin phalloidin (FITC)- propidium iodide boyama ile immünohistokimyasal görüntüleri. a) Negatif kontrol grubu. b) Pozitif kontrol grubu. c) 50 µM Timol uygulanan grup. d) 100 µM Timol uygulanan grup. e) 200µM Timol uygulanan grup. f) 400 µM Timol uygulanan grup. Ölçü birimi 125 µM



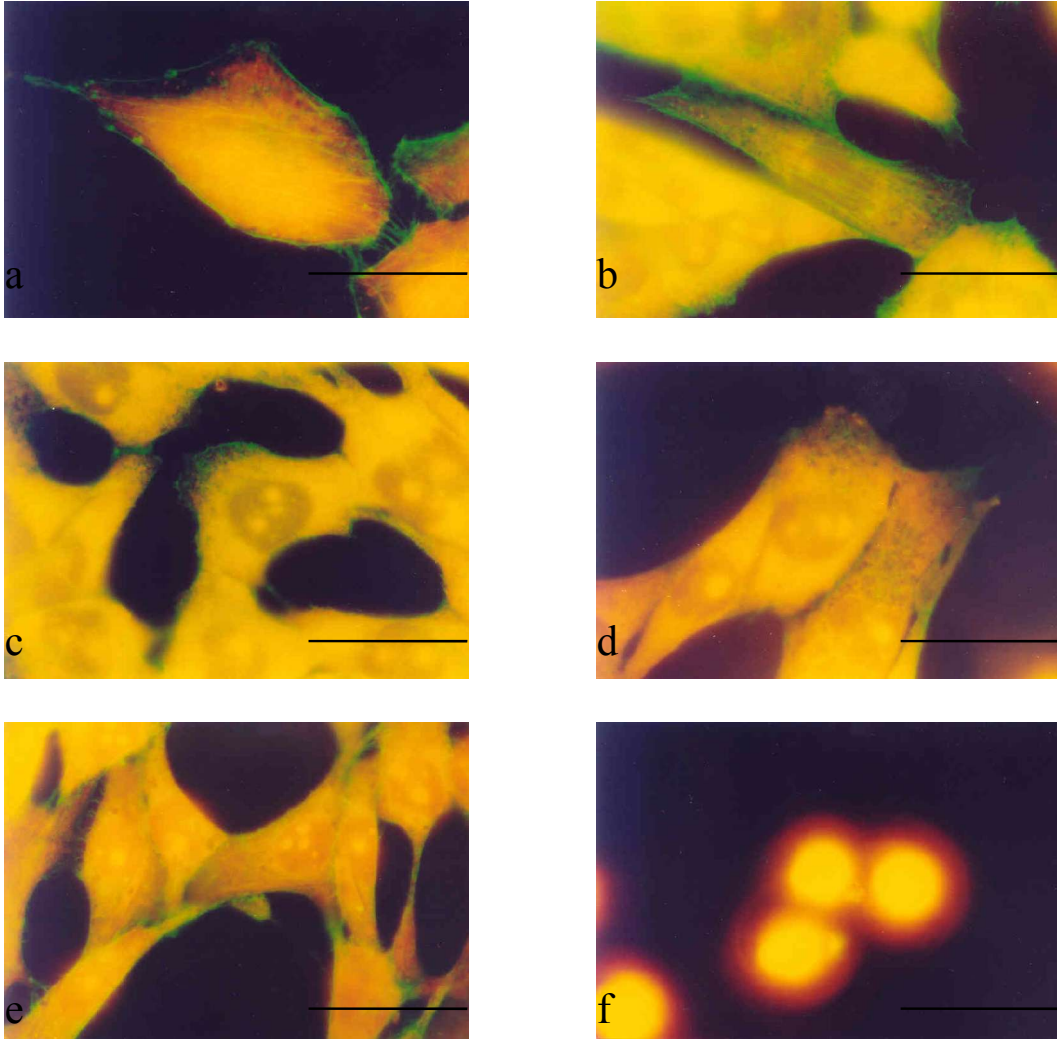
Şekil 3.1.1.2. Timol uygulanan V79 379A hücrelerinin phalloidin (FITC) - propidium iodide boyama ile immünohistokimyasal görüntüleri. a) Negatif kontrol grubu. b) Pozitif kontrol grubu. c) 50 μ M Timol uygulanan grup. d) 100 μ M Timol uygulanan grup. e) 200 μ M Timol uygulanan grup. f) 400 μ M Timol uygulanan grup. Ölçü birimi 125 μ M



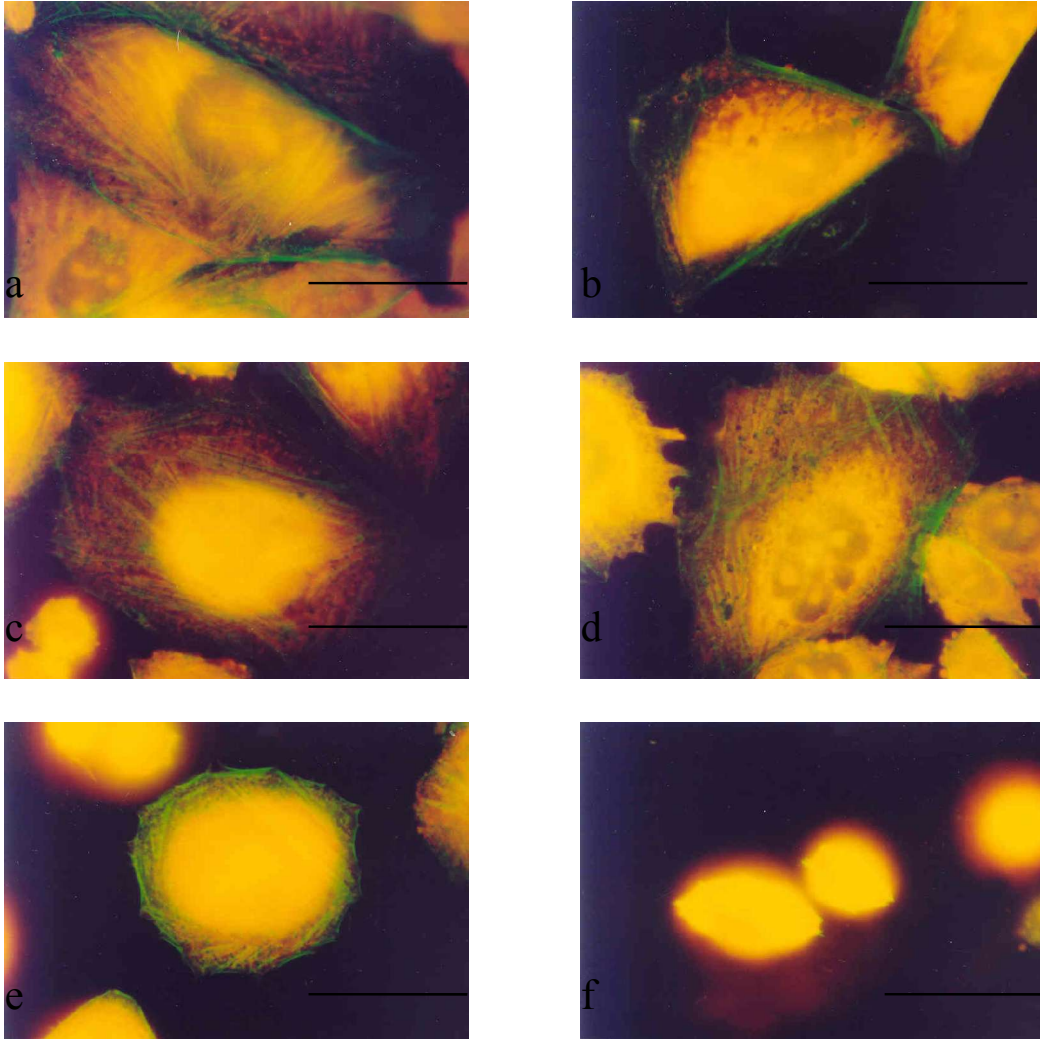
Şekil 3.1.1.3. Timol uygulanan CHO hücrelerinin phalloidin (FITC) - propidium iodide boyama ile immünohistokimyasal görüntüleri. a) Negatif kontrol grubu. b) Pozitif kontrol grubu. c) 50 µM Timol uygulanan grup. d) 100 µM Timol uygulanan grup. e) 200µM Timol uygulanan grup. f) 400 µM Timol uygulanan grup. Ölçü birimi 125 µM



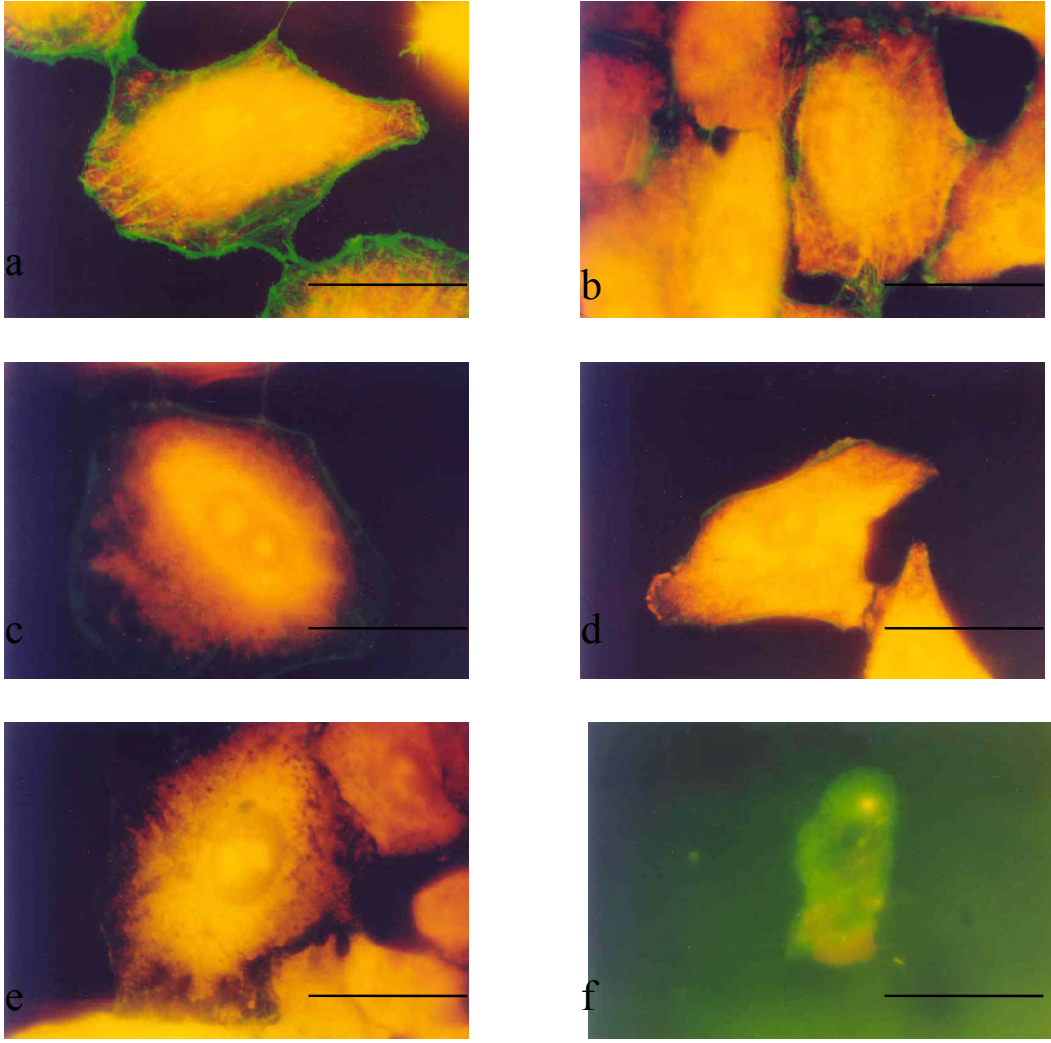
Şekil 3.1.2.1. Karvakrol uygulanan A549 cell line hücrelerinin phalloidin (FITC) - propidium iodide boyama ile immünohistokimyasal görüntüleri. a) Negatif kontrol grubu. b) Pozitif kontrol grubu. c) 100 µM Karvakrol uygulanan grup. d) 200 µM Karvakrol uygulanan grup. e) 400µM Karvakrol uygulanan grup. f) 800 µM Karvakrol uygulanan grup. Ölçü birimi 125 µM



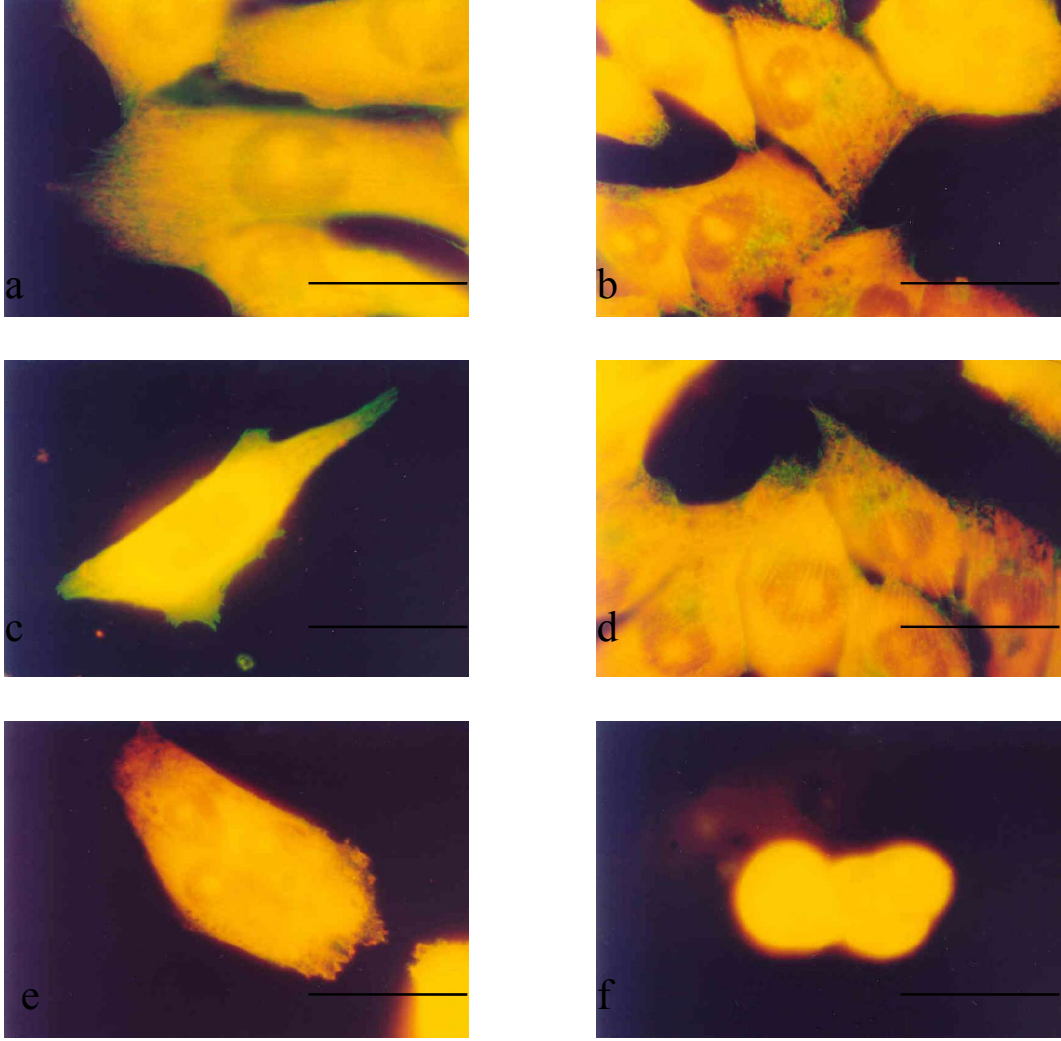
Şekil 3.1.2.2. Karvakrol uygulanan V79 379A hücrelerinin phalloidin (FITC) - propidium iodide boyama ile immünotokimyasal görüntüleri. a) Negatif kontrol grubu. b) Pozitif kontrol grubu. c) 100 µM Karvakrol uygulanan grup. d) 200 µM Karvakrol uygulanan grup. e) 400µM Karvakrol uygulanan grup. f) 800 µM Karvakrol uygulanan grup. Ölçü birimi 125 µM



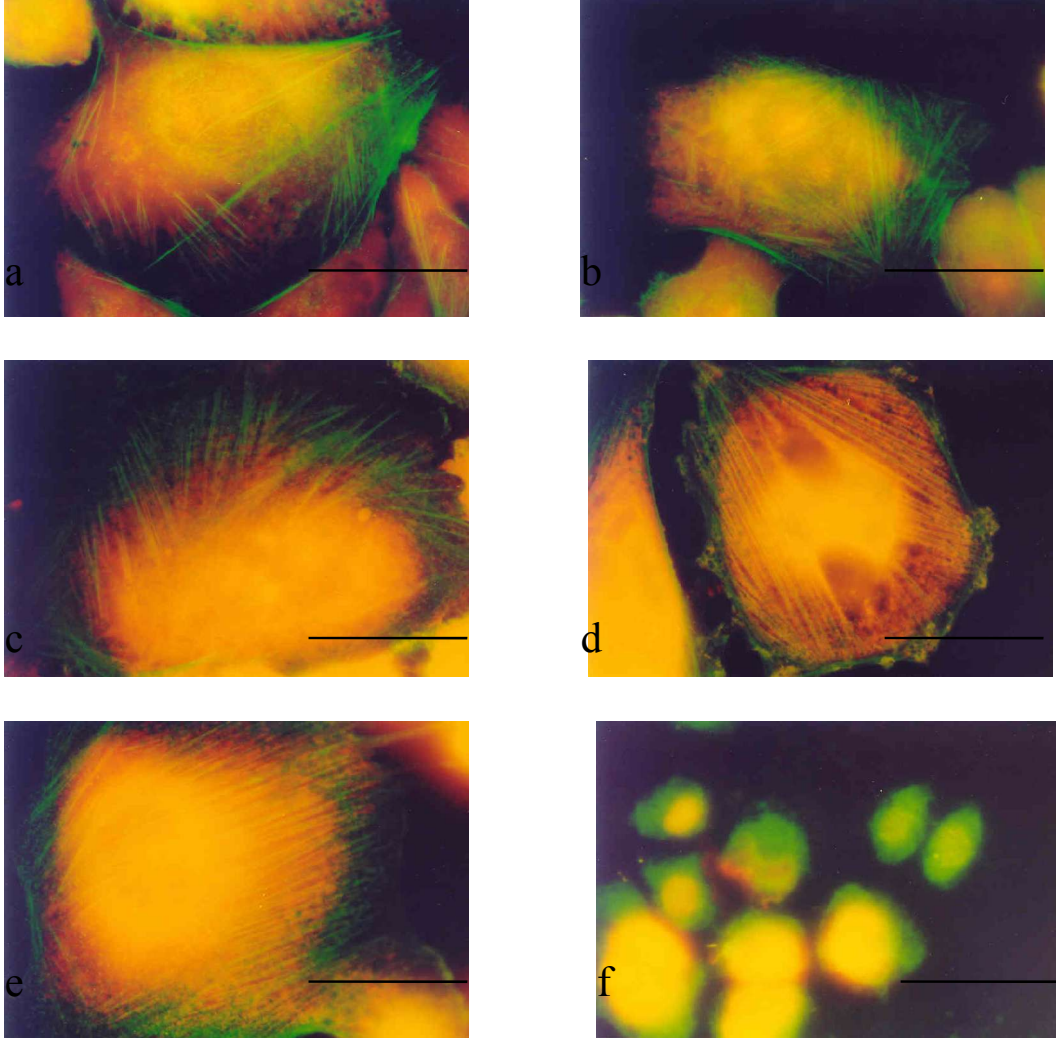
Şekil 3.1.2.3. Karvakrol uygulanan CHO hücrelerinin phalloidin (FITC) - propidium iodide boyama ile immünohistokimyasal görüntüleri. a) Negatif kontrol grubu. b) Pozitif kontrol grubu. c) 100 μ M Karvakrol uygulanan grup. d) 200 μ M Karvakrol uygulanan grup. e) 400 μ M Karvakrol uygulanan grup. f) 800 μ M Karvakrol uygulanan grup. Ölçü birimi 125 μ M



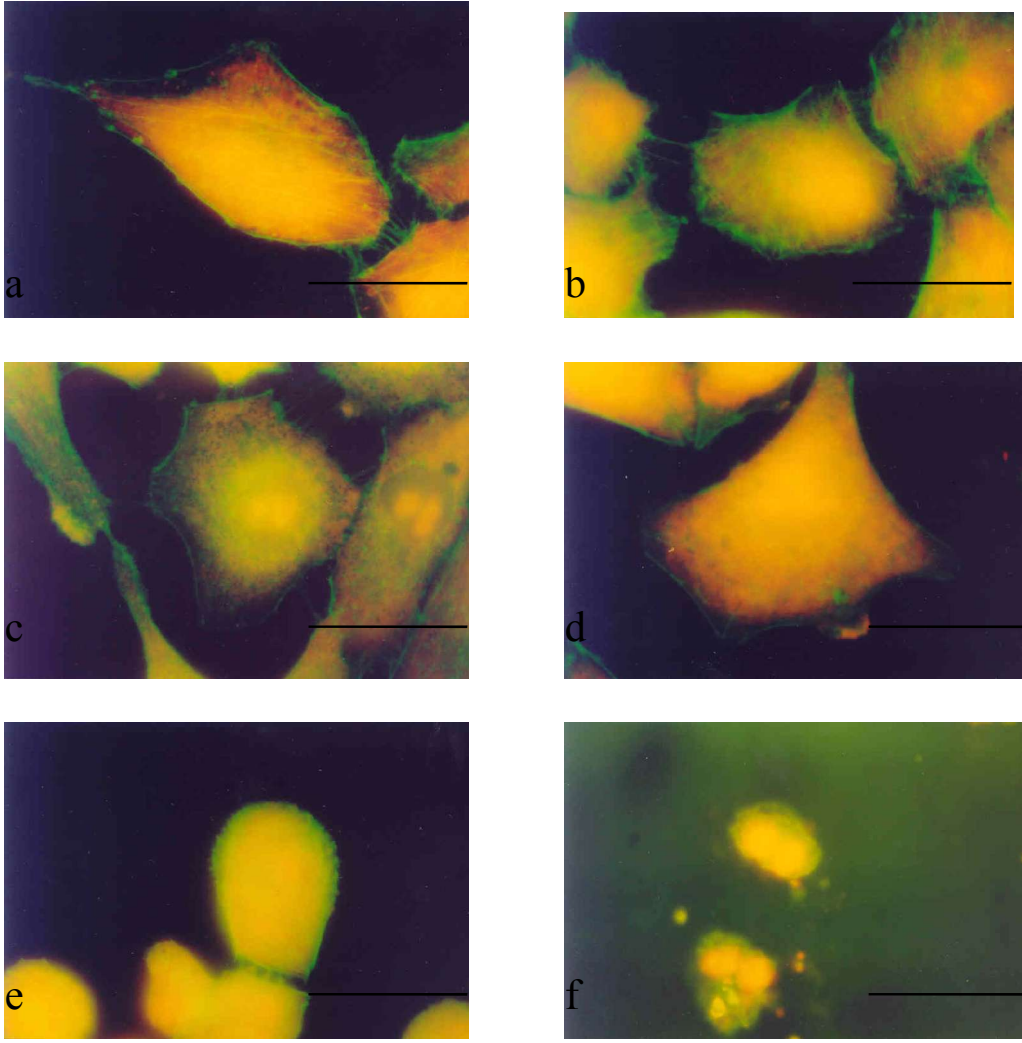
Şekil 3.1.3.1. L-mentol uygulanan A549 cell line hücrelerinin phalloidin (FITC) - propidium iodide boyama ile immünohistokimyasal görüntüleri. a) Negatif kontrol grubu. b) Pozitif kontrol grubu. c) 125 μM L-mentol uygulanan grup. d) 250 μM L-mentol uygulanan grup. e) 500 μM L-mentol uygulanan grup. f) 1000 μM L-mentol uygulanan grup. Ölçü birimi 125 μM



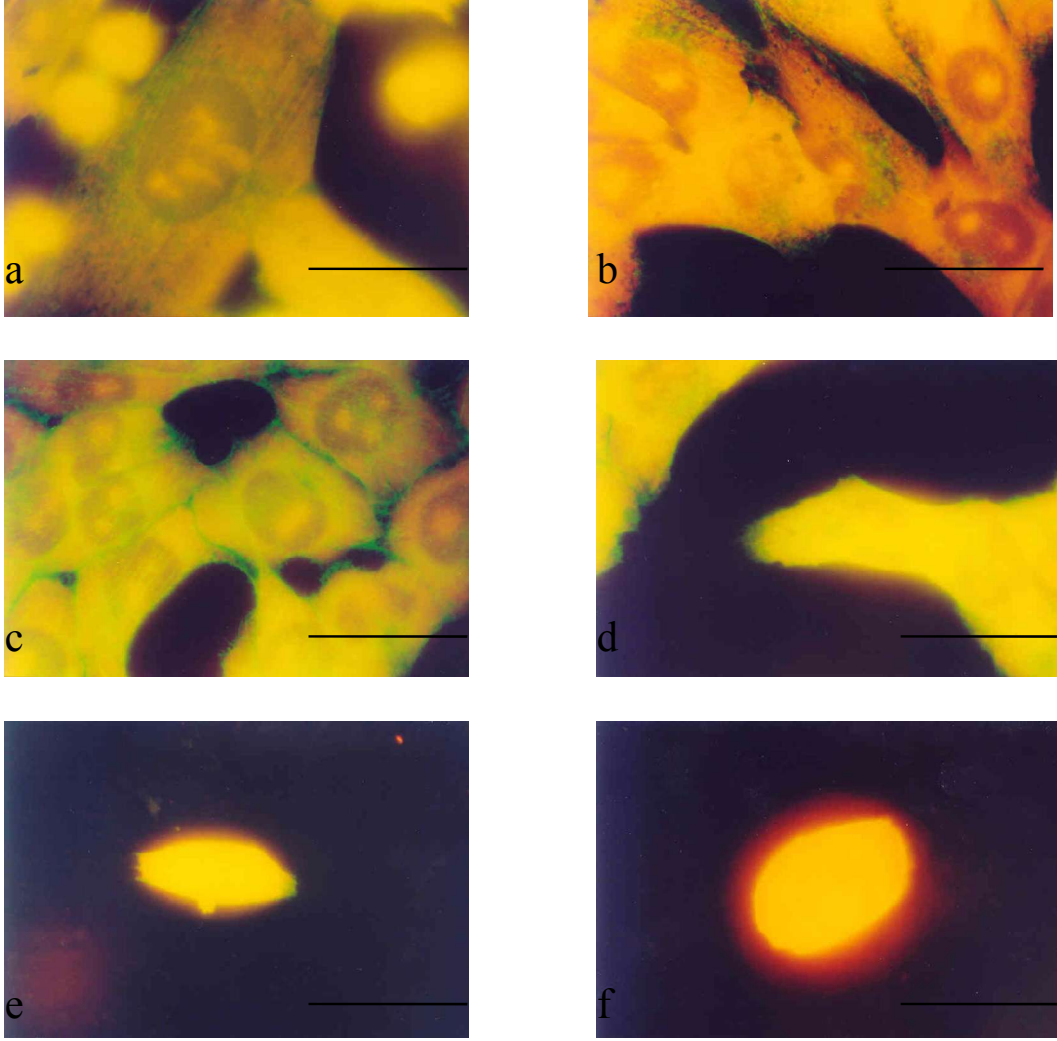
Şekil 3.1.3.2. L-mentol uygulanan V79 379A hücrelerinin phalloidin (FITC) - propidium iodide boyama ile immünohistokimyasal görüntüleri. a) Negatif kontrol grubu. b) Pozitif kontrol grubu. c) 125 µM L-mentol uygulanan grup. d) 250 µM L-mentol uygulanan grup. e) 500 µM L-mentol uygulanan grup. f) 1000 µM L-mentol uygulanan grup. Ölçü birimi 125 µm



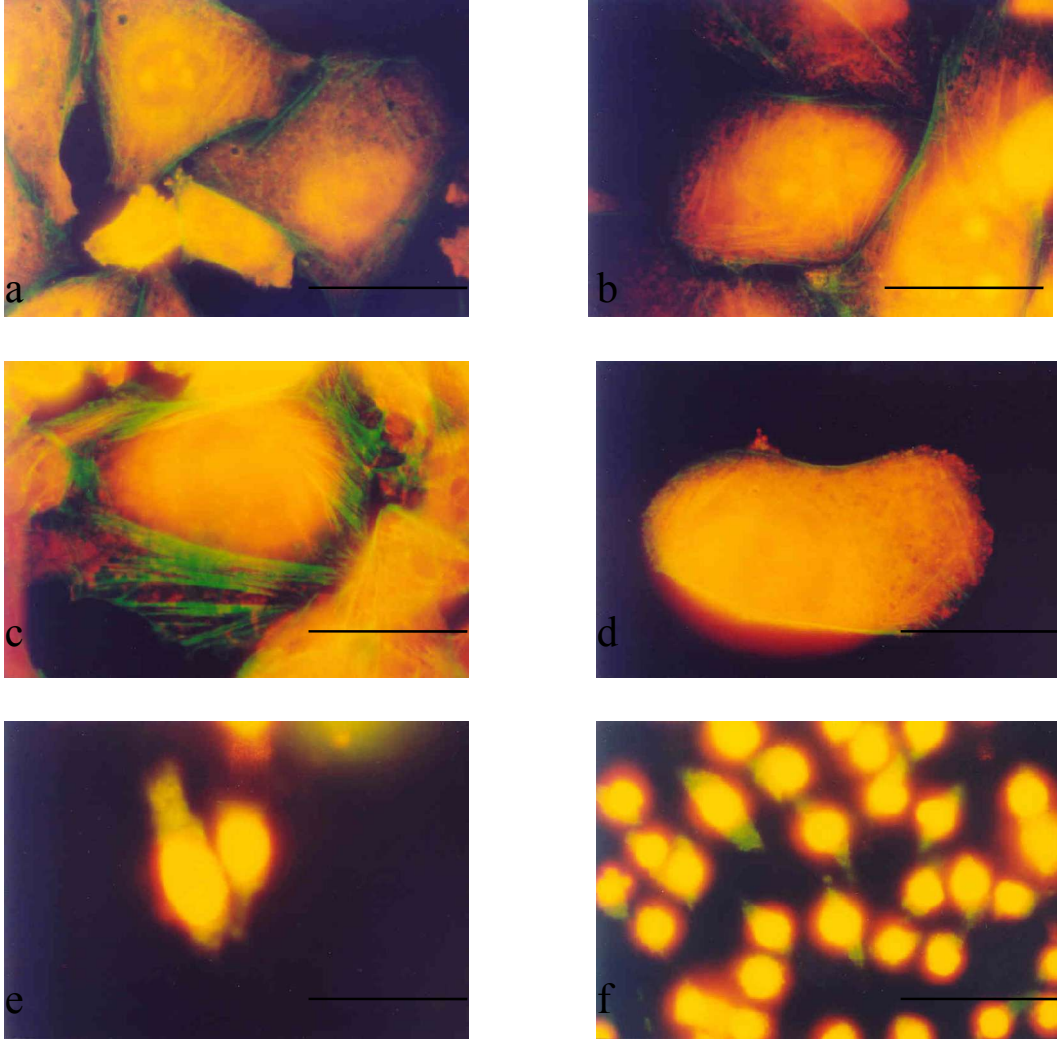
Şekil 3.1.3.3. L-mentol uygulanan CHO hücrelerinin phalloidin (FITC) - propidium iodide boyama ile immünohistokimyasal görüntüleri. a) Negatif kontrol grubu. b) Pozitif kontrol grubu. c) 125 μ M L-mentol uygulanan grup. d) 250 μ M L-mentol uygulanan grup. e) 500 μ M L-mentol uygulanan grup. f) 1000 μ M L-mentol uygulanan grup. Ölçü birimi 125 μ M



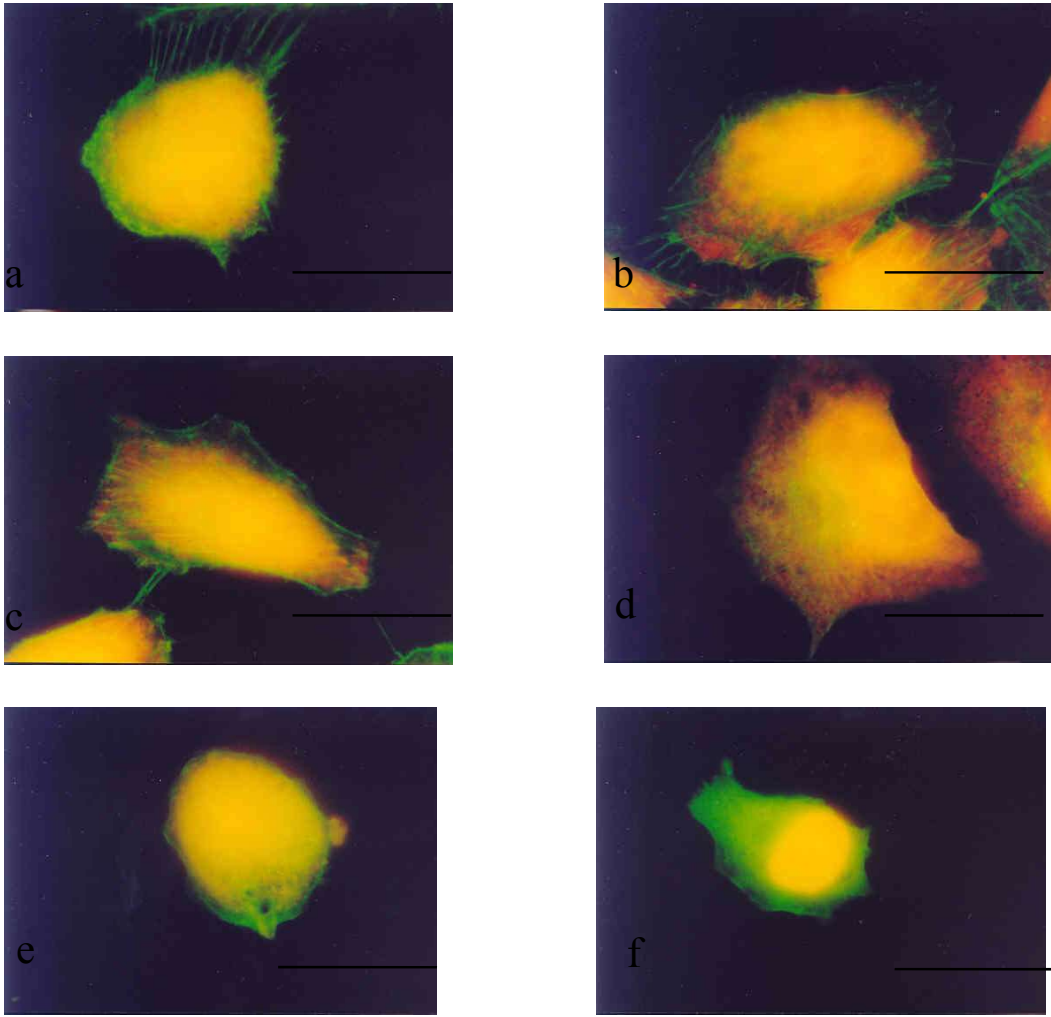
Şekil 3.1.4.1. 1,8 Sineol uygulanan A549 cell line hücrelerinin phalloidin (FITC) - propidium iodide boyama ile immünohistokimyasal görüntüleri. a) Negatif kontrol grubu. b) Pozitif kontrol grubu. c) 5000 μM 1,8 Sineol uygulanan grup. d) 10000 μM 1,8 Sineol uygulanan grup. e) 20000 μM 1,8 Sineol uygulanan grup. f) 30000 μM 1,8 Sineol uygulanan grup. Ölçü birimi 125 μM



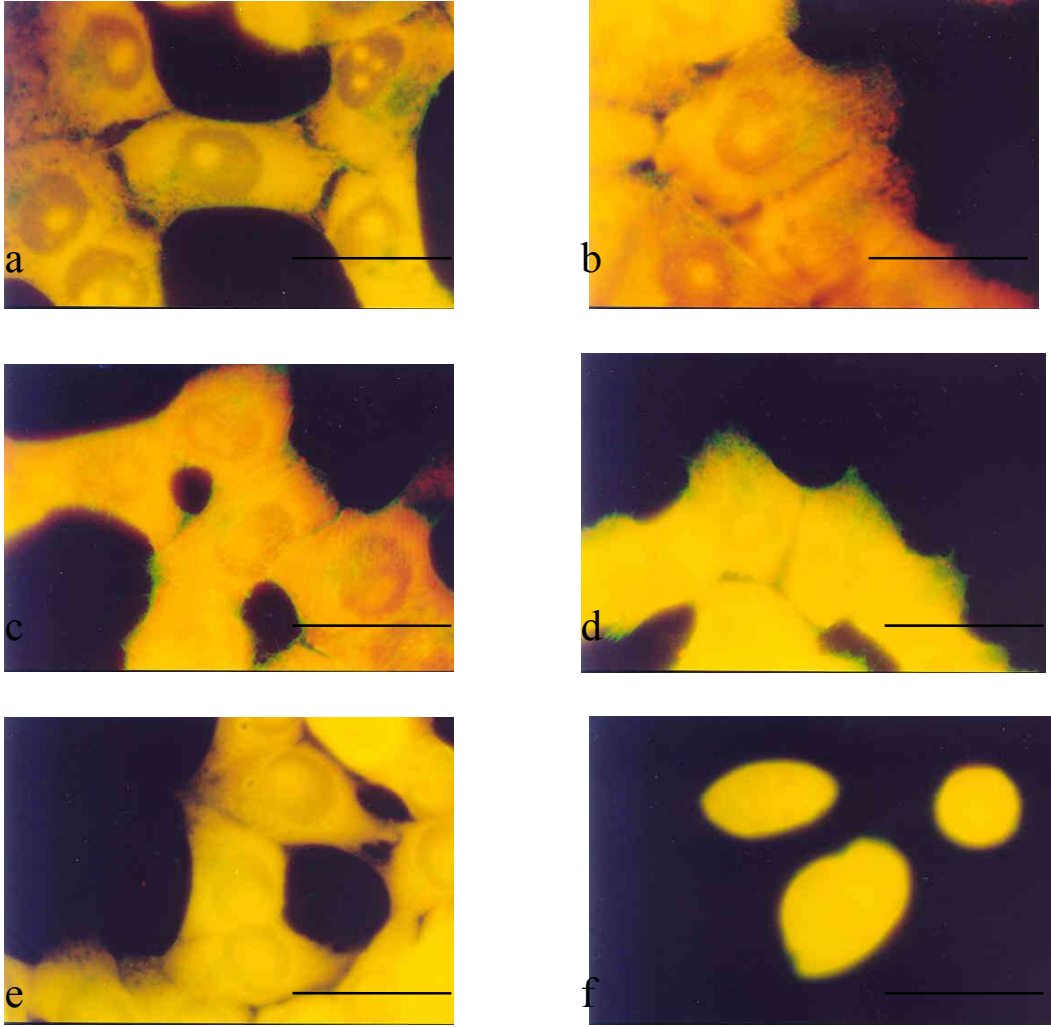
Şekil 3.1.4.2. 1,8 Sineol uygulanan V79 379A hücrelerinin phalloidin (FITC) - propidium iodide boyama ile immünohistokimyasal görüntüleri. a) Negatif kontrol grubu. b) Pozitif kontrol grubu. c) 5000 μM 1,8 Sineol uygulanan grup. d) 10000 μM 1,8 Sineol uygulanan grup. e) 20000 μM 1,8 Sineol uygulanan grup. f) 30000 μM 1,8 Sineol uygulanan grup. Ölçü birimi 125 μM



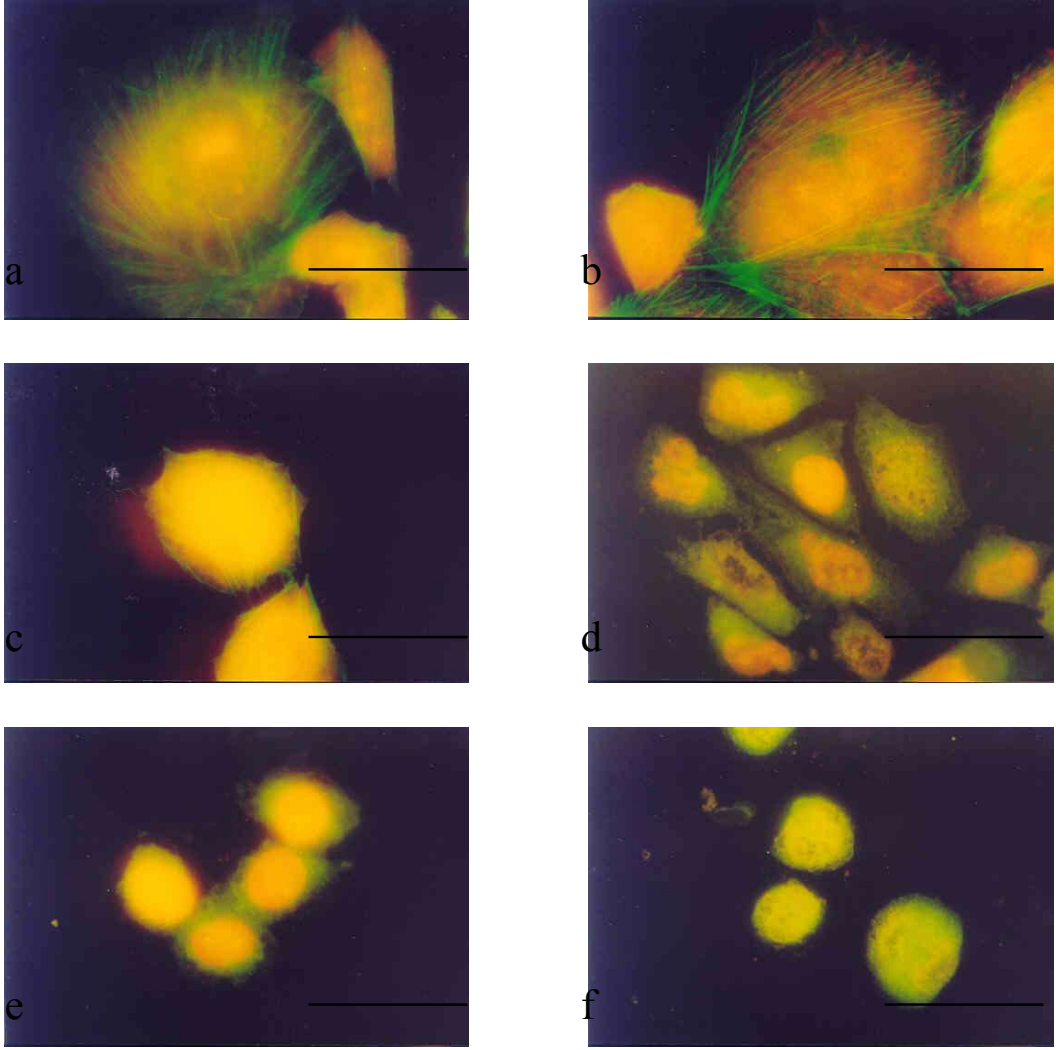
Şekil 3.1.4.3. 1,8 Sineol uygulanan CHO hücrelerinin phalloidin (FITC) - propidium iodide boyama ile immünohistokimyasal görüntüleri. a) Negatif kontrol grubu. b) Pozitif kontrol grubu. c) 5000 μM 1,8 Sineol uygulanan grup. d) 10000 μM 1,8 Sineol uygulanan grup. e) 20000 μM 1,8 Sineol uygulanan grup. f) 30000 μM 1,8 Sineol uygulanan grup. Ölçü birimi 125 μM



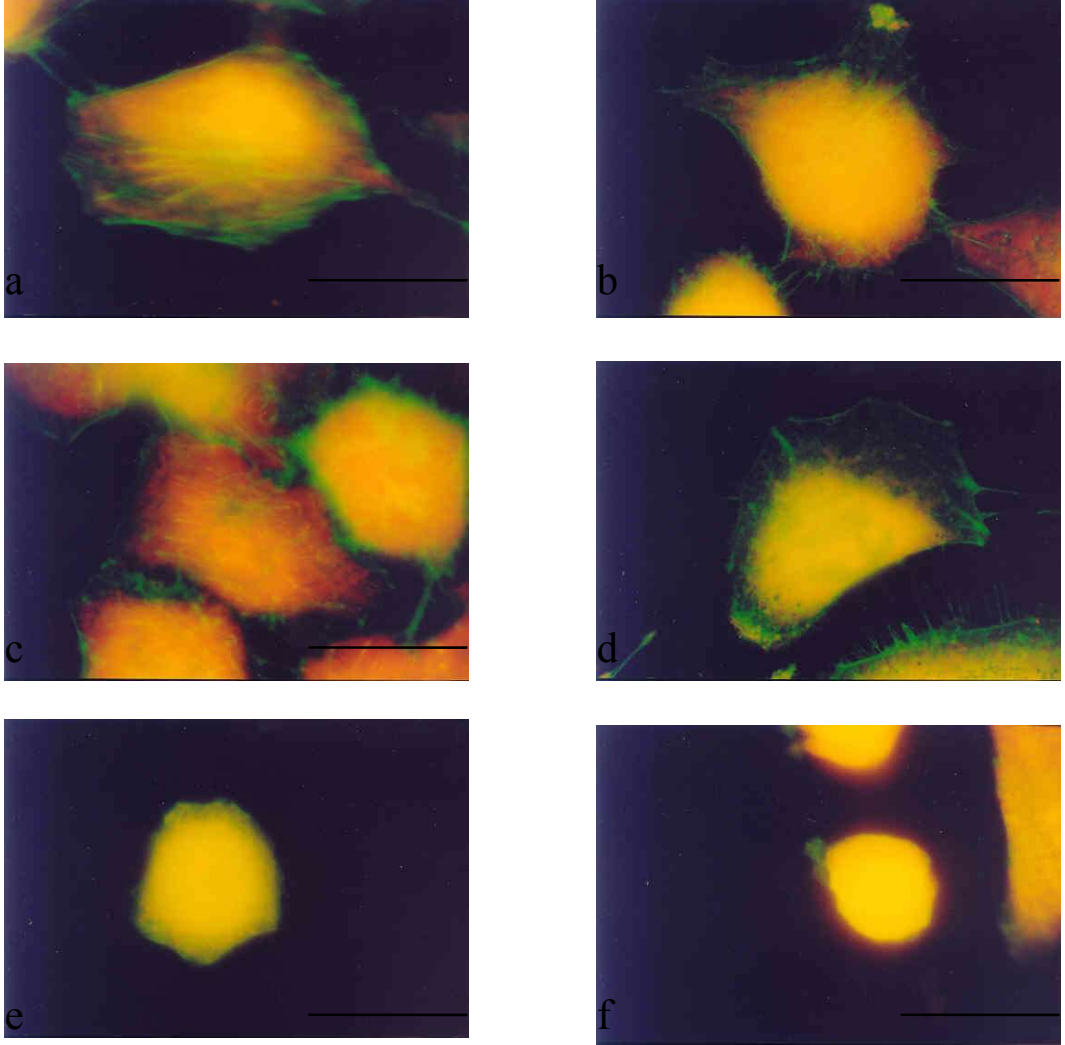
Şekil 3.1.5.1. *Salvia fruticosa* uygulanan A549 cell line hücrelerinin phalloidin (FITC) - propidium iodide boyama ile immünohistokimyasal görüntüleri. a) Negatif kontrol grubu. b) Pozitif kontrol grubu. c) 12,5 μM *Salvia fruticosa* (adaçayı) uygulanan grup. d) 25 μM *Salvia fruticosa* uygulanan grup. e) 50 μM *Salvia fruticosa* uygulanan grup. f) 100 μM *Salvia fruticosa* uygulanan grup. Ölçü birimi 125 μM



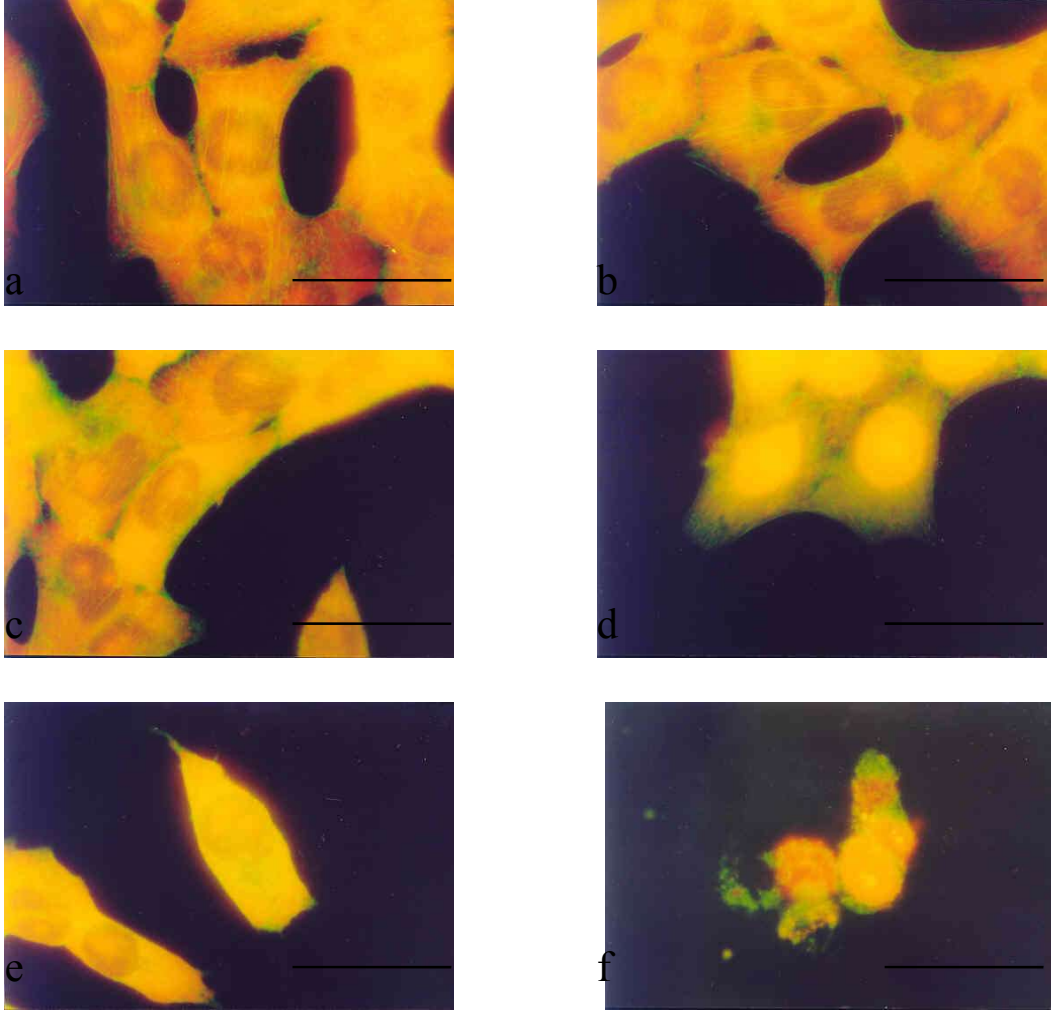
Şekil 3.1.5.2. *Salvia fruticosa* uygulanan V79 379A hücrelerinin phalloidin (FITC) - propidium iodide boyama ile immünohistokimyasal görüntüleri. a) Negatif kontrol grubu. b) Pozitif kontrol grubu. c) 12,5 μ M *Salvia fruticosa* (adaçayı) uygulanan grup. d) 25 μ M *Salvia fruticosa* uygulanan grup. e) 50 μ M *Salvia fruticosa* uygulanan grup. f) 100 μ M *Salvia fruticosa* uygulanan grup. Ölçü birimi 125 μ M



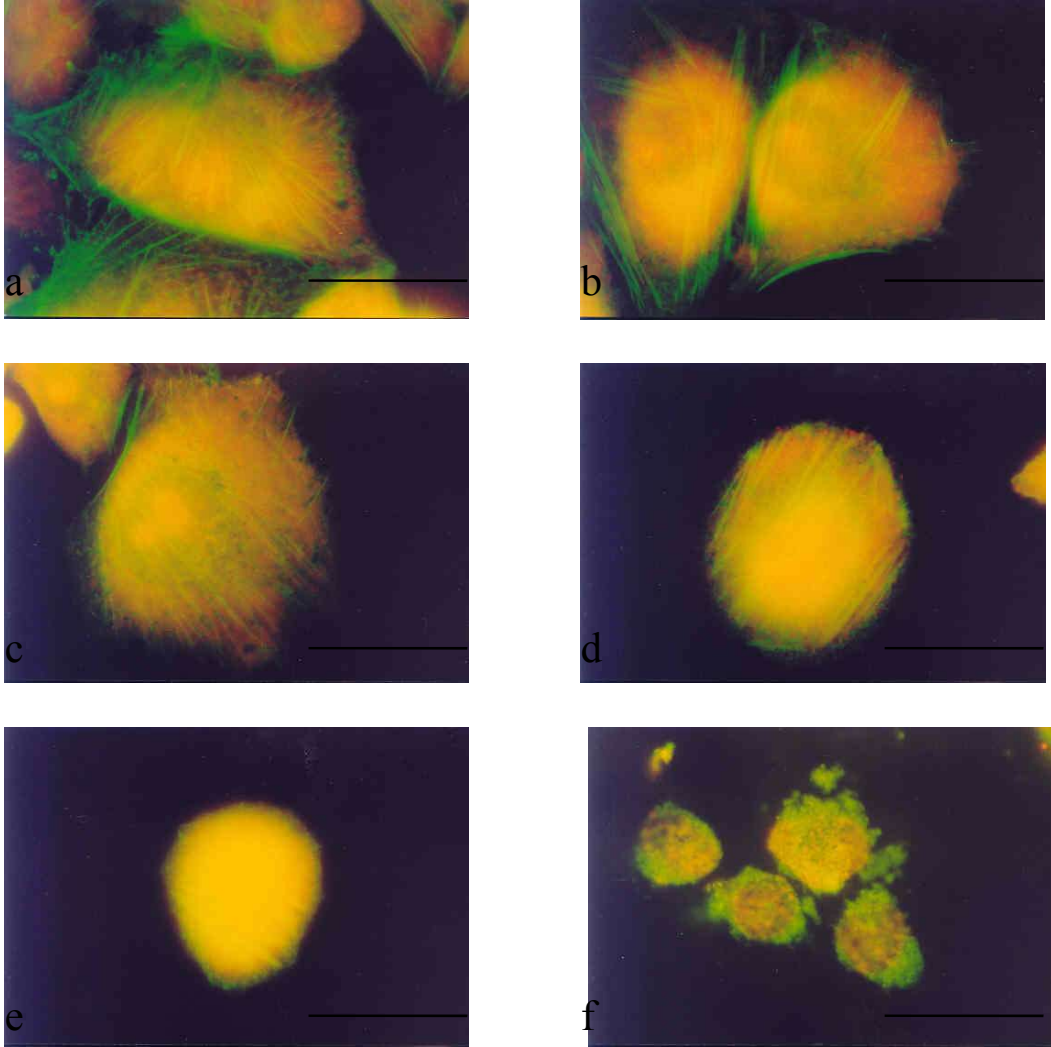
Şekil 3.1.5.3. *Salvia fruticosa* uygulanan CHO hücrelerinin phalloidin (FITC) - propidium iodide boyama ile immünohistokimyasal görüntüleri. a) Negatif kontrol grubu. b) Pozitif kontrol grubu. c) 12,5 µM *Salvia fruticosa* (adaçayı) uygulanan grup. d) 25 µM *Salvia fruticosa* uygulanan grup. e) 50 µM *Salvia fruticosa* uygulanan grup. f) 100 µM *Salvia fruticosa* uygulanan grup. Ölçü birimi 125 µM



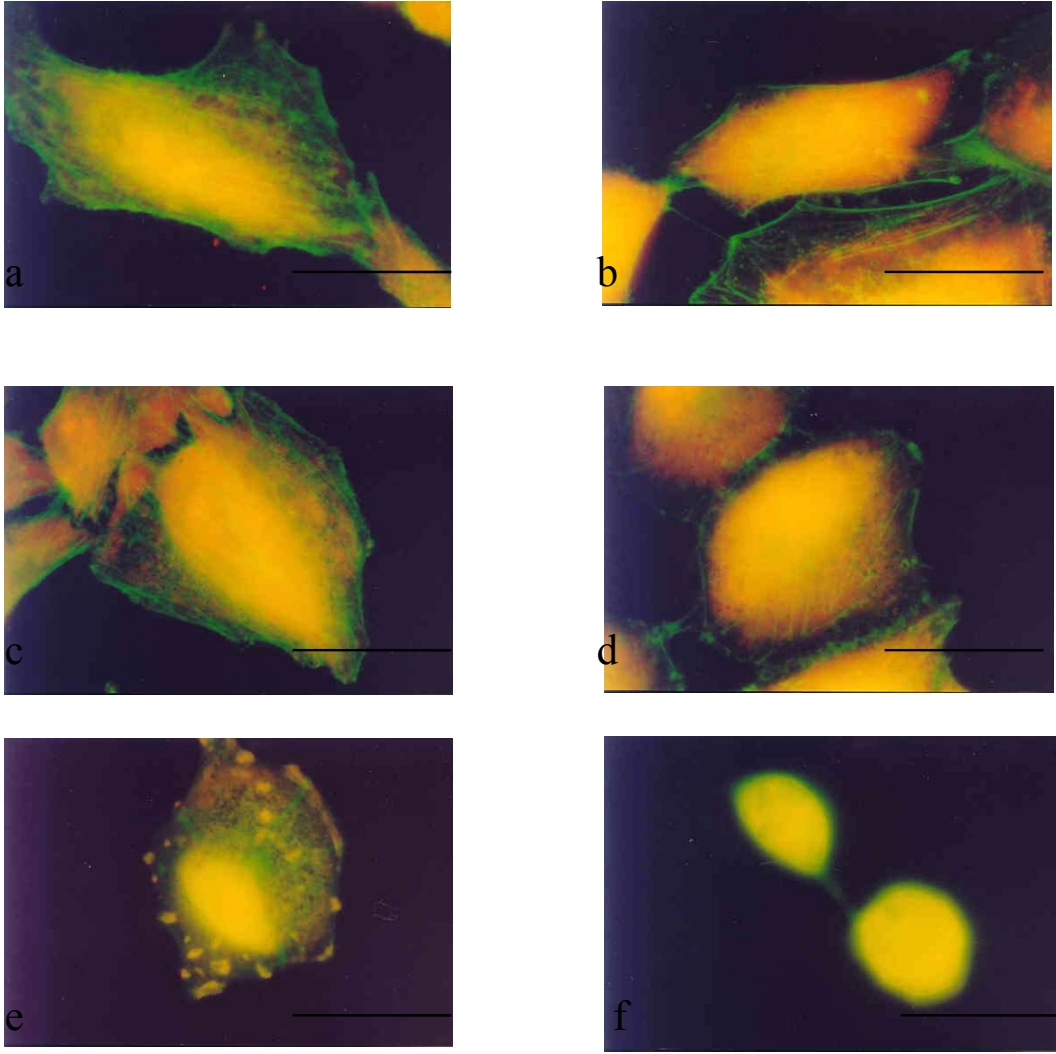
Şekil 3.1.6.1. *Laurus nobilis* uygulanan A549 cell line hücrelerinin phalloidin (FITC) - propidium iodide boyama ile immünohistokimyasal görüntüleri. a) Negatif kontrol grubu. b) Pozitif kontrol grubu. c) 12,5 μM *Laurus nobilis* (defne) uygulanan grup. d) 25 μM *Laurus nobilis* uygulanan grup. e) 50 μM *Laurus nobilis* uygulanan grup. f) 100 μM *Laurus nobilis* uygulanan grup. Ölçü birimi 125 μM



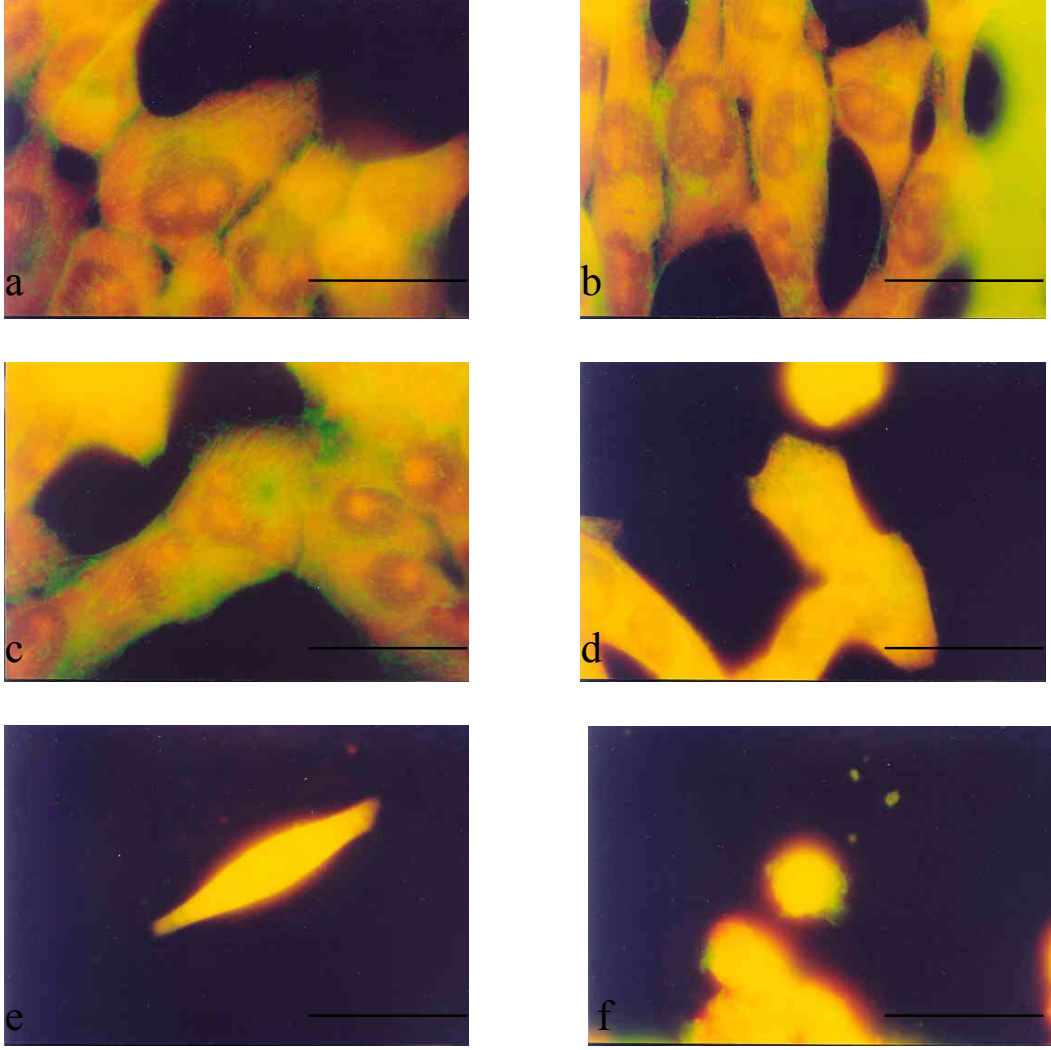
Şekil 3.1.6.2. *Laurus nobilis* uygulanan V79 379A hücrelerinin phalloidin (FITC) - propidium iodide boyama ile immünohistokimyasal görüntüleri. a) Negatif kontrol grubu. b) Pozitif kontrol grubu. c) 12,5 μM *Laurus nobilis* (defne) uygulanan grup. d) 25 μM *Laurus nobilis* uygulanan grup. e) 50 μM *Laurus nobilis* uygulanan grup. f) 100 μM *Laurus nobilis* uygulanan grup. Ölçü birimi 125 μM



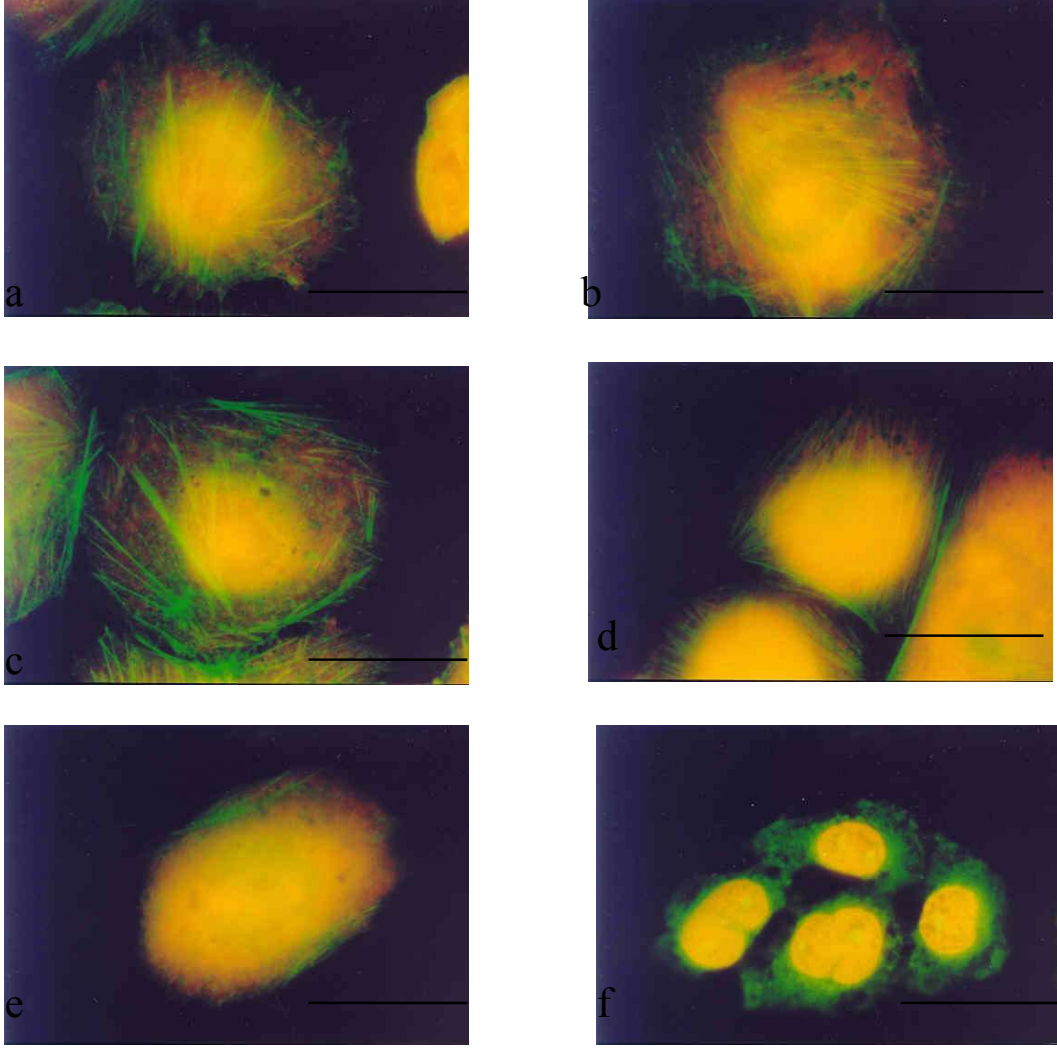
Şekil 3.1.6.3. *Laurus nobilis* uygulanan CHO hücrelerinin phalloidin (FITC) - propidium iodide boyama ile immünohistokimyasal görüntüleri. a) Negatif kontrol grubu. b) Pozitif kontrol grubu. c) 12,5 µM *Laurus nobilis* (defne) uygulanan grup. d) 25 µM *Laurus nobilis* uygulanan grup. e) 50 µM *Laurus nobilis* uygulanan grup. f) 100 µM *Laurus nobilis* uygulanan grup. Ölçü birimi 125 µM



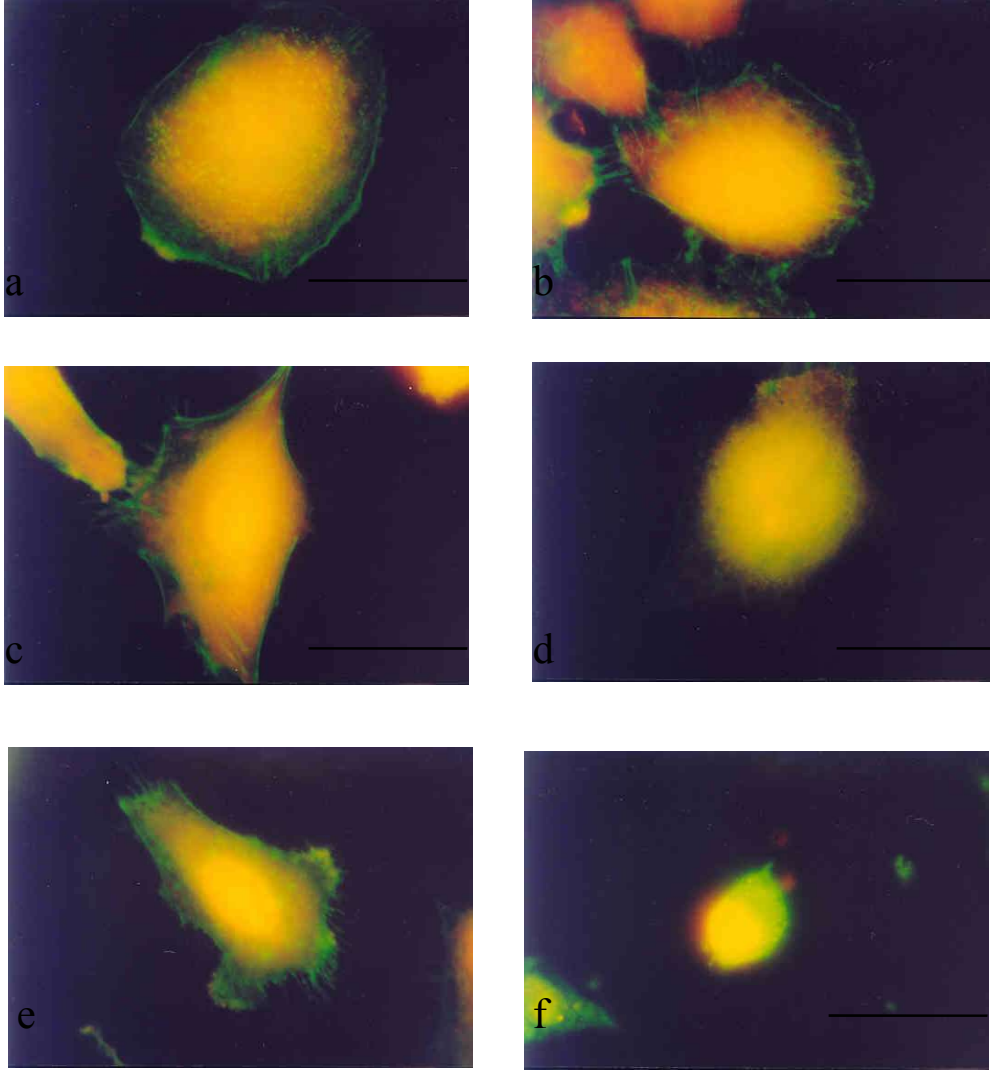
Şekil 3.1.7.1. *Origanum onites* uygulanan A549 cell line hücrelerinin phalloidin (FITC) - propidium iodide boyama ile immünohistokimyasal görüntüleri. a) Negatif kontrol grubu. b) Pozitif kontrol grubu. c) 12,5 μM *Origanum onites* (kekik) uygulanan grup. d) 25 μM *Origanum onites* uygulanan grup. e) 50 μM *Origanum onites* uygulanan grup. f) 100 μM *Origanum onites* uygulanan grup. Ölçü birimi 125 μM



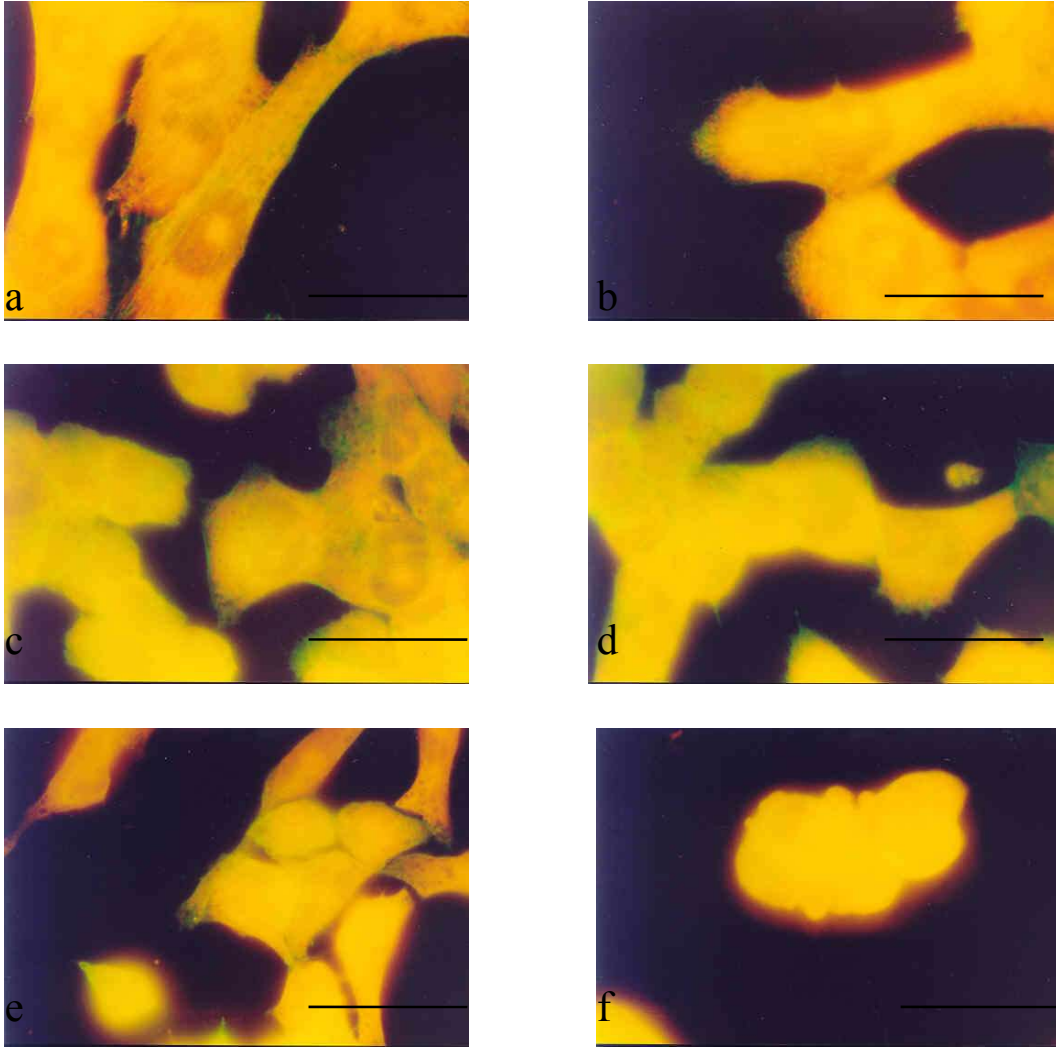
Şekil 3.1.7.2. *Origanum onites* uygulanan V79 379A hücrelerinin phalloidin (FITC) - propidium iodide boyama ile immünohistokimyasal görüntüleri. a) Negatif kontrol grubu. b) Pozitif kontrol grubu. c) 12,5 µM *Origanum onites* (kekik) uygulanan grup. d) 25 µM *Origanum onites* uygulanan grup. e) 50 µM *Origanum onites* uygulanan grup. f) 100 µM *Origanum onites* uygulanan grup. Ölçü birimi 125 µM



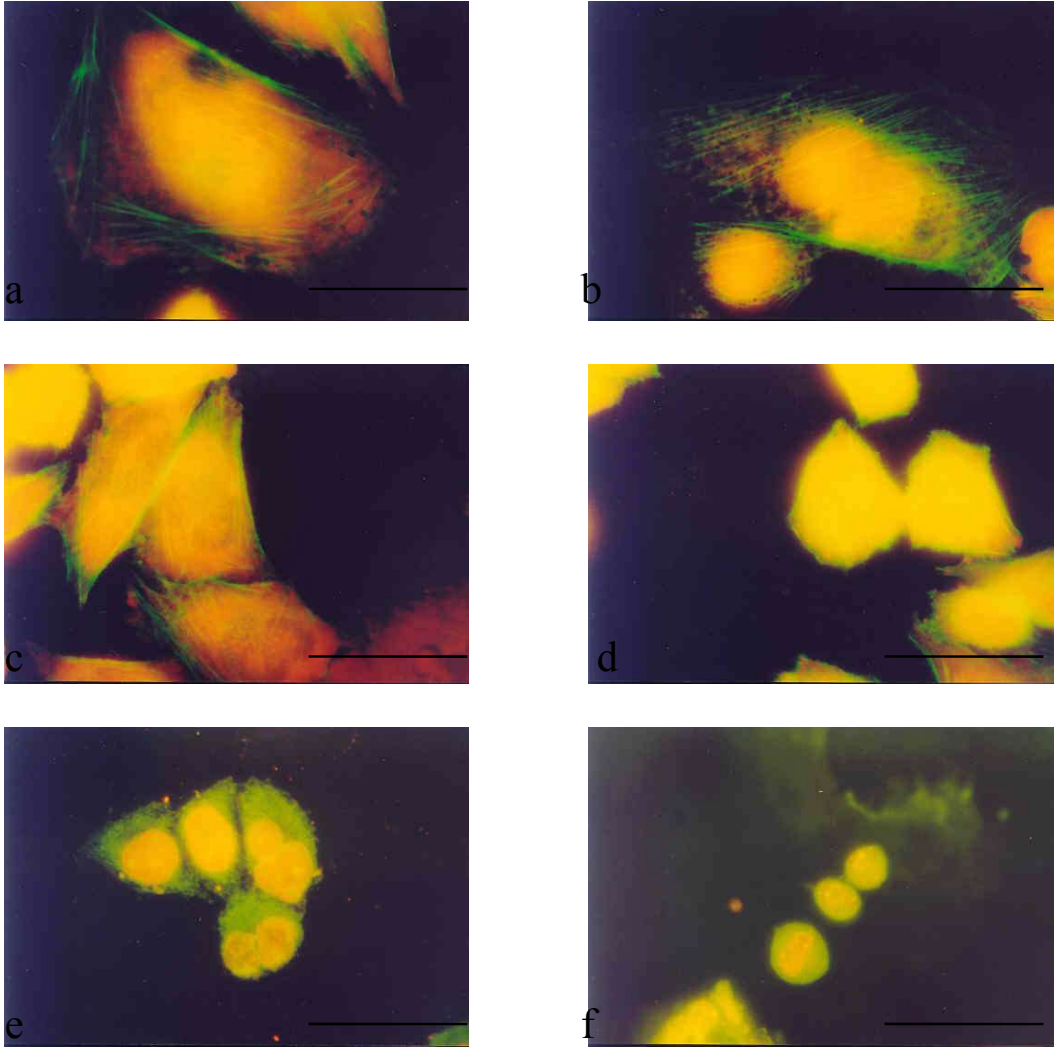
Şekil 3.1.7.3. *Origanum onites* uygulanan CHO hücrelerinin phalloidin (FITC) - propidium iodide boyama ile immünohistokimyasal görüntüleri. a) Negatif kontrol grubu. b) Pozitif kontrol grubu. c) 12,5 μ M *Origanum onites* (kekik) uygulanan grup. d) 25 μ M *Origanum onites* uygulanan grup. e) 50 μ M *Origanum onites* uygulanan grup. f) 100 μ M *Origanum onites* uygulanan grup. Ölçü birimi 125 μ M



Şekil 3.1.8.1. *Pimpinella anisum* uygulanan A549 cell line hücrelerinin phalloidin (FITC) - propidium iodide boyama ile immünohistokimyasal görüntüleri. a) Negatif kontrol grubu. b) Pozitif kontrol grubu. c) 12,5 µM *Pimpinella anisum* (anason) uygulanan grup. d) 25 µM *Pimpinella anisum* uygulanan grup. e) 50 µM *Pimpinella anisum* uygulanan grup. f) 100 µM *Pimpinella anisum* uygulanan grup. Ölçü birimi 125 µM



Şekil 3.1.8.2. *Pimpinella anisum* uygulanan V79 379A hücrelerinin phalloidin (FITC) - propidium iodide boyama ile immünohistokimyasal görüntüleri. a) Negatif kontrol grubu. b) Pozitif kontrol grubu. c) 12,5 μM *Pimpinella anisum* (anason) uygulanan grup. d) 25 μM *Pimpinella anisum* uygulanan grup. e) 50 μM *Pimpinella anisum* uygulanan grup. f) 100 μM *Pimpinella anisum* uygulanan grup. Ölçü birimi 125 μM



Şekil 3.1.8.3. *Pimpinella anisum* uygulanan CHO hücrelerinin phalloidin (FITC) - propidium iodide boyama ile immünohistokimyasal görüntüleri. a) Negatif kontrol grubu. b) Pozitif kontrol grubu. c) 12,5 μM *Pimpinella anisum* (anason) uygulanan grup. d) 25 μM *Pimpinella anisum* uygulanan grup. e) 50 μM *Pimpinella anisum* uygulanan grup. f) 100 μM *Pimpinella anisum* uygulanan grup. Ölçü birimi 125 μM

TARTIŞMA VE SONUÇ

Hücre kültürleri biyolojik ve diagnostik, hücre farklılaşma olaylarının incelenmesi, onkojen maddelerin analizi, gen bankası çalışmaları ve hücre hareketlerinin incelenmesinde büyük önem taşımaktadır (Zeytinoğlu ve ark. 1993).

Hücre iskeleti, dinamik ve duyarlı bir sistemdir. Madde ile indüklendikten sonra hücrede meydana gelen değişikliklerin incelenmesinde değerli bir morfolojik parametre olarak gösterilmektedir (Kohler ve ark. 1994).

Hücre iskeletinin yeniden düzenlenmesi esnasında ve hücrenin tamamında bazı kabarcıklar meydana gelmektedir. Hücre dışındaki bu kabarcıklanmaya mikrotübüllerin dağılışı (Uzdensky ve ark. 2004, Berg ve ark. 1990, Villanueva ve ark. 1996) ve aktin filamentlerinin yeniden düzenlenmesi eşlik etmektedir (Uzdensky ve ark. 2004, Huot ve ark. 1998).

Aktin polimerizasyonu hücre siklusunun G1 ve G2/M fazlarında olmaktadır (Lu ve ark. 2004, Rao ve ark. 1990). Aktin polimerizasyonunda F/G aktin oranları (F-aktindeki artış veya G-aktindeki azalış) hücrenel farklılaşmaya işaretir (Lu ve ark. 2004, Han ve ark. 2002).

Aktin 42-kDa ağırlığında bir proteindir, polimerize olarak aktin filamentlerini meydana getirmektedir. Aktin hücre iskeleti, hücrenel bütünlüğü ve hücre şeklinin sağlanmasında çok önemlidir (Banan ve ark. 2000).

Birçok antikanser ilacın etkisi hücre morfolojisi ve hücre iskeleti üzerinde araştırma yapılarak incelenmektedir (Vilpo ve ark. 2000, Bursch ve ark. 2000).

Patolojik durumlarda, doğru olmayan hücre göçleri, tümör akınına ve metastaza neden olmakta, bu olay da kansere yol açmaktadır. Bütün bu oluşumlarla birlikte; primer tümörler, hücrelerden ayrılarak, dokuları geçmekte ve kan yoluyla yeni organları istila etmektedir. Metastazın meydana gelmesinde aktin sistem önemli bir yer tutmaktadır. Bu da kanserin ne kadar kompleks bir hastalık olduğunu göstermektedir (Lambrechts ve ark. 2004).

Son yıllarda doğal ürünlerin güvenliği ve toksisitesi üzerine birçok çalışma yapılmaktadır.

Monoterpenler; meyveleri, sebzeleri, baharatları ve otları içeren birçok bitkiden ekstrakte edilen esansiyel yağlarda bulunan bileşiklerdir.

Monoterpenler, izopren hidrokarbürü (2-metil-1,3-butadin) esas almaktadırlar ve orijinlerinde iki veya daha fazla izopren molekülleri bulunmaktadır. Aynı zamanda esansiyel yağların komponentleri olan monoterpenler, güzel kokulu kozmetiklerde, gıda renklendiricilerinde, ev ürünlerinin kokularında, bazı eski ilaçların aktif bileşiklerinde, parfüm kimyasallarının sentezinde aracı madde olarak kullanılmaktadır. İzole edilen monoterpenlerin farmasotik ve farmakolojik alanlardaki kullanımına ilgi son yıllarda giderek artmaktadır (Sanchez ve ark. 2004, Gomes-Carneiro ve ark. 1998).

Esansiyel yağların bileşikleri, sitoplazmik membranda gömülü bulunan hücre proteinleri üzerinde etkili görülmektedir.

Esansiyel yağlar ve monoterpenler lipofilik bileşiklerdir, kolaylıkla hücre membranlarından geçerler ve bu nedenle deri ve akciğer tarafından absorbe edilmektedirler (Mühlbauer ve ark. 2003).

Oregano ve *thyme* bitkisinin önemli bir komponenti olan karvakrol, araştırmalarda büyük önem taşımaktadır. Yapısal olarak karvakrole çok benzeyen timol, taşıdığı hidroksil gruptaki fenol halkasının konumu nedeniyle karvakrolden ayrılmaktadır. Bütün bu özellikler, maddelerin hücre zarından geçmesini sağlamaktadır (Burt 2004, Lambert ve ark. 2001).

He ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada karvakrolün, B16 melanoma hücrelerinin sayısında bir azalmaya neden olduğu bildirilmiştir (He ve ark. 1997).

Esansiyel yağlardan *Salvia fruticosa* (adaçayı) kemik absosiyonunu engellemektedir (Mühlbauer 2003).

A549 hücreleri normal tek tabakalı bir kültürde epitel kökenli olması ile benzeşen poligonal bir şekle ve yaprak benzeri bir modele sahiptir (Umino ve ark. 2000). Phalloidin ile boyanan A549 hücrelerinde bu özellik gözlenmiştir.

Aktin dinamiklerinin çalışılması için farklı floresan teknikler geliştirilmiştir. *In vitro* ve *in vivo* ortamlarda aktin iskeletinde meydana gelen değişikliklerin canlı izlenmesi için floresan spektrofotometresi ve mikroskopisi kullanılmaktadır. Bu işlem, aktin moleküllerine kovalent olarak bağlanan prenil ve rhodamine gibi floresan gruplar ile ya da yeşil floresan proteini ile aktin filamentinin birleşmesi ile yapılmaktadır. Bu peptidler filament aktine bağlanırlar,

G-aktine bağlanmazlar. Bu türevler, F-aktinin teşhisinde kullanılmaktadırlar (Katanaev ve Wymann 1998).

Phalloidin, *Amonita phalloides* isimli zehirli bir mantar türünden elde edilen önemli bir komponenttir (Lengsfeld ve ark. 1974). Hücre iskeletindeki zararları görebilmek amacıyla FITC (floresan izosiyonat)- Phalloidin boyaması yapılarak F-aktin iskeletine bakılmaktadır (Gunaratnam ve Grant 2004, Wulf ve ark. 1979).

Yaptığımız deneylerde A549, V79 379A ve CHO hücreleri kullanılmış ve bu hücrelere monoterpenlerden ve esansiyel yağlardan timol, karvakrol, L-mentol, sineol, *Salvia fruticosa*, *Laurus nobilis*, *Origanum onites*, *Pimpinella anisum* gibi test maddeleri değişik dozlarda uygulanmıştır. Bütün eklenen test maddelerinin uygulandığı hücreler phalloidin (FITC)- propidium iodide ile boyanarak, hücrelerin aktin iskeleti incelenmiş ve dozlar arttıkça aktin filamentlerinde bozulmalar olduğu görülmüştür.

KAYNAKLAR

ABERCROMBIE, M., *The Crawling Movement of Metazoan Cell*, Proc. R. Soc. Lond., **207**, 129 (1980).

AESCHBACH, R., LOLIGER, J., SCOTT, B.C., MURCIA, A., BUTLER, J., HALLIWELL, B. ve ARUORNA, O.I., *Antioxidant Actions of Thymol, Carvacrol, 6-Gingerol, Zingerone and Hydroxytyrosol*, Food Chem. Toxicol, **32**, 31-36 (1994).

AKGUL, A. ve KIVANÇ, M., *Inhibitory Effects of Selected Turkish Spices and Oregano Components on Some Foodborne Fungi*, International Journal of Food Microbiology, **6**, 263-268 (1988).

AKGUL, A., KIVANÇ, M. ve SERT, S., *Effect of Carvacrol on Growth and Toxin Production by Aspergillus flavus and Aspergillus parasiticus*, Sciences des Aliments, **11**, 361-370 (1991).

ALBERTS, B., BRAY, D., LEWIS, J., RAF, M., ROBERT, K. ve WATSON, J.D., *Molecular Biology of the Cell*, 3 rd Ed., New York (1994).

ASCH, H.L., HEAD, K., DONG, Y., NATOLI, F., WINSTON, J.S., CONNOLY, J.L. ve ASCH, B.B., *Widespread Loss of Gelsolin in Breast Cancers of Humans, Mice and Rats*, Cancer Res., **56**, 4841-4845 (1996).

ASSOIAN, R.K. ve ZHU, X., *Cell Anchorage and The Cytoskeleton as Partners in Growth Factor Dependent Cell Cycle Progression*, Curr. Opin. Cell Biol., **9**, 93-98 (1997).

ATENCIA, R. ve ASUMENDI, A., *Role of Cytoskeleton in Apoptosis*, Vitam. Horm., **58**, 267-297 (2000)

ATTC (1991).

AYDIN, S., BASARAN, A.A. ve BASARAN, N., *The Effects of Thyme Volatiles on the Induction of DNA Damage by the Heterocyclic Amine IQ and Mitomycin C*, Mutation Research, **581**, 43-53 (2005).

AZZOUZ, M.A. ve BULLERMAN, L.B., *Comparative Antimycotic Effects of Selected Herbs, Spices, Plant Components and Commercial Antifungal Agents*, Journal of Food Protection, **45**, 1298-1301 (1982).

BAHCECI, Z., *Moleküler Biyoloji*, Öğrenci Kitabevi Yayınları, Kırşehir (1999).

BALAZ, M. ve MANSSON , A., *Detection of Small Differences in Actinomysin Function Using Action Labeled with Different Phalloidin Conjugates*, Analytical Biochemistry, **463**, 103-118 (2005).

BALAZS, V., DENES, L., GABOR, H., BELA, S. ve MIKLOS, N., *The Effect of Phalloidin and Jasplakinolide on the Flexibility and Thermal Stability of Actin Filaments*, FEBS Letters, **565**, 163-166 (2004).

BALKWIL, F. ve RALIP, M., *Biz Hücreyiz*, Tubitak (2001).

BANAN, A., SMITH, G.S., KOKOSKA, E.R. ve MILLER, T.A., *Role of Actin Cytoskeleton in Prostaglandin-Induced Protection in an Intestinal Epithelial Cell Line*, Journal of Surgical Research, **88**, 104-113 (2000).

BASER, K.H.C., *Essential Oils of Anatolian Labiatae: A Profile*, Acta Hort., **333**, 217-238 (1993).

BASER, K.H.C., *Essential Oils of Labiatae from Turkey: Recent Results*, Lamiales Newslett., **3**, 6-11 (1994).

BAYTOP, A., *Farmasötik Botanik Ders Kitabı*, İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, 6 th Ed., **58**, 173-237, İstanbul (1996).

BEIRNER, R., *Control of Glycolytic Enzymes Through Binding to Cell Structures and by Glucose 1,6-Biphosphate Under Different Conditions*, The role of Ca^{+2} and Calmodulin, Int. J. Biochem., **25**, 297-305 (1993).

BELLOMARIA, B., ARNOLD, N. ve VALENTINI, G., *Contribution of the Study of the Essential Oils From three Species of Salvia Growing Wild in the Eastern Mediterranean Region*, J. Essential Oil Res., **4**, 607-614 (1992).

BERDYEEVA, T., WOODWORTH, C.D. ve SOKOLOV, I., *Visualization of Cytoskeletal Elements by the Atomic Force Microscope*, Ultramicroscopy, **102**, 189-198 (2005).

BERG, K., MOAN, J., BOMMER, J.C., WINKELMAN, J.W., *Cellular Inhibition of Microtubule Assembly by Photoactivated Sulphonated Mesotetraphenylporphynes*, Int. J. Radiat. Biol., **58**, 3101-3105 (1990).

BERNS, W.N., *Cell*, 2 nd Ed., Saunders College Pub, New York, 256 (1983).

BIELKA, H., *Molekulare Biologie der Zelle*, G. Fischer, Jena (1973).

BISHOP, C.D., *Antiviral Activity of The Essential Oil of Melaleuca alternifolia (Maiden and Betche) Cheel (Tea Tree) Against Tobacco Mosaic Virus*, Journal of Essential Oil Research, **7**, 641- 644 (1995).

BLIKSTAD, I. ve CARLSSON, L., *On The Dynamics of The Microfilament System in HeLa Cells*, J. Cell Biol., **93**, 122 (1982).

BLOCK, S.M., COLDSTEIN, L.S. ve SCHNAPP, B.J., *Nature* 348, **348** (1990).

BOREJDO, J. ve BURCLACU, S., *Velocity of Movement of Actin Filaments in vitro Motility Assay: Measured by Fluorescence Correlation Spectroscopy*, Biophys. J., **61**, 1267-1280 (1992).

BOROVNIKOV, Y.S., HORIUCHI, K.Y., AVROVA, S.V. ve CHACKO, S., *Modulation of Actin Conformation and Inhibition of Actin Filament Velocity by Calponin*, Biochemistry, **35**, 13849-13857 (1996).

BOYLE, W., *Spices and Essential Oils As Preservatives*, The American Perfumer and Essential oil Review, **66**, 25-28 (1955).

BRAY, D., HEATH, J. ve MOSS, D., *The Membrane-Associated 'Cortex' of Animal Cells: Its Structure and Mechanical Properties*, J. Cell Sci., **4**, 71 (1986).

BREMER, A., HENN, C., GOLDIE, K.N., ENGEL, A., SMITH, P.R. ve AEBI, U., *Towards Atomic Interpretation of F-Actin Filament Three-Dimensional Reconstructions*, J. Mol. Biol., **242**, 683-700 (1994).

BREMER, A., MILLONIG, R.C., SUTTERLIN, R., ENGEL, A., POLLARD, T.D. ve AEBI, U., *The Structural Basis for the Intrinsic Disorder of the Actin Filament: The Lateral Slipping Model*, J. Cell Biol., **115**, 689-703 (1991).

BRETSCHER, M.S., *How Animal Cells Move*, Sci. Am., **257**, 72 (1987).

BUBB, M.R., SENDEROWICZ, A.M., SAUSVILLE, E.A., DUNCAN, K.L. ve KORN, E.D., *Jasplakinolide, A Cytotoxic Natural Product, Induces Actin Polymerization and Competitively Inhibits the Binding of Phalloidin to F-Actin*, J. Biol. Chem., **269**, 14869-14871 (1994).

BUBB, M.R., SPECTOR, I., BEYER, B.B. ve FOSEN, K.M., *Effects of Jasplakinolide on the Kinetics of Actin Polymerization. An Explanation for Certain in vivo Observations*, J. Biol. Chem., **275**, 5163-5170 (2000).

BURSCH, W., HOCHEGGER, K., TOROK, L., MARIAN, B., ELLINGER, A. ve HERMANN, R.S., *Autophagic and Apoptotic Types of Programmed Cell Death Exhibit*

Different Fates of Cytoskeletal Filaments, Journal of Cell Science, **113**, 1189-1198 (2000).

BURT, S., *Essential Oils: Their Antibacterial Properties and Potential Applications in Foods- A Review*, International Journal of Food Microbiology, **94**, 223-253 (2004).

CALCABRINI, A., MESCHINI, S., MARRA, M., FALZANO, L., COLONE, M., BERARDIS, B.D., PAOLETTI, L., ARANCA, G., FIORENTINI, C., *Fine Environmental Particulate Engenders Alterations in Human Lung Epithelial A549 Cells*, Environmental Research, **95**, 82-91 (2004).

CANO, M.L., CASSIMERIS, L., JOYCE, M. ve ZIGMOND, S.H., *Characterization of Tetramethylrhodaminyl-Phalloidin Binding to Cellular F-Actin*, Cell Motil. Cytoskeleton, **21**, 147-158 (1992).

CARSON, C.F., COOKSON, B.D., FARRELLY, H.D. ve RILEY, T.V., *Susceptibility of Methicilin-Resistant Staphylococcus aureus to the Essential Oil of Melaleuca alternifolia*, Journal of Antimicrobial Chemotherapy, **35**, 421-424 (1995).

HALMERS, A., JOHNSTON, P., WOODCOCK, M., JOINER, M. Ve MARPLES, B., *PARP-1, PARP-2, and The Cellular Response to Low Doses of Ionizing Radiation*, International Journal of Radiation Oncology Biology Physics, **58**, 410- 419 (2004).

CHAPIN, S.J. ve BULINSKI, J.C., *Cell Motil. Cytoskeleton*, **23**, 236-243 (1992).

COLUCCI, L.M. ve BRETSCHER, A., *Reassociation of Microvillar Core Proteins: Making or Microvillar Core in Vitro*, J. Cell Biol., **108**, 495-502 (1989).

CONNER, D.E., *Naturally Occurring Compounds*, In Davidson P.M. and Brannen A.L. (Ed.), *Antimicrobials in Foods*, Marcel Dekker, Inc., 2 nd Ed., p. 441-468, New York (1993).

COOPER, G.M., *The Cell: A Molecular Approach ASM Pres*, Washington DC (1997).

COOPER, J.A., *The Role of Actin Polymerization in Cell Motility*, Ann. Rev. Physiol., **53**, 585 (1991).

COPPIN, C.M., FINER, J.T., SPUDICH, J.A. ve VALE, R.D., *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, **93**, 1913 (1996).

CORCORON, G.B., FIX, L., JONES, D.P., MOLSEN, M.T., NICOTERA, P., OBERHAMMER, F.A. ve BUTTYAN, R., *Apoptosis: Molecular Control Point in Toxicity*, Toxicol. Appl. Pharmacol., **128**, 169-181 (1994).

CRITCHLEY, D.R., HOLT, M.R., BARRY, S.T., PRIDDLE, H., HEMMINGS, L. ve NORMAN, J., *Integrin-Mediated Cell Adhesion: The Cytoskeletal Connection*, Biochem. Soc. Symp., **65**, 79-99 (1999).

CROSS, D., VIAL, C. ve MACCIONI, R.B., *J. Cell Sci.*, **105**, 51-60 (1993).

DARNELL, J., LODISH, H. ve BALTIMORE, D., *Molecular Cell Biology*, 2 nd Ed., Scientific American Books, USA (1990).

DE LA CRUZ, E.M., MANDINOVA, A., STEINMETZ, M.O., STOFFLER, D., AEBI, U. ve POLLARD T.D., *Polymerization and Structure of Nucleotide-Free Actin Filaments*, J. Mol. Biol., **295**, 517-526 (2000).

DE VINCENZI, M., MANCINI, E. ve DESSI, M.R., *Monographs of Botanical Flavouring Substances Used in Foods*, Fitoterapia, **67**, 241-251 (1996).

DE VINCENZI, M., SILANO, M., DE VINCENZI, A., MAIALETTI, F. ve SCAZZOCCHIO, B., *Constituents of Aromatic Plants: Eucalyptol*, Fitoterapia, **73**, 269-275 (2002).

DE VINCENZI, M., STAMMATI, A., DE VINCENZI, A. ve SILANO, M., *Constituents of Aromatic Plants: Carvacrol*, Fitoterapia, **75**, 801-804 (2004).

DEANS, S.G. ve RITCHIE, G., *Antibacterial Properties of Plant Essential Oils*, International Journal of Food Microbiology, **5**, 165-180 (1987).

DELARUE, F.L., TAYLOR, B.S. ve SEBTI, S.M., *Ras and Rhoa Suppress Whereas RhoB Enhances Cytokine-Induced Transcription of Nitric Oxide Synthase-2 in Human Normal Liver AKN-1 Cells and Lung Cancer A549 Cells*, Oncogene, **20**, 6531-6537 (2001).

DREWES, G. ve FAULSTICH, H., *Cooperative Effects on Filament Stability in Actin Modified at the C-Terminus by Substitution or Truncation*, Eur. J. Biochem., **212**, 247-253 (1993).

ECCLES, R., *Menthol and Related Cooling Compounds*, J. Pharm. Pharmacol., **46**, 618-630 (1994).

ELBETIEHA, A., AL-HAMOOD, M.H., ALKOFABI, A. ve BATAINEH, H., *Reproductive Toxicity Potentials of Salvia fruticosa (Labiatae) in Rats*, Journal of Ethnopharmacology, **61**, 67-74 (1998).

ENTSCHLADEN, F., DRELL IV, T., LANG, K., JOSEPH, J. ve ZAENKER, K., *Cell-Cell Migration, Invasion and Metastasis: Navigation By Neurotransmitters*, Lancet Oncol., **5**, 254-258 (2004).

ESTES, J.E., SELDEN, L.A., KINOSIAN, H.J., GERSHMAN, L.C., *Tightly Bound Divalent Cations of Actin*, J. Muscle Res. Cell Motil., **13**, 272-284 (1992).

EVANS, C. ve MARTIN, S.A., *Effects of Thymol on Ruminant Microorganisms*, Curr. Microbiol., **41**, 336-340 (2000).

EVDOKIOU, A. ve COWLED, P.A., *Tumor-Suppressive Activity of The Growth Arrest-Specific Gene GAS1 in Human Tumor Cell Lines*, International Journal of Cancer, **75**, 568-577 (1998).

FARHAT, G.N., AFFARA, N.I. ve GALI-MUHTASIB, H.U., *Seasonal Changes in the Composition of the Essential Oil Extract of East Mediterranean Sage (Salvia libanotica) and its Toxicity in Mice*, Toxicol., **39**, 1601-1605 (2001).

FAULSTICH, H., SCHAFER, A.J. ve WECKAUF, M., *Hoppe Seylers Z., Physiol. Chem.*, **358**, 181-184 (1977).

FAWCETT, D.W., *The Cell*, 2 nd Ed., Saunders, Comp. USA (1981).

FRESHNEY, I., *Culture of Animal Cells*, 3 rd Ed., John Wiley ve Sons. Inc., Publication, New York, 486 (1994).

FUJIWARA, H., SAITO, S-Y., HITOTSUYANAGI, Y., TAKEYA, K. ve OHIZUMI, Y., *RA-VII, A Cyclic Depsipeptide, Changes The Conformational Structure of Actin to Cause G₂ Arrest by The Inhibition of Cytokinesis*, Cancer Letters, **209**, 223-229 (2004).

GAGESU, R. GRUENBERG, J. ve SMYTE, E., *Membrane Dynamic in Endocytosis: Structure- Function Relationship*, Traffic, **1**, 84-88 (2000).

GALEOTTI, N., MANNELLI, L.D.C., MAZZANTI, G., BARTOLINI, A. ve GHELARDINI, C., *Menthol: A Natural Analgesic Compound*, **322**, 145-148 (2002).

GALI-MUHTASIB, H.U. ve AFFARA, N.I., *Chemopreventive Effects of Sage Oil on Skin Papillomas in Mice*, Phytomedicine, **7**, 129-136 (2000).

GALI-MUHTASIB, H.U., HILAN, C. ve KHATER, C., *Traditional Uses of Salvia libanotica (East Mediterranean Sage) and the Effects of its Essential Oils*, Journal of Ethnopharmacology, **71**, 513-520 (2000).

GAO, S. ve SINGH, J., *In Vitro Percutaneous Absorption Enhancement of Lipophilic Drug Tamoxifen by Terpenes*, J. Control Release, **51**, 193-199 (1998).

GAVIN, R.H., *Microtubule-Microfilament Synergy in the Cytoskeleton*, Int. Rev. Cytol., **173**, 207-242 (1997).

GEIGER, B., *Membrane-Cytoskeleton Interaction*, Biochim. Biophys. Acta., **737**, 305-341 (1983).

GODWIN, D.A. ve MICHNIAK, B.B., *Influence of Drug Lipophilicity on Terpenes As Transdermal Penetration Enhancers*, Drug Dev. Ind. Pharm., **25**, 905-915 (1999).

GOMES-CARNEIRO, M.R., FELZENSZWALB, I. ve PAUMGARTLEN, F.J., *Mutat. Res.*, **416**, 129 (1998).

GONZALEZ, M., CAMBIAZO, V. ve MACCIONI, R.B., *The Interaction of Mip-90 with Microtubules and Actin Filaments in Human Fibroblasts*, Experimental Cell Research, **239**, 243-253 (1998).

GORDON, A.M., LAMADRID, M.A., CHEN, Y., LUO, Z.X. ve CHASE, P.B., *Calcium Regulation of Skeletal Muscle Thin Filament Motility in vitro*, Biophys. J., **72**, 1295-1307 (1997).

GRUPTA, A.K. ve GRUPTA, M., *Cytotoxicity Supression and Cellular Uptake Enhancement of Surface Modified Magnetic Nonparticles*, Biomaterials, **26**, 1565-1573 (2005).

GUENTHER, E., *The Essential Oils*, D. Van Nostrand, New York (1948).

GUNARATNAM, M. ve GRANT, M.H., *Damage to F-Actin and Cell Death Induced by Chromium VI and Nickel in Primary Monolayer Cultures of Rat Hepatocytes*, Toxicology In Vitro, **18**, 245-253 (2004).

GURTURK, S., *Viroloji*, Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları, Ankara Üniv. Basımevi, Ankara, 329 (1977).

HAN, K.Y., PANTUCK, A.J., BELLDEGRUN, A.S. ve RAO, J.Y., *Tumor Markers for the Early Detection of Bladder Cancer*, Front. Biosci., **7**, e19-e26 (2002).

HARTMAN, A. ve SPEIT, G., *The Contribution of Cytotoxicity to DNA-Effects in the Single Cell Gel Test (Comet Assay)*, Toxicology Letters, **90**, 183-188 (1997).

HARTMAN, G.D., HARTMAN, R.D., SCHWERING, J.E., SAARI, W.S., ENGELHARDT, E.L., JONES, N.R., WARDMAN, P., WATTS, M.E. ve WOODCOCK, M., *Synthesis and Activity of Novel Nitropyrazines For Use as Hypoxic Cell Radiosensitizers*, J. Med. Chem., **27**, 1634- 1639 (1984).

HAUSER, M. ve EYS, H.V., *J. Cell Sci.*, **20**, 589 (1976).

HAY, R.K.M. ve SVOBODA, K.P., *Volatile Oil Crops*, Longman Scientific and Technical, 5-22, England (1993).

HAYOT, C., DEBEIR, O., VAN HAM, P., VAN DAMME, M., KISS, R. ve DECAESTECKER, C., *Characterization of the Activities of Actin-Affecting Drugs On Tumor Cell Migration* (2005).

HE, L., MO, H., HADISSUSILO, S., QUERESHI, A.A. ve ELSON, C.E., *Isoprenoids Suppress The Growth of Murine B16 Melanomas In vitro and In vivo*, American Society For Nutritional Sciences, **127**, 668-674 (1997).

HELANDER, I.M., ALAKOMI, H.L., LATVA-KALA, K., MATTILA-SANDHOLM, T., POL, I., SMID, E.J., GORRIS, L.G.M. ve VON WRIGHT, A., *Characterization of the Action of Selected Essential Oil Components on Gram-Negative Bacteria*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, **46**, 3590-3595 (1998).

HELDMAN, A.W., *Cell Signalling and Motile Activity*, Symp. Soc. Exp. Biol., **47**, 317-324 (1993).

HILAN, C., KHAZZAKA, K. ve SFEIR, R., *Antimicrobial Effect of Essential Oil of S. libanotica (Sage)*, British J. Phytother, **4**, 1-3 (1997).

HINSHAW, D., SKLAR, L.A., BOHL, B., SCHRAUFSTATTER, I.U., HYSLOP, P.A., ROSSI, M.W., SPRAGG, R.G. ve COCHRANE, C., *G Cytoskeletal and Morphological Impact of Cellular Oxidant Injury*, Am. J. Path., **123**, 454-464 (1986).

HIZAL, N. ve BIRSEL, S., *Biyokimya'da Araştırma Yöntemleri*, Marmara Üniv. Tıp Fak. Biyokimya Anabilim Dalı ve Biyolojik ve Klinik Bilimler Araştırma Merkezi, **14**, İstanbul (1994).

HOFFEE, P.A., *Medical Molecular Genetics*, Fence Creek Publishing, Madison Connecticut (1998).

HOMSHER, E., WANG, F. ve SELLERS, J.R., *Factors Affecting Movement of F-Actin Filaments Propelled by Skeletal-Muscle Heavy Meromyosin*, *Am. J. Physiol.*, **262**, C714-C723 (1992).

HOOD, L.E., WILSON, J.H. ve WOOD, W.B., *Molecular Biology of Eucaryotic Cells*, W.A. Benjamin Inc. (1975).

HOWARD, T.H. ve ORESAJO, C.O., *The Kinetics of Chemotactic Peptide-Induced Change in F-Actin Content, F-Actin Distribution and The Shape of Neutrophils*, *J. Cell Biol.*, **101**, 1078 (1985).

HUOBER, J.B., NAKAMURA, S., MEYN, R., ROTH, J.A. ve MUKHOPADHYAY, T., *Oral Administration of an Estrogen Metabolite- Induced Potentiation of Radiation Antitumor Effects in Presence of Wild- Type p53 in Nonsmall-Cell Lung Cancer*, *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*, **48**, 1127- 1137 (2000).

HUOT, J., HOULE, F., ROUSSEAU, S., DESCHESESNES, R.G., SHAH, G.M. ve LAUNDRY, J., *SAPK2/p38- Dependent F-Actin Reorganization Regulates Early Membran Blebbing During Stres Induced Apoptosis*, *J. Cell Biol.*, **143**, 1361-1373 (1998).

JACOBY, B.W. ve PASTON, H.I., *Cell Culture*, Academic Press Limited, San Diego, California, 642 (1979).

JANMEY, P.A. ve CHAPONNIER, C., *Medical Aspects of the Actin Cytoskeleton*, *Curr. Opin. Cell Biol.*, **7**, 111-117 (1995).

JAYASHREE, T. ve SUBRAMANYAM, C., *Antiaflatoxigenic Activity of Eugenol is Due to Inhibition of Lipid Peroxidation*, *Letters in Applied Microbiology*, **28**, 179-183 (1999).

JORDAN, M.A. ve WILSON, L., *Microtubules and Actin Filaments Dynamic Targets for Cancer Chemotherapy*, *Curr. Opin. Cell Biol.*, **10**, 123-130 (1998).

JUGLAL, S., GOVINDEN, R. ve ODHAV, B., *Spice Oils for The Control of Co-occurring Mycotoxin-Producing Fungi*, *Journal of Food Protection*, **65**, 683-687 (2002).

JUVEN, B.J., KANNER, J., SCHVED, F. ve WEISSLOWICZ, H., *Factors That Interact With The Antibacterial Action of Thyme Essential Oil and its Active Constituents*, *J. Appl. Bacteriol.*, **76**, 626-631 (1994).

KAROL, S., AYVALI, C. ve SULUDERE, Z., *Hücre Biyolojisi*, 3 rd Ed., 250, Ankara (1995).

KAROL, S., SULUDERE, Z. ve AYVALI, C., *Biyoloji Terimleri Sözlüğü*, Türk Dil Kurumu Yayınları, **699**, 22 (1998).

KIVANÇ, M. ve AKGÜL, A., *Effect of Some Essential Oil Components on the Growth of Food-Borne Bacteria and Synergism With Some Food Ingredients*, Flavour Fragr. J., **3**, 95-98 (1988).

KİREMİTÇİ, M., Doku Mühendisliği, Bilim-Teknik Dergisi, 26, 465-466 (1993).

KIZIROĞLU, İ., *Genel Biyoloji*, 3 rd Ed., Desen Ofset A.Ş. Yayınları, Ankara (1998).

KLINTH, J., ARNER, A. ve MANSSON, A., *Cardiotonic Bipyridine Amrironone Slows Myosin-Induced Actin Filament Sliding at Saturating (MgATP)*, J. Muscle Res. Cell Motil., **24**, 15-32 (2003).

KLUG, S.W. ve CUMMINGS, M.R., *Concepts of Genetics*, 6 th Ed., Printice Hall, Oxford (2000).

KLUG, W.S., *Essentials of Genetics*, Cummings MC, 3 rd Ed., Prentice-Hall Int., London (1999).

KOHLER, M., AUFDERHEIDE, M. ve RAMM, D., *Method For the Description of Differences in the Filamentous Structure of the Cytoskeleton*, Toxicology Letters, **72**, 33-42 (1994).

KUNTA, J.R., GOSKONDA, V.R., BROTHERTON, H.O., KHAN, M.A. ve REDDY, I.K., *Effect of Menthol and Related Terpenes on the Percutaneous Absorption of Propranolol Across Excised Hair-Less Mouse Skin*, J. Pharm. Sci., **86**, 1369-1373 (1997).

KURODA, K., *Cytoplasmic Streaming in Plant Cells*, Int. Rev. Cytol., **121**, 267-307 (1990).

LADER, S.A., KWIATKOWSKI, D.J. ve CANTIELLO, H.F., *Role of Gelsolin in the Actin Filament Regulation of Cardiac L-Type Calcium Channels*, Am. J. Physiol. Cell. Physiol., **277**, C1277-C1283 (1999).

LAGOURI, V., BLEKAS, G., TSIMIDOU, M., KOKKINI, S. ve BOSKOU, D., *Composition and Antioxidant Activity of Essential Oils from Oregano Plants Grown Wild in Greece*, Z. Lebensm. Unters. Forsch., **A 197**, 20-23 (1993).

LAMBERT, R.J.W., SKANDAMIS, P.N., COOTE, P. ve NYCHAS, G.-J.E., A Study of the Minimum Inhibitory Concentration and Mode of Action of Oregano Essential Oil, Thymol and Carvacrol, *Journal of Applied Microbiology*, **91**, 453-462 (2001).

LAMBRECHTS, A., TROYS, M.V., AMPE, C., *The Actin Cytoskeleton in Normal and Pathological Cell Motility*, *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, **36**, 1890-1909 (2004).

LAUDE, F.A., MORICE, A.H. ve GRATTAN T.J., *The Antitussive Effects of Menthol, Camphor and Cineole in Conscious Guinea-Pigs*, *Pulm. Pharmacol.*, **7**, 179-184 (1994).

LEE, K.G. ve SHIBAMOTO, T., *Inhibition Malonaldehyde Formation From Blood Plasma Oxidation by Aroma Extracts and Aroma Components Isolated From Clove and Eucalyptus*, *Food Chem. Toxicol.*, **39**, 1199-1204 (2001).

LEE, S., TSAO, R., PETERSON, C. ve COATS, J.R., *Insecticidal Activity of Monoterpenoids to Western com Rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae) Twospotted Spidermite (Acari: Tetranychidae) and House Fly (Diptera: Muscidae)*, *J. Econom. Entom.*, **90**, 883-892 (1997).

LENGSFELD, A.M., LOW, I., WIELAND, T., DANCKER, P. Ve HASSELBACH, W., *Interaction of Phalloidin with Actin*, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **71**, 2803-2807 (1974).

LEVISION, K.K., TAKAYAMA, K., OKABE, K. ve NAGAI, T., *Formulation Optimization of Indomethacin Gels Containing A Combination of Three Kinds of Cyclic Monoterpenes as Percutaneous Penetration Enhancers*, *J. Pharm. Pharmacol.*, **83**, 1367-1382 (1994).

LI, X.L., ZHENG, H.F., JIN, Z.Y., YANG, M., LI, Z.L. ve XU, W.X., *Effect of Actin Microfilament on Potassium Current in Guinea Pig Gastric Myocytes*, *World J. Gastroenterol*, **10**, 3303-3307 (2004).

LIBBERT, E., *Lehrbuch der Pflanzephyiologie*, G. Gischer, Stuttgart (1979).

LIN, Y.T., WU, H.L., KOU, H.S., WU, S.M. ve CHEN, S.H., *Enantiomeric Analysis of (+)-Menthol and (-)-Menthol by Fluorogenic Derivatization and Liquid Chromatography*, *Journal of Chromatography A*, **85**, 224-229 (2005).

LIU, A.X., ZHANG, S.B., XU, X.J., REN, D.T. ve LIU, G.Q., *Soluble Expression and Characterization of a GFP-Fused Peo Actin Isoform (PEAC1)*, Cell Res., **14**, 407-414 (2004).

LLEWELLYN, G.C., BURKETT, M.L. ve EADIE, T., *Potential Mold Growth, Aflatoxin Production and Antimycotic Activity of Selected Natural Spices and Herbs*, J. Assoc. Off. Anal. Chem., **64**, 955-960 (1981).

LODISH, H., BALTIMORE, D., BERK, A., ZIPURSKY, S.L., MATSUDAIRA, P. ve DARNELL, J., *Mol. Cell Biol.*, 3 rd Ed., Scientific American Boks, New York (1995).

LODISH, H., BERK, A., ZIPURSKY, S.L., MATSUDAIRA, P., BALTIMORE, D. ve DARNEL, J.E., *Molecular Cell Biology*, 4 th Ed., Freeman and Co., New York (1999).

LU, Q.Y., JIN, Y.S., ZHANG, Q., ZHANG, Z., HEBER, D., LIANG, V., LI, F.P. ve RAO, J.Y., *Ganoderma Lucidum Extracts Inhibit Growth and Induce Actin Polimerization in Bladder Cancer Cells in vitro*, Cancer Letters, **216**, 18-20 (2004).

LUNA, E.J. ve HITT, A.L., *Cytoskeleton-Plasma Membrane Interactions*, Science, **258**, 955 (1992).

LUO, L., *Actin Cytoskeleton Regulation in Neuronal Morphogenesis and Structural Plasticity*, Annu. Rev. Cell Dev. Biol., **18**, 601-635 (2002).

MACCIONI, R.B. ve CAMBIOZA, V., *Physiol. Rev.*, **75**, 835-864 (1995).

MACCIONI, R.B., TAPIA, L. ve CAMBIAZO, V., *Braz. J. Med. Biol. Res.*, **28**, 827-841 (1995).

MACCIONI, R.B., RIVAS, C. ve VERA, J.C., *Embo. J.*, **7**, 1957-1963 (1998).

MADYASTHA, K.M. ve SRIVATSAN, V., *Drug Metab. Dispos.*, **16**, 765 (1988).

MAHMOUD, S.S. ve CROTEAU, R.B., *Strategies for Transgenic Manipulation of Monoterpene Biosynthesis in Plants*, Trends in Plant Science, **7**, 366-373 (2002).

MANDELKOW, E. and MANDELKOW, E.M., *Curr. Opin. Cell Biol.*, **4**, 171-179 (1994).

MANOU, L., BOVILLARD, L., DEVLEESCHOUWER, M.J., BAREL, A.O., *Evaluation of Preservative Properties of Thymus vulgaris Essential Oil in Topically Applied Formulations Under A Challenge Test*, J. Appl. Microbiol., **84**, 368-376 (1998).

MARGOLIS, R.L. ve WILSON, L., *Opposite End Assembly and Disassembly of Microtubules at Steady State in vitro*, Cell, **13**, 1-8 (1978).

MARGOLIS, R.L. ve WILSON, L., *Microtubule Treadmills-Possible Molecular Machinery*, Nature, **293**, 705-711 (1981).

MARGOSSIAN, S.S. ve LOWEY, S., *Preparation of Myosin and its Subfragments From Rabbit Skeletal Muscle*, Methods Enzymol, **85**, 55-71 (1982).

McMAHON, M. ve WOODS, D., *Regulation of The p53 Pathway by Ras*, Biochimica et Biophysica Acta, **1471**, 63-71 (2001).

MEIKLE, R.D., *Flora of Cyprus*, The Bentham-Moxon Trust, **2**, 1287-1299 (1985).

MEISTER, A., BERNHARDT, G., CHRISTOFFEL, V. ve BUSCHAUER, A., *Anti-Spasmotic Activity of Thymus vulgaris Extract on the Isolated Guinea-Pig Trachea: Discrimination Between Drug and Ethanol Effects*, Planta Med., **65**, 512-516 (1999).

MENTURA, A. ve PELICCI, P.G., *Semaphorins: Green Light for Redox Signalling*, Sci. STKE, **155**, PE44, Review (2002).

MERCK, *The Merck Index*, 13 th Ed., p. 1043-1044, Whitehouse Station, NJ (2001).

MEYER, W.H. ve HOWARD, T.H., *Actin Polymerization and Its Relationship to Locomotion and Chemokinetic Response in Maturing Human Promyelocytic Leukemia Cells*, Blood, **70**, 363 (1987).

MEYHOEFER, E. ve HOWARD, J., *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, **92**, 574 (1995).

MITCHISON, T.J. ve KIRSCHNER, M., *Dynamic Instability of Microtubule Growth*, **312**, 237-242 (1984).

MIURA, K., KIKUZAKI, H. ve NAKATANI, N., *Antioxidant Activity of Chemical Components From Sage (Salvia officinalis) and Thyme (Thymus vulgaris) Measured by the Oil Stability Index Method*, J. Agric. Food Chem., **50**, 1845-1851 (2002).

MIYAMOTO, Y., KURODA, M., MUNEKATA, E. ve MASAKI, T., J. Biochem., **100**, 1677-1680, Tokyo (1986).

MOLITORIS, B.A., *Putting the Actin Cytoskeleton into Perspective: Pathophysiology of Ischemic Alterations*, Am. J. Phys., **272**, F430-F433 (1997).

MORALES, S., CAMELLO, P.J., ROSADO, J.A., MAWE, G.M. ve POZO, M.J., *Distruption of The Filamentous Actin Cytoskeleton is Necessary for The Activation of Capacitative Calcium Entry in Naive Smooth Muscle Cells*, Cellular Signaling, **17**, 635-645 (2005).

MOTEKI, H., HIBASAMI, H., YAMADA, Y., KATSUZAKI, H., IMAI, K. ve KOMIYA, T., *Spesific Induction of Apoptosis by 1,8-cineole in Two Human Leukemia Cell Lines, But Not A Human Stomach Cancer Cell Line*, Oncol. Lett., **9**, 757-760 (2002).

MOUREY, A. ve CANILLAC, N., *Anti-Listeria Monocytogenesis Activity of Essential Oils Components of Conifers*, Food Control, **13**, 289-292 (2002).

MOUTERDE, P., *Nouvelle Flore du Liban et de la Syrie*, Dar el Machrek, 159, Beyrouth (1970).

MUHLBAUER, R.C., LOZANO, A., PALACIO, S., REINLI, A. ve FELIX, R., *Common Herbs, Essential Oils and Monoterpenes Potently Modulate Bone Metabolism*, Bone, **32**, 372-380 (2003).

MURRAY, R.K., GRANNER, D.K., MAYES, P.A. ve RODWELL, V.W., *Harper'in Biyokimyası*, Barış Kitabevi, İstanbul (1998).

NAKATANI, N., *Phenolic Antioxidants From Herbs and Spices*, Biofactors, **13**, 141-146 (2000).

NAUMOV, G., MACDONALD, I., WEINMEISTER, P., KERKVLIT, N., NADKAMI, K.V., WILSON, S.M., MORRIS, V.L., GROOM, A.C. ve CHAMBERS, A.F., *Persistence Of Solitary Mammary Carcinoma Cells in a Secondary Site: A Possible Contributor to Dormancy*, Cancer Res., **62**, 2162-2168 (2002).

NEHME, M., *Wild Flowers of Lebanon*, National Council for Scientific Research, 208, Lebanon (1978).

NEWALL, C.A., ANDERSON, L.A. ve PHILIPSON, J.D., *Herbal Medicine, A Guide for Health-Care Professionals*, The Pharmaceutical Press, 231-232, London (1996).

ODA, T., CRANE, Z.D., DICUS, C.W., SUFI, B.A. ve BATES, R.B., *Dolastatin II Connects Two Long-Pitch Strands in F-Actin to Stabilize Microfilaments*, J. Mol. Biol., **328**, 319-324 (2003).

OGAARD, B., LARSSON, E., GLANS, R., HENRIKSSON, T. ve BIRKHED, T., *Antimicrobial Effect of A Chlorhexidine-Thymol Vamish (Cervitec) in Orthodontic Patients*, J. Orofac. Orthop., **58**, 206-213 (1997).

OKAZAKI, K., KAWAZOE, K. ve TAKAISHI, Y.K., *Human Platelet Aggregation Inhibitors From Thyme (Thymus vulgaris)*, Phytother. Res., **16**, 398-399 (2002).

ORLOVA, A., PROCHNIEWICZ, E. ve EGELMAN, E.H., *Structural Dynamics of F-Actin: II. Cooperativity in Structural Transitions*, J. Mol. Biol., **245**, 598-607 (1995).

OZBAN, N., Hücre, 2 nci Baskı, İstanbul Üniv. Yayınları, Fen Fakültesi Basımevi, İstanbul, **283** (1988).

PANDEY, R., KALRA, A., TANDON, S., MEHROTA, N., SINGH, H.N. ve KUMAR, S., *Essential Oil Compounds As Potent Source of Nematicidal Compounds*, Journal of Phytopathology, **148**, 501-502 (2000).

PAOLILLO, D.J., *Cell Sci.*, **6**, 243 (1970).

PATTNAICK, S., SUBRAMANYAM, V.R., BAPAJI, M. ve KOLE, C.R., *Antibacterial and Antifungal Activity of Aromatic Constituents of Essential Oils*, Microbios, **89**, 39-46 (1997).

PENSO, J. ve BEITNER, R., *Detachment of Glycolytic Enzymes from Cytoskeleton of Lewis Lung Carcinoma and Colon Adenocarcinoma Cells Induced by Clotrimazole and its Correlation to Cell Viability and Morphology*, Molecular Genetics and Metabolism, **76**, 181-188 (2002).

PESSOA, L.M., MORAIS, S.M., BEVILAQUA, C.M.L. ve LUCIANO, J.H.S., *Anthelmintic Activity of Essential Oil of Ocimum gratissimum Linn. and Eugenol Against Haemonchus contortus*, Veterinary Parasitology, **109**, 59-63 (2002).

PETTIT, G.R., *The Dolastatins*, Fortschr. Chem. Org. Naturst., **70**, 1-79, 1997.

POLLARD, T.D. ve BORISY, G.G., *Cellular Motility Driven by Assembly and Disassembly of Actin Filaments*, Cell, **112**, 453-465 (2003).

POLLARD, T.D. ve COOPER, J.A., *Actin and Actin-Binding Proteins: A Critical Evaluation of Mechanisms and Functions*, Annu. Rev. Biochem., **55**, 987-1035 (1986).

POLLARD, T.D., BLANCHOIN, L. ve MULLINS, R.D., *Molecular Mechanisms Controlling Actin Filament Dynamics in Nonmuscle Cells*, Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct., **29**, 545-576 (2000).

PUMPLIN, D.W. ve BLOCH, R.J., *The Membrane Skeleton*, Trends Cell Biol., **3**, 113-117 (1993).

RAO, J.Y., HERMSTREET, G.P., HURST, R.E., BONNER, R.B., WALISZEWSKI, P., GROSSMAN, H.B., LIEBERT, M. ve BANE, B., *G-Actin as a Risk Factor and Modulatable Endpoint for Cancer Prevention Trials*, J. Cell Biochem., **25S**, 197-204 (1996).

RIVERA, D., OBON, C. ve CANO, F., *The Botany, History and Traditional Uses of Three-Lobed Sage (Salvia libanotica Miller)*, Economic Botany, **48**, 190-195 (1994).

ROBINSON, D.N. ve SPUDICH, J.A., *Towards A Molecular Understanding of Cytokinesis*, Trends Cell Biol., **10**, 228-237 (2000).

SAHRAEI, H., GHOSHOONI, H., SALIMI, S.H., ASTANI, A.M., SHAFAGHI, B., FALAHI, M. ve KAMALNEGAD, M., *The Effects of Fruit essential oil of the Pimpinella anisum on Acquisition and Expression of Morphine Induced Conditioned Place Preference in Mice*, Journal of Ethnopharmacology, **80**, 43-47 (2002).

SAKAI, T. , FUJII, K. ve TAKEMOTO, N., *Thymol Contraction and Rapid Cooling Contraction of Thymol-Treated Muscle Fibres*, Nippon Seirigaku Zasshi, **29**, 600-601 (1967).

SALMAN, H., GIL, Y. ve GRANER, R., *Microtubules, Motor Proteins and Anomalous Mean Squared Displacements*, Chemical Physics, **284**, 389-397 (2002).

SANCHEZ, M.E., TURINA, A.V., GARCIA, D.A., NOLAN, M.V. ve PERILLO, M.A., *Surface Activity of Thymol: Implications For an Eventual Pharmacological Activity*, Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, **34**, 77-86 (2004).

SANTOS, F.A., SILVA, R.M., CAMPOS, A.R., ARAUJO, R.P., LIMA JUNIOR, R.C.R. ve RAO, V.S.N., *1,8 Cineole (Eucalyptol), A Monoterpene Oxide Attenuates the Colonic Damage in Rats on Acute TNBS-Colitis*, Food and Chemical Toxicology, **42**, 579-58 (2004).

SCHILCHER, H., *Effects and Side Effects of Essential Oils*, Junk Publishers, 217-231, The Netherlands (1985).

SCHMIT, A.C. ve LAMBERT, A.M., *Microinjected Fluorescent Phalloidin in Vivo Reveals the F-Actin Dynamics and Assembly in Higher Plant Mitotic Cells*, *Plant Cell*, **2**, 129-138 (1990).

SENDEROWICZ, A.M., KAUR, G., SAINZ, E., LAING, C., INMAN, W.D. ve RODRIGUEZ, J., *Jasplakinolide's Inhibition of The Growth of Prostate Carcinoma Cells in Vitro with Distruption of The Actin Cytoskeleton*, *J. Natl. Cancer Inst.*, **87**, 46-51 (1995).

SHAPIRO, S. ve GUGGENHEIM, B., *The Action of Thymol on Oral Bacteria*, *Oral Microbiol. Immunol.*, **10**, 241-246 (1995).

SHEELER, P. ve BIANCHI, D.E., *Cell Biology: Structure, Biochemistry and Function*, John Wiley & Sons., Inc., 507-510 (1980).

SHETERLINE, P., CLAYTON, J. ve SPARROW, J.C., *Actin*, Academic Press, New York (1995).

SIGMOND, S.H., *Signal Transduction and Actin Filament Organization*, *Curr. Opin. Cell Biol.*, **8**, 66-73 (1996).

SINGER, M. ve BERG, P., *Genes & Genomes: A Changing Perspective*, University Science Books, 644 (1991).

SKOLD, K., TWETMAN, S., HALLGREN, A., YUCEL-LINDBERG, T. ve MODEER, T., *Effect of A Chlorhexidine/Thymol-Containing Vamish on Prostaglandin E2 Levels in Gingival Crevicular Fluid*, *Eur. J. Oral Sci.*, **106**, 571-575 (1998).

SMALL, J.V., *The Actin Cytoskeleton*, *Electron Microsc. Rev.*, **1**, 155 (1998).

SPICHIGER, M., MUHLBAUER, R.C. and BRENNEISEN, R., *Determination of Menthol in Plasma and Urine of Rats and Humans by Headspace Solid Phase Microextraction and Gas Chromatography-Mass Spectrometry*, *Journal of Chromatography B*, **799**, 111-117 (2004).

SPORN, M.B., *The War On Cancer*, *Lancet*, **347**, 1377-1381 (1996).

STAIGER, C.J., YUNAN, M. ve VALENTE, R., *Microinjected Profilin Affects Cytoplasmic Streaming in Plant Cells by Rapidly Depolymerizing Actin Microfilaments*, *Curr. Biol.*, **4**, 215-219 (1994).

STEINMETZ, M.O., GOLDIE, K.N. ve AEBI, U., *A Correlative Analysis of Actin Filament Assembly, Structure and Dynamics*, *J. Cell. Biol.*, **138**, 559-574 (1997).

STEINMETZ, M.O., STOFFLER, D., HOENGER, A., BREMER, A. ve AEBI, U., *Actin: From Cell Biology to Atomic Detail*, J. Struct. Biol., **119**, 295-320 (1997).

STEINMETZ, M.O., HOENGER, A., STOFFLER, D., NOEGEL, A.A., AEBI, U. ve SCHOENENBERGER, C.A., *Polymerization, Three-Dimensional Structure and Mechanical Properties of Ddctyoselium Versus Rabbit Muscle Actin Filaments*, J. Mol. Biol., **303**, 171-184 (2000).

STEINMETZ, M.O., STOFFLER, D., MULLER, S.A., JAHN, W., WOLPENSINGER, B., GOLDIE, K.N., ENGEL, A., FAULSTICH, H. ve AEBI, U., *Evaluating Atomic Models of F-Actin with an Undecagold-Tagged Phalloidin Derivative*, J. Mol. Biol., **276**, 1-6 (1998).

STOSSEL, T.P., *From Signal to Pseudopod. How Cells Control Cytoplasmic Actin Assembly*, J. Biol. Chem., **264**, 18261 (1989).

STOSSEL, T.P., *On The Crawling of Animal Cells*, Science, **260**, 1086-1094 (1993).

STOURNARAS, C., STIAKAKI, E., KOUKOURITAKI, S.B., THEODOROPOULOS, P.A., KALMANTI, M., FOSTINIS, Y. ve GRAVANIS, A., *Altered Actin Polymerization Dynamics in Various Malignant Cell Types: Evidence for the Different Sensitivity to Cytochalasin B*, Biochem. Pharmacol., **52**, 1339-1346 (1996).

STREGE, P.R., HOLM, A.N., RICH, A., MILLER, S.M., QU, Y., SARR, M.G. ve FARRUGIA, G., *Cytoskeletal Modulation of Sodium Current in Human Jejunal Circular Smooth Muscle Cells*, Am. J. Physiol. Cell Physiol., **284**, C60-66 (2003).

SVOBODA, K., SCHMIDT, C.F., SCHNAPP, B.J. ve BLOCK, S.M., *Nature* **365**, 721 (1993).

SZENTANDRASSY, N., SZENTESI, P., MAGYAR, J., NANASI, P.P. ve CSERNOCH, L., *Effect of Thymol on Kinetic Properties of Ca and K Currents in Rat Skeletal Muscle*, BMC Pharmacol., **3**, 9 (2003).

SZENTESI, P., SZAPPANOS, H., SZEGEDI, C., GONCZI, M., JONA, I., CSERI, J., KOVACS, L. ve CSERNOCH, L., *Altered Elementary Calcium Release Events and Enhanced Calcium Release by Thymol in Rat Skeletal Muscle*, Biophys. J., **86**, 1436-1453 (2004).

TAMURA, T. ve IWAMOTO, H., *A Classical Small-Molecule Compound That has a Dual Effect (Potentiating and Inhibitory) on Myosin*, Biochemical and Biophysical Research Communications, **318**, 786-791 (2004).

TAPON, N. ve HALL, A., *Rho, Rac and cdc42 GTPases Regulate the Organization of the Actin Cytoskeleton*, Curr. Opin. Cell Biol., **9**, 86-92 (1997).

THERIOT, J.A. ve MITCHISON, T.J., *Actin Microfilament Dynamics in Locomoting Cells*, Nature, **352**, 126-131 (1991).

TITU, M.A. ve GILBERT, S.P., *The Diversity of Molecular Motors: An Overview*, Cell Mol. Life Sci., **56**, 181-183 (1999).

TRIPATHY, D., *Neoplasia*, Lange Medical Books/McGraw Hill, New York (2000).

TURNER, P.C., MCLENNAN, A.G., BATES, A.D., WHITE, M.R.H., *Moleküler Biyoloji: Önemli Notlar*, Nobel Yayın Dağıtım, Ankara (2004).

TWETMAN, S., HALLGREN, A. ve PETERSSON, L.G., *Effect of Antibacterial Vamish on Mutant Streptococci in Plaque Form Enamel Adjacent to Orthodontic Appliances*, Caries Res., **29**, 188-191 (1995).

ULTEE, A. ve SMID, E.J., *Influence of Carvacrol on Growth and Toxin Production by Bacillus cereus*, International Journal of Food Microbiology, **64**, 373-378 (2001).

ULTEE, A., BENNIK, M.H.J. ve MOEZELAAR, R., *The Phenolic Hydroxyl Group of Carvacrol is Essential for Action Against the Food-Borne Pathogen Bacillus cereus*, Appl. Environ. Microbiol., **68**, 1561-1568 (2002).

UMINO, T., WANG, H., ZHU, Y., LIU, X., MANOULIOVA, L.S., SPURZEM, J.R., LEUSCHEN, M.P. ve RENNARD, S.I., *Modifications of Type I Collagenous Gels by Alveolar Epithelial Cells*, Am. J. Respir. Cell Mol. Biol., **22**, 702-707 (2000).

UZDENSKY, A., KOLPAKOVA, E., JUZENIENE, A., JUZENAS, P. ve MOAN, J., *The Effect of Sub-Lethal ALA-PDT on the Cytoskeleton and Adhesion of Cultured Human Cancer Cells*, Biochimica et Biophysica Acta, **73**, 119-121 (2004).

VADDI, H.K., HO, P.C., CHAN, Y.W. ve CHAN, S.Y., *Terpenes in Ethanol: Haloperidol Permeation and Partition Through Human Skin and Stratum Corneum Changes*, Journal of Controlled Release, **81**, 121-133 (2002).

VALE, R.D., FUNATSU, T., PIERCE, D.W., ROMBERG, L., HARADA, Y. ve YANAGIDA, T., *Nature* 380, **451** (1996).

VALSTER, A.H., PIERSON, E.S. ve VALENTA, R., *Probing Actin Cytoskeleton During Cytokinesis and Interphase by Profilin Microinjection*, *Plant Cell*, **9**, 1815-1824 (1997).

VAN DE BRAAK, S.A.A.J. ve LEIJTEN, G.C.J.J., *Essential Oils and Oleoresins: A Survey in the Netherlands and Other Major Markets in The European Union*, CBI, Centre for The Promotion of Imports From Developing Countries, Rotterdam, 116 (1999).

VAUGHN, S.F., SPENCER, G.F. ve SHASHA, B.S., *Volatile Compounds From Raspberry and Strawberry Fruit Inhibit Post Harvest Decay Fungi*, *J. Food Sci.*, **58**, 793-796 (1993).

VILLANUEVA, A., CANETE, M., NONELL, S., BORRELL, J.L., TEIXIDO ve JUARRANZ, A., *Photodamaging Effect of Tetraphenylporphycene in a Human Adenocarcinoma Cell Line*, *Anticancer Drug Des.*, **11**, 89-99 (1996).

VILPO, J.A., KOSKI, T. ve VILPO, L.M., *Selective Toxicity of Vincristine Against Chronic Lymphocytic Leukemia Cells In vitro*, *European Journal of Hematology*, **65**, 270-378 (2000).

VISEGRADY, B., LORINCZY, D., HILD, G., SOMOGYI, B. ve NYITRAI, M., *A Simple Model for the Cooperative Stabilisation of Actin Filaments by Phalloidin and Jasplakinolide*, *FEBS Letters*, **579**, 6-10 (2005).

WANG, Y.L., *Exchange of Actin Subunits in the Leading Edge of Living Fibroblasts: Possible Role of Treadmilling*, *J. Cell Biol.*, **101**, 597-602 (1985).

WANG, Z., KHAN, S. ve SHEETZ, M.P., *Biophys. J.*, **69**, 2011 (1995).

WATSON, J.D., *Molecular Biology of the Gene*, W.A. Benjamin Inc. (1976).

WILLIAMSON, R.E., *Organelle Movements*, *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, **44**, 181-202 (1993).

WOLFE, S.L., *Biology of the Cell*, Wadsworth Pub. Co., California (1981).

WULF, F.A., DEBOBEN, F.A., BAUTZ, H., WIELAND, T.H., *Fluorescent Phallotoxin, A Tool For The Visualization of Cellular Actin*, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **76**, 4498-4502 (1979).

YAMAGUCHI, T., CADWELL, J. ve FARMER, P.B., *Drug Metab. Dispos.*, **22**, 616 (1994).

YUCEL-LINDBERG, T., TWETMAN, S., SKOLD-LARSSON, K. ve MODEER, T., *Effect of An Antibacterial Dental Vamish on the Levels of Prostanoids, Leukotriene B4 and Interleukin-1 Beta in Gingival Crevicular Fluid*, *Acta Odontol Scand*, **57**, 23-27 (1999).

ZEYTINOGLU, H., GIBSON, I. ve ZEYTINOGLU, M., *Microscopic Analysis of A Cell Line Which Switches Between The Differentiated and The Transformed Phenotype*, *Micron*, **24**, 265-272 (1993).

ZHANG, J., WANG, Y.L., CHEN, X.Y., HE, C.L., CHENG, C. ve CAO, Y., *Preliminarily Investigating the Polymorphism of Cell-Organized Actin Filament in Vitro by Atomic Force Microscope*, *Acta Biochimica. Et. Biophysica. Sinica.*, **36**, 637-643 (2004).