

## EDİTÖRLER

*Prof. Dr. Hasan AKGÜL*

*Prof. Dr. Hayri BABA*

*Prof. Dr. Murat KÜTÜK*

**BIYOLOJİ**

Alanında Araştırmalar ve Değerlendirmeler

**ARALIK**  
**2024**

**İmtiyaz Sahibi** / Yaşar Hız  
**Yayına Hazırlayan** / Gece Kitaplığı  
**Birinci Basım** / Aralık 2024 - Ankara  
**ISBN** / 978-625-7189-79-8

**© copyright**

2024, Bu kitabın tüm yayın hakları Gece Kitaplığı'na aittir.  
Kaynak gösterilmeden alıntı yapılamaz, izin almadan hiçbir  
yolla çoğaltılamaz.

**Gece Kitaplığı**

Kızılay Mah. Fevzi Çakmak 1. Sokak  
Ümit Apt No: 22/A Çankaya/ANKARA  
0312 384 80 40  
[www.gecekitapligi.com](http://www.gecekitapligi.com) / [gecekitapligi@gmail.com](mailto:gecekitapligi@gmail.com)

**Baskı & Cilt**

Bizim Büro  
**Sertifika No:** 42488

**BİYOLOJİ**  
**ALANINDA ARAŞTIRMALAR VE**  
**DEĞERLENDİRMELER**

**EDİTÖRLER**

Prof. Dr. Hasan AKGÜL

Prof. Dr. Hayri BABA

Prof. Dr. Murat KÜTÜK



# İÇİNDEKİLER

## BÖLÜM 1

### FİLOSFERİK MİKROBİYOMU ŞEKİLLENDİREN FAKTÖRLER VE EKOLOJİK İŞLEVLERİ

*Derya İŞLER CEYHAN* ..... 7

## BÖLÜM 2

### ANTALYA'DAYETİŞEN BAZI *SİDERİTİS* L. TAKSONLARIYLA YAPILAN ANTİKANSER ÇALIŞMALARI

*Meryem GÖKOĞLU, Orhan ÜNAL* ..... 19

## BÖLÜM 3

### *RHIZOPLACA MELANOPHTHALMA* VE *RHIZOPLACA* *CHRYSOLEUCA* LİKEN EKSTRELERİNİN ANTİKANSER ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

*Aleyna BOZKURT, Mustafa KOCAKAYA* ..... 29



”

# BÖLÜM 1

## FİLOSFERİK MİKROBİYOMU ŞEKİLLENDİREN FAKTÖRLER VE EKOLOJİK İŞLEVLERİ

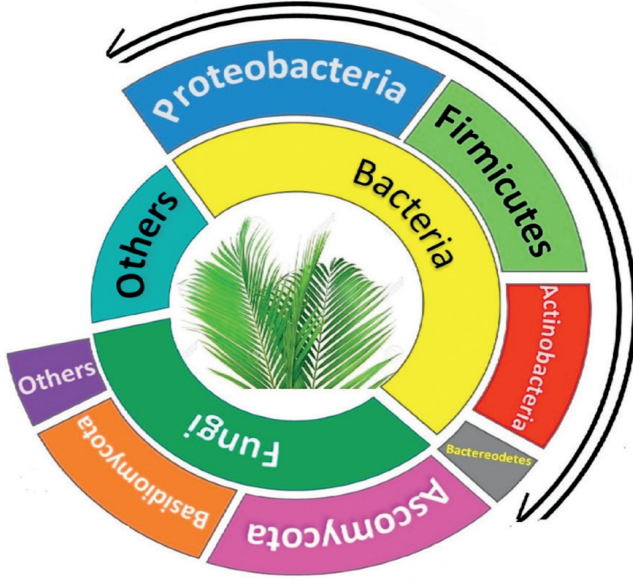
*Derya İŞLER CEYHAN<sup>1</sup>*

<sup>1</sup> Gaziantep Üniversitesi, Fen ve Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Gaziantep, Türkiye islerderya@hotmail.com ORCID: 0000-0002-7871-3647

Bitkiler, birbirlerinin fizyolojik, biyolojik ve ekolojik aktivitelerini doğrudan veya dolaylı olarak etkileyen, birbirleriyle simbiyotik olarak ilişkili olan karmaşık bir mikrobiyal topluluğa sahiptir (Parasuraman vd., 2019; Dastogeer vd., 2020; Malacrinò ve Bennett, 2024). Bitkiler ile ilişkili mikrobiyal topluluğu oluşturan türlerin rizosfer, fillosfer ve endosfer gibi, bitkinin farklı mikro ortamlarında bulunduğu bilinmektedir (Parasuraman vd., 2019). Rizosfer ile karşılaştırıldığında, fillosfer mikrobiyomu ile ilgili çalışmaların yetersizliği (Mandal ve Jeon, 2023) nedeniyle, fillosfer mikroorganizmalarının özellikleri ve ekolojik işlevleri hakkında daha az şey bilinmektedir (Xu vd., 2022). Bitkilerin hava kısımları olarak adlandırılan fillosfer (Zhu vd., 2022), morfolojik ve fiziksel olarak farklı özelliklere sahip sapsar, yapraklar, çiçekler meyveler ve polenleri içermektedir (Bar-On vd., 2018). Fillosfer, önemli büyüklükte bir mikrobiyal ekosistemi temsil eder ve olağanüstü bir biyolojik çeşitliliğe sahiptir. Bu nedenle, sürdürülebilir tarım, biyoteknoloji, tıp ve diğer alanlarda yeni ürünler, araçlar ve uygulamalar keşfetmek için muazzam bir potansiyele sahiptir (Rangel ve Leveau, 2024).

Son yıllarda, mikrobiyal topluluk bileşimi, çeşitliliği, dinamikleri ve işlevsel etkileşimleri ile ilgili çalışmalar sayesinde fillosferin, farklı ve zengin bakteri, mantar, virüs, siyanobakteri, aktinobakteri, nematod ve protozoa topluluklarını içerdiği belirlenmiştir (Bashir vd., 2022) (Figür 1). Hem geleneksel morfoloji-kültür tabanlı taksonomik yöntemlerin kullanımı hem de metagenomik, proteomik ve transkriptomik gibi modern araçların kullanımı ile, fillosfer bakteri üyeleri arasındaki çeşitliliğin genel olarak *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Bacteroidetes* ve daha az sıklıkta ise *Cyanobacteria* ile karakterize edildiği gösterilmiştir (Thapa ve Prasanna, 2018). Ayrıca, *Ascomycota* ve *Basidiomycota* filum düzeyinde baskın mantar topluluklarını içermektedir (Sun vd., 2023). Bununla birlikte, *Dothideomycetes*, *Dissoconiaceae*, *Sordariomycetes* ve *Eurotiomycetes* sınıflarından funguslarda fillosfer mikrobiyomunda yaygın olarak bulunmaktadır (Li vd., 2023) ve bu fungusların yanı sıra oomiset toplulukları da bu ekosistemin önemli bileşenleri arasında yer almaktadır (Thapa ve Prasanna, 2018). Ripa ve diğerleri (2019) tarafından, fillosferik funguslar arasında, *Aspergillus niger*, *Penicillium aurantiogriseum*, *Cladosporium cladosporioides*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium incarnatum* *Talaromyces funiculosus*, *Alternaria alternata*, *Alternaria tenuissima*, *Aspergillus flavus*, *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma aureoviride*, *Aspergillus stellatus*, *Fusarium proliferatum* ve *Fusarium equalseti* gibi türlerinin de yaygın olduğu bildirilmiştir.





**Figür 1.** Fillofer mikrobiyal çeşitliliği (Bashir vd., 2022).

Seçilim ve dağılma süreçleri ile birlikte, filloferik mikrobiyo bileşiminin oluşumunu, ekolojik süreçlerden hangisinin baskın olarak etkilediği ve çevresel bozulmaların her bir ekolojik süreci nasıl değiştirdiği tartışma konusu olmaya devam etmektedir (Huang vd., 2023). Son zamanlarda fillofer mikrobiyomuna verilen önemle birlikte, bu alandaki araştırmalar hız kazanmıştır. Fillofer mikrobiyal topluluğunun bileşiminin, yaprak besin konsantrasyonu, yaprak yaşı, yaprak kuru madde içeriği gibi özelliklerden (Kembel, vd., 2014; Zhang vd., 2024), besin maddesinin yetersizliği, yoğun ultraviyole (UV) ışığa maruz kalma, kuraklık ve sıcaklık dalgalanmaları dahil olmak üzere (Leveau, 2019) çevresel stres faktörleri tarafından yönlendirildiği gösterilmiştir (Figür 2). Yaprığın fiziksel ve kimyasal özellikleri, genellikle zorlu çevresel faktörlerle birleşerek, mikrobiyal kolonizasyon için yüksek derecede adaptasyon gerektiren nişler yaratır. Bunun için filloferde kolonileşen mikroorganizmalar abiyotik ve biyotik dalgalanmalara yanıt vermek için konak ile etkileşimli süreçler geçirerek evrimleşmişlerdir (Chaudhry vd., 2021). Yıllar geçtikçe, mikrobiyal toplulukların bitki konaklarıyla birlikte evriminin anlaşılması sonucu, bitki-mikrop etkileşimlerinin insan medeniyetinin yanı sıra çevresel istikrarın yararına olan öneminin fark edilmesini sağlamıştır (Parasuraman vd., 2019). Filloferik mikrobiyomu yaprak yüzeyinde bakteri, fungus, aktinomisetler, siyanobakteriler ve virüs çeşitliliği açısından bileşimsel olarak karmaşık topluluklar kurarlar (Sivakumar vd., 2020) ve yukarıda belirtildiği gibi bu

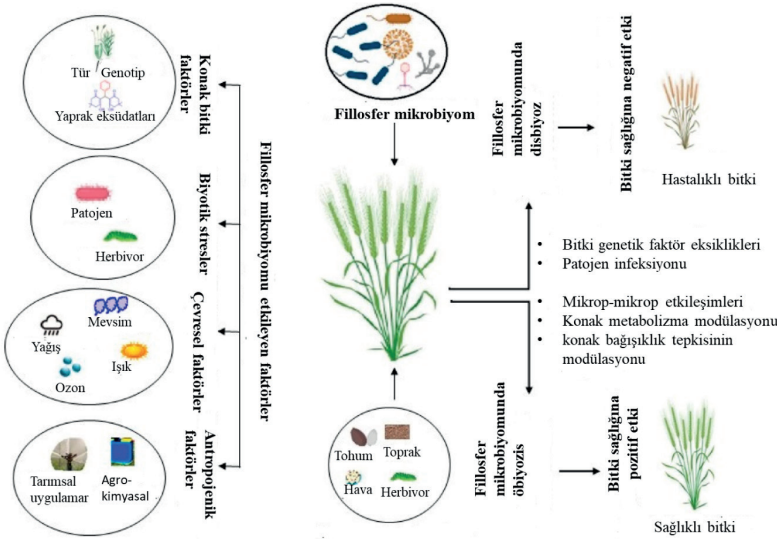
çeşitlilik yaprağın yapısal ve fizyolojik özelliklerinden etkilediği birçok çalışmada gösterilmiştir. Zhang ve diğerleri (2024) tarafından bitki yaprağı işlevsel özelliklerinin hem bakteri hem de fungus topluluğunu önemli ölçüde etkilediği ve fungus bileşiminin bakteri bileşimine kıyasla, yaprak fizyolojisi ve besin içeriğinden daha fazla etkilendiği belirlenmiştir. Bakteri ve mantar topluluklarının bitki özelliklerine verdiği farklı tepkilerin, bakterilerin daha geniş ekolojik nişlere sahip olması ve yüksek dağılım potansiyeline sahip olmasına atfedilmiştir. Yine fillosfer mikrobiyal profilinin potansiyel itici güçlerini araştırmak için yaprak işlevsel özelliklerini ölçülmüş ve fillosfer mikrobiyal topluluklarının kentsel ve doğal yaşam alanları arasında önemli ölçüde farklılık göstermiştir. Bu etkinin nedeni olarak, fillosferindeki besin döngüsünde yer alan işlevsel gen bolluğundan kaynaklanmaktadır (Li vd., 2023). Konak yaşının fillosferik mikrobiyal topluluklar üzerindeki etkisi incelendiğinde, yaprağın yaşlandıkça fungus çeşitliliğinde artış olduğu, bakteri taksonlarının çeşitliliğinden ziyade, sayısal olarak arttığı belirlenmiştir (Geyer vd., 2024). Ayrıca, yaprak yüzeyi pH'ı ve stoma yoğunluğu da fillosfer topluluk bileşimini şekillendirilmesinde önemli bir etkiye sahiptir. Üst yaprak yüzeyi mikrobiyal çeşitlilik bakımından daha zengin iken, yaprağın alt tarafında mikrobiyal çeşitlilik az, mikrobiyal bolluk ise daha fazladır (Smets vd., 2023).

Küresel olarak önümüzdeki yüzyılda kuraklık şiddetinde ve süresinde öngörülen artışlarla birlikte, mikrobiyal topluluklarının iklim stresine yanıt olarak nasıl değiştiğini anlamak, bitki-mikrop ilişkilerinin sürdürülebilir geleceğini anlamamıza yardımcı olacaktır (Bechtold vd., 2021). İklim değişikliğinin şu anda en yaygın zorluklardan biri olan sıcaklık artışının bitkiyle ilişkili mikrobiyom üzerindeki etkileri tam olarak aydınlatılamamış olmasına rağmen, sıcaklık artışının neden olduğu kuraklığın, bakterilerden çok fungus çeşitliliği üzerinde daha güçlü bir etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (Hoefle vd., 2024). Yine benzer bir çalışmada, iklimsel ısınmanın bakteriyel ve fungal topluluk kompozisyonlarını nasıl etkilediği değerlendirilmiş ve *Actinobacteria*, *Firmicutes* ve patotrof-saprotrof mantarları artırdığı ve *Basidiomycota* ve simbiyotrof fungusları azalttığı belirlenmiştir (Fu vd., 2024). Mahmoudi ve diğerleri (2024) tarafından çevresel faktörlerden nem ve güneş radyasyonunun hem mikro (yaprak bölmesi) hem de makro (alan) ölçeklerde fillosfer mikrobiyomunu şekillendiren önemli çevresel ipuçları olarak işlev gördüğü gösterilmiştir. Bu bulgular ile, küresel değişimin neden olduğu mikrobiyal değişimin tahmin edilmesi ve bu sayede geleceğe dair pratik çıkarımlar sağlanabileceği belirtilmiştir. İklim değişiklikleri ile birlikte yağış miktarındaki dalgalanmalar da fillosfer fungus toplulukları ve özellikle patojenik fungusların bolluğundaki en önemli belirleyici olarak karşımıza çıkmaktadır. Özellikle kıyı bölgelerinde patojenik fungus oranının gelecek on yüzyıllarda artacağı öngörülmektedir

(Chen vd., 2021). Fillosfer mikrobiyal toplulukları, genellikle yaz aylarında artış gösteren ve kuraklıkla çakışan ozon ( $O_3$ ) kirliliği ve su eksikliğinden etkilenmektedir. Bu durum, bitkiler ile mikrobiyal topluluklar arasındaki ilişkileri değiştirerek ekosistem bütünlüğünü bozabilmektedir. Bu konuda yapılan bir çalışmada yükselen  $O_3$  ve su eksikliği stres kombinasyonlarının bakteri topluluğunu değiştirdiği ve fillosferde baskın olan *Gammaproteobacteria* şubesinde göreceli bir artışın olduğu, diğer taraftan *Betaproteobacteria* da azalmalarla sonuçlandığı belirlenmiştir (Li, vd., 2023).

Fillosfer mikrobiyal ağının karmaşıklığını ve tür zenginliğini değiştiren fakörlerden biride kentleşmedir. Kentleşme ile birlikte fillosfer mikroorganizmaları her geçen gün artmakta olan insan faaliyetlerinden dolayı baskı altına girmiştir. Bu durum yaprak besin elementleri içeriğini ve pH düzeylerini değiştirerek fillosfer mikrobiyal topluluklarının çeşitliliğini ve mekansal dağılım modellerini önemli ölçüde etkilemiştir (Zhang vd., 2023). Kentsel yeşil alanlardaki mikrobiyota, çevresel sağlık ve insan refahı için önemli olan ekosistem hizmetlerinin temelini oluşturur. Bu nedenle kentsel yeşil alanların ekolojik olarak değerlendirilmesinde fillosferik mikroorganizma içeriğini etkileyen faktörlerin belirlenmesi önemlidir. Bu konuda yapılan çalışmada, kentsel yeşil alanlardaki bakteri topluluğu profillerini şekillendiren temel itici gücün endüstriyel gelişimler olduğu yönündedir (Yan vd., 2020). Fillosfer atmosfere açık bir sistemdir (Mueller ve Ruppel, 2014) ve hava kirliliğinden ve biyolojik aşılama gibi dışsal faktörlerden kolayca etkilenabilmektedir (Williams vd., 2013). Hava kirliliğinin fillosferik mikroflorayı nasıl etkilediği üzerine yapılan bir çalışmada, doğal bir orman alanı ve kentsel alanlardaki *Tillandsia (Bromeliaceae)* bitkilerinin mikrofloraları karşılaştırılmış ve kirlilik etkileri nedeniyle, özellikle mayalar ve bakteriler başta olmak üzere, mikroorganizmaların sayısında küresel bir azalma olduğu ve tür kompozisyonunun değiştiği gösterilmiştir (Brighna vd., 2000). Gıda üretimini artırmak için sulama, sürme, gübreleme ve zararlı ve hastalık yönetimi için kimyasal uygulamaları gibi tarımsal uygulamalar son yıllarda endişe verecek oranda artmıştır. Bu tür uygulamaların yalnızca bitki sağlığı veya verimleri açısından değil, aynı zamanda bitkilerle ilişkili mikrobiyal topluluklar üzerinde de önemli etkilere sahiptir (Delitte vd., 2021). Yapılan çalışmalarda pestisit uygulamasının fillosfer bakteri topluluğu kompozisyonunu ve işlevini etkilemektedir. Bu konuda yapılan çalışmalarda pestisit uygulaması sonrası, hem tütün (*Nicotiana tabacum*) hem de buğday (*Triticum aestivum*) fillosferindeki *Proteobacteria*'nın göreceli olarak bolluğunun azaldığı görülmüştür (Chen vd., 2021; Xu vd., 2020). Diğer taraftan, ay (*Camellia sinesis*) fillosferindeki *Actinobacteria*'nın göreceli bolluğu pestisit uygulamasından sonra artmıştır (Cernava vd., 2019). Turunçgillerde yaygın olarak kullanılan Bakır hid-

roksit, Iprodione, Diphenconazole+Propiconazole, Mancozeb, Propineb ve Metiram gibi bazı fungusitler ve Fosfor, Çinko, Mangan, Magnezyum, Üre ve Potasyum gibi yaprak gübrelere, turunçgillerde *Cryptococcus* spp., *Sporobolomyces* spp. *Cladosporium* spp. ve *Aureobasidium* spp.'nin çoğunlukta olduğu fillosfer mikrobiyomunu etkilemektedir. Özellikle Bakır hidroksit ve Mancozeb'in mikoflorayı en fazla etkileyen fungusitler arasında yer almaktadır. Bu fungusitlerin uygulanmasıyla birlikte fungal popülasyonun yaklaşık 50 kat azaldığı belirlenmiştir. Diğer taraftan, Fosfor ve Çinko içeren yaprak gübrelere uygulanması sonucu fungal popülasyonda önemli artışlar olduğu gözlenmiştir (Özdemir ve Erkilic, 2018). Çok sayıda çalışma karasal ekosistemlerde yaygın olan otçül böceklerin bitkiler üzerindeki etkilerini incelerken, bitki mikrobiyal topluluğu üzerindeki etkisi yeterince incelenmemiştir (Shi vd., 2023). Fillosferik mikrobiyomuna kaynak oluşturma bakımından otçül böceklerin etkileri araştırıldığında, otçül böceklerin fillosferde çiğneyerek oluşturdukları yaralanmalar sonucu bu alanlarda bakteri oranının arttığı belirlenmiştir (Humphrey vd., 2014).



**Figür 2.** Fillosfer mikrobiyotasını etkileyen başlıca faktörler (Mandal ve Jeon, 2023).

Farklı mikrobiyotaların en canlı ve dinamik sakinlerinden birini temsil eden bitkiler, mikroorganizmalar ve atmosfer arasındaki arayüzdeki farklı fizyolojik süreçlerin yönetiminde görev alan (Parasuraman vd., 2019) fillosfer mikrobiyomları içerir. Bu mikroorganizmalar çeşitli biyolojik süreç-

lerin işleyişini etkileyerek bitki konakçısıyla komensalizm, mutualizm ve/veya patojenez yoluyla etkileşime girer (Stone vd., 2018). Fillosfer mikroorganizmaları, yaprak fizyolojik işlevlerini ve uzun ömürlülüğünü, tohum meyve gelişimini, kütlesini ve konak büyümesinin homeostazını etkileyerek birden fazla ekolojik işlevi yerine getirmektedir. Bir bitki, fillosfer mikroorganizmalarına ikincil metabolit salgılaması ve bağışıklık sistemi ile yanıt verebilir. Ancak, fillosfer ortamının dengesizliği, bitki-mikroorganizma etkileşim mekanizmaları, fillosfer mikroorganizmalarının bitki metabolitlerine tepkileri ve fillosfer mikroorganizmalarının bitki büyüme süreçlerindeki rolleri hakkında bilgiye ulaşabilirlikte hala birçok sınırlama bulunmaktadır (Xu vd., 2022). Bu konularda yapılan çalışmaları değerlendirecek olursak bitki büyümesi ve etkileşiminde yararlı fillosferik mikroorganizmaların fosfor, potasyum, çinkonun çözünmesi ve azot fiksasyonu yoluyla besin maddelerine ulaşabilirliğinin arttırdığı görölmüştür (Abadi vd., 2020, Zhu vd., 2023; Kumar vd., 2023). Çünkü bu mikroorganizmalar bitkiler için temel besin maddelerinden karbon (C), azot (N) ve fosfor (P) hidroliz ve mineralizasyon döngülerinde görevli olan işlevsel genlere sahiptir (Xiang vd., 2020; Chen vd., 2021). Bu kapsamda, fillosferde bulunan *Pseudomonas* sp., *Bacillus* sp. *Acetobacter* sp. ve *Methylobacterium* sp. gibi bakteri türleri bitki büyümesi ve gelişimi için önemli olan en iyi fosfat çözücüler olarak bildirilmiştir (Verma vd., 2014).

Fillosferde yaşayan bitki büyümesini teşvik eden bakteriler (PGPB), siderofor ve büyümeyi teşvik eden hormonların üretimi sayesinde birden fazla mekanizma yolunu aktive ederler ve bitki büyümesini olumlu yönde etkilerler. *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Microbacterium* *Stenotrophomonas*, *Enterobacter* ve *Pseudarthrobacter* cinsleri fillosferik PGPB'nin önemli üyelerini kapsar (Abadi vd., 2020). Bu mikroorganizmalar tarafından tetiklenen fitohormonlar, hem biyotik hem de abiyotik faktörleri kapsayan çeşitli çevresel değişikliklere yanıt vermede yardımcı olurken, büyümeyi, üretkenliği ve gelişimi düzenlemede önemli bir rol oynar (Timofeeva vd., 2024; Gayathry vd., 2024). Diğer taraftan, antagonistik fillosferik mikrobiyom üyeleri ACC deaminaz enziminin üretimi, patojen inhibisyonu, ekzopolisakkarit salgılanması ve çevresel stres faktörlerine toleransını teşvik emekte rol almaktadırlar (Kumar vd., 2023). ACC hidrolizinin fillosferde hem birleşme işareti hem de büyümeyi teşvik etmede bir rol oynayıp oynamadığı henüz net olmamakla birlikte bazı simbiyotların fillosferi kolonize ettiği ve ACC deaminazının etkisiyle bitki büyümesini teşvik ettiği gösterilmiştir. Bu nedenle, fillosfere ACC deaminaz içeren bakterilerin uygulanması, bitki stres direncini, patojen kontrolünü ve hasat verimini arttırmak için umut verici bir strateji olarak bildirilmiştir (Timofeeva vd., 2024). Fillosfer mikroorganizmalarının ekzopolisakkaritler (EPS) üretimi sayesinde bitkilerin su bulunabilirliğini arttırdığı ve böylece kuraklık stre-

sini azalttığı bildirilmiştir (Creus vd., 2004). Örneğin, Sharath ve diğerleri (2021) tarafından yapılan çalışmada pamuk fillosferinden kuraklığa dayanımlı ACC deaminaz üreten beş potansiyel bakterilerin izolasyonu gerçekleştirilmiştir. *Acinetobacter* sp., *Pseudomonas stutzeri*, *Bacillus mojavensis*, *Enterobacter asburiae* ve *Pseudomonas chlororaphis* olarak belirlenen bu bakterilerin siderofor üretimi, IAA üretimi, fosfat, çinko ve potasyum çözünürlüğü gibi bitki büyümesini teşvik edici potansiyellere sahip olduğu bildirilmiştir.

Bu özelliklere ilaveten bitki hastalıklarının baskılanmasında, bitki biyokütlesi ve gelişiminin teşvik edilmesinde, biyogübre ve biyokontrol ajanları olarak fillosferik mikroorganizmaların uygulanmasının, ürün veriminde artışlar sağladığı belirlenmiştir. Böylece, toprak verimliliğini ve mikrobiyal biyoçeşitliliği koruduğu gösterilmiştir (Kumar vd., 2023). Ayrıca, fillosfer mikroorganizmaları, fillosfer ortamına uyum sağlamalarına ve mikrobiyal patojenlerin büyümesini engellemelerine olanak tanıyan ve böylece bitki sağlığını yardımcı çok çeşitli adaptasyon ve biyokontrol faktörlerine sahiptir. Bu biyokontrol faktörleri, doğrudan, mikrop-mikrop ve dolaylı, konak-mikrop etkileşimleri olarak kategorize edilebilmektedir (Legein vd., 2020). Bu konuda yapılan bir çalışmada, Fillosferi kolonize eden antagonistik bakteriden *Pseudomonas aeruginosa* ve *Bacillus subtilis* izolatlarının, *Bipolaris oryzae*'nin neden olduğu kahverengi leke ve *Sarocladium oryzae*'nin neden olduğu kılıf çürümesi gibi başlıca pirinç yaprak hastalıklarının yönetimi için değerlendirilmiştir. Buna göre; bu bakteri türlerinden iki suşun *S. oryzae* ve *B. oryzae*'nin miselyal büyümesini etkili bir şekilde inhibe ettiği belirlenmiştir (Sobanbabu vd., 2024). Dolayısıyla, fillosferi kolonize eden bazı bakteri türlerinin, bitkileri yaprak fungus hastalıklarına karşı koruma potansiyellerini göstermiştir.

Diğer çalışmalar arasında, insan sağlığını destekleyen probiyotikler ve fermente gıdaların elde edilmesinde, havadaki kirleticilerin, pestisit veya plastiklerle yaprakta oluşan kalıntıları giderilmesinde yer alan mikroorganizmalar bulunur. Fillosfer mikrobiyomu, bitki kompostunun yenilenebilir enerjiye, hayvan yemine veya life dönüşümünü teşvik eder. Ayrıca, kıvamlaştırıcı maddeleri, endüstriyel sınıf biyosümfaktanları, yeni antibiyotikler ve kanser ilaçlarını, gıda katkı maddeleri veya enzimleri gibi gıda maddeleri üretirler (Rangel ve Leveau, 2024).

**KAYNAKLAR**

- Abadi, V. A. J. M., Sepehri, M., Rahmani, H. A., Zarei, M., Ronaghi, A., Taghavi, S. M., & Shamshiripour, M. (2020). Role of dominant phyllosphere bacteria with plant growth-promoting characteristics on growth and nutrition of maize (*Zea mays* L.). *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 20, 2348-2363.
- Bar-On, Y.M., Phillips, R., Milo, R. (2018). The biomass distribution on Earth. *PNAS* 115:6506–11
- Bashir, I., War, A. F., Rafiq, I., Reshi, Z. A., Rashid, I., & Shouche, Y. S. (2022). Phyllosphere microbiome: diversity and functions. *Microbiological Research*, 254, 126888.
- Bechtold, E. K., Ryan, S., Moughan, S. E., Ranjan, R., & Nüsslein, K. (2021). Phyllosphere community assembly and response to drought stress on common tropical and temperate forage grasses. *Applied and environmental microbiology*, 87(17), e00895-21.
- Brighigna, L., Gori, A., Gonnelli, S., & Favilli, F. (2000). The influence of air pollution on the phyllosphere microflora composition of *Tillandsia leaves* (*Bromeliaceae*). *Revista de biologia tropical*, 48(2-3), 511-517.
- Cernava, T., Chen, X., Krug, L., Li, H., Yang, M., & Berg, G. (2019). The tea leaf microbiome shows specific responses to chemical pesticides and biocontrol applications. *Science of the Total Environment*, 667, 33-40.
- Chaudhry, V., Runge, P., Sengupta, P., Doehlemann, G., Parker, J. E., & Kemen, E. (2021). Shaping the leaf microbiota: plant-microbe-microbe interactions. *Journal of Experimental Botany*, 72(1), 36-56.
- Chen, Q. L., Hu, H. W., Yan, Z. Z., Li, C. Y., Nguyen, B. A. T., Zhu, Y. G., & He, J. Z. (2021). Precipitation increases the abundance of fungal plant pathogens in Eucalyptus phyllosphere. *Environmental Microbiology*, 23(12), 7688-7700.
- Chen, X., Wicaksono, W. A., Berg, G., & Cernava, T. (2021). Bacterial communities in the plant phyllosphere harbour distinct responders to a broad-spectrum pesticide. *Science of the Total Environment*, 751, 141799.
- Creus, C. M., Sueldo, R. J., & Barassi, C. A. (2004). Water relations and yield in *Azospirillum*-inoculated wheat exposed to drought in the field. *Canadian Journal of Botany*, 82(2), 273-281.
- Dastogeer, K. M. G., Tumpa, F. H., Sultana, A., Akter, M. A., & Chakraborty, A. (2020). Plant microbiome—an account of the factors that shape community composition and diversity. *Current Plant Biology* 23: 100161.
- De Mandal, S., & Jeon, J. (2023). Phyllosphere microbiome in plant health and disease. *Plants*, 12(19), 3481.

- Delitte, M., Caulier, S., Bragard, C., & Desoignies, N. (2021). Plant microbiota beyond farming practices: a review. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 5, 624203.
- Fu, G., Zhang, G., & Zhou, H. (2024). Effects of long-term experimental warming on phyllosphere epiphytic bacterial and fungal communities of four alpine plants. *Journal of Integrative Agriculture*.
- Gayathry, G., Sabarinathan, K. G., & Jayalakshmi, T. (2024). Phyllosphere Microbiome in Ecosystem Management and Plant Growth Promotion for Agricultural Sustainability. *International Journal of Ecology and Environmental Sciences*, 50(6), 807-815.
- Geyer, J. K., Grunberg, R. L., Wang, J., & Mitchell, C. E. (2024). Leaf age structures phyllosphere microbial communities in the field and greenhouse. *Frontiers in Microbiology*, 15, 1429166.
- Hoefle, D., Sommer, M., Wassermann, B., Faticov, M., Serra, D., Berg, G., ... & Abdelfattah, A. (2024). Oak seedling microbiome assembly under climate warming and drought. *Environmental Microbiome*, 19(1), 62.
- Huang, S., Zha, X., & Fu, G. (2023). *Affecting factors of plant phyllosphere microbial community and their responses to climatic warming-a review. Plants (Basel) 12: 2891.*
- Humphrey, P. T., Nguyen, T. T., Villalobos, M. M., & Whiteman, N. K. (2014). Diversity and abundance of phyllosphere bacteria are linked to insect herbivory. *Molecular Ecology*, 23(6), 1497-1515.
- Kembel, S. W., O'Connor, T. K., Arnold, H. K., Hubbell, S. P., Wright, S. J., & Green, J. L. (2014). Relationships between phyllosphere bacterial communities and plant functional traits in a neotropical forest. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(38), 13715-13720.
- Kumar, L., Chhogyel, N., Gopalakrishnan, T., Hasan, M. K., Jayasinghe, S. L., Kariyawasam, C. S., ... & Ratnayake, S. (2022). Climate change and future of agri-food production. In *Future foods* (pp. 49-79). Academic Press.
- Kumar, S., Diksha, Sindhu, S. S., Kumar, R., Kumari, A., & Panwar, A. (2023). Harnessing Phyllosphere Microbiome for Improving Soil Fertility, Crop Production, and Environmental Sustainability. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 23(4), 4719-4764.
- Legein, M., Smets, W., Vandenheuvel, D., Eilers, T., Muysshondt, B., Prinsen, E., ... & Lebeer, S. (2020). Modes of action of microbial biocontrol in the phyllosphere. *Front Microbiol 11: 1619.*
- Leveau JH. Yapıktan bir özet: fillosfer mikrobiyomu anlayışımızı bilgilendirmek için en son araştırmalar. *Current Opinion in Microbiology*, 2019;49:41–9. Return to ref 43 in article
- Li, J., Jin, M. K., Neilson, R., Hu, S. L., Tang, Y. J., Zhang, Z., ... & Yang, X. R. (2023). Plant identity shapes phyllosphere microbiome structure and abun-



- dance of genes involved in nutrient cycling. *Science of The Total Environment*, 865, 161245.
- Li, P., Wu, X., & Gao, F. (2023). Ozone pollution, water deficit stress and time drive poplar phyllospheric bacterial community structure. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 262, 115148.
- Mahmoudi, M., Almario, J., Lutap, K., Nieselt, K., & Kemen, E. (2024). Microbial communities living inside plant leaves or on the leaf surface are differently shaped by environmental cues. *ISME communications*, 4(1), ycae103.
- Malacrinò, A., & Bennett, A. E. (2024). Soil microbiota and herbivory drive the assembly of tomato plant-associated microbial communities through different mechanisms. *Communications Biology*, 7(1), 564.
- Özdemir, S. K., & Erkılıç, A. (2018). Effects of Some Fungicides and Foliar Fertilizers on Epiphytic Fungal and Yeast Population of Citrus Leaves. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 22(2), 429-434.
- Parasuraman, P., Pattnaik, S., & Busi, S. (2019). Phyllosphere microbiome: functional importance in sustainable agriculture. In *New and future developments in microbial biotechnology and bioengineering* (pp. 135-148). Elsevier.
- Rangel, L. I., & Leveau, J. H. (2024). Applied microbiology of the phyllosphere. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 108(1), 211.
- Ripa, F. A., Cao, W. D., Tong, S., & Sun, J. G. (2019). Assessment of plant growth promoting and abiotic stress tolerance properties of wheat endophytic fungi. *BioMed Research International*, 2019(1), 6105865.
- Sharath, S., Triveni, S., Nagaraju, Y., Latha, P. C., & Vidyasagar, B. (2021). The role of phyllosphere bacteria in improving cotton growth and yield under drought conditions. *Frontiers in Agronomy*, 3, 680466.
- Shi, Y., Ma, T., Zhang, Z., Xing, Z., & Ding, J. (2023). Foliar herbivory affects the rhizosphere microbial assembly processes and association networks. *Frontiers in Microbiology*, 25, 100649.
- Sivakumar, N., Sathishkumar, R., Selvakumar, G., Shyamkumar, R., & Arjunekumar, K. (2020). Phyllospheric microbiomes: diversity, ecological significance, and biotechnological applications. *Plant microbiomes for sustainable agriculture*, 113-172.
- Smets, W., Chock, M. K., Walsh, C. M., Vanderburgh, C. Q., Kau, E., Lindow, S. E., ... & Koskella, B. (2023). Leaf side determines the relative importance of dispersal versus host filtering in the phyllosphere microbiome. *MBio*, 14(4), e01111-23.
- Sobanbabu, G., Oviya, R., Meena, B., Vijayasamundeeswari, A., Shanmugaiah, V., & Ramamoorthy, V. (2024). Evaluation of phyllosphere bacterial biocontrol agents for the suppression of rice foliar diseases. *Journal of Phytopathology*, 172(2), e13300.

- Stone, B. W. G., Weingarten, E. A., & Jackson, C. R. (2018). The role of the phyllosphere microbiome in plant health and function. *Annual Plant Reviews online*: 533–556.
- Sun, Z., Zhang, W., Liu, Y., Ding, C., & Zhu, W. (2023). The Changes of Phyllosphere Fungal Communities among Three Different *Populus* spp. *Microorganisms*, 11(10), 2479.
- Thapa, S., & Prasanna, R. (2018). Prospecting the characteristics and significance of the phyllosphere microbiome. *Annals of microbiology*, 68, 229-245.
- Timofeeva, A. M., Galyamova, M. R., & Sedykh, S. E. (2024). How Do Plant Growth-Promoting Bacteria Use Plant Hormones to Regulate Stress Reactions?. *Plants*, 13(17), 2371.
- Verma, P., Yadav, A. N., Kazy, S. K., Saxena, A. K., & Suman, A. (2014). Evaluating the diversity and phylogeny of plant growth promoting bacteria associated with wheat (*Triticum aestivum*) growing in central zone of India. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3(5), 432-447.
- Xiang, Y., Shao, Z., Chai, H., Ji, F., & He, Q. (2020). Functional microorganisms and enzymes related nitrogen cycle in the biofilm performing simultaneous nitrification and denitrification. *Bioresource Technology*, 314, 123697.
- Xu, N., Qu, Q., Zhang, Z., Yuan, W., Cui, H., Shen, Y., ... & Qian, H. (2020). Effects of residual S-metolachlor in soil on the phyllosphere microbial communities of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Science of the Total Environment*, 748, 141342.
- Xu, N., Zhao, Q., Zhang, Z., Zhang, Q., Wang, Y., Qin, G., ... & Qian, H. (2022). Phyllosphere microorganisms: sources, drivers, and their interactions with plant hosts. *Journal of agricultural and food chemistry*, 70(16), 4860-4870.
- Yan, Z. Z., Chen, Q. L., Zhang, Y. J., He, J. Z., & Hu, H. W. (2020). Industrial development as a key factor explaining variances in soil and grass phyllosphere microbiomes in urban green spaces. *Environmental Pollution*, 261, 114201.
- Zhang, J., Zhang, Y., & Zhang, Q. (2024). Host plant traits play a crucial role in shaping the composition of epiphytic microbiota in the arid desert, Northwest China. *Journal of Arid Land*, 16(5), 699-724.
- Zhang, Y., Li, X., Lu, L., Huang, F., Liu, H., Zhang, Y., ... & Li, S. (2023). Urbanization reduces phyllosphere microbial network complexity and species richness of camphor trees. *Microorganisms*, 11(2), 233.
- Zhu, Y. G., Xiong, C., Wei, Z., Chen, Q. L., Ma, B., Zhou, S. Y. D., ... & Duan, G. L. (2022). Impacts of global change on the phyllosphere microbiome. *New Phytologist*, 234(6), 1977-1986.



## BÖLÜM 2

### ANTALYA'DAYETİŞEN BAZI *Sideritis* L. TAKSONLARIYLA YAPILAN ANTİKANSER ÇALIŞMALARI

*Meryem GÖKOĞLU<sup>1</sup>, Orhan ÜNAL<sup>2</sup>*

1 Akdeniz Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Antalya, Türkiye [meryemgokoglu.bio@gmail.com](mailto:meryemgokoglu.bio@gmail.com)

2 Akdeniz Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Antalya, Türkiye

## GİRİŞ

Bilinen tarih boyunca insanlık doğa ile birlikte yaşamış, doğadan öğrenmiş, doğadan ilham almıştır. Haliyle insanoğlu hastalıklara şifayı doğada aramıştır. İnsanlığın tecrübelerinin yüzyıllarca birikmesi halk şifacılığını gelişmesiyle sonuçlanmıştır. Nesilden nesile aktarılacak günümüze kadar ulaşmış olan bu tecrübeler, bilim dünyasında etnobotanik çalışmaların konusunu oluşturmuştur. Halk şifacılığında yöresel isimleriyle geçen bitkilerin sistematik teşhisleri yapılarak literatüre kazandırılmaya halen devam edilmekte olup bitkilerin antikanser, antiinflamatuvar, antiproliferatif, antiaging, antialerjik, antioksidan, antimikrobiyal ve DNA koruyucu etkiler gibi pek çok faydalı özelliğe sahip olduğu ve tedavi amaçlı kullanılabileceği çok sayıda çalışma ile belgelenmiştir (Horvathova ve ark., 2007; Bak ve ark., 2011; Ndlovu ve ark., 2013; Mohammed ve ark., 2019; Akgul ve ark., 2020; Mohammed ve ark., 2020; Mohammed ve ark., 2022; Unal ve ark., 2022; Özcandır ve ark., 2024; Mohammed ve ark., 2024; Şener ve ark., 2024). Günümüz yüzyılının hastalığı olan kansere veyahut direnç kazanmış mikrobiyolojik organizmalara karşı tıbbi özelliklerinin olup olmadığı merakı birçok çalışmanın yapılması ile sonuçlanmıştır. Bazı familyaların tıbbi özelliği olan genus açısından ya da takson açısından zengince olduğu düşünülse de halen dünya üzerinde herhangi bir tıbbi özelliği olup olmadığı bilinmeyen onlarca takson bulunmaktadır. Bununla beraber Bilim insanlarının bitkilerin tıbbi özelliğine odaklandığı familyalardan birisi Lamiaceae familyasıdır. Lamiaceae familyası (eski adıyla Labiatae), dünya üzerinde yaklaşık 236 genus ve 7100'den fazla tür içeren en büyük dikotiledon bitki familyasından biridir (Aghakhani ve ark., 2018; Harley ve ark., 2004). Bu familyanın bazı genusları, uçucu yağlar ve çeşitli uçucu olmayan bileşenler gibi özel metabolitler üreten, çok sayıda farmakolojik aktiviteye ve gıda endüstrisi, kozmetikler ve ilaçlarda çeşitli uygulamalara sahip, yaygın olarak bilinen tıbbi ve aromatik bitkilerdir (Singh ve Pandey, 2018). Bu çalışmanın konusu olan *Sideritis* L. genusuna ait taksonlar dünya üzerinde Afganistan, Arnavutluk, Cezayir, Avusturya, Balear Adaları, Bulgaristan, Kanarya Adaları, Orta Avrupa Rusya, Korsika, Kıbrıs, Çekoslovakya, Doğu Ege Adaları, Doğu Avrupa Rusya, Fransa, Yunanistan, Macaristan, İran, Irak, İtalya, Kırgızistan, Kriti, Kırım, Lübnan-Suriye, Libya, Madeira, Fas, Kuzey Kafkasya, Filistin, Portekiz, Romanya, Sardunya, Sicilya, Güney Avrupa Rusya, İspanya, İsviçre, Tacikistan, Transkafkasya, Tunus, Türkiye, Türkmenistan, Ukrayna, Özbekistan, Batı Himalaya, Sincan ve Yugoslavya ülkelerinde dağılım göstermektedir (Web 1, 2024). Türkiye'de ise *Sideritis* L. genusu 54 takson ile temsil edilmektedir (Web 1, 2024). Bu 54 taksonun 25 taksonu Antalya'nın ekolojik koşullarında doğal olarak bulunmaktadır (Web 2, 2024). Bu veriler ışığında Türkiye, özellikle de Antalya *Sideritis* L. genusu bakımından zengin bir değere sahiptir (Ba-

ser,2002; Celep ve Dirmenci 2017; Chrysargyris vd., 2023).

Türkiye’de bulunan *Sideritis* genusu tasonlarının esansiyel yağları bi-leşenlerine dayalı olarak monoterpen hidrokarbon, seskiterpen ve diterpen açısından dahil olmak üzere zengin yağ içerikleri sınıflandırılmıştır. Bu çalışma birçok *Sideritis* taksonu çalışılmış ve bu taksonlarının yağ içeriklerinde korelasyonun görüldüğünü bu korasyonunda monoterpen hidrokarbon içeriğinin yağ verimini yükselttiği seksiterpen yağ içeriğinin düşük yağ veriminin gözlemlendiğini raporlamıştır (Kirimer vd., 2004; Chrysargyris vd., 2023).

## MATERYAL-METOD

Bu çalışma Tubives (Web 3, 2024) ve bizimbtkiler (Web 2, 2024) kaynaklarından ve Antalya ilinde yapılan bazı flora çalışmalarında teşhis edilen *Sideritis* genusuna ait taksonlar tespit edilmiştir. Bitkilerin geçerli isimleri İPNI/POWO (Web 1, 2024; Web 4, 2024) kullanılarak güncellenmiş ve nihai liste oluşturulmuştur. Bu nihai liste kullanılarak Antalya’da bulunan sideritis taksonları Google Schoolar gibi elektronik veri tabanları üzerinden “takson ismi +anticancer/ antiproliferative activity” tarama anahtar kelimeleri ile tüm zamanlar filtresi kullanılarak 2024 yılına kadar yayımlanmış çalışmalar ele alınmıştır.

## BULGULAR

Lamiaceae ailesi, yaygın olarak bilinen tıbbi ve aromatik bitkilerle temsil edilmektedir (Chrysargyris vd., 2023). Yıllar boyunca, *Sideritis* L. esansiyel yağları, farklı taksonlar arasındaki kimyasal değişkenlikleri ve farmakolojik aktiviteleri nedeniyle büyük ilgi görmüştür. *Sideritis* türleri, antispazmodik, antiromatizmal, antiinflamatuvar ve diüretik aktiviteleri nedeniyle Türkiye’de yaygın olarak kullanılmaktadır (Eruygur vd., 2024). Literatürdeki mevcut araştırmaların ışığında Antalya ilinde *Sideritis* genusuna ait 25 taksonun olduğu 17 taksonun ise bölgeye endemik olduğu tespit edilmiştir. Bu taksonlardan antikaser çalışması yapılan taksonlar Çizelge 1 deki gibidir.

Çizelge 1. Antalya ilinde bulunan *Sideritis* L. genusuna ait Anti taksonların listesi ve endemizm durumu.

İPNI (POWO)	Bizim Bitkiler Türkçe İsim	Endemizm Durumu
<i>Sideritis albiflora</i> Hub.-Mor.	Akçiçekçayı	Endemik
<i>Sideritis brevibracteata</i> P.H.Davis	Hacımemetliçayı	Endemik
<i>Sideritis congesta</i> P.H.Davis & Hub.-Mor.	Başakçayı	Endemik
<i>Sideritis leptoclada</i> O.Schwarz & P.H.Davis	Kızlançayı	Endemik
<i>Sideritis libanotica</i> subsp. <i>linearis</i> (Benth.) Bornm.	Torosçayı	Endemik değil
<i>Sideritis montana</i> L.	Karaçayı	Endemik değil
<i>Sideritis ozturkii</i> Aytaç & Aksoy	Paşaçayı	Endemik
<i>Sideritis perfoliata</i> L.	Fincançayı	Endemik değil
<i>Sideritis rubriflora</i> Hub.-Mor.	Gülçayı	Endemik
<i>Sideritis serratifolia</i> Hub.-Mor.	Fenerliçayı	Endemik
<i>Sideritis stricta</i> Boiss. & Heldr.	Tilkikuyruğuçayı	Endemik

### ***Sideritis albiflora* Hub.-Mor.**

*Euphorbia helioscopia* L., *Ferula elaeochytris* Korovin ve *Sideritis albiflora* Hub.-Mor. bitkilerinden elde edilen hekzan, aseton ve metanol ekstraktlarının DLD-1 hücre hattı üzerindeki anti-kolorektal kanser etkileri Alamar mavisi testi kullanılarak *in vitro* olarak incelendi. DLD-1 hücre hattının canlılığında doza bağlı inhibisyon tespit edildiği ve üç bitki türünün hepsinde, *Euphorbia helioscopia* L., (IC50: 140.83±0.31 µg/mL), *Ferula elaeochytris* Korovin (IC50: 67.93±0.12 µg/mL) ve *Sideritis albiflora* Hub.-Mor. (IC50: 85.12±0.10 µg/mL) metanol ekstraktlarının aynı türler için test edilen diğer ekstraktlarla kıyaslandığında DLD-1 hücre hattı üzerine daha yüksek anti-kolorektal kanser etkisi gösterdiği ortaya koyulmuştur. Bu çalışmada ayrıca standart olarak kullanılan doksorubisinin IC50 değeri 6.10±0.55 µg/mL olarak raporlanmıştır. Çalışmanın incelediği bitki türlerinin DLD-1 hücre hattı üzerindeki *in vitro* anti-kolorektal kanser etkilerini vurgulayan bu ilk çalışma ile bitki kaynaklı ilaç uygulamaları için antikanser kaynakları olarak ekstraktların analizinden umut verici sonuçlar rapor edilmiştir (Deveci vd., 2021).

### ***Sideritis brevibracteata* P.H.Davis**

*Sideritis brevibracteata* P.H.Davis, n-hekzan, aseton ve metanol özütlerinde baskın bileşikler olarak penduletin, kuersetagetin-3,6-dimetiler, kafeik asit, klorojenik asit, rosmarinik asit ve gallik asitten oluştuğu raporlanmıştır (Sağır vd., 2017). Araştırmalara göre klorojenik asit, kafeik

asit, ferulik asit ve kuersetinin antioksidan, antikanser, antikarsinojenik ve antimutajenik aktiviteleri olduğu raporlanmıştır (Cai vd., 2004; Tapiero vd., 2002).

***Sideritis congesta* P.H.Davis & Hub.-Mor.**

Yapılan bir çalışmada *Sideritis congesta* ‘nın in vitro antioksidan potansiyeli ve ikincil metabolit bileşimi araştırılmış ve EtOAc ve RH<sub>2</sub>O fraksiyonları önemli antioksidan potansiyel gösterdiği tespit edilmiştir. Genel olarak, bu bulgular güçlü bir antioksidan ajan olduğu ve ikincil metabolitler açısından zengin olduğu gösterilen *Sideritis congesta* ‘nın geleneksel kullanımına yönelik bilimsel bir temel sağladı. Mevcut çalışmanın sonuçları, *Sideritis congesta* zerine yapılacak daha ileri araştırmalar için temel oluşturacaktır (Bardakçı vd., 2020).

***Sideritis leptoclada* O.Schwarz & P.H.Davis**

*Sideritis leptoclada* O. Schwarz et PH Davis ztleri, spektrofotometrik yöntem kullanılarak singlet oksijen üretim kapasitesi açısından değerlendiren bir çalışmada etanol özütü (100 µg/ml) HT-144 kanser hücrelerinin %83,49±3,33’lk inhibisyonunu gösterirken, aydınlatılmış MTT deneyinde HT-144 kanser hücrelerinin %77,46±1,97’lik inhibisyonunu gösterdiği raporlanmıştır. Aynı çalışmada ayrıca etanol özütünün reaktif oksijen türleri üretimi, apoptoz ve tümör nekroz faktörü-α salgılanması üzerindeki etkileri de HT-144 hücre hatlarında değerlendirilmif ve özütün ilgili kontrollerle karşılaştırıldığında hücre içi reaktif oksijen türleri üretimi ve tümör nekroz faktörü-α salgılanmasında bir artışı tetiklediği raporlanmıştır. Bu nedenle, etanol özütü apoptoza neden olabileceği sonucuna ulaşılmıştır. *Sideritis leptoclada* etanol ekstraktının LC-MS/MS analizleri, ana bileşenler olarak kinik asit (137213±11.25 µg/g ekstre), malik asit (1468±0.16 µg/g ekstre), klorojenik asit (881.7±0.06 µg/g ekstre) ve apigetrin (223.2±0.13 µg/g ekstre) içerdiğini gösterdiği, malign melanom kanseri için potansiyel bir tedavi olarak daha fazla araştırılması gerektiği sonucuna ulaşmışlardır (Aydoğmuş-ztrk vd., 2018).

***Sideritis libanotica* subsp. *linearis* (Benth.) Bornm.**

Türkiye florasına endemik olan *Sideritis libanotica* Labill. subsp. *linearis* (Bentham) Borm. bitkisinden elde edilen metanol ekstraktının Vero, C6 ve HeLa hücreleri üzerindeki antiproliferatif etkilerini araştıran bir çalışmada *Sideritis libanotica* ‘nın metanolik ekstraktının in vitro antiproliferatif zellikleri Vero, C6 ve HeLa hücreleri için değerlendirilmiştir (Demirtas vd., 2009). Farklı ekstrakt konsantrasyonları ile muamele ettikleri tüm hücrelerde (Vero, C6 ve HeLa) canlılığın önemli ölçüde azaldığını, bunun da bu türevlerin istatistiksel olarak anlamlı antiproliferatif aktivitelere sahip olduğunu gösterdiği bildirilmiştir. Bitkinin metanolde çözünen

kısımları tüm tümör hücre hatlarına (Vero, C6 ve HeLa) karşı aktif olduğu bununla birlikte, metanol ekstraktı HeLa hücrelerine karşı diğerlerine göre doza bağlı daha güçlü sitotoksik aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Metanol ekstraktın, 250 µg/mL'de Vero hücrelerine karşı en etkili sitotoksik aktiviteyi sergilediğine dikkat çekilmiştir (Demirtaş vd., 2009)

### *Sideritis montana* L.

Yapılan bir araştırmanın sonucunda *Sideritis montana* L.'nin (*Lamiaceae*) fitokimyasal ve farmakolojik incelemesini hedeflemiştir. Bitkinin metanol özütünden iki yeni abietan diterpeni [sideritinler A ve B ] **izole etmişlerdir**. **Altı bileşik [pomiferin E, 9α,13α- epi -dioksiabiet-8(14)-en-18-ol, paulownin, 6-metoksisakuranetin, 3-okso-α-ionol ve 4-alil-2,6-dimetoksi-fenol glukozit]** de bitkiden elde edilmiş ve 10 ve 30 µM konsantrasyonlarda insan kanser hücre hatlarında (HeLa, SiHa ve C33A) çalışılmış ve pomiferin E ve 6-metoksisakuranetin'in 30 µM konsantrasyonda önemli aktivite gösterdiğini gösterdiği [inhibisyon (%) ± SEM: HeLa (pomiferin E) üzerinde 46,93 ± 2,35 ve C33A (6-metoksisakuranetin) üzerinde 51,52 ± 2,45] tespit edilip raporlanmıştır (Tóth vd., 2017).

### *Sideritis ozturkii* Aytac & Aksoy

Türkiye'de endemik olan *Sideritis ozturkii* Aytac & Aksoy türünün çiçek ve yaprak kısımlarından elde edilen metanol ekstraktları, RPMI-1640 besiyerinde kültüre edilen DLD-1 insan kolorektal kanser hücrelerine farklı konsantrasyonlarda ve farklı sürelerde uygulanarak çalışılmış ve çalışma sonucunda *Sideritis ozturkii* türünden elde edilen çiçek ve yaprak ekstraktlarının DLD-1 hücreleri üzerinde doza ve zamana bağlı olarak sitotoksik aktivite gösterdiği rapor edilmiştir. *Sideritis ozturkii* türünden elde edilen ekstraktların doğal anti-proliferatif ajan olarak yararlı olabileceği öne sürülmüştür (Demirelma ve Gelinci, 2019).

### *Sideritis perfoliata* L.

*Sideritis perfoliata* L. hücre çoğalmasını inhibe ettiği, apoptozu indüklediği ve servikal kanser hücrelerinde hücre sel antioksidan aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Cocelli vd., 2020), Bu yapılan çalışmada aynı zamanda *Sideritis perfoliata* metanolik ekstraktının servikal kanser hücreleri (HeLa) üzerindeki antioksidan ve antikanser aktivitelerinin belirlenmiş ve HeLa hücrelerinin proliferasyonunu azalttığı ve ayrıca apoptozu indüklediği belirlenmiştir. IL6-8 seviyeleri 200 µg/mL'de önemli ölçüde azalttığı tespit edilmiştir. *Sideritis perfoliata* L., orta derecede antioksidan aktiviteler gösterdiği ve vanilik asit en yüksek miktarda bulunduğu raporlanmıştır. Sonuç olarak, HeLa hücrelerinde hücre proliferasyonunu azaltarak, apoptozu indükleyerek ve IL6-8'i azaltarak *Sideritis perfoliata* L. ekstraktları'nın antikanser aktivitesine sahip olduğu ortaya koyulmuştur (Cocelli vd., 2020).



***Sideritis rubriflora* Hub.-Mor.**

Ersöz ve diğerlerinin 2021 çalışmasında uçucu yağ bileşimini ortaya çıkarmış ve içeriğinde Karvakrol'un bulunduğunu bildirmişlerdir. Aynı çalışmada ana bileşenlerin uçucu yağından kırk bileşen belirlenmiş olup, ana bileşenler karvakrol (%33,26),  $\beta$ -karyofilen (%12,5),  $\alpha$ -pinen (%7,32) ve  $\beta$ -pinen (%6,13) olarak raporlanmıştır. *Sideritis rubriflora* Hub.-Mor. İyi bir karvakrol kaynağıdır. Karvakrol'un, HEK, MCF-7, MDA MB-231 ve SK-N-AS hücre hatlarında hücre proliferasyonuna ve apoptoza etkisini araştırmış ve karvakrol uygulanan hücre hatlarında doz artışı ile birlikte hücre proliferasyonu inhibe olduğu yani iyi bir antikanser özelliğinin olduğu ve kanser tedavi yöntemlerine ek olarak kullanılabilieceği yapılan çalışmalarda ortaya koyulmuştur (Testici, 2020). Yapılan bir diğer çalışmada karvakrol insanda görülen, akciğer, karaciğer, kolorektal, prostat ve servikal kanserlerinde apoptoz ve hücre döngüsünün durmasına neden olduğu ortaya çıkarılmıştır (alıbaşı Koçal ve Pakdemirli, 2020)

***Sideritis stricta* Boiss. & Heldr.**

Erdoğan vd., 2018 *Sideritis stricta*'dan elde edilen uçucu yağların parental ve epirubisin-HCl dirençli H1299 hücresinde sitotoksik etkileri ve membran hasarı oluşturması nedenleriyle yeni antikanser ilaçların üretiminde doğal bitki kaynağı olarak sunulması ülke ekonomisine önemli katkılar sağlayacaktır. *Sideritis stricta* uçucu yağının akciğer kanserine karşı antikanser aktiviteleri ile ilgili daha ileri çalışmalar, antikanser terapötik ilaçların geliştirilmesi potansiyeline sahip olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

**SONUÇ**

Literatürdeki mevcut araştırmaların ışığında Antalya ilinde *Sideritis* genusuna ait 25 takson bulunur. 17 takson ise bölgeye endemiktir. Mevcut literatürde 25 taksonun 16 taksonu hakkında spesifik bir antikanser çalışması literatürde bulunamamıştır. Bu 16 taksonun 11'i ise bölgeye endemiktir. 9 takson ile ilgili yapılan çalışmalarda antikanser etkisinin olduğu ve potansiyel kanser tedavisinde kullanılabilieceği ve geliştirilecek ilaçlarda hammadde olarak kullanılabilieceği raporlandığı görülmüştür. Aydoğmuş-Öztürk ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada etanol özütlerin HT-144 kanser hücrelerinin inhibisyonu etki ettiği, diğer yapılan bir çalışmada korelasyonun olduğunun bulunması (Chrysargyris vd., 2023; Aydoğmuş-Öztürk vd., 2018) alışılmanın türlerinde çalışmanın yapılmasının elzem olduğunu göstermektedir. Ayrıca literatürde bu genus ile ilgili birçok olumlu apoptoz tetikleyici etkileri gözlemleyen çalışmaların olmasının karşılığında Türkiye'deki özellikle de endemik türlerle ilgili antikanser çalışmaları azdır ve bu genusun antikanser özelliği ile ilgili çalışma yapılması kanser tedavilerinde kullanılan ilaçların üretimi için yeni stratejiler geliştirilmesine önemli katkılar sağlayacaktır.

## Kaynaklar

- Aydoğmuş-Öztürk, F., Günaydin, K., Öztürk, M., Jahan, H., Duru, M. E., & Choudhary, M. I. (2018). Effect of *Sideritis leptoclada* against HT-144 human malignant melanoma. *Melanoma Research*, 28(6), 502-509.
- Akgul, H., Korkmaz, N., Dayangaç, A., & Sevindik, M. (2020). Antioxidant potential of endemic *Salvia absconditiflora*. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 8(10), 2222-2224.
- Bak, J. P., Kim, J. B., Park, J. H., Yang, Y. J., Kim, I. S., Choung, E. S., & Kang, S. C. (2011). Screening and compound isolation from natural plants for anti-allergic activity. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*, 54, 367-375.
- Bardakci, H., Cevik, D., Barak, T. H., Gozet, T., Kan, Y., & Kirmizibekmez, H. (2020). Secondary metabolites, phytochemical characterization and antioxidant activities of different extracts of *Sideritis congesta* PH Davis et Hub.-Mor. *Biochemical Systematics and Ecology*, 92, 104120.
- Baser, K. H. C. (2002). Aromatic biodiversity among the flowering plant taxa of Turkey. *Pure and Applied Chemistry*, 74(4), 527-545.
- Cai, Y., Luo, Q., Sun, M., & Corke, H. (2004). Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life sciences*, 74(17), 2157-2184.
- Celep, F., & Dirmenci, T. (2017). Systematic and biogeographic overview of Lamiaceae in Turkey. *Natural Volatiles and Essential Oils*, 4(4), 14-27.
- Chrysargyris, A., Tomou, E. M., Goula, K., Dimakopoulou, K., Tzortzakis, N., & Skaltsa, H. (2023). *Sideritis* L. essential oils: A systematic review. *Phytochemistry*, 209, 113607.
- Chrysargyris, A., Tomou, E. M., Goula, K., Dimakopoulou, K., Tzortzakis, N., & Skaltsa, H. (2023). *Sideritis* L. essential oils: A systematic review. *Phytochemistry*, 209, 113607.
- Cocelli, G., Pehlivan, M., & Yumrutas, O. (2021). *Sideritis perfoliata* inhibits cell proliferation, induces apoptosis and exhibits cellular antioxidant activity in cervical cancer cells. *BLACPMA*, 20(4), 394-405.
- Çalıbaşı Koçal, G. ve Pakdemirli, A., (2020). Antiproliferative Effects Of Carvacrol On Neuroblastoma Cells. *İzmir Dr Behcet Uz Çocuk Hastanesi Dergisi*, Vol.10, No.1, 61-64.
- Demirelma, H., & Gelinci, E. (2019). Determination of the cytotoxic effect on human colon cancer and phenolic substance content of the endemic species *Sideritis ozturkii* Aytaç & Aksoy.
- Demirtas, I., Sahin, A., Ayhan, B., Tekin, S., & Telci, I. (2009). Antiproliferative effects of the methanolic extracts of *Sideritis libanotica* Labill. subsp. *linearis*. *Records of Natural Products*, 3(2), 104.

- Deveci, E., Tel-çayan, G., Karakurt, S., & Duru, M. E. (2021). Anti-Colorectal Cancer Effects of Medicinal Plants: *Euphorbia helioscopia*, *Ferula elaeo-chytris*, and *Sideritis albiflora*. *Commagene Journal of Biology*, 5(1), 73-77.
- Erdoğan, A., Özkan, A., Ünal, O., & Dülgeroğlu, C. (2018). Evaluation of the cytotoxic and membrane damaging effects of mountain tea (*Sideritis stricta* Boiss & Heldr.) essential oil on parental and epirubicin-HCl resistant H1299 cells. *Cukurova Medical Journal*, 43(3), 669-677.
- Ersöz, H., Kılıç, Ö., Yılmaz, E., Ege, M., & Yıldırım, Ş. (2021). Essential oil composition of endemic plant *Sideritis rubriflora* Hub. Mor. *International Journal of Phytocosmetics and Natural Ingredients*, 8(1), 1-1.
- Eruygur, N., Kırıcı, D., Ayaz, F., Bağcı, Y., Doğu, S., & Yılmaz, M. A. (2024). Biological activities and phytochemical investigation of some *Sideritis* species. *Indian Journal of Traditional Knowledge (IJTK)*, 23(10), 988-998.
- Horvathova, E., Turcaniova, V., & Slamenova, D. (2007). Comparative study of DNA-damaging and DNA-protective effects of selected components of essential plant oils in human leukemic cells K562. *NEOPLASMA-BRATISLAVA-*, 54(6), 478.
- Kirimer, N., Baser, K. H. C., Demirci, B. E. T. Ü. L., & Duman, H. (2004). Essential oils of *Sideritis* species of Turkey belonging to the section *Empedoclia*. *Chemistry of Natural Compounds*, 40, 19-23.
- Mohammed, F. S., Sevindik, M., Bal, C., Akgül, H., & Selamoglu, Z. (2019). Biological activities of *Adiantum capillus-veneris* collected from Duhok province (Iraq). *Communications Faculty of Sciences University of Ankara Series C Biology*, 28(2), 128-142.
- Mohammed, F. S., Çınar, G., Yigit, S. S., Akgül, H., & Dogan, M. (2020). Antioxidant and Oxidant Status of Endemic *Helleborus vesicarius*. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 8(9), 2008-2010.
- Mohammed, F. S., Sevindik, M., Uysal, I., Sevindik, E., & Akgül, H. (2022). A natural material for suppressing the effects of oxidative stress: biological activities of *Alcea kurdica*. *Biology Bulletin*, 49(Suppl 2), S59-S66.
- Mohammed, F. S., Uysal, I., Sevindik, M., Eraslan, E. C., & Akgül, H. (2024). Analysis of phenolic contents and biological activities of wild mint, *Mentha longifolia* (L.) L.
- Ndlovu, G., Fouche, G., Tselanyane, M., Cordier, W., & Steenkamp, V. (2013). In vitro determination of the anti-aging potential of four southern African medicinal plants. *BMC complementary and alternative medicine*, 13, 1-7.
- Özcandır, A., Mohammed, F. S., Sevindik, M., Aykurt, C., Selamoglu, Z., & Akgül, H. (2024). Phenolic composition, total antioxidant, antiradical and antimicrobial potential of endemic *Glaucium Alakirensis*. *Sigma Journal of Engineering and Natural Sciences*, 42(1), 42-48.

- Sagir, Z. O., Carikci, S., Kilic, T., & Goren, A. C. (2017). Metabolic profile and biological activity of *Sideritis brevibracteata* PH Davis endemic to Turkey. *International journal of food properties*, 20(12), 2994-3005.
- Şener, K., Ekici, M., Gönülalan, E. M., & Bodur, E. (2024). Comparative Study of The Anti-Inflammatory Pathway Enzyme Activities of Selected Plant Extracts from Lamiaceae Family. *Fabad Journal of Pharmaceutical Sciences*, 49(1), 197-210.
- Tapiero, H., Tew, K. D., Ba, G. N., & Mathe, G. (2002). Polyphenols: do they play a role in the prevention of human pathologies?. *Biomedicine & pharmacotherapy*, 56(4), 200-207.
- Testici, H. (2020). Bazı kanser hücre hatlarına zaprinast ve carvacrol uygulanmasının etkilerinin karşılaştırılması.
- Tóth, B., Kúsz, N., Forgo, P., Bózsity, N., Zupkó, I., Pinke, G., ... & Vasas, A. (2017). Abietane diterpenoids from *Sideritis montana* L. and their antiproliferative activity. *Fitoterapia*, 122, 90-94.
- Unal, O., Eraslan, E. C., Uysal, I., Mohammed, F. S., Sevindik, M., & Akgul, H. (2022). Biological activities and phenolic contents of *Rumex scutatus* collected from Turkey. *Fresenius Environmental Bulletin*, 31(7), 7341-7346.
- Web 1, (2024). <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:21227-1> Son Er. Tar.: 1.10.2024.
- Web 2, (2024). <https://bizimbitkiler.org.tr/yeni/demos/technical/> Son Er. Tar.: 1.10.2024.
- Web 3, (2024). <http://194.27.225.161/yasin/tubives/index.php> Son. Er. Tar.: 1.10.2024.
- Web 4, (2024). <https://www.ipni.org/> Son Er. Tar.: 1.10.2024.



## BÖLÜM 3

### **RHIZOPLACA MELANOPHTHALMA VE RHIZOPLACA CHRYSOLEUCA LİKEN EKSTRELERİNİN ANTİKANSER ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ<sup>1</sup>**

*Aleyna BOZKURT<sup>2</sup>, Mustafa KOCAKAYA<sup>3</sup>*

<sup>1</sup> Bu kitap bölümü Aleyna BOZKURT tarafından, Doç. Dr. Mustafa KOCAKAYA danışmanlığında hazırlanan “Rhizoplaca melanophthalma ve Rhizoplaca chrysoleuca liken ekstrelerinin antikanser özelliklerinin belirlenmesi” isimli yüksek lisans tezinden türetilmiştir.

<sup>2</sup> Yozgat Bozok Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Biyoloji Bölümü, ORCID: 0000-0002-5399-6775

<sup>3</sup> Doç. Dr., Yozgat Bozok Üniversitesi, Boğazlıyan Meslek Yüksekokulu, Veterinerlik Bölümü, ORCID: 0000-0003-2306-8094

## 1. GİRİŞ

Kanser, insan sağlığını tehdit eden en önemli kronik hastalıklardan biridir ve dünya genelinde ölüme yol açan hastalıklar arasında üst sıralarda yer almaktadır. Kanser gelişimi, genetik mutasyonlar, çevresel faktörler ve yaşam tarzına bağlı olarak şekillenirken, tedavi süreçlerinde kullanılan yöntemlerin yan etkileri, alternatif yaklaşımlara olan ilgiyi artırmaktadır. Bu bağlamda, doğal ürünler ve bitkisel ekstraktlar, kanser tedavisinde yeni ve etkili çözümler sunabilecek potansiyele sahiptir (Z. Kocakaya vd., 2024).

Likenler, mantar ve fotosentetik alglerin simbiyotik birliğinden oluşan kompleks organizmalardır. Yeryüzünde yaklaşık 20.000 tür ile temsil edilen bu organizmalar, ekstrem koşullarda yaşayabilmeleri ve yavaş büyüme gibi özellikleriyle dikkat çekmektedir. Likenler, farklı morfolojik yapılarla sahip olup kabuksu, yapraksı ve dalsı gibi kategorilere ayrılır. Aynı zamanda epigeik (toprak yüzeyinde), epilitik (kayalar üzerinde) ve epifitik (ağaç gövdelerinde) gibi farklı yaşam alanlarında bulunabilirler. Likenler ile ilgili çok farklı alanlarda yapılan çalışmalarda bulunmaktadır (Kocakaya vd., 2021; Ceylan vd., 2022; İnerci ve Kocakaya, 2023; Köprü vd., 2022; Yayla vd., 2023; Vicdanlı ve Kocakaya, 2023; Değirmenci vd., 2024; Kocakaya, 2024; M. Kocakaya vd., 2024).

Likenlerin sekonder metabolitleri, antikanser, antibakteriyel ve antioksidan gibi geniş biyolojik aktivitelere sahiptir. Özellikle usnik asit, *Rhizoplaca*, *Cladonia* ve *Usnea* türlerinde yaygın olarak bulunan, antikanser araştırmalarında öne çıkan bir bileşendir. *Rhizoplaca melanophthalma* ve *Rhizoplaca chrysoleuca* gibi türlerden elde edilen sekonder metabolitlerin, hücresel düzeyde kanser hücrelerinin ölümüne yol açabilecek etkiler gösterdiği bilinmektedir. Bu çalışmanın temel amacı, bu iki liken türünün meme kanseri hücre hattı MDA-MB-231 üzerindeki antikanser etkilerini inceleyerek, kanserle mücadelede kullanılacak potansiyel doğal bileşenleri ortaya koymaktır.

## 2. MATERYAL VE YÖNTEM

### 2.1. Kullanılan Kimyasallar ve Cihazlar

Çalışmada, hücre kültürü ve biyolojik testler için çeşitli kimyasallar ve cihazlar kullanılmıştır. Kimyasal olarak, Agaroz, MTT kiti (Roche), Dimetilsülfoksit (DMSO), Ethidium Bromide, Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM-F12), Penicillin-Streptomycin, Fetal Bovine Serum (FBS) kullanılmıştır. Çalışmada ELISA cihazı (BMG LABTECH), CO<sub>2</sub> inkübatör (Memmert), santrifüj (Nüve NF 800R), biyogüvenlik kabini, hassas terazi, mikroskop (ZEISS) cihazları kullanılmıştır.

## 2.2. Liken Ekstrelerinin Hazırlanması

Rhizoplaca melanophthalma ve Rhizoplaca chrysoleuca türlerinden toplanan liken örnekleri, Kocakaya ve ark. (2021) metoduna uygun olarak işlenmiştir. Metotta, her bir liken türünden 10 gram tartılarak havanda toz haline getirilmiştir. Toz haline getirilen örnekler, %80'lik metanol kullanılarak ekstrakte edilmiştir. Ekstraksiyon sonrası elde edilen özler, döner buharlaştırıcıda basınç azaltılarak konsantre edilmiştir. Kuru ekstratlar deneylerde kullanılmak üzere  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de saklanmıştır.

## 2.3. Hücre Hattı ve Kültürü

Çalışmada, agresif özelliklere sahip MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattı kullanılmıştır: Hücreler, DMEM besiyeri içinde %10 FBS ve %1 Penicillin-Streptomycin ilave edilerek kültüre edilmiştir. Hücre kültürü işlemleri sırasında, çözeltilerin  $37^{\circ}\text{C}$ 'de hazırlanmasına ve steril çalışma koşullarına dikkat edilmiştir.

## 2.4. Biyolojik Testler

### 2.4.1. MTT Testi

Hücre canlılığını ölçmek için kullanılmıştır. Rhizoplaca melanophthalma ve Rhizoplaca chrysoleuca ekstratlarının LC50 değerleri belirlenmiştir.

### 2.4.2. Komet Testi

DNA hasarını değerlendirmek amacıyla uygulanmıştır. Artan dozlara bağlı olarak DNA iplik kesiklerinin ve DNA hasarının düzeyi analiz edilmiştir.

### 2.4.3. Antioksidan Aktivite ve Oksidatif Stres Analizleri

Malondialdehit (MDA) seviyeleri ve SOD, CAT, GPx enzim aktiviteleri ELISA testleri ile ölçülmüştür. Hücrelerde oksidatif stres seviyeleri değerlendirilmiştir.

### 2.4.4. Apoptotik Hücre Ölümü Analizi

Akridin Oranj/Etidyum Bromür (AO/EB) çift boyama yöntemi ile apoptotik ve nekrotik hücreler incelenmiştir.

## 2.5. Uygulanan Dozlar

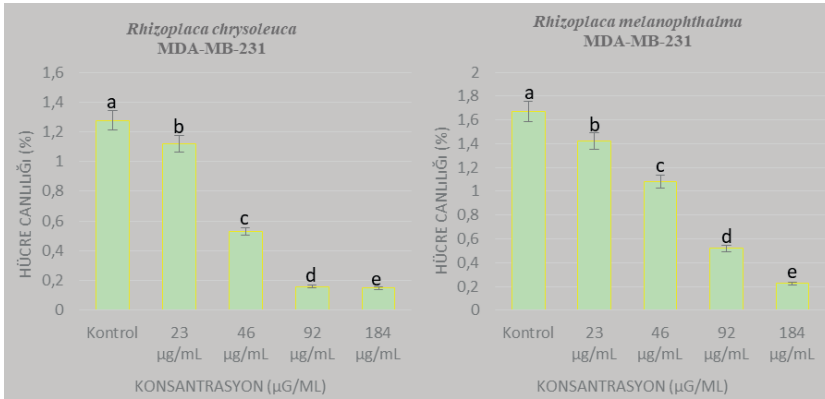
Rhizoplaca melanophthalma ve Rhizoplaca chrysoleuca ekstratlarının 23-182  $\mu\text{g/ml}$  arasında değişen dozları, MDA-MB-231 hücre hattına uygulanmıştır. Her doz için hücre canlılık oranları, DNA hasarı ve antioksidan aktiviteler analiz edilmiştir.

Bu yöntemlerle elde edilen veriler, liken ekstrelerinin kanser hücre hattı üzerindeki etkilerini kapsamlı bir şekilde değerlendirmek için kullanılmıştır.

### 3. ARAŞTIRMA BULGULARI

#### 3.1. MTT Testi Sonuçları

Çalışmamızda hücrelerin canlılığı MTT boyası ile test edilmiştir. Ön denemeler sonucunda kontrol grubuna yalnızca besiyeri eklenip ardından hücrelerin sağlıklı ve canlı bir morfolojiye sahip olduğu kararına varılmıştır. Elde ettiğimiz cihaz verilerine göre, uygulanan likenin artan dozlarının spektrofotometrede okuma sonucu alınan verilerine baktığımızda *R. chrysoleuca* ve *R. melanophthalma* likeninin MDA-MB-231 hücrelerinin çoğalmasında belirgin bir şekilde azalttığı bu sayede kansere karşı koruyucu etkiler sunduğu sonucuna varılmıştır. Çalışmalar yapılırken blank değerleri dikkate alınmıştır. Sonrasında bu değerler çıkarılarak hesaplama yapılmıştır. Hücrelerin canlılığının kontrol grubuna göre yarı yarıya azaldığı ve  $LC_{50}$  değerleri *R. chrysoleuca* için 46  $\mu\text{g}/\text{mL}$  ve *R. melanophthalma* için 92  $\mu\text{g}/\text{mL}$  olarak hesaplanmıştır.



Şekil 3.1. *R. chrysoleuca* ve *R. melanophthalma*'nın MDA-MB-231 hücre canlılığı üzerindeki etkileri.

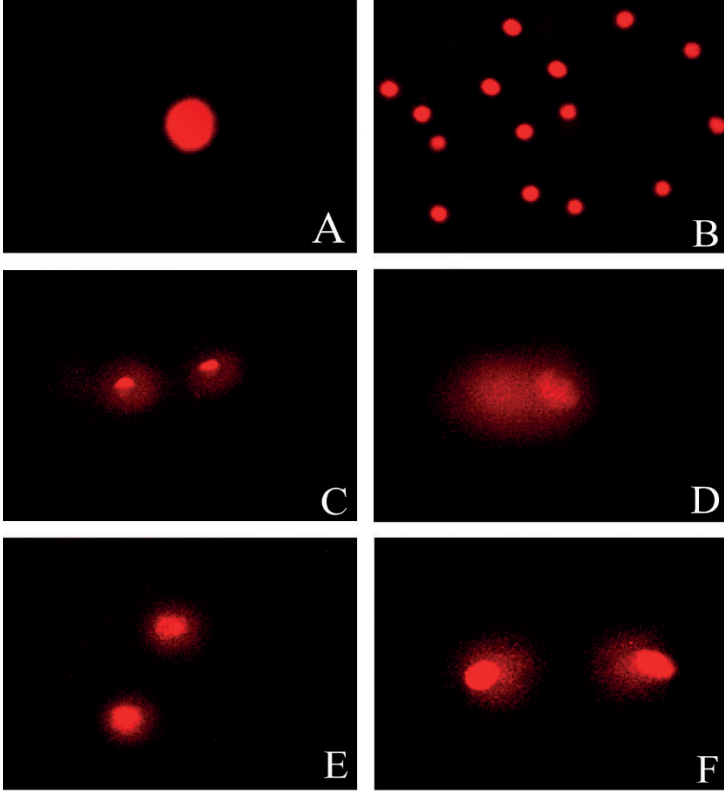
#### 3.2. Komet Testi Analiz Sonuçları

Ortaya koyduğumuz bu çalışmamızda kontrol, hücrelerin yarısını ve tamamını öldüren değerlerden ( $LC_{50}$ - $LC_{100}$ ) gruplar oluşturularak *R. chrysoleuca* ve *R. melanophthalma* likenlerinin MDA-MB-231 insan meme kanseri hücre hatları üzerinde yapmış olduğumuz genotoksisite tayini verileri komet testi ile elde edilmiştir. Tüm var olan örnekler için BAB uygulamasının genetik araçları kullanılarak bire bir ayrı ölçümleri sağlanmış-



tır. Liken uygulama gruplarımız ve kontrollerin kuyruk uzunluğu, kuyruk momentini ve DNA hasarı ( $\pm$ SD) % DNA verileri ölçölerek hesaplanmıştır.

Komet testi üzerinde denenen likenlerin MDA-MB-231 insan meme kanseri hücre hatları üzerindeki istatıksel veriler Tablo 3.1.'de belirtilmiştir. Uygulama gruplarının floresan mikroskop beraberinde elde edilen gör-sel veriler şekil 3.2.'da belirtilmiştir. Farklı dozlarda MDA-MB-231 hücre hattı üzerinde uygulanan liken grupları ve kontrol grupları analiz edildiğinde MDA-MB-231 hücre hatlarının üzerinde bir DNA hasarı oluştuğu gözlemlenmiştir.



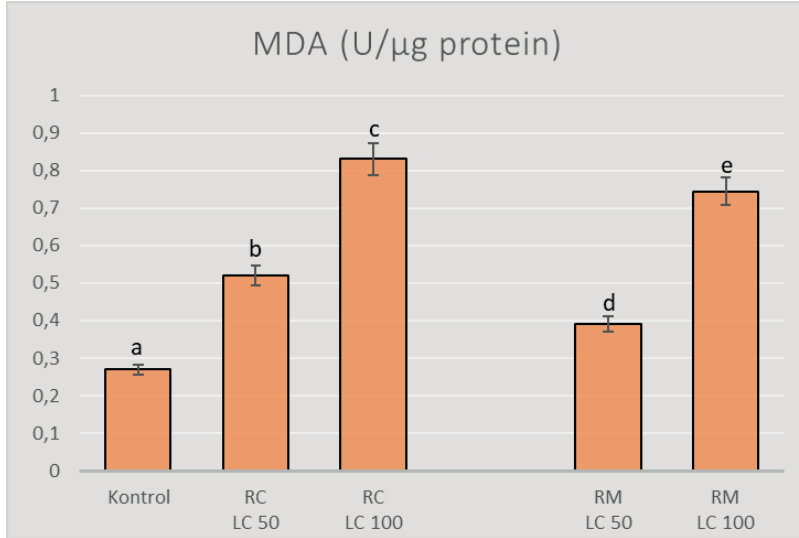
şekil 3.2. MDA-MB-231 hücrelerinin liken uygulama grupları ve floresan mikroskop ile çekilen fotoğrafları. Kontrol grubu (A, B), 46  $\mu$ g/mL *R. chrysoleuca* likeni uygulanan grup (C), 92  $\mu$ g/mL *R. chrysoleuca* likeni uygulanan grup (D), 92  $\mu$ g/mL *R. melanophthalma* likeni uygulanan grup (E), 184  $\mu$ g/mL *R. melanophthalma* likeni uygulanan grup (F).

Tablo 3.1. MDA-MB-231 hücrelerinde kontrol ve uygulama gruplarında DNA hasarının ( $\pm$ SD) % DNA, kuyruk uzunluğu ve kuyruk momentinin ortalama değerleri.

Gruplar	Kuyruk DNA % $\pm$ SD	Kuyruk Uzunluğu $\pm$ SD	Kuyruk Momenti $\pm$ SD
Kontrol	11,3 $\pm$ 1,2	4,5 $\pm$ 0,05	0,5 $\pm$ 0,0006
LC <sub>50</sub> RC $\mu$ g/mL	41,6 $\pm$ 8,2	14,8 $\pm$ 2,1	6,15 $\pm$ 0,17
LC <sub>100</sub> RC $\mu$ g/mL	95,9 $\pm$ 17,1	30,2 $\pm$ 3,2	28,96 $\pm$ 0,54
LC <sub>50</sub> RM $\mu$ g/mL	32,7 $\pm$ 5,4	13,8 $\pm$ 1,9	4,51 $\pm$ 0,10
LC <sub>100</sub> RM $\mu$ g/mL	74,4 $\pm$ 10,2	21,6 $\pm$ 2,7	16,07 $\pm$ 0,27

### 3.3. MDA Seviyesinin Değerlendirilmesi

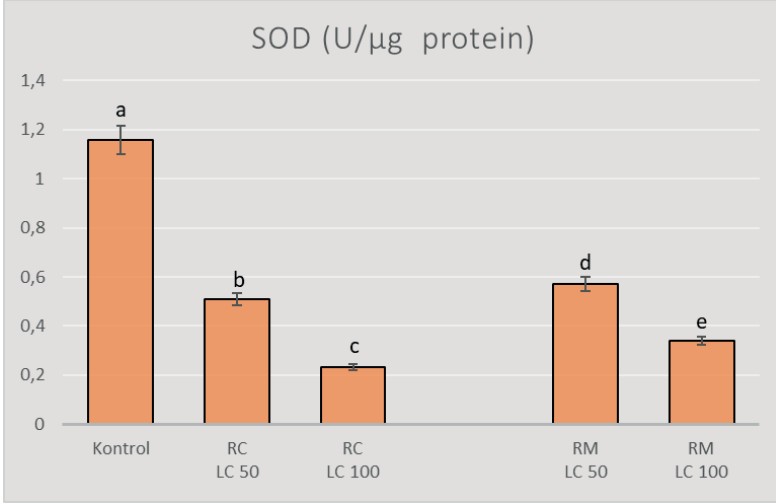
Meme kanseri hücre hattı olan MDA-MB-231 hücrelerine farklı dozlarda uygulanan *R. chrysoleuca* ve *R. melanophthalma* likeninin vermiş olduğu sonuçlara göre kontrol gurubu ile karşılaştırıldığında MDA seviyelerini önemli derecede yükselttiği görüldü. ( $P < 0,05$ ) MDA seviyesinde meydana gelen değişiklikler Şekil 3.3.'te gösterilmektedir.



Şekil 3.3. *R. chrysoleuca* ve *R. melanophthalma* likenleri kontrol ve etkin doz gruplarının MDA seviyeleri (Sütunlar üzerindeki aynı harfleri taşımayan gruplar birbiri arasındaki farklılığı ( $P < 0,05$ ) ifade etmektedir).

### 3.4. SOD Enzim Aktivitesinin Değerlendirilmesi

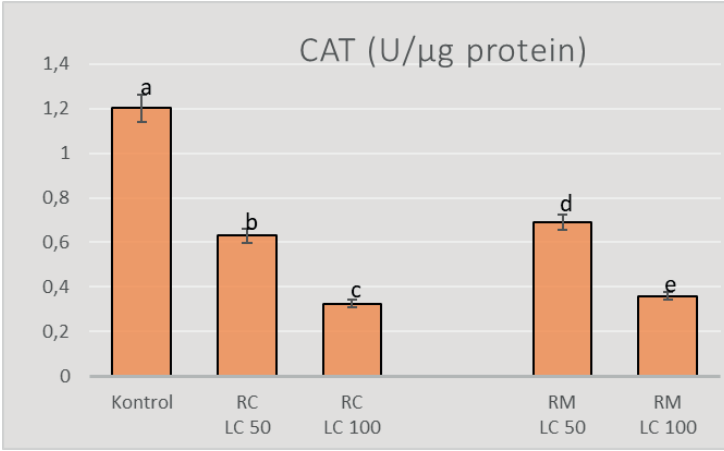
*R. chrysoleuca* ve *R. melanophthalma* likenleri MDA-MB-231 hücrelerine artan ve etkin konsantrasyonlarda uygulandığında SOD enzim aktivitesini azalttığı gözlemlenmiştir. Bu elde edilen sonuç kontrol grubu ile karşılaştırıldığında SOD enzim aktivitesinin doza bağlı olarak enzim çalışmasını azalttığını göstermektedir. ( $P<0,05$ ) SOD enzim aktivitesinde elde ettiğimiz veriler şekil 3.4.'te verilmiştir.



şekil 3.4. *R. chrysoleuca* ve *R. melanophthalma* likenleri kontrol ve etkin doz gruplarının SOD enzim aktivitelerinin karşılaştırılması. (Sütunlar üzerindeki aynı harfleri taşımayan gruplar birbiri arasındaki farklılığı ( $P<0,05$ ) ifade etmektedir).

### 3.5. CAT Enzim Aktivitesinin Değerlendirilmesi

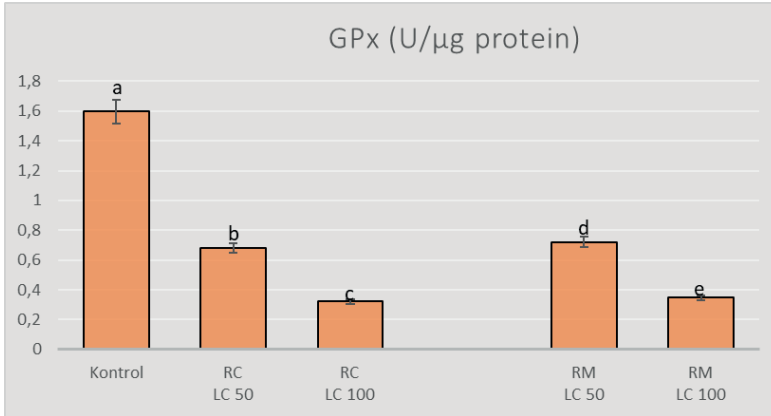
*R. chrysoleuca* ve *R. melanophthalma* likenlerinin MDA-MB-231 insan meme kanseri hücre hatları üzerinde yapmıř olduęumuz CAT enzim aktivitesi deęerlendirme çalıřmamızda enzim aktivitesinde dūřüře neden olduęu belirlenmiřtir. ( $P<0,05$ ) CAT enzim aktivitesindeki deęiřikliklere dair oluřan veriler řekil 3.5.'te verilmiřtir.



Şekil 3.5. *R. chrysoleuca* ve *R. melanophthalma* kontrol ve etkin doz gruplarının CAT enzim aktivitesinin karşılaştırılması (Sütunlar üzerindeki aynı harfleri taşımayan gruplar birbiri arasındaki farklılığı ( $P<0.05$ ) ifade etmektedir).

### 3.6. GPx Enzim Aktivitesinin Değerlendirilmesi

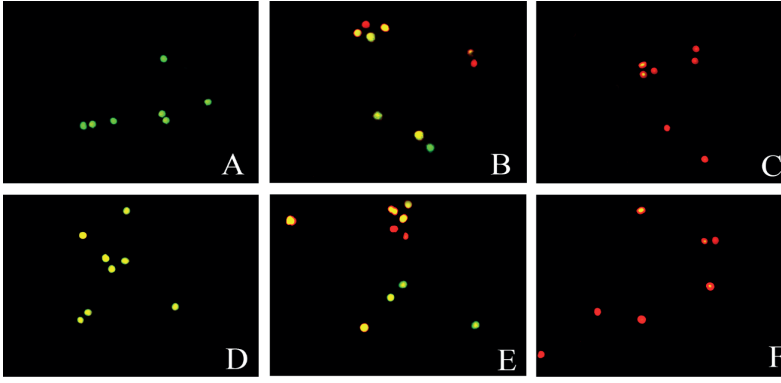
GPx sonuçlarına baktığımızda *R. chrysoleuca* ve *R. melanophthalma* likenlerini MDA-MB-231 hücrelerine etkin dozlarda uyguladığımızda GPx enzim aktivitesini azaldığı gözlemlenmiştir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında GPx enziminin aktivitesinde azalış gösterdiği belirlenmiştir. ( $P<0,05$ ) GPx enzim aktivitesindeki sonuçlar Şekil 3.6.'da verilmiştir.



Şekil 3.6. *R. chrysoleuca* ve *R. melanophthalma* kontrol ve etkin doz gruplarının GPx enzim aktivitesinin karşılaştırılması (Sütunlar üzerindeki aynı harfleri taşımayan gruplar birbiri arasındaki farklılığı ( $P<0.05$ ) ifade etmektedir).

### 3.7. Akridin oranj- etidyum bromür boyası ile Apoptoz Saptanması

Floresan mikroskobu yardımıyla akridin oranj/etidyum bromür boyası ile boyanmış hücrelerin erken, geç apoptoz ve nekroz durumlarından hangisine uğradığı ve liken ekstraktlarının artan dozlarının etkileri belirlenmiştir. Periyodik şekilde artan dozlarda 46-92-184  $\mu\text{g/ml}$   $\text{LC}_{50}$  ve  $\text{LC}_{100}$  uygulama grupları bulunan *R. chrysoleuca* ve *R. melanophthalma* likenlerinin MDA-MB-231 insan meme kanseri için yapılmış bu çalışmada ortaya çıkan görsel veriler Şekil 3.7’de belirtilmiştir.



Şekil 3.7. MDA-MB-231 hücrelerinin liken uygulama grupları ve floresan mikroskop ile çekilen fotoğrafları. *R. chrysoleuca* kontrol grubu (A), 46  $\mu\text{g/ml}$  *R. chrysoleuca* uygulanan grup (B), 92  $\mu\text{g/ml}$  *R. chrysoleuca* uygulanan grup (C), *R. melanophthalma* kontrol grubu (D), 92  $\mu\text{g/ml}$  *R. melanophthalma* uygulanan grup (E), 184  $\mu\text{g/ml}$  *R. melanophthalma* uygulanan grup (F).

## 4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Kanser modern çağımızın en önemli kronik hastalıklarından biri olarak ilk sıradadır. Her ne kadar kanser modern çağ hastalığı olarak görülse de hastalığın kökenine indiğimizde eski zamanlara dayandığını savunan kanıtlar yer almaktadır. Yapılan araştırmalar sayesinde kanserin kontrolsüz ve hızlı bir şekilde çoğaldığı gözlemlenmiştir. Bu gözlem canlı yaşamının parçası olan kanserin varlığını gösteren kanıtlardan birisidir (Sert ve Küçükkılınç, 2022). Türkiye’de ve dünyamızda kanser hastalığına yakalanma olasılığı her geçen gün artmaktadır. Bu artışın birçok farklı çeşitli nedeni bulunmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü’nün 2018 verilerine bakıldığında 18,1 milyon yeni vaka tespit ettiğini ve bunun sonucunda ölüm sayılarının 9,6 milyon olduğunu açıklamıştır. Bu verilere göre her beş erkekten biri ve her altı kadından biri bu teşhis ile karşı karşıya kalacaktır (Akyolcu vd., 2019; Scully vd., 2012; Siegel vd., 2019). Ayrıca son beş yılda bu sayının

ise 43,8 milyon olarak artması beklenmektedir. Artan bu vaka sayısının en temel nedenlerinden biri yaşlı nüfusunda görülen artış, düzensiz beslenme, alkol sigara kullanımı ve kimyasal karsinojenlere maruz kalmaktır. Bu nedenlerle beraber ekonomik ve sosyal gelişmelerle bağlantılıdır. Dünya genelinde gelişen teknoloji sayesinde yeni kanser vakalarının tespit edilmesine olanak sağlamaktadır (Pilleron vd., 2021; Ferlay vd., 2015).

Kadınlarda sık görülen kanser türleri sırasıyla meme kanseri, tiroid kanseri, kolorektal kanser, uterus korpusu kanseri ve solunum sistemi kanserleridir ve dünya genelindeki birçok ülkenin verileri ile paralellik göstermektedir (Siegel vd., 2019; Jemal vd., 2009). Son 20 yıl boyunca meme kanseri ölüm oranlarında azalma gözlemlenmektedir. Özellikle ABD’de 2005-2009 seneleri arasında 50 yaş altındaki kadınlarda yıllık olarak %3’lük bir azalma gözlemlenirken 50 yaş üstü kadınlarda yıllık %2’lik bir azalma görülmüştür. Genellikle artan teknoloji ile birlikte beraberinde gelen tedaviler ile birlikte bu olumlu eğilim, erken teşhis ve etkili tedavi yöntemlerindeki ilerlemelerin katkısıyla gerçekleşmektedir (Jemal vd., 2011; Colditz ve Bohlke, 2014).

Likenler kendilerini meydana getiren yeşil alg ve siyanobakteriler ile mantarların birbirlerine karşılıklı fayda sağladığı ilişki sonucunda oluşan organizmalardır. Bu iki yaşam formu bir araya gelerek likenleri meydana getirir (Romagni ve Dayan, 2002). Kanser vakalarında gözlenen artışla beraber son on yılda ilaç keşifleri hızlandırılmıştır. Yapılan çalışmalar doğrultusunda bilim insanları likenlerin içerdikleri biyoaktif bileşenlerin kanser hücrelerine etkilerini incelemektedir ve potansiyel kanser tedavilerinin geliştirilmesine katkı sağlamaktadır. Son yıllarda birçok farklı liken türünden ekstre edilen bileşenler kanser araştırmalarında incelenmiş olup olumlu sonuçlar vermiştir. Örneğin protolichesterik asit, atranorin ve usnik asit gibi liken bileşenlerinin bazı kanser türlerine karşı etkili olduğu gösterilmiştir. Antikanser ilaçlarıyla birlikte kullanıldığında kanser tedavisinde güçlü adaylar arasında yer almaktadır (Özenoğlu vd., 2013).

Yapılan bir çalışmada Şili’den toplanan likenlerin aseton özütleri ile akciğer kanseri hücre hattı olan A549 hücrelerinin hareketliliğini inhibe ettiği ortaya koyulmuştur. Bu analizlere göre çalışmada A549 hücrelerine bakıldığında *R. melanophthalma* likeninin 5 µg/mL konsantrasyonunda A549 hücrelerinin göçünü engellediği gözlemlenmiştir. Sonuç olarak A549 hücrelerinin motilitesine karşı inhibe edici özellik sergilediğini göstermektedir (Yang vd., 2015).

Cilt kanseri ve lösemi gibi kanser hücre hatları üzerinde araştırmacılar tarafından çalışılan *Usnea* liken ekstraktları hücre proliferasyon testi ile değerlendirilerek antikanser etkileri ortaya konulmuştur (Zambare ve Christopher, 2012).

Buğrahan Emsen ve ark. yaptığı bir diğer çalışmada *Pseudevernia furfuracea* (L.) Zopf turnden izole edilen olivetorik asit ve physodik asit ile *R. melanophthalma* (DC.) Leuckert turnden izole edilen psoromik asit liken sekonder metabolitlerinin antitomr potansiyeli ilk defa insan beyin hücre hattı U87MG-GBM ve primer rat serebral korteks çalışılmıştır. Antitomr aktivitesi incelemeyi amaçlayan Emsan'a ait *in vitro* bir diğer çalışmada ise *P. furfuracea* (L.) Zopf (Parmeliaceae) ve *R. melanophthalma* (DC.) Leuckert (Lecanoraceae) likenlerinden izole edilen olivetorik asit, physodik asit ve psoromik asitin insan U87MG-GBM ve sıçan serebral korteks hücre hatları üzerindeki etkileri incelenmiştir. Sonuç olarak ise bu metabolitlerin sitotoksik etkilerinin konsantrasyon, LDH aktivitesi ve DNA hasarı üzerinde pozitif etkisi olduğu gözlemlenmiş olduğu belirtilmiştir (Emsen vd., 2016).

2014 yılında Gajendra Shrestha tarafından yapılan Kuzey Amerika'da bulunan liken turlerinin antikanser aktivitelerinin incelendiği bir çalışmada *R. chrysoleuca* likeni de çalışma içerisinde değerlendirmeye alınmıştır ve  $IC_{50}$  değeri  $29.2 \pm 1.0$  bulunarak Kuzey Amerika konumunda yer alan 17 liken arasında antikanser etkiye sahip olma potansiyeli yüksek olan ilk 3 liken arasında yer almıştır (Shrestha vd., 2015).

Kanser tedavilerinde liken bileşikleri büyük önem taşımaktadır. Örneğin atranorin, usnik asit ve protolikhesterinik asit gibi liken bileşikleri kanser turlerine karşı etki göstermektedir ve diğer antikanser ilaçlarla bir araya getirilerek kanser tedavileri için potansiyel adaylar olarak kabul edilmektedir. *R. melanophthalma*, *Cornicularia aculeate* ve *Cetraria islandica* turlerinde protolikhesterinik asit ilk defa *Usnea albopunctata*'dan belgelenmiştir. İnsan prostat kanseri hücreleri olan LNCaP ve DU-145 zerindeki *in vitro* şartlar altında tümör hücre büyümesi inhibe edici etkisi incelenmiştir. Aynı zamanda bu asit ile meme kanseri hücre hatları olan SKBR-3 ve T47D hücrelerine de bakılmıştır ve protolikhesterinik asitin SK-BR-3 hücre hatlarına karşı antikanser özelliklere sahip olduğu gösterilmiştir. Aynı şekilde protolikhesterinik asit, insan nöroblastom HeLa ve lösemi (K562) hücre hatlarının yapılarını etkilemiştir (Dar vd., 2022).

Yapılan başka bir çalışmada Kumar ve ark. (2014), n-hekzan ile antioksidan kapasitelerini ve HepG2 ve RKO kanser hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkilerine bakmıştır. Sonuç olarak *R. chrysoleuca*'nın n-hekzan ekstraktı yüksek seviyede antioksidan aktivite göstermiştir (Kumar vd., 2014).

Dünya da en çok görülen kanserlerden biri olan meme kanseri üzerinde birçok çalışma ve ilerleme olmasına rağmen halen görülen kanser vakaları arasında ikinci sırada yer almaktadır. Yapılan birçok çalışmada ise liken turlerinin kanser hücreleri üzerinde antisitotoksik özellikleri sayesinde

de etkili olabilecekleri gösterilmiştir. *R. chrysoleuca* likeni HepG2 hücre hattında, *R. melanophthalma* likeni ise U87MG-GBM hücre hattında, dahil olduğu araştırmalarda inhibe edici olduğu MTT test yöntemi üzerinde gösterilmiştir.

Bu çalışmamızda, insan meme kanseri hücre hattı olan MDA-MB-231 üzerinde *R. chrysoleuca* ile *R. melanophthalma* likenleri farklı konsantrasyonlarda uygulandı ve MTT canlılık testi aracılığı ile meme kanseri hücreleri üstünde göstermiş olduğu sitotoksikite ile etkisi gözlemlendi ve *R. melanophthalma* likenlerinin 23, 46, 92 ve 184 µg/ml'lik oranlarına sahip uygulama gruplarında hücre canlılığının etki kaybettiği ve azaldığı gözlemlenmiştir. *R. chrysoleuca* likeni için LC<sub>50</sub> değeri 46 µg/ml, *R. melanophthalma* likeni için 92 µg/ml olarak tespit edilmiştir. LC<sub>100</sub> değerleri ise *R. chrysoleuca* likeni için 92 µg/ml iken *R. melanophthalma* likeni için 184 µg/ml olarak tespit edilip ölçülmüştür. Her iki liken grubu içinde sitotoksik dozlar belirlenerek devamındaki araştırmalar bu etkin dozlarla sürdürülmüştür. Çalışma sonuçlarına göre *R. chrysoleuca* likeninin sitotoksik etkisi *R. melanophthalma* likenine göre daha fazla olduğu tespit edilmiştir. *R. chrysoleuca* likeni daha düşük dozlarda aktivite sağlamıştır.

DNA hasarının kontrol ve tespiti için ise komet testine başvurulmuştur. Komet testi, genetik verinin tek ve çift sarmallarındaki kırıkları, hatalı onarılmış bölgeleri ve alkali kararsız bölgeleri tespit etmektedir. Çalışmamız dahilinde belirli dozlarda MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattı üzerinde uygulanan *R. chrysoleuca* ve *R. melanophthalma* likenlerinin kanserli hücrelerin DNA'sında hasara neden olup kansere yönelik koruyucu etkileri olduğu gözlemlenmiştir. Etkin LC<sub>50</sub> ve LC<sub>100</sub> dozları ile birlikte kontrol grubu göz önüne alındığında hücre sayısının azaldığı en optimum değerler *R. chrysoleuca* likeni için 46 µg/ml iken *R. melanophthalma* likeni için 92 µg/ml olarak tespit edilmiştir. *R. chrysoleuca* ve *R. melanophthalma* likenlerinin etkin olduğu dozlar ile birlikte sonuçlar karşılaştırıldığında kanserli hücreler üzerinde *R. chrysoleuca* likeninin daha fazla hasar oluşturarak daha iyi etki sağladığı tespit edilmiştir.

Birçok canlının yapısında bulunabilen ve enzimatik aktioksidanlardan biri olan süperoksit dismutaz süperoksit radikali, hidrojen peroksit ve moleküler oksijene katalizlemektedir (Young ve Woodside, 2001). Bu araştırmada *R. chrysoleuca* ve *R. melanophthalma* likenlerinin uygulandığı grupla beraber süperoksit dismutaz aktivitesinin kontrol grubu karşılaştırıldığında belirgin bir azalma gözlemlenmiştir ancak *R. chrysoleuca* likeninin *R. melanophthalma* likenine göre daha düşük dozlarda etki göstererek enzim aktivitesini azaltan bir etkisinin olduğu saptanmıştır. Genel olarak bakıldığında her iki likenin de LC<sub>50</sub> dozlarının enzim aktivitesini yavaşlatarak LC<sub>100</sub> dozları ile beraber durdurmaya yakın bir etki sağladığı tespit edilmiştir. Enzim aktivitesinin uygulanan dozlar ile birlikte azalması



kanserli hücrelerin enzimatik aktivitesini azaltarak kansere karşı koruyucu bir etki sağladığını göstermektedir.

Organizmanın hücreleri için toksik olan hidrojen peroksit, katalaz ve glutasyon peroksidaz enzimleri tarafından ortamdan uzaklaştırılmaktadır. Hidrojen peroksit'in  $H_2O$  ve  $O$  moleküllerine parçalanması işlemini düzenleyen enzim katalaz enzimidir. Tez çalışmamızda *R. chrysoleuca* ve *R. melanophthalma* likenlerinin etkin  $LC_{50}$  ve  $LC_{100}$  dozlarının kontrol grubu ile CAT enzim aktivitelerini kıyaslama sonucunda *R. chrysoleuca* likeni *R. melanophthalma* likenine göre daha düşük dozlarda etki göstererek CAT enzimini inhibe etmesiyle birlikte her iki likende de  $LC_{50}$  değerleri enzim aktivitesini belirgin bir biçimde yarıya indirmiştir. Katalaz enziminde oluşan artış miktarı toksik etkiye sahip olan hidrojen peroksidi inhibe etme bakımından oldukça faydalı bir durumdur ve hücrenin homeostazisini sağlayan bu enzimlerin inhibesi kanserli hücrelerin inhibe edilmesi açısından fayda sağlamaktadır.

Hidroksil radikali oluşturan hidrojen peroksite engel olmaya çalışan GPx ise  $H_2O_2$ 'yi inhibe ederek GSSG ve  $H_2O$ 'nun oluşmasını sağlar. Hidrojen peroksitin yüksek seviyelere sahip olduğunu durumlarda CAT enzimi daha aktif rol üstlenirken düşük hidrojen peroksit seviyeleri için GPx enzimi daha aktif rol üstlenmektedir. Belirli dozlardaki liken uygulama gruplarımız ile kontrol grupları kıyaslandığında CAT enzimi gibi GPx aktivitesinin de azalış gösterdiği gözlenmiş ve *R. chrysoleuca* ve *R. melanophthalma* likenlerinin etkin  $LC_{50}$  ve  $LC_{100}$  dozları kıyaslandığında *R. chrysoleuca* likeni daha düşük dozlarda etki göstererek enzim etkinliğini yarıya düşürmüştür ancak her iki liken grubunda da  $LC_{50}$  dozları enzim etkinliği inhibe edici rol oynamıştır. Kanserli hücrelerde gözlemlenen enzim inhibisyonu hücrelere uygulanan likenlerin oksidatif stres ile meydana gelebilecek hasardan kaynaklı antikanser özellik gösterebileceği belirlenmiştir.

Yağ asitlerinin peroksidasyonu sırasında üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin oksidasyonu sonucu MDA oluşmaktadır. Malondialdehit (MDA) hücrelerin oksidatif stres veya başka zararlı etkenle karşı karşıya kalması sonucunda meydana gelmektedir. Serbest radikallerin hücrelere zarar verdiği sürecin yan ürünüdür ve doku hasarının bir göstergesidir. MDA'nın difüze olma özelliği sayesinde mutajenik, genotoksik bir bileşiktir (Erenel vd., 1992; Monaghan vd., 2009). Bu tez çalışmasında elde edilen bulgulara göre *R. chrysoleuca* ve *R. melanophthalma* likenlerinin etkin konsantrasyonlarda uygulanan hücrelerinde antioksidan aktivitesi belirgin bir azalış sergilerken aynı zamanda lipid peroksidasyonu sonucu oluşan MDA değerinde ise bir artış görülmüştür.

Yukarıda belirtilen çalışmalarda görüldüğü gibi kanser hastalığının önüne geçmek için, kanser hücrelerini ölüme sürüklemek olabilecek sağlıklı

yöntemlerden biridir. Hücrelerin planlı olarak ölme sürecine yani bu biyolojik sürece terimsel olarak apoptoz denilmektedir. Bu süreç hücrelerin biyolojik olarak kontrollü bir şekilde kendilerini imha etmesini kapsamaktadır. Apoptoz, organizmaların gelişimi, dokuların rejenerasyonu ve hücre sayılarının dengelenmesi açısından önemli bir role sahiptir.

Yaptığımız bu çalışmanın sonucuna göre *R. chrysoleuca* ve *R. melanophthalma* likenlerinde MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattına uygulandığında kanserli hücrelerde apoptozu indükleyici etkisi apoptoz nekroz testi ile doğrulanmıştır. Aynı şekilde artan dozlarda uygulama grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında hücre ölümünün doza bağlı olarak artışı tespit edilmiştir. Artan dozlarda uygulanan Rhizoplaca liken türlerinin ekstraktlarının hücrelerde morfolojik değişimler meydana getirmiştir. Yeşil renkli hücreler canlı hücrelerken kırmızı renkli hücreler ise ölü hücreler olarak değerlendirilmiştir. Kullandığımız bu liken türlerinin ise terapötik potansiyeli olabileceğini ortaya koymuştur. Bununla birlikte, *R. chrysoleuca* ve *R. melanophthalma* likenlerinin MDA-MB-231 hücrelerindeki CAT, SOD ve GPx enzim aktivitelerini azalttığı ve MDA değerlerinin ise net bir şekilde artış gösterdiği belirlendi. Yaptığımız bu çalışmanın sonucuna göre *R. chrysoleuca* ve *R. melanophthalma* likenlerinin MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattına uygulandığında yüksek dozlarda apoptozu neden olduğu ve aynı şekilde doza bağlı olarak meme kanseri hücre hattı DNA'sında hasar oluşturduğu komet yöntemi ile tespit edildi. MDA-MB-231 insan meme kanseri hücre hattında belirli dozlarda uygulanan *R. chrysoleuca* ve *R. melanophthalma* likenlerinin hücreler üzerinde apoptozu yönelme açısından pozitif etki yarattığı görüntülenmiştir.

Bu tez çalışmasının sonuçlarına dayanarak elde edilen MDA değerleri ve enzim aktivitelerini aynı anda gözlemlediğimizde *R. chrysoleuca* ve *R. melanophthalma* liken ekstrelerinin etkin dozlarında MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattında oksidatif aktiviteyi kayda değer bir şekilde yükselttiği gözlemlenmiştir.

Kontrol grubu ile *R. chrysoleuca* ve *R. melanophthalma* likenlerinin periyodik dozları kıyaslandığında *R. chrysoleuca* likeni için hücrelerin %50'sini öldüren  $LC_{50}$  değerinin  $46 \mu\text{g/ml}$ 'lik, hücrelerin tamamını öldüren  $LC_{100}$  değerinin ise  $92 \mu\text{g/ml}$ 'lik doza sahip olduğu, *R. melanophthalma* likeni için  $LC_{50}$  değerinin  $92 \mu\text{g/ml}$ 'lik,  $LC_{100}$  değerinin ise  $184 \mu\text{g/ml}$ 'lik değere sahip olduğu yapılan MTT test sonuçları doğrultusunda ortaya koyulmuştur.

Birçok araştırma, likenlerin biyolojik aktiviteleri ve koruyucu anti-stres işlevleri sayesinde doğal bir antioksidan ve sitotoksik ajan olduğunu göstermektedir. Ancak yapılan çalışmalara bakıldığında biyolojik açıdan hala araştırılmamış birçok liken türü bulunmaktadır. Rhizoplaca

liken türünün ise antikanser etkileri hakkında sınırlı sayıda çalışmaların olduğu tespit edilmiştir. Bu alanda yapılan çalışmaların çeşitlendirilmesi, antikanser etkilere sahip olan liken türlerinin daha kapsamlı keşfedilmesine ışık tutabilir.

## 5. KAYNAKÇA

- Akyolcu, N., Özhanlı, Y., & Kandemir, D. (2019). Meme kanserinde güncel gelişmeler. *Sağlık Bilimleri ve Meslekleri Dergisi*, 6(3), 583-594.
- Ceylan, A., Şeker Karatoprak, G., Kocakaya, Z., & Kocakaya, M. (2022). Evaluation of DNA protective and antimicrobial properties of some *Cladonia* species. *Cumhuriyet Science Journal*, 43(4), 550-555.
- Colditz, G. A., & Bohlke, K. (2014). Priorities for the primary prevention of breast cancer. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 64(3), 186-194.
- Dar, T. U. H., Dar, S. A., Islam, S. U., Mangral, Z. A., Dar, R., Singh, B. P., & Haque, S. (2022). Lichens as a repository of bioactive compounds: An open window for green therapy against diverse cancers. *Seminars in Cancer Biology*, 86, 1120-1137.
- Değirmenci, B. C., Kocakaya, M., İlgün, S., Karatoprak, G. Ş., Kocakaya, Z., & Ceylan, A. (2024). Investigation of biological activity of *Squamarina cartilaginea* (With.) P. James species distributed in Türkiye. *Cumhuriyet Science Journal*, 45(3), 478-485.
- Emsen, B., Kaya, E., Özçelik, H., Yıldırım, M., & Çetin, M. (2016). The antitumor potential of lichen secondary metabolites on human brain tumor cell lines. *Journal of Ethnopharmacology*, 178, 22-28.
- Erenel, G., Erbaş, D., & Arıcıoğlu, A. (1992). Serbest radikaller ve antioksidan sistemler. *Gazi Medical Journal*, 3(4).
- Ferlay, J., Soerjomataram, I., Dikshit, R., Eser, S., Mathers, C., Rebelo, M., & Bray, F. (2015). Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *International Journal of Cancer*, 136(5), E359-E386.
- İnerci, I., & Kocakaya, Z. (2023). *Cladonia foliacea* liken türü kullanılarak Ag-ZnO nanokompozitlerinin yeşil sentezi ve antimikrobiyal ajan olarak kullanımı. In *Fen Bilimleri ve Matematik Alanında Akademik Araştırma ve Derlemeler* (pp. 1-9). Platanus Publishing.
- Jemal, A., Bray, F., Center, M. M., Ferlay, J., Ward, E., & Forman, D. (2011). Global cancer statistics. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 61(2), 69-90.
- Jemal, A., Siegel, R., Ward, E., Hao, Y., Xu, J., & Thun, M. J. (2009). Cancer statistics, 2009. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 59(4), 225-249.
- Kocakaya, M., Ilik, G. N., İlgün, S., Kocakaya, Z., Karatoprak, G. S., & Ceylan, A. (2024). Comparative in vitro analysis of the biological potential of *Usnea florida* (L.) Weber ex FH Wigg., *Usnea intermedia* (A. Massal.) Jatta, and *Usnea lapponica* vain and quantification of usnic acid. *Indian Journal of Traditional Knowledge*, 23(6), 530-538.
- Kocakaya, Z. (2024). Green synthetic biomaterials: Synthesis, characterization and antimicrobial properties of lichen-derived nanomaterials. *Ceramics*

*International*, 50(17), 30712-30722.

- Kocakaya, Z., Kılıç Dokan, F., & Şeker Karatoprak, G. (2024). Green synthesis of bioactive nanocomposites using *Diploschistes scruposus* lichen and investigation of cytotoxic effects on cancer cells. *Materials Chemistry and Physics*, 129141, 1-17.
- Kocakaya, Z., Kocakaya, M., & Şeker Karatoprak, G. (2021). Comparative analyses of antioxidant, cytotoxic and anti-inflammatory activities of different *Cladonia* species and determination of fumarprotocetraric acid amounts. *KSU Journal of Agricultural Natural Sciences*.
- Köprü, S., Kılıç Dokan, F., Kocakaya, Z., Per, S., Çadır, M., & Kocakaya, M. (2022). Determination of trace elements of some *Cladonia* species from Turkey by ICP-MS. *Kastamonu University Journal of Forestry Faculty*, 2, 135-146.
- Kumar, J., Dhar, P., Tayade, A. B., Gupta, D., Chaurasia, O. P., Upreti, D. K., & Srivastava, R. B. (2014). Antioxidant capacities, phenolic profile and cytotoxic effects of saxicolous lichens from trans-Himalayan cold desert of Ladakh. *PLoS One*, 9(6), e98696.
- Monaghan, P., Metcalfe, N. B., & Torres, R. (2009). Oxidative stress as a mediator of life history trade-offs: Mechanisms, measurements and interpretation. *Ecology Letters*, 12(1), 75-92.
- Özenoğlu, S., Aydoğdu, G., Dinçsoy, A. B., Taghidizaj, A. A., Derici, K., Yılmaz, E., & Cansaran-Duman, D. (2013). Liken sekonder bileşiklerinin farklı insan kanser hücre tipleri üzerine antikanserojenik etkisi. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 70(4), 215-226.
- Pilleron, S., Soto-Perez-de-Celis, E., Vignat, J., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Bray, F., & Sarfati, D. (2021). Estimated global cancer incidence in the oldest adults in 2018 and projections to 2050. *International Journal of Cancer*, 148(3), 601-608.
- Romagni, J. G., & Dayan, F. E. (2002). Structural diversity of lichen metabolites and their potential use. In *Advances in Microbial Toxin Research and Its Biotechnological Exploitation* (pp. 151-169). Springer US.
- Scully, O. J., Bay, B. H., Yip, G., & Yu, Y. (2012). Breast cancer metastasis. *Cancer Genomics & Proteomics*, 9(5), 311-320.
- Sert, P. İ., & Küçükkılınç, Z. T. T. (2022). Meme kanseri tedavisindeki güncel yaklaşımlar. *Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy*, 42(1), 46-59.
- Shrestha, G., El-Naggar, A. M., St. Clair, L. L., & O'Neill, K. L. (2015). Anticancer activities of selected species of North American lichen extracts. *Phytotherapy Research*, 29(1), 100-107.
- Siegel, R. L., Miller, K. D., & Jemal, A. (2019). Cancer statistics, 2019. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 69(1), 7-34.

- Vicdanlı, F., & Kocakaya, Z. (2023). Liken bazlı gümüş-nanopartikül (AgNP) sentezlenmesi ve antimikrobiyal ajan olarak uygulamaları. In *Biyoloji Alanında Uluslararası Araştırma ve Değerlendirmeler* (pp. 143-163). Serüven Publishing.
- Yang, Y., Park, S. Y., Nguyen, T. T., Yu, Y. H., Nguyen, T. V., Sun, E. G., & Kim, H. (2015). Lichen secondary metabolite, physciosporin, inhibits lung cancer cell motility. *PLoS One*, *10*(9), e0137889.
- Yayla, S. K., Kocakaya, Z., Şeker Karatoprak, G., İlgün, S., & Ceylan, A. (2023). Analyzing the impact of *Ramalina digitellata*, *R. fastigiata*, *R. fraxinea*, and *R. polymorpha*'s usnic acid concentration on antioxidant, DNA-protective, antimicrobial, and cytotoxic properties. *Chemistry & Biodiversity*, *20*(1).
- Young, I. S., & Woodside, J. V. (2001). Antioxidants in health and disease. *Journal of Clinical Pathology*, *54*(3), 176-186.
- Zambare, V. P., & Christopher, L. P. (2012). Biopharmaceutical potential of lichens. *Pharmaceutical Biology*, *50*(6), 778-798.