

**T.C.  
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
ANATOMİ ANABİLİM DALI**

**KATRAN-SEDİR MANTARI'NDAN (*TRICHOLOMA  
ANATOLICUM*) ELDE EDİLEN EKSTRAKTIN EHRlich ASSİT  
TÜMÖRÜ ÜZERİNE ANTİKANSEROJEN ETKİSİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**Hazırlayan  
Mustafa TAŞTAN**

**Danışman  
Prof. Dr. Nihat EKİNCİ**

**Yüksek Lisans Tezi**

**KASIM 2020  
KAYSERİ**

**T.C.  
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
ANATOMİ ANABİLİM DALI**

**KATRAN-SEDİR MANTARI'NDAN (*TRICHOLOMA  
ANATOLICUM*) ELDE EDİLEN EKSTRAKTIN EHRlich ASSİT  
TÜMÖRÜ ÜZERİNE ANTİKANSEROJEN ETKİSİNİN  
ARAŞTIRILMASI  
(Yüksek Lisans Tezi)**

**Hazırlayan  
Mustafa TAŞTAN**

**Danışman  
Prof. Dr. Nihat EKİNCİ**

**Bu çalışma; Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi  
tarafından TYL-2019-9186 kodlu proje ile desteklenmiştir.**

**KASIM 2020  
KAYSERİ**

## BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, tüm bilgilerin akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda akademik ve etik kuralların gerektirdiği gibi tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel kurallara uygun olarak atıfta bulunduğumu ve kaynaklar listesinde gösterdiğimi belirtirim.

Adı – Soyadı: Mustafa TAŞTAN

İmza:

**YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI**

“Katran-Sedir Mantarı’ndan (*Tricholoma anatolicum*) Elde Edilen Ekstraktın Ehrlich Assit Tümörü Üzerine Antikanserojen Etkisinin Araştırılması” adlı Yüksek Lisans tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Tezi Hazırlayan

Mustafa TAŞTAN

İmza

Danışman

Prof. Dr. Nihat EKİNCİ

İmza

Anatomi Anabilim Dalı Başkanı

Doç. Dr. Mehtap NİSARİ

İmza

**KABUL VE ONAY**

Prof. Dr. Nihat EKİNCİ danışmanlığında Mustafa TAŞTAN tarafından hazırlanan ‘‘Katran-Sedir Mantarı’ndan (*Tricholoma anatolicum*) Elde Edilen Ekstraktın Ehrlich Assit Tümörü Üzerine Antikanserojen Etkisinin Araştırılması’’ adlı bu çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Anatomi Anabilim Dalında yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

24.11.2020

**JÜRİ:****İmza**

Danışman:

Prof. Dr. Nihat EKİNCİ (Erciyes Üniv. Tıp Fak. Anatomi AD)

Üye:

Dr. Öğretim Üyesi Özge AL (Erciyes Üniv. Tıp Fak. Anatomi AD)

Üye:

Dr. Öğretim Üyesi Ayşe ÖMERLİ (Nuh Naci Yazgan Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi)

**ONAY:**

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun .../...../..... tarih ve  
.....sayılı kararı ile onaylanmıştır.

...../...../.....

Enstitü Müdürü

Prof. Dr. Bilal AKYÜZ

## TEŞEKKÜR

Zaman ve mekan ayrımı yapmaksızın fedakarca hem ders döneminde hem de tez aşamasında her türlü konuda engin bilgi ve tecrübesiyle bana yol gösteren danışman hocam Prof. Dr. Nihat EKİNCİ'ye,

Yüksek lisans eğitimim boyunca emeğini üzerimden esirgemeyen tez aşamasının planlanması ve sonuçlandırılmasında bilimsel tecrübesiyle bana destek olan ve her daim yol gösteren Prof. Dr. Harun ÜLGER hocama,

Yüksek lisans eğitimim boyunca yardım ve bilgileri ile destek olan Prof. Dr. Erdoğan UNUR, Prof. Dr. Kenan AYCAN, Prof. Dr. Niyazi ACER ve Doç. Dr. Mehtap NİSARİ hocalarıma, deneysel çalışma sürecinde benden yardımlarını esirgemeyerek sürekli yanımda olan, eğitimim süresince tecrübelerinden faydalandığım ve desteklerini her zaman hissettiğim Dr. Öğr. Üyesi Özge AL ve Arş. Gör. Sümeyye UÇAR'a,

Lisansüstü eğitimine adım atmamı sağlayan, ders ve tez dönemim boyunca bilgi emeğini üzerimden esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Kürşat GÜNDOĞAN'a,

Bilgi ve tecrübesi ile yol gösteren değerli hocalarım Prof. Dr. Hasan OZAN'a ve Prof. Dr. Mustafa Fevzi SARGON'a,

Katran-sedir mantarının teşhisindeki katkısından dolayı değerli hocam Prof. Dr. Hasan Hüseyin DOĞAN ve Vahide COŞKUN'a,

Tez dönemim boyunca yüksek bilgisi ve tecrübesini bizlerle paylaşan, yol göstericiliği ile birçok konuda yardımını gördüğüm hocam Çağlayan KOCAKAYA'ya, katran-sedir mantarının ekstraksiyonunda emeği geçen kıymetli hocam Doç. Dr. Gökçe ŞEKER KARATOPRAK'a,

Hem ders hem de tez dönemimde sürekli beraber olduğum, deneysel çalışmalarda yardımını esirgemeyen arkadaşım Şükrü ATEŞ ve ailesine, mantarların toplanması konusunda bilgili olan ve mevzu bilim olunca kıymetli vaktini bizlere ayıran değerli abim Fatih TOPAL ve ailesine, her türlü konuda destek veren kıymetli abilerim Şükrü KARA'ya ve Esat GÜRBÜZER'e,

Deneysel çalışmalar süresince iş yükümü hafifleten değerli arkadaşım Arş. Gör. Eda SAĞIROĞLU'na,

Ders ve tez dönemim boyunca birçok konuda yardımını gördüğüm abilerim Arş. Gör. Adem TOKPINAR ve Öğr. Gör. Halil YILMAZ'a

Yüksek lisans eğitimim boyunca destekleyerek her türlü yardıma koşan Anatomi AD personelleri Kazım KARABULUT, Ferhat ÇAKMAKKAYA ve Hacı ÖCALAN' a, yaptığı yardımlarından dolayı Adil ASLANER'e, sürekli desteğini gördüğüm meslektaşım ve abim Fzt. Hüseyin MEŞE'ye,

Hiç şüphesiz bugünlere gelmemde emeği geçen ilk öğretmenim ve anneannem Saniye KUŞÇULUO, dedem Mehmet KUŞÇULUO ile eğitim hayatım boyunca başarılı olacağıma inanan ve güvenen annem Hikmet TAŞTAN, babam Cemalettin TAŞTAN ve kardeşim Samet TAŞTAN'a,

Tez projeme maddi destek sağlayan Erciyes Üniversitesi BAP Birimi ile deneysel çalışmaları yürüttüğüm Betül Ziya EREN Genom ve Kök Hücre Merkezi yönetici ve çalışanlarına, Sağlık Bilimleri Enstitüsü yönetici ve personellerine,

Sonsuz şükranlarımı sunmayı bir borç bilirim.

Mustafa TAŞTAN

KASIM 2020 Kayseri

**KATRAN-SEDİR MANTARI'NDAN (*TRICHOLOMA ANATOLICUM*) ELDE  
EDİLEN EKSTRAKTIN EHRLICH ASSİT TÜMÖRÜ ÜZERİNE  
ANTİKANSEROJEN ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Mustafa TAŞTAN**

**Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü**

**Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı**

**Yüksek Lisans Tezi, Kasım 2020**

**Danışman: Prof. Dr. Nihat EKİNCİ**

**ÖZET**

Çağımızın hastalığı olan kanser, hücrelerin kontrolsüz büyümesi ve hızlı çoğalmasıyla karakterize bir hastalık türüdür. Kanserle mücadelede bilimsel tedavilere destek olarak tamamlayıcı tedavi yöntemleri sıklıkla kullanılmaktadır. Bu çalışmada *Tricholoma anatolicum*'un ekstraktının EAT hücreleri üzerinde muhtemel antitümoral etkisi *in vitro* olarak araştırıldı. Yapılan deneysel çalışma kontrol, pozitif kontrol (5-FU), 25 µg/ml, 50 µg/ml, 100 µg/ml, 200 µg/ml katran-sedir mantarı gruplarına ayrılarak 37°C'de %5 CO<sup>2</sup>'li ve %95 nemli ortamda 24, 48 ve 72 saat süreyle kültüre edildi. *In vitro* sonuçlarda Annexin V testi toplam apoptotik değerlerinde 48 saat sonunda belirgin bir artış görülmezken, 24 saat sonunda 50 µg/ml ve 100 µg/ml mantar gruplarında, 72 saat sonunda 25 µg/ml ve 50 µg/ml mantar gruplarında artış görüldü. 24 saat sonundaki 50 µg/ml ve 100 µg/ml gruplarına ait değerlerin, 48 saat sonundaki 25 µg/ml ve 50 µg/ml gruplarına ait değerlerin pozitif kontrol grubuna yakın sonuçlar olduğu görüldü. Hücre döngüsü analizindeki grupların hücre oranlarında her üç saat sonundaki değerleri arasında anlamlı bir farklılık görülmedi. Mitotik aktivite analizindeki grupların toplam depolarize hücre oranlarında 24 ve 72 saat sonunda belirgin bir artış görülmezken, 48 saat sonunda 25 µg/ml ve 50 µg/ml gruplarında artış görüldü. Çalışma sonucunda elde edilen bulgular literatür bilgisinde antiproliferatif ve antioksidan özellik gösterdiği bilinen *Tricholoma anatolicum*'un farklı fraksiyonlardaki ekstraktlarının EAT hücreleri üzerinde antitümoral etkisinin olabileceğini göstermiştir. Bu çalışmanın kanser tedavisine yönelik yapılacak yeni çalışmalara yardımcı olacağı düşünülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Katran-sedir mantarı (*Tricholoma anatolicum*), EAT, *in vitro*, antitümör

**INVESTIGATION OF ANTITUMORAL EFFECT OF EXTRACT OBTAINED  
FROM TAR-CEDAR MUSHROOM (*TRICHOLOMA ANATOLICUM*) ON  
EHRlich ASCITES TUMOR**

**Mustafa TAŞTAN**

**Erciyes University, Institute of Health Sciences**

**Faculty of Medicine, Department of Anatomy**

**MS. Thesis, November 2020**

**Supervisor: Prof. Dr. Nihat EKİNCİ**

**ABSTRACT**

Cancer, a disease of our age, is a type of disease characterized by uncontrolled growth and rapid proliferation of cells. Complementary treatment methods are frequently used to support scientific treatments in the fight against cancer. In this study, the possible antitumoral effect of *Tricholoma anatolicum* extract on EAT cells was investigated *in vitro*. This study was divided into six different groups for *in vitro* analysis on EAT cells. These groups are control, positive control (5-FU), 25 µg/ml, 50 µg/ml, 100 µg/ml, 200 µg/ml tar-sedar mushrooms groups. EAT cells were cultured for 24, 48 and 72 hours at 37°C, %5 CO<sup>2</sup> and %95 humidity. *In vitro* results showed no significant increase in Annexin V test total apoptotic values after 48 hours. At the end of 24 hours, an increase was observed in the 50 µg/ml and 100 µg/ml mushroom groups. After 72 hours, an increase was observed in 25 µg/ml and 50 µg/ml mushroom groups. It was observed that the values of the 50 µg/ml and 100 µg/ml groups at the end of 24 hours and the values of the 25 µg/ml and 50 µg/ml groups at the end of 48 hours were close to the positive control group. In the cell cycle analysis, no significant difference was found between the values at the end of 24, 48 and 72 hours in cell ratios. There was no significant increase in total depolarized cell ratios of the groups in the mitotic activity analysis after 24 and 72 hours. At the end of 48 hours, an increase was observed in 25 µg / ml and 50 µg / ml groups. The findings obtained as a result of the study showed that extracts of different fractions of *Tricholoma anatolicum*, which is known to have antiproliferative and antioxidant properties in the literature, may have antitumoral effect on EAT cells. It is thought that this study will help new studies on cancer treatment.

**Key Words:** Tar-cedar mushroom (*Tricholoma anatolicum*), EAT, *in vitro*, antitumor

## İÇİNDEKİLER

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK .....	i
YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI.....	ii
ONAY .....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
ÖZET.....	vi
ABSTRACT .....	vii
İÇİNDEKİLER .....	viii
KISALTMALAR ve SİMGELER .....	xi
TABLolar LİSTESİ .....	xiii
ŞEKİLLER LİSTESİ .....	xiv
1.GİRİŞ VE AMAÇ .....	1
2.GENEL BİLGİLER .....	3
2.1.Kanser, Tanımı ve Tarihçesi .....	3
2.2.Türkiye’de ve Dünyada Kanser.....	4
2.3.Kanser Oluşum Mekanizması .....	6
2.4.Kanser ve Hücre Döngüsü.....	6
2.5.Hücre Siklusunun Kontrol Edilmesi.....	8
2.6.Karsinogenez.....	8
2.7.Kansere Neden Olan Faktörler .....	9
2.8.Kanserin Tanı ve Tedavisi.....	9
2.9.Tamamlayıcı Tedaviler .....	10
2.10.Mantarlar .....	11
2.11.Mantarların Yapıları ve Üremeleri .....	12
2.12.Mantarların Ektomikorizal Yaşamsal Döngüleri .....	12
2.13.Mantarların Tıbbi Kullanımı .....	14

2.14.	<i>Tricholoma anatolicum</i> (Katran-Sedir Mantarı) .....	15
2.15.	<i>Tricholoma anatolicum</i> (Katran-Sedir Mantarı) Morfolojik Özellikleri.....	16
2.16.	<i>Tricholoma anatolicum</i> 'un (Katran-Sedir Mantarı) Yetiştığı Yerler .....	17
2.17.	Deneylerde Kullanılan Kanser Modelleri .....	19
2.18.	Ehrlich Assit Tümörü (EAT).....	21
3.	GEREÇ VE YÖNTEM .....	23
3.1.	Deney Materyali <i>Tricholoma anatolicum</i> 'un (Katran-Sedir Mantarı) Toplanması .....	23
3.2.	Deney Materyali <i>Tricoloma Anatolicum</i> 'un (Katran-Sedir Mantarı) Kurutulması .....	24
3.3.	<i>Tricholoma anatolicum</i> (Katran-Sedir Mantarı) Ekstrelerinin Elde Edilişi..	26
3.4.	Polisakkaritçe Zengin Sıcak Su Ekstresi (PS) Hazırlanışı .....	26
3.5.	Sevag Yöntemiyle Deproteinizasyon İşlemi .....	26
3.6.	Stok Hayvanların Oluşturulma Protokolü .....	27
3.7.	Hücre Sayım Protokolü .....	28
3.8.	Kullanılacak Olan Kültür Besiyeri Hazırlanması.....	29
3.9.	İn Vitro Yapılan Testler .....	30
3.10.	Annexin V ve Ölü Hücre Testi.....	31
3.11.	Hücre Döngüsü Testi (Cell Cycle Test) .....	32
3.12.	Mitotik Aktivite Testi (Mitopotential Test) .....	33
3.13.	İstatistiksel Veri Analizi.....	34
4.	BULGULAR .....	35
4.1.	<i>In Vitro</i> Bulgular .....	35
4.2.	Annexin V Testi Sonuçları .....	35
4.3.	Erken Apopitotik Hücre .....	36
4.4.	Geç Apopitoz.....	38
4.5.	Toplam Apopitotik Hücre .....	40

4.6.Cell Cycle Testi Sonuçları.....	41
4.7.G <sub>0</sub> /G <sub>1</sub> evresi .....	42
4.8.S evresi .....	43
4.9.G <sub>2</sub> /M evresi.....	44
4.10.Mitopotential Test Sonuçları .....	45
4.11.Depolarize Canlı Hücre .....	46
4.11.Depolarize Ölü Hücre.....	49
4.12.Ölü Hücre .....	51
5.TARTIŞMA VE SONUÇ .....	57
6.KAYNAKLAR .....	61
EKLER	
ÖZGEÇMİŞ	

**KISALTMALAR ve SİMGELER**

<b>% :</b>	yüzde
<b>µg :</b>	mikrogram
<b>µg/ml :</b>	mikrogram/mililitre
<b>5-FU :</b>	5-floraurasil
<b>7-AAD :</b>	7-Aminoactinomycin
<b>ATP :</b>	adenozin trifosfat
<b>cdk :</b>	siklin bağımlı kinazlar
<b>ck1 :</b>	siklin bağımlı kinaz inhibitörleri
<b>cm :</b>	santimetre
<b>cyc :</b>	siklinler
<b>dk. :</b>	dakika
<b>DMEM :</b>	dulbecco's Modified Eagle Medium
<b>DMSO :</b>	dimetil sülfoksit
<b>DNA :</b>	deoksiribo nükleik asit
<b>EAT :</b>	ehrlich assit tümörü
<b>EE :</b>	etanol ekstresi
<b>FBS :</b>	fetal Bovine Serum
<b>g :</b>	gram
<b>GENKÖK :</b>	Genom ve Kök Hücre Merkezi
<b>Ltd. co. :</b>	limited company (Limited şirketi)
<b>m :</b>	metre
<b>M.Ö. :</b>	milattan önce
<b>M.S. :</b>	milattan sonra
<b>ml :</b>	mililitre
<b>mm :</b>	milimetre

<b>MR :</b>	manyetik rezonans görüntüleme
<b>NCCAM :</b>	National Center for Complementary and Alternative Medicine
<b>P :</b>	anlamlılık değeri
<b>PBS :</b>	phosphate Buffer Saline
<b>PS :</b>	polisakkaritçe zengin sıcak su ekstresi
<b>PSU :</b>	ultrasonik etki ile elde edilen polisakkaritçe zengin su ekstresi
<b>RNA :</b>	ribo nükleik asit
<b>rpm :</b>	revolutions per minute
<b>ve ark :</b>	ve arkadaşları
<b>yy :</b>	yüzyıl

## TABLOLAR LİSTESİ

<b>Tablo 4.1.</b>	24, 48 ve 72 saat sonundaki grupların erken apoptoz değerleri .....	37
<b>Tablo 4.2.</b>	24, 48 ve 72 saat sonundaki grupların geç apoptoz değerleri.....	39
<b>Tablo 4.3.</b>	24, 48 ve 72 saat sonundaki grupların toplam apoptotik değerleri.....	41
<b>Tablo 4.4.</b>	24, 48 ve 72 saat sonunda grupların G <sub>0</sub> /G <sub>1</sub> evresindeki hücre oranı değerleri.....	42
<b>Tablo 4.5.</b>	24, 48 ve 72 saat sonundaki grupların S evresindeki hücre oranı değerleri.....	44
<b>Tablo 4.6.</b>	24, 48 ve 72 saat sonundaki grupların G <sub>2</sub> /M evresindeki hücre oranı değerleri.....	45
<b>Tablo 4.7.</b>	24, 48 ve 72 saat sonundaki grupların depolarize canlı hücre oranı değerleri.....	48
<b>Tablo 4.8.</b>	24, 48 ve 72 saat sonundaki grupların depolarize ölü hücre oranı değerleri.....	50
<b>Tablo 4.9.</b>	24, 48 ve 72 saat sonundaki grupların ölü hücre oranı değerleri.....	52
<b>Tablo 4.10.</b>	24, 48 ve 72 saat sonundaki grupların toplam depolarize hücre oranı değerleri.....	53
<b>Tablo 4.11.</b>	Canlı hücre sayılarının istatistiksel sonuçları ve kontrol grubuna göre ortalama ± standart sapma değerleri.....	55

## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1.	2018 yılı her iki cinsiyet için dünyada kanser vaka yüzdeleri.....	4
Şekil 2.2.	2018 yılı her iki cinsiyet için kanser türleri ve ölüm yüzdeleri .....	5
Şekil 2.3.	2018 yılı erkek, kadın ve her iki cinsiyet için kanser türleri ölüm oranları .....	6
Şekil 2.4.	Normal Hücre Bölünmesinin Evreleri .....	7
Şekil 2.5.	Pasifik Guatemala'nın yamaçları Kaminaljuyu'da bulunan mantar taşları.....	12
Şekil 2.6.	Ektomikorizal birliktelikteki bitki kökünün görünümü .....	13
Şekil 2.7.	Topraktan yeni toplanmış <i>Tricholoma anatolicum</i> .....	17
Şekil 2.8.	Adana Feke'de Çadırçukuru ve Fındık yaylaları (Toros Dağları).....	18
Şekil 3.1.	Deneyisel çalışmada kullanılacak olan <i>Tricholoma anatolicum</i> 'un toplanması.....	24
Şekil 3.2.	<i>Tricholoma anatolicum</i> kurutma işlemi.....	25
Şekil 3.3.	<i>Tricholoma anatolicum</i> küçük parçalara ayrılıp toz haline getirilmiş hali .....	25
Şekil 3.4.	Stok hayvandan intraperitoneal yolla Ehrlich assit tümör hücresi çekilmesi .....	27
Şekil 3.5.	Stok fare oluşturulması .....	28
Şekil 3.6.	Mikroskopta (40'lık objektif ile) canlı ve ölü Ehrlich assit tümör (EAT) hücrelerinin sayılması .....	29
Şekil 3.7.	Steril ortamda (steril enjektör ve filtre ile) DMEM'in (Dulbecco's Modified Eagle Medium) 0,22'lik filtreden geçirilme işlemi .....	30
Şekil 3.8.	Muse Cell Analyzer .....	32
Şekil 4.1.	Katran sedir mantarı ihtiva eden grupların 24 saat kültüre sonundaki Muse Analzyer cihazı Annexin V & Dead Cell testi ham veri grafikleri. ....	36
Şekil 4.2.	Annexin V & Dead Cell testi 24, 48 ve 72 saat sonu erken apoptotik hücre yüzde değerleri.....	37
Şekil 4.3.	Katran sedir mantarı ihtiva eden grupların 48 saat kültüre sonundaki Muse Analzyer cihazı Annexin V & Dead Cell testi ham veri grafikleri. ....	38

<b>Şekil 4.4.</b>	Annexin V & Dead Cell testi 24, 48 ve 72 saat sonu geç apoptoz oranları.....	39
<b>Şekil 4.5.</b>	Katran sedir mantarı ihtiva eden grupların 72 saat kültüre sonundaki Muse Analzyer cihazı Annexin V & Dead Cell testi ham veri grafikleri. ....	40
<b>Şekil 4.6.</b>	Annexin V & Dead Cell testi 24, 48 ve 72 saat sonu toplam apoptotik hücre yüzde değerleri.....	41
<b>Şekil 4.7.</b>	Cell Cycle testi 24, 48 ve 72 saat G <sub>0</sub> /G <sub>1</sub> evresi hücre yüzde değerleri .....	43
<b>Şekil 4.8.</b>	Cell Cycle testi 24, 48 ve 72 saat S evresi hücre yüzde değerleri .....	44
<b>Şekil 4.9.</b>	Cell Cycle testi 24, 48 ve 72 saat G <sub>2</sub> /M evresi hücre yüzde değerleri .....	45
<b>Şekil 4.10.</b>	Katran sedir mantarı ihtiva eden grupların 24 saat kültüre sonundaki Muse Analzyer cihazı Mitopotential testi ham veri grafikleri.....	46
<b>Şekil 4.11.</b>	Mitopotential testi 24, 48 ve 72 saat depolarize canlı hücre yüzde değerleri .....	48
<b>Şekil 4.12.</b>	Katran sedir mantarı ihtiva eden grupların 48 saat kültüre sonundaki Muse Analzyer cihazı Mitopotential testi ham veri grafikleri.....	49
<b>Şekil 4.13.</b>	Mitopotential testi 24, 48 ve 72 saat depolarize ölü hücre yüzde değerleri .....	50
<b>Şekil 4.14.</b>	Katran sedir mantarı ihtiva eden grupların 72 saat kültüre sonundaki Muse Analzyer cihazı Mitopotential testi ham veri grafikleri.....	51
<b>Şekil 4.15.</b>	Mitopotential testi 24, 48 ve 72 saat ölü hücre yüzde değerleri .....	52
<b>Şekil 4.16.</b>	Mitopotential testi 24, 48 ve 72 saat toplam depolarize hücre yüzde değerleri.....	54
<b>Şekil 4.17.</b>	24 saatlik inkübasyon sonundaki canlı hücre sayıları.....	55
<b>Şekil 4.18.</b>	48 saatlik inkübasyon sonundaki canlı hücre sayıları.....	56
<b>Şekil 4.19.</b>	72 saatlik inkübasyon sonundaki canlı hücre sayıları.....	56

## 1.GİRİŞ VE AMAÇ

Kanser, vücutta bulunan hücrelerin kontrolsüz büyümesi ve anormal şekilde yayılması ile seyreden hastalıklar arasında yer almaktadır (Bayrak ve ark., 2010). Ana sebebi kontrol dışı hücre çoğalmaları olan kanser, genetik kökenli bir hastalık olup, DNA'nın yapısal formundaki değişikliklerden temel almaktadır (Erdamar ve ark., 2014). Kanser yıllardan beri süregelen, insan yaşamını yüksek morbiditesi ve mortalitesi ile tehdit eden bir hastalıktır (Atıcı, 2007). Kanser hem gelişmekte olan hem de gelişmiş ülkelerde kardiyovasküler hastalıklardan sonra sıklıkla görülen kronik hastalıklar arasında olup, büyük bir halk sağlığı sorunu olarak görülmekte ve vaka sayısı gün geçtikçe artmaktadır (Aweke ve ark., 2017; Singh ve ark., 2016). Dünya üzerinde en fazla ölüme neden olan kanser türleri, sırasıyla akciğer kanseri, mide kanseri, kolon-rektum kanseri, karaciğer kanseri ve meme kanseri şeklindedir (Bayrak ve ark., 2010). Kanser yaygınlığı cinsiyete göre değişim gösterir. Erkeklerde en çok akciğer kanseri ile karşılaşılırken, kadınlarda ise en çok meme kanseri ile karşılaşılmaktadır (Singh ve ark., 2016). Kansere bağlı mortalitelerde ana sorun tümör dokusunun kendinden kaynaklı olmayıp, kansere bağlı gelişen sekonder metabolik değişiklikler olarak görülmektedir. Yapılan çalışmalarda kanser hastalarında sıklıkla kilo kaybı görüldüğü bildirilmiştir. Kanserli olgularda düzgün beslenme ve diyet ile düzeltilemeyen, iskelet kası ve adipoz doku kaybının da görüldüğü kaşeksiye de yol açan ölümlerin olduğu rapor edilmiştir (Erdamar ve ark., 2014). Birçok hastalıkta olduğu gibi kanser tedavisinde de erken teşhis çok önemlidir (Oylar ve Tekin, 2011). Günümüzde kanser tanısı konulmuş hastaların tedavisinde tümör dokusunun cerrahi operasyon ile çıkarılması, kemoterapik ilaçlar, ışın tedavisi, hormon tedavisi gibi yöntemler hâlihazırda tercih edilmektedir. Kemoterapik ilaçların çok fazla yan etki göstermesi ve tedavi sürelerinin uzun olması, tedavi konusunda yeni çalışmaların önünü açmıştır. Tamamlayıcı tedavi yöntemlerine ilişkin çalışmaların genellikle bitkisel tedavi noktasında odaklandığı görülmüştür

(Bozkurt, 2016; Uğurluer ve ark., 2007). Son 25 yılda yapılan çalışmalarda tamamlayıcı ve alternatif tedavi uygulamalarına başvurma sıklığı ciddi oranda artış göstermektedir.

Yapılan bu çalışmada Ehrlich assit tümörü oluşturulan 8-10 haftalık balb-c ırkı erkek farelerde *Tricholoma anatolicum*'un (katran-sedir mantarı) ekstresinin muhtemel antitümöral etkisinin *in vitro* olarak araştırılması planlanmıştır. Ekstreler için kullanılacak olan *Tricholoma anatolicum* (katran-sedir mantarı) Adana'nın Feke ilçesinde Toros Dağlarından toplanmış ve ekstre haline getirilerek deneysel çalışmada kullanılmıştır.



## 2.GENEL BİLGİLER

### 2.1.Kanser, Tanımı ve Tarihçesi

Kanser, canlıların temel yapı birimi olan hücrelerin kontrolsüz bir şekilde aşırı çoğalması ile karakterize bir hastalıktır. Kontrol edilemeyen bu çoğalma ve yayılım ölümlerle sonlanabilmektedir (<http://www.cancer.org/acs/groups/content/@editorial/documents/document/acspc-044552.pdf>, Erişim tarihi: 07.05.2020).

Kanser kelimesi ilk kez Hippocrates (M.Ö 460-370) tarafından ortaya konulmuştur ve Hippocrates kanser kelimesini vücuttaki şifa bulmayan yeni yapılanmalar için kullanmıştır (Atıcı, 2007; Yıldırım, 2017). Hippocrates tümörleri iyi huylu ve kötü huylu olarak ikiye ayırmıştır (Yıldırım, 2017). Kanser anlamına gelen carcinoma ve carcinus terimleri de Antik Yunan döneminde kullanılmaya başlanmıştır (Yıldırım, 2017). M.Ö. 28 ile 50 yılları arasında Antik Roma döneminde yaşamış olan hekim Celcus parmağa benzeyen uzantılarından dolayı, M.S. 2. yy'da da Galen'in yengece benzettiği kanser hücreleri için latinceye yengeç anlamına gelen cancer terimi kullanılmıştır (Atıcı, 2007). Bir başka bakış ile kanser ağırları, yengeç ısırması sonucu oluşan merkezden dışa doğru yayılan ağırlara benzetildiği için de bu ifadenin kullanılmış olabileceği düşünülmektedir. Kanser oluşmasına sebep olan ajanlara, Grekçede carcinos (yengeç) ve genesis'den (doğum) köken alan karsinojen (halk tabiri ile de kanserojen) terimi kullanılmaktadır (Bozkurt, 2016; Atıcı, 2007; Uçar, 2018).

Kanser tarihinde ilk olarak malign tümörlere Antik Mısırda papirüslerde, Babiller döneminde kullanılan çivi yazıları ile yazılmış tabletlerde ve hint yazmalarında karşılaşılmaktadır. Milattan önce 15. yy'da Ebers papirüsünde tümör tedavisinin öldürebileceğine değinilmiştir. Antik Yunan tarihinde ise tıbbi dökümanlar ve Galen'e ait çalışmalar incelendiğinde kansere ait birçok olguyla karşılaşılmakta fakat hangi tümoral bulgu olduğu hakkında kesin bir bilgi verilmemektedir. Antik Yunan tarihinde

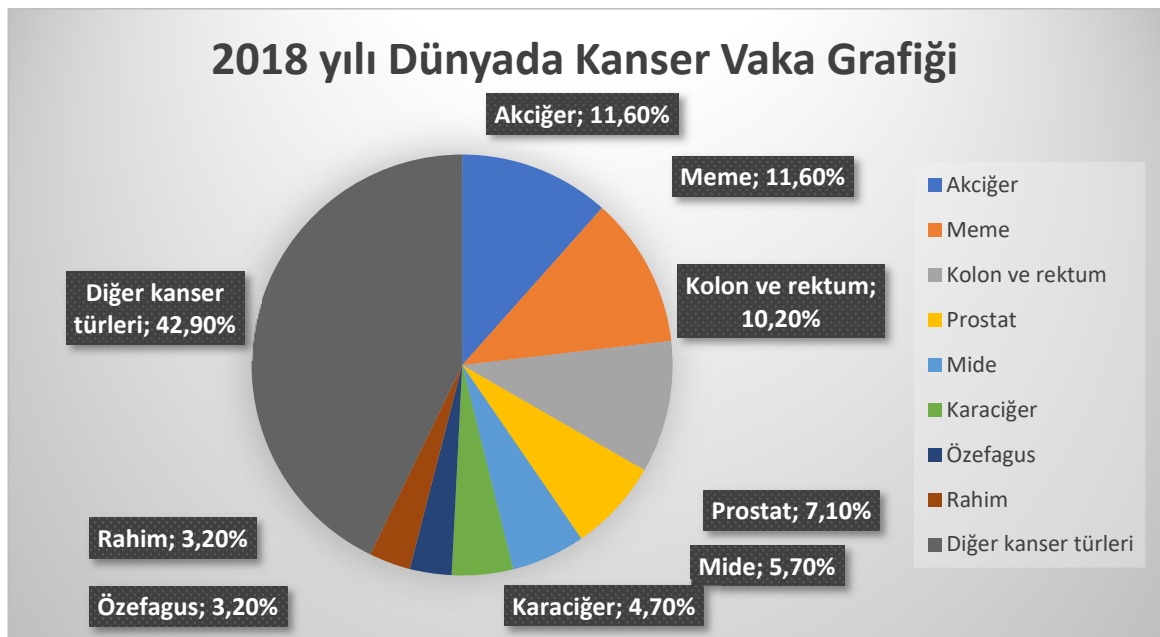
tümörler praeter naturam olarak adlandırılmış olup sadece epitel dokuda görülenlere malign tümör denilmiştir. Devrin şifacıları bu durumu vücut sıvıları arasında bulunan dengesizlikle ilişkilendirmişlerdir (Atıcı, 2007; Singerist, 1960).

Kanser ile ilgili mikroskop kullanılarak yapılan bilimsel nitelikli ilk çalışma Marcello Malpighi'nin (1628-1694) yaptığı çalışmadır. Primer tümörleri sekonder tümörlerden ayıran ve hâlihazırda şu an bilinen kanser türlerini tanımlayan bilim insanı ise Morgagni'dir (1682-1771) (Atıcı, 2007).

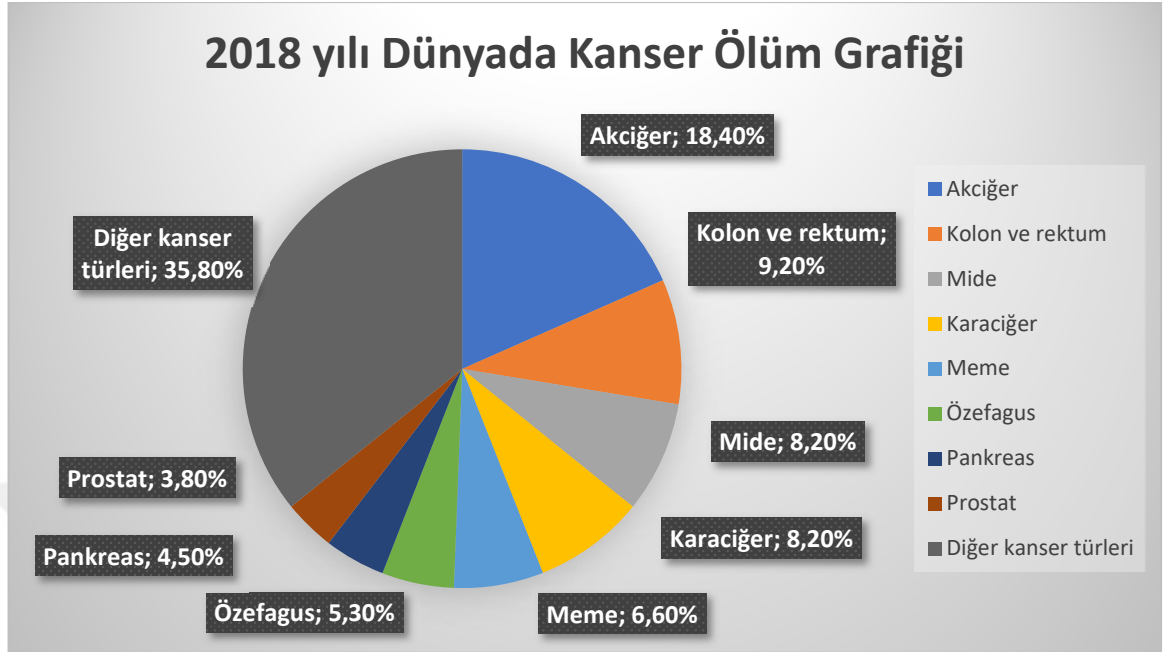
## 2.2.Türkiye’de ve Dünyada Kanser

Türkiye’de ölüm nedenleri araştırıldığında her yüz bin vakanın %55.77’si kanser kaynaklı olduğu bildirilmiştir. Resmi kayıtlara geçmeyen ölümler de göz önüne alındığında bu oranın daha da artacağı düşünülmektedir (Aslan ve ark., 2006).

Dünya sağlık örgütünün (WHO) 2018 yılı istatistiklerine göre dünyada kanser türlerinden ölüm sıralamaları her iki cinsiyet için sırasıyla akciğer (%18.4), kolon ve rektum (%9.2), mide (%8.2), karaciğer (%8.2), meme (%6.6), özofagus (%5.3), pankreas (%4.5), prostat (%3.8) ve diğer kanser türleri (%35.8) şeklindedir (Şekil 2.1, 2.2) (<https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/cancers/39-All-cancers-fact-sheet.pdf>, Erişim tarihi: 10.05.2020).

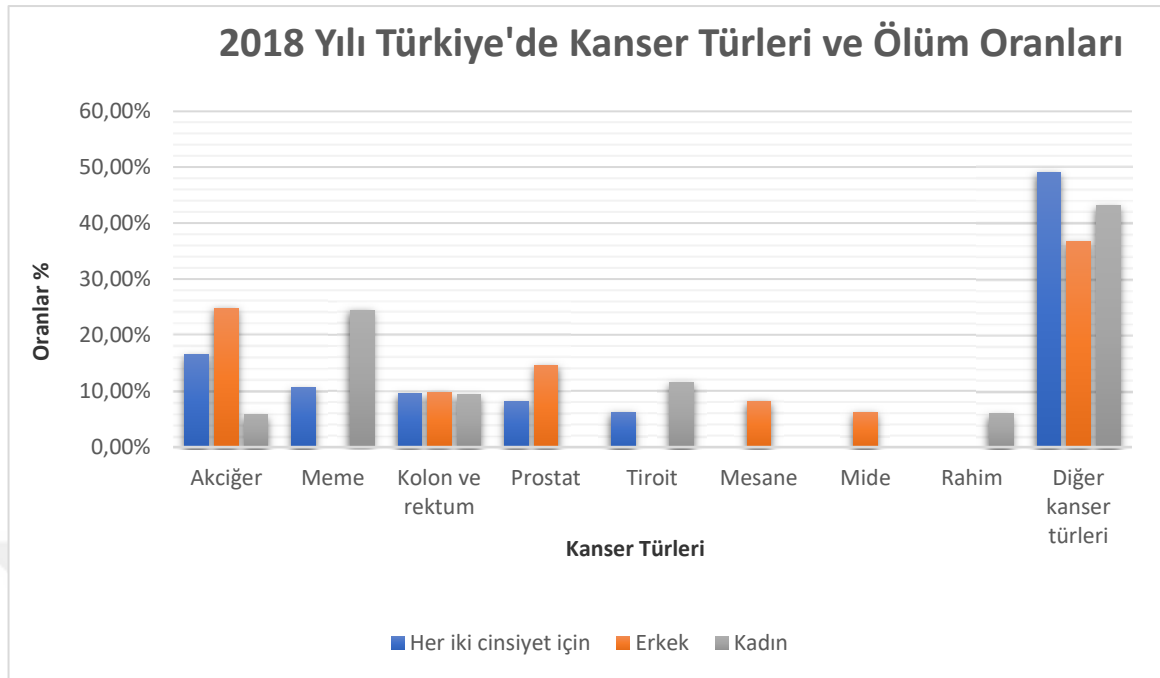


**Şekil 2.1.** 2018 yılı her iki cinsiyet için dünyada kanser vaka yüzdeleri (<https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/cancers/39-All-cancers-fact-sheet.pdf>, Erişim tarihi: 10.05.2020)



**Şekil 2.2.** 2018 yılı her iki cinsiyet için kanser türleri ve ölüm yüzdeleri (<https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/cancers/39-All-cancers-fact-sheet.pdf>, Erişim tarihi: 10.05.2020)

Dünya sağlık örgütünün (WHO) 2018 yılı istatistiklerine göre Türkiye’de kanser türlerinin görülme sıralaması erkeklerde akciğer (%24.7), prostat (%14.6), kolon ve rektum (%9.7), mesane (%8.1), mide (%6.2), diğer kanser türleri (%36.7) şeklinde olup kadınlarda ise meme (%24.4), tiroit (%11.5), kolon ve rektum (%9.3), rahim (%6), akciğer (%5.8), diğer kanser türleri (%43.1) şeklindedir (Şekil 2.3) (<https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/792-turkey-fact-sheets.pdf>, Erişim tarihi: 10.05.2020).



**Şekil 2.3.** 2018 yılı erkek, kadın ve her iki cinsiyet için kanser türleri ölüm oranları (<https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/cancers/39-All-cancers-fact-sheet.pdf>, Erişim tarihi: 10.05.2020)

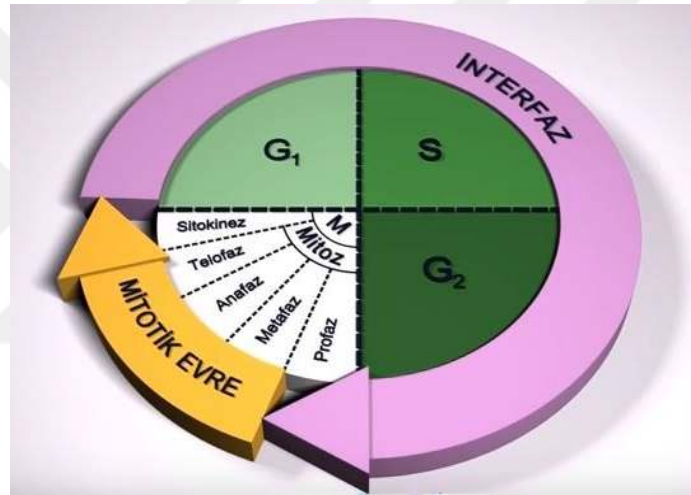
### 2.3.Kanser Oluşum Mekanizması

Normal dışı görülen hücre çoğalmasının sonucu olarak kanser daha fazla bölge ya da organı etkileyebilmektedir. Kanser yayılması ile diğer organlara da bu durumun nüks etmesine metastaz denir. Kanser nedeniyle ölümün görülmesinin ana sebebi metastazlardır (<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/> World Cancer Report 2014, Erişim tarihi: 07.05.2020). Kanser hücreleri normal hücelere göre yapı ve işlev olarak bir takım farklılıklar gösterebilmektedir. Kanser hücresi normalde yapılan işlevleri yerine getirebilirken, bazen ise normalde görülmeyen yeni işlevler edinebilmektedir (Kutluk ve Kars,1994). Buna örnek olarak endokrin bir bez olmamasına rağmen tümöral bir kitlenin hormon salgılayabilmesi verilebilir (Sadırlı, 2008; Dalgıç ve ark., 1998). Bu hücreler doku, organ veya bölgelerde yayılım göstererek buralarda bulunan yapıların fonksiyonlarını yapmalarına engel olabilmektedir (Kutluk ve Kars,1994).

### 2.4.Kanser ve Hücre Döngüsü

Hücrenin büyüüp çoğalmasını sağlayan hücre bölünmesidir. Hücreden hücreye bu süreç farklılık göstermekte olup döngünün tamamlanması bir dakika ile bir sene arasında sürebilmektedir (Yokuş ve Çakır, 2012). Hücre bölünme siklusu iki kısımdan

oluşmaktadır. Bunlar interfaz (G<sub>1</sub>, S, G<sub>2</sub>) ve mitoz (M)'dur (Canpolat, 2016). Bölünme olayının gerçekleşmediği faz G<sub>0</sub> fazıdır (Güneş, 1999). Hücrelere bölünme emri gelmezse G<sub>0</sub> fazında beklemektedirler (Canpolat, 2016). Döngüyü başlatan bir uyarı geldiğinde G<sub>0</sub> fazındaki hücreler G<sub>1</sub> fazına geçerler. Bu uyarı ortadan kalktığı vakit G<sub>0</sub> fazına dönüş gerçekleşir (Ho ve Dowdy, 2002). Hücrelere bölünme emri geldiğinde bölünme öncesi bir hazırlık dönemine geçerler. Bu hazırlık döneminde bulunan hücreler hacimsel olarak büyürler. Bölünmeye hazırlığın yapıldığı bu evreye interfaz evresi denir. İnterfaz evresi ise üç alt kısımdan oluşmaktadır. Bunlar G<sub>1</sub>, S, G<sub>2</sub> evreleridir (Canpolat, 2016).



**Şekil 2.4.** Normal Hücre Bölünmesinin Evreleri (<https://webders.net/522/hucre-dongusu-siklusu.html>, Erişim tarihi: 12.05.2020)

G<sub>1</sub>, DNA replikasyonu için gerekli olan protein ve RNA sentezinin yapıldığı evredir (Topal ve ark., 2009). Ayrıca G<sub>1</sub> evresindeyken ATP sentezi hızlanarak, hücredeki organellerin sayısı artar ve metabolizma daha yüksek seviyelere çıkar. Hücreyi bölünmeye zorlayan proteinler (büyümeyi sağlayan faktörler) aktif hale geçer. Büyüme için uygun şartlar sağlandığında sentez evresine geçilir (Canpolat, 2016). Sentez (S) fazında iken replikasyon için bölgeler belirlenir ve DNA diploit bir hal alır (Topal ve ark., 2009). G<sub>1</sub> evresindeki RNA sentezine S evresinde de devam edilir. Protein sentezi en üst düzeye çıkarılır (Canpolat, 2016). G<sub>2</sub>'de ise mitoz bölünme için son hazırlık yapılarak hücre M fazına hazır hale gelir (Topal ve ark., 2009). G<sub>2</sub> evresindeyken DNA'nın sentezi durdurulup, RNA ve protein sentezine devam edilir. Sentrozom kopyalanması tamamlanır. Mitoz bölünme evresine geçildiğinde sentrozom duplike

olur. Yeni yavru kromozomlar oluşur. Mitoz'un profaz, metafaz, anafaz ve telofaz evreleri vardır. Telofazda sitoplazma bölünmesi tamamlanarak aynı genetik materyale ve özelliğe sahip iki yeni hücre meydana gelir (Canpolat, 2016). M fazının sonunda yeni iki hücre oluşarak bölünme tamamlanır (Topal ve ark., 2009). Toplam hücre döngüsü 24 saat olup hızlı çoğalabilen bir insan hücresinde G<sub>1</sub> evresi 11 saat, S evresi 8 saat, G<sub>2</sub> evresi 4 saat ve M evresi de 1 saat sürmektedir (Canpolat, 2016).

### **2.5.Hücre Siklusunun Kontrol Edilmesi**

Bölünme sırasında kontrol edilmeyen hücreler, kontrolsüz bir çoğalma göstererek tümör oluşumuna neden olmaktadır. Hücre bölünmesini kontrol eden, denetleyen bir takım kontrol noktaları bulunmaktadır. Hücre döngüsünün bölünme siklusu siklinler (cyc), siklin bağımlı kinazlar (CDK) ve siklin bağımlı kinaz inhibitörleri (CK1) tarafından kontrol edilmektedir. Bu kontrol noktaları G<sub>1</sub>'den S fazına geçişte ve G<sub>2</sub>'den M fazına geçişte bulunmaktadır. Bu kontrol noktalarında hücre bölünmesinin devam edilip edilmeyeceğine karar verilmektedir. G<sub>1</sub>'de bulunan kontrol noktasında hücrenin büyüklüğüne bakılır. Hücre yeterli büyüklükteyse ve DNA'da hasar bulunmuyorsa bölünme gerçekleşir. M'de bulunan kontrol noktasında kromozomların iç ipliklerine bağlanması kontrol edilir bir sorun yoksa bölünme gerçekleşir (Yuan ve Yankner, 2000; Giacinti ve Giordano, 2006; Canpolat, 2016).

### **2.6.Karsinogenez**

Normal hücre döngüsünün başlatılması, süreçlerin belirlenmesi ve aşamaların düzenli hata oluşmayacak şekilde devam ettirilmesi birçok protein sayesinde gerçekleşir. Bu proteinlerin sentezini yapan genler protoonkogenler veya tümör baskılayıcı genlerdir. Protoonkogenlerin çalışma mekanizmasında meydana gelen bozulmalar kanser gelişimine engel olan proteinlerin yapımını etkileyip kansere yol açabilirler. Bu mekanizmanın bozulmasına mutasyonların ve çeşitli sebeplerle meydana gelen DNA zincirindeki hasarların veya bozulmaların etki ettiği düşünülmektedir (Topal ve ark., 2009). Bütün bu evrelerden sonra kanserli olan hücrelerin ölümsüz olabilmesi telomeraz ve apoptoz aşamaları ile açıklanmaktadır. Telomerler kromozomlarda uç kısımlarda bulunmakla birlikte mitozlardan sonra kesilerek kısaltılır. Hayat devam ettiği sürece bölünmeler devam eder, kromozomlar kısalır, en sonunda hücre yaşlanarak ölür. Kanserli olan hücrelerde ise artmış telomeraz enzimi sonucunda mitoz bölünmede oluşan kısalma biter. Bu şekilde bölünme evresi sınırlandırılmaz hale gelir.

Apopitoz'da ise hücreler planlı bir şekilde ölmektedirler. Apopitoz'da normal olan hücrelerin farklılaşp devam eden mekanizmaya başkaldırması engellenmiş olur. Apopitoz vasıtasıyla kanser riski taşıyan hücreler yok edilmiş olmaktadır (Kocakaya, 2017; Topal ve ark., 2009).

### **2.7.Kansere Neden Olan Faktörler**

Kanser birden çok değişkene bağlı olan karmaşık ve stabil olmayan kompleks bir hastalıktır. Kanser alanındaki çalışmaların hızla ilerlemesine rağmen yapılan moleküler biyoloji ve hücre kültürü çalışmaları, neoplastik hücrelerin (yeni oluşmuş hücreler) nasıl karsinogen ve metastatik yetenek kazandığını tam olarak açıklayamamaktadır. Bu durum günümüzde hâlâ tartışma konusu olmaktadır (Grizzi ve Chiriva-Internati, 2006).

Kansere neden olan etkenler kişisel ve çevresel olarak ikiye ayrılabilir. Kişisel olan faktörler aileden gelen kromozomlara bağlı genetik faktörler ve genetik yatkınlıktır. Çevresel etkenler ise bakteriler ve virüsler, parazitler, radyasyon ve x ışınları gibi fiziksel etkenler; sanayileşmeye bağlı olarak oluşan hava kirliliği, sigara ve kimyasal ajanlar; beslenme unsuru, cinsellik ve doğurganlık; hormonlara bağlı faktörler ve immünolojik bağışıklıktır. Kansere neden olan unsurlara bakıldığında çevresel etkenlerin %80'lik bir orana sahip olduğu görülmektedir (Sadırlı, 2008; Bilir, 2008).

### **2.8.Kanserin Tanı ve Tedavisi**

Kanserin birçok belirtisi olmakla beraber bazı belirtilere klinikte sıklıkla karşılaşılmaktadır. Bu belirtilerden bazıları vücudun herhangi bir yerinde şişlik görülmesi, zor iyileşen ya da iyileşme görülmeyen yaralar, vücutta çeşitli bölgelerde görülen ben ve siğillerde meydana gelen yaralar ve renk değişimleri, normal dışı görülen sebepsiz kanamalar, yutkunmada görülen güçlükler, sıklıkla görülen öksürük, seste meydana gelen kısıklık, idrar ve dışkı alışkanlığındaki değişikliklerdir. Bu belirtilerden bir ya da birkaçının görülmesi kanser şüphesini akla getirmektedir (Kutluk ve Kars, 1994).

Kan tetkikleri, biyokimyasal analizler, radyografi, radyoizotop taramaları, endoskopi, ultrasonografi, magnetik rezonans görüntüleme (MR), sitoloji, biyopsi ve histopatolojik muayeneler kanser tanısı için önemlidir (Kutluk ve Kars,1994).

Kanser tedavisi uzun bir süreç olmakla beraber tedavide sıklıkla başvuru olan yöntemler kemoterapi, radyoterapi, cerrahi yöntemlerdir. Hormon tedavisi ve biyolojik yöntemler

de diğ er ana tedavi yöntemlerine destek olması maksadıyla klinikte tercih edilmektedir (Baykara, 2016).

Tüm bu yöntemlerin yanısıra son zamanlarda kullanımı artan bir diğ er tedavi yöntemi tamamlayıcı tedavilerdir.

## **2.9.Tamamlayıcı Tedaviler**

Tamamlayıcı tedavi, bilimsel tedavilere destek maksadıyla yapılan tedavidir. Son 15 yılda giderek kullanımı artan tıbbi tedavilere destek olan tedavilerdir. (Molassiotis ve ark., 2005). Geleneksel tıbbi tedavilerinin yerine kullanılabilen tamamlayıcı tedavi ekseriyetle hastaların isteklerine bağı lı olarak tercih edilmektedir (Kurt ve ark., 2019; Kocakaya, 2017). Kendi başına tedavi amaçlı kullanılmayıp başka tedavilere destek olarak kullanılmaktadır. Kanserin tekrarlamasına engel olmak, yaşam standartlarını geliştirmek, diğ er ilaçların yan etkilerini azaltarak semptomları hafifletmek amacıyla son zamanlarda yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Hastalara fiziksel ve psikolojik bir destek sağladığı düşünölmektedir (Kocakaya, 2017; Kav ve ark., 2008). Kanser tedavilerine destek olarak tamamlayıcı tedavilerin kullanımı giderek artmaktadır. Literatürde tamamlayıcı tedaviler konusunda değışik ölkelerde kullanım sıklığıının %7 ile %64 arasında olduğu (ortalama olarak %31.4) belirtilmektedir. Türkiye'nin de içinde yer aldığı Avrupa'da bulunan 14 ölkede yürütölen çalışmalarda kanserli olan hastaların tamamlayıcı tedavi kullanım sıklığıının %36 olduğu belirtilmiş ve %15 ile %73 arasında geniş bir yelpazede dağı lım gösterdiği belirtilmiştir (Kav ve ark., 2008).

Kanser tedavisinde tamamlayıcı tedaviler hastada gevşemeyi ve sedasyonu sağ lamayı, stres ve anksiyete halini önlemeyi, oluşabilecek diğ er semptomlar ve bunlara eşlik edebilecek ağ rıyı azaltmayı, görölebilecek yan etkileri azaltmayı ve uyku sorunlarını gidermeyi amaçlamaktadır (Ernst, 2001).

Ulusal Tamamlayıcı ve Alternatif Tedavi Merkezi (National Center for Complementary and Alternative Medicine) (NCCAM) 200'den fazla tamamlayıcı tedavinin olduğunu belirtmektedir. Bunları temel olarak 5 sınıfa ayırmaktadır.

- 1) Alternatif tedaviler ve medikal sistem tedavileri (Uzakdoğu çin tıbbı, akupunktur, homeopati ve aurveda)
- 2) Bedensel ve zihinsel tedaviler (İmarjinyasyon, hipnoz, biofeedback, müzik ve hayal kurma)

- 3) Biyolojiden temel alan tedaviler (Bitkisel tedaviler, etkili yüksek doz vitamin takviyeleri, özel diyetler)
- 4) Enerji aktarımı ile yapılan tedaviler (Dokunma ile iyileştirme ve reiki)
- 5) Manupulatif ve bedensel egzersize dayalı tedaviler (Masaj, egzersiz, chiropractic, yoga, hidroterapi, refleksoloji, akupressur) (Yıldırım ve ark., 2006)

## 2.10.Mantarlar

Mantar kelime olarak grekçedeki mykes'ten türetilmiştir. Mantarları inceleyen bilim dalına mikoloji denir. Günümüz şartlarında mikoloji bilimi dünya üniversitelerinin bazılarında botanik bilimi ile birlikte, bazılarında ise mikrobiyoloji bilimi içinde öğretilmektedir (Sümer, 2006).

Mantarlar heterotrof olan, klorofil bulundurmeyen ökaryotik canlılardır (Keaton ve Gould, 2004). Mantarlar hem hayvanlarla hem de bitkilerle benzer yanlarının bulunmasından dolayı uzunca bir süre sınıflandırılmamışlardır. Mantarlar bitkilerle olan benzerliklerinden dolayı uzun yıllar bitkiler alemine dahil edilmekteydiler. Bilim adamları değişik sınıflandırmalar yapmışlardır. Günümüzde ise mantarlar bitkilerden ayrı bir mantarlar alemi (Regnum mycota) olarak kabul görmektedir (Sümer, 2006).

Mantarlar birçok yiyecekte daha iyi sindirilebilir protein kaynağıdır. Protein içeriği ise %10 ile %40 arasında değişmektedir. Taze mantarların kuru ağırlığının %3-21'ini karbonhidrat, %3-35'ini lifler oluşturur. Mantarlar yapısal olarak fosfor, demir, kalsiyum ve potasyum gibi minerallerin çoğunu içerdiği için mineral bakımından oldukça zengindir. Ayrıca mantarlar tiamin (B1), riboflavin (B2), niasin, biyotin ve askorbik asit gibi vitaminleri de içermektedir. A ve D vitaminlerini de yaygın olmamakla beraber birkaç tür içermektedir. Mantarların içeriğinde bulunan doymuş yağlar, serbest yağ asitleri, trigliserit türevi lipit bileşikleri, steroller, esterler eser miktarda bulunduğu için genellikle oranları düşüktür. Yenilebilen mantarların tüketilmesi bireyin fonksiyonelliğine ve diyetine katkı sağlamaktadır (Smith ve ark., 2002).

Mantarları tarihte bu kadar ön plana çıkaran bir diğer yönü ise mantarların psikoaktif halüsinojenik etkileridir. M.Ö. 3000 yıllarına ait olduğu bilinen Amerika'daki mantar taşlarıda mantarların geçmişi hakkında bizlere ipuçları vermektedir. Bu taşlar Pasifik Guatemala yamaçlarındaki maya bölgesinde İspanyolların yeni Dünya keşfi sırasında bulunmuştur (Şekil 2.5).



**Şekil 2.5.** Pasifik Guatemala'nın yamaçları Kaminaljuyu'da bulunan mantar taşları (Borhegyi ve Borhegyi-Forrest, 2015).

### 2.11.Mantarların Yapıları ve Üremeleri

Mantarlar üremelerini sporları sayesinde gerçekleştirmektedirler. Spor ise kelime olarak Grekçe'de tohum anlamına gelmektedir. Mantarların vejetatif bünyesi tek veya çok hücreli iplik gibidir. Bu iplikçiklerden her birine Grekçe'de doku anlamına gelen hif (Hyphe veya Hypha) denir. Hiflerin bir araya gelerek oluşturdukları vejetatif yapıya ise Grekçe'de siğil, elos anlamına gelen misel (Mycelium veya mykes) denir. Hifler mantarlarda dallanmış veya dallanmamış olarak bulunmaktadır (Sümer, 2006).

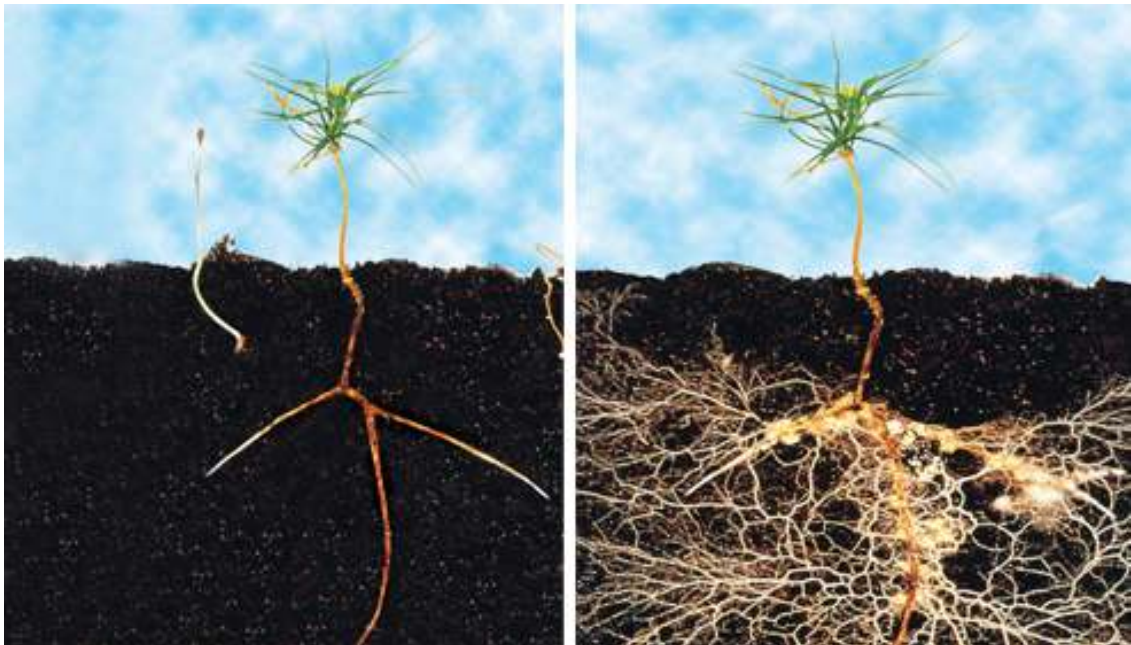
Mantarlar genellikle renksizdirler. Klorofilleri bulunmamaktadır. Bazı mantarların koyu renkli olması ise hücre çeperlerine biriken melanin maddesi ile açıklanabilir. Mantarlar klorofil bulundurmadıklarından dolayı heterotrof, parazit veya saprofit olarak yaşarlar. Karbon oluşturan kaynaklardan yararlanırlar. Mantarlar konukçu canlının dokularındaki hücre boşluklarına yerleşirse emeç (haustorium) adı verilen özel hiflerle besin ihtiyacını karşılarlar (Sümer, 2006).

### 2.12.Mantarların Ektomikorizal Yaşamsal Döngüleri

Mikoriza kelimesini 1885 yılında incelemeler yapan Alman botanikçi ve aynı zamanda ilk orman patolojisti olan AB Frank tarafından mantarların ağaçlar ile olan ilişkilerini tanımlamak için kullanılmıştır. Mikoriza kelime olarak Yunanca'da mantar anlamına gelen mykes ve kök anlamına gelen rhiza'dan türemiş olup kök mantarı anlamına

gelmektedir. Mikorizal birliktelik doğadaki bitkilerin yaklaşık olarak %92'sinde görülmektedir. Bu birliktelik ototrof olan konukçu bitki ile hetetrof organizma arasındaki besin ve oksijen alışverişine dayanmaktadır. Ektomikoriza tanımı orman çalılıarı ve ağaçlar gibi yüksek yapılu bitkiler ile makromantarlar arasındaki iki tarafında yarar gördüğü simbiyotik birlikteliği ifade etmektedir (Kibar ve Pekşen, 2007). Bizim de çalışmamızda kullandığımız *Tricholoma anatolicum* mantarı ektomikorizal yaşam döngüsüne sahip bir mantardır.

Ektomikorizal simbiyotik yaşamda mantarların miselleri ağacın kökünü çevreler ve yoğun bir kılıf, manto oluştururlar. Ağaç kökünün topraktaki su ve mineralleri alma görevi artık mantarların miselleri tarafından üstlenilir. Mantar miselyumunun bir kısmı ağacın kök kısmındaki korteks hücrelerin arasına girer ve hücre dışında kök hücrelerine girmeden ağsı bir yapı oluşturur (Şekil 2.6). Mantar miselleri ile ağaç kökleri arasında oluşan bu ağ besin alışverişini daha kolay hale getirir. Miselleri sayesinde mantarlar topraktaki su ve mineralleri alarak bitkiye ulaştırırken, bitki ise mantara fotosentez sonucu oluşan karbonhidrat kaynağını sağlar (Kocakaya, 2017). Bu şekilde iki tarafında yararına olan ektomikorizal simbiyotik birliktelik sağlanmış olur.



**Şekil 2.6.** Ektomikorizal birliktelikteki bitki kökünün görünümü (<http://apelasyon.com/Yazi/430-mikoriza-mantarlari-ve-tarimsal-acidan-onemi>, Erişim tarihi: 16.05.2020)

Tarihsel süreçte mantarların uzunca bir süre çeşitli hastalıkların tedavisinde başarılı olarak kullanıldığı görülmektedir. Geleneksel Çin tıbbında bağışıklık düzeyini artırmak

için kullanılan tedavi yöntemlerinde mantarlar tercih edilmektedir. Besin olarak kullanılmasının yanı sıra mantarlardan elde edilen birçok tıbbi ürün günümüzde Japonya, Kore, Çin gibi ülkelerde ilaç şirketleri tarafından üretilip yaygın olarak kullanılmaktadır. Özellikle son 20 yılda modern tıpta mantarların kullanımı giderek yaygınlaşmıştır. Mantarlar sadece Uzakdoğu ülkelerinde kullanılmakla kalmayıp Amerika'da da insan ve hayvan metabolizmalarına etkileri ile ilgili çalışmalar yapılmaktadır. Mantarlarda bulunan polisakkaritlerin insan ve hayvan metabolizmalarında bağışıklık sistemini dengelediği ve bazı tümöral oluşumları inhibe ettiği bilinmektedir. Mantarlardan elde edilen ekstraktların kanserli hastalarda ki yaşam kalitesi üzerine olumlu etkilerinin olduğu görülmüştür (Smith ve ark., 2002).

### **2.13.Mantarların Tıbbi Kullanımı**

Makromantarlar yüzyıllardır hem besleyici gıda olarak hem de farmakolojik olarak ilaç yapımında sıklıkla tercih edilmektedirler (Hilszczańska, 2012; Oyetavo, 2011). Geleneksel tıpta Japonya, Çin ve birçok ülkede mantarlar ilaç olarak kullanılmaktadır (Oyetavo, 2011). Mantarların besleyiciliği ve tıbbi tedavi gıdaları olarak kullanılmalrı göz önüne alınarak büyüyen dünya popülasyonunda gelecekteki yeri gıda güvenliği açısından oldukça önemli görülmektedir (Dutta ve Acharya, 2014). Mantar türlerinin antioksidan, antitümoral, antimikrobiyal, immün sistemi dengeleme ve güçlendirme gibi etkilerinin olduğu bilinmektedir. Etkilerini içerisinde barındırdıkları biyoaktif bileşikler sayesinde göstermektedirler. Bunlar yağ asitleri, glikolipitler, fenoller, poliasetilamin, şikimik asit trevleri, poliketitler gibi bileşiklerdir. Gıda bakımından besleyici ve farmakolojik bakımdan tedavi edici etkisi olduğu kadar mantarların yan etkileri de bulunmaktadır (Oyetavo, 2011).

Bünyesinde barındırdığı folik asitin anemi hastalığında tedavi edici etkisi olduğu görülmüştür. D vitamini içermesinden dolayı mantarlar kas ve iskelet sistemi gelişimi açısından çocukların büyüme dönemi için ciddi bir besin kaynağıdır (Güven, 2019). Çoğu mantarın kendisinin ya da ekstresinin antitümöral etkisi olduğu bildirilmiştir. Bunların dışında mantarlar hipertansiyon, hiperkolesterol, kronik bronşit gibi hastalıklarda da tedavi etmek amaçlı kullanıldığı bilinmektedir (Uslu, 2007).

Mantarların içeriğinde bulunan polisakkarit ve polisakkarit-peptit komplekslerinin immün bağışıklık sistemini aktive etme özelliği bulunmaktadır. Metastaz ve karsinogenez oluşumunu engelleyici antitümöral etkileri mevcuttur. Mantarlar

kullanılarak yapılan antikanserojen çalışmaları 1970’li yıllarda *Lentinus edodes* (Berk.) Singer’ den elde edilen ‘‘lentinan’’ isimli bir  $\beta$ -glukan ile başlamıştır. Sonraki yıllarda başka bir mantardan elde edilen ‘‘şizofilan’’ ile çalışmalar devam etmiştir. Şizofilan hasta olan hücrelerde makrofaj yolu ile antitümöral etkinlik göstermiştir. Yapılan çalışmalar neticesinde homoglukan, heteroglukan, heteroglukan ve polisakkarit-protein kompleksi gibi birden fazla bileşik izole edilmiştir (Hilszczańska, 2012). Son yıllarda mantar polisakkaritleri ile yapılan deneysel çalışmalar oldukça popüler bir konuma gelmiştir (Oyetavo, 2011).

#### **2.14. *Tricholoma anatolicum* (Katran-Sedir Mantarı)**

*Tricholoma anatolicum* bitkiler aleminde basidiomycota şubesinin, agaricomycetes sınıfının, agaricales takımının, *Tricholomataceae* ailesine, *Tricholoma* cinsinin, *Tricholoma anatolicum* H.H. Doğan & Intini türüne aittir (İlban, 2011).

*Tricholoma* köken olarak Yunanca’da kıllı anlamına gelen ‘‘tricho’’ ve saçak anlamına gelen ‘‘loma’’ kelimelerinden türetilmiştir. Üst kısmında şapkalarının kenarlarında bulunan kalıntısız oluşumlar mantara (Bu özellik tüm mantarlarda görülmeyebilir) bu ismin verilmesini sağlamıştır. Ektomikorizal bir yaşam döngüsüne sahip olan *Tricholoma* türü mantarlar genellikle kayın, huş, meşe, söğüt, ladin, çam, kavak, pamuk, köknar gibi ağaçların altlarında yaşamlarına devam etmektedirler (Trudell, 2013).

Yenilebilen ektomikorizal yaşam döngüsüne sahip mantar türlerinden *Tricholoma anatolicum* ve ona çok benzeyen *Tricholoma caligatum* ülkemizde en çok güneybatı Anadolu bölgelerinde hasat edilir (Kalmış ve ark., 2011). *Tricholoma anatolicum* Türkiye’de yetişen endemik bir tür mantardır. Oldukça lezzetli ve kaliteli besin içeriğine sahip olan bu mantar sadece ülkemizde yetişen bir tür olmasıyla beraber Anadolu mantarı anlamına gelen *Tricholoma anatolicum* olarak isimlendirilmiştir. Ülkemizde yetişebilen *Tricholoma* türü mantarlar arasında en değerli olanı *Tricholoma anatolicum*’dur. *Tricholoma anatolicum*’un toplanmasında belirli bir kural olmaması ve aşırı toplanması türün geleceğini tehdit altına almaya devam etmektedir. Türün devamlılığının sağlanmasında mantarı toplayan yerel halkın bilinçlendirilmesi büyük önem teşkil etmektedir (Allı ve Şen, 2016).

Tarihsel olarak bakıldığında *Tricholoma* türü mantarlara eski çağlardan beri verdikleri önem ile Japon kültüründe rastlanılmaktadır. Japon kültüründe yaklaşık 1000 yıldan beri önemli bir yere sahip olan *Tricholoma* türü mantarlar halk için çok değerlidir.

*Tricholoma* türü mantarlar sadece sofraları süslemekle kalmayıp kültürel ve dinsel anlamda da önemli olduğu aşikâr ortadadır. 13. ve 17. yüzyıllarda asaletin ve bolluğun bir sembolü olarak görülen *Tricholoma* mantarları Japon kültüründe “*matsutake*” olarak isimlendirilmektedir. *Matsutake* mantarlarını, toplumda önemli bir yere sahip olan insanlar özel günlerde birbirlerine hediye olarak vermişlerdir (Kalmış ve ark., 2009; İlban, 2011; Kocakaya, 2017).

Eski Japon kaynaklarında milattan sonra 759 yıllarında yazılmış bir şiirde *Tricholoma* türü mantarların (*Matsutake*) insan sağlığı için faydasından, öneminden ve değerli bir gıda maddesi olmasından bahsedilmektedir. Son yüzyıla kadar *Tricholoma* mantarları üretkenliğin, cömertliğin, saadetin bir sembolü haline gelmiştir. Japon halkı için günümüzde de *Tricholoma* türü mantarlar oldukça büyük öneme sahip olmakla beraber sıklıkla tüketilmektedir. Bundan dolayı ülkemizden ve dünyanın değişik bölgelerinden hasat edilen *Tricholoma* türü mantarlar Japonya'ya ihraç edilmektedir (Kalmış ve ark., 2009; İlban, 2011; Kocakaya, 2017).

*Tricholoma anatolicum* H.H. Doğan & Intini mantarı yerel halk tarafından “gamalak” veya “katran” mantarı olarak bilinmektedir. Yabani bir mantar türü olmakla beraber henüz kültür ortamına alınamamıştır. *Tricholoma anatolicum*'u (Katran-sedir mantarı) 2003 yılında bilim dünyasına kazandıran bilim adamı Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji bölümü öğretim üyelerinden Prof. Dr. Hasan Hüseyin DOĞAN'dır (İlban, 2011; Kaya ve ark., 2009).

### **2.15. *Tricholoma anatolicum* (Katran-Sedir Mantarı) Morfolojik Özellikleri**

**Şapka:** Yaklaşık 4 ile 20 cm çapında olmakla beraber, gençken sapla birleşik, daha sonra açılarak yarım bir kubbe şeklini alarak düzgün bir form kazanmaktadır. Gençken beyaz ve krem rengi arasında bir renge sahipken ilerleyen dönemlerinde sarımsı krem bir renge bürünür. İnce bir yüzeye sahiptir ve yün gibi tüyler bulunmaktadır. Kenarlarında ise yüne benzeyen venar kalıntıları mevcuttur. Şapkasındaki etli kısım 2 ile 5 cm arasında kalınlıkta beyaz renkli, sıkı dokulu, dolgun ve katran kokusunda olup tatlımsı bir yapıdadır (Şekil 2.7).



**Şekil 2.7.** Topraktan yeni toplanmış *Tricholoma anatolicum*

**Lamel Yapısı:** Sap kısmına girinti yaparak birleşen bir yapıdadır. Gençken krem renkte olup, gelişmesi ilerlediğinde kahverengi ve kırmızımtırak lekeli bir hâl alır.

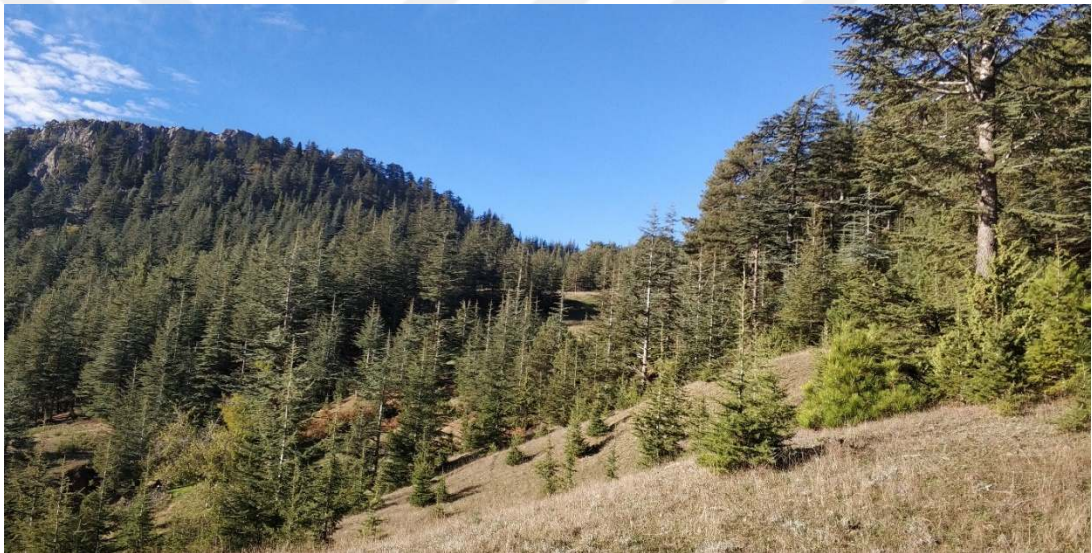
**Sap Yapısı:** 4-10 cm uzunluğunda ve 1-3 cm çapında silindirik şekilli, tabana doğru ilerledikçe incelen bir yapıya sahiptir. Gençken beyaz renkteyken, gelişim evrelerinde sırasıyla krem beyaza, daha sonra ise krem sarı renge dönüşür. Aynı şapka gibi üzerinde ince yüne benzeyen velar kalıntıları ve annulus bulunmaktadır (İlban, 2011; Doğan ve Akata, 2011).

Genel olarak bakıldığında beyaz ile krem rengine yakın, katran gibi koku veren, siyanofilik sporlara sahip, kendine has farklı bir aroması olan mantarlardır (Doğan ve Akata, 2011).

#### **2.16. *Tricholoma anatolicum*'un (Katran-Sedir Mantarı) Yetiştığı Yerler**

*Tricholoma anatolicum* sedir (katran) ağaçlarının (*Cedrus libani*) altlarında, bu ağaçlarla ektomikorizal birliktelik kurarak yaşayan bir mantar türüdür. Akdeniz'de rakım 1400 ile 1700m arasında olan bölgelerde Toros Dağlarında bulunan bir mantar türüdür. Genellikle 25 yaşından büyük sedir (katran) ağaçlarının altında drenajı iyi olan verimsiz kumlu toprakta yaşarlar. Hasat dönemi genellikle Sonbahar'da Ekim ile Kasım ayları arasındadır. Akdeniz iklim tipine uyum sağlayan bir türdür (Doğan ve Akata, 2011). Sedir (Katran) ağaçlarının altlarında kumlu iyi drene olmuş toprağın altında kolonileşerek gelişmektedir. Topraktaki çöp tabakasının hemen alt kısmında

olan *Tricholoma anatolicum*'un miselleri toprağın 10 ile 15 cm kadar altında toprak granülleri ve kayaların arasından gidebilmektedir (Doğan ve Akata, 2011). Bölgeye ilk defa gitmiş araştırma yapmamış bireyler için mantarın hangi ağaçların altında olduğunu bulmak bir hayli zor görülse de, yöre halkı için mantarları bulmak ve çıkarmak kolay bir eylem olarak görülmektedir. Toprağın üstene çıkmayıp altında gizlenen mantar, ancak yardımcı kazı aletleri ile eşildiğinde kendini göstermektedir. *Tricholoma anatolicum*'un bu özelliği işleri zorlaştırmakta ve mantarın toplanmasını geciktirmektedir. Toros dağlarında mantarın yetiştiği yerlere Ekim ve Kasım ayları arasında gün aydınlanmadan gidildiğinde mantar toplayıcısı yöre halkını burada görebilirsiniz.



**Şekil 2.8.** Adana Feke'de Çadırçukuru ve Fındık yaylaları (Toros Dağları)

Başta Adana olmak üzere Kahramanmaraş, Osmaniye, Muğla, Antalya ve Alanya bölgelerinde sedir (katran) ağaçlarının altlarında bulunmaktadır. *Tricholoma anatolicum*'un ülkemizde yetiştiği yerler Adana'nın Göller yöresi, Kozan'da Görbiyes ve Ahırkuyusu, Aladağ, Çamboğazı, Aladağ Katran Çukuru, Feke'de Çadırçukuru, Hıdıruşağı Aytepesi, Çataloluk mevkileri ve burada bulunan fındık yaylalarında yetişmektedir. Antalya'da Gazipaşa, Karatepe, Asarbaşı, Kaş, Sütlegen yörelerinde, Osmaniye'de Kaypak, Yarpuz ve Çulhalı bölgelerinde, Kahramanmaraş'ta Andırın, Elmadağ, Göksun, Soğukpınar yörelerinde yetişmektedir. Muğla'da Fethiye, Arpacık, Yaylakoru, Gedre, Babadağ yörelerinde yetişmektedir (Doğan ve Akata, 2011).

Çalışmamızda kullanılan mantarlar Adana ilinin Feke ilçesine bağlı Çataloluk mevkisindeki Çadırçukuru ve Fındık yaylalarından (Toros Dağlarından) toplandı (Şekil 2.8).

### **2.17.Katran-Sedir Mantarı'nın (*Tricholoma anatolicum*) Kimyasal Bileşenleri**

*Tricholoma matsutake*'nin kimyasal kompozisyonunu göstermeye yönelik yapılan çalışmada içeriğinde %20.3 protein, %29.10 lifsi yapı, %5.04 yağ, %36.67 karbonhidrat bulunduğu belirtilmiştir. Mineral içeriği bakımından da potasyum, sodyum, fosfor, kalsiyum, çinko, demir, bakır, manganez içerdiği bildirilmiştir (Lemieszek ve Rzeski, 2012). *Tricholoma anatolicum*'un kimyasal besin değeri analizi üç farklı gelişim evresinde incelenmiş olup, en fazla yağ ve nem içerikleri miselyum kısmında, kül ve karbonhidrat içerikleri mantarın genç döneminde şapka kısmında, sodyum miktarı ise en fazla miselyumunda ölçülmüştür (Kalmış ve ark., 2011).

Mantarların önemli bileşenlerinden olan fungal polisakkaritler hücre duvarının yapısında bulunmaktadır. Polimerik yapıda olan bu polisakkaritlerin görevi mantar için gerekli olan enerjiyi ve ekstrasellüler sıvıyı depolamaktır (Martinho, 2012). Mantarların içeriğinde bulunan polisakkaritleri sayesinde antitümöral, antioksidan, antimikrobiyal etkiler gösterdiği yapılan çalışmalarla teyit edilmiştir. Bu etkilerin oluşmasını sağlayan polisakkaritler genellikle mantarların hücre duvarının yapısındadırlar (Liu ve ark., 2010). Mantarların yapısında bulunan fungal polisakkaritler etkilerini kanserden koruma, bağışıklığı güçlendirme ve direk olarak apoptozi indükleyerek göstermektedirler (Lemieszek ve Rzeski, 2012; Martinho, 2012; Meng ve ark., 2016). Kitin ve kitosan her ne kadar hücre duvarının yapısında bulunan polisakkarit veya polisakkarit türevi de olsalar antikanserojen etki göstermezler. Antikanserojen etki gösterdiği bilinen polisakkaritler genelde (1→3), (1→6)  $\beta$ -glukan veya (1→3)  $\alpha$ -glukan türevleri olanlardır. Antikanserojen etki gösterdiği bilinen diğer bir polisakkaritlerde glukoz dışındaki monosakkaritlerin bir araya gelerek polisakkaritleşmesi sonucu ortaya çıkan glikanlardır (Liu ve ark., 2010).

### **2.17.Deneylerde Kullanılan Kanser Modelleri**

Kanserle mücadelede yapılan çalışmalar 14. yüzyıla kadar uzanmaktadır. Kanser alanında yapılan ve uygulanan tedaviler kendisinden önceki dönemin öğretisi ve tekniklerinin tekrarı ile yapılmış olup sistemli bir şekilde yapılan ilaç uygulamaları gelişerek günümüze ulaşmayı başarmıştır (Karayel, 2009; Bozkurt, 2016). Yıllardan

beri kansere karşı yapılan mücadelede ilerleme kaydedilebilmesi ve bir takım somut sonuçlara ulaşılabilmesi için değişik kimyasal bileşiklerden de yararlanılarak modeller oluşturulmuştur (Yenidoğan, 2010; Bozkurt, 2016). Yapılan çalışmaya en uygun deneysel kanser modelinin seçilmesi çok önemlidir (Zeybek, 2013). Araştırmada kullanılacak olan modelin geçerli olması, transplante edilen tümörler için üretim verimliliğinin yüksek olması, uygulanmasının kolay olması, tümör oluşma zamanı, reddedilme yüzdesi, metastaz yeteneği ile genetik, immünolojik yapılarının uygun olması gerekmektedir (Oylar ve Tekin, 2011; Bozkurt, 2016; Al, 2019).

Kullanılacak olan deney modelini seçerken tümörün biyolojik özelliklerini ve ilacın sitotoksik etkilerinin en iyi gösterecek deney hayvanını seçmek, hiç şüphesiz ki tümör oluşma olasılığını artıracaktır. Hem deney hayvanının biyolojik özellikleri hem de tedaviye yönelik yapılacak uygulamanın özellikleri dikkate alınarak günümüzde kullanılan 5 farklı deney modeli bulunmaktadır. Bunlar; kimyasal ve fiziksel karsinojenler ile oluşturulan deney modeli, spontan veya transplante edilebilen tümör modelleri, tümör ksenografi, transgenik, knockout ve kimerik modeller ve intraperitoneal yolla mikroenkapsüle (Hollow fiber) tümör modeli'dir (Yenidoğan, 2010; Zeybek, 2013).

**Kimyasal ve fiziksel karsinojenler ile oluşturulan deney modeli;** doğal veya sentetik olarak oluşmuş kimyasal maddeler insan veya hayvan vücudu için karsinojen olarak kabul edildiği için laboratuvar ortamında deney hayvanlarında da kansere neden olduğu görülmüştür (Huff, 1993; Bozkurt, 2016). Çeşitli kimyasal ajanlar deney hayvanlarına değişik yollarla verilerek birbirinden farklı tümör modellerinin oluşturulduğu deney modelleridir (Yenidoğan, 2010; Zeybek, 2013).

**Tümör Xenografi;** bu yöntem başka bir canlıdan alınan tümöral dokunun farklı bir canlıya transplantasyonuna dayanmaktadır (Yenidoğan, 2010; Zeybek, 2013).

**Transgenik, knockout ve kimerik modeller;** DNA mikroenjeksiyonları transgenik hayvanlarda en çok kullanılan yöntemdir. Transgenik hayvanlar geleneksel kullanılan üretim metodlarından farklı olarak laboratuvar ortamında rekombinant DNA teknolojisinin kullanımıyla üretilmektedir (Hogan ve ark., 1994; Bozkurt, 2016). Kullanılan bu teknoloji sayesinde doğal ortamda yetiştirme yerinden farklı olarak pronükleer DNA mikroenjeksiyon yöntemi vasıtası ile türler arasında gen transferleri gerçekleştirilebilmektedir (Yenidoğan, 2010; Zeybek, 2013; Bağış, 2012).

**İntraperitoneal yolla mikroenkapsüle (Hollow fiber) tümör modeli;** Bu model bir mikroenkapsülasyon yöntemidir. Tümör hücresi yarı yarıya geçirgen jel içerisinde kapsülendir. Kapsüllerin çapı 0.05 mm ile 1 mm arasındadır. Bu mikrokapsüller uygulanacak deney hayvanının intraperitoneal kavisitesine inokule edilerek uygulanan bir modeldir (Yenidoğan, 2010; Zeybek, 2013).

**Spontan veya transplante edilebilen tümör modelleri;** transplante edilebilen tümör modellerinde oluşmuş olan tümörlerden elde edilen süspansiyonlardan oluşmaktadır (Karayel, 2009). İnsan kanser tiplerine kinetik olarak daha benzerlik göstermektedir (Bozkurt, 2016). Transplante edilen tümörlere solid tümörler ve assit tümörleri örnek verebiliriz. Solid formdaki tümörler intradermal, subkutan, intramuskuler, intraperitoneal veya intravenöz yolla transplante edilebilirken, assit tümörler ise sadece intraperitoneal yolla transplante edilebilmektedir (Yenidoğan, 2010; Zeybek, 2013; Bozkurt, 2016).

Transplante edilebilen tümör modelleri köken aldıkları spontan tümörlere erken oluşum fazları bakımından oldukça benzerlik göstermektedirler. Bu modele örnek modeller arasında Ehrlich –Lettre assit tümörü, transplante edilebilen Wilm’s renal tümörü, Lewis Lung Carcinoma modelleri sayılabilir (Yenidoğan, 2010; Zeybek, 2013; Bozkurt, 2016).

### **2.18.Ehrlich Assit Tümörü (EAT)**

Son 20-30 yıl içinde transplante edilebilen tümör modelleri üzerindeki deneysel çalışmaların sayısının arttığı görülmektedir. Transplante edilebilen bu deney modelleri içerisinde en yaygın kullanılan tümör modeli Ehrlich assit tümörleridir (Özaslan ve ark., 2011). Farelerin adenokarsinomlarından köken alan Ehrlich assit tümör hücreleri, 1905 yılında dişi bir fare üzerinde spontan olarak ortaya çıkmıştır. 2. Dünya savaşı süresince ve 1948 yıllarından beri Lettre ve ark. tarafından birtakım çalışmalar yapılmıştır. Yapılan çalışmalarda Ehrlich kanser hücre hattının nitel ve nicel anlamda yapılacak yeni kanser çalışmalarına yardımcı olması için uygun bir test sistemi haline getirilmesi amaçlanmıştır (Lettre R ve ark, 1972). Daha sonraları Alman bakteriyoloji uzmanı Paul Ehrlich ve Alman patolog Hugo Apolant tarafından laboratuvar ortamında bir fareden diğer fareye eş zamanlı olarak transplante edilen bir deneysel tümör modeli haline gelmiştir (Chakrabarti ve ark., 1990; Lazebnik ve ark., 1991).

Ehrlich assit tümörü gibi modellerde amaç deney hayvanları ile yapılan tümöral modellerin ve kanser tedavilerinde yeni tekniklerin geliştirilmesidir. Yeni tedavi teknikleri ve modellemeler bundan dolayı çok önemlidir. Ehrlich assit tümörleri başlangıçta hiperdipliod olup, regresyon özelliği göstermeyen, kısa ömürlü, proliferasyon hızı ve transplante yeteneği yüksek olan tümör modelidir. Ehrlich assit tümörleri kemoterapiye en duyarlı olan insan tümörlerine benzediğinden dolayı farklılaşmamış olup büyüme hızları oldukça fazladır. Ehrlich assit tümörlerinin bu özelliklerinden dolayı alternatif kanser terapilerinde oldukça önemli bir yeri bulunmaktadır (Özaslan ve ark., 2011).

Ehrlich assit tümörü farelere özgü olmakla beraber %100 transplante ve malignite özelliği ile günümüze ulaşmış deneysel tümör modelidir (Elsaid, 2013). Hızlı büyüme ve virulans özelliğine sahiptir. Eşit büyüklüğe sahip olmayan tümör hücreleri yaklaşık 20 ile 30 mikron çapındadır (Zeybek, 2013). Ehrlich assit tümörleri asit ve solid formda kullanılabilir. Tümör hücrelerini içeren asit sıvısı deney hayvanlarına karından intraperitoneal yoldan verilirse asit form elde edilirken, subkutan yolla enjekte edilirse solid formda tümör elde edilebilmektedir (Güler, 2011). Ehrlich assit sıvısı gri ile beyaz arasında bir renge sahiptir. İçerisinde kanda bulunduğu durumda viskoz bir sıvı elde edilebilmektedir (Özaslan ve ark., 2011). İn vitro olarak yapılan deneylerde Ehrlich assit sıvısının yapay yüzeylere yapışmama özelliği bulunmaktadır (Güler, 2011).

Assit (Sıvı) Formu: Loewenthal ve Jahn bu tümörün asit formunu 1930'lu yıllarda fare üzerinde elde etmişlerdir. Karından intraperitoneal enjeksiyon ile 500.000/ml tümör hücresi farelere enjeksiyonda edildiğinde asit formda tümörün oluştuğu gözlemlenmektedir (Zeybek, 2013).

Çok hücrelilerde homeostazın sağlanması, hücrelerin çoğalması, farklılaşması ve ölümüyle olmaktadır (Nagata ve Golstein, 1995). Hücre sayısının kontrolü ise hücre artışı ve hücre ölümü arasındaki denge vasıtasıyla yapılmaktadır (Thomas ve ark., 1979; Tutkun, 2019). Bu iç ve dış dengenin bozulması kanser ve otoimmün hastalıklar gibi birçok hastalığı beraberinde getirmektedir (Thomas ve ark., 1979; Erdoğan ve Uzaslan, 2003). Bunlardan yola çıkılarak kanserin de hücre döngüsündeki dengesizliğe bağlı gelişen bir hastalık olduğu görülmektedir (Ekmekçi ve ark., 2008).

### 3.GEREÇ VE YÖNTEM

Deneysel çalışmamızda hayvanlar üzerinde yapılan işlemlerin hayvan deneylerine uygunluğu, Erciyes Üniversitesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu tarafından 06.03.2019 tarihinde gerçekleştirilen 03 numaralı toplantıdaki 19/052 numaralı kararı ile onaylanmıştır. Hayvanlarla yapılan uygulamalar ile *in vitro* olarak yapılan hücre kültürü çalışmaları Betül-Ziya Eren Genom ve Kök Hücre Merkezi'nde (GENKÖK) gerçekleştirilmiştir.

#### 3.1.Deney Materyali *Tricholoma anatolicum*'un (Katran-Sedir Mantarının) Toplanması

Deneysel çalışmamızda kullanılan *Tricholoma anatolicum* (Katran-sedir mantarı), 2018 yılında 26-30 Ekim tarihleri arasında (Mantarın olgunlaşp hasat edilme dönemi Ekim-Kasım ayları arası) Adana İli Feke İlçesi'nde Çataloluk mevki, Çadırçukuru ve Fındık yaylalarında katran-sedir ağaçlarının (*Cedrus libani*) altlarından toplandı (Şekil 3.1). Mantarın teşhisi Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji bölümü öğretim üyelerinden Prof. Dr. Hasan Hüseyin Doğan ve Biyolog Vahide Coşkun tarafından yapılmıştır.



Şekil 3.1. Deneysel çalışmada kullanılacak olan *Tricholoma anatolicum*'un toplanması

### 3.2.Deney Materyali *Tricoloma Anatolicum*'un (Katran-Sedir Mantarının) Kurutulması

2018 yılının Ekim ayı sonunda toplanan mantarlar üzerindeki toprak ve çamur kalıntıları kabaca mantarlara zarar vermeyecek şekilde titizlikle temizlendi. 24-25°C sıcaklıkta hava akımının iyi olduğu oda ortamında kurutma işlemi yapıldı (Şekil 3.2).



**Şekil 3.2.** *Tricholoma anatolicum* kurutma işlemi

Kurumuş mantarlar kabaca tekrar temizlendikten sonra blender yardımı ile toz haline getirilerek ekstre elde etmek için Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'ne götürüldü (Şekil 3.3).



**Şekil 3.3.** *Tricholoma anatolicum* küçük parçalara ayrılıp toz haline getirilmiş hali

### 3.3. *Tricholoma anatolicum* (Katran-Sedir Mantarı) Ekstrelerinin Elde Edilişi

*Tricholoma anatolicum* ekstreleri 3 farklı yolla elde edilmektedir. Bunlar; etanol ekstresi (EE), polisakkaritçe zengin sıcak su ekstresi (PS) ve ultrasonik etki ile elde edilen polisakkaritçe zengin su ekstresidir (PSU). Toplam fenol, flavonoit ve protein bakımından ultrasonik etki ile elde edilen polisakkaritçe zengin su ekstresi (PSU), toplam şeker bakımından polisakkaritçe zengin sıcak su ekstresi (PS) ve ultrasonik etki ile elde edilen polisakkaritçe zengin su ekstresi (PSU) teknikleri ile elde edilen ekstraktın yüksek verim ihtiva ettiği bildirilmiştir (Kocakaya, 2017). Çalışmamızda kullanılan *Tricholoma anatolicum* ekstresi polisakkaritçe zengin sıcak su ekstresi (PS) tekniği ile elde edilmiştir.

### 3.4. Polisakkaritçe Zengin Sıcak Su Ekstresi (PS) Hazırlanışı

Oda sıcaklığında kurutulduktan sonra toz haline getirilen mantarlar 100°C'de çözücü olarak distile su yardımıyla 3 saat aralıklar ile 3 kez ekstre edildi. Her ekstrede süpernatant kısmı süzme işlemi gerçekleştirilip alındı. Alınan süpernatantlar farklı bir kaptaki bir araya getirilerek birleştirildi. Birleştirilen süpernatant kısım 4000 rpm'de 30 dk santrifüj edildi. Santrifüj sonrası pellet kısım uzaklaştırılarak oluşan süpernatant kısım ayrı bir kaba alındı. Oluşan süpernatant kısım vakumda rotapavorda bir miktar konsantre edildi (Ding ve ark., 2010; Kocakaya, 2017).

### 3.5. Sevag Yöntemiyle Deproteinizasyon İşlemi

Oluşan süpernatantın 100 ml'sine 20 ml kloroform ve 4 ml *n*-bütanol eklendi. Karışım ayırma hunisine alınarak 20 dk kadar dikkatlice muamele edildi. Denature olan proteinler su fazıyla ayırım yüzeyinde gözlemlendi. Kloroform ve *n*-bütanol fazı ayırma işlemi yapılarak su fazı için işlem tekrarlandı. Genelde 3 kez uygulanan işlem sonucunda su fazı ayrı bir kaba aktarıldı ve diğer işlemlere geçildi (Sevag ve ark., 1938; Kocakaya, 2017).

Sevag yöntemi kullanılarak yapılan deproteinizasyon işlemi sonunda oluşan su fazına hacimsel olarak beş katı absöüt etanol eklenip 4°C'de 12 saat bekletildi. 12 saat sonunda polisakkaritlerin beherin tabanında yoğun bir çökelti oluşturduğu görüldü. Beher tabanında oluşan yoğun bu çökelti 5000 rpm'de 10 dk santrifüj edilerek toplandı. Darası alınan saat camı üzerinde biriktirilmiş olan çökelti 40°C'de etüv içinde kurutulmaya bırakıldı. Sonunda oluşan ekstre alınarak saklandı. Bu yöntemle elde

edilmiş olan ekstre polisakkaritçe zengin sıcak su ekstresi (PS) olarak isimlendirilmektedir (Ding ve ark., 2010; Kocakaya, 2017).

### 3.6.Stok Hayvanların Oluşturulma Protokolü

Deneysel çalışma *in vitro* olarak gerçekleştirildi. Ehrlich assit tümör (EAT) hücrelerinin çoğaltılması için hayvanlar kullanıldı. Çalışmamızda yaklaşık 25-30 g ağırlığında 8-10 haftalık erkek Balb/C ırkı fareler kullanıldı.



**Şekil 3.4.** Stok hayvandan intraperitoneal yolla Ehrlich assit tümör hücresi çekilmesi

Çalışmada kullanılacak olan Ehrlich assit tümör hücreleri (EAT) Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı'nda  $-80^{\circ}\text{C}$  de saklanan rezerv kullanıldı. Kriyotüpler  $37^{\circ}\text{C}$  deki sıcak su banyosunda çözdürüldü. Önce tripan mavisi ile boyanan ve thoma lamına alınarak canlılıkları kontrol edilerek sayılan Ehrlich assit tümör hücreleri Balb/C ırkı farelere intraperitoneal olarak enjekte edildi (Şekil 3.4).

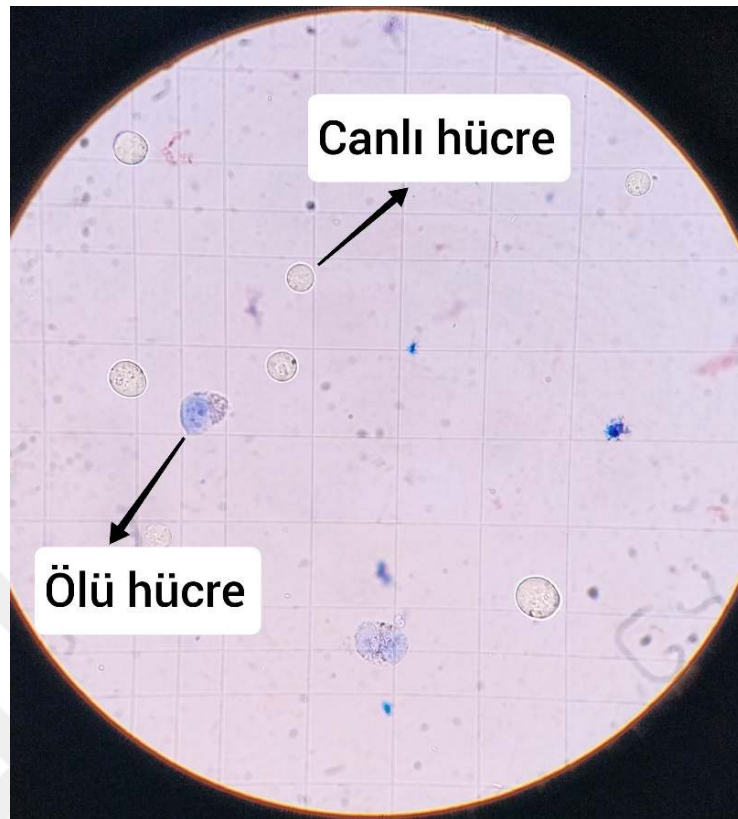
Ehrlich assit tümör hücreleri hayvanlara enjekte edildikten sonra 5 ile 7 gün sonra asit tümör oluşumu gözlemlendi. Hayvanın karın bölgesinde göz ile görülebilen bir şişlik ortaya çıkması asit tümör oluşumunun belirtisi olarak kabul edildi (Şekil 3.5).



**Şekil 3.5.** Stok fare oluşturulması (11 gün sonra farenin durumu)

### 3.7.Hücre Sayım Protokolü

Stok hayvanın karın boşluğundan çekilen 100  $\mu$ l EAT asit sıvısı üzerine 400  $\mu$ l Phosphate Buffer Saline (PBS) eklendi. Pipet vasıtası ile homojenize edilen sıvıdan 100  $\mu$ l çekilerek endorff tüpü içine koyuldu ve üzerine 100  $\mu$ l tripan blue eklendi. Elde edilen karışım homojenize edildi. Karışımdan 50  $\mu$ l alınarak önceden üzeri lamel ile kapatılan thoma lamına aktarıldı. Thoma lamına eklenen bu sıvı ışık mikroskobunda 40'lık objektifle bakılıp büyük karelerde olan hücreler tek tek sayıldı (Şekil 3.6). Ölü hücreler tripan blue sayesinde maviye boyanmış olacağı için parlak ve beyaz kanser hücreleri canlı kabul edilerek sayım işlemi yapıldı. Sayım bölgesinde bulunan dört orta büyüklükteki karelerdeki hücreler sayıldıktan sonra orta büyüklükteki kare başına düşen hücrelerin ortalaması belirlendi. Çıkan sonuç lamdaki büyük kare sayısı 16 olduğu için 16 ile çarpılıp thoma lamında bulunan toplam hücre sayısına ulaşıldı. 1 ml'deki hücre sayısını bulmak için, elde edilen sonuç  $10^4$  ile çarpılarak her kuyucuğa ekilecek hücre sayısı hesaplanmış oldu.



Şekil 3.6. Mikroskopta (40'lık objektif ile) canlı ve ölü Ehrlich assit tümör (EAT) hücrelerinin sayılması

### 3.8.Kullanılacak Olan Kültür Besiyeri Hazırlanması

Kültür besiyeri hazırlama işlemleri steril güvenlik kabininde gerçekleştirildi (Şekil 3.7). Kültür besiyeri hazırlama işleminde %85 DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) %14 FBS (Fetal Bovine Serum) ve %1 penicilin/streptomisin kullanıldı. Besiyeri hazırlamadan önce kullanılacak tüm maddeler steril enjektörler ile ilk olarak 0,45'lik filtrelerden sonra ise 0,22'lik filtrelerden geçirildi. Kültür besiyeri elde edildikten sonra işlem tekrarlandı. Hazırlanan kültür besiyeri +4°C' de azami bir hafta saklandı.



**Şekil 3.7.** Steril ortamda (steril enjektör ve filtre ile) DMEM'in (Dulbecco's Modified Eagle Medium) 0,22'lik filtreden geçirilme işlemi

### 3.9. İn Vitro Yapılan Testler

Testlerin uygulanmasında Muse Cell Analyzer (Milipore, ABD) cihazı ve cihaza uyumlu kitler tercih edildi (Şekil 3.8). Testler 24, 48, 72 saatik zaman dilimindeki periyotları takiben planlandı. In vitro protokol için 24 kuyucuklu kültür kapları kullanıldı. 1.grup kontrol grubu olup standart kültür besiyeri dışında bir şey eklenmedi. 2. grup 25 µg/ml mantar grubu, 3. grup 50 µg/ml mantar grubu, 4. grup 100 µg/ml mantar grubu 5. grup 200 µg/ml mantar grubu olarak belirlendi. Pozitif kontrol grubu olarak 5-FU kullanıldı.

### 3.10. Annexin V ve Ölü Hücre Testi

Testin yapılış amacı erken apoptotik ve geç apoptotik fazlarda bulunan hücrelerin sayısını belirlemektir. Test aynı zamanda toplam apoptotik hücre ölü hücre konsantrasyonunun belirlenmesinde de kullanılmaktadır.

Kuyucuklara ekilmiş olan hücreler ve besiyerleri steril pipet ucu yardımıyla karıştırıldı. Bu işlemin ardından kültür kapları 37°C’de %95 nem ve %5 karbondioksit (CO<sub>2</sub>) oranına sahip inkübatörün içine yerleştirildi. Kuyuculara hücrelerin yerleştirilme işlemi yapıldıktan sonra hücrelerin konulması için 1,5 ml’lik ependorf tüpleri kuyucuk sayısı ve grubuna göre karışıklık olmaması için ependorfların üzerine etiketler yapıştırıldı. Süresi geldikten (24, 48, 72 saat) sonra inkubatörden çıkarılan kültür kaplarındaki kuyucuklar pipet ile çekilip önceden etiketlenmiş olan ependorflara boşaltıldı. Hücrelerin dibe çökme ihtimalleri göz önünde bulundurularak pipet yardımı ile pipetaj yapıldı ve kültür kapları 45 derece eğim ile tutuldu. Ependorf tüplerine alınan hücreler 2470 rpm’de 5 dakika santrifüj edildi. Santrifüjden sonra ependorfların üzerinde biriken süpernatant kısım dikkatli bir şekilde mikropipet yardımı ile alındı. Süpernatant kısmı atılan tüplere 1ml PBS (Phosphate Buffer Saline) ilave edildi. Tüpler vorteks yardımı ile karıştırıldı. Vortekslenmiş olan tüpler tekrar 2470 rpm’de santrifüj edildi. Ependorf tüplerinin üzerinde biriken süpernatant kısım mikropipet yardımı ile dikkatli bir şekilde uzaklaştırıldı. Annexin V kit sıvısı dolaptan çıkarılıp oda sıcaklığına bırakıldı. Ependorf tüplerine 100 µl %1’lik PBS (Phosphate Buffer Saline) ve oda sıcaklığına gelmiş olan Annexin V kit sıvısından 100 µl ilave edildi. Ependorf tüplerindeki son karışım tekrardan vorteks yardımı ile karıştırıldı. 24°C’de karanlık ortamda 20 dk inkübe edildi.

Kullanılacak olan cihaz uygun temizleme solüsyonu ile temizlendi ve sonrasında okuma işlemine başlandı. İlk olarak kontrol grubu ile başlayan okuma işleminde hücrelerin yoğunlukla bulunduğu kısımlardan sonuçlar alınması için gerekli olan ayarlamalar yapıldı. Gruplar arasında geçiş yapılırken cihaza hızlı yıkama işlemi yapıldı. Cihaza kaydedilmiş olan sonuçlar taşınabilir bellek ile alındı (Şekil 3.8). Aynı işlemler 48 ve 72 saat için tekrarlandı.



Şekil 3.8. Muse Cell Analyzer

### 3.11.Hücre Döngüsü Testi (Cell Cycle Test)

Testin uygulanma amacı hücre döngüsünün  $G_0/G_1$ , S ve  $G_2/M$  evrelerindeki hücrelerin yüzdesinin hızlı ve niceliksel ölçümlerinin yapılmasıdır. Hücre döngüsünün düzenlenmesi, kontrol edilerek devam etmesi hücrenin canlılığı için oldukça önemlidir. Hücre döngüsünün bir diğer önemi ise genetik oluşabilecek hasarın onarılması, kontrol dışı hücre bölünmesi ve çoğalmasının durdurulmasıdır. Hücre siklusu sırasında oluşabilecek bozukluklar, tümör hücrelerinin spesifik bir göstergesidir. Hücre siklusunun analiz edilmesi, antitümöral maddelerin olası etkilerini anlamak için veya hücre bölünmesinde fazların ve metabolizmanın incelenmesi için oldukça önemlidir (Tutkun, 2019).

Cell cycle protokolü için kuyucuklara ekilmiş olan hücreler  $37^{\circ}\text{C}$ 'de %95 nem ve %5 karbondioksit ( $\text{CO}_2$ ) oranına sahip inkübatörde tutuldu. Daha önceki testteki gibi endorff tüplerinin üzerleri kuyucuk sayısı ve grubuna göre etiketlendi. 24, 48 ve 72 saat sonunda inkübatörden dışarı alınan kültür kapları steril pipetler yardımıyla etiketlerine uygun endorff tüplerine aktarıldı. Hazırlanmış olan endorff tüpleri  $300\text{ g'}$  de 5 dakika santrifüj edildi. Endorff tüplerinin üzerinde biriken süpernatant kısmı mikropipet kullanılarak atıldı. Süpernatant kısmı uzaklaştırılan endorff tüplerine 1 ml PBS (Phosphate Buffer Saline) eklendi. Eklenen tüpler düşük hızlarda vorteks yardımı ile karıştırıldı. Vortekslenen endorff tüpleri tekrar  $300\text{ g'}$ de 5 dakika santrifüj edildi.

Aynı işlemler tekrarlanarak ependorf tüplerinin üzerinde kalan süpernatant kısım uzaklaştırıldı. Sonrasında her bir ependorf tüpüne 50 µl PBS (Phosphate Buffer Saline) ilave edildi. PBS (Phosphate Buffer Saline) ilavesinden sonra vortekslenen ependorf tüpüne -20°C’de saklanmış olan %70’lik 1 ml etanol eklendi. Sızıntı ve dökülme olmayacak şekilde kapakları kapatılan ependorf tüpleri -20°C’de bir gece bekletildi. Ertesi gün -20°C’deki ependorf tüpleri çıkarılıp vortekslendi. Her bir ependorf tüpünden 200 µl alınarak aynı numara ve grup adıyla etiketlenen temiz diğer ependorfa transfer edildi. Yeni ependorf tüpü ile 300 g’de 5 dakika santrifüj edildi. Santrifüj edilen ependorf tüpünün üzerinde kalan süpernatant kısım mikropipet kullanılarak atıldı. Süpernatant kısım atıldıktan sonra ependorf tüpünün içindeki pellet kısım üzerine 250 µl Muse hücre döngü kitinden ilave edilerek tüpler vortekslendi. Daha sonra tüpler 30 dakika süre ile oda sıcaklığında karanlık bir yerde bekletildi. Bekleme süresinin sonlamasıyla uygun solüsyonlar yardımı ile Muse Cell Analyzer cihazı temizlendi. Temizlenen cihazda örnekler okunmaya başlandı. Okuma işlemine yine kontrol grubu ile başlandı ve önceki testte olduğu gibi hücrelerin yoğunlukla bulunduğu kısımlardan sonuçlar alınması için gerekli ayarlamalar yapıldı. Gruplar arasında geçiş yapılırken cihaza hızlı yıkama işlemi yapıldı. Cihaza kaydedilmiş olan sonuçlar taşınabilir bellek ile alındı (Şekil 3.8). Aynı işlemler 48 ve 72 saat için tekrarlandı.

### **3.12.Mitotik Aktivite Testi (Mitopotential Test)**

Testin uygulanma amacı toplamdaki canlı hücre, depolarize olmuş ve ölü hücrelerin konsantrasyonunu hesaplamaktır. Test iki önemli parametrenin hesaplanmasına yardımcı oldu. Bunlar hücresel stresin ve apoptozun erken belirtisinin düşünüldüğü evre ile plazma membran geçirgenliği veya hücre ölümünün gerçekleştiği parametrelerin ölçümüdür.

Öncesinden taze hazırlanmış olan besiyeri ile hücreler steril güvenlik kabini içinde kuyucuklara eklendi. Steril bir pipet yardımı ile besiyeri ve hücrelerin karışması sağlandı. 37°C sıcaklık ve %5 neme sahip inkübatörde kültür kapları 24, 48 ve 72 saat bırakıldı. Bu süre zarfında her bir kuyucuk için grup adı ve numaralar verilerek ependorf tüpler hazırlandı. 24, 48 ve 72 saat sonunda kültür kapları inkübatörden çıkarıldı. Daha önceden grup adı ve numarasına göre hazırlanmış olan ependorf tüplerine steril pipetler yardımı ile alındı. Ependorflar sıkıca kapatıldıktan sonra 1200 rpm’de 5 dk santrifüj edildi. Süpernatant uzaklaştırıldı. Ependorf tüplere 1 ml PBS

(Phosphate Buffer Saline) eklendi ve vortekslendi. Vortekslenmiş olan ependorf tüpleri 1200 rpm'de 5 dk santrifüj edildi. Santrifüj edilen ependorf tüplerindeki süpernatant kısım uzaklaştırıldı. Ependorf tüplerinin her birine 1 ml mitopotential assay tampon sıvısı ilave edildi. Sıvı eklenen ependorf tüpler vortekslendi. Vortekslenen tüplerden 100 µl alınarak daha önceden grup adı ve numaralarına göre etiketlenmiş olan temiz ependorf tüplerine aktarıldı. Ependorf tüplerindeki sıvılara 95 µl önceden hazırlanmış olan mitokondri potansiyeli solüsyonu ilave edildi. Ependorf tüpleri tekrar vortekslendi. 37°C sıcaklıktaki inkübatör içine 20 dk bırakıldı. İnkübatörden 20 dk sonra dışarı çıkarılan ependorf tüplerine +4°C'de bekletilmiş olan 5 µl 7-AAD belirteci ilave edildi. Eklenen belirteçten sonra ependorf tüpleri vortekslendi. Vortekslenmiş olan ependorf tüpleri oda sıcaklığında karanlık bir ortamda beklemeye bırakıldı.

Muse Cell Analyzer cihazı uygun solüsyon yardımı ile temizlendi. Temizlenen cihazda örnekler okunmaya başlandı. Okuma işlemine yine kontrol grubu ile başlandı ve önceki testte olduğu gibi hücrelerin yoğunlukla bulunduğu kısımlardan sonuçlar alınması için gerekli ayarlamalar yapıldı. Gruplar arasında geçiş yapılırken cihaza hızlı yıkama işlemi yapıldı. Cihaza kaydedilmiş olan sonuçlar taşınabilir bellek ile alındı (Şekil 3.8).

### **3.13.İstatistiksel Veri Analizi**

İn vitro olarak gerçekleştirilen çalışmadan elde edilen verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk, histogram ve q-q grafikleri yardımıyla değerlendirildi. Varyansların homojenlikleri Levene testi aracılığıyla test edildi. Grup sayısı ikiden fazla olmasından dolayı gruplar arasındaki nicel değişkenliklerdeki kıyaslamalarda tek yönlü varyans analizi ve Kruskal Wallis testleri kullanıldı. Turcosa Cloud (Turcosa Ltd. Co.) istatistik yazılımı ile veriler analiz edildi. İstatistiksel olarak anlamlılık değeri olarak  $p < 0.05$  (karşılaştırma sonucunda anlamlı farklılık var) olarak kabul edildi.

## 4.BULGULAR

### 4.1.In Vitro Bulgular

*In vitro* olarak Ehrlich Assit Tümör (EAT) hücreleri üzerinde yapılan bu çalışmada 25 µg/ml, 50 µg/ml, 100 µg/ml, 200 µg/ml katran-sedir mantarı grupları, kontrol ve pozitif kontrol (5-FU) grubu olmak üzere altı deney grubu planlandı. Katran-sedir mantarı (*Tricholoma anatolicum*) ekstraktlarının *in vitro* olarak Ehrlich Assit Tümör hücreleri üzerine olan etkilerini gözlemlemek amacıyla 24, 48, 72 saat sürelerle kültür ortamında inkübe edilmiş olan hücrelerde apoptoz (Annexin V & dead cell test), hücre döngüsü (Cell cycle test) ve mitotik aktivite (Mitopotential test) test sonuçlarına ait bulgular aşağıda verilmiştir.

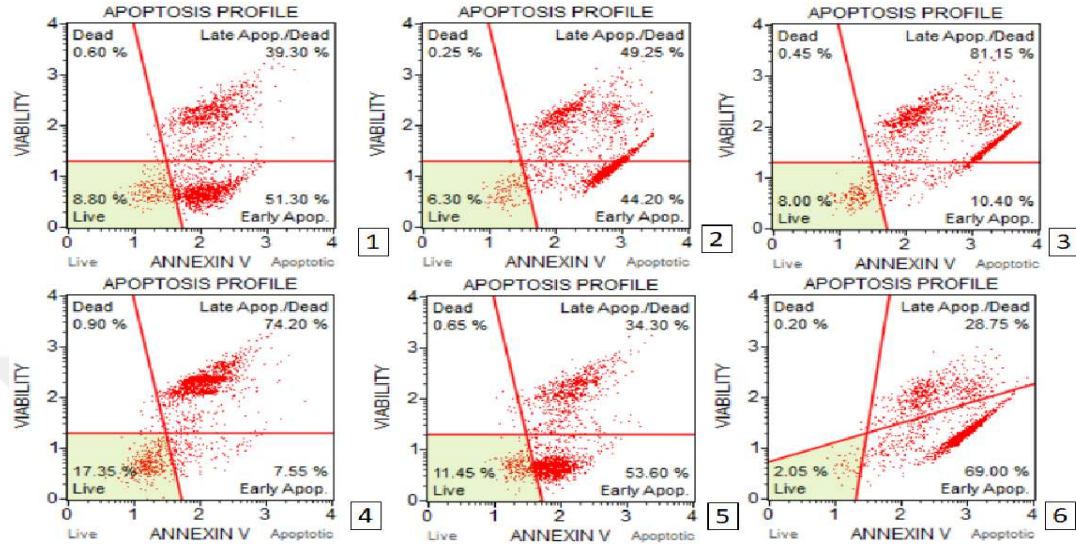
### 4.2.Annexin V Testi Sonuçları

Annexin V testi ile hücre örneklerinde erken apoptoz, geç apoptoz ve toplam apoptoz oranları yüzdelik olarak belirlendi. Elde edilen sonuçlar 24, 48 ve 72 saatlik gruplar arasında istatistiksel olarak ve karşılaştırmalı olarak not edildi.

Tablolarda elde edilen veriler ortalama  $\pm$  standart sapma olarak belirtilmiştir. Aynı satırda yer alan küçük harflere göre gruplar arası benzerlikler ve farklılıklar belirtilmiş olup, aynı harflerle belirtilen gruplar benzerliği, farklı harflerle belirtilen gruplar ise farklılığı göstermektedir. Aynı sütunda yer alan harflere göre gruplar arası benzerlikler satırda yapılan uygulamaya benzer olarak aynı sütunda yer alan büyük harflere göre gruplar arası benzerlikler ve farklılıklar belirtilmiş olup, aynı harflerle belirtilen gruplar benzerliği, farklı harflerle belirtilen gruplar ise farklılığı göstermektedir. Satır ve sütun sonlarında bulunan p= değerleri gruplar arasındaki anlamlılığı p\* = değerleri 24, 48 ve 72 saat arasındaki anlamlılığı göstermektedir (Şekil 4.1, 4.4 ve 4.6).

Muse Cell Analyzer cihazından alınan ham veri grafikleri sonuçları şekillerde verildi. Cihazdan elde edilen ham veri grafiklerine göre yataydaki ve dikeydeki çizgilerin birbirini kesmesi sonucu dört alan oluşmaktadır. Grafikte yer alan dört alandan sol üst

kısımdaki alanda ölü hücre oranları, sağ üst kısımdaki alanda geç apoptoza giren hücrelerin oranları, sol alt kısımdaki alanda canlı hücre oranları, sağ alt kısımdaki alanda ise erken apoptoza giren hücrelerin oranları gösterilmiştir (Şekil 4.1, 4.4 ve 4.6).



**Şekil 4.1.** Katran-sedir mantarı ihtiva eden grupların 24 saat kültüre sonundaki Muse Analzyer cihazı Annexin V & Dead Cell testi ham veri grafikleri. 1. 25µg/ml katran mantarı grubu 2. 50µg/ml katran mantarı grubu 3. 100µg/ml katran mantarı grubu 4. 200 µg/ml katran mantarı grubu 5. Kontrol grubu 6. 5-FU grubu

### 4.3. Erken Apoptotik Hücre

Farklı dozlarda katran mantarı ihtiva eden gruplarda 24 saat sonunda erken apoptoz değerleri incelendiğinde 200 µg/ml katran mantarı grubunda kontrol grubuna göre erken apoptoz oranında anlamlı bir düşüşün olduğu, diğer mantar grupları ve 5-FU grubunda kontrol grubuna göre anlamlı bir fark olmadığı görüldü ( $p < 0,05$ ) 48 saatlik sonuçlar incelendiğinde 100 µg/ml ve 200 µg/ml katran mantarı uygulanan gruplarda erken apoptoz oranlarının kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük olduğu not edildi ( $p < 0,001$ ). 72 saat sonunda erken apoptotik değerlerinde istatistiksel olarak tüm gruplar arasında farklılık ( $p > 0,05$ ) kaydedilmedi (Tablo 4.1 ve Şekil 4.2).

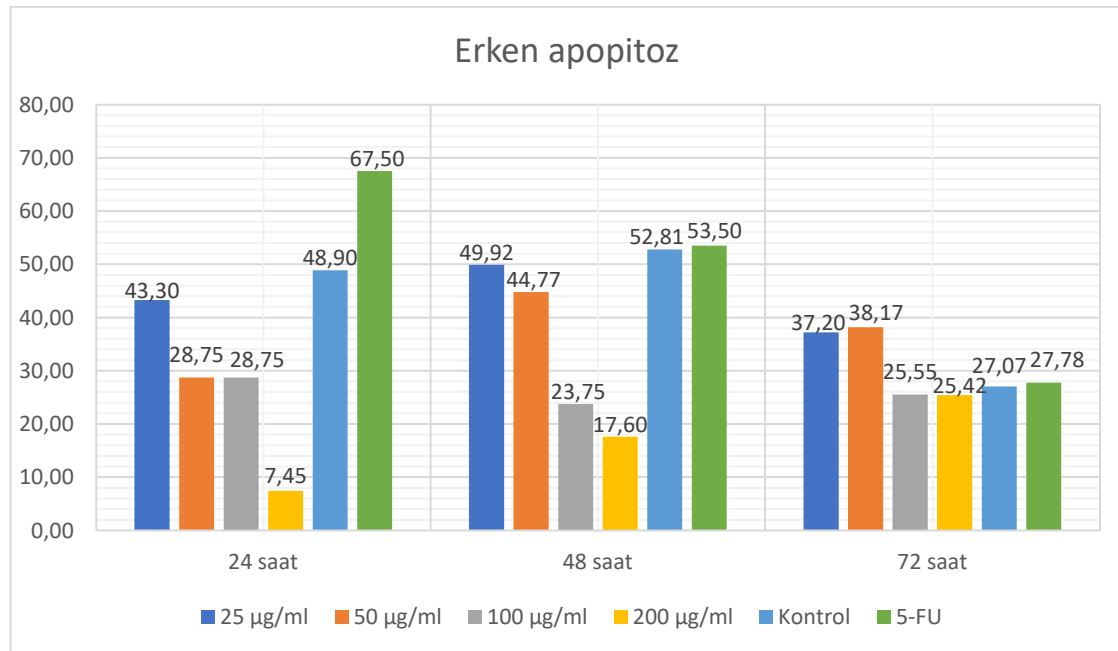
Mantar gruplarının erken apoptoz oranlarının zamana göre değişimleri arasında istatistik olarak anlamlı fark görülmedi ( $p^* > 0,05$ ).

24 saat sonundaki en az erken apoptotik hücre oranı 200 µg/ml grubunda gözlenirken, en fazla erken apoptotik hücre oranı 5-FU grubunda görülmüştür. 48 saat sonunda en az erken apoptotik hücre oranı 200 µg/ml grubunda gözlenirken, en fazla 5-FU grubunda görülmüştür. 72 saat sonunda en az erken apoptotik hücre oranı değerleri

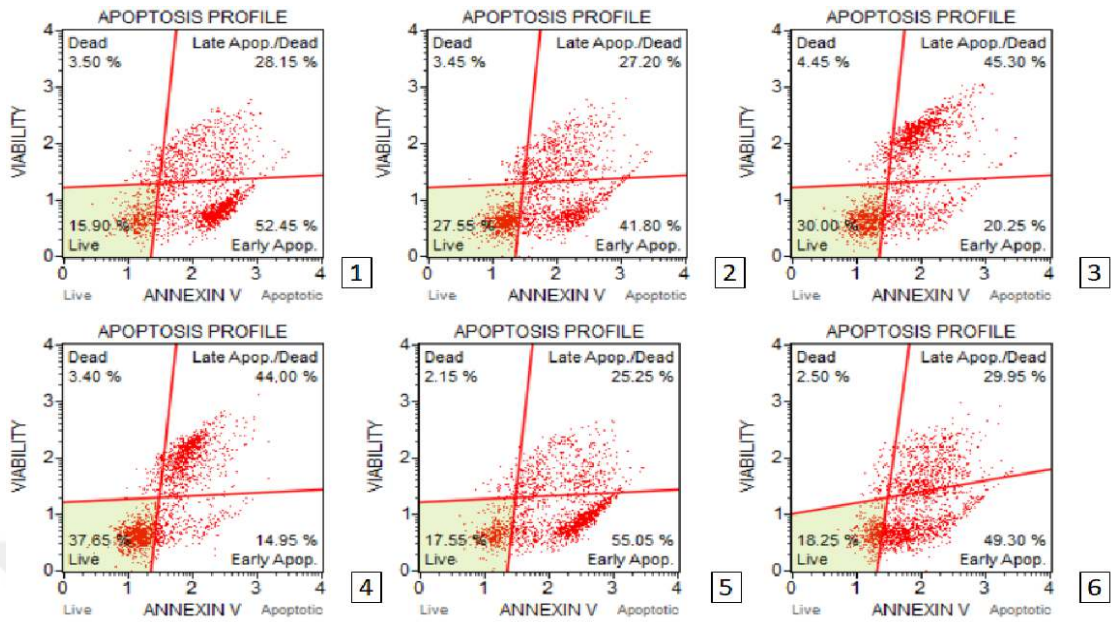
birbirine yakın olan sırasıyla 200 µg/ml ve 100 µg/ml gruplarda gözlenirken, en fazla erken apoptotik hücre oranı ise değerleri birbirine yakın olan sırasıyla 50 µg/ml ve 25 µg/ml gruplarında görülmüştür.

**Tablo 4.1.** 24, 48 ve 72 saat sonundaki grupların erken apoptoz değerleri

Erken Apoptoz %	Gruplar						p
	25 µg/ml	50 µg/ml	100 µg/ml	200 µg/ml	Kontrol	5-FU	
24 saat	43.30 ± 11.31 <sup>aA</sup>	28.75 ± 21.84 <sup>aA</sup>	28.75 ± 25.95 <sup>aA</sup>	7.45 ± 0.14 <sup>bA</sup>	48.90 ± 6.41 <sup>aA</sup>	67.50 ± 1.37 <sup>aA</sup>	0,007
48 saat	49.92 ± 3.57 <sup>aA</sup>	44.77 ± 4.20 <sup>aA</sup>	23.75 ± 4.94 <sup>bA</sup>	17.60 ± 3.74 <sup>bA</sup>	52.81 ± 2.16 <sup>aA</sup>	53.50 ± 4.47 <sup>aB</sup>	0,000
72 saat	37.20 ± 15.83 <sup>aA</sup>	38.17 ± 26.41 <sup>aA</sup>	25.55 ± 17.96 <sup>aA</sup>	25.42 ± 13.11 <sup>aA</sup>	27.07 ± 3.38 <sup>aB</sup>	27.78 ± 1.02 <sup>aC</sup>	0,807
p*	0,570	0,727	0,961	0,202	1,000	1,000	



**Şekil 4.2.** Annexin V & Dead Cell testi 24, 48 ve 72 saat sonu erken apoptotik hücre yüzde değerleri



**Şekil 4.3.** Katran-sedir mantarı ihtiva eden grupların 48 saat kültüre sonundaki Muse Analzyer cihazı Annexin V & Dead Cell testi ham veri grafikleri. 1. 25µg/ml katran mantarı grubu 2. 50µg/ml katran mantarı grubu 3. 100µg/ml katran mantarı grubu 4. 200µg/ml katran mantarı grubu 5. Kontrol grubu 6. 5-FU grubu

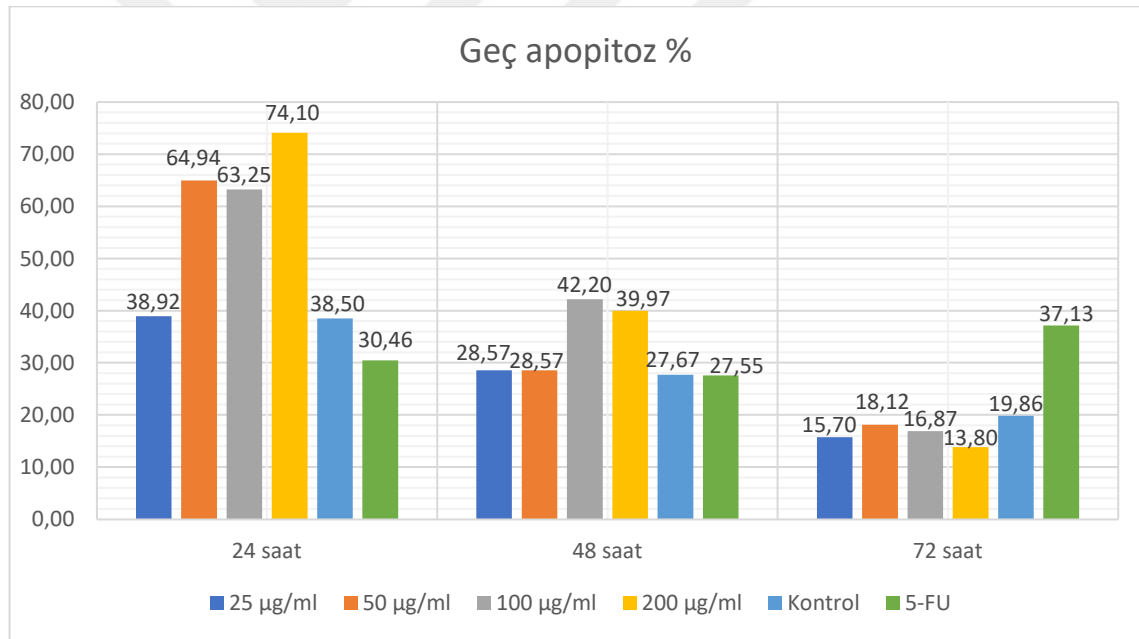
#### 4.4. Geç Apoptotik Hücre

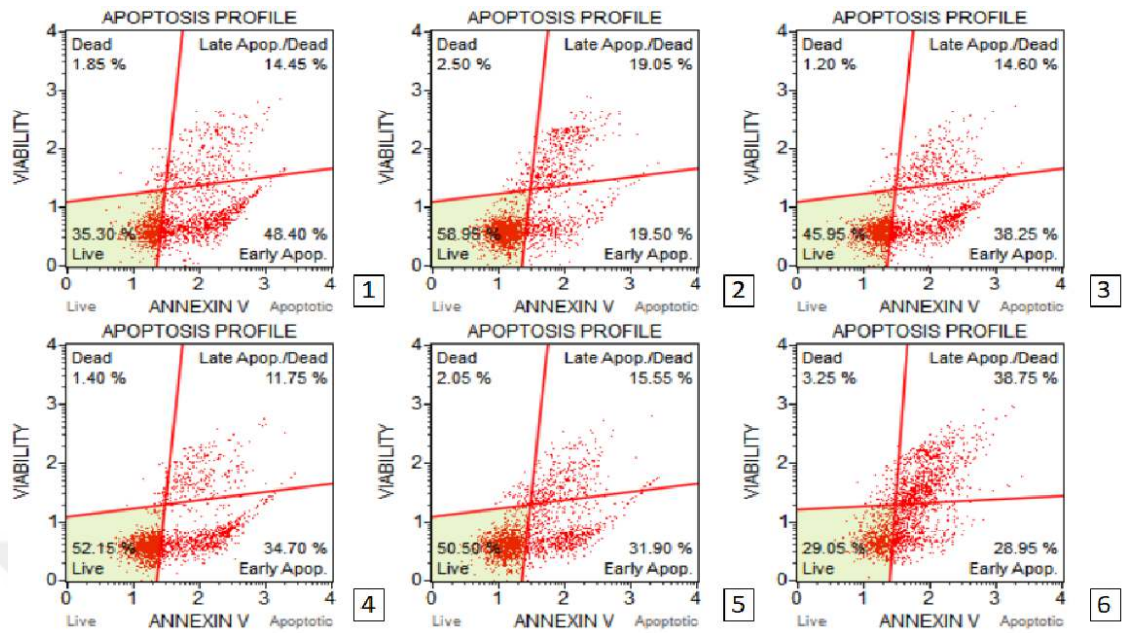
Farklı dozlarda katran mantarı ihtiva edilmiş olan gruplarda 24 saat sonunda 200 µg katran mantarı grubunun geç apoptoz değerinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu, diğer gruplar arasında fark olmadığı kaydedildi ( $p < 0,05$ ). 48 saatlik sonuçlar değerlendirildiğinde 100 µg/ml ve 200 µg/ml katran mantarı uygulanan grupların geç apoptoz değerlerinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu ( $p < 0,05$ ), diğer gruplar arasında anlamlı bir fark olmadığı not edildi. 72 saatlik süreç sonunda geç apoptoz değerlerinde mantar grupları ile kontrol grubu arasında anlamlı bir farklılık görülmedi ( $p < 0,05$ ) (Tablo 4.2 ve Şekil 4.4).

Mantar gruplarının geç apoptoz oranlarının zamana göre değişimi incelendiğinde 50 µg/ml ve 100 µg/ml gruplarında zamana göre anlamlı bir değişim görülmezken 25 µg/ml ve 200 µg/ml katran mantarı gruplarında zamana göre anlamlı bir azalma kaydedildi ( $p > 0,05$ ).

**Tablo 4.2.** 24, 48 ve 72 saat sonundaki grupların geç apoptoz değerleri

Geç Apoptoz %	Gruplar						p
	25 µg/ml	50 µg/ml	100 µg/ml	200 µg/ml	Kontrol	5-FU	
24 saat	38.92 ± 0.53 <sup>aA</sup>	64.94 ± 22.19 <sup>aA</sup>	63.25 ± 25.31 <sup>aA</sup>	74.10 ± 0.14 <sup>bA</sup>	38.50 ± 3.20 <sup>aA</sup>	30.46 ± 1.50 <sup>aA</sup>	0,011
48 saat	28.57 ± 0.60 <sup>aB</sup>	28.57 ± 1.94 <sup>aA</sup>	42.20 ± 4.38 <sup>bA</sup>	39.97 ± 5.69 <sup>bB</sup>	27.67 ± 2.33 <sup>aB</sup>	27.55 ± 2.32 <sup>aA</sup>	0,001
72 saat	15.70 ± 1.76 <sup>aC</sup>	18.12 ± 1.30 <sup>aA</sup>	16.87 ± 3.21 <sup>aA</sup>	13.80 ± 2.89 <sup>aC</sup>	19.86 ± 4.33 <sup>aC</sup>	37.13 ± 1.53 <sup>bB</sup>	0,000
p*	1,000	0,710	0,104	1,000	1,000	0,205	

**Şekil 4.4.** Annexin V & Dead Cell testi 24, 48 ve 72 saat sonu geç apoptoz oranları



**Şekil 4.5.** Katran-sedir mantarı ihtiva eden grupların 72 saat kültüre sonundaki Muse Analzyer cihazı Annexin V & Dead Cell testi ham veri grafikleri. **1.** 25µg/ml katran mantarı grubu **2.** 50µg/ml katran mantarı grubu **3.** 100µg/ml katran mantarı grubu **4.** 200µg/ml katran mantarı grubu **5.** Kontrol grubu **6.** 5-FU grubu

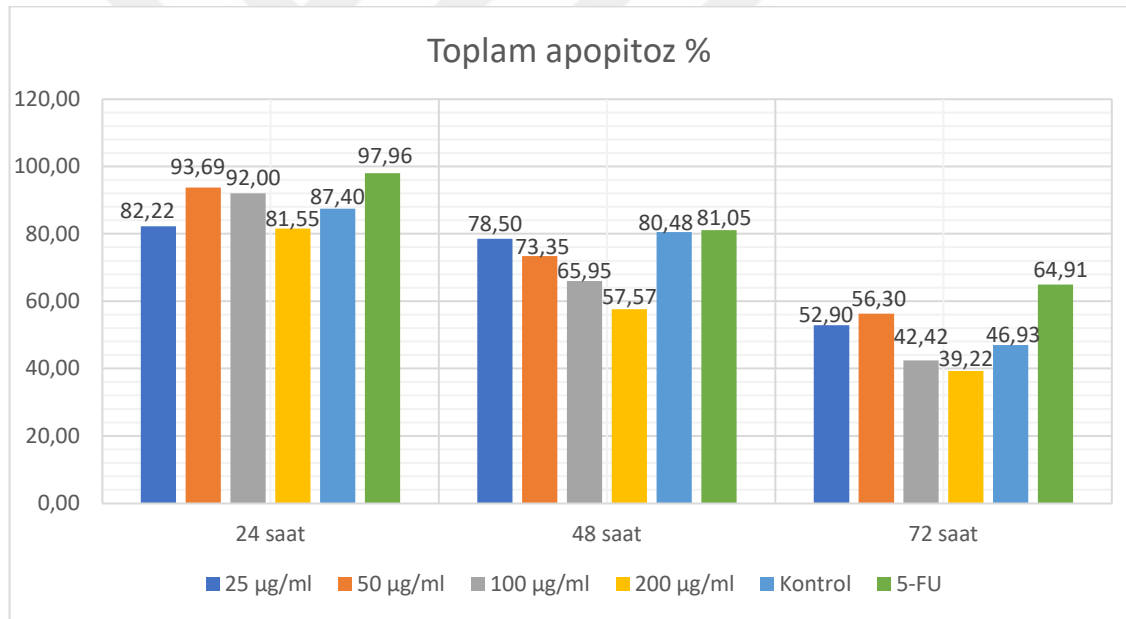
#### 4.5.Toplam Apopitotik Hücre

Farklı dozlarda katran mantarı içeren grupların toplam apopitoz oranları arasında 24 ve 72 saatlik süreçler sonunda istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmedi ( $p < 0,05$ ).

48 saat sonunda 100 µg/ml ve 200 µg/ml katran mantarı gruplarındaki toplam apopitoz oranının kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük olduğu, diğer gruplarla kontrol grubu arasında fark olmadığı not edildi ( $p > 0,05$ ) (Tablo 4.3 ve Şekil 4.6) .

**Tablo 4.3.** 24, 48 ve 72 saat sonundaki grupların toplam apopitotik değerleri

Toplam Apopitoz %	Gruplar						p
	25 µg/ml	50 µg/ml	100 µg/ml	200 µg/ml	Kontrol	5-FU	
24 saat	82.22 ± 11.84 <sup>aA</sup>	93.69 ± 0.34 <sup>aA</sup>	92.00 ± 0.63 <sup>aA</sup>	81.55 ± 0.28 <sup>aA</sup>	87.40 ± 5.66 <sup>aA</sup>	97.96 ± 0.29 <sup>aA</sup>	0,037
48 saat	78.50 ± 2.96 <sup>aA</sup>	73.35 ± 6.15 <sup>aA</sup>	65.95 ± 0.56 <sup>bAB</sup>	57.57 ± 1.94 <sup>bAB</sup>	80.48 ± 0.61 <sup>aA</sup>	81.05 ± 2.19 <sup>aB</sup>	0,000
72 saat	52.90 ± 14.07 <sup>aA</sup>	56.30 ± 25.10 <sup>aA</sup>	42.42 ± 14.74 <sup>aB</sup>	39.22 ± 10.21 <sup>aB</sup>	46.93 ± 3.69 <sup>aB</sup>	64.91 ± 2.44 <sup>aC</sup>	0,231
p*	0,140	0,167	0,136	0,108	1,000	1,000	

**Şekil 4.6.** Annexin V & Dead Cell testi 24, 48 ve 72 saat sonu toplam apopitotik hücre yüzde değerleri

#### 4.6.Cell Cycle Testi Sonuçları

Yapılan bu test ile hücre döngüsünde G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>, S, G<sub>2</sub>/M evrelerinde bulunan hücrelerin yüzdesinin ölçümü yapılmıştır. Farklı dozlarda katran mantarı ihtiva edilmiş olan grupların hücre döngüsü testi yardımı ile 24, 48 ve 72 saat sonundaki evrelerdeki hücre oranları belirlenmiştir.

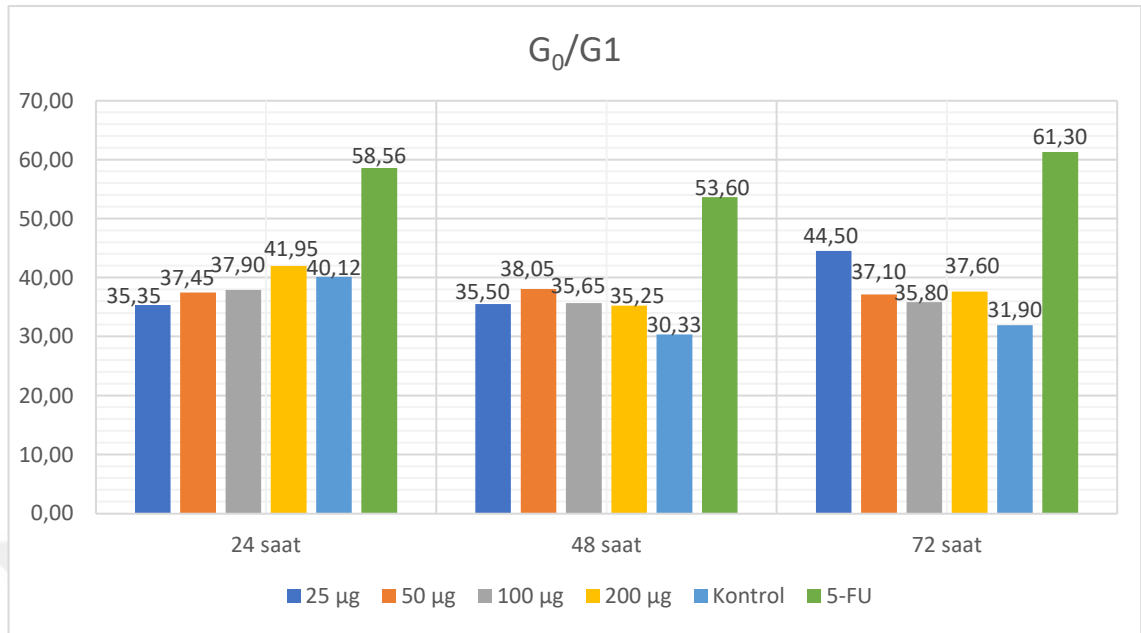
#### 4.7.G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> evresi

G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> evresine ilişkin sonuçlar değerlendirildiğinde 24, 48 ve 72 saatlik periyotlar sonunda katran mantarı gruplarının hiçbirinde kontrol grubuna göre anlamlı bir değişikliğin olmadığı ( $p < 0,05$ ), 5-FU gruplarında ise her üç zaman periyodunda da kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir yükseliş olduğu not edildi (Tablo 4.4 ve Şekil 4.7).

Katran mantarı gruplarının hiçbirinde ve 5-FU grubunda G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> evresinde bulunan hücrelerin oranında zamana göre bir değişim görülmezken ( $p > 0,05$ ) kontrol grubunda G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> evresinde bulunan hücrelerin oranında istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş ( $p > 0,05$ ) görüldü (Tablo 4.4 ve Şekil 4.7).

**Tablo 4.4.** 24, 48 ve 72 saat sonunda grupların G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> evresindeki hücre oranı değerleri

G <sub>0</sub> /G <sub>1</sub> %	Gruplar						p
	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	Kontrol	5-FU	
24 saat	35.35 ± 0.77 <sup>aA</sup>	37.45 ± 0.91 <sup>aA</sup>	37.90 ± 0.00 <sup>aA</sup>	41.95 ± 4.59 <sup>aA</sup>	40.12 ± 5.33 <sup>aA</sup>	58.56 ± 4.53 <sup>bA</sup>	0,001
48 saat	35.50 ± 1.55 <sup>aA</sup>	38.05 ± 3.74 <sup>aA</sup>	35.65 ± 4.17 <sup>aA</sup>	35.25 ± 2.61 <sup>aA</sup>	30.33 ± 1.92 <sup>aB</sup>	53.60 ± 4.85 <sup>bA</sup>	0,001
72 saat	44.50 ± 7.77 <sup>aA</sup>	37.10 ± 0.98 <sup>aA</sup>	35.80 ± 6.22 <sup>aA</sup>	37.60 ± 1.97 <sup>aA</sup>	31.90 ± 1.07 <sup>aB</sup>	61.30 ± 4.38 <sup>bA</sup>	0,001
p*	0,262	0,913	0,868	0,247	0,821	0,238	



**Şekil 4.7.** Cell Cycle testi 24, 48 ve 72 saat G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> evresi hücre yüzde değerleri

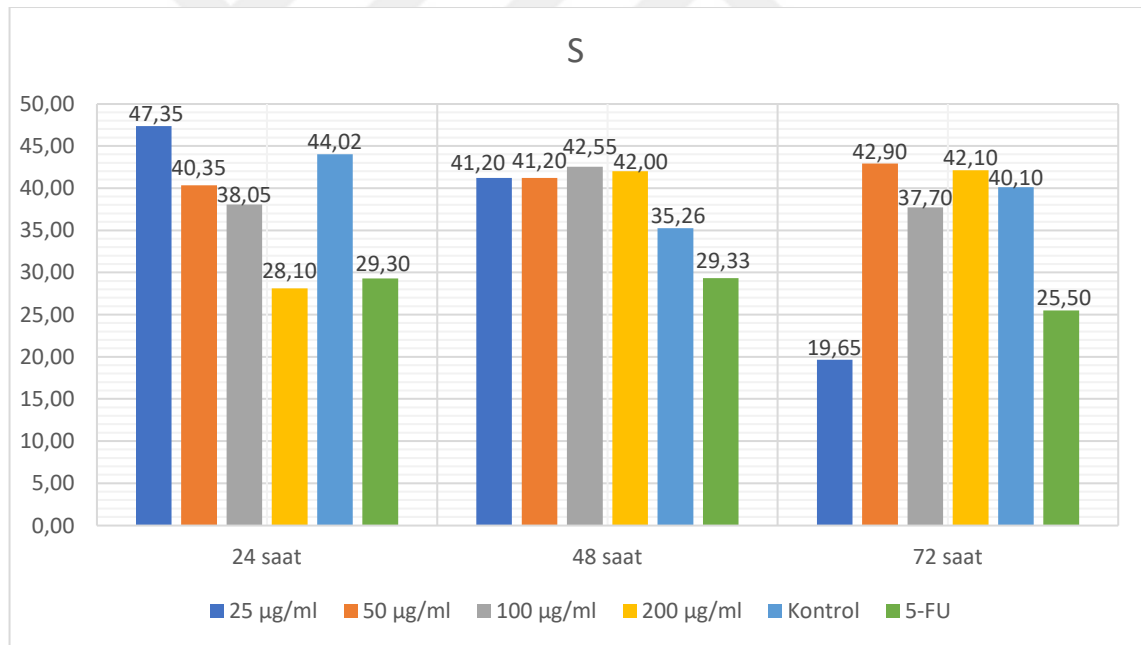
#### 4.8.S evresi

24 saatlik sonuçlar incelendiğinde S evresinde bulunan hücrelerin oranının sonunda 100 µg/ml, 200 µg/ml katran mantarı ve 5-FU gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı olarak farklılığın yüksek olduğu görüldü ( $p < 0,05$ ) (Tablo 4.5 ve Şekil 4.8). 48 ve 72 saatlik periyotlar sonrasında gruplar arasında istatistik olarak anlamlı bir fark kaydedilmedi ( $p < 0,05$ ).

Grupların zamana karşı değişimleri arasında da anlamlı bir fark görülmedi ( $p > 0,05$ ) (Tablo 4.5 ve Şekil 4.8).

**Tablo 4.5.** 24, 48 ve 72 saat sonundaki grupların S evresindeki hücre oranı değerleri

S %	Gruplar						p
	25 µg/ml	50 µg/ml	100 µg/ml	200 µg/ml	Kontrol	5-FU	
24 saat	47.35 ± 0.91 <sup>aA</sup>	40.35 ± 1.90 <sup>aA</sup>	38.05 ± 1.62 <sup>abA</sup>	28.10 ± 3.53 <sup>bA</sup>	44.02 ± 4.43 <sup>aA</sup>	29.30 ± 2.76 <sup>bA</sup>	0,000
48 saat	41.20 ± 1.55 <sup>aA</sup>	41.20 ± 1.31 <sup>aA</sup>	42.55 ± 0.21 <sup>aA</sup>	42.00 ± 4.38 <sup>aA</sup>	35.26 ± 15.06 <sup>aA</sup>	29.33 ± 1.59 <sup>aA</sup>	0,390
72 saat	19.65 ± 27.78 <sup>aA</sup>	42.90 ± 2.96 <sup>aA</sup>	37.70 ± 4.38 <sup>aA</sup>	42.10 ± 2.96 <sup>aA</sup>	40.10 ± 1.64 <sup>aA</sup>	25.50 ± 1.41 <sup>aA</sup>	0,193
p*	0,332	0,534	0,311	0,063	0,360	0,194	

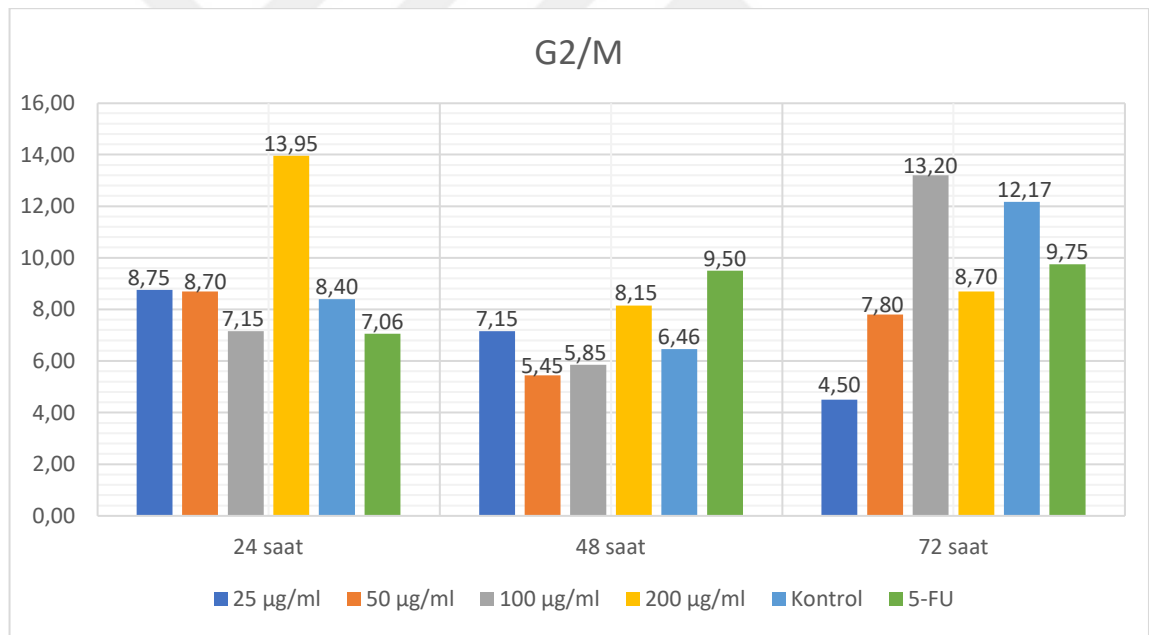
**Şekil 4.8.** Cell Cycle testi 24, 48 ve 72 saat S evresi hücre yüzde değerleri

#### 4.9.G2/M evresi

G2/M evresinde bulunan hücre yüzdeleri açısından her üç zaman periyodunda da gruplar arasında anlamlı bir fark kaydedilmedi ( $p > 0,05$ ) (Tablo 4.6 ve Şekil 4.9).

**Tablo 4.6.** 24, 48 ve 72 saat sonundaki grupların G2/M evresindeki hücre oranı değerleri

G2/M %	Gruplar						p
	25 µg/ml	50 µg/ml	100 µg/ml	200 µg/ml	Kontrol	5-FU	
24 saat	8.75 ± 0.21 <sup>aA</sup>	8.70 ± 1.97 <sup>aA</sup>	7.15 ± 0.63 <sup>aA</sup>	13.95 ± 10.96 <sup>aA</sup>	8.40 ± 0.89 <sup>aA</sup>	7.06 ± 1.02 <sup>aA</sup>	0,494
48 saat	7.15 ± 2.47 <sup>aA</sup>	5.45 ± 0.63 <sup>aA</sup>	5.85 ± 0.63 <sup>aA</sup>	8.15 ± 4.87 <sup>aA</sup>	6.46 ± 0.20 <sup>aA</sup>	9.50 ± 2.27 <sup>aA</sup>	0,417
72 saat	4.50 ± 6.36 <sup>aA</sup>	7.80 ± 0.56 <sup>aA</sup>	13.20 ± 5.93 <sup>aA</sup>	8.70 ± 2.12 <sup>aA</sup>	12.17 ± 1.35 <sup>aB</sup>	9.75 ± 2.89 <sup>aA</sup>	0,200
p*	0,588	0,153	0,233	0,716	0,074	0,370	

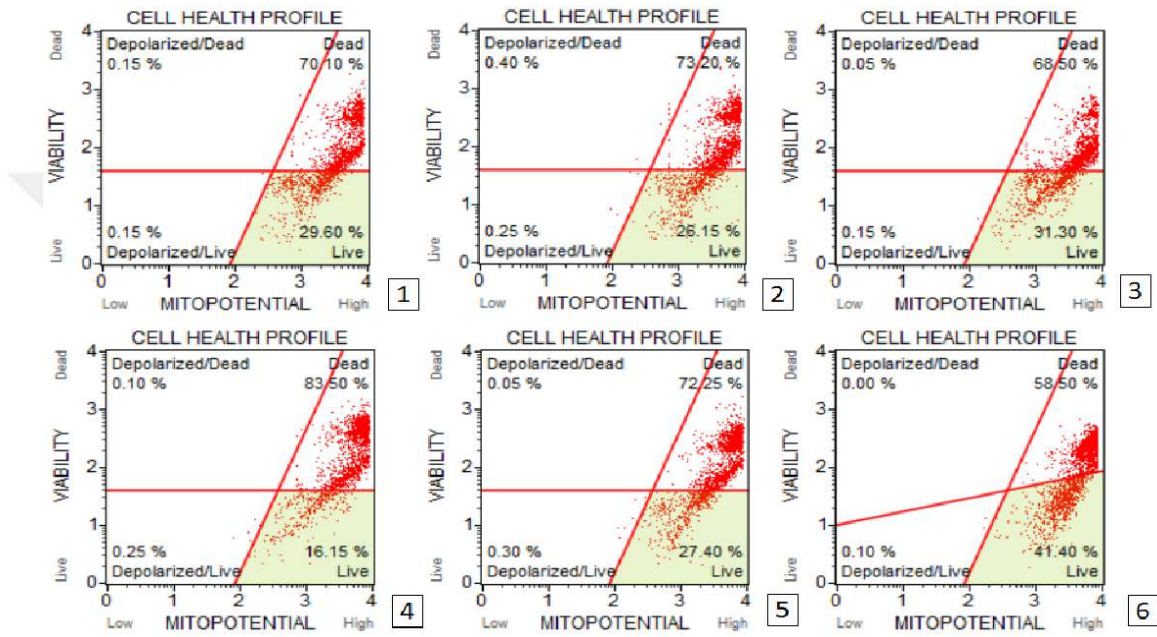


**Şekil 4.9.** Cell Cycle testi 24, 48 ve 72 saat G2/M evresi hücre yüzde değerleri

#### 4.10.Mitopotential Test Sonuçları

Mitopotential test ile saatlere göre inkübe edilmiş olan gruplardaki canlı, depolarize canlı, depolarize ölü ve toplam depolarize hücrelerin yüzdesel olarak değerleri karşılaştırılmıştır. Annexin testinde olduğu gibi bu testin sonuçları da Muse Analyzer cihazından elde edilen ham veri grafiklerinden elde edilmiştir. Cihazdan alınan ham veri grafiklerinde yatay ve dikey çizgiler birbirini kesmekte ve dört farklı alan oluşmaktadır.

Grafikte yer alan bu dört alandan sol üst kısımdaki alan depolarize ölü hücre oranlarını, sağ üst kısımdaki alan ölü hücre oranlarını, sol alt kısımda kalan alan depolarize canlı hücre oranlarını, sağ alt kısımda kalan alan ise canlı hücre oranlarını vermektedir. Elde edilen veriler ile 24, 48 ve 72 saat sonundaki sonuçlar karşılaştırılmıştır (Şekil 4.10, 4.14 ve 4.16).



**Şekil 4.10.** Katran-sedir mantarı ihtiva eden grupların 24 saat kültüre sonundaki Muse Analzyer cihazı Mitopotential testi ham veri grafikleri. **1.** 25µg/ml katran mantarı grubu **2.** 50µg/ml katran mantarı grubu **3.** 100µg/ml katran mantarı grubu **4.** 200µg/ml katran mantarı grubu **5.** Kontrol grubu **6.** 5-FU grubu

#### 4.11. Depolarize Canlı Hücre

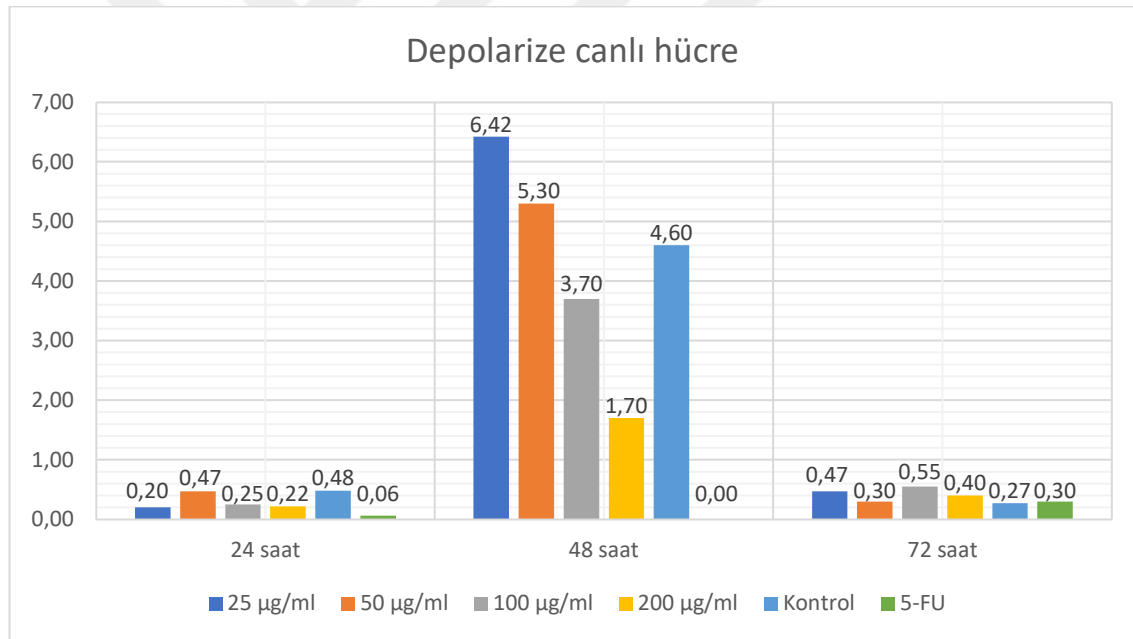
Farklı dozlarda katran mantarı uygulanmış gruplarda 24 saat sonunda kontrol ve 5-FU grupları arasında farklılık görülürken, kontrol grubu ile 25 µg/ml, 50 µg/ml, 100 µg/ml, 200 µg/ml grupları arasında farklılık görülmemektedir. 5-FU grubu ile 25 µg/ml, 50 µg/ml, 100 µg/ml, 200 µg/ml arasında farklılık görülmemektedir. 24 saat sonunda gruplar arasında depolarize canlı hücre oranlarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık ( $p < 0,05$ ) bulunmaktadır. 48 saat sonunda gruplar arasında depolarize canlı hücre oranlarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık ( $p > 0,05$ ) bulunmamaktadır. 72 saat sonunda gruplar arasında depolarize canlı hücre oranlarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık ( $p > 0,05$ ) bulunmamaktadır (Tablo 4.7 ve Şekil 4.11).

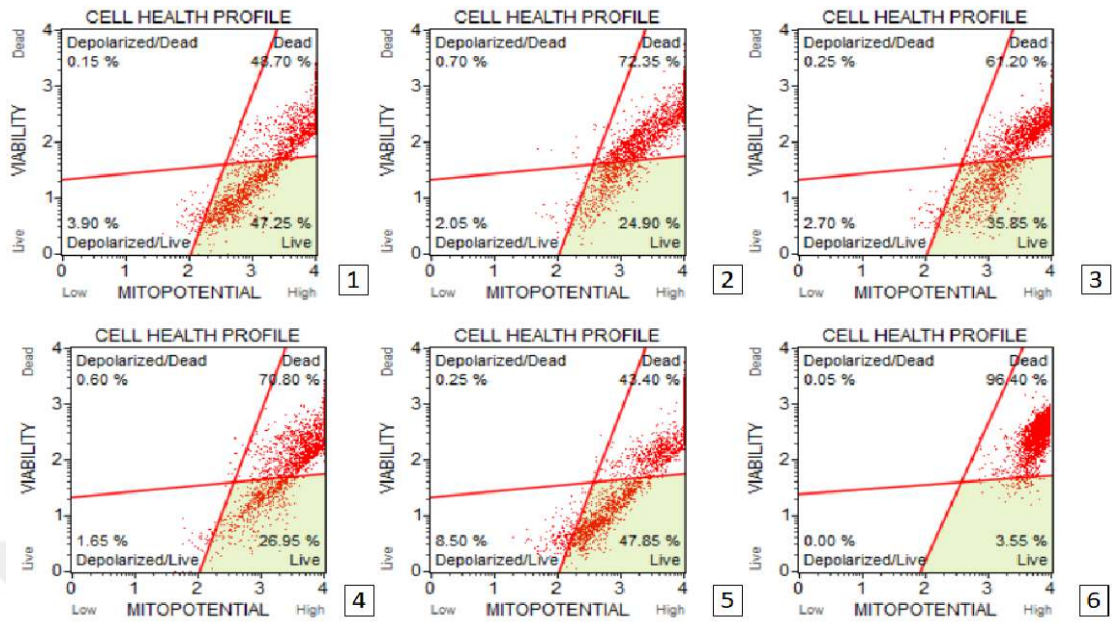
25 µg/ml katran mantarı uygulanmış gruplarda 24, 48 ve 72 saat sonunda depolarize canlı hücre oranlarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık ( $p^* > 0,05$ ) bulunmamaktadır. 50 µg katran mantarı uygulanmış gruplarda 24, 48 ve 72 saat sonunda depolarize canlı hücre oranlarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık ( $p^* > 0,05$ ) bulunmamaktadır. 100 µg/ml katran mantarı uygulanmış gruplarda 24, 48 ve 72 saat sonunda depolarize canlı hücre oranlarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık ( $p^* > 0,05$ ) bulunmamaktadır. 200 µg/ml katran mantarı uygulanmış gruplarda 24 ve 72 saat arasında farklılık görülmezken, 48 saat ile aralarında farklılık bulunmaktadır. 200 µg/ml katran mantarı uygulanmış gruplarda depolarize canlı hücre oranlarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık ( $p^* > 0,05$ ) bulunmamaktadır. Kontrol gruplarında 24 ve 72 saat arasında farklılık görülmezken, 48 saat ile aralarında farklılık bulunmaktadır. Kontrol gruplarında depolarize canlı hücre oranlarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık ( $p^* > 0,05$ ) bulunmamaktadır. 5-FU gruplarında 24 ve 48 saat arasında farklılık görülmezken, 72 saat ile aralarında farklılık bulunmaktadır. 5-FU gruplarında depolarize canlı hücre oranlarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık ( $p^* > 0,05$ ) bulunmamaktadır (Tablo 4.7 ve Şekil 4.11).

24 saat sonunda depolarize canlı hücre oranları en fazla olan kontrol grubu dışında 50 µg/ml grubu olarak gözlenirken, en az olan 25 µg/ml grubu olarak görülmüştür. 48 saat sonunda depolarize canlı hücre oranları en fazla 25 µg/ml grubu olarak gözlenirken, en az olan pozitif kontrol grubu dışında 200 µg/ml grubu olarak görülmüştür. 72 saat sonunda depolarize canlı hücre oranı en fazla olan 100 µg/ml grubu olarak gözlenirken, en az olan kontrol grubu dışında 50 µg/ml grubu olarak görülmüştür. 48 saat sonunda deney gruplarının canlı hücre oranların azalma görülmemiş olup, artış en fazla olan 25 µg/ml grubu olarak gözlenirken, pozitif kontrol grubunda azalış görülmüştür. 72 saat sonunda depolarize canlı hücre oranlarında azalma en fazla 25 µg/ml grubunda görülmüştür.

**Tablo 4.7.** 24, 48 ve 72 saat sonundaki grupların depolarize canlı hücre oranı değerleri

Depolarize Canlı %	Gruplar						p
	25 µg/ml	50 µg/ml	100 µg/ml	200 µg/ml	Kontrol	5-FU	
24 saat	0.20 ± 0.07 <sup>abA</sup>	0.47 ± 0.31 <sup>abA</sup>	0.25 ± 0.14 <sup>abA</sup>	0.22 ± 0.03 <sup>abA</sup>	0.48 ± 0.13 <sup>aA</sup>	0.06 ± 0.05 <sup>bA</sup>	0,037
48 saat	6.42 ± 3.57 <sup>aA</sup>	5.30 ± 4.59 <sup>aA</sup>	3.70 ± 1.41 <sup>aA</sup>	1.70 ± 0.07 <sup>abB</sup>	4.60 ± 2.83 <sup>aB</sup>	0.00 ± 0.00 <sup>aA</sup>	0,150
72 saat	0.47 ± 0.03 <sup>aA</sup>	0.30 ± 0.07 <sup>aA</sup>	0.55 ± 0.42 <sup>aA</sup>	0.40 ± 0.21 <sup>aA</sup>	0.27 ± 0.20 <sup>aA</sup>	0.30 ± 0.10 <sup>aB</sup>	0,628
p*	0,111	0,288	0,055	0,469	0,982	0,483	

**Şekil 4.11.** Mitopotential testi 24, 48 ve 72 saat depolarize canlı hücre yüzde değerleri



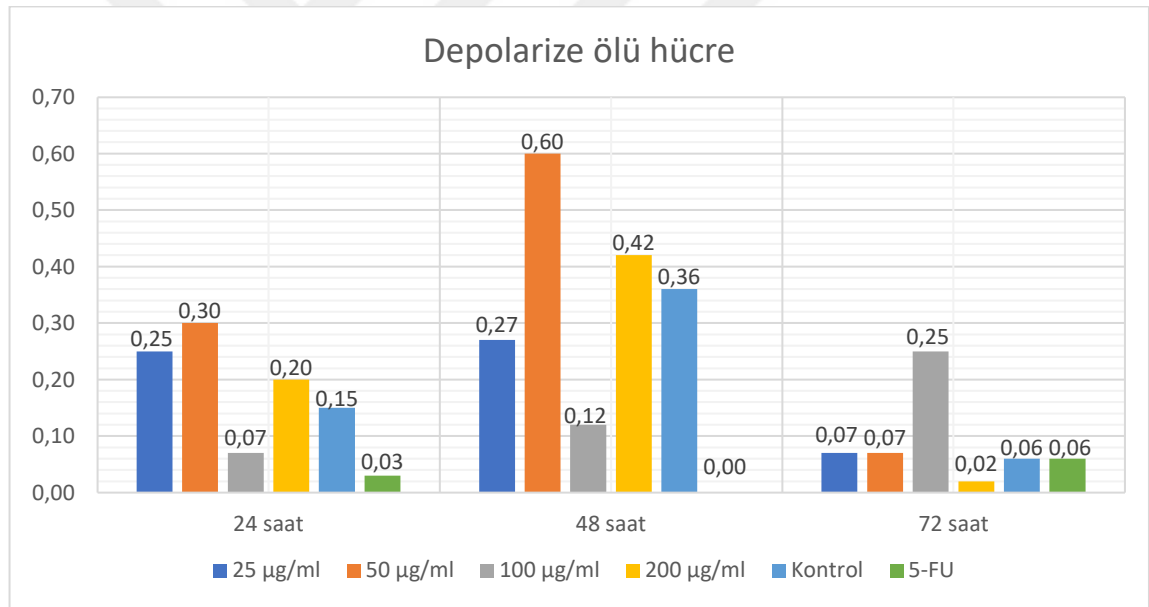
**Şekil 4.12.** Katran-sedir mantarı ihtiva eden grupların 48 saat kültüre sonundaki Muse Analzyer cihazı Mitopotential testi ham veri grafikleri. **1.** 25µg/ml katran mantarı grubu **2.** 50µg/ml katran mantarı grubu **3.** 100µg/ml katran mantarı grubu **4.** 200µg/ml katran mantarı grubu **5.** Kontrol grubu **6.** 5-FU grubu

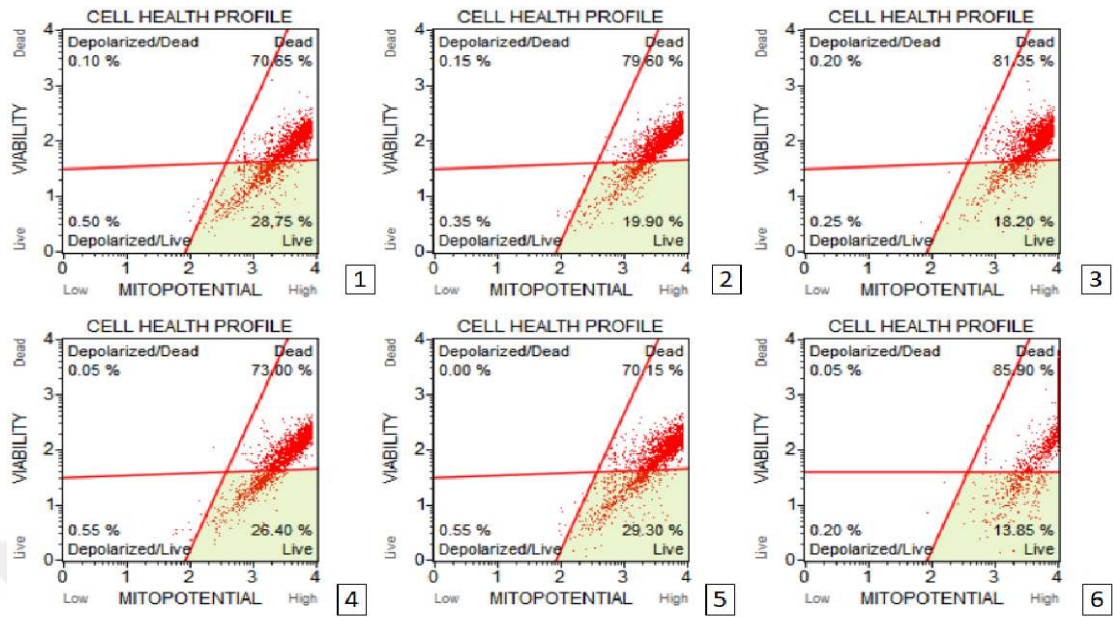
#### 4.11. Depolarize Ölü Hücre

Farklı dozlarda katran mantarı uygulanmış gruplarda 24 ve 72 saat sonunda gruplar arasında depolarize ölü hücre oranlarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık ( $p>0,05$ ) bulunmamaktadır. 48 saat sonunda depolarize ölü hücre yüzdesinde kontrol grubuna göre 50 µg/ml mantar grubunda anlamlı bir artış kaydedildi ( $p>0,05$ ) (Tablo 4.8 ve Şekil 4.13). Depolarize ölü hücre oranları açısından gruplar arasında zamana bağlı anlamlı bir değişiklik görülmedi ( $p>0,05$ ) (Tablo 4.8 ve Şekil 4.13).

**Tablo 4.8.** 24, 48 ve 72 saat sonundaki grupların depolarize ölü hücre oranı değerleri

Depolarize Ölü %	Gruplar						p
	25 µg/ml	50 µg/ml	100 µg/ml	200 µg/ml	Kontrol	5-FU	
24 saat	0.25 ± 0.14 <sup>aA</sup>	0.30 ± 0.14 <sup>aA</sup>	0.07 ± 0.03 <sup>aA</sup>	0.20 ± 0.14 <sup>aA</sup>	0.15 ± 0.14 <sup>aA</sup>	0.03 ± 0.05 <sup>aA</sup>	0,243
48 saat	0.27 ± 0.17 <sup>abA</sup>	0.60 ± 0.14 <sup>bA</sup>	0.12 ± 0.17 <sup>abA</sup>	0.42 ± 0.24 <sup>abA</sup>	0.36 ± 0.22 <sup>abA</sup>	0.00 ± 0.00 <sup>aA</sup>	0,056
72 saat	0.07 ± 0.03 <sup>aA</sup>	0.07 ± 0.10 <sup>aA</sup>	0.25 ± 0.07 <sup>aA</sup>	0.02 ± 0.03 <sup>aA</sup>	0.06 ± 0.07 <sup>aA</sup>	0.06 ± 0.02 <sup>aA</sup>	0,065
p	0,402	0,055	0,383	0,181	0,067	0,151	

**Şekil 4.13.** Mitopotential testi 24, 48 ve 72 saat depolarize ölü hücre yüzde değerleri



**Şekil 4.14.** Katran-sedir mantarı ihtiva eden grupların 72 saat kültüre sonundaki Muse Analzyer cihazı Mitopotential testi ham veri grafikleri. **1.** 25µg/ml katran mantarı grubu **2.** 50µg/ml katran mantarı grubu **3.** 100µg/ml katran mantarı grubu **4.** 200µg/ml katran mantarı grubu **5.** Kontrol grubu **6.** 5-FU grubu

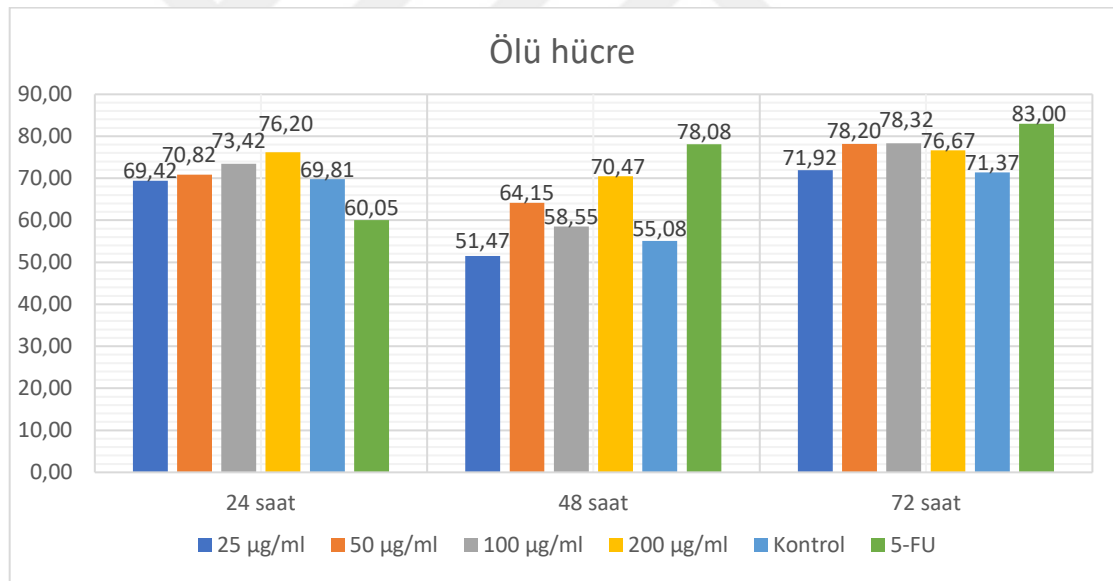
#### 4.12.Ölü Hücre

Farklı dozlarda katran mantarı uygulanmış gruplarda 24 saat sonunda ölü hücre oranlarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık ( $p>0,05$ ) bulunmadı. 48 saat sonunda 50 µg/ml, 100 µg/ml, 200 µg/ml mantar gruplarında kontrol grubuna göre ölü EAT hücresi yüzdesinde anlamlı bir artışın olduğu kaydedildi. 5-FU grubunda diğer tüm gruplardan daha büyük bir anlamlı artışın olduğu görüldü ( $p<0,05$ ) (Tablo 4.9 ve Şekil 4.15). 72 saatlik kültür sonunda da 48 saatlik sonuçlara benzer olarak mantar gruplarında ölü hücre yüzdesinde anlamlı bir artış görülürken yine 5-FU grubunda diğer tüm gruplardan daha büyük bir anlamlı artışın olduğu görüldü ( $p>0,05$ ).

24 saat sonunda ölü hücre oranları en fazla 200 µg/ml grubunda, en az pozitif kontrol grubu dışında 25 µg/ml grubunda görüldü. 48 saat sonunda ölü hücre oranları en fazla pozitif kontrol grubu dışında 200 µg/ml grubunda gözlenirken, en az 25 µg/ml grubunda görüldü. 72 saat sonunda ölü hücre oranları en fazla pozitif kontrol grubu dışında 100 µg/ml grubunda gözlenirken, en az kontrol grubu dışında 25 µg/ml grubunda görüldü.

**Tablo 4.9.** 24, 48 ve 72 saat sonundaki grupların ölü hücre oranı değerleri

Ölü %	Gruplar						p
	25 µg/ml	50 µg/ml	100 µg/ml	200 µg/ml	Kontrol	5-FU	
24 saat	69.42 ± 0.95 <sup>aA</sup>	70.82 ± 3.35 <sup>aA</sup>	73.42 ± 6.96 <sup>aA</sup>	76.20 ± 10.32 <sup>aA</sup>	69.81 ± 3.75 <sup>aA</sup>	60.05 ± 4.52 <sup>aA</sup>	0,084
48 saat	51.47 ± 3.92 <sup>aB</sup>	64.15 ± 11.59 <sup>abA</sup>	58.55 ± 3.74 <sup>abA</sup>	70.47 ± 0.45 <sup>abA</sup>	55.08 ± 10.20 <sup>aB</sup>	78.08 ± 1.51 <sup>bB</sup>	0,017
72 saat	71.92 ± 1.80 <sup>abA</sup>	78.20 ± 1.97 <sup>abA</sup>	78.32 ± 4.27 <sup>abA</sup>	76.67 ± 5.19 <sup>abA</sup>	71.37 ± 5.31 <sup>aA</sup>	83.00 ± 3.03 <sup>bB</sup>	0,057
p*	1,000	0,261	0,063	0,662	1,000	1,000	

**Şekil 4.15.** Mitopotential testi 24, 48 ve 72 saat ölü hücre yüzde değerleri

### Toplam Depolarize Hücre

Farklı dozlarda katran mantarı uygulanmış gruplarda 24 saat sonunda 50 µg/ml ile kontrol grubu arasında farklılık görülmezken, 25 µg/ml, 100 µg/ml ve 200 µg/ml mantar gruplarında toplam depolarizasyonda kontrol grubuna göre anlamlı bir düşüş kaydedildi ( $p < 0,05$ ).

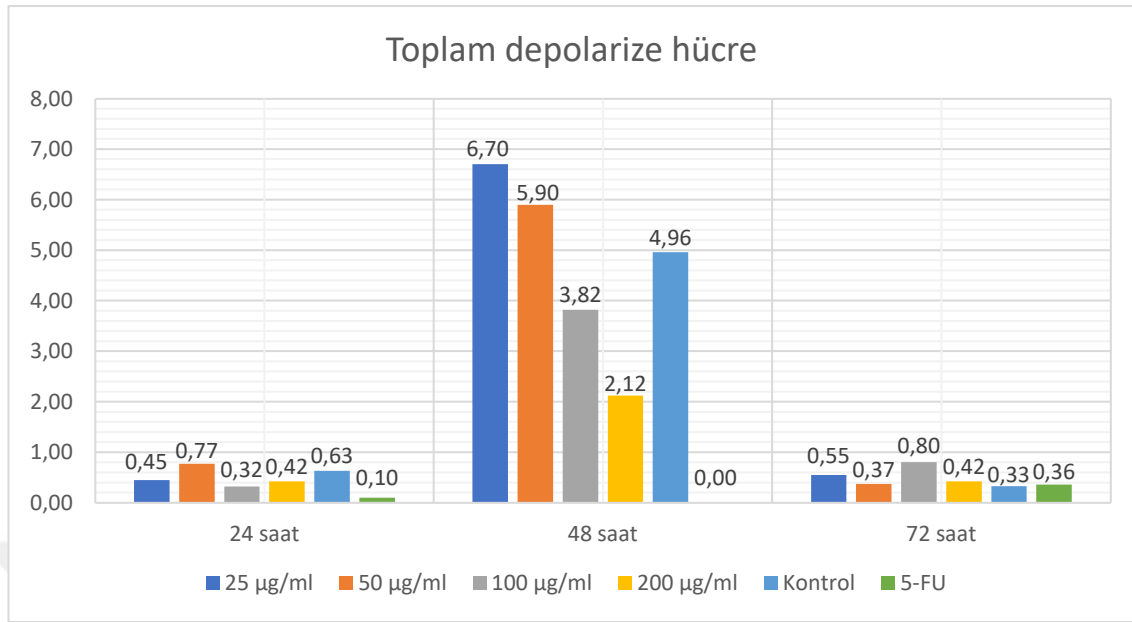
48 ve 72 saatlik kültür sonunda gruplar arasında toplam depolarize hücre oranlarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık ( $p>0,05$ ) bulunamadı (Tablo 4.10 ve Şekil 4.16).

25  $\mu\text{g/ml}$  ve 50  $\mu\text{g/ml}$  katran mantarı uygulanmış olan gruplarda 24, 48 ve 72 saatlik periyotlarda toplam depolarize hücre oranlarında zamana bağlı olarak anlamlı bir farklılık ( $p^*>0,05$ ) görülmedi.

50  $\mu\text{g/ml}$  katran mantarı uygulanmış gruplarda 24, 48 ve 72 saat arasında toplam depolarize hücre oranlarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık ( $p^*>0,05$ ) bulunmamaktadır. 100  $\mu\text{g/ml}$  ve 200  $\mu\text{g/ml}$  katran mantarı uygulanmış gruplarda 24 saat ile 48 saat arasında artış görülürken 24 saat ve 72 saat arasında fark görülmedi ( $p>0,05$ ) (Tablo 4.10 ve Şekil 4.16).

**Tablo 4.10.** 24, 48 ve 72 saat sonundaki grupların toplam depolarize hücre oranı değerleri

Toplam Depolarize %	Gruplar						p
	25 $\mu\text{g/ml}$	50 $\mu\text{g/ml}$	100 $\mu\text{g/ml}$	200 $\mu\text{g/ml}$	Kontrol	5-FU	
24 saat	0.45 $\pm$ 0.21 <sup>abA</sup>	0.77 $\pm$ 0.17 <sup>aA</sup>	0.32 $\pm$ 0.17 <sup>abA</sup>	0.42 $\pm$ 0.10 <sup>abA</sup>	0.63 $\pm$ 0.23 <sup>aA</sup>	0.10 $\pm$ 0.00 <sup>bA</sup>	0,022
48 saat	6.70 $\pm$ 3.74 <sup>aA</sup>	5.90 $\pm$ 4.45 <sup>aA</sup>	3.82 $\pm$ 1.23 <sup>aB</sup>	2.12 $\pm$ 0.17 <sup>aB</sup>	4.96 $\pm$ 2.75 <sup>aB</sup>	0.00 $\pm$ 0.00 <sup>aA</sup>	0,112
72 saat	0.55 $\pm$ 0.07 <sup>aA</sup>	0.37 $\pm$ 0.17 <sup>aA</sup>	0.80 $\pm$ 0.49 <sup>aAB</sup>	0.42 $\pm$ 0.24 <sup>aA</sup>	0.33 $\pm$ 0.14 <sup>aA</sup>	0.36 $\pm$ 0.10 <sup>aB</sup>	0,288
p*	0,123	0,228	0,824	1,000	0,962	0,184	



**Şekil 4.16.** Mitopotential testi 24, 48 ve 72 saat toplam depolarize hücre yüzde değerleri

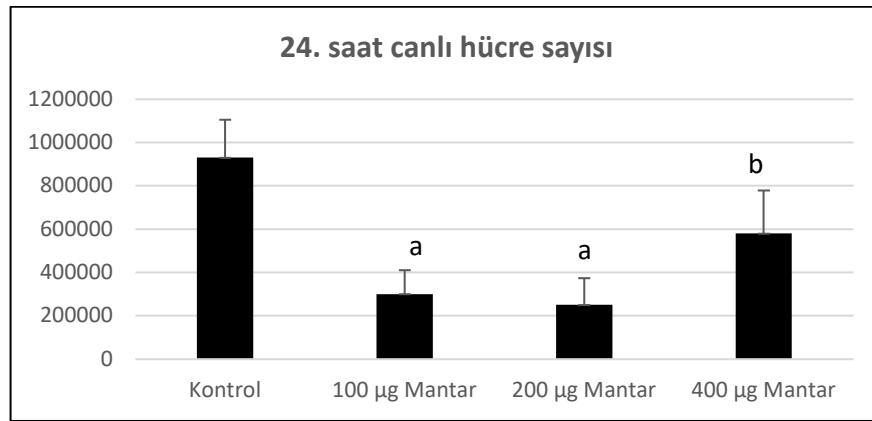
Yapılan testlere ek olarak mikroskopta manuel olarak da hücre sayımı yapıldı. Deney hayvanından intraperitoneal olarak çekilip santrifüj işlemleri yapılan Ehrlich assit tümör sıvısı ependorfa alındı. Ependorfa alınmış olan EAT sıvısından 100 µl pipet yardımıyla çekilerek başka temiz bir ependorfa eklendi. Üzerine 400 µl Phosphate Buffer Saline (PBS) ilave edilip homojen karışım sağlandıktan sonra 100 µl alınıp başka temiz bir ependorfta 100 µl tripan blue (Ölü ve canlı hücreleri ayırt etmek için) ile karıştırıldı. Karışımdan alınan 100 µl thoma lamı kanallarından eklendi. Thoma lamında önce mikroskopta 5x ile alanları belirlendi. Daha sonra 40x ile thoma lamdaki alanlarda bulunan canlı ve ölü hücreler sayıldı. Alan sayımı yaparken 4 farklı alan sayılıp ortalaması alındı. Bulunan hücre sayısı seyreltme oranları ve sabit katsayı ile çarpılarak  $[x \text{ (Hücre sayısı)} \cdot 16 \text{ (Thoma lamdaki alan)} \cdot 2 \text{ (Tripan blue seyreltme katsayısı)} \cdot 5 \text{ (PBS seyreltme katsayısı)} \cdot 10^4 \text{ (Sabit katsayı)} = \text{toplam hücre sayısı}]$  toplamdaki hücre sayısına ulaşıldı. Yapılan çalışma sonucundaki verilere ait istatistiksel tablo ve değerlendirmeler aşağıdaki tabloda ifade edildi.

**Tablo 4.11.** Canlı hücre sayılarının istatistiksel sonuçları ve kontrol grubuna göre ortalama  $\pm$  standart sapma değerleri

Gruplar	Kontrol	100 $\mu\text{g/ml}$ Mantar	200 $\mu\text{g/ml}$ Mantar	400 $\mu\text{g/ml}$ Mantar	<i>p</i>
24. saat canlılık	930000 $\pm$ 17598 7	300000 $\pm$ 11109 8 <sup>a</sup>	250000 $\pm$ 12421 1 <sup>a</sup>	580000 $\pm$ 19942 7 <sup>b</sup>	0.000 1
48. saat canlılık	1010000 $\pm$ 3081 74	410000 $\pm$ 99713 a	80000 $\pm$ 74065 <sup>b</sup>	20000 $\pm$ 56568 <sup>b</sup>	0.000 1
72. saat canlılık	1100000 $\pm$ 4376 56	290000 $\pm$ 84852 ab	540000 $\pm$ 10253 9 <sup>a</sup>	0 $\pm$ 0 <sup>b</sup>	0.000 1

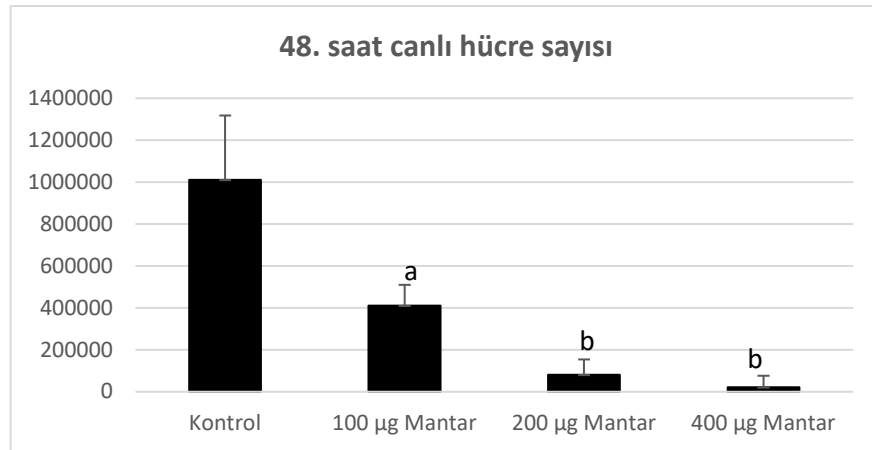
Veriler ortalama  $\pm$  standart sapma olarak ifade edilmiştir. Kontrol ile karşılaştırıldığında <sup>a,b</sup> $p < 0.05$  anlamlı farklılık vardır.

24 saatlik inkübasyon sonunda elde edilen verilere göre (Tablo 4.11), Kontrol grubu ile diğer gruplar karşılaştırıldığında mantar uygulanan tüm gruplardaki canlı hücre sayılarının kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldığı görüldü ( $p < 0.05$ ). Gruplar arası canlı hücre sayılarının azdan-çoğa doğru sırlaması; 200  $\mu\text{g/ml}$ , 100  $\mu\text{g/ml}$ , 400  $\mu\text{g/ml}$ , kontrol şeklindedir (Şekil 4.17).



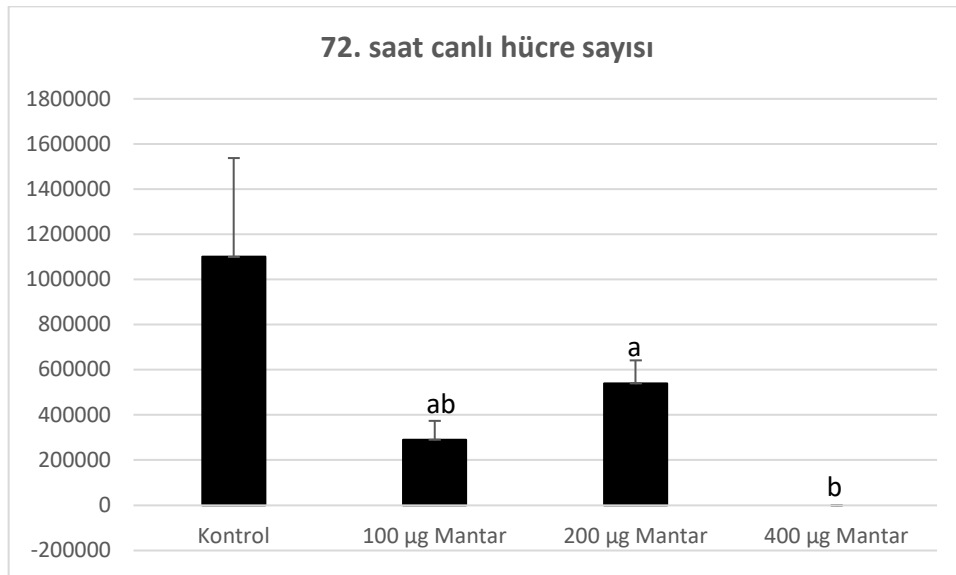
**Şekil 4.17.** 24 saatlik inkübasyon sonundaki canlı hücre sayıları.

48 saatlik inkübasyon bulgularına göre (Tablo 4.11), Kontrol grubu ile diğer gruplar karşılaştırıldığında mantar uygulanan tüm gruplardaki canlı hücre sayılarının kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldığı görüldü ( $p < 0.05$ ). Bu gruplar arasında canlı hücre sayısının azdan-çoğa doğru sırlaması; 400  $\mu\text{g/ml}$ , 100  $\mu\text{g/ml}$ , 200  $\mu\text{g/ml}$ , Kontrol şeklindedir (Şekil 4.18).



**Şekil 4.18.** 48 saatlik inkübasyon sonunda ki canlı hücre sayıları.

72 saatlik inkübasyondan elde edilen verilere göre (Tablo 4.11), kontrol grubu ile diğer gruplar karşılaştırıldığında mantar uygulanan tüm gruplarda ki canlı hücre sayılarının kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldığı görüldü ( $p < 0.05$ ). Ancak 400 µg/ml mantar uygulanan grupta canlı hücreye rastlanmadı. Bu gruplar arasında da canlı hücre sayısının azdan-çoğa doğru sıralaması; 400 µg/ml, 200 µg/ml, 100 µg/ml, kontrol şeklindedir (Şekil 4.19).



**Şekil 4.19.** 72 saatlik inkübasyon sonunda ki canlı hücre sayıları.

## 5.TARTIŞMA VE SONUÇ

Kanser dünyanın birçok yerinde ciddi bir halk sağlığı problemi olarak görölmektedir. Günümüzde kanser teşhisi koyulan bireylerin sayısı artmaya devam etse de milyonlarca kanserli insanın erken teşhis ve tedavi sayesinde yaşam süreleri artmaktadır (Sudhakar, 2009; Siegel ve ark., 2012). Kanser tedavisinde asıl hedef semptomların ortadan kaldırılması, tamamen yok edilmesi, bireylerin kalan yaşamlarını ağrılardan, semptomlardan uzak kaliteli bir şekilde devam ettirmesidir (Düzen, 2015). Son yıllarda yapılan araştırmalar ve çalışmalar neticesinde teknolojinin geniş çaplı kullanımının da katkısı ile kanserde sağ kalım oranı giderek artmıştır (Işıkhan, 2007). Kanser tedavisinde bilimsel tıpta cerrahi, radyoterapi, kemoterapi, hormon terapisi, immunoterapi gibi uygulamalar kullanılmaktadır (Cheng ve ark., 2015). Kanser tedavisinde kullanıldığı bilinen yöntemlerin vücuda ciddi yan etkilerinin olduğu görölmektedir. Kanser tedavisi için daha güvenilir yan etkileri olmayan ya da standart tedavilere nazaran daha az yan etkisi olan doğal kaynaklardan elde edilen etkili antikanserojen bileşenlere ihtiyaç duyulmaktadır (Cheng ve ark., 2015). Bireylerin psikososyal dünyasını değiştirdiği bilinen kanserin tedavisinde bilimsel tıbbı destek olması amacıyla tamamlayıcı tedaviler sıklıkla tercih edilmektedir (Yavuz ve ark., 2007; Tuncay, 2009). Yapılan araştırmalara göre bilhassa kronik rahatsızlığı olan hastaların tanı konulmadan önce veya tanı konulduktan sonra diğer tedavi yöntemlerine ek olarak veya tek başına tamamlayıcı tedavi yöntemlerine başvurdukları bildirilmiştir (Yeşil ve ark., 2018).

Bitkisel destekli diyetler insan sağlığında çok önemli bir yere sahiptir (Manivannan ve ark., 2019). Epidemiyolojiye yönelik yapılan çalışmalardan elde edilen bulgular da bu durumu destekler nitelikte olup meyve ve sebzelerden zengin diyetin kanser riskini azalttığını ortaya koymaktadır (Giovannucci, 1999). Antikanserojen etki neredeyse çoğu meyve, sebze, bitki ve mikroorganizmalarda görölmektedir. Bu etkinin oluşmasını

yapılarında bulunan polisakkaritler sağlamaktadır. Mantarlarda hücre duvarlarında bulunan polisakkaritleri ve diğer çeşitli bileşenleri sayesinde tıbbi amaçlarla tercih edilmektedirler (Özdemir, 2014).

Kanser üzerine yapılan çalışmaların sayısı oldukça fazla olup, yapılan bu çalışmaların ortak amacı kanserin biyolojisini açıklayıp yeni tedavi yöntemleri üretmek ya da var olan tedavi yolunu geliştirmektir. Kanser üzerine yapılan çalışmalarda tümörlerden elde edilen hücre hatları kullanılmaktadır. Hücre hattı elde etmek için kullanılan bir tümör modeli de Ehrlich assit tümör modelidir. Günümüzde Ehrlich assit tümör modeli birçok deneysel çalışmanın konusu olmaya devam etmektedir. Ehrlich assit tümörü üzerine yapılan çalışmaların bir kısmında ise bitkilerden elde edilen ekstraktlar kullanılmaktadır. Bu şekilde bitkisel ekstraktların Ehrlich assit tümör modeli üzerine doğrudan ya da dolaylı olarak tedavi edici etkileri araştırılmaktadır (Aktaş, 1996; Ehrlich ve Apolant, 1905; Özasan ve ark., 2011; Yılmaz, 2016). Yapılan bu çalışma ile katran-sedir mantarının (*Tricholoma anatolicum*) Ehrlich assit tümörü üzerine olan antikanserojen etkisi araştırıldı.

Kocakaya (2017) *Tricholoma anatolicum*'un ekstre verimleri açısından ekstraksiyon yöntemlerini mukayese ettiğinde etanol ekstresinin (EE) en verimli (%20.6) olduğunu bunu sırasıyla polisakkaritçe zengin sıcak su ekstresi (PS) ve ultrasonik etkiyle elde edilen polisakkaritçe zengin su ekstresinin (PSU) takip ettiğini bildirmiştir. Polisakkarit verimi açısından ise polisakkaritçe zengin sıcak su ekstresi en verimli olanıdır.

Wang ve ark. (2016) tarafından yapılan çalışmada *Tricholoma matsutake* ekstresinin HepG2 ve SMMC-7721 hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisi değerlendirilmiştir. Doza ve zamana bağlı *Tricholoma matsutake* ekstresi uygulanan hücrelerde canlılığın azaldığı raporlanmıştır.

Ren ve ark. (2014) yaptığı çalışmada *Tricholoma matsutake*'den elde edilen polisakkaritlerin lefositler üzerinde *in vitro* etkisi gözlemlenmiş ve formüle edilen matematiksel işlem sonucunda en fazla etkinin 200 µg/ml dozda bulunduğu not edilmiştir. Özdemir (2014) *Tricholoma anatolicum*'dan elde edilen etanol ekstresinin MCF-7/S hücre hattı üzerinde IC<sub>50</sub> değerinin 2.22 mg/ml, metanol ekstresinin 4.98 mg/ml, su ekstresinin 4.28 mg/ml olarak bulunduğunu bildirmiştir. Yapılan literatür taraması çalışmamızda kullandığımız mantar dozlarını belirlememiz açısından dikkate alınmıştır.

Komatsu ve ark. (1969) yaptığı çalışmada mantarların yapısında da bulunan şizofilan kombininin kültüre ortamında transplante edilebilen tümörlerden assit ve solid formdaki tümörlere karşı olan antitümöral etkisi araştırılmıştır. Subkutan enjekte edilmiş olan Sarkom-37, Sarkom-180, Ehrlich assit karsinomu, Yoshida sarkomu tümörlerinde 0.5-10 mg/kg dozlarında şizofilanın azaltıcı etki gösterdiği rapor edilmiştir. Yapılan uygulamada tedavinin assit tümörlerin büyümesini inhibe edemediği, Sarkom-180 dışında yaşam süresini uzatmadığı bildirilmiştir.

Chattarjee ve ark. (2013) yaptıkları çalışmada *Tricholoma giganteum* mantarının Ehrlich assit tümörü üzerindeki apopitotik etkisini araştırmışlardır. Yapılan analizler sonucunda EAT (Ehrlich assit tümör) hücrelerinin sayısı G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> fazında artma, G<sub>2</sub>/M fazında azalma göstermiş olup apopitoz etkisinin olduğu bildirilmiştir. Çalışmamızda bu bilgiyi destekleyen bir sonuç elde edilmedi.

Gurusamy ve Arthe (2012) tarafından yapılan çalışmada *Auricularia auricula-judae* mantarından elde edilen polisakkaritlerin farelerde oluşturulan Ehrlich assit karsinomu üzerine olan antitümöral etkisi araştırılmıştır. 9 gün boyunca *Auricularia auricula-judae* mantarı ile aşılama tedavisi (200 mg/kg) uygulanmıştır. Çalışma sonunda kontrol grubu ile kıyaslandığında mantar polisakkaritleri ile tedavi edilen gruplardaki hücrelerde hacimsel olarak azalma, hücre sayısı bakımından artma göstermiştir.

Sharvit ve ark. (2012) 12 farklı mantar türünü kullanarak hazırladıkları 31 farklı mantar ekstraktının insan adenokarsinom hücreleri (HPAF-II, PL5) üzerindeki canlılık etkisini araştırmışlardır. Ekstraktlar hazırlanırken çözücü olarak etanol, etil asetat ve kloroform kullanmışlardır. Hazırlanan tüm ekstraktlar 50 mg/ml dimetil sülfoksit ile seyreltilmiştir. 31 farklı mantar ekstreleri kullanılarak 72 saat süren uygulamada 50-500 µg/ml arasındaki dozlar kullanılmış olup hücre canlılığındaki en belirgin azalmayı *Cyathus striatus* mantarının ekstresi sağlamıştır. 24 ve 48 saat süren uygulamalarda da düşük dozlara maruz kalan hücrelerin canlılık oranlarında önemli derecede azalma gösterdiği raporlanmıştır. Sonuç olarak *Cyathus striatus* mantar ekstresinin insan adenokarsinom hücrelerinin canlılığını azalttığı görülmüştür. Büyümenin engellenmesini mantar ekstresine düşük dozlarda kısa süreli maruz kalma ile sağlanabildiği belirtilmiştir. Adana Feka yöresinden toplanıp, ekstre haline getirilerek değişik fraksiyonlarda EAT hücreleri üzerine uygulanan katran-sedir mantarının

hücrelerde sitotoksik etkisinin olduğu ve bu etkinin istatistik olarak anlamlı olduğu tarafımızca kaydedildi.

Smina ve ark. (2016) *Ganoderma lucidum* mantarı total triterpenlerinin Dalton'un lenfoma asitleri (DLA) ve Ehrlich assit karsinomu hücre hatları üzerindeki etkilerini swiss albino farelerinde incelemişlerdir. Total triterpenler için IC<sub>50</sub> sitotoksik değerler Dalton'un lenfoma asitleri (DLA) ve Ehrlich assit karsinomu için sırasıyla 5 ± 0.32 µg/ml ve 7.9 ± 0.2 µg/ml olarak bulunmuştur. Triterpenlerin her iki hücre hattı üzerinde de apoptozu indüklediği, doza bağlı olarak antitümöral aktivite gösterdiği belirtilmiştir. Triterpenlerin katı tümörler üzerindeki etkisi sıvı tümörlere göre daha aktif olduğu rapor edilmiştir. Çalışmamızda katran-sedir mantarının 100 ve 200 µg/ml dozlarının geç apoptoz'u anlamlı olarak artırdığı belirlendi.

*Tricholoma anatolicum* ile ilgili literatür taraması sonucunda Ehrlich assit tümörü üzerine yapılmış bir çalışma ile karşılaşılmadı. Yapılan bu çalışma ile *Tricholoma anatolicum*'dan elde edilen sıcak su ekstraktının Ehrlich assit tümör hücreleri üzerine muhtemel antikanserojen etkisi araştırıldı. Kocakaya (2017) çalışmasında polisakkaritçe zengin sıcak su ekstresinin toplam şeker oranı bakımından en yüksek olduğu rapor edilmiştir. Mantarların antikanserojen etkinlik gösteren bileşikleri hücre duvarı yapısındaki polisakkaritler olduğu bildirilmiştir (Özdemir, 2014). Çalışmamızda *Tricholoma anatolicum*'un polisakkaritçe zengin sıcak su ekstresi kullanılarak antitümöral aktivite çalışmaları yapıldı. İn vitro olarak çoğunluğu steril güvenlik kabininde gerçekleştirilen çalışmada katran-sedir mantarı ekstresi uygulanan 25 µg/ml, 50 µg/ml, 100 µg/ml, 200 µg/ml ile kontrol ve pozitif kontrol grubu olan 5-FU deney grupları bulunmaktadır.

Yapılan bu çalışma ile katran-sedir mantarı (*Tricholoma anatolicum*) tüketiminin yaygınlaşmasının günümüzde sıklıkla karşılaşılan sağlık problemlerinden biri olan kanser oluşumuna ve ilerlemesine karşı faydalı olabileceği düşünülmektedir.

## 6.KAYNAKLAR

- Aktaş E. Ehrlich asit sıvısının L-hücrelerinin çoğalma hızına etkisi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul 1996; 18-21.
- Al Ö. Farelerde deneysel olarak oluşturulan kanser üzerine gilaburu (*Viburnum opulus*) meyve suyunun farklı fraksiyonlarının etkileri, Doktora Tezi, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri, 2019: 1-82.
- Allı H, Şen İ. *Tricholoma* türlerinin yenilebilirliği üzerine notlar. Turkish Journal of Agriculture: Food Science and Technology, 2016; 4(3): 178-181.
- Aslan Ö, Vural H, Kömürcü Ş, Özet A. Kemoterapi alan kanser hastalarına verilen eğitimin kemoterapi semptomlarına etkisi. C.Ü. Hemşirelik Yüksekokulu Dergisi, 2006; 10(1).
- Atıcı E. Tıp tarihinde kanser ve lösemi. Türk Onkoloji Dergisi, 2007; 22 (4): 197-204.
- Aweke YH, Ayanto SY, Ersado TL. Knowledge, attitude and practice for cervical cancer prevention and control among women of childbearing age in Hossana Town, Hadiya zone, Southern Ethiopia: Community-based cross-sectional study. Plos One, 2017; 12(7): e0181415.
- Bağış H. Transgenik rodent üretimi. Journal of Clinical and Analytical Medicine, 2012; 81: 2.
- Baykara O, Kanser tedavisinde güncel yaklaşımlar, Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi, 2016; 5(3): 16-24.
- Bayrak U, Gram E, Mengeş E, Okumuş GZ, Sayar HC, Skrijelj E, Açıköz A, Çehrelil, Ellidokuz H. Üniversite öğrencilerinin sağlıkla ilgili alışkanlıklar ve kanser konusundaki bilgi ve tutumları. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 2010; 24(3): 95-104.
- Bilir N. Sigara ve kanser. Sağlık Bakanlığı Yayını, 2008; 731: 5-7. ([https://havanikoru.saglik.gov.tr/dosya/dokumanlar/sagligimiza\\_etekileri/Sigara\\_ve\\_Kanser.pdf](https://havanikoru.saglik.gov.tr/dosya/dokumanlar/sagligimiza_etekileri/Sigara_ve_Kanser.pdf))

- Bozkurt Ö. Ehrlich assit tümörü enjekte edilen farelerde Rhamnet'in etkisinin araştırılması, Doktora Tezi, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri, 2016: 1-67.
- Canpolat F. Hücre siklusu ve apoptoz. Güncel Dermatoloji Dergisi, 2016; 1(1): 11-17.
- Chakrabarti S, Granzow C. Mar-A of Ehrlich-Lettré mouse tumor is actually a "dic". Cancer genetics and cytogenetics, 1990; 48(1): 23-29.
- Chatterjee S, Biswas G, Chandra S, Saha GK, Acharya K. Apoptogenic effects of *Tricholoma giganteum* on Ehrlich's ascites carcinoma cell. Bioprocess and biosystems engineering, 2013; 36(1): 101-107.
- Cheng J, Zhou ZW, Sheng HP, He LJ, Fan XW, He ZX, Sun T, Zhang X, Zhao RJ, Gu L, Cao C, Zhou SF. An evidence-based update on the pharmacological activities and possible molecular targets of *Lycium barbarum* polysaccharides. Drug Des Devel Ther, 2015; 9: 33-78.
- Dalgıç G, Karadağ A, Kuzu N. Kemoterapiye bağlı gelişen stomatitte hemşirelik bakımı. C.Ü. Hemşirelik Yüksekokulu Dergisi, 1998; 2 (2): 53-59
- De Borhegyi C, De Borhegyi-Forrest S. Mushroom intoxication in mesoamerica. In Toxicology in Antiquity, 2015; 461-472.
- Ding X, Feng S, Cao M, Li MT, Tang J, Guo CX, Zhang J, Sun Q, Yang ZR, Zhao J. Structure characterization of polysaccharide isolated from the fruiting bodies of *Tricholoma matsutake*. Carbohydrate Polymers, 2010; 81(4): 942-947.
- Doğan HH, Akata I. Ecological features of *Tricholoma anatolicum* in Turkey. African Journal of Biotechnology, 2011; 10(59): 12626-12638.
- Dutta AK, Acharya K. Traditional and ethno-medicinal knowledge of mushrooms in West Bengal, India. Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research, 2014; 36-41.
- Düzen KÖ, Korkmaz M. Kanser hastalarında, semptom kontrolü ve tamamlayıcı ve alternatif tıp kullanımı. Dokuz Eylül Üniversitesi Hemşirelik Fakültesi Elektronik Dergisi, 2015; 8(2).
- Ehrlich P. Apolant H. Beobachtungen uber maligne mausentumoren. Berliner Klisische Wochenschrift, 1905; 42: 871-874.
- Ekmekçi A, Konaç E, Önen Hİ. Gen polimorfizmi ve kansere yatkınlık. Marmara Medical Journal, 2008; 21(3): 282-295.

- Elsaid FG. The effect of seeds and fruit pulp of *Adansonia digitata L.(Baobab)* on Ehrlich ascites carcinoma. *Food and Nutrition Sciences*, 2013; 4: 38-46.
- Erdamar H, Kazancı FH, Gök S. Biochemical changes in cancer. *J Clin Anal Med*, 2014; 5: 430-438.
- Erdoğan BB, Uzaslan EK. Apoptoz mekanizmaları: tümör gelişiminde Fas-FasL bağımlı apoptoz. *Türkiye Klinikleri Archives of Lung*, 2003; 4(3): 165-174.
- Ernst, E. Complementary therapies in palliative cancer care. *Cancer: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society*, 2001; 91(11): 2181-2185.
- Giacinti C, Giordano A. RB and cell cycle progression. *Oncogene*, 2006; 25(38), 5220-5227.
- Giovanucci E. Tomatoes, tomato-based products, lycopene, and cancer: review of the epidemiologic literature. *Journal of the national cancer institute*, 1999; 91(4): 317-331.
- Grizzi F, Chiriva-Internati M. Cancer: looking for simplicity and finding complexity. *Cancer Cell Int*, 2006; 6: 4.
- Gurusamy R, Arthe R. Effect of medicinal mushroom, *Auricularia auricula judae*, polysaccharides against EAC cell lines. *Res J Biotech*, 2012; 7(2): 14-17.
- Güler İ. Ehrlich asit tümörü taşıyan Swiss albino türü farelerde Rho-kinaz inhibitörlerinden H-1152P maddesinin antitümöral etkisinin *in vivo* olarak araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Gaziantep Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gaziantep, 2011: 1-16.
- Güneş H. Sitokinlerin hücre döngüsü üzerinde etkileri. *Tr. J. of Biology*, 1999; 23: 283-292.
- Güven B, Bazı yenilebilir mantar türlerinin sitotoksik, sitogenetik ve oksidatif etkilerinin araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Karaman, 2019, 4-22.
- Hilszczańska D. Medicinal properties of macrofungi. *Forest Research Papers*, 2012; 73(4): 347-353.
- Ho A, Dowdy SF. Regulation of G1 cell-cycle progression by onkogenes and tumor suppressor genes. *Current Opinion In Genetics & Development*, 2002; 1: 47-52.
- Hogan B, Beddington R, Costantini F, Lacy E. Manipulating the mouse embryo. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1994: 92-97.

- <http://apelasyon.com/Yazi/430-mikoriza-mantarlari-ve-tarimsal-acidan-onemi>. Erişim tarihi: 16.05.2020
- <http://www.cancer.org/acs/groups/content/@editorial/documents/document/acspc-044552.pdf>. Erişim tarihi: 07.05.2020
- [http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/World Cancer Report 2014](http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/World%20Cancer%20Report%202014). Erişim tarihi: 07.05.2020
- <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/cancers/39-All-cancers-fact-sheet.pdf>. Erişim tarihi: 10.05.2020
- <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/792-turkey-fact-sheets.pdf>. Erişim tarihi: 10.05.2020
- <https://webders.net/522/hucre-dongusu-siklusu.html>. Erişim tarihi: 12.05.2020
- Huff J. Absence of morphologic correlation between chemical toxicity and chemical carcinogenesis. *Environmental Health Perspectives*, 1993; 101: 45-54.
- Işıkhan V. Kanser ve sosyal destek. *Journal of Society & Social Work*, 2007; 18(1).
- İlban Ş. *Tricholoma anatolicum* ve *Tricholoma caligatum*'un morfoloik ve moleküler yönden karşılaştırılması, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya, 2011: 1-25.
- Kalmış E, Eltem R, Işıloğlu M, Solak MH, Kalyoncu F, Gezgin Y. Muğla ilindeki *Tricholoma caligatum* popülasyonlarının belirlenmesi ile *in vivo* ve *in vitro* da kültürel özelliklerinin açığa çıkarılması. TÜBİTAK Projesi Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, 2009.
- Kalmış E, Yıldız H, Ergönül B, Kalyoncu F, Solak MH. Chemical composition and nutritional value of a wild edible ectomycorrhizal mushroom, *Tricholoma anatolicum*. *Turkish Journal of Biology*, 2011; 35(5): 627-633.
- Karayel İ. Ehrlich asit tümörü implante edilen deneklerde oksidan stresin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2009: 3-35.
- Kav S, Hanoğlu Z, Algier L. Türkiyede kanserli hastalarda tamamlayıcı ve alternatif tedavi yöntemlerinin kullanımı: literatür taraması. *Uluslararası Hematoloji-Onkoloji Dergisi*, 2008;18(1): 32-38.
- Kaya A, Uzun Y, Karacan İH. Göksun (Kahramanmaraş) yöresi makrofungusları. *Türk J. Bot*, 2009; 33: 131-139.

- Keaton WT, Gould G. Genel biyoloji, Demirsoy A, Türkan I, Gündüz E (Çev. Eds), Palme Yayıncılık, Ankara, 2004: 647.
- Kıbar B, Pekşen A. Ektomikorizanın tarım ve ormancılık bakımından önemi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 2007; 22(2): 232-238.
- Kocakaya Ç. *Tricholoma anatolicum* H. H. Doğan & Intini mantarı üzerinde farmakognozik araştırmalar, Doktora Tezi, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri, 2017: 1-104.
- Komatsu N, Okubo S, Kikumoto S, Kımura K, Saito G, Sakai S. Host-mediated antitumor action of schizophyllan, a glucan produced by Schizophyllum commune. GANN Japanese Journal of Cancer Research, 1969; 60(2): 137-144.
- Kurt S, Süt HK, Küçükkaya B. Bir üniversite hastanesine başvuran jinekolojik ve meme kanserli hastalarda tamamlayıcı sağlık yaklaşımları kullanımı. Lokman Hekim Tıp Tarihi ve Folklorik Tıp Dergisi, 2019; 9(3): 326-336.
- Kutluk T, Kars A. Kanser konusunda genel bilgiler, Sağlık Projesi Genel Koordinatörlüğü, Ankara, 1994; 25-31.
- Lazebnik YA, Medvedeva ND, Zenin VV. Reversible G2 block in the cell cycle of ehrlich ascites carcinoma cells. Experimental Cell Research, 1991; 195:247-254.
- Lemieszek M, Rzeski W. Anticancer properties of polysaccharides isolated from fungi of the Basidiomycetes class. Contemporary Oncology, 2012; 16(4): 285-289.
- Lettre R, Paweletz N, Werner D, Granzow C. Sublines of the Ehrlich-Lettre mouse ascites tumor. A New Tool for Experimental Cell Research, 1972; 59: 59-63.
- Liu G, Wang H, Zhou B, Guo X, Hu X. Compositional analysis and nutritional studies of *Tricholoma matsutake* collected from Southwest China. Journal of Medicinal Plants Research, 2010; 4(12): 1222-1227.
- Manivannan A, Kim JH, Kim DS, Lee ES, Lee HE. Deciphering the nutraceutical potential of *Raphanus sativus*—A comprehensive overview. Nutrients, 2019; 11(2): 402.
- Martinho DJMDF. Effect of mushroom polysaccharides and olivephenolic compounds on human carcinoma cells, Doktora Tezi, Lizbon Üniversitesi Fen Bilimleri Fakültesi Hayvan Biyoloji Bölümü, Lizbon, 2012: 9.
- Meng X, Liang H, Luo L. Antitumor polysaccharides from mushrooms: a review on the structural characteristics, antitumor mechanisms and immunomodulating activities. Carbohydrate Research, 2016; 424: 30-41.

- Molassiotis A, Fernandez-Ortega P, Pud D, Ozden G, Scott J A, Panteli V, Margulies A, Browall M, Magri M, Selvekerova S, Madsen E, Milovics L, Bruyns I, Gudmundsdottir G, Hummerston S, Ahmad AMA, Platin N, Kearney N, Patiraki E. Use of complementary and alternative medicine in cancer patients: a European survey. *Annals of Oncology*, 2005; 16(4): 655-663.
- Nagata S, Golstein P. The fas death factor. *Science*, 1995; 267: 1449-56.
- Oylar Ö, Tekin İ. Kanserin teşhis ve tedavisinde nanoteknolojinin önemi. *Uludağ Üniversitesi Mühendislik-Mimarlık Fakültesi Dergisi*, 2011; 16: 147-154.
- Oyetayo OV. Medicinal uses of mushrooms in Nigeria: towards full and sustainable exploitation. *African Journal of Traditional Complementary and Alternative Medicines*, 2011; 8(3): 267-274.
- Özaslan M, Karagöz D, Kalender ME, Kılıç H. In vivo antitumoral effect of plantago majorl. extract on bulb/c mouse with ehrlich ascites tumor. *The American Journal of Chinese Medicine*, 2007; 35: 841-851.
- Özaslan M, Karagöz ID, Kılıç HI, Güldür ME. Ehrlich ascites carcinoma. *African Journal of Biotechnology*, 2011; 10. 13: 2375-2378.
- Özdemir Ö. *Terfezia Boudieri* Chatin, *Fomes Fomentarius* (L.) Fr., *Phellinus Ignarius* (L.) Quél. ve *Tricholoma anatolicum* H.H.Dogan&Intını' nin meme kanseri hücrelerine antikanser ve modülasyon etkilerinin belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya, 2014: 1-68.
- Ren M, Ye L, Hao X, Ren Z, Ren S, Xu K, Li J. Polysaccharides from *Tricholoma matsutake* and *Lentinus edodes* enhance 5-fluorouracil-mediated H22 cell growth inhibition. *J Tradit Chin Med*, 2014; 34(3): 309-316.
- Sadırlı SK. Kanserli hastalarda semptom kontrolünün değerlendirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Edirne, 2008: 6-30.
- Sevag MG, Lackman DB, Smolens J. The isolation of the components of strepto-coccal nucleoproteins in serologically active form. *J Biol Chem*, 1938; 124: 425-36.
- Sharvit LE, Wasser SP, Fares F. The effect of culture liquid ethyl acetate mycelium extracts of medicinal mushrooms on the viability of human pancreatic cancer cells. *International journal of medicinal mushrooms*, 2012; 14(2).
- Siegel R, DeSantis C, Virgo K, Stein K, Mariotto A, Smith T, Cooper D, Gansler T, Lerro C, Fedawa S, Lin C, Leach C, Cannady RS, Cho H, Scoppa S, Hachey M,

- Kirch R, Jemal A, Ward E. Cancer treatment and survivorship statistics, 2012. *CA: a cancer journal for clinicians*, 2012; 62(4): 220-241.
- Singh A, Fatima K, Srivastava A, Khwaja S, Priya D, Singh A, Mahajan G, Alam S, Saxena AK, Mondhe DM, Luqman S, Chanda D, Khan F, Negi AS. Anticancer activity of gallic acid template-based benzylidene indanone derivative as microtubule destabilizer. *Chemical Biology Drug Design*, 2016; 88(5): 625-634.
- Singerist HE. The historical development of the pathology and therapy of cancer. In: Marti-İbanez F, editor. *On the history of medicine*. New York: MD Publications Inc; 1960. p. 59-65.
- Smina TP, Mathew J, Janardhanan KK. *Ganoderma lucidum* total triterpenes attenuate DLA induced ascites and EAC induced solid tumours in Swiss albino mice. *Cellular and Molecular Biology*, 2016; 62(5): 55-59.
- Smith JE, Rowan N, Sullivan R. Medicinal mushrooms: their therapeutic properties and current medical usage with special emphasis on cancer treatments. *Cancer Research UK*, London, 2002: 91.
- Sudhakar A. History of cancer, ancient and modern treatment methods. *Journal of Cancer Science & Therapy*, 2009; 1(2): 1-4.
- Sümer S. Genel mikoloji, Nobel Yayın Dağıtım, İstanbul, 2006: 1-61.
- Thomas JA, Buchsbaum RN, Zimniak A, Racker E. Intracellular pH measurements in Ehrlich ascites tumor cells utilizing spectroscopic probes generated in situ. *Biochemistry*, 1979; 18(11): 2210-2218.
- Topal T, Öter Ş, Korkmaz A. Melatonin ve kanserle ilişkisi. *Genel Tıp Derg*, 2009; 19(3): 138-143.
- Trudell S. The genus *Tricholoma* in North America. Volume, 2012; 5: 23-31.
- Tuncay, T. Genç kanser hastalarının hastalık anlatılarının güçlendirme yaklaşımı temelinde analizi. *Journal of Society & Social Work*, 2009; 20(2).
- Tutkun RT. Turp (*Raphanus sativus*) bitkisinin soğanından elde edilen ekstraktın Ehrlich asit tümörü üzerine etkisinin araştırılması, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri, 2019: 3-45.
- Uçar S. Kurt üzümü (*Lycium Barbarum*) ekstraktının Ehrlich asit tümör oluşturulan farelerde antitümöral etkisinin araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri, 2018: 3-68.

- Uğurluer G, Karahan A, Edirne T, Şahin HA. Ayaktan kemoterapi ünitesinde tedavi alan hastaların tamamlayıcı ve alternatif tıp uygulamalarına başvurma sıklığı ve nedenleri. Van Tıp Dergisi, 2007;14(3): 68-73.
- Uslu U. *Tricholoma anatolicum Doğan & Intini* ve *Cantharellus Cibarius Fr.*' un Antioksidan, Antimikrobiyal Etkilerinin ve Yağ Asidi Kompozisyonunun Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya, 2007: 5-18.
- Wang Y, Chen Y, Zhang X, Cai G, An S, Wang X, Teng L, Wang D. *Tricholoma matsutake* aqueous extract induces hepatocellular carcinoma cell apoptosis via caspase-dependent mitochondrial pathway. BioMed research international, 2016.
- Yavuz M, İlçe AÖ, Kaymakçı Ş, Bildik G, Dıramalı A. (2007). Meme kanserli hastaların tamamlayıcı ve alternatif tedavi yöntemlerini kullanma durumlarının incelenmesi. Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences, 2007; 27(5): 680-686.
- Yenidoğan G. Döteryumu azaltılmış suyun Ehrlich ascites tümörü taşıyan balb/c türü farelerin karaciğer ve kan parametreleri üzerinde etkisinin incelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 2010: 17-26.
- Yeşil H, Kıran B, Alkan H, Ateş B, Kayalı B, Büyükçam S, Güler S, Ünlü İ, Sert ZN, Uysal M. Afyon Kocatepe Üniversitesi'nde meme kanseri tanısı ile takip edilmekte olan hastalarda tamamlayıcı ve alternatif tedavi kullanımı. Kocatepe Tıp Dergisi, 2018; 19(2): 42-47.
- Yıldırım E. Kanser hastası yakınlarının algıladığı sosyal destek ile umutsuzluk düzeyleri arasındaki ilişkinin incelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Aydın Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 2017: 1-37.
- Yıldırım YK, Fadiloğlu Ç, Uyar M. Palyatif kanser bakımında tamamlayıcı tedaviler. Ağrı Dergisi, 2006; 18(1): 26-32.
- Yılmaz S. Curcumun'in Ehrlich assit ve solid tümör oluşturulan farelerde antitümöral etkisinin araştırılması, Doktora Tezi, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri, 2016; 3-51.
- Yokus B, Çakır DÜ. Kanser biyokimyası. Dicle Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi, 2012: 1(2): 7-18.

Yuan J, Yankner BA. Apoptosis in the nervous system. Nature, 2000; 407(6805): 802-809.

Zeybek Ü. Kanser araştırmaları ve deneysel modeller. Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Dergisi, 2013; 3: 187-198.





T.C.  
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ  
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU  
(EÜHADYEK)



Tarih: 06.03.2019

Toplantı Sayısı: 03

Karar No:19/052

Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 06.03.2019 tarihinde Prof. Dr. Fahri OĞUZKAYA 'nın başkanlığında toplanmıştır.

Üye Adı/Soyadı	Ünvanı	Bölümü	İmza
Fahri OĞUZKAYA	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi	
Coşkun TEZ	Prof. Dr.	Fen Fakültesi	
Gültekin ATALAN	Prof. Dr.	Veteriner Fakültesi	
Füsun Ferda ERDOĞAN	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi	
Serpil SARIÖZKAN	Prof. Dr.	Veteriner Fakültesi	
Yusuf KONCA	Prof. Dr.	Ziraat Fakültesi	
Ahmet ÖZTÜRK	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi	
M. Betül AYCAN	Prof. Dr.	Eczacılık Fakültesi	
Zühal HAMURCU	Doç. Dr.	Tıp Fakültesi	
Sezer DEMİRBUĞA	Doç. Dr.	Diş Hekimliği Fakültesi	
Zeynep CAFEROĞLU	Dr.Öğr.Üyesi	Sağlık Bilimleri Fakültesi	
Çağrı Çağlar SİNMEZ	Dr.Öğr.Üyesi	Veteriner Fakültesi	
Burcu ÜNLÜ ENDİRLİK	Dr.Öğr.Üyesi	Eczacılık Fakültesi	
Zeynep SOYER SARICA	Dr.	Deneyel Araştırmalar Uygulama ve Arş.Mrkz.	KATILMADI
Özge AL	Arş. Görevlisi	Genom ve Kök Hücre Merkezi (GENKÖK)	
Ali KOÇ	Kurumla İlişkisi Olmayan Üye	Sivil Üye	KATILMADI
Mehmet TAV	Dernek Üyesi (Avukat)	Sivil Toplum Kuruluşu Temsilcisi	KATILMADI

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi A.D.'dan Prof. Dr. Nihat EKİNCİ tarafından sunulan "Katrın-Sedir Mantarı'ndan (Tricholoma anatolicum) Elde Edilen Ekstraktın Ehrlich Assit Tümörü Üzerine Antikanserojen Etkisinin Araştırılması" başlıklı proje incelenerek çalışmanın yapılmasının uygun olacağına ve Rektörlük makamına sunulmasına oybirliğiyle karar verildi.

Tarih : 06.03.2019  
Etik Kurul Başkanı : Prof. Dr. Fahri OĞUZKAYA  
İmza :

**Sayı:** 68742022- 604.01.02-054  
**Konu:** Değerlendirme ve Onay

28/03/2019

**Sayın; Prof.Dr. Nihat EKİNCİ**

***“Katran Sedir Mantarı’ndan (tricholoma anatolicum) Elde Edilen Ekstraktın Ehrlich Assit Tümörü Üzerine Antikanserojen Etkisinin Araştırılması”*** başlıklı projenizin Merkezimiz Kök Hücre, Genom ve Deneysel Hayvanları Barınağı Birimlerinde (mouse cell,steril kabin,inkübatör) yapılması uygun bulunmuştur.

Gereğini bilgilerinize rica ederim.

Dr.Öğr.Üyesi Z.Burçin GÖNEN  
Merkez Müdür Yrd.V.

# KATRAN-SEDİR MANTARI'NDAN (TRICHOLOMA ANATOLICUM) ELDE EDİLEN EKSTRAKTIN EHRLICH ASSİT TÜMÖRÜ ÜZERİNE ANTİKANSEROJEN ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

## ORIJINALLIK RAPORU

% <b>7</b>	% <b>7</b>	% <b>5</b>	%
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

## BİRİNCİL KAYNAKLAR

<b>1</b>	<b>zombiedoc.com</b> İnternet Kaynağı	% <b>1</b>
<b>2</b>	<b>dspace.baskent.edu.tr:8080</b> İnternet Kaynağı	% <b>1</b>
<b>3</b>	<b>repository.up.ac.za</b> İnternet Kaynağı	% <b>1</b>
<b>4</b>	<b>dergipark.org.tr</b> İnternet Kaynağı	% <b>1</b>
<b>5</b>	<b>readgur.com</b> İnternet Kaynağı	<% <b>1</b>
<b>6</b>	<b>www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080</b> İnternet Kaynağı	<% <b>1</b>
<b>7</b>	<b>dergipark.ulakbim.gov.tr</b> İnternet Kaynağı	<% <b>1</b>
<b>8</b>	<b>ERTEKİN, Tolga, CEYLAN, Dilek, NİSARİ,</b>	

# ÖZGEÇMİŞ

## KİŞİSEL BİLGİLER

Adı, Soyadı: Mustafa TAŞTAN

Uyruğu: Türkiye (TC)

Doğum Tarihi ve Yeri: 15.03.1994, Kayseri

Medeni Durumu: Bekar

Tel: +90 537 628 34 22

Yazışma adresi: Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı  
Talas/KAYSERİ

## EĞİTİM

### Derece Kurum Mezuniyet Tarihi

Yüksek Lisans: Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı, 2018-2020

Lisans: Mevlana Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Yüksekokulu, 2016

Lise: Talas Fatma Kemal Timuçin Anadolu Lisesi, 2012

## İŞ DENEYİMLERİ

### Yıl Kurum Görev

## ÜNİVERSİTE DENEYİMİ

Beykent Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi ABD Büyükçekmece/İSTANBUL,  
Laboratuar Sorumlusu, 2019

Lokman Hekim Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi ABD Çankaya/ANKARA,  
Laboratuar Sorumlusu, 2020

Lokman Hekim Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi ABD Çankaya/ANKARA,  
Araştırma görevlisi, 2020- halen devam ediliyor

## ÜNİVERSİTE DIŞI DENEYİM

İlgim Özel Eğitim ve Rehabilitasyon Merkezi KAYSERİ, Fizyoterapist, 2016-2017

Kayseri Kızılay Hastanesi, Fizyoterapist, 2018

## YABANCI DİL

Yökdil: 58.75

## YAYINLAR

- 1) Yılmaz S, Tokpınar A, **Tastan M**, Ates S, Degermenci M, Unalmis D, Patat D, Susar H. Analysis of average index values of mandible. EJMI, 2019; 3(3): 189–195.
- 2) Yılmaz S, Tokpınar A, **Tastan M**, Ates S, Unalmis D, Patat D. Morphometric investigation of anatomic structures on humerus. Bozok Med J, 2020; 10(2): 125-131.

## **KURS VE SEMİNERLER**

1. Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası 10 Eylül 2018- 7 Aralık 2019 Kayseri
2. 20. Ulusal Anatomi Kongresi Katılım Sertifikası (İstanbul Medipol Üniversitesi) 27-31 Ağustos 2019 İstanbul
3. SPM12 ile fMRI Data Analizi ve Voxel Based Morfometri kursu Anatomi Prof. Dr. Niyazi Acer 10-11 Kasım 2018 Kayseri
4. Web tabanlı yazılımlar kullanarak Beyin MR T1 görüntüleri üzerinde hacim hesaplama ve CT görüntülerinde bazı organların manuel segmentasyonu (Anatomi) Prof. Dr. Niyazi Acer 30 Kasım- 1 Aralık 2019 İstanbul