

T.C.
MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

BAZI MANTAR TÜRLERİNİN ANTİMİKROBİYAL VE
ANTİTÜMÖR ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BAHAR TÖL

MAYIS 2012

MUĞLA

T.C.
MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

BAZI MANTAR TÜRLERİNİN ANTİMİKROBİYAL VE
ANTİTÜMÖR ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BAHAR TÖL

MAYIS 2012

MUĞLA

MUGLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ

Fen Bilimleri Enstitüsü

TEZ ONAYI

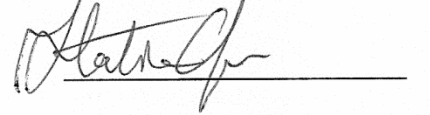
BAHAR TÖL tarafından hazırlanan **BAZI MANTAR TÜRLERİNİN ANTİMİKROBİYAL VE ANTİTÜMÖR ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI** başlıklı tezinin, 24/05/2012 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans derecesi için gerekli şartları sağladığı oybirliği ile kabul edilmiştir.

TEZ SINAV JURİSİ

Prof. Dr. Hatice GÜNEŞ (Jüri Başkanı)

Biyoloji Anabilim Dalı,
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

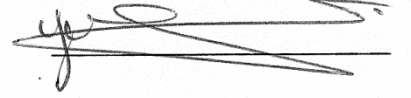
İmza:



Doç. Dr. Yusuf BARAN (Üye)

Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü,
İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, İzmir

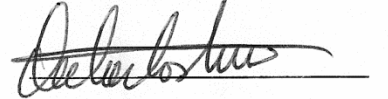
İmza:



Yrd. Doç. Dr. Vatan TAŞKIN (Üye)

Biyoloji Anabilim Dalı,
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

İmza:

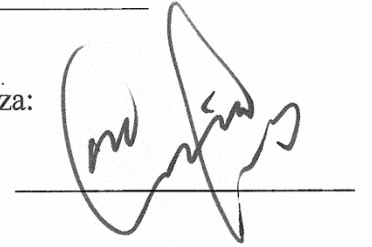


ANA BİLİM DALI BAŞKANLIĞI ONAYI

Prof. Dr. Mustafa İŞİLOĞLU

Biyoloji Ana Bilim Dalı Başkanı,
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

İmza:



Prof. Dr. Hatice GÜNEŞ

Danışman, Biyoloji Ana Bilim Dalı,
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

İmza:



Savunma Tarihi: 24/05/2012

Tez çalışmalarım sırasında elde ettiğim ve sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgelerin tarafımdan bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde edildiğini; akademik ve bilimsel etik kurallarına uygun olduğunu beyan ederim. Ayrıca, akademik ve bilimsel etik kuralları gereği bu tez çalışması sırasında elde edilmemiş başkalarına ait tüm orijinal bilgi ve sonuçlara atıf yapıldığını da beyan ederim.

Bahar Tül

24/05/2012

ÖZET
BAZI MANTAR TÜRLERİNİN ANTİMİKROBİYAL VE ANTİTÜMÖR
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Bahar TÜL

Yüksek Lisans Tezi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Hatice GÜNEŞ

Mayıs 2012, 74 sayfa

Mantarlar, insanlar tarafından besin olarak tüketildiği gibi tedavi edici özellikleri bakımından yüzyıllardır şifa kaynağı olarak kullanılmaktadır. Literatürdeki verilere göre, bazı mantar türlerinin antibakteriyal ,antioksidan, antiviral, antitümör ve bağışıklık düzenleyici bileşenler içerdiği bilinmektedir. Günümüzde tedavi edilemeyen hastalıklar ve mikroorganizmaların mevcut ilaçlara karşı direnç kazanması tıpta yeni yaklaşımların ve bileşiklerin geliştirilmesini gerekli kılmaktadır. İçerdikleri sekonder metabolitler ve parçalayıcı enzimler nedeniyle mantarların tıpta ve biyoteknolojide faydalı oldukları kanıtlanmıştır. Özellikle son yıllarda yeni antimikrobiyal ajanların veya antitümör etkiye sahip immünomodülatör bileşenlerin araştırılmasında, mantarlar önemli doğal kaynak rolünü görmektedir. Bu tez çalışmasında, Muğla ilinde doğal olarak yetişmekte olan ve özellikle yenebilen türlere (*Cantharellus cibarius*, *Clitocybe geotropa*, *Gyromitra esculenta*, *Lactarius delicious*, *Melanoleuca excissa*, *Ramaria flavescens*, *Sarcosphaera crassa*, *Morcella sp.*) ilaveten, ağaç paraziti (*Stereum hirsutum*, *Trametes versicolor*) mantarların antimikrobiyal ve antitümör potansiyelleri araştırılmıştır.

Bu mantarlardan elde edilen metanol ekstralarının antimikrobiyal ve antitümör etkileri sırasıyla disk difüzyon yöntemiyle ve MTT analizi ile incelenmiştir. Uygulanan ekstralar arasında en yüksek antimikrobiyal etki, *E. coli* üzerinde hemen hemen kontrol antibiyotiği düzeyinde oluşturduğu 22mm'lik zon çapıyla *M. excissa* ekstresinde tespit edilmiştir. Kullanılan 17 mantar ekstresinden 8 tanesinin test bakterilerinin hiçbiri üzerinde etkili olmadığı saptanmıştır. Düşük düzeyde antimikrobiyal aktivite en çok 8 farklı mantar ekstresiyle *P. aeruginosa* bakterisine karşı kaydedilmiş olup, *C. cibarius* ekstresi *P. aeruginosa* ve *B. subtilis*'de; *S. hirsutum* ekstresi *P. aeruginosa*, *B. subtilis* ve *M. luteus*'da; *T. versicolor* ekstresi ise *P. aeruginosa*, *S. aureus* ve *M. luteus*'da düşük düzeyde antimikrobiyal etkiye yol açmıştır. Toplam 17 mantar ekstresinin 6 farklı kanser hücre hattı üzerinde etkisi incelendiğinde ise bazı ekstralar hücre bölünmesini azaltırken bazılarının hücre bölünmesini arttırdığı görülmüştür. K-562 hücre hattında en etkili *C. cibarius*, *Morchella* gruplarından 4 ve 6. grup ekstralarıdır ve sırasıyla kontrole kıyasla hücre bölünmesini 2,22 , 1,80 ve 1,97 kat azalttıkları tespit edilmiştir. Mantar ekstraları

arasında hücre bölünmesini en çok etkileyen ekstre *Morchella* 4'den elde edilmiş olup akciğer kanser (A-549) hücre çoğalmasını kontrole kıyasla 3 kat azaltmıştır. Bütün kanser hücreleri üzerinde etkili olan *Morchella* 7 ekstresi, hücre bölünmesinde kontrole kıyasla 1,28 - 2,92 kat arasında azalmaya neden olmuştur.

Sonuç olarak, en yüksek antimikrobiyal etki *E. coli* üzerinde *M. excissa*'dan elde edilen ekstre ile sağlanmıştır. Çeşitli kanser hücreleri üzerinde en yüksek antiproliferatif etki ise sırasıyla *Morchella* 4, *Morchella* 7 ve *C. cibarius* ekstreleriyle elde edilmiştir. Dolayısıyla bu mantarlar antimikrobiyal ve antitümör bileşik geliştirmede potansiyel kaynak olma niteliğindedir.

Anahtar Kelimeler: Makro mantar, Antimikrobiyal aktivite, Antitümör etki

ABSTRACT
RESEARCH OF ANTIMICROBIAL AND ANTITUMOR EFFECT OF SOME MUSHROOM SPECIES

Bahar TL

Master of Science (M.Sc.)

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology

Supervisor: Prof. Dr. Hatice GNEŐ

May 2012, 74 pages

Fungi, as food consumed by humans as a source of healing, used for centuries in terms of therapeutic properties. According to the data in the literature, it is known that some mushroom species contain antibacterial, antioxidant, antiviral, antitumor and immune regulatory components. Today, incurable diseases and an increase in the resistance of microorganisms to existing drugs and compounds made necessary to develop new approaches in medicine. Because mushrooms contain degrading enzymes and secondary metabolites, they have been proven to be useful in medicine and biotechnology. Especially in recent years, mushrooms are important natural source to search for antimicrobial agents and immunomodulatory compounds with antitumor activity. In this study, antimicrobial and antitumor activities of edible mushrooms (*Cantharellus cibarius*, *Clitocybe geotropa*, *Gyromitra esculenta*, *Lactarius delicious*, *Melanoleuca excissa*, *Ramaria flavescens*, *Sarcosphaera crassa*, *Morchella sp.*), as well as tree parasite mushrooms (*Stereum hirsutum*, *Trametes versicolor*) grown naturally in Muğla have been investigated.

Antimicrobial and antitumor effects of methanol extracts obtained from these mushrooms have been analyzed respectively with disc diffusion method and MTT assay. Among all mushroom extracts, the highest antimicrobial effect was detected with *M. excissa* extract on *E. coli* with 22mm zone diameter which is as comparable as control antibiotic. It was found that 8 out of 17 mushroom extracts did not show any effect on all test microorganisms. Low level antimicrobial activity of 8 different mushroom extracts was recorded against *P. aeruginosa*. In addition, low level antimicrobial activity was observed with *C. cibarius* extracts on *P. aeruginosa* and *B. subtilis*; with *S. hirsutum* extracts on *P. aeruginosa*, *B. subtilis* and *M. luteus*; with *T. versicolor* extracts on *P. aeruginosa*, *S. aureus* and *M. luteus*. When effects of 17 mushroom extracts were examined on 6 different cancer cell lines, some of the extracts decreased cell proliferation but the others increased. The most effective extracts on K-562 cell line were the extracts of *C. cibarius*, *Morchella* 4 and 6. They resulted in a decrease in cell proliferation respectively by 2,22-1,80-1,97 fold in compare to control. Among the mushroom extracts, extract from *Morchella* 4 was

the most effective on cell proliferation and it caused 3 fold decrease in the proliferation of A-549 cells. *Morchella 7* extract was effective on all cancer cell lines and it gave to decrease in cell proliferation between 1,28-2,92 fold compared to control.

In conclusion, the most effective antimicrobial activity was observed on *E. coli* with *M. excissa* extract. The highest antiproliferative effects on various cancer cell lines were obtained respectively from *Morchella 4*, *Morchella 7* and *C. cibarius* extracts. Therefore, these mushrooms can be evaluated as potential source for development of antimicrobial and antitumor compounds.

Keywords: Macro mushroom, Antimicrobial activity, Antitumor effect

Sergili Aileme

ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim süresince fikirleriyle beni yönlendiren, yardımlarını esirgemeyen, bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım değerli danışman hocam Prof. Dr. Hatice GÜNEŞ'e,

Tezim sırasında destek ve katkılarını sağlayan hocam Yrd. Doç. Dr. Bekir ÇÖL'e ve karşılaştığım zorluklarda ilgi ve yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Mehmet Emin DURU'ya,

Tez kapsamındaki araştırmalarım için hücre hatlarının temininde Doç. Dr. Yusuf BARAN'a ve çalışılan mantarların teşhisini yapan Doç. Dr. Mehmet Halil SOLAK ve Araş. Gör. Hayrünisa BAŞ SERMENLİ'ye,

Tez çalışmam sırasında her türlü destek ve yardımlarıyla katkıda bulunan Kimya Bölümü Organik Kimya Laboratuvarı çalışanları başta olmak üzere, Moleküler Biyoloji Laboratuvarı ve Kriptogam Araştırma Laboratuvarı çalışanlarına,

Bu zorlu yolculukta manevi destekleriyle yanımda olan Didem Yözdemir ve Nesibe Demir başta olmak üzere, laboratuvar arkadaşım Fulya Çelebi, Müjgan, Burcu, Nilden, Yunus ve diğer tüm yüksek lisans arkadaşlarıma,

Hep ilgi ve desteğini yanımda hissettiğim Çağdaş DAĞ'a,

Düşlediğim hayallerimin peşinden giderken, sevgi, ilgi ve destekleriyle her zaman yanımda ve kalbimde olan aileme, sonsuz TEŞEKKÜRLER.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
ÖNSÖZ	ix
İÇİNDEKİLER	x
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiii
SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xv
1. GİRİŞ	1
1.1. Amaç ve Kapsam.....	2
1.2. Kaynak Özetleri.....	3
1.2.1. Mantarların besin değeri.....	3
1.2.2. Mantarların kimyasal içeriği.....	5
1.2.3. Antimikrobiyal etki bakımından makro mantarlar.....	8
1.2.4. Antitümör etki bakımından makro mantarlar.....	12
2. MALZEME ve YÖNTEM	21
2.1. Malzeme.....	21
2.1.1. Hücre hatları.....	21
2.1.2. Bakteri suşları.....	21
2.1.3. Makro mantar türleri ve genel özellikleri.....	21
2.1.4. Kimyasallar.....	30
2.1.5. Sarf malzemeler.....	30
2.1.6. Cihazlar.....	30
2.2. Yöntem.....	31
2.2.1. Mantar ekstralarının hazırlanması.....	31
2.2.2. Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi.....	31
2.2.3. Hücre kültürü.....	32
2.2.3.1. Hücrelerin MTT testi için hazırlanması.....	35
2.2.3.2. Hücre büyümesinin MTT ile belirlenmesi.....	35
3. BULGULAR ve İRDELEME	37
3.1. Test Mikroorganizmalarına Karşı Makro Mantar Ekstrelerinin	

Antimikrobiyal Aktivitesi	37
3.2. Makro Mantar Metanolik Ekstrelerinin Antitümör Aktivitesi.....	41
3.3. Antiproliferatif etki gösteren mantar ekstrelerinin doz denemesi.....	56
4. SONUÇLAR ve ÖNERİLER	62
KAYNAKLAR	65
ÖZGEÇMİŞ.....	74

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Makro mantar metanolik ekstralarının antimikrobiyal aktiviteleri.....	40
Çizelge 3.2. Makro mantar ekstralarının hücre büyümesi üzerine etkileri	60

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Kitin kimyasal yapısı	7
Şekil 2.1. <i>Cantharellus cibarius</i> sistematığı ve basidiyokarpı.....	22
Şekil 2.2. <i>Clitocybe geotropa</i> sistematığı ve basidiyokarpı	22
Şekil 2.3. <i>Gyromitra esculenta</i> sistematığı ve askokarpı	23
Şekil 2.4. <i>Lactarius delicious</i> sistematığı ve basidiyokarpı	24
Şekil 2.5. <i>Melanoleuca exscissa</i> sistematığı ve basidiyokarpı.....	25
Şekil 2.6. <i>Ramaria flavescens</i> sistematığı ve basidiyokarpı	25
Şekil 2.7. <i>Sarcosphaera crassa</i> sistematığı ve askokarpı.....	26
Şekil 2.8. <i>Stereum hirsutum</i> sistematığı ve basidiyokarpı	27
Şekil 2.9. <i>Trametes versicolor</i> sistematığı ve basidiyokarpı.....	28
Şekil 2.10. <i>Morchella</i> grupları sistematığı ve askokarpları.....	29
Şekil 2.11. Çalışılan hücre hatları	34
Şekil 3.1. <i>M.exscissa</i> ekstresinin, <i>E.coli</i> bakterisini içeren petride oluşturduğu inhibisyon zonu	38
Şekil 3.2. <i>S.hirsutum</i> ekstresinin, <i>M.luteus</i> ve <i>P. aeruginosa</i> bakterilerini içeren petrilere oluşturduğu inhibisyon zonu.....	39
Şekil 3.3. <i>Morchella</i> 2, <i>Morchella</i> 6 ve <i>Morchella</i> 1, <i>Morchella</i> 3 ekstrelerinin, <i>P. aeruginosa</i> bakterisini içeren petrilere oluşturduğu inhibisyon zonu.....	39
Şekil 3.4. Hücrelerin MTT ile etkileşimi sonucu oluşan formazan kristallerinin mikroskopik görüntüsü	42
Şekil 3.5. Makro mantar ekstrelerinin BEAS-2B hücre çoğalması üzerine etkisi	43
Şekil 3.6. Makro mantar ekstrelerinin K-562 hücre çoğalması üzerine etkisi	44
Şekil 3.7. Makro mantar ekstrelerinin DU-145 hücre çoğalması üzerine etkisi	45
Şekil 3.8. Makro mantar ekstrelerinin PC-3 hücre çoğalması üzerine etkisi	46
Şekil 3.9. Makro mantar ekstrelerinin CCC-221 hücre çoğalması üzerine etkisi	47
Şekil 3.10. Makro mantar ekstrelerinin A-549 hücre çoğalması üzerine etkisi	48
Şekil 3.11. <i>Morchella</i> ekstrelerinin BEAS-2B hücre çoğalması üzerine etkisi	49
Şekil 3.12. <i>Morchella</i> ekstrelerinin K-562 hücre çoğalması üzerine etkisi	50
Şekil 3.13. <i>Morchella</i> ekstrelerinin DU-145 hücre çoğalması üzerine etkisi	51
Şekil 3.14. <i>Morchella</i> ekstrelerinin PC-3 hücre çoğalması üzerine etkisi	52

Şekil 3.15. Morchella ekstrelerinin CCC-221 hücre çoğalması üzerine etkisi	53
Şekil 3.16. Morchella ekstrelerinin A-549 hücre çoğalması üzerine etkisi	54
Şekil 3.17. Morchella ekstrelerinin MCF-7 hücre çoğalması üzerine etkisi.....	55
Şekil 3.18. A-549 hücresinde Clitocybe geotropa ekstresinin konsantrasyona bağlı olarak hücre çoğalması üzerine etkisi	57
Şekil 3.19. PC-3 hücresinde Morchella 6 ekstresinin konsantrasyona bağlı olarak hücre çoğalması üzerine etkisi	58

SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ

%	Yüzde
A-549	Akciğer kanseri hücre hattı
BEAS-2B	Sağlıklı epitel hücre hattı
CCC-221	Kolon kanseri hücre hattı
CN	Gentamicin
CO ₂	Karbondioksit
DMSO	Dimetil sülfoksit
DU-145	Prostat kanseri hücre hattı
K-562	Kronik myeloid lösemi hücre hattı
M	Metanol
M1	Morchella 1. grup mantarları
M2	Morchella 2. grup mantarları
M3	Morchella 3. grup mantarları
M4	Morchella 4. grup mantarları
M5	Morchella 5. grup mantarları
M6	Morchella 6. grup mantarları
M7	Morchella 7. grup mantarları
M8	Morchella 8. grup mantarları
MCF-7	Meme kanseri hücre hattı
MEM	Meropenem
MTT	Thiazolyl blue tetrazolium bromide
PC-3	Prostat kanseri hücre hattı
pH	Hidrojen iyonu konsantrasyonunun logaritmik değeri
rpm	Dakikadaki devir sayısı
RPMI	Roswell Park Memorial Institute
VA	Vancomycin

1. GİRİŞ

Ekosistemin en önemli parçalarından birini oluşturan mantarlar, insanlar açısından da büyük öneme sahiptir. Doğaları gereği nemli bölgelerde daha fazla görülen mantarlar, çöl toprakları dahil olmak üzere hemen hemen dünyanın her yerinde bulunmaktadır. Genel olarak küf, pas, rastık, maya, mildiyö, şapkaklı mantar, kav mantarı, raf mantarı, puf mantarı gibi çeşitli isimlerle tanımlanan canlılar, 'fungus' bilimsel adı altında toplanmaktadır. Şekil, davranış ve hayat devri yönünden birbirlerine uymayan çok sayıda organizmayı içeren mantarlar; ökaryotik hücre yapısına sahip, eşeyli ve eşeysiz üreyebilen, yayılmak amacıyla spor üreten, hif diye bilinen tipik olarak hücre duvarıyla kuşatılmış dallanan ipliksel somatik yapıya sahip, absorpsiyonla beslenen, klorofilsiz (heterotrof) organizmalardır.

Mantarlar çeperli hücre yapısı, genelde hareketsiz olmaları ve sporla üremeleri bakımından basit bitkilere benzetilseler de, bitkiler gibi klorofil içermemeleri yanında, kök, gövde, yaprak, çiçek, kompleks iletim sistemi gibi yapılara sahip değildirler. Ayrıca depo karbonhidrat olarak nişasta değil glikojen biriktirmeleri ve büyük bir bölümünde hücre duvarı yapısını oluşturan temel polisakkaritin kitin olması gibi farklılıklar nedeniyle mantarlar, ayrı bir alem olarak kabul edilmekte ve beş alemde biri olan Fungi alemi içerisinde yer almaktadır. Fungi alemi, Chytridiomycota, Zygomycota, Ascomycota, Basidiomycota olmak üzere dört filum (bölüm) içermektedir (Tamer, 2006).

Mantarlar; Mikrofunguslar ve Makrofunguslar olmak üzere ikiye ayrılırlar. Makrofunguslar ise; zehirli, yenmez ve yenebilir olarak üçe ayrılmaktadır. Basidiomycetes sınıfına ait mantarların hepsi olmasa da birçoğunun, biyolojik olarak aktif polisakkarit içerdikleri kanıtlanmıştır. Yüksek Heterobasidiomycetes ve Homobasidiomycetes içerisinde yer alan 651 tür ve 182 cins üyeleri şapkalarında, misellerinde ya da kültür sıvılarında farmakolojik açıdan önemli aktif polisakkaritler içermektedirler (Reshetnikov ve Tan, 2001).

Tıbbi önemi yüzyıllardır bilinmekte olan mantarların son yıllarda polisakkarit ve polisakkarit-protein komplekslerinin izolasyon ve biyolojik aktiviteleri çalışmalarının artması ile mantarların biyoaktif bileşenlerinin tıbbi önemi hakkında önemli gelişmeler kaydedilmiştir. Bu biyopolimerlerin elde edilen en önemli biyofarmakolojik aktiviteleri, immünomodülatör ve anti kanser etkileridir. Yapılan araştırmalar sonucu mantar polisakkaritlerinin birçok tümör çeşidine karşı engelleyici etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Bu polisakkaritler, in vivo koşullarda tümör hücrelerini direk olarak öldürmezler, antitümör aktivitelerini, immün yanıt aktivasyonu yoluyla göstermektedirler. Söz konusu mantar polisakkaritleri kişinin vücudunda zararlı etkiye ya da strese yol açmadan biyolojik yanıt düzenleyici olarak işlev görmektedirler (Moradali vd., 2007). Bu etkilerin çeşitli çalışmalarla kanıtlanması ile mantarlar son yıllarda terapötik ajan kaynağı olarak kullanılmaya başlamıştır.

Makro mantarlar konusunda en önemli gelişmelere uzak doğu ülkelerinde rastlanmaktadır. Avrupa ve diğer bazı dünya ülkelerinde mantarlardan genellikle gıda olarak yararlanılırken, uzak doğu ülkelerinde (Çin, Japonya, Tayvan, Kore) mantarlar yüzyıllardır ilaç kaynağı olarak kullanılmaktadır. Çin ve Japonya gibi Asya ülkelerinde, mantarlar; özellikle de *Ganoderma lucidum*, *Lentinus edodes* (shiitake) ve *Tremella fuciformis*, yüzlerce yıldır şifa kaynağı ilaç ve yiyecek kaynağı olarak kullanılmaktadır (Zhang vd., 2007). Bu mantar kaynaklı biyoaktif maddeler, insan vücudunda herhangi bir zarar ya da strese yol açmaksızın, çeşitli çevresel ve biyolojik streslere adaptasyonda vücuda destek sağlamaktadırlar.

1.1. Amaç ve Kapsam

Sahip oldukları besin ve tıbbi özelliklerinden dolayı mantarlar, bünyelerinde bulunan etken maddelerin ekstrakte edilmesiyle, birçok hastalığın tedavisinde veya önlenmesinde etkin olarak kullanılmaktadır. Mantarlar bünyelerinde polisakkaritler, proteinler ve protein-polisakkarit kompleksleri gibi, farklı biyolojik aktivitelere sahip birçok bileşik içermektedirler. Bu biyoaktif maddeler, antibakteriyal, antifungal, antiviral, antitümör, antiproliferatif, immünomodülatör, lektin benzeri, proteaz ve nükleaz aktiviteleri için önemli kaynak oluşturmaktadırlar. Dolayısıyla bu tez

çalışmasının amacı, ülkemizde doğal olarak yetişmekte olan bazı mantarların, gerek antimikrobiyal gerek çeşitli kanser hücre hatlarının büyümesi üzerine etkilerini araştırmak ve elde edilen verilerle söz konusu mantarların antimikrobiyal ve antitümör potansiyellerini belirlemektir. Böylece günümüz koşullarında gereksinim duyulan yeni antimikrobiyal ajanların ve kanser hücreleri üzerinde büyümesini engelleyici etkiye sahip fungal maddeler belirlenebilecektir.

1.2. Kaynak Özetleri

1.2.1. Mantarların besin değeri

Mantarlar, yüzyıllardır benzersiz tatları, özellikle de spesifik aroma ve dokuları nedeniyle besin olarak kullanılmaktadırlar. Yeryüzünde 2000'den fazla yenilebilir mantar türü bilinmesine rağmen bunlardan çok az bir kısmının (yaklaşık 20 mantar türü) kültürü yapılabilmektedir (Manzi vd., 2001). Besin kaynağı olarak mantarlar; düşük kalori içermesinin yanı sıra, esansiyel aminoasitler, karbonhidratlar, lifler, önemli vitaminler ve mineraller bakımından zengin bir içeriğe sahiptirler (Manzi vd., 2004). Araştırmalara göre mantarlar, birçok et ve sütte daha az ancak birçok sebzededen daha çok protein içeren, kolayca sindirilebilir bir protein kaynağını oluşturmaktadırlar (Pavel, 2009). Mantarlar bünyelerinde çeşitli mineraller, potasyum ve bakır gibi iz elementler, riboflavin, niasin ve folatlar gibi vitaminler ihtiva etmektedirler (Cheung, 2010).

Yenebilir mantarların içermiş olduğu ham protein oranı genel olarak, türe, varyeteye ve toprak üstü organlarının gelişim aşamalarına bağlı olarak, kuru ağırlığın %15 ile %35'ini oluşturmaktadır. Birkaç istisna dışında mantar proteinlerindeki esansiyel aminoasitlerin miktarı ise kuru ağırlıktaki 100gr proteinde, 30-50gr civarındadır (Manzi vd., 1999).

Yenebilir mantarlar düşük oranda lipit içermektedirler, bu oran genellikle kuru ağırlığının %5'inden azdır. Yağ asitleri içeriği ise, doymamış yağ asitlerinden özellikle linoleik asit (688– 840 mg/g lipit) olmakla beraber, mantarlardaki linoleik asit seviyesi genellikle düşüktür (Yılmaz ve Solmaz, 2006).

Mantarların toplam karbonhidrat (sindirilebilen ve sindirilemeyen) içeriği, türler arasında farklılık göstermekte olup, kuru ağırlığın %35 ile %70'i oranında

değişmektedir (Mau vd., 2001). Mantarlardaki sindirilebilir karbonhidratlar, mannitol, glukoz, glikojen içermektedir ve genellikle çok küçük miktarlarda bulunmaktadır (kuru ağırlığın %1'inden az). Trehaloz gibi oligosakkaritler ve kitin, β -glukanlar ve mannanlar gibi nişasta olmayan (NSPs) polisakkaritleri içeren sindirilemeyen karbonhidratlar ise, mantar karbonhidratlarının önemli bir kısmını oluşturmaktadır. Mantar polisakkaritleri (NSPs), diyetel lif olarak kabul edilebilmektedirler. Genellikle mantarlarda 100gr taze mantarda %5 ile %25 oranları arasında diyetel lif bulunmaktadır (Manzi vd., 2001). Mantar diyetel lifleri ağırlıklı olarak suda çözülebilir lifleri içermektedir.

Doğal yenebilir mantarların içerdiği kül miktarı, kuru ağırlığın %6 ile %11 oranları arasında değişmekte olup çeşitli mineraller ve iz elementler bulundurmaktadır. Yaygın olarak kullanılan yenebilir mantarlardan *P. ostreatus*, *L. edodes* ve *A. bisporus* mantarlarının besinsel içerikleriyle ilgili yapılan bir çalışmada, kuru ağırlığa oranla Potasyum (2700–4700 mg/100 g), Fosfor (500–1400 mg/100 g), Magnezyum (20–200 mg/100 g), Çinko (4.7– 9.2 mg/100 g) ve Bakır (0.50–3.5 mg/100 g) minerallerini çeşitli seviyelerde ihtiva ettikleri kanıtlanmıştır (Vetter, 1990).

Önemli besin içeriklerinin yanında vitaminleri de bünyelerinde bulunduran mantarlar, kuru ağırlık baz alınarak Riboflavin (B2 vitamini) (1.8-5.1mg/100g), Niyasin (31-65mg/100g) ve Folik asit (0.30-0.64mg/100g) gibi çeşitli vitaminleri içermektedirler. İçerdikleri Folik asit miktarı sebzelerin içermiş olduğu miktarla neredeyse aynıdır. Bunların yanında bünyelerinde önemli miktarda Ergosterol ve güneş ışığı varlığında D vitamini dönuşen, provitamin D; Ergocalciferol ihtiva etmektedirler (Cheung, 2010).

Mantarların taze, işlenmiş ya da pişirilmiş halleri, demir, potasyum, kalsiyum, magnezyum, mangan ve çinko gibi mineralleri içermesi bakımından önemli bir besin kaynağı durumundadır. Mantar türlerinin analizinde, insanlar tarafından tüketiminde besinsel açıdan faydalanılabilir iz elementler elde edilmiştir. Yine de büyük oranda sindirilemeyen kitinden oluşan mantar bileşenlerinden, biyoyararlanımları bakımından çok az bilgi bulunmaktadır.

Ticari amaçla kullanılan mantarların, besinsel içerikleri ve pişirmenin etkileri, üzerine yapılan bir araştırmada, kuru madde, yağ, protein ve karbonhidrat oranları baz alındığında, pişirildikten sonra kuru madde miktarının belirgin bir şekilde düşüş

göstererek %70-72 oranında olduğu , taze dondurulmuş örneklerin ise konsantrasyonlarının %90-94 oranına düştüğü belirlenmiştir (Manzi vd., 2004). Taze dondurulmuş örneklerde β -glukan %88 ve toplam fenol %86 oranında iken; pişirildikten sonra β -glukan %67, toplam fenol ise %61 oranında gözlenmiş ve ısı muamelesinden en çok etkilenen bileşenler olarak belirlenmiştir.

Artmakta olan dünya nüfusu için makro mantarlar, önemli besin kaynağını oluşturmaktadırlar. Mantarlar üzerine yapılan araştırmalar sonucu; tıbbi özellikleri, besinsel içerikleri ve etkin besleyici özelliklerinin açığa çıkarılması ile mantarlar günlük besinlerimizi oluşturan sebze ve meyvelerin yanında daha sık yer almaya başlamıştır.

1.2.2. Mantarların kimyasal içeriği

Mantarların tedavi edici özellikleri binlerce yıldır insanlar tarafından bilinmesine rağmen antibiyotiklerin keşfine kadar, mantarların kimyasal bileşenleriyle ilgili çalışmalar bugünkü kadar ilgiye sahip değildi. Penisilin'in keşfiyle mantarlarla ilgili yapılan çalışmalara ilgi artarak devam etmiş ve bir çok yeni biyoaktif bileşik keşfedilmiştir. Bazı mantar türlerinin içerdikleri bileşenler sayesinde antitümör, bağışıklık düzenleyici, kardiyovasküler ve antimikrobiyal özelliğe sahip oldukları tespit edilmiştir. Mantarlar, protein polisakkarit bileşikleri (Polisakkarit-K, Polisakkaritpeptid ve Lentinan), ikincil metabolitler (terpenler, alkaloidler ve laktonlar) ve enzimler (lakkaz, glukoz oksidaz ve peroksidaz) gibi teröpatik özelliğe sahip birçok karmaşık madde içermektedirler.

Literatüre göre mantarların brüt yapısının %90'nı su oluşturmakta ve kuru ağırlığının ise %10-40'nı protein, %2-8 yağ, %3-28 karbonhidratlar, %3-32 lif ve %8-10'nu ise tuzlar, metaller vb. oluşturmaktadır (Lull vd., 2005). Mantar proteinleri, Treonin (41-95 mg/g protein), Valin (36-89 mg/g protein), Glutamik asit (130-240 mg/g protein), Aspartik asit (91-120 mg/g protein) ve Arjinin (37-140 mg/g protein) bakımından zengin olmasının yanında, Metionin (1.2-22 mg/g protein) ve Sistein (1.2-22 mg/g protein) aminoasitleri bakımından fakirdirler. Bunların yanında, Lizin, Lösin, İzölösün ve Triptofan aminoasitleri bazı yenebilir mantarlarda sınır değerlerde bulunmaktadır. Mantarlardaki serbest aminoasitlerin bulunma oranları ise, 7 ile 12mg/g protein arasında değişmekte olup, başlıcalarını Glutamik asit (220-240 mg/g

protein) ve Alanin (180 mg/g protein) oluşturmaktadır. Aspartik asit ve Glutamik asit gibi serbest aminoasitler, 5'-nükleotidlerle birlikte, örneğin, 5'- Adenozin monofosfat, 5'-Sitozin monofosfat ve, 5'-Guanozin monofosfat, Monosodyum glutamata (MSG) benzerler ve mantarların benzersiz lezzetlerine katkıda bulunmaktadırlar (Mau vd., 2001).

Mantarlar üzerine yapılan bir araştırmada, 24 farklı mantar türünün protein fraksiyonlarının; albumin (%24.8) , globulin (%11.5), glutelin-benzer materyal (%7.4), glutelin (%11.5), prolamin (%5.7) ve prolamine-benzer materyalinin (%5.3) içeriklerinin seviyeleri belirlenmiştir (Bauer, 2001).

Mantarların faydalanılan yönlerinin yanında zararları da bulunmaktadır. Bazı mantar türleri insan, hayvan ve bitkiler üzerinde parazit yaşayarak hastalık meydana getirmektedirler. Özellikle ağaçlar üzerinde bulunan mantarlar, dokulara zarar vermek suretiyle kereste kaybına ve ağaçların ölümüne sebep olmaktadır. Ayrıca zehirli mantar türlerinin insanlar ve hayvanlar tarafından gıda olarak tüketilmeleri, ölüm ile sonuçlanabilmektedir. Mantarlar tarafından oluşturulan, bitki, hayvan, insan ve mikroorganizmalara karşı tedavide kullanılabilmesinin yanı sıra zehirleyici, karsinogenik, mutajenik ve bağışıklık bozucu etkilere yol açan bu maddeler mikotoksin olarak adlandırılmaktadır (Hussein, 2001). Yapılan araştırmalar sonucunda belli mantar türlerinden cyclopeptide, phenylhydrazine ve isooxazole gibi kimyasal gruplar (mikotoksinler) izole edilmiştir ki bu mikotoksinlerin, insanlara yüksek oranda toksik olduğu ispatlanmıştır (Cheung, 2010).

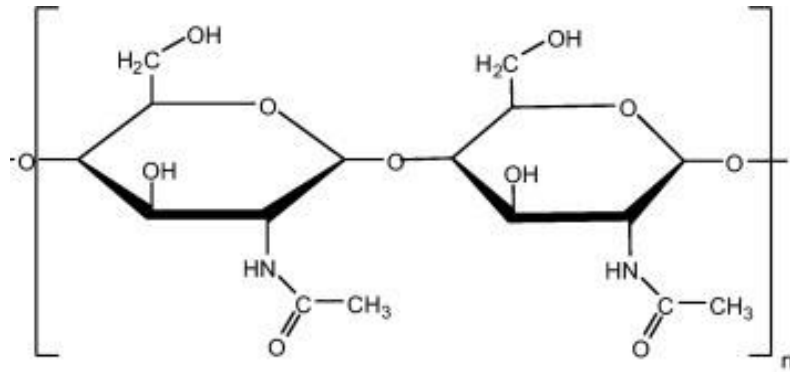
Yenebilir mantarlar kendilerine has lezzete sahiptirler. Kimyasal kompozisyonları göz önünde bulundurulduğunda octane ve octene türevleri, düşük oranda terpenler, benzaldehit türevleri, sülfür bileşenleri ve diğerleri olarak sınıflandırılmaktadırlar. Oktan türevleri, 1-okten ve 2-okten, alkoller ve esterleri, uçucu yağ asitleri ve ketonlar ile birlikte mantar aromasının karakteristik grubunu oluşturmaktadırlar (Renata, 2004).

Araştırmalara göre mantarlardaki toplam lipit miktarı kuru madde ağırlığının, %2ile %6 arasında değişmektedir. İçeriğindeki yağ asidi kompozisyonu ise, doymamış linoleic asid (C18:2n-6), doymamış oleic asid (C18:1n-9) ve besinsel açıdan istenmeyen doymuş palmitic asid (C16:0) ve bunların yanında düşük miktarda nötral doymuş stearic asid (C18:0) ve de özellikle besinsel olarak gerekli a-linolenic asid

(C18:3n-3) olarak belirlenmiştir (Pavel, 2009). Trans yağ asitlerinin ise mantarlarda bulunduğuna dair herhangi bir çalışma raporu bulunmamaktadır.

Kitin, Glikojen, Mannitol ve Trehalose mantarların tipik karbonhidrat bileşenlerini oluşturmaktadır (Pavel, 2009). Medikal mantarlar, yenebilir mantarlarla kıyaslandığında, medikal mantarların karakteristik olarak daha fazla fungal hücre duvarı materyali ve ikincil metabolitler ihtiva ettikleri fark edilmiştir. Fungal hücre duvarı başlıca β -glukan-kitin kompleksleri ve mannoproteinler içermektedirler ve insan sindirim organlarında enzimler tarafından sindirilemediğinden dolayı diyetsel lif olarak sınıflandırılmaktadırlar (Zhang vd., 2007). Mantarlarda bulunan ikincil metabolitler ise; fenolik bileşikler, steroller ve triterpenlerdir.

Bilimsel çalışmaların gösterdiği üzere mantarlardaki antitümör polisakkaritlerin asıl kaynağını polisakkaritlerden medana gelen fungal hücre duvarı oluşturmaktadır (Wasser, 2002). Kitin (Şekil 1.1), suda çözilemeyen yapısal bir polisakkarittir ve mantar hücre duvarının kuru ağırlık olarak %80-90 'nı oluşturmaktadır. Fakat mantar hücre duvarının ana bileşeni olan kitin (N-asetil-d-glukozamin polimer) ve kitosan antitümör aktiviteye sahip değildirler.



Şekil 1.1. Kitin kimyasal yapısı (Srinophakun, 2012)

Mantarların tıbbi özellikleri arasında antimikrobiyal etkileri, antioksidan etkileri, hepatoprotektif etkileri (karaciğer koruyucu etkileri), antidiyabetik etkileri, bağışıklık sistemini düzenleyici, antitümör etkileri, kolesterol düşürücü, şeker düşürücü özellikleri yer almaktadır. Sitotoksik, antitümör ve immünomodülatör aktiviteleri genellikle polisakkarit bileşiklerinin varlığıyla alakalıdır. Fungal polisakkaritler

çoğunlukla; glukanlar, mannanlar ve galaktanlardır. Moleküler ağırlıkları ise 100 000-1 000 000Da kadardır (Sulkowska-Ziaja vd., 2005).

Mantarların içermiş olduğu polisakkarit molekülünün aktivite farklılıkları; suda çözülebilirliğine, molekülün büyüklüğüne, dallanma oranı ve dallanma formuna bağlıdır (Wasser, 2002). Mantar polisakkaritleri, β -glukan gruplarına bağlı olarak farklı kimyasal konformasyonlar sergilemektedirler. Örneğin, yapısal özellik olarak, glukanın temel yapısındaki β -(1,3) bağına ilaveten β -(1,6) dallanma noktasına sahipse daha iyi biyolojik aktiviteye sahiptir ve önemli antitümör etkisi göstermektedir. Fakat β -glukan, sadece β -(1,6) glikozidik bağına sahipse çok az ya da hiç antitümör aktivite göstermediği fark edilmiştir.

D-fraction gibi bazı mantar metabolitleri, önemli biyolojik yanıt düzenleyicileri olarak görev almaktadırlar. Maitake (*Grifola frondosa*) mantarından ekstrakte edilen D-fraksiyonunun, TNF- α sentezini uyarıp, NK (doğal öldürücü hücreler) inaktivitesini arttırarak, kanser hastalarında tümör büyümesini belirgin bir şekilde baskıladığı görülmüştür (Kodama vd., 2002).

Ayrıca yapılan araştırmalara göre fungal protein ve peptidler, makrofajların aktivasyonundan sorumludurlar. *Tricholoma mongolicum* mantarından izole edilen iki lektin TML-1 ve TML-2, nitrit iyonları ve makrofajlar aracılığıyla TNF- α üretimini düzenlemektedir (Wang vd., 1997).

Son olarak, izole edilen mantar metabolitlerinden, glukanlar, lentinan, schizophyllan, polisakkarit-protein PSK ve PSP; klinik olarak immün tedavisinde kullanılmaktadır. Japonya'da ilaç olarak geliştirilen metabolitler, günümüzde dünya genelinde kullanılır duruma gelmiştir (Lull vd., 2005).

1.2.3. Antimikrobiyal etki bakımından makro mantarlar

Günümüzde, tehlikeli mikropların mevcut antibiyotiklere karşı artan direnç mekanizmaları, yeni antimikrobiyal ajanların yoğun bir şekilde araştırılmasına neden olmaktadır. Özellikle bitkiler ve mantarlar doğal antimikrobiyal ajanların önemli kaynağını oluşturmaktadır.

Biyolojik olarak ayrıştırıcı özellikleri nedeniyle ekosistemde belli bir öneme sahip olan mantarlar, yüzyıllar boyunca yiyecek olarak tüketildiği gibi birçok hastalığın

tedavisi amacıyla da ilaç olarak kullanılmıştır. Mantarlar, beslenme yönünden düşük kalori içermesinin yanı sıra hem gıda hem de tıbbi değeri olan, biyolojik aktif bileşenleri içeren önemli bir kaynak olarak bilinmektedirler. Bazı mantar türleri içerdikleri bileşenler sayesinde antitümör, bağışıklık düzenleyici, kardiyovasküler ve antimikrobiyal özelliğe sahiptirler. Bu maddeler ya mantarın şapkasından ya da misellerinden elde edilmektedir.

Poliporlar ve kortikoid mantarlar, Bazidiomiset bölümünün karmaşık morfolojiye sahip Aphylophorales ordosu üyelerindedir. Poliporlar karada yaşayan geniş bir grubu temsil etmektedirler ve Askomisetler ile birlikte aktif farmakolojik bileşiklerin asıl kaynağını oluşturmaktadırlar. Test edilmiş polipor mantarlarının %75'i güçlü antimikrobiyal aktivite göstermiştir ve yeni geliştirilmekte olan antibiyotikler için önemli bir kaynak oluşturduğu düşünülmektedir (Zjawiony, 2004).

Bilimsel çalışmalar sonucu elde edilen verilerde insan sağlığına yararlı olabilecek etkili antimikrobiyal bileşiklere rastlanması mantarların doğaları gereği şaşırtıcı değildir. Mantarlar yaşadıkları doğal çevrelerinde yaşamlarını sağlıklı bir şekilde sürdürebilmeleri için antibakteriyal ve antifungal bileşiklere ihtiyaç duymaktadırlar. Mantarlarda bulunan mniopetals, oudemansin, favolon, diatretole, lanostane ve strobilurin gibi biyoaktif bileşikler güçlü antimikrobiyal aktiviteye sahiptirler (Lindequist, 2005). Özellikle mikromantarlar, antibiyotik bileşenlerinin önemli bir kaynağını oluşturmaktadırlar; penicillin, amoxycillin, cephalosporin ve griseofulvin gibi. Biyoaktif bileşenlerin aktiviteleri, sadece küçük molekül olan sekonder metabolitlerle alakalı değildir, aynı zamanda yüksek moleküler ağırlıklı hücre duvarı polisakaritleri de aktivite göstermektedirler.

Mantarlar üzerine yapılan bir çalışmada, *Clitocybe sinopica* mantarından izole edilen, 44kDa moleküler ağırlığına sahip proteinin, çeşitli mantar ve bakteri suşları üzerine etkisine bakılmıştır. İki alt üniteden oluşan bu fungal protein, *Pseudomonas batatae*, *Erwinia herbicola*, *E. coli*, *S. aureus* bakterilerine karşı etkili olmazken; *Agrobacterium rhizogenes*, *A. tumefaciens*, *A. vitis*, *Xanthomonas oryzae* ve *X. malvacearum* bakterilerine karşı antimikrobiyal etki göstermiştir. Fungal proteinin sergilemiş olduğu antimikrobiyal aktiviteye ilaveten, *Setosphaeria turcica*, *Fusarium oxysporum*, *Verticillium dahliae*, *Bipolaris maydis* ve *B. sativum* mantarlarına karşı herhangi bir antifungal etkiye sahip olmadığı görülmüştür (Zheng vd., 2010).

Ganoderma pfeifferi mantarından izole edilen, ganomycin A, ganomycin B sekonder metabolitlerinin, çeşitli Gr negatif ve Gr pozitif bakterilere karşı, özellikle de *B. subtilis*, *S. aureus*, *Micrococcus flavus* gibi Gr-pozitif bakteri suşlarına karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip oldukları görülmüştür (Mothana, 2000).

Başka bir araştırmada ise, *Merulius tremellosus* ve *Phlebia radiata* polipor mantarlarının toprak üstü organlarından Merulinic asit A, B, C olmak üzere üç farklı antimikrobiyal metabolit elde edilmiştir. Merulinic asit *Arthrobacter citreus*, *B. subtilis*, *Corynebacterium insidiosum*, *Micrococcus roseus* ve *Sarcina lutea* bakterilerine karşı antimikrobiyal aktivite göstermiştir (Giannetti vd., 1978). *S. aureus* ve *Proteus vulgaris* bakterileri ise sadece Merulinic asit B ile inhibe edilmişlerdir. Bu çalışmada aynı zamanda *Merulius tremellosus* misel kültürünün Merulinic asit içermediği, ama yüksek antifungal etkiye sahip merulidial sesquiterpenoidini içerdiği bulunmuştur. Desoxyhypnophilin, hypnophilin, 6,7-epoxy-4-hirsutene-5-ol ve 6,7-epoxy-4-hirsutene-1,5-diol antimikrobiyal sesquiterpenleri ise, *Lentinus crinitus* polipor mantarından izole edilmiştir (Abate ve Abraham, 1994).

Polipor mantarlardan izole edilen antimikrobiyal bileşikler arasında en etkililerden biri olan biformin, *Trichaptum biforme*'den izole edilmiştir (Fukasawa vd., 2005) ve geniş çeşitlilikteki bakteri ve funguslara karşı etki göstermiştir. Başka bir polipor mantarı olan *Stereum complicatum*'dan ise *S. aureus* patojenine karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip, hirsutan türevi olan; hirsutik asit ve komplikatik asit izole edilmiştir (Mellows vd., 1973).

Makro mantarların antimikrobiyal potansiyelleriyle ilgili yapılan birçok araştırmada, faydalı oldukları kanıtlanmıştır. İspanya'dan toplanan 204 makro mantar türü ile yapılan çalışmalarda, ekstraktların %45'i yani 109 türün antimikrobiyal aktivite göstererek, çeşitli insan patojenlerine karşı etkili olduğu, %20'sinin ise antifungal aktivite gösterdiği kanıtlanmıştır (Suay, 2000).

Hindistan'da altı farklı yenilen mantarın (*Lycoperdon perlatum*, *Cantharellus cibarius*, *Clavaria vermiculris*, *Ramaria formosa*, *Marasmius oreades*, *Pleurotus pulmonarius*) antimikrobiyal ve antioksidan aktivitelerinin araştırılmasında öncelikle

mantar örneklerinin metanol ile ekstraksiyonu yapılmıştır. 15mm'den fazlasının yüksek antimikrobiyal aktivite olarak belirlendiği bu araştırmada, *L. perlatum*, *P. pulmonarius*, *M. oreades* ve *C. vermiculris* ekstraktları, *E. coli* bakterisine karşı 24mm inhibisyon zonu göstermiştir. Bu sonuçlar neticesinde çalışılan yenilebilir mantarların, biyoaktif bileşenler içerdiği kanıtlanmıştır (Ramesh ve Pattar 2010).

Avustralya'da yetişmekte olan *Cortinarius* cinsine ait türler kullanılarak, su ve etil asetat çözücülerini ile edilen farklı 117 fraksiyonun *Staphylococcus aureus* ve *Pseudomonas aeruginosa* bakterilerine karşı antimikrobiyal aktivitesine bakılmıştır. Türler incelendiğinde *D. canaria*, *C. austrovenetus* ve *C. persplendidus*'un iki patojene karşı da yüksek antibakteriyal etki göstererek, en etkili türler olduğu belirlenmiştir. *C. basirubescens*'den izole edilen, emodin phycion ve erythrogluacin anthraquinonoid pigmentleri mantara antimikrobiyal aktivite kazandırmaktadır. Fungal octaketide'ler austrocortilutein, austrocortirubin, torosachryson, phycion ve emodin'in, *S. aureus* (IC₅₀ 0.7–12 lg/mL) patojeninin büyümesini güçlü bir şekilde engellediği bulunmuştur. Aynı zamanda *P. aeruginosa*'ya karşı sadece phycion (IC₅₀, 1.50 lg/mL) ve emodin (IC₅₀, 2.0 lg/mL) pigmentlerinin etkili olduğu gözlenmiştir (Beattie vd., 2010).

Dictyophora indusiata, *Flammulina velutipes*, *G. frondosa*, *H. erinaceus*, *L. edodes*, *Tricholoma giganteum* ve *P. ostreatus* yenilebilir mantar türleri üzerine yapılan bir çalışmada ise, su ve metanol çözücüleriniyle elde edilen fenolik bileşikler bakımından zengin ekstraktların güçlü antioksidan özelliğe sahip olduğu, lipid peroksidasyonunu inhibe ettiği ve serbest radikallerin uzaklaştırılmasını sağladığı kanıtlanmıştır (Mau vd., 2002).

Yenilebilir ve medikal öneme sahip bir mantar olan *Lentinus edodes* (Shiitake) ile ilgili çalışmalardan fark edildiği üzere, bu mantardan elde edilen ekstrenin, patojenler ve dermatofitleri içeren, Gr Pozitif ve Gr Negatif bakteriler, maya ve mantar'lara karşı etkili olduğu görülmüştür. Aktif bileşenler ise ince tabaka kromatografisi ile incelenmiştir. Bunlardan ikisi lentinamycin B ve erytadenine (lentinacin)'dir. Ayrıca lentinamycin B'nin, *L. edodes* mantarının antibiyotik aktivitesinden sorumlu komponent olduğu bulunmuştur (Soboleva vd., 2006).

Lentinus edodes mantarı üzerine yapılan başka bir çalışmada, kloroform, etilasetat ve su ile ekstraksiyonu sonucu üç farklı antibakteriyal bileşen keşfedilmiştir. Bu

bileşenler *Streptococcus spp.*, *Actinomyces spp.*, *Lactobacillus spp.*, *Prevotella spp.*, ve *Porphyromonas spp.* patojenlerine karşı antibakteriyal aktivite sergilemişlerdir. Üç ekstre arasında en yüksek antibakteriyal aktivite ise kloroform çözücüsü ile elde edilen ekstrede gözlenmiştir (Hirasawa vd., 1999).

Literatürdeki, mantarlarla ilgili yapılan başka bir araştırmada ise, Basidiomycetes şubesi üyelerinden, *Podaxis pistillaris* mantarının *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus flavus*, *Bacillus subtilis*, *Proteus mirabilis*, *Serratia marcescens* ve *Escherichia coli* patojenlerine karşı önemli antibakteriyal etkiye sahip olduğu bulunmuştur. Aynı çalışmanın devamı olarak *Podaxis pistillaris* mantarından, mantarlara özgü biyoaktif metabolitlerin sınıflarından epipolythiopiperazine-2,5-diones (ETPs) grubuna ait, antimikrobiyal etkinin kaynağı olarak, epicorazine A, epicorazine B ve epicorazine C olmak üzere üç farklı bileşen izole edilmiştir (Al-Fatimi vd., 2006). Bu çalışmadan önceki yapılan araştırmalarda, Epicorazine'lere; sadece *Epicoccum nigrum*, *Epicoccum purpurascens* ve *Stereum hirsutum* mantarlarında rastlanmıştır (Kleinwachter vd., 2001).

Yukarıda bahsedilen çeşitli mantarların ürettiği kimyasal bileşenlere ilaveten *Coprinus micaceus* mantarının metanolik ekstresinden iki yeni kimyasal bileşen izole edilmiştir; micaceol ve (Z,Z)-4-oxo-2,5-hetpadienedioic asit. Metanolik ekstrenin, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Corynebacterium xerosis* ve *Escherichia coli* patojenlerine karşı belirlenen antibakteriyal etkisinin yanında, micaceol'ün, *C. xerosis* ve *S. aureus* bakterilerine karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu görülmüştür (Zahid vd., 2006).

1.2.4. Antitümör etki bakımından makro mantarlar

İmmün düzenleyici ve antitümör aktiviteye sahip birçok bileşik mantarlardan izole edilmiştir. Bu etkili bileşikler başlıca polisakkaritler (özellikle β -D-glukanlar), polisakkaropeptitler (PSP), polisakkarit proteinleri ve proteinlerdir. Ayrıca triterpenler, lipitler ve fenoller, kanıtlanmış medikal özelliklere sahip diğer fungal bileşenlerdir (Lull, 2005). Genellikle biyoaktif polisakkaritler, mantarın sporokarplarından, misellerinden ve skleresyumundan izole edilebilmektedirler. Bu maddeler, schizophyllan, lentinan, grifolan, krestin (polisakkarit-peptit kompleksi) ve

PSK (polisakkarit-protein kompleksi)'dir (Zhang, 2007). Tüm bu bileşikler günümüzde Asya farmasötik şirketlerinde tedavi amaçlı üretilmektedir.

Mantar polisakkaritlerinin *in vivo* koşullarda etki mekanizmaları incelendiğinde direk olarak tümör hücrelerini yok ederek değil, immün sistemi aktive ederek antitümör etki gösterdikleri belirlenmiştir (Zaidman, 2005). Hasta vücuduna zarar vermedikleri ve ek strese yol açmadıkları için mantar polisakkaritleri, biyolojik yanıt düzenleyiciler olarak kabul edilmektedirler. Mantar polisakkaritleri sadece immünoterapötik amaçlı değil, anti-inflamatuar, antiviral, antitrombotik, hipoglisemik gibi çeşitli rahatsızlıklarda kullanılabilecek ilaçlar geliştirme çalışmalarında da kullanılmaktadır (Wasser ve Weis, 1999).

Literatüre bakıldığında, makro mantarlardan izole edilen bazı bileşenlerin antitümör ajanı ve kanser tedavisinde kullanıldıkları görülmektedir. Polisakkarit olan üç immünoterapötik ajan Krestin, Lentinan ve Sonifilan mantarlardan izole edilen bileşenlerdendir. Genellikle sindirim organları kanseri olmak üzere, akciğer, göğüs, mide ve serviks kanseri tedavisinde kullanılmaktadırlar.

Birçok etkili biyolojik yanıt düzenleyicileri (BRM) çeşitli mantarlardan izole edilmişlerdir. Örneğin *Lentinus edodes* mantarından; Lentinan, *Trametes (Coriolus) versicolor* mantarından; Krestin (PSK) Japonya'da kanser tedavisinde kullanılmaktadır. Mantar polisakkaritleri immün hücrelerini aktive ederler ve hematopoezi arttırlar. Bu polisakkaritler herhangi bir yan etkiye sebebiyet vermeksizin antitümör etki göstermektedirler (Moradali vd., 2007). Bu etkilere örnek olarak, *Grifola frondosa* mantarıyla çalışan birkaç bilim adamı, sıcak suyla yaptıkları ekstraksiyon sonucu elde ettikleri ekstraktın %46 karbonhidrat, %54 protein içerdiğini belirlemişlerdir. Önceden bulmuş oldukları MD fraksiyonundan farklı olarak, 23 kDa moleküler ağırlığına sahip, maitake Z fraksiyonunu (MZF) izole etmişler ve MZF polisakkaritinin %98.7 karbonhidrat içerdiğini, *in vivo* antitümör çalışmalarında ise kontrol grupları olan BALB/cA fare kolon-26 kanser hücreleriyle karşılaştırıldığında, tümör büyümesini %47.6 oranında baskıladığını gözlemlemişlerdir. Elde ettikleri *in vivo* ve *in vitro* çalışmalar sonucunda, D-galaktoz, D-mannoz, L-fukoz ve D-glukoz 'dan meydana gelen MZF'nin fare tümör modelinde immün yanıtı uyatarak tümör regresyonuna neden olduğu kanıtlanmıştır (Masuda vd., 2009).

Apoptozis (programlanmış hücre ölümü), hücre bölünmesi ve hücre ölümü arasındaki hücrel homeostazi devam ettirmek için önemli bir yoldur ve ökaryotlarda doku gelişimi ve homeostazın düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır. Bu yüzden kanser hücrelerinde apoptozisin uyarılması, antikanser ilaçlarının geliştirilmesinde amaçlanan önemli bir stratejidir (Kaufmann ve Earnshaw, 2000), (Kaufmann ve Hengartner, 2001). Kore'de yapılan bir çalışmada *Ptercarpus santalinus* mantarının metanolik (MEPS) ekstraktının, HeLa hücre hattı üzerinde sitotoksik ve antiproliferatif etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Elde ettikleri sonuçlara göre MEPS, HeLa hücresinde apoptozisi uyarmış ve hücre proliferasyonunu güçlü bir şekilde baskılamıştır. Yaptıkları Western blot analizlerine göre, MEPS'in apoptozisi, mitokondriden sitokrom C 'nin salınması, Kaspaz-9 ve Kaspaz-3'ün aktivasyonu ve PARP (poliADP-riboz polimeraz)'ın degradasyonu şeklinde, mitokondrial yolla uyardığı keşfedilmiştir (Kwon vd., 2006).

Mantarlar doğada, tedavi edici ve antitümör etkiye sahip bileşikleri içermeleri bakımından değerli bir kaynak oluşturmaktadırlar. Literatüre bakıldığında, birçok mantar türünün antitümör özellik gösteren içeriği tanımlanmıştır. Chaga (*Inonotus obliquus*) mantarı, dünyanın çeşitli bölgelerinde kanser tedavisi için kullanılmakta olan mantarlardandır. Kore'de yapılan araştırmada birkaç bilim adamı Chaga mantarından 3 farklı altfraksiyon (3 β -hydroxy-lanosta-8,24-dien-21-al, inotodiol ve lanosterol) elde ederek kanser hücreleri üzerindeki etkilerini incelemişler ve önemli sonuçlar elde etmişlerdir. Bütün alt fraksiyonlar seçilmiş kanser hücrelerinin (A549, AGS, MCF-7, HeLa) proliferasyonunu baskılamış, bunun yanında normal hücrelere karşı ise düşük sitotoksik etki göstermiştir. Alt fraksiyon 1 (3 β -hydroxy-lanosta-8,24-dien-21-al)'in; Alt fraksiyon 2 (inotodiol) ve Alt fraksiyon 3 (lanosterol) 'e kıyasla kanser hücrelerine karşı daha etkili olduğu görülmüştür. İnhibisyon oranları göz önüne alındığında en etkili olan, Altfraksiyon 1 kanser hücrelerine karşı, A549; %66.7, AGS; %72.2, MCF-7; %67.4, HeLa; %69.5 oranlarında etki göstermiştir. Bu deneylere ilaveten, fare Sarcoma-180 hücreleriyle yapılan *in vivo* deneylerde, üç farklı alt fraksiyondan birinci alt fraksiyonun çok daha etkili olduğu ve tümör hacminin doza bağlı olarak, %23 ve %33 oranında küçülmesine sebep olduğu gözlenmiştir (Chung, 2010).

Lentinula edodes (shiitake) mantarı, heteroglikan-protein konjugatı LEM, peptid-polisakkarit kompleksi KS-2 ve yüksek moleküler ağırlıklı polisakkarit olan Lentinan gibi terapötik polisakkaritlerin kaynağını oluşturmaktadır (Chihara vd., 1970; Xu vd., 2011). *Lentinula edodes* mantarının sitostatik ve sitotoksik etkileri araştırılırken, şapkasından ve misellerinden ayrı ayrı ekstreler elde edilmiş, şapkasından elde edilen ekstre uygulandığında, tümör hücrelerine (MCF-7) karşı %90'dan fazla baskılama görülmüştür. Ve kanser hücrelerine karşı IC50 (hücrelerin %50 sine etki eden inhibisyon konsantrasyonu) ortalama 73 µg/ml, normal hücrede ise; IC50 değeri 140 µg/ml olarak belirlenmiştir. *Lentinula edodes* mantarının misel ekstresinin uygulanması sonucu elde edilen bulgulara bakıldığında ise, kanser hücrelerine karşı IC50 değeri ortalama 11 µg/ml, normal hücrede IC50 değeri 15 µg/ml olarak belirlenmiştir. Sonuç olarak *Lentinula edodes* mantarının suyla elde edilmiş ekstresi, kanserli hücrelerin bölünmesini baskılamıştır. Ve normal hücreyle inhibisyon konsantrasyonları karşılaştırıldığında, normal hücreye göre çok daha etkili olduğu, *Lentinula edodes* mantarı şapkasının, misellerine kıyasla daha sitotoksik olduğu kanıtlanmıştır (Israilides vd., 2008).

Dalak, tümör bağışıklığında rol alan önemli bir organdır ve splenik sempatik sinir, splenik doğal öldürücü (NK) sitotoksitesisi üzerine baskılayıcı etkiye sahiptir. Shiitake mantarı üzerine yapılan başka bir çalışmada splenik- sempatik sinir aktivitesini (SNA) baskılayıp NK sitotoksitesisinin azalmasına yol açarak tümör hücresi proliferasyonunu baskıladığı gözlemlenmiştir (Shen, 2009).

Güneydoğu Asya ve Çin'de göğüs kanseri tedavisinde kullanılan, kaplan sütü mantarı olarak bilinen *Lignosus rhinocerus* üzerine yapılan bir çalışmada, soğuk su kullanılarak ekstresi elde edilmiş ve çeşitli kanser hücreleri üzerine etkisine bakılmıştır. Sonuç olarak insan meme karsinom (MCF-7) ve insan akciğer karsinom (A549) hücrelerine karşı antiproliferatif etki gösteren mantar ekstresinin, karşılaştırma amaçlı kullanılan, insan sağlıklı göğüs (184B5) ve insan sağlıklı akciğer (NL 20) hücrelerine karşı herhangi bir sitotoksik etkiye sahip olmadığı görülmüştür (Lee, 2012).

Coriolus versicolor mantarından elde edilen polisakkaropeptit (PSP) ve protein-bağlı polisakkarit (Krestin olarak da bilinen PSK) bileşenlerinin, lösemi, lenfoma, hepatom, göğüs, akciğer ve prostat tümör hücrelerinin proliferasyonunu baskılayarak

güçlü biyolojik aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir (Kidd, 2000; Hsieh, 2002; Lau, 2004). Metanol çözücüsü kullanılarak elde edilen *Coriolus versicolor* mantarı ekstresinin (terpenoidleri ve polifenollerini içeren) *in vivo* ve *in vitro* koşullarda yapılan deneler sonucu anti-melanom etkisi göstermiş, B16 fare melanom hücreleri üzerinde antiproliferatif ve sitotoksik etkiye yol açtığı gözlenmiştir (Harhaji, 2008).

Lektinler, hücre yüzeylerinin dışındaki şeker gibi spesifik polisakkaritleri bağlayan protein ya da glikoprotein yapısındaki maddelerdir. Yapılan araştırmalar sonucunda lektinlerin bakteri, mantar, bitki, hayvan ve insanlarda birçok çeşidinin olduğu saptanmıştır (Hong ve Lyu, 2012; Mu, 2012). Elde edilen farklı verilere göre, antiproliferatif (Liu vd., 2006), antitümör, immünmodülatör ve mitojenik (Ngai ve Ng, 2004) aktivitelere sahip mantar kökenli lektinlere mantarın, şapka, sap, spor ve misellerinde rastlanabilmektedir. Yenilebilir bir mantar olan *Agrocybe aegerita* şapkasından izole edilen, 15.8 kDa moleküler ağırlığına sahip antitümör lektin (AAL); HeLa, SW480, SGC- 7901, MGC80-3, BGC-823, HL-60 gibi çeşitli insan tümör hücre hatlarının ve bunun yanında *in vivo* çalışma olarak, fare sarkoma S-180 tümör hücresinin büyümesine karşı güçlü baskılayıcı etki göstermiştir (Zhao vd., 2003).

Sitolitik lektinlere, ne bitkilerde ne de *Amanita phalloides* ve *Laetiporus sulphureus* (Tateno ve Goldstein, 2003) mantarları dışında başka mantarlarda rastlanmıştır. *Amanita virosa* mantarıyla yakın zamanda yapılan bir çalışmada en az iki tane yüksek derecede toksik protein (hemolitik lektin ve Toxovirin) elde edilmiş ve bunların memeli lösemi hücrelerinin canlılıklarını düşürdüğü, büyümelerini baskıladığı gözlenmiştir. *A. virosa* lektini, *A. phalloides* lektininden farklı olarak, kırmızı kan hücrelerine karşı yüksek hemolitik aktivite göstermiştir. Böylece memeli lösemi hücrelerine ve insan T hücrelerine (CEM T4 ve Jurkat hatları) karşı sitotoksik etkiye sahip yeni bir Lektin keşfedilmiştir (Antonyuk vd., 2010).

Thelephora aurantiotincta mantarının etanol çözücüsü ile elde edilen ekstresinin, insan hepatosellüler karsinom hücresinin (HepG2) canlılığını azalttığı gözlenmiş. Bu ekstreden izole edilen thelephantin O ve vialinin A'nın etkili bileşenler olduğu ve insan kolon karsinom (Caco2) ve HepG2 hücrelerine karşı seçici sitotoksik etki gösterdiği, normal insan hepatosit hücrelerine sitotoksik olmadığı sonucu elde edilmiştir (Norikura vd., 2011).

Lezzetleri dolayısıyla dünya çapında sevilerek tüketilen *Calvatia lilacina* (CL), *Pleurotus ostreatus* (PO) ve *Volvariella volvacea* (VV) mantarlarının Tayvan'da bir grup bilim adamı tarafından yürütülen çalışma ile antikanser etkilerinin araştırılması sonucu; CL, PO ve VV protein ekstratlarının, insan kolorektal adenokarsinom ve insan monositik lösemi hücrelerine karşı tedavi edici etkisi olduğu belirlenmiştir (Wu vd., 2011).

Cordyceps militaris mantarı çok uzun zamandan beri doğu Asya'da kanser hastalarının tedavisinde kullanılmaktadır. Bu mantardan izole edilen *Cordyceps militaris* protein (CMP) *Fusarium oxysporum* mantarına karşı güçlü antifungal etki göstermişken, aynı zamanda insan meme ve mesane kanser hücrelerine karşı da sitotoksik etkiye sahip olduğu görülmüştür (Park vd., 2009).

Beş farklı yenebilir mantar türüyle (*Termitomyces clypeatus*, *Pleurotus florida*, *Calocybe indica*, *Astraeus hygrometricus* ve *Volvariella volvacea*) yapılan bir çalışmada, bu türlerden elde edilen protein fraksiyonlarının apoptozis yoluyla, çeşitli tümör hücrelerinde yol açtıkları antiproliferatif etki gözlenmiştir. En yüksek immunostimülatör aktivite *T. clypeatus*; en yüksek antiproliferatif etki ise *C. indica* türlerinde görülmüştür (Maiti vd., 2008).

Kore'de doğal olarak yetişmekte olan *Boletus pseudocalopus* mantarı üç yeni Grifolin türevi bileşenlerin kaynağını oluşturmaktadır. Metanol ile elde edilen ekstresinden izole edilen 9 farklı bileşenin etkilerine bakıldığında, 6. bileşen dışında tüm bileşenlerin insan akciğer karsinom A549 ve fare melanom B16F1 hücrelerine karşı antikanser etki gösterdiği belirlenmiştir (Song, 2009).

Dünyada tıbbi amaçlı kullanılan en önemli makro mantar türlerinden birisi de ölümsüzlük mantarı olarak bilinen *Ganoderma lucidum*'dur. Bu mantar, bünyesinde birçok rahatsızlığın şifasını barındırmaktadır; anti-tümör (Muller, 2006; Liu, 2009), antimikrobiyal (Wang ve Ng, 2006), antiviral (özellikle anti- HIV aktivitesi) (Min vd., 1998) ve yaşlanmayı geciktirici (Shieh, 2001) etkileri gibi. Yakın zamanda yapılan bir çalışmada, *Ganoderma lucidum* mantarından izole edilen 43 triterpenoid'den 6 yeni bileşen izole edilmiştir. Geri kalan 37 tanesi (ganodermediol, ganoderic acid DM, ganoderenic acid F, ganodermanondiol, lucidadiol, lucidumol A, ganodermanontriol, ganoderiol F, lucideric acid A, ganoderic acid D, lucidone A, ganolucidic acid E, ganoderic acid F, ganoderenic acid D, ganoderic acid E,

ganoderenic acid A, ganoderic acid J, ganoderic acid B, ganoderic acid A, ve diğeri) önceden keşfedilmiş olan yapıları belirlenmiş bileşenlerdendir. 43 farklı triterpenoid'in insan servikal kanser hücresi (HeLa) 'ne karşı etkilerine bakılmış ve yapısı bilinenlerden 15a,26-dihydroxy-5a-lanosta-7,9,24(E)-trien- 3-one, lucidadiol ve ganoderiol F güçlü sitotoksik aktivite göstermiş olup, yeni bulunan altı triterpenoid'den üçü ise çok güçlü olmasa da azaltıcı etki göstermiştir (Cheng, 2010). Bu çalışmada elde ettikleri sonuçlara göre; ganoderik alkoller, ganoderik asitlere kıyasla daha güçlü sitotoksik aktivite sergilemiştir.

Mantarlar aleminde, Polyporaceae ailesinden çeşitli türler, yeni ilaçların kaynağı olarak görülmektedir. Birkaç farklı çözücü (etil asetat, metanol, su) kullanılarak elde edilen ekstrelerinin etkilerine bakılan *Phellinus rimosus* polipor mantarının, test edilen hücre hatları üzerinde sitotoksik ve antitümör aktiviteleri belirlenmiştir. En yüksek antitümör aktiviteye sahip ekstre olarak etil asetat ekstresi kayda geçmiştir. Etil asetat ve metanol ekstrelerinin Dalton's lenfoma asit (DLA) ve Ehrlich's asit karsinom (EAC) hücrelerine karşı sitotoksik aktivitesi belirlenmesinin yanında su kullanılarak elde edilen ekstrenin sitotoksik aktivitesi görülmemiştir. Fakat üç ekstrenin de fare Dalton's lymphoma ascites tümör hücresinin büyümesini baskıladığı kaydedilmiştir (Ajith ve Janardhanan 2003).

Mantarlar üzerine yapılan başka bir çalışmada, *Funalia trogii* mantarı kullanılmış ve su kullanılarak elde edilen ekstresinin; prostat (LNCaP ve PC3), kolon (HT29), meme (MCF7 ve MDA-MB-231) tümör hücreleri üzerinde sitotoksik aktiviteye sahip olduğu görülmüştür. Araştırma sonuçlarına göre *F. trogii* ekstresi kanser hücrelerinde apoptozise yol açarak ölümüne sebep olmuştur. En önemli yanı ise tümör hücreleri üzerine sitotoksik etkiye sahipken fibroblast ve endotelial hücreleri üzerine toksik etkisi görülmemiştir (Rashid vd., 2011).

Portekiz yerel mantarlarından *Clitocybe alexandri* ve *Lepista inversa* ile insan tümör hücreleri üzerine yapılan araştırmada her iki mantarın da biyoaktif bileşenlerin kaynağını oluşturduğu görülmüştür. *L. inversa* mantarının lösemik T hücre hattı (K-562), glioma (U251), prostat (DU145), meme (MCF-7) kanser hücrelerine karşı sergilediği sitotoksik etkisine (Bézivin vd., 2002) ilaveten antioksidan aktivitesi keşfedilmiştir. *C. alexandri* fenolik ekstresinin ise akciğer, meme, kolon ve mide

kanser hücreleri büyümesi üzerine baskılayıcı etkiye sahip olduğu görülmüştür (Vaz, 2010).

Agaricus bisporus mantarı, ülkemizde en çok bilinen ve tüketilen mantar türlerinden olup, kültür mantarı olarak adlandırılmaktadır. *Agaricus bisporus* mantarı üzerine yapılan *in vivo* ve *in vitro* deneyleri kapsayan bir çalışmada; ana bileşeni olan konjuge linoleik asit (CLA) içeren ekstresinin prostat kanser hücreleri üzerine proliferasyonunu baskılayıcı etkisi olduğu belirlenmiştir. Ayrıca DU-145 ve PC-3 tümör hücresi boyutları ve hücre proliferasyonunda önemli oranda azalmaya yol açtığı görülmüştür (Adams, 2008).

Yapılan başka bir araştırmada, Avustralya'da yetişen 15 farklı mantar türünün, farklı ekstreleri kullanılarak biyoaktiviteleri değerlendirilmiştir. Bu deneyler sonucunda; etkili türler olarak belirlenen *Omphalotus nidiformis*, *Cordyceps cranstounii* ve *Cordyceps gunnii* mantar ekstreleri HT-29, MDA-MB-231, MCF7 ve AGS hücrelerini içeren çeşitli hücre hatlarına karşı sitotoksik aktivite göstermişlerdir. *Coprinus comatus*, *Cordyceps hawkesii*, *Hypholoma fasciculare*, *Lepista nuda*, *Leratiomyces ceres* ve *Ophiocordyceps robertsii* mantarları ise etkili türlerden olup, bazı ekstrelerinde bir ya da iki kanser hücresine karşı sitotoksik etki belirlenmiştir (Beattie, 2011).

Zehirli mantarlardan *Naematoloma fasciculare* ile *in vivo* ve *in vitro* koşullarda yapılan deneylerde ise, MCF-7 (meme kanseri) kanser hücresi proliferasyonunu önemli düzeyde baskıladığı, *in vivo* koşullarda ise NFPPF aktif fraksiyonunun H₂₂ (hepatoselüler karsinom) tümör büyümesini %69.42 oranına kadar baskıladığı görülmüştür (Yan, 2009).

Pleurotus ostreatus mantarı hücre içi ve hücre dışı polisakkaritlerinin ayrı ayrı etkileri incelendiğinde, insan karsinom hücrelerinin büyümesini hücre içi polisakkaritler %10-35; hücre dışı polisakkaritler ise %15-60 oranında baskıladığı görülmüştür. Dört farklı hücre hattından en çok etkilenen hücre hattı RL95 (%60), en az etkilenen ise HCT116 (%10) hücresi olmuştur (Silva, 2012).

Tayvan'a özgü bir mantar olan *Taiwanofungus camphoratus*, geleneksel olarak halk arasında tedavi amaçlı kullanılmakta olan mantar türlerindedir. Farklı çözücüler kullanılarak yapılan ekstraksiyonu sonucunda bu mantardan, sitotoksik aktivite

potansiyeline sahip çeşitli bileşenler (terpenoidler, maleik ve suksinik asit türevleri, polisakkaritler ve diğerleri) elde edilmiştir. Sitotoksikite özelliğine ek olarak *T. camphoratus* mantarının, trichostatin A (TSA), lovastatin ve taxol ile birlikte sinerjik antikanser etki sergilediği keşfedilmiştir (Chen, 2010).

Günümüze dek yapılan araştırmalara bakıldığında, medikal özellikteki mantarların tedavi edici kapasiteleri yüzyıllardır bilinmekte ve uygulanmaktadır. Yaklaşık olarak bilinen 15000 mantar türünden, 2000 mantar türü insan tüketimi için güvenli ve 650 mantar türü ise medikal özelliğe sahiptir (Wasser, 2002). Ancak günümüzde yalnızca 20 mantar türü klinik olarak kullanılmaktadır. Tüm bu yapılan araştırmalarla ve edinilen bilgilerle, gelecekte çok daha fazla mantar türü ilaç kaynağı olarak kullanılabilir, birçok hastaya doğal şifa kaynağı olabilecektir. Özellikle sayısı günden güne artan kanser hastaları için birçok yıpratıcı yan etkiye sahip (kemik iliğinin baskılanması ile kemik iliğinde üretilen akyuvarların (lökositlerin), alyuvarların (eritrositlerin), trombositlerin sayısının düşmesi dolayısıyla halsizlik) kemoterapi gibi tedavilere kıyasla yan etkisi neredeyse olmayan ve bağışıklık sistemini aktive ederek etki gösterebilen doğal fungal maddeler tedavilerde daha sıklıkla kullanılabilir hale getirilebilmelidir.

2. MALZEME VE YÖNTEM

2.1. Malzeme

2.1.1. Hücre hatları

Sitotoksik aktivite tayini için kullanılan; K-562 (kronik myeloid lösemi hücre hattı), DU-145 (prostat kanseri), PC-3 (prostat kanseri), A-549 (akciğer kanseri), CCC-221 (kolon kanseri), MCF-7 (meme kanseri) ve BEAS-2B (sağlıklı epitel hücresi) hücre hatları Doç. Dr. Yusuf BARAN' dan (İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü) temin edilmiştir.

2.1.2. Bakteri suşları

Antimikrobiyal aktivite tayini için kullanılan; *Escherichia coli* ATCC 11230, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 29212, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538/P, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Micrococcus luteus* NRRLB-4375 ve *Streptomyces albus* CIP104432 suşları, Doç.Dr. Nurettin ŞAHİN' den (Muğla Üniversitesi Eğitim Fakültesi) temin edilmiştir.

2.1.3. Makro mantar türleri ve genel özellikleri

Tez çalışmamızda kullanmış olduğumuz makro mantarlar; Ascomycota ve Basidiomycota şubelerinde yer alan, Muğla ili ve ilçelerinden toplanmış mantar türlerindedir. Çalışma kapsamında kullanılan mantarların sınıflandırılması ve genel özellikleri aşağıda verildiği gibidir.

Cantharellus cibarius;

Şube: Basidiomycota
Sınıf: Agaricomycetes
Takım: Cantharellales
Aile: Cantharellaceae
Cins: Cantharellus



Şekil 2.1. *Cantharellus cibarius* sistematığı ve basidiyokarpı

Cantharellus cibarius mantarı; yenen bir tür olup, özellikle kayın, köknar ve meşe ormanlarında yayılış göstermektedir. Mantarın rengi sarımsı beyazdan, yumurta sarısı rengine kadar değişmekte olup; 3-10cm çapında şapkaya, 3-5 cm boyunda ve 1-2 cm çapında sap kısmına sahiptir. Lamelleri sapa dekurrent olarak bağlanmakta ve sap üzerinde 1-1,5 cm kadar devam etmektedir. Eliptik şekilli sporları , 8–10 x 4,5–5,5µm boyutundadır (Breitenbach ve Kränzlin, 1986).

Clitocybe geotropa;

Şube: Basidiomycota
Sınıf: Basidiomycetes
Takım: Agaricales
Aile: Tricholomataceae
Cins: Clitocybe

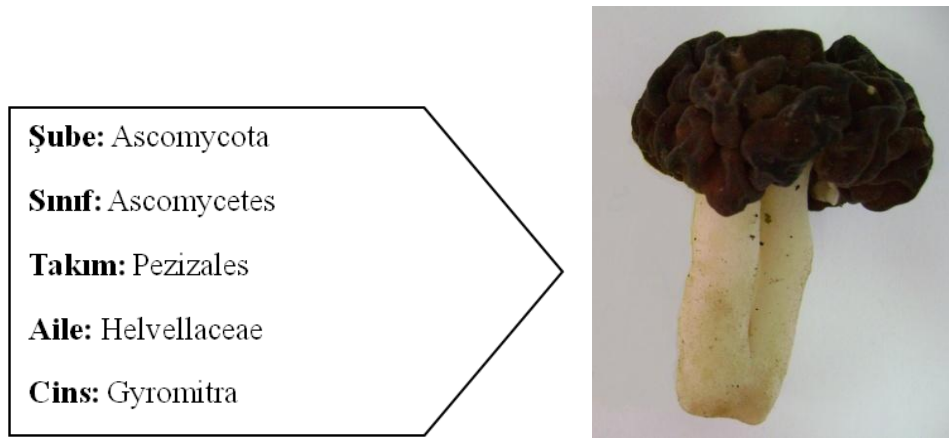


Şekil 2.2. *Clitocybe geotropa* sistematığı ve basidiyokarpı

Clitocybe geotropa mantarı; yenen mantar türlerinden olup, Kuzey Amerika ve Avrupa'da sonbahar mevsiminde yayılış göstermektedir. Konifer ve yaprak döken ormanlarda, çayırılık alanlar içinde yetişmektedirler. Halk arasında 'etçe' ismiyle

bilinmekte olan mantar, 4-15cm boyutunda, gençlerde sarımsı kahverengi, gelişmiş mantarlarda ise krem-bej renkte şapkaya sahiptir. Kenarlar sapa doğru kıvrıktır. Lamelleri, krem-bej rengindedir ve sapa dekurrent olarak bağlanmaktadır. Sapları 3-13cm , silindirik ve krem renklidir. Sporları 6,5-7,5×5,5-6,5µm boyutlarında, silindirik ve krem renklidir (Breitenbach ve Kränzlin, 1991).

Gyromitra esculenta;



Şekil 2.3. *Gyromitra esculenta* sistematığı ve askokarpı

Gyromitra esculenta mantarı; Kuzey Amerika ve Avrupa'da, özellikle çam ormanlarında kumlu toprak üzerinde veya kesilen ağaç kalıntıları etrafında tek tek veya gruplar halinde yetişmektedir. İlkbaharda Mart-Mayıs ayları arasında yayılış gösteren bu mantar, 3-9×5-9cm ebatlarında, beyin şekline benzeyen girintili ve çıkıntılı yapıda, kahverengi, yer yer açık grimsi renkli şapkaya sahiptir. Sap kısmı ise, 4-6cm uzunluğunda, silindirik, beyaz, yüzeyi düzensiz kıvrımlı, ince granüllü ve içi boştur. Sporları 17-23×9,5-14,5µm boyutlarında, düz, eiptik, hiyalindir. Literatüre göre çiğ yendiği zaman zehirli olduğu, fakat ısıyla muamelesinden sonra yendiğinde hayati tehlike içermediği belirtilmektedir. Halk arasında 'kuzu göbeği ebesi', 'karatak', 'pelvize' isimleri ile bilinmektedir (Breitenbach ve Kränzlin, 1984).

Lactarius delicious;

Şube: Basidiomycota
Sınıf: Agaricomycetes
Takım: Russulales
Aile: Russulaceae
Cins: Lactarius



Şekil 2.4. *Lactarius delicious* sistematığı ve basidiyokarpı

Lactarius delicious mantarı; yenen mantar türlerindedir. Özellikle ülkemizde sevilerek tüketilen, lezzetli bir mantardır. Halk arasında 'çintar' ismiyle bilinen bu mantar, 5-15cm çapında, üzerinde farklı renk tonlarında meydana gelen konsantrik daireleri olan, koyu ve açık olmak üzere turuncunun değişik tonlarında şapkaya sahiptirler. Gelişmiş mantarlarda yeşilimsi lekeler meydana gelmektedir. Mantarın kırılması, kesilmesi, zedelenmesi ile açığa çıkan sütü, turuncu renkli olup, 1 saat sonra sarımsı, 2-3 saat sonra ise mavimsi yeşile dönmektedir. Genç mantarlarda kayısı renginde, gelişmişlerde koyulaşarak havuç rengine dönen, sap üzerinde ilerleyerek sonlanan dekurrent lamelleri vardır. Sarımsı turuncu renkte, üzerinde daha koyu renkte lakünler olan sapları ise 3-5cm, silindirik olup, genç mantarlarda içi dolu, gelişmişlerde ise ortası oyuktur. Sporları, 6-10×5-7µm boyutlarında, elips şeklindedir (Breitenbach ve Kränzlin, 2005).

Melanoleuca excissa;

Şube: Basidiomycota
Sınıf: Agaricomycetes
Takım: Agaricales
Aile: Tricholomataceae
Cins: Melanoleuca



Şekil 2.5. *Melanoleuca excissa* sistematığı ve basidiyokarpı

Melanoleuca excissa mantarı; yenilebilir mantar türlerinden olup, bahar aylarında parklarda, bahçelerde, çimenler arasında, orman kenarlarında yayılış göstermektedir. Şapkası 4-7cm çapında olup, yüzeyi düz ve ince tüylü, gri renkte merkezi ise koyu renktedir. Beyaz-kahverengi beyaz, şapka merkezinde kalın, kenarlarda ince, çimen kokusunda etli kısma sahiptir. Lamelleri, önce beyaz sonra kreme dönmektedir ve sapa girinti yaparak bağlanmaktadır. Mantarın sap kısmı, 4-6cm boyunda silindirik, tabana doğru kalınlaşan, yüzeyi boyuna fibrilli yapıda ve bej-kahverengimsi renktedir. Eliptik, 7-9×4,5-5µm boyutunda spor üretmektedir (Breitenbach ve Kränzlin, 1991).

Ramaria flavescens;

Şube: Basidiomycota
Sınıf: Agaricomycetes
Takım: Gomphales
Aile: Gomphaceae
Cins: Ramaria



Şekil 2.6. *Ramaria flavescens* sistematığı ve basidiyokarpı

Ramaria flavescens mantarı; yenen mantar türlerindedir. Avrupa'da, bahar aylarında çam ormanlarında, çimler ve bitkiler arasında yayılış göstermektedir. Bazidyokarpı mercan benzeri çok yönlü dallı olup, 10-20cm genişliğinde, 10-15cm yüksekliğindedir. Dallanmamış ana gövde kısmı 7cm, uçtaki dallar 1,5-3cm kalınlığında, yan dallar ana gövdeden U veya V şeklinde yükselmekte olup, tabanı genellikle yumru şeklinde şişkinleşmiştir. Etlı kısım içi dolu, nazik yapılı ve kırılıgandır. Çok miktarda ana gövde yan yana toplu halde bulunmaktadır. Sporları eliptik şekilli, 9-13×4-5,5µm boyutundadır (Breitenbach ve Kränzlin, 1986).

Sarcosphaera crassa;

Şube: Ascomycota
Sınıf: Pezizomycetes
Takım: Pezizales
Aile: Pezizaceae
Cins: Sarcosphaera



Şekil 2.7. *Sarcosphaera crassa* sistematığı ve askokarpı

Sarcosphaera crassa mantarı; yenen mantar türlerindedir, fakat zehirli mantar grubundandır. Asıl yayılış kökeni Kuzey Amerika olmasına rağmen Avrupa'da da bu mantara rastlanmaktadır. Kozalaklı yada yaprak döken ağaçların altında, özellikle güneş alan yerlerde, kalkerli topraklar üzerinde gruplar halinde yetişmekte olup, bahar aylarında yayılış göstermektedir. Mantar, 5-15cm genişliğinde askokarpa sahiptir, genç mantarın fruktifikasyon organı oldukça düzensiz gelişmiş küre benzeri bir şekildedir. İç ve dış tarafı aynı renkte olup, kirli beyaz veya sarımsı kahverengidir. Başlangıçta tamamen kapalı olan mantarın gelişmesiyle tepe kısmında düzensiz bir açıklık meydana gelmektedir. Sapı yoktur ve toprağa doğrudan bağlıdır. Etlı kısmı, beyaz, ince, muma benzer yapıda ve kırılıgandır. Beyaz, krem yada sarımsı renkte 12-14×6-8µm boyutlarında, geniş, eliptik ve düz spor üretmektedir (Breitenbach ve Kränzlin, 1984).

Stereum hirsutum;

Şube: Basidiomycota
Sınıf: Basidiomycetes
Takım: Russulales
Aile: Stereaceae
Cins: Stereum



Şekil 2.8. *Stereum hirsutum* sistematığı ve basidiyokarpı

Stereum hirsutum mantarı; yenmeyen mantar türlerinden olup Avrupa'da yayılış göstermektedir. Geniş yapraklı ağaçların dalları ve küçük parçalar üzerinde yetişmektedir. Bazidyokarpları, 2-10cm çapında, 1-2mm kalınlığında, yarım daire-yelpaze şeklinde, kabuğumsu yapıda ve birbirine bağlı gruplar halinde gelişmektedir. Yüzeyleri derimsi ve ince tüylüdür. Sarımsı portakal renkli, zemin üzeri gri beyaz tüylü olup, kenar kısmı dalgalı, şişkindir. Sap taşımazlar. Beyaz renkte, 5-7×2,5-3µm boyutlarında, eliptik-silindirik, düz, amiloid ve hiyalin spora sahiptirler. Geniş yapraklı ağaçların kesilmiş odunlarında beyaz çürüklüğe sebep olan bazen de canlı ağaçların yaralı kısımlarında parazit hale geçen oldukça yayılmış bir saprofittir. Ülkemizde kayın, gürgen, kavak, kestane ve kızılbaş odununda yaygındır, özellikle meşe odun materyalinde kesit yüzeyi ve kabuk yarıklarından içeri işleyerek diri odunu tahrip edip yıllarca yaşamaktadır (Breitenbach ve Kränzlin, 1986).

Trametes versicolor;

Şube: Basidiomycota
Sınıf: Agaricomycetes
Takım: Polyporales
Aile: Polyporaceae
Cins: Trametes



Şekil 2.9. *Trametes versicolor* sistematığı ve basidiyokarpı

Trametes versicolor mantarı; yenmeyen mantar türlerinden olup, genellikle kozalaklı ağaçlar üzerinde yaşayabilen, dünya genelinde yaygın bir parazittir. Ölü veya kurumak üzere olan yapraklı, nadiren de ibrelili ağaçların kütük ve gövdeleri üzerinde toplu şekilde gelişmektedir. Yılın her dönemi rastlanabilen bir türdür. Bazidyokarpları, 3-10cm uzunluğunda, 3-5cm genişliğinde, raf benzeri, birbiriyle birleşmiş iç içe halkalar biçiminde dizilmektedir. Yüzeyleri, ince tüylü ve değişik zonlara sahip, konsantrik renkli halkalar şeklinde dizilişli, yeşil, gri, mavi, kahverengi, sarı, pas sarısı renkteki kuşaklar kenarlarda krem veya beyaz renkli bir kuşakla çevrilmektedir. Bu şekliyle hindi kuyruğuna benzetilmektedir. Mantar, 5-7,5×1,5-2,5µm boyutlarında, uzun-silindirik, hiyalin, düz spor üretmektedir (Breitenbach ve Kränzlin, 1986).

Morchella;

Şube: Ascomycota
Sınıf: Pezizomycetes
Takım: Pezizales
Aile: Morchellaceae
Cins: Morchella



Şekil 2.10. *Morchella* grupları sistematığı ve askokarpları
(M1): *Morchella* sp. , (M2): *M. angusticeps*, (M3): *M. rotunda*, (M4): *M. eximia*, (M5): *M. deliciosa*,
(M6): *M. distans*, (M7): *M. sp.* , (M8): *M. esculenta*

Morchella cinsine ait türler; yenen mantar türlerinden olup, genellikle konifer ormanlarında yaygın olarak bulunan ekonomik öneme sahip türlerdir. Cins ilkbahar cinsi olup ülkemizde coğrafik yapıya bağlı olarak, Şubat-Haziran ayları arasında sıkça rastlanmaktadır. Askokarplarının büyüklüğü, rengi, yapısı türüne hatta varyetesine göre değişiklik gösterebilmektedir. Genel olarak yapısı çubuk üzerine yerleştirilmiş süngerî anımsatmaktadır. Cinsin sporları genellikle 15-25µm arasında eliptik ve hiyalindir. Çalışmamızda morfolojik olarak birbirinden farklı 8 grup Morchella örnekleriyle çalışılmıştır (Breitenbach ve Kränzlin, 1984).

2.1.4. Kimyasallar

Roswell Park Memorial Institute (RPMI)-1640 besiyeri (L-Glutaminli) (Biochrom), Fetal Bovine Serum (FBS) (Biochrom), Penisilin / Streptomisin (Biochrom), Tripsin (Biochrom), Tripan Mavis Solüsyonu (Sigma), Thiazolyl blue tetrazolium bromide (MTT) (Applichem), Dimetil sülfoksit (DMSO) (Applichem), Sodyum Klorür (NaCl) (Merck), Etil Alkol (Merck), Metanol (Merck), Nutrient Broth (Merck), Mueller Hinton Agar (Merck).

2.1.5. Sarf malzemeler

Ekim kapları (25-75-175cm² Flask), 96-kuyucuklu mikrolaka, 5-10 ml'lik tek kullanımlık pipetler ve pipet aid, Steril polipropilen santrifüj tüpleri (15 ve 50' ml hacminde), Eppendorf, steril filtreler, Hemacytometer (Thoma Lamı) (Sigma), Antibiyotik diskleri (Vankomisin, Gentamisin, Meropenem) (Bioanalyse), Whatman No. 4 filtre kağıdı, Test diski (6mm), Mikropipet.

2.1.6. Cihazlar

CO₂'li inkübatör, Laminar akışlı kabin, İverted mikroskop, Işık mikroskobu, Hassas terazi, Benmari su banyosu, Spektrofotometre, İnkübatör, Çalkalayıcı inkübatör, Evaporatör, Soğutmalı ve yüksek devirli santrifüj, Vorteks, Manyetik karıştırıcı, pH metre.

2.2. Yöntem

2.2.1. Mantar ekstralarının hazırlanması

Araştırmada kullanılan mantarlar Muğla çevresinden toplanmış olup, tanımlanmaları Muğla Üniversitesi, Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Araş. Gör. Hayrünisa Baş Sermenli tarafından yapılmıştır.

Taze mantarlar birkaç parçaya bölünerek 40°C'lik inkübatörde kurutulmuştur. Kuru mantar örneği (30gr) , 300 ml metanol içinde etrafı alüminyum folyo ile sarılmış bir şekilde, sıcaklığı ayarlanabilen çalkalayıcı inkübatörde 150rpm ve 30°C'de, belirli aralıklarla çözücüsü uzaklaştırılıp ekstralarının toplanması şeklinde 7 gün ekstraksiyona maruz bırakılmıştır. Çözücüsü alındıktan sonra kalan numuneye metanol eklenerek yedinci gün sonuna kadar ekstraksiyonuna devam edilmiştir. Elde edilen ekstralar Whatman No. 4 filtre kağıdı ile filtreden geçirildikten sonra kalan metanol evaporatörde vakum altında (45°C) uzaklaştırılmıştır (Turkoglu vd., 2007; Ramesh ve Pattar, 2010). Evaporasyondan sonra kalan numunenin çözücüsünün tamamen uzaklaştırılabilmesi ve uzun süreli kullanımı amacıyla çeker ocakta, steril koşullarda ekstraların tamamen kuruması sağlanıp, kullanılıncaya kadar +4°C'de buzdolabında saklanmıştır.

2.2.2. Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi

Antimikrobiyal aktivitenin tespiti için, elde edilen mantar ekstralarının farklı konsantrasyonları disk difüzyon yöntemiyle çeşitli test mikroorganizmalarına (*Escherichia coli* ATCC 11230, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 29212, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538/P, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Micrococcus luteus* NRRLB-4375, *Streptomyces albus* CIP104432) uygulanmıştır.

Öncelikle mikroorganizma suşları Nutrient Broth' a inoküle edilmiş ve 24 saat, +37°C'de inkübasyona bırakılmışlardır. İnkübasyon süresinin bitiminde mikroorganizmaların, otoklavlanmış ve sıcaklığı 45°C'ye indirilmiş Muller Hinton Agar'a, Mc Farland 0.5 (Mc Farland 0,5 bulanıklığı, yaklaşık olarak 1ml'de $1,5 \times 10^8$ hücre içeren *E. coli* süspansiyonuna karşılık gelir) standardına uygun şekilde, dökme plak yöntemiyle ekimleri yapılmıştır.

Ticari olarak satılan antibiyotikler (Vancomycin, Gentamisin, Meropenem) pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Ekstrelerimizin elde edilmesinde kullanılan metanol, negatif kontrol olarak kullanılmış ve disklerle emdirilerek petrilere ilave edilmiştir. Altı mm çapındaki steril disklerle konsantrasyonu 4mg/disk olacak şekilde farklı ekstrelerden 20µl emdirilerek petri kaplarına yerleştirilmiştir. Bu şekilde hazırlanan petri kapları 4°C'de 2 saat bekletildikten sonra, 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda besiyeri üzerinde disk çevresindeki inkübasyon zonları mm cinsinden ölçülmüştür. Aynı zamanda antibiyotik ve negatif kontrol disklerinin inhibisyon çapları da ölçülmüştür.

2.2.3. Hücre kültürü

Hücre kültürü çalışmaları için öncelikle, *in vivo* çevrelerinin dışında, hücrelerin canlılığını ve fonksiyonelliğini devam ettirebilmek için, hücrenin canlılığını ve büyümesini sağlayacak bir ortamda, hücreleri temiz, beslenmiş ve artıklarından uzak tutarak, hücrelere sağlıklı bir kültür ortamı sağlanmalıdır.

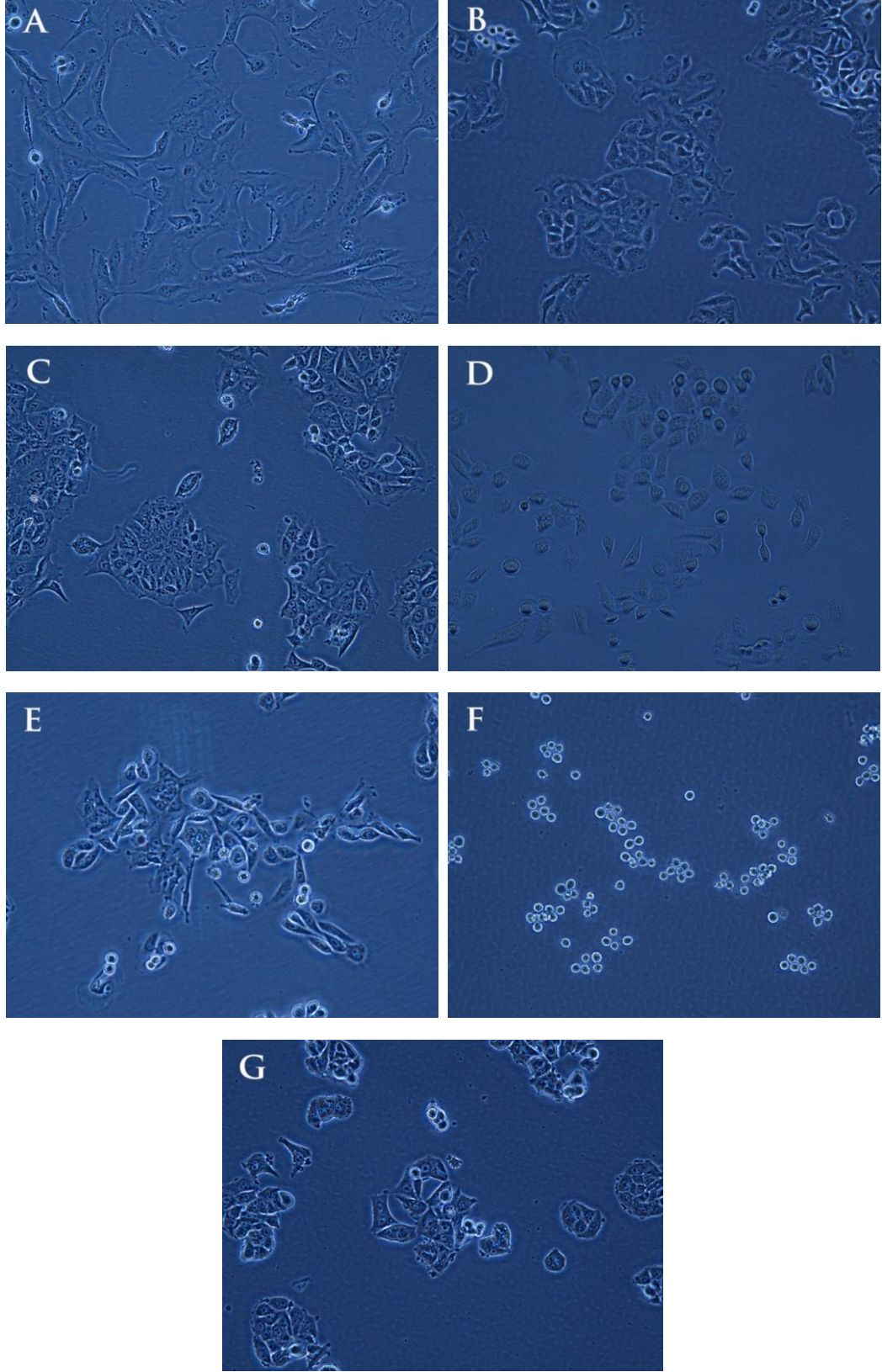
Hücre kültürü çalışmaları, bütün kimyasallar, diğer malzeme ve ekipmanların steril olmasını gerektirmektedir. Steriliteyi devam ettirebilmek için her zaman aseptik teknikler kullanılmalıdır. Patojenlerin hücre kültürüne işgalini indirgemek veya yok etmek amacıyla aseptik teknikler ve steril malzemeler kullanılmalıdır.

Kültür ortamında; hücrenin normal metabolizması için gereksinim duyduğu, vitaminler ve aminoasit gibi besinler, glukoz gibi enerji kaynağı bulunmalıdır. Ayrıca hücrelerin büyümesi için, büyüme faktörleri, hormonlar ve yağ kaynağının olması zorunludur. Bunların çoğu, medyuma serumun eklenmesi ile sağlanmaktadır. Kullanılmadan önce serumun muameleden geçirilmesi gerekmektedir. Su banyosunda, 56°C'de 30 dakika bekletilerek serumun ısı inaktivasyonu sağlanır. Böylece serum, hücre kültürüne eklendiğinde herhangi bir immün reaksiyon oluşmayacaktır. Standart medyumun en duyarlı içeriği Glutamin aminoasitidir. Bu aminoasit pek çok memeli hücre tarafından ihtiyaç duyulan bir aminoasittir fakat yarıömürü kısadır. Eğer yarıömüründen daha uzun süre kullanılacak besi ortamı hazırlanacaksa bu besi ortamı Glutaminsiz hazırlanmalı ve besi ortamı kullanılacağında Glutamin eklenmelidir.

Hücre kültürü deneylerimizde, hücre hatlarının kültürü için, kararlı Glutamin bileşenini hazır halde içeren, sıvı *Roswell Park Memorial Institute* (RPMI)-1640 medyumu (2.0 g/l NaHCO₃ içeren) kullanılmıştır. Serum olarak *fetal bovine serum* (FBS) kullanılmış ve konsantrasyonu, medyumun %10'u olacak şekilde ayarlanarak, medyuma ısı inaktivasyonu gerçekleştirildikten sonra ilave edilmiştir. Medyuma ek olarak, genellikle kullanılan hücrelere toksik olmadığından ve daha geniş etkiye sahip olduğundan dolayı Penisilin-Streptomisin (10000U/ml / 10000mg/ml) antibiyotiği, son konsantrasyonu 100U/ml / 100mg/ml olacak şekilde ilave edilmiştir (Carmichael vd.,1987).

Normal hücre canlılığı için hücrelerin uygun pH'da büyütülmesi gerekmektedir. Bu pH 7,2-7,4 aralığında olmalıdır. Buna ilaveten kültüre alınmış hücreler, onların normal canlılıklarını sürdürebilmek için doğru sıcaklık, uygun nem ve gaz seviyesini sağlayan uygun bir ortamda bulundurulmalıdır.

Bu çalışmada, 6 farklı kanser hücre hattı ve bir normal hücre hattı kullanılmıştır; **DU-145** (prostat kanseri), **PC-3** (prostat kanseri), **A-549** (akciğer kanseri), **CCC-221** (kolon kanseri), **MCF-7** (meme kanseri), **K-562** (kronik myeloid lösemi hücre hattı) ve **BEAS-2B** (sağlıklı epitel hücresi) (Şekil 2.11). Hücreler yukarıda belirtildiği şekilde hazırlanan besi ortamında, 37°C'de %5 CO₂, %95 hava içeren nemlendirilmiş inkübatörde kültüre alınmışlardır.



Şekil 2.11. Çalışılan hücre hatları (20X)
(A) BEAS-2B hücre hattı, (B) A-549 hücre hattı, (C) CCC-221 hücre hattı, (D) DU-145 hücre hattı, (E) PC-3 hücre hattı, (F) K-562 hücre hattı, (G) MCF-7 hücre hattı

2.2.3.1. Hücrelerin MTT testi için hazırlanması

Uygun koşullarda çoğalmaya bırakılan yapışkan (adherent) hücreler flask yüzeyini %80 oranında kapladıkları zaman Tripsin-EDTA ile muamele edilerek hücre kültür kabının (flask) tabanından kaldırılmıştır. Tripsinizasyon olarak tanımlanan bu işlemde, hücre kültürü besi ortamı uzaklaştırılıp hücreler PBS ile (pH=7,4) yıkanmıştır. Yıkama işleminden sonra, hücrelerin tam yüzeyini kaplayacak şekilde tripsin eklenerek 15-30 saniye bekletilmiş ve birkaç damla kalacak şekilde tripsin uzaklaştırılmıştır. Hücre tipine bağlı olarak 2-5 dakika inkübatörde bekletilerek hücrelerin yüzeyden kalkması sağlanmıştır. İnkübasyondan sonra 10ml besi ortamı (%10FBS, 100mg/ml streptomisin ve 100u/ml penisilin içeren RPMI-1640) eklenip hücrelerin tek tek ayrılması için birkaç kez pipetlenmiştir. Hücre süspansiyonu 15ml'lik falcon tüpüne transfer edilerek 800rpm'de 6 dakika santrifüjlenmiştir. Süpernatant uzaklaştırıldıktan sonra, hücreler 2 defa yıkanmış ve yeni besi ortamında süspansiyon haline getirilmiştir. Daha sonra *tripan mavisi metodu* kullanılarak, hemositometre yardımıyla hücre sayımı gerçekleştirilmiştir. Bu metod ile hücre canlılığının %95 üzerinde olduğu saptanmıştır. MTT deneyi için hücre sayısı, 96 kuyucuklu hücre kültürü plakalarının her bir kuyucuğunda 2×10^4 hücre/ml olacak şekilde ayarlanmıştır. Hücrelerin yapışması ve yeni ortama alışması için 37°C'de 24 saat inkübe edilmişlerdir. 24 saat inkübasyon süresi sonunda hücrelerin üzerine ekstrelerin sitotoksik etkilerini belirlemek üzere 8mg/ml konsantrasyonunda ekstreler ilave edilip, 72 saat 37°C'de CO₂ inkübatöründe inkübe edilmiştir (Maiti, 2008). Bu deneylerin devamı olarak etkili ekstrelerin, etki aralığını belirleyebilmek amacıyla, 8mg/ml, 4mg/ml, 2mg/ml, 1mg/ml, 0,5mg/ml, 0,25mg/ml, 0,125mg/ml olmak üzere ekstrelerin farklı dozları uygulanmıştır.

2.2.3.2. Hücre büyümesinin MTT ile belirlenmesi

Elde edilen mantar ekstrelerinin antitümör etkileri çeşitli kanser hücrelerinin büyümeleri üzerinde etkileri incelenerek belirlenmiştir. Hücreler mantar ekstreleriyle muamele edildikten sonra, *in vitro* tetrazolium'a dayalı renk metodu, hücre büyümesini tespit etmek için kullanıldı. Bu metod, metabolik olarak aktif hücrelerin mitokondrial enzimlerinin etkisiyle sarı renkli suda çözünen substrat olan 3-(4,5-

dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromid'den suda çözünmeyen mor renkli formazan kristallerinin oluşumunu içerir.

Hücre hatları kültür kabını %80 düzeyinde kaplayıncaya kadar büyütüldüler. Tripsinizasyondan sonra, hücreler 96-kuyucuklu mikropalakalara 2×10^4 hücre/ml olacak konsantrasyonda duplike olarak ekilip, %5 CO₂'li inkübatörde, 37°C'de 1 gün inkübasyona bırakılmışlardır.

Mantarlardan elde edilen metanol ekstralarının hücreler üzerinde toksik etkilerini görmek amacıyla, her bir mantar ekstresinden 8mg/ml konsantrasyonunda hücre kültürüne ilave edildi ve hücreler 3 gün inkübasyona tabi tutuldu. İnkübasyondan sonra, besi ortamı uzaklaştırıldı ve 100µl taze besi ortamı ve 10µl MTT (5mg/ml) eklenerek 4 saat inkübasyona bırakıldı (Silva, 2012). Daha sonra, her bir kuyucuğa 100µl DMSO eklenip orbital çalkalayıcıda, 150rpm'de, oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edilip absorbans değerleri, Thermo Multiskan Microplate Spectrophotometer cihazında 540nm dalga boyunda okutuldu (Tim, 1983).

Ayrıca, etkisi görülen mantar ekstralarının etki aralığını belirleyebilmek amacıyla 0,125mg/ml, 0,25mg/ml, 0,5mg/ml, 1mg/ml, 2mg/ml, 4mg/ml ve 8mg/ml olmak üzere farklı dozlarda hücre proliferasyonu üzerinde etkileri araştırıldı.

3. BULGULAR VE İRDELEME

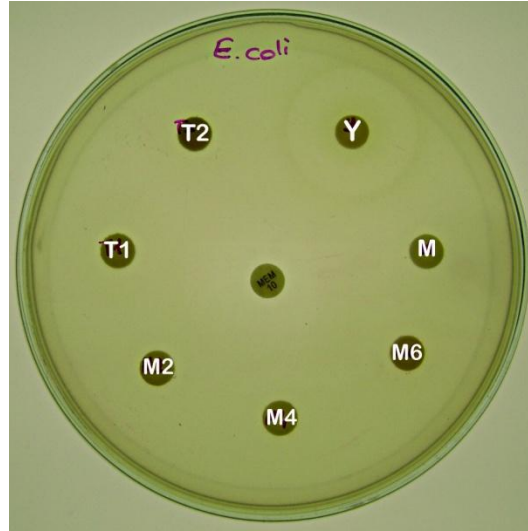
Çalışmada, Muğla ilinin çeşitli bölgelerinden toplanan; *Cantharellus cibarius*, *Clitocybe geotropa*, *Gyromitra esculenta*, *Lactarius delicious*, *Melanoleuca excissa*, *Ramaria flavescens*, *Sarcosphaera crassa*, *Stereum hirsutum*, *Trametes versicolor* ve *Morcella* mantarlarının metanol çözücüsü ile elde edilen ekstreleri kullanılarak çeşitli patojenlere ve insan tümör hücrelerine karşı, antimikrobiyal ve sitotoksik etkileri incelenmiştir.

Literatüre bakıldığında, ekstraksiyon aşamasında kullanılan çözücüye bağlı olarak elde edilen ekstrelerin içeriklerinin farklı olduğu görülmektedir. En polar çözücü olan, su ile elde edilen ekstreler; polisakkaritler, az miktarda protein ve mineralleri kapsayan karbonhidratlar gibi suda çözülebilen bileşenler içerirken, etanol ile elde edilen ekstreler ise; terpenoitler, steroller, yağ asitleri, polipeptitler ve aminoasitler gibi polar ve apolar metabolitleri içerdiği görülmektedir (Beattie vd., 2011). Çözücü olarak polaritesi yüksek metanolün kullanıldığı tez çalışmamızda, seçilmiş mantarlardan elde edilen flavanoidler, askorbik asit, terpenoit ve fenolik içeriğe sahip (Harhaji, 2008; Ramesh ve Pattar, 2010) ekstrelerin *in vitro* koşullarda antimikrobiyal ve antiproliferatif etkilerine bakılmıştır.

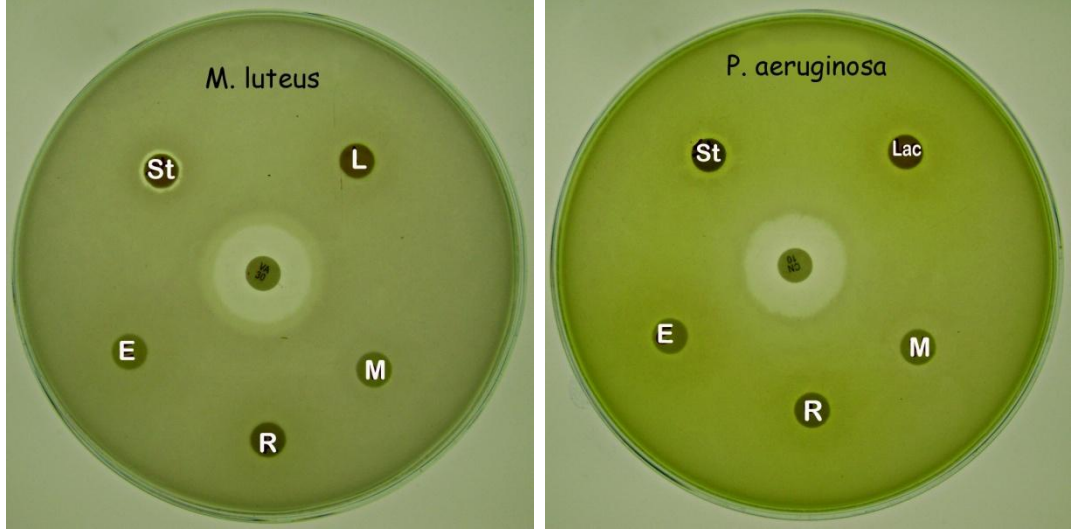
3.1. Test Mikroorganizmalarına Karşı Makro Mantar Ekstrelerinin Antimikrobiyal Aktivitesi

Muğla ilinin çeşitli bölgelerinden toplanan makrofungusların, metanol çözücüsü kullanılarak elde edilen ekstrelerinin, Gr. negatif bakterilerden; *Escherichia coli* ATCC 11230, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 29212 ve Gr. pozitif bakterilerden; *Staphylococcus aureus* ATCC 6538/P, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Streptomyces albus* CIP104432, *Micrococcus luteus* NRRLB-4375 suşlarını içeren test mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal aktivitelerine bakılmıştır.

Metanolik mantar ekstralarının bir tanesi dışında diğelerinin, çalışılan test mikroorganizmalarına karşı mukayese antibiyotiklerine kıyasla yeterli antimikrobiyal etki göstermedikleri belirlenmiştir (izelge 3.1). Disk difüzyon yöntemiyle elde edilen sonuçlara göre, en fazla antimikrobiyal etkiye sahip *M. excissa* mantarı, *E. coli* bakterisine karşı 22mm inhibisyon zonu oluşturarak, mukayese antibiyotiği olan, 23mm inhibisyon zonuna sahip Meropenem ile neredeyse aynı etkiyi göstermiştir (şekil 3.1). Ayrıca *P. aeruginosa* bakterisine karşı 13mm inhibisyon zonu oluşturmuştur. Diğer antimikrobiyal etkiye sahip mantarlardan *C. cibarius* mantarı, *P. aeruginosa*'ya 7mm, *B. subtilis*'e 8mm inhibisyon zonu oluşturarak iki bakterinin üremesini engelleyici etkisi olduğu görölmüştür. *S. hirsutum* ekstresi ise, *P. aeruginosa* ve *M. luteus*'a 8mm, *B. subtilis*'e karşı 9mm inhibisyon zonu oluşturmuştur (şekil 3.2). Gruplara ayrılan *Morchella* ekstralarının 1, 2, 3, 5 ve 6. grupların, *P.aeruginosa* üremesine engelleyici etkisi görölmüştür (şekil 3.3). *Morchella* 1. ve 6. grup ekstresi *P.aeruginosa*'ya karşı 9mm inhibisyon zonu gösterirken, 2., 3., 5. grupların 8mm inhibisyon zonu oluşturduğu gözlemlenmiştir. *T. versicolor* ekstresi, *P. aeruginosa*, *S. aureus* ve *M. luteus* bakterilerine karşı 7mm çapında inhibisyon zonu oluşturarak az da olsa antimikrobiyal etki göstermiştir.

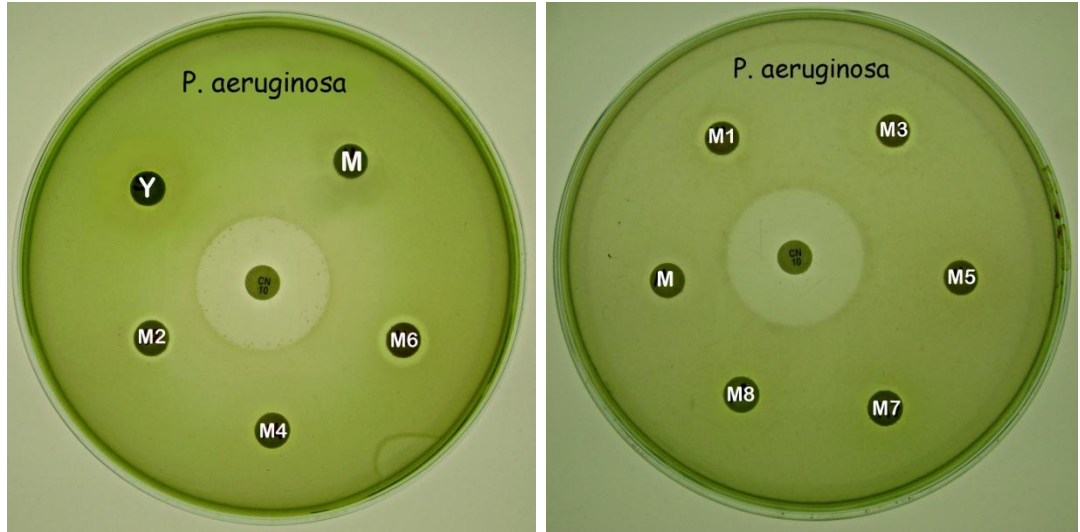


şekil 3.1. *M.excissa* ekstresinin, *E.coli* bakterisini içeren petride oluşturduğu inhibisyon zonu
(Y): *M. excissa* ekstresi, (M): Metanol, (MEM): Meropenem
(T1, T2): *T. versicolor*, (M2): *Morchella* 2. grup, (M4): *Morchella* 4. grup, (M6): *Morchella* 6. grup



Şekil 3.2. S.hirsutum ekstresinin, M.luteus ve P. aeruginosa bakterilerini içeren petrilerde oluşturduğu inhibisyon zonu

(St): *S. hirsutum* ekstresi, (M): Metanol, (VA): Vancomycin, (CN): Gentamicin
(E): *C. geotropa*, (R): *R. flavescens*, (L, Lac): *L. delicious*



Şekil 3.3. Morchella 2, Morchella 6 ve Morchella 1, Morchella 3 ekstrelerinin, P. aeruginosa bakterisini içeren petrilerde oluşturduğu inhibisyon zonu

(CN): Gentamicin, (M): Metanol, (M1): Morchella 1. grup, (M2): Morchella 2. grup, (M3): Morchella 3. grup, (M4): Morchella 4. grup, (M5): Morchella 5. grup, (M6): Morchella 6. grup, (M7): Morchella 7. grup, (M8): Morchella 8. grup, (Y): *M. excissa*

Çizelge 3.1. Makro mantar metanolik ekstralarının antimikrobiyal aktiviteleri

Mantar Türleri	Test Mikroorganizmaları					
	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>S. albus</i>	<i>M. luteus</i>
<i>C. cibarius</i>	-	7mm	-	8mm	-	-
<i>C. geotropa</i>	-	-	-	-	-	-
<i>G. esculenta</i>	-	-	-	-	-	-
<i>L. delicious</i>	-	-	-	-	-	-
<i>M. excissa</i>	22mm	-	-	-	-	-
<i>R. flavescens</i>	-	-	-	-	-	-
<i>S. crassa</i>	-	-	-	-	-	-
<i>S. hirsutum</i>	-	8mm	-	9mm	-	8mm
<i>T. versicolor</i>	-	7mm	7mm	-	-	7mm
<i>Morchella 1</i>	-	9mm	-	-	-	-
<i>Morchella 2</i>	-	8mm	-	-	-	-
<i>Morchella 3</i>	-	8mm	-	-	-	-
<i>Morchella 4</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Morchella 5</i>	-	8mm	-	-	-	-
<i>Morchella 6</i>	-	9mm	-	-	-	-
<i>Morchella 7</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Morchella 8</i>	-	-	-	-	-	-
Metanol	-	-	-	-	-	-
Mukayese antibiyotiği	<u>Meropenem</u> 23mm*	<u>Gentamicin</u> 23mm*	<u>Vancomycin</u> 16mm*	<u>Vancomycin</u> 22mm*	<u>Vancomycin</u> 21mm*	<u>Vancomycin</u> 26mm*

(*): Rakamlar inhibisyon zon çaplarını göstermektedir. Her bir disk 6 mm çapındadır. Sonuçlar bir deneyden elde edilen 3 tekrarın ortalamasıdır. Tekrarlar arasındaki fark %2'den azdır.

(-): İnhibisyon yok.

En yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip tür olarak belirlenen *M. excissa* mantarı haricinde, genel olarak çalışmamız kapsamında kullanılan makro mantar türlerinin çoğunun antimikrobiyal etkiye sahip olmadığı veya zayıf aktivite gösterdiği saptanmıştır.

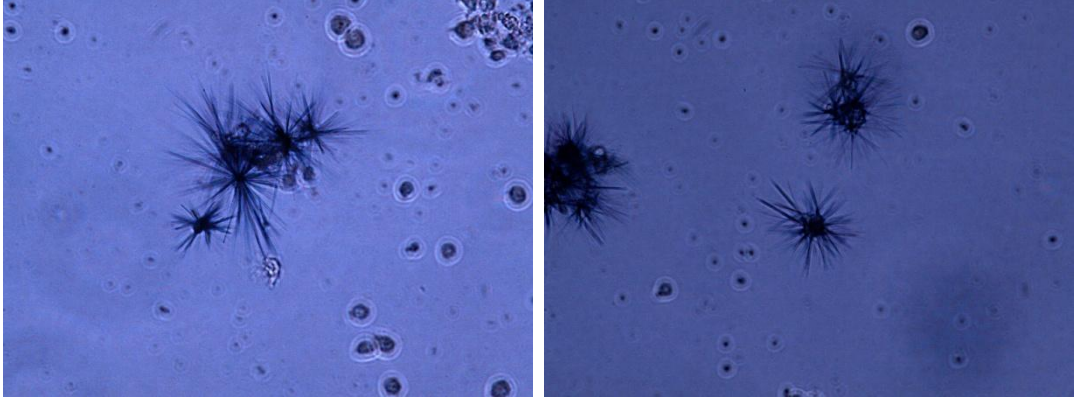
Çeşitli mantarların antimikrobiyal aktivitesi üzerine yapılan araştırmalarda elde edilen sonuçlara göre, değişik çözücülerle hazırlanan ekstrelerin test mikroorganizmalarına karşı farklı etkiler oluşturdıkları belirlenmiştir (Hirasawa, 1999 ; Quereshi, 2010). Üzerine bir çok araştırma yapılan mantarlardan *T. versicolor* mantarı ile elde edilen veriler, başka araştırmacıların (Yamaç, 2006) önceden yapmış olduğu, farklı çözücüler kullanarak (etil asetat, aseton) oluşturulan ekstrelerinin, *P. aeruginosa*, *S. aureus* bakterilerine karşı 10mm'den az inhibisyon çapı gözlemledikleri, çalışmalarının sonuçlarını doğrular niteliktedir.

Antimikrobiyal aktivitesi belirlenen türlerin, kimyasal içerikleri bilinmediğinden dolayı etkilerinin hangi bileşen ya da bileşenlerden kaynaklandığı belirtilememektedir. Makro mantarların antimikrobiyal etkilerine, fungal yapıda sentezlenen ve organizmaya has bazı fenolik bileşikler, pürinler ve pirimidinler, kuinonlar, terpenoidler ve fenil propanoid türevi antagonistik maddelerin neden olduğu bilinmektedir. Bunlara ilaveten, daha önceki yapılan araştırmalara bakıldığında, mantarlardaki antimikrobiyal etkinin kaynağını mniopetals, oudemansin, favolon, diatretol, lanostane ve strobilurin gibi biyoaktif bileşiklerin oluşturduğu görülmektedir (Lindequist, 2005). Tez çalışmamızda genel tarama kapsamında; metanol çözücüsü kullanılarak elde edilen ham ekstrelerin mikroorganizmalara uygulanması, yeni antimikrobiyal ajanların belirlenmesi konusundaki araştırmanın ilk aşamasını oluşturmaktadır. Dolayısıyla bu çalışmaya ek olarak, antimikrobiyal etki gözlenen mantar ekstrelerinin minimum inhibisyon konsantrasyonunun (MIC) belirlenmesi, etken maddelerin saflaştırılması ve kromotografik yöntemlerle elde edilmesi, söz konusu mantar ekstresinin daha detaylı karakterizasyonuna ve biyoaktif bileşenlerinin aktivitelere daha iyi anlaşılmasına olanak sağlayacaktır.

3.2. Makro Mantar Metanolik Ekstrelerinin Antitümör Aktivitesi

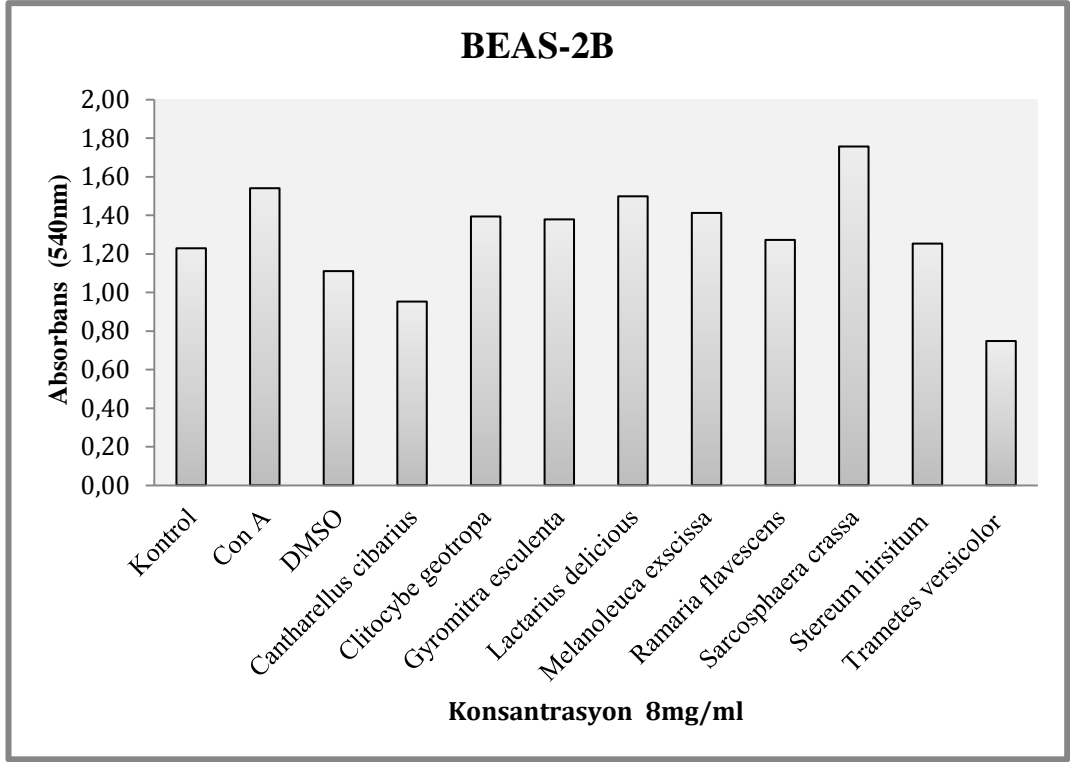
Muğla ili ve ilçelerinden toplanan makro mantarlardan hazırlanan ekstrelerin, kanser hücreleri olan; DU-145 (prostat kanseri), PC-3 (prostat kanseri), A-549 (akciğer kanseri), CCC-221 (kolon kanseri), MCF-7 (meme kanseri), K-562 (kronik myeloid lösemi hücre hattı) ve bir normal hücre olan BEAS-2B (sağlıklı epitel hücresi) üzerinde hücre proliferasyonuna etkileri MTT yöntemi ile araştırılmıştır (Şekil 3.4).

Denemeler duplike olarak yapılmış olup, duplikeler arasındaki farkın %4'den az olduğu tespit edilmiştir.



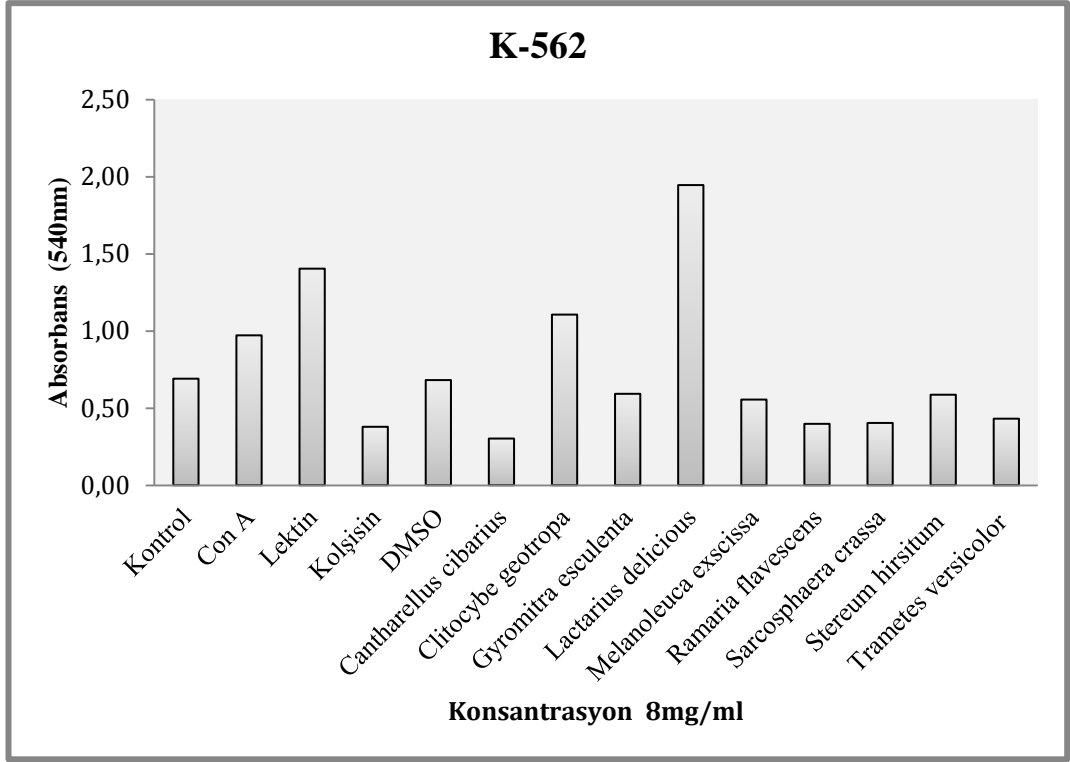
Şekil 3.4. Hücrelerin MTT ile etkileşimi sonucu oluşan formazan kristallerinin mikroskopik görüntüsü (40x)

Makro mantar metanolik ekstralarının 72 saatlik inkübasyonu sonucu elde edilen MTT sonuçlarına göre, normal hücre olan BEAS-2B hücre çoğalmasını, hiçbir şekilde muamele edilmeyen kontrol hücrelerine kıyasla olumsuz etkileyen, *C. cibarius*, *T. versicolor* ekstraları olmuştur (Şekil 3.5). Negatif kontrol amaçlı kullanılan DMSO'nun hücre çoğalmasını kontrole kıyasla 1,10 oranında azalttığı göz önüne alınırsa, etkili bu türlerin, gerçekte normal hücre proliferasyonuna karşı çok daha az baskılayıcı etkiye sahip oldukları görülmektedir. *C. cibarius* mantarı; 1,14 , *T. versicolor*; 1,41 oranında BEAS-2B hücre çoğalmasına karşı azaltıcı etki gösterirken, *S. crassa* mantarı ise 1,52 oranında hücre çoğalmasını arttırmıştır.



Şekil 3.5. Makro mantar ekstralarının BEAS-2B hücre çoğalması üzerine etkisi
Bütün mantar ekstraları 8mg/ml konsantrasyonunda olacak şekilde uygulanmış olup; değerler 72 saatlik inkübasyon sonucu elde edilen verileri göstermektedir.

Kronik myeloid lösemi hüresine (K-562) mantar ekstralarının uygulanması ile elde edilen MTT sonuçlarına göre, en etkili mantar *C. cibarius* mantarı olarak belirlenmiştir. Neredeyse hiç etkisi bulunmayan çözücü DMSO'nun yanında, kontrole oranla *C. cibarius* metanolik ekstresinin, hücre çoğalmasını 2,22 oranında azalttığı ve kolşisinden daha etkili olduğu görülmüştür (Şekil 3.6). Diğer ekstralardan, *R. flavescens* ve *S. crassa* hücre çoğalmasını 1,68 oranında azaltırken, *T. versicolor* 1,56 oranında azaltarak K-562 tümör hücre proliferasyonuna karşı azaltıcı etki göstermişlerdir. *C. geotropa* ve *L. deliciosus* ekstralarının ise, sırasıyla 1,62 ve 2,84 oranlarında hücre çoğalmasını arttırdığı saptanmıştır.

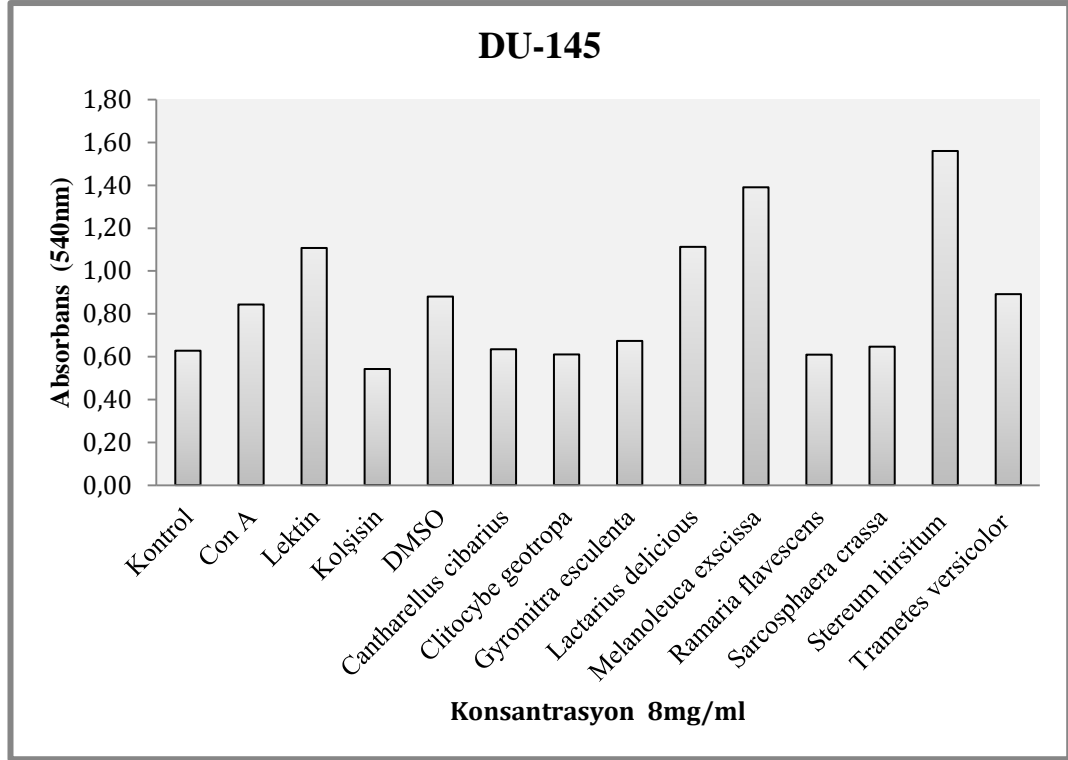


Şekil 3.6. Makro mantar ekstralarının K-562 hücre çoğalması üzerine etkisi
Bütün mantar ekstraları 8mg/ml konsantrasyonunda olacak şekilde uygulanmış olup; değerler 72 saatlik inkübasyon sonucu elde edilen verileri göstermektedir.

Kronik myeloid lösemi hüresine karşı yüksek oranda antiproliferatif etki gösteren *C. cibarius* mantarının, metanol çözücüsü kullanılarak elde edilen ham ekstresinin göstermiş olduğu etkinin, içerebileceği polisakkaritler, proteinler ve fenolik içerikten kaynaklandığı düşünülmektedir. *C. cibarius* mantarı üzerine yapılan daha önceki çalışmalara bakıldığında, bu mantarın biyoaktif komponentlerinin kantitatif analizi yapılmış ve yüksek miktarda fenol ve flavanoid içerdiği belirlenmiştir (Ramesh, 2010). Fenoller ve flavanoidlerin mantarlarda antitümör aktiviteye neden olan bileşenlerden olduğu birçok çalışmada kanıtlanarak kesinlik kazanmıştır (Lull ve Wichers, 2005 ; Harhaji ve Mijatovic, 2008). Bu çalışmanın sonucu olarak belirlenen, K-562 hüresine karşı gözlenen *C. cibarius* antiproliferatif etkisi, daha önceki araştırmalardan da anlaşılacağı üzere yüksek olasılıkla farklı birçok bileşeni bir arada kapsayan fenolik içeriğinden kaynaklanmaktadır.

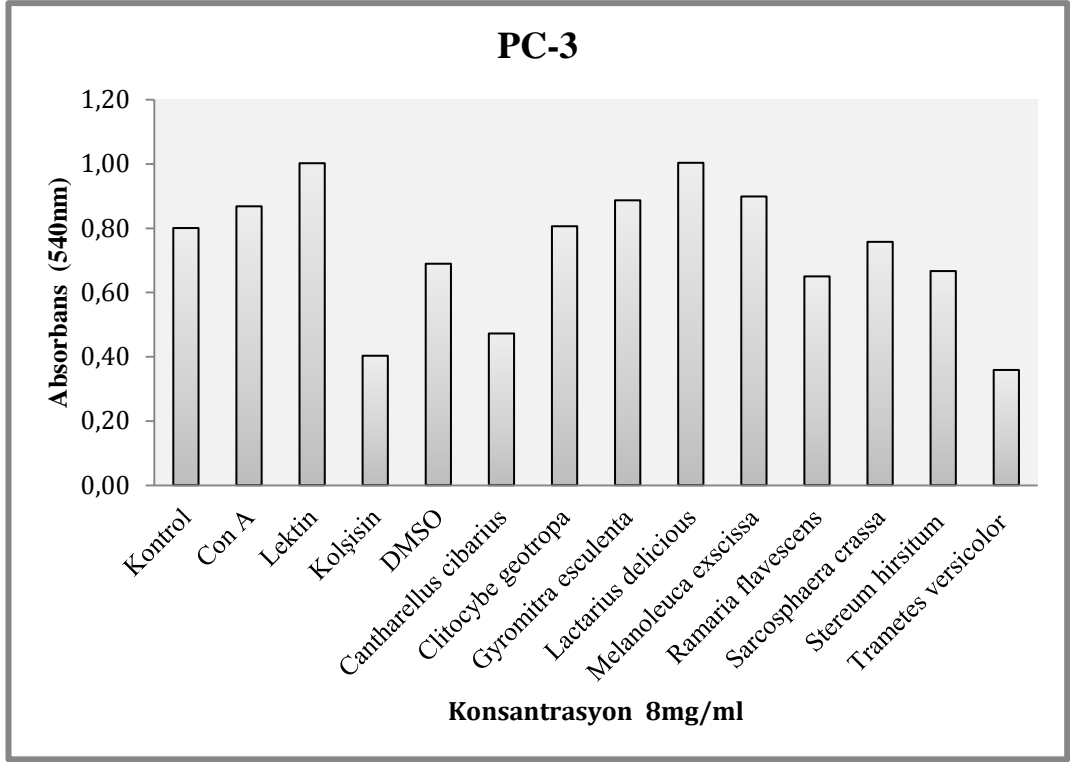
Çalışılan kanser hücrelerinden bir diğeri olan prostat kanser (DU-145) hüresine 72 saatlik süre zarfında mantar ekstralarının uygulanması ile elde edilen MTT sonuçlarına bakıldığında ise, anlamlı bir antiproliferatif etki gözlenmemiştir (Şekil 3.7). Çözücü olarak kullanılan DMSO kontrole kıyasla hücre çoğalmasını 1,39

oranında arttırırken, mantarlardan, *C. geotropa* ve *R. flavescens* ekstralarının aynı oranda etki göstererek, hücre çoğalmasını 1,75 oranında azalttığı görülmüştür. DU-145 hücre çoğalmasını arttıran mantarlardan *L. delicious*; 1,36 , *M. excissa*; 1,80 ve *S. hirsutum* ekstresi ise 2,07 oranında etkili olmuşlardır.



Şekil 3.7. Makro mantar ekstralarının DU-145 hücre çoğalması üzerine etkisi
Bütün mantar ekstraları 8mg/ml konsantrasyonunda olacak şekilde uygulanmış olup; değerler 72 saatlik inkübasyon sonucu elde edilen verileri göstermektedir.

Bir diğer prostat kanser (PC-3) hücrelerine mantar ekstralarının uygulanması ile 72 saatlik inkübasyon sonucu elde edilen MTT sonuçlarına göre; en fazla antiproliferatif etkiye sahip ekstre, *T. versicolor* mantarı ekstresi olarak belirlenmiştir. Hücre çoğalmasını 1,15 oranında azaltan DMSO'nun etkisinin yanında, *T. versicolor* ekstresi kontrole kıyasla kolşisinden daha fazla etki göstererek 1,70 oranında hücre çoğalmasını baskılamıştır (Şekil 3.8). Bunun yanında *C. cibarius* ekstresi, kontrole kıyasla 1,37 oranında etki göstererek, PC-3 hücrelerine karşı bir diğer antiproliferatif etkiye sahip mantar olmuştur. Diğer mantar ekstralarında PC-3 kanser hücrelerine karşı anlamlı bir antiproliferatif etki gözlenmezken, *L. delicious* mantar ekstresi 1,38 oranında hücre çoğalmasını arttırmıştır.

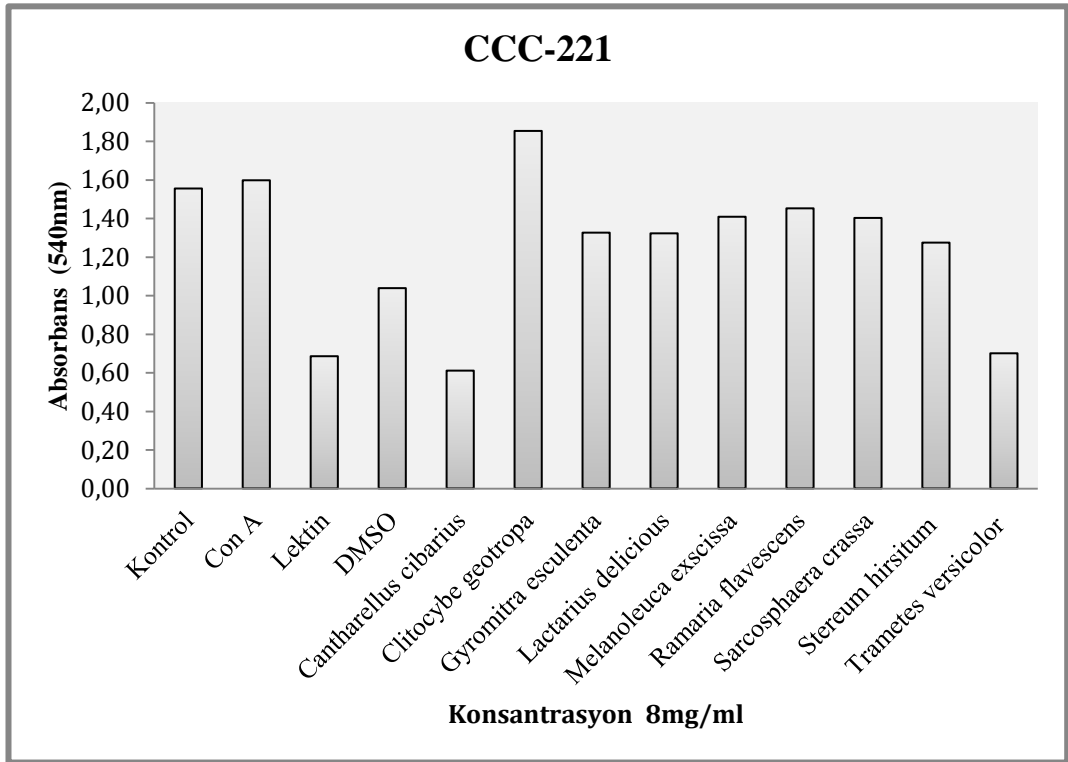


Şekil 3.8. Makro mantar ekstralarının PC-3 hücre çoğalması üzerine etkisi
Bütün mantar ekstraları 8mg/ml konsantrasyonunda olacak şekilde uygulanmış olup; değerler 72 saatlik inkübasyon sonucu elde edilen verileri göstermektedir.

Literatür taramalarında, yapılmış çalışmalara bakıldığında, sitotoksik ve antiproliferatif etkileri daha önceden araştırılmış olan *T. versicolor* mantarı ekstresinin PC-3 , CCC ve A-549 kanser hücrelerine karşı antiproliferatif etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir. *T. versicolor* mantarı etanol ile elde edilen ekstresinin, PC-3 ve DU-145 prostat kanser hücreleri üzerine baskılayıcı etkisi olduğu kaydedilmiştir (Hsieh ve Wu 2001). Elde ettiğimiz, *T. versicolor* metanolik ekstresinin PC-3 hücrelerine karşı gösterdiği antiproliferatif etki önceki yapılan bu çalışmayı doğrular niteliktedir. Farklı çözücüler kullanılarak, farklı ortam şartlarında yapılan her iki deneyde de, *T. versicolor* mantarının prostat kanseri üzerine etkisi olduğu görülmektedir (Şekil 3.8). Bizim elde etmiş olduğumuz sonuca göre *T. versicolor* ekstresinin önceden yapılmış çalışmadan farklı olarak, sadece PC-3 hücresi üzerinde etkili olmasının sebebinin, ekstraksiyon sırasında farklı çözücülerin kullanılmış olmasından dolayı, ekstraların farklı kimyasal maddeleri, dolayısıyla farklı aktif bileşenleri içeriyor olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Ayrıca mantarın yetiştiği doğal ortamın farklılığı ve buna bağlı olarak aktif

bileşenlerinin miktarının değişebileceği göz önünde bulundurulması gereken etmenlerden biridir.

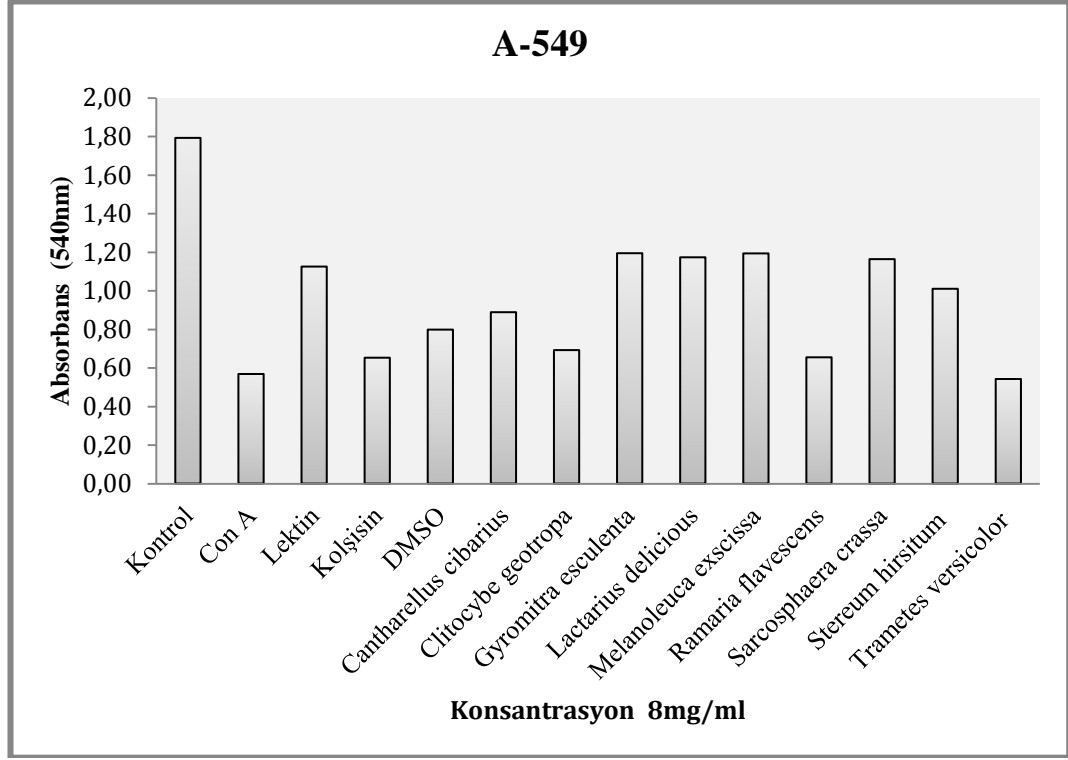
Makro mantar metanolik ekstralarının kolon kanseri hücre (CCC-221) hattı ile 72 saatlik inkübasyonu sonucu elde edilen MTT sonuçlarına göre; *C. cibarius* ve *T. versicolor* mantarları sitotoksik etki göstererek hücre proliferasyonunu baskılamışlardır. Hücre çoğalmasını 1,49 oranında azaltan DMSO'nun etkisi çıkarıldığında, kontrole oranla *C. cibarius* mantarı 1,38 , *T. versicolor* mantarı ise 1,28 oranında etkili olmuşlardır (Şekil 3.9). Diğer mantar ekstralarında CCC-221 hücresine karşı anlamlı bir antiproliferatif etki gözlenmezken, *C. geotropa* mantarı kontrole kıyasla 1,52 oranında hücre çoğalmasını arttırmıştır.



Şekil 3.9. Makro mantar ekstralarının CCC-221 hücre çoğalması üzerine etkisi
Bütün mantar ekstraları 8mg/ml konsantrasyonunda olacak şekilde uygulanmış olup; değerler 72 saatlik inkübasyon sonucu elde edilen verileri göstermektedir.

Akciğer kanseri (A-549) hücre hattı'na, makro mantar metanolik ekstralarının uygulanması sonucu elde edilen MTT sonuçlarına bakıldığında, en etkili mantar *T. versicolor* olarak belirlenmiştir (Şekil 3.10). Fakat çözücü olarak kullanılan DMSO, hücre çoğalmasını kontrole kıyasla 2,23 oranında azaltmıştır. DMSO'nun etkisi çıkarıldığında, *T. versicolor* ekstresi kolşisinden daha etkili olarak; 1,16 oranında, *C.*

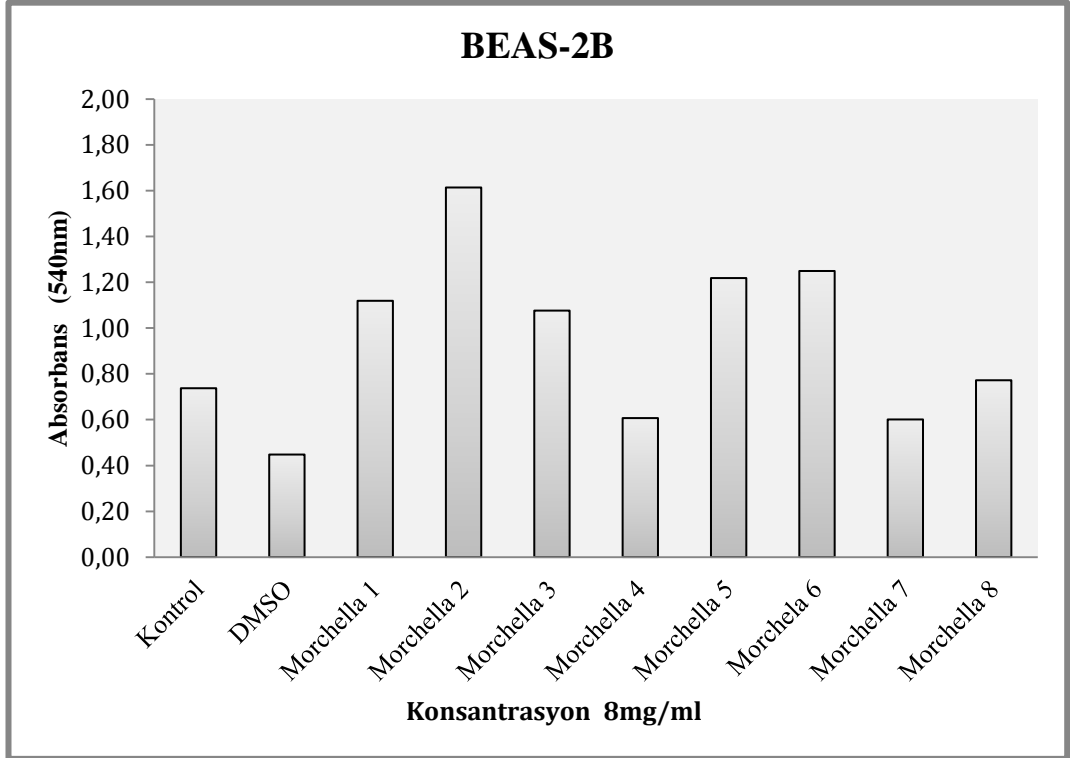
geotropa ekstresi; 1,06 ve *R. flavescens* ekstresi ise A-549 hücresine karşı kontrole kıyasla 1,09 oranında etkili olmuşlardır. Diğer mantar ekstralarında A-549 kanser hücresine karşı anlamlı bir antiproliferatif etki gözlenmemiştir.



Şekil 3.10. Makro mantar ekstralarının A-549 hücre çoğalması üzerine etkisi
Bütün mantar ekstraları 8mg/ml konsantrasyonunda olacak şekilde uygulanmış olup; değerler 72 saatlik inkübasyon sonucu elde edilen verileri göstermektedir.

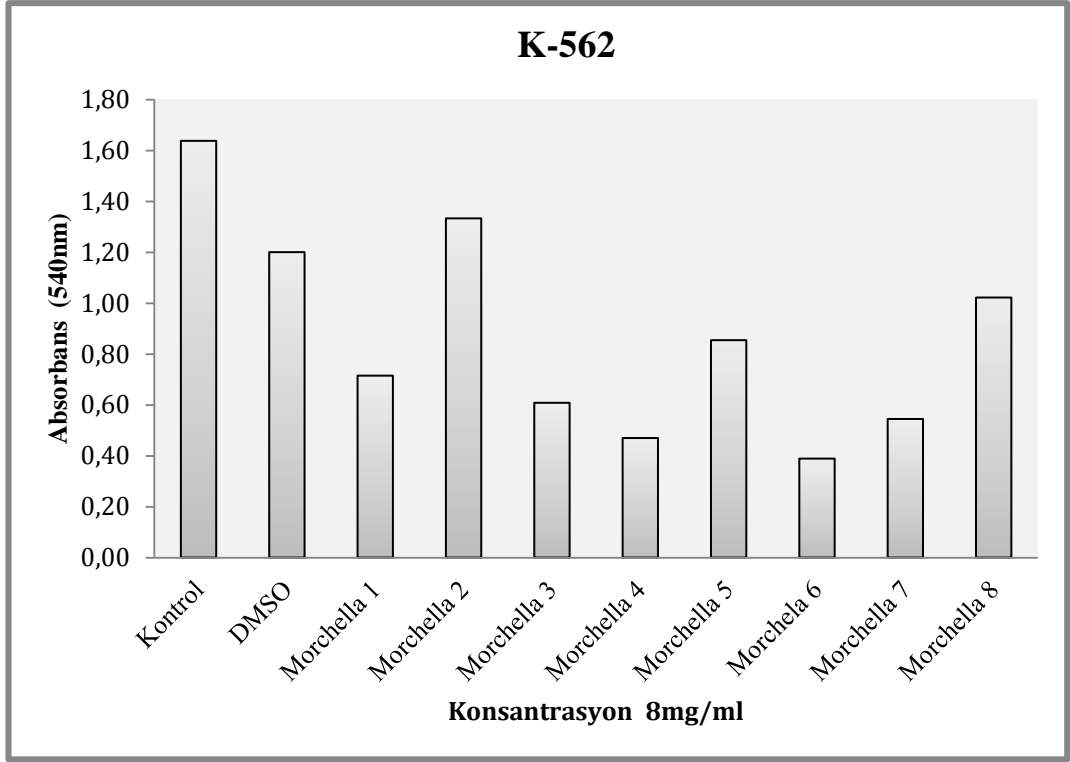
Trametes (Coriolus) versicolor mantarı üzerine yapılmış daha önceki çalışmalarda, bu mantardan güçlü biyolojik aktiviteye sahip polisakkaropeptit (PSP) ve protein-bağlı polisakkarit Krestin (PSK) izole edilmiştir. Bu bileşenlerin lösemi, lenfoma, hepatom, göğüs, akciğer ve prostat tümör hücrelerinin proliferasyonunu baskılayarak güçlü biyolojik aktiviteye sahip olduğu çeşitli araştırmalar sonucunda kesinlik kazanmıştır (Tsukagoshi, 1984; Kidd 2000; Hsieh ve Kunicki 2002; Lau, 2004; Chan, 2006). Tez çalışmamız kapsamında *T. versicolor* metanolik ekstresinin K-562, PC-3, CCC-221 ve A-549 hücrelerine karşı önemli antitümör etki göstererek çalışılan türler arasında en fazla antitümör etkiye sahip mantarlardan olduğu belirlenmiş olup, elde edilen bu veriler, *T. versicolor* mantarıyla ilgili yapılan daha önceki çalışmalarla birbirini doğrular niteliktedir.

Morfolojilerine göre gruplara ayrılan *Morchella* mantarlarından elde edilen metanolik ekstralarının sağlıklı epitel hücresi (BEAS-2B) ile 72 saatlik inkübasyonu sonucu elde edilen MTT sonuçlarına göre; tüm *Morchella* gruplarının hücre çoğalmasını arttırdığı belirlenmiştir (Şekil 3.11). Çözücü DMSO'nun hücre çoğalmasını 1,64 oranında düşürdüğü görülürken; kontrole kıyasla, *Morchella* 1. grup ekstresi 1,90 , 2. grup ekstresi 2,56 , 3. grup ekstresi 1,85 , 5. grup ekstresi 2,04 ve 6. grup *Morchella* ekstresi ise 2,08 oranında hücre çoğalmasını arttırmıştır.



Şekil 3.11. Morchella ekstralarının BEAS-2B hücre çoğalması üzerine etkisi
Bütün mantar ekstraları 8mg/ml konsantrasyonunda olacak şekilde uygulanmış olup; değerler 72 saatlik inkübasyon sonucu elde edilen verileri göstermektedir.

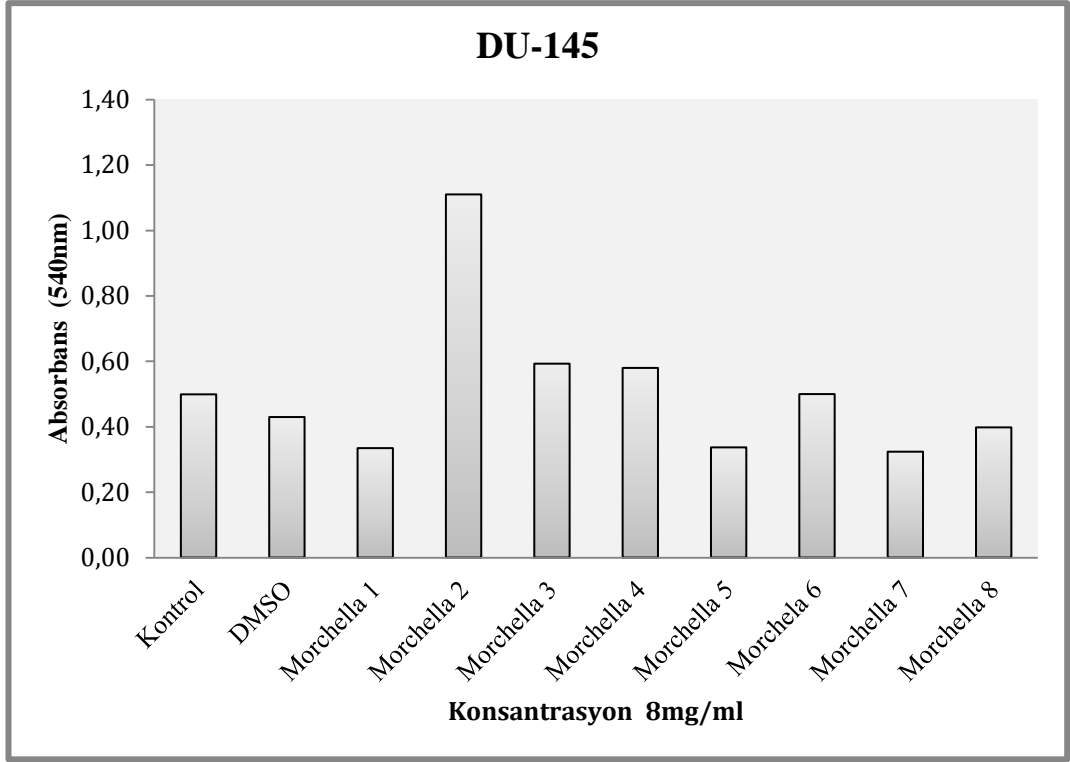
Morchella gruplarından oluşturulan metanolik ekstralarının Kronik myeloid lösemi hücre hattı (K-562) ile 72 saatlik inkübasyonu sonucu elde edilen MTT verilerine bakıldığında; 2. grup dışında tüm *Morchella* gruplarının antiproliferatif etkiye sahip olduğu saptanmıştır (Şekil 3.12). Çözücü DMSO'nun 1,36 oranında etkili olduğu görülen deneyde, *Morchella* 6. grup ekstresi kontrole kıyasla 1,97 oranında hücre çoğalmasını azaltarak, K-562 hücresine karşı en etkili *Morchella* grubu olarak belirlenmiştir. Diğer grupların etkilerine bakıldığında ise; 1. grup ekstresi 1,42 , 3. grup ekstresi 1,56 , 4. grup ekstresi 1,80 , 5. grup ekstresi 1,27 , 7. grup ekstresi 1,67 ve 8. grup *Morchella* ekstresi 1,12 oranında antiproliferatif etki göstermişlerdir.



Şekil 3.12. Morchella ekstrlerinin K-562 hücre çoğalması üzerine etkisi
Bütün mantar ekstrleri 8mg/ml konsantrasyonunda olacak şekilde uygulanmış olup; değerler 72 saatlik inkübasyon sonucu elde edilen verileri göstermektedir.

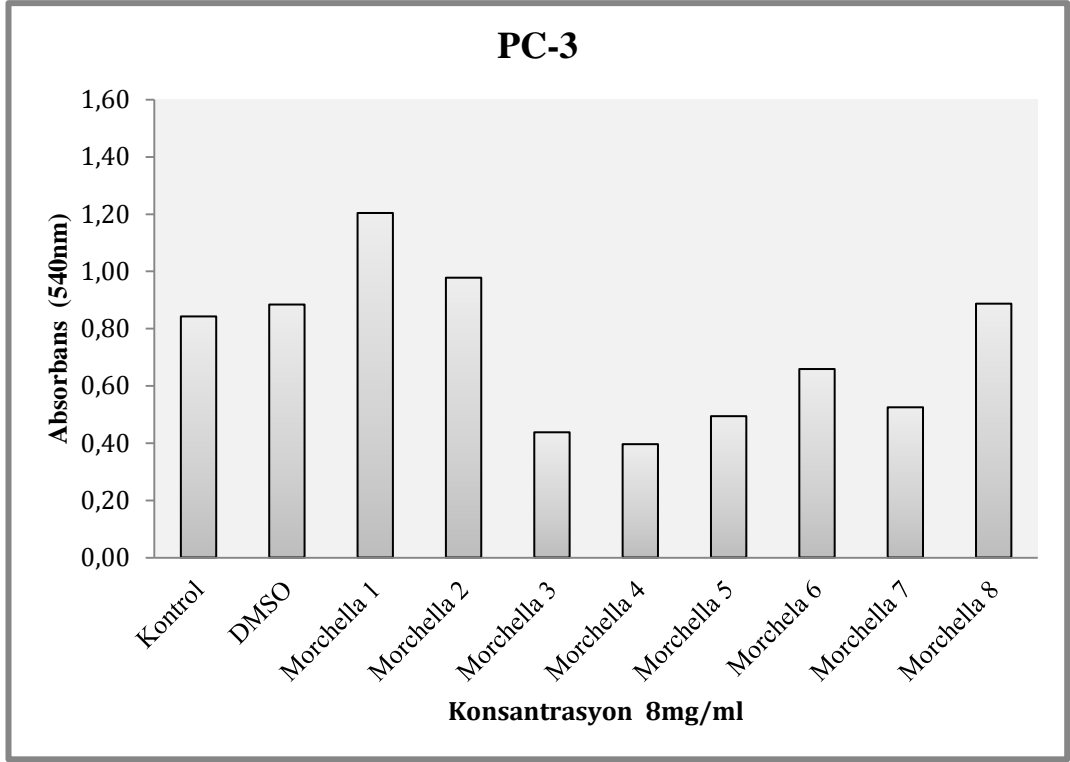
Literatüre bakıldığında, yapılan birçok çalışmada da belirtildiği gibi fenoller ve flavanoidler, ham ekstrlerde bulunan majör biyoaktif komponentlerdendir. Buna ilaveten deney materyali olan mantarların hücre duvarı ana bileşeninin β -glukan-kitin kompleksleri ve mannopteinler (Zhang, Cui vd., 2007) olduğu biliniyor olması dolayısıyla, metanol ile edindiğimiz fenolik ekstrlerinin etkilerinin, bir arada içermiş oldukları biyoaktif bileşenlerden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Farklı morfolojilere sahip *Morchella* gruplarının metanolik ekstrlerinin prostat kanser hücresi (DU-145) ile 72 saatlik inkübasyonu sonucu elde edilen MTT sonuçlarına göre; 1. , 5. , 7. ve 8. grupların antiproliferatif etkiye sahip oldukları belirlenmiştir (Şekil 3.13). *Morchella* 1. grup ekstresi 1,25 , 5. grup ekstresi 1,21 , 7. grup ekstresi kontrole kıyasla 1,28 oranında DU-145 hücresine karşı etkili olmuşlardır. Bunun yanında, *Morchella* 2. grup ekstresi 2,36 oranında , 3. grup ve 4. grup ekstrleri ise sırasıyla 1,32 ve 1,30 oranlarında hücre çoğalmasını arttırmışlardır.



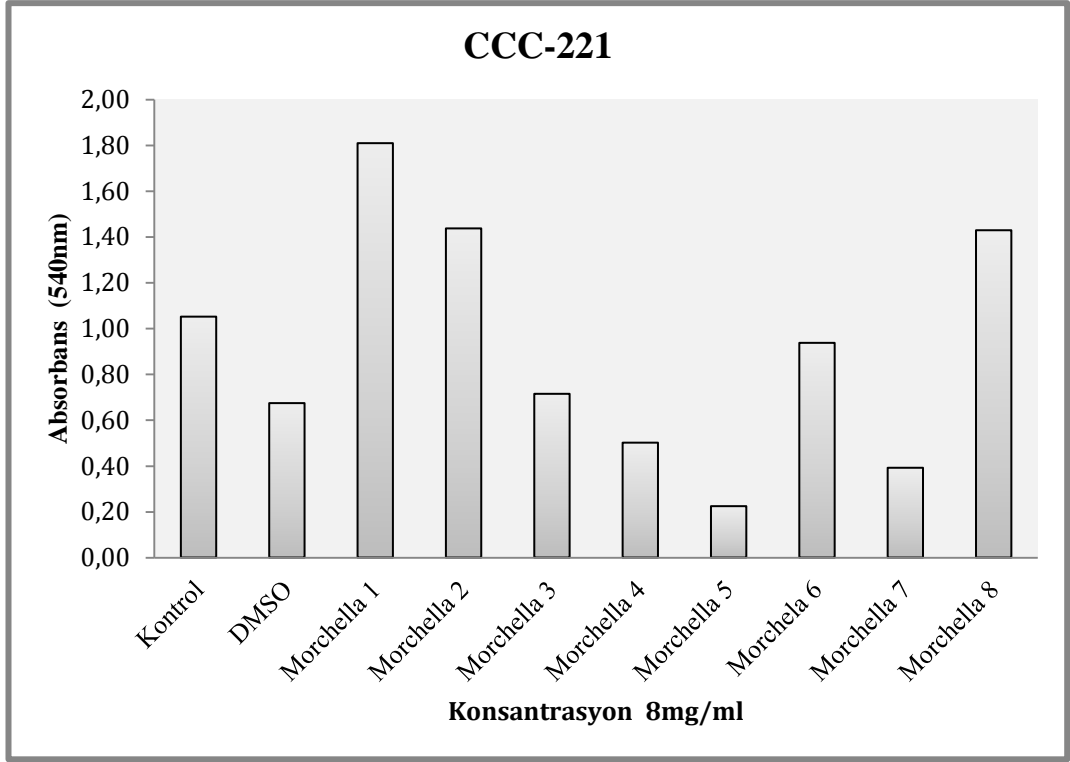
Şekil 3.13. Morchella ekstrlerinin DU-145 hücre çoğalması üzerine etkisi
Bütün mantar ekstrleri 8mg/ml konsantrasyonunda olacak şekilde uygulanmış olup; değerler 72 saatlik inkübasyon sonucu elde edilen verileri göstermektedir.

Bir diğer prostat kanser hücresi (PC-3) ile *Morchella* grupları metanolik ekstrlerinin 72 saatlik inkübasyonu neticesinde elde edilen verilere bakıldığında ise; en fazla antiproliferatif etkiye sahip ekstre olarak kontrole kıyasla 2,33 oranında etki gösteren 4. grup *Morchella* ekstresi belirlenmiştir (Şekil 3.14). Antiproliferatif etkiye sahip diğer grup ekstrlerinden, *Morchella* 3.grup ekstresi 2,1 ; 5.grup ekstresi 1,86; 6.grup ekstresi 1,35 ve 7.grup ekstresi ise kontrole kıyasla 1,75 oranında etkili olarak hücre çoğalmasını baskıladıkları görülmüştür. Diğer gruplardan 1. , 2. ve 8. grup *Morchella* ekstrleri ise aksine hücre çoğalmasını arttırmıştır.



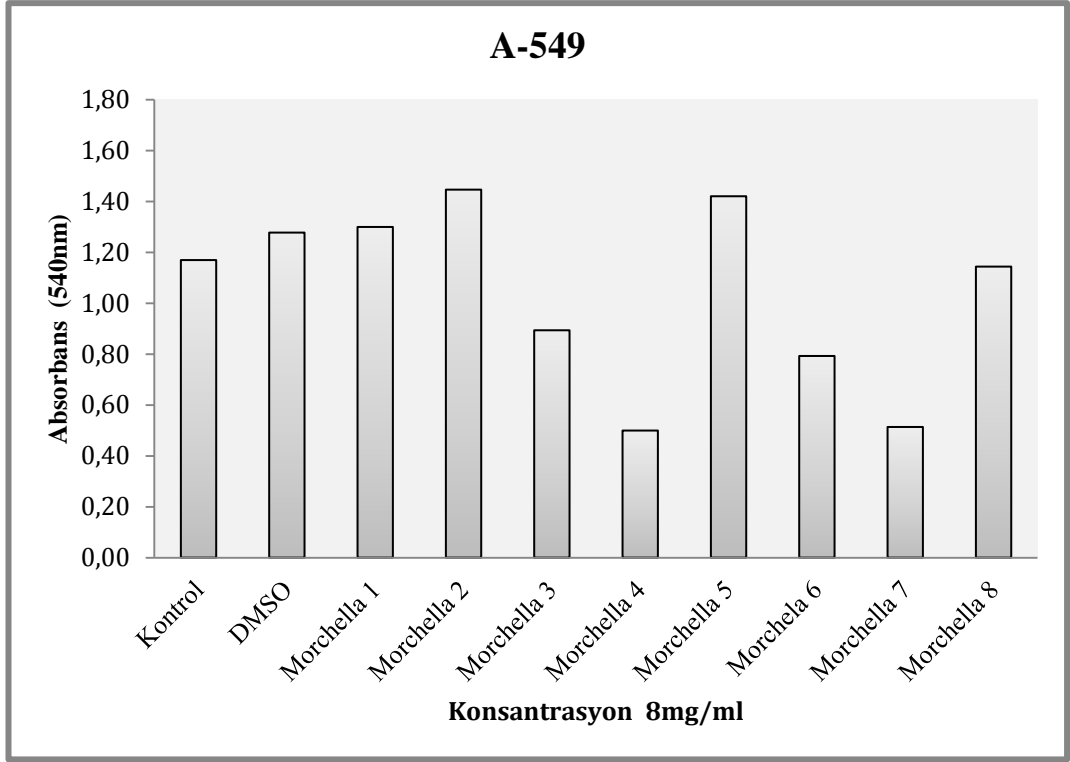
Şekil 3.14. Morchella ekstrlerinin PC-3 hücre çoğalması üzerine etkisi
Bütün mantar ekstrleri 8mg/ml konsantrasyonunda olacak şekilde uygulanmış olup; değerler 72 saatlik inkübasyon sonucu elde edilen verileri göstermektedir.

Kolon kanser hücresi (CCC-221) ile gruplara ayrılan *Morchella* metanolik ekstrlerinin 72 saatlik inkübasyonu sonucu elde edilen MTT sonuçlarına bakıldığında; 5.grup *Morchella* ekstresi kontrole kıyasla 1,75 oranında antiproliferatif etki göstererek en etkili ekstre olarak saptanmıştır (Şekil 3.15). Ayrıca *Morchella* 4. grup 1,19 ve 7.grup ekstresi ise 1,36 oranında hücre çoğalmasını azaltmıştır. Diğer *Morchella* grupları ise aksi etki göstererek hücre çoğalmasını arttırmış olup, bunlardan, 1. , 2. ve 8. grup ekstrleri sırasıyla 2,08 , 1,73 ve 1,72 oranlarında etkili olmuşlardır.



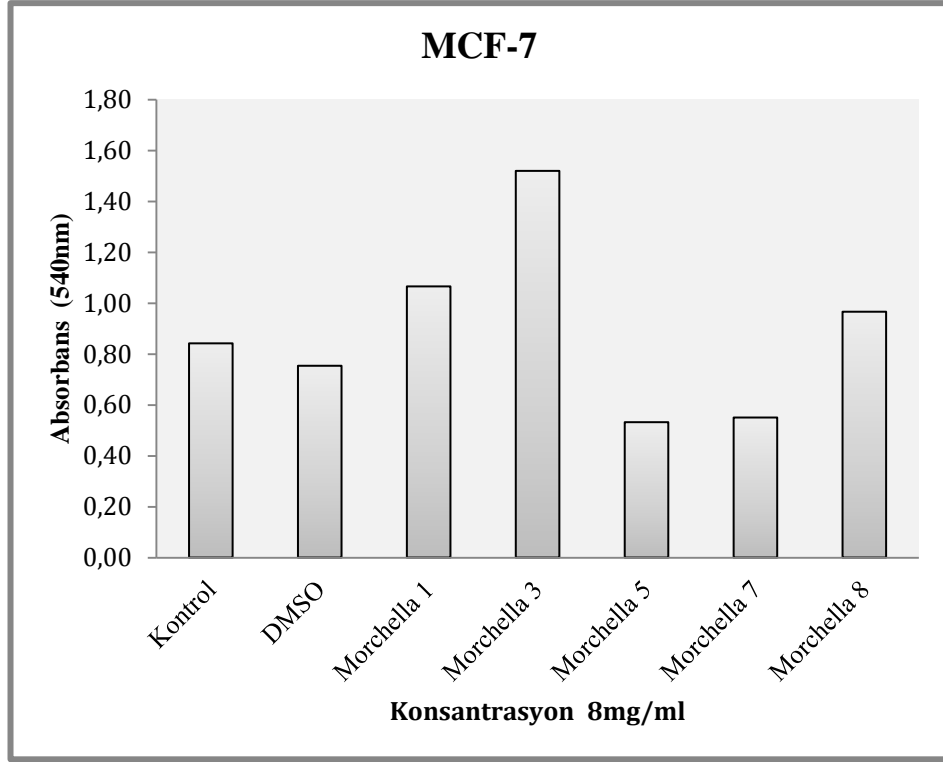
Şekil 3.15. Morchella ekstrlerinin CCC-221 hücre çoğalması üzerine etkisi
Bütün mantar ekstrleri 8mg/ml konsantrasyonunda olacak şekilde uygulanmış olup; değerler 72 saatlik inkübasyon sonucu elde edilen verileri göstermektedir.

Çalışılan hücre hatlarından Akciğer kanser hücresi (A-549) ile, ekstrleri elde edilen farklı morfolojilere sahip *Morchella* gruplarının 72 saat inkübasyona bırakılması sonucu oluşturulan MTT verilerine göre; 3. , 4. , 6. , 7. ve 8. gruplar A-549 kanser hücresine karşı antiproliferatif etki sergilemişlerdir. En etkili ekstrlerden 4.grup 3; 7.grup ise kontrole kıyasla 2,92 oranlarında hücre çoğalmasını azaltmışlardır. Ayrıca 3.grup 1,5 ; 6.grup 1,72 ve 8.grup ise kontrole kıyasla 1,15 oranında etki göstermişlerdir (Şekil 3.16). Diğer gruplarda ise herhangi bir antiproliferatif etki gözlenmezken, aksine hücre çoğalmasını arttırdıkları görülmüştür.



Şekil 3.16. Morchella ekstrelerinin A-549 hücre çoğalması üzerine etkisi
Bütün mantar ekstreleri 8mg/ml konsantrasyonunda olacak şekilde uygulanmış olup; değerler 72 saatlik inkübasyon sonucu elde edilen verileri göstermektedir.

Morchella gruplarından oluşturulan metanolik ekstrelerinin, meme kanser hücresi (MCF-7) ile 72 saatlik inkübasyonu ile elde edilen MTT verilerine bakıldığında; denenen gruplar içerisinde antiproliferatif etkiye sahip olarak 5. ve 7. grup ekstreleri saptanmıştır (Şekil 3.17). Bunlardan 5.grup 1,35 ; 7.grup ise kontrole kıyasla 1,31 oranında etkili olmuştur. Diğer gruplar ise MCF-7 hücresi çoğalmasını arttırmış olup, en fazla etki gösteren 3. grup ekstresi, kontrole kıyasla 1,91 oranında etkili olmuştur.



Şekil 3.17. Morchella ekstralarının MCF-7 hücre çoğalması üzerine etkisi
Bütün mantar ekstraları 8mg/ml konsantrasyonunda olacak şekilde uygulanmış olup; değerler 72 saatlik inkübasyon sonucu elde edilen verileri göstermektedir.

Morfolojilerine göre gruplara ayrılan *Morchella* mantarlarından elde edilen verilere bakıldığında, ekstraların her birinin, çalışılan hücre hatlarına karşı farklı etkilere sahip olduğu gözlenmiştir. Sonuçlardan anlaşılacağı üzere, aynı cins kategorisi içerisinde yer alan bu mantarların etkilerinin farklı olmasının sebebi, büyük bir olasılıkla ihtiva ettikleri kimyasal içeriklerinin; farklı oranlarda ve/veya değişik karaktere sahip bileşenler bulundurmasından kaynaklanmaktadır. Buna ilaveten gruplar arasındaki aktivite farkının, denenen solventin çözebildiği ve mantarların içerdiği değişik karakterdeki bileşenlerinin hücrelerle oluşturduğu etkileşiminden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Literatürdeki daha önce yapılan çalışmalarda rastlandığı üzere, *Morchella* cinsine ait türlerden *M. esculenta* üzerine yapılan bir araştırmada, bu mantardan immünostimülatör etkiye sahip yüksek moleküler ağırlıklı galaktomannan izole edilmiştir (Duncan, 2002). Başka bir araştırmada ise *M. esculenta* mantarı misellerinin su ve etanol ile ekstraksiyonu sonucu elde edilen ekstrenin hepatoprotektif (karaciğeri koruyucu) etkiye sahip olduğu belirlenmiştir (Nitha, 2011). Özellikle K-562 ve CCC-221 kanser hücreleri üzerine önemli antitümör etkisi

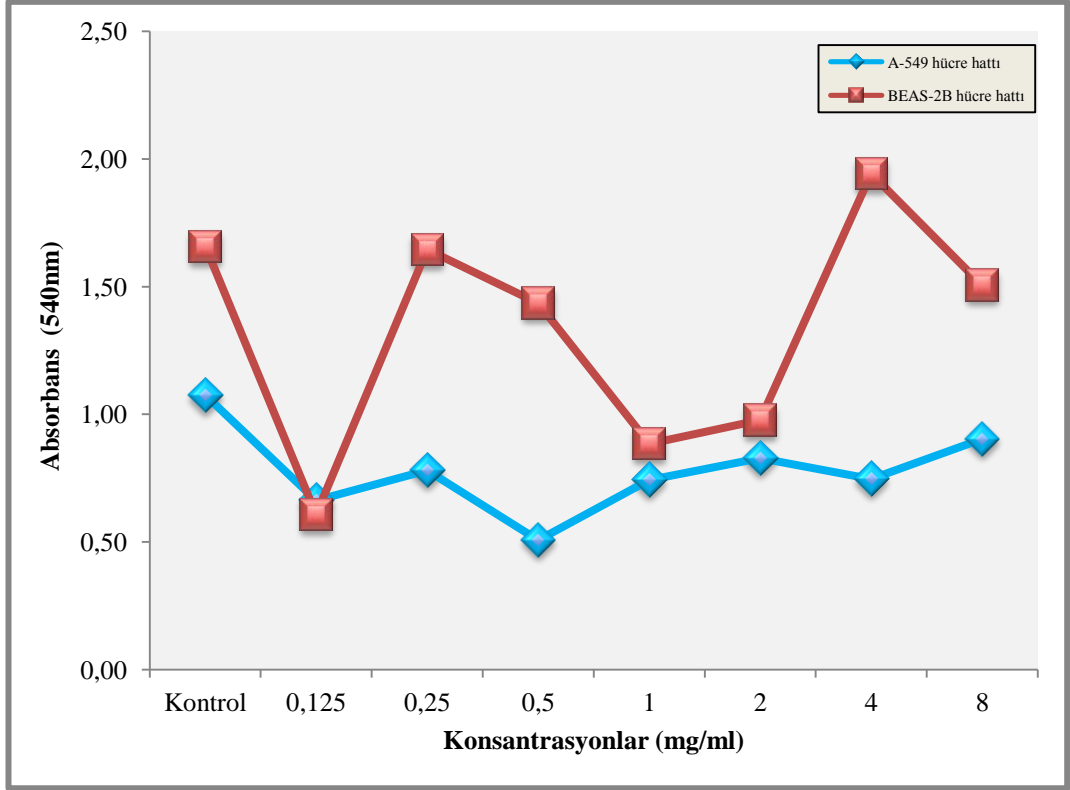
belirlenen *Morchella* gruplarından elde edilen veriler, daha önceki yapılan bu çalışmalarla uyum içersindedir. Polisakkaritlerin (özellikle β -D-glukanlar) mantarlarda antitümör etkiye sahip bileşiklerin başında geldiği (Lull ve Wichers, 2005) bilgisine ilaveten, *Morchella esculenta* türünden bir heteroglikan (galaktomannan) izole edilmesi, bizim elde etmiş olduğumuz antitümör etkiyi doğrular niteliktedir.

3.3. Antiproliferatif etki gösteren mantar ekstralarının doz denemesi

Kanser tedavisinde, tümör hücrelerinin zararsız bir şekilde ortadan kaldırılması, en temel yaklaşımlardan biridir. Bu nedenle araştırmamız kapsamında mantar ekstralarının kanser hücrelerine karşı etkisi yanında, sağlıklı hücre üzerindeki etkisi de araştırılmıştır. Çalışılan kanser hücrelerine karşı antiproliferatif etkisine kıyasla, sağlıklı epitel hücresine karşı en aza yakın derecede etkiyen mantarlardan *Clitocybe geotropa* ve *Morchella* 6. grup ekstralarının antiproliferatif aktivite gösterdikleri hücre hatlarına karşı, etkili konsantrasyon aralığı araştırması yapılmıştır. Yapılan her deneyde 96-kuyucuklu mikropalakalar ve ekstraların her konsantrasyonu için 4 ayrı kuyucuk kullanılmıştır. Her bir konsantrasyon için 2 kuyucuk ise kontrol grubu (normal hücre hattı) olarak değerlendirilmiştir.

Clitocybe geotropa ekstrasının, A-549 akciğer kanser hücresi ile 72 saatlik inkübasyonu sonucu doza bağımlı hücre çoğalması üzerine etkisi belirlenmiştir (Şekil 3.18). *C. geotropa* mantarı ekstrası uygulanan A-549 ve BEAS-2B hücrelerinden elde edilen MTT sonuçlarına göre; 0,125mg/ml konsantrasyonda uygulandığında her iki hücre çoğalmasında da azalma belirlenmesinin yanısıra; 0,25mg/ml ve 0,5mg/ml konsantrasyonlarında kontrol olan sağlıklı epitel hücresine karşı etkili olmazken, akciğer kanser (A-549) hücrelerine karşı antiproliferatif etkiye sahip olduğu görülmüştür. En etkili konsantrasyon olan 0,5mg/ml uygulandığında kanser hücre büyümesini kontrole oranla 2,09 kata kadar azaltırken, BEAS-2B hücresinde 1,15 oranında azalmaya sebep olmuştur. Benzer sonuçlara 4mg ve 8mg/ml konsantrasyonlar uygulandığında da ulaşılmış olup; 4mg/ml ekstre muamele edildiğinde kanser hücresi proliferasyonunda 1,42 oranında azalma gözlenirken, sağlıklı epitel hücresi proliferasyonunda 1,16 kat artışa sebep olduğu saptanmıştır. Tüm bu bulgular neticesinde, *C. geotropa* metanolik ekstrasının BEAS-2B sağlıklı

hücresine nazaran, A-549 kanser hücresi üzerinde antiproliferatif etki gösterdiği bulunmuştur. Ayrıca, bu parametre üzerinde en etkili dozun 0,5mg/ml olduğu tespit edilmiştir.

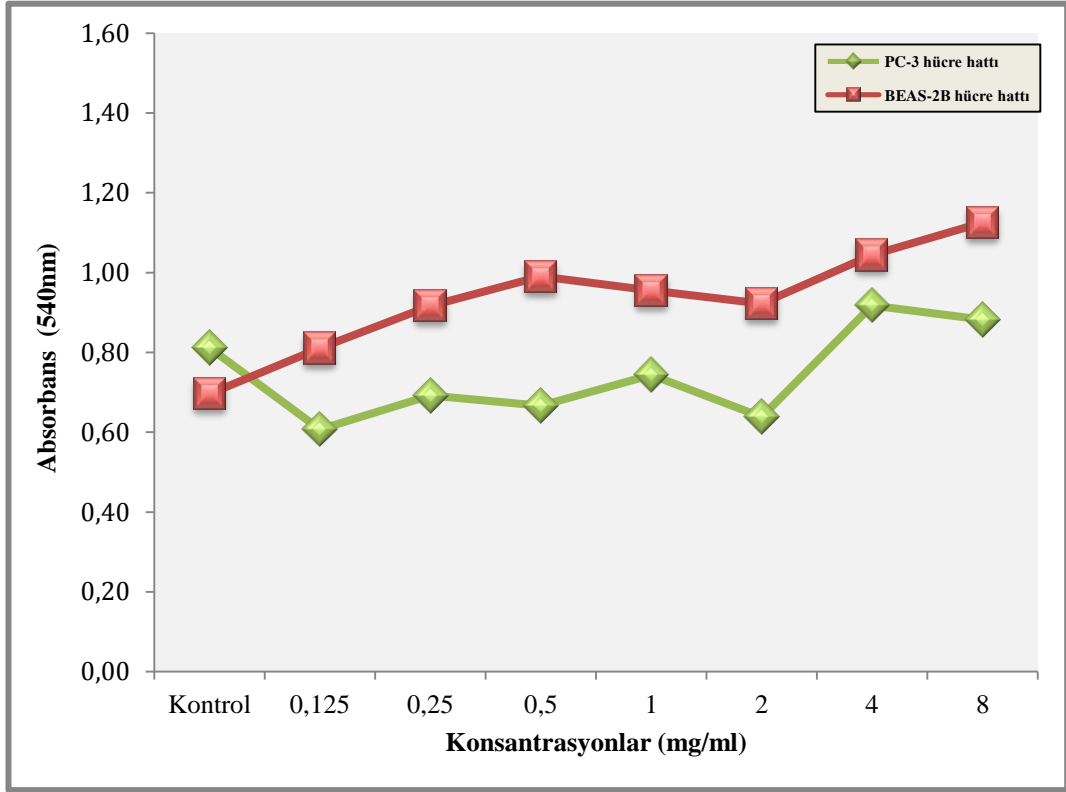


Şekil 3.18. A-549 hücresinde *Clitocybe geotropa* ekstresinin konsantrasyona bağlı olarak hücre çoğalması üzerine etkisi

Veriler, bir deneyin duplikelerinin ortalamasını göstermektedir. Duplikeler arasındaki fark %3'den az olup, deney benzer sonuçlarla tekrarlanmıştır.

Doz araştırması yapılan mantarlardan *Morchella* 6.grup ekstresinin, PC-3 prostat kanser hücresi ile 72 saatlik inkübasyonu ile doza bağımlı hücre çoğalması üzerine etkisi saptanmıştır (Şekil 3.19.). *Morchella* mantarı 6.grup ekstresi uygulanan PC-3 ve BEAS-2B hücrelerinden elde edilen verilere bakıldığında; metanol çözücüsü ile oluşturulan fenolik içeriğe sahip ekstre 0,125mg-2mg/ml konsantrasyon aralığında uygulandığında kontrol olan BEAS-2B hücre çoğalmasını 1,41 katına kadar arttırırken, PC-3 hücresine karşı antiproliferatif etkiye sahip olduğu ve hücre çoğalmasını kontrole kıyasla 1,09-1,32 oranlarında azalttığı belirlenmiştir. Diğer iki konsantrasyonda (4mg/ml ve 8 mg/ml) ise, ekstre ile muamele edilmeyen kontrol hücrelerle kıyaslandığında kanser hücre çoğalmasında 1,13-1,08 oranında artış gözlenirken, sağlıklı epitel hücresinde 1,48-1,61 oranlarında artışa sebep olmuştur. Elde edilen veriler göz önüne alındığında, 6. grup *Morchella* ekstresinin BEAS-2B

sağlıklı hücresine kıyasla, PC-3 kanser hücresine karşı daha fazla antiproliferatif etki gösterdiği belirlenmiştir. Mitokondriyal aktiviteye dayalı MTT yöntemi ile elde etmiş olduğumuz bu bulgular, büyük olasılıkla mitokondriyal aktivitede azalma ve sitotoksik etkiyi işaret etmektedir.



Şekil 3.19. PC-3 hücresinde Morchella 6 ektresinin konsantrasyona bağlı olarak hücre çoğalması üzerine etkisi

Veriler, bir deneyin duplikelerinin ortalamasını göstermektedir. Duplikeler arasındaki fark %3'den az olup, deney benzer sonuçlarla tekrarlanmıştır.

Tez çalışmamızda, farklı kanser hücrelerine karşı antiproliferatif etki sergileyen mantar ham ekstralarının kimyasal içerik analizleri yapılmadığından ve aktif bileşenler saptanmadığından dolayı, hücrelerde meydana gelen in vitro sitotoksik etkiye sebep olan etken madde veya maddeleri kesin bir şekilde belirtmek bu çalışma kapsamında mümkün değildir. Ancak metanol çözücüsü kullanımıyla fenolik içeriğe sahip ekstre elde ettiğimiz göz önüne alınacak olursa, antiproliferatif aktivite göstermiş ekstraların etkilerinin kaynağının; flavanoidler, lignanlar, fenolik asitler terpenoitler gibi fenolik bileşenler olabileceği düşünülmektedir (Mattila, 2001; Ramesh ve Pattar, 2010).

Son yıllarda daha da önem kazanmış ve tıp alanında gereksinim duyulan doğal biyoaktif bileşenlerin araştırılmasında, yapılan sitotoksikite tarama yöntemleri ekstraktlar ve saf bileşenler için ilk aşamayı oluşturmaktadır. Kansere hücrelerine karşı ekstraktların olası etkilerini belirlemek amacıyla uyguladığımız MTT yöntemiyle elde edilen verilere bakıldığında, 17 değişik mantar ekstraktının denenen hücre hatlarına karşı farklı derecede, farklı etkiye sahip olduğu görülmüştür (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2. Makro mantar ekstralarının hücre büyümesi üzerine etkileri

	BEAS-2B	K-562	DU-145	PC-3	CCC	A-549	MCF-7
<i>Cantharellus cibarius</i>	-1,14	-2,22	-1,65	-1,37	-1,38	+1,05	TE
<i>Clitocybe geotropa</i>	+1,22	+1,62	-1,75	+1,15	+1,52	-1,06	TE
<i>Gyromitra esculenta</i>	+1,21	-1,15	-1,5	+1,25	+1,18	+1,21	TE
<i>Lactarius deliciosus</i>	+1,31	+2,84	+1,36	+1,38	+1,18	+1,20	TE
<i>Melanoleuca excisssa</i>	+1,24	-1,21	+1,80	+0,79	+1,23	+1,21	TE
<i>Ramaria flavescens</i>	+1,13	-1,68	-1,75	-1,05	+1,26	-1,09	TE
<i>Sarcosphaera crassa</i>	+1,52	-1,68	-1,57	+1,08	+1,23	+1,20	TE
<i>Stereum hirsutum</i>	+1,11	-1,15	+2,07	-1,02	+1,14	+1,11	TE
<i>Trametes versicolor</i>	-1,41	-1,56	+1,01	-1,70	-1,28	-1,16	TE
<i>Morchella 1</i>	+1,90	-1,42	-1,25	+1,38	+2,08	+1,01	+1,38
<i>Morchella 2</i>	+2,56	+1,07	+2,36	+1,11	+1,73	+1,14	TE
<i>Morchella 3</i>	+1,85	-1,56	+1,32	-2,1	+1,03	-1,5	+1,91
<i>Morchella 4</i>	+1,21	-1,80	+1,30	-2,33	-1,19	-3	TE
<i>Morchella 5</i>	+2,04	-1,27	-1,21	-1,86	-1,75	+1,11	-1,35
<i>Morchella 6</i>	+2,08	-1,97	+1,14	-1,35	+1,25	-1,72	TE
<i>Morchella 7</i>	+1,20	-1,67	-1,28	-1,75	-1,36	-2,92	-1,31
<i>Morchella 8</i>	+1,43	-1,12	-1,06	+1,01	+1,72	-1,15	+1,26

Rakamlar, hücre çoğalması değerlerinin DMSO değerlerine normalize edilerek kontrole oranını göstermektedir.
 (-): hücre çoğalmasının azalması ; (+): hücre çoğalmasının artması ; (TE): test edilmedi.

K-562 hücresine karşı maksimum antitümör etki *C. cibarius* ekstresinde belirlenmiş olup, *Morchella* gruplarından 4. ve 6. gruplar ise bu kanser hücresine karşı en fazla etki gösteren türlerin başında gelmektedir. Prostat kanser hücresi olan DU-145 hücresine karşı en fazla antitümör etki sergileyen *C. geotropa* ve *R. flavescens* ekstreleri dışında diğer mantar ekstrelerinde hücre çoğalmasını baskılayan anlamlı bir etki gözlenmemiştir. PC-3 hücresi ile elde edilen bulgularda ise, *Morchella* 4. grup ekstresinin denenen türler arasında bu kanser hücresi üzerine en fazla etkiye sahip mantar olduğu saptanmıştır. Mantar ekstrelerinin kolon kanser hücresi (CCC-221) üzerine etkilerine bakıldığında, en fazla antitümör eki gösteren mantar, 5. grup *Morchella* olup, 7. grup *Morchella*, *C. cibarius* ve *T. versicolor* mantarlarının da hücre çoğalmasını önemli oranda azalttığı belirlenmiştir.

Önceden yapılmış bir çok araştırmada da (Hsieh ve Wu, 2001; Lau, 2004) etkisi kanıtlanmış bir mantar olan *T. versicolor* mantarı, diğer kanser hücreleri üzerinde de sahip olduğu etkiye ilaveten, akciğer kanser hücresine (A-549) karşı da etkili olarak, bu hücre tipinde, *Morchella* 4. ve 7. grup ekstreleri ile birlikte en fazla antitümör etki sergileyen türlerden olmuştur. MCF-7 hücresine karşı denenen ekstreler arasında ise en etkili mantar 5. grup *Morchella* olup, 7. grup *Morchella* dışında diğer ekstrelerin hücre çoğalmasını arttırdığı görülmüştür.

İlerde yapılacak çalışmalarda, antiproliferatif etkilerinin yanı sıra hücre çoğalmasını arttırıcı özellik gösteren bu mantar ekstrelerinin immün sisteminde rol alan hücrelerin bölünmesi üzerinde de etkileri incelenerek immün hücre fonksiyonunu nasıl değiştirdikleri anlaşılabilir. Diğer bir deyişle hücre bölünmesini arttıran mantar ekstrelerinin tümör gelişimi üzerindeki etkisi direk hücre bölünmesini engelleyerek değil, belki de bağışıklık sistemini optimize ederek tümör oluşumunu engelleyebilir. Bu bakış açısından, hücre bölünmesini engelleyen mantar ekstreleri kadar hücre bölünmesini arttıran mantar ekstreleri de önemli olabilir.

4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında, Muğla yöresinde doğal olarak yetişen ve kendilerine has aromaları nedeniyle yöre halkı tarafından sevilerek tüketilen *Cantharellus cibarius*, *Clitocybe geotropa*, *Gyromitra esculenta*, *Lactarius delicious*, *Melanoleuca excissa*, *Ramaria flavescens*, *Sarcosphaera crassa* ve *Morcella* mantarlarına ilaveten, ağaçta parazit olarak yetişen *Stereum hirsutum*, *Trametes versicolor* mantarlarından metanol ile ekstraksiyonu sonucu elde edilen ekstrelerin çeşitli bakterilere karşı antimikrobiyal ve farklı kanser hücrelerine karşı antiproliferatif aktiviteleri araştırılmıştır. Deney materyali olarak kullanılan mantar türü seçiminde, özellikle yöre halkı tarafından gıda olarak tüketilen türler seçilerek, denemelerde mantarların şapkalarından elde edilen, farklı karakterde birçok kimyasal bileşiği bir arada bulunduran ham özütler kullanılmıştır.

Tez kapsamında yapılan antimikrobiyal aktivite deneyleri sonucunda, kullanılan mantar ekstrelerinden 8 tanesinin çalışılan bakteriler üzerinde hiç antimikrobiyal etki göstermediği saptanmıştır (Çizelge 3.1). Pozitif kontrole eşdeğer derecede en yüksek antimikrobiyal etki (22mm inhibisyon zonu) *E. coli* bakterisi üzerinde *M. excissa* ekstresi ile elde edilmiştir. Diğer mantar ekstrelerinin hiçbiri *E. coli* üzerinde etkili olmamıştır. Kullanılan 17 farklı mantar ekstresinden 9 tanesi, *P. aeruginosa* bakterisine karşı antimikrobiyal etki gösterirken, en yüksek etki 9mm inhibisyon zonu ile *Morchella* 1. ve 6. grup ekstrelerinden elde edilmiştir. Ekstrelerden 3 tanesi 2-3 farklı bakteri üzerinde düşük düzeyde antimikrobiyal etki gösterirken, *S. albus* bakterisine karşı hiçbir ekstre etki göstermemiştir.

Mantar metanolik ekstrelerinin olası antitümör etkileri araştırmasında, kanser hücrelerinin çoğalmasını tespit etmek amacıyla uygulanan MTT yöntemi sonucunda, denenen 17 mantar ekstresinin, 1 tanesi sağlıklı, toplam 7 hücre hattına karşı olan etkileri değerlendirildiğinde; sağlıklı epitel hücrelerine karşı düşük oranda inhibitör etki sergileyen *C. cibarius* ve *T. versicolor* ekstreleri dışında, diğer 7 mantar ekstresi hücre çoğalmasını arttırmıştır (Çizelge 3.2). Kronik myeloid lösemi hücrelerine karşı

ise 9 ekstreden 7'si hücre çoğalmasını azaltmıştır, bunlardan en fazla etki gösteren *C. cibarius* ekstresi olmuştur. DU-145 prostat kanser hücresine karşı 5 ekstre; PC-3 hücresine karşı ise 4 ekstre hücre çoğalmasını azaltıcı etki sergilemiştir. Mantar ekstrelerinin CCC-221 kolon kanser hücresine olan etkilerinde, *C. geotropa* ve *T. versicolor* dışında tüm ekstrelerin hücre çoğalmasını azalttığı görülmüştür. Akciğer kanser hücresine karşı ise 3 mantar ekstresinin baskılayıcı etkisi olduğu ve hücre çoğalmasını azalttığı belirlenmiştir.

Morfolojilerine göre gruplara ayrılan *Morchella* mantar ekstrelerinin, kullanılan kanser hücrelerine karşı farklı derecede, farklı etkiye neden oldukları tespit edilmiştir. Sağlıklı epitel hücresi olan BEAS-2B üzerinde; tüm *Morchella* ekstrelerinin hücre çoğalmasını arttırdığı gözlenirken, toplam 8 farklı grup olan *Morchella* ekstrelerinin biri dışında hepsinin Kronik lilyoid lösemi hücrelerine karşı inhibitör etkisi olduğu ve hücre çoğalmasını baskılayarak azalmasına sebep olduğu belirlenmiştir (Çizelge 3.2). K-562 hücresine karşı maksimum etki 6. grup *Morchella* ekstresinde görülmüştür. İki farklı prostat kanser hücresi olan DU-145 ve PC-3 hücrelerine karşı ise bazı gruplar hücre çoğalmasını azaltırken bazıları arttırıcı etki göstermiştir. Kolon kanser hücresine karşı, 3 grup inhibitör etki göstermiş olup, en fazla baskılayıcı etkiye sahip 5. grup *Morchella* ekstresi olarak belirlenmiştir. MCF-7 meme kanseri hücresine karşı denenen 5 *Morchella* grubundan 3 grup hücre çoğalmasını arttırırken, 5. ve 7. gruplar hücre çoğalmasını azaltmışlardır. Akciğer kanser hücresine (A-549) karşı ise, 8 *Morchella* grubundan 5 grup, hücre çoğalmasını azaltıcı etki göstermiş olup, 4. grup bu kanser hücresine karşı maksimum etki sergilemiştir. Negatif kontrol amaçlı kullanılan DMSO'nun da bazı kanser hücrelerinin çoğalması üzerine baskılayıcı etkisi göz önüne alınırsa, zayıf etkili bazı mantar ekstrelerinin gerçekte hiçbir antitümör etkiye sahip olmadıkları görülebilir.

Sonuç olarak; bu tez çalışması kapsamında antimikrobiyal ve antitümör aktiviteleri araştırılan mantar türlerinden, etkili olanlar belirlenmiş olup, bu türlerden elde edilecek aktif bileşenlerin, daha etkili ve daha güvenilir ilaçların geliştirilmesinde ihtiyaç duyulan yeni kaynakları oluşturabileceği düşünülmektedir.

Söz konusu mantarların şapkalarından elde edilen ham ekstreler kullanıldığı ve metanol çözücüsü ile oluşturulan ekstrelerin kimyasal içeriği belirlenmediği için,

antitümör ve antimikrobiyal etkiye yol açan biyoaktif madde yada maddelerin hangisi olduğuna dair kesin bir şey söylemek mümkün değildir. Bu çalışmanın devamı olarak, biyolojik aktivite gösteren ekstraların bileşenlerinin, daha hassas bir şekilde kromatografik yöntemlerle izole edilmesi ve biyoaktif bileşenlerin belirlenmesi gerekmektedir. Böylece tıp alanında gereksinim duyulan yeni antimikrobiyal ajanların ve kanser hücreleri üzerinde büyümesini engelleyici etkiye sahip fungal maddeler belirlenebilecektir.

Ayrıca yapmış olduğumuz tez çalışmamız *ex vivo* koşullarda gerçekleştirildiğinden, edindiğimiz bulgular *in vivo* sonuçları birebir yansıtmayabilir. Bu nedenle biyoaktif bileşenlerin etkinliğinin kesin olarak açığa çıkarılabilmesi için daha ileri düzeyde *ex vivo* ve *in vivo* çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Bundan sonraki araştırmalar için aktif olduğu belirlenen türlerden elde edilecek özütlerin içerdikleri kimyasal bileşenlerin ayrıştırılması ve elde edilen her bir bileşiğin ayrı ayrı aktivite düzeylerinin belirlenmesi önerilmektedir. Gelecekte, aktif bileşenlerin izole edilerek insanlar tarafından tedavi amaçlı kullanımları için yeterli derecede kesinlik sağlandıktan sonra, *in vivo* koşulları yansıtan, hayvanlarla oluşturulacak deneylerle çalışma anlamlı bir aşamaya gelebilecektir.

Son olarak, bilindiği üzere immün sistemi vücutta tümör oluşumunu engelleyen önemli bir faktördür. İmmün sisteminin zayıflamasında veya baskılanmasında canlı organizmalar çeşitli tümör oluşumuna ve pek çok hastalıklara maruz kalmaktadır. Dolayısıyla ileride yapılacak çalışmalarda hücre bölünmesini arttıran mantar ekstralarının immün sistemi üzerindeki etkilerinin araştırılması, immün sisteminin optimize edilmesinde rol oynayan yeni bileşenlerin ortaya çıkarılmasına yardımcı olabilecektir.

KAYNAKLAR

- Abate, D. ve W. R. Abraham (1994) Antimicrobial metabolites from *Lentinus crinitus*, *J Antibiot (Tokyo)*, 47(11): 1348-1350.
- Adams, L. S., S. Phung, (2008) White button mushroom (*Agaricus bisporus*) exhibits antiproliferative and proapoptotic properties and inhibits prostate tumor growth in athymic mice, *Nutr Cancer*, 60(6): 744-756.
- Ajith, T. A. ve K. K. Janardhanan (2003) Cytotoxic and antitumor activities of a polypore macrofungus, *Phellinus rimosus* (Berk) Pilat., *J Ethnopharmacol*, 84(2-3): 157-162.
- Al-Fatimi, M. A., W. D. Julich, (2006) Bioactive components of the traditionally used mushroom *Podaxis pistillaris*, *Evid Based Complement Alternat Med*, 3(1): 87-92.
- Antonyuk, V. O., O. Y. Klyuchivska, (2010) Cytotoxic proteins of *Amanita virosa* Secr. mushroom: purification, characteristics and action towards mammalian cells, *Toxicon* 55(7): 1297-1305.
- Bauer Petrovska, B. (2001) Protein Fraction in Edible Macedonian Mushrooms, *Eur. Food Res. Technol.*, 212(4): 469-472.
- Beattie, K. D., R. Rouf, (2010) Antibacterial metabolites from Australian macrofungi from the genus *Cortinarius*, *Phytochemistry*, 71(8-9): 948-955.
- Beattie, K. D., R. Ulrich, (2011) Ethanolic and aqueous extracts derived from Australian fungi inhibit cancer cell growth in vitro, *Mycologia*, 103(3): 458-465.
- Bézivin, C., F. Lohézic, (2002) Cytotoxic Activity of Tricholomatales determined with Murine and Human Cancer Cell Lines, *Pharm. Biol.*, 40(3): 196-199.
- Breitenbach, J., F. Kränzlin, (1984) *Fungi of Switzerland*, Volume 1. Ascomycetes, Verlag Mykologia CH-6000 Luzern 9, Switzerland.

- Breitenbach, J., F. Kränzlin, (1986) *Fungi of Switzerland*, Volume 2. Nongilled Fungi, Verlag Mykologia CH-6000 Luzern 9, Switzerland.
- Breitenbach, J. ve F. Kränzlin (1991) *Fungi of Switzerland*, Volume 3. Boletes and Agarics 1. Part, Verlag Mykologia CH-6000 Luzern 9, Switzerland.
- Breitenbach, J., F. Kränzlin, (2005) *Fungi of Switzerland*, Volume 6. Russulaceae, Verlag Mykologia CH-6000 Luzern 9, Switzerland.
- Bukhman, V. M., E. M. Treshchalina, (2007) Preparation and biological properties of basidiomycete aqueous extracts and their mycelial compositions, *Antibiot Khimioter*, 52(1-2): 4-9.
- Carmichael, J., W. G. DeGraff, (1987), Evaluation of a tetrazolium-based semiautomated colorimetric assay: assessment of chemosensitivity testing, *Cancer Res*, 47(4): 936-942.
- Chan SL ve Yeung JHK. (2006) Effects of polysaccharide peptide (PSP) from *Coriolus versicolor* on the pharmacokinetics of cyclophosphamide in the rat and cytotoxicity in HepG2 cells, *Food Chem. Toxicol.*, 44: 689-694.
- Chen, Y.-C., H.-O. Ho, (2010) Anticancer Effects of *Taiwanofungus camphoratus* Extracts, Isolated Compounds and its Combinational use, *Journal of Experimental & Clinical Medicine*, 2(6): 274-281.
- Cheng, C.-R., Q.-X. Yue, (2010) Cytotoxic triterpenoids from *Ganoderma lucidum*, *Phytochemistry*, 71(13): 1579-1585.
- Cheung, P. C. K. (2010) The nutritional and health benefits of mushrooms, *Nutr. Bulletin*, 35(4): 292-299.
- Chihara, G., J. Hamuro, (1970) Fractionation and purification of the polysaccharides with marked antitumor activity, especially lentinan, from *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. (an edible mushroom), *Cancer Res*, 30(11): 2776-2781.
- Chung, M. J., C. K. Chung, (2010), Anticancer activity of subfractions containing pure compounds of Chaga mushroom (*Inonotus obliquus*) extract in human cancer cells and in Balbc/c mice bearing Sarcoma-180 cells, *Nutr Res Pract*, 4(3): 177-182.

- Fukasawa, Y., T. Osono, (2005), Decomposition of Japanese beech wood by diverse fungi isolated from a cool temperate deciduous forest, *Mycoscience*, 46(2): 97-101.
- Giannetti, B. M., W. Steglich, (1978), Antibiotics from basidiomycetes, VI. Merulinic acids A, B, and C, new antibiotics from *Merulius tremellosus* and *Phlebia radiata* (author's transl), *Z Naturforsch, C* 33(11-12): 807-816.
- Harhaji, L., S. Mijatovic, (2008) Anti-tumor effect of *Coriolus versicolor* methanol extract against mouse B16 melanoma cells: in vitro and in vivo study, *Food Chem Toxicol*, 46(5): 1825-1833.
- Hirasawa, M., N. Shouji, (1999) Three kinds of antibacterial substances from *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. (Shiitake, an edible mushroom), *Int J Antimicrob Agents*, 11(2): 151-157.
- Hong, C. E. ve S. Y. Lyu (2012) The Antimutagenic Effect of Mistletoe Lectin (*Viscum album* L. var. *coloratum* agglutinin), *Phytother Res*, 26(5): 787-790.
- Hsieh, T. C. ve J. M. Wu (2001) Cell growth and gene modulatory activities of Yunzhi (Windsor Wunxi) from mushroom *Trametes versicolor* in androgen-dependent and androgen-insensitive human prostate cancer cells, *Int J Oncol*, 18(1): 81-88.
- Hsieh, T. C., J. Kunicki, (2002) Effects of extracts of *Coriolus versicolor* (I'm-Yunity) on cell-cycle progression and expression of interleukins-1 beta,-6, and -8 in promyelocytic HL-60 leukemic cells and mitogenically stimulated and nonstimulated human lymphocytes, *J Altern Complement Med*, 8(5): 591-602.
- Hussein HS, Brasel JM. (2001) Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals, *Toxicology*, 167: 101-134.
- Israilides, C., D. Kletsas, (2008) In vitro cytostatic and immunomodulatory properties of the medicinal mushroom *Lentinula edodes*, *Phytomedicine*, 15(6-7): 512-519.
- Kaufmann, S. H. ve W. C. Earnshaw (2000) Induction of apoptosis by cancer chemotherapy, *Exp Cell Res*, 256(1): 42-49.

- Kaufmann, S. H. ve M. O. Hengartner (2001) Programmed cell death: alive and well in the new millennium, *Trends Cell Biol*, 11(12): 526-534.
- Kidd, P. M. (2000) The use of mushroom glucans and proteoglycans in cancer treatment, *Altern Med Rev*, 5(1): 4-27.
- Kleinwachter, P., H. M. Dahse, (2001) Epicorazine C, an antimicrobial metabolite from *Stereum hirsutum* HKI 0195, *J Antibiot*, (Tokyo) 54(6): 521-525.
- Kodama, N., K. Komuta, (2002) Effects of D-Fraction, a polysaccharide from *Grifola frondosa* on tumor growth involve activation of NK cells, *Biol Pharm Bull*, 25(12): 1647-1650.
- Kwon, H. J., Y. K. Hong, (2006) Methanolic extract of *Pterocarpus santalinus* induces apoptosis in HeLa cells, *J Ethnopharmacol*, 105(1-2): 229-234.
- Lau, C. B., C. Y. Ho, (2004) Cytotoxic activities of *Coriolus versicolor* (Yunzhi) extract on human leukemia and lymphoma cells by induction of apoptosis, *Life Sci*, 75(7): 797-808.
- Lee, M. L., N. H. Tan, (2012) The Antiproliferative Activity of Sclerotia of *Lignosus rhinocerus* (Tiger Milk Mushroom), *Evid Based Complement Alternat Med*, 2012: 697603.
- Lindequist, U., T. H. Niedermeyer, (2005) The pharmacological potential of mushrooms, *Evid Based Complement Alternat Med*, 2(3): 285-299.
- Liu, Q., H. Wang, (2006) First report of a xylose-specific lectin with potent hemagglutinating, antiproliferative and anti-mitogenic activities from a wild ascomycete mushroom, *Biochim Biophys Acta*, 1760(12): 1914-1919.
- Liu, Y.-W., J.-L. Gao, (2009) Evaluation of Antiproliferative Activities and Action Mechanisms of Extracts from Two Species of *Ganoderma* on Tumor Cell Lines, *J. Agric. Food Chem.*, 57(8): 3087-3093.
- Lull, C., H. J. Wichers, (2005) Antiinflammatory and immunomodulating properties of fungal metabolites, *Mediators Inflamm*, 2005(2): 63-80.

- Maiti, S., S. K. Bhutia, (2008) Antiproliferative and immunostimulatory protein fraction from edible mushrooms, *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 26(2): 187-191.
- Manzi, P., A. Aguzzi, (2001) Nutritional value of mushrooms widely consumed in Italy, *Food Chem.*, 73(3): 321-325.
- Manzi, P., L. Gambelli, (1999) Nutrients in edible mushrooms: an inter-species comparative study, *Food Chem.*, 65(4): 477-482.
- Manzi, P., S. Marconi, (2004) Commercial mushrooms: nutritional quality and effect of cooking, *Food Chem.*, 84(2): 201-206.
- Masuda, Y., A. Matsumoto, (2009) Characterization and antitumor effect of a novel polysaccharide from *Grifola frondosa*, *J Agric Food Chem*, 57(21): 10143-10149.
- Mattila P, Konko K, Euroola M, Pihlava JM, Astola J, Vahteristo L, Hietaniemi V, Kumpulainen J, Valtonen M, Piironen V. (2001) Contents of vitamins, mineral elements, and some phenolic compounds in cultivated mushrooms, *J. Agric. Food Chem.*, 49: 2343-2348.
- Mau, J.-L., H.-C. Lin, (2001) Non-volatile taste components of several speciality mushrooms, *Food Chem.*, 73(4): 461-466.
- Mau, J.-L., H.-C. Lin, (2002) Antioxidant properties of several specialty mushrooms, *Food Research International*, 35(6): 519-526.
- Mellows, G., P. G. Mantle, (1973) Sesquiterpenoid metabolites from *Stereum complicatum*, *Phytochemistry*, 12(11): 2717-2720.
- Min, B. S., N. Nakamura, (1998) Triterpenes from the spores of *Ganoderma lucidum* and their inhibitory activity against HIV-1 protease, *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 46(10): 1607-1612.
- Moradali, M. F., H. Mostafavi, (2007) Immunomodulating and anticancer agents in the realm of macromycetes fungi (macrofungi), *Int Immunopharmacol*, 7(6): 701-724.

- Mothana, R. A. A., R. Jansen, (2000) Ganomycins A and B, New Antimicrobial Farnesyl Hydroquinones from the Basidiomycete *Ganoderma pfeifferi*, *J. Nat. Prod.*, 63(3): 416-418.
- Mu, C., X. Song, (2012) A scallop C-type lectin from *Argopecten irradians* (AiCTL5) with activities of lipopolysaccharide binding and Gram-negative bacteria agglutination, *Fish Shellfish Immunol*, 32(5): 716-723.
- Muller, C. I., T. Kumagai, (2006) *Ganoderma lucidum* causes apoptosis in leukemia, lymphoma and multiple myeloma cells, *Leuk Res*, 30(7): 841-848.
- Ngai, P. H. ve T. B. Ng, (2004) A mushroom (*Ganoderma capense*) lectin with spectacular thermostability, potent mitogenic activity on splenocytes, and antiproliferative activity toward tumor cells, *Biochem Biophys Res Commun*, 314(4): 988-993.
- Norikura, T., K. Fujiwara, (2011) Anticancer activities of thelephantin O and vialinin A isolated from *Thelephora aurantiotincta*, *J Agric Food Chem*, 59(13): 6974-6979.
- Novaes, M. R., F. Valadares, (2011) The effects of dietary supplementation with Agaricales mushrooms and other medicinal fungi on breast cancer: evidence-based medicine, *Clinics (Sao Paulo)*, 66(12): 2133-2139.
- Park, B. T., K. H. Na, (2009) Antifungal and Anticancer Activities of a Protein from the Mushroom *Cordyceps militaris*, *Korean J Physiol Pharmacol*, 13(1): 49-54.
- Pavel, K. (2009) Chemical composition and nutritional value of European species of wild growing mushrooms: A review, *Food Chem.*, 113(1): 9-16.
- Ramesh, C. ve M. G. Pattar, (2010) Antimicrobial properties, antioxidant activity and bioactive compounds from six wild edible mushrooms of western ghats of Karnataka, India, *Pharmacognosy Res*, 2(2): 107-112.
- Rashid, S., A. Unyayar, (2011) A study of anti-cancer effects of *Funalia trogii* in vitro and in vivo, *Food Chem Toxicol*, 49(7): 1477-1483.

- Rau, U., A. Kuenz, (2009) Production and structural analysis of the polysaccharide secreted by *Trametes (Coriolus) versicolor* ATCC 200801, *Appl Microbiol Biotechnol*, 81(5): 827-837.
- Renata, Z.-W. (2004) Optical purity of (R)-(-)-1-octen-3-ol in the aroma of various species of edible mushroom, *Food Chem.*, 86(1): 113-118.
- Reshetnikov, S. V. ve K.-K. Tan (2001) Higher Basidiomycota as a Source of Antitumor and Immunostimulating Polysaccharides (Review), 3(4): 34.
- Shen, J., M. Tanida, (2009) Effect of the culture extract of *Lentinus edodes* mycelia on splenic sympathetic activity and cancer cell proliferation, *Auton Neurosci*, 145(1-2): 50-54.
- Shieh, Y. H., C. F. Liu, (2001) Evaluation of the hepatic and renal-protective effects of *Ganoderma lucidum* in mice, *Am J Chin Med*, 29(3-4): 501-507.
- Silva, S., S. Martins, (2012) Production, purification and characterisation of polysaccharides from *Pleurotus ostreatus* with antitumour activity, *J Sci Food Agric*.
- Soboleva, A., L. M. Krasnopol'skaia, (2006) Antibiotic properties of the strains of the basidiomycete *Lentinus edodes* (Berk.) sing, *Antibiot Khimioter*, 51(7): 3-8.
- Song, J., M. M. Manir, (2009) Cytotoxic grifolin derivatives isolated from the wild mushroom *Boletus pseudocalopus* (Basidiomycetes), *Chem Biodivers*, 6(9): 1435-1442.
- Suay, I., F. Arenal, (2000) Screening of basidiomycetes for antimicrobial activities, *Antonie Van Leeuwenhoek* 78(2): 129-140.
- Sulkowska-Ziaja, K., B. Muszynska, (2005) Biologically active compounds of fungal origin displaying antitumor activity, *Acta Pol Pharm* 62(2): 153-159.
- Tamer, A.Ü., Gücin, F. ve Solak, H. (2006) *Mikolojiye Giriş*, Manisa, 207s.

- Tateno, H. ve I. J. Goldstein, (2003) Molecular cloning, expression, and characterization of novel hemolytic lectins from the mushroom *Laetiporus sulphureus*, which show homology to bacterial toxins, *J Biol Chem* 278(42): 40455-40463.
- Tim, M. (1983) Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays, *J. Immunol. Methods*, 65(1-2): 55-63.
- Tsukagoshi S, Hashimoto Y, Fujii G, Kobayashi H, Nomoto K, Orita K. (1984) Krestin (Psk), *Cancer Treatment Reviews*, 11: 131-155.
- Turkoglu, A., M. E. Duru, (2007) Antioxidant and antimicrobial activities of *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill, *Food Chem.*, 101(1): 267-273.
- Uetsuka A, Itoh M, Satoh S, Ohno Y. (1980) Protective Effect of Psk (Krestin) against Experimental Infections with Yeasts and Yeast-Like Fungi, *Int. J. Immunopharmacology* 2: 188-188.
- Vaz, J. A., S. A. Heleno, (2010) Wild mushrooms *Clitocybe alexandri* and *Lepista inversa*: in vitro antioxidant activity and growth inhibition of human tumour cell lines, *Food Chem Toxicol* 48(10): 2881-2884.
- Vetter, J. (1990) Mineral element content of edible and poisonous macrofungi, *Acta alimentaria (Budapest)*, 19(1): 27-40.
- Wang, H. ve T. B. Ng (2006) Ganodermin, an antifungal protein from fruiting bodies of the medicinal mushroom *Ganoderma lucidum*, *Peptides*, 27(1): 27-30.
- Wang, H. X., T. B. Ng, (1997) Actions of lectins from the mushroom *Tricholoma mongolicum* on macrophages, splenocytes and life-span in sarcoma-bearing mice, *Anticancer Res*, 17(1A): 419-424.
- Wasser, S. P. (2002) Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides, *Appl Microbiol Biotechnol*, 60(3): 258-274.
- Wasser, S. P. ve A. L. Weis (1999) Therapeutic effects of substances occurring in higher Basidiomycetes mushrooms: a modern perspective, *Crit Rev Immunol*, 19(1): 65-96.

- Wu, J. Y., C. H. Chen, (2011) Anti-Cancer Effects of Protein Extracts from *Calvatia lilacina*, *Pleurotus ostreatus* and *Volvariella volvacea*, *Evid Based Complement Alternat Med*, 2011: 982368.
- Xu, X., H. Yan, (2011) Bioactive proteins from mushrooms, *Biotechnology Advances*, 29(6): 667-674.
- Yamaç, Mustafa, (2006) Antimicrobial Activities of Fruit Bodies and/or Mycelial Cultures of Some Mushroom Isolates, *Pharm. Biology (Formerly International Journal of Pharmacognosy)* 44(9): 660-667.
- Yan, D., H. Y. Bao, (2009) Antitumor components from *Naematoloma fasciculare*, *J Microbiol Biotechnol*, 19(10): 1135-1138.
- Yılmaz, N., M. Solmaz, (2006) Fatty acid composition in some wild edible mushrooms growing in the middle Black Sea region of Turkey, *Food Chem.*, 99(1): 168-174.
- Zahid, S., C. C. Udenigwe, (2006) New bioactive natural products from *Coprinus micaceus*, *Nat Prod Res* 20(14): 1283-1289.
- Zaidman, B. Z., M. Yassin, (2005) Medicinal mushroom modulators of molecular targets as cancer therapeutics, *Appl Microbiol Biotechnol*, 67(4): 453-468.
- Zhang, M., S. W. Cui, (2007) Antitumor polysaccharides from mushrooms: a review on their isolation process, structural characteristics and antitumor activity, *Trends Food Sci. Technol.*, 18(1): 4-19.
- Zhao, C., H. Sun, (2003) An antitumour lectin from the edible mushroom *Agrocybe aegerita*, *Biochem J*, 374(Pt 2): 321-327.
- Zheng, S., Q. Liu, (2010) Purification and characterization of an antibacterial protein from dried fruiting bodies of the wild mushroom *Clitocybe sinopica*, *Acta Biochim Pol*, 57(1): 43-48.
- Zjawiony, J. K. (2004) Biologically active compounds from *Aphyllophorales* (polypore) fungi, *J Nat Prod*, 67(2): 300-310.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Ad Soyad : Bahar TÜL
Uyruk : T.C.
Doğum Yeri ve Tarihi : 30/05/1987
Medeni Hali : Bekar
E-posta : bahar.tul@gmail.com

Eğitim

Alınan Derece	Aldığı Kurum/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Lise	Muğla Turgut Reis Süper Lisesi	2005
Lisans	Muğla Üniversitesi	2009
Yüksek Lisans	Muğla Üniversitesi	2012

Yabancı Dil

Dil (İngilizce, vs)	Başlangıç	Orta	İleri
Yazma		x	
Konuşma		x	
Anlama		x	
Okuma		x	