

T.C.
KASTAMONU ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GENETİK VE BİYOMÜHENDİSLİK ANA BİLİM DALI



ÇEŞİTLİ MANTAR TÜRLERİNİN HCT116 HÜCRELERİ
ÜZERİNDEKİ SİTOTOKSİK ETKİSİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ

İPEK CEYLAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DR. ÖĞR. ÜYESİ DİLŞAD ÖZERKAN

MART - 2021
KASTAMONU

TEZ ONAYI

İpek CEYLAN tarafından hazırlanan “**Çeşitli Mantar Türlerinin HCT116 Hücreleri Üzerindeki Sitotoksik Etkisinin Değerlendirilmesi**” adlı tez çalışmasının savunma sınavı **19.03.2021** tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen jüri tarafından oy birliği ile Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Genetik ve Biyomühendislik Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Danışman	Dr. Öğr. Üyesi Dilşad ÖZERKAN İstinye Üniversitesi	
Jüri Üyesi	Prof. Dr. D. Serap KURUCA İstanbul Üniversitesi	
Jüri Üyesi	Dr. Öğr. Üyesi Nuray EMİN Kastamonu Üniversitesi	

Jüri üyeleri tarafından kabul edilmiş olan bu tez Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca onanmıştır.

Enstitü Müdürü	Prof. Dr. İzzet ŞENER	
----------------	-----------------------	-------

TAAHHÜTNAME

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu; ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını, bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini bildirir ve taahhüt ederim.

İpek CEYLAN

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ÇEŞİTLİ MANTAR TÜRLERİNİN HCT116 HÜCRELERİ ÜZERİNDEKİ SİTOTOKSİK ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

İPEK CEYLAN

KASTAMONU ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GENETİK VE BİYOMÜHENDİSLİK ANA BİLİM DALI

DANIŞMAN:DR. ÖĞR. ÜYESİ DİLŞAD ÖZERKAN

Mantar türleri, çeşitli hastalıklarda antibakteriyel, antioksidan ve antikanser ajan olarak yüzyıllardır kullanılmaktadır. Piyasada bulunan mevcut antikanser ilaçlar hedefe özel değildir ve birçok yan etkiye sahiptir. Mantarın mide bulantısı, kemik iliği baskılanması ve anemi gibi kanserin yan etkilerine karşı koruyucu özelliklere sahip olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle, onaylanmış anti-kanser özelliklerine sahip bazı mantarlar ve bunların aktif bileşikleri büyük ilgi görmektedir. Bu tez çalışmasında *Hericium coralloides*, *Lactarius deliciosus*, *Lepista nuda*, *Pleurotus ostreatus* ve *Suillus collitinus* mantar türlerinden etil alkol ve etil asetat çözücülerini ile elde edilen ekstraktların kolorektal kanser hücre hattı olan HCT116 üzerindeki etkinliği araştırıldı. Mantar ekstraktları hücrelere farklı konsantrasyonlarda uygulandı. Sağlıklı hücreler üzerindeki etkiyi değerlendirmek için mezenkimal kök hücreler (MKH) kullanıldı. Hücreler üzerinde oluşan sitotoksik etki MTT yöntemi ile belirlendi. Doz/cevap eğrileri hazırlanarak, bileşiklerin IC₅₀ değerleri hesaplandı ve ekstraktların etkinlikleri bu parametreye göre karşılaştırıldı. FTIR spektrofotometresi ise, uygun spektral aralıkta hücresel bileşenlerdeki kantitatif değişiklikleri analiz etmek için kullanıldı. Sonuç olarak bütün mantar türlerinin IC₅₀ değerleri değerlendirildiğinde HCT116 hücreleri üzerinde antiproliferatif etki gösterdiği, dolayısıyla sitotoksik olduğu belirlendi. Bunun aksine MKH üzerinde hücre proliferasyonu üzerinde anlamlı bir azalma saptanmadı. Çalışmada kullanılan mantar türlerinin kolorektal kanser hücrelerine karşı sitotoksik olduğu yapılan spektral analizlerle de desteklenmiş oldu. Hem hücre membran lipid/protein oranında, hem de nükleik asit değişimlere sebep olarak bu özelliklerini gösterdiler. Bu tez çalışmasında elde edilen veriler, bu mantar türlerinde anti-proliferatif etkiye sahip biyoaktif bileşenlerin tespit edilmesi halinde, modern farmakolojide antikanser ilaç üretiminde yeni bir kaynak olarak ortaya çıkabileceğini göstermektedir.

ANAHTAR KELİMELEER:Kolorektal kanser, *Hericium coralloides*, *Lactarius deliciosus*, *Lepista nuda*, *Pleurotus ostreatus*, *Suillus collitinus*, antiproliferatif, sitotoksik, FTIR

Mart 2021, 87 Sayfa



ABSTRACT

MSC THESIS

EVALUATION OF THE CYTOTOXIC EFFECTS OF VARIOUS MUSHROOM SPECIES ON HCT116 CELLS

İPEK CEYLAN

KASTAMONU UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE
DEPARTMENT OF GENETICS AND BIOENGINEERIN

SUPERVISOR:DR. LEARN. MEMBER OF DİLŞAD ÖZERKAN

Mushrooms have been used for centuries as antibacterial, antioxidant and anticancer agents in various diseases. The current anticancer drugs available on the market are not target specific and have many side effects. It has been determined that the fungus has protective properties against the side effects of cancer such as nausea, bone marrow suppression and anemia. Therefore, some fungi with approved anticancer properties and their active compounds are of great interest. In this thesis study, the efficacy of extracts obtained from fungal species *Hericium coralloides*, *Lactarius deliciosus*, *Lepista nuda*, *Pleurotus ostreatus* and *Suillus collitinus* with ethyl alcohol and ethyl acetate solvents on colorectal cancer cell line HCT116 was investigated. Mushroom extracts were applied to the cells at different concentrations. Mesenchymal stem cells (MSCs) were used to evaluate the effect on healthy cells. Cytotoxic effect on cells was determined by MTT method. Dose / response curves were prepared, the IC₅₀ values of the compounds were calculated and the efficiency of the extracts was compared according to this parameter. FTIR spectrophotometer was used to analyze quantitative changes in cellular components in the appropriate spectral range. As a result, when the IC₅₀ values of all fungi species were evaluated, it was determined that they had an antiproliferative effect on HCT116 cells and therefore they were cytotoxic. Conversely, no significant reduction in cell proliferation was detected on MSCs. The fact that the fungi species used in the study are cytotoxic against colorectal cancer cells has also been supported by spectral analysis. They showed these properties by causing changes in both cell membrane lipid / protein ratio and nucleic acid. The data obtained in this thesis study shows that if bioactive components with antiproliferative effect are detected in these fungal species, it may emerge as a new source in modern pharmacology in anticancer drug production.

KEYWORDS:Colorectal cancer, *Hericium coralloides*, *Lactarius deliciosus*, *Lepista nuda*, *Pleurotus ostreatus*, *Suillus collitinus*, antiproliferative, cytotoxic, FTIR

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasının planlanması, araştırılması ve yürütülmesinde bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, her zaman yanımda olan, bana zaman ayıran, yol gösteren ve bu sürede her şeyi başaracağıma inanmamı sağlayan çok değerli danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Dilşad ÖZERKAN'a, tüm içtenliğimle teşekkür ederim. Tez çalışmam boyunca gerekli malzeme ve laboratuvar imkanı sağlayan, bilgilerini hiçbir zaman eksik etmeyen, her koşulda yanımda olan değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Nuray EMİN'e, tez çalışmasında kullandığım mantar türlerinin temin edilmesinde ve ekstraksiyon çalışmaları süresince yardımlarını benden esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Ergin Murat ALTUNER'e çok teşekkür ederim. Birlikte çalışmaktan keyif aldığım laboratuvar arkadaşlarıma, her zaman yanımda olan bana destek olan canım arkadaşım Havva YAZAR'a ve özellikle tez çalışmamın her aşamasını birlikte yürüttüğümüz sevgili arkadaşım Hilal ZENGİN'e çok teşekkür ederim.

Hayatımın her anında yanımda olan, sevgilerini, emeklerini, bana olan inançlarını benden eksik etmeyen, maddi ve manevi destekleriyle her zaman yanımda olduklarını hissettiren, canım babam Talip CEYLAN'a, canım annem Birgül CEYLAN'a ve biricik kardeşim İrem CEYLAN'a sonsuz teşekkür ederim..

İPEK CEYLAN

Kastamonu, 2021

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
TEZ ONAYI	ii
TAAHHÜTNAME	iii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT	vi
TEŞEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
TABLolar DİZİNİ	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xiv
1. GİRİŞ.....	1
1.1 Mantarların Genel Özellikleri.....	1
1.2 Mantarların Karakteristik Özellikleri	2
1.3 Mantarların Sınıflandırılması	3
1.3.1 Chytridiomycota	3
1.3.2 Zygomycota	4
1.3.3 Glomeromycota	4
1.3.4 Ascomycota	4
1.3.5 Basidiomycota	5
1.4 Mantarların Bölümleri	5
1.4.1 Şapka.....	5
1.4.2 Lameller	5
1.4.3 Yüzük (Etek).....	6
1.4.4 Volva (Zarf)	6
1.4.5 Sporlar.....	6
1.4.6 Sap (Bacak).....	6
1.4.7 Hifler.....	6
1.4.8 Miselyum (Misel)	7
1.5 Mantarlarda Beslenme.....	7
1.6 Mantarlarda Üreme.....	8
1.6.1 Eşeyli Üreme.....	9
1.6.2 Eşeysiz Üreme	9
1.6.3 Mantarların Üremesini Etkileyen Faktörler	10
1.7 Mantarların Kimyasal Bileşimi	11
1.8 Mantarların Tıbbi Özellikleri	12
1.9 Mantarların Antioksidan Özellikleri.....	13
1.10 Mantarların Antimikrobiyal Özellikleri	13
1.11 Tez Çalışmasında Kullanılan Mantar Türleri	14
1.11.1 <i>Hericium coralloides</i>	14
1.11.2 <i>Lactarius deliciosus</i>	15
1.11.3 <i>Lepista nuda</i>	16
1.11.4 <i>Pleurotus ostreatus</i>	17
1.11.5 <i>Suillus collitinus</i>	18
2. KANSER	20
2.1 Kolon Kanseri.....	21

2.1.1	Kolon Kanseri Epidemiyolojisi	22
2.1.2	Kolon Kanseri Risk Faktörleri	22
2.1.3	Kolon Kanseri Etiyolojisi	23
2.1.3.1	Diyet	23
2.1.3.2	Obezite	24
2.1.3.3	İnflamatuvar bağırsak hastalığı	24
2.1.3.4	Çevresel faktörler	25
2.1.3.5	Lokalizasyon	25
2.1.3.6	Özgeçmişte adenom ve karsinom	25
2.1.3.7	Genetik faktörler ve aile öyküsü	25
2.1.3.8	Diğer faktörler	26
2.1.4	Kolonda Tümör Gelişimi	26
2.1.5	Kolon Kanseri Patolojisi	27
2.1.5.1	Kalıtsal kökenli kolon kanserleri	27
2.1.5.2	İnflamatuvar kökenli kolon kanserleri	28
2.1.5.3	Sporadik kökenli kolon kanserleri	28
2.1.6	Kolon Kanserinde Evreleme	28
2.1.7	Kolon Kanseri Tanısında Kullanılan Testler ve Yöntemler	31
2.1.7.1	Tümör belirteçleri	31
2.1.7.2	Kolonoskopi	32
2.1.7.3	Patoloji	32
3.	MANTARLAR VE KANSER	33
4.	YÖNTEM	38
4.1	Mantar Türleri ve Lokasyonları	38
4.2	Mantarlardan Etken Madde Ekstraksiyonu	38
4.2.1	Etil Alkol Ekstraktı	40
4.2.2	Etil Asetat Ekstraktı	40
4.3	Mantarların Etil Alkol ve Etil Asetat Ekstraktlarının Döner Buharlaştırıcıda Uzaklaştırılması	41
4.4	Kolorektal Kanser Hücre Kültürü	42
4.4.1	HCT116 Hücrelerinin Vasatının Hazırlanması	42
4.4.2	Kolorektal Hücre Serilerinin Hazırlanması	42
4.5	Mantar Ekstraktlarının Stok Çözeltilerinin ve Belirlenen Konsantrasyonlarda Dozların Hazırlanması	43
4.6	Sitotoksosite Testi (MTT)	44
4.7	Hücre Sayımı	44
4.8	Mezenkimal Kök Hücre Kültürü	46
4.8.1	Mezenkimal Kök Hücre Vasatının Hazırlanması	46
4.8.2	Mantar Türlerinin Mezenkimal Kök Hücrelere Uygulanması	46
4.9	FTIR Spektroskopisi İçin Numune Hazırlama	47
4.10	İstatistiksel Analiz	48
5.	BULGULAR	49
5.1	Sitotoksosite Bulguları	49
5.2	Morfolojik Analizler	54
5.3	Mezenkimal Kök Hücre Bulguları	55
5.4	FTIR Bulguları	56
5.4.1	Lipit Bölgesi İncelemesi	57
5.4.2	Protein Bölgesi İncelemesi	59
5.4.3	Nükleik Asit Bölgesi İncelemesi	61

5.4.4 Biyolojik Açıdan Analizi	62
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	68
KAYNAKLAR	74
ÖZGEÇMİŞ.....	87



ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1.1 Mantarların genel görünümü	2
Şekil 1.2 Genel olarak bir mantarın bölümleri.....	7
Şekil 1.3 Mantarlarda beslenme türleri	8
Şekil 1.4 Mantarlarda eşeyli üreme.....	9
Şekil 1.5 Mantarlarda eşeysiz üreme	10
Şekil 1.6 <i>Hericium coralloides</i>	15
Şekil 1.7 <i>Lactarius deliciosus</i>	16
Şekil 1.8 <i>Lepista nuda</i>	17
Şekil 1.9 <i>Pleurotus ostreatus</i>	18
Şekil 1.10 <i>Suillus collitinus</i>	19
Şekil 2.1 Normal kolon ve kanserleşmiş kolon.....	21
Şekil 2.2 Kolon kanseri TNM sınıflandırması	29
Şekil 2.3 Kolon kanseri evreleri.....	31
Şekil 4.1 Porselen havanlarda toz haline getirilmiş mantar örneği.....	39
Şekil 4.2 Mantar ekstraktları, çalkalyıcı üzerinde oda sıcaklığında, 3 gün süreyle çözücü ile muamele edilerek hazırlanmıştır.	39
Şekil 4.3 Toz haline getirilen örneklerin etil alkol ekstraktları.....	40
Şekil 4.4 Toz haline getirilen örneklerin etil asetat ekstraktları.....	41
Şekil 4.5 Mantar ekstraktlarının evaporasyon işlemi.....	41
Şekil 4.6 %80 doluluk durumunda kolorektal kanser hücreleri.....	43
Şekil 4.7 MTT reaktifi eklendikten sonraki 96-kuyucuklu petride formazan kristallerinin oluşumu	45
Şekil 4.8 %80 doluluk durumunda mezenkimal kök hücreler	47
Şekil 5.1 İnsan kolorektal kanser hücrelerinin etil alkolde hazırlanan mantar ekstraktları ile etkileştirilmesinin akabinde 570 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak yapılan kantitatif MTT analizi sonucu istatistiksel canlılık analiz grafikleri	50
Şekil 5.2 İnsan kolorektal kanser hücrelerinin etil asetatda hazırlanan mantar ekstraktları ile etkileştirilmesinin akabinde 570 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak yapılan kantitatif MTT analizi sonucu istatistiksel canlılık analiz grafikleri	51
Şekil 5.3 Etil alkol çözücüsü ile hazırlanmış olan M1, M2, M3, M4 ve M5 mantar türlerinin HCT116 hücre canlılığına etkisi	52
Şekil 5.4 Etil asetat çözücüsü ile hazırlanmış olan M1, M2, M3, M4 ve M5 mantar türlerinin HCT116 hücre canlılığına etkisi	53
Şekil 5.5 Etil alkol mantar türleri uygulanmış HCT116 kolorektal kanser hücrelerinin morfolojik görüntüleri	54
Şekil 5.6 Etil asetat mantar türleri uygulanmış HCT116 kolorektal kanser hücrelerinin morfolojik görüntüleri	55
Şekil 5.7 Etil alkol ve etil asetat çözücülerini kullanılarak hazırlanan mantar ekstraktlarının mezenkimal kök hücre proliferasyonuna etkisi	56
Şekil 5.8 Kontrol, M1-M5 (etil alkol ve etil asetat çözücülerini ile ekstraktları hazırlanmış) ve sisplatin uygulanmış HCT116 hücrelerinden elde edilen FTIR grafikleri	57

Şekil 5.9 3300-2800 cm ⁻¹ aralığı ayarlanmış lipit bölgesi	58
Şekil 5.10 1800-1200 cm ⁻¹ aralığı ayarlanmış protein bölgesi	60
Şekil 5.11 1200-900 cm ⁻¹ aralığı ayarlanmış nükleik asit bölgesi	62



TABLÖLAR DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Tablo 2.1 Kolon kanseri evrelemesi.....	30
Tablo 4.1 Mantar türlerinin etil alkol ve etil asetat ekstraktlarındaki konsantrasyonları.....	43
Tablo 5.1 IC ₅₀ değerine sahip etil alkol ve etil asetat konsantrasyonları	52
Tablo 5.2 Mantar türlerinin IC ₅₀ değerleri	53
Tablo 5.3 Kontrol, sisplatin ve mantar ekstraktları uygulanmış HCT116 hücrelerinin spektrumlarında elde edilen en önemli bantlar, atanmış hücresel bileşenlerle titreşim türleri ve pik değerleri.....	63
Tablo 5.4 İnsan HCT116 kolorektal kanser hücre gruplarında seçilen hücresel bileşenler için absorban yoğunluğu katsayılarının özeti...	65

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Kısaltmalar

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
ABM	: Agaricus blazei murrill
AJCC	: Amerika Birleşik Devletleri Komitesi
ARGE	: Araştırma Gelişme
ATCC	: American Type Culture Collection
BHA	: Bütillenmiş hidroksi anisol
BHT	: Bütillenmiş hidroksi tolüen
CA19-9	: Karbonhidrat antijen
CEA	: Karsinoembriyonik antijen
Chol	: Kolesterol
CLL	: Kronik lenfositik lösemi
DMEM	: Dulbecco's Modified Eagle's Medium
DMSO	: Dimetil sülfoksit
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
FAP	: Ailesel adenomatöz polipozis koli
FBS	: Fetal boval serum
FTIR	: Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektrometresi
GLE	: Ganoderma lucidum ekstraktı
GLT	: Ganoderma lucidum triterpenleri
HCC	: Hepatosellüler karsinom
HNPCC	: Herediter non-polipozis kolorektal kanser
IC₅₀	: İnhibisyon konsantrasyonu
KRK	: Kolorektal kanser
MERLAB	: Merkezi Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi
MKH	: Mezenkimal kök hücre
MMP	: Matris metalloproteaz
MÖ	: Milattan önce
mRNA	: Mesajcı ribo nükleik asit
MTT	: 3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromid
NF-KB	: Nükleer Faktör Kabba B
PBS	: Fosfat tamponlu salin
PC	: Fosfatidilkolin
PE	: Fosfatidiletanolamin
PI	: Fosfatidilinositol
PS	: Fosfatidilserin
PSK	: Polisakkaropeptid Krestin
RNA	: Ribo nükleik asit
SM	: Sfingomiyelin
TNM	: Tümör-Nod-Metastaz
α-MEM	: α -Minimum Essential Medium

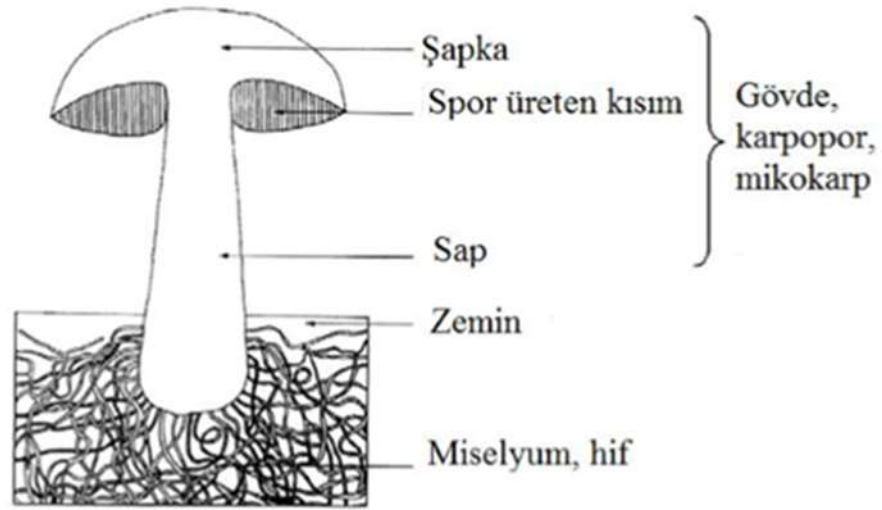
1. GİRİŞ

1.1 Mantarların Genel Özellikleri

Mantarlar, klorofil bulundurmeyen, heterotrof ilkel bir bitki grubudur. Mantarların yaprak, gövde, gerçek kök ve çiçek gibi organları bulunmaz. Yaşadıkları ortam, şekil ve büyüklük açısından çok farklı çeşitleri bulunmaktadır. Klorofil taşımadıklarından fotosentez yapamazlar. Mantarların bazıları canlılar üzerinde parazit olarak, bazıları cansız maddeler üzerinde saprofit olarak yaşarlar. Bazı mantar türleri ise algler ile ortak bir yaşam alanına girerek likenleri oluştururlar (Tanker, 2007).

Mantarlar “tallus” adı verilen tekli veya çoklu liflerden meydana gelir. Oluşan bu liflerin her birine “hif” denir. Hifler bir araya gelerek ağ şeklinde bir yapı oluştururlar, bu yapıya “misel” adı verilir. Besinlerini absorpsiyon ile dışarıdan alırlar. Sindirim enzimlerini makromoleküller için dışarı salarlar ve küçük moleküllere parçalanan besinleri ise hücre içine alırlar (Sümer, 2006; Tamer, 2006; Işık, 2008).

Mantarların gelişebilmeleri için sıcaklık, oksijen ve su miktarı oldukça önemlidir. Kimyasal olarak ise makro elementlerden azot, karbon, fosfor ve potasyuma; mikro elementlerden ise çinko ve bakıra ihtiyaç duyarlar. Mantarlar eşeyli ve eşeysiz olarak ürerler. Eşeyli üremeleri gamet denilen eşey hücrelerinin birleşmesi ile olurken; eşeysiz üremeleri ise spor denilen yapılarla, bölünerek ve tomurcuklanma ile olur (Sümer, 2006; Işık, 2008; Özcan, 2015).



Şekil 1.1 Mantarların genel görünümü (Özcan, 2015)

1.2 Mantarların Karakteristik Özellikleri

- Mantarlar çift katlı zarla çevrili nükleusları olan ökaryotik canlılardır. Sitoplazmalarında zarla çevrili organellere sahiptirler (Özcan, 2015).
- Mantarlar heterotroflardır (kemo-organotroflar). Başka bir deyişle, enerji kaynağı olarak ve ayrıca hücresel sentez için karbon iskeleti olarak önceden oluşturulmuş organik bileşiklere ihtiyaçları vardır (Deacon, 2013).
- Mantarlar, tipik olarak kitin ve glukan (baskın olarak β -1,3 ve β -1,6 bağlantılarına sahip glikoz polimerleri) içeren farklı bir duvar bileşenleri yelpazesine sahiptir. Bazı mantar duvarlarında, özellikle ilkel mantarların bazılarında kısa uzunluklarda selüloz (a β -1,4'e bağlı bir glikoz polimeri) tespit edilmiştir. Mantarların selüloz yönünden zengin hücre duvarları yoktur (Deacon, 2013).
- Mantarlar başlıca yağ ve glikojen depo eder; mannitol ve diğer maddeler de bulunur, fakat nişasta bulunmaz (Tanker, 2007).

- Mantarlar tipik olarak haploid çekirdeklere sahiptir. Bütün ökaryotlardan önemli bir farktır. Ancak birçok tomurcuklanan maya diploiddir (Deacon, 2013).
- Çözünebilir besinleri hücre duvarı ve plazma zarı içinden emer (Deacon, 2013).
- Sporlar üretir (Deacon, 2013).

1.3 Mantarların Sınıflandırılması

Mantarlar yıllarca bitkiler alemi içinde sınıflandırılmışlardır. Yapılan çalışmalar sonucunda modern mikroskopik yöntemlerle mantarlar ayrı bir grup olarak sınıflandırılmışlardır (Özcan, 2015). Mantarlara ait ilk sınıflandırma Linnaeus tarafından yapılmış olup, “Species Plantarum” adlı kitabında mantarları Cryptogamia Fungi sınıfında toplamıştır (Yılmaz, 2015). 100.000’in üzerinde teşhisi yapılan mantarlar 5 grup altında toplanmaktadır. Bunlar; Chytridiomycota, Zygomycota, Glomeromycota, Ascomycota ve Basidiomycota’dır (Tunçakın, 2015).

Mantarların taksonomisi sürekli olarak değişmekte ve gelişmektedir. Geçmişten günümüze kadar çeşitli sınıflandırmalar yapılmıştır. Gelişen moleküler teknikler ile mantarların taksonomisi daha doğru ve daha güvenilir sonuçlar vermektedir (Şahin, 2014).

1.3.1 Chytridiomycota

Kitridler olarak adlandırılan Chytridiomycota şubesi, adını spor yapılarının benzerliğinden dolayı Yunanca “küçük kap” anlamında olan Chytridiondan almaktadır. Kitridler, özellikle kitin ve keratini çürüten mantar grubudur. Bazıları sularda bulunmakla birlikte çoğunlukla tatlı sularda bulunurlar. Diğer mantar türlerinde olduğu gibi kitridlerin de hücre duvarları kitinden yapılmıştır. Kitridler, bitkilerde patojendir. *Synchytrium endobioticum* türü, patatesti siyah siğil yapan bir patojendir. Yaklaşık 1000 civarında kitrid türünün bazıları ayrıştırıcı, bazıları ise protista, başka mantar, hayvan veya bitki parazitleridir. Sığırların ve koyunların

sindirim organlarında yer alan kitridler bitkisel kökenli maddelerin parçalanmasını sağlayarak hayvanların büyümesine katkı sağlar (Reece, 2013; URL-1, 2019).

1.3.2 Zygomycota

Gelişmiş olan bir mantar grubudur. Hifleri selüloz yapısında olup, oldukça gelişmiştir. Ancak hiflerde bölme bulunmaz. Sitoplazmalarında çok miktarda çekirdek bulunmaktadır. Miselyumları sayesinde besinlerini almakta ve üremelerini sağlamaktadırlar. Eşeyli üreme, eşeyli üremeyi takip etmektedir. Zygomycota grubuna ait mantarlar, insanlarda çeşitli hastalıklara neden olmaktadır. Gıda ürünlerinin hazırlanmasında fermantasyonun başlatıcısı olarak görev yapmaktadır. Ayrıca gıdaların bozulmasında öncül parçalayıcı olarak görev almaktadır (Voight, 2013; URL-2, 2019).

1.3.3 Glomeromycota

En az 400 milyon yıl öncesine dayanan fosil kayıtlarında yer almaktadır. Bu gruba ait mantar türleri, damarlı bitkileri yaklaşık %80'i ile endomikoriza adı verilen mutualistik bir ilişki göstermektedirler. Yüzlerce ya da binlerce çekirdek bulunduran kalın duvarlı sporlar ile üremelerini gerçekleştirmektedirler. Glomeromycota mantarlarında eşeyli üreme bilinmemektedir, bitki kökleri olmaksızın canlı kalamazlar (Carris, 2012; URL-3, 2019).

1.3.4 Ascomycota

Asklı mantarlar, “bira mayası mantarları” olarak da bilinmektedir. Ayrıca “askus” bu şubenin mikroskopik sporlarına verilen bir isimdir. Bazidyumlu mantarlar ile filogenetik olarak akrabadırlar. Pek çok maya mantarı ve küf mantarı bu şube içinde yer almaktadır. Çoğunluğu karada yaşamakla birlikte, bazıları da sularda yaşamaktadır. Hiflerinde bölme çeper bulunmaktadır, genellikle tek çekirdeklidirler ve nadiren de çok çekirdeklidirler. İnsanlarda ve hayvanlarda deri ve solunum hastalıklarına neden olmaktadır ve çeşitli bitkilerde de parazittirler. İnsana fayda sağlayan türleri de bulunmaktadır. Ascomycota grubunun temel özelliği, mayoz

bölünme geçirdikten sonra sporların oluştuğu keseciklerin (askusların) olmasıdır (Sümer, 2000; URL-4, 2019).

1.3.5 Basidiomycota

Bazitli mantarlar ya da topuzlu mantarlar olarak adlandırılan Basidiomycota grubu, mantarlar aleminin büyük bir bölümünü oluşturmaktadır. Topuz şekilli bazit adı verilen yapılar üzerinde sporları meydana getiren türlerden oluşmaktadır. Askılı mantarların kardeş grubu sayılmaktadırlar. Bazidyumlu mantarlar Homobasidiomycetes (gerçek mantarlar) ve Heterobasidiomycetes (pas ve rastık mantarları) olarak iki gruba ayrılmaktadır. Bazidyumlu mantarlar hem karada hem de deniz dahil olmak üzere suda bulunmaktadır. Hücre duvarları kitin ve glukandan oluşmakta olup, çok tabakalı bir yapıya sahiptir. Mantarların pek çoğu gruba girmektedir; raf, şapka ve kuş yuvası şekilli mantarlar bu gruba mensuptur (Sümer, 2000; URL-5, 2019).

1.4 Mantarların Bölümleri

1.4.1 Şapka

Mantarın tepe bölümüdür. Şapka kısmı mantar türünün tayin edilmesi ve mantar türünün farklı türler ile karşılaştırılması açısından oldukça önemlidir. Fakat, şapka çeşitli çevresel şartlara bağlı olarak fiziksel olarak değişebilmektedir. Bu nedenle sadece şapkanın son durumuna bakılarak doğru bir ayırım yapılamaz.

1.4.2 Lameller

Şapkanın alt kısmında yer alan ve mantarların üremesini sağlayan sporların üretildiği yapılardır. Lamel yapısı, mantar türleri arasında ayırım yapmada görevlidir. Fakat tek bir özellik ele alınıp, sadece lamel yapısına bakılarak ayırım yapmak doğru değildir.

1.4.3 Yüzük (Etek)

Şapka bölümü gelişirken altındaki zardan geriye kalan parçadır. Bazı mantar türlerinde vardır, bazı mantar türlerinde yoktur, bazıları ise gelişirken bu kısmı kaybedebilir. Yüzük, tür tayini ya da türleri karşılaştırmada bir ayırım seçeneği olarak değerlendirilebilir. Sadece yüzük bölümüne bakılarak doğru bir ayırım yapmak mümkün değildir.

1.4.4 Volva (Zarf)

Tanımlama için oldukça önemlidir. Bu nedenle, mantarları keserek değil dikkatli bir şekilde sökerek toplamak gerekmektedir. Bazı mantarlarda vardır, bazılarında yoktur.

1.4.5 Sporlar

Şapkanın alt kısmında yer alan, mantarların çoğalmasını sağlayan yapılardır. Her bir mantar türü kendine özel sporlar üretmektedir. Bu nedenle, her bir mantar türünün spor izlerinin mikroskop altında incelenmesiyle tür tayini yapılabilmektedir.

1.4.6 Sap (Bacak)

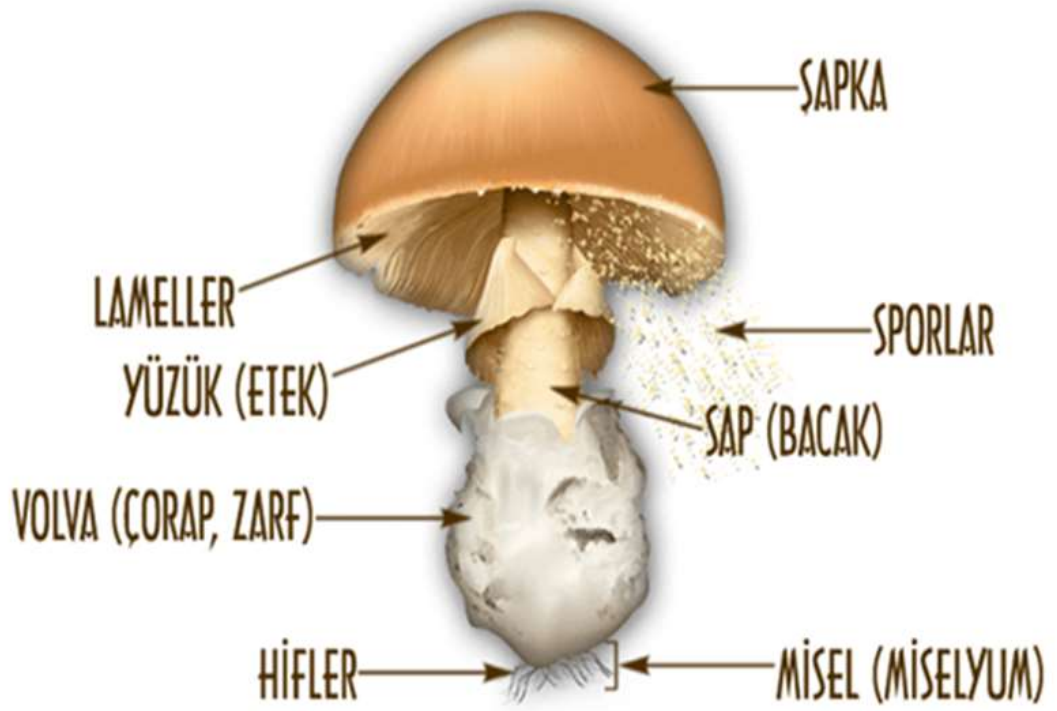
Hemen hemen her mantarın sap kısmı bulunur. Sap, taşıdığı özellikler sayesinde cins ve türler arasında belirleyici bir görev almaktadır. Sap rengi, sap dokusu, sapın yüzük taşıyıp taşımadığı ve sapın volva içerisinde olup olmadığı gibi özellikler mantarların türlerini belirlemede yardımcı olmaktadır. Sadece sap kısmına bakılarak doğru bir tür tayini yapmak mümkün değildir.

1.4.7 Hifler

Vejetatif büyüme ve gelişmenin ana şeklidir. Hifler, dallanma şeklinde kendini gösteren ipliksi mantar yapısıdır.

1.4.8 Miselyum (Misel)

Hiflerin kendi aralarında birleşmeleri ile miselyum oluşmaktadır. Miseller, canlının bulunduğu ortama tutunmasını ve beslenmesini sağlamaktadır (URL-6, 2019).



Şekil 1.2 Genel olarak bir mantarın bölümleri (URL-6, 2019)

1.5 Mantarlarda Beslenme

Mantarlarda klorofil bulunmadığı için besinlerini diğer canlılardan ya da ölü atıklardan alırlar. Mantarlar, saprofit, parazit ya da mikorizal olarak yaşarlar. Saprofit olarak yaşayan mantarlar, besinlerini doğrudan içerisinde yaşadıkları ortamdan alırlar. Parazit olanlar miseli konukçusu olan bitki yüzeyinde ya da bitki dokusu içinde yayılırlar. Mikorizal türler ise çoğunlukla bir ağaç olan konak bitkiye yakın, mutualist bir ilişki kurmaktadır. Mantarlardan bazıları kültür mantarının temelini oluştururken, mikorizal türler tam olarak kültüre alınamamıştır (Sümer, 2000; Yıldız, 2000; Kalaç, 2013).



Şekil 1.3 Mantarlarda beslenme türleri (URL-7, 2019)

Karbonhidratlar, proteinler, mineraller, vitaminler ve lifler yönünden oldukça zengin bir içeriğe sahiptirler. Mantarlar düşük kalori içermekte, özel aromaları ve lezzetli tatları ile pek çok ülkede gıda olarak tüketilmektedir. Karbonhidrat ve yağ değerleri oldukça düşük seviyede olan mantarlar, sağlıklı beslenme diyeti için aranan pek çok özelliğe sahiptirler. Ayrıca mantarlar vejeteryanlar için de önemli bir besin kaynağıdır (Diyabalanage, 2008; Kalaç, 2013; Feeney, 2014).

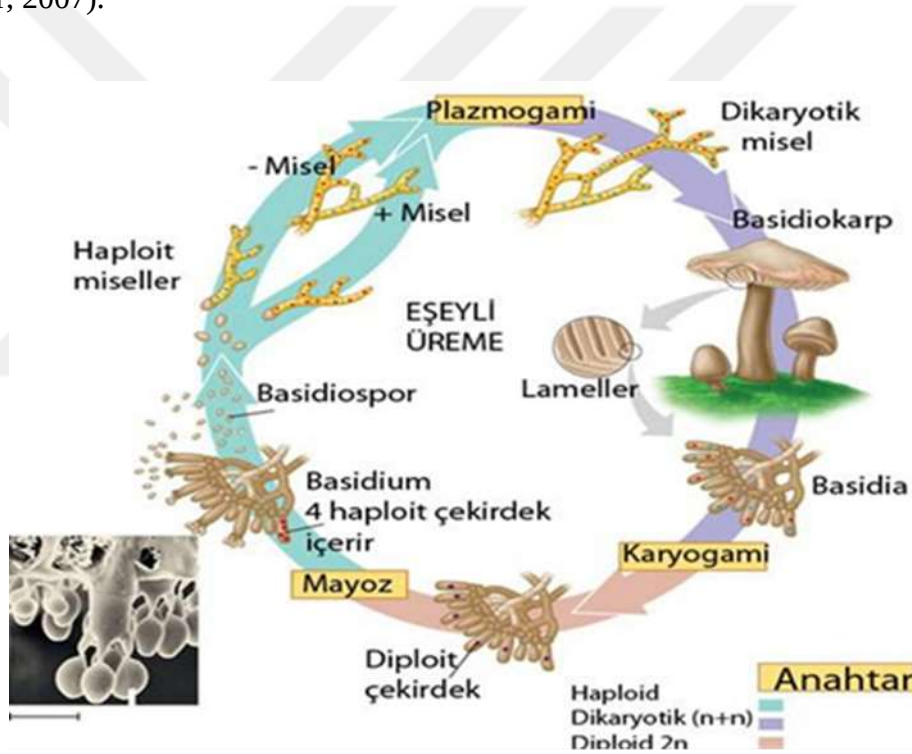
Yenilebilir mantarlar iyi bir lif kaynağıdır. Bu mantarların hücre duvarı kitin, hemisellüloz, mannan ve β -glukan'dan oluşmaktadır. β -glukanın insan sağlığı üzerinde olumlu etkileri bulunmaktadır. β -glukan kandaki kolesterol ve kan şekeri düzeyini azaltır ve bağışıklık sistemin etkinliğini artırır. Vücutta sindirimi kolay olmadığı için düşük miktarlarda (en fazla 1 kg) tüketimi önerilmektedir (Eren, 2017).

1.6 Mantarlarda Üreme

Mantarlarda üreme, mantar türlerine ve ortamın şartlarına göre değişmekte olup, eşeyli ve eşeysiz olarak gerçekleşmektedir. Eşeysiz üreme daha yaygındır ve eşeysiz sporlar ile gerçekleşmektedir. Eşeyli üreme ise eşeyli yoldan oluşan sporlar ile gerçekleşmektedir (Sümer, 2000; Tanker, 2007).

1.6.1 Eşeyli Üreme

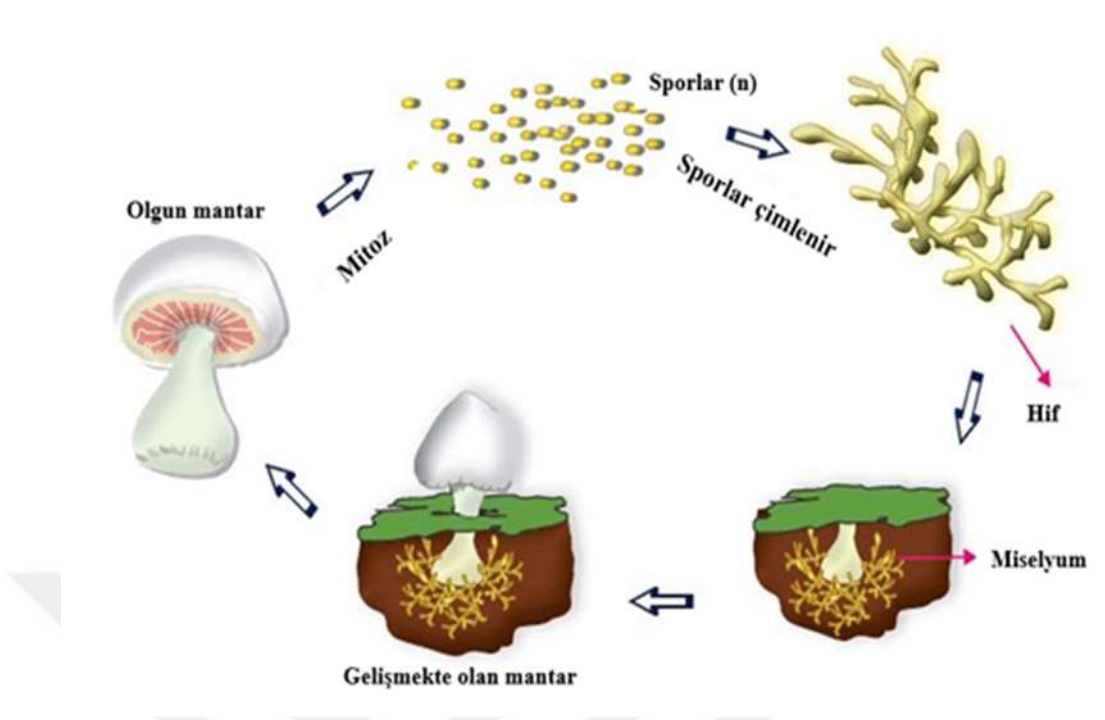
Mantarlarda eşeyli üreme gamet adı verilen eşey hücrelerinin birleşmesiyle meydana gelmektedir. Eşeyli üreme evreleri şu şekildedir: Birbirine uyumlu iki mantar hücresinin bir araya gelmesi (plazmogami), haploid çekirdeklerin füzyonu (karyogami) ve çekirdeğin bölünmesi (mayoz) ile haploid hücrenin meydana gelmesidir (Mutlu, 1999). Eşeyli sporların meydana gelmesinde izogami (birleşen gametlerin morfolojik yapıları aynı fizyolojik özellikleri farklı), anizogami (gametler kamçılı, biri büyük, diğeri ise küçük) ve oogami (gametlerden biri büyük ve kamçısızdır; diğeri küçük ve kamçılıdır) olayları gerçekleşmektedir (Sümer, 2000; Tanker, 2007).



Şekil 1.4 Mantarlarda eşeyli üreme (URL-8, 2019)

1.6.2 Eşeysiz Üreme

Mantarlarda eşeysiz üreme, spor adı verilen yapılarla, bölünme ve tomurcuklanma ile gerçekleşmektedir. Eşeysiz üreme, tek bir ana hücrenin mitoz bölünmesi ile meydana gelir. Bu üreme biçiminde hif sayısı artmakta, koloni büyümekte ve eşeysiz çoğalabilen yapılar (konidiyumlar) oluşmaktadır (Mutlu, 1999).



Şekil 1.5 Mantarlarda eşeysiz üreme (URL-9, 2019)

1.6.3 Mantarların Üremesini Etkileyen Faktörler

Mantarların hücre duvarları kitin ve selüloz karakterindeki maddelerden oluşmaktadır. Bu maddeler, mantarların sürekli değişen ve değişik olan çevre koşullarına uymalarına yardımcı olmaktadır.

Mantarlar mezofil organizmalardır. Bu nedenle 10-40°C’de üreyebilmektedirler. Optimal üreme ısıları 25-35°C’dir. Bu sıcaklık değerleri mantarların türlerine göre değişim göstermektedir. Mantarların üremesine nem olumlu yönde etki etmektedir. Nem azaldıkça çoğalmaları sınırlanmaya başlamaktadır. Mantarlar aerob organizmalar olup, oksijenin bulunduğu ortamlarda gelişim gösterirler ve ürerler. Havada mevcut olan oksijen, üreme için yeterli olmaktadır. Mantarlar düşük pH derecelerinde kolayca üreme gösterebilir ve bu ortamlara kolayca adapte olabilirler. pH limitleri 2-11 arasında olabilmektedir (Alexopoulos, 1996; Mutlu, 1999).

1.7 Mantarların Kimyasal Bileşimi

Mantarlar, vitamin ve protein bakımından zengindirler ve böylece insan sağlığı için önemli bir besin kaynağıdır. Taze mantarın %92'lik kısmı sudan oluşmakta olup geri kalan %8'lik kısım ise karbonhidrat, protein, vitamin, yağ, fosfor, potasyum, bakır, kalsiyum, demir, lif ve külden oluşmaktadır. Yenilebilir mantarların tatlarının lezzetli ve sindiriminin kolay olması, bu mantarların karbonhidrat, protein, yağ, mineral ve vitamin bakımından değerlerinin iyi olmasına bağlıdır (Matilla, 2002).

Mantarlar et, süt ve yumurta ile karşılaştırıldığında yenilebilir olanların oldukça besleyici etkisi olduğu bilinmektedir. Mantarlardaki sindirilebilir protein kaynağı, et, süt ve yumurtadakinden daha az, sebzedeki proteinden daha çok olabilmektedir. Kuru ağırlık olarak bakıldığında protein miktarı, %10-40 arasında değişebilmektedir. Mantarlar esansiyel olan tüm aminoasitleri içermektedir fakat metiyonin ve sistin aminoasitlerini az miktarda bulundurlar (Breene, 1990; Chang, 1991; Smith, 2002).

Karbonhidratlar, mantarların kuru ağırlığının yarısını oluşturur. Karbonhidrat bileşenleri, pentozlar, heksozlar, disakkaritler (trehaloz), şeker alkoller (mannitol), amino şekerler ve şeker asitleri olmak üzere geniş bir alandan oluşmaktadır. Ayrıca glikojen ve kitin mantarlarda bulunan ve hücre duvarının temel bileşeni olan karbonhidratlardır. Mantar şekeri olarak da bilinen trehaloz, sadece genç olan mantarlarda önemli miktarda bulunmaktadır ve mantar olgunlaşmaya başladıkça glikoz olarak hidrolize edilmektedir (Matilla, 2002; Barros, 2007).

Mantarlar ayrıca kalsiyum, potasyum, fosfor, çinko, bakır ve magnezyum gibi mineralleri içermektedir. Özellikle tiyamin (B1), riboflavin (B2), niyasin (B3), nikotinik asit (B5), biyotin (B7) ve C (askorbik asit) vitamini yönünden de oldukça zengindirler. Ayrıca mantarlar en iyi D vitamini kaynağıdır (Boztok, 1990; Mithril, 2013; Feeney, 2014).

Mantarlarda yağ seviyesi oldukça düşüktür. Mantarın kuru ağırlığının yaklaşık olarak %2-8'ini oluşturmaktadır. Mantarlarda bulunan yağlar, monogliseritler, digliseritler, trigliseritler, yağ asitleri, steroller ve fosfolipidler dahil bütün ana bileşenlerden oluşmaktadır (Smith, 2002).

1.8 Mantarların Tıbbi Özellikleri

Mantarlar, yüzyıllardır doğu ülkelerinde ilaç olarak kullanılmaktadır. Birçok bilimsel araştırma yapılmış olup bu araştırmalar sonucunda mantarların bağışıklık sistemini güçlendirdiği ve sağlığı önemli ölçüde koruduğu kanıtlanmıştır (Öztürk, 2009).

Mantarlar sahip oldukları besinsel değerleri ve tıbbi özelliklerinden dolayı insanlar tarafından yaygın olarak kullanılmaktadır. Bileşimlerinde var olan etken maddelerin ekstrakte edilmesiyle pek çok hastalığın tedavisinde ya da hastalığın önlenmesinde kullanılmaktadır (Conchran, 1978).

Tıbbi özelliklerinden dolayı pek çok mantar türü izole edilmiştir. Bu mantarlar arasında *Ganoderma lucidum* (Reishi), *Agaricus blazei* (Hime matsutake), *Pleurotus ostreatus* (Kayın mantarı), *Hericium erinaceus* (Aslan yelesi) ve *Lentinus edodes* (Shiitake) türleri sayılabilmektedir. Bu mantar türleri çeşitli biyoaktif bileşenler içermektedirler. Bu biyoaktif bileşenler ise polisakkaritler, oligosakkaritler, diyet lifi, vitaminler, aminoasitler, alkoller ve fenoller, proteinler ve çeşitli minerallerdir. İçerdikleri bu biyoaktif bileşenler sayesinde bağışıklık sistemini güçlendirici, antikanser, kan basıncı kontrolü, kolesterol düşürücü, böbrekler ve karaciğerde koruyucu etkisi ve kalp ritminin düzenlenmesi gibi özelliklere sahiptirler (Öztürk, 2009; Ganeshpurkar, 2010).

Mantarlar aynı zamanda doğal antioksidan olarak kullanılmaktadırlar. Sebzelerde bulunan antioksidanlar, insan sağlığı açısından önemli koruyucu maddeler olan fenolik bileşikler, karotenoidler, tokoferol ve askorbik asittir. Mantarlar bu bileşikler açısından oldukça zengindirler. Mantarlar ile ilgili pek çok antioksidan çalışması yapılmıştır. Ülkemizde yapılan bir araştırmada, Anadolu'nun farklı bölgelerinden çeşitli doğal mantar türlerinin incelenmesi sonucunda doğal mantarların antioksidan kaynağı olarak kullanılabileceği bildirilmiştir (Turp, 2018).

Kolesterol miktarını azaltmada; *Cordyceps sinensis*, *Ganoderma lucidum*, *Pleurotus ostreatus* mantarları, kan basıncını azaltmada; *Ganoderma lucidum*, *Grifola frondosa* mantarları, trigliserid seviyesini azaltmada; *Cordyceps sinensis*, *Lentinus edodes* gibi mantar türleri etkilidir (Özdemir, 2014).

Shiitake olarak da bilinen *Lentinus edodes*, kan dolaşımını düzenlemede, yüksek tansiyonun önlenmesinde, beyin kanamalarının önlenmesinde etkilidir. Ayrıca soğuk algınlığı, mide ve baş ağrısını tedavi edici, bağışıklık sistemini güçlendirici ve hepatit B hastalığını tedavi edici özellikleri bulunmaktadır (Öztürk, 2009).

1.9 Mantarların Antioksidan Özellikleri

Antioksidanlar, serbest radikal oluşumunu engelleyerek ya da var olan radikalleri süpürerek hücrenin hasara uğramasını engelleyen ve genellikle yapısında fenolik fonksiyon bulunduran moleküllerdir (Nagai, 2005).

Antioksidanlar doğal ve yapay antioksidanlar olmak üzere iki grupta incelenir. Başlıca en önemli antioksidanlar fenolik asitler, vitamin C, karotenoidler ve tokoferollerdir. Bütillenmiş hidroksi tolüen (BHT), bütillenmiş hidroksi anisol (BHA) gibi antioksidanlar ise gıda sektöründe sıklıkla kullanılan yapay antioksidanlardır. Sentetik antioksidanların düşük miktarlarda kullanımının kanseri engellediği, ancak bu antioksidanların yüksek miktarlarda kullanımının karsinogeneze ve karaciğerin zarar görmesine neden olduğu çeşitli araştırmalar sonucunda tespit edilmiştir. Sonuç olarak doğal antioksidanlara olan ilgi daha da artmıştır (Özcan, 2015; Saldır, 2015).

1.10 Mantarların Antimikrobiyal Özellikleri

Günümüzde pek çok mikroorganizma kaynaklı doğal ve yapay antimikrobiyal madde sentezlenmektedir, ancak insanlar için enfeksiyon hastalıkları önemli tehdit oluşturmaktadır. Çeşitli ilaçların çare olmaması, ilaçlara olan alerji, ilaçların çeşitli yan etkileri ve antibiyotik direnci gibi nedenlerden dolayı mikroorganizmalarla savaşmada yeni, doğal kaynaklar aranmaktadır. Doğal kaynak olarak en dikkat çekici mantar türü şapkalı mantarlardır. Küf mantarları gibi şapkalı mantarlar da yaşamlarını devam ettirebilmek için antimikrobiyal ve antifungal bileşiklere ihtiyaç duymaktadırlar. Bu amaçla mantarlar ikincil metabolizma ürünü olarak mikotoksin ve antibiyotik sentezlemektedirler (Sümer, 2006; Yamaç, 2006; Ejikeme, 2010; Nedelkoska, 2013).

Antibiyotikler, mikroorganizma tarafından sentezlenmekte olan ve başka bir mikroorganizmanın gelişimini engelleyen ve hatta öldüren maddelerdir.

Antibiyotiklerin hücre duvarı sentezini engelleme, DNA ve protein sentezini engelleme gibi etki mekanizmaları bulunmaktadır. Mikotoksinler ise mantarların ürettiği, mantar dışındaki organizmalar üzerinde zehirlenme, mutasyona neden olma, immün sistemi bozma ve kansere neden olma gibi etkileri bulunan kimyasal maddelerdir. Özellikle aflatoksin mikotoksini, çeşitli kabuklu kuru yemiş yemekle vücuda girmekte ve karaciğerde karsinogen etki yapmaktadır. Bir diğer önemli mikotoksin olan amanitin ise mRNA üretimini engellemektedir (Sümer, 2006; Levinson, 2008).

1.11 Tez Çalışmasında Kullanılan Mantar Türleri

1.11.1 *Hericium coralloides*

Hericium coralloides, Basidiomycota soyundan, Agaricomycetes sınıfından, Russulales cinsinden, Hericiaceae familyasına ait yenilebilir diş mantarıdır. Genellikle kısa sapları bulunmaktadır ve daha çok Avrupa, Asya ve Kuzey Amerika'daki ölü odunlarda ya da yaşayan ağaçlarda bulunan beyazımsı, aşağıya doğru yayılan dikenler kümesinden oluşmaktadır. *H. coralloides*'ten izole edilen bileşikler sinir büyüme faktörünü indüklemiş ve bazı kanser hücre hatlarına karşı antiproliferatif aktivite göstermiştir (Julian, 2018).

Hericium coralloides, genellikle sadece birkaç mevsim meyvelerini veren düşmüş kütüklerde bulunur. *H. coralloides*'in meyve organları da yenilebilir ve ekilebilir, ancak genel olarak ticari olarak yetiştirilmemektedir (Crockatt, 2008).

H. coralloides, Ağustos ve Aralık ayları arasında meyve vermeye meyillidir. Meyve kütlelerinin zaman zaman hayatta kaldığı ve donma ve kar yağma dönemlerine sahip olan Ocak ayında veya hatta Şubat'ta sporlaştığı tespit edilmiştir. *H. coralloides* bir ağaçta daha düzenli olarak meyve verir. Yapay kültürde hızla meyve verir, bu da geç meyve vermenin içsel olmadığını gösterir (Boddy, 2011).



Şekil 1.6 *Hericium coralloides* (URL-10, 2019)

1.11.2 *Lactarius deliciosus*

Kanlıca, melki ve çam mantarı olarak adlandırılan *Lactarius deliciosus*, Russulaceae ailesinden olan yenilebilir yabani bir mantar türüdür. Düz, yapışkan ve kaygan bir yüzeyi bulunmaktadır. Şapkaları yayvanlaşmış ve çukurlaşmış bir huniye benzemekte olup, 5-14 cm çapa sahiptirler. Genellikle turuncunun renkleri tonuna sahip olan bu mantar türüne herhangi bir temasta bulunulduğunda ya da zedelenmesi durumunda parça parça düzensiz koyu yeşil bir renk almaktadır (Tunçakın, 2015; Eren, 2017; URL-11, 2019).

5-8 cm uzunluğunda, 1,5-2 cm kalınlığında, içi boşluklu ve turuncu renkli bir sapa sahiptir. Yine dokunmayla ya da yaşlanmayla birlikte sapları yeşil lekeli bir görünüm almaktadır. *L. deliciosus*, genellikle Avrupa’da yetişmekte olup, çeşitli ülkelerde çam ya da meşe ağaçlarının bulunduğu bölgelerde, çayırlıklarda ve yosunlarla kaplı alanlarda yetişmektedir. Ağustos ve Kasım ayları boyunca yetişmektedir (Tunçakın, 2015; URL-11, 2019).

L. deliciosus, meyvemsi bir kokuya sahip olup, tadı hafif keskin ve lezzetlidir. Ancak çiğ olarak tüketilmeye uygun değildir. Özellikle genç olanlar tüketilmelidir çünkü yaşlı olanlar böcekler tarafından istila edilmiş durumdadır. Sirkeyle salamura yapılarak ya da tuzlanmayla saklanabilmektedir. *L. deliciosus*, Türkiye’de en fazla tüketilen yabani mantardır (Eren, 2017; URL-11, 2019).



Şekil 1.7 *Lactarius deliciosus* (URL-12, 2019)

1.11.3 *Lepista nuda*

Mavi cincile olarak da adlandırılan *Lepista nuda*, Tricholomataceae ailesinden olup yenilebilir yabani bir mantar türüdür. Şapkası gelişmiş halde hafif dalgalı yarım küre şeklinde, kahverengi renkte olup; sapı ise silindirik şekillidir ve toprak içindeki kısımda menekşe renkli miseller bulunmaktadır. Sapın üst kısmı genç olanlarda menekşe renklidir, gelişmiş olanlarda ise beyaz lekeler bulunmaktadır. *L. nuda*, yumuşak ve sulu bir yapıda olup, hoş kokuludur. Oldukça lezzetli bir mantardır (Eren, 2017; URL-11, 2019).

Lepista nuda, sonbahar ve erken kış dönemlerinde her türlü ormanda yetişmektedir. İlkbaharda Giresun Bölgesi'nde ve Toroslarda gözlenmiştir. Günümüzde sirke içinde yemeklik konservesi yapılmaktadır (Eren, 2017; URL-11, 2019).



Şekil 1.8 *Lepista nuda* (URL-13, 2019)

1.11.4 *Pleurotus ostreatus*

İstiridye mantarı ya da kayın mantarı olarak da bilinen *Pleurotus ostreatus*, Pleurotaceae ailesinden olan yenilebilir yabani bir mantardır. *P. ostreatus*, ekonomik, ekolojik ve tıbbi özelliklerinden dolayı *Agaricus bisporus*'tan sonra dünyada en fazla yetiştirilen ikinci mantar türüdür (Tunçakın, 2015; Eren, 2017).

P. ostreatus mantarının şapkası midye kabuğu ya da yelpaze şeklinde olup, 5-14 cm çapa sahiptir. Renkleri genellikle beyaz ve gridir, ancak yaşlanmayla birlikte rengi sarıya dönmektedir. Sapı ise yok denecek kadar kısa ve kalındır, dip kısmı yünlü ve tüylü gibidir. Haziran ayından kış mevsimine kadar dünyada pek çok ormanda canlı ve ölü ağaçların üzerinde, geniş yaprak kümeleri üzerinde ve ağaç gövdelerinin yaralı kısımlarında yetişmektedir (Tunçakın, 2015; Eren, 2017; URL-11, 2019).

P. ostreatus diğer yenilebilir mantarlara göre kısa bir büyüme süresine sahiptir ve bu nedenle dünyada beğenilerek tüketilen ve kültüre alınmış bir mantar türüdür. Oldukça yüksek besin değerine sahiptir. Özellikle genç numuneler tüketilmelidir. Şapka kısımları yağda kızartıldığı zaman balık tadı vermektedir (Tunçakın, 2015; Eren, 2017; URL-11, 2019).



Şekil 1.9 *Pleurotus ostreatus* (URL-14, 2019)

1.11.5 *Suillus collitinus*

Suillus collitinus, Basidiomycota bölümü içerisinde yer alan ve Suillaceae familyasına mensup olup, zehirsiz ve yenilebilir bir mantar türüdür. Bu mantar türü kalkerli topraklarda, çam altında, yaz mevsiminden sonbahara kadar tek tek ya da gruplar halinde yetişmektedir. Bu mantar türü, çam ağaçları ile ektomikoriza yapmaktadır (Arpaz, 2017).

S. collitinus'un şapkası kestane kahverengisi rengine sahiptir. Şapkanın çapı 11 cm ve kalınlığı 2 cm'dir. Sapı ise 7 cm uzunluğundadır. Şapkanın alt yüzeyinde yer alan himenyum tabakası sarı renkteki porlarla kaplıdır. *S. collitinus*, diğer mantar türlerinden sap kısmında yer alan pembemsi misel ile ayrılmaktadır.



Şekil 1.10 *Suillus collitinus* (URL-15, 2019)

2. KANSER

Tarih boyunca kanserin insanlarda ve hayvanlarda çok sık görülen bir problem olduğu belirlenmiştir. Kanser ile ilgili bilinen en eski kayıtlar M.Ö. 3000 yıllarına uzanmaktadır. Kanser, Latince yengeç anlamında olan “*canker*” ya da “*carcinos*” kelimelerinden türemiştir. Kısaca kanser, çevre dokuları istila eden anormal hücrelerin düzensiz olarak büyümesi ve onların sağ kalımı ile karakterize olan bir hastalık grubudur. Kanser, gelişmiş ya da gelişmekte olan ülkelerde en önde gelen ölüm nedenlerindendir (Baykara, 2016; Lee, 2018).

Sağlıklı vücut hücrelerinin bölünebilme yeteneği bulunmaktadır. Yaralanan dokuların onarılması ve ölen hücrelerin yenilenmesi için bu bölünebilme özellikleri kullanılır. Ancak bölünebilme yetenekleri sınırlıdır. Her hücrenin yaşam boyu belirli bir bölünebilme sayısı vardır. Buna karşın kanser hücreleri, kontrolsüz bölünerek çoğalırlar. Kanser hücreleri, kan ya da lenf dolaşımı aracılığıyla vücudun diğer bölgelerine yayılabilirler ve gittikleri bölgelerde koloniler oluşturarak büyümeye devam ederler. Kanser hücrelerinin vücudun diğer bölgelerine yayılmasına metastaz adı verilir (Kosova, 2008).

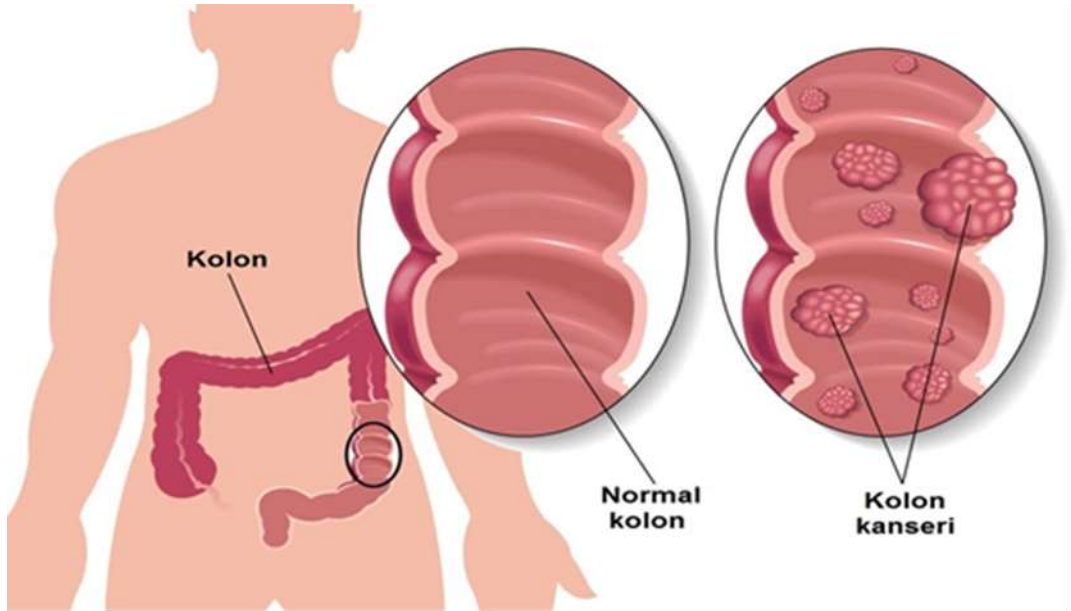
Kanser tek bir hastalık değildir. Kendine özgü farklı türleri bulunmaktadır. Bunlar; kolon kanseri, mide ve pankreas kanseri, meme kanseri, kemik kanseri ve daha birçok çeşidi sayılmaktadır. Türkiye’de en çok görülen kanserler kadınlarda meme, akciğer, over, mide ve pankreas kanseri; erkeklerde ise akciğer, prostat, kalın bağırsak, mide ve pankreas kanseri olarak sayılabilmektedir. Yapılan araştırmalarla birlikte bazı kanser türlerinde yakın akrabalar arasında bu kanser türlerinin görülme riski, normal popülasyona göre üç kat daha fazla olduğu kanıtlanmıştır. Kanser hemen hemen her yaşta görülebilmektedir ancak 40 yaşın üzerinde rastlanılmaktadır. Yani yaşlandıkça kansere yakalanma riski daha da artmaktadır. Çocuklarda ve gençlerde en çok karşılaşılan kanserler; kan kanseri, sarkomlar ve böbrek kanseridir (Taştan, 2008; Özdemir, 2014).

Kanserlerde dış faktörler de rol oynayabilmektedir. Kansere yol açan faktörleri 3 farklı grupta toplamak mümkündür. Bunlar; kimyasal ajanlar, virüsler ve radyasyondur.

Japonya’da atılan atom bombası sonrasında o bölgede yaşayan insanlar kan kanserine yakalanmışlardır. Bu olay, radyasyonun kanser gelişiminde rol oynadığını göstermektedir. Kansere sebep olan maddelere kanserojen adı verilmektedir. Kanser tedavisinde kullanılan bazı ilaçlar da yine kansere sebep olabilmektedir (Özdemir, 2014).

2.1 Kolon Kanseri

Kolon ve rektum hücreleri anormalleşir ve normal bağırsak hücreleri belirleyici özelliklerini ve kontrollü bir şekilde ayrılma yeteneklerini kaybederler. Bu hücreler hızla büyümekte ve sonucunda tümör oluşumu meydana gelmektedir. Kolorektal kanser (KRK), tüm dünyada en sık karşılaşılan kanser türlerinden biridir. Kişilerde kanserin gelişme riski genellikle 50 yaşından sonradır. Kolorektal kanser gelişiminde hem çevresel hem de genetik faktörler etkilidir. Genetik faktörler, kanser gelişimini belirgin bir şekilde arttırmaktadır. Kolon kanserlerinin çoğu ailesel olmayıp sporadiktir. Sigara kullanımı, alkol tüketimi, diabetes mellitus, obezite ve sedanter yaşam kolorektal kanser gelişim riskini arttırmakta olan risk faktörleridir (Soytürk, 2005; URL-16, 2019).



Şekil 2.1 Normal kolon ve kanserleşmiş kolon (URL-17, 2019)

2.1.1 Kolon Kanseri Epidemiyolojisi

Kolon kanseri, görülme sıklığı bakımından dünyada dördüncü sıradadır ve ölüme sebebiyet verme açısından cinsiyetlere göre farklılık göstermektedir. Kadınlarda akciğer ve meme, erkeklerde ise akciğer ve prostat kanserinden sonra en sık rastlanan kanserdir (Siegel, 2011).

Kolon kanserinin tanısında hastaların yaklaşık olarak %20'si 4. evrede, 1. ve 3. evrede bulunan hastaların %50'den fazlasında metastaz görülmektedir. Kolorektal kanser (KRK), riski 50 yaşından sonra artmakta olup, 60-70 yaşlarında en yüksek düzeye ulaşmaktadır (Öner, 2014).

Kolon kanseri insidansı son zamanlardaki araştırmalara göre gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde artış göstermektedir. Kolon kanserine Kuzey Amerika, Batı Avrupa, Yeni Zelanda, İskandinavya, Avustralya gibi gelişmekte olan ülkeler başta olmak üzere tüm dünyada rastlanmaktadır. Kolon kanseri, kanser sonucu ölümlerin %10'luk diliminden sorumludur (Kuşakçıoğlu, 2003).

2.1.2 Kolon Kanseri Risk Faktörleri

- Yaş, kolon kanseri için en baskın risk faktörüdür. Her yaşta kolon kanseri görülebilmekte olup ancak 50 yaşın üzerinde görülme sıklığı daha fazladır. Kolon kanserinin %80'i sporadik, %20'si ise aile hikayesinden ve kalıtsal faktörlerden kaynaklanır (Frezza, 2006).
- Kolorektal kanserlerin aile hikayesi, kolorektal kanser görülme riskini artıran bir diğer faktördür. Birinci dereceden aile yakınında görülen kolorektal kanserler, görülme riskini 1,7 kat artırır.
- Diabetes mellitus / insülin direnci: non-diabetiklerle karşılaştırıldığında diabetiklerde kolon kanser riski %30 fazladır.
- Kırmızı etten zengin diyet

- Artmış anaerobik bağırsak florası
- Alkol bağımlılığı
- Sigara kullanımı
- Uzun süren bağırsak hastalığı
- Streptokok bovis bakteriyemi
- Sedanter yaşam (Ames, 1983).

2.1.3 Kolon Kanseri Etiyolojisi

Kolon kanserinin gelişim mekanizması kolonik mukozayı etkileyen genetik ve çevresel faktörlerden kaynaklanmaktadır. Yaş, ülseratif kolon ve Crohn's hastalığı gibi bağırsak hastalıkları kanserin gelişimine katkıda bulunmaktadır (Öner, 2014).

2.1.3.1 Diyet

Kolon kanserinin yağ tüketim oranına göre görülme sıklığı değişir. Yağ tüketimi az ise kolon kanseri görülme sıklığı daha azdır. Örneğin kolon kanseri insidansı yüksek olan batı ülkelerinde, toplam kaloringin %40-50'si ortalama yağ oranını oluşturur. Fakat kolon kanserinin düşük sıklıkla görüldüğü ülkelerde bu oran %10-15 arasındadır. Yüksek yağ içeriğine sahip, işlenmiş et ürünleri ve rafine karbohidratlardan zengin diyet de hastalığın gelişme riskini arttırmaktadır (Göner, 2004).

Diyette yağ alımıyla beraber karaciğer tarafından kolesterol ve safra asidi sentezi artar. Kolonda bulunan bakteriler ise bu bileşikleri sekonder safra asitlerine, kolesterol metabolitlerine ve diğer toksik metabolik bileşiklere dönüştürür. Safra asitleri ve serbest yağ asitleri kolon mukoza tabakasında hasara yol açmaktadır. Balık ya da tavuk eti gibi beyaz et kullanımının yerine kırmızı et kullanımının artması, kolon kanseri insidansını artırmaktadır. Sebze ve meyvenin bol miktarda tüketilmesi kolon kanseri

riskini azalttığı epidemiyolojik çalışmalarla gözlenmiştir. İşlenmiş karbonhidrat bakımından zengin, emilemeyen bitkisel liflerden yoksun diyet, yağ miktarı, antioksidan özelliği az olan vitaminlerin ve A,C,E, gibi hücre yenileyici vitaminlerin az alınması kanser gelişim riskini etkiler (Kuşakçıoğlu, 2003; Gönen, 2004).

Diyetteki lif, dışkı hacmini ve böylece transit hızını artırır. Bunun sonucunda intraluminal karsinogenlerin mukoza ile teması azalmış olur. Düşük lif içeriği dışkı hacminin azalarak bağırsakta daha uzun süre kalmasına ve bağırsaktaki mikrobiyal florayı etkileyerek değişmesine neden olmaktadır. Lifli gıda tüketimi bağırsaktaki karsinogen safra asitlerinin konsantrasyonunu azaltır (Kuşakçıoğlu, 2003).

2.1.3.2 Obezite

Obezite, diyet yağı ile bağlantılı olarak kolon kanseri riskini arttırmaktadır. Epidemiyolojik çalışmalarla birlikte bel-kalça oranı, bel çevresi ve kolon kanseri riski arasında bir ilişki olduğu saptanmıştır. Ayrıca fiziksel aktivitelerde kolon kanseri arasında ters ilişki vardır. Adiponektin, adipoz doku tarafından salgılanan bir mediatördür. Obezitede adiponektin seviyesi önemli derecede azalır. Kilo kaybında ise seviyesi artmaktadır. Kolonik epitelyalin kanser hücreleri üzerine proinflamatuvar ve büyümeyi tetikleyici etkisi vardır. Kolorektal adenom sayısı ve adenomların boyutunu, artmış visseral yağ birikimi ve azalmış plazma yağ hücresi miktarını etkiler (Otake, 2005; Soytürk, 2005).

2.1.3.3 İnflamatuvar bağırsak hastalığı

İnflamatuvar bağırsak hastalıkları, iltihapla sonuçlanan ve bazen bağırsak yapısında hasara neden olan hastalıktır. İnflamatuvar bağırsak hastalıkları ve ülseratif kolit, kolon kanseri riskini artırır.

Kolon kanser riski distal kolitte en düşüktür. Kolon kanser riskini artıran faktörler ise uzun süreli kolit, pankolit, ailede kolorektal kanser öyküsünün olması ve hastalık süresidir. Örneğin; hastalık süresi 8-10 yıl olanlarda toplam risk %2, 20 yılı geçenlerde %8, 30 yıl olanlarda %18-20 olarak bulunmuştur. Kolon kanseri, Crohn hastalığının önemli bir komplikasyonudur. Crohn hastalığında kalın bağırsak karsinomu gelişme

riski, ülseratif kolitten daha düşüktür ve normal popülasyondan 2-3 kat fazladır (Nuako, 1998).

2.1.3.4 Çevresel faktörler

Asya, Afrika ve Güney Amerika gibi ülkelerde kolon kanseri görülme sıklığı azdır. Kolon kanserinin az olduğu bölgelerden, çok olduğu bölgelere göç edildiğinde kanserin görülme sıklığı da artar. Bu da çevresel faktörlerin etiyolojide etkili olduğunu göstermektedir. Örneğin; Japonya gibi kanser riskinin az olduğu bölgeden, ABD gibi riskin çok olduğu bölgeye göç edildiğinde kanserin görülme sıklığı %2-3 kat artmakta olduğu belirlenmiştir (Gönen, 2004).

2.1.3.5 Lokalizasyon

Kolon kanseri genellikle sigmoid kolonda ve rektumda gözlenirken epidemiyolojik çalışmalarla anatomik dağılımın distalden proksimale doğru dağılım gösterdiği gözlenmiştir (Majerus, 2002).

2.1.3.6 Özgeçmişte adenom ve karsinom

Çalışmalar sonucu kolon kanserinin büyük bir kısmı daha önce bulunan adenomlardan kaynaklanmaktadır. Kanser gelişme riski adenomun sayısı ile orantılıdır, adenom sayısı arttıkça risk artar. Çapı 1 cm'den büyük ve şiddetli displazi özelliği gösteren villöz adenomlar kanser riskini artırır. Kadınlarda meme, endometriyal ve yumurtalık kanser öyküsünün bulunması da kolorektal kanser risklerini artırır (Gönen, 2004).

2.1.3.7 Genetik faktörler ve aile öyküsü

Kolorektal kanserlerin %80'i sporadik, %10'dan küçük kısmı ise herediter kökenli ve inflamatuvar bağırsak hastalıklarından kaynaklanır. Sporadik kolon kanserli hastaların birinci derece yakınlarında kolon kanserinin gelişme riski 2 ile 4 kat artmaktadır. Kanser, aile üyelerinde 50 yaşından küçük bireylerde ortaya çıkmış ise risk daha yüksektir. Kalıtsal kolorektal kanserler, bütün vakaların %6-10'unu oluşturmaktadır (Kuşakçıoğlu, 2003).

Hücrelerde biriken genetik değişiklikler hücre büyümesi ve fenotipik değişikliklere yol açmaktadır. Bunun sonucunda neoplastik oluşuma neden olurlar. Bu hücreler zamanla büyüme sinyallerine daha hassas, apoptoza dirençli hale gelerek limitsiz bölünme özelliğine sahip olurlar. Ayrıca anjiogenezini sürdürebilen, kendine yetebilen hücrelere dönüşürler.

Kolon kanseri hastalarının %10'u p53, K-ras, APC geni mutasyonlarının tümüne sahiptir. Ayrıca spesifik kromozom değişiklikleri de kanser gelişim riskini arttırmaktadır (Goel, 2007).

2.1.3.8 Diğer faktörler

Kolon kanseri insidansını diyabet hastalığı artırmaktadır. Kolesistektomi ve üreterosigmoidostomi de kolon kanseri riskini artırır. Agromegali de kolon adenomları ve gastrointestinal kanserleri artış göstermiştir (Otake, 2005; Bogazzi, 2006).

2.1.4 Kolonda Tümör Gelişimi

Kolonda tümör gelişimi birden fazla sayıda mutasyonun aşamalı olarak birikmesinden kaynaklanmaktadır. Bu birikimlerin gözlemlendiği 2 yol vardır:

1. Yol: APC/B-katenin yolu, bu yol adenokarsinom süreci olarak adlandırılır ve sporadik kolon kanserlerinin %80'inde görülür. Kromozomal dengesizlikle karakterize moleküler olaylar ve morfolojik olarak tanımlanabilen aşamalarla gerçekleşir. APC proteini, APC geninin ürünüdür ve 310 kD molekül ağırlığında ve 2843 aminoasitten oluşmaktadır. APC, hücrede birçok molekül ile etkileşim içindedir. Bundan dolayı multidomain bir proteindir. APC geni tümör baskılayıcı bir gendir ve mutasyonu sonucunda hastalığın oluşabilmesi için her iki allelde de bozukluk olması gerekir. Bu bozukluklar sonucunda da kolorektal kanseri, gastrik kanserleri, asiner hücre kanserleri, prostat kanseri gibi birçok kanser oluşumuna sebebiyet verirler. Mutasyon sonucunda APC proteini görevini yapamadığı için kompleksin β -katenin'i fosforilleme etkisi ortadan kalkarak sinyal yolunun kontrolsüz şekilde aktivasyonu gerçekleşmektedir. Bu süreç lokalize bir epitel proliferasyonla başlar, displazi derecesi

arttıkça küçük adenom oluşumları artar ve genişleyerek ilerlemesi sonucu invaziv kansere dönüşür (Yıldız, 2013).

2. Yol: Bu yol, DNA tamir genlerinin inaktivasyonu ile ilişkilidir. Sporadik vakaların %10-15'inde saptanmıştır. Bu yolda mutasyonlar farklı genler aracılığıyla gerçekleşmektedir. Tanımlanmış bir morfolojik değişim yoktur. WNT/B-katenin sinyal yolu erişkin dokularda apoptozis, adipogenez, anjiogenez, sinaps oluşumu gibi birçok olayda yer alır. Bu sinyal yolunda oluşan bozukluklar birçok kanser tipinin meydana gelmesinde rol alır (Yıldız, 2013).

2.1.5 Kolon Kanseri Patolojisi

Kolon tümörleri, glandüler epitel kaynaklı adenokarsinomlardır. Makroskopik olarak polipoid, ülseratif, infiltratif ya da anüler olabilirler ve sol kolon karsinomları annüler ve skiröz; sağ kolon karsinomları ise polipoiddir. Tümör morfolojik olarak 3 tipte olabilir; egzofitik (pedinküllü, sesil), endofitik (ülseratif) ve diffüz infiltratif (Öner, 2014).

Kolorektal tümörler bulundukları yerden derinlemesine duvar içine doğru veya lümene doğru yayılım gösterirler. Dokuda derinlemesine büyüme gösteren tümörlerin prognozu, lümene doğru büyüyen tümörlerden daha kötüdür. Kolon kanseri 3 grupta incelenir:

- a. Kalıtsal kökenli kolon kanserleri
- b. İnflamatuvar kökenli kolon kanserleri
- c. Sporadik kökenli kolon kanserleri

2.1.5.1 Kalıtsal kökenli kolon kanserleri

Hereditör non-polipozis kolorektal kanser (HNPCC), ailesel adenomatöz polipozis koli (FAP), hamartamatöz juvenil polipozis sendromu, Peutz-Jeghers sendromu kalıtsal kökenli kolon kanserleridir. Erken teşhis ve tedavi bu hastalığa sahip kişilerde

kanser gelişimini azaltmaktadır. FAP, otozomal dominant geçişli hastalıktır. Kromozom 5q'da yer alan APC adlı tümör baskılayıcı gendeki mutasyondan kaynaklanmaktadır. FAP hastalarının kolon ve rektumunda çok sayıda polip bulunmaktadır ve bu hastalığa sahip kişilerde kolon kanserinin gelişme riski oldukça yüksektir. Tüm kolon kanserlerinin %5-10'unu oluşturmaktadır. HNPCC sendromuna sahip kişilerde erken yaşlarda kolon kanseri dışında mide, endometrium, böbrek ve üretra kanserlerinin de gelişme riski oldukça yüksektir.

2.1.5.2 İnflamatuvar kökenli kolon kanserleri

Bu gruba Crohn hastalığı ve ülseratif kolit dahildir, bu hastalıklar da kolon kanseri görülme riskini artırmaktadır.

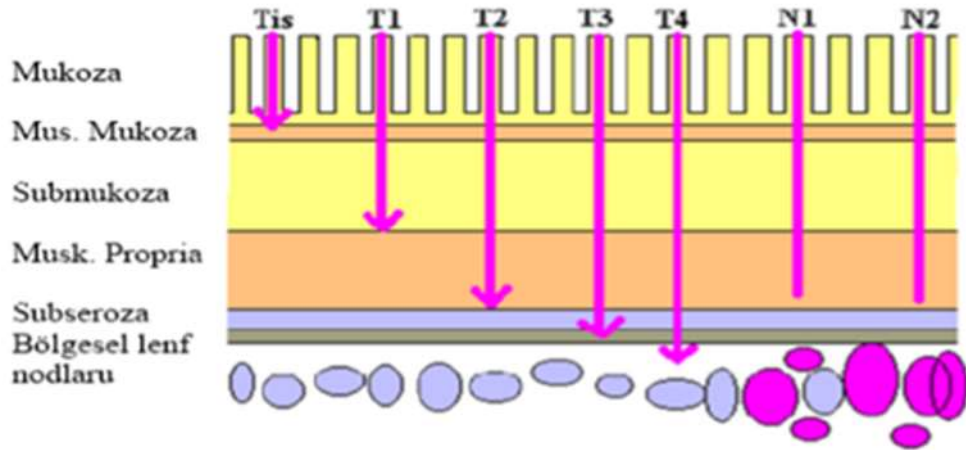
2.1.5.3 Sporadik kökenli kolon kanserleri

Tüm kolon kanserlerinin %80'ini oluştururlar ve poliplerden köken alırlar. Sporadik kökenli kolon kanserleri somatik mutasyonların birikmesi, birçok genetik ve çevresel faktörlerin yanında yaş faktöründen de kaynaklanmaktadır (Öner, 2014).

2.1.6 Kolon Kanserinde Evreleme

Evrelemede amaç; hastalığın ne derecede yayıldığını tespit etmek ve bu şekilde tedavi sürecinin planlanmasını sağlamaktır. Ayrıca evreleme sayesinde prognoz bakımından tahminde bulunulabilmektedir (Karahasanoğlu, 2001).

Amerika Birleşik Devletleri Komitesi'nin (AJCC) 2003 yılında güncellemiş olduğu kolorektal kanser TNM sınıflandırmasına göre 4 evre bulunmaktadır. Evre 2 ve Evre 3 hastalar alt gruplara ayrılarak sınıflandırılmış olup, vasküler veya lenfatik invazyonlar dahil edilmiştir (Öner, 2014).



Şekil 2.2 Kolon kanseri TNM sınıflandırması (Öner, 2014)

Primer Tümör (T)

Tx: Primer tümör değerlendirilemiyor

T0: Primer tümör yok

Tis: Karsinoma in situ

T1: Tümör submukozaya yayılmış

T2: Tümör muskularis propia tabakasına yayılmış

T3: Tümör, muskularis propiayı aşır perikolorektal dokulara yayılmış

T4: Tümör visseral peritonu (seroza) geçmiş ve komşuluk yolu ile diğer organları tutmuş

Bölgesel Lenf Nodları (N)

NX: Bölgesel lenf nodları değerlendirilemiyor

N0: Bölgesel lenf nodu metastazı yok

N1: 1-3 perirektal veya perikolik lenf nodülünde metastaz var

N2: 4 veya daha fazla pararektal veya perikolik lenf nodülünde metastaz var

Uzak Metastaz (M)

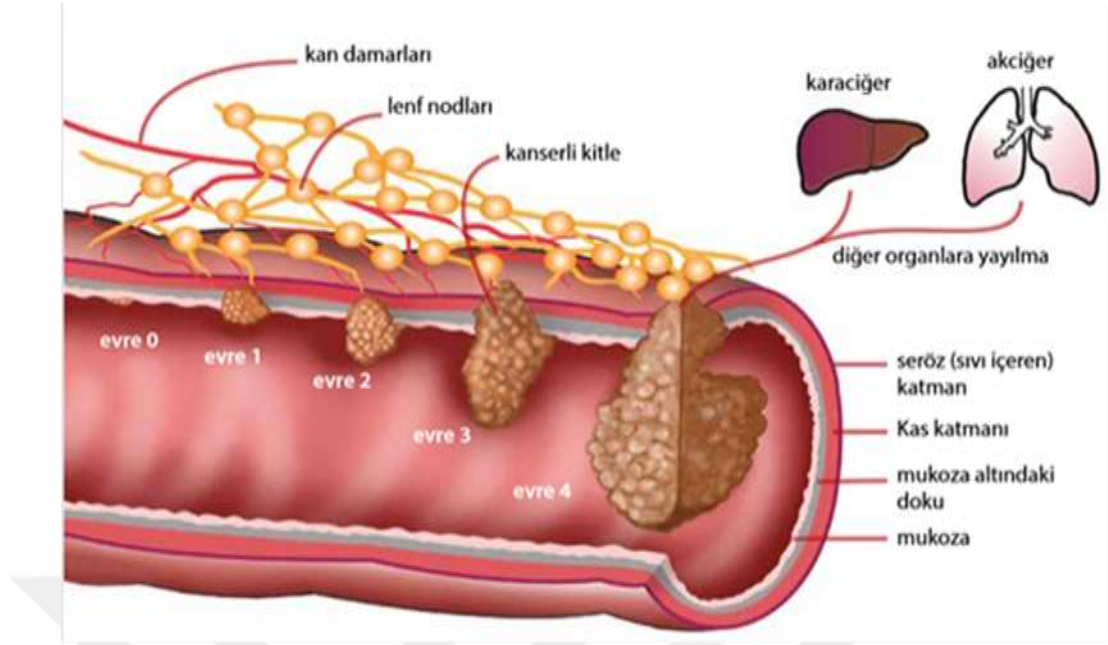
MX: Uzak metastaz değerlendirilemiyor

M0: Uzak metastaz yok

M1: Uzak metastaz var (Salman, 2011; Öner, 2014)

Tablo 2.1 Kolon kanseri evrelemesi (Öner, 2014)

Evre 0	Tis	N0	M0
Evre I	T1, T2	N0	M0
Evre IIA	T3	N0	M0
Evre IIB	T4	N0	M0
Evre IIIA	T1, T2	N1	M0
Evre IIIB	T3, T4	N1	M0
Evre IIIC	Herhangi T	N2	M0
Evre IV	Herhangi T	Herhangi N	M0



Şekil 2.3 Kolon kanseri evreleri (URL-18, 2019)

Evre 0: Kanser rektum veya kolonun en iç tabakasında bulunur. Bu evredeki kolorektal kanserin diğer bir adı ise karsinoma in situ'dur.

Evre I: Tümör kolonun veya rektumun iç duvarında gelişmiştir.

Evre II: Tümör kolon veya rektum duvarı boyunca yayılmıştır. Yakın olan dokuları ele geçirmiş olabilir ancak kanser hücreleri lenf nodüllerine sıçramamıştır.

Evre III: Kanser lenf nodüllerine sıçramıştır ancak vücuttaki diğer bölgelere sıçramamıştır.

Evre IV: Kanser akciğer ve karaciğer gibi vücudun diğer bölgelerine sıçramıştır (URL-18, 2019).

2.1.7 Kolon Kanseri Tanısında Kullanılan Testler ve Yöntemler

2.1.7.1 Tümör belirteçleri

Kolorektal tümörlerde kullanılan tümör belirteçleri karsinoembriyonik antijen (CEA) ve karbonhidrat antijen (CA19-9)'dir. Karsinoembriyonik antijen (CEA), kolorektal

kanser dışında pankreas, mide ve meme kanseri takibinde de kullanılmaktadır. Malignite haricinde alkol ve sigara kullanma alışkanlığı ile mide, akciğer, karaciğer ve bağırsak sistemlerinde iyi huylu patolojilerin yükseldiği gözlemlenir. Karbonhidrat antijenleri (CA19-9) ise kolorektal kanser dışında karaciğer, pankreas, safra yolları ve over kanseri takibinde kullanılmaktadır. Malignite haricinde sarılık, karaciğer, mide, pankreas, diyabetik nefropati ve bazı romatizmal hastalıklarda yükseldiği gözlenmiştir. Cerrahi müdahale sonrasında her iki belirtecin de düzeyinin artması tümör rekürrensini düşündürür (Türkçapar, 2005).

2.1.7.2 Kolonoskopi

Kalın bağırsağın içinin görüntülenip incelendiği teşhis yöntemidir. Bu yöntemde, dıştan içe doğru kalın bağırsağın tüm bölümleri ve gerekli durumlarda ince bağırsağın son bölümü olan ileum da incelenir (Walsh, 2003).

2.1.7.3 Patoloji

Kolon kanserlerinin %95'i adenokarsinomdur. Bunun dışında karsinoid tümörler, skuamöz hücreli karsinom, adenoskuamöz ve indiferansiyel karsinom ve az da olsa sarkom ve lenfomalar gibi nonepitelyal tümör türleri de görülmektedir. Kolorektal kanserlerin %25'i rijit sigmoidoskopi, %60'ı ise fleksibl sigmoidoskopiyle görülebilecek düzeydedir. Kolon tümörlerinin 1/3'ü rektumda, 2/3'ü kolonun diğer kısımlarında özellikle de sol kolonda yerleşim göstermektedir (Küpelioğlu, 2004).

3. MANTARLAR VE KANSER

Günümüzde kanser hastaları için kemoterapi ve cerrahi uygulamalar sıklıkla kullanılmaktadır. Ancak bu yöntemler birçok kanserde tam olarak etkili olamamıştır. Günümüzde kanseri önlemek adına tıbbi tedaviye ek olarak çeşitli doğal kaynakların kullanılmasına yönelik çalışmalar yapılmaktadır. Kullanılan bu kaynaklardan biri de mantarlardır. Mantarlar; antikanser, antiviral, antioksidan, antimikrobiyal ve karaciğer koruyucu özelliklerinden dolayı pek çok ilaç firması tarafından ARGE çalışmalarında kullanılmaktadır (Wasser, 2002; Kaygusuz, 2017).

Piyasada var olan mevcut antikanser ilaçları hedefe özgü değildir ve çeşitli kanser türlerinin klinik yöntemlerinde, bazı yan etkileri ve komplikasyonları meydana getirir. Bu nedenle onaylanmış antikanser özelliğine sahip bazı mantarlar ve bunların aktif bileşikleri büyük ilgi görmektedir. Mantarlar mide bulantısı, kemik iliği baskılanması ve anemi gibi kanser yan etkilerini önleyerek kemoterapi ve radyoterapinin olası etkilerini azaltmaktadır (Patel, 2012).

Son zamanlarda antikanser ajanları da dahil olmak üzere birçok biyoaktif molekül, çeşitli mantarlardan tanımlanmıştır. Bu biyoaktif bileşikler ise polisakkaritler, proteinler, yağlar, tokoferoller, karotenoidler, askorbik asit enzimleri ve organik asitlerdir. Polisakkaritler, antikanser ve immünomodülatör özelliklere sahip en iyi bilinen ve en güçlü mantar türevi maddelerdir (Patel, 2012).

Breene (1990), çeşitli mantar türlerinin ya da mantar ekstraktlarının antikanser aktivitesi olduğunu bildirmiştir. Bu türlerden bazıları; *Agaricus bisporus*, *Coriolus versicolor*, *Ganoderma lucidum*, *Lentinus edodes*, *Pleurotus ostreatus* ve *Tricholoma matsutake*'dir.

Yapılan araştırmalar incelendiğinde kanser ile bağlantılı en etkili mantar türü *Ganoderma lucidum*'dur. *Ganoderma*, çok eski zamanlardan beri Çin'de kanser kemoterapisinde kullanılmıştır. Bu mantar yenilebilir bir tür olup insanlardaki vücut direncini korumakta ve uzun bir yaşam sürmelerini sağlamaktadır. Ayrıca alerji, kronik hepatit, uykusuzluk, bronşit, hipertansiyon, inflamasyon ve kanser gibi çeşitli

hastalıkların tedavisinde kullanılmıştır. *Ganoderma*'nın gövdelerinden, misellerinden ya da sporlarından çeşitli biyolojik aktivitelere sahip bileşikler izole edilmiş ve bazılarının çeşitli tıbbi özellikleri ortaya çıkmıştır. *Ganoderma lucidium* aktif transkripsiyon faktörü olan NF-KB ve AP-1'i inhibe etmektedir. Ayrıca tümör baskılayıcı ve tümörün yayılmasını engelleyici özelliği bulunmaktadır. (Sliva, 2003).

Japonya'da "Shiitake" olarak da bilinen *Lentinula edodes*, iyi bilinen iki polisakkaritin kaynağıdır. Bunlar, "Lentinan-a" ve LEM-a"dır. Her iki bileşen de anti-kanser aktivite göstermiştir. Lentinan ilk kanser ilacı olup, 1972 yılında kanser ilacı olarak tescillenmiştir. Bu tür bileşenler doğrudan kanser hücrelerine saldırmaktan ziyade, bağışıklık sistemini güçlendirici fayda sağladığı görüşü bulunmaktadır (Chihara, 1992).

Hu vd., *Ganoderma lucidium*'un alkol ekstraktları 100, 200, 300, 400 ve 500 µg/ml konsantrasyonlarında insan meme kanseri hücrelerine uygulanmıştır. 500 µg/ml'deki konsantrasyon hücre büyümesinin yaklaşık %70 inhibisyonuna neden olmuştur. *G. lucidium*'un alkol ekstraktının tümörjenik olmayan WB hücreleri üzerinde böyle bir etkisi yoktur, bu önemli bir ayrımdır. Bu çalışmayla birlikte *G. lucidium*'un alkol ekstraktı, MCF-7 hücrelerinde G1 fazında hücre döngüsünü durdurduğu tespit edilmiştir (Hu, 2002).

Smith vd., yaptıkları bir çalışmada *Schizophyllum commune*'nin iyi bir anti-kanser aktivite gösteren schizophyllan polisakkaritini içerdiği için farmakolojik açıdan önemli olduğunu belirtmişlerdir. Mide kanserine yakalanmış olan hastaların, kemoterapiyle birlikte uygulanmakta olan tedavi sonrasında yaşayan sayısında net bir artış olduğunu belirlemişlerdir. *Schizophyllum*'dan elde edilen schizophyllan polisakkariti kanser ilacı olarak tescil edilmiş ve mantar polisakkariti olarak tarihe geçmiştir (Smith, 2002).

Ho vd., tarafından yapılan çalışmada, *Coriolus versicolor* mantar türünün 200 ile 800 µg/ml arasındaki konsantrasyonlarında çeşitli kanser türleri üzerinde doğrudan etkili olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca meme kanseri hücrelerinde hücre çoğalmasını inhibe

ettiği, p53 ve Bcl-2 bağımlı ve bağımsız mekanizmalar ile apoptozu indüklediğini göstermişlerdir (Ho, 2005).

Xie vd., *Ganoderma lucidum* mantarına ait iki farklı ekstrakt (GLE-1 ve GLE-2) 0,05 mg/ml, 0,25 mg/ml ve 1 mg/ml konsantrasyonlarında hazırlanmıştır. Bunların hazırlanmasında iki farklı çözüm kullanılmıştır. GLE-1 muhtemelen polisakkaritleri ve terpenoidleri çözen %5 etanol-su çözeltisi ile hazırlanırken, GLE-2 muhtemelen polisakkaritleri olmayan ve genellikle terpenoidleri çözen DMSO ile hazırlanmıştır. Bu nedenle GLE'deki terpenoidlerin, kolorektal kanser hücreleri üzerinde önemli antiproliferatif etkiler gösterdiği anlaşılmaktadır. Olası antikanser etkisine ek olarak, *Ganoderma lucidum* da kemoterapinin neden olduğu yan etkileri azaltmada yardımcı olabilir (Xie, 2006).

Lee vd., *Inonotus obliquus* mantarının sıcak su ekstraktlarını melanoma B16-F10 hücreleri üzerinde çalışmışlardır. Sıcak su ekstraktları 0,25 mg/ml, 0,5 mg/ml ve 1 mg/ml konsantrasyonlarında hazırlanmıştır. Çalışma sonucunda hücre büyümesinin inhibe olduğunu, hücre döngüsünün G0/G1 fazının durmasını sağladığını ve hücre farklılaşmasını indüklediğini tespit etmişlerdir. *I. obliquus* ayrıca insan kolon kanseri hücrelerinin çoğalmasına karşı inhibitör aktivite göstermiştir (Lee, 2009).

Endo vd., *Agaricus blazei Murrill*'in sıcak su ekstraktlarını hazırlamışlar ve 1, 10 ve 100µg/ml konsantrasyonlarında lösemi hücrelerine uygulamışlardır. *Agaricus blazei Murrill*'in (ABM) ısıya dayanıklı ve yayılabilir fraksiyonunun in vitro antitümör aktiviteye sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Bu madde doğrudan lösemik hücre hatlarının canlılığını azaltmış fakat normal lenfositler üzerinde hiçbir etkisi olmamıştır (Endo, 2010).

Thyagarajan vd., *Ganoderma lucidum* kaynaklı triterpenlerin (GLT) HT-29 insan kolorektal kanseri hücrelerinin büyümesini etkileyip etkilemediğini araştırmışlardır. GLT'leri 0, 0,25, 0,5 ve 1 mg/ml konsantrasyonlarında HT-29 hücre hattına uygulamışlardır. Yaptıkları çalışmalar sonucunda GLT'nin HT-29 kolorektal kanseri hücrelerinin in vitro proliferasyonunu baskıladığını ve ayrıca GLT, HT-29

hücrelerinde ve kolon tümörlerinde otofajiyi indüklediğini tespit etmişlerdir (Thyagarajan, 2010).

Selvi vd., *Pleurotus florida* ve *Calocybe indica* adlı iki mantar türünün 10, 25, 50 ve 100  g/ml konsantrasyonlarında hazırlanmıştır. Bu konsantrasyonları, T24 mesane kanseri hücre hatlarına uygulamışlardır. Elde edilen testler sonucunda bu iki mantarın T24 hücre hatlarına karşı antikanser özellik gösterdiğini açıklamışlardır. Bunun sonucunda *P. florida* ve *C. indica*, mesane kanserine karşı potansiyel bir anti-kanser ilacı olarak kullanılabileceği belirtilmiştir (Selvi, 2011).

Wu vd., yaptıkları çalışmada *Armillaria mellea* mantarı ekstraktını kullanarak 50, 100, 200 ve 400  g/ml olarak çeşitli konsantrasyonlarda, insan akciğer kanseri hücre hattı olan A549 hücreleri ile muamele etmişlerdir. *A. mellea*'nın 200  g/ml konsantrasyonunun tümör hücrelerinin çoğalması üzerine inhibitör etkisi olduğunu ve A549 hücrelerinin büyümesini güçlü bir şekilde baskıladığını belirlemişlerdir (Wu, 2012).

Li vd., *Aspergillus fumigatus*'tan izole edilen fumigaklavin C'nin MCF-7 insan meme kanseri hücreleri üzerinde antiproliferatif ve apoptotik etkileri çalışılmıştır. Fumigaklavin C 20, 40 ve 60  M konsantrasyonlarında MCF-7 hücrelerine uygulanmıştır. Fumigaklavin C, MCF-7 meme kanseri hücrelerine karşı önemli sitotoksisite göstermiştir. Ayrıca, MCF-7 hücrelerinde apoptozu indüklediğini ve matris metalloproteazlarının (MMP'ler) ekspresyonunu inhibe ettiği tespit edilmiştir. Sonuç olarak, yapılan bu çalışmada deniz kaynaklı mantar olan *Aspergillus fumigatus*'tan izole edilen fumigaklavin C'nin güçlü bir antikanser aktivite gösterdiği bulunmuştur (Li, 2013).

Liu vd., *Antrodia cinnamomea* mantarının hepatosellüler karsinom (HCC)  zerindeki aktivitesini değerlendirmek için bir çalışma yapmışlar. *Antrodia cinnamomea*, Asya'da ilaç zehirlenmelerinde ve karaciğer kanseri tedavisinde çok yaygın olarak kullanılan bir mantar türüdür. Yapılan bu çalışma sonucunda, *Antrodia cinnamomea*'nın biyoteknolojik ürünü olan misel fermantasyon sıvısının (AC-MFB) hepatik enzim anormalliği olmadan hepatosellüler karsinomun büyümesini belirgin bir

şekilde inhibe ettiğini tespit etmişlerdir. Bu anti-HCC aktivitesi, hem kültürlenmiş murin 1MEA.7R.1 hem de insan HA22T/VGH HCC hücreleri üzerindeki büyüme önleyici etkileri ile doğrulanmıştır (Liu, 2013).

Japonya’da “Maitake” olarak bilinen *Grifola frondosa*, içerdiği polisakkaritlerden dolayı insan vücudunun bağışıklık sistemini güçlendirdiği ve genel sağlığı etkilediği bilinmektedir. ABD ve Japonya’da yapılan çalışmalarda, saflaştırılmış polisakkarit parçalarının; akciğer, karaciğer, göğüs, prostat ve beyin kanserinde karşı etkili olduğunu oraya çıkarmıştır. Fareler üzerinde çeşitli denemeler yapılmış olup, denemeler sonucunda bu mantar türünün kanser hücrelerin inhibisyonunu güçlü bir şekilde etkilediği belirlenmiştir (Özdemir, 2014).

Fritz vd., yaptıkları çalışma ile *Coriolus versicolor*’dan türetilen Polisakkarit K’nın (PSK), standart kemoterapinin, radyoterapinin, ameliyatın yanında ya da ameliyat sonrasında ek tedavi olarak kullanılmasında, akciğer kanserli hastalarda bağışıklık fonksiyonunu, tümörle ilişkili semptomları ve sağ kalımı önemli ölçüde iyileştirebileceğini göstermişlerdir. PSK’nın, özellikle hastalığın erken evrelerinde etkili olduğu ve evre I, II, III hastalığı olan hastalarda sağ kalımı önemli ölçüde artırdığı tespit edilmiştir (Fritz, 2015).

Yukarıda özetlendiği şekilde bu alanda birçok çalışma olmasına rağmen dünyada birçok türü bulunan mantarların kanser üzerindeki etkileri hakkında aydınlatılması gereken birçok nokta vardır. Elimizde bulunan mantar türleri ülkemizde de rahat ulaşılabilen türler olmakla birlikte yöresel olarak da tüketilmektedir. Yapılan literatür çalışmasında seçilen mantar türlerine ait antikanser etkisine ait bir bulguya rastlanmamıştır. Bu nedenle bu tez çalışmasında 5 farklı mantar türünün kolorektal kanser hücre dizisi olan HCT116 proliferasyonu üzerindeki etkilerini, hem de hücrelerdeki moleküler değişiklikleri anlamayı hedefledik.

4. YÖNTEM

4.1 Mantar Türleri ve Lokasyonları

Gerçekleştirilen tez çalışmasında yenilebilir özellikte beş farklı mantar türü kullanılmıştır. Bu mantar türleri *Hericium coralloides*, *Lactarius deliciosus*, *Lepista nuda*, *Pleurotus ostreatus* ve *Suillus collitinus*'tur.

Tez çalışmasında kullanılan mantar örnekleri Doç. Dr. Ilgaz Akata'nın kişisel koleksiyonundan, Prof. Dr. Ergin Murat Altuner aracılığıyla temin edilmiştir.

Örneklerin daha önceden toplanmış olduğu lokasyon bilgileri şu şekildedir:

- *Hericium coralloides* (Trabzon, Yomra)
- *Lactarius deliciosus* (Trabzon, Yomra)
- *Lepista nuda* (Trabzon, Yomra)
- *Pleurotus ostreatus* (Trabzon, Yomra)
- *Suillus collitinus* (Trabzon, Yomra)

4.2 Mantarlardan Etken Madde Ekstraksiyonu

Tez çalışmasında kullanılan *Hericium coralloides*, *Lactarius deliciosus*, *Lepista nuda*, *Pleurotus ostreatus* ve *Suillus collitinus* mantar türlerinin ekstraksiyonu için iki farklı çözücü kullanılmıştır. Bu çözücüler etil alkol ve etil asetatdır. Ekstraksiyonda kullanılan bu çözücüler, polarite özelliklerine bakılarak seçilmiştir.

Kurutulmuş örneklerin toz haline getirilmesinde porselen havan kullanılmıştır. Havan ve havan elleri ilk önce %70'lik etil alkol ile temizlenmiş ve iyice kuruduktan sonra kuru haldeki mantar örnekleri havan içinde toz haline getirilmiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1 Porselen havanlarda toz haline getirilmiş mantar örneği



Şekil 4.2 Mantar ekstraktları, çalkalayıcı üzerinde oda sıcaklığında, 3 gün süreyle çözücü ile muamele edilerek hazırlanmıştır

4.2.1 Etil Alkol Ekstraktı

Etil alkol çözücüsünün kaynama noktası 78,37 °C ve relatif polaritesi 0,654'tür. Ekstraksiyon için her bir mantar örneği, havan içerisinde toz hale getirildikten sonra 2,5 gr örnek erlen içerisine alınmıştır. Üzerine %99,9 saflıkta 50 ml etil alkol ilave edilmiştir. Erlenlerin ağızları parafilm ile kapatılarak, etiketlemeleri yapılmıştır. Erlenler, bir çalkalayıcıya (WiseShake, Kore) (Şekil 4.2) yerleştirilerek 3 gün boyunca oda sıcaklığında çalkalama işlemi yapılmıştır. Süre sonunda elde edilen ekstratlar Whatman no:1 filtre kağıdından süzölmüştür (Şekil 4.3).



Şekil 4.3 Toz haline getirilen örneklerin etil alkol ekstraktları

4.2.2 Etil Asetat Ekstraktı

Etil asetat çözücüsünün kaynama noktası 76,5-77,5 °C ve relatif polaritesi 0,228'tir. Ekstraksiyon için her bir mantar örneği, havan içerisinde toz hale getirildikten sonra 2,5 gr örnek erlen içerisine alınmıştır. Üzerine 50 ml etil asetat ilave edilmiştir. Erlenlerin ağızları parafilm ile kapatılarak, etiketlemeleri yapılmıştır. Erlenler, bir çalkalayıcıya (WiseShake, Kore) (Şekil 4.2) yerleştirilerek 3 gün boyunca oda sıcaklığında çalkalama işlemi yapılmıştır. Süre sonunda elde edilen ekstratlar Whatman no:1 filtre kağıdından süzölmüştür (Şekil 4.4).



Şekil 4.4 Toz haline getirilen örneklerin etil asetat ekstraktları

4.3 Mantarların Etil Alkol ve Etil Asetat Ekstraktlarının Döner Buharlaştırıcıda Uzaklaştırılması

Whatman no:1 filtre kağıdından süzülen etil alkol ve etil asetat ekstraktları döner buharlaştırıcıda (Heidolph) vakum altında 40-45 °C'de 130-150 rpm'de muamele edilerek ortamdaki çözücüler evaporasyonla tamamen uzaklaştırılmış ve ayrı bir kapta toplanmıştır (Şekil 4.5).



Şekil 4.5 Mantar ekstraktlarının evaporasyon işlemi

4.4 Kolorektal Kanser Hücre Kültürü

4.4.1 HCT116 Hücrelerinin Vasatının Hazırlanması

Temel vasat olarak DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium) kullanılmıştır. Çözeltisi, 13,4 gr DMEM ve 3,7 gr sodyum bikarbonat tartılarak 1 L steril saf suyun içerisine eklenerek hazırlanmıştır. 0,45 µm çapındaki steril filtreden geçirilerek steril edilmiş ve +4 °C 'de saklanmıştır. Hücre kültürü işlemleri için DMEM içerisine %10 FBS (Fetal Boval Serum) ve %1 penisilin-streptomisin ilave edilerek çalışma çözeltisi hazırlanmıştır.

4.4.2 Kolorektal Hücre Serilerinin Hazırlanması

Yapılan bu tez çalışmasında insan kolorektal karsinoma (ATCC) hücre hattı olan HCT116 kullanılmıştır. HCT116, kolorektal karsinomalı erişkin bir erkekten elde edilen hücrelerdir. Bu hücre hattı ras proto-onkogeninin kodon 13'ünde bir mutasyona sahiptir. HCT116 oldukça agresif yapıda olup, farklılaşma kapasitesi çok azdır ya da hiç yoktur (Yeung, 2010; URL-19, 2021). Hücre hatları İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Bölümü Prof. Dr. D. Serap KURUCA'nın laboratuvarından temin edilmiştir. İlk olarak dondurulmuş halde bulunan hücrelerin çözünmesi sağlanmıştır. Daha sonra hücreler T75 kültür kapları içerisine alınmış, kap içerisine %10 FBS ve %1 penisilin/streptomisin içeren DMEM eklenmiştir. Hücreler farklılaşması ve çoğalması için 37 °C'de %5 CO₂ içeren inkübatöre kaldırılmıştır. Hücreler %80 doluluğa ulaştığında T75 kültür kapları içerisinde tripsin-EDTA ile pasaj yapılarak alt kültür işlemi yapılmış ve DMEM, FBS, pen/strep ile resüspanse edilmiştir. Bu şekilde tez çalışması süresince kullanılacak olan kolorektal kanser hücre serileri hazırlanmıştır. Bütün kanser hücre kültürü denemeleri Kastamonu Üniversitesi Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi bünyesinde yer alan Dr. Öğr. Üyesi Nuray EMİN'in sorumluluğundaki Doku Kültürü Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.



Şekil 4.6 %80 doluluk durumunda kolorektal kanser hücreleri

4.5 Mantar Ekstraktlarının Stok Çözeltilerinin ve Belirlenen Konsantrasyonlarda Dozların Hazırlanması

Etil alkol ve etil asetat ekstrelerinin DMSO (5 mg/ml)'da stok çözeltileri hazırlanmıştır. Stok çözeltiler istenilen konsantrasyonlarda medyum ile seyreltilerek doz ayarlaması yapılmıştır. Hazırlanan konsantrasyonlar 200, 100, 50, 20, 10 ve 5 µg/ml şeklindedir. Bu konsantrasyonlar ile birçok doz denemesi yapıldıktan sonra, her bir mantar türüne ait etil alkol ve etil asetat için belirlenen çalışma konsantrasyon değerleri Tablo 4.1'de verilmiştir.

Tablo 4.1 Mantar türlerinin etil alkol ve etil asetat ekstraktlarındaki konsantrasyonları

Mantar Türleri	Etil Alkol Ekstraktları İçin Seçilen Dozlar (µg/ml)	Etil Asetat Ekstraktları İçin Seçilen Dozlar (µg/ml)
M1 (<i>H. coralloides</i>)	100, 90, 80, 70, 60, 50	200, 100, 50, 20, 10, 5
M2 (<i>L. deliciosus</i>)	100, 90, 80, 70, 60, 50	100, 90, 80, 70, 60, 50
M3 (<i>L. nuda</i>)	200, 175, 150, 125, 100	100, 90, 80, 70, 60, 50
M4 (<i>P. ostreatus</i>)	200, 175, 150, 125, 100	50, 40, 30, 20
M5 (<i>S. collitinus</i>)	20, 18, 16, 14, 12, 10	10, 8, 6, 5

4.6 Sitotoksikite Testi (MTT)

Tez çalışmasında ATCC'den temin edilen HCT116 hücre hatları kullanılmıştır. Etil alkol ve etil asetat çözücülerinde hazırlanan *Hericium coralloides*, *Lactarius deliciosus*, *Lepista nuda*, *Pleurotus ostreatus* ve *Suillus collitinus* mantar ekstraktları farklı konsantrasyonlarda hücrelere uygulanmıştır. Süre sonunda hücrelerde meydana gelen sitotoksik etki, MTT (3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromid) yöntemi kullanılarak incelenmiştir. MTT testi doğal ve sentetik moleküllerin sitotoksitesini anlamak (ilk basamak tarama testi) için yaygın kullanılan hassas, ucuz ve güvenilir bir testtir (Özerkan, 2019).

4.7 Hücre Sayımı

Hücre sayımında canlı hücreler ile cansız hücreleri birbirinden ayırt edebilmek için “Tripan Mavisi” adı verilen boya kullanılmaktadır. Bu boya cansız hücreler tarafından absorbe edilirken, canlı hücrelerin membran yapısı zarar görmediği için içlerine girememektedir. Böylelikle mikroskop altında cansız hücreler boyanmış görünürken, canlı hücreler renksiz görünmektedir. Hücre sayımı yapılırken canlı ve cansız hücreler birlikte sayılmaktadır. Canlı hücrelerin yüzdesi hesaplanırken aşağıdaki denklem kullanılmaktadır:

$$\%Canlı\ Hücre = \frac{\sum Boyanmamış\ Hücre\ Sayısı}{\sum Hücre} \times 100 \quad (4.1)$$

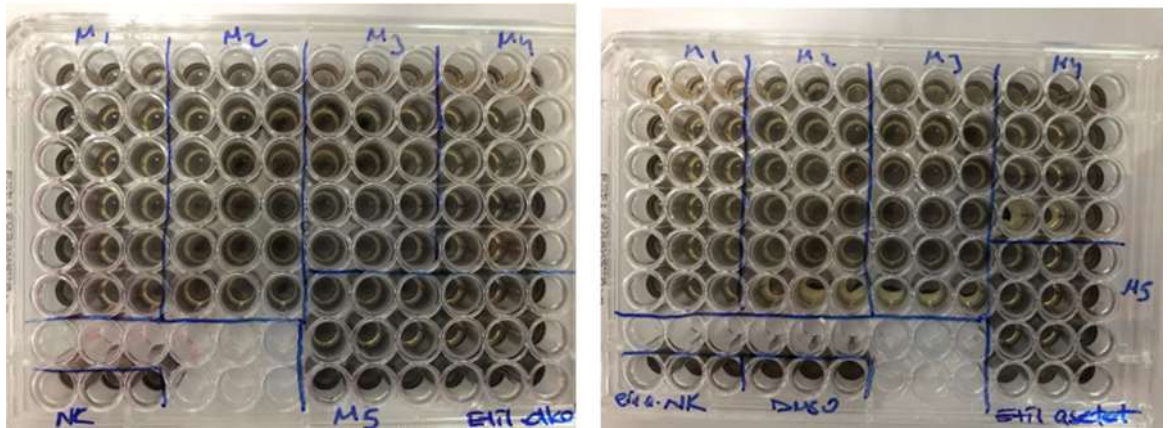
%80 doluluk durumuna ulaşan hücrelere tripsinizasyon işlemi uygulanmıştır. Santrifüj işleminin ardından pellet 1 ml besiyeri (%10 FBS, %1 pen/strep, DMEM) içerisinde süspanse edilmiştir. Hücre süspansiyonundan 10 µl steril ependorf içerisine alınmış ve 990 µl tripan mavisi (%10) eklenmiştir. Bu süspansiyon içerisinden de 10 µl alınarak Thoma lamı üzerine konulmuştur ve mikroskop altında hücre sayımı yapılmıştır.

Hücre sayımı tamamlandıktan sonra her bir kuyucukta 1000 hücre olacak şekilde 96'lık kuyucuklara hücre ekimi yapılmıştır. Bu işlemin ardından hazırlanan dozlardan 10 µl kuyucuklara eklenmiş ve her bir mantar türü için üç tekrar uygulanmıştır.

Negatif kontrol olarak 200, 100, 50, 20, 10 ve 5 µg/ml konsantrasyonlarında sisplatin kullanılmıştır. Sisplatin pek çok solid tümör tedavisinde kullanılan kemoterapotik bir ajandır. 1970 yılında *E.coli*'nin büyüme inhibitörü olarak keşfedilmiştir. İlerleyen yıllarda antikanser etkileri de fark edilmiş olup, over, testis, baş ve boyun, serviks ve lenfoma tedavilerinde kullanılmıştır (Çetintaş, 2013).

DMSO, etil alkol ve etil asetat da çözücü oranında koyularak negatif kontrol olarak kullanılmıştır. Bu kontroller hücrelerin yaşamını etkileyip etkilemediğinin anlaşılması bakımından ayrı ayrı gruplar halinde 96-kuyucuklu petriye eklenmiştir.

Belirlenen dozlar HCT116 hücrelerine ilave edildikten sonra hücreler, 3 gün 37°C'de %5 CO₂ içeren inkübatörde bekletilmiştir. 3 günün sonunda 10 µl MTT reaktifi ilave edilerek, 4 saat inkübatörde bekletilmiştir. Süre sonunda isopropil alkol ile formazan çözülerek ELISA okuyucuda (BioTek, ABD) 570 nm'de platedeki kuyucukların absorbansları ölçülmüştür. MTT analizlerinin sonucunda doz/cevap eğrileri hazırlanmış, bileşiklerin IC₅₀ (hücrelerin %50'sinin büyümesini inhibe eden konsantrasyon) hesaplanmış ve bu parametreye göre ekstrelerin etkinlikleri karşılaştırılmıştır (Özerkan, 2019).



Şekil 4.7 MTT reaktifi eklendikten sonraki 96-kuyucuklu petride formazan kristallerinin oluşumu

4.8 Mezenkimal Kök Hücre Kültürü

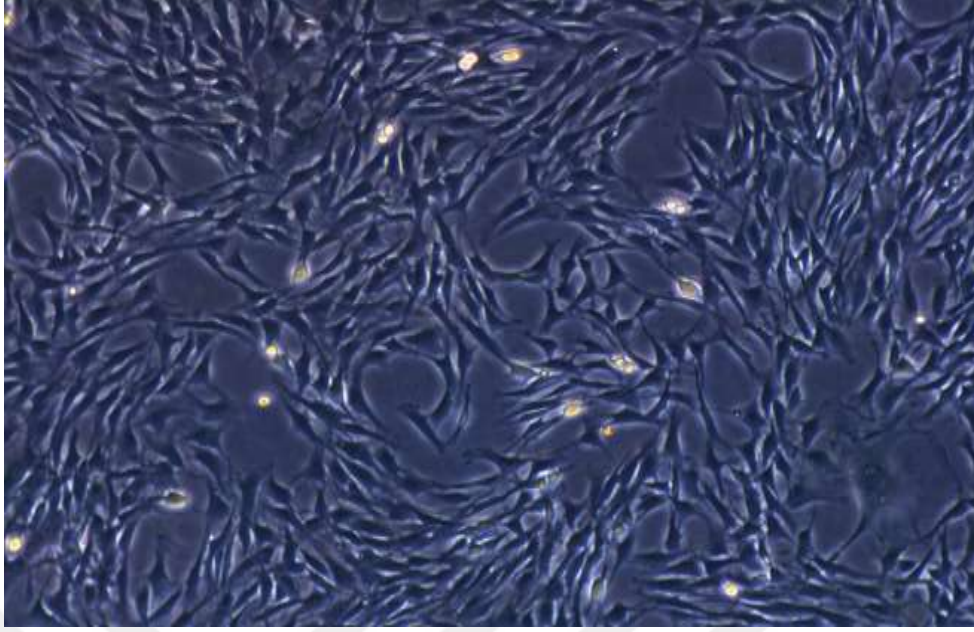
Mezenkimal kök hücreler (MKH), Dr. Öğr. Üyesi Nuray EMİN'in sorumluluğundaki Kastamonu Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi (MERLAB) bünyesinde bulunan Doku Mühendisliği, Biyomalzeme ve Kök Hücre Laboratuvarı envanterindeki hücre kütüphanesinden temin edilmiş ve tüm kök hücre analizleri bu laboratuvarı gerçekleştirilmiştir. Kullanılan hücreler, ilgili laboratuvar bünyesinde KÜ-HADYEK 2018-10 Etik Kurul İzni ile hazırlanmış MKH hattının P6 aşamasındaki hücreleri olup, Kastamonu Üniversitesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu'nun 2021-2 sayılı kararı ile kullanılması için etik kurul onayı gerekmediği ayrıca onaylanmıştır.

4.8.1 Mezenkimal Kök Hücre Vasatının Hazırlanması

Temel vasat olarak α -MEM (Minimum Essential Medium-alpha) kullanılmıştır. Çözeltisi, 10,1 gr α -MEM ve 2,2 gr sodyum bikarbonat tartılarak 1 L steril saf suyun içerisine eklenerek hazırlanmıştır. 0,45 μ m çapındaki steril filtreden geçirilerek steril edilmiş ve +4°C 'de saklanmıştır. Hücre kültürü işlemleri için α -MEM içerisine %10 FBS (Fetal Bovine Serum) ve %1 penisilin/streptomisin ilave edilerek çalışma çözeltisi hazırlanmıştır.

4.8.2 Mantar Türlerinin Mezenkimal Kök Hücrelere Uygulanması

MKH'ler %80 doluluğa ulaştığında hücrelere tripsinizasyon işlemi uygulanmıştır (Şekil 4.8). Tripan mavisi ve Thoma lamı kullanılarak hücre sayımı yapıldıktan sonra, her bir kuyucukta 1000 hücre olacak şekilde hücre ekimi gerçekleştirilmiştir. Toplam hacim 250 μ l olacak şekilde kuyucuklara %1 penisilin/streptomisin, %10 FBS içeren α -MEM eklenmiştir. Hücrelerin yüzeye yapışmaları için 37°C, %90 nem, %5 CO₂ ayarlı inkübatörde bir gece bekletilmiştir.



Şekil 4.8 %80 doluluk durumunda mezenkimal kök hücreler

Süre sonunda her bir kuyucuktan 25 µl vasat çekilmiş ve kuyucuklara hazırlanan dozlardan 25 µl eklenmiştir. Daha önceden DMSO (5 mg/ml) 'da hazırlanan stok çözeltiler Tablo 5.1'de belirlenen konsantrasyonlarda α-MEM ile seyreltilerek hazırlanmıştır. Hücreler üç gün inkübatörde bekletilmiştir. Üç gün sonunda kuyucuklardaki sıvı tamamen çekilmiş, 225 µl pen/strep'li α-MEM ve 25 µl MTT reaktifi eklenmiştir. 4 saat inkübatörde bekletilmiş ve süre sonunda kuyucuklardaki sıvı tamamen çekilerek atılmıştır. Kuyucuklara 250 µl isopropil alkol ile formazan çözülmüş ve steril başka bir 96-kuyucuklu petriye örnek, kör ve kontrol çözeltilerinin her birinden 200 µl ayrı ayrı kuyucuklara eklenmiş, multimode mikropilaka (BioTek, ABD) okuyucuda 570 nm'de absorbans değerleri ölçülmüştür.

4.9 FTIR Spektroskopisi İçin Numune Hazırlama

FTIR analizi, her mantar örneği için sadece tespit edilen IC₅₀ konsantrasyonları kullanılarak yapılmıştır. Bir HCT116 kontrol grubu, bir sisplatin ve mantar örnekleri kadar 6'lı kuyucuklara HCT116 hücre ekimi yapılmıştır. Hücreler %80 doluluğa ulaştığında, önceden belirlenen IC₅₀ konsantrasyonlarında (Tablo 5.2) mantar ekstraktı ve sisplatin kuyucuklara eklenmiş, 37°C, %5 CO₂, %90 nem içeren ortamda 72 saat süreyle inkübe edilmiştir. 72 saatin sonunda inkübe edilen hücreler tripsin ile zeminden kaldırılmış ve 3 kez PBS ile santrifüjlenerek yıkanmış ve süpernatant

atılmıştır. Pellet 1 ml PBS içerisinde süspanse edilmiş ve önceden etiketlenen cam lamalar üzerine yayılmıştır. Lam üzerindeki hücre süspanسیونları, kuruması için 24-48 saat süreyle çeker ocakta bekletilmiştir. Kuruyan örnekler, lam üzerinden kazınarak ayrı ayrı ependorflar içerisinde alınmış ve Kastamonu Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi bünyesinde bulunan ATR-FTIR (Bruker Alpha, Almanya) cihazında analiz edilmiştir.

4.10 İstatistiksel Analiz

Kantitatif MTT testlerinden elde edilen sonuçlar, Graphpad Prism 5 programı kullanılarak analiz edilmiştir. Analizler sırasında kontrol ve uygulama grupları arasındaki farklılıklar karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir.

5. BULGULAR

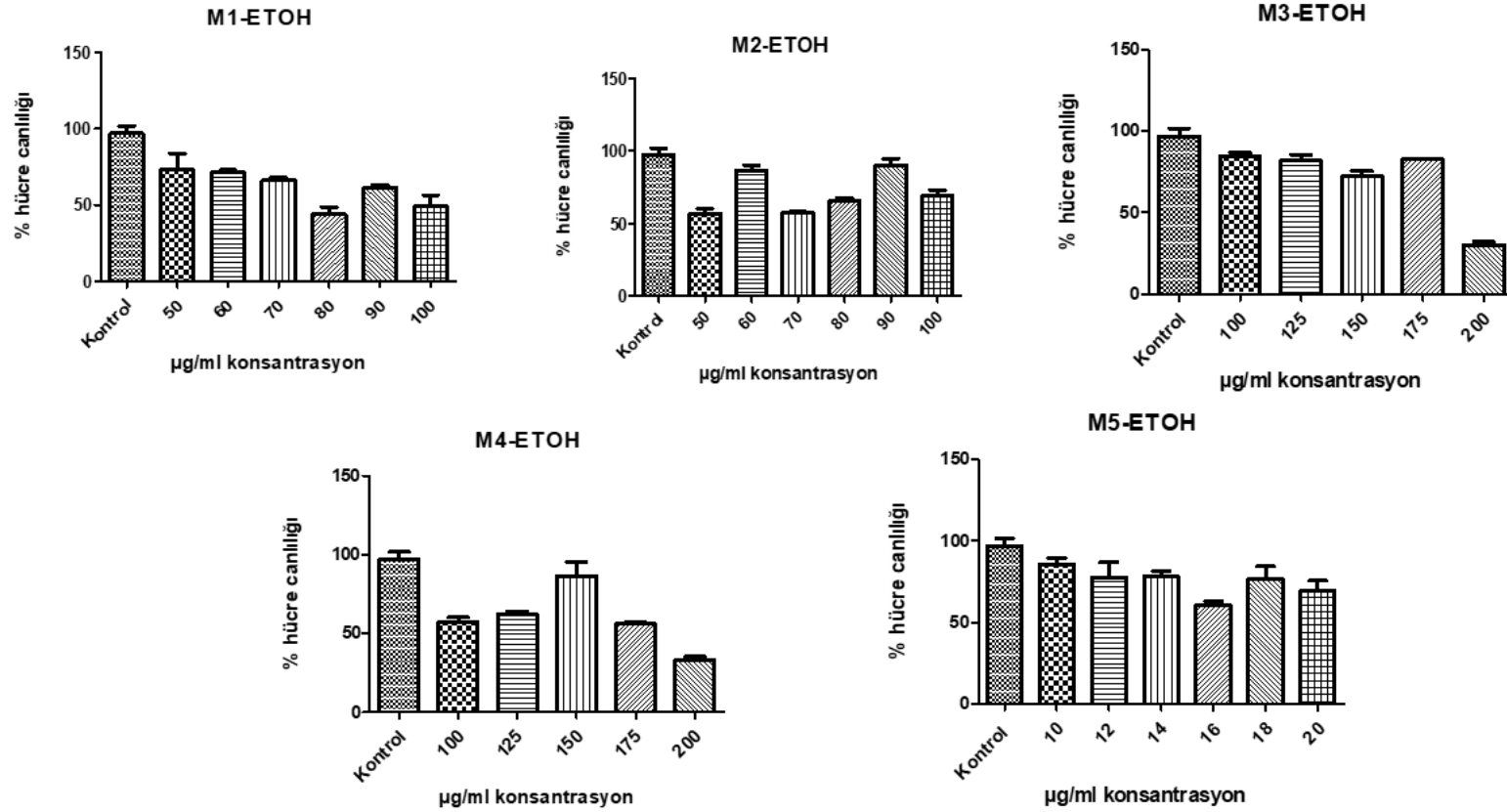
5.1 Sitotoksosite Bulguları

Yapılan tez çalışmasında kolorektal kanser hücreleri olan HCT116 hücre serisi kullanılmıştır. Mantar türlerinin dozları etil alkol çözücüsü kullanılarak hazırlanan ekstraktlardan M1 ve M2’de 100, 90, 80, 70, 60, 50 µg/ml; M3 ve M4’te 200, 175, 150, 125, 100 µg/ml; M5’te 20, 18, 16, 14, 12, 10 µg/ml aralığında konsantrasyonlar kullanılmıştır. Etil asetat çözücüsü kullanılarak hazırlanan ekstraktlarda ise M1’de 200, 100, 50, 20, 10, 5 µg/ml; M2 ve M3’te 100, 90, 80, 70, 60, 50 µg/ml; M4’te 50, 40, 30, 20 µg/ml; M5’te 10, 8, 6, 5 µg/ml aralığında konsantrasyonlar kullanılmış ve hücre proliferasyonuna etkileri MTT yöntemi ile analiz edilmiştir.

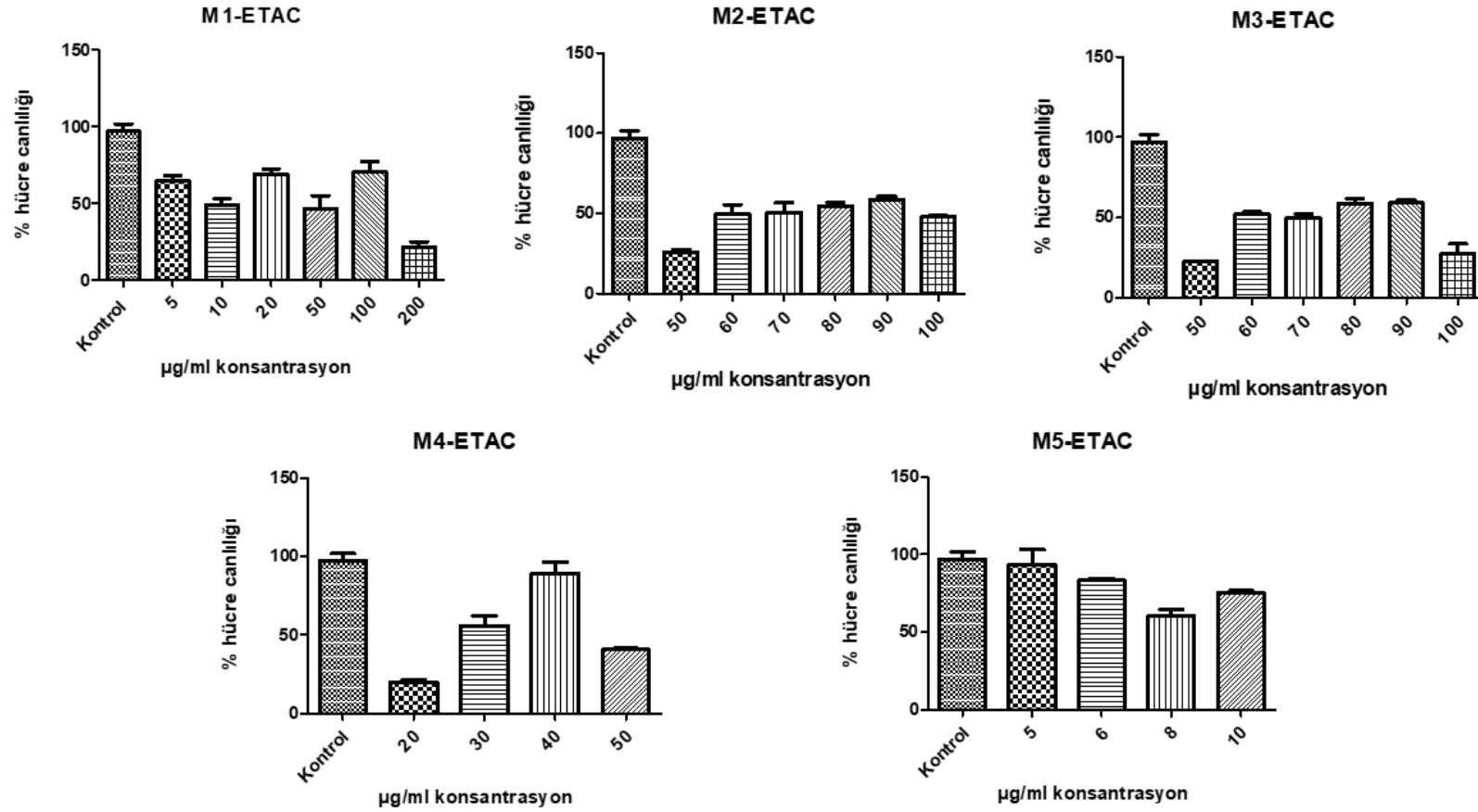
Tüm denemeler 3 tekrar olacak şekilde yapılmıştır ve MTT testinin sonuçları istatistiksel olarak Graphpad Prism 5 programı kullanılarak analiz edilmiştir. Çalışılan konsantrasyonlarda HCT116 hücrelerinin canlılık oranları saptanmıştır ve bu oranlar Şekil 5.1 ve Şekil 5.2’de verilmiştir.

Şekil 5.1’de etil alkol çözücüsü ile ekstraktları hazırlanan mantar türleri, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında HCT116 hücrelerinde kontrole göre hücre canlılığının azaldığı tespit edilmiştir. M1’de 80 µg/ml, M2’de 70 µg/ml, M3 ve M4’te 200 µg/ml, M5’te 16 µg/ml konsantrasyonlarında hücre canlılığının en düşük seviyede olduğu tespit edilmiştir.

Şekil 5.2’de ise etil asetat çözücüsü kullanılarak hazırlanan mantar ekstraktları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında HCT116 hücrelerinde kontrole göre hücre canlılığının azaldığı belirlenmiştir. M1’de 200 µg/ml, M2 ve M3’te 50 µg/ml, M4’te 20 µg/ml, M5’te 8 µg/ml konsantrasyonlarında hücre canlılığının en düşük seviyede olduğu tespit edilmiştir. Etil alkol ve etil asetat ekstraktlarının ölçülen IC₅₀ değerleri de Tablo 5.1’de verilmiştir.



Şekil 5.1 İnsan kolorektal kanser hücrelerinin etil alkolde hazırlanan mantar ekstraktları ile etkileştirilmesinin akabinde 570 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak yapılan kantitatif MTT analizi sonucu istatistiksel canlılık analiz grafikleri

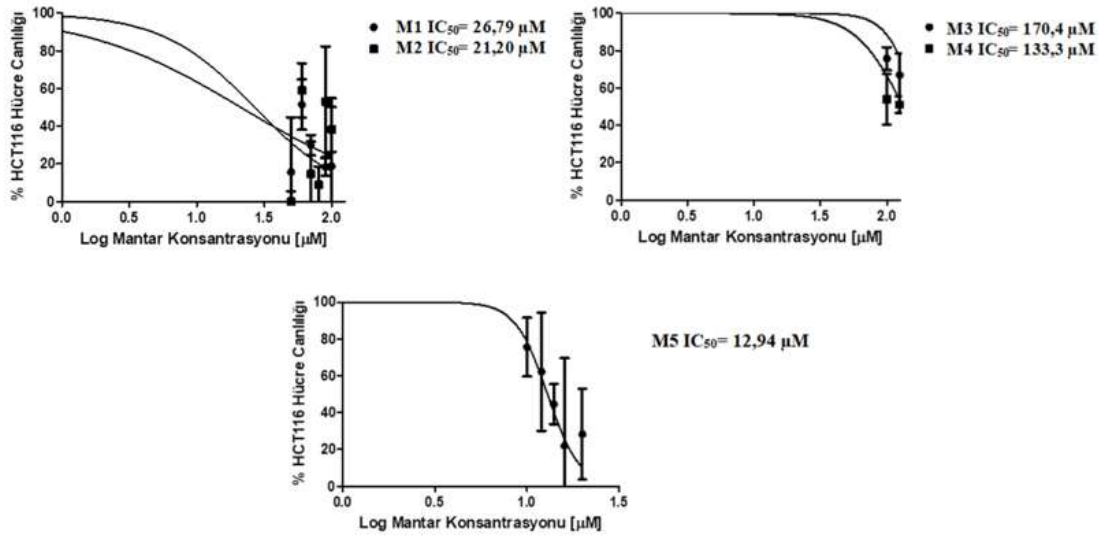


Şekil 5.2 İnsan kolorektal kanser hücrelerinin etil asetatta hazırlanan mantar ekstraktları ile etkileştirilmesinin akabinde 570 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak yapılan kantitatif MTT analizi sonucu istatistiksel canlılık analiz grafikleri

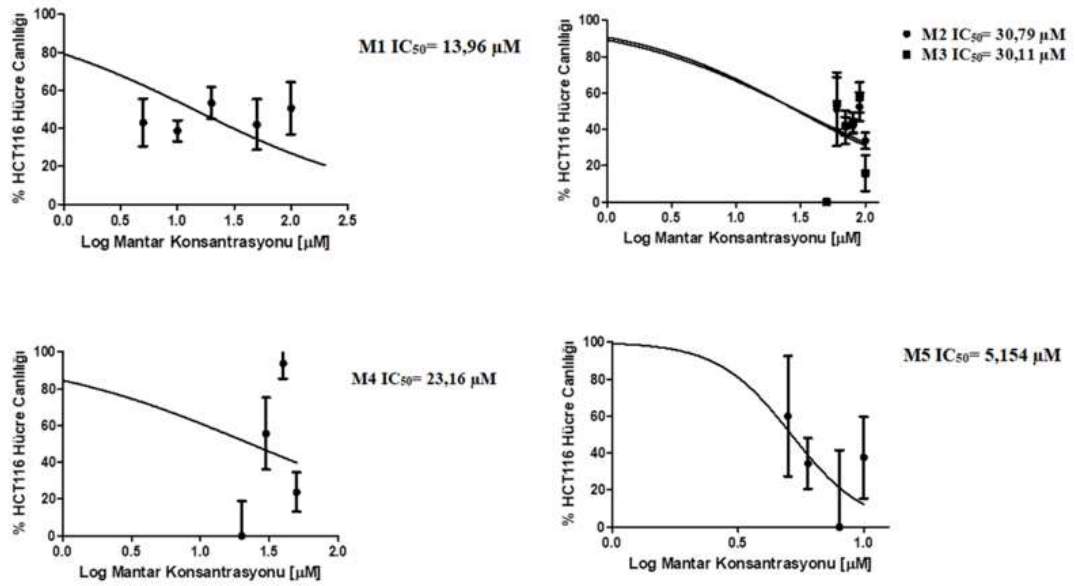
Tablo 5.1 IC₅₀ değerine sahip etil alkol ve etil asetat konsantrasyonları

Mantar Türleri	Etil Alkol Ekstresi	Etil Asetat Ekstresi
M1 (<i>H. coralloides</i>)	100 µg/ml	10 µg/ml
M2 (<i>L. deliciosus</i>)	70 µg/ml	70 µg/ml
M3 (<i>L. nuda</i>)	150 µg/ml	60 µg/ml
M4 (<i>P. ostreatus</i>)	175 µg/ml	30 µg/ml
M5 (<i>S. collitinus</i>)	16 µg/ml	8 µg/ml

Ayrıca bu dozlara göre Graphpad Prism 5 programı ile IC₅₀ değerleri belirlenmiş olup Şekil 5.3 ve Şekil 5.4'te mantar türlerinin etil alkol ve etil asetat ekstraktlarındaki doz-cevap eğrileri görülmektedir.



Şekil 5.3 Etil alkol çözücüsü ile hazırlanmış olan M1, M2, M3, M4 ve M5 mantar türlerinin HCT116 hücre canlılığına etkisi



Şekil 5.4 Etil asetat çözücüsü ile hazırlanmış olan M1, M2, M3, M4 ve M5 mantar türlerinin HCT116 hücre canlılığına etkisi

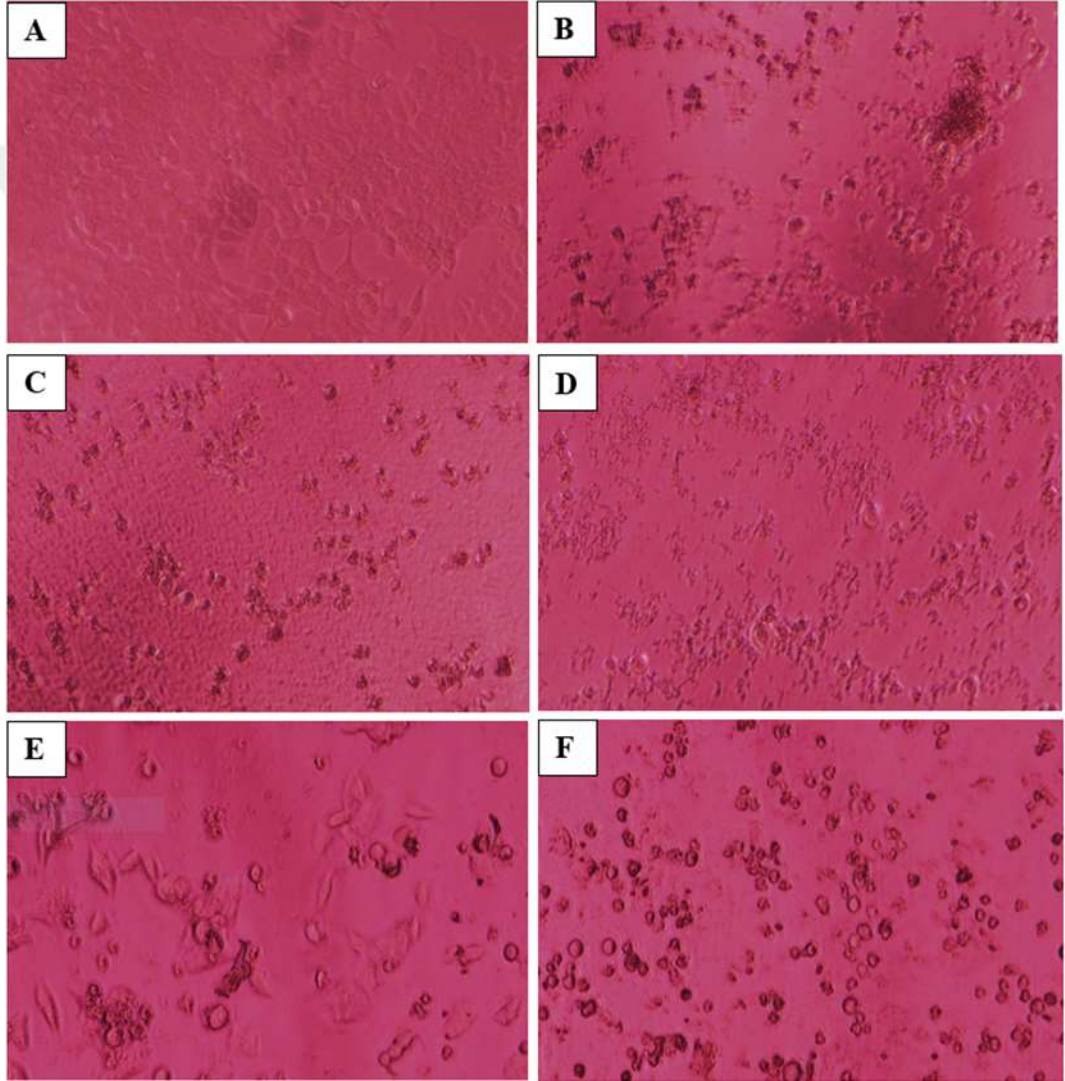
Tablo 5.2 Mantar türlerinin IC₅₀ değerleri

	Etil Alkol IC ₅₀ (µM)	Etil Asetat IC ₅₀ (µM)
M1	26,79	13,96
M2	21,20	30,79
M3	170,4	30,11
M4	133,3	23,16
M5	12,94	5,154
Sisplatin	18,90	

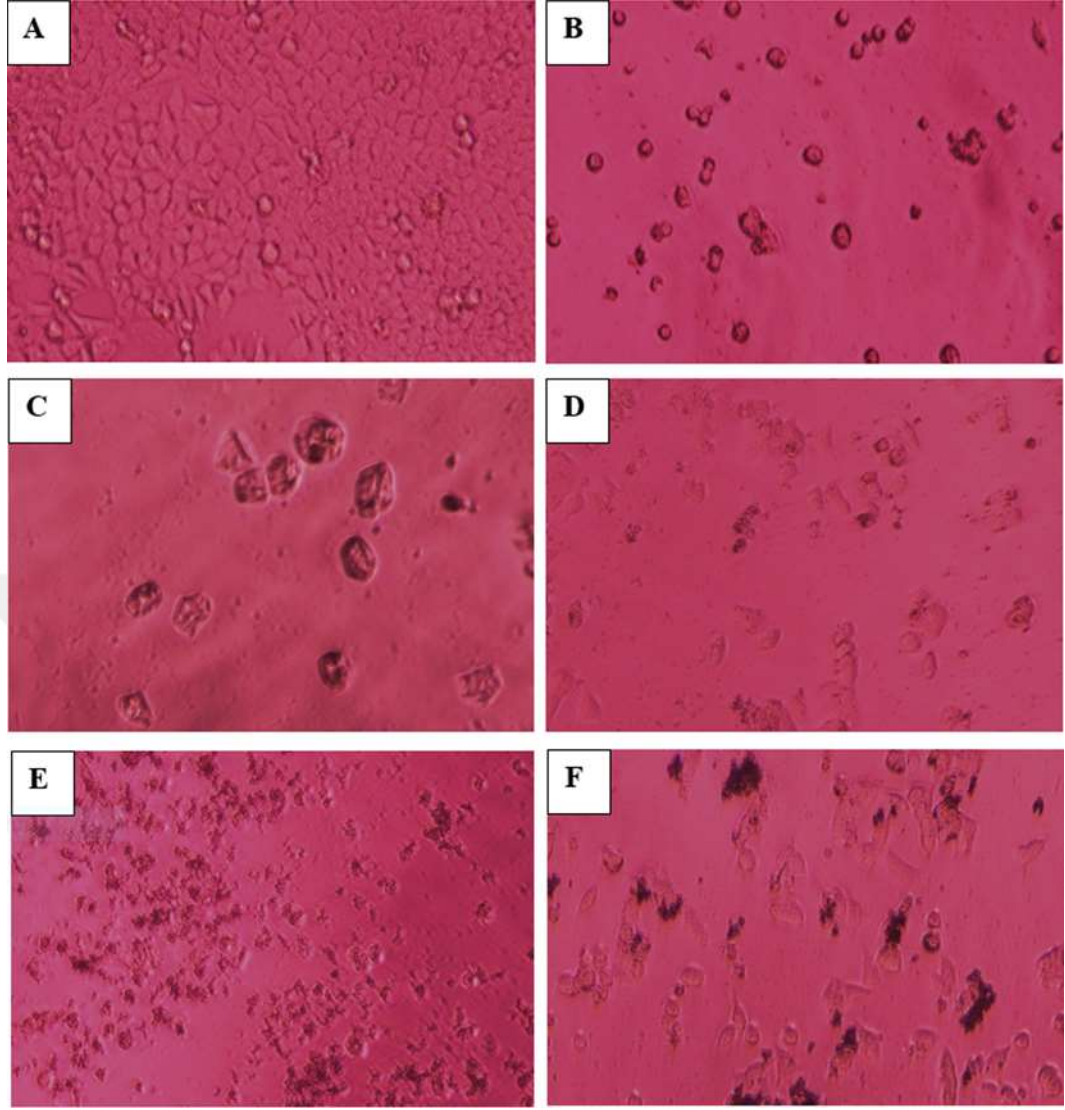
Etil alkol ve etil asetat ekstraktlarının MTT sonuçlarına göre hesaplanan IC₅₀ değerleri Tablo 5.2’de verilmiştir. Tablo 5.2’de etil alkol çözücüsü ile hazırlanan mantar türlerinde en etkili IC₅₀ değerine sahip mantar türü M5 (*S. collitinus*)’tir. Etil asetat çözücüsü ile hazırlanan mantar türlerinde ise en etkili IC₅₀ değerine sahip mantar türü M5 (*S. collitinus*)’tir. Her iki çözücü ile hazırlanan ekstraktlar karşılaştırıldığında en etkili çözücünün etil asetat olduğu görülmektedir. Tablo 5.2’deki IC₅₀ değerleri sisplatin ile karşılaştırıldığında, etil alkol ve etil asetat çözücülerini ile hazırlanan M5 (*S. collitinus*) mantar türü, ayrıca etil asetat çözücüsü ile hazırlanan M1 (*H. coralloides*) mantar türü HCT116 hücreleri üzerinde sisplatine göre daha sitotoksiktir denilebilir.

5.2 Morfolojik Analizler

HCT116 kontrol grubu koloni halinde yüzeye yayılmış olarak gözlenmiştir. Mantar uygulamaları sonucunda hücrelerin hacimlerinde bir artış tespit edilmiştir. Hücrelerin bazılarında iğsi şekil artışı saptanmış olup, bazı hücrelerde ise morfolojik olarak büzülme ve yuvarlak hücre görüntüleri oluşmuştur. Ayrıca hücreler arasındaki bağlantıların azalarak kolonileşmelerin de azaldığı belirlenmiştir.



Şekil 5.5 Etil alkol mantar türleri uygulanmış HCT116 kolorektal kanser hücrelerinin morfolojik görüntüleri. Büyütme: X100 (A-F) Kontrol grubu (A) M1’de iğsi şeklinde yapılar görülmektedir (B) M2’de büzülme, yuvarlak şekilli yapılar ve koloni azalması görülmektedir (C) M3’te iğsi şeklinde yapılar görülmektedir (D) M4’te iğsi hacim artışı görülmektedir (E) M5’te yuvarlak ve büzülme şeklinde yapılar görülmektedir (F)

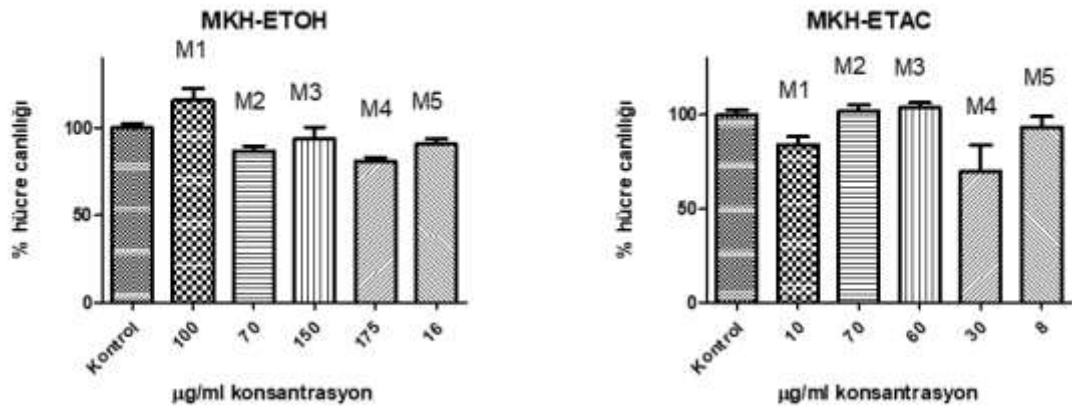


Şekil 5.6 Etil asetat mantar türleri uygulanmış HCT116 kolorektal kanser hücrelerinin morfolojik görüntüleri. Büyütme: X100 (**A-F**) Kontrol grubu (**A**) M1’de iğsi şeklinde yapılar görülmektedir (**B**) M2’de hacim artışı görülmektedir (**C**) M3’te yuvarlak şekilli yapılar görülmektedir (**D**) M4’te büzülme şeklinde yapılar görülmektedir (**E**) M5’te yuvarlak şekilli yapılar görülmektedir (**F**)

5.3 Mezenkimal Kök Hücre Bulguları

Kolorektal kanser hücre serilerinde bulunan IC_{50} değerlerine göre belirlenen dozlar (Tablo 5.1) aynı şekilde mezenkimal kök hücrelere de uygulanmıştır. Buna göre hücre canlılığına etkileri Şekil 5.7’de gösterilmiştir. Bir maddeye sitotoksik denilebilmesi için o maddenin hücrelerin en az %30’unu öldürmesi gerekir (ISO-EN-19993-5). Etil alkol ve etil asetat ekstraktları uygulanan mezenkimal kök hücreler üzerinde böyle bir etki görülmemiştir.

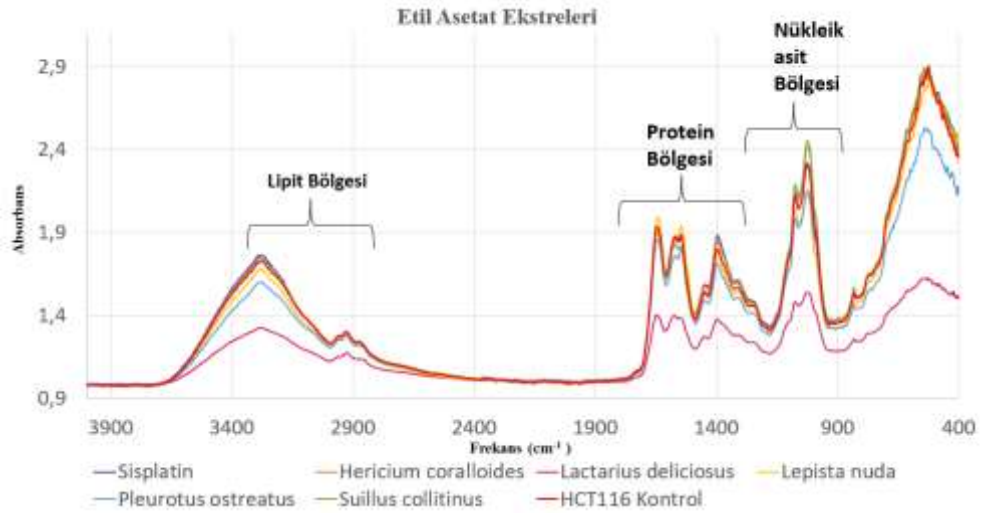
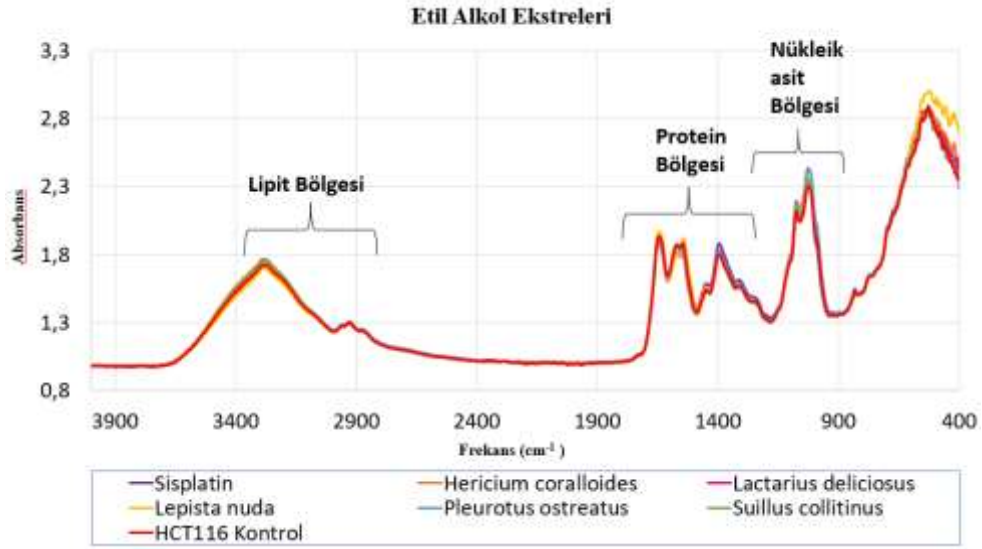
Şekil 5.7’de etil alkol ekstraktlarında hücre canlılığı M1 (*H. coralloides*) mantar türünde 100 µg/ml konsantrasyonda maksimum seviyede iken, M4 (*P. ostreatus*) mantar türünde 175 µg/ml konsantrasyonda minimum seviyededir. Etil asetat ekstraktlarında ise hücre canlılığı M3 (*L. nuda*) mantar türünde 60 µg/ml konsantrasyonda maksimum seviyede iken, M4 (*P. ostreatus*) mantar türünde 30 µg/ml konsantrasyonda minimum seviyededir.



Şekil 5.7 Etil alkol ve etil asetat çözücülerini kullanarak hazırlanan mantar ekstraktlarının mezenkimal kök hücre proliferasyonuna etkisi

5.4 FTIR Bulguları

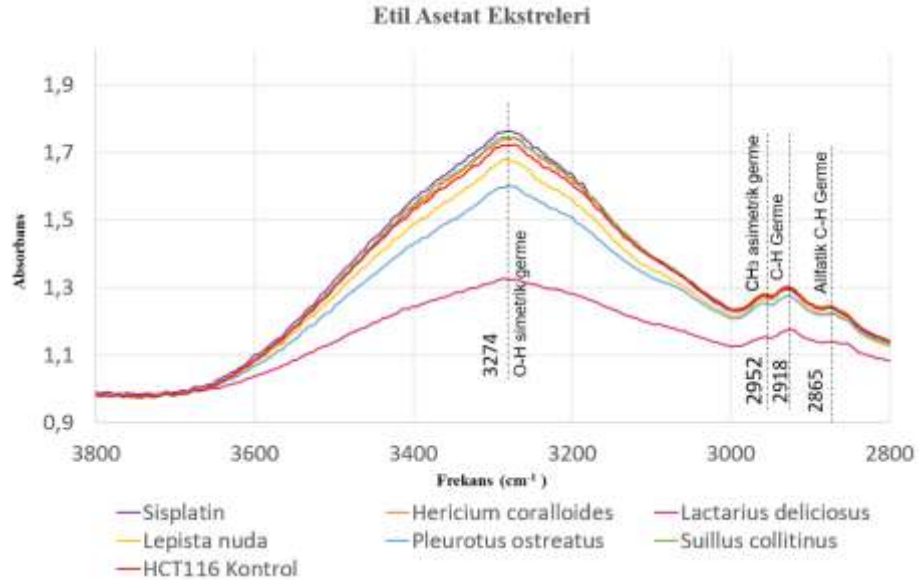
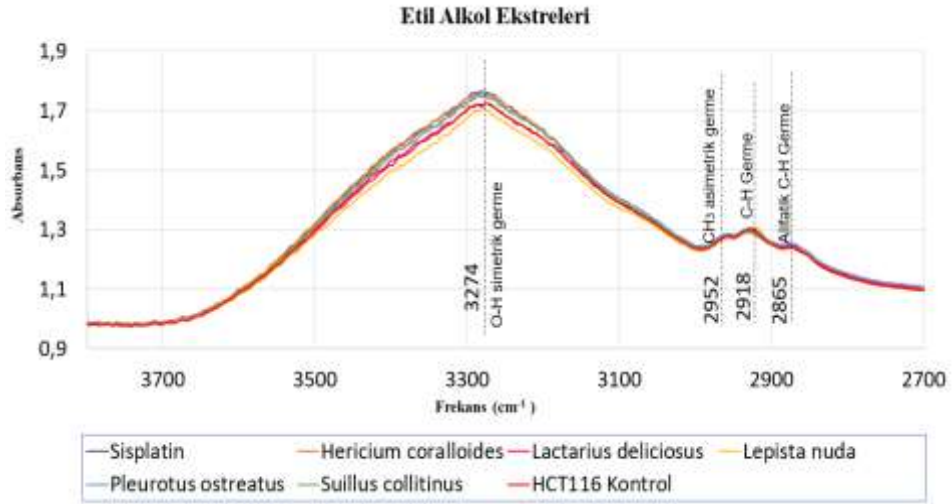
Tüm ATR-FTIR spektrumları oda sıcaklığında 4000 ile 450 cm^{-1} arasındaki spektral bölgede elde edildi. Bireysel hücresel bileşenlerdeki niceliksel değişiklikleri analiz etmek için, tek tek bileşenler için belirli bantlar için soğurma yoğunluğunun oranları belirlendi. Spektral normalizasyon, baseline düzeltmesi sonrası uygun spektral aralıktaki eşit alan açısından (lipidler için 3300-2800 cm^{-1} , proteinler için 1800-1200 cm^{-1} , nükleik asitler için 1200-900 cm^{-1}) gerçekleştirildi. Absorbans değerleri, titreşim tipine atanan ilgili dalga numaralarında okundu.



Şekil 5.8 Kontrol, M1-M5 (etil alkol ve etil asetat çözücüler ile ekstraktları hazırlanmış) ve sisplatin uygulanmış HCT116 hücrelerinden elde edilen FTIR grafikleri

5.4.1 Lipit Bölgesi İncelemesi

3274 cm⁻¹'de tespit edilen O-H simetrik germe bandı piki için etil alkollü grupta sadece *Lepista nuda* türü kontrol grubuna göre düşük bulunmuştur. Diğer mantar türleri uygulanmış HCT116 hücrelerinde bu pik kontrol grubundan daha yüksek gözlenmiştir (Şekil 5.9). Etil asetatlı gruplarda ise bu türe ilaveten *Pleurotus ostreatus* ve özellikle *Lactarius deliciosus* türünde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında oldukça belirgin bir pik azalması mevcuttur. Diğer türlerde ise pikler kontrol grubundakinden daha yüksek saptanmıştır (Şekil 5.9).



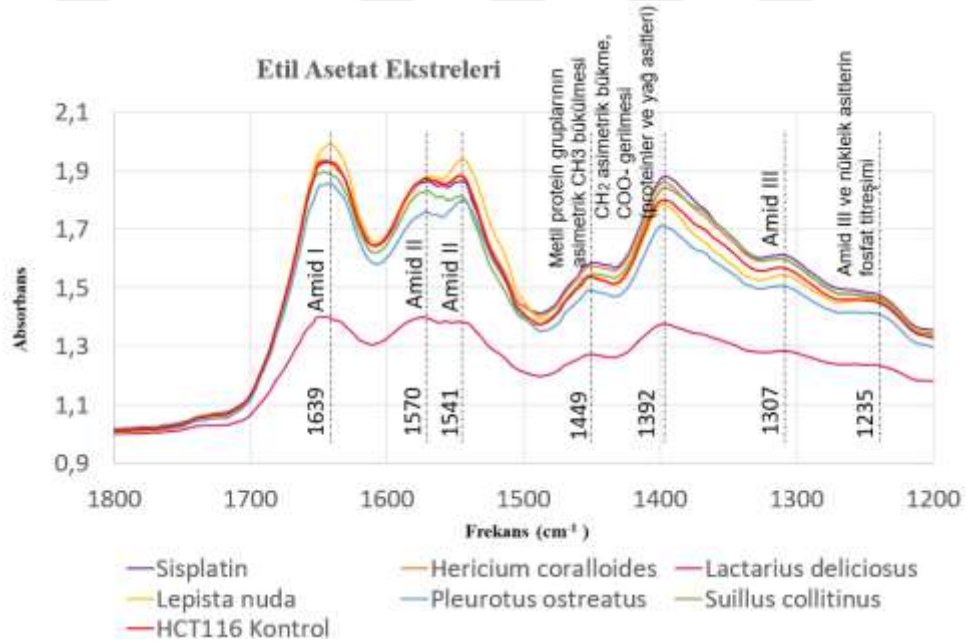
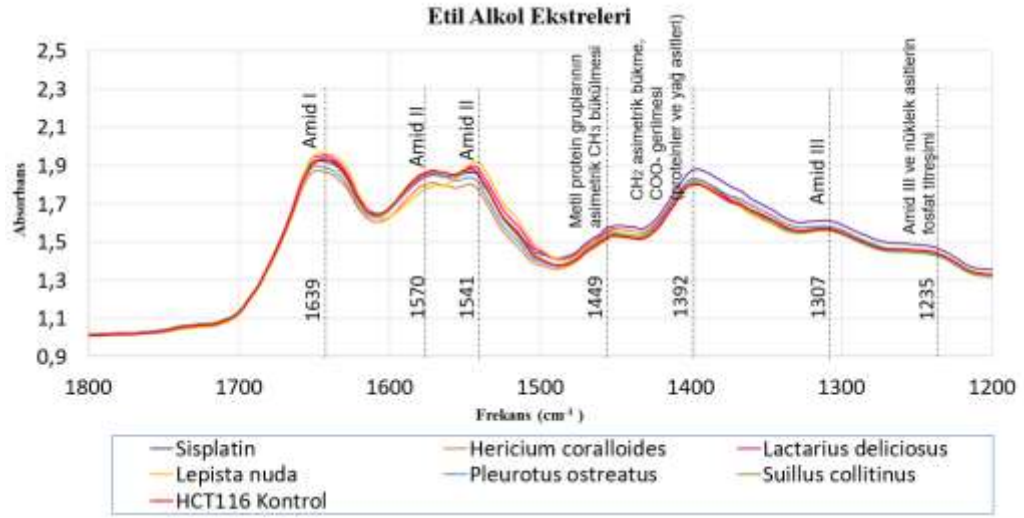
Şekil 5.9 3300-2800 cm⁻¹ aralığı ayarlanmış lipit bölgesi. Etil alkol ve etil asetat çözücülerini ile ekstraktları hazırlanan mantar gruplarının HCT116 hücrelerine uygulanması sonucu görülen FTIR pik değeri ve anlamları

Bunun haricinde 2952 cm⁻¹'de CH₂ asimetrik germe piki, 2918 cm⁻¹'de C-H germe piki ve son olarak 2865 cm⁻¹'de alifatik C-H germe pikleri de tespit edilmiştir. Bu pikler etil alkollü gruplarda kontrol grubu ile benzerken, etil asetatlı gruplarda *Pleurotus ostreatus* ve özellikle *Lactarius deliciosus* türünde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında bir düşüş söz konusu iken, diğer gruplarda bu pikler kontrol grubuna göre benzerdir (Şekil 5.9). Hem etil alkollü hem etil asetatlı gruplarda sisplatin piklerinin kontrol grubuna yakın olduğu belirlenmiştir.

5.4.2 Protein Bölgesi İncelemesi

Etil alkollü ve etil asetatlı gruplarda 1639 cm^{-1} 'de Amid I, 1570 ve 1541 cm^{-1} 'de Amid II, 1307 cm^{-1} 'de Amid III pikleri tespit edilmiştir. Etil alkol ekstrelerine ait FTIR grafiğinde amid I piki sisplatin ve *Suillus collitinus* grupları kontrol grubu ile benzer seviyedeysen, *Pleurotus ostreatus* ve *Hericium coralloides* pikleri azalmıştır. *Lepista nuda* ve *Lactarius deliciosus* gruplarında ise tam tersi şekilde artmıştır. Etil asetat ekstrelerine ait FTIR grafiğinde ise kontrol grubuna göre amid I pikinde hem kaymalar hem de yoğunluklarda göze çarpan değişiklikler söz konusudur. Özellikle *Lactarius deliciosus*, *Pleurotus ostreatus* ve *Suillus collitinus*'da 1639 cm^{-1} piklerinin hem azaldığı hem de ters yönde 1651 cm^{-1} 'e doğru bir kayma gösterdiği belirlenmiştir. *Lepista nuda* uygulanmış grupta bir kayma gözlenmezken, pikte belirgin bir artış saptanmıştır (Şekil 5.10).

Şekil 5.10'da etil alkol ekstrelerine ait FTIR grafiğinde amid II pikinde 1570 cm^{-1} 'de kontrole göre daha aşağıda gözlenen *Lepista nuda* grubu 1541 cm^{-1} pikinde zıt bir etki göstererek kontrole göre bariz bir artış göstermiştir. *Pleurotus ostreatus* ve *Hericium coralloides* gruplarında bu oranlar kontrole göre her iki pikte azalma şeklinde ortaya çıkarken, sisplatin ve diğer iki mantar türünde kontrole benzer pikler gözlenmiştir. 1449 cm^{-1} metil protein gruplarının asimetric CH_3 bükülmesi, 1392 cm^{-1} CH_2 asimetric bükme, COO^- gerilmesi (proteinler ve yağ asitleri) ve 1235 cm^{-1} Amid III ve nükleik asitlerin fosfat titreşim pikleri için tek farklı ve yüksek olan grup sisplatindir. Tüm mantar grup pikleri kontrole benzer olduğu belirlenmiştir.



Şekil 5.10 1800-1200 cm⁻¹ aralığı ayarlanmış protein bölgesi. Etil alkol ve etil asetat çözücülerini ile ekstraktları hazırlanan mantar gruplarının HCT116 hücrelerine uygulanması sonucu görülen FTIR pik değeri ve anlamları

Etil asetat ekstraktlarına ait FTIR grafiğinde ise Amid II bantlarında kontrol, sisplatin ve *Hericium coralloides* uygulanmış HCT116 hücrelerinde benzer pikler tespit edilirken; diğer mantar uygulanmış gruplarda pikte bir azalma söz konusu olmuştur. Yalnızca 1541 cm⁻¹ bandında *Lepista nuda* belirgin bir pik artışı göstermiştir.

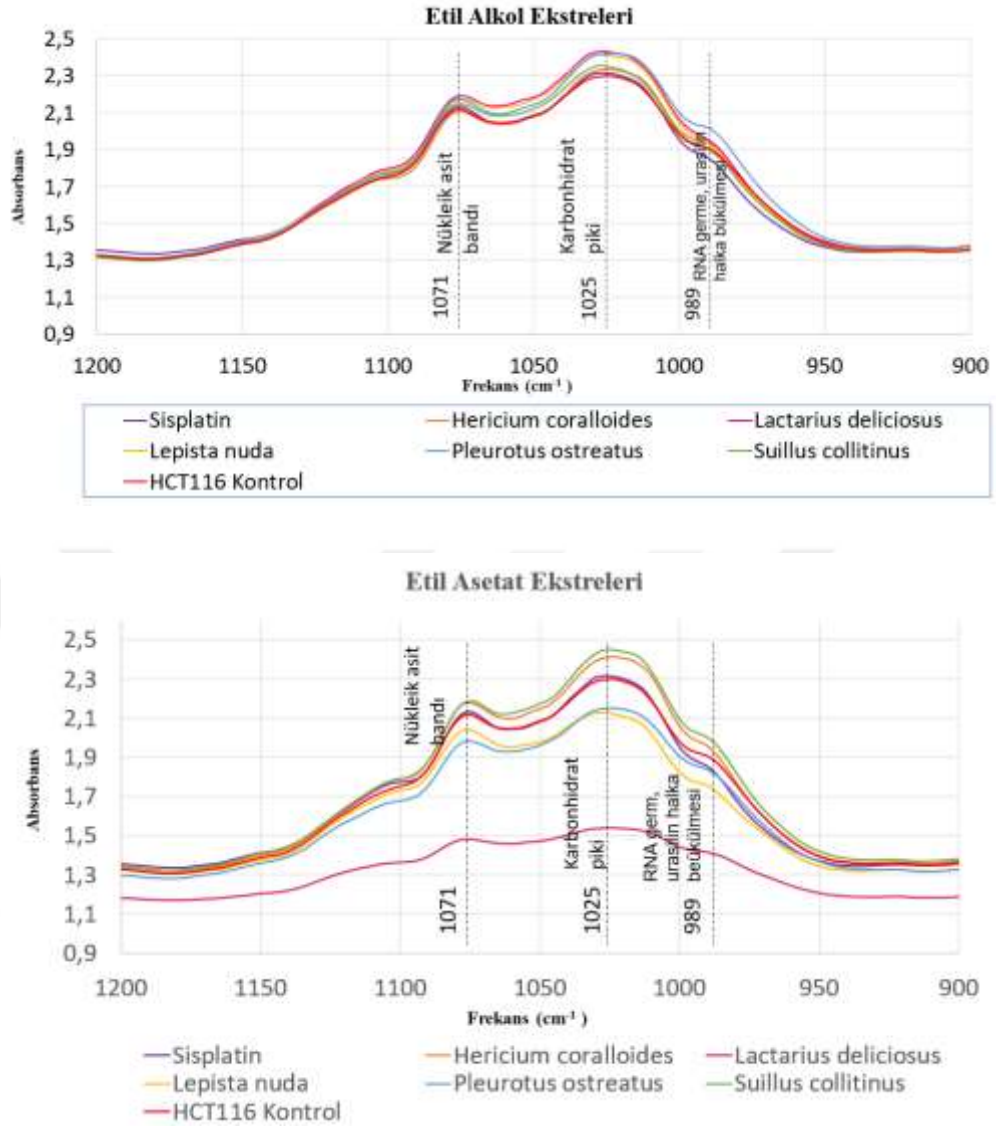
Amid III bandı için ise sadece sisplatinin kontrol grubuna göre bariz bir pik artışı mevcut iken, diğer tüm gruplarda bu oranlar kontrole yakın çıkmıştır (Şekil 5.10).

Etil asetat ekstrelerine ait FTIR grafiğinde pikin sisplatin >*Hericium coralloides* > *Suillus collitinus* > HCT116 kontrol > *Lepista nuda* > *Pleurotus ostreatus* > *Lactarius deliciosus* şeklinde azaldığı belirlenmiştir. Bu sıralama 1449 cm⁻¹ metil protein gruplarının asimetric CH₃ bükülmesi, 1392 cm⁻¹ CH₂ asimetric bükme, COO-gerilmesi (proteinler ve yağ asitleri) ve 1235 cm⁻¹ Amid III ve nükleik asitlerin fosfat titreşim pikleri için de geçerlidir.

5.4.3 Nükleik Asit Bölgesi İncelemesi

Şekil 5.11 incelendiğinde nükleik asit simetrik piki 1071 cm⁻¹'de, karbonhidrat piki 1025 cm⁻¹'de ve RNA germe ile urasilin halka bükülmesi 989 cm⁻¹'de tespit edildi. Şekil 5.11'de nükleik asit ve karbonhidrat piklerinde tüm gruplarda kontrol grubuna göre bir artış gözlenirken; RNA germe ile urasilin halka bükülmesi bant pikinde *Suillus collitinus*'da bir artış, sisplatin grubunda ise bir azalma söz konusudur. Diğerleri kontrol grubuyla benzer pik yoğunluğuna sahiptir.

Etil asetat ekstrelerine ait FTIR grafiğinde ise gruplar arası bariz farklılıklar gözlenmektedir. Nükleik asit bant ve karbonhidrat piklerinde kontrol grubu ve sisplatin grubu pikleri benzer iken; *Suillus collitinus* ve *Hericium coralloides* piki kontrole göre yüksek diğer üç türün ise düşük bulunmuştur. Bu durum RNA germe, urasilin halka bükülmesi içinde geçerlidir. Tek fark sisplatin grubu da kontrole göre daha düşük bir pik yoğunluğu sergilemiştir.



Şekil 5.11 1200-900 cm⁻¹ aralığı ayarlanmış nükleik asit bölgesi. Etil alkol ve etil asetat çözücüler ile ekstraktları hazırlanan mantar gruplarının HCT116 hücrelerine uygulanması sonucu görülen FTIR pik değerleri ve anlamları

5.4.4 Biyolojik Açıdan Analizi

Kanser hücrelerinin spektral analizi (Tablo 5.3), biyokimyasal hücresel parmak izi bölgelerinde bazı önemli farklılıklar gösterdi, bu da hücre ölümünün Tablo 5.4'te gösterildiği gibi spesifik absorbans yoğunluğu oranları ile yansıtılabileceğini göstermiştir (Ishida, 1993; Boydston ve White, 1999; Mordechai, 2001; Gaigneaux, 2002; Sahu, 2008; Erukhimovich, 2010; Mostaço ve Guidolin, 2010; Bellisola, 2012).

Tablo 5.3 Kontrol (HCT116), sisplatin ve mantar ekstraktları uygulanmış HCT116 hücrelerinin spektrumlarında elde edilen en önemli bantlar, atanmış hücresel bileşenlerle titreşim türleri ve pik değerleri

Etil Alkol-A1:U16			Kontrol		Sisplatin		<i>Salvia collina</i>			<i>Lepista nuda</i>			<i>Hericium coralloides</i>			<i>Pleurotus ostreatus</i>			<i>Lactarius deliciosus</i>		
	Pik	Biyolojik önem	(cm-1)	yoğunluk	(cm-1)	yoğunluk	(cm-1)	yoğunluk (etil alkol)	(etil asetat)	(cm-1)	yoğunluk (etil alkol)	(etil asetat)	(cm-1)	yoğunluk (etil alkol)	(etil asetat)	(cm-1)	yoğunluk (etil alkol)	(etil asetat)	(cm-1)	yoğunluk (etil alkol)	(etil asetat)
Lipitler	1	CH ₂ simetrik germe	2850	1,211	2850	1,207962891	2850	1,209336	1,212033	2850	1,21882846	1,203167	2850	1,208313	1,215303	2850	1,22224	1,197347	2850	1,216841	1,130557
	2	CH ₃ asimetrik germe	2952	1,275	2952	1,270438174	2952	1,275705	1,275933	2952	1,27320415	1,265134	2952	1,271682	1,279132	2952	1,283796	1,250016	2952	1,279984	1,149465
	3	C-H germe bandı	2918	1,287	2918	1,279852561	2918	1,283417	1,285628	2918	1,30333915	1,2856610	2918	1,274486	1,291222	2918	1,291706	1,262116	2918	1,291823	1,167651
	4	Alifanik C-H germe	2865	1,229	2865	1,227792307	2865	1,229181	1,232863	2865	1,23039065	1,216501	2865	1,229831	1,234339	2865	1,244307	1,213268	2865	1,236904	1,134546
Proteinler	5	Amid I	1644	1,929	1644	1,933188989	1644	1,919533	1,89111	1644	1,96513844	1,988427	1644	1,868495	1,935434	1644	1,890502	1,856148	1644	1,951258	1,399521
	6	Amid II	1570	1,872	1570	1,864732318	1570	1,866089	1,831938	1570	1,79484878	1,880442	1570	1,808874	1,873256	1570	1,858149	1,75608	1570	1,851132	1,39507
	7	Amid III	1307	1,565	1307	1,60815657	1307	1,556372	1,593524	1307	1,55612959	1,541188	1307	1,573936	1,594286	1307	1,579629	1,50263	1307	1,564749	1,282545
	8	Metil protein gruplarının asimetrik CH ₃ bükülmesi	1449	1,536	1449	1,584434515	1449	1,545356	1,54624	1449	1,56193868	1,540191	1449	1,526508	1,572896	1449	1,546432	1,490646	1449	1,567103	1,270971
	9	CH ₂ asimetrik bükme, COO-streç (proteinler ve yağ asitleri)	1392	1,795	1392	1,75666655	1392	1,742737	1,836244	1392	1,76894094	1,775158	1392	1,802841	1,851509	1392	1,81871	1,701664	1392	1,8217	1,372194
	10	Amid III'ün yanı sıra nükleik asitlerin fosfat titreşiminden oluşur	1235	1,439	1235	1,464664958	1235	1,423954	1,447157	1235	1,43694678	1,452897	1235	1,426778	1,455646	1235	1,435214	1,400188	1235	1,438373	1,228939
Nükleik Asitler	11	Düzensiz yapıdaki DNA'daki deoksiribozun 2 farklı C-O titreşimi için nükleik asit bandı / Fosfat I bandı	1071	2,086	1071	2,09938488	1071	2,125444	2,164362	1071	2,159594	2,008879	1071	2,079218	2,150214	1071	2,143071	1,962824	1071	2,171506	1,471887
	12	Karbonhidrat pik	1025	2,298	1025	2,31443979	1025	2,352886	2,45056	1025	2,41196334	2,126574	1025	2,332198	2,411731	1025	2,41838	2,150769	1025	2,431729	1,538817
	13	DNA	1020	2,294	1020	2,306805075	1020	2,339783	2,437182	1020	2,40263329	2,10544	1020	2,329536	2,40454	1020	2,418789	2,143393	1020	2,421366	1,535603
	14	RNA germe, urasil halka bükülmesi	989	1,898	989	1,842570755	989	1,890717	1,991992	989	1,91776619	1,748252	989	1,928715	1,945336	989	2,008435	1,829224	989	1,940805	1,411492

Türetilen amid I ve amid II arasındaki absorbans oranı C=O ve N-H'den amid gruplarının gerilme titreşimleri, proteinlerdeki yapısal değişiklikleri ifade etmek için uygulanabilir (Ishida, 1993; Mordechai, 2001; Erukhimovich, 2010). Bu durum, hücre hattı absorbans yoğunluğu oranlarına bağlı olarak değişir (Ishida, 1993; Boydston ve White, 1999; Mordechai, 2001; Gaigneaux, 2002; Sahu, 2008; Erukhimovich, 2010; Mostaço ve Guidolin, 2010; Bellisola, 2012) ve amid absorpsiyonlarının protein konformasyonuna duyarlılığı nedeniyle protein degradasyon seviyesinin değerlendirilmesini sağlar (Gasparri, 2003). Tüm protein modelinin bileşimindeki değişiklikler, bu absorbans oranında bir artış veya azalma ile belirlenebilir. Tablo 5.4 incelendiğinde, kontrol grubunda (HCT116) amid I / amid II'nin ortalama değeri yaklaşık 1, 03'tür ve mantar ekstraktları uygulanmış hücrelerde farklılıklar gözlenmiştir.

Nükleik asit içeriğindeki azalma, RNA/DNA absorbans oranının analizi ile belirlenebilir (Lee, 2007). Bu parametre, DNA sentezinin sonunda ve RNA sentezinin başlangıcında RNA seviyesi ve RNA/DNA oranı artarken, artmış DNA sentezi bu oranın azalmasına yol açtığı için hücrelerdeki replikasyon seviyesinin belirlenmesi için yararlıdır (Sahu, 2008). Etil alkol ve etil asetat çözücülerini ile hazırlanmış mantar ekstraktlarında sadece *Pleurotus ostreatus* uygulanmış HCT116 hücrelerinde, RNA/DNA oranında bir artış gözlenmiştir. Diğer mantar türlerinde farklı sonuçlar ortaya çıkmıştır. RNA/DNA artışı, artan transkripsiyonu gösterirken; RNA/DNA oranındaki azalma ise, kanser hücrelerinin hücre döngüsünün S fazını geçtiği ya da transkripsiyon sürecine mi girdiği anlamına gelebilir. Ancak daha sonraki hücre döngüsü aşamalarına girip girmedikleri bilinmemektedir. Bu durumda belirlenen amid I/DNA oranındaki artış, nükleik asit içeriğindeki genel azalma ve hücre döngüsü fazıyla yakından ilişkili DNA'nın paketlenmesindeki artış hakkında bilgi sağlar (Gaigneaux, 2002).

Tablo 5.4 İnsan HCT116 kolorektal kanser hücre gruplarında seçilen hücresel bileşenler için absorbands yoğunluğu katsayılarının özeti (Gieroba vd., 2020)

Biyolojik Önem	Absorbans Yoğunluğu Oranı	HCT116 Kontrol	Sisplatin +HCT116	Etil alkol ile hazırlanmış mantar ekstraktları					Etil asetat ile hazırlanmış mantar ekstraktları				
				<i>Lepista nuda</i> + HCT116	<i>Hericium coralloides</i> +HCT116	<i>Lactarius deliciosus</i> +HCT116	<i>Pleurotus ostreatus</i> +HCT116	<i>Suillus collitinus</i> +HCT116	<i>Lepista nuda</i> + HCT116	<i>Hericium coralloides</i> +HCT116	<i>Lactarius deliciosus</i> +HCT116	<i>Pleurotus ostreatus</i> +HCT116	<i>Suillus collitinus</i> +HCT116
Proteinlerin ikincil yapısı ve DNA içeriği	Amid I/Amid II	1,03041	1,03671	1,09488	1,03296	1,054089	1,017412	1,028639	1,05743	1,033193	1,003191	1,056984	1,0323
Transkripsiyon seviyesi	RNA / DNA	0,82735	0,79875	0,79819	0,827939	0,801533	0,830347	0,808073	0,83035	0,809026	0,919178	0,853424	0,817334
Kromatin yoğunlaşması	Amid I / DNA	0,84116	0,83804	0,81791	0,802089	0,80585	0,78159	0,820389	0,94442	0,804908	0,911382	0,865986	0,775941
Hücre döngüsünün G1 ve G2 fazı	Amid I / RNA	1,01669	1,04918	1,0247	0,968777	1,005385	0,941281	1,015241	1,13738	0,99491	0,991519	1,014719	0,949356
Lipid ve protein dağılımı bozuklukları	Asim. CH2/CH3	1,40785	1,38272	1,38936	1,417682	1,423221	1,416666	1,366097	1,40314	1,447473	1,193767	1,361314	1,439138
Hücre zarındaki değişiklikler - gözeneklerin ve iyon kanallarının oluşumu	Lipidler : CH2 sim. germe 2850 cm-1	1,5927	1,60037	1,61232	1,546367	1,603543	1,546752	1,587262	1,65266	1,592552	1,237905	1,550218	1,560279
	Lipidler: CH3 asimetric germe 2952 cm-1	1,51313	1,52167	1,54346	1,46931	1,52444	1,472588	1,504684	1,57171	1,513084	1,217542	1,4849	1,482138

Etil asetat ile ekstreleri hazırlanmış *Lepista nuda*, *Lactarius deliciosus* ve *Pleurotus ostreatus* türleri uygulanmış HCT116 hücrelerinde amid I/DNA oranında bir artış (Tablo 5.4), daha fazla kromatin yoğunlaşması ile sağlanabilir (hücreler, mitozun farklı fazlarında olabilir - en büyük kromatin yoğunlaşması metafazda görülür) (Antonin, 2016). Buna karşılık, sisplatin de dahil olmak üzere diğer tüm gruplarda gözlenen ters eğilim muhtemelen DNA'nın çift sarmalının enzimler yardımıyla açıldığı yoğun DNA replikasyonu ile ilişkilidir (Barth, 2007).

2800 ile 3000 cm^{-1} arasındaki bölgede, esas olarak yağ asitlerinde bulunan CH_2 ve CH_3 gruplarının simetrik ve asimetrik gerilme titreşimleri hakimdir (Tayran, 2006). CH_3 sayısının CH_2 sayısına göre artması, lipid zincirlerinin apoptozis sırasında değişebileceğini gösterir. Apoptozis sırasında CH_2 'nin simetrik ve antisimetrik gerilmesine atanan $2850 \pm 3 \text{ cm}^{-1}$ ve $2920 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$ bantları her grupta farklı etki göstermiştir. Apoptoz ve nekroz için ortak bir belirteç olan yaklaşık 2920 cm^{-1} ve 2850 cm^{-1} 'de artan lipid emilimi (Gasparri, 2003), test edilen tüm mantar gruplarında tespit edilebilir (Şekil 5.8). Ancak her iki uygulama içinde farklı sonuçlar ortaya çıkmıştır. Dolayısıyla, CH_2/CH_3 oranındaki artış veya azalma net bir sonuca varılmasına izin vermez.

CH_2/CH_3 oranı ile güçlü bir şekilde ilişkili olan protein / lipid absorbans yoğunluğunun oranı (bu çalışmada amid I/lipidler), hücre zarı içindeki lipid ve protein dağılımındaki sapmalar hakkında ek bilgi sağlar (Ahmed, 2009). Amid I/lipid emme yoğunluğu oranları analiz edildiğinde, Her iki çözücü ile hazırlanmış *Lepista nuda* ekstreleri uygulanan HCT116 hücre gruplarında ve *Lactarius deliciosus* hücre zarı içinde rahatsızlıklara neden olduğu görülebilir. Bu, hem metil (CH_3) hem de metilen (CH_2) gruplarının (Tablo 5.4) absorbansı dikkate alınarak amid I/lipid oranında bir artışla kanıtlanır ve muhtemelen apoptoz ve nekroz sırasında meydana gelen membran hücrelerinin süresizliğine yol açar. Her iki işlemin de aynı anda gerçekleşmesi muhtemeldir.

Ayrıca apoptoz, düzensiz yapıdaki DNA'daki deoksiribozun iki farklı C-O titreşiminden kaynaklanan $\sim 1020 \text{ cm}^{-1}$ absorbans yoğunluğundaki değişiklikler ile nekrozdan ayırt edilmiştir (Gasparri, 2003). Mantar ekstraktları uygulanmış HCT116 hücre gruplarında kontrol grubuna kıyasla $\sim 1020 \text{ cm}^{-1}$ ve 1071 cm^{-1} 'de nükleik asit bantlarının nispi yoğunluğunda belirgin bir artış gözlenmiştir (Tablo 5.3). Ayrıca, daha önceki çalışmalar, azalmış DNA absorbansının muhtemelen apoptoz ile ilişkili olduğunu bildirmiştir. Bu, apoptotik DNA'nın daha az IR radyasyonu absorbe etmesiyle açıklanabilir: Bu tip hücre ölümü sırasında DNA'nın bozulmasına rağmen "şeffaf" hale gelir. Bunun aksine, nekroz sırasında DNA bozulur, ancak konsantre edilmez (tam olarak genişler), bu da onun daha fazla kızılötesi radyasyonu emmesini sağlar (Zelig, 2009).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Cladosporium oxysporum'dan ekstrakte edilen mantar taksolü, insan kolorektal kanser hücresi HCT15'te oldukça güçlü sitotoksik aktiviteye sahiptir. 24 saatlik tedavi süresince 3.5 μM IC_{50} değeri ile HCT15 hücre hattında büyümeyi bastırmıştır. Bu nedenle, *C. oxysporum* taksol üretimi için alternatif bir kaynak olabileceği ve ayrıca olası klinik uygulamalar ile antibakteriyel ve antikanser özellikler sahip olabileceği ortaya koyulmuştur (Raj, 2015).

Pleurotus ostreatus'un lösemi hücre hatları olan KG-1 ve Jurkat hücrelerinde anti-invazif, antiproliferatif ve sitotoksik etkileri değerlendirilmiştir. *P. ostreatus* özütleri lösemi hücre hatlarına ve kemik iliği mezenkimal kök hücrelere uygulanmıştır. 48 saat sonra lösemi hücrelerinde proliferasyonu azalttığı, ancak mezenkimal kök hücreler üzerinde herhangi bir antiproliferasyon etkisi görülmemiştir. Ayrıca tedavi sonrasında KG-1 hücre göçü ve MMP-9 gen ekspresyonunun azaldığı, apoptoz oranının ve BAX gen ekspresyonunun önemli ölçüde arttığı tespit edilmiştir. Sonuç olarak *P. ostreatus* mantarının lösemi hücreleri üzerinde göstermiş olduğu terapötik etkilerine bakılarak, kemoterapinin olası yan etkilerinden ve maliyetinden muzdarip lösemili hastaları sağlığına kavuşturmak için doğal bir ilaç olarak tanıtılabileceği düşünülmüştür (Ebrahimi, 2017).

Cerrena unicolor tarafından üretilen ikincil metabolitlerden izole edilen düşük moleküler ağırlıklı alt fraksiyonların antikanser ve antioksidan aktivitelerini araştırılmıştır. Araştırmada insan kolon kanser hücresi HT29 ve insan normal kolon epitel hücreleri CCD 841 CoTr kullanılmıştır. Düşük moleküler ağırlıklı alt fraksiyonların 25-200 $\mu\text{g/ml}$ 'lik bir konsantrasyon aralığında HT29 hücrelerine karşı inhibe edici aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Bu çalışma ile ilk kez elde edilmiş ve karakterize edilmiş bu maddelerin, insan kolon kanserinde potansiyel terapötik ve önleyici ajanlar olarak ayrıca değerlendirilmesi gerektiği gösterilmiştir (Matuszewska, 2019).

Thyagarajan vd., *Ganoderma lucidum* kaynaklı triterpenlerin (GLT) HT-29 insan kolorektal kanseri hücrelerinin büyümesini etkileyip etkilemediğini araştırmışlardır. Yaptıkları çalışmalar sonucunda GLT'nin HT-29 kolorektal kanseri hücrelerinin in vitro proliferasyonunu baskıladığını ve ayrıca GLT, HT-29 hücrelerinde ve kolon tümörlerinde otofajiyi indüklediğini tespit etmişlerdir (Thyagarajan, 2010).

Trametes versicolor ve *Grifola frondosa* meyve gövdelerinden polisakkarit bakımından zengin ekstraktlar hazırlanmıştır. Bu ekstraktların LoVo ve HT29 insan kolon kanseri hücrelerinde antikanser etkileri değerlendirilmiştir. Her iki mantar ekstraktı da hücre proliferasyonunu, onkojenik potansiyeli ve hücre göçünü engellediğini gözlemlemişlerdir. Böylece elde edilen sonuçlar ile *T. versicolor* ve *G. frondosa*'dan elde edilen polisakkarit bakımından zengin ekstraktlar insan kolon kanseri hücre hatlarında potansiyel bir antikanser etkisinin olduğunu altı çizilmiştir (Roca ve Lema, 2019).

Ganoderma tsugae, metanol ile ekstrakte edilmiştir. Hazırlanan metanol ekstraktları Colo205 kolorektal kanser hücrelerine uygulanmıştır. Uygulama sonucunda metanol ekstresi G2/M hücre döngüsünün bloke edilmesini engelleyerek, kolorektal adenokarsinom hücreleri üzerinde in vitro ve in vivo antikanser etkilere sahip olduğu moleküler olarak kanıt sağlamıştır. Ayrıca biyokimyasal, hematolojik ve patolojik incelemelere dayalı olarak, in vivo hayvan modelinde *G. tsugae* ekstreleri ile tedariden kaynaklanan herhangi bir fizyolojik toksisite gözlemlenmemiştir. Bu nedenle bu ekstrenin insan kolorektal adenokarsinomu için bir antikanser tedavisi olarak klinik olarak yararlı olabileceği düşünülmüştür (Hsu, 2008).

Cordyceps militaris etanol ekstresinin insan kolorektal kanser kaynaklı hücre dizisi RKO üzerindeki inhibitör etkisi araştırılmıştır. *C. militaris*'in etanol ekstresi çeşitli konsantrasyonlarda RKO hücrelerine uygulanmıştır. Uygulama sonucunda *C. militaris* etanol ekstresi, RKO hücrelerine karşı oldukça sitotoksik olduğu ve ksenograft modelinde tümör büyümesini inhibe ettiği gözlenmiştir (Lee, 2015).

Literatür verileri ve tez çalışması ile elde edilen sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde çeşitli mantar türlerinin kolorektal kanser hücre hatları üzerinde antikanser aktivitesini

belirleyen çalışmalar yapılmıştır. Daha önceden kolorektal kanser üzerine etkisi belirlenemeyen yenilebilir türlerde olan *Hericium coralloides*, *Lactarius deliciosus*, *Lepista nuda*, *Pleurotus ostreatus* ve *Suillus collitinus* mantarları seçilmiştir. Bu beş farklı mantar türlerinin etil alkol ve etil asetat leri ile ekstraktları hazırlanmıştır. Hazırlanan ekstraktlar çeşitli konsantrasyonlarda kolorektal kanser hücre hattı HCT116 zerine uygulanmış olup sitotoksik etkilerine bakılmıştır ve IC₅₀ değerleri belirlenmiştir. Bu IC₅₀ değerleri baz alınarak mantar ekstraktlarının sağlıklı hücrelerde aynı etkiyi yapıp yapmadığını belirlemek için mezenkimal kök hücrelere de beş farklı mantar türüne ait etil alkol ve etil asetat ekstraktları uygulanmış ve bu ekstratların mezenkimal kök hücreler üzerinde herhangi bir antiproliferatif etki görülmemiştir. Sonuç olarak bu mantarların sağlıklı hücreler üzerine herhangi bir olumsuz etki göstermediği, sadece kanser hücreleri üzerine etki ederek onların büyümesini engellediği ya da öldürdüğü söylenilebilir.

Mantar türleri arasında HCT116 hücre hattı üzerinde en etkili olan mantarın *S. collitinus* olduğu belirlenmiştir. Ayrıca mantar türleri ile hazırlanan etil alkol ve etil asetat ekstratları karşılaştırıldığında en etkili olan nn etil asetat olduğu tespit edilmiştir.

Fourier Dönüşümü Kızılötesi (FTIR) spektroskopisi, çalışılacak örnek makromoleküllerin fonksiyonel gruplarının çoğaltılmasından kaynaklanan yapısal, bileşimsel ve fonksiyonel bilgilerin elde edilmesini sağlayan bir tekniktir. Bu spektroskopik teknik, boyama, işaretleme, zarar verme gibi katkı maddelerinin kullanımını içeren uzun numune hazırlama prosedrllerine gerek kalmadan, nişpeten daha ucuz bir şekilde hızlı, kesin ve etkili sonuçlar sağlaması açısından diğer tekniklere kıyasla daha avantajlıdır. FTIR spektroskopisi elde edilen parmak izi benzeri bilgiler ışığında fonksiyonel molekül gruplarının belirlenmesini ve böylece farklı doku yapılarının ayırt edilmesini sağlar. Bu tekniği kullanarak, dokularda ve hücrelerde lipitler, proteinler, DNA, RNA gibi biyomolekllerdeki fiziksel, örneğin yapısal değişiklikleri izlemek mümkündür. Bu bilgi, önce doğru bant tanımlaması yapılarak ve ardından ilgili bantların bant konumu, sinyal yoğunluğu / alanı ve bant genişliği değerleri hesaplanarak elde edilebilir. FTIR Spectra'dan kimyasal konsantrasyon, bileşim, konformasyon ve dahil edilen fonksiyonel gruplar gibi birçok

kalitatif ve kalitatif bilgi elde etmek mümkündür. Örneğin, farklı makromoleküllere ait fonksiyonel grupların konsantrasyonları, Beer-Lambert yasasına göre sinyal yoğunluğunun veya daha kesin olarak aynı spektrumdan bant alanının hesaplanmasıyla elde edilebilir (URL-20, 2020).

Membran lipidlerindeki değişiklikler kanser dahil birkaç patolojide tanımlanmıştır (Preetha, 2005). Aslında kanser hücreleri, normal hücrelerden farklı olan çeşitli kimyasal, yapısal, metabolik ve biyofiziksel özellikler sunar. Kanser, hızla bölünen hücrelerin ihtiyaçlarını karşılamak için yağ asitleri ve membran lipidleri dahil olmak üzere birkaç biyomolekül ihtiyacı olan düzensiz bir hücre proliferasyonu ile karakterizedir (Hsu, 2008). Sonuç olarak, tümör hücreleri yeni membranlar oluşturmak için yeterli yapı bloğu sağlamak amacıyla yağ asidi biyosentezinin temel bir aktivasyonunu sunar (Swinnen, 2000; Kuhajda, 2006; Santos, 2012). Fosfolipid ve yağ asidi profillerinin meme ve kolorektal gibi kanserlerde ve ayrıca bazı kemoterapiye dirençli kanserlerde değiştiği de ispat edilmiştir. (Escriba, 1990; Merchant, 1991; Merchant, 2002; Azordegan, 2013). Örneğin, hepatosellüler karsinom hücrelerinde bulunan hücre dışı membranlar, normal muadillerine göre dört kat daha fazla sfingomiyelin (SM) ve artan doymamış yağ asitleri içermektedir (Selkirk, 1971). İnsan kolorektal kanser hücrelerinde Fosfatidilinositol (PI), fosfatidilserin (PS), fosfatidiletanolamin (PE) ve fosfatidilkolin (PC) dahil olmak üzere tüm fosfolipidlerde artış gözlenmiştir (Baro, 1998). Kronik lenfositik lösemili (CLL) hastalardan alınan lenfosit membranlarının, fosfolipidler, kolesterol (Chol), SM, glukosilseramid ve laktosilseramid konsantrasyonlarında genel bir artış sağladığı da gösterilmiştir (Hildebrand, 1975). Diğer taraftan, tehlikeli lösemi hücrelerinden tehlikeli hücreler, kolesterolde daha yüksek içeriğe ve CLL lenfositlerinde daha düşük akışkanlıktaki membranlara sahiptir (Liebes, 1981). Ayrıca, hücre döngüsü ilerlemesi ve tümör büyümesi ile ilişkili olabilecek esterleşmiş kolesterol birikimi gözlenmiştir (Mulas, 2011). Ek olarak, bulgular SM'nin bir dizi kanser hücre membranlarında azaldığını ve tümörijeniz ve seviyeleri arasında bir ilişki olduğu ispat edilmiştir (Barcelo ve Coblijn, 2011).

Hücre membranları dinamik, fosfolipdlerin lipid çift tabakası boyunca asimetrik olarak dağıldığı karmaşık yapılardır (Yamaji ve Hasegawa, 2006). Çeşitli kanser

türleri için bu asimetrik dağılımda bir kayıp gözlenmiştir (Ran, 2002; Ran, 2002). Fosfolipid yapısındaki ve yüzey yükündeki değişiklikler dışında, kanser hücrelerinde membran akışkanlığı da değişmiş gibi görünmektedir (Deliconstantinos, 1987; Baritaki, 2007). Aslında kanser hücrelerinde membran akışkanlığındaki değişiklikler, malign potansiyelleri ve metastaz yapma yetenekleri ile ilişkili olabilir (Shinitzky, 1984; Deliconstantinos, 1987; Nakazawa, 1989).

Kanser ve normal hücre membranları arasındaki yapısal, biyofiziksel ve fonksiyonel farklılıklar ilaç aktivitesini ve/veya toksisiteyi yükseltebilir veya inhibe edebilir (Seydel, 2002). Aslında, bulgular lipidlerin antikanser ilaç direncinin üstesinden gelmek için hedef olarak kullanılabileceğini göstermektedir (Hendrich, 2003). Ek olarak, membran özellikleri ayrıca ilaç etkisini, membran içindeki konformasyonu ve/veya lokasyonu ve bu nedenle bunların terapötik hedef üzerindeki etkilerini de modüle eder (Seydel, 2002). İlaçlar ayrıca membran üzerinde lipid konformasyonu, yüzey yükü, lipid alanları ve paketleme, membran akışkanlığı ve eğriliği ve dolayısıyla hücre fonksiyonundaki değişiklikleri içeren farklı etkilere sahip olacaktır (Lucio, 2010). Bu yüzden kemoterapötik bileşiklerin biyolojik membranlarla etkileşimlerini anlamak, ilaçların terapötik aktivitesi ve toksisitesi ile doğrudan ilişkili olduğundan önemlidir.

Kemoterapötik ilaçlar, kanser tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır, hızla büyüyen hücreleri hedef almakta ve hücrel ölümü teşvik etmektedir. Ancak yapısal özelliklerine bağlı olarak farklı mekanizmalarla hareket ederler. Örneğin, sisplatin DNA'ya bağlanır ve DNA sentezi ve hücre bölünmesinin inhibisyonuna neden olur (Fuentes, 2003). Sisplatin, farklı kanser türleri için kemoterapide kullanılır. Bununla birlikte, sisplatinin biyolojik membranlarla etkileşimi ile ilişkili olduğu düşünülen nörotoksisite ve hücrel direnç gibi ciddi yan etkilere neden olur. Yıllar içinde, model membranlarla sisplatin etkileşimi ile ilgili önemli çalışmalar yapılmıştır (Speelmans, 1996; Speelmans, 1997; Burger, 1999; Liu, 2006; Jensen, 2008; Jensen, 2010; Nierzwicki, 2015;).

Çalışmada kullanılan mantar türlerinin kolorektal kanser hücrelerine karşı sitotoksik olduğu yapılan spektral analizlerle de desteklenmiş oldu. Hem hücre membran lipit/protein hem de nükleik asit değişimlerine sebep olarak bu özelliklerini göstermişlerdir.

Günümüzde kanserin tedavisi hala daha tam olarak aydınlatılamamıştır. Kemoterapide kullanılan ilaçların çoğunun bitkisel kökenli olduğu bilinmektedir ve bu nedenle biyolojik kaynakların daha detaylı çalışmalarla araştırılması gerekmektedir. Yapılan bu çalışma ile elde edilen veriler yapılacak olan diğer çalışmalara referans olacaktır.



KAYNAKLAR

- Abdel-Raouf Ahmed, G., Khorshid, F. A. R., & Kumosani, T. A. (2009). FT-IR spectroscopy as a tool for identification of apoptosis-induced structural changes in A549 cells treated with PM 701. *International Journal of Nano and Biomaterials*, 2(1-5), 396-408.
- Alexopoulos, C. J., Mims, C. W., & Blackwell, M. (1996). *Introductory Mycology* John Wiley & Sons. Inc., New York, 868.
- Alves, A. C., Ribeiro, D., Nunes, C., & Reis, S. (2016). Biophysics in cancer: The relevance of drug-membrane interaction studies. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1858(9), 2231-2244.
- Ames, B. N. (1983). Dietary carcinogens and anticarcinogens: oxygen radicals and degenerative diseases. *Science*, 221(4617), 1256-1264.
- Antonin, W., & Neumann, H. (2016). Chromosome condensation and decondensation during mitosis. *Current opinion in cell biology*, 40, 15-22.
- Arpaz, F., Güler, P., & Türk, M. SUILLUS COLLINITUS (FR.) KUNTZE'UN SİTOTOKSİTE, APOPTİK VE NEKROTİK ETKİLERİ. *Life Sciences*, 12(4), 56-63.
- Azordegan, N., Fraser, V., Le, K., Hillyer, L. M., Ma, D. W., Fischer, G., & Moghadasian, M. H. (2013). Carcinogenesis alters fatty acid profile in breast tissue. *Molecular and cellular biochemistry*, 374(1), 223-232.
- Barceló-Coblijn, G., Martin, M. L., de Almeida, R. F., Noguera-Salvà, M. A., Marcilla-Etxenike, A., Guardiola-Serrano, F., ... & Escribà, P. V. (2011). Sphingomyelin and sphingomyelin synthase (SMS) in the malignant transformation of glioma cells and in 2-hydroxyoleic acid therapy. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(49), 19569-19574.
- Baritaki, S., Apostolakis, S., Kanellou, P., Dimanche-Boitrel, M. T., Spandidos, D. A., & Bonavida, B. (2007). Reversal of tumor resistance to apoptotic stimuli by alteration of membrane fluidity: therapeutic implications. *Advances in cancer research*, 98, 149-190.
- Baro, L., Hermoso, J. C., Nunez, M. C., Jimenez-Rios, J. A., & Gil, A. (1998). Abnormalities in plasma and red blood cell fatty acid profiles of patients with colorectal cancer. *British journal of cancer*, 77(11), 1978-1983.

- Barros, L., Ferreira, M. J., Queiros, B., Ferreira, I. C., & Baptista, P. (2007). Total phenols, ascorbic acid, β -carotene and lycopene in Portuguese wild edible mushrooms and their antioxidant activities. *Food chemistry*, 103(2), 413-419.
- Barth, A. (2007). Infrared spectroscopy of proteins. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1767(9), 1073-1101.
- Baykara, O. (2016). KANSER TEDAVİSİNDE GÜNCEL YAKLAŞIMLAR. *Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi*, 5(3), 154-165.
- Bellisola, G., & Sorio, C. (2012). Infrared spectroscopy and microscopy in cancer research and diagnosis. *American journal of cancer research*, 2(1), 1.
- Boddy, L., Crockatt, M. E., & Ainsworth, A. M. (2011). Ecology of *Herichium cirrhatum*, *H. coralloides* and *H. erinaceus* in the UK. *Fungal ecology*, 4(2), 163-173.
- Bogazzi, F., Cosci, C., Sardella, C., Costa, A., Manetti, L., Gasperi, M., ... & Martino, E. (2006). Identification of acromegalic patients at risk of developing colonic adenomas. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 91(4), 1351-1356
- Boydston-White, S., Gopen, T., Houser, S., Bargonetti, J., & Diem, M. (1999). Infrared spectroscopy of human tissue. V. Infrared spectroscopic studies of myeloid leukemia (ML-1) cells at different phases of the cell cycle. *Biospectroscopy*, 5(4), 219-227.
- Boztok, K. (1990). Mantar Üretim Tekniği. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları*, (489).
- Breene, W. M. (1990). Nutritional and medicinal value of specialty mushrooms. *Journal of Food Protection*, 53(10), 883-894.
- Burger, K. N., Staffhorst, R. W., & De Kruijff, B. (1999). Interaction of the anti-cancer drug cisplatin with phosphatidylserine in intact and semi-intact cells. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1419(1), 43-54.
- Carris, L. M., Little, C. R., & Stiles, C. M. (2012). Introduction to fungi. *The Plant Health Instructor*.
- Chang, S. T. (1991). Cultivated mushrooms. *Handbook of applied mycology*, 3, 221-240.
- Chihara, G. (1992). Immunopharmacology of lentinan, a polysaccharide isolated from *Lentinus edodes*: its application as a host defense potentiator. *Int. J. Orient. Med.*, 17, 57-77.

- Cochran, K. W. (1978). Medical effects in the biology and cultivation of Edible Mushrooms (Edts.) Chang & Hayes.
- Crockatt, M. E. (2008). *Ecology of the rare oak polypore Piptoporus quercinus and the tooth fungi Hericium cirrhatum, H. coralloides, and H. erinaceus in the UK*. Cardiff University.
- Çetintaş, V. B., & Eroğlu, Z. (2013). Cisplatin direncinde etkili moleküler mekanizmalar. *Medical Journal of Suleyman Demirel University*, 20(2).
- Deacon, J. W. (2013). *Fungal biology*. John Wiley & Sons.
- Deliconstantinos, G. (1987). Physiological aspects of membrane lipid fluidity in malignancy. *Anticancer research*, 7(5B), 1011-1021.
- Diyabalanage, T., Mulabagal, V., Mills, G., DeWitt, D. L., & Nair, M. G. (2008). Health-beneficial qualities of the edible mushroom, *Agrocybe aegerita*. *Food Chemistry*, 108(1), 97-102.
- Ejikeme, N., & Henrietta, O. U. (2010). Antimicrobial activity of some local mushrooms on pathogenic isolates. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4, 2460-2465.
- Endo, M., Beppu, H., Akiyama, H., Wakamatsu, K., Ito, S., Kawamoto, Y., ... & Matsui, T. (2010). Agaritine purified from *Agaricus blazei* Murrill exerts anti-tumor activity against leukemic cells. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1800(7), 669-673.
- Escriba, P. V., Ferrer-Montiel, A. V., Ferragut, J. A., & Gonzalez-Ros, J. M. (1990). Role of membrane lipids in the interaction of daunomycin with plasma membranes from tumor cells: implications in drug-resistance phenomena. *Biochemistry*, 29(31), 7275-7282.
- Feeney, M. J., Miller, A. M., & Roupas, P. (2014). Mushrooms—biologically distinct and nutritionally unique: exploring a “third food kingdom”. *Nutrition today*, 49(6), 301.
- Frezza, E. E., Wachtel, M. S., & Chiriva-Internati, M. (2006). Influence of obesity on the risk of developing colon cancer. *Gut*, 55(2), 285-291.
- Fritz, H., Kennedy, D. A., Ishii, M., Fergusson, D., Fernandes, R., Cooley, K., & Seely, D. (2015). Polysaccharide K and *Coriolus versicolor* extracts for lung cancer: a systematic review. *Integrative cancer therapies*, 14(3), 201-211.
- Fuertes, M. A., Castilla, J., Alonso, C., & Prez, J. M. (2003). Cisplatin biochemical mechanism of action: from cytotoxicity to induction of cell death through

interconnections between apoptotic and necrotic pathways. *Current medicinal chemistry*, 10(3), 257-266.

Gaigneaux, A., Ruysschaert, J. M., & Goormaghtigh, E. (2002). Infrared spectroscopy as a tool for discrimination between sensitive and multiresistant K562 cells. *European journal of biochemistry*, 269(7), 1968-1973.

Ganeshpurkar, A., Rai, G., & Jain, A. P. (2010). Medicinal mushrooms: Towards a new horizon. *Pharmacognosy reviews*, 4(8), 127.

Gasparri, F., & Muzio, M. (2003). Monitoring of apoptosis of HL60 cells by Fourier-transform infrared spectroscopy. *Biochemical Journal*, 369(2), 239-248.

Gieroba, B., Arczewska, M., Sławińska-Brych, A., Rzeski, W., Stepulak, A., & Gagoś, M. (2020). Prostate and breast cancer cells death induced by xanthohumol investigated with Fourier transform infrared spectroscopy. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 231, 118112.

Goel, A., Nagasaka, T., Arnold, C. N., Inoue, T., Hamilton, C., Niedzwiecki, D., ... & Boland, C. R. (2007). The CpG island methylator phenotype and chromosomal instability are inversely correlated in sporadic colorectal cancer. *Gastroenterology*, 132(1), 127-138.

Gönen, Ö. (2004). Kolorektal Kanser Epidemiyolojisi. *Turkiye Klinikleri Journal of Surgery*, 9(1), 11-14.

Hendrich, A. B., & Michalak, K. (2003). Lipids as a target for drugs modulating multidrug resistance of cancer cells. *Current drug targets*, 4(1), 23-30.

Hildebrand, J., Marique, D., & Vanhouche, J. (1975). Lipid composition of plasma membranes from human leukemic lymphocytes. *Journal of lipid research*, 16(3), 195-199.

Ho, C. Y., Kim, C. F., Leung, K. N., Kwok-Pui, F., Tse, T. F., Chan, H., & Bik-San Lau, C. (2005). Differential anti-tumor activity of coriolus versicolor (Yunzhi) extract through p53-and/or Bcl-2-dependent apoptotic pathway in human breast cancer cells. *Cancer biology & therapy*, 4(6), 638-644.

Hsu, P. P., & Sabatini, D. M. (2008). Cancer cell metabolism: Warburg and beyond. *Cell*, 134(5), 703-707.

Hu, H., Ahn, N. S., Yang, X., Lee, Y. S., & Kang, K. S. (2002). Ganoderma lucidum extract induces cell cycle arrest and apoptosis in MCF-7 human breast cancer cell. *International Journal of Cancer*, 102(3), 250-253.

- Ishida, K. P., & Griffiths, P. R. (1993). Comparison of the amide I/II intensity ratio of solution and solid-state proteins sampled by transmission, attenuated total reflectance, and diffuse reflectance spectrometry. *Applied spectroscopy*, 47(5), 584-589.
- Işık, H. (2008). *Tokat yöresinde bulunan bazı makromantar türlerinin antimikrobial aktivitesinin araştırılması* (Master's thesis, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Jensen, M., & Nerdal, W. (2008). Anticancer cisplatin interactions with bilayers of total lipid extract from pig brain: A ¹³C, ³¹P and ¹⁵N solid-state NMR study. *European journal of pharmaceutical sciences*, 34(2-3), 140-148.
- Jensen, M., Bjerring, M., Nielsen, N. C., & Nerdal, W. (2010). Cisplatin interaction with phosphatidylserine bilayer studied by solid-state NMR spectroscopy. *JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 15(2), 213-223.
- Julian, A. V., Wright, C. A., & Reyes, R. G. (2018). Prelude to Successful Cultivation of *Herichium* in the Philippines: Understanding its Mycelial Growth Response on Different Culture Media and its Antibacterial Activity. *INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACEUTICAL RESEARCH AND ALLIED SCIENCES*, 7(2), 1-7.
- Kalač, P. (2013). A review of chemical composition and nutritional value of wild-growing and cultivated mushrooms. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(2), 209-218.
- Karahasanoğlu, T. (2001). Kolorektal Kanserler: Tanı ve Cerrahi Tedavi. *Gastrointestinal Sistem Hastalıkları Sempozyumu Kitabı*. İstanbul, 271-279
- Kaygusuz, O., Kaygusuz, M., Dodurga, Y., Seçme, M., Herken, E. N., & Gezer, K. (2017). Assessment of the antimicrobial, antioxidant and cytotoxic activities of the wild edible mushroom *Agaricus lanipes* (FH Möller & Jul. Schäff.) Hlaváček. *Cytotechnology*, 69(1), 135-144.
- Kosova, F., & Arı, Z. (2008). Adipositokinler ve meme kanseri. *FÜ Sağ. Bil. Derg*, 22(6), 377-84.
- Kuhajda, F. P. (2006). Fatty acid synthase and cancer: new application of an old pathway. *Cancer research*, 66(12), 5977-5980.
- Kuşakçıoğlu, Ö. (2003). *Kolorektal kanser hastalıkları*. Nobel Tıp Kitabevleri.

- Küpelioglu, A. A. (2004). Kolorektal Kanserde Histopatoloji. *Turkiye Klinikleri Journal of Surgery*, 9(1), 25-27.
- L.B. Mostaço-Guidolin, L.S. Murakami, M.R. Batistuti, A. Nomizo, B. L., Molecular and chemical characterization by Fourier transform infrared spectroscopy of human breast cancer cells with estrogen receptor expressed and not expressed, *Spectroscopy* 24 (5) (2010) 501–510.
- Lee, S. H., Hwang, H. S., & Yun, J. W. (2009). Antitumor activity of water extract of a mushroom, *Inonotus obliquus*, against HT-29 human colon cancer cells. *Phytotherapy Research*, 23(12), 1784-1789.
- Lee, S. H., Kim, H. J., Lee, J. S., Lee, I. S., & Kang, B. Y. (2007). Inhibition of topoisomerase I activity and efflux drug transporters' expression by xanthohumol from hops. *Archives of pharmacal research*, 30(11), 1435-1439.
- Lee, S. R., Roh, H. S., Lee, S., Park, H. B., Jang, T. S., Ko, Y. J., ... & Kim, K. H. (2018). Bioactivity-guided isolation and chemical characterization of antiproliferative constituents from morel mushroom (*Morchella esculenta*) in human lung adenocarcinoma cells. *Journal of Functional Foods*, 40, 249-260.
- Levinson, W., & Özgönen, T. (2008). *Tıbbi mikrobiyoloji ve immünoloji*. Güneş Kitabevi.
- Li, Y. X., Himaya, S. W. A., Dewapriya, P., Zhang, C., & Kim, S. K. (2013). Fumigaclavine C from a marine-derived fungus *Aspergillus fumigatus* induces apoptosis in MCF-7 breast cancer cells. *Marine drugs*, 11(12), 5063-5086.
- Liebes, L. F., Pelle, E., Zucker-Franklin, D., & Silber, R. (1981). Comparison of lipid composition and 1, 6-diphenyl-1, 3, 5-hexatriene fluorescence polarization measurements of hairy cells with monocytes and lymphocytes from normal subjects and patients with chronic lymphocytic leukemia. *Cancer research*, 41(10), 4050-4056.
- Liu, Q., Qu, Y., Van Antwerpen, R., & Farrell, N. (2006). Mechanism of the membrane interaction of polynuclear platinum anticancer agents. Implications for cellular uptake. *Biochemistry*, 45(13), 4248-4256.
- Liu, Y. M., Liu, Y. K., Lan, K. L., Lee, Y. W., Tsai, T. H., & Chen, Y. J. (2013). Medicinal fungus *Antrodia cinnamomea* inhibits growth and cancer stem cell characteristics of hepatocellular carcinoma. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013.
- Lucio, M., Lima, J. L. F. C., & Reis, S. (2010). Drug-membrane interactions: significance for medicinal chemistry. *Current medicinal chemistry*, 17(17), 1795-1809.

- Majerus, E., Birnbaum, E., & Picus, J. (2002). Colorectal Malignancies. *The Washington Manual of Oncology*. Philadelphia: Lippincott WW, 191-202.
- Mattila, P., Salo-Väänänen, P., Könkö, K., Aro, H., & Jalava, T. (2002). Basic composition and amino acid contents of mushrooms cultivated in Finland. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(22), 6419-6422.
- Merchant, T. E., Kasimos, J. N., De Graaf, P. W., Minsky, B. D., Gierke, L. W., & Glonek, T. (1991). Phospholipid profiles of human colon cancer using ³¹P magnetic resonance spectroscopy. *International journal of colorectal disease*, 6(2), 121-126.
- Merchant, T. E., Kasimos, J. N., Vroom, T., de Bree, E., Iwata, J. L., de Graaf, P. W., & Glonek, T. (2002). Malignant breast tumor phospholipid profiles using ³¹P magnetic resonance. *Cancer letters*, 176(2), 159-167.
- Mithril, C., Dragsted, L. O., Meyer, C., Tetens, I., Biloft-Jensen, A., & Astrup, A. (2013). Dietary composition and nutrient content of the New Nordic Diet. *Public health nutrition*, 16(5), 777-785.
- Mordechai, S., Mordehai, J., Ramesh, J., Levi, C., Huleihal, M., Erukhimovitch, V., ... & Kapelushnik, J. (2001, November). Application of FTIR microspectroscopy for the follow-up of childhood leukemia chemotherapy. In *Subsurface and Surface Sensing Technologies and Applications III* (Vol. 4491, pp. 243-250). International Society for Optics and Photonics.
- Mulas, M. F., Mandas, A., Abete, C., Dessì, S., Mocali, A., & Paoletti, F. (2011). Cholesterol esterification during differentiation of mouse erythroleukemia (Friend) cells. *Hematology reports*, 3(2).
- Mutlu, G., İmir, T., & Cengiz, T. (1999). Mantarların yapıları, üreme özellikleri ve sınıflandırılması (Ş. USTAÇELEBİ editör). *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, Güneş Kitabevi, Ankara*, 1015-1021.
- Nagai, T., Myoda, T., & Nagashima, T. (2005). Antioxidative activities of water extract and ethanol extract from field horsetail (tsukushi) *Equisetum arvense* L. *Food chemistry*, 91(3), 389-394.
- Nakazawa, I., & Iwaizumi, M. (1989). A role of the cancer cell membrane fluidity in the cancer metastases: an ESR study. *The Tohoku journal of experimental medicine*, 157(3), 193-198.
- Nedelkoska, D. N., Pančevska, N. A., Amedi, H., Veleska, D., Ivanova, E., Karadelev, M., & Kungulovski, D. (2013). Screening of antibacterial and antifungal activities of selected Macedonian wild mushrooms. *Matica Srpska Journal for Natural Sciences*, (124), 333-340.

- Nierzwicki, L., Wieczór, M., Censi, V., Baginski, M., Calucci, L., Samaritani, S., ... & Forte, C. (2015). Interaction of cisplatin and two potential antitumoral platinum (II) complexes with a model lipid membrane: a combined NMR and MD study. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 17(2), 1458-1468.
- Nuako, K. W., Ahlquist, D. A., Mahoney, D. W., Schaid, D. J., Siems, D. M., & Lindor, N. M. (1998). Familial predisposition for colorectal cancer in chronic ulcerative colitis: a case-control study. *Gastroenterology*, 115(5), 1079-1083.
- Otake, S., Takeda, H., Suzuki, Y., Fukui, T., Watanabe, S., Ishihama, K., ... & Kawata, S. (2005). Association of visceral fat accumulation and plasma adiponectin with colorectal adenoma: evidence for participation of insulin resistance. *Clinical Cancer Research*, 11(10), 3642-3646.
- Öner, G. Ö. (2014). Kolon Kanserli Hastalarda Interlökin 21 ve Interlökin32 Gen Ekspresyon Düzeyleri ve Metastaz İlişkisi.
- Özcan, Ö. (2015). Trakya bölgesindeki bazı yenebilen mantar türlerinin Beta-glukan içeriklerinin, antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerinin kültür mantarı ile karşılaştırılması.
- Özdemir, Ö. (2014). *Terfezia boudieri* Chatin, *Fomes fomentarius* (L.) Fr., *Phellinus igniarius* (L.) Quel. ve *Tricholoma anatolicum* HH Dogan & Intini'nin meme kanseri hücrelerine antikanser ve modülasyon etkilerinin belirlenmesi (Doctoral dissertation, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Özerkan, D., Ertik, O., Kaya, B., Kuruca, S. E., Yanardag, R., & Ülküseven, B. (2019). Novel palladium (II) complexes with tetradentate thiosemicarbazones. Synthesis, characterization, in vitro cytotoxicity and xanthine oxidase inhibition. *Investigational new drugs*, 37(6), 1187-1197.
- Öztürk, A., & Çopur, Ö. U. (2009). Mantar bileşenlerinin teröpatik etkileri. *Bahçe*, 38(1), 19-24.
- Patel, S., & Goyal, A. (2012). Recent developments in mushrooms as anti-cancer therapeutics: a review. *3 Biotech*, 2(1), 1-15.
- Preetha, A., Banerjee, R., & Huilgol, N. (2005). Surface activity, lipid profiles and their implications in cervical cancer. *Journal of cancer research and therapeutics*, 1(3), 180.
- Ramazan, E. R. E. N., SÜREN, T., & KIZILELİ, M. (2017). Gastronomik açıdan Türkiye'de yenilebilir yabani mantarlar üzerine kavramsal bir değerlendirme. *Turizm Akademik Dergisi*, 4(2), 77-89.

- Ran, S., & Thorpe, P. E. (2002). Phosphatidylserine is a marker of tumor vasculature and a potential target for cancer imaging and therapy. *International Journal of Radiation Oncology* Biology* Physics*, 54(5), 1479-1484.
- Ran, S., Downes, A., & Thorpe, P. E. (2002). Increased exposure of anionic phospholipids on the surface of tumor blood vessels. *Cancer research*, 62(21), 6132-6140.
- Reece, J. B., Urry, L. A., Cain, M. L., Wasserman, S. A., Minorsky, P. V., & Jackson, R. B. (2013). Campbell Biyoloji, (E. Gündüz, İ. Türkan, Çev.). Ankara, Palme Yayıncılık.
- Sahu, R. K., Mordechai, S., & Manor, E. (2008). Nucleic acids absorbance in mid IR and its effect on diagnostic variates during cell division: A case study with lymphoblastic cells. *Biopolymers: Original Research on Biomolecules*, 89(11), 993-1001.
- Saldır, Y. (2015). *Bazı mantarların antioksidan ve antimikrobiyal özelliklerinin araştırılması* (Master's thesis, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Salman, T. (2011). *İleri evre kolorektal kanser hastalarında hastalık özellikleri ve tafi (thrombin activatable fibrinolysis inhibitor), TFPI (tissue factor pathway inhibitor), prothrombin fragment 1+ 2* (Doctoral dissertation, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi).
- Santos, C. R., & Schulze, A. (2012). Lipid metabolism in cancer. *The FEBS journal*, 279(15), 2610-2623.
- Selkirk, J. K., Elwood, J. C., & Morris, H. P. (1971). Study on the proposed role of phospholipid in tumor cell membrane. *Cancer research*, 31(1), 27-31.
- Selvi, S., Umadevi, P., Murugan, S., & Senapathy, J. G. (2011). Anticancer potential evoked by *Pleurotus florida* and *Calocybe indica* using T 24 urinary bladder cancer cell line. *African Journal of Biotechnology*, 10(37), 7279-7285.
- Seydel, J. K., & Wiese, M. (2009). *Drug-membrane interactions: analysis, drug distribution, modeling* (Vol. 15). John Wiley & Sons.
- Shinitzky, M. (1984). Membrane fluidity in malignancy adversative and recuperative. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Cancer*, 738(4), 251-261.
- Siegel, R., Ward, E., Brawley, O., & Jemal, A. (2011). Cancer statistics, 2011: the impact of eliminating socioeconomic and racial disparities on premature cancer deaths. *CA: a cancer journal for clinicians*, 61(4), 212-236.

- Sliva, D., Sedlak, M., Slivova, V., Valachovicova, T., Lloyd Jr, F. P., & Ho, N. W. (2003). Biologic activity of spores and dried powder from *Ganoderma lucidum* for the inhibition of highly invasive human breast and prostate cancer cells. *The Journal of Alternative & Complementary Medicine*, 9(4), 491-497.
- Smith, J., Rowan, N., & Sullivan, R. (2002). *Medicinal mushrooms: their therapeutic properties and current medical usage with special emphasis on cancer treatments* (p. 256). London: Cancer Research UK.
- Soytürk, M. (2005). Kolorektal kanser epidemiyoloji ve risk faktörleri. 7. *Ulusal İç Hastalıkları Kongresi*, İzmir.
- Speelmans, G., Sips, W. H., Grisel, R. J., Staffhorst, R. W., Fichtinger-Schepman, A. M. J., Reedijk, J., & de Kruijff, B. (1996). The interaction of the anti-cancer drug cisplatin with phospholipids is specific for negatively charged phospholipids and takes place at low chloride ion concentration. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1283(1), 60-66.
- Speelmans, G., Staffhorst, R. W., Versluis, K., Reedijk, J., & De Kruijff, B. (1997). Cisplatin complexes with phosphatidylserine in membranes. *Biochemistry*, 36(34), 10545-10550.
- Sümer, S. (2006). Genel mikoloji. *Nobel Yayın Dağıtım*, 59-61, Ankara.
- Sümer, S., (2000). Genel Mikoloji, *Nobel Akademik Yayıncılık*, 374 s, Ankara.
- Swinnen, J. V., Vanderhoydonc, F., Elgamal, A. A., Eelen, M., Vercaeren, I., Joniau, S., ... & Verhoeven, G. (2000). Selective activation of the fatty acid synthesis pathway in human prostate cancer. *International journal of cancer*, 88(2), 176-179.
- Şahin, K. (2014). *Aydın yöresinden toplanan Lactarius cinsine ait türlerin morfolojik ve moleküler tanısı* (Master's thesis, Adnan Menderes Üniversitesi).
- Tamer, A. Ü., Gücin, F., & Solak, M. H. (2006). Mikolojiye giriş. *Celal Bayar Üniversitesi*, 9-10.
- Tanker, N., Koyuncu, M., Coşkun, M. (2007) *Farmasotik Botanik*. 3. Baskı, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları No:93.
- Taştemir, D. (2008), Akciğer Kanserli Hastalarda Gözlenen Kromozomal Düzensizlikler İle Hücre Ölüm Reseptörü-4 Genindeki Polimorfizmlerin İncelenmesi, Doktora Tezi, *T.C. Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı*, Adana, 1-2.

- Thyagarajan, A., Jedinak, A., Nguyen, H., Terry, C., Baldrige, L. A., Jiang, J., & Sliva, D. (2010). Triterpenes from *Ganoderma Lucidum* induce autophagy in colon cancer through the inhibition of p38 mitogen-activated kinase (p38 MAPK). *Nutrition and cancer*, 62(5), 630-640.
- Toyran, N., Lasch, P., Naumann, D., Turan, B., & Severcan, F. (2006). Early alterations in myocardia and vessels of the diabetic rat heart: an FTIR microspectroscopic study. *Biochemical Journal*, 397(3), 427-436.
- Tunçakın, B. (2015). *Bazı endüstriyel hidrolitik enzimlerin şapkalı mantarlardaki aktivitelerinin araştırılması* (Master's thesis, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Turp, G. Y., & Boylu, Y. L. M. Tıbbi ve Yenilebilir Mantarlar ve Et Ürünlerinde Kullanımı. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 28(1), 144-153.
- Türkçapar, N., Özden A. (2005). Tümör Markırları. "Klinik Önemi." *Güncel Gastroenteroloji* 9(4), 271-81.
- V. Erukhimovich, I. Mukmenev, M. Huleihel, FTIR- microspectroscopy as diagnostic method for cancer cells, *Proceedings of the Second Conference on Medical Physics and Biomedical Engineering* 43 (13) (2010) 82–86.
- Voigt, K., Vaas, L., Stielow, B., & de Hoog, G. S. (2013). The zygomycetes in a phylogenetic perspective. *Persoonia: Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, 30, i.
- Walsh, J. M., & Terdiman, J. P. (2003). Colorectal cancer screening: scientific review. *Jama*, 289(10), 1288-1296.
- Wasser, S. P. (2002). Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides. *Applied microbiology and biotechnology*, 60(3), 258-274.
- Wu, J., Zhou, J., Lang, Y., Yao, L., Xu, H., Shi, H., & Xu, S. (2012). A polysaccharide from *Armillaria mellea* exhibits strong in vitro anticancer activity via apoptosis-involved mechanisms. *International journal of biological macromolecules*, 51(4), 663-667.
- Xie, J. T., Wang, C. Z., Wicks, S., Yin, J. J., Kong, J., Li, J., ... & Yuan, C. S. (2006). *Ganoderma lucidum* extract inhibits proliferation of SW 480 human colorectal cancer cells. *Experimental Oncology*.
- Yamaç, M., & Bilgili, F. (2006). Antimicrobial activities of fruit bodies and/or mycelial cultures of some mushroom isolates. *Pharmaceutical biology*, 44(9), 660-667.

- Yamaji-Hasegawa, A., & Tsujimoto, M. (2006). Asymmetric distribution of phospholipids in biomembranes. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 29(8), 1547-1553.
- Yeung, T. M., Gandhi, S. C., Wilding, J. L., Muschel, R., & Bodmer, W. F. (2010). Cancer stem cells from colorectal cancer-derived cell lines. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(8), 3722-3727.
- Yıldız, S., (2000). Mikoloji Laboratuar Teknikleri, Basılmamış Yüksek Lisans Ders Notu, Trabzon.
- Yıldız, Z. D. (2013). *Kolon Kanserli Hastalarda Paraoksonaz ve Arilesteraz Aktivitesi* (Master's thesis, Namık Kemal Üniversitesi).
- Yılmaz, A. (2015). *Bazı Doğa ve Kültür Mantarı Türlerinin Biyoaktif Özelliklerinin ve Radyoaktif Element Miktarlarının Belirlenmesi* (Yüksek lisans tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi).
- Zelig, U., Kapelushnik, J., Moreh, R., Mordechai, S., & Nathan, I. (2009). Diagnosis of cell death by means of infrared spectroscopy. *Biophysical journal*, 97(7), 2107-2114.
- URL-1. <http://www.wikizero.biz/index.php?q=aHR0cHM6Ly90ci53aWtpcGVkaWEub3JnL3dpa2kvQ2h5dHJpZGlvbXlj3Rh> adlı internet sitesinden 22.06.2019 tarihinde alınmıştır.
- URL-2. <http://www.wikizero.biz/index.php?q=aHR0cHM6Ly90ci53aWtpcGVkaWEub3JnL3dpa2kvWnlnb215Y290YQ> adlı internet sitesinden 22.06.2019 tarihinde alınmıştır.
- URL-3. <http://www.wikizero.biz/index.php?q=aHR0cHM6Ly9lbi53aWtpcGVkaWEub3JnL3dpa2kvR2xvbWVyb215Y290YQ> adlı internet sitesinden 22.06.2019 tarihinde alınmıştır.
- URL-4. <http://www.wikizero.biz/index.php?q=aHR0cHM6Ly90ci53aWtpcGVkaWEub3JnL3dpa2kvQXNrbMSxX21hbnRhcmxhcg> adlı internet sitesinden 22.06.2019 tarihinde alınmıştır.
- URL-5. <http://www.wikizero.biz/index.php?q=aHR0cHM6Ly90ci53aWtpcGVkaWEub3JnL3dpa2kvQmF6aXRsaV9tYW50YXJsYXI> adlı internet sitesinden 22.06.2019 tarihinde alınmıştır.
- URL-6. <https://wildpeaceacademy.com> adlı internet sitesinden 05.04.2019 tarihinde alınmıştır.
- URL-7. www.slideplayer.biz.tr adlı internet sitesinden 29.01.2019 tarihinde alınmıştır.

- URL-8. <https://slideplayer.biz.tr/slide/3170463/> adlı internet sitesinden 22.05.2019 tarihinde alınmıştır.
- URL-9. <https://www.canlibilimi.com/sporla-ureme/> adlı internet sitesinden 22.05.2019 tarihinde alınmıştır.
- URL-10. <http://www.wikizero.biz/index.php?q=aHR0cHM6Ly9lbi53aWtpcGVkaWEub3JnL3dpa2kvRmlsZTpIZXJpY2l1bV9jb3JhbGxvaWRlc18tX01hbGVfS2FycGF0eV9JLmpwZW> adlı internet sitesinden 20.05.2019 tarihinde alınmıştır.
- URL-11. <http://www.tml.web.tr/download/Mantarlar.pdf> adlı internet sitesinden 29.01.2019 tarihinde alınmıştır.
- URL-12. <https://www.first-nature.com/fungi/lactarius-deliciosus.php> adlı internet sitesinden 20.05.2019 tarihinde alınmıştır.
- URL-13. <http://www.wikizero.biz/index.php?q=aHR0cHM6Ly9lbi53aWtpcGVkaWEub3JnL3dpa2kvRmlsZTpMZXBpc3RhX251ZGFfMDQxMDIydy5qcGc> adlı internet sitesinden 20.05.2019 tarihinde alınmıştır.
- URL-14. http://www.mykoweb.com/CAF/species/Pleurotus_ostreatus.html adlı internet sitesinden 20.05.2019 tarihinde alınmıştır.
- URL-15. <https://www.flickr.com/photos/volvob12b/8738101510> adlı internet sitesinden 20.05.2019 tarihinde alınmıştır.
- URL-16. <http://ekutuphane.kastamonu.edu.tr> adlı internet adresinden 04.02.2019 tarihinde alınmıştır.
- URL-17. www.hepgun.com adlı internet sitesinden 08.02.2019 tarihinde alınmıştır.
- URL-18. <https://www.serdarturhal.com.tr/KolonKanseri06.pdf> adlı internet sitesinden 04.02.2019 tarihinde alınmıştır.
- URL-19. https://www.lgcstandards-atcc.org/products/all/CCL247.aspx?geo_country=tr#generalinformation-- adlı internet sitesinden 14.01.2021 tarihinde alınmıştır.
- URL-20. https://acikders.tuba.gov.tr/pluginfile.php/1108/mod_resource/content/0/ko nu11.pdf adlı internet sitesinden 03.09.2020 tarihinde alınmıştır.