

**ERZURUM VE ARTVİN İLLERİNDE TESPİT EDİLEN
BAZI LİKEN TÜRLEİNİN SİTOGENETİK VE
OKSİDATİF ETKİLEİNİN ARAŞTIRILMASI**

Elanur AYDIN

**Yüksek Lisans Tezi
Biyoloji Anabilim Dalı
Yrd. Doç. Dr. Hasan TÜRKEZ
2011
Her Hakkı Saklıdır**

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**ERZURUM VE ARTVİN İLLERİNDE TESPİT EDİLEN BAZI
LİKEN TÜRLERİNİN SİTOGENETİK VE OKSİDATİF
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Elanur AYDIN

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ERZURUM

2011

Her hakkı saklıdır



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



TEZ ONAY FORMU

Erzurum ve Artvin İllerinde Tespit Edilen Bazı Liken Türlerinin Sitogenetik ve Oksidatif Etkilerinin Araştırılması

Yrd. Doç. Dr. Hasan TÜRKEZ danışmanlığında, Elanur AYDIN tarafından hazırlanan bu çalışma 13/01/2011 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak **oybirliği** ile kabul edilmiştir.

Başkan : Doç. Dr. Fatime GEYİKOĞLU

İmza : 

Üye : Doç. Dr. Ali ASLAN

İmza : 

Üye : Yrd. Doç. Dr. Hasan TÜRKEZ

İmza : 

(imza)

Yukarıdaki sonucu onaylıyorum

Enstitü Müdürü

Prof. Dr. Ömer AKBULUT

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ERZURUM VE ARTVİN İLLERİNDE TESPİT EDİLEN BAZI LİKEN TÜRLERİNİN SİTOGENETİK VE OKSİDATİF ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Elanur AYDIN

Atatürk Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Hasan TÜRKEZ

Likenler, mantarlar ve alglerin birlikteliğinden oluşan simbiyotik organizmalardır. Bu organizmalar, ülkemizde oldukça yaygın olarak bulunmaktadır. Pek çok liken türü yüzyıllar boyunca tıbbi amaçlı olarak kullanıldığı ve tüberküloz, hemoroid, ülser, dizanteri ve kanser gibi pek çok hastalığın tedavisinde etkili oldukları rapor edilmiştir. Güvenilirlik değerlendirmeleri sonrasında, çeşitli likenlerin doğal ilaçların kolay elde edilebilen kaynakları oldukları ve bunların bir gıda desteği olarak ya da ilaç sanayisinde kullanılabileceği belirtilmiştir. Ancak, günümüze kadar çoğu liken türünün yapısı veya biyolojik rolü tam olarak açıklanamamıştır. Bu nedenle, mevcut tez çalışmasında, kültürleri yapılmış insan kan hücrelerinde (n=5) on farklı liken türü (*Bryoria capillaris*, *Peltigera rufescens*, *Xanthoria elegans*, *Usnea florida*, *Hypogymnia physodes*, *Cetraria chlorophylla*, *Phycia aipolia*, *Dermatocarpon intestiniforme*, *Ramalina polymorpha* and *Aspicilia calcarea*) sulu ekstrelerinin genetik ve oksidatif etkilerinin ortaya konması amaçlanmıştır. Bütün liken türleri Ağustos 2010 döneminde Erzurum ve Artvin (Türkiye) illerinden toplandı. Farklı konsantrasyonlarda (0-2000 mg/L) liken ekstreleri kültür tüplerine ilave edildi. Genotoksik etkilerin değerlendirilmesi için Kromozom aberasyonları (KA) ve Mikroçekirdek (MÇ) testleri kullanıldı. İlaven, oksidatif etkileri saptamak için de biyokimyasal parametreler (Toplam antioksidan kapasite [TAK] ve Toplam oksidatif durum[TOD]) değerlendirildi. *In vitro* test sistemlerimizde, insan lenfositleri üzerine test edilen tüm liken türlerinin non-mutajenik olduğu gözlemlendi. Üstelik, bu ekstreler kültürlerine eklenen likenlerin türüne ve dozuna bağlı olarak antioksidan aktivite gösterdi. Diğer taraftan, ekstreler 1000 mg/L ve üzerindeki konsantrasyonlarında oksidatif strese yol açarak kültürlerin üreme koşullarını olumsuz etkiledi. Sonuç olarak, mevcut çalışmada non-mutajenik ve antioksidan özelliklere sahip olan bu likenler terapötiklerin yeni bir kaynağı olarak önerilmektedirler.

2011, 85 sayfa

Anahtar Kelimeler: Artvin, Erzurum, insan lenfositleri, *in vitro*, kromozom aberasyon testi, liken, mikroçekirdek testi, oksidatif durum

ABSTRACT

MS Thesis

THE INVESTIGATION OF CYTOGENETIC AND OXIDATIVE EFFECTS OF SOME LICHEN SPECIES LOCATED IN ERZURUM AND ARTVİN CITIES

Elanur AYDIN

Atatürk University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Supervisor: Asst. Prof. Dr. Hasan TÜRKEZ

Lichens are symbiotic organisms composed of fungi and algae, and are very common in Turkey. Several lichen species have been used for medicinal purposes throughout the ages, and they were reported to be effective in the treatment of different disorders including tuberculosis, hemorrhoids, ulcer, dysentery and cancer. It is revealed that they may be easily accessible sources of natural drugs that could be used as a possible food supplement or in pharmaceutical industry after their safety evaluations. However, so far, the nature and/or biological roles of plenty of lichenes have not been elucidated exactly. Therefore, the aim of this thesis study was to investigate the genetic and oxidative effects of water extracts of ten different lichen species (*Bryoria capillaris*, *Peltigera rufescens*, *Xanthoria elegans*, *Usnea florida*, *Hypogymnia physodes*, *Cetraria chlorophylla*, *Physcia aipolia*, *Dermatocarpon intestiniforme*, *Ramalina polymorpha* and *Aspicilia calcarea*) in cultured human blood cells (n=5). All lichen species were collected from the Erzurum and Artvin provinces (in Turkey) during August 2010. The lichen extracts were added into culture tubes at various concentrations (0 to 2000 mg/L). Chromosome aberrations (CA) and micronucleus (MN) tests were used for genotoxic influences estimation. In addition, biochemical parameters (total antioxidant capacity [TAC] and total oxidative status [TOS]) were examined to determine oxidative effects. In our *in vitro* test systems, it was observed that all tested lichen extracts had no mutagenic effects on human lymphocytes. Furthermore, these extracts exhibited antioxidant properties due to the dose and type of lichen species added to the cultures. On the other hand, the extracts caused sterility of cultures due to oxidative stress at higher concentrations above than 1000 mg/L. In conclusion, these lichens can be a new resource of therapeutics as recognized in this study with their non-mutagenic and antioxidant features.

2011, 85 pages

Keywords: Artvin, Erzurum, human lymphocytes, *in vitro*, chromosome aberration test, lichen, micronucleus assay, oxidative status

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum bu çalışma, Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde yapılmıştır.

Çalışmalarım boyunca bilgi birikimini ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen saygıdeğer hocam, danışmanım Sayın Yrd. Doç. Dr. Hasan TÜRKEZ'e yürekten teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım esnasında deneyiminden faydalandığım ve çalışma materyalimin temin edilmesinde yardımcı olan Sayın Doç. Dr. Ali ASLAN'a teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarım sırasında yardımlarıyla destek olan Sayın Doç. Dr. Ahmet HACİMÜFTÜOĞLU'na, değerli arkadaşım Ebubekir DİRİCAN'a ve Tıbbi Genetik laboratuvarı çalışanlarına teşekkür ederim.

Ayrıca, bu zorlu ve yorucu çalışma dönemimde göstermiş oldukları özveri ve hassasiyetlerinden ötürü çok sevgili babam Samih AYDIN'a, annem Nurcan AYDIN'a ve kardeşlerim Selim AYDIN ve Ahmet AYDIN'a her zaman yanımda oldukları için sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Elanur AYDIN

Ocak 2011

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
1.1. Likenlerin Genel Özellikleri	1
1.2. Likenlerin Tıbbi ve Farmakolojik Önemleri	4
1.2.1. Likenlerin anti-bakteriyal ve anti-fungal etkileri	7
1.2.2. Likenlerin anti-viral etkileri	11
1.2.3. Likenlerin anti-tümör etkileri	12
1.2.4. Likenlerin anti-proliferatif etkileri	13
1.2.5. Likenlerin diğer etkileri	15
1.3. Likenlerin Mutajenik ve Anti-mutajenik Özellikleri	17
1.4. Likenlerin Oksidan/Anti-oksidan Özellikleri	18
1.5. Likenlerin Toksik Etkileri	20
1.6. Tez Kapsamında Test Edilen Liken Türlerine Ait Bilgiler	22
1.7. Genotoksisite Testleri	32
1.8. Oksidatif Stres	35
1.9. Antioksidan Sistem	39
2. KAYNAK ÖZETLERİ	41
3. MATERYAL ve YÖNTEMLER	45
3.1. Materyal	45
3.1.1. Kan örneklerinin alınması ve kültürlerin kurulması	45
3.1.2. Liken ekstraktlarının hazırlanışı	46
3.1.3. Kullanılan kimyasal maddeler	46
3.1.4. Kullanılan aletler ve cihazlar	47
3.1.5. Kullanılan çözeltiler ve hazırlanması	47

3.2. Yöntemler	48
3.2.1. Genotoksisite testleri	48
3.2.2. Biyokimyasal analizler	51
3.3. İstatiksel İşlemler.....	53
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	54
5. TARTIŞMA.....	64
KAYNAKLAR	71
ÖZGEÇMİŞ	86

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

%	Yüzde konsantrasyon
° C	Santigrat derece
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre
kg	Kilogram
m	Metre
M	Molarite
mg	Miligram
mM	Milimolar
mm ²	Milimetre kare

Kısaltmalar

APX	Askorbat peroksidaz
BHA	Bütillenmiş hidroksianizol
BHT	Bütillenmiş hidroksitoluen
CAT	Katalaz
DNA	Deoksiribonükleik asit
GPx	Glutatyon peroksidaz
GR	Glutatyon redüktaz
GSH	Glutatyon
GTX	Gliotoksin
IND	İndometazin
KA	Kromozom aberasyonları
KKD	Kardeş-kromatid değişimi
LD ₅₀	Letal doz
LPO	Lipit peroksidasyon
LSD	Least significant difference
MÇ	Mikroçekirdek
MIC	Minimum inhibitör konsantrasyonu

Mikrog	Mikrogram
MPx	Miyeloperoksidaz
NO	Nitrik oksit
PM	Permetrin
PTP1B	Protein tirozin fosfataz 1B
PUFA	Poliansature yağ asitleri
RAN	Ranitidin
RNS	Reaktif azot türleri
ROM	Reaktif oksijen metabolitleri
SOA	Serum oksidasyon aktivitesi
SOD	Süperoksit dismutaz
TAK	Toplam antioksidan kapasite
TBHQ	Tert-bütilhidrokinon
TCM	Geleneksel Çin Tıbbı
TIM	Geleneksel Hint Tıbbı
TOD	Toplam oksidan durum
UA	Usnik asit

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. <i>Aspicilia calcarea</i> likeninden hazırlanan öğütülmüş materyal.....	23
Şekil 1.2. <i>Bryoria capillaris</i> likeninden hazırlanan öğütülmüş materyal	24
Şekil 1.3. <i>Cetraria chlorophylla</i> likeninden hazırlanan öğütülmüş materyal.....	25
Şekil 1.4. <i>Dermatocarpon intestiniforme</i> likeninden hazırlanan öğütülmüş materyal ...	26
Şekil 1.5. <i>Hypogymnia physodes</i> likeninden hazırlanan öğütülmüş materyal.....	27
Şekil 1.6. <i>Peltigera rufescens</i> likeninden hazırlanan öğütülmüş materyal.....	28
Şekil 1.7. <i>Physcia aipolia</i> likeninden hazırlanan öğütülmüş materyal.....	29
Şekil 1.8. <i>Ramalina polymorpha</i> likeninden hazırlanan öğütülmüş materyal	30
Şekil 1.9. <i>Usnea florida</i> likeninden hazırlanan öğütülmüş materyal.....	31
Şekil 1.10. <i>Xanthoria elegans</i> likeninden hazırlanan öğütülmüş materyal	32

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Test edilen liken türleri ve uygulanan konsantrasyonları.....	46
Çizelge 3.2. Araştırmalar esnasında kullanılan aletler ve cihazlar.....	47
Çizelge 4.1. <i>In vitro</i> koşullarda <i>Aspicilia calcarea</i> likeninin sulu ekstrelerinin genetik ve biyokimyasal etkileri	54
Çizelge 4.2. <i>In vitro</i> koşullarda <i>Bryoria capillaris</i> likeninin sulu ekstrelerinin genetik ve biyokimyasal etkileri	55
Çizelge 4.3. <i>In vitro</i> koşullarda <i>Cetraria chlorophyll</i> likeninin sulu ekstrelerinin genetik ve biyokimyasal etkileri	56
Çizelge 4.4. <i>In vitro</i> koşullarda <i>Dermatocarpon intestiniforme</i> likeninin sulu ekstrelerinin genetik ve biyokimyasal etkileri	57
Çizelge 4.5. <i>In vitro</i> koşullarda <i>Hypogymnia physodes</i> likeninin sulu ekstrelerinin genetik ve biyokimyasal etkileri	58
Çizelge 4.6. <i>In vitro</i> koşullarda <i>Peltigera rufescens</i> likeninin sulu ekstrelerinin genetik ve biyokimyasal etkileri	59
Çizelge 4.7. <i>In vitro</i> koşullarda <i>Physcia aipolia</i> likeninin sulu ekstrelerinin genetik ve biyokimyasal etkileri.....	60
Çizelge 4.8. <i>In vitro</i> koşullarda <i>Ramalina polymorpha</i> likeninin sulu ekstrelerinin genetik ve biyokimyasal etkileri	61
Çizelge 4.9. <i>In vitro</i> koşullarda <i>Usnea florida</i> likeninin sulu ekstrelerinin genetik ve biyokimyasal etkileri.....	62
Çizelge 4.10. <i>In vitro</i> koşullarda <i>Xanthoria elegans</i> likeninin sulu ekstrelerinin genetik ve biyokimyasal etkileri	63

1. GİRİŞ

1.1. Likenlerin Genel Özellikleri

Liken terimi ilk kez M.Ö. IV yüzyılda Theophrastus tarafından “Bitkilerin Tarihi” adlı eserde zeytin ağacının üzerindeki yüzeysel büyümeyi belirtmek için kullanılmış yunanca bir kelimedir (Aslan 1995).

Yaklaşık 400 milyon yıl öncesinden beri var olduğu bilinen likenler, halen yaşayan en yaşlı ve en uzun ömre sahip canlılar arasında ilk sırada yer almaktadır. Bazı özel türlerin en az 25 milyon yıldır yaşadığı düşünülmekte hatta bu rakamın 70 milyon olabileceğine inanılmaktadır (Richardson 1975; Richardson 1992; Taylor *et al.* 1995; Nash and Thomas 1996; Baron 1999; Gilbert 2000; Dobson 2005).

Likenler, bir mikobiyont olan mantar ile fotobiyont olan bir ya da daha fazla sayıda alg veya siyanobakteriden oluşan simbiyotik organizmalardır (Nash and Thomas 1996). Likenlerin görünüşü ve yaşayış şekli kendilerini oluşturan alg ve mantarlardan tamamen farklıdır. Liken içerisindeki alg ve mantarların birbirleriyle birleşimleri farklı şekillerde olabilir. Alg ve mantarın liken içerisindeki dağılımı homojen ise böyle basit yapılikenlere “Homeomerik liken”, heterojen ise böyle likenlere de “Heteromerik liken” denir. Önceden mantarların klorofil taşınamaması nedeniyle bir parazit gibi alglerden yararlandığı düşünülmesine rağmen ilerleyen dönemde yapılan araştırmalarla bu açıklama önemini kaybetmiştir. Çünkü likenleri oluşturan alg ve mantarlar arasında bazı iş bölümleri vardır. Mantar ortak yaşam birliğinde algin fotosentez yapabilmesi için ortamdan su ve suda erimiş mineral maddeleri hifleri yardımı ile tespit ederken, alg ise

klorofil taşıdığından fotosentez yaparak birliğin karbonhidrat gereksinimini karşılamaktadır (Aslan 1995).

Likenlerde metabolik aktivite su, ısı ve ışıkla değişkenlik göstermektedir. Fotosentez için en uygun su içeriği %65-90 iken, en uygun sıcaklık 15-20°C'dir. Depo maddesi olarak nişasta bulunur (Cocchietto *et al.* 2002). Her iki organizmada tek başlarına yaşayamayacakları yerlerde beraber kolonize olup liken birliği halinde yaşayabilmektedirler (Nash and Thomas 1996). Bu simbiyoz yaşam birliğinde üreme daha çok eşeysiz üreme birimleri ile olmakta, eşeyli üreme sadece mantar üyelerinde görülmektedir. Temiz hava koşullarında olmak şartıyla, likenler içerisinde kısa ömürlü olan türler neredeyse yok denecek kadar azdır. Günümüzde çevre kirliliği, küresel ısınma, ozon tabakasının delinmesi vb. çevre sorunları dikkate alındığında likenlerin yaşam süresi kısalmış olmasına rağmen, uygun şartlar altında (temiz hava, yeterli nem, ışık vb.) 1000 yıldan fazla hayatta kalabilirler. Likenlerde yıllık büyüme birkaç milimetreden birkaç santimetreye kadar değişmektedir(Aslan 1995).

Likenler, Dünyanın hemen hemen her yerinde yayılış göstermektedirler. Yeterli nemin ve O₂'nin bulunduğu kızgın çöller dahil Arktik ve Antarktik bölgeler ile yüksek dağların dondurucu soğuklarında bile gelişebilirler. Bu organizmalar yüksek yapılı bitkilerin dahi yaşayamadığı taşlar, verimsiz topraklar, kuru ağaç kabukları ve kiremitler üzerinde de yetişebilmektedirler (Nash and Thomas 1996; Aslan vd 1998).

Renk olarak likenler turuncudan kırmızıya, yeşilden kahverengiye, griden siyaha kadar farklı varyasyonlar gösterirler. Boyut olarak yüzeysel olan formlarda 1 mm²'den, sarkan formlarda 2 m'ye kadar bulunabilirler. Üzerinde geliştikleri yüzey bakımından likenler epifitik (ağaç veya odun gibi materyaller üzerinde gelişen likenler), epilistik (kaya veya taş üzerinde yüzeysel gelişen likenler) ve endolitik (kaya veya taş içine kısmen gömülü

olan likenler) olmak üzere 3 grupta toplanrlar (Nash and Thomas 1996; Boustie and Grube 2005).

Likenler bünyelerinde primer ve sekonder olmak üzere iki tip metabolit üretirler. Likenlerin primer metabolitleri yalnız algler tarafından fotosentezle sentezlenmektedir. Bu likenlere özgü primer metabolitler arasında polisakkaritler, aminoasitler, proteinler, polikaretenoidler ve vitaminler sayılabilir (Huneck 2001; Boustie and Grube 2005). Likenlerin sekonder metabolitleri ise daha çok mantarlar tarafından sentezlenmektedir. Likenler, amino asit türevleri, şeker alkoller, alifatik asitler, makrolitik laktonlar, monosiklik aromatik bileşikler, kinin, dibenzofuran, depsid, depsidon, terpenoid, steroid, karatenoid ve difenil eterleri içine alan pek çok sınıfa ait 800'ün üzerinde sekonder metabolit üretmektedir (Huneck and Yoshimura 1996).

Likenlerin sekonder metabolitleri olan liken asitleri likenlere doğadaki karasal süksesyonda öncül bitki olma özelliği kazandırmıştır (Aslan 1995). Yani kumul, kayalık, killi, bataklık ve çakıllı olan ortamlar ilk önce likenler tarafından istila edilmektedir. Bunlara “Öncü populasyonlar” denir. Likenler salgıladıkları liken asitleri sayesinde kayaların üzerinde ince bir toprak tabakası oluşturarak ortamın toprak kalitesini yükseltirler. Likenlerden sonra bu ortamlar kara yosunları tarafından işgal edilir. Böylece ortamdaki organik madde miktarının artması sonucu yüksek yapılı bitkilerin gelişmesine olanak sağlarlar (Lawrey 1986; Nash and Thomas 1996; Müller 2001). Likenler doğal abiyotik şartlara (canlılardan kaynaklanmayan ortam şartları) çok dayanıklı iken, yüksek yapılı bitkilerle rekabete dayanamazlar. Likenler yavaş üremelerinin neden olduğu bu rekabette zayıf kalma dezavantajlarını, ürettikleri sekonder metabolitler (liken asitleri) sayesinde telafi ederler (Nash and Thomas 1996).

Likenler, Dünyada ve ülkemizde çok eski zamanlardan beri çeşitli alanlarda kullanılmıştır. Geçmişten günümüze kadar likenler boya ve kozmetik sanayisinde hammadde olarak, çevresel indikatör olarak, gıda maddesi olarak ve ilaç olarak çeşitli amaçlarla kullanılmıştır (Cocchietto *et al.* 2002; Dilsizoğlu vd 2004; Yazıcı ve Aslan 2006). Ancak likenlerin doğal yollarla üremeleri çok yavaş olduğundan likenlerin bu amaçlarla kullanımları çok azalmıştır (Harmala *et al.* 1992). Aynı zamanda mezar taşları ve bazı tarihi eser yapıtların yaşları ile heyelan ve depremlerin meydana geliş tarihleri de likenler incelenerek belirlenebilmektedir (Armstrong 2004).

1.2. Likenlerin Tıbbi ve Farmakolojik Önemleri

Likenlerin halk hekimliğinde kullanımı 15. yüzyıla dayanmaktadır. 15. yüzyılda batılı herbalistler vücudun herhangi bir organına benzeyen bir bitkinin veya likenin, bu organ üzerinde gelişen hastalıkların tedavisinde kullanılabileceğine inanırlardı. Buna da “imzalar doktrini” adı verilirdi. Bu Geleneksel Hint Tıbbı (TIM) ya da Ayurveda, Geleneksel Çin Tıbbı (TCM) ve Batı Tıp Herbalizm gibi geleneksel halk hekimliğinin kullanıldığı ülkelerde bitki tedavilerinin temelini oluşturmuştur (Bown 2001). İlgili dönemden günümüze kadar likenler hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır ve bunların önemli bir kısmını *Usnea* türleri oluşturmaktadır. Hipokrat *Usnea* likenini üreme organlarıyla ilgili hastalıkları önlemek üzere tavsiye etmiştir (Ingolfstodt 2002). *Usnea sp.* Geleneksel Çin Tıbbında (TCM), Pasifik Adaları ve Yeni Zelanda Geleneksel Tıbbında kullanılmıştır. Bazı *Usnea* türlerinin iltihabı kurutma özelliği olduğu için gırtlak mukozası ve ağız içi iltihaplanmalarını önlemek için kullanılmaktadır. *Usnea filipendula* Stirt Eski Sovyetler Birliği’nde yaralar ve kesikler için kullanılmıştır (Chevallier 1996).

Akciğer ve sinirsel hastalıkların tedavisinde sırasıyla *Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm. (Stictaceae) ve *Parmelia sulcata* Taylor (Parmeliaceae) kullanılmaktadır (Rizzini 1952). Sarı renge sahip *Xanthoria parietina* (L.) Th. Fries (Lobariaceae) sarılık tedavisinde kullanılmıştır (Bown 2001). *Peltigera sp.* kuduz ve hidrofobinin tedavisinde kullanılmıştır. Aynı cinsin bir başka türü olan *Peltigera canina* (L.) Willd halk hekimliğinde karaciğer toniği ve laksatif olarak kullanılmaktadır. *Peltigera aphthosa* (L.) Willd. İrlanda'da anti-paraziter olarak kullanılmıştır. Kuzey Kaliforniya halkı mide hastalıklarının tedavisinde *Letharia vulpina* (L.) Hue. (Parmeliaceae) likenini kullanmıştır.

Dictyonema'nın yeni bir türü Waorani tarafından halüsinojen olarak kullanılmıştır (Davis and Yost 1983). Arabistan tıbbında *Alectoriausneoides splenomegali*'nin (dalak büyümesi) tedavisinde kullanılmıştır. Alfacar ve Viznar'da *Pseudovernia furfuracea* (L.) Zopf. (Parmeliaceae) konsantre içeceği solunum hastalıklarının tedavisi için kullanılmaktadır. *Ramalina bourgeana* Mont. Ex Nyl. (Ramalinaceae) idrar söktürücü ve taş eritme özelliklerinden dolayı tüketilmektedir (González-Tejero 1995). *Flavocetraria nivalis* (L.) Kärnefelt ve Thell (Parmeliaceae) likeninden hazırlanan çay Polonya Qollahuaya Andeans yerlileri tarafından kalp krizi ve mide bulantısının tedavisi için kullanılmaktadır (Bastien 1983).

İrlanda yosunu olarak bilinen *Cetraria islandica* (L.) Ach. (Parmeliaceae) genellikle akciğer hastalıkları için değerli bir halk ilacıdır ve yaraları iyileştirici özelliği olmadığından böbrek ve mesane hastalıklarının yüzeysel tedavisinde kullanılmaktadır (Bown 2001). Bu liken genellikle halk hekimliğinde ağız ve gırtlak mukozasının hafif iltihaplanmasının tedavisi için kullanılmaktadır. *C. islandica* hazımsızlık tedavisinde ve iştah kaybının giderilmesinde de kullanılır. Ayrıca bu liken Avrupa Geleneksel Tıbbında, kanser tedavisinde kullanılmaktadır (Chevallier 1996).

Cladonia rangiferina (L.) F.H. Wigg. Syn. ve *Cladina rangiferina* (L.) Nyl. (Cladoniaceae) en yaygın olarak çalışılan ren geyiği likenleridir. Kuzey yerli insanları soğuk algınlığı, artrit, ateş ve diğer hastalıklarını tedavi etmek için kullandıkları tıbbi çaylarda rengeyiği likenlerini kullanmışlardır (Perez-Llano 1944). Ren geyiği likenleri artrit eklemlerinin ağrısını hafifletmek için bir yara lapası olarak kullanılmıştır. Ren geyiği likenleri sarılık, kabızlık, konvülsiyon, öksürük ve tüberküloz tedavisinde kullanılmaktadır (Bown 2001). *Cladonia pyxidata* (L.) Hoffm. boğmaca için yararlı bir çözümdür (Chevallier 1996).

Parmelia chinense (Osbeck) Hale and Ahti. Hindistan'da idrar söktürücü, baş ağrısı losyonu ve yaraları iyileştirmeye yardımcı toz olarak kullanılmaktadır. *Parmelia sancti-angeli* (Lynge) Hale Orta Hindistan'da tinea (mantar hastalığı) gibi hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Hardal ve bezir yağı ile karıştırılmış likenin külü, hastalıktan zarar görmüş yere uygulanır. *Parmelia peforatum* (Jacq.) A. Massal Afganistan'da tıbbi olarak bilinmektedir (Chandra and Singh 1971). *Parmelia nepalense* (Taylor) Hale ex. Sipman Nepal'de diş ağrısı ve boğaz ağrısı tedavisinde kullanılmaktadır (Kumar *et al.* 1996). *Heterodermia diademata* (Taylor) D. D. Awas. (Physciaceae) Hindistan da kesik ve yaralar için kullanılmaktadır (Saklani and Upreti 1992).

Likenler yapılarında bulunan sekonder metabolitlerden (likan asitleri) dolayı pek çok hastalık üzerinde iyileştirici etkiye sahip olmalarının yanı sıra, antibiyotik, antimikrobiyal, antiviral, antiprotozoal, antioksidan, antienflamatuar, analjezik, antipüretik, antiproliferatif ve sitotoksik aktiviteye de sahiptirler.

1.2.1. Likenlerin anti-bakteriyal ve anti-fungal etkileri

Likenlerin yaklaşık %50'sinin antibiyotik özelliğe sahip olduğu tahmin edilmektedir (Sharnoff 1997). *Parmelia physodes* (L.) Ach. likeninin antibiyotik özelliğe sahip olduğu kaydedilmiştir (Mordraksi 1956). Likenlerden izole edilen usnik asitin geniş spektrumlu bir antibiyotik olduğu rapor edilmiştir (Shibamoto and Wei 1984, Rowe *et al.* 1991; Dobrescu *et al.* 1993; Abo-Khatwa *et al.* 1996; Cocchietto *et al.* 2002). Likenlerden elde edilen bir başka sekonder metabolit olan vulpinik asitin ise hafif antibiyotik özelliğe sahip olduğu kaydedilmiştir (Lauterwein *et al.* 1995).

Likenlerden izole edilen evernik asit, vulpinik asit ve usnik asitin biyolojik aktivitelerinin araştırıldığı bir çalışmada bu liken asitlerinin *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* ve *Bacillus megaterium* gibi gram pozitif bakterileri inhibe ettiği görülürken; *Escherichia coli* ya da *Pseudomonas aeruginosa* gibi gram negatif bakterilere etki edemediği görülmüştür (Lawrey 1986).

Cetraria aculeata (Schreber) Fr. likeninin aseton, dietil eter, etanol ekstraktları ile bunların etken maddesi protolikhesterinik asit *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Aeromonas hydrophila*, *Proteus vulgaris*, *Streptococcus faecalis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, ve *Listeria monocytogenes*'e karşı pozitif olarak denenmiştir (Turk vd 2003). *Alectoria sarmentosa* (Ach.) Ach. (Alectoriaceae) likeninin alkolik ekstresinden elde edilen alektosarmentin, (-)- usnik asit, physodik asit ve 8'-O-etil-beta-alektoronik asit gibi sekonder liken metabolitlerinin antimikrobiyal etki gösterdiği kaydedilmiştir (Gollapudi *et al.* 1994). Crockett ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada *Hypogymnia apinnata* (atranorin), *Letharia columbiana* (vulpinik asit), *Lobaria pulmonaria* (stiktik asit, konstiktik asit ve norstiktik asit) and *Usnea filipendula*

(usnik asit ve salazinik asit); likenlerinin sırasıyla *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella gallinarum* ve *Serratia marcescens*'e karşı önemli antibiyotik etkilere sahip oldukları rapor edilmiştir (Crockett *et al.* 2003).

Parmelia sulcata (Taylor) likeninin aseton, kloroform, dietil eter, metanol, petrol eter ekstraktları ile bu likenin etken maddesi salazinik asitin *Aeromonas hydrophila*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Listeria monocytogenes*, *Proteus vulgaris*, *Yersinia enterocolitica*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis*, *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, ve *Penicillium notatum*'a karşı antimikrobiyal etkisi kanıtlanmıştır (Candan vd 2007).

Yapılan bir araştırmada *Hypogymnia tubulosa* (Schaerer) Havaas (Parmeliaceae) likeninden izole edilen 3-hidroxyphysodik asitin *Aeromonas hydrophila*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*, *Proteus vulgaris*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis* ve *Candida albicans*'a karşı antimikrobiyal etkisi rapor edilmiştir (Yilam *et al.* 2005).

Ramalina farinacea (L.) Ach. likeninin aseton ekstresi ve (+)- usnik asit bileşeni *Bacillus subtilis*, *Listeria monocytogenes*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis*, *Yersinia enterocolitica*, *Candida albicans* ve *Candida glabrata*'ya karşı antimikrobiyal etki göstermiştir. Yine aynı likenden izole edilen norstiktik asit *Yersinia enterocolitica* dışındaki yukarıdaki mikroorganizmalara ve *Aeromonas hydrophila*'ya karşı antimikrobiyal etki göstermiştir. Protosettrarik asit ise sadece test edilen mayalardan *Candida albicans* ve *Candida glabrata*'ya karşı antimikrobiyal etki göstermiştir. Ancak ipliksi mantarlara karşı likenin aseton ekstresinin antifungal etkisi gözlenmemiştir (Tay vd 2004).

Cladonia furcata (Huds.) Schrad, *Parmelia caperata* (L.) Ach, *Parmelia pertusa* (Schränk.) Schaer., *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl. ve *Umbilicaria polyphylla* (L.) Baumg. likenlerinin aseton, metanol ve sulu ekstraktlarının antimikrobiyal etkisinin 6 tür bakteri ve 10 tür mantar kullanılarak değerlendirildiği bir çalışmada, bakteri türlerinin mantar türlerinden daha duyarlı olduğu görülmüştür. Genellikle metanol ekstraktlarının aseton ekstraktlarından daha güçlü etki gösterdikleri tespit edilmiştir (Ranković B *et al.* 2007)

28 gıda kaynaklı bakteri ve mantar türüne karşı *Parmelia sulcata* (Taylor) likeninin aseton, kloroform, dietil eter, metanol, petrol eter ekstraktlarının ile onun salazininik asit bileşeninin antimikrobiyal etkisinin araştırıldığı bir çalışmada petrol eter dışındaki bütün ekstraktların *Aeromonas hydrophila*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Listeria monocytogenes*, *Proteus vulgaris*, *Yersinia enterocolitica*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis*, *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus* ve *Penicillium notatum*'a karşı antimikrobiyal etki gösterdiği kaydedilmiştir. Salazininik asitin ise *L. monocytogenes*, *P. vulgaris*, *Y. enterocolitica* ve *S. faecalis*'e karşı etki gösteremediği, ancak *Pseudomonas aeruginosa* ve *Salmonella typhimurium*'a karşı iyi etki gösterdiği kaydedilmiştir (Candan vd 2007).

Andean likenlerinden *Protosnea poeppigii* (Nees and Flot.) Vain. (Parmeliaceae) ve *Usnea florida* (L.) Wigg. Acharius ekstraktları 50 ve 100 microg/mL'lik MIC (minimum inhibitör konsantrasyonu) değerleri arasında *Microsporum gypseum*, *Trichophyton mentagrophytes* ve *T. rubrum* gibi patojen mantarlara karşı antimikrobiyal etki göstermiştir. Bu likenlerden izole edilen isodivaricatik asit ve divaricatinik asit sırasıyla 50 ve 100 microg/mL'lik MIC değerleri ile *T. mentagrophytes* ve *T. rubrum*'a karşı ve 50 microg/mL'lik MIC değeri ile de *M. gypseum*'a karşı antifungal etki göstermiştir (Schmeda-Hirschmann *et al.* 2008).

Usnik asit içeren *Usnea florida* (L.) Wigg., *Usnea barbata* (L.) Wigg., *Usnea longissima* Ach., *Usnea rigida* Vain., *Usnea hirta* (L.) Wigg. ve *Usnea subflorida* (Zahlbr.) Mot. likenlerinin asetonlu ekstralarının *Escherichia coli* (ATCC 35218), *Enterococcus faecalis* (RSKK 508), *Proteus mirabilis* (Pasteur Ens. 235), *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* ve *Bacillus megaterium*'a karşı antimikrobiyal aktivitesinin araştırıldığı bir çalışmada artan usnik asit miktarına bağlı olarak antimikrobiyal aktivitenin de arttığı gösterilmiştir (Cansaran vd 2006).

Cladonia rangiformis likeninin kloroform, metanol ve sulu ekstralarının zayıf bir antimikrobiyal aktivite gösterdiği gözlenirken, söz konusu likenlerin hiçbir antifungal etki göstermediği gözlenmiştir (Yücel vd 2007).

Parmotrema dilatatum (Vain.) Hale, *Parmotrema tinctorum* (Nyl.) Hale, *Pseudoparmelia sphaerospora* (Nyl.) Hale ve *Usnea subcavata* (Motyka) likenlerinden izole edilmiş ve tanımlanmış fenolik bileşenlerin birkaç sınıfı olan depsid türevleri (atranorin, diffraktaik ve lekanorik asitler), depsidon türevleri (protosetrarik, salazinik, hypostiktik ve norstiktik asitler), ksanton türevleri (likhexanthone ve sekalonik asit), usnik asit, 7 orsellinik asit esteri, 5 salazinik asit 8',9'-O-alkil türevlerinin *Mycobacterium tuberculosis*'e karşı anti-tüberküler aktivitesi araştırılmış ve diffraktaik asitin en iyi aktivite gösteren bileşen olduğu rapor edilmiştir (Honda *et al.* 2010).

Bryoria fuscescens, *Dermatocarpon intestiniforme*, *Letharia vulpina*, *Parmelia caperata*, *Peltigera rufescens* ve *Physcia aipolia* likenlerinin aseton, kloroform ve petrol eter ekstralarının bazı gram pozitif bakterilere (*Bacillus subtilis* ATTC 25923, *Staphylococcus aureus* ATTC 43300, *Staphylococcus aureus* ATTC 25923, *Listeria monocytogenes* ve *Staphylococcus epidermidis* ATTC 14990) karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği rapor edilmiştir. Söz konusu liken türlerinin bazı gram negatif

bakteriler (*Escherichia coli* ATTC 25922, *Pseudomonas aureogenes* ATTC 10145 ve *Streptococcus typhimurium* ATTC 14028) ile mikrobiyal bir mantar olan *Candida albicans*'a karşı ise antimikrobiyal aktivite göstermediği kaydedilmiştir (Aslan vd 2001).

Yapılan bir araştırmada *Cetraria islandica* (L.) Ach. likenin bazı Gram (+) bakterilere karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu gözlenirken, fakat Gram (-) bakterilere ve mantarlara karşı ise antimikrobiyal bir aktiviteye sahip olmadığı gözlenmiştir (Dülger vd 1998).

1.2.2. Likenlerin anti-viral etkileri

Teloschistes chrysophthalmus (L.) Th. Fr. (Teloschistaceae) likeninden izole edilen usnik asit ve *Ramalina celastri* likeninden izole edilen parietinin Junin ve Tacaribe virüslerine karşı antiviral etkisi kanıtlanmıştır (Fazio *et al.* 2007). Esimone ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada *Parmelia perlata* (L.) Ach. likeninden elde edilen ham polisakkarit fraksiyonunun sarı humma virüsüne karşı özel antiviral aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir (Esimone *et al.* 2007). Bazı doğal olarak meydana gelen antrakinin, biantronlar ve hiperisin türevlerinin antiviral aktiviteleri son-nokta CPE (viral sitopatik etkiler) yöntemi ve plak testleri ile karşılaştırılmıştır. Optimum şartlar altında ışığa maruz bırakılmış hiperisin, 7,7'-diklorohiperisin ve 5,7-dikloroemodin'in her iki yöntemde de HSV-1 (herpes simpleks virüsü tip 1)'e karşı güçlü inhibitör etki gösterdiği kaydedilmiştir. Emodin, 7-kloroemodin ve 7-kloro-1-O-metilemodin'in virüsünü kısmen inaktive ettiği kaydedilirken diğer antrakininlerin inaktif oldukları kaydedilmiştir (Cohen *et al.* 1996).

Xanthoria parietina (L.) Th.Fr. likeninin sulu ekstresi ve *Xanthoparmelia tinctoria* (Maheu & A. Gillet) likeninin etanol ekstresinin antiviral aktiviteye sahip olduğu rapor edilmiştir (Karagöz ve Aslan 2005).

1.2.3. Likenlerin anti-tümör etkileri

Mikropartiküllerin kemoterapinin geleceğinde büyük rol oynayacağı düşünülmektedir. Bu polimerik taşıyıcı sistemler antikanser ilaçların yan etkilerini azaltırken tedavi edici aktiviteyi en üst düzeye çıkarma yeteneğine sahiptir. Usnik asit, antitümör aktiviteye sahip bir liken sekonder metabolitidir. Yapılan deneyler sonucunda PLGA-mikroküreleri içindeki usnik asit, serbest usnik asit tedavisine kıyasla tümör inhibisyonunda daha etkili olduğu tespit edilmiştir (Ribeiro-Costa *et al.* 2004)

Cetraria laevigata (Rassad.) likeni polisakkaritlerinin antitümör etkisi sarkom 180, Ehrlich asidik tümör, servikal kanser u-14 ve lösemi L7217’li fareler kullanılarak değerlendirilmiştir. Sonuçlar *C. laevigata* polisakkaritlerinin 200 mg/kg (1/5 LD50) dozunda farelerde sarkom 180, Ehrlich asidik tümör, servikal kanser u-14 büyümesini inhibe edebildiğini göstermiştir (Wang *et al.* 1991). Yapılan bir çalışmada likenlerden izole edilen pannarin’in hücre büyümesini inhibe ettiğı ve insan prostat kanser DU-145 hücrelerinde hücre ölümüne neden olduğu rapor edilmiştir (Maier *et al.* 1999). İsrail ve Rusya’dan *Collema flaccidum* (Ach.) Ach. (Collemataceae) likeninden izole edilen biantrakininon glikozidler’in antitümör etkiye sahip olduğu kaydedilmiştir (Rezanka and Dembitsky 2006).

Sphaerophorin, pannarin ve epiphorellik asit-1 gibi liken metabolitlerinin insan prostat kanser (DU-145) hücrelerinin büyümesini inhibe ettiğı gözlenmiştir. Aynı çalışmada

Sphaerophorin, pannarin ve epiphorellik asit-1'in gelişmiş prostat kanser hücrelerinin apoptozisini indüklediği görülmüştür (Russo *et al.* 2006).

Xanthoparmelia scabrosa (Tayl.) Hale likeninden izole edilen scabrosin esterleri (Ses) sekonder metabolitlerinin epipolythiodioxopiperazine (ETP) sınıfına ait olduğu ve bu toksinlerin nanomolar konsantrasyonlarda insan tümör hücrelerine karşı aktif olduğu gözlenmiştir. ETP sınıfının diğer bir örneği olan gliotoksinin hücrelerde apoptosisi indüklediği gözlenmiştir. Ayrıca ETP toksinlerinin duyarlı sistein rezidüleriyle etkileşim yoluyla enzimlerin bir çeşidini baskıladığı belirtilmiştir (Moerman *et al.* 2003).

Liken metabolitlerinden sphaerophorin, pannarin ve epiphorellik asit-1'in DU-145 prostat kanser hücrelerinin büyümesini inhibe ettiğini rapor etmişlerdir. Ayrıca bu metabolitlerin ilerlemiş prostat kanser hücrelerin apoptosizine neden olduğu kaydetmişlerdir (Russo *et al.* 2006).

1.2.4. Likenlerin anti-proliferatif etkileri

Ingolfssdottir ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada *Peltigera leucophlebia* (Nyl.) Gyeln. (Peltigeraceae) likeninin ekstrelerinden elde edilen ornisol türevleri tenuiorin ve metil orsellinat, soyadan elde edilen 15-lipoksijenaz'a karşı *in vitro* da inhibitör etki gösterdiği kaydedilmiştir. Liken metabolitlerinin neden olduğu bu 15-lipoxygenase inhibisyonu ile antiproliferatif etkiler arasında bir ilişki gözlenmiştir. Söz konusu çalışmada tenuiorin ve metil orsellinat insan göğüs, pankreas ve kolon kanser hücre kültürlerinde antiproliferatif etki için ayrıca denenmiştir. Sonuçta metil orsellinat'ın antiproliferatif etkisi gözlenmemiştir, ancak tenuiorin orta dereceli etki gösterdiği

belirlenmiştir (Ingolfssdottir *et al.* 2002). İnsan HT-29 kanser hücrelerinde *Lethariella zahlbruckneri* (Du Rietz) Krog ekstrelerinin antiproliferatif etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada bu likenin hem aseton ekstresi hem de metanolik ekstresinin HT-29 hücrelerinde doza ve zamana bağlı olarak hücre sayısını azalttığı görülmüştür. Ayrıca, aseton ekstresi metanol ekstresinden daha güçlü sitotoksosite göstermiştir (Ren *et al.* 2009).

Likenlerden elde edilen (+)- usnik, salazinik, vulpinik, gyrophorik ve evernik asitlerin kanser ya da doku rejenerasyonu üzerine etkileri ile hücre çoğalması ve yara iyileşmesini aktive etme yetenekleri araştırılmıştır. MM98 malign mezotelyoma hücreleri, A431 vulvar kanser hücreleri ve HaCaT keratinositlerin kullanıldığı deneyler sonucunda usnik asitin yüksek derecede toksisite, vulpinik asitin orta derecede toksisite, salazinik, gyrophorik ve evernik asitlerin ise düşük derecede toksisite gösterdiği kaydedilmiştir. Liken bileşenlerinin subtoksik dozlarının varlığında HaCaT monolayer üzerinde Scratch yaralama deneylerinde (+)- usnik asit ve gyrophorik asit güçlü yarayı kapatma etkisi gösterirken, vulpinik ve salazinik asitler orta derecede etki göstermiştir. Evernik asit ise hiçbir etki gösterememiştir. Usnik ve gyrophorik asitlerin bir kombinasyonu doku rejenerasyonunun artmasına yol açtığı gözlenmiştir (Burlando *et al.* 2009).

Stereocaulon alpinum L. likeninden izole edilen bir beta-orsinol depsidon olan lobarik asit, *Cetraria islandica* Laur. (Parmeliaceae)'dan izole edilen bir alifatik alfa-metilen-gamma-lakton olan protolikheterinik asit, *Cladonia arbuscula*'dan (Wallr.) Rabenh. (Cladoniaceae) izole edilen bir dibenzofuran olan usnik asit, *Xanthoria elegans*'dan (Link) Th. Fr. (Caloplacaceae) izole edilen bir antrakinon olan parietin ve *Thamnolia vermicularis* (Sw.) Schaer. var. *subuliformis*'den (Ehrh.) Schaer izole edilen bir beta-orsinol depsid olan baeomycesik asit insan trombositlerinde hücre tabanlı bir *in vitro*

sistem kullanılarak trombosit-tip 12(S)-lipoksijenaz'ın üzerine inhibitör etkisi araştırılmıştır. Çalışma sonucunda lobarik asit ve (+)-protolikhesterinik asit trombosit-tip 12(S)-lipoxigenase'ın inhibitörleri olduğu kesin olarak kanıtlanmıştır. 100 mikrog/mL'lik konsantrasyonda en yüksek inhibitör etkiyi lobarik asit gösterirken, ikinci sırada (+)-protolikhesterinik asit yer almıştır. Bu konsantrasyonda baeomysesik asit düşük derecede aktivite gösterirken, usnik asit ve parietin etki gösterememiştir (Bucar *et al.* 2004). *Myelochroa aurulenta* (Tuck.) Elix and Hale likeninin aseton ekstresinden izole edilen 16-O-asetil-leukotylık asitin HL-60 insan lösemi hücrelerine karşı antiproliferatif etki sergilediği kaydedilmiştir (Tokiwano *et al.* 2009).

1.2.5. Likenlerin diğer etkileri

Graphina glaucorufa (Vain.) Zahlbr., *Graphina multistriata* Müll. Arg., *Graphina salacinilabiata* Patw. and CR Kulk., *Graphis assamensis* Nagarkar and Patw., *Graphis nakanishiana* Patw. and CR Kulk, and *Phaeographopsis indica* (Patw. and Nagarkar) Sipman and Aptroot (Graphidaceae) likenlerinin metanol ekstrelerinin önemli tirozinaz-inhibitör etkiye sahip olduğu kaydedilmiştir (Behera *et al.* 2006).

İzlanda yosunu olarak bilinen *Cetraria islandica* (L.) Ach. (Parmeliaceae) likeninin ağırlıklı olarak sulu ekstreleri enflamatuar durumlarda dahil bir dizi durumlarda birçok ülkede geleneksel tedavilerde yüz yıllarca kullanılmıştır. *C. islandica* bazı biyolojik aktivitelerde görev alan polisakkarit ve sekonder metabolitler gibi birçok madde içermektedir. Ancak bu maddelerin bağışıklık sistemi üzerindeki etkileri tam olarak bilinmemektedir. Yapılan çalışmalar sonucunda deri altı yoluyla sadece tuz ile muamele edilmiş ratlara kıyasla sulu ekstreleriyle muamele edilen ratlarda önemli derecede daha az düzeyde artrit (eklem iltihabı) gözlenmiştir (Freysdottir *et al.* 2008).

Türkiye'nin kuzeydoğusunda çeşitli hastalıkların tedavisi için çay olarak tüketilen *Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm likenin sulu ekstresinin antienflamatuar ve antiülserojenik etkileri karagenan-pençe ödemi, pamuk pelet granülom ve indometazin bağlı-gastrik hasar görmüş sıçanlar üzerinde test edilmiştir. Sonuçta orta dereceli antienflamatuar ve güçlü antiülserojenik aktivite gösterdiği kaydedilmiştir (Süleyman vd 2003).

Likenlerin insektisit aktivitesinin araştırıldığı bir çalışmada sekonder liken metabolitlerinden (-)usnik asit ve (+)usnik asit, laboratuvar koşullarında *Culex pipiens* L. (Diptera: Culicidae) larvalarına karşı değerlendirilmiştir. Her iki bileşeninde 5 ve 10 ppm'lik dozlarda 24 saatte güçlü larva öldürücü etkiye sahip olduğu ve üçüncü ve dördüncü larva evrelerinde ise %100'lük bir mortaliteye neden olduğu rapor edilmiştir. Bu sonuçlar doğrultusunda liken bileşenlerinin yeni insektisitler olarak kullanılabileceği önerilmiştir (Cetin vd 2008).

Yenilebilir bir liken türü olan *Umbilicaria esculenta*'nın (Miyoshi) Minks metanolik ekstresinin antitrombotik aktivitesi *in vivo* da akciğer trombozlarında, *in vitro* da trombosit agregasyonunda incelenmiş. Ekstre ADP tarafından indüklenen trombosit agregasyonu üzerine konsantrasyona bağlı inhibitör etki göstermiştir. Oral yolla uygulanan ekstrenin, doza bağlı olarak kollajen ve epinefrin tarafından indüklenen felç ya da trombotik ölüme karşı fareleri koruduğu gözlenmiştir (Kim and Lee 2006).

Deri yara iyileşmesi ve fibroblastların proliferasyonunda sodyum usnik asitin etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada; sodyum usnik asitin L929 fibroblastların proliferasyonunu destekleyici etki göstermediği ancak harici bir uygulama ile deri altı bir yaranın iyileşmesini hızlandırdığı kaydedilmiştir (Jin *et al.* 2005).

PTP1B (Protein Tirozin Fosfataz 1B)'nin selektif inhibisyonu Tip 2 diyabet ve obezite tedavisi için potansiyel bir ilaç olabileceği yaygın bir şekilde kabul edilmiştir. PTP1B'yi inhibe eden doğal ürünleri tarama sürecinde Antarktik likeni *Umbilicaria antarctica*'nın Frey et Lamb kurutulmuş numunelerinin MeOH (metanol) ekstresinin önemli derecede inhibitör etki sergilediği görülmüştür. Bu likenden izole edilen gyrophorik asit, lekanorik asit ve metil orsellinate'nin belirli konsantrasyonlarda PTP1B aktivitesini %50 oranında inhibe ettiği rapor edilmiştir (Seo *et al.* 2009).

Omarsdottir ve arkadaşları yaptıkları araştırmalarında *Thamnolia vermicularis* var. *subuliformis*'den (Sw.) (Ehrh.) Schaer izole edilen heteroglukan ve bir beta-glukanın *in vitro* koşullarda bağışıklık sisteminde çeşitli etkilere neden olduğunu rapor etmişlerdir (Omarsdottir *et al.* 2007).

1.3. Likenlerin Mutajenik ve Anti-mutajenik Özellikleri

In vitro koşullarda yapılan bir araştırmada *Pseudovernia furfuracea* (L.) Zoph. likeninin metanol, aseton, n-hekzan ve eter ekstrahatlarının Aflatoxin B₁'in mutajenik etkilerini baskıladığı gösterilmiştir (Türkez vd 2010). *Cetraria aculeata* (Schreb.) Fr. likeninden elde edilen ekstrenin genotoksik ve antigenotoksik aktivitelerinin araştırıldığı bir çalışmada bu ekstrenin bakteriyel organizmalar üzerinde önemli bir antigenotoksik aktiviteye sahip olduğu ancak memeli hücrelerinde böyle bir aktiviteye sahip olmadığı kaydedilmiştir (Zeytinoglu vd 2008).

Osawa ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada *Hypogymnia enteromorpha* (Ach.) Nyl. likeninin ana bileşenlerinden biri olan physodik asitin, *Salmonella typhimurium* TA 98 de bulunan benzo(a) piren ve heterosiklik aminler gibi indirekt mutajenlerin

mutajenitesini durdurduğu rapor edilmiştir. Ancak bu liken 6-nitropiperonal ve adriamisin gibi direkt mutajenlere karşı etki gösterememiştir. Bu metabolitin antimutajenik etkisinin serbest radikal salınımı ya da antioksidatif aktivitelerle ilişkili olmadığı belirtilmiştir. Physodik asit'in hepatik mikrozomal oksidasyon sistemleri bloke ederek, N-hydroxy-Trp-P-2 gibi reaktif metabolitlerin oluşumunu inhibe ettiği görülmüştür. *H. Enteromorpha*'nın diğer bir bileşeni olan physodalik asit *S. typhimurium* TA 100'de mutajenik olduğu rapor edilmesine karşın, *S. typhimurium* TA 98'de bir heterosiklik aminin (Trp-P-2) mutajenitesini engellediği kaydedilmiştir (Osawa *et al.* 1991).

1.4. Likenlerin Oksidan/Antioksidan  zellikleri

Fare peritoneal makrofaj hücre kültüründe Brezilya likenlerinden elde edilen on liken metabolitinin hidrojen peroksit (H_2O_2) ve nitrik oksit (NO) salınım aktivitesi değerlendirilmiştir. Değerlendirmeler sonucunda H_2O_2 salınımını en çok salazinik, sekalonik ve fumarpotosetrarik asit uyarırken, NO salınımını 12 R-usnik asit ve diffraktaik asitin uyardığı görülmüştür. Bu sonuçlar liken metabolitlerinin potansiyel immunolojik modüle faaliyetlere sahip olduğunu göstermiştir (Santos *et al.* 2004).

Bazı antioksidan enzimlerin aktivite gösterdiği su likeni *Dermatocarpon luridum* (With.) Laundon üzerinde bakır iyonlarının toksisitesinin araştırıldığı bir çalışmada liken tallusundaki bakır konsantrasyonunun, ortamdaki bakır konsantrasyonunun artışı ile muamele süresine bağlı olduğu görülmüştür. Protein konsantrasyonlarındaki azalma, 0,50 mM üzerinde bakır konsantrasyonuna maruz bırakılmış talluslarda benzer bulunurken; 0,25 mM bakıra maruz bırakılmış talluslarda iki kat daha düşük bulunmuştur. Antioksidan enzim aktivitelerinin yüksek bakır yoğunluğundan farklı

şekillerde etkilendiği kaydedilmiştir. Nitekim 0,25 mM bakır konsantrasyonu için; bakıra maruz bırakılmamış tallusla karşılaştırıldığında SOD (süperoksit dismutaz) ve APX (askorbat peroksidaz) aktiviteleri değişmemiş, CAT (katalaz) aktivitesi artmış, GR (glutatyon redüktaz) aktivitesi ise azalmıştır (Monnet *et al.* 2006).

Bir diğer araştırmada, *Cetraria islandica* (L.) Ach. likeninin sulu ekstresinin antioksidan aktivitesi, indirgeme gücü ve süperoksit anyon radikal salınım aktivitesi çalışılmıştır. Araştırma sonucunda antioksidan aktivitenin linoleik asit ilavesi ile doğru orantılı bir şekilde arttığı gözlenmiştir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar *C. islandica* likeninin doğal bir antioksidan kaynağı olduğu ortaya konmuştur (Gülçin vd 2002).

Xanthoparmelia farinosa (Vainio) likeninden izole edilmiş usnik asitin antioksidan ve pro-oksidan etki potansiyeli UV-B ışınları altında bir insan lenfosit hücre dizisi kullanılarak araştırılmıştır. Düşük usnik asit konsantrasyonunda ve düşük doz UV-B ışığı altında daha fazla sayıda hücrenin hayatta kalmaya devam ettiği ve normal bir metabolizmaya sahip olduğu gözlenmiştir (Kohlhardt-Floehr *et al.* 2010).

Usnea ghattensis G. Awasthi, *Heterodermia podocarpa* (Bél.) D.D. Awasthi, *Arthothelium awasthii* Patw. and Makhija ve *Parmotrema tinctorum* (Delise ex Nyl.) Hale likenlerinin antioksidan, antitirozinaz ve antibakteriyal özelliklerinin araştırıldığı bir çalışmada likenlerin metanol ekstraktlarının sırasıyla *Usnea ghattensis* > *Arthothelium awasthii* > *Heterodermia podocarpa* > *Parmotrema tinctorum* antioksidan, antitirozinaz ve antibakteriyal etkiler gösterdiği rapor edilmiştir (Behera *et al.* 2007). Bir başka çalışmada ise *Usnea ghattensis* G. Awasthi likeninin çeşitli sulu ekstraktlarının iyi antioksidan aktivite gösterdiği kaydedilmiştir. Bu likenin metanol ekstresi %56 süperoksit anyon salınımı ve %73 serbest radikal salınımı göstermiştir (Behera *et al.* 2005). *Graphis guimarana* (Vain.) , *G. nakanishiana* Patw. and Kulk. ve *G.*

schizograpta Müll. Arg. likenlerinin *in vitro* da biyolojik aktivitelerinin belirlemek üzere yapılmış bir araştırmada bu likenin doğal tallus veya kültürünün metanolik ekstrelerinin tirozinaz ve ksantin oksidaz inhibisyonu ile süperoksit atılımı yaptığı rapor edilmiştir (Behera *et al.* 2006).

Odabaşoğlu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada *Bryoria fuscescens* (Gyeln.) Brodo and D.Hawksw, *Dermatocarpon intestiniformis* (Körb.) Hasse - Kudratov and Mayrhofer, *Peltigera rufescens* (Weiss) Humb. ve *Pseudevernia furfuracea* (L.) Zopf, liken türlerinin metanol ve sulu ekstrelerinin toplam antioksidan aktivitesi, toplam fenolik madde içeriği ve indirgeme gücü değerlendirilmiştir. Değerlendirmeler sonucunda *P.rufescens*'in su ve metanol ekstreleri en yüksek antioksidan aktivite göstermiştir (Odabaşoğlu vd 2005). Yapılan bir çalışmada *Parmotrema stuppeum* (Nyl.) Hale (Parmeliaceae) likeninden elde edilen metil orsenillat, orsenillik asit, atranorin ve lekanorik asiti içeren fenolik maddeler orta dereceli antioksidan aktivite gösterdiği rapor edilmiştir (Jayapraksha and Rao 2000). Ayrıca *Usnea articulata* (Ach.) Motyka likeninden izole edilen stiktik asit türevlerinin önemli antioksidan aktiviteye sahip olduğu gözlenmiştir (Lohèzic-Le Dèvéhat F 2007).

1.5. Likenlerin Toksik Etkileri

Likenler tarafından üretilen sekonder metabolitlerin pek çok faydalı etkisinin olmasının yanı sıra bazı bitkisel ve hayvansal organizmalar üzerine inhibitör ve alerjik etkilerinin olduğu da yapılan araştırmalar sonucunda kaydedilmiştir. Likenler tarafından üretilen çeşitli metabolitlerin bazı böcek, salyangoz ve nematodlar için zehirli olduğu, *Evernia prunastri* (L.) Ach. likeninden izole edilen bazı liken asitlerinin de *Toxocara canis*

(köpek kurdu) larvaları üzerinde nematosidik etki gösterdiği bilinmektedir (Ahad *et al.* 1991; Purvis 2000).

Zararlı bir çay termiiti olan *Glyptotermes dilatatus*'a karşı *Usnea* likeninin farklı türleri düşük dozlarda önemli seviyede antitermit etki göstermiştir. Çeşitli likenler tarafından üretilen pulvinik, salazinik, vulpinik ve usnik asitlerin *Spodoptera littoralis*'in (yaprak kurdu) larva gelişimini azalttığı gösterilmiştir (Emmerich *et al.* 1993; Giez *et al.* 1994; Kathirgamanathar *et al.* 2005). Gardner ve Mueller'in 1981 yılında yaptığı çalışmalar sonucunda usnik, lekanorik, evernik ve vulpinik asit gibi liken asitlerinin toksisitesinin pH değeri ile ilişkili olduğunu ve farklı pH aralıklarında spor büyümesini inhibe ederek germinasyon yüzdesini azalttığını rapor etmişlerdir.

Yine vulpinik, fisodik, salazinik ve usnik asitlerin otlarda tohum çimlenmesini ve kök büyümesini inhibe ettiği kaydedilmiştir. Örneğin; *Peltigera canina* (L.) Willd likeniyle aynı ortamda yetişen ot kolonilerinin kök sistemlerinin çok az geliştiği görülmüştür. Bu asitleri (vulpinik, fisodik, salazinik ve usnik asit) içeren *Cladonia* cinsine ait likenlerin konifer ormanlarında ağaç fidelerinin büyümesini ve karayosunu sporlarının çimlenmesini inhibe ettiği bilinmektedir (Halıcı ve Aksoy 2004). Aynı etki şekliyle barbatik, difraktaik, lekanorik gibi liken asitlerinin de marul ve salatalık filizlenmesini inhibe ettiği düşünülmektedir (Nishitoba *et al.* 1987).

Likenlerin insanlar üzerindeki toksik etkisi ile ilgili çok az veri bulunmaktadır. Bugüne kadar kaydedilmiş yan etkiler arasında lokal tahrişler ve bazen konjunktivit ile beraber ortaya çıkan alerjik kontakt dermatitis (deri iltihabı) sayılabilir. Likenlerin neden olduğu alerjik kontakt dermatitis çok uzun zamandan beri bilinmekte olup, bu yan etkinin yaygın olmamakla birlikte liken bileşenlerine karşı duyarlılık derecesi ile ilgili olduğu düşünülmektedir (Ingólfssdóttir 2002). Yani liken asitlerine karşı duyarlı kişilerde bu yan

etkiler görülebilir. Duyarlı kişilerde alerjiye neden olan liken asitleri arasında barbatik, lobarik, salazinik, sitistik, difraktaik ve usnik asit gibi birçok asit yer almaktadır (Evans and Schmidt 1980; Thune and Solberg 1980; Brasch and Jacobsen 1991).

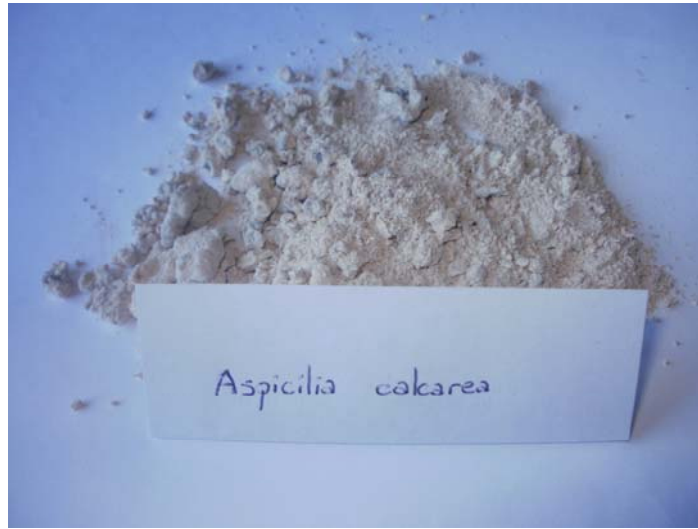
Usnea longissima Ach. likeninin içerdiği usnik asitin yüksek dozlarda bazı hayvanlarda toksik etkiye sebep olduğu görülmüştür. Sığırlarda ve koyunlarda ön ve arka üyelerin paralizine (felç) yol açan ataksinin (denge bozukluğuyla ve hareketler arasındaki uyumun bozulmasıyla sonuçlanan bir sinir sistemi hastalığı) ortaya çıkması *Parmelia molliuscula* Ach. likeninin sürekli alınmasından dolayı usnik asitten kaynaklandığı düşünülmüştür (Kingsbury 1964). Kedilere 10 mg/kg dozunda sodyum usneat uygulandığı zaman, hipertansiyon, O₂ tüketiminde artış ve vücut sıcaklığının yükselmesi gibi belirtilerle metabolizma artışı gözlenmiştir (Söderberg 1953; Ingólfssdóttir 2002). Yapılan çalışmalar sonucunda sodyum usneat'ın LD₅₀ dozlarının fareler için 25 mg/kg, ratlar ve tavşanlar için 30 mg/kg ve köpekler için ise 40 mg/kg olduğu kaydedilmiştir (Virtanen and Kärki 1956).

1.6. Tez Kapsamında Test Edilen Liken Türlerine Ait Bilgiler

Aspicilia calcarea (L) Mudd.

Tallusu kalın olup çoğunlukla areollüdür. Tallus kenarına doğru konsantrik halkalar vardır. Bu konsantrik halkaları gri veya beyaz bir protallus çevreler. Küçük olan apotesyumlar önce tallusa gömülüdür, sonra büyüyerek genişlerler. Siyah apotesyum diskinin üzerinde mavimsi beyaz renkte unsu bir yapı bulunur. Askus 4 sporludur, sporları 18-30 x 14-27 µm boyutlarında olup elips şeklindedir. Kalkerli kayalar, duvarlar ve mezar taşları üzerinde gelişirler (Purvis *et al.* 1992; Wirth 1995; Aslan 2000).

Toplama İstasyonu: Artvin-Murgul, Kabaca Köyü, Sazdüzü mevki., yükseklik: 1700 m, Toplama koordinatları: Enlem: 41°.12', Boylam: 41°.39'. Kalkerli kaya üzerinden toplanmıştır. İlgili likenden kurutularak ve öğütülerek hazırlanan örnek materyal Şekil 1.1'de gösterilmiştir.



Şekil 1.1. *Aspicilia calcarea* likeninden hazırlanan öğütülmüş materyal

Bryoria capillaris (Ach.) Brodo and D. Hawksw.

Tallusu açık gri, açık kahverengi, bej nadiren de koyu kahverengi olan, kurutulduğunda; sarı, pembe veya kahverengimsi renklere dönüşen ipliksi yapıdaki liken türüdür. Dalları dar açılı ve ana dalları ince 0,3-0,5 mm çapındadır. Tallusları K^+ ile sarı, Pd^+ ile koyu sarıdan turuncu-kırmızıya kadar değişen bir reaksiyon gösterir. Güneş almayan gölge yerlerde ve iğne yapraklı ağaçların kabukları üzerinde gelişir (Dobson 1979; Purvis *et al.* 1992; Wirth 1995; Aslan 2000; Aslan vd 2002).

Toplama İstasyonu: Artvin-Murgul, Korucular Köyü Aşağı Mezra mevki, yükseklik: 910 m, Toplama koordinatları: Enlem: 41°.17', Boylam: 41°.42'. *Pinus sylvestris*

üzerinden toplanmıştır. İlgili likenden kurutularak ve öğütülerek hazırlanan örnek materyal Şekil 1.2’de gösterilmiştir.



Şekil 1.2. *Bryoria capillaris* likeninden hazırlanan öğütülmüş materyal

***Cetraria chlorophylla* (Wild.) Vainio**

Tallusları 1-6 cm çapında, yapraksı, nadiren rozet şeklinde, lopları 1-3 x 0,2-1 cm olan liken türüdür. Görünüş olarak düz ya da kanallı, dalgalı ve kenarlarda kalkık, üst yüzeyi yeşilimsi kahverengi ya da kahverengidir. Geniş ve iğne yapraklı ağaçların gövde ve dalları üzerinde, bazen de silisli kayalar üzerinde gelişir. Boreal Bölge’den Akdeniz Havzası’nın kuzeyine kadar yayılış gösterir (Purvis *et al.* 1992; Wirth 1995; Aslan 2000; Aslan vd 2002).

Toplama İstasyonu: Artvin-Murgul, Korucular Köyü Aşağı Mezra mevki, yükseklik: 910 m, Toplama koordinatları: Enlem: 41°.17’, Boylam: 41°.42’. *Pinus sylvestris* üzerinden toplanmıştır. İlgili likenden kurutularak ve öğütülerek hazırlanan örnek materyal Şekil 1.3’de gösterilmiştir.



Şekil 1.3. *Cetraria chlorophylla* likeninden hazırlanan öğütülmüş materyal

Dermatocarpon intestiniforme (Körber) Hasse.

Tallus çok loblu olup, lop genişliği 3-10mm, lop kalınlığı ise 0,15-0,3 mm olan liken türüdür. Üst yüzeyinin rengi gri-kahverengiden koyu kahverengiye kadar değişkenlik gösterir. Lopların kenarları genç iken kalkık, daha sonra içe doğru kıvrılır. Alt yüzeyinin rengi ise genellikle koyu kahverengi ya da daha açık renkte olup düzdür. Dik yamaçlardaki kayalar üzerinde gelişir (Purvis *et al.* 1992; Wirth 1995; Aslan 2000).

Toplama İstasyonu: Erzurum-Oltu Yolu Köşk Köyü yol ayrımı, yükseklik: 1860 m, Toplama koordinatları: Enlem: 40° 6' N, Boylam: 41°23' E.. Kalkerli kaya üzerinden toplanmıştır. İlgili likenden kurutularak ve öğütülerek hazırlanan örnek materyal Şekil 1.4'de gösterilmiştir.



Şekil 1.4. *Dermocarpon intestiniforme* likeninden hazırlanan öğütülmüş materyal

***Hypogymnia physodes* (L.) Nyl.**

Tallusu grimsi veya grimsi-yeşil renkte, loplarının uçları kısmen dudak şeklinde ve alt kısımları sorallerle kaplı olan liken türüdür. Ancak genç talluslarda soral bulunmaz. Apotesyum nadiren bulunur. Ağaç kabukları, odunlar, taşlar ve karayosunları ile bazen de kumlar üzerinde gelişirler. Hava kirliliğine dayanıklı olan özellikle asitli ve besince zengin substratları tercih eden bir türdür. Arktik'ten Akdeniz Havzası'nın güneyine kadar yayılış gösterir (Purvis *et al.* 1992; Wirth 1995; Aslan 2000; Aslan vd 2002).

Toplama İstasyonu: Artvin-Murgul, Korucular Köyü Aşağı Mezra mevki, yükseklik: 910 m, Toplama koordinatları: Enlem: 41°.17', Boylam: 41°.42'. *Pinus sylvestris* üzerinden toplanmıştır. İlgili likenden kurutularak ve öğütülerek hazırlanan örnek materyal Şekil 1.5'de gösterilmiştir.



Şekil 1.5. *Hypogymnia physodes* likeninden hazırlanan öğütülmüş materyal

***Peltigera rufescens* (Weis) Humb.**

Tallus mat görünümlü, gri veya kahverengi renkte olan, büyük yapraksı yapılı bir liken türüdür. Üst yüzeyleri tomentoz yapıda, loblarının uçları kalkık ve kırılıgandır. Alt yüzeydeki damarlar dar olup birbirleriyle bağlantılıdır. Rizinler çok dallanmıştır ve apotesium genellikle semer şeklindedir. Genellikle kuru ve kalkerli topraklar ile ağaç diplerinde nadiren de silikat kayalar üzerinde gelişirler. Arktik'ten Akdeniz Havzası'nın güneyine kadar yayılış gösterirler (Dobson 1979; Purvis et al. 1992; Wirth 1995; Aslan 2000).

Toplama İstasyonu: Palandöken Dağı, yükseklik: 2135 m, Toplama koordinatları: Enlem: 39°52' N, Boylam: 41°.17'. Toprak üzerinden toplanmıştır. İlgili likenden kurutularak ve öğütülerek hazırlanan örnek materyal Şekil 1.6'de gösterilmiştir.



Şekil 1.6. *Peltigera rufescens* likeninden hazırlanan öğütülmüş materyal

***Physcia aipolia* (Humb) Fűrnrh**

Tallusları 6-10 cm çapında, lopları 0,6-2 mm olan ve ışınsal yayılan, renkleri beyaz ile gri arasında değişen bir liken türüdür. En iyi nemliyken görülür. Küçük ikincil talluslar bazen tallusun ortasında ve tüm apotesyumların kenarlarında görülür. Besince zengin ağaç kabukları, dallar ve sürgünler üzerinde, nadiren de sahil bölgelerindeki kayalar ve eski duvarlar üzerinde bulunur. Temiz havaya sahip bölgelerde yaygındır. Kozmopolit bir türdür (Purvis *et al.* 1992; Wirth 1995; Aslan 2000).

Toplama İstasyonu: Artvin-Murgul, Başköy Köyü, Akolşen mevkisi, yükseklik: 1000 m, Toplama koordinatları: Enlem: 41°.19', Boylam: 41°.26'. *Alnus glutinosa* üzerinden toplanmıştır. İlgili likenden kurutularak ve öğütölerek hazırlanan örnek materyal Şekil 1.7'de gösterilmiştir.

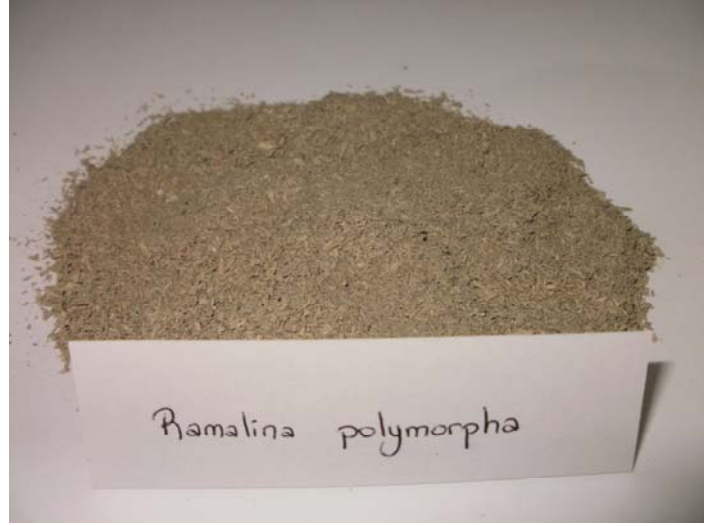


Şekil 1.7. *Physcia aipolia* likeninden hazırlanan öğütülmüş materyal

Ramalina polymorpha (Lilj.) Ach.

Tallusları 3–6 cm olan, dik durumlu ya da yatık, dağınık öbekler halinde genellikle yoğun çimenlikler oluşturan, koyu yeşil renkli olan liken türüdür. Dalları yıldız şeklinde veya çeşitli şekillerde uzunlamasına yarılmıştır. Apotesyumlar nadir olarak küçük tallusların ucunda ya da uca yakın kısmında bulunur. Besince zengin kayalar üzerinde gelişirler. Özellikle kuş tüneklerinin veya yuvalarının alt kısmında geliştikleri görülmüştür (Purvis *et al.* 1992; Wirth 1995; Aslan 2000).

Toplama İstasyonu: Erzurum-Oltu Yolu Köşk Köyü yol ayrımı, yükseklik: 1860 m, Toplama koordinatları: Enlem: 40° 6' N, Boylam: 41°23' E.. Silisli kaya üzerinden toplanmıştır. İlgili likenden kurutularak ve öğütülerek hazırlanan örnek materyal Şekil 1.8'de gösterilmiştir.

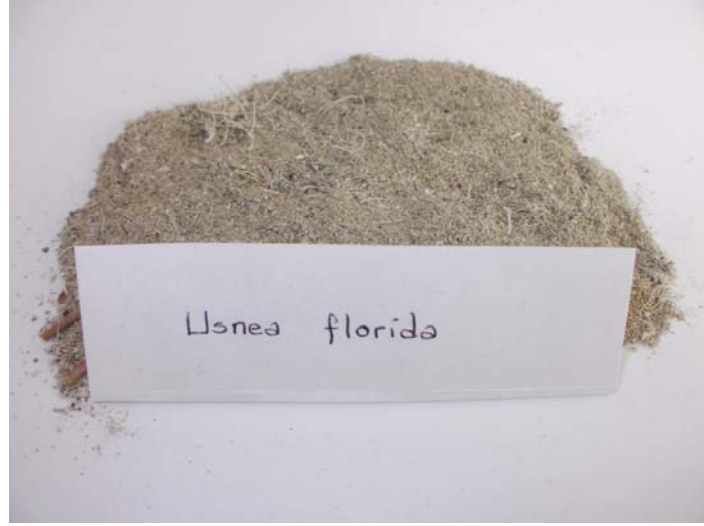


Şekil 1.8. *Ramalina polymorpha* likeninden hazırlanan öğütülmüş materyal

***Usnea florida* (L.) Wigg. ex Web. em Clerc.**

Tallusları 2-5 cm boyunda, dik, genellikle püskül şeklinde, çalimsı, üst yüzeyi gri- yeşil alt yüzeyi siyaha yakın renkte olan liken türüdür. Geniş yapraklı ağaçların gölgedeki dalları üzerinde, nadiren de gövdeleri üzerinde ve ışık gören yerlerde gelişir (Purvis *et al.* 1992; Wirth 1995; Aslan 2000; Aslan vd 2002).

Toplama İstasyonu: Artvin (Murgul) Korucular Köyü, yükseklik: 675 m., Toplama koordinatları: Enlem: 41°.16' N, Boylam: 41°42'E.. *Fagus orientalis* üzerinden toplanmıştır. İlgili likenden kurutularak ve öğütülerek hazırlanan örnek materyal Şekil 1.9'da gösterilmiştir.



Şekil 1.9. *Usnea florida* likeninden hazırlanan öğütülmüş materyal

***Xanthoria elegans* (Link) Th. Fr.**

Tallus genişliği genellikle 1-2 cm olan, yapraksı, sarı, turuncu, kırmızı gibi değişik renklerde, 1 mm genişliğinde olan dar lobları tamamen yassılaştırmış veya konveks şeklinde olan bir liken türüdür. Tallusun merkezinde çok sayıda apotesyum bulunur. Bu tür dağlardaki asidik ve kalkerli kayalar ve özellikle azotça zengin bölgelerdeki kayalar üzerinde gelişir. Hemiboreal ve alpin bölgelerde yaygın bir türdür (Dobson 1979; Purvis *et al.* 1992; Wirth 1995; Aslan 2000).

Toplama İstasyonu: Erzurum-Oltu Yolu Köşk Köyü yol ayrımı, yükseklik: 1860 m, Toplama koordinatları: Enlem: 40° 6' N, Boylam: 41°23' E.. Kalkerli kaya üzerinden toplanmıştır. İlgili likenden kurutularak ve öğütülerek hazırlanan örnek materyal Şekil 1.10'da gösterilmiştir.



Şekil 1.10. *Xanthoria elegans* likeninden hazırlanan öğütülmüş materyal

1.7. Genotoksisite Testleri

Son yıllarda yapılan pek çok araştırma ile mutajenik olan maddelerin genellikle kanserojen, aynı zamanda kanserojen olan pek çok maddenin de mutajenik olduğu gösterilmiştir. Çevremizde bulunan ve biyolojik etkileri tam olarak bilinmeyen pek çok sentetik ve doğal maddenin mutajenik veya kanserojenik potansiyel açısından test edilmesi sağlık açısından gereklidir. Ancak laboratuvar hayvanları ile yapılan çalışmalar hem çok pahalı hem de çok zaman almaktadır. Bu nedenle, *in vivo* hayvan deneyleri yerine kimyasal maddelerin kanserojenik ve mutajenik potansiyellerinin ölçülebilmesi için son yıllarda birçok *in vitro* test sistemleri geliştirilmiştir. Kısa zaman içinde sonuç veren bu testlerle, kimyasal maddelerin belirli genetik özelliklerde oluşturduğu sonuçlar ölçülmekte ve elde edilen sonuçlarla maddelerin mutajenik veya kanserojenik potansiyelleri arasında ilişkiler kurulmaktadır (Boyacıoğlu 2004). Kromozom Aberasyonları testi (KA), Mikroçekirdek testi (MÇ), Kardeş-Kromatid Değişimi testi

(KKD), Ames testi, SCG testi ve FISH testleri genetik toksikoloji alanında kullanılan başlıca testlerdendir.

Memeli sistemlerinde kromozom aberasyonları incelenebilen hemen her hücre ve doku tipinde tespit edilebilmiştir. Kromozom aberasyonlarının çeşitli etkenlere (kimyasallara, iyonize ve iyonize olmayan radyasyona v.b) maruz kalma sonucunda meydana geldiği pek çok *in vivo* ve *in vitro* araştırmalarla ortaya konmuştur. Yapılan çalışmalar tümör hücrelerinin yapısal ve sayısal kromozom değişiklikleri içerdiğini göstermiştir (Lando *et al.* 1998; Emri *et al.* 2000; Demiroğlu 2003; Sugai *et al.* 2005; Pasha *et al.* 2006).

Bu test genellikle insan periferik lenfositleri kullanılarak yapılmaktadır. İndüklenmiş kromozomal aberasyonlar; kromozom-tipi aberasyonlar (simetrik aberasyonlar) ve kromatid-tipi aberasyonlar (asimetrik aberasyonlar) şeklinde iki ana grupta değerlendirilmektedir (Adler 1984). Mitoz bölünmenin metafaz safhası, kromozomlardaki kırılmaların ve yeniden birleşmelerin olduğu evredir. KA yönteminde hücreler iğ ipliklerinin inhibisyonuna neden olan bir madde (kolşisin) eklenmesiyle metafaz safhasında tutulmaktadır. Bu da kromozomların kolayca gözlenebilmesini sağlamaktadır. KA testi ile kimyasal maddelerin genotoksik etkilerinin belirlenmesinde daha çok kromatid gap, kromatid kırığı, kromozom gap ve kromozom kırığı denilen aberasyon çeşitlerinin oranları araştırılmıştır. Kromatid gapları kromatid kolunda boyanmamış kısımlar olarak gözükürler. Bu açıklıklar kromatid koluyla aynı uzantıdadır ve kromatid koluyla arasındaki mesafe kol kalınlığına eşit ya da küçüktür (Demiroğlu 2003).

Sitologlar tarafından mikroçekirdeğin yapısı ve orijini yüzyılın başından beri bilinmesine rağmen mutajenite potansiyellerinin ölçülmesinde kullanılması yenidir (İlbars 1997). İnsan periferik kan lenfositlerinde MÇ sıklığının kromozom hasarlarının

bir göstergesi olarak kullanılması ilk kez 1976 yılında Courtyman ve Heddle tarafından önerilmiştir. Ancak daha sonra bu yöntem Fenech ve Morley (1985 a,b) tarafından geliştirilmiş ve Cytokinesis Block Micronucleus (CBMN) olarak isimlendirilmiştir.

Mikroçekirdekler hücrenin mitoz bölünmesi sırasında ortaya çıkan, ana çekirdeğe dahil olmayan tam kromozom veya asentrik kromozom fragmanlarından köken alan oluşumlardır. İnsan hücrelerinde DNA hasarlarının kromozom seviyesinde güvenilir olarak değerlendirilmesini sağlayan mikroçekirdek yöntemi genetik toksikoloji alanında çok yoğun olarak kullanılmaktadır (Fenech 1993; Lando *et al.* 1998). MÇ sayısındaki artış çeşitli kimyasalların hücrelerde oluşturduğu sayısal ve yapısal kromozom düzensizliklerinin indirekt göstergesi olarak değerlendirilmektedir. Anöploidiyi uyaran ajanlar, sentromer bölünme hatalarına ve iç iplikçiklerinde fonksiyon bozukluklarına yol açarak, klastojenler ise kromozom kırıkları meydana getirerek MÇ oluşumuna neden olurlar (Demirel ve Zamani 2002). Bu nedenle MÇ testi hücrelerde hem klastojenik hemde anöjenik etkilerin bir arada değerlendirilmesine olanak veren tek biyomarkırdır (Fenech 1993).

MÇ sayımı Courtyman and Heddle (1976) tarafından belirlenen kriterlere göre yapılmaktadır. Bu kriterler:

- MÇ çapı esas çekirdeğin 1/3'ünden küçük olması,
- MÇ'ler esas çekirdeğe bağlı veya bitişik olmaması,
- Boya alma yoğunluğu esas çekirdekle aynı olması,
- Sadece sitokinezi bloke edilmiş çift çekirdekli hücrelerdeki MÇ'lerin sayılması esaslarını kapsamaktadır (Fenech 2000; Demirel ve Zamani 2002).

Her iki teste de *in vivo* ve *in vitro* şartlarda sigara ve alkol kullanımı (Maffei *et al.* 2002), yaş (Thierens *et al.* 1996), cinsiyet (Barale *et al.* 1998), çeşitli kronik ve enfeksiyonal hastalıklar, yaşam tarzı, ilaçlar ile fiziksel ve kimyasal ajanlara maruziyet (Neri *et al.* 2003; Pelevina *et al.* 2005) gibi faktörler MÇ'lerin oluşumunda etkili olmaktadır.

1.8. Oksidatif Stres

Oksijen kullanımının doğal bir sonucu olarak aerobik organizmalarda %1-2 oranında reaktif oksijen metabolitleri (ROM) ortaya çıkmaktadır. Başta mitokondriyal elektron transportu olmak üzere ksenobiyotik metabolizması, fagositik aktivasyon, çeşitli sentez ve degradasyon reaksiyonlarında ROM oluşmakta ve prooksidan/antioksidan dengenin prooksidanlar lehine kayması sonucunda gelişen oksidatif stres, çeşitli mekanizmalar ile biyomoleküllere hasar vermektedir (Cooke *et al.* 2003; Burçak ve Andican 2004). Oksidatif stres, basit bir şekilde vücudun antioksidan savunması ile hücrelerin lipid tabakasının peroksidasyonuna neden olan serbest radikal üretimi arasındaki dengesizlik olarak ifade edilmektedir. Oksidatif stres toksisitenin muhtemel bir mekanizması olarak son on yıldır toksikolojik araştırmaların odağı haline gelmiştir (Mercan 2004).

Serbest radikaller, ateroskleroz, nörodejeneratif hastalıklar, kanser, alerji, diabet, katarakt gibi birçok hastalığın patogeneğinde rol oynadıklarından dolayı son yıllarda üzerinde en çok çalışılan konular arasında yer almaktadır. Serbest radikaller, bir veya daha fazla eşlenmemiş elektron ihtiva eden atom veya moleküller olup bu elektronlarını paylaşabilmek için diğer moleküllerle hızla reaksiyona girmektedirler. Radikallerle reaksiyona giren moleküllerin bir elektronu azaldığı için onlar da reaktif hale gelmektedirler. Bir radikalın diğer moleküllerle etkileşmesi araya bir antioksidan sistem

girene kadar, zincirleme reaksiyon şeklinde devam etmektedir (Akkus 1995, Aydılek ve Aksakal 2003).

Oksijenin iki eşleşmiş elektron bulundurması, onun serbest radikallerle, radikal olmayan diğer maddelere göre daha kolay reaksiyona girmesine neden olur. Bu sebeple biyolojik sistemlerde en önemli serbest radikaller, oksijenden meydana gelen radikallerdir. (Onat vd 2002; Alp 2005). Reaktif oksijen türlerinin yanı sıra vücudumuz içerisinde reaktif azot türleri de oluşmaktadır (Halliwell 1996).

Reaktif oksijen ve azot türleri pek çok hücresel yapıyı etkileyerek hücre hasarına neden olmaktadır. Serbest radikaller, savunma mekanizmalarının kapasitesini aşacak seviyede meydana geldikleri zaman organizmada farklı hasarlara yol açmaktadırlar. Biyomoleküllerin çoğu (lipidler, proteinler, karbonhidratlar, nükleik asitler, enzimler vb.) bu radikallerden etkilenmektedir. Biyomoleküller arasında en kolay etkilenen bileşikler ise lipidlerdir.

Hücre membranları radikaller tarafından kolaylıkla etkilenen poliansature yağ asitleri (PUFAs) bakımından oldukça zengindir. Lipid peroksidasyonu olarak bilinen PUFAs' nin oksidatif yolla yıkımı kendi kendini devam ettiren zincir şeklinde ilerlediği için çok hasar vericidir. Lipid peroksidasyonu ile meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür (Candan 2002; Lambeth 2004; Mavi 2006).

Yağ asitleri ile birleşen radikal öncelikle bir dizi reaksiyonun başlamasına neden olmaktadır. İlk olarak yağ asidi radikalının oksijenle birleşmesi sonucu lipid peroksid radikali ($ROO\cdot$) meydana gelmektedir. Lipid peroksid radikalleri yağ asitleriyle reaksiyona girerek hidroperoksitleri oluşturmaktadır. Bu peroksit ürünlerinden ortamdaki metal iyonlarının (Fe ve Cu gibi) katalizörlüğünde malondialdehidlerin

(MDA) de içinde bulunduğu aldehitler ile etan ve pentan gibi hidrokarbon yapıda yıkım ürünleri elde edilmektedir (Onat *et al.* 2002; Eken 2003).

Lipid peroksidasyonu sonucu membran geçirgenliğinin artması ile membran enzimlerinin aktivitesi azalmakta ve hücreye Ca^{+2} girişinde artış meydana gelmektedir. Buna bağılı olarak fosfolipaz aktivitesi artarak fosfolipid kaybına neden olmaktadır. Membran geçirgenliğindeki bu değışikliğe ve potansiyel kaybına bağılı olarak toksik etkilerde artış, proteolitik etkide şiddetlenme, katabolik enzim aktivitesinde artış ve DNA hasarları gibi olumsuz durumlar meydana gelmektedir.

Lipid peroksidasyonu sonucu oluşan MDA ve aldehid yapıdaki diğér ürünlerin (formaldehid ve asetaldehid gibi) mutajenik ve kanserojenik etkileri olduğu rapor edilmiştir (Esterbauer *et al.* 1991; Chaudhary *et al.* 1994).

Proteinlerde serbest radikallere, aldehidlere ve diğér peroksidasyon ürünlerine karşı oldukça duyarlıdır. Proteinlerin serbest radikallerden etkilenme derecesi amino asitlerin içeriklerine, amino asitlerin yapılarındaki kompozisyonlarına ve oluşan hasarın onarılabiliirliğine göre değışkenlik göstermektedir. Radikaller proteinlerin üç boyutlu yapısını bozarak onların normal fonksiyonlarını yerine getirememelerine neden olurlar (Halliwell and Gutteridge 1989; Yıldırım 2003).

Reaktif oksijen metabolitleri DNA'da tek veya çift zincir kırıklarına, pürin-pirimidin bazlarında ve deoksiriboz şekerde modifikasyonlara ve zincirler arasında çapraz bağlanmalara neden olarak genetik hasar meydana getirmektedir. Oksidasyon sonucu DNA'da gözlenen modifikasyonlar sadece baz ve şeker seviyesinde kalmayıp, kromozomlar seviyesinde de oluşabilmektedir. Genetik hasar sonucu, genomik kararsızlık, replikasyon hataları, transkripsiyon ve haberleşme mekanizmalarında

aksamalar gibi kanser oluşumu ile ilgili olan pek çok durum ortaya çıkabilmektedir (Marnett 2000; Cooke *et al.* 2003). Oksidatif stres sonucu genetik materyalde oluşan bu geri dönüşümsüz değişimlerin mutajenez, karsinogenez ve yaşlanmada ilk basamaklar olduğu kaydedilmiştir. Oksidatif DNA hasarının rol aldığı en önemli hastalık kanserdir. Yapılan çalışmalar kanser oluşumunda serbest radikallerin ve diğer reaktif metabolitlerin çok etkili olduğu görüşünü desteklemektedir. Oluşumunda oksidatif DNA hasarının etkili olduğu düşünülen hastalıklar arasında Alzheimer, Huntington, Parkinson, Kardiyovasküler hastalıklar (ateroskleroz, koroner kalp hastalıkları, hipertansiyon, kalp yetmezliği, kardiyomiyopati ve kalp krizi), Tip 1-Tip 2 diyabet hastalıkları ve katarakt gibi hastalıklar olduğu rapor edilmiştir (Halliwell and Gutteridge 1989; Lovell *et al.* 1998; Holvoet *et al.* 1995; Maritim *et al.* 2003).

Organizmalarda meydana gelebilen zararlı oksidatif reaksiyonlar sonucu üretilen reaktif oksijen ve nitrojen türleri metabolik ve fizyolojik süreçlerde organizmaların bünyelerindeki enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidatif mekanizmalarla yok edilir. Belirli koşullar altında oksidanların artışı ve antioksidanların azalışı önlenemez, bunun sonucunda çeşitli hasarlara neden olur (Halliwell and Gutteridge 2000). Farklı oksidan ve antioksidan türlerinin serum (ya da plazma) konsantrasyonları ayrı ayrı laboratuvarda ölçülebilir, ancak bu ölçümler hem çok zaman alır, hem fazla iş gücü gerektirir hem de çok pahalı ve oldukça karmaşık teknikler gerektirir (Tarpey *et al.* 2004). Yani farklı oksidan ve antioksidan moleküllerinin ayrı ayrı ölçümü pratik değildir. Bir örneğin toplam oksidan durumu (TOD) hazırlanan kitlerle ölçülür ve bu total peroksit (TP), serum oksidasyon aktivitesi (SOA), reaktif oksijen metabolitleri (ROM) v.b şekilde isimlendirilir (Nakamura *et al.* 1897; Halliwell and Gutteridge 2000; Harma *et al.* 2003; Yanik *et al.* 2004; Ceylan vd 2005; Yeni vd 2005) . Aynı şekilde bir örneğin toplam antioksidan kapasitesi (TAK) hazırlanan kitlerle ölçülür ve bu total antioksidan kapasite (TAK), toplam antioksidan aktivite (TAA), toplam antioksidan güç

(TAOP), toplam antioksidan yanıt v.b şekilde isimlendirilir (Benzie and Strain 1996; Koracevic *et al.* 2001; Erel 2004; Ayçiçek vd 2006).

1.9. Antioksidan Sistem

Serbest radikallerin oluşumunu ve bunların neden olduğu hasarları en aza indirmek için biyolojik sistemlerde çeşitli antioksidan savunma sistemleri gelişmiştir (Yıldırım 2003). Canlı hücrelerde bulunan protein, lipid, karbonhidrat ve DNA gibi okside olabilecek maddelerin oksidasyonunu engelleyen veya geciktirebilen maddelere antioksidanlar ve bu olaya da antioksidan savunma denir (Çavdar vd 1997). İyi bir antioksidanın taşıması gereken özellikler; ortamdaki serbest radikalleri gidermesi, antioksidan sistemdeki diğer antioksidanlarla etkileşimler yapabilmesi, redoks metallerinin şelatörü olarak görev yapabilmesi, dokulardaki ve biyolojik sıvılardaki yoğunlukları fizyolojik açıdan uygun seviyelerde olması, gen ekspresyonu üzerinde olumlu etkileri olması, emiliminin oldukça hızlı olması ve hem membran hem de su içeren ortamlarda işlevsel olmasıdır (Valko *et al.* 2006).

Yukarıdaki literatür bilgilerine dayanılarak şunlar söylenebilir:

- Likenler eski çağlardan beri halk hekimliğinde birçok hastalığın tedavisinde ve önlenmesinde kullanılan organizmalardır.
- Likenler göstermiş oldukları anti-oksidan ve anti-mutajen özelliklerden dolayı farmakoloji alanında da sıklıkla kullanılmaktadır.
- Günümüzde kullanılan sentetik anti-oksidanların ciddi yan etkilerinin varlığından dolayı doğal anti-oksidanlara ihtiyaç duyulmaktadır.
- Ülkemiz liken florası açısından oldukça zengindir.

- Tez kapsamında test edilen liken türlerinin doza bağı biyokimyasal ve genetik etkileri hakkında literatürde sınırlı düzeyde bilgi mevcuttur.

Bu nedenlerle, mevcut tez çalışmasında; Erzurum ve Artvin illerinden toplanan *Aspicilia calcarea*, *Bryoria capillaris*, *Cetraria chlorophylla*, *Dermatocarpon intestiniforme*, *Hypogymnia physodes*, *Peltigera rufescens*, *Physcia aipolia*, *Ramalina polymorpha*, *Usnea florida* ve *Xanthoria elegans* likenlerinin sulu ekstrelerinin oksidan/antioksidan ve mutajenik/non-mutajenik etkilerinin olup olmadığının tespit edilmesi amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Mutlu 2008 Türkiye de yayılış gösteren *Evernia divaricata* (L.) Ach., *Flavocetraria cucullata* (Bellardi) Kärnefelt and A. Thell, *Physcia aipolia* (Ehrh. ex Humb.) Fűrnr., *Ramalina polymorpha* (Lilj.) Ach. ve *Usnea filipendula* Stirt. likenlerinin su, etanol ve aseton ekstralarının antioksidan etkilerini araştırdığı çalışmasında ilgili likenlerin tümünün antioksidan etkiye sahip olduğunu rapor etmiştir. *E. divaricata* ekstraları arasında antioksidan aktivite bakımından; Su<Etanol<Aseton, sıralamasını yapmıştır. Aynı çalışmada fenolik bileşik miktarı ile antioksidan aktivite arasında ilişki olduğu da rapor edilmiştir. Nitekim antioksidan aktivitenin yüksek olduğu liken türlerinde fenolik bileşiklerin de yüksek olduğunu gözlenmiştir.

Turkez vd 2010 gliotoxin (GTX; *Gliocladium*, *Aspergillus* ve *Penicillium* türleri tarafından üretilen toksik, karsinojenik ve mutajenik sekonder metabolitlerden biri) ile muamele edilmiş lenfosit kültürlerinde *Pseudovernia furfuracea* (L.) Zoph. likeninin rolünü ve farklı konsantrasyonlarda (50, 75 ve 100ng/mL) GTX'in genotoksik etkilerini araştırmışlardır. Araştırma sonucunda, *P. furfuracea* likeninin insan lenfositlerinde genetik hasara neden olan GTX'e karşı DNA'nın direncinin artmasını sağladığı rapor edilmiştir.

Ayas 2007 *Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm likeninin metanol ekstresi (LPME)'nin ratlarda indometazin (IND) ile oluşturulan ülser modelindeki koruyucu etkisini araştırmıştır. Bu likenin IND ile oluşturulan ülseri doza bağlı olarak önemli oranda azalttığı belirlenmiştir. Aynı çalışmada antioksidan savunma sistemlerinin ülser gelişimi üzerindeki rolünü belirlemek için ratların mide dokularındaki süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), miyeloperoksidaz (MPx) ve glutatyon peroksidaz (GPx) ile

toplam glutasyon (GSH) ve lipid peroksidasyon (LPO) düzeyleri tespit edilmiştir. Ülser oluşan dokularda GSH miktarı ile SOD ve GPx enzim aktiviteleri azalırken, CAT ve MPx aktivitesiyle LPO miktarının arttığı gözlenmiştir. Bu çalışmadan elde edilen veriler, gastrik hasar oluşumunda serbest radikallerin üretildiğini ve IND'nin antioksidan savunma sistemini olumsuz yönde etkileyerek ülser oluşumunda rol aldığını göstermiştir.

Tanas vd 2010 *Peltigera rufescens* (Weis.) Humb (Peltigeraceae) metanol ekstresinin (MEPR) iltihaplanmanın akut ve kronik evrelerinde antiinflamatuvar etkilerini araştırdıkları çalışmada MEPR'nin karagenanın neden olduğu iltihaplanmayı azaltarak iltihaplanmanın kronik evresinde güçlü antiproliferatif etki gösterdiğini rapor etmişlerdir.

Mayer *et al.* 2005 insan tümörlerinin büyük bir çoğunluğunun inaktif p53 geni ya da düşük gen ifadesi ve p53 geninin normal aktivitesindeki bozukluk gibi hücrel faktörleri taşıdıklarını rapor etmişlerdir. Likenlerin doğal bir bileşeni olan usnik asit; wild-tip p53 göğüs kanser hücre dizisi MCF7, p53 geninin inaktif olduğu göğüs kanser hücre dizisi MDA-MB-231 ve akciğer kanser hücre dizisi H1299'a karşı etki göstermiştir. Usnik asit ile muamele edilmiş MCF7 hücrelerinde p53 ve p21 proteinlerinin birikimi olmasına rağmen p53'ün transkripsiyonel aktivitesinin etkilenmeden kaldığı gözlenmiştir. Usnik asit muamelesinden sonra MCF7 hücrelerinde Ser15 de p53'ün fosforilasyonu olamadığı görülmüştür. Bu bulgulardan yola çıkılarak DNA hasarı yapmayan usnik asitin hücrelerin normal metabolik sürecinde aksama ve oksidatif strese yol açtığı ileri sürülmüştür.

Aydın vd 2010 tarım ve ormancılık faaliyetlerinde zararlıların kontrol edilmesi amacıyla yaygın olarak kullanılan piretroid pestisidlerden biri olan permetrin (PM)'in insan

lenfosit kültürlerinde neden olduğu genetik hasara karşı *Rhizoplaca chrysoleuca* (Sm.) Zopf. liken türünün koruyucu etkisini araştırmışlardır. Bu çalışma sonucunda *R. chrysoleuca*'nın ekstre tipine ve doza bağlı olarak PM tarafından oluşturulan genotoksik etkileri azaltabildiği rapor edilmiştir. Ayrıca bu ekstreler anti-genotoksisite aktivitelerine göre metanol > aseton > hekzan şeklinde sıralanmıştır.

Han vd 2004 usnik asitin toksisitesi ve içerdiği lipokinetiks'in karaciğer toksisitesi üzerindeki deki rolünü araştırdıkları çalışmada hepatosit hücre kültüründe usnik asit ile muamelenin 16 saatte %98 nekroze yol açtığını ancak apoptoza rastlanmadığını rapor etmişlerdir. İzole edilmiş karaciğer mitokondrilerine usnik asitin doğrudan mitokondrilerin inhibisyonuna neden olduğu ve oksidatif fosforilasyonu engellediği gözlenmiştir.

Rankovic *et al.* 2010 *Parmelia centrifuga* likeninin metanol ekstresinin *Anaptychia ciliaris*, *Nephroma parile*, *Ochrolechia tartarea* likenlerinin metanol ekstrelerine göre daha kuvvetli antioksidan aktivite gösterdiğini rapor etmişlerdir. Ayrıca antioksidan aktivite ile toplam fenol içeriği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki gözlenmiştir. *Parmelia centrifuga* likeninin en yüksek fenol içeriğe sahip olduğu görülmüştür. *Parmelia centrifuga* ve *Ochrolechia tartarea* metanol ekstrelerinin hem antibakteriyal hem de antifungal etki gösterdiği kaydedilmiştir.

Kinoshita *et al.* 2010 *Lethariella sernanderi*, *L. cashmeriana* ve *L. sinensis* likenlerinden izole edilen sarı ve koyu kırmızı pigmentlerin antioksidan özellik gösterdiğini rapor etmişlerdir.

Koparal vd 2010 *Pseudevernia fufuracea* var. *ceratea* likeninin aseton ekstresinden izole edilen olivetorik asitin *in vitro* da güçlü anti-anjiogenik etki gösterdiğini rapor

etmişlerdir. Olivetorik asit doza bağı olarak sıçan yağ dokusu endotel hücrelerin yayılmasını ve bozulmuş endotel tüp oluşumunu engellemiştir. F-aktin lifleri üzerinde olivetorik asitin doza bağı şekilde depolimerizasyon etkileri gösterdiği bildirilmiştir.

Luo *et al.* 2009 Çeşitli liken türlerinin *in vitro* da antioksidan etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada *Umbilicaria antarctica*, *Cladonia furcata*, *Sphaerophorus globosus* ve *Usnea antarctica* aseton ekstreleri metanol ekstrelerinden daha güçlü antioksidan etki gösterdiğini rapor etmişlerdir. İlgili likenler içerisinde *Umbilicaria antarctica*'nın aseton ekstresinden izole edilen lekanorik asit nedeniyle en güçlü antioksidan etkiyi gösterdiği gözlenmiştir.

3. MATERİYAL ve YÖNTEMLER

3.1. Materyal

3.1.1. Kan örneklerinin alınması ve kültürlerin kurulması

Bu çalışmaya yaşları 20 ile 25 arasında ($21,3 \pm 1,8$) bayan, sigara ve alkol kullanmayan, belirli bir hastalığı saptanmayan ve mesleği dolayısıyla fiziksel veya kimyasal ajanlara maruz kalmamış gönüllü beş birey dahil edildi. Heparinize enjektöre alınan periferik kan numuneleri, Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Toksikoloji ve Doku Kültürü Laboratuvarlarında yürütülen biyokimyasal ve genetik araştırmalarda kullanıldı.

Yapılan ön denemelerden elde edilen sonuçlar ve mevcut literatür bilgileri doğrultusunda test likenlerinin kültürlerine uygulanacak olan dozları tespit edildi. Test edilen liken türleri ve kültürlerine uygulanan konsantrasyonları Çizelge 1.3’de gösterilmiştir. Genotoksisite araştırmaları 72 saatlik tam kan kültürleri üzerinde yapıldı. Biyokimyasal araştırmalar ise 2 saatlik tam kan kültürleri üzerinde yapıldı. Bu sürenin sonunda kültürler sonlandırılarak uygulanacak olan test tekniklerine uygun prosedürler izlenerek preparatlar elde edildi. Elde edilen preparatlar daha sonra analiz edilmek üzere uygun koşullarda saklandı. Kontrol grubu olarak kurulan kültürlerle herhangi bir ekstre eklenmedi. Ayrıca TAK analizlerinde pozitif kontrol olarak Askorbik asit ($10\mu\text{M}$); TOD analizlerinde pozitif kontrol olarak Hidrojen peroksit ($25\mu\text{M}$); KA ve MÇ testleri için ise pozitif kontrol olarak Mitomisin-C (10^{-7}M) kullanılmıştır.

Çizelge 3.1. Test edilen liken türleri ve uygulanan konsantrasyonları

Liken Türü	Test Edilen Konsantrasyonları
<i>Aspicilia calcarea</i> (L.) Mudd.	0, 1, 5, 10, 25, 50, 100, 200, 250, 500, 1000 ve 2000 mg/L
<i>Bryoria capillaris</i> (Ach.) Brodo and D. Hawksw.	
<i>Cetraria chlorophylla</i> (Wild.) Vainio	
<i>Dermatocarpon intestiniforme</i> (Körber) Hasse.	
<i>Hypogymnia physodes</i> (L.) Nyl.	
<i>Peltigera rufescens</i> (Weis) Humb.	
<i>Physcia aipolia</i> (Humb.) Fűrnrh	
<i>Ramalina polymorpha</i> (Lilj.) Ach.	
<i>Usnea florida</i> (L.) Wigg. ex Web. em Clerc.	
<i>Xanthoria elegans</i> (Link) Th. Fr.	

3.1.2. Liken ekstralarının hazırlanışı

20 gr'lık liken örnekleri 400 ml distile su içeren bir cam kap içersine alındı. Manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırılarak 15 dk kaynatıldı. Daha sonra ekstraları Whatmann No.1 filtre kağıdı ile süzöldü.

3.1.3. Kullanılan kimyasal maddeler

Çalışmada kullanılan kromozom medium B Biochrom® firmasından, cytochalasin-B, L-glutamine, colcemid, giemsa, askorbik asit, hidrojen peroksit, mitomisin-C Sigma® firmasından, potasyum klorür (KCl), glasiyal asetik asit ve sodyum hidrojen fosfat (Na₂HPO₄) Riedel-de Haent® firmasından, metanol ve potasyum dihidrojen fosfat (KH₂PO₄) Fluka® firmasından, sodyum heparin Roche firmasından, TAS ve TOS

kitleri Rel Assay Diagnostics® firmasından temin edilmiştir. Ayrıca çalışmada kullanılan likenler Erzurum ve Artvin illerinden 2010 yaz döneminde toplanmıştır.

3.1.4. Kullanılan aletler ve cihazlar

Araştırmalar esnasında kullanılan aletler ve cihazlarla ilgili bilgiler Çizelge 3.2’de gösterilmiştir.

Çizelge 3.2. Araştırmalar esnasında kullanılan aletler ve cihazlar

Aletler ve Cihazlar	Temin Edildikleri Firmalar
Distile su cihazı	Easypure RF compact ultarpure ws, USA
Etüv	Heraeus FB 420, Germany
Hassas terazi	Sartorius AG, Germany
Mikroskop	Prior T-100 mA, England
Otomotik pipet	Finpipette Labsystems, Finland
pH metre	Handylab - 2BNC
Santrifüj	Heraeus 4600, Germany
Spektrofotometre	Beckman DU 500, USA
Su banyosu	Nüve BM 101, Nüve M.S.L.T.A, Ankara

3.1.5. Kullanılan çözeltiler ve hazırlanması

Hipotonik çözeltinin hazırlanışı

0,5592 gr KCl tartılarak 100ml distile suda çözüldü. Konsantrasyonu 0,075 M olan KCl çözeltisi kullanılmadan önce etüvde 37°C’ye kadar ısıtıldı.

Tespit (fiksatif) çözeltisinin hazırlanışı

1 kısım Glasiyel asetik asit'in üzerine 3 kısım metanol ilave edilerek iyice karıştırıldı. Solüsyon her kullanım için taze olarak hazırlandı. Kullanmadan önce buzdolabında (+4°C de) soğutuldu.

Giemsa boya çözeltisinin hazırlanışı

A Çözeltisi: Na_2HPO_4 'ten 11,88gr tartılarak 1litre distile suda çözöldü.

B Çözeltisi: KH_2PO_4 'ten 9,08gr tartılarak 1 litre distile suda çözöldü.

A çözeltisinden 30ml şaleye konuldu. Üzerine; pH metre 6,8'i gösterinceye kadar B çözeltisinden ilave edildi. Sonra üzerine 5 ml Giemsa boyası eklendi. Pipetajla karıştırıldı. Üzerinin yağı kurutma kâğıdı ile alındı. Çözelti oda ısısında muhafaza edildi.

3.2. Yöntemler

3.2.1. Genotoksisite testleri

Genotoksisite araştırmaları, güvenilir ve oldukça yaygı olarak kullanılan Kromozom aberasyonları (KA) ve Mikroçekirdek (MÇ) teknikleri kullanılarak yürütöldü.

Tüm kromozom çalışmalarında olduğu gibi bu araştırmada da özellikle hücre kültürlerindeki kontaminasyon ihtimalini azaltmak ve çalışma sırasında optimum miktarda hücre elde edebilmek için sterilite, pH ve sıcaklık koşullarına dikkat edildi.

Kromozom Aberasyonları (KA) Yöntemi

- 1) Protokol numarası verilmiş steril hücre kültür tüplerine (cellstar) önceden hazırlanmış ve 37°C'ye getirilmiş besiyerinden (Chromosome Medium B) 6 ml konuldu.
- 2) Besiyerinin üzerine 0,5 ml tam kan eklendi.
- 3) Tüplerdeki kültürler son konsantrasyonları 1, 5, 10, 25, 50, 100, 200, 250, 500, 1000 ve 2000 mg/L olacak şekilde test edilen liken ekstraktları ilave edildi.
- 4) Tüpler alt üst edilerek karıştırıldı ve kapakları kapatılarak 37°C'lik etüve bırakıldı.
- 5) İnkübasyon başlangıcından 70 saat 15 dk sonra, colcemid çözeltisinden (+4°C de muhafaza edilmiş, 10 µg/ml konsantrasyonunda) 0,1 cc tüm kültürler eklendi.
- 6) Tüpler tekrar etüve yerleştirilerek (37°C'de) 1 saat 45dk daha bekletildi.
- 7) 72 saatin sonunda etüvden çıkarılan tüpler santrifüj işlemine alındı.
- 8) Kültürler 900 rpm'de 10 dk santrifüj edildi.
- 9) Santrifüj süresinin sonunda süpernatant pastör pipeti ile atıldı.
- 10) Tüpte kalan çökeltinin (pellet) üzerine 8 ml Hipotonik çözeltisi yavaş yavaş ilave edildi.
- 11) Hipotonik çözelti eklenen tüpler 37°C'lik etüvde 15-20 dk bekletildi.
- 12) Bekleme süresi sonunda etüvden çıkarılan tüpler 900 rpm'de 10 dk santrifüj edildi ve süpernatant atıldı.
- 13) Tüpte kalan pellet üzerine taze hazırlanmış soğuk tespit çözeltisinden yavaş yavaş 7 ml eklenerek 900 rpm'de 10 dk santrifüj edildi ve süpernatant atıldı.
- 14) Bir önceki basamak iki kez daha tekrar edildi.

- 15) Son süpernatant da atıldı ve pellet pastör pipeti ile yavaş yavaş karıştırıldı.
- 16) Pipetle çekilen pellet önceden üzerine protokol numarası yazılmış, temizlenmiş ve soğutulmuş (+4°C) lamlara 45°'lik açı ile yayılarak lamlar oda ısısında karanlık bir ortamda 3 gün kurumaya bırakıldı.
- 17) 3. günün sonunda preparatlar 15 dk. Giemsa boyasında bekletildi.
- 18) Boyama işleminin sonunda preparatlar tekrar distile sudan geçirilerek oda sıcaklığında kurumaya bırakıldı.
- 19) Kuruyan lamlar entellan kullanılarak kapatıldı ve incelemeye hazır hale getirildi. Preparatlar ışık mikroskobunda immersiyon ($\times 100$) objektifi ile incelendi. Her bir bireyden 30 metafaz plağı incelendi. Bu metafazlarda kromatid ve kromozom gap'leri ile kromatid ve kromozom kırıkları değerlendirmeye alınarak hücre başına ortalama KA değeri elde edildi.

Mikroçekirdek (MÇ) Yöntemi

KA yönteminde olduğu gibi kültür ortamı hazırlandı. İnkübasyonun başlangıcından 44 saat sonra, sitokalazin-B'den son konsantrasyonu 3µg/ml olacak şekilde tüm kültürler ilave edildi. 72 saatin sonunda etüvden çıkarılan tüpler santrifüj işlemine alındı. Santrifüj işlemleri, hipotonik ve tespit çözeltilerinin ilave edilmesi ile yaymaların yapılmasında KA için verilmiş olan protokol uygulandı. Yayma işlemini takip eden 3. günün sonunda preparatlar 15dk. Giemsa boyasında bekletildi. Boyama işleminin sonunda preparatlar tekrar distile sudan geçirilerek oda sıcaklığında kurumaya bırakıldı. Kuruyan lamlar entellan kullanılarak kapatıldı ve incelemeye hazır hale getirildi. Preparatlar ışık mikroskobunda immersiyon ($\times 100$) objektifi ile incelendi. Mikroçekirdek oluşumunu değerlendirmek için hazırladığımız sitokalazin-B'li kültürlerde elde edilen binükleuslu hücrelerde MÇ değerlendirme kriterleri dikkate alındı. Mononükleuslu, trinükleuslu veya daha fazla çekirdekli hücreler değerlendirme

dışı bırakıldı. Her bir kültürde en az 1000 binükleuslu hücre incelendi ve MÇ frekansına bakıldı.

3.2.2. Biyokimyasal analizler

Liken çözeltilerinin doza bağlı olarak 2 saatlik periferik kan kültürleri üzerine biyokimyasal etkilerinin değerlendirilmesi amacıyla toplam antioksidan kapasitesi (TAK) ve toplam oksidan durum (TOD) ölçüldü.

Toplam Antioksidan Kapasitesi (TAK)

TAK düzeyi tespitinde, ilk olarak Tomasch *et al.* (2001) tarafından uygulanan fotomerik yöntem kullanıldı. Bu yöntem 2-2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline 6-sülfonat = ABTS⁺) radikal katyonunun oluşumunu inhibe edecek antioksidan kapasitenin tespitini temel almaktadır. Tespit işleminde Rel Assay Diagnostics® firması tarafından üretilen TAS (total antioxidant status) ticari kitleri kullanıldı (Erel 2004).

Kit Bileşenleri

- Reaktif 1 Solüsyonu: 50 ml
- Reaktif 2 Solüsyonu: 10 ml
- Standard 1 Solüsyonu: 10 ml
- Standard 2 Solüsyonu: 10 ml

30 µl plazma örneğinin bulunduğu kuvartz küvete 500 µl Reaktif 1 solüsyonundan ilave edilerek 660 nm'de ilk absorbansı okundu. Daha sonra aynı küvete 75 µl Reaktif 2

solüsyonundan eklenerek oda sıcaklığında 10 dk. bekletildi. Bekleme sonunda 660 nm’de ikinci kez absorbansı okundu. Elde edilen absorbans değerleri ve aşağıdaki formül kullanılarak TAK düzeyleri mmol Trolox Equiv./L cinsinden tespit edildi.

$$\text{TAK (mmol Trolox Equiv./L)} = [(\Delta\text{Standart 1’in değeri}) - (\Delta\text{Örneğin değeri})] / [(\Delta\text{Standart 1’in değeri}) - (\Delta\text{Standart 2’nin absorbansı})] \times 20$$

Toplam Oksidan Durum (TOD)

TOD (total oksidan durum), tam otomatik kolorimetrik bir yöntemdir. İncelenen numunede bulunan oksidanlar ferroz iyon-*o*-dianisidin yapısını ferik iyonla oksitlerler. Bu reaksiyonu ortamda bulunan gliserol yaklaşık üç kat hızlandırmaktadır. Asidik ortamda ferrik iyonlar “xylenol orange” ile renkli bir kompleks meydana getirirler. Numunede bulunan oksidanların miktarıyla ilişkili olan rengin yoğunluğu spektrofotometrik olarak ölçülerek değerlendirme yapılır. Araştırmamızda Rel Assay Diagnostics® firması tarafından üretilen TOS (total oxidant status) ticari kitleri kullanıldı.

Kit Bileşenleri

- Reaktif 1 Solüsyonu: 50 ml
- Reaktif 2 Solüsyonu: 10 ml
- Standard 1 Solüsyonu: 10 ml
- Standard 2 Solüsyonu: 10ml

75 µl plazma örneğinin bulunduğu kuvartz küvete 500 µl Reaktif 1 solüsyonundan ilave edilerek 530 nm’de ilk absorbansı okundu. Daha sonra aynı küvete 25 µl Reaktif 2

solüsyonundan eklenerek oda sıcaklığında 10 dk. bekletildi. Bekleme sonunda 530 nm’de ikinci kez absorbansı okundu. Elde edilen absorbans değerleri ve aşağıdaki formül kullanılarak mmol TOD düzeyleri Trolox Equiv./L cinsinden tespit edildi.

$$\text{TOD } (\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Equiv./L}) = (\Delta\text{Örneğin değeri}/\Delta\text{Standart 2’nin değeri}) \times (\text{Standart 2 değeri})$$

3.3. İstatiksel İşlemler

Çalışmadan elde edilen bulguların istatiksel yönden değerlendirilmesinde S.P.S.S 18 programı kullanıldı. Tespit edilen KA ve MÇ analizlerinde belirlenen ortalamalar ile TAK ve TOD düzeylerinin kontrol ve deney grupları arasında değişiklik gösterip göstermediği varyans analizi kullanılarak belirlendi (Seymen vd 2000; Bukowska and Kowalska 2004). Varyans analizi için one way Anova testlerinden Duncan testi kullanıldı. Elde edilen veriler 0,05 anlam seviyesi göz önünde bulundurularak yorumlandı.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Farklı konsantrasyonlarda *Aspicilia calcarea* (L.) Mudd. liken ekstrelerinin ilave edildiği insan tam kan kültürlerinden elde edilen genetik ve biyokimyasal sonuçlar Çizelge 4.1’de gösterilmiştir. Sonuçlarımız, *A. calcarea*’nın kontrol grubuna (Kontrol⁻) kıyasla 1, 5, 250, 500 ve 1000 mg/L konsantrasyonlarının TAK düzeylerini değiştirmedeğini; ancak 10, 25, 50, 100 ve 200 mg/L konsantrasyonlarının ise TAK düzeylerini yükselttiğini ortaya koymuştur. 2000 mg/L konsantrasyonu TAK düzeyini istatistiksel açıdan önemli derecede azaltmıştır. Diğer taraftan, söz konusu liken ekstreleri çalışılan tüm konsantrasyonlarda (2000 mg/L hariç) TOD düzeyini değiştirmemiştir. Ayrıca *in vitro* koşullarda liken ekstrelerine maruz bırakılan kültürlerden elde edilen KA/hücre ve MÇ/1000 hücre değerleri de kontrol grubu değerinden (Kontrol⁻) farklı bulunmamıştır. Bununla birlikte 1000 ve 2000 mg/L konsantrasyonlarının kültürlerin üreme koşullarını olumsuz etkilediği gözlenmiştir.

Çizelge 4.1. *In vitro* koşullarda *Aspicilia calcarea* likeninin sulu ekstrelerinin genetik ve biyokimyasal etkileri

Gruplar	TAK (mmol Trolox Equiv./L)	TOD (μmol H ₂ O ₂ Equiv./L)	MÇ/1000 hücre	KA/hücre
Kontrol ⁻	6.24 ± 0.62 ^b	11.58 ± 2.64 ^a	3.18 ± 0.72 ^a	0.20 ± 0.02 ^a
Kontrol ⁺	13.71 ± 0.94 ^d	39.25 ± 4.63 ^c	8.26 ± 1.18 ^b	0.72 ± 0.09 ^b
1 mg/L	6.27 ± 0.64 ^b	11.62 ± 2.64 ^a	3.24 ± 0.43 ^a	0.20 ± 0.02 ^a
5 mg/L	6.97 ± 0.59 ^b	11.65 ± 2.74 ^a	3.26 ± 0.44 ^a	0.21 ± 0.04 ^a
10 mg/L	7.45 ± 0.57 ^c	11.14 ± 2.68 ^a	3.20 ± 0.41 ^a	0.24 ± 0.04 ^a
25 mg/L	8.12 ± 0.54 ^c	11.18 ± 2.69 ^a	3.23 ± 0.46 ^a	0.20 ± 0.03 ^a
50 mg/L	9.27 ± 0.61 ^c	11.07 ± 2.81 ^a	3.27 ± 0.45 ^a	0.18 ± 0.02 ^a
100 mg/L	9.89 ± 0.59 ^c	11.64 ± 2.84 ^a	3.18 ± 0.43 ^a	0.21 ± 0.03 ^a
200 mg/L	7.12 ± 0.48 ^c	11.23 ± 2.77 ^a	3.21 ± 0.48 ^a	0.22 ± 0.04 ^a
250 mg/L	6.72 ± 0.54 ^b	11.18 ± 2.68 ^a	3.24 ± 0.45 ^a	0.20 ± 0.02 ^a
500 mg/L	6.39 ± 0.51 ^b	11.63 ± 2.74 ^a	3.20 ± 0.47 ^a	0.21 ± 0.02 ^a
1000 mg/L	6.08 ± 0.57 ^b	11.92 ± 2.74 ^a	-	-
2000 mg/L	5.41 ± 0.49 ^a	12.61 ± 2.77 ^b	-	-

*Değerler ortalama ± standart sapma olarak sunulmuştur (n=5). Aynı sütundaki farklı harfler P<0,05 düzeyinde istatistiksel farklılığı ifade etmektedir. TAK için kontrol⁺ = Askorbik asit (10μM); TOD için kontrol⁺ = hidrojen peroksit (25 μM); KA ve MÇ testleri için kontrol⁺ = Mitomisin-C (10⁻⁷M)

Farklı konsantrasyonlarda *Bryoria capillaris* (Ach.) Brodo ve D. Hawksw. liken ekstrelerinin ilave edildiği insan tam kan kültürlerinden elde edilen genetik ve biyokimyasal sonuçlar Çizelge 4.2’de gösterilmiştir. Sonuçlarımız, *B. capillaris*’in kontrol grubuna (Kontrol⁻) kıyasla 1, 5, 10, 100, 200, 250, 500 ve 1000 mg/L konsantrasyonlarının TAK düzeylerini değiştirmediyi; ancak 25 ve 50 mg/L konsantrasyonlarının ise TAK düzeylerini yükselttiğini ortaya koymuştur. 2000 mg/L konsantrasyon TAK düzeyini istatistiksel açıdan önemli derecede azaltmıştır. Diğer taraftan, söz konusu liken ekstreleri çalışılan tüm konsantrasyonlarda (2000 mg/L hariç) TOD düzeyini etkilememiştir. Ayrıca *in vitro* koşullarda liken ekstrelerine maruz bırakılan kültürlerden elde edilen KA/hücre ve MÇ/1000 hücre değerleride kontrol grubu değerinden (Kontrol⁻) farklı bulunmamıştır. Bununla birlikte sadece 2000 mg/L konsantrasyonunun kültürlerin üreme koşullarını olumsuz etkilediği gözlenmiştir.

Çizelge 4.2. *In vitro* koşullarda *Bryoria capillaris* likeninin sulu ekstrelerinin genetik ve biyokimyasal etkileri

Gruplar	TAK (mmol Trolox Equiv./L)	TOD (μmol H ₂ O ₂ Equiv./L)	MÇ/1000 hücre	KA/hücre
Kontrol ⁻	6.24 ± 0.62 ^b	11.58 ± 2.64 ^a	3.18 ± 0.72 ^a	0.20 ± 0.02 ^a
Kontrol ⁺	13.71 ± 0.94 ^d	39.25 ± 4.63 ^c	8.26 ± 1.18 ^b	0.72 ± 0.09 ^b
1 mg/L	6.29 ± 0.60 ^b	11.56 ± 2.60 ^a	3.21 ± 0.69 ^a	0.22 ± 0.04 ^a
5 mg/L	6.42 ± 0.27 ^b	11.67 ± 2.19 ^a	3.32 ± 0.77 ^a	0.18 ± 0.02 ^a
10 mg/L	6.35 ± 0.39 ^b	11.76 ± 2.71 ^a	3.27 ± 0.68 ^a	0.15 ± 0.03 ^a
25 mg/L	8.12 ± 0.63 ^c	11.16 ± 2.43 ^a	3.47 ± 0.59 ^a	0.20 ± 0.03 ^a
50 mg/L	8.23 ± 0.59 ^c	11.21 ± 2.57 ^a	2.93 ± 0.61 ^a	0.22 ± 0.02 ^a
100 mg/L	7.09 ± 0.51 ^{bc}	11.63 ± 3.07 ^a	2.87 ± 0.72 ^a	0.24 ± 0.03 ^a
200 mg/L	6.37 ± 0.53 ^b	11.71 ± 3.14 ^a	3.19 ± 0.74 ^a	0.22 ± 0.04 ^a
250 mg/L	6.41 ± 0.50 ^b	11.83 ± 3.29 ^a	3.29 ± 0.77 ^a	0.24 ± 0.02 ^a
500 mg/L	6.28 ± 0.42 ^b	11.88 ± 2.96 ^a	3.41 ± 0.66 ^a	0.18 ± 0.02 ^a
1000 mg/L	6.06 ± 0.51 ^b	11.93 ± 3.24 ^a	3.29 ± 0.63 ^a	0.24 ± 0.02 ^a
2000 mg/L	5.23 ± 0.44 ^a	12.73 ± 3.18 ^b	-	-

*Değerler ortalama ± standart sapma olarak sunulmuştur (n=5). Aynı sütundaki farklı harfler P<0,05 düzeyinde istatistiksel farklılığı ifade etmektedir. TAK için kontrol⁺ = Askorbik asit (10μM); TOD için kontrol⁺ = hidrojen peroksit (25 μM); KA ve MÇ testleri için kontrol⁺ = Mitomisin-C (10⁻⁷M)

Farklı konsantrasyonlarda *Cetraria chlorophylla* (Wild.) liken ekstrelerinin ilave edildiği insan tam kan kültürlerinden elde edilen genetik ve biyokimyasal sonuçlar Çizelge 4.3’de gösterilmiştir. Sonuçlarımız, *C. chlorophylla*’nın kontrol grubuna (Kontrol⁻) kıyasla 1, 5, 10, 25, 100, 200, 250, 500, 1000 ve 2000 mg/L konsantrasyonlarının TAK düzeylerini değiştirmedeğini; sadece 50 mg/L konsantrasyonunun ise TAK düzeyini yükselttiğini ortaya koymuştur. Diğer taraftan, söz konusu liken ekstreleri çalışılan tüm konsantrasyonlarda (500, 1000 ve 2000 mg/L hariç) TOD düzeyini değiştirmemiştir. Ayrıca *in vitro* koşullarda liken ekstrelerine maruz bırakılan kültürlerden elde edilen KA/hücre ve MÇ/1000 hücre değerleride kontrol grubu değerinden (Kontrol⁻) farklı bulunmamıştır. Bununla birlikte 1000 ve 2000 mg/L konsantrasyonlarının kültürlerin üreme koşullarını olumsuz etkilediği gözlenmiştir.

Çizelge 4.3. *In vitro* koşullarda *Cetraria chlorophylla* likeninin sulu ekstrelerinin genetik ve biyokimyasal etkileri

Gruplar	TAK (mmol Trolox Equiv./L)	TOD (μmol H ₂ O ₂ Equiv./L)	MÇ/1000 hücre	KA/hücre
Kontrol ⁻	6.24 ± 0.62 ^a	11.58 ± 2.64 ^a	3.18 ± 0.72 ^a	0.20 ± 0.02 ^a
Kontrol ⁺	13.71 ± 0.94 ^c	39.25 ± 4.63 ^c	8.26 ± 1.18 ^b	0.72 ± 0.09 ^b
1 mg/L	6.33 ± 0.52 ^a	11.37 ± 2.77 ^a	3.37 ± 0.42 ^a	0.20 ± 0.03 ^a
5 mg/L	6.29 ± 0.43 ^a	11.25 ± 2.43 ^a	3.41 ± 0.57 ^a	0.18 ± 0.04 ^a
10 mg/L	6.51 ± 0.27 ^a	11.20 ± 3.11 ^a	2.89 ± 0.65 ^a	0.22 ± 0.02 ^a
25 mg/L	6.57 ± 0.43 ^a	11.63 ± 2.76 ^a	3.14 ± 0.51 ^a	0.18 ± 0.03 ^a
50 mg/L	7.39 ± 0.51 ^b	11.36 ± 3.04 ^a	2.77 ± 0.47 ^a	0.18 ± 0.03 ^a
100 mg/L	6.33 ± 0.37 ^a	11.62 ± 2.93 ^a	2.91 ± 0.38 ^a	0.23 ± 0.01 ^a
200 mg/L	6.30 ± 0.62 ^a	11.73 ± 2.81 ^a	3.13 ± 0.73 ^a	0.20 ± 0.02 ^a
250 mg/L	6.27 ± 0.53 ^a	11.88 ± 3.10 ^a	2.66 ± 0.52 ^a	0.18 ± 0.03 ^a
500 mg/L	6.20 ± 0.35 ^a	12.47 ± 3.07 ^b	3.22 ± 0.57 ^a	0.22 ± 0.04 ^a
1000 mg/L	6.16 ± 0.39 ^a	12.67 ± 3.21 ^b	-	-
2000 mg/L	6.10 ± 0.43 ^a	12.26 ± 3.43 ^b	-	-

*Değerler ortalama ± standart sapma olarak sunulmuştur (n=5). Aynı sütundaki farklı harfler P<0,05 düzeyinde istatistiksel farklılığı ifade etmektedir. TAK için kontrol⁺ = Askorbik asit (10μM); TOD için kontrol⁺ = hidrojen peroksit (25 μM); KA ve MÇ testleri için kontrol⁺ = Mitomisin-C (10⁻⁷M)

Farklı konsantrasyonlarda *Dermatocarpon intestiniforme* (Körber) Hasse. liken ekstrelerinin ilave edildiği insan tam kan kültürlerinden elde edilen genetik ve biyokimyasal sonuçlar Çizelge 4.4’de gösterilmiştir. Sonuçlarımız, *D. intestiniforme*’nin kontrol grubuna (Kontrol⁻) kıyasla 1, 5, 10, 100, 200, 250 ve 500mg/L konsantrasyonlarının TAK düzeylerini değiştirmedeğini; 25 ve 50 mg/L konsantrasyonlarının ise TAK düzeyini yükselttiğini ortaya koymuştur. 1000 ve 2000 mg/L konsantrasyonları TAK düzeyini istatistiksel açıdan önemli derecede azaltmıştır. Diğer taraftan, söz konusu liken ekstreleri çalışılan tüm konsantrasyonlarda (500, 1000 ve 2000 mg/L hariç) TOD düzeyini etkilememiştir. 500, 1000 ve 2000 mg/L konsantrasyonlarda TOD düzeylerinde istatistiksel açıdan bir yükseliş görülmüştür. Ayrıca *in vitro* koşullarda liken ekstrelerine maruz bırakılan kültürlerden elde edilen KA/hücre ve MÇ/1000 hücre değerleride kontrol grubu değerinden (Kontrol⁻) farklı bulunmamıştır. Bununla birlikte 1000 ve 2000 mg/L konsantrasyonlarının kültürlerin üreme koşullarını olumsuz etkilediği gözlenmiştir.

Çizelge 4.4. *İn vitro* koşullarda *Dermatocarpon intestiniforme* likeninin sulu ekstrelerinin genetik ve biyokimyasal etkileri

Gruplar	TAK (mmol Trolox Equiv./L)	TOD (μmol H ₂ O ₂ Equiv./L)	MÇ/1000 hücre	KA/hücre
Kontrol ⁻	6.24 ± 0.62 ^b	11.58 ± 2.64 ^a	3.18 ± 0.72 ^a	0.20 ± 0.02 ^a
Kontrol ⁺	13.71 ± 0.94 ^d	39.25 ± 4.63 ^c	8.26 ± 1.18 ^b	0.72 ± 0.09 ^b
1 mg/L	6.25 ± 0.57 ^b	11.55 ± 2.66 ^a	3.11 ± 0.51 ^a	0.21 ± 0.02 ^a
5 mg/L	6.29 ± 0.46 ^b	11.73 ± 2.23 ^a	2.77 ± 0.41 ^a	0.22 ± 0.03 ^a
10 mg/L	6.68 ± 0.52 ^b	11.85 ± 2.89 ^a	3.41 ± 0.40 ^a	0.20 ± 0.01 ^a
25 mg/L	7.43 ± 0.63 ^c	11.32 ± 2.94 ^a	2.86 ± 0.37 ^a	0.21 ± 0.02 ^a
50 mg/L	8.26 ± 0.89 ^c	11.16 ± 2.79 ^a	2.91 ± 0.51 ^a	0.24 ± 0.01 ^a
100 mg/L	6.71 ± 0.59 ^b	11.29 ± 3.10 ^a	3.07 ± 0.39 ^a	0.18 ± 0.02 ^a
200 mg/L	6.38 ± 0.60 ^b	11.47 ± 2.93 ^a	3.17 ± 0.58 ^a	0.21 ± 0.02 ^a
250 mg/L	6.17 ± 0.58 ^b	11.73 ± 3.05 ^a	3.41 ± 0.33 ^a	0.22 ± 0.01 ^a
500 mg/L	6.09 ± 0.45 ^b	12.39 ± 3.17 ^b	3.28 ± 0.47 ^a	0.20 ± 0.02 ^a
1000 mg/L	5.83 ± 0.50 ^a	12.46 ± 2.96 ^b	-	-
2000 mg/L	5.47 ± 0.66 ^a	14.25 ± 3.61 ^b	-	-

*Değerler ortalama ± standart sapma olarak sunulmuştur (n=5). Aynı sütundaki farklı harfler P<0,05 düzeyinde istatistiksel farklılığı ifade etmektedir. TAK için kontrol⁺ = Askorbik asit (10μM); TOD için kontrol⁺ = hidrojen peroksit (25 μM); KA ve MÇ testleri için kontrol⁺ = Mitomisin-C (10⁻⁷M)

Farklı konsantrasyonlarda *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl. Vainio liken ekstrelerinin ilave edildiği insan tam kan kültürlerinden elde edilen genetik ve biyokimyasal sonuçlar Çizelge 4.5’de gösterilmiştir. Sonuçlarımız, *H. physodes*’in kontrol grubuna (Kontrol⁻) kıyasla 1, 5, 10, 100, 200, 250 ve 500mg/L konsantrasyonlarının TAK düzeylerini değiştirmedeğini; sadece 50 mg/L konsantrasyonunun ise TAK düzeyini yükselttiğini ortaya koymuştur. 1000 ve 2000 mg/L konsantrasyonları TAK düzeyini istatistiksel açıdan önemli derecede azaltmıştır. Diğer taraftan, söz konusu liken ekstreleri çalışılan tüm konsantrasyonlarda (250, 500, 1000 ve 2000 mg/L hariç) TOD düzeyini değiştirmemiştir. 250, 500, 1000 ve 2000 mg/L konsantrasyonlarda TOD düzeylerinde istatistiksel açıdan bir artış görülmüştür. Ayrıca *in vitro* koşullarda liken ekstrelerine maruz bırakılan kültürlerden elde edilen KA/hücre ve MÇ/1000 hücre değerleride kontrol grubu değerinden (Kontrol⁻) farklı bulunmamıştır. Bununla birlikte 1000 ve 2000 mg/L konsantrasyonlarının kültürlerin üreme koşullarını olumsuz etkilediği gözlenmiştir.

Çizelge 4.5. *In vitro* koşullarda *Hypogymnia physodes* likeninin sulu ekstrelerinin genetik ve biyokimyasal etkileri

Gruplar	TAK (mmol Trolox Equiv./L)	TOD (μmol H ₂ O ₂ Equiv./L)	MÇ/1000 hücre	KA/hücre
Kontrol ⁻	6.24 ± 0.62 ^b	11.58 ± 2.64 ^a	3.18 ± 0.72 ^a	0.20 ± 0.02 ^a
Kontrol ⁺	13.71 ± 0.94 ^d	39.25 ± 4.63 ^c	8.26 ± 1.18 ^b	0.72 ± 0.09 ^b
1 mg/L	6.25 ± 0.43 ^b	11.27 ± 2.76 ^a	3.35 ± 0.48 ^a	0.20 ± 0.03 ^a
5 mg/L	6.27 ± 0.42 ^b	11.02 ± 2.54 ^a	3.40 ± 0.55 ^a	0.21 ± 0.02 ^a
10 mg/L	6.25 ± 0.39 ^b	11.01 ± 3.01 ^a	3.37 ± 0.62 ^a	0.23 ± 0.02 ^a
25 mg/L	6.26 ± 0.48 ^b	11.60 ± 2.74 ^a	3.39 ± 0.64 ^a	0.21 ± 0.03 ^a
50 mg/L	7.22 ± 0.41 ^c	11.63 ± 3.02 ^a	3.36 ± 0.59 ^a	0.22 ± 0.01 ^a
100 mg/L	6.27 ± 0.38 ^b	11.62 ± 2.94 ^a	3.34 ± 0.63 ^a	0.18 ± 0.03 ^a
200 mg/L	6.26 ± 0.45 ^b	11.64 ± 2.85 ^a	3.37 ± 0.61 ^a	0.21 ± 0.02 ^a
250 mg/L	6.28 ± 0.44 ^b	12.03 ± 3.10 ^b	3.32 ± 0.58 ^a	0.18 ± 0.03 ^a
500 mg/L	6.27 ± 0.47 ^b	12.27 ± 3.04 ^b	3.36 ± 0.51 ^a	0.22 ± 0.04 ^a
1000 mg/L	5.59 ± 0.43 ^a	13.35 ± 3.12 ^b	-	-
2000 mg/L	5.12 ± 0.46 ^a	14.02 ± 3.40 ^b	-	-

*Değerler ortalama ± standart sapma olarak sunulmuştur (n=5). Aynı sütundaki farklı harfler P<0,05 düzeyinde istatistiksel farklılığı ifade etmektedir. TAK için kontrol⁺ = Askorbik asit (10μM); TOD için kontrol⁺ = hidrojen peroksit (25 μM); KA ve MÇ testleri için kontrol⁺ = Mitomisin-C (10⁻⁷M)

Farklı konsantrasyonlarda *Peltigera rufescens* (Weis) Humb. Vainio liken ekstrelerinin ilave edildiği insan tam kan kültürlerinden elde edilen genetik ve biyokimyasal sonuçlar Çizelge 4.6'da gösterilmiştir. Sonuçlarımız, *P. rufescens*'in kontrol grubuna (Kontrol⁻) kıyasla 1, 100, 200, 250, 500 ve 1000 mg/L konsantrasyonlarının TAK düzeylerini değiştirmedeğini; 5, 10 ve 25 mg/L konsantrasyonlarının ise TAK düzeyini yükselttiğini ortaya koymuştur. 2000 mg/L konsantrasyonu TAK düzeyini istatistiksel açıdan önemli derecede azaltmıştır. Diğer taraftan, söz konusu liken ekstreleri çalışılan tüm konsantrasyonlarda (1000 ve 2000 mg/L hariç) TOD düzeyini etkilememiştir. Ayrıca *in vitro* koşullarda liken ekstrelerine maruz bırakılan kültürlerden elde edilen KA/hücre ve MÇ/1000 hücre değerleride kontrol grubu değerinden (Kontrol⁻) farklı bulunmamıştır. Bununla birlikte 1000 ve 2000 mg/L konsantrasyonlarının kültürlerin üreme koşullarını olumsuz etkilediği gözlenmiştir.

Çizelge 4.6. *In vitro* koşullarda *Peltigera rufescens* likeninin sulu ekstrelerinin genetik ve biyokimyasal etkileri

Gruplar	TAK (mmol Trolox Equiv./L)	TOD (μmol H ₂ O ₂ Equiv./L)	MÇ/1000 hücre	KA/hücre
Kontrol ⁻	6.24 ± 0.62 ^b	11.58 ± 2.64 ^a	3.18 ± 0.72 ^a	0.20 ± 0.02 ^a
Kontrol ⁺	13.71 ± 0.94 ^d	39.25 ± 4.63 ^c	8.26 ± 1.18 ^b	0.72 ± 0.09 ^b
1 mg/L	6.36 ± 0.65 ^b	11.40 ± 2.73 ^a	3.25 ± 0.63 ^a	0.23 ± 0.04 ^a
5 mg/L	7.40 ± 0.57 ^c	11.33 ± 2.63 ^a	3.29 ± 0.72 ^a	0.22 ± 0.03 ^a
10 mg/L	7.81 ± 0.62 ^c	11.62 ± 2.56 ^a	3.32 ± 0.54 ^a	0.20 ± 0.02 ^a
25 mg/L	7.93 ± 0.59 ^c	11.28 ± 2.84 ^a	3.42 ± 0.74 ^a	0.21 ± 0.03 ^a
50 mg/L	6.54 ± 0.48 ^b	11.65 ± 2.78 ^a	3.27 ± 0.69 ^a	0.22 ± 0.02 ^a
100 mg/L	6.37 ± 0.53 ^b	11.68 ± 2.64 ^a	3.25 ± 0.75 ^a	0.23 ± 0.03 ^a
200 mg/L	6.43 ± 0.54 ^b	11.61 ± 2.73 ^a	3.24 ± 0.69 ^a	0.20 ± 0.02 ^a
250 mg/L	6.38 ± 0.49 ^b	11.59 ± 2.81 ^a	3.21 ± 0.77 ^a	0.21 ± 0.03 ^a
500 mg/L	6.27 ± 0.51 ^b	11.62 ± 2.75 ^a	3.41 ± 0.71 ^a	0.27 ± 0.04 ^a
1000 mg/L	6.13 ± 0.47 ^b	12.13 ± 2.88 ^b	-	-
2000 mg/L	5.48 ± 0.37 ^a	13.27 ± 2.54 ^b	-	-

*Değerler ortalama ± standart sapma olarak sunulmuştur (n=5). Aynı sütundaki farklı harfler P<0,05 düzeyinde istatistiksel farklılığı ifade etmektedir. TAK için kontrol⁺ = Askorbik asit (10μM); TOD için kontrol⁺ = hidrojen peroksit (25 μM); KA ve MÇ testleri için kontrol⁺ = Mitomisin-C (10⁻⁷M)

Farklı konsantrasyonlarda *Physcia aipolia* (Humb.) Fűrnrh liken ekstrelerinin ilave edildiği insan tam kan kùltürlerinden elde edilen genetik ve biyokimyasal sonuçlar Çizelge 4.7’de gösterilmiştir. Sonuçlarımız, *P. aipolia*’nın kontrol grubuna (Kontrol⁻) kıyasla 1, 5, 25, 50, 100, 200, 250, 500, 1000 ve 2000 mg/L konsantrasyonlarının TAK düzeylerini değiştirmediğini; sadece 10 mg/L konsantrasyonunun ise TAK düzeyini yükselttiğini ortaya koymuştur. 50, 1000 ve 2000 mg/L konsantrasyonları TAK düzeyini istatistiksel açıdan önemli derecede azaltmıştır. Diđer taraftan, söz konusu liken ekstreleri çalışılan tüm konsantrasyonlarda (1000 ve 2000 mg/L hariç) TOD düzeyini değiştirmemiştir. Ayrıca *in vitro* koşullarda liken ekstrelerine maruz bırakılan kùltürlerden elde edilen KA/hücre ve MÇ/1000 hücre değerleride kontrol grubu değerinden (Kontrol⁻) farklı bulunmamıştır. Bununla birlikte 1000 ve 2000 mg/L konsantrasyonlarının kùltürlerin üreme koşullarını olumsuz etkilediği gözlenmiştir.

Çizelge 4.7. *In vitro* koşullarda *Physcia aipolia* likeninin sulu ekstrelerinin genetik ve biyokimyasal etkileri

Gruplar	TAK (mmol Trolox Equiv./L)	TOD (μmol H ₂ O ₂ Equiv./L)	MÇ/1000 hücre	KA/hücre
Kontrol ⁻	6.24 ± 0.62 ^b	11.58 ± 2.64 ^a	3.18 ± 0.72 ^a	0.20 ± 0.02 ^a
Kontrol ⁺	13.71 ± 0.94 ^d	39.25 ± 4.63 ^c	8.26 ± 1.18 ^b	0.72 ± 0.09 ^b
1 mg/L	6.27 ± 0.43 ^b	11.63 ± 2.74 ^a	3.22 ± 0.45 ^a	0.21 ± 0.02 ^a
5 mg/L	6.29 ± 0.47 ^b	11.67 ± 2.56 ^a	3.25 ± 0.51 ^a	0.18 ± 0.03 ^a
10 mg/L	6.97 ± 0.46 ^c	11.12 ± 2.68 ^a	3.21 ± 0.53 ^a	0.20 ± 0.02 ^a
25 mg/L	6.27 ± 0.48 ^b	11.58 ± 2.64 ^a	3.19 ± 0.52 ^a	0.22 ± 0.03 ^a
50 mg/L	6.19 ± 0.51 ^b	11.64 ± 2.59 ^a	3.27 ± 0.47 ^a	0.24 ± 0.03 ^a
100 mg/L	6.28 ± 0.49 ^b	11.66 ± 2.55 ^a	3.29 ± 0.46 ^a	0.21 ± 0.03 ^a
200 mg/L	6.29 ± 0.54 ^b	11.67 ± 2.63 ^a	3.18 ± 0.43 ^a	0.20 ± 0.02 ^a
250 mg/L	6.01 ± 0.48 ^b	11.64 ± 2.62 ^a	3.24 ± 0.54 ^a	0.22 ± 0.03 ^a
500 mg/L	5.27 ± 0.47 ^a	11.98 ± 2.74 ^a	3.26 ± 0.58 ^a	0.21 ± 0.02 ^a
1000 mg/L	5.03 ± 0.44 ^a	12.15 ± 2.69 ^b	-	-
2000 mg/L	4.79 ± 0.52 ^a	13.27 ± 2.71 ^b	-	-

*Değerler ortalama ± standart sapma olarak sunulmuştur (n=5). Aynı sütundaki farklı harfler P<0,05 düzeyinde istatistiksel farklılığı ifade etmektedir. TAK için kontrol⁺ = Askorbik asit (10μM); TOD için kontrol⁺ = hidrojen peroksit (25 μM); KA ve MÇ testleri için kontrol⁺ = Mitomisin-C (10⁻⁷M)

Farklı konsantrasyonlarda *Ramalina polymorpha* (Lilj.) Ach. liken ekstrelerinin ilave edildiği insan tam kan kültürlerinden elde edilen genetik ve biyokimyasal sonuçlar Çizelge 4.8’de gösterilmiştir. Sonuçlarımız, *R. polymorpha*’nın kontrol grubuna (Kontrol⁻) kıyasla 1, 5, 10, 25 100, 200, 250, 500, 1000 ve 2000 mg/L konsantrasyonlarının TAK düzeylerini değiştirmedini; sadece 50 mg/L konsantrasyonunun ise TAK düzeyini yükselttiğini ortaya koymuştur. 2000 mg/L konsantrasyonu TAK düzeyini istatistiksel açıdan önemli derecede azaltmıştır. Diğer taraftan, söz konusu liken ekstreleri çalışılan tüm konsantrasyonlarda TOD düzeyini etkilememiştir. Ayrıca *in vitro* koşullarda liken ekstrelerine maruz bırakılan kültürlerden elde edilen KA/hücre ve MÇ/1000 hücre değerleride kontrol grubu değerinden (Kontrol⁻) farklı bulunmamıştır. Bununla birlikte sadece 2000 mg/L konsantrasyonunun kültürlerin üreme koşullarını olumsuz etkilediği gözlenmiştir.

Çizelge 4.8. *In vitro* koşullarda *Ramalina polymorpha* likeninin sulu ekstrelerinin genetik ve biyokimyasal etkileri

Gruplar	TAK (mmol Trolox Equiv./L)	TOD (μmol H ₂ O ₂ Equiv./L)	MÇ/1000 hücre	KA/hücre
Kontrol ⁻	6.24 ± 0.62 ^b	11.58 ± 2.64 ^a	3.18 ± 0.72 ^a	0.20 ± 0.02 ^a
Kontrol ⁺	13.71 ± 0.94 ^d	39.25 ± 4.63 ^c	8.26 ± 1.18 ^b	0.72 ± 0.09 ^b
1 mg/L	6.22 ± 0.56 ^b	11.54 ± 2.83 ^a	3.22 ± 0.45 ^a	0.21 ± 0.02 ^a
5 mg/L	6.29 ± 0.61 ^b	11.63 ± 3.05 ^a	3.25 ± 0.49 ^a	0.24 ± 0.03 ^a
10 mg/L	6.31 ± 0.49 ^b	11.49 ± 2.75 ^a	3.27 ± 0.43 ^a	0.22 ± 0.02 ^a
25 mg/L	6.69 ± 0.54 ^b	11.13 ± 3.18 ^a	3.35 ± 0.41 ^a	0.20 ± 0.02 ^a
50 mg/L	9.29 ± 0.79 ^c	11.56 ± 2.86 ^a	3.29 ± 0.48 ^a	0.21 ± 0.03 ^a
100 mg/L	6.58 ± 0.62 ^b	11.49 ± 2.74 ^a	3.32 ± 0.46 ^a	0.23 ± 0.02 ^a
200 mg/L	6.63 ± 0.67 ^b	11.47 ± 3.07 ^a	3.37 ± 0.51 ^a	0.21 ± 0.02 ^a
250 mg/L	6.71 ± 0.48 ^b	11.72 ± 2.93 ^a	3.29 ± 0.58 ^a	0.20 ± 0.03 ^a
500 mg/L	6.30 ± 0.51 ^b	11.74 ± 3.16 ^a	3.36 ± 0.54 ^a	0.22 ± 0.02 ^a
1000 mg/L	6.09 ± 0.45 ^b	11.81 ± 2.88 ^a	3.24 ± 0.61 ^a	0.21 ± 0.02 ^a
2000 mg/L	5.71 ± 0.47 ^a	11.86 ± 3.03 ^a	-	-

*Değerler ortalama ± standart sapma olarak sunulmuştur (n=5). Aynı sütundaki farklı harfler P<0,05 düzeyinde istatistiksel farklılığı ifade etmektedir. TAK için kontrol⁺ = Askorbik asit (10μM); TOD için kontrol⁺ = hidrojen peroksit (25 μM); KA ve MÇ testleri için kontrol⁺ = Mitomisin-C (10⁻⁷M)

Farklı konsantrasyonlarda *Usnea florida* (L.) Wigg. ex Web. em Clerc. liken ekstrelerinin ilave edildiği insan tam kan kültürlerinden elde edilen genetik ve biyokimyasal sonuçlar Çizelge 4.9’da gösterilmiştir. Sonuçlarımız, *U. florida*’nın kontrol grubuna (Kontrol⁻) kıyasla 1, 5, 10, 25 50, 200, 250 ve 500 mg/L konsantrasyonlarının TAK düzeylerini değiştirmedini; sadece 10 mg/L konsantrasyonunun ise TAK düzeyini yükselttiğini ortaya koymuştur. 1000 ve 2000 mg/L konsantrasyonları TAK düzeyini istatistiksel açıdan önemli derecede azaltmıştır. Diğer taraftan, söz konusu liken ekstreleri çalışılan tüm konsantrasyonlarda (2000 mg/L hariç) TOD düzeyini değiştirmemiştir. Ayrıca *in vitro* koşullarda liken ekstrelerine maruz bırakılan kültürlerden elde edilen KA/hücre ve MÇ/1000 hücre değerleride kontrol grubu değerinden (Kontrol⁻) farklı bulunmamıştır. Bununla birlikte 1000 ve 2000 mg/L konsantrasyonlarının kültürlerin üreme koşullarını olumsuz etkilediği gözlenmiştir.

Çizelge 4.9. *In vitro* koşullarda *Usnea florida* likeninin sulu ekstrelerinin genetik ve biyokimyasal etkileri

Gruplar	TAK (mmol Trolox Equiv./L)	TOD (μmol H ₂ O ₂ Equiv./L)	MÇ/1000 hücre	KA/hücre
Kontrol ⁻	6.24 ± 0.62 ^b	11.58 ± 2.64 ^a	3.18 ± 0.72 ^a	0.20 ± 0.02 ^a
Kontrol ⁺	13.71 ± 0.94 ^d	39.25 ± 4.63 ^c	8.26 ± 1.18 ^b	0.72 ± 0.09 ^b
1 mg/L	6.27 ± 0.53 ^b	11.97 ± 2.14 ^a	3.43 ± 0.63 ^a	0.22 ± 0.03 ^a
5 mg/L	6.30 ± 0.62 ^b	11.73 ± 3.13 ^a	3.27 ± 0.34 ^a	0.20 ± 0.04 ^a
10 mg/L	6.25 ± 0.57 ^b	11.58 ± 2.42 ^a	3.18 ± 0.22 ^a	0.20 ± 0.02 ^a
25 mg/L	6.38 ± 0.61 ^b	11.33 ± 3.07 ^a	2.87 ± 0.39 ^a	0.20 ± 0.02 ^a
50 mg/L	6.69 ± 0.67 ^b	11.56 ± 2.88 ^a	3.32 ± 0.55 ^a	0.18 ± 0.03 ^a
100 mg/L	7.33 ± 0.49 ^c	11.14 ± 2.43 ^a	3.23 ± 0.35 ^a	0.15 ± 0.03 ^a
200 mg/L	6.51 ± 0.55 ^b	11.63 ± 3.17 ^a	3.25 ± 0.38 ^a	0.22 ± 0.03 ^a
250 mg/L	6.35 ± 0.57 ^b	11.72 ± 2.43 ^a	3.39 ± 0.57 ^a	0.24 ± 0.02 ^a
500 mg/L	6.18 ± 0.59 ^b	11.82 ± 2.77 ^a	3.41 ± 0.69 ^a	0.24 ± 0.02 ^a
1000 mg/L	5.43 ± 0.43 ^a	11.88 ± 3.14 ^a	-	-
2000 mg/L	5.22 ± 0.51 ^a	12.76 ± 3.27 ^b	-	-

*Değerler ortalama ± standart sapma olarak sunulmuştur (n=5). Aynı sütundaki farklı harfler P<0,05 düzeyinde istatistiksel farklılığı ifade etmektedir. TAK için kontrol⁺ = Askorbik asit (10μM); TOD için kontrol⁺ = hidrojen peroksit (25 μM); KA ve MÇ testleri için kontrol⁺ = Mitomisin-C (10⁻⁷M)

Farklı konsantrasyonlarda *Xanthoria elegans* (Link) Th. Fr. liken ekstrelerinin ilave edildiği insan tam kan kültürlerinden elde edilen genetik ve biyokimyasal sonuçlar Çizelge 4.10'da gösterilmiştir. Sonuçlarımız, *X. elegans*'ın kontrol grubuna (Kontrol⁻) kıyasla 1, 5, 10, 200, 250, 500 ve 1000 mg/L konsantrasyonlarının TAK düzeylerini değiştirmedeğini; 25, 50 ve 100 mg/L konsantrasyonlarının ise TAK düzeyini yükselttiğini ortaya koymuştur. 2000 mg/L konsantrasyonu TAK düzeyini istatistiksel açıdan önemli derecede azaltmıştır. Diğer taraftan, söz konusu liken ekstreleri çalışılan tüm konsantrasyonlarda (2000 mg/L hariç) TOD düzeyini değiştirmemiştir. Ayrıca *in vitro* koşullarda liken ekstrelerine maruz bırakılan kültürlerden elde edilen KA/hücre ve MÇ/1000 hücre değerleride kontrol grubu değerinden (Kontrol⁻) farklı bulunmamıştır. Bununla birlikte 2000 mg/L konsantrasyonunun kültürlerin üreme koşullarını olumsuz etkilediği gözlenmiştir.

Çizelge 4.10. *In vitro* koşullarda *Xanthoria elegans* likeninin sulu ekstrelerinin genetik ve biyokimyasal etkileri

Gruplar	TAK (mmol Trolox Equiv./L)	TOD (μ mol H ₂ O ₂ Equiv./L)	MÇ/1000 hücre	KA/hücre
Kontrol ⁻	6.24 $\pm$ 0.62 ^b	11.58 $\pm$ 2.64 ^a	3.18 $\pm$ 0.72 ^a	0.20 $\pm$ 0.02 ^a
Kontrol ⁺	13.71 $\pm$ 0.94 ^d	39.25 $\pm$ 4.63 ^c	8.26 $\pm$ 1.18 ^b	0.72 $\pm$ 0.09 ^b
1 mg/L	6.22 $\pm$ 0.53 ^b	11.35 $\pm$ 2.41 ^a	3.22 $\pm$ 0.69 ^a	0.20 $\pm$ 0.03 ^a
5 mg/L	6.31 $\pm$ 0.44 ^b	11.62 $\pm$ 3.14 ^a	3.13 $\pm$ 0.55 ^a	0.18 $\pm$ 0.02 ^a
10 mg/L	6.38 $\pm$ 0.63 ^b	11.26 $\pm$ 3.08 ^a	3.32 $\pm$ 0.29 ^a	0.24 $\pm$ 0.02 ^a
25 mg/L	7.21 $\pm$ 0.60 ^c	11.13 $\pm$ 2.69 ^a	2.77 $\pm$ 0.42 ^a	0.20 $\pm$ 0.02 ^a
50 mg/L	7.09 $\pm$ 0.66 ^c	11.29 $\pm$ 2.56 ^a	3.21 $\pm$ 0.39 ^a	0.16 $\pm$ 0.03 ^a
100 mg/L	7.05 $\pm$ 0.44 ^c	11.66 $\pm$ 2.74 ^a	3.27 $\pm$ 0.43 ^a	0.15 $\pm$ 0.02 ^a
200 mg/L	6.29 $\pm$ 0.71 ^b	11.61 $\pm$ 2.91 ^a	3.51 $\pm$ 0.66 ^a	0.20 $\pm$ 0.02 ^a
250 mg/L	6.18 $\pm$ 0.60 ^b	11.72 $\pm$ 2.38 ^a	3.47 $\pm$ 0.52 ^a	0.18 $\pm$ 0.03 ^a
500 mg/L	6.11 $\pm$ 0.49 ^b	11.60 $\pm$ 2.63 ^a	3.35 $\pm$ 0.43 ^a	0.18 $\pm$ 0.03 ^a
1000 mg/L	6.06 $\pm$ 0.51 ^b	11.82 $\pm$ 3.12 ^a	3.41 $\pm$ 0.52 ^a	0.20 $\pm$ 0.04 ^a
2000 mg/L	5.61 $\pm$ 0.43 ^a	12.73 $\pm$ 3.26 ^b	-	-

*Değerler ortalama $\pm$ standart sapma olarak sunulmuştur (n=5). Aynı sütundaki farklı harfler P<0,05 düzeyinde istatistiksel farklılığı ifade etmektedir. TAK için kontrol⁺ = Askorbik asit (10 μ M); TOD için kontrol⁺ = hidrojen peroksit (25 μ M); KA ve MÇ testleri için kontrol⁺ = Mitomisin-C (10⁻⁷M)

5. TARTIŞMA

Mevcut çalışmada, *B. capillaris*, *P. rufescens*, *X. elegans*, *U. florida*, *H. physodes*, *C. chlorophylla*, *P. aipolia*, *D. intestiniforme*, *R. polymorpha* ve *A. calcarea* liken türlerine ait sulu ekstrelerin genotoksik etkili olmadıkları tespit edilmiştir. Çünkü, elde ettiğimiz sonuçlar kontrol değerlerine kıyasla liken ekstrelerine maruz kalan lenfositlerde KA ve MÇ oranlarında önemli bir değişikliğin olmadığını göstermiştir. Nitekim KA testi, biyolojik ve kimyasal ajanlara maruziyetin çok önemli ve faydalı bir indikatörü olarak kabul edilmektedir (Padovani *et al.* 1997). Benzer şekilde MÇ testi, klastojenik ve anojenik aktivitelerde hem kromozom kırığı hem de kromozom kaybı ya da ayrılmamasına dair ölçüm olanakları sağlamaktadır (Karaman vd 2009). Bulgularımız daha önce yapılan çalışmalara paralellik göstermektedir. *Ramalina farinacea* ve *Cladonia foliacea* likenlerinin sitotoksik ve genotoksik etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada likenlerin etken bir maddesi olan usnik asitin insan lenfositlerinde MÇ indüksiyonuna yol açmadığı ve bu nedenle non-genotoksik olduğu ileri sürülmüştür (Koparal *et al.* 2006). Yine insan lenfositlerinde ve *Salmonella typhimurium*'un TA98 ve TA100 suşlarında (metabolik aktivitenin varlığı ve yokluğunda) *Cetraria aculeata* likeninden elde edilen ekstrelerin genotoksik ve anti-genotoksik aktiviteleri araştırılmıştır (Zeytinoglu vd 2008). Araştırmacılar bütün sistemlerde liken ekstrelerinin mutajenik olmadığını rapor etmişlerdir. Başka bir çalışmada, *Pseudevernia furfuracea*, *Dermotocarpon intestiniforme*, *Ramalina capitata*, *Parmelia pulla* ve *Rhizoplaca melanophthalma* likenlerinin sulu ekstrelerinin genotoksik etkileri insan tüm kan kültürlerinde kardeş kromatid değişimi (KKD) ve MÇ testleri ile değerlendirilmiştir. Söz konusu çalışmanın sonuçlarına göre, bu liken ekstrelerinin hiçbirinin genotoksik etkiye sahip olmadığı tespit edilmiştir (Geyikoglu vd 2007). Çin liken ekstrelerinden elde edilen AMH-C, AMH-D ve AMH-E gibi saflaştırılmış

bileşenlerin genotoksik olmadığı Ames testi ile belirlenmiştir (He *et al.* 2010). *P. furfuracea* likeninden elde edilen metanol, aseton, n-hekzan ve eter ekstraktlarının genotoksik etkileri KKD ve MÇ testleri ile insan kan hücre kültüründe incelenmiştir. Araştırmacılar, her iki test sisteminde de *P. furfuracea* ekstraktlarının non-mutajenik özellik sergilediğini rapor etmiştir (Turkez vd 2010).

Antioksidanlar, oksitleyici zincir reaksiyonlarının başlamasını ya da yayılmasını engelleyerek oksidasyon sürecini inhibe eden veya geciktiren bileşikler olarak bilinmektedir. Günümüzde bütillenmiş hidroksianizol (BHA), bütillenmiş hidroksitoluen (BHT) ve tert-bütillhidrokinon (TBHQ) içeren sentetik antioksidanların pek çoğu gıda sanayisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak, çeşitli organlar üzerinde toksisite ve karsinojeniteye neden olduğundan dolayı sentetik antioksidanların kullanımına sınırlamalar getirilmiştir (Heng *et al.* 2010). Bu nedenle, doğal kaynaklı, daha etkili ve daha az zararlı antioksidanların geliştirilmesi ve kullanımının oldukça gerekli olduğu rapor edilmiştir (Heng *et al.* 2010). Bilindiği gibi, memeli hücrelerinde nükleik asitler ve proteinler gibi biyolojik makromoleküller kendilerini antioksidanlar ile korurlar (Kedziora-Kornatowska *et al.*, 2004). Bu çalışmanın sonuçları, test edilen tüm liken sulu ekstraktlarının farklı derecede antioksidan etki sağladığını ortaya koymaktadır. Bulgularımıza benzer olarak, özellikle son 10 yıl içinde yayınlanmış çeşitli raporlar farklı liken türlerinin antioksidan özelliğe sahip olduğunu göstermiştir. Daha önce yayımlanmış araştırma sonuçlarına göre, *Cladonia clathrata* (Silva *et al.* 2010), *Pseudovernia furfuracea* (Turkez *et al.* 2010), *Xanthoparmelia spp.* (de Paz *et al.* 2010), *Lethariella sernanderi*, *L. Cashmeriana* ve *L. sinensis* (Kinoshita *et al.* 2010), *Lobaria pulmonaria* (Karakus vd 2009), *Usnea ghattensis* (Verma *et al.* 2008), *Usnea longissima* (Halici vd 2005), Graphidaceae (Behera *et al.* 2003), *Lethariella canariensis* (Toledo *et al.* 2003), *Cetraria islandica* (Gulcin vd 2002), *Parmelia caperata* ve *P. soledians* (Caviglia *et al.* 2001), *Dermatocarpon miniatum* (Jin *et al.* 2001) ve

Parmotrema stuppeum (Jayaprakasha and Rao 2000) liken ekstrelerinin antioksidan özelliğe sahip oldukları kaydedilmiştir.

Pek çok liken ekstresi muhtemelen içerdikleri fenolik bileşikler nedeniyle antioksidan özellik göstermektedir. Nitekim *B. capillaris*'in alektorialik asit, barbatolik asit, alektronik asit, atranorin, norstiktik asit, psoromik asit ve salazinik asit içerdiği rapor edilmiştir (Brodo and Hawksworth 1977). Bu bileşiklerin çoğu az ya da çok antioksidan aktiviteye sahip olan polifenolik maddelerdir (Jayaprakasha and Rao 2000; Valencia-Islas *et al.* 2007; de Paz *et al.* 2010). *Ramalina* türleri b-orcinol depsidonlar, orcinol ya da b-orcinol depsidler ve usnik asit içermektedir (Brodo *et al.* 2001). Bahsedilen likenik metabolitlerin antioksidan etkileri (depsidler ve depsidonlar) sıçan beyin homojenatında oto-oksidasyon ve beta-karoten oksidasyonunun inhibisyonları ile değerlendirilmiştir. Her iki sistemden de elde edilen sonuçlar bu iki metabolitin mikromolar konsantrasyon aralığında orta dereceli bir koruma sağladığını ortaya koymuştur (Hidalgo *et al.* 1994). Depsidler ve depsidonların antioksidan aktiviteleri farklı araştırmacılar tarafından da rapor edilmiştir (Lohezic-Le *et al.* 2007; Chomcheon *et al.* 2009; Furukawa *et al.* 2009).

Bütün *Usnea* türlerinin ana bileşen olarak usnik asit içerdiği gösterilmiştir (Brodo *et al.* 2001). Usnik asitin en yaygın ve verimli liken metabolitlerinden biri olduğu rapor edilmiştir. Önceki çalışmalarda usnik asitin güçlü antioksidan aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir (Odabasoglu vd 2006; Kohlhardt-Floehr *et al.* 2010). *Usnea florida* liken türünde usnik asite ilaveten tamnolik asit de tespit edilmiştir (Asahina 1968). Benzer şekilde, tamnolik asitin *in vitro* koşullarda *Thamnolia vermicularis* ekstrelerinin yüksek antioksidan etkilerinden sorumlu olduğu ortaya konmuştur (Luo *et al.* 2006).

Peltigera rufescens'in hiçbir likenik bileşeni içermediği belirtilmiştir (Brodo *et al.* 2001). Ancak, bu likenin besin değeri ve karaciğer rahatsızlıkları gibi birçok hastalığın

tedavisinde kullanımının yüksek protein ve başta serbest metionin olmak üzere esansiyel amino asit içeriğinden kaynaklandığı görüşü öne sürülmüştür (Subramanian and Ramakrishnan 1964). Metionin amino henüz tam olarak açıklanamayan mekanizmalar yoluyla antioksidan etkiye sahip olduğu bilinmektedir. Bununla birlikte bu amino asitin, insanda en fazla bulunan, bir antioksidan molekül olan Glutatyon'un üretimi için gereken sülfürü taşıdığı rapor edilmiştir (Erdmann *et al.* 2005).

Xanthoria türlerinin çeşitli antrakınon pigmentleri ve özellikle parietin içerdiği gösterilmiştir (Brodo *et al.* 2001). *Laurera benguelensis* likeninin antrakınon bileşenlerinin araştırıldığı bir çalışmada, bu liken ekstresinin içerdiği parietin, likheksanton, sekalonik asit, norlichexanthon, emodin, teloschistin ve citreorosein'den dolayı yüksek antioksidan aktivite gösterdiği ortaya konmuştur (Manojlovic *et al.* 2010). Bu bulgulara benzer şekilde Yim *et al.* (1998) bitki ekstrelerinin antrakınon içeren fraksiyonlarının ortaya koyduğu hücresel korumanın, oksidatif stres koşulları altında glutatyonun sürekliliğini sağlamasına bağlı olabileceğini önermiştir.

Önceki çalışmalarda, *Hypogymnia physodes* likeninin atranorin, kloroatranorin, physodalik asit ve physodik asit içerdiği kaydedilmiştir (Santesson 1968). Son zamanlarda yapılan bir çalışmada bu likenin protosetrarik asit içerdiği de gösterilmiştir (Hauck and Huneck 2007). Atranorinin oksidatif stres altındaki hücreler üzerinde sitoprotektif etkiler gösterdiği ve bu etkilerin gösterilmesinde radikallere göre bir pro-oksidan ya da antioksidan ajanlar olarak rol oynamasının ya da bir redoks- aktif etki ile ilgili olabileceği kaydedilmiştir (Melo *et al.* 2010). Kloroatranorin'in atranorinden daha güçlü antiradikal ve antioksidan aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir (Valencia-Islas *et al.* 2007). İlaveten, physodik asit ve physodalik asitin hepatik mikrozomal oksidasyon sistemlerini bloke eden N-hydroxy-Trp-P-2 gibi reaktif metabolitlerin

oluşumunu inhibe ettiği gösterilmiştir. Böylece bu metabolitler indirekt mutajenlerin hasarını engelleyebilmiştir (Osawa *et al.* 1991).

Sonuçlarımıza göre *Cetraria chlorophylla* çalışılan diğer likenlerden daha az antioksidan etki göstermiştir. *Cetraria chlorophylla*'nın metabolit içeriğinin henüz çalışılmamış olmasına rağmen *Cetraria* cinsine ait *Cetraria ciliaris*, *Cetraria cucullata*, *Cetraria culbersonii*, *Cetraria elenkinii*, *Cetraria ericetorum*, *Cetraria islandica*, *Cetraria juniperina*, *Cetraria nigricans* ve *Cetraria nivalis* gibi liken türlerinin genellikle usnik asit, atranorin ve protolikheterinik asit içerdikleri gösterilmiştir (Hale 1967; Brodo 1968; Krog 1968; Thomson 1969). Usnik asit ve atranorinin aksine, protolikheterinik asit model membranlarda peroksidasyon sürecine karşı antioksidan olarak görev yapmamıştır. Ayrıca bu metabolitin serbest radikallerin üretimi ve giderilmesi ile ilgili olmadığı rapor edilmiştir (Kumar and Müler 1999). *Cetraria chlorophylla* gibi *Physcia aipolia*'nın metabolit içeriğinde henüz araştırılmamıştır. Ancak atranorin ve zeorin'in *Physcia* türlerinin ana bileşenleri olduğu rapor edilmiştir (Brodo *et al.* 2001). Likenlerin çeşitli türlerinde ana triterpen olan zeorin meydana geldiği rapor edilmiştir ancak bu triterpenin biyokimyasal etkisi hala ortaya konulmamıştır (Shukla *et al.* 2010).

Aspicilia calcarea likenindeki likenik maddelerin içeriği bilinmemekle beraber bu likenin büyük miktarlarda eritrin (kırmızı bir antioksidan pigment) ve eritrol (bir şeker alkolü) içerdiği tespit edilmiştir (Culberson 1969). Aynı şekilde *Dermatocarpon intestiniforme*'nin sekonder metabolitlerini saptamak amacıyla henüz bir araştırma yürütülmemiştir. Önceki çalışmalarda *Dermatocarpon fluviatile*, *Derrnatocarpon hepaticum* ve *Dermatocarpon miniatum* gibi *Dermatocarpon* cinsine ait birçok likenin sekonder metabolit içermediği kaydedilmiştir (Richardson 1988). Ancak bütün bu türlerin mannitol sorbitol, volemitol ve arabitol gibi bir çok şeker alkolü içerdiği tespit

edilmiştir (Taylor 1967; Smith 1969). Eritrol, sorbitol veya mannitol gibi şeker alkollerinin oksidatif stresle mücadele ederek hücreleri oksidatif strese karşı koruduğu gözlenmiştir (Cervato *et al.* 2000; Kang *et al.* 2007). Nitekim bu araştırmada *D. intestiniforme*'nin gözlenen antioksidan aktivitesinin şeker alkol içeriğine bağlı olduğu düşünülmektedir.

Ayrıca, mevcut çalışmanın sonuçları *B. capillaris*, *R. polymorpha* ve *X. elegans* liken türlerinin sulu ekstrelerinin 2000 mg/L konsantrasyonunda, 72 saatlik insan kan kültürlerinde üreme koşullarını olumsuz etkilediğini göstermiştir. Benzer şekilde, *C. chlorophylla*, *H. physodes*, *P. rufescens*, *P. aipolia*, *U. florida*, *A. calcarea* ve *D. intestiniforme* ekstreleri de 1000 mg/L konsantrasyonda üreme koşullarının olumsuz etkilenmesine neden olmuştur. Diğer taraftan bu likenler (*R. polymorpha* hariç) artan doz artışına bağlı olarak TOD seviyelerinde anlamlı artışlara neden olmuştur (1000 ve/veya 2000 mg/L). Bu noktada, söz konusu liken türlerinin sitotoksik etkileri kısmen de olsa içerdikleri yüksek likenik bileşiklerin oksidatif stresi indüklemesine atfedilebilir. Likenlerin 1000'den fazla sekonder metabolitinin hem *in vitro* hem de *in vivo* koşullar altında doza bağlı toksisitesi hakkında bilinenler oldukça yetersizdir. Ancak literatürde temel likenik metabolit olarak usnik asitin toksik etkileri hakkında sınırlı bilgi vardır. Daha önceki çalışmalarda usnik asitin keratinosit kültürlerinde sitotoksositeye neden olduğu ve hücre çoğalmasını inhibe ettiği gösterilmiştir (Kumar and Muller 1999). Bu *in vitro* çalışmanın yanı sıra usnik asit muamelesinin *in vivo* da farelerin polikromatik eritrositlerinin çoğalmasını inhibe ettiği de rapor edilmiştir (Al Bekairi *et al.* 1991). Ayrıca, mevcut çalışmada test edilen liken türlerinin insan kan hücreleri üzerinde herhangi bir genetik hasara yol açmaksızın, artan konsantrasyonlara bağlı olarak sitotoksik etkiler gösterdiğini kanıtlayan önemli bulgular sunmaktadır. Bu bulguları destekler nitelikte, usnik asitin DNA hasarı yapmadığı ancak hücrelerin normal

metabolik sürecinin bozulmasına ve oksidatif strese neden olduğu tespit edilmiştir (Mayer *et al.* 2005)

Sonuç olarak, bulgularımız Erzurum ve Artvin illerinden toplanarak laboratuvarlarımızda test edilen tüm liken türlerine ait sulu ekstrelerinin mutajenik etkilere sahip olmadıklarını açıkça göstermiştir. Üstelik, bu ekstreler kültürlere ilave edilen likenlerin türüne ve dozuna bağlı olarak antioksidan özellikler göstermiştir. Böylece, doğal antioksidan terapileri için Kuzeydoğu Anadolu likenlerinin biyo-kaynaklar olarak kullanım potansiyellerine sahip oldukları ortaya konmuştur.

KAYNAKLAR

- Abo-Khatwa, AN., Al-Robia AA. and Jawhari, DA., 1996. Isolation and identification of usnic acid and atranorin from some Saudi Arabian lichens. Arab Gulf Journal of Scientific Research, 15, 15-28.
- Adler, I. D., 1984. Cytogenetic tests in mammals. Mutagenicity testing (Eds). Venitt, S. and Parry, J. M., IRL Press, Washington.
- Ahad, AM., Goto Y., Kiuchi F., Tsuda Y., Kondo K. and Sato T., 1991. Nematocidal principles in "oakmoss absolute" and nematocidal activity of 2,4-dihydroxybenzoates. Chemical Pharmaceutical Bulletin, 39, 1043.
- Akkus, İ., 1995. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. 1. baskı. Mimoza Yayınları, Konya.
- Al-Bekairi, AM., Qureshi S., Chaudhry MA., Krishna DR. and Shah AH., 1991. Mitodepressive, clastogenic and biochemical effects of (+)-usnic acid in mice. Journal of Ethnopharmacology, 33, 217-220.
- Alp, H. H., 2005. Hiper ve Hipotroidili Hastalarda Homosistein S-Adenozilmetiyonin ve Antioksidan Düzeyleri. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Armstrong, RA., 2004. Lichens, lichenometry and global warming. Microbiologist, 5 (3), 32-35.
- Asahina, Y., 1968. Lichenologisch Notizen, 209. J. Jpn. Bot. 43, 97-101.
- Aslan, A., 1995. Erzurum-Kars-Artvin arasında yer alan bölge likenleri üzerine taksonomik incelemeler. Doktora tezi, Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bursa.
- Aslan, A., Öztürk A. ve Kaya E., 1998. Likenlerin ekonomik önemi ve Oltu bölgesinden tespit edilen önemli liken türleri. Geçmişten geleceğe Oltu ve Çevresi Sempozyumu, Erzurum.
- Aslan, A., 2000. Lichens from the Regions of Artvin, Erzurum, and Kars (Turkey). Israel Journal of Plant Sciences, 48, 143-155.
- Aslan, A., Güllüce M. ve Atalan E., 2001. A study of antimicrobial activity of some lichens. Bulletin of Pure and Applied Sciences, 20B (1), 23-26.
- Aslan, A., Yazıcı K. ve Karagöz Y., 2002. Lichen Flora of the Murgul district, Artvin, Turkey. Israel Journal of Plant Sciences, 50 (1), 77-81.
- Ayas, BA., 2007. Deneysel olarak ülser oluşturulan ratlarda *Lobaria pulmonaria* (L.) hoffm. isimli likenden elde edilen metanol ekstraktlarının antioksidant enzim aktiviteleri üzerine etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.

- Aycicek, A., Iscan A., Erel O., Akcali M. ve Selek S., 2006. Total antioxidant/oxidant status in meningism and meningitis. *Pediatric Neurology* (Chippewa Falls, WI), 35 (6), 382-386.
- Aydın, E., Türkez H., Anar A. ve Aslan A., 2010. Permetrin ile oluşturulan deneysel DNA hasarında *Rhizoplaca chrysoleuca* (Sm.) Zopf. liken türünün koruyucu etkinliği. 1. Ulusal Palandöken Toksikoloji Sempozyumu, Erzurum.
- Aydilek, N. ve Aksakal M., 2003. Testosteronun Tavşanlarda Karaciğer Antioksidan Sistemi Üzerine Etkisi. *YYU Vet Fak Derg.*, 14 (2), 22-25.
- Barale, R., Chelotti L., Davini T., Del Ry S., Andreassi M. G., Ballardini M., Bulleri M., He J., Baldacci S., Di Pede F., Gemignani F. and Landi S., 1998. Sister chromatid exchange and micronucleus frequency in human lymphocytes of 1,650 subjects in an Italian population: II. Contribution of sex, age, and lifestyle. *Environmental and Molecular Mutagenesis* (New York, NY), 31 (3), 228-242.
- Baron, G., 1999. *Understanding Lichens*. Richmond Publishing Slough, England.
- Bastien, JW., 1983. Pharmacopoeia of the Qollahuaya Andeans. *Journal of Ethnopharmacology*, 8, 97-111.
- Behera, BC., Adawadkar B. and Makhija U., 2003. Inhibitory activity of xanthine oxidase and superoxide-scavenging activity in some taxa of the lichen family Graphidaceae. *Phytomedicine*, 10 (6-7), 536-543.
- Behera, BC., Verma N., Sonone A. and Makhija U., 2005. Antioxidant and antibacterial activities of lichen *Usnea ghattensis* in vitro. *Biotechnology Letters*, 27 (14), 991-995.
- Behera, BC., Adawadkar B. and Makhija U., 2006. Tissue-culture of selected species of the *Graphis* lichen and their biological activities. *Fitoterapia*, 77 (3), 208-215.
- Behera, BC., Adawadkar, B. and Makhija, U., 2006. Tyrosinase-inhibitory activity in some species of the lichen family Graphidaceae. *Journal of Herbal Pharmacotherapy*, 6 (1), 55-69.
- Behera, BC., Verma N., Sonone A. and Makhija U., 2007. Tissue culture of some lichens and screening of their antioxidant, antityrosinase and antibacterial properties. *Phytotherapy Research*, 21 (12), 1159-1170.
- Benzie, IF. and Strain JJ., 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical Biochemistry* (New York, NY), 239, 70-76.
- Boustie, J. and Grube, M., 2005. Lichens a promising source of bioactive secondary metabolites. *Plant Genetic Resources*, 3(2), 273-287.
- Bown, D., 2001. *Encyclopedia of herbs and their uses*. Dorling Kindersley, London.
- Braasch, J. and Jacobsen P., 1991. Flechten und ihre Allergene. *Allergologie*, 14, 99.
- Brodo, IM., 1968. The Lichens of Long Island, New York: A vegetational and floristic analysis. *New York State Museum and Science Service Bulletin*, 410, 1-330.
- Brodo, IM. and Hawksworth DL., 1977. *Alectoria* and allied genera in North America. *Opera Botanica*, 42, 1-164.

- Brodo, IM., Sharnoff SD. and Sharnoff S., 2001. Lichens of North America. Ch. 10 Lichens and People. Yale University Press, New Haven.
- Bucar, F., Schneider I., Ogmundsdóttir H. and Ingólfssdóttir K., 2004. Anti-proliferative lichen compounds with inhibitory activity on 12(S)-HETE production in human platelets. *Phytomedicine*, 11 (7-8), 602-606.
- Bukowska, B. and Kowalska, S., 2004. Phenol and catechol induce prehemolytic and hemolytic changes in human erythrocytes. *Toxicology Letters (Amsterdam)*, 152 (1), 73-84.
- Bukowska, B., 2004a. Damage to erythrocytes caused by 2,3,7,8-tetrachloro-dibenzo p-dioxin (*in vitro*). *Cell Mol Biol Lett.*, 9 (2), 261-270.
- Bukowska, B., 2004b. Effects of 2,4-D and its metabolite 2,4-dichlorophenol on antioxidant enzymes and level of glutathione in human erythrocytes. *Comparative Biochemistry and Physiology. C: Comparative Pharmacology and Toxicology. (Oxford)*, 135 (4), 435-441.
- Burçak, G. ve Andican G., 2004. Oksidatif DNA hasarı ve yaşlanma. *Cerrahpaşa J Med.*, 35, 159-169.
- Burlando, B., Ranzato E., Volante A., Appendino G., Pollastro F. and Verotta L., 2009. Antiproliferative effects on tumour cells and promotion of keratinocyte wound healing by different lichen compounds. *Planta Medica*, 75 (6), 607-613.
- Candan, S., 2002. Nikel ve oksidatif stres. Uzmanlık Tezi, Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya anabilim Dalı, Ankara.
- Candan, M., Yılmaz M., Tay T., Kivanç M. ve Türk H., 2006. Antimicrobial activity of extracts of the lichen *Xanthoparmelia pokornyii* and its gyrophoric and stenosporic acid constituents *Zeitschrift für Naturforschung*, 61(5-6), 319-323.
- Candan, M., Yılmaz M., Tay T., Erdem M. ve Türk A., 2007. Antimicrobial activity of extracts of the lichen *Parmelia sulcata* and its salazinic acid constituent. *Zeitschrift für Naturforschung*, 62 (7-8), 6196-6121.
- Cansaran, D., Kahya D., Yurdakulola E. ve Atakol O., 2006. Identification and quantitation of usnic acid from the lichen *Usnea* species of Anatolia and antimicrobial activity. *Zeitschrift für Naturforschung*, 61 (11-12), 773-776.
- Caviglia, AM., Nicora P., Giordani P., Brunialti G. and Modenesi P., 2001. Oxidative stress and usnic acid content in *Parmelia caperata* and *Parmelia soledians* (Lichenes). *Farmaco (Pavia)*, 56 (5-7), 379-382.
- Cervato, G., Carabelli M., Gervasio S., Cittera A., Cazzola R. and Cestaro B., 2000. Antioxidant Properties Of Oregano (*Ohganum vulgare*) Leaf Extracts. *Journal Of Food Biochemistry*, 24, 453-465.
- Ceylan, E., Gulsun A., Gencer M. ve Aksoy N., 2005. A new parameter in the detection of tuberculosis activity: reactive oxygen metabolites. *Respiration*, 72 (2), 156-159.
- Chandra, S. and Singh A., 1971. A lichen crude drug (chharila) from India. *Journal of Research in Indian Medicine*, 6, 209-215.

- Chaudhary, AK., Nokubo M., Reddy GR., Yeola SN., Morrow JD. and Blair IA., 1994. Detection of endogenous malonaldehyde-deoxyguanosine adducts in human liver. *Science*, 265, 1580-1582.
- Chevallier, A., 1996. *The Encyclopedia of Medicinal Plants* Dorling Kindersley. London.
- Chomcheon, P., Wiyakrutta S., Sriubolmas N., Ngamrojanavanich N., Kengtong S., Mahidol C., Ruchirawat S. and Kittakoop P., 2009. Aromatase inhibitory, radical scavenging, and antioxidant activities of depsidones and diaryl ethers from the endophytic fungus *Corynespora cassiicola* L36. *Phytochemistry*, 70 (3), 407-413.
- Cocchietto, M., Skert N., Nimis PL. and Sava G., 2002. A review on usnic acid, an interesting natural compound. *Naturwissenschaften*, 89, 137-146.
- Cohen, PA., Hudson JB. and Towers GH., 1996. Antiviral activities of anthraquinones, bianthrone and hypericin derivatives from lichens. *Experientia (Basel)*, 52 (2), 180-183.
- Cooke, MS., Evans MD., Dizdaroğlu M. and Lunec J., 2003. Oxidative DNA damage: Mechanisms, mutation, and disease. *FASEB Journal (Bethesda, MD)*, 17, 1195-1214.
- Cortyman, RI. and Heddle JA., 1976. The production of micronuclei from chromosome aberration in irradiated cultures of human lymphocytes. *Mutation Research*, 41, 321-332.
- Crockett, M., *et al.* 2003. Antibacterial Properties of four Pacific Northeast Lichens. *Botany 465 Lichenology at Oregon State University*.
- Culberson, CF., 1969. *Chemical and Botanical Guide to Lichen Products*. Chapel Hill: The University of North Carolina Press, 628p.
- Çavdar, C., Sifil A. ve Çamsarı T., 1997. Reaktif oksijen partikülleri ve antioksidan savunma. *J Turk Nephrol.*, 3-4, 92-95.
- Çetin, H., Tufan-Cetin O., Turk AO., Tay T., Candan M., Yanikoglu A. ve Sumbul H., 2008. Insecticidal activity of major lichen compounds, (-)- and (+)-usnic acid, against the larvae of house mosquito, *Culex pipiens* L.. *Parasitology Research (Berlin)*, 102 (6), 1277-1279.
- Davis, EW. and Yost JA., 1983. Novel hallucinogens from Eastern Ecuador. *Botanical Museum Leaflets. Harvard University*, 29(3), 291-295.
- de Paz, GA., Raggio J., Gómez-Serranillos MP., Palomino OM., González-Burgos E., Carretero ME. and Crespo A., 2010. HPLC isolation of antioxidant constituents from *Xanthoparmelia* spp. *Journal of Pharmaceutical Medicine*, 53 (2), 165-171.
- Demirel, S. ve Zamani, A. G., 2002. Mikronükleus tekniği ve kullanım alanları. *Genel Tıp Derg.*, 12 (3), 123-127.
- Dilsizoğlu, A., Kavuncuoğlu Z. and Oba D., 2004. Eski ve yeni kullanım alanları, bilinmeyen yönleriyle likenler. *Tübitak Bilim ve Teknik*, 439, 86-89.

- Dobrescu D., Tănăsescu M., Mezdrea A., Ivan C., Ordosch E., Neagoe F., Rizeanu A., Trifu L. and Enescu V., 1993. Contributions to the complex study of some lichens--*Usnea* genus. Pharmacological studies on *Usnea barbata* and *Usnea hirta* species. Romanian Journal of Physiology, 30 (1-2), 101-107.
- Dobson, F.S., 1979. Lichens. An illustrated guide to the British and Irish species. 3rd ed. Richmond Publishing, Slough, UK. 16+376 pp.
- Dobson, FS., 2005. Lichens: An Illustrated Guide to British and Irish Species, by Fifth Edition Richmond Publishing.
- Dülger, B., Gücin F. ve Aslan A., 1998. *Cetraria islandica* (L.) Ach. Likenin Antimikrobiyal Aktivitesi. Turkish Journal of Biology, 22, 111-118.
- Eken, A., 2003. Hiberbarik oksijen tedavisi, oksidatif stres ve genetik toksisite arasındaki ilişkinin araştırılması. Yüksek Lisans tezi, Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Emmerich, R., Giez I., Lange OL. and Proksch P., 1993. Toxicity and antifeedant activity of lichen compounds against the polyphageous herbivorous insect *Spodoptera littoralis*. Phytochemistry, 33, 1389.
- Emri, G., Wenczl E., Van Erp, P., Jans J., Roza L., Horkay I. and Schothorst AA., 2000. Low doses of UVB or UVA induce chromosomal aberrations in cultured human skin cells. Journal of Investigative Dermatology (New York, NY), 115 (3), 435-440.
- Erdmann, K., Grosser N. and Schröder H., 2005. L-Methionine Reduces Oxidant Stress in Endothelial Cells: Role of Heme Oxygenase-1, Ferritin, and Nitric Oxide. AAPS Journal., 07 (01), E195-E200.
- Erel, O., 2004. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. Clinical Biochemistry (Toronto), 37 (4), 277-285.
- Erel, O., 2004. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. Clinical Biochemistry (Toronto), 37 (2), 112-119.
- Esimone, CO., Ofokansi KC., Adikwu MU., Ibezim EC., Abonyi DO., Odaibo GN. and Olaleye DO., 2007. *In vitro* evaluation of the antiviral activity of extracts from the lichen *Parmelia perlata* (L.) Ach. against three RNA viruses. Journal of Infection in Developing Countries, 1 (3), 315-320.
- Esterbauer, H., Schaur RJ. and Zollner H., 1991. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. Free Radical Biology and Medicine (New York, NY), 11, 81-128.
- Evans, FJ. and Schmidt RJ., 1980. Plants and plant products that induce contact dermatitis. Planta Medica, 38, 289.
- Fazio, AT., Adler MT., Bertoni MD., Sepúlveda CS., Damonte EB. and Maier MS., 2007. Lichen secondary metabolites from the cultured lichen mycobionts of *Teloschistes chrysophthalmus* and *Ramalina celastri* and their antiviral activities. Zeitschrift für Naturforschung, 62 (7-8), 543-549.

- Fenech, M. and Morley AA., 1985a. Measurement of micronuclei in human lymphocytes. *Mutation Research*, 148, 29-36.
- Fenech, M. and Morley AA., 1985b. The effect of donor age on spontaneous and induced micronuclei. *Mutation Research*, 148, 99-105.
- Fenech, M., 1993. The cytokinesis blocks micronucleus technique. A detailed description on the method and its application to genotoxicity studies in human Population. *Mutation Research*, 285, 35-44.
- Fenech, M., 2000. The *in vitro* micronucleus technique. *Mutation Research*, 455 (1-2), 81-95.
- Freysdottir, J., Omarsdottir S., Ingólfssdóttir K., Vikingsson A. and Olafsdottir ES., 2008. *In vitro* and *in vivo* immunomodulating effects of traditionally prepared extract and purified compounds from *Cetraria islandica*. *International Immunopharmacology*, 8 (3), 423-430.
- Furukawa, H., 2009. Search of novel bioactive natural products from plant sources-- novel structures and biological activities. *Yakugaku Zasshi.*, 129 (10), 1155-1175.
- Gardner, CR. and Müller DMJ., 1981. Factors affecting the toxicity of several lichen acids: effects of pH and lichen acid concentration. *American Journal of Botany*, 68, 87-95.
- Geyikoglu, F., Turkez H. ve Aslan A., 2007. The protective roles of some lichen species on colloidal bismuth subcitrate genotoxicity. *Toxicology and Industrial Health*, 23 (8), 487-492.
- Giez, I., Lange OL. and Proksch P., 1994. Growth retarding activity of lichen substances against the polyphageous herbivorous insect *Spodoptera littoralis*. *Biochem Systemat Ecology*, 22, 113.
- Gilbert, O., 2000. What is a lichen? In: *Lichens*. The Bath Press, 28-30, Great Britain.
- Gollapudi, SR., Telikepalli H., Jampani BH., Mirhom W Y., Drake DS., Bhattiprolu KR., Velde DV. and Mitscher LA., 1994. Alecosarmentin, a new antimicrobial dibenzofuranoid lactol from the lichen, *Alectoria sarmentosa*. *Journal of Natural Product*, 57 (7), 934-938.
- González-Tejero, MR., Martínez-Lirola MJ., Casares-Porcel M. and Molero-Mesa J., 1995. Three lichen used in popular medicine in Eastern Andalusia (Spain). *Economic Botany*, 49 (1), 96-98.
- Gülçin, I., Oktay M., Küfrevioğlu OI. ve Aslan A., 2002. Determination of antioxidant activity of lichen *Cetraria islandica* (L) Ach.. *Journal of Ethnopharmacology* (Limerick), 79 (3), 325-329.
- Hale, ME., 1967. *The Biology of Lichens*. Edward Arnold, 176 pp, London.
- Halıcı, MG. ve Aksoy A., 2004. Erciyes Dağı'ndan Türkiye için yeni bir liken türü, *Sporastatia polyspora* (Nyl.) Grunmann. XVII. Ulusal Biyoloji Kongresi, özet kitapçığı, 100, Adana.

- Halici, M., Odabasoglu F., Suleyman H., Cakir A., Aslan A. ve Bayir Y., 2005. Effects of water extract of *Usnea longissima* on antioxidant enzyme activity and mucosal damage caused by indomethacin in rats. *Phytomedicine*, 12 (9), 656-662.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J. M. C., 1989. *Free Radicals in Biology and Medicine*. 2.ed. Clarendon Pres, Oxford.
- Halliwell, B., 1996. Antioxidant in human health and disease. *Annual Review of Nutrition*, 16, 33-50.
- Halliwell, B. and Gutteridge JMC., 2000. *Free radicals in biology and medicine*. Third ed. Oxford: Oxford Science Publications, 617-624.
- Han, D., Matsumaru K., Rettori D. and Kaplowitz N., 2004. Usnic acid-induced necrosis of cultured mouse hepatocytes: inhibition of mitochondrial function and oxidative stress. *Biochemical Pharmacology*, 67 (3), 439-451.
- Harma, M., Harma M. and Erel O., 2003. Increased oxidative stres in patients with hydatiform mole. *Swiss Med Wkly.*, 133 (41-42), 563-566.
- Harmala, P., Hiltunen R., Caldentey KM., Laakso T. and Kauppinen V., 1992. Isolation and in vitro cultivation of lichen alga and their antimicrobial properties. *Fitoterapia*, 63 (3), 3217-3225.
- Hauck, M. and Huneck S., 2007. Lichen substances affect metal adsorption in *Hypogymnia physodes*. *Journal of Chemical Ecology*, 33 (1), 219-223.
- He, X., Hu Y., Winter J. and Young GP., 2010. Anti-mutagenic lichen extract has double-edged effect on azoxymethane-induced colorectal oncogenesis in C57BL/6J mice. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 20 (1), 31-35.
- Hidalgo, ME., Fernández E., Quilhot W. and Lissi E., 1994. Antioxidant activity of depsides and depsidones, 37 (6), 1585-1587.
- Holvoet, P., Perez G. and Zhao Z., 1995. Malonaldehyde-modified low density lipoprotein in patients with atherosclerotic disease. *Journal of Clinical Investigation* (New York, NY), 95, 2611-2619.
- Honda, NK., Pavan FR., Coelho RG., de Andrade Leite SR., Micheletti AC., Lopes TI., Misutsu MY., Beatriz A., Brum RL. and Leite CQ., 2010. Antimycobacterial activity of lichen substances. *Phytomedicine*, 17 (5), 328-332.
- Huneck, S. and Yoshimura I., 1996. *Identification of lichen substances*. Springer and Berlin Heidelberg, New York.
- Huneck, S., 2001. New results on the chemistry of lichen substances. *Fortschritte der Chemie Organischer Naturstoffe*, 81, 1-276.
- Ingolfssdottir K., Gudmundsdóttir GF., Ogmundsdóttir HM., Paulus K., Haraldsdóttir S., Kristinsson H. and Bauer R., 2002. Effects of tenuiorin and methyl orsellinate from the lichen *Peltigera leucophlebia* on 5-/15-lipoxygenases and proliferation of malignant cell lines *in vitro*. *Phytomedicine*, 9 (7), 654-658.
- Ingólfssdottir, K., 2002. Molecules of interest: usnic acid. *Phytochemistry*, 61, 729-736.

- İlbars, H., 1997. Kuaförlerde ve kozmetik üretim yerinde çalışan bireylerde olası genotoksik etkilerin mikroçekirdek testi ile araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Jayaprakasha, GK. and Rao LJ., 2000. Phenolic constituents from the lichen *Parmotrema stuppeum* (Nyl.) Hale and their antioxidant activity. *Z Naturforsch C.*, 55 (11-12), 1018-1022.
- Jin, J., Bian X., Ge P., Jing H., Ding L. and Ding D., 2001. The effects of the polysaccharides from *Dermatocarpon miniatum* on oxygen radicals and lipid peroxidation. *Zhong Yao Cai.*, 24 (9), 660-661.
- Jin, J., Dong Y. and He L., 2005. The study on skin wound healing promoting action of sodium usnic acid. *Zhong Yao Cai.*, 28 (2), 109-111.
- Kang, KW., Kwak SH., Yun SY. and Kim SK., 2007. Evaluation of Antioxidant Activity of Sugar Alcohols Using TOSC (Total Oxy-radical Scavenging Capacity) Assay. *Journal of Toxicology and Public Health*, 23 (2), 143-150.
- Karagöz, A. ve Aslan A., 2005. Antiviral and cytotoxic activity of some lichen extracts. *Biologia, Bratislava*, 60 (3), 281-286.
- Karakus, B., Odabasoglu F., Cakir A., Halici Z., Bayir Y., Halici M., Aslan A. ve Suleyman H., 2009. The effects of methanol extract of *Lobaria pulmonaria*, a lichen species, on indometacin-induced gastric mucosal damage, oxidative stress and neutrophil infiltration. *Phytotherapy Research*, 23 (5), 635-639.
- Karaman, A., Kadı M. ve Kara F., 2009. Sister chromatid exchange and micronucleus studies in patients with Behç, et's disease. *Journal of Cutaneous Pathology*, 36, 831-837.
- Kathirgamanathar, S., Williams DE., Andersen RJ., Bombuwela K., De Silva D. and Karunaratne V., 2005. Beta-orcinol depsidones from the lichen *Usnea* sp. from Sri Lanka. *Natural Products Research*, 19 (7), 695-701.
- Kedziora-Kornatowska, K., Czuczejko J., Pawluk H., Kornatowski T., Motyl J., Szadujkis-Szadurski L., *et al.*, 2004. The markers of oxidative stress and activity of the antioxidant system in the blood of elderly patients with essential arterial hypertension. *Cellular and Molecular Biology Letters*, 9 (4A), 635-641.
- Kim, MS. and Lee KA., 2006. Antithrombotic activity of methanolic extract of *Umbilicaria esculenta*. *Journal of Ethnopharmacology (Limerick)*, 105 (3), 342-345.
- Kingsbury, JM., 1964. Poisonous plants of the United States and Canada. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, N.J.
- Kinoshita, K., Togawa T., Hiraishi A., Nakajima Y., Koyama K., Narui T., Wang LS. and Takahashi K., 2010. Antioxidant activity of red pigments from the lichens *Lethariella sernanderi*, *L. cashmeriana*, and *L. sinensis*. *Journal of Natural Medicines*, 64 (1), 85-88.
- Kohlhardt-Floehr, C., Boehm F., Troppens S., Lademann J. and Truscott TG., 2010. Prooxidant and antioxidant behaviour of usnic acid from lichens under UVB-

- light irradiation-studies on human cells. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 101 (1), 97-102.
- Koparal, AT., Tüylü BA. ve Türk H., 2006. *In vitro* cytotoxic activities of (+)-usnic acid and (-)-usnic acid on V79, A549, and human lymphocyte cells and their non-genotoxicity on human lymphocytes. *Natural Product Research*, 20 (14), 1300-1307.
- Koparal, AT., Ulus G., Zeytinoglu M., Tay T. ve Turk AO., 2010. Angiogenesis inhibition by a lichen compound olivetoric acid. *Phytotherapy Research*, 24 (5), 754-758.
- Koracevic, D., Koracevic G., Djordjevic V., Andrejevic S. and Cosic V., 2001. Method for the measurement of antioxidant activity in human fluids. *Journal of Clinical Pathology (London)*, 54 (5), 356-361.
- Krog, H., 1968. The macrolichens of Alaska. *Norsk Polarinstitutt Skrift.*, 144, 1-80.
- Kumar, S., Banskota AH. and Manandhar MD., 1996. Isolation and identification of some chemical constituents of *Parmelia nepalensis*. *Planta Medica*, 62, 93-94.
- Kumar, KC. and Müller K., 1999. Lichen metabolites. 1. Inhibitory action against leukotriene B4 biosynthesis by a non-redox mechanism. *Journal of Natural Products*, 62 (6), 817-820.
- Kumar, KC. and Muller K., 1999. Lichen metabolites. 2. Antiproliferative and cytotoxic activity of gyrophoric, usnic, and diffractaic acid on human keratinocyte growth. *Journal of Natural Products*, 62, 821-823.
- Lambeth, J.D., 2004. Nox enzymes and the biology of reactive oxygen. *Nature Reviews Immunology*, 4 (3), 181-189.
- Lando, C., Hagmar L. and Bonnassi S., 1998. Biomarkers of cytogenetic damage in human and risk of cancer. The European Study Group on Cytogenetic Biomarkers and Health. *Medicina del Lavoro*, 89, 124-131.
- Lauterwein, M., Oethinger M., Belsner K., Peters T. and Marre R., 1995. *In vitro* activities of the lichen secondary metabolites vulpinic acid, (+)-usnic acid, and (-)-usnic acid against aerobic and anaerobic microorganisms. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 39 (11), 2541-2543.
- Lawrey, JD., 1986. Biological role of lichen substances. *The Bryologist*, 89, 111-122.
- Lohèze-Le Dèvehat, F., Tomasi S., Elix JA., Bernard A., Rouaud I., Uriac P. and Boustie J., 2007. Stictic acid derivatives from the lichen *Usnea articulata* and their antioxidant activities. *Journal of Natural Product*, 70 (7), 1218-1220.
- Lovell, M. A., Gabbita S. P. and Markesbery W. R., 1999. Increased DNA oxidation and decreased levels of repair products in Alzheimer's disease ventricular CSF. *Journal of Neurochemistry (New York, NY)*, 72, 771-776.
- Luo, H., Ren M., Kim KM., Koh YJ., Wang LS. and Hur JS., 2006. Antioxidative Activity of Lichen *Thamnolia vermicularis* *in vitro*. *Mycobiology*, 34 (3), 124-127.

- Luo, H., Yamamoto Y., Kim JA., Jung JS., Koh YJ. and Hur JS., 2009. Lecanoric acid, a secondary lichen substance with antioxidant properties from *Umbilicaria antarctica* in maritime Antarctica (King George Island). *Polar Biology*, 32 (7), 1033-1040.
- Luo, H., Yoshikazu Y., Liu Y., Jung JS., Kahng HY., Koh YJ. and Hur JS., 2010. The In Vitro Antioxidant Properties of Chinese Highland Lichens. *J. Microbiol. Biotechnol.*, 20 (11), 1524-1528.
- Maffei, F., Forti GC., Castelli E., Stefanini GF., Mattioli S. and Hrelia P., 2002. Biomarkers to assess the genetic damage induced by alcohol abuse in human lymphocytes. *Mutation Research/DNA Repair (Amsterdam)*, 514 (1-2), 49-58.
- Maier, MS., Gonzalez Marimon DI., Stortz CA. and Adler MT., 1999. Revised Structure for (-)-Dihydropertusaric Acid, a -Butyrolactone Acid from the Lichen *Punctelia microsticta*. *Journal of Natural Products*, 62 (11), 1565 -1567.
- Manojlovic, NT., Vasiljevic PJ., Gritsanapan W., Supabphol R. and Manojlovic I., 2010. Phytochemical and antioxidant studies of *Laurera benguelensis* growing in Thailand. *Biological Research (Santiago)*, 43 (2), 169-176.
- Maritim, AC., Sanders RA. and Watkins JB., 2003. Diabetes, oxidative stress and antioxidants. *J. Biochem. Molecular Toxicology*, 17 (1), 24-37.
- Marnett, LJ., 2000. Oxyradicals and DNA damage. *Carcinogenesis*, 21, 361-370.
- Mavi, A., 2005. İnsan Eritrosit ve Lökositlerinden Süperoksit Dismutaz Enziminin Saflaştırılması ve Bazı İlaçların Enzim Üzerine Etkilerinin İncelenmesi. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Erzurum
- Mayer, M., O'Neill MA., Murray KE., Santos-Magalhães NS., Carneiro-Leão AMA., Thompson AM. and Appleyard VCL., 2005. Usnic acid: a non-genotoxic compound with anti-cancer properties. *Anticancer Drugs*, 16 (8), 805-809.
- Melo, MG., Dos Santos JP., Serafini MR., Caregnato FF., de Bittencourt Pasquali MA., Rabelo TK., da Rocha RF., Quintans L Jr., de Souza Araújo AA., da Silva FA., Moreira JC. and Gelain DP., 2010. Redox properties and cytoprotective actions of atranorin, a lichen secondary metabolite. *Toxicol In Vitro*.
- Mercan, U., 2004. Toksikolojide Serbest Radikallerin Önemi. *YYU Vet Fak Derg.*, 15 (1-2), 91-96.
- Moerman, KL., Chai CL. and Waring P., 2003. Evidence that the lichen-derived scabrosin esters target mitochondrial ATP synthase in P388D1 cells. *Toxicology and Applied Pharmacology (New York, NY)*, 190 (3), 232-240.
- Monnet, F., Bordas F., Deluchat V. and Baudu M., 2006. Toxicity of copper excess on the lichen *Dermatocarpon luridum*: antioxidant enzyme activities. *Chemosphere*, 65 (10), 1806-1813.
- Mordraksi, M., 1956. Antibiotics from lichens of *Parmelia physodes* species. *Archivum Immunologiae et Therapiae Exeprimentalis Immunology (Warsz)*, 4, 299-334.

- Mutlu, S., 2008. Bazı liken türlerinden elde edilen su, etanol ve aseton ekstraktlarının antioksidan özelliklerinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Müller, K., 2001. Pharmaceutically relevant metabolites from lichens. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 56 (1-2), 9-16.
- Nakamura, K., Endo H. and Erel O., 1897. Serum oxidation activities and rheumatoid arthritis. *International Journal of Tissue Reactions (Geneva)*, 9 (4), 307-316.
- Nash, I. and Thomas H., 1996. *Lichen Biology*. Cambridge University Press, 304p, UK.
- Neri, M., Fucic A., Knudsen LE., Lando C., Merlo F. and Bonassi S., 2003. Micronuclei frequency in children exposed to environmental mutagens: a review. *Mutation Research/DNA Repair (Amsterdam)*, 544 (2-3), 243-254.
- Nishitoba, Y., Nishimura H., Nishiyawa T. and Mizutani J., 1987. Lichen acids, plant growth inhibitors from *Usnea longissima*. *Phytochemistry*, 26, 3181.
- Odabasoglu, F., Aslan A., Cakir A., Suleyman H., Karagoz Y., Bayir Y. ve Halici M., 2005. Antioxidant activity, reducing power and total phenolic content of some lichen species. *Fitoterapia*, 76 (2), 216-219.
- Odabasoglu, F., Cakir A., Suleyman H., Aslan A., Bayir Y., Halici M. ve Kazaz C., 2006. Gastroprotective and antioxidant effects of usnic acid on indomethacin-induced gastric ulcer in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 103 (1), 59-65.
- Omarsdottir, S., Freysdottir J. and Olafsdottir ES., 2007. Immunomodulating polysaccharides from the lichen *Thamnolia vermicularis* var. *subuliformis*. *Phytomedicine*, 14(2-3), 179-84.
- Onat, T., Emerk K. ve Sözman E. T., 2002. *İnsan Biyokimyası*. Palme Yayıncılık, Ankara.
- Osawa, T., Kumon H., Reece CA. and Shibamoto T., 1991. Inhibitory effect of lichen constituents on mutagenicity induced by heterocyclic amines. *Environmental and Molecular Mutagenesis (New York, NY)*, 18 (1), 35-40.
- Padovani, L., Tronati L., Mauro F., Testa A., Appolloni M., Azzidei P., Caporossi D., Tedeschi B. and Vernole P., 1997. Cytogenetic effects in lymphocytes from children exposed to radiation fall-out after the chernobyl accident. *Mutation Research*, 395, 249-254.
- Pasha, SA., Sankar S., Reddy SC., Das PG. and Jamil K., 2006. Lead-induced genotoxicity in lymphocytes from peripheral blood samples of humans: *in vitro* studies. *Drug and Chemical Toxicology (New York, NY)*, 29 (1), 111-124.
- Pelevina, II., Aleshchenko AV., Gotlib VIa., Kudriashova OV., Semenova LP. and Serebrianyi AM., 2005. Effect of low dose irradiation on the reaction of blood lymphocytes of individuals with the somatic diseases. *Radiats Biol Radioecol.*, 45 (4), 412-415.
- Perez-Llano, GA., 1944. Lichens. Their biological and economic significance. *The Botanical Review*, 10, 1.

- Purvis, OW., Coppins BJ., Hawksworth DL., James PW. and Moore DM., 1992. The Lichen Flora of Great Britain and Ireland. Natural History Museum publications in association with the British Lichen Society, 710 pp, London.
- Purvis, W., 2000. Lichens. The Natural History Museum, London.
- Ranković, B., Misić M. and Sukdolak S., 2007. Evaluation of antimicrobial activity of the lichens *Lasallia pustulata*, *Parmelia sulcata*, *Umbilicaria crustulosa*, and *Umbilicaria cylindrica*. Mikrobiologija, 76 (6), 817-821.
- Ranković, B., Misić M. and Sukdolak S., 2007. Antimicrobial activity of extracts of the lichens *Cladonia furcata*, *Parmelia caperata*, *Parmelia pertusa*, *Hypogymnia physodes* and *Umbilicaria polyphylla*. British Journal of Biomedical Science, 64 (4), 143-148.
- Rankovic, B., Rankovic D., Kosanic M. and Maric D., 2010. Antioxidant and antimicrobial properties of the lichens *Anaptychia ciliaris*, *Nephroma parile*, *Ochrolechia tartarea* and *Parmelia centrifuga*. Central European Journal of Biology, 5 (5), 649-655.
- Ren, MR., Hur JS., Kim JY., Park KW., Park SC., Seong CN., Jeong IY., Byun MW., Lee MK. and Seo KI., 2009. Anti-proliferative effects of *Lethariella zahlbruckneri* extracts in human HT-29 human colon cancer cells. Food and Chemical Toxicology (Oxford), 47 (9), 2157-2162.
- Rezanka, T. and Dembitsky VM., 2006. The colleflaccinosides, two chiral bianthraquinone glycosides with antitumor activity from the lichen *Collema flaccidum* collected in Israel and Russia. Natural Product Research, 20 (10), 969-980.
- Ribeiro-Costa, RM., Alves AJ., Santos NP., Nascimento SC., Goncalves EC., Silva NH., Honda NK. and Santos-Magalhães NS., 2004. *In vitro* and *in vivo* properties of usnic acid encapsulated into PLGA-microspheres. Journal of Microencapsulation (London), 21 (4), 371-784.
- Richardson, DHS., 1975. The Vanishing Lichens. David and Charles Newton Abbot.
- Richardson, DHS., 1988. Medicinal and other economic aspects of lichens. In M. Galun (ed.), ed. CRC Handbook of Lichenology, 3, 93-108.
- Richardson, DHS., 1992. Lichens as Pollution Monitors. Richmond Publishing.
- Rizzini, CT., 1952. The uses of lichens in medicine. Bras Med, 66 (38-39), 589-96.
- Rowe, JG., Saenz MT., Garcia MD. and Gil AM., 1991. Additional contribution to the study of the antimicrobial activity and identification of lichenic substances in some lichens from Southern Spain. Annales Pharmaceutiques Francaises (Paris), 49 (5), 278-285.
- Russo, A., Piovano M., Lombardo L., Vanella L., Cardile V. and Garbarino J., 2006. Pannarin inhibits cell growth and induces cell death in human prostate carcinoma DU-145 cells. Anticancer Drugs, 17 (10), 1163-1169.
- Saklani, A. and Upreti DK., 1992. Folk uses of some lichens of Sikkim. Journal of Ethnopharmacology, 37, 229-233.

- Santesson, J., 1968. Chemical Studies on Lichens. 12. A New Lichen Xanthone from *Lecanora reuteri*. Acta Chemica Scandinavica, 22, 1698-1699.
- Santos, LC., Honda NK., Carlos IZ. and Vilegas W., 2004. Intermediate reactive oxygen and nitrogen from macrophages induced by Brazilian lichens. Fitoterapia, 75 (5), 473-479.
- Schmeda-Hirschmann, G., Tapia A., Lima B., Pertino M., Sortino M., Zacchino S., Arias AR. and Feresin GE., 2008. A new antifungal and antiprotozoal depside from the Andean lichen *Protousnea poeppigii*. Phytotherapy Research, 22 (3), 349-55.
- Seo, C., Choi YH., Ahn JS., Yim JH., Lee HK. and Oh H., 2009. PTP1B inhibitory effects of tridepside and related metabolites isolated from the Antarctic lichen *Umbilicaria antarctica*. Journal of Enzyme Inhibition (Chur), 24 (5), 1133-1137.
- Seymen, P., Seymen H. O., Özdemir A., Belce A., Gümüştas K., Türkmen F ve Barut Y. Ö., 2000. Cuprophan ve polisülfon dializörlerinin oksidan /antioksidan dengesi üzerine etkileri. Cerrahpaşa J Med., 31 (2), 74-81.
- Sharnoff, SD., 1997. Lichens and people.
- Shibamoto, T. and Wei CI., 1984. Mutagenicity of lichen constituents. Environmental Mutagenesis, 6, 757-762.
- Shukla, V., Joshi GP. and Rawat MSM., 2010. Lichens as a potential natural source of bioactive compounds: a review. Phytochem Rev., 9, 303-314.
- Silva, JA., Bomfim RR., Estevam Cdos S., Antoniolli AR., Araújo AA. and Thomazzi SM., 2010. Pharmacological properties of lichen *Cladonia clathrata*. Pharmaceutical Biology, 48 (7), 745-752.
- Smith, D., Muscatine L. and Lewis D., 1969. Carbohydrate movement from autotrophs to heterotrophs in parasitic and mutualistic symbiosis. Biol. Rev., 44, 17-90.
- Subramanian, SS. and Ramakrishnan S., 1964. Amino acids of *Peltigera canina*. Current Science, 33, 522.
- Sugai, T., Habano W., Jiao Y. F., Suzuki M., Takagane A. and Nakamura S., 2005. Analysis of genetic alterations associated with DNA diploidy, aneuploidy and multiploidy in gastric cancers. Oncology, 68 (4-6), 548-557.
- Süleyman, H., Odabasoglu F., Aslan A., Cakir A., Karagoz Y., Gocer F., Halici M. ve Bayir Y., 2003. Anti-inflammatory and antiulcerogenic effects of the aqueous extract of *Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm.. Phytomedicine, 10 (6-7), 552-557.
- Tanas, S., Odabasoglu F., Halici Z., Cakir A., Aygun H., Aslan A. ve Suleyman H., 2010. Evaluation of anti-inflammatory and antioxidant activities of *Peltigera rufescens* lichen species in acute and chronic inflammation models. Journal of Natural Medicines, 64, 42-49.
- Tarper, MN., Wink DA. and Grisham MB., 2004. Methods for detection of reactive metabolites of oxygen and nitrogen: *in vitro* and *in vivo* considerations. American Journal of Physiology (Bethesda, MD), Regul Integr Comp Physiol, 286 (3), 431-444.

- Tay, T., Türk AO., Yilmaz M., Türk H. ve Kivanç M., 2004. Evaluation of the antimicrobial activity of the acetone extract of the lichen *Ramalina farinacea* and its (+)-usnic acid, norstictic acid, and protocetraric acid constituents. *Zeitschrift für Naturforschung*, 59(5-6), 384-388.
- Taylor, CJ., 1967. The Lichens of Ohio, Part I. Foliose Lichens. Biological Notes No. 3, The Ohio Biological Survey, The Ohio State University, 147 pp, Ohio.
- Taylor, TN., Hass H., Remy W. and Kerp H., 1995. The oldest fossil lichen. *Nature*, 378, 244.
- Thierens, H., Vral A. and De Ridder L., 1996. A cytogenetic study of radiological workers: effect of age, smoking and radiation burden on the micronucleus frequency. *Mutation Research/DNA Repair (Amsterdam)*, 360 (2), 75-82.
- Thomson, JW., 1969. A Catalogue of Lichens of the State of Washington. For the Lichenological Field Trip of XI International Botanical Congress, Seattle, WA.
- Thune, PO. and Solberg YJ., 1980. Photosensitivity and allergy to aromatic lichen acids, compositae oleoresins and other plant substances. *Contact Dermatitis*, 6, 81.
- Tokiwno, T., Satoh H., Obara T., Hirota H., Yoshizawa Y. and Yamamoto Y., 2009. A lichen substance as an antiproliferative compound against HL-60 human leukemia cells: 16-O-acetyl-leucotylic acid isolated from *Myelochroa aurulenta*. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 73 (11), 2525-2527.
- Toledo Marante, FJ., García Castellano A., Estévez Rosas F., Quintana Aguiar J. and Bermejo Barrera J., 2003. Identification and quantitation of allelochemicals from the lichen *Lethariella canariensis*: phytotoxicity and antioxidative activity. *Journal of Chemical Ecology*, 29 (9), 2049-2071.
- Türk, AO., Yilmaz M., Kivanç M. and Türk H., 2003. The antimicrobial activity of extracts of the lichen *Cetraria aculeata* and its protolichesterinic acid constituent. *Zeitschrift für Naturforschung*, 58 (11-12), 850-854.
- Türkez, H., Geyikoglu F., Aslan A., Karagöz Y., Türkez O. ve Anar M., 2010. Antimutagenic effects of lichen *Pseudovernia furfuracea* (L.) Zoph. extracts against the mutagenicity of aflatoxin B1 *in vitro*. *Toxicology and Industrial Health*, 26 (9), 625-631.
- Valencia-Islas, N., Zambrano A. and Rojas JL., 2007. Ozone reactivity and free radical scavenging behavior of phenolic secondary metabolites in lichens exposed to chronic oxidant air pollution from Mexico City. *Journal of Chemical Ecology*, 33 (8), 1619-1634.
- Valko, M., Rhodes CJ., Mancol J., Izakovic M. and Mazur M., 2006. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions (Limerick)*, 160, 1-40.
- Verma, N., Behera BC. and Makhija U., 2008. Antioxidant and hepatoprotective activity of a lichen *Usnea ghattensis in vitro*. *Applied Biochemistry and Biotechnology (Clifton, NJ)*, 151 (2-3), 167-181.

- Virtanen, OE. and Karki N., 1956. On the toxicity of an usnic acid preparation with the trade name USNO.
- Wang, G., Li Y., Wang B., Gao J., Yan Z. and Li X., 1991. Anti-tumor effect of *Cetraria laevigata* Rassad. Polysaccharides. Zhongguo Zhong Yao Za Zhi, 16 (4), 242-244, 256.
- Wirth, V., 1995. Die Flechten Baden Württembergs. Teil 1-2, Ulmer, Stuttgart.
- Yanik, M., Erel O. ve Kati M., 2004. The relationship between potency of oxidative stres and severity of depression. Acta Neuropsychiatr, 16 (4), 200-203.
- Yazıcı, K. ve Aslan A., 2006. Distribution of epiphytic lichens and air pollution in the city of Trabzon, Türkiye. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 77, 838-845.
- Yeni, E., Gulum M., Selek S., vd, 2005. Comparison of oxidative/antioxidative status of penil corpus cavernosum blood and peripheral venous blood. Int J Impot Res., 17 (1), 19-22.
- Yıldırım, A., 2003. İntakt ve Adrenalektomili Sıçanların Eritrosit ve Mide Dokularında Oksidan ve Antioksidan Parametrelerin Araştırılması. Atatürk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Erzurum.
- Yılam, M. *et al.*, 2005. The antimicrobial activity of extracts of the lichen *Hypogymnia tubulosa* and its 3-hydroxyphysodic acid constituent. Zeitschrift für Naturforschung, 60 (1-2), 35-8.
- Yim, TK., Wu WK., Mak DH. and Ko KM., 1998. Myocardial protective effect of an anthraquinone-containing extract of *Polygonum multiflorum ex vivo*. Planta Medica, 64 (7), 607-611.
- Yücel, O., Odabaşoğlu F., Güllüce M., Çalık ZZ., Çakır A., Aslan A., Yazıcı K. ve Halıcı M., 2007. Antioxidant And Antimicrobial Properties of A Lichen Species, *Cladonia rangiformis* Growing in Turkey. Turkish J. Pharm. Sci., 4 (2), 101-109.
- Zeytinoglu, H., Incesu Z., Tuylu BA., Turk AO. ve Barutca B., 2008. Determination of genotoxic, antigenotoxic and cytotoxic potential of the extract from lichen *Cetraria aculeata* (Schreb.) Fr. *in vitro*. Phytother Research, 22 (1), 118-123.

ÖZGEÇMİŞ

1987 yılında Erzurum’da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Erzurum’da tamamladı. 2004 yılında girdiği Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji bölümünden 2008 yılında başarıyla mezun oldu. Aynı yıl Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü’nde yüksek lisans öğrenimine başladı. 2008-2011 yılları arasında Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü’nde Genel Biyoloji Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans öğrenimini tamamladı.