



T.C.
İSKENDERUN TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
MÜHENDİSLİK VE FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BAZI ALG ÖZÜTLERİNİN HAYATTA KALIŞ VE MTT METODU İLE
ANTİKANSER ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

ELİF KUZU

SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HATAY
OCAK-2018

**T.C.
İSKENDERUN TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
MÜHENDİSLİK VE FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BAZI ALG ÖZÜTLERİNİN HAYATTA KALIŞ VE MTT METODU İLE
ANTİKANSER ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

ELİF KUZU

SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**HATAY
OCAK-2018**

T.C.
İSKENDERUN TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
MÜHENDİSLİK VE FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI

Tezin Adı: Bazı Alg Özutlerinin Hayatta Kalış ve MTT Metodu ile Antikanser Etkilerinin Araştırılması

Öğrencinin, Adı Soyadı: Elif Kuzu

Tez Savunma Tarihi: 22.01.2018

Kod No: 88

Enstitü Onayı :

Doç. Dr. Mustafa DEMİRCİ
Enstitü Müdürü

Bu tezin Yüksek Lisans/Doktora tezi olarak gerekli şartları sağladığını onaylıyorum.

Prof. Dr. Mevlüt AKTAŞ
Anabilim Dalı Başkanı

Bu tez tarafımca (tarafımızca) okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans/Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Şükran ÇAKIR ARICA
Tez Danışmanı

Bu tez tarafımızca okunmuş, kapsam ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans/Doktora tezi olarak oy birliği/oy çokluğu ile kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri:

İmzası

Prof. Dr. Şükran ÇAKIR ARICA

.....

Yrd. Doç. Dr. Fatma Azize BUDAK YILDIRAN

.....

Yrd. Doç. Dr. Ayşe ÖZYILMAZ

.....

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

22.01.2018

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını ve tez üzerinde Yükseköğretim Kurulu tarafından hiçbir değişiklik yapılamayacağı için tezin bilgisayar ekranında görüntülendiğinde asıl nüsha ile aynı olması sorumluluğunun tarafıma ait olduğunu beyan ederim.

İmza

ELİF KUZU

ÖZET

BAZI ALG ÖZÜTLERİNİN HAYATTA KALIŞ VE MTT METODU İLE ANTİKANSER ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Bu çalışmada, Doğu Akdeniz kıyısında yer alan İskenderun Körfezi'nin Kale ve Konacık Bölgesinden iki farklı kahverengi alg (*Sargassum sp.* ve *Cystoseira sp.*) toplandı ve özütleri elde edildi. Bu özütlerin *Drosophila melanogaster*'in hayatta kalışı üzerine etkileri ve insan kolon kanseri hücre hattı (DLD-1) üzerine antikanser etkileri çalışıldı.

Hücre kültürü çalışmalarında alg özütlerinin 3 farklı dozu (25 µg/ml, 12.5 µg/ml, 6.25 µg/ml) ayrı ayrı ve doksorubisin (10 µM) ile birlikte, DLD-1 hücre hattına uygulandı, antikarserojenik etkileri 3-(4,5-dimetil tiyazol-2-yl)-2,5-difenil tetrazolium bromid (MTT) testi ile incelendi. Pozitif kontrol olarak genotoksik ve karsinojenik etkileri bilinen ve birçok kanser hastalığının tedavisinde kullanılan kemoterapik ilaçlardan biri olan doksorubisin kullanıldı.

Ayrıca, incelenen bitki özütlerinin 10 mg/ml olan dozu flare (flr3) ve çoklu kanat kılı (mwh) mutant işaret genlerini taşıyan 72 ± 4 saatlik transheterozigot *Drosophila melanogaster* larvalarına uygulandı. Kontrol grubunda hayatta kalış oranı %83 olarak bulundu. Her iki alg, kullanılan dozda (*Sargassum sp.* %88 ve *Cystoseira sp.* %94) *Drosophila melanogaster*'in hayatta kalışını pozitif etkiledi.

MTT testi sonuçlarına göre, her iki alg özütünün uygulanan dozlarda absorbans değerlerini artırdığı bulundu. Elde edilen farklı konsantrasyonlardaki absorbans değerlerindeki artış aritmetik ortalamaları standart hataları ile birlikte MS Excel programında hesaplandı. Bu çalışmada grafik ve tablo halinde sunulan bulgular bu iki algin (*Sargassum sp.*, *Cystoseira sp.*) gelecek için potansiyel terapötik kaynak olabileceğini işaret etmektedir.

2018, 45 Sayfa

Anahtar Kelimeler: *Drosophila melanogaster*, *Sargassum sp.* ve *Cystoseira sp.*, hayatta kalış, antikarserojenite, MTT

ABSTRACT

INVESTIGATION OF SURVIVAL AND ANTICANCER EFFECTS OF SOME ALGAE EXTRACTS BY MTT METHOD

In this study, two different brown algae (*Sargassum sp.* and *Cystoseira sp.*) were collected from the Kale and Konacik Regions of the Iskenderun Gulf, located on the eastern Mediterranean coast and their extracts were obtained. The effects of these extracts on the survival of *Drosophila melanogaster* and anticancer effects on the human colon cancer cell line (DLD-1) were studied.

In the cell culture studies, 3 different doses of algae extracts (25 µg / ml, 12.5 µg / ml, 6.25 µg / ml) were applied to the DLD-1 cell line separately and with doxorubicin (10 µM), dimethyl thiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT) test. Doxorubicin, is one of the chemotherapeutic drugs used for treatment of many types of cancer and genotoxic and carcinogenic effects are known, was used as positive control.

In addition, the plant extracts were applied to 72 ± 4 h trans-heterozygous *Drosophila melanogaster* larvae carrying flare (*flr3*) and multiple wing hair (*mwh*) mutant marker genes. The survival rate in the control group was 83%. Both Brown algae (*Sargassum sp.* 88% and *Cystoseira sp.* 94%) also positively affected the survival of *Drosophila melanogaster*.

MTT test results showed that both algal extracts increased absorbance values at the doses applied. The arithmetic averages of the absorbance values obtained at different concentrations were calculated in MS Excel program with standard errors. In this study, findings presented in graphical and tabular form indicate that these two algae (*Sargassum sp.*, *Cystoseira sp.*) may be potential therapeutic sources for the future.

2018, 45 pages

Key Words: *Drosophila melanogaster*, *Sargassum sp.* and *Cystoseira sp.*, survival, anticarcinogenicity, MTT

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez konusunun belirlenmesinde, araştırılması ve yazımı sırasında sahip olduğu bilgi birikimi ve tecrübesi ile çalışmayı yönlendiren ve her türlü yardımı esirgemeyen saygıdeğer danışman hocam Prof. Dr. Şükran ÇAKIR ARICA'a sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tez konusunun belirlenmesi ve çalışmaların takip edilmesinde her türlü yardımı esirgemeyen Tez Jüri Üyeleri Yrd. Doç. Dr. Fatma Azize BUDAK YILDIRAN, Yrd. Doç. Dr. Ayşe ÖZYILMAZ'a ve verilerin değerlendirilmesindeki desteğinden dolayı Yrd. Doç. Dr. Aydın DEMİRCİ'ye teşekkür ederim.

Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırmalar Laboratuvarında hücre kültürü araştırmaları ve diğer laboratuvar çalışmalarının yürütülmesi sırasında yardımlarını esirgemeyen Dr. Selda ÖZ'e teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	I
ABSTRACT	II
TEŞEKKÜR	III
İÇİNDEKİLER	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VI
ÇİZELGELER DİZİNİ	VII
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	VIII
1. GİRİŞ	1
1.1. <i>Cystoseria sp.</i> İle İlgili Genel Bilgiler	4
1.2. <i>Sargassum sp</i> İle İlgili Genel Bilgiler	5
1.3. Doksorubisin	6
1.4. Karsinojenite	6
1.5. <i>Drosophila melanogaster</i> İle İlgili Genel Bilgiler	7
1.6. Hayatta Kalış Deneyinde Kullanılan <i>Drosophila</i> Irkları İle İlgili Genel Bilgiler	9
1.7. MTT Testi	10
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	11
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	16
3.1. Materyal	16
3.1.1. Örnekleme İstasyonları	16
3.1.2. Alg Örnekleri.....	17
3.1.3. Doksorubisin.	17
3.1.4. Kullanılan Cihazlar	17
3.1.5. Kullanılan Kimyasallar	17
3.1.4. Doksorubisin	17
3.1.5. Kullanılan Cihazlar	17
3.1.6. Kullanılan Kimyasallar	17
3.2. Yöntem.....	17
3.2.1. Alg Ekstraktlarının Hazırlanması	17
3.2.2. Hayatta Kalış Deneyleri	18
3.2.2.1. <i>Drosophila</i> Stokları.....	18
3.2.2.2. Uygulamada Kullanılan Kimyasallar	18
3.2.2.3. Uygulama.....	18
3.2.2.4. Laboratuvar Koşulları.....	18
3.2.3. Hücre Kültürü Çalışmaları (MTT Testi) ve Hücre Hatları	19
3.2.4. Hücrelerin Üretilmesi ve Ekim İşlemi	19
3.2.5. İstatistik Analizleri	20
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA.....	21
4.1. Hayatta Kalış Deneylerinden Elde Edilen Bulgular	21

4.2. MTT Testinden Elde Edilen Bulgular	22
5. SONUÇLAR ve ÖNERİ	25
KAYNAKLAR	27
ÖZGEÇMİŞ	33



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1.1. <i>Cystoseria sp.</i> (Turan, 2007).....	4
Şekil 1.2.1. <i>Sargassum sp.</i> (Turan, 2007)	5
Şekil 1.5.1. <i>Drosophila</i> 'nın hayat döngüsü (Anonymous, 2018).....	7
Şekil 1.6.1. Mwh, flr3 ve Bds genlerinin 3. Kromozom üzerindeki yerleşimleri (Graf ve ark., 1984).	9
Şekil 3.1.1.1. İskenderun Körfeşi'nin Kale ve Konacık Bölgeleri	10
Şekil 4.1.1. <i>Sargassum sp.</i> ve <i>Cystoseria sp.</i> özütlerinin <i>Drosophila melanogaster</i> larvalarının hayatta kalışları üzerine etkileri	21
Şekil 4.2.1. <i>Sargassum sp.</i> , ve <i>Cystoseria sp.</i> özütlerinin DLD-1 (insan kolon kanseri) hücre hattı üzerindeki farklı doz uygulamalarından elde edilen absorbans değerlerinin karşılaştırılması	23

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.2.1. <i>Sargassum sp.</i> , ve <i>Cystoseira sp.</i> özütlerinin DLD-1 (insan kolon kanseri) hücre hattı üzerindeki farklı doz uygulamalarından elde edilen absorbans değerleri.	22
---	----



SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

SİMGELER

g	: Gram
ml	: mililitre
μ l	: mikrolitre
mg	: miligram
nm	: nanometre
μ M	: mikrometre
μ g	: mikrogram

KISALTMALAR

Bds	: Beaded- serrate
flr	: Flare
mwh	: Multiple wing hair
DLD-1	: İnsan kolon kanseri hücre hattı
Dxr	: Doksorubisin
MTT	: 3-(4,5-dimetil tiyazol-2-yl)-2,5-difenil tetrazolium bromide
O.D	: Optik yoğunluk
ROS	: Reaktif oksijen türleri

GİRİŞ

Algler, tek hücreli mikroalglerden çok hücreli makroalgelere kadar çeşitlilik gösteren fotosentetik organizmalardır. Sitolojik, morfolojik, biyokimyasal özellikleri, üreme şekilleri ve hayat devirlerine göre farklılık gösterirler (Cirik ve Cirik, 2011; Bowen, 1966). Yapısal olarak mikroalg ve makroalg olarak iki gruba ayrılırlar. Mikroalgler *Cyanophyta* olarak bilinirken makroalgler kamçı taşımalarına ve pigmentasyonlarına göre; kahverengi (*Phaeophyta*), kırmızı (*Rhadeophyta*), yeşil (*Chlorophyta*), diyatomeler (*Chrysophyta*) ve kamçılı algler (*Flagellata*) olarak sınıflandırılır (Gamal, 2010).

Teknoloji ve endüstrinin insan yaşam koşullarına getirdiği kolaylıklar yadsınamaz. Yeni yaşama biçimi, kadınların da iş hayatına katılması yeni beslenme alışkanlıklarını da beraberinde getirmiş, hazır ve hızlı gıdaların yaygınlaşması doğal hayattan ve doğal besin kaynaklarından gün geçtikçe uzaklaşılmasına neden olmuştur. Son yıllarda kitle iletişim araçlarının daha yaygın kullanılması ile bilgi ve bilinç düzeyinin artması tüketicileri gıda seçimi konusunda daha dikkatli davranmaya ve değerli doğal ürünleri tercih etmeye yöneltmiştir.

Uzakdoğu ülkelerinde yaygın olarak kullanılan denizel alglerin yaklaşık 160 türünün insanlar tarafından besin olarak tüketildiği bilinmektedir. Birçok bilimsel çalışma deniz makro alglerinin zengin besin değerine dikkat çekmektedir. Protein, yağ ve suda çözünür lif içeriği yanı sıra beslenmemizde önemli olan demir, çinko, magnezyum ve potasyum gibi mineraller ve K, E, ribofilavin, niasin ve tiamin gibi vitaminler de içerdikleri bilinmektedir.

Sağlıklı beslenme kavramının gelişmesiyle birlikte doğal ürünlere olan talep her geçen gün artmaktadır. Tüketiciler işlenmiş ürünlerin bileşiminde katkı maddeleri de dâhil olmak üzere daha fazla doğal bileşenin yer almasını istemekte ve bu özelliği sağlayan ürünlere yönelmektedirler. Bu bağlamda denizel makro alglerden elde edilen bazı doğal gıda boyalarının kullanılması konusunda ümit verici sonuçlar elde edilmektedir. Algler doğal renklendiricilerin üretiminde sürdürülebilir bir kaynak olarak kullanılabilir niteliktedirler.

Flavonoidler ve karotenoidler gibi zengin biyoaktif içerikleri bilimsel çalışmalarla gösterilen algler bu bağlamda önem kazanmıştır. Önemli bir su ürünü olan alglerden tıp, ziraat ve kâğıt üretiminde faydalanılmakta olup; fikolloid endüstrisinde agar, karragen ve

aljinat üretiminde kullanılmaktadır (Kıran ve ark., 1980; Atay, 1984; McHugh, 2003). Bununla birlikte denizel makroalglerden elde edilen bazı bileşiklerin yaşlanma etkilerini geciktirici, antikanser, antikoagülan, antiinflamatuvar, antimikrobiyal, antioksidant, antiviral, antidiyabetik, anti Alzheimer, antitüberkülozis ve antifungal aktivitelere kullanıldığı da bildirilmiştir (Hoseini ve ark., 2013; Mayer ve ark., 2017).

Günümüzde çevre koşulları, diyet ve sağlık arasındaki ilişki sıkça araştırılmakta ve yeni yaşama koşullarının bazı hastalıkların sıklığını artırdığına dair bir genel kanı oluşmuştur. Bu durum bilim dünyasını doğadan şifa kaynağı etken madde arayışlarına yönlendirmektedir. Bu bağlamda algere olan ilgi artmıştır (Pal ve ark., 2014). Toplumda yaşlanma ile sıklığı artan kanser, obezite, kalp-damar hastalıkları ve organizmanın çevre sorunlarına karşı savunma mekanizmasında azalmaya neden olan faktörlere karşı doğadan fonksiyonel ve terapik etken madde kaynakları bulmaya dair çalışmalar artmıştır (Lee ve ark., 2013).

Birçok araştırma merkezi, yaşlanma sürecini yavaşlatan ve kansere neden olan hücrel değişikliğin önüne geçebilecek bileşenler üzerinde çalışmaktadır. Algler antioksidan ve antikanser özelliklere sahip yararlı pek çok biyoaktif maddenin önemli bir kaynağıdır (Gümüş, 2006). Oksijenli solunum yapan bütün canlı hücrelerde endojen ve ekzojen kaynaklı etmenlere bağlı olarak oksidasyon sonucu reaktif oksijen türleri (ROS) adı verilen moleküller oluşur ve bu moleküller başta hayati öneme sahip DNA dâhil hücre elemanlarından elektron çalarak eşlenir. Endojen faktörler, oksidasyon ve redüksiyon reaksiyonları sonucu oluşurken; sigara, otomobil egzozu, radyasyon, pestisitler, çevresel kirlilik, sağlıksız beslenme, tıbbi tedavi ve stres gibi etmenler ise ekzojen faktörler arasında gösterilmektedir (Fraga ve ark., 1990; Halliwell, 2000; Williams ve Jeffrey, 2000; Siomek ve ark., 2006). Bu oluşan serbest radikaller bağışıklık sistemini zayıflatarak çeşitli hastalıklara yol açarlar ve erken yaşlanmaya katkıda bulunurlar. Antioksidanlar yardımıyla hücre koruyucu tedavi, dejeneratif hastalıklardan korunmada önemlidir. Pek çok araştırma antioksidanların serbest radikalleri nötralize ederek hücrelerin zarar görmesine engel olarak hücreler üzerinde antikansorejenik bir etki yarattığını göstermiştir.

Doğal metabolik yollarla oluşan bu serbest radikaller antioksidan sistemlerle ortadan kaldırılmaktadır. Antioksidanlar yardımıyla hücre koruyucu tedavi, dejeneratif hastalıklardan korunmada önemlidir. Ancak, reaktif oksijen türlerinin çeşitli nedenlerden

dolayı artması ve antioksidan mekanizmasının yetersiz kalması sonucu oksidatif stres meydana gelmektedir (Williams ve Jeffrey, 2000; Cooke ve ark., 2003). Çeşitli nedenlerden dolayı mitokondriyal DNA (mtDNA)'da da oksidatif hasar şekillendiği belirtilmektedir (Hofmann ve ark., 2003).

Pek çok araştırma antioksidanların serbest radikalleri nötralize ederek hücrelerin zarar görmesine engel olarak hücreler üzerinde antikansorejenik bir etki yarattığını göstermiştir (Lee ve Min, 2004). Birçok araştırma merkezi, yaşlanma sürecini yavaşlatan ve kansere neden olan hücresel değişikliğin önüne geçebilecek bileşenler üzerinde çalışmaktadır.

Bu çalışmanın amaçları:

- 1- İki makro kahverengi alg olan *Cystoseira sp.* ve *Sargassum sp.* cinslerine ait özütlerin *in vivo* olarak *Drosophila melanogaster*'in hayatta kalışına etkisini araştırmak.
- 2- Bu alg özütlerinin insan kolon kanser hücre hattında (DLD-1) *in vitro* olarak MTT testi ile antikanser etkilerini araştırmak.
- 3- İleriki çalışmalarda bu makroalg özütlerinin fraksiyonlara ayrılarak hangi içeriğinin bu etkileri tetiklediğinin saptanmasının ilk ayağını oluşturmak.

1.1. *Cystoseira sp.* ile İlgili Genel Bilgiler

Karadeniz, Ege ve Akdeniz’de yaygın olarak bulunan ve 60’dan fazla türü bilinen bu algler alginik asitçe zengin olduklarından ekonomik değere sahiptir (Yayıntaş, 2001). Makroalglerin büyük çoğunluğu gıda olarak tüketilmektedir. Özellikle Uzakdoğu ülkelerinde sıkça tüketilen birçok alglerin besinsel analizleri yapıldığında içeriklerini karbonhidratların, proteinlerin ve yağ asitlerinin oluşturduğu ve birçok etken biyometabolite sahip oldukları belirlenmiştir.

Cystoseira sp. deniz yosunu taksonomisi aşağıdaki gibidir:

Alem: *Protista*

Sınıf: *Phaeophyceae*

Tür: *Fucales*

Aile: *Cystoseiraceae*

Cins: *Cystoseira sp.*



Şekil 1.1.1. *Cystoseira sp.* (Turan, 2007)

1.2. *Sargassum sp.* ile İlgili Genel Bilgiler

Akdeniz, Ege Denizi, Marmara Denizi'nde yaklaşık olarak 8-30 m derinlerde yaşarlar. Tallusu 20- 40 cm yükseklikte, iyi gelişmiş bir eksen ve üzerinde karşılıklı dizilen mızraksı paralel kenarlı yapraklara sahiptir. Orta damar belirgindir. Küresel yapıdaki hava keseleri kısa sürgünlerin üst kısmında bulunur ve üzüm salkımı görünümündedir (Yurdakulol ve Cansaran, 2004).

Tıpta ve eczacılıkta ise sayılmayacak kadar kullanım alanı vardır. Antikoagülan, terapötik, laksatif ve bazı ağrı kesici (böbrek, mide ağrıları gibi) olarak birçok hastalığın tedavisinde alglerden yararlanır (Turan, 2007).

Sargassum sp. deniz yosunu taksonomisi aşağıdaki gibidir:

Alem: *Protista*

Sınıf: *Phaeophyceae*

Tür: *Fucales*

Aile: *Sargassaceae*

Cins: *Sargassum sp.*



Şekil 1.2.1. *Sargassum sp.* (Turan, 2007)

1.3.Doksorubisin

Doksorubisin (14-hidroksi daunomisin, Adriamisin)'in öncül maddesi olan daunomisin (daunorubisin) 1960'lı yıllarda *Streptomyces peucetius* adlı bakteriden elde edilmiştir. Doksorubisinin dahil olduğu antrasiklinler akut lösemi ve lenfomalar, kemik ve yumuşak doku sarkomları, Wilms tümörü, nöroblastom ve hepatoblastom başta olmak üzere çocukluk çağı kanserlerinde yaygın olarak kullanılan kemoterapötik ilaçlardır (Holcenberg ve ark., 2002). Doksorubisin ilaca özgün kırmızı rengini veren parlak fluoresan tetrasiklik kromofor adriamisinon ile ona glikozidik bağ ile bağlanmış bir amino şeker olan daunosaminden oluşur. 14. karbonunda bir hidroksil grubu taşımasıyla daunorubisinden farklılık gösterir. Doksorubisin geniş çapta kullanılan bir kemoterapötik ilaç olmakla normal sağlıklı hücreler üzerinde de yan etkilerinin olduğu bilinmektedir. (Minotti ve ark., 2004).

1.4. Karsinojenite

İnsanlar günlük hayatta birçok yolla genotoksik etkenlere maruz kalmaktadır. İnsan hücresi genetik materyal üzerinde meydana gelen mutasyonları, genotoksik etkiyi onarmak için çeşitli tamir mekanizmalarına sahiptir. Genetik materyalde onarılamayan mutasyonların birikimi ise kanser gelişimine neden olabilir. Bu nedenle organizmada genotoksik mutajen etkiye neden olan bir maddenin karsinojen etkiye de neden olabilmesi mümkündür. Kanser, dünyada olduğu gibi Türkiye'de de önemli bir halk sağlığı sorunudur ve toplumdaki sıklığı artmaktadır. Dünyada olduğu gibi Türkiye'de de önemli bir halk sağlığı sorunudur ve toplumdaki sıklığı artmaktadır.

Genotoksisite, gen ve kromozomların yapı ve sayısında toksik maddelerin etkisiyle meydana gelen değişiklikleri ifade eden bir terimdir. Organizmanın maruz kaldığı iç ve dış etkenler, yapısal ve sayısal olarak, kromozomlarda ya da genlerde mutasyonel değişikliklere neden olmaktadır. Genotoksik maddeler direkt olarak gen veya kromozoma etki edebilecekleri gibi DNA replikasyonu, hücre bölünmesi, DNA tamiri veya metabolizmal reaksiyonlarda değişikliğe neden olarak dolaylı şekilde genotoksisiteye neden olabilirler (Doak ve ark., 2012).

Bugüne kadar çeşitli fiziksel maddelerin (ışın, ısı, sıcaklık), kimyasalların, ilaçların, gıda katkı maddelerinin, kozmetiklerin genotoksik ve karsinojenik etkilerini belirlemek amacıyla farklı test sistemleri geliştirilmiş ve uygulanmıştır. Bu test

sistemlerinin her birinin diğerlerine göre avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. Birçok algın antioksidan içeriği ve anti-kanserojen etkileri üzerine çalışmalar önem kazanmaktadır. Bu çalışmada alg (*Sargassum sp.* ve *Cystoseira sp.*) özütlerinin *Drosophila melanogaster*'in hayatta kalışına etkisi ve ayrıca kolon kanser hücre hattı (DLD-1) üzerine etkisi MTT testi ile araştırıldı.

1.5. *Drosophila melanogaster* İle İlgili Genel Bilgiler

Drosophila melanogaster diptera ordosundan $2n=8$ kromozoma sahip holometabol bir böcektir. (Rothwell, 1993). Hayat döngüsü yumurta, larva, pupa ve ergin birey olarak 4 evreye ayrılır (Ashburner ve Roote, 2000).

Drosophila melanogaster ilk olarak 1910 yılında Thomas Hunt Morgan tarafından deneysel genetik çalışmalarında kullanılmaya başlanmıştır (Kohler, 1994). Diğer ökaryotik deney hayvanlarına göre üretiminin daha kolay ve ucuz olması (Abrahamson ve Lewis, 1971), vücut yapısının küçük olması nedeniyle yetiştirilme ve deney uygulamaları sırasında geniş üretim alanına gereksinim duyulmaması, beslenme ihtiyacının pahalı olmayan kaynaklarla kolaylıkla giderilebilmesi, jenerasyon süresinin kısa olması (25 °C de 9-10 gün) ve çok sayıda döl vermesi, kromozom sayısının az olması, dev kromozoma sahip olması (Graf ve ark., 1992) gibi birçok nedenden dolayı günümüzde halen deneysel araştırmalarda kullanımı tercih edilmektedir. Ayrıca memeliler ve *Drosophila melanogaster*'deki biyolojik, fizyolojik ve nörolojik özelliklerin birçoğunun benzerlik göstermesi, insanlarda çeşitli hastalıklara neden olan genlerin yaklaşık %75'inin *Drosophila melanogaster*'in genomunda homolog olarak bulunması (Pandey ve Nicholas, 2011) nedenleri ile de *Drosophila melanogaster* ideal bir model organizmadır.

Tam başkalaşımın görüldüğü *D. melanogaster*' in yaşam döngüsündeki evreler Şekil 1.5.1. 'de verilmiştir. Bu evrelerin optimum sıcaklıktaki (25°C) süreleri aşağıdaki gibidir (Graf ve ark., 1992).

Embriyonik gelişim: 1 gün

Birinci larval evre (L1): 1 gün

İkinci larval evre (L2): 1 gün

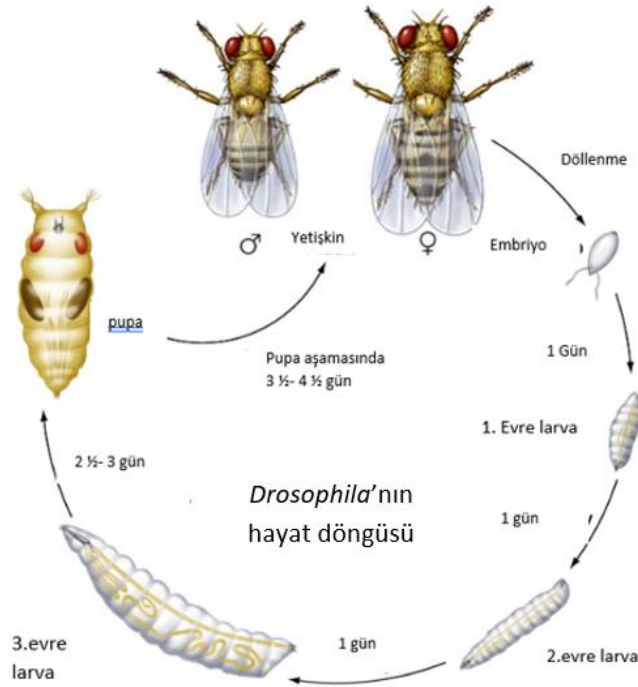
Üçüncü larval evre (L3): 2 gün

Prepupa evresi : 4 saat

Pupa evresi : 4.5 gün

Yetişkin evresi : 40-50 gün

Yumurtaların döllenmesi sonucu meydana gelen embriyogenezden yaklaşık olarak 24 saat sonra birinci evredeki larvalar yumurtadan çıkar. 4 gün süren gelişme dönemi boyunca larval dokuların çoğaltılması ile larvanın ağırlığı yaklaşık olarak 200 kat artar. Larval dokular metamorfoz sırasında yok edilir ve ergin bireyde görülmezler. İmajinal disk hücreleri ise metamorfoz sırasında ergin bireydeki vücut kısımlarına dönüştürülmek üzere değişikliğe uğrarlar (Şekil 1.5.1.). 3. larval evrenin sonuna doğru larva beslenmeyi bırakır ve pupa oluşturmak üzere besiyerini terkedip kuru bir ortama geçer.



Şekil 1.5.1. *Drosophila*'nın hayat döngüsü (Anonymous, 2018).

Yaklaşık olarak 4 gün süren pupa evresi boyunca larvalar metamorfoza uğrayarak ergin bireylere dönüşürler. Pupa evresinin sonunda, yumurtlamadan yaklaşık olarak 9-10 gün sonra ergin bireyler ortaya çıkar. Dişi bireylerin vücut ağırlığı ve büyüklüğü erkek bireylere göre daha fazladır (Stocker ve Gallant, 2008). Erkek bireyler pupadan çıktıktan kısa bir süre sonra eşeyssel olgunluğa erişirken, dişi bireyler ırka ve sıcaklığa bağlı olarak 6-12 saat sonra eşeyssel olgunluğa erişirler. Pupadan çıkan dişi

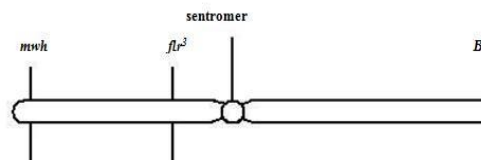
bireyler eşeyssel olgunluğa erişinceye kadar geçen bu süre içerisinde virjin olarak adlandırılırlar. Bireyler çiftleşmeye başladıktan sonra erkek bireylerden gelen spermier dişi bireylerdeki sperm keselerinde toplanır ve daha sonra bu spermier ile yumurtalar döllenir. Bu nedenle *Drosophila*'nın farklı ırkları arasında yapılan çaprazlarda dişi bireylerin virjin olması gerekmektedir (Graf ve ark., 1992).

Drosophila melanogaster genotoksisite (Sarıkaya ve Çakır, 2005), yaşlanma ve ömür uzunluğu çalışmaları (Sarıkaya ve ark., 2006; Peleg ve ark., 2016), nörodejenerasyon (Laurent ve ark., 2013; Yang ve ark., 2015), diyabet (Broughton ve ark., 2008; Haselton ve ark., 2010), kanser (Dar ve ark., 2012) kalp (Diop ve ark., 2015), renal (Zhang ve ark., 2013) hastalıkların moleküler mekanizmalarının anlaşılması, lipid (Katewa ve ark., 2012; Song ve ark., 2014), protein (Ferreira ve ark., 2014) metabolizmalarının incelenmesi gibi birçok araştırmada kullanılan bir model organizmadır.

1.6. Hayatta Kalış Deneyinde kullanılan *Drosophila* Irklarının Özellikleri

Hayatta kalış deneyinde *Drosophila melanogaster*'in 3. kromozom üzerinde 0.3 bölgesinde bulunan ve homozigot çekinik bir mutasyona sahip mwh (multiple wing hair, mwh/mwh) ve 3. kromozomda 38.8 bölgesinde bulunan, flr3 mutant (flare, flr3/TM3, Bds) genlerine sahip iki mutant ırkı kullanıldı (Graf ve ark., 1992). mwh geni. *Drosophila melanogaster*'in doğal ırklarında kanat hücrelerindeki her hücreden tek kıl çıkarken, mwh geni taşıyan bireylerde her bir kanat hücresinden 3 veya daha fazla kıl çıkar. flr3 fenotipte kanat kılları kısa, noktasal, kalın veya şekilsiz olmaktadır.

flr3 geni homozigot olduğunda lethal etki gösteren TM3 (third multiple 3) ve Bds (Beaded-serrate) genleri ile dengelenir (Graf ve ark., 1998). Mwh, flr3 ve Bds genlerinin 3. kromozom üzerindeki yerleşimleri Şekil 1.5' de gösterilmiştir.



Şekil 1.6.1. Mwh, flr3 ve Bds genlerinin 3. kromozom üzerindeki yerleşimleri (Graf ve ark., 1984)

flr3/TM3, Bds ve mwh/mwh genotipli bireylerin çaprazı sonucu transheterozigot (mwh/flr3) ve dengelenmiş heterozigot mwh/Bds bireylerde hayatta kalış deneyleri yapıldı (Graf ve ark., 1984).

1.7. MTT Testi

İlk olarak Mosmann (1983) tarafından tanımlanan 3-(4,5-dimetil tiyazol-2-yl)-2,5-difenil tetrazolium bromide (MTT) testi canlı hücrelerin metabolik aktivitelerinin ölçümü esasına dayanan kolorimetik bir yöntemdir. MTT boyası içerisindeki sarı renkteki suda çözülebilen tetrazolyum tuzu, canlı hücrelerin içine girdikten sonra meydana gelen enzimatik reaksiyonlar ile mor renkte ve kristal formdaki formazana indirgenir. Reaksiyon sonucu meydana gelen formazan hücre zarından geçemediği için canlı hücre içerisinde birikir (Fotakis ve Timbrell, 2006). Gerçekleşen reaksiyon sonucu ortamdaki canlı hücrelerin sayısı ile orantılı olarak renk değişimi meydana gelir. Bu yöntemde üzerinde değişik sayılarda kuyucuk bulunan plakalara ekimi yapılan hücreler belirli süre ile etkisi belirlenmek istenen madde ile muamele edilir. MTT çözeltisinin uygulanması sonucu oluşan formazan kristalleri suda çözünür hale getirildikten sonra kuyucuklardaki optik yoğunluk spektrofotometre ile saptanır. Spektrofotometrede okunan değerin (O. D) büyüklüğü kullanılan MTT çözeltisinin yoğunluğu, inkübasyon süresi, canlı hücrelerin sayısı ve bu hücrelerin metabolik aktiviteleri gibi birçok faktöre bağlıdır (Riss ve ark., 2015).

MTT yönteminde kullanılan tetrazolyum tuzunun formazana indirgenme mekanizması tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır. Daha önceleri indirgenme reaksiyonunun mitokondriyal enzimlerce gerçekleştirildiği düşünülse de daha sonra yapılan çalışmalarda bu reaksiyonun mitokondri dışında NADH ve NADPH enzimleri aracılığıyla da meydana gelebileceği belirtilmiştir (Riss ve ark., 2015; Fotakis ve Timbrell, 2006). MTT testi birçok farklı maddenin sitotoksik etkilerinin belirlenmesinde başarı ile kullanılmıştır (Khedmat ve ark., 2014; Eren ve Özata, 2014; Lee ve ark., 2013).

Bu çalışmada alglerden elde edilen özütlerin *Drosophila melanogaster*'in hayatta kalışı üzerine etkisi *in vivo* olarak ve ayrıca insan kolon kanser hücre hattı (DLD-1) üzerine antikarsinojenik etkisi *in vitro* olarak MTT yöntemi ile araştırıldı.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Antioksidanlar, atmosferik oksijen veya serbest radikaller adı verilen reaktif oksijen türlerinin etkisi altında oluşan ve DNA dahil olmak üzere hücrenin yapısal moleküllerine zarar veren, oksidasyon işlemlerini geciktiren veya inhibe edebilen bileşiklerdir. Günümüzün şehir yaşantısı, çevre sorunları, tempolu iş hayatı, stres gibi faktörler nedeniyle özellikle ileri yaşlarda veya belli hastalıkların iyileşmesinde hücreleri koruyan antioksidan takviyelere ihtiyaç vardır. Bu durum algler gibi doğal kaynaklardan elde edilen antioksidanları besin takviyeleri veya farmasötik ürünler olarak hayatımıza dahil etmektedir.

Antioksidanların hayatta kalış ve ömür uzunluğu üzerinde olumlu etkisinin olduğuna dair model hayvanlar ile yapılmış çalışmalar mevcuttur (Yakajima ve ark., 2008; Norzagaray-Valenzuela ve ark., 2017). Bu bağlamda, karotenoidler, flavonoidler, fenolik bileşikler ve biyoaktif moleküller gibi organizmadaki serbest radikallerin saldırısına karşı savunma mekanizmasına dahil olan doğal ve sürdürülebilir antioksidan kaynakları elde etmede alglerin önemi artmaktadır. Flavonoidlerin serbest radikalleri (ROS) yok edici, antioksidan ve anti-inflamatuar etkiye sahip olduğu Sander ve ark., (2011) tarafından bildirilmiştir.

DNA'da mutajenite ile kanserojenite arasında %80 oranından fazla korelasyon olduğu belirtilmektedir (Andrews ve ark., 1978). Antioksidanlar, süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz gibi vücudun kendi ürettiği bileşikler olabileceği gibi vitaminler, karotenoidler, flavonoidler, antosiyaninler, bazı mineral bileşikler gibi doğal besin kaynaklarından alınarak türetilen veya sentetik bileşikler de olabilir. Bu nedenle, son yıllarda, özellikle insan vücudundaki serbest radikallerin zararlı etkilerini önleme kapasitesine sahip olan alglerden doğal antioksidanlara olan ilgi artmaktadır. Örneğin, alglerin karotenoid, fenolik asit, fukoksantin içeriği ve yağ asidi profili, Foo ve arkadaşları (2017) tarafından biyoaktivite değerlendirilmesi yapılarak incelendi. Bilim Dünyasında hayatta kalış ve ömür uzunluğuna pozitif etkisi konusunda değerli sonuçlar alınan alglerin doğal antioksidan içeriği hakkında birçok yayın bulunmaktadır (Farasat ve ark., 2013; Marudhupandi ve ark., 2014; Nursid ve ark., 2017).

Kanser, dünyada olduğu gibi Türkiye'de de önemli bir halk sağlığı sorunudur ve toplumdaki sıklığı artmaktadır (Anonim, 2012). Karsinojenite, kontrolsüz bir biçimde

hızla çoğalma eğiliminde olan anormal hücre artışını kapsayan hastalığa sebep olabilecek kümenin meydana gelmesindeki artış ve çoğalmasındır (Anonymous, 2018).

Dünyanın birçok ülkesinde olduğu gibi, Türkiye'de de önemli bir halk sağlığı sorunu olan kansere bağlı ölüm oranı gittikçe artıyor. Birçok kanser türü olmasına karşın, hepsinin hücre bölünmesi kontrolü kaybı olan ortak bir hücresel mekanizmasının olduğu bilinmektedir. Normalde kontrolü kaybeden veya hasarı onaramayan hücreler apoptosise girer. Apoptoz, bir hücrenin kendi yıkımını yönlendirmesini sağlayan programlanmış hücre ölümü olarak adlandırılır. Apoptoz, memeli gelişiminde ve ardından doku homeostazında ve karsinogenezide önemli bir faktördür. Bazı alg türlerinin antikanserojenik etkileri olduğu anlayışı, gelecekte önemini daha da artırmıştır.

Genotoksisite, gen ve kromozomların yapı ve sayısında toksik maddelerin etkisiyle meydana gelen değişiklikleri ifade eden bir terimdir. Organizmanın maruz kaldığı iç ve dış etkenler, yapısal ve sayısal olarak, kromozomlarda ya da genlerde mutasyonel değişikliklere neden olmaktadır. Genotoksik maddeler direkt olarak gen veya kromozoma etki edebilecekleri gibi DNA replikasyonu, hücre bölünmesi, DNA tamiri veya metabolizmal reaksiyonlarda değişikliğe neden olarak dolaylı şekilde genotoksisiteye neden olabilirler (Doak ve ark., 2012). İnsanlar günlük hayatta birçok yolla genotoksik etkenlere maruz kalmaktadır. İnsan hücresi genetik materyal üzerinde meydana gelen mutasyonları onarmak için çeşitli tamir mekanizmalarına sahiptir. Genetik materyalde onarılamayan mutasyonların birikimi ise kanser gelişimine neden olabilir. Bu nedenle organizmada genotoksik mutajen etkiye neden olan bir maddenin karsinojen etkiye de neden olabilmesi mümkündür.

Bugüne kadar çeşitli fiziksel maddelerin (ışın, ısı, sıcaklık), kimyasalların, ilaçların, gıda katkı maddelerinin, kozmetiklerin genotoksik ve karsinojenik etkilerini belirlemek amacıyla farklı test sistemleri geliştirilmiş ve uygulanmıştır. Bu test sistemlerinin herbirinin diğerlerine göre avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. Bu çalışmada alg (*Sargassum sp.* ve *Cystoseira sp.*) özütlerinin *Drosophila melanogaster*'in hayatta kalışına etkisi ve ayrıca kolon kanser hücre hattı (DLD-1) üzerine etkisi MTT testi ile araştırıldı.

Alglerin gıda ve terapötik ilaçların ham maddesi olarak anti kanserojenik etkileri üzerine çalışmalar bulunmaktadır. Bu nedenle son yıllarda algal suşlarının anti-kanserojen etkileri üzerine çalışmalar önem kazanmaktadır. Örneğin, Kim ve ark. (2010)

kahverengi yosunlarda bulunan fukoidanın insan kolon kanseri hücrelerinin apoptozu oluşturduğunu bildirmiştir. Huang ve ark., (2005) deniz yosunlarının (*Colpomenia sinuosa*, *Halimeda discoidea* ve *Galaxaura oblongata*) ekstraktlarının insan hepatomu ve lösemi hücreleri üzerindeki antitümör etkisini incelediler ve sonuçları reaktif oksijen türlerinin apoptotik sinyal yolağında önemli bir arabulucu olduğu ve yosun ekstraktlarının, insan lösemi hücrelerinde reaktif oksijen türlerinin üretilmesi yoluyla apoptozu indüklediği şeklinde yorumlandılar.

Araştırmalar, kanserin genetik ve çevresel faktörlerden kaynaklanabileceğini gösteriyor. Genetik mirasımızı değiştiremeyebiliriz ancak beslenme, yaşam tarzı ve tedavi yöntemleri ile kendimizi bu hastalıktan korumak mümkün olabilir. Özellikle bazı kahverengi yosunların içeriğindeki antioksidantların, sağlıklı beslenme ve uzun ömür için değerli olduğu bulunmuştur (Drum, 2013). Yosunların antioksidan bileşenlerinin anti-kanser etkileri üzerine birçok çalışma bulunmaktadır. Örneğin, kahverengi yosun, *Sargassum polycystum*'dan izole edilen fukoidanın antioksidan ve anti-kanser etkisi, Palanisamy ve arkadaşları (Palasinamy ve ark., 2017) tarafından araştırılmış ve sonuçlar *Sargassum polycystum*'dan izole edilen fukoidanın güçlü antioksidan ve antikanser özelliklere sahip olduğunu göstermiştir.

Hava ile kurutulmuş 46 farklı deniz antitümör aktivitesi açısından incelenmiş ve Ehrlich karsinomasına karşı pozitif etki tespit edilmiştir. Kahverengi ve kırmızı alglerden elde edilen birkaç glikolipid ve fosfolipid fraksiyonu da Meth-A fibrosarkoma karşı etkili bulunmuştur (Kwon ve ark., 2007). Yosun ekstraktlarının son zamanlarda antioksidan ve anti-tümör aktiviteleri olduğu bulunmuştur. Deniz alglerinin sıcak suda çözünen bir polisakariti ve yosunun doğal bir bileşeni olan Fukoidan, önemli apoptotik molekülleri hedef alarak çeşitli kanser türlerine karşı anti kanser aktivitesine de sahiptir (Kwak ve ark., 2012; Atashrazm ve ark., 2015). Astaksantin, antioksidan aktivite yönünden önemli potansiyele sahip kırmızı bir karotenoid pigment olduğu bilinir. Diğer örnek, deniz yosunlarından türetilen doğal bir madde olan fukoidan, immüno-modülatör ve sitotoksik aktivitelerdir ve potansiyel bir anti-kanser ajanı olarak araştırılmıştır (Atashrazm ve ark., 2015; Atashrazm ve ark., 2016).

Alglerin kanser üzerindeki koruyucu etkilerini gösteren birçok bilimsel çalışma bulunmaktadır. Örneğin, kahverengi yosun *Sargassum duplicatum*'dan izole edilen laminarin ve fukoidan, *in vitro* kolon kanseri hücrelerinin koloni oluşumuna karşı

bulunmuştur (Usoltseva ve ark., 2017). Gonzalez-Ballesteros ve ark., (2017), kahverengi makroalglerin, altın nanopartiküllerin elde edilmesinde elde edilen ekstraktların kolon rektal kanser tedavisinde önemli bir potansiyele sahip olduğunu bildirmiştir. Fucoidan, deniz kahverengisi yosunlardan ekstrakte edilen sülfatlanmış bir polisakarit, anti-kanser de dahil olmak üzere geniş biyoaktiflik yelpazesine sahiptir. Padina sp'den fukoidanın potansiyel seçici sitotoksikite gösterdiği ve bir anti-kanser bileşiği geliştirilmesi için umut verici olduğu bildirilmiştir (Isnansetyo ve ark., 2017). Alglerin antikanser etkilerini araştırılması yönünde halen yoğun çalışmalar devam etmektedir.

Phlorotanninler, deniz kahverengi alglerden elde edilen eşsiz bileşikler olarak tanımlanmıştır. Florotanninler, kahverengi yosun tarafından ikincil metabolitler olarak üretilirler ve hücre çeperlerinin farklı bileşenleri ile kompleks oluştururlar. Florotanninler, alglerin fizyolojik bütünlüğü için gerekli olup, kimyasal savunma, besleyici madde görevi ve UV radyasyonundaki değişimlere yanıt olarak oluşan oksidatif hasara karşı koruma, diğer organizmalarla veya abiyotik çevre ile olan etkileşimler gibi birtakım önemli ikincil rolleri içeren hücre duvarının ayrılmaz bileşenleri olduğu rapor edilmektedir (Tierney ve ark., 20113; Steevensz ve ark., 2012)

Yüksek antioksidan potansiyelleri olan *S. fusiforme*'den gelen klorotannin ekstraksiyonu ve zenginleştirilmesi için bir prosedür geliştirilen bir çalışmada yeni keşfedilen bazı carmalol türevlerini içeren Eckol tipi klorotanninlerin, *Sargassum* türlerinde ilk defa saptandığı rapor edilmiştir (Li ve ark., 2017).

Praiboon ve arkadaşları (2017) tarafından adriamisin'e dirençli bir insan küçük hücreli akciğer karsinom hücre hattına (GLC4 / Adr) karşı mevsimsel toplanan *Sargassum oligocystum*'un beslenme bileşenlerini ve anti-proliferatif etkinliğini araştırmıştır. Anti-proliferatif etkinlik konusunda ekstraktlardaki E vitamini (α - tokoferol) ile pozitif bir korelasyon olduğu belirtilmiştir. Toplam fenolik veya fukoksantin içeriği ile anti-proliferatif etkinlik arasında net bir korelasyon bulunmazken bu algin gelecekte fonksiyonel gıda veya kanser tedavileri için alternatif bir kaynak olma potansiyeline sahip olduğuna dikkat çekilmiştir.

Toksik maddelerin etkisiyle meydana gelen değişiklikleri ifade eden genotoksikite organizmanın maruz kaldığı iç ve dış etkenler, kromozomlarda ya da genlerde meydana gelen mutasyonel değişikliklerin araştırılması ile ortaya çıkarılır. Genotoksik maddeler direkt olarak kromozom veya DNA'yı etkileyebileceği gibi, metabolizmal reaksiyonlarda

da değişikliğe neden olarak dolaylı şekilde genotoksik olabilir (Doak ve ark., 2012). Hücre genetik materyalinde oluşan bazı bu tip olumsuz gelişmeler eğer hücrede mevcut olan çeşitli tamir mekanizmalarından uygun olan ile tamir edilemezlerse kanser gelişimine neden olabilirler. Uzmanlar bu onarılamayan mutasyon birikiminin ileri yaşlarda kanser gelişimine neden olabildiğini ifade etmektedir ve organizmada genotoksik mutajen etkiye neden olan bir maddeninbu birikimle ileride karsinojen etkiye de neden olabileceği ifade edilmektedir (Atlı Şekeroğlu ve Şekeroğlu, 2011). Genotoksik ve karsinojenik etkilerin belirlenmesi için canlılar üzerinde yapılan testlerin her birinin diğerlerine göre avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır (Alakwaa, 2018; Han ve ark., 2018; Mosesso ve Cinelli, 2018; Piberger ve ark., 2018). Dünyada olduğu gibi Türkiye'de de önemli bir halk sağlığı sorunudur ve toplumdaki sıklığı artmaktadır (Anonim, 2012). Karsinojenite, kontrolsüz bir biçimde hızla çoğalma eğiliminde olan anormal hücre artışını kapsayan hastalığa sebep olabilecek kümenin meydana gelmesindeki artış ve çoğalmasıdır (Anonymous, 2018).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Örnekleme İstasyonları

Bu çalışmada kullanılan alg örnekleri (*Sargassum sp.* ve *Cystoseira sp.*) 2015 yılı ağustos ayında Doğu Akdeniz kıyısında yer alan İskenderun Körfezi'nin Kale ve Konacık bölgelerinden dalarak toplanmıştır.



Şekil 3.1.1.1. İskenderun Körfezi'nin Kale ve Konacık Bölgeleri

3.1.2. Alg Örnekleri

Bu çalışmada kullanılan alg örnekleri (*Sargassum ssp.* ve *Cystoseira sp.*) 2015 yılı ağustos ayında Doğu Akdeniz kıyısında yer alan İskenderun Körfezi'nin Kale ve Konacık bölgelerinden dalarak toplanmıştır.

3.1.3. Doksorubisin

Hücre kültürü uygulamalarında pozitif kontrol olarak doksorubisin (Santa Cruz Biotechnology, Dallas, Texas, USA) kullanıldı. Hücre kültürü uygulamalarında DLD-1 hücrelerine uygulamak üzere doksorubisin karanlık ortamda RPMI besiyerinde çözüldükten sonra kullanılmıştır.

3.1.4. Kullanılan Cihazlar

Hücre kültürü çalışmalarında biyogüvenlik kabini (Esco, Class II Biological Safety Cabinet), hassas terazi (Mettler Toledo Ms New Classic), hücre sayım cihazı (InVitrogen Countess), ışık mikroskobu (Leica DMIL LED), invert mikroskop (Leica DMI6000 B), inkübatör (Binder), mikropak okuyucu (Biotek PowerWave XS2), otomatik pipet (Pipetman, Gilson), santrifüj (Hettich Zentrifugen Rotina 380R), vorteks (Heidolp Reax Top) kullanılmıştır.

3.1.5. Kullanılan Kimyasallar

Hücre kültürü çalışmalarında RPMI besiyeri (Biological Industries), serum (Biological Industries), tripsin-EDTA (Biological Industries), penisilin ve streptomisin antibiyotikleri (Biological Industries), MTT boyası (Roche), PBS (Amresco), DMSO (Merck), ribonükleaz A (Serva), propidium iyodür (Serva), Hoechst boyası (Serva) kullanılmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Alg Ekstraktlarının Hazırlanması

Toplanan ve ayıklanan makroalgler etüvde kurutulduktan ayrı ayrı porselen havanda toz haline gelinceye kadar ezildi. Öğütülen alglerin etanol çözücüsünde (w:v; 1:10), yatay çalkalayıcıda (Kuhner ISF1-XC) (125 rpm) oda sıcaklığında 24 saat süreyle

ekstraksiyonu yapıldı. Ekstraksiyon filtre edildikten sonra rotary evaporatör (Bucchi Rotavapor R-210) aracılığıyla etanol uzaklaştırıldı. Elde edilen ekstraktlar denemelerde kullanılıncaya kadar +4°C’de amber rengi şişelerde muhafaza edildi.

3.2.2. Hayatta Kalış Deneyleri

3.2.2.1. *Drosophila* Stokları

Çalışmada kullanılan *Drosophila melanogaster*’in sık kanat kıllılığı (multiple wing hair, mwh/mwh) ve düzensiz kanat kıllılığı (flare, flr3/ In (3LR), TM3 Bd) genlerine sahip iki mutant ırkı Zürih Üniversitesi Toksikoloji Enstitüsü’nden temin edildi.

3.2.2.2. Uygulamada kullanılan kimyasallar

Bu çalışmada toksik etkisi daha önceden bilinen ve kemoterapide kullanılan doksorubisin ve su, kontrol deneylerinde kullanılmıştır. Ayrıca hazır *Drosophila* besiyeri ve doku kültürü için materyal ve metod bölümünde adı geçen kimyasallar kullanılmıştır.

3.2.2.3. Uygulama

Stoklar ve deney sistemleri 25°C ve %40-60 bağıl neme ayarlanmış etüvlerde tutuldu ve standart *Drosophila* besiyeri (Instant *Drosophila* Medium, Carolina Biological Supply Company, Burlington, N.C.) kullanıldı. Mutant soylardan 5 günlük mwh virjin dişilerle, aynı yaştaki flr3 erkeklerinin çaprazlanmasından 3 gün sonra 4’er saat aralıklarla toplanan yumurtalardan trans-heterozigot üçüncü dönem larvalar elde edildi. Standart besi ortamından alınarak yıkanan larvalar 100’erli gruplar halinde 1,5 g besi ortamı 5 ml belirlenen dozdaki kimyasal ile ıslatılarak ortama gömüldü (Graf ve ark., 1989). Kimyasal içeren standart besi ortamına alınan larvalar gelişmelerini tamamlamaya bırakıldı. Pupadan çıkan ergin bireyler hafif eterle bayıltılarak diseksiyon mikroskobu altında cinsiyet ve fenotiplerine göre ayırt edilmiştir. Her doz uygulaması üç kez tekrarlandı ve bu tekrar gruplarından alınan sonuçların farklılığının önemi χ^2 testi yapılarak kontrol edildi. Pupadan çıkan birey sayıları tespit edilmiştir (Graf ve ark., 1984).

3.2.2.4. Laboratuvar Koşulları

Stoklar ve deney grupları 25 ± 1 °C ve %40-60’lık bağıl nem ortamında özel iklim dolaplarında muamele edildi ve sinekler standart besi ortamı ile beslendi.

3.2.3. Hücre Kültürü Çalışmaları (MTT Testi) ve Hücre Hatları

Doksorubisinin ve alg ekstraktlarının antikarsinojenik etkileri ayrı ayrı ve birlikte uygulamalarla insan kolon kanseri hücre hattı (DLD-1)'nda MTT yöntemi ile değerlendirildi. Hücre kültürü çalışmalarında kullanılacak doksorubisin dozu Tai ve ark., (2013) tarafından yapılan çalışmaya göre uygulandı.

3.2.4. Hücrelerin Üretilmesi ve Ekim İşlemi

Sıvı nitrojen tankında depolanan DLD-1 hücre hattı ekim yapılmak üzere çözülüp, hücreler falkon tüpe aktarıldıktan sonra üzerlerine 1 ml hücre medyumunu (%89 RPMI, %10 Fetal Bovine Serum, %1 Antibiyotik) eklenmiştir. 3000 rpm'de 1 dakika santrifüj işleminden sonra süpernatant kısmı atılmış, tüpte kalan hücrelerin üzerine her bir flask için 3,5 ml medyum ilave edilip homojenize hale getirildikten sonra flaslara ekim yapılmıştır. Ekimi yapılan hücreler 37°C'de 2 gün süre ile inkübasyona tabi tutulmuştur. Hücrelerin sayımı otomatik hücre sayım cihazı ile yapılmıştır.

İnkübasyon süresi sonunda flaslardaki medyum atılıp, her flaska 0,5 ml Tripsin-EDTA çözeltisi eklenmiştir. Hücrelerin flastan kalkması için 3-4 dakika inkübasyona tabi tutulmuştur. Hücreler tamamıyla kalktıktan sonra enzim aktivitesini durdurması için hücrelerin üzerine 1 ml medyum eklenmiştir. Enzim ve medyum karışımı falkon tüplere aktarılıp, 3000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilmiştir. Süpernatant atıldıktan sonra, tüpte kalan hücrelerin üzerine 1 ml medyum eklenip hücre sayımı yapılmıştır. 48 kuyucuklu plağa her kuyucukta 20x10³ hücre olacak şekilde ekim yapılmıştır. Hücrelerin plaklara tutunması için 24 saat beklenmiştir.

24 saatin sonunda plaslardaki medyum boşaltıldıktan sonra bitki ekstraktlarının 3 farklı dozu (25, 12.5, 6.25 µg/ml) ayrı ayrı ve doksorubisinle (10 µM) kombine olarak uygulanmıştır. Ayrıca sadece besiyeri uygulanan negatif kontrol ve sadece doksorubisin uygulanan pozitif kontrol denemeleri yapılmıştır. Her kuyucuğa toplam hacim 150 µl olacak şekilde test maddesi eklenmiştir.

24 saatlik inkübasyon süresi sonunda plaslardaki medyumlar boşaltılıp tüm kuyucuklara 100'er µl içinde fenol red olmayan medyum ve 25 µl MTT solüsyonu eklenip 3,5 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda 100 µl MTT çözücüsü (4 mM HCl, 0.1% Nondet P-40 (NP40), izopropanol) eklenip, 15 dakika süre ile inkübasyon

sonrasında, farklı bir plağa aktarılıp, mikroplak okuyucuda 590 nm dalga boyunda okuma yapılmıştır. Referans dalga boyu 620 nm alınmıştır.

3.2.5. İstatistik Analizleri

Farklı konsantrasyonlardaki absorbands değerleri aritmetik ortalamaları standart hataları ile birlikte MS Excel programında hesaplanmıştır. Bu hesaplamalar grafik ve tablo halinde sunulmuştur

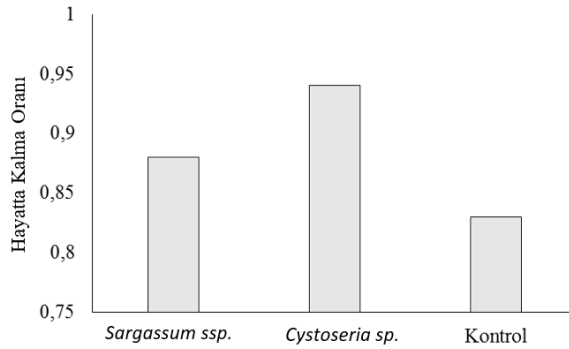


4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

4.1. Hayatta Kalış Deneylerinden Elde Edilen Bulgular

Diğer canlılarda olduğu gibi böceklerde de dış faktörlerden olan besin şartlarının hayatta kalma ve ömür uzunluğuna etkisinin olduğu bilinmektedir. Algler zengin biyokimyasal içerikleri nedeniyle gıda, tıp, tarım, hayvancılık ve endüstriyel alanlarda hammadde kaynağı olarak kullanılmaktadır (Çakır ve Sarıkaya, 2004). Bu çalışmada standart *Drosophila* besi yerine *Sargassum* sp., ve *Cystoseira* sp. özütlerinin farklı konsantrasyonları ilave edilmiş ve *Drosophila*'nın hayatta kalma üzerine etkileri belirlenmiştir. *Drosophila melanogaster*'in multiple wing hair., (mwh / mwh) ve flare., (flr / In (3LR), TM3 Bd) mutant çaprazından elde edilen transheterozigot larvalara adı geçen iki algin farklı konsantrasyonları dört kez uygulanmış ve sonuçlar birbirleriyle karşılaştırılmıştır. Ayrıca su ile kontrol deneyleri yapılmış. Deneylerden elde edilen hayatta kalma sonuçları Şekil 4.1.1.'de gösterilmiştir.

Sargassum sp. ve *Cystoseira* sp. özütlerinin *Drosophila melanogaster* larvalarının hayatta kalışları üzerine etkileri ile ilgili sonuçlara göre, test edilen her iki kahverengi algden elde edilen özütlerin her birinin kontrol grubuna göre, larvaların hayatta kalış oranlarını pozitif yönde etkilediği görülmüştür. Su kontrol grubunda hayatta kalış oranı %83 olarak bulunmuştur. Test edilen 2 algde de hayatta kalış oranı su kontrol grubuna göre bir artış göstermiştir. Alg gruplarının su kontrole göre hayatta kalış oranlarındaki artışa bakıldığında *Sargassum* sp. en az artış gösterirken (%88), *Cystoseira* sp. (%94) en fazla artış gösteren grup olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 4.1.1. *Sargassum* sp., ve *Cystoseira* sp. özütlerinin *Drosophila melanogaster* larvalarının hayatta kalışları üzerine etkileri.

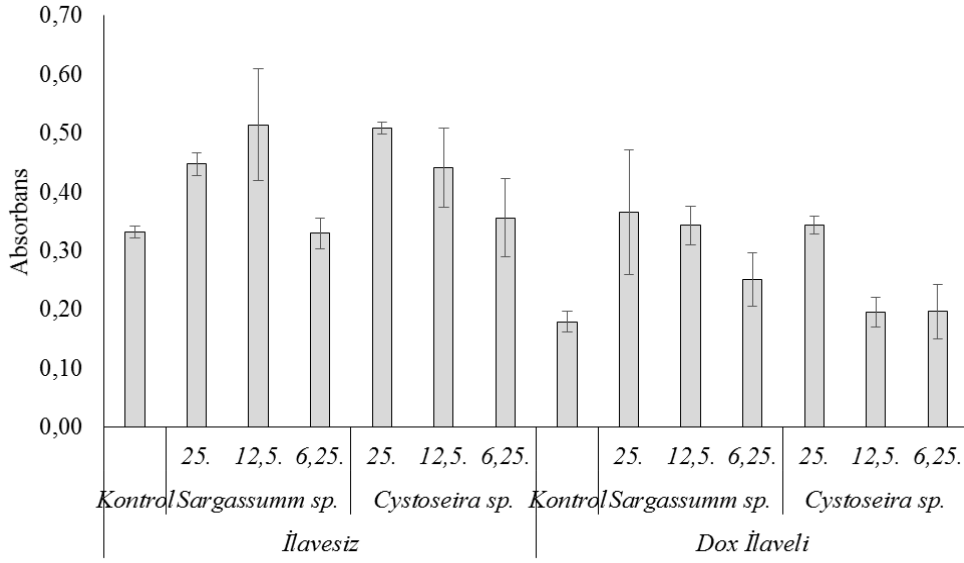
Peng ve ark., (2011) 5mg/ml yaban mersini ekstraktını *Drosophila melanogaster'* e uygulayarak yaptıkları çalışmada hayatta kalma oranının %50 oranında arttığını tespit etmişlerdir. Mahtab ve ark., (2008) 2mg/ml *Rosa damascena'* nin yetişkin *Drosophila melanogaster'*e uygulamaları sonucunda mortalite oranını erkek bireylerde %23 ve dişi bireylerde %22 azalttığını bildirmişlerdir. Çalışmamız önceki çalışmalar ile paralellik göstermektedir.

4.2. MTT Testinden Elde Edilen Bulgular

Canlı hücrelerin metabolik aktivitelerinin ölçümü esasına dayanan kolorimetik bir yöntem olan MTT testi ile *Sargassum ssp.*, ve *Cystoseira sp.* özütlerinin farklı dozlarının DLD-1 (insan kolon kanseri) hücre hattı üzerindeki etkileri incelenmiştir. Alg özütlerinin DLD-1 hücre hattı üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesi için özütler ayrı ayrı 25 µg/ml, 12,5 µg/ml ve 6,25 µg/ml dozlarında 24 saat süre ile hücrelere uygulanmıştır. Ayrıca özütün her bir dozu, 10 µM doksorubisin (Dxr) ile kombine olarak hücre hattına uygulanmıştır. Negatif kontrol olarak hücre hattına sadece besiyeri, pozitif kontrol olarak sadece doksorubisin (10 µM) uygulanmıştır. Yapılan uygulamalardan sonra mikropalak okuyucudan elde edilen optik dansite (OD) değerlerine göre yapılan absorbans değerlendirme sonuçları Tablo 4.2.1. ve Şekil 4.2.1’de verilmiştir.

Çizelge 4.2.1. *Sargassum sp.*, ve *Cystoseira sp.* özütlerinin DLD-1 (insan kolon kanseri) hücre hattı üzerindeki farklı doz uygulamalarından elde edilen absorbans değerleri.

		Alg Özüt Konsantrasyonları	Ortalama	Standart Hata	
Dox İlavesiz	Kontrol		0,33	0,01	
	<i>Sargassum sp.</i>	25	0,45	0,02	
		12,5	0,51	0,10	
		6,25	0,33	0,03	
	<i>Cystoseira sp.</i>	25	0,51	0,01	
		12,5	0,44	0,07	
		6,25	0,36	0,07	
	Dox İlaveli	Kontrol		0,18	0,02
		<i>Sargassum sp.</i>	25	0,37	0,11
12,5			0,34	0,03	
6,25			0,25	0,05	
<i>Cystoseira sp.</i>		25	0,34	0,01	
		12,5	0,20	0,03	
		6,25	0,20	0,05	



Şekil 4.2.1. *Sargassum sp.*, ve *Cystoseira sp.* özütlerinin DLD-1 (insan kolon kanseri) hücre hattı üzerindeki farklı doz uygulamalarından elde edilen absorbans değerlerinin karşılaştırılması.

Suyun kontrol olarak kullanıldığı kuyucuklarda absorbans değer ortalaması 0,33 ve kemoterapide kullanılan doksorubisinin kontrol olarak kullanıldığı kuyucuklarda ise absorbans değer ortalaması 0,18 bulunmuştur.

Sargassum sp., özütünün 25 µg/ml, 12,5 µg/ml ve 6,25 µg/ml dozlarının 24 saat süre ile hücrelere uygulanmasında absorbans değerleri sıra ile 0,45, 0,51 ve 0,33 bulunmuştur. *Cystoseira sp* özütünün 25 µg/ml, 12,5 µg/ml ve 6,25 µg/ml dozlarında ise bu değerler sıra ile 0,51, 0,44 ve 0,36 bulunmuştur.

Sargassum sp., özütünün 25 µg/ml, 12,5 µg/ml ve 6,25 µg/ml dozlarının 24 saat süre ile hücrelere doksorubisin ile uygulanmasında absorbans değerleri sıra ile 0,37, 0,34 ve 0,25 bulunmuştur. *Cystoseira sp* özütünün 25 µg/ml, 12,5 µg/ml ve 6,25 µg/ml dozlarında ise bu değerler sıra ile 0,34, 0,20 ve 0,20 bulunmuştur.

Alg özütlerinin MTT test sonuçlarına göre genel alg özütlerinin su kontrole göre absorban değerlerini artırdığını, fakat doksorubisin ile birlikte uygulamalarda bütün dozlarda absorbans değerlerinde bir düşme olduğu görülmüştür. Bunun nedeni doksorubisinin sitotoksik etkisidir. Fakat alg özütlerinin de kullanımı ile bu negatif etkinin azaldığı görülmektedir. Bu sonuçlar bu konuda yapılan benzer çalışmaların sonuçları ile paralellik göstermektedir. Bunun nedeni olarak da kahverengi alglerin

içeriğinde bulunan fukoidan benzeri antioksidan ve diğer bioaktif bileşiklerin varlığı olarak yorumlanmıştır.



5. SONUÇLAR ve ÖNERİ

Bu çalışmada, iki kahverengi makro alg olan *Cystoseira sp.* ve *Sargassum sp.* cinslerine ait özütlerin in vivo olarak *Drosophila melanogaster*'in hayatta kalışına etkileri ve bu alg özütlerinin insan kolon kanser hücre hattında (DLD-1) in vitro olarak MTT testi ile antikanser etkilerini araştırmak hedeflenmiştir.

Algal özütlerin içinde insan sağlığı için olumlu etkileri olduğu bilinen flavonoid, karotenoid, fenolik bileşikler, yağ asitleri gibi bileşenler olduğu ve farklı sanayi alanlarında fonksiyonel biyoaktifler olarak kullanıldığı bilinmektedir (Arıca ve ark., 2017). İnsanların günlük hayatta karşılaştıkları çeşitli genotoksinlere karşı biyoaktif doğal katkı maddeleri içeren bitkilerin sahip oldukları potansiyelden yararlanılabilir.

Günümüzde içerdikleri bileşenler ve bu bileşenlerin sağlık üzerindeki olumlu etkileri yapılan araştırmalarla ortaya çıkarılan alglerin, iyileştirici etkileri üzerine birçok çalışma bulunmaktadır. Algler flavonoid ve karotenoid gibi zengin antioksidan özellikteki içerikleri nedeniyle çevre kirliliğinin arttığı günümüzde alternatif besin kaynağı ve etken madde potansiyeli olma açısından da önem kazanmıştır. Modern yaşamın getirdiği olumsuz etkilerin hücreler bazında oluşturduğu hasarların antioksidan besin katkıları ile tolere edilerek erken yaşlanmaya neden olan metabolizmal hastalıkların azaltılabileceği fikri kabul görmektedir. Bu bağlamda alglerin hayatta kalma, hücredeki serbest radikallerin etkisiz hale getirilmesi ve anti kanser etkileri gibi potansiyellerinin araştırılması benzeri çalışmalar, sucul kaynaklardan alglerin önemini artırmaktadır.

Bu çalışmada iki kahverengi alg (*Sargassum sp.*, ve *Cystoseira sp.*) özütünün insan kolon kanseri hücre hattı (DLD-1) üzerindeki etkileri incelenmiştir. Canlı hücrelerin metabolik aktivitelerinin ölçümü esasına dayanan ve kolorimetrik bir yöntem olan MTT testi ile *Sargassum sp.*, ve *Cystoseira sp.* özütlerinin farklı dozlarının DLD-1 hücre hattı üzerindeki etkileri ile ilgili genel sonuçlar, her iki alg özütünün de absorbansı artırdığı yönündedir. Bilindiği gibi Spektrofotometrede okunan absorbans değerinin (O.D) büyüklüğü kullanılan MTT çözeltisinin yoğunluğu, inkübasyon süresi, canlı hücrelerin sayısı ve bu hücrelerin metabolik aktiviteleri gibi birçok faktöre bağlıdır (Fotakis ve Timbrell, 2006; Riss ve ark., 2015). Bu çalışmada denemeler bu bilgiler göz önünde bulundurularak yapılmıştır. Bu durumda alg özütlerinin ilavesi ile görülen absorbansdaki artış canlı hücre sayısının artışı olarak değerlendirilebilir.

Çeşitli kanser türlerinin tedavisinde kemoterapik bir ilaç olarak kullanılan doksorubisinin diğer sağlıklı hücreler üzerinde de yan etkisinin olduğu bilinir. Bu çalışmada incelenen iki kahverengi alg özütünün doksorubisinin DLD-1 hücre hattı üzerinde oluşturduğu sitotoksik etkiye katkısı incelenmiştir. Bu çalışma sonuçları, her iki alg özütünün de genel olarak doksorubisinin DLD-1 hücre hattı üzerinde olumsuz etkisini azaltıcı yönde etki yaptığını göstermiştir.

Hücrenin fizyolojik bütünlüğünde hücreyi UV radyasyonu gibi dış ortamın zararlılarına karşı koruyan ve bazı kahverengi deniz alglerinden elde edilen eşsiz bileşiklerden olan phlorotanninler (Tierney ve ark., 20113; Steevensz ve ark., 2012), polisakkaritler ve yosunun doğal bir bileşeni olan fucoidanlar veya astaksantin, gibi antioksidan aktivite yönünden önemli potansiyele sahip (Kwak ve ark., 2012; Atashrazm ve ark., 2015) bileşenlerin antioksidan ve antikanser etkisi konusundaki çalışmalardan ümit verici sonuçlar alınmıştır. Sargassum polycystum'dan izole edilen fukoidanın antioksidan ve anti-kanser etkisi, Palanisamy ve arkadaşları (Palasinamy ve ark., 2017) ve bazı diğer bilim adamları (Praiboon ve ark., 2017; Li ve ark., 2017) tarafından araştırılmış ve güçlü bir antioksidan olan fukoidanın antioksidan ve antikanser özelliklere sahip olduğunu rapor edilmiştir.

Bu çalışma sonuçları, araştırmak üzere seçilen bu iki kahverengi algin *Drosophila*'da in vivo olarak hayatta kalış üzerine olumlu etkisinin olduğunu göstermiştir. Ayrıca MTT testinden elde edilen sonuçlar da bu alg özütlerinin hücreleri kontrol olarak kullanılan sitotoksik bir madde olan doksorubisinin etkisinden koruduğu ve canlılığı da olumlu yönde etkilediği şeklinde değerlendirilebilir. Genetik yapımızı değiştiremeyiz, fakat antioksidan ve bioaktif madde yönünden zengin yeni alternatiflerden faydalanarak, gelecekte kanser gibi hücrel genotoksik etkenlerle oluşan sağlık sorunlarımızı azaltabiliriz.

KAYNAKLAR

- Abrahamson, S. and Lewis, E.B., 1971. The detection of mutations in *Drosophila melanogaster*. **In Chemical mutagens** (pp. 461-487). Springer, Boston, MA.
- Alçay, a. ü., Bostan, k., Dinçel, e., & Varlık, C., 2017. Alglerin İnsan Gıdası Olarak Kullanımı. **Aydın Gastronomy**, 1(1), 47-59.
- Andrews, A.W., Thibault, L.H., & Lijinsky, W., 1978. The relationship between mutagenicity and carcinogenicity of some nitrosamines. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, 51(3), 319-326.
- Anonim, 2012, **Kanser istatistikleri**. <http://kanser.gov.tr/daire-faaliyetleri/kanser-istatistikleri/860-yeni-dunya-kanser-istatistikleri-yayinlandi.html>. Erişim tarihi: 14.12.2017
- Anonymous, 2018. **CMR, hazards identification**, <http://www.prc.cnrs.fr/spip.php?article176&lang=fr> Erişim tarihi:12.06.2017
- Anonymous, 2018. **Drosophila**. <https://www.creative-diagnostics.com/Drosophila.htm>. Erişim Tarihi: 14.12.2017
- Arıca, Ş.Ç., Ozyılmaz, A., & Demirci, S., 2017. A study on the rich compounds and potential benefits of algae: A review.
- Ashburner, M., Roote, J., 2000. Laboratory Culture of Drosophila. **In the Drosophila Protocols** (eds. Sullivan W., Ashburner M., Hawley R.S.), Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, USA.
- Atashrazm F, Lowenthal R.M., Woods G.M., Holloway A.F., Dickinson J.L., 2015. Fucoïdan and Cancer: A Multifunctional Molecule With Anti-Tumor Potential. **Marine drugs**. 13(4), 2327-2346.
- Atashrazm F, Lowenthal R.M., Dickinson J.L., Holloway A.F., Woods G.M., 2016. Fucoïdan enhances the therapeutic potential of arsenic trioxide and all-trans retinoic acid in acute promyelocytic leukemia, in vitro and in vivo. **Oncotarget**; 7(29), 46028.
- Atay, D., 1984. **Bitkisel Su Ürünleri ve Üretim Tekniği**. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No: 905, Ankara, 203 sayfa
- Atlı Şekeroğlu, Z., Şekeroğlu, V., 2011. "Genetik toksisite testleri", **Tübav Bilim Dergisi**, 4 (3): 221-229.
- Balis F.M., Holcenberg J.S., Blaney S.M., 2002. General Principles of Chemotherapy. **4. Baskı. Pizzo and Poplack (ed): Principles and Practice of Pediatric Oncology**. Lippincot Williams and Wilkins, Philadelphia, 237-309.
- Bowen H.J. M, 1966. Trace Elements in Biochemistry, **Academic Press**, London and New York.
- Budak, F.A., Çakır Arıca, Ş., 2005. The Detection of the Deltamethrin and Permethrin By Somatic Mutation And Recombination Test With *Drosophila Melanogaster*. **Gazi Üniversitesi Eğitim Fak. Dergisi**, 6(1): 87-93.
- Cirik Ş, Cirik S., 2011. Su bitkileri I-Deniz Bitkilerinin Biyolojisi, Ekolojisi ve Yetiştirme Teknikleri, **Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayınları**, 58, 135-145.

- Cooke M.S., Evans M.D., Dizdaroglu M, Lunec J., 2003. Oxidative DNA damage: Mechanism, mutation and disease. **FASEB J**, 17(10): 1195214.
- Çakır, Ş., & Sarıkaya, R., 2004. Bazı Organik Fosforlu İnsektisitlerin *Drosophila Melanogaster* in Yaşama Yüzdesi Üzerine Etkisi. **Gazi Üniversitesi Gazi Eğitim Fakültesi Dergisi**, 24(3).
- Diop, S.B., Bisharat-Kernizan, J., Birse, R.T., Oldham, S., Ocorr, K., & Bodmer, R., 2015. PGC-1/spargel counteracts high-fat-diet-induced obesity and cardiac lipotoxicity downstream of TOR and brummer ATGL lipase. **Cell reports**, 10(9), 1572-1584.
- Doak, S.H., Manshian, B., Jenkins, G.J.S., & Singh, N., 2012. ***In vitro* genotoxicity testing strategy for nanomaterials and the adaptation of current OECD guidelines.** Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, 745(1), 104-111.
- Drum Ryan., 2013. Sea vegetables for food and medicine. **Well being Jornal.** <http://www.eidon.com/SeaweedArticle.pdf> 2003.
- Eren, Y., & Özata, A., 2014. Determination of mutagenic and cytotoxic effects of *Limonium globuliferum* aqueous extracts by *Allium*, Ames, and MTT tests. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 24(1), 51-59.
- Farasat M, Khavari-Nejad R, Nabavi BMS, Namjooyan F., 2013. Antioxidant properties of some filamentous green algae (*Chaetomorpha* Genus). **Brazilian Archives of Biology and Technology**. 56(6):1678–4324.
- Fotakis, G., & Timbrell, J.A., 2006. In vitro cytotoxicity assays: comparison of LDH, neutral red, MTT and protein assay in hepatoma cell lines following exposure to cadmium chloride. **Toxicology letters**, 160(2), 171-177.
- Fraga C.G., Shinenaga M.K., Park J.W., Degan P, Ames B.N., 1990. Oxidative damage to DNA during aging: 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in rat organ DNA and urine. **Proc Natl Acad Sci USA**, 87 (12): 4533-7.
- Gamal A.A., 2010. Biological importance of marine algae, **Saudi Pharmaceutical Journal**, 18, 125.
- Gonzalez-Ballesteros N, Prado-López S, Rodriguez-Gonzalez JB, Lastra M, Rodríguez-Argüelles MC. (2017). Green synthesis of gold nanoparticles using brown algae *Cystoseira baccata*: Its activity in colon cancer cells. **Colloids and Surfaces B. Biointerfaces**. 153: 190-198.
- Gök V., Serteser A., 2003. Dogal Antioksidanların Biyoyararlılığı. **3. Gıda Mühendisliği Kongresi**, 2-4 Ekim, Ankara.
- Graf U. ve Van Schaik N., 1992. Improved high bioaktivasyon cross for the wing somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*, **Mutation Research**, 271, 59-67
- Graf, U., Frei H., Kagi A., Katz A. J. and Würzler F. E., 1989. "Thirty compounds tested in the *Drosophila* wing spot test". **Mutation Research**. 22: 359-373.
- Graf, U., Würzler, F.E., Katz, A.J., Frei, H., Juon, H., Hall, C.B., & Kale, P.G., 1984. Somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, 6(2), 153-188.
- Gümüş G., 2006. Deniz Marulunun Kimyasal Kompozisyonunun Araştırılması, **Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi**.

- Halliwell B., 2000. Why and how should we measure oxidative DNA damage in nutritional studies? How far have we come? **Am J Clin Nutr**, 72 (5): 1082-7.
- Han, Y., Ma, M., Li, N., Hou, R., Huang, C., Oda, Y., & Wang, Z., 2018. Chlorination, chloramination and ozonation of carbamazepine enhance cytotoxicity and genotoxicity: Multi-endpoint evaluation and identification of its genotoxic transformation products. **Journal of hazardous materials**, 342, 679-688.
- Haselton, A., Sharmin, E., Schrader, J., Sah, M., Poon, P., & Fridell, Y.W.C., 2010. Partial ablation of adult Drosophilainsulin-producing neurons modulates glucose homeostasis and extends life span without insulin resistance. **Cell Cycle**, 9(15), 3135-3143.
- Hoffmann S, Spitkovsky D, Radicella P, Epe B, Wiesner R.J., 2003. Reactive oxygen species derived from the mitochondrial respiratory chain are not responsible for the basal levels of oxidative base modifications observed in nuclear DNA of mammalian cells. **Free Radic Biol Med**, 36 (6): 765-773.
- Hoseini S.M., Khosravi-Darani K, Mozafari M.R., 2013. Nutritional and medical applications of spirulina microalgae. **Mini Reviews in Medicinal Chemistry**. 13(8):1231-1237.
- Huang H.L., Wu S.L., Liao H.F., Jiang C.M., Huang R.L., Chen Y.Y., Chen, Y.J., 2005. Induction of apoptosis by three marine algae through generation of reactive oxygen species in human leukemic cell lines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 53(5): 1776-1781.
- Iltter, I., Akyıl, S., Koç, M., & Kaymak-Ertekin, F., 2017. Natural Food Colorants Obtained from Algae and Their Functional Properties. **Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology**, 5(12), 1508-1515.
- Isnansetyo A, Lutfia F.N.L., Nursid M, Susidarti R.A., 2017. Cytotoxicity of Fucoidan from Three Tropical Brown Algae Against Breast and Colon Cancer Cell Lines. **Pharmacognosy Journal**. 9(1).
- Jafari, M., Zarban, A., Pham, S., & Wang, T., 2008. Rosa damascena decreased mortality in adult Drosophila. **Journal of medicinal food**, 11(1), 9-13.
- Katewa, S.D., Demontis, F., Kolipinski, M., Hubbard, A., Gill, M.S., Perrimon, N., ... & Kapahi, P., 2012. Intramyocellular fatty-acid metabolism plays a critical role in mediating responses to dietary restriction in Drosophila melanogaster. *Cell metabolism*, 16(1), 97-103.
- Khedmat, S., Dehghan, S., Hadjati, J., Masoumi, F., Nekoofar, M. H., & Dummer, P. M.H., 2014. In vitro cytotoxicity of four calcium silicate-based endodontic cements on human monocytes, a colorimetric MTT assay. **Restorative dentistry & endodontics**, 39(3), 149-154.
- Kıran, E., Teksoy, I., Güven, K.C., Güler, E., and Güner, H., 1980. Studies on seaweeds for paper production. **Bot. Mar.** XXIII, 205-208.
- Kim E.J., Lee J.Y., Park J.H.Y., Park S.Y., 2010. Fucoidan present in brown algae induces apoptosis of human colon cancer cells. **BMC Gastroenterology**, 2010; 10(1): 96.
- Kohler, R.E., 1994. **Lords of the fly: Drosophila genetics and the experimental life**. University of Chicago Press.

- Kwak J.H., Baek S.H., Woo Y, Han J.K., Kim B.G., Kim O.Y., Lee J.H., 2012. Beneficial immunostimulatory effect of short-term *Chlorella* supplementation: enhancement of Natural Killer cell activity and early inflammatory response (Randomized, double-blinded, placebo-controlled trial). **Nutrition journal**. 11(1): 53.
- Kwon MJ, Nam T.J., 2007. A polysaccharide of the marine alga *Capsosiphon fulvescens* induces apoptosis in AGS gastric cancer cells via an IGF-IR-mediated PI3K/Akt pathway. **Cell Biology International**. 31(8): 768-775.
- Laurent G, de Boer V.C., Finley L.W., Sweeney M, Lu H, Schug T.T., Cen Y, Jeong S.M., Li X, Sauve A.A., Haigis M.C., 2013. SIRT4 represses peroxisome proliferator-activated receptor alpha activity to suppress hepatic fat oxidation. **Mol Cell Biol**. 33, 4552-4561.
- Lee J. Koo N, Min D.B., 2004. Reactive Oxygen Species, Aging, And Antioxidative Nutraceuticals. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety** 2004; 3: 2133
- Lee J.C., Hou M.F., Huang H.W., Chang F.R., Yeh C.C., Tang J.Y., et al., 2013. Marine algal natural products with anti-oxidative, anti-inflammatory, and anti-cancer properties. **Cancer Cell International**. 13(1):55.
- Li, Y., Fu, X., Duan, D., Liu, X., Xu, J., & Gao, X., (2017). Extraction and identification of phlorotannins from the brown alga, *Sargassum fusiforme* (Harvey) Setchell. **Marine drugs**, 15(2), 49.
- Marudhupandi, T., Kumar, T.A., Senthil, S.L., & Devi, K.N., 2014. In vitro antioxidant properties of fucoidan fractions from *Sargassum tenerrimum*. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, 17(3), 402.
- Mayer A, Rodríguez A.D., Tagliatela-Scafati O, Fusetani N., 2017. Marine Pharmacology in 2012–2013: Marine Compounds with Antibacterial, Antidiabetic, Antifungal, Anti-Inflammatory, Antiprotozoal, Antituberculosis, and Antiviral Activities; Affecting the Immune and Nervous Systems, and Other Miscellaneous Mechanisms of Action. **Marine Drugs**. 15(9):273.
- McHugh, D. J., 2003. A guide to the Seaweed Industry. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**, Roma, Italy, 103 p.
- Minotti, G., Menna, P., Salvatorelli, E., Cairo, G., & Gianni, L., 2004. Anthracyclines: molecular advances and pharmacologic developments in antitumor activity and cardiotoxicity. **Pharmacological reviews**, 56(2), 185-229.
- Mosesso, P., & Cinelli, S., 2018. *In Vivo* Cytogenetic Assays. **In Mutagenicity: Assays and Applications** (pp. 93-111).
- Mosmann, T., 1983. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of immunological methods**, 65(1-2), 55-63.
- Nakajima Y, Inokuchi Y, Shimazawa M, Otsubo K, Ishibashi T, Hara H. (2008). Astaxanthin, a dietary carotenoid, protects retinal cells against oxidative stress in vitro and in mice in vivo. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**.; 60: 1365–1374.

- Norzagaray-Valenzuela C.D., Valdez-Ortiz A, Shelton L.M., Jiménez-Edeza M, Rivera-López J, Valdez-Flores M.A., Germán-Báez L.J., (2017) Residual biomasses and protein hydrolysates of three green microalgae species exhibit antioxidant and anti-aging activity. **Journal of Applied Phycology**. 29(1): 189-198.
- Nursid M, Marasskuranto E, Atmojo K.B., Hartono M.P., Meinita M.D.N., Riyanti R., 2017. Investigation on Antioxidant Compounds from Marine Algae Extracts Collected from Binuangeun Coast, Banten, Indonesia. **Squalen Bulletin of Marine and Fisheries Postharvest and Biotechnology**. 11(2): 59-67.
- Öztürk, S., 1997. “**Tarım ilaçları, Pestisitlerin sınıflandırılması**”, s. 57-60. Ak Basımevi, Ankara.
- Pal A, Kamthania M, Kumar A., 2014. Bioactive Compounds and Properties of Seaweeds—A Review. **Open Access Library Journal**. 1:1-17.
- Palanisamy S, Vinosha M, Marudhupandi T, Rajasekar P, Prabhu N.M., 2017. Isolation of fucoidan from *Sargassum polycystum* brown algae: Structural characterization, in vitro antioxidant and anticancer activity. **International Journal of Biological Macromolecules**, 102: 405-412.
- Peleg S, Feller C, Forne I et al., 2016. Life span extension by targeting a link between metabolism and histone acetylation in drosophila. **EMBO Rep** 17:455–469
- Peng, C., Zuo, Y., Kwan, K.M., Liang, Y., Ma, K.Y., Chan, H.Y.E., ... & Chen, Z.Y., 2012. Blueberry extract prolongs lifespan of *Drosophila melanogaster*. **Experimental gerontology**, 47(2), 170-178
- Piberger, A.L., Krüger, C.T., Strauch, B.M., Schneider, B., & Hartwig, A., 2018. BPDE-induced genotoxicity: relationship between DNA adducts, mutagenicity in the *in vitro* PIG-A assay, and the transcriptional response to DNA damage in TK6 cells. **Archives of toxicology**, 92(1), 541-551.
- Riss, D., Burian, M., Wolf, A., Kranebitter, V., Kaider, A., & Arnoldner, C., 2015. Intranasal submucosal bevacizumab for epistaxis in hereditary hemorrhagic telangiectasia: A double-blind, randomized, placebo-controlled trial. **Head & neck**, 37(6), 783-787.
- Roe, F.J., 1993. What does carcinogenicity mean and how should we test for it?. **Food and Chemical Toxicology**, 31(3), 225-229.
- Rothwell, V.N., 1993. Understanding Genetics, A Molecular Approach. **A John Wiley & Sons Inc. Publ.** New York. 556 pp, 1993.
- Sarikaya, R., Çakır, Ş., 2005. “Genotoxicity testing of four food preservatives and their combinations in the *Drosophila* wing spot test”, **Environmental Toxicology and Pharmacology** 20 (3): 424-430.
- Sarikaya, R., Çakır, Ş., Solak, K., 2006. Gıdalardaki koruyucu maddeleri *Drosophila melanogaster*’ de (mwh/flr) ömür uzunluğuna etkisi. **Kastamonu Eğitim Dergisi**, 14 (1), 173-184.
- Sarikaya, R., Erciyas, K., Kara, M.I., Sezer, U., Erciyas, A.F., Ay, S., 2016. Evaluation of genotoxic and antigenotoxic effects of boron by the somatic mutation and recombination test (SMART) on *Drosophila* Drug Chem Toxicol, **Early Online**: 1-7.

- Siomek A, Tujakowski J, Gackowski D, Rozalski R, Foksinski M, Dziaman T, Roszkowski K, Olinski R., 2006. Severe oxidatively damaged DNA after cisplatin treatment of cancer patients. **Int J Cancer**, 119 (9): 2228-30.
- Song, W., Veenstra, J.A., Perrimon, N., 2014. Control of lipid metabolism by tachykinin in *Drosophila*. *Cell reports*, 9(1): 40-47.
- Steevensz, A.J.; Mackinnon, S.L.; Hankinson, R.; Craft, C.; Connan, S.; Stengel, D.B.; Melanson, J.E., 2012. Profiling phlorotannins in brown macroalgae by liquid chromatography-high resolution mass spectrometry. **Phytochem. Anal.** 23, 547–553.
- Stocker, H., Gallant, P., 2008. Getting Started: An Overview on Raising and Handling *Drosophila* Methods. **Mol Biol.** 420, 27-44, 2008.
- Tai, C.J., Wang, C.K., Tai, C.J., Lin, Y.F., Lin, C.S., Jian, J.Y., ... & Chang, C.C., 2013. Aqueous extract of *Solanum nigrum* leaves induces autophagy and enhances cytotoxicity of cisplatin, doxorubicin, docetaxel, and 5-fluorouracil in human colorectal carcinoma cells. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**.
- Tierney, M.S.; Smyth, T.J.; Rai, D.K.; Soler-Vila, A.; Croft, A.K.; Brunton, N., 2013. Enrichment of polyphenol contents and antioxidant activities of Irish brown macroalgae using food-friendly techniques based on polarity and molecular size. **Food Chem.** 139, 753–761.
- Turan, G., 2007. Su yosunlarının thalassoterapi'de kullanımı (Doctoral dissertation, Ege Üniversitesi).
- Usoltseva R.V., Anastyuk S.D., Shevchenko N.M., Surits V.V., Silchenko A.S., Isakov V.V., Ermakova S.P., 2017. Polysaccharides from brown algae *Sargassum duplicatum*: the structure and anticancer activity in vitro. **Carbohydrate Polymers.** 175: 547-556.
- Williams G.M., Jeffrey A.M., 2000. Oxidative DNA damage: Endogenous and chemically induced. **Regul Toxicol Pharmacol**, 32 (3): 283-92.
- Yang, F., Teves, S.S., Kemp, C.J., Henikoff, S., 2014. Doxorubicin, DNA torsion, and chromatin dynamics. **Biochim. Biophys. Acta.**, 1845(1):84-89.
- Yayıntaş, Ö.T., 2001. Moss flora of Muğla and its environment. **Ot Sistematik Botanik Dergisi**, 8(1), 95-111.
- Yurdakulol, E. ve Cansaran, D., 2004. **Tohumusuz bitkiler-I laboratuvar kılavuzu.** 79s, Ankara
- Zhang, J., Pippin, J.W., Krofft, R.D., Naito, S., Liu, Z.H., & Shankland, S.J., 2013. Podocyte repopulation by renal progenitor cells following glucocorticoids treatment in experimental FSGS. **American Journal of Physiology-Renal Physiology**, 304(11), F1375-F1389.

ÖZGEÇMİŞ

Elif KUZU 1986 yılında Adana'nın Saimbeyli ilçesinde doğdu. 2004 yılında başladığı Mustafa Kemal Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi'nde lisan öğrenimine devam ederken 2007 yılı bahar döneminde Macaristan'da bulunan Szent Istvan Üniversitesi'nde Socrates-erasmus kapsamında öğrenim gördü ve 2008 yılında Mustafa Kemal Üniversitesi'nden mezun oldu. İskenderun Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Su ürünleri Anabilim Dalı'nda tezli yüksek lisans yaptı.

