
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK

Editör: Dr.Öğr.Üyesi Fatma YILDIZ

MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK

Editör

Dr. Öğr. Üyesi Fatma YILDIZ

yaz
yayınları

2024

MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK

Editör: Dr. Öğr. Üyesi Fatma YILDIZ

© YAZ Yayınları

Bu kitabın her türlü yayın hakkı Yaz Yayınları'na aittir, tüm hakları saklıdır. Kitabın tamamı ya da bir kısmı 5846 sayılı Kanun'un hükümlerine göre, kitabı yayınlayan firmanın önceden izni alınmaksızın elektronik, mekanik, fotokopi ya da herhangi bir kayıt sistemiyle çoğaltılamaz, yayınlanamaz, depolanamaz.

E_ISBN 978-625-6104-48-8

Ekim 2024 – Afyonkarahisar

Dizgi/Mizanpaj: YAZ Yayınları

Kapak Tasarım: YAZ Yayınları

YAZ Yayınları. Yayıncı Sertifika No: 73086

M.İhtisas OSB Mah. 4A Cad. No:3/3
İscehisar/AFYONKARAHİSAR

www.yazyayinlari.com

yazyayinlari@gmail.com

info@yazyayinlari.com

İÇİNDEKİLER

Bağırsak Mikrobiyotası Anksiyete ve Depresyon İlişkisinin İnsan, Zebrafish ve Drosophila Melanogaster’de İncelenmesi.....	1
--	----------

Emine TORAMAN

Kanserde miRNA Tabanlı Terapiler, Biyobelirteçler ve Terapötik Hedefler Olarak Potansiyelleri	17
--	-----------

Fatma YILDIZ

Fındık Zurufu ve Kabuğunun Farklı Habitatlardan Alınan Amaranthus retroflexus L. Bitkisi Üzerindeki Allelopatik Etkisi.....	38
--	-----------

Tuğba ÖZBUCAK, Yiğit Yavuz ÇINAR, Zeynep Ilgın SUSUZLU

Makrofungus Polisakkaritlerinin Biyolojik Aktiviteleri Nazlı	57
---	-----------

Pınar ARSLAN, Handan ÇINAR YILMAZ, Mesut TAŞKIN

Üçlü Negatif Meme Kanseri Alt Tipi ile Nüklear/ Sitoplazmik YAP1 İfadesinin İlişkisi: Bir Meta-Analiz Çalışması	78
--	-----------

Özlem EROL

"Bu kitapta yer alan bölümlerde kullanılan kaynakların, görüşlerin, bulguların, sonuçların, tablo, şekil, resim ve her türlü içeriğin sorumluluğu yazar veya yazarlarına ait olup ulusal ve uluslararası telif haklarına konu olabilecek mali ve hukuki sorumluluk da yazarlara aittir."

BAĞIRSAK MİKROBİYOTASI ANKSİYETE VE DEPRESYON İLİŞKİSİNİN İNSAN, ZEBRAFİŞH VE *DROSOPHILA MELANOGASTER*'DE İNCELENMESİ

Emine TORAMAN¹

1. GİRİŞ

Anksiyete ve depresyon, her yıl küresel nüfusun yaklaşık %10'unu etkileyen zayıflatıcı psikiyatrik durumlardır (World Health Organization, 2017). Dünya Sağlık Örgütü (2019), anksiyete ve depresyondan kaynaklanan küresel üretkenlik kaybının yıllık 1 trilyon ABD doları olduğunu tahmin etmektedir (Doran ve Kinchin, 2019). Araştırmalar, depresyonun 2030 yılına kadar dünyadaki en yaygın hastalıklardan biri olabileceğini göstermektedir. Kaygı veya umutsuzluktan muzdarip olan hastanın toplum içinde faaliyet göstermesi şüphesiz zordur ve bireyler öz değer duygusunu kaybederler. Etkilenen bireyler üzerindeki olumsuz etkilere ek olarak, bu bozukluklar yüksek sağlık hizmetleri maliyetleri nedeniyle toplum üzerinde önemli bir mali yük oluşturur ve etkili tedavi yöntemlerine ihtiyaç vardır (Kumar vd., 2023). Anksiyete ve depresif bozuklukların tedavisi konusunda son yıllarda birçok çalışma yapılmasına karşın bu tür bozuklukların yaygınlığı ve yükü değişmeden kalmıştır. Bu nedenle, daha etkili tedavi stratejileri geliştirmek için anksiyete ve depresif bozuklukların altında yatan mekanizmaları anlamak oldukça önemlidir. Bu alandaki tedavi yaklaşımlarından biri de mikrobiyota-bağırsak-beyin eksenidir (Simpson vd., 2021).

¹ Dr. Öğr. Üyesi, Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, emine.toraman@atauni.edu.tr, ORCID: 0000-0001-7732-6189.

Depresif bozukluklar, kalıcı bir inflamatuvar duruma yol açan bağışıklık aktivasyonu, patojenik bakterilerin istilasına neden olan bağırsak epitel bütünlüğünün tahrip olması, depresyon hastalarının anormal davranışlarından sorumlu olan hipotalamus-hipofiz-adrenal (HPA) ekseninin bozulması ve 5-hidroksitriptamin (5-HT) ve γ -aminobütirik asit gibi nöropeptitlerin ve nörotransmitterlerin dengesiz ekspresyonu gibi sebeplerle ortaya çıkabilmektedir (Cheng vd., 2020). Son yıllarda yapılan çalışmalar bağırsak mikrobiyotasının depresyonun patogeneğinde ve patolojik değişikliklerinde önemli bir etkisi olduğunu göstermiştir (Kumar vd., 2023).

2. İNSAN BAĞIRSAK MİKROBİYOMU

İnsan bağırsak mikrobiyomu, konakçıdaki gastrointestinal kanalda bulunan mikroorganizmaların, özellikle de bakterilerin topluluğudur. Bu mikropların insan hücrelerinden daha fazla ve insan konakçılarından çok daha fazla gene sahip olduğu düşünülmektedir (Peirce ve Alviña, 2019). Memeli mikrobiyal kolonizasyonu doğumda başlar ve doğum şekli, emzirme, süten kesme yaşı ve annenin yaşam tarzı gibi çeşitli faktörlere bağlı olarak mikrobiyota içeriği canlılar arasında farklılık gösterir (Yatsunenکو vd., 2012). Bunlara ek olarak; antibiyotik kullanımı, diyet, egzersiz ve hastalık gibi durumlar bireylerin bağırsağındaki mikrobiyal ortamı şekillendirir (Desbonnet vd., 2010)(Campbell vd., 2016). *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Fusobacteria* ve *Verrucomicrobia* filumları insan bağırsak mikrobiyotasının büyük bir kısmını oluşturmaktadır. *Firmicutes* filumu, *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Enterococcus* ve *Ruminococcus* gibi 200'den fazla farklı türden oluşur. *Clostridium* cinsi, *Firmicutes* filumunun %95'ini temsil ederken *Bacteroidetes* cinsi *Prevotella* gibi baskın cinslerden oluşur. *Actinobacteria* filumu orantılı olarak daha az

miktarda bulunur ve esas olarak *Bifidobacterium* cinsi tarafından temsil edilir (Rinninella vd., 2019).

2.1.İnsan Bağırsak Mikrobiyotası ve Beyin Eksen

Bağırsak mikrobiyotası, hem insan hem de hayvan çalışmalarında Merkezi Sinir Sistemi (CNS) ve davranışsal süreçleri etkileyerek bağırsak-beyin etkileşimlerinde çok önemli bir rol oynar. Mikrobiyom düzensizliği anksiyete, depresyon ve otizmin patogenezi de doğrudan etkiler (de Abreu vd., 2019). Yapılan araştırmalar, mikrobiyota içeriğinin depresif bireylerde değiştiğini ortaya koymuştur (Valles-Colomer vd., 2019). Bazı araştırmalarda, bağırsaktaki *Faecalibacterium* miktarının artmasının depresyonun şiddetini arttırdığı (Zheng vd., 2019), *Bifidobacterium longum* ve *Lactobacillus helveticus*'un probiyotik uygulamasının ise kaygıyı azaltabileceğini göstermiştir (Messaoudi vd., 2011)(Mohammadi vd., 2016). Özellikle zihinsel sağlıkla ilgili olarak, birkaç çalışmada da benzer sonuçlar tespit edilmiştir. Örneğin, majör depresyon bozukluğu (MDD) teşhisi konan hastalar, sağlıklı kontrollerle kıyaslandığında MDB hastalarında *Bacteroidetes*, *Protobacteria* ve *Actinobacteria*'da artış görülürken *Firmicutes* miktarının daha az olduğu belirlenmiştir (Peirce ve Alviña, 2019). Yetişkin fareler arasındaki bir sosyal bozulma modeli, strese maruz kalmanın bağırsak mikrobiyota bileşiminde önemli değişikliklere yol açtığını göstermiştir. Kontrol grupları ile kıyaslandığında depresif farelerde *Bacteroides* ve *Clostridium* türlerinin miktarının arttığı tespit edilmiştir (Rinninella vd., 2019). Ayrıca benzer araştırmalarda, *Eggerthella*, *Subdoligranulum*, *Coprococcus*, *Sellimonas*, *Lachnoclostridium*, *Hungatella*, *Ruminococcaceae*, *Lachnospiraceae*, *Eubacterium ventriosum* ve *Ruminococcusgavreui* ve *Ruminococcaceae* familyasına ait bakterilerin, depresyon için anahtar nörotransmitterler olan glutamat, bütirat, serotonin ve gama amino bütirik asidin

(GABA) sentezinde yer aldığı da belirlenmiştir (Radjabzadeh vd., 2022).

3. BAĞIRSAK MİKROBİYOTA ARAŞTIRMALARI İÇİN MODEL ORGANİZMA OLARAK ZEBRA BALIĞI

Zebra balığı (*Danio rerio*), insanlarla yüksek fizyolojik ve genetik homolojiye sahip, larvalarının şeffaf, yapılan çalışmaların düşük maliyetli olması ve genetik olarak izlenebilir bir omurgalı türü olması nedeniyle nörobilimde sıkça kullanılan model organizmadır. Zebra balığının morfolojisi ve organ sistemleri kemirgenlere ve insanlara da büyük oranda benzemektedir (Kalueff vd., 2014). Zebra balığı larvaları döllenmeden 3 gün sonra (dpf) koryonlardan çıkar ve 5 dpf'den itibaren bağırsakların gelişmesiyle beraber serbest beslenme durumuna geçerler (Ng vd., 2005). Genomu tamamen dizilenmiş olan Zebra balığı insanlarla yaklaşık %70 oranında genetik benzerliğe sahiptir (Howe vd., 2013). Memelilerde olduğu gibi zebra balığında da davranışsal süreçler karmaşıktır ve çeşitli çevresel manipülasyonlara karşı oldukça hassastır (Kalueff vd., 2014). Zebra balığı, frontotemporal demans (FTD), Alzheimer (AD), Parkinson hastalığı (PD), anksiyete, depresyon, şizofreni ve otizm dahil olmak üzere birçok yaygın CNS bozukluğunun araştırılması konusunda model organizma olarak kullanılmıştır (Kalueff vd., 2014). Zebra balığı ve memelilerin bağırsak mikrobiyal bileşimleri, *Proteobakteriler*, *Fusobakteriler*, *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* ve *Verrucomicrobia* filumu olmak üzere altı bakteriyel bölümü içermektedir. Bununla birlikte, insan gastrointestinal kanalında filum düzeyinde öncelikli olarak *Firmicutes*, *Bacteroidetes* ve *Actinobacteria* baskınken, zebra balığı *Proteobakteriler* (*Aeromonas*, *Pseudomonas* ve *Vibrio* cinsleri) filumunun üyeleri ve ardından

Firmicutes veya *Fusobacteria*'yı barındırmaktadır (Rinninella vd., 2019). Fakat, bağırsak mikrobiyal bileşimi, farklı çevresel koşullar ve diyetler nedeniyle balıktan balığa değişiklik gösterebilmektedir (Borrelli vd., 2016).

3.1.Mikrobiyomun Zebra Balığı Anksiyete ve Depresyon Davranışları Üzerindeki Etkileri

Anksiyete ve depresyon dünya çapında oldukça yaygın görülen duygu durum bozukluklarıdır ve uzun süredir nörotransmitter modülasyonu ile yakından ilişkili olduğu düşünülmüştür. Bağırsak mikrobiyotasının bileşimindeki değişikliklerin anksiyete ve depresyon da dahil olmak üzere zihinsel sağlıkla ilgili olduğunu gösteren artan kanıtlar var. Zebra balığı (*Danio rerio*), memeliler ve insanlarla karşılaştırılabilir bir davranış sergilemesine rağmen üretilmesi ve ele alınması çok daha kolay olduğu için kaygı da dahil olmak üzere biyolojik tepkileri incelemek için kullanışlı bir hayvan modelidir (Mushtaq vd., 2013). Kaygılı zebra balıklarında donma davranışı, tigmotaksis ve skototaksis arttığı için, daha yüksek keşif oranları gösteren balıklar daha az kaygılı, daha düşük keşif oranına sahip balıklar ise daha kaygılı olarak kabul edilebilir (Stewart vd., 2012). Balıklarda kaygıyı ölçmek için kullanılan bir diğer davranış testi de yeni tank dalış testidir. Bu testte, tankın alt yarısında geçirilen zamanın artması kaygının artmasının bir göstergesi olarak ifade edilir (Olorocisimo vd., 2023). Oldukça sosyal bir tür olan bu balıklar genellikle cyprinidlerde (*Cyprinidae*) görülen tipik bir grup oluşturma davranışına da sahiptirler. Hem doğada hem de laboratuvarında, bu türün en sağlam ve tutarlı davranış özelliklerinden biri olarak, sığılma davranışı gözlemlenmiştir (Gerlai, 2014). Yapılan araştırmalar dikkate alındığında, bu model organizmada bağırsak-beyin ekseninde çok fazla bir çalışma yapılmadığı görülmüştür. Fakat, bağırsaktaki konak-mikrop etkileşimlerinin beyin işlevini ve davranışını etkilediği artık yaygın olarak kabul edilmekte ve

psikiyatrik hastalıklarda potansiyel bir hedef olarak kabul edilmektedir (Buske ve Gerlai, 2011)(Borrelli vd., 2016). İnsanlar ve kemirgenler gibi, zebra balıkları da davranışsal ve fizyolojik olarak homojen değildir ve bu nedenle cinsiyet, suş ve yaş farklılıkları bağırsak mikrobiyotasında değişimler meydana getirebilir. Ayrıca, bu tür değişiklikler genel olarak klinik verilerle paralellik gösterdiği için zebra balıklarının bağırsak-beyin etkileşimlerinin araştırılmasında kullanımı tercih edilmektedir (de Abreu vd., 2019).

Yapılan çalışmalar, bağırsak mikrobiyotası aracılı beyin nörotransmitter salınımının düzenlenmesinin, anksiyete ve depresyon fizyopatolojisi üzerinde çok önemli etkileri olduğunu göstermiştir. Bu ilişki, anksiyete ve depresyon gibi bağırsak-beyin eksenli hastalıklarının tedavisi için yeni bir kapı aralamaktadır (Huang ve Wu, 2021). Anksiyete ve depresyon mekanizmaları hala belirsiz olmasına rağmen, serotonin (5-hidroksitriptamin (5-HT)), dopamin (DA) ve noradrenalin (NE) gibi nörotransmitterlerin son yıllarda anksiyete ve depresyonun patofizyolojik süreçlerinde yer aldığı belirlenmiştir (Olivier ve Olivier, 2020). Artan sayıda kanıt, anksiyete ve depresyonun patogeneğinde bağırsak mikrobiyotasının önemini ortaya koymaktadır (Huang ve Wu, 2021). Mikrobiyota, nöronal fonksiyonun kontrolünde görev alan Beyin Türetilmiş Nörotrofik Faktör (BDNF)'ün değişiminden de sorumludur ve yetişkin ve gelişmekte olan zebra balıklarının organ ve dokularında da gözlenmiştir. BDNF sinyallemedeki değişiklikler, bir dizi insan nöronal ve psikiyatrik bozukluğun yanı sıra stres yanıtında yer alan biyolojik sistemlerle ilgilidir (Borrelli vd., 2016). Son araştırmalar, zebra balığı bağırsak bakterilerinin balık davranışını ve beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF) seviyeleri ve serotonin metabolizması dahil olmak üzere çeşitli CNS işlevlerini etkilediğini göstermektedir (de Abreu vd., 2019). Yapılan bir çalışmada, bir probiyotik olan *Lactobacillus rhamnosus*

uygulamasının zebra balığında sürü davranışı oluşturma frekansında azalmaya, BDNF ve serotonin sinyalizasyonunda ve metabolizmasında yer alan genlerin (*tph1a*, *tph2*, *htr1aa*, *slc6a4a* ve *mao*) ekspresyonunda ise artışa sebep olduğu tespit edilmiştir (Borrelli vd., 2016). Bunlara ek olarak, mikrobiyotada belirli bakteri türlerinin varlığı veya yokluğu, zebra balıklarında lokomotor ve anksiyete benzeri davranışı da önemli ölçüde değiştirebilir. Örneğin, *L. plantarum* ile muamelesinin zebra balığı larvalarında, beyindeki serotonerjik sinyalleme arttırarak kaygı benzeri davranışları azalttığı belirlenmiştir (Davis vd., 2016). Benzer bir çalışmada, *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactocaseibacillus casei* ve *Lactocaseibacillus paracasei* psikobiyotik aktiviteleri açısından analiz edilmiştir. Sonuçlar, *L. Delbrueckii* uygulamasının, zebra balığında anksiyete benzeri davranışları azalttığını ve bir psikobiyotik olarak kullanılabilme potansiyeli olduğunu ortaya koymuştur (Olorocisimo vd., 2023).

4. BAĞIRSAK MİKROBİYOTA ARAŞTIRMALARI İÇİN MODEL ORGANİZMA OLARAK *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Başlangıçta tüm mikroorganizmaların, konakçıda hastalığa neden olan ve bunları ortadan kaldırmak için bağışıklık tepkilerini tetikleyen zararlı dış patojenler olduğu düşünülüyordu. Bununla birlikte, yeni nesil dizileme gibi gelişmiş moleküler araçlar kullanılarak yapılan önceki çalışmalar, konakçı ile mikrobiyomu arasındaki ilişkinin, simbiyotik etkileşimleri içerebilecek birçok biçim alabileceğini göstermiştir (Awany vd., 2019). Mikrobiyom çalışmaları, bağırsakta bulunan bakteri türlerinin göreceli bolluğunu ölçerek bağırsak mikrobiyal topluluğunun belirlenmesini sağlar (Ludington ve Ja, 2020). Kısa üreme döngüsü, manipülasyon ve yetiştirme kolaylığı, insanlarla

olan genetik benzerliği gibi nedenlerden dolayı özellikle son yıllarda, konakçı ile mikrobiyota arasındaki karmaşık ilişkilerin altında yatan mekanizmaları açıklamak için *Drosophila melanogaster* kullanılmaktadır (Ludington ve Ja, 2020). *Drosophila*'nın omurgalılara kıyasla daha basit bir mikrobiyotaya sahip olması (1-30 takson) bir konakçı ile mikrobiyotası arasında meydana gelen karmaşık hücrel ve moleküler etkileşimleri inceleme noktasında kolaylıklar sağlamaktadır (Broderick ve Lemaitre, 2012). Son araştırmalar, mikrobiyotadaki değişimin başta sindirim ve bağışıklık fonksiyonları olmak üzere konakçı fizyolojisi üzerinde birçok etkiye sahip olduğunu göstermiştir (Round ve Mazmanian, 2009). Yapılan çalışmalarda, *Enterococcus faecalis*, *Gluconobacter morbifer*, *Enterobacteriaceae* Group Orbus, *Lactobacillus plantarum* ve *Acetobacter pomorum/pasteurianus* türlerinin sinek bağırsağında mevcut bakteri türleri olduğunu tespit edilmiştir (Broderick ve Lemaitre, 2012).

4.1.Mikrobiyomun *Drosophila Melanogaster* Davranışları Üzerindeki Etkileri

Drosophila melanogaster, geçmişten günümüze kadar birçok bilimsel araştırmada kullanılmış olan bir model canlıdır. Bu meyve sineğinin kısa bir ömrü ve karmaşık davranışları vardır. Genetik manipülasyonlara yatkınlığı bilim adamlarının *Drosophila* davranışını düzenleyen moleküler mekanizmalar (kur yapma, saldırganlık ve uyku) ve öğrenilmiş davranışlar (koku alma ve kur yapma hafızası) üzerinde çalışmalar yapması konusunda kolaylıklar sağlamıştır (Chiang vd., 2022). Son çalışmalar, spesifik bağırsak mikrobiyotasının sineklerdeki saldırganlık ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Akselik sineklerle geleneksel sineklerin karşılaştırıldığı bir araştırmada, akselik sineklerin da az saldırgan davranışlarda bulunduğu belirlendi. Ayrıca *Acetobacter*, *Lactobacilli* ve *Enterococci* gibi komensal bakterilerin sineklerde agresif davranışları teşvik ettiği tespit

edilmiştir (Jia vd., 2021). Bağırsak mikrobiyotasının *Drosophila*'daki uyku ve lokomotor davranışı üzerindeki etkisi hala tam olarak açıklanmamıştır (Chiang vd., 2022). Geleneksel sineklerle Wolbachia içermeyen sineklerin uyku ve lokomotor davranış analizlerinin yapıldığı bir araştırmada, mikrop içermeyen sineklerin, geleneksel sineklere kıyasla lokomotor aktivitesinde hafif bir artış gösterdiği tespit edilmiştir (Selkrig vd., 2018). Kurşuna maruz kalmanın, davranış değişiklikleri ve bağırsak mikrobiyotası arasındaki bağlantıyı araştıran bir diğer çalışmada, kurşun maruziyetinin ebeveyn sineklerde emekleme yeteneğini, hafızayı ve sosyal etkileşimleri önemli ölçüde azalttığı gözlenmiştir. Kontrollerle karşılaştırıldığında kurşuna maruz kalan sineklerde *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium*'un önemli ölçüde azaldığı ve öğrenme ve hafıza ile önemli ölçüde ilişkili olduğu bulundu. *Bilophila*, *Coprococcus*, *Desulfovibrio* ve *Ruminococcus* bakterilerinin ise kurşun muamelesinden sonra sineklerdeki mikrobiyota içeriğinde tükendiği belirlenmiştir (Sun vd., 2020). Sinek araştırmalarında gösterilen sonuçlar, birden fazla türde korunan konakçı ve bağırsak mikrobiyotası etkileşimlerine ilişkin resmin temel bir bölümünü temsil edebilir. Sineğin bağırsak mikrobiyotası insanların basit bir taklidi olmasa da sinekler, bağırsak mikrobiyotasının konağın sağlığını ve davranışını nasıl etkilediğinin moleküler mekanizmalarını öğrenmek için harika bir sistem olacaktır (Kitani-Morii vd., 2021).

5. SONUÇ

Son on yılda bağırsak mikrobiyotasının beyin fonksiyonu için öneminin anlaşılmasında önemli ilerlemeler kaydedildi. Temel bulgular, stresin bağırsak mikrobiyotasının bileşimini etkilediğini ve mikrobiyota ile merkezi sinir sistemi arasındaki çift yönlü iletişimin stres tepkisini etkilediğini göstermektedir.

Birkaç çalışma, mikrobiyotanın davranışı etkilediğini ve anksiyete ve depresif benzeri davranışları etkileyen bağışıklık zorluklarının mikrobiyotadaki değişikliklerle ilişkili olduğunu göstermiştir. İleride, bağırsak-beyin ekseninin ve özellikle yeni araçların araştırmacıların mikrobiyomun disbiyozunun zihinsel hastalıkları nasıl etkilediğini anlamalarına nasıl olanak sağlayacağını düşünmek için önemli bir fırsat bulunmaktadır.

KAYNAKÇA

- Awany, D., Allali, I., Dalvie, S., Hemmings, S., Mwaikono, K. S., Thomford, N. E., ... Chimusa, E. R. 2019. "Host and Microbiome Genome-Wide Association Studies: Current State and Challenges". *Frontiers in Genetics*, 9.
- Borrelli, L., Aceto, S., Agnisola, C., De Paolo, S., Dipineto, L., Stilling, R. M., ... Fioretti, A. 2016. "Probiotic modulation of the microbiota-gut-brain axis and behaviour in zebrafish". *Scientific Reports*, 6(1), 30046.
- Broderick, N. A., Lemaitre, B. 2012. "Gut-associated microbes of *Drosophila melanogaster*". *Gut Microbes*, 3(4), 307–321.
- Buske, C., Gerlai, R. 2011. "Shoaling develops with age in Zebrafish (*Danio rerio*)". *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 35(6), 1409–1415.
- Campbell, S. C., Wisniewski, P. J., Noji, M., McGuinness, L. R., Häggblom, M. M., Lightfoot, S. A., ... Kerkhof, L. J. 2016. "The Effect of Diet and Exercise on Intestinal Integrity and Microbial Diversity in Mice". *PLOS ONE*, 11(3), e0150502.
- Cheng, X., Zheng, J., Lin, A., Xia, H., Zhang, Z., Gao, Q., ... Liu, H. 2020. "A review: Roles of carbohydrates in human diseases through regulation of imbalanced intestinal microbiota". *Journal of Functional Foods*, 74, 104197.
- Chiang, M.-H., Ho, S.-M., Wu, H.-Y., Lin, Y.-C., Tsai, W.-H., Wu, T., ... Wu, C.-L. 2022. "Drosophila Model for Studying Gut Microbiota in Behaviors and Neurodegenerative Diseases". *Biomedicines*, 10(3), 596.
- Davis, D. J., Bryda, E. C., Gillespie, C. H., Ericsson, A. C. 2016. "Microbial modulation of behavior and stress responses in

- zebrafish larvae". *Behavioural Brain Research*, 311, 219–227.
- de Abreu, M. S., Giacomini, A. C. V. V., Sysoev, M., Demin, K. A., Alekseeva, P. A., Spagnoli, S. T., Kalueff, A. V. 2019. "Modeling gut-brain interactions in zebrafish". *Brain Research Bulletin*, 148, 55–62.
- Desbonnet, L., Garrett, L., Clarke, G., Kiely, B., Cryan, J. F., Dinan, T. G. 2010. "Effects of the probiotic *Bifidobacterium infantis* in the maternal separation model of depression". *Neuroscience*, 170(4), 1179–1188.
- Doran, C. M., Kinchin, I. 2019. "A review of the economic impact of mental illness". *Australian Health Review*, 43(1), 43.
- Gerlai, R. 2014. "Social behavior of zebrafish: From synthetic images to biological mechanisms of shoaling". *Journal of Neuroscience Methods*, 234, 59–65.
- Howe, K., Clark, M. D., Torroja, C. F., Torrance, J., Berthelot, C., Muffato, M., ... Stemple, D. L. 2013. "The zebrafish reference genome sequence and its relationship to the human genome". *Nature*, 496(7446), 498–503.
- Huang, F., Wu, X. 2021. "Brain Neurotransmitter Modulation by Gut Microbiota in Anxiety and Depression". *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 9.
- Jia, Y., Jin, S., Hu, K., Geng, L., Han, C., Kang, R., ... Liu, W. 2021. "Gut microbiome modulates *Drosophila* aggression through octopamine signaling". *Nature Communications*, 12(1), 2698.
- Kalueff, A. V., Stewart, A. M., Gerlai, R. 2014. "Zebrafish as an emerging model for studying complex brain disorders". *Trends in Pharmacological Sciences*, 35(2), 63–75.

- Kitani-Morii, F., Friedland, R. P., Yoshida, H., Mizuno, T. 2021. "Drosophila as a Model for Microbiota Studies of Neurodegeneration". *Journal of Alzheimer's Disease*, 84(2), 479–490.
- Kumar, A., Pramanik, J., Goyal, N., Chauhan, D., Sivamaruthi, B. S., Prajapati, B. G., Chaivasut, C. 2023. "Gut Microbiota in Anxiety and Depression: Unveiling the Relationships and Management Options". *Pharmaceuticals*, 16(4), 565.
- Ludington, W. B., Ja, W. W. 2020. "Drosophila as a model for the gut microbiome". *PLOS Pathogens*, 16(4), e1008398.
- Messaoudi, M., Lalonde, R., Violle, N., Javelot, H., Desor, D., Nejdi, A., ... Cazaubiel, J.-M. 2011. "Assessment of psychotropic-like properties of a probiotic formulation (*Lactobacillus helveticus* R0052 and *Bifidobacterium longum* R0175) in rats and human subjects". *British Journal of Nutrition*, 105(5), 755–764.
- Mohammadi, A. A., Jazayeri, S., Khosravi-Darani, K., Solati, Z., Mohammadpour, N., Asemi, Z., ... Eghtesadi, S. 2016. "RETRACTED ARTICLE: The effects of probiotics on mental health and hypothalamic–pituitary–adrenal axis: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial in petrochemical workers". *Nutritional Neuroscience*, 19(9), 387–395.
- Mushtaq, M. Y., Verpoorte, R., Kim, H. K. 2013. "Zebrafish as a model for systems biology". *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*, 29(2), 187–205.
- Ng, A. N. Y., de Jong-Curtain, T. A., Mawdsley, D. J., White, S. J., Shin, J., Appel, B., ... Heath, J. K. 2005. "Formation of the digestive system in zebrafish: III. Intestinal epithelium

- morphogenesis". *Developmental Biology*, 286(1), 114–135.
- Olivier, J. D. A., Olivier, B. 2020. "Translational Studies in the Complex Role of Neurotransmitter Systems in Anxiety and Anxiety Disorders" (ss. 121–140).
- Olorocisimo, J. P., Diaz, L. A., Co, D. E., Carag, H. M., Ibane, J. A., Velarde, M. C. 2023. "Lactobacillus delbrueckii reduces anxiety-like behavior in zebrafish through a gut microbiome – brain crosstalk". *Neuropharmacology*, 225, 109401.
- Peirce, J. M., Alviña, K. 2019. "The role of inflammation and the gut microbiome in depression and anxiety". *Journal of Neuroscience Research*, 97(10), 1223–1241.
- Radjabzadeh, D., Bosch, J. A., Uitterlinden, A. G., Zwinderman, A. H., Ikram, M. A., van Meurs, J. B. J., ... Amin, N. 2022. "Gut microbiome-wide association study of depressive symptoms". *Nature Communications*, 13(1), 7128.
- Rinninella, E., Raoul, P., Cintoni, M., Franceschi, F., Miggianno, G. A. D., Gasbarrini, A., Mele, M. C. 2019. "What is the Healthy Gut Microbiota Composition? A Changing Ecosystem across Age, Environment, Diet, and Diseases". *Microorganisms*, 7(1), 14.
- Round, J. L., Mazmanian, S. K. 2009. "The gut microbiota shapes intestinal immune responses during health and disease". *Nature Reviews Immunology*, 9(5), 313–323.
- Selkrig, J., Mohammad, F., Ng, S. H., Chua, J. Y., Tumkaya, T., Ho, J., ... Claridge-Chang, A. 2018. "The Drosophila microbiome has a limited influence on sleep, activity, and courtship behaviors". *Scientific Reports*, 8(1), 10646.

- Simpson, C. A., Diaz-Arteche, C., Eliby, D., Schwartz, O. S., Simmons, J. G., Cowan, C. S. M. 2021. "The gut microbiota in anxiety and depression – A systematic review". *Clinical Psychology Review*, 83, 101943.
- Stewart, A., Gaikwad, S., Kyzar, E., Green, J., Roth, A., Kalueff, A. V. 2012. "Modeling anxiety using adult zebrafish: A conceptual review". *Neuropharmacology*, 62(1), 135–143.
- Sun, Y., Tang, Y., Xu, X., Hu, K., Zhang, Z., Zhang, Y., ... Liu, X. 2020. "Lead exposure results in defective behavior as well as alteration of gut microbiota composition in flies and their offsprings". *International Journal of Developmental Neuroscience*, 80(8), 699–708.
- Valles-Colomer, M., Falony, G., Darzi, Y., Tigchelaar, E. F., Wang, J., Tito, R. Y., ... Raes, J. 2019. "The neuroactive potential of the human gut microbiota in quality of life and depression". *Nature Microbiology*, 4(4), 623–632.
- World Health Organization. 2017. "Depression and Other Common Mental From, Disorders: Global Health Estimates". Retrieved [Http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/254610/WHO-MSD-MER-2017.2-Eng.pdf;jsessionid=D7B089CDA4A6FD66BD711AE0E39C4511?sequence=1](http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/254610/WHO-MSD-MER-2017.2-Eng.pdf;jsessionid=D7B089CDA4A6FD66BD711AE0E39C4511?sequence=1).
- Yatsunenکو, T., Rey, F. E., Manary, M. J., Trehan, I., Dominguez-Bello, M. G., Contreras, M., ... Gordon, J. I. 2012. "Human gut microbiome viewed across age and geography". *Nature*, 486(7402), 222–227.
- Zheng, P., Zeng, B., Liu, M., Chen, J., Pan, J., Han, Y., ... Xie, P. 2019. "The gut microbiome from patients with schizophrenia modulates the glutamate-glutamine-GABA

cycle and schizophrenia-relevant behaviors in mice".
Science Advances, 5(2).

KANSERDE miRNA TABANLI TERAPİLER, BİYOBELİRTEÇLER VE TERAPÖTİK HEDEFLER OLARAK POTANSİYELLERİ

Fatma YILDIZ¹

1. GİRİŞ

Modern tıpta hastalık teşhisi ve gen terapisi heyecan verici iki önemli alandır. Birçok bilim insanı insanları özellikle kanser gibi ciddi hastalıklardan daha iyi korumak için hastalıkların erken teşhisi ve bu hastalıkların tedavisi için yeni yaklaşımlar bulmaya çalışmıştır. Şu an çeşitli hastalıkları tespit etmek için çeşitli biyobelirteçler geliştirilmiş olsa da, özellikle kanser başta olmak üzere birçoğunu çok erken evrelerde teşhis etmek hala zordur. Son zamanlarda tanımlanan geniş bir küçük RNA sınıfı olan mikroRNA'lar bu alanda yeni bir bakış açısı sağlayabilir (Zhang ve Farwell 2008; Lewis ve ark., 2005). MikroRNA'lar (miRNA'lar), yaklaşık 22 nükleotid büyüklüğünde protein kodlamayan küçük RNA'ların (ncRNA'lar) yeni bir sınıfı olup gen düzenlemesinde önemli bir role sahiptir (He ve ark., 2020). miRNA'lar, çok sayıda biyolojik sürecin kontrolünde yer alır ve yoklukları veya değişmiş ifadeleri, kanser de dahil olmak üzere çeşitli insan hastalıklarıyla ilişkilendirilmiştir. Bir kanserin farklı evrelerinde ya da farklı kanser türlerinde farklı miRNA'ların benzersiz ifade profilleri, miRNA'ların hastalık teşhisi için yeni biyobelirteçler olarak işlev görebileceğini ve miRNA gen terapisi için yeni bir strateji sunabileceğini düşündürmektedir (Zhang ve

¹ Dr. Öğr. Üyesi, Alanya Alaaddin Keykubat Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Tıbbi Laboratuvar Teknikleri Programı, fatma.yildiz@alanya.edu.tr, ORCID: 0000-0002-9270-9062.

Farwell 2008). Ayrıca farklı kanserler arasında yürütülen birkaç miRNA tabanlı tedavi mevcut olup bu tedaviler ileride potansiyel olarak kanser hastalarına önemli klinik faydalar sağlayabilir (He ve ark., 2020; Ji ve ark., 2017). Bu bölümde insan kanserlerinde miRNA'lar ile ilgili çalışmaların önemli klinik sonuçlar doğuracağı inancıyla, miRNA'ların tümör oluşumunda ve gelişimindeki işlevini, kanser tanısı ve kanser prognoz tahmini için biyobelirteç olarak hareket ettiği bulguları, miRNA tabanlı kanser tedavilerinin durumunu ve yeni terapötik uygulamalar için mevcut ve potansiyel gelişme olanakları vurgulanmaktadır.

2. miRNA BİYOGENEZİ VE DÜZENLENMESİ

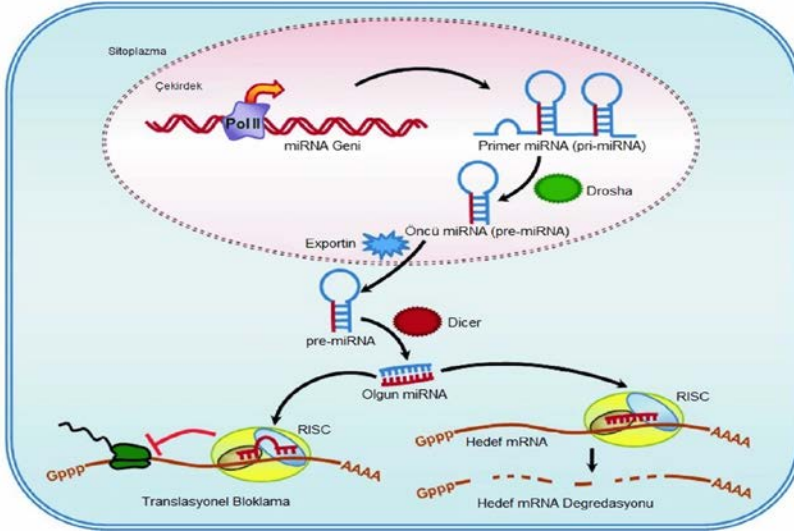
miRNA'lar yaklaşık 18-22 nükleotid uzunluğunda olan, endojen, protein kodlamayan, küçük RNA'ların bir grubudur (Bartel, 2004). İlk miRNA (lin-4), 1993 yılında larvadan erişkine faz değişimini bozan nematod *Caenorhabditis elegans'taki* bir mutasyonun tanımlanmasıyla, lin-14 mRNA'sının 3' UTR'sinde antisens tamamlayıcılığa sahip olan 22 nükleotid uzunluğunda bir RNA'yı kodlamasıyla keşfedilmiştir (Conti ve ark., 2020). *C. elegans'taki* sonraki çalışmalar, L4 larval aşamasından yetişkine geçişi kontrol eden ve lin-41 proteininin ifadesini baskılayan başka bir 21 nükleotid uzunluğunda RNA'nın (let-7) tanımlanmasını sağlamıştır (Reinhart ve ark., 2000). Bollukları, ifade kalıpları ve evrimsel korunumları nedeniyle, lin-4 ve let-7 RNA'ları, 18-24 nükleotid uzunluğunda, mikroRNA'lar adı verilen büyük bir düzenleyici kodlamayan RNA sınıfının üyeleri olarak dahil edilmiştir. MikroRNA'lar, 2001'in sonlarında resmen kodlamayan RNA sınıfı olarak tanınmıştır ve RNA girişim süreci (RNAi) sırasında doğrudan hedef mRNA'yı kesen kısa girişimci RNA'lardan (siRNA'lar) işlevsel olarak ayırt edilmiştir (Flynt ve Lai 2008; Lagos-Quintana ve ark., 2001).

miRNA'ların birincil işlevi hedef mRNA'ların çevirisine müdahale etmek veya hedeflerinin dengesizleşmesini ve bozunmasını teşvik etmektir (Mladinov ve ark., 2013). Ayrıca miRNA'lar, hücre çoğalması, farklılaşması ve apoptoz gibi tümör gelişimi ve ilerlemesi için gerekli olan çeşitli hücre sinyal yollarını etkileyebilen birçok ilgili genin ifadesini engelleme veya destekleme yeteneğine sahiptir (Budhu ve ark., 2010; Vasudevan ve ark., 2007).

miRNA'lar genom içinde yaygın olarak dağılmış birkaç genin hem intronlarından hem de ekzonlarından üretilir. Şu anda tanımlanmış miRNA'ların yaklaşık %50'si protein kodlamayan transkriptlerden kaynaklanır ve kendi promotörleri tarafından düzenlenir. Geriye kalan miRNA'lar, çoğunlukla intronlardan ve nispeten az sayıda kodlamayan ekzonlardan olmak üzere, intragenik bölgelerden kaynaklanır; konak genleriyle birlikte transkripsiyona uğrarlar ve ayrı ayrı işlenirler (Saini ve ark., 2007). miRNA'lar, miRNA genleri adı verilen genlerden RNA polimeraz II (pol II) tarafından transkripsiyona uğrar; bazı miRNA'lar pol III tarafından da transkripsiyona uğrayabilir (Bohnsack ve ark., 2004). miRNA'ların üretimi, birkaç farklı enzimi içeren çok sayıda adımdan oluşan bir süreçtir. İlk olarak, miRNA genleri pol II veya pol III tarafından 5' guanozin başlığı ve 3' poli A kuyruklu birincil miRNA'lara (pri-miRNA) transkripsiyona uğrar (Zeng ve ark., 2005; Chitwood ve Timmermans 2010). Daha sonra iki DGCR8 (Di George Sendromu Kritik Bölge 8) molekülü, Pasha olarak da bilinen çift sarmallı bir RNA (dsRNA) bağlayıcı protein ve Drosha adı verilen bir RNase III enzimi molekülünden oluşan bir mikroişlemci kompleksi tarafından yaklaşık 70 nükleotidden oluşan prekürsör miRNA (pre-miRNA) formuna dönüştürülür (Denli ve ark., 2004). Yeni miRNA öncüsü, nükleer taşıma reseptörü proteini Eksportin 5 (XPO-5)/Ran GTP kompleksi tarafından çekirdekte sitoplazmaya taşınır. Sitoplazmada,

RNAse III endonükleaz Dicer, Protein Kinaz RNA-aktif (PKR) ve iki dsRNA bağlayıcı protein TRBP ve PACT (sırasıyla, HIV Trans-aktivasyon Tepkisi RNA Bağlayıcı Protein ve PKR Protein Aktivatörü) ile birlikte pre-miRNA'yı işler, terminal halkayı kaldırarak çift sarmallı 18-23 nükleotid uzunluğunda olgun bir miRNA elde eder (Okada ve ark., 2009; Song ve Rossi 2017; Conti ve ark., 2020) (Şekil 1).

Şekil 1. miRNA Biyogenezi ve Düzenlenmesi



Kaynak: (<http://molekulerbiyolojiyegenetik.org/yeni-bir-kesif-gen-baskilayicilari-mirinalar/>)

miRNA üretiminde yer alan proteinlerin eksikliği organ gelişimi, RNA işlenmesi ve transkripsiyon veya genom bütünlüğünün düzenlenmesi gibi çeşitli biyolojik süreçlerle ilişkilendirilmiştir (Pong ve Gullerova 2018). Örneğin; kök hücre özelliklerinin kaybı ve fare ön beyin sinir progenitorlerinde erken farklılaşma, Drosha yokluğunda nörojenik transkripsiyon faktörü Neurogenin 2 (Ngn2) mRNA'sının stabilizasyonu ile indüklenmiştir (Knuckles ve ark, 2012). Başka bir çalışmada, medulloblastoma fare modelinde, Dicer tükenmesi DNA

hasarının birikmesine ve hücre ölümünün artmasına neden olmuştur (Swahari ve ark., 2016).

3. KANSERDE miRNA'LARIN ROLLERİ VE miRNA'LARI HEDEF ALAN TERAPİLER

Kanser günümüzde en inatçı hastalık gruplarından biri olup karsinogenez çok adımlı bir süreçtir (Munker ve Calin 2011). Bugüne kadar en popüler tedavi aracı, tümörün cerrahi olarak çıkarılması ve ardından kemoterapi ve/veya radyoterapi uygulanmasıdır. Ancak, özellikle kötü huylu tümörlerin çoğunda, iyileşme oranı düşüktür. Artan deneysel kanıtlar, miRNA düzensizliğinin kanser dahil olmak üzere çeşitli patolojik durumların bir biyobelirteci olduğunu ve miRNA'nın tümör oluşturma sürecinin farklı adımlarında onkogenler veya tümör baskılayıcı genler gibi nedensel bir rol oynayabileceğini göstermektedir. Şu anda kanser tedavisinin sonuçlarını iyileştirme amacıyla miRNA'lara dayalı antikanser tedavileri geliştirilmektedir (Ji ve ark., 2017; Munker ve Calin 2012).

186 miRNA'yı haritalayarak genom çapında yapılan bir çalışma, miRNA'ların sıklıkla kırılma bölgelerde, heterozigot kaybın veya amplifikasyonun minimal bölgelerinde veya insan kanserlerinde yaygın kırılma noktası bölgelerinde yer aldığını bulmuştur (Calin ve ark., 2004). Yapısal ve genetik değişikliklerin yanı sıra, DNA promotör hipermetilasyonu veya histon hipoasetilasyonu yoluyla miRNA genlerinin epigenetik olarak susturulması bazı katı tümörlerde ve hematolojik malignitelerde açıklığa kavuşturulmuştur (Lujambio ve ark., 2007; Hackanson ve ark., 2008). Belirli bir kanser türünde belirli miRNA'ların şaşırtıcı derecede anormal ekspresyonu, bu miRNA'ların kanser tedavisi için yeni bir hedef ve gen terapisi için olası yeni bir yaklaşım olabileceğini düşündürmektedir (Karagonlar ve ark., 2015; Calin ve ark., 2002). Hedef gene göre,

bazı miRNA'lar sıklıkla protein kodlayan onkogenleri olumsuz etkilerken, diğer bazı miRNA'lar bilinen tümör baskılayıcılarını inhibe edebilir (Zhang ve ark., 2007). Daha ilginç, son zamanlarda yapılan çalışmalar tümör istilasının ve metastazın da miRNA'lar tarafından başlatıldığını göstermiştir (Ma ve ark., 2007; Kumar ve ark., 2007).

Yapılan son çalışmalarda, bazı miRNA'ların bazı kanser türlerinde aşırı ekspresyon gösterdiği bildirilmiştir (Tablo 1). Örneğin *miR-17-92* akciğer kanseri hücrelerinde yüksek oranda ekspresyon göstermektedir; bu durumda miRNA onkogen olarak işlev görmektedir. Buna karşılık, akciğer kanseri dokusundaki let-7, aşağı regülasyon göstermiştir ve bu nedenle tümör baskılayan genler olarak işlev görmektedir. Bunun yanı sıra, bazı miRNA'lar farklı kanser tiplerinde farklı ekspresyon profili örüntülerine sahiptir. Ayrıca çeşitli çalışmalar, miRNA ekspresyon sapmasının kanser patogenezinin erken evresinde var olduğunu ve ekspresyon örüntüsünün karsinogenez geliştikçe değiştiğini göstermiştir; bu da miRNA'ların test edilen tümörlerin gelişimsel soyunda ve farklılaşma durumunda önemli bir işleve sahip olduğunu düşündürmektedir (Lu ve ark., 2005; Zhang ve Farwell 2008).

Tablo 1. Kanslerle İlişkili mikroRNA'lar ve Anormal İfadeleri

Kanser	Dahil olan miRNA'lar
Beyin kanseri (Glioblastoma)	miR-21↑, miR-221↑, miR-12↓, miR-181a,b,c↓
Meme kanseri	miR-21↑, miR-146↑, miR-155↑, miR-10b↓, miR-17-5p↓, miR-125b↓, miR-145↓, miR-125b↓
Kronik lenfositik lösemi (KLL)	miR-15↓, miR-16↓
Kolorektal neoplazi	miR-10a↑, miR-17-92↑, miR-20a↑, miR-31↑, miR-96↑, miR-183↑, let-7↓, miR-143↓, miR-145↓
Baş ve boyun kanseri	miR-21↑, miR-205↑
Hepatosit karsinomu (HCC)	miR-18↑, miR-224↑, miR-199↓, miR-195↓, miR-200↓, miR-125↓
Akciğer kanseri	birak-7↓, miR-17-92↑
Yumurtalık kanseri	miR-200a,b,c↑, miR-141↑, miR-199a↓, miR-140↓, miR-145↓, miR-125b↓
Pankreas kanseri	miR-221↑, miR-181a↑, miR-21↑, miR-148a,b↓
Prostat kanseri	let-7↑, miR-195↑, miR-203↑, miR-128a↓
Mide kanseri	miR-21↑, miR-103↑, miR-223↑, miR-218↓
Testis germ hücre tümörleri	miR-372↑, miR-373↑

*Kanser dokusu ile bitişik normal doku arasında ifadesinde önemli ölçüde değişiklik olan miRNA'lar listelenmiştir ↑ aşırı ifade; ↓ aşağı düzenleme (Zhang ve Farwell 2008).

3.1.Meme Kanseri

Meme kanseri, yüksek tekrarlı ve metastaz yeteneği nedeniyle dünya çapında kadınlarda en çok görülen kanserlerden biridir. Giderek artan sayıda çalışma, miRNA'ların meme kanseri gelişiminde kritik roller oynadığını göstermiştir. Romero-Cordoba ve ark. (2012) 113 miRNA'nın normal bitişik dokuya kıyasla meme tümörlerinde daha yüksek ifade gösterdiğini ve 17 miRNA'nın downregüle olduğunu bulmuştur. Ek olarak miRNA'ların farklı ifadeleri meme kanserinin yüksek insidansı ve mortalitesi ile sıkı bir şekilde bağlantılıdır. miR-892b ifadesinin insan meme kanseri örneklerinde açıkça down regüle düzenlendiği iyi belgelenmiştir (Jiang ve ark., 2016). miR-155 genellikle meme kanserinde onkogenik bir miRNA olarak kabul

edilir. Yapılan bir çalışmada, miR-155 antisens oligonükleotidi sentezlenerek MDA-MB-157 hücrelerine transfekte edilerek, hücre çoğalmasının önemli ölçüde engellendiği ve hücre apoptozunun arttığı bildirilmiştir (Zheng ve ark., 2013). Ek olarak, yapay miRNA'ların (amiRNA) kullanımı meme kanseri tedavisi için yeni bir strateji sağlar. Siklin bağımlı kinaz 4 (CDK4) mRNA'sının 3'-çevrilmemiş bölgesini (3'-UTR) hedef alan yeni bir amiRNA olan miR p-27-5p, meme kanseri hücrelerine transfekte edilmiştir. Bu çalışma, hücre çoğalmasının engellendiğini ve CDK4 ekspresyonunun aşağı düzenlenmesi ve retinoblastoma proteini fosforilasyonunun baskılanması yoluyla hücre döngüsünün durdurulduğunu ortaya koymuştur (Tseng ve ark., 2012).

3.2.Akciğer Kanser

miRNA'ların düzensizliği akciğer karsinogenezine ve ilerlemesine katkıda bulunur. Let-7, akciğer kanserinde dikkate değer bir miRNA'dır. Birkaç araştırma, let-7 ekspresyon düzeyinin akciğer kanseri patogenezi ile ilişkili olduğunu ve let-7 ekspresyonunun akciğer kanseri dokularında önemli ölçüde azaldığını göstermiştir (Laser ve ark., 2007). Fernandez ve ark. (2015) miR-340 ifadesinin küçük hücreli olmayan akciğer kanseri (KHDAK) ilerlemesiyle ters orantılı olduğunu bulmuşlardır. miR-340'ın aşırı ifadesi hücre büyümesini baskılamış ve KHDAK hücrelerinde apoptozu indüklemiştir. Trang ve ark. (2011) ile Ai ve ark. (2015) baskılayıcı miRNA'ların sentetik taklitlerinin kan dolaşımı yoluyla yeni bir nötr lipid emülsiyonu ile kompleks halinde iletilmesinin öncelikli olarak akciğer tümörlerine hedeflendiğini ve V-Ki-ras2 Kirsten sıçan sarkomu viral onkogen homologu (KRAS) ile yönlendirilen akciğer kanseri fare modellerinde tümörlerin dikkate değer şekilde inhibisyonunu gösterdiğini bildirmişlerdir.

3.3.Hepatosellüler Karsinom

Diğer malignitelerde olduğu gibi, hepatosellüler karsinomun (HCC) patogenezi, genetik ve epigenetik değişikliklerin katkısıyla karmaşıktır. miRNA'lar HCC metastazında rol oynar. Zhou ve ark. (2015) miR-625'in HCC örneklerinde sürekli olarak aşağı düzenlendiğini ve HCC hücrelerinde yeniden ekspresyonunun insülin benzeri büyüme faktörü 2 mRNA bağlayıcı protein 1 (IGF2BP1)/PTEN yolunu düzenleyerek hücre göçünü ve invazivliğini etkili bir şekilde bastırdığını bulmuşlardır. Gougelet ve ark. (2016) β -katenin sinyallemesinin yalnızca karaciğerde aşırı aktive edildiği bir fare modelinde, miR-34a türevi bir inhibitör ile tedavinin tümörler için ilerleme oranlarını önemli ölçüde yarı yarıya indirdiğini bulmuşlardır. HCC hakkında yapılan başka bir çalışmada, aşırı ifade edilen miR-487a'nın kötü prognozlu hastalarda meydana geldiğini ve bunun fosfoinozitol-3-Kinaz düzenleyici alt birim 1 (PIK3R1) kaynaklı AKT sinyallemesi ile hücre çoğalmasını artırdığı gösterilmiştir. Bu bulgular, HCC'nin yanı sıra diğer kanserlerin tedavisinde yeni ve umut verici tedavi stratejileri sağlayabilir (Chang ve ark., 2017).

3.4.Mide Kanseri

Mide kanseri yüksek morbidite ve mortalitesi nedeniyle en yaygın tümörlerden biri olmaya devam etmektedir ve insan sağlığını etkilemektedir. Çalışmalar, miRNA'ların muhtemelen mide kanseri tümör oluşumuyla ilişkili olduğunu ortaya koymuştur (Zhang ve Du 2016). Lee ve ark. (2015) Runt ile ilişkili transkripsiyon faktörü 3'ü (RUNX3) hedefleyebilen ve apoptozu azaltabilen, SNU5 ve SNU484 mide kanseri hücrelerinde hücre çoğalmasını artırabilen onkojenik miRNA adayları olarak miR-130a ve miR-495'i tanımlamışlardır. Dahası, miR-130a ve miR-495'e özgü sentezlenen antagomirlerin hücre büyümesi ve anjiyogenez üzerinde güçlü inhibitör etkisi

olduğunu göstermişlerdir. Benzer şekilde mide kanserinde miR-1'in aşağı regülasyonu bildirilmiştir (Han ve ark., 2015). Ek olarak, lentivirüs vektörü aracılığıyla karaciğer-bağırsak kaderinini (CDH17) hedef alan yapay bir miRNA, BGC823 hücrelerinde CDH17 ekspresyonunun uzun süreli olarak baskılanmasını sağlamak için uygulanmış ve CDH17-miRNA ile transfekte edilen gastrik hücreler, kontrol hücreleriyle karşılaştırıldığında hücre çoğalmasında, hücre hareketliliğinde ve göçünde önemli bir azalma göstermiştir (Zhang ve ark., 2011). Benzer şekilde mide kanserinin oluşumu ve ilerlemesi sırasında miR-1269 ifadesinin yukarı düzenlendiği, bunun da kanser hücresi çoğalması ve hücre döngüsü G1-S geçişini teşvik ederek AKT sinyal yolu ve Bax/Bcl-2 sinyal yolunun düzenlenmesiyle hücre apoptozunu baskıladığı bildirilmiştir (Liu ve ark., 2019).

3.5.Prostat Kanseri

Prostat kanseri, erkeklerde kanserle ilişkili ölümlerin önde gelen nedenlerinden biridir. Son zamanlarda, miRNA'lar prostat kanserinin kritik transkripsiyon sonrası düzenleyicileri olarak gösterilmiştir. Wang ve ark. (2015) prostat kanseri hücrelerinde miR-221/222 taklitleri transfeksiyonunun hücre çoğalmasının aktivitesini artırabileceğini ve kaspaz-10'u baskılayarak pro-apoptotik etkiyi engelleyebileceğini bildirmiştir. Zhang ve ark. (2015) miR-145 iletimi için poliarginin peptit (R11) etiketli toksik olmayan disülfid bağı polietilenimin (SS-PEI) nanotaşıyıcısını sentezlemişler ve R11-SSPEI/FAM-miR-145 kompleksinin sistemik uygulanmasının, implante edilen prostat kanseri ksenograftlarının fare modelinde herhangi bir toksisiteye yol açmadan tümör büyümesini önemli ölçüde engellediğini ve sağkalım süresini uzattığını göstermişlerdir. Ayrıca yapılan bir diğer çalışmada, miR-205 ve miR-338-3p'nin, inhibisyon genlerinden biri olan Bcl-2'yi hedef alarak prostat kanseri hücrelerinde apoptozun kısıtlandığı ortaya konulmuştur (Zhang ve ark., 2019).

3.6.Lösemi

miRNA'lar lösemide onkogenler veya tümör baskılayıcı genler olarak işlev görebilir ve lösemi tedavisi için yeni fırsatlar sunabilir. miR-126 ilk olarak akut miyeloid löseminin (AML) uygulanabilir bir terapötik hedefi olarak doğrulandı. AntagomiR-126 içeren yapılandırılmış hedefleme nanopartikülleri durgun hücre alt popülasyonunu tüketebilir ve ardından lösemi kök hücrelerinin sayısını azaltabilir (Dorrance ve ark., 2015). Jiang ve ark. (2016) miR-150'yi kapsülleyen FLT3 ligandı (FLT3L)-konjuge G7 poli nano boyutlu dendripleks olan hedefli bir nanopartikül sistemi geliştirmişler ve sistemin FLT3 aşırı ekspresyonu olan AML hücrelerini seçici olarak hedef aldığını ve hücre canlılığını etkili bir şekilde inhibe ettiğini ve hem in vitro hem de in vivo apoptozu indüklediğini göstermişlerdir.

4. TANI İÇİN miRNA TABANLI BİYOBELİRTEÇLER

Farklı tümörlerde bazı spesifik miRNA'ların aşırı ekspresyonu veya aşağı regülasyonu, bunları potansiyel terapötik hedefler haline getirir. Üretici hücrelerinden salınan dolaşımdaki miRNA'lar, kanserde yeni invaziv olmayan biyobelirteçlerdir. Birkaç çalışma, kanser hastalarında dolaşan miRNA'ları tespit etmiş ve bunların birincil tümörlerle potansiyel ilişkilerini tartışmıştır (Mitchell ve ark., 2008). Dolaşımdaki miRNA'lar vücut sıvılarında (kan, idrar, gözyaşı, tükürük, seminal sıvı, beyin omurilik sıvısı ve hücre dışı sıvı) oldukça stabil bir formda tespit edilebilir ve tanıda, prognozu değerlendirmede ve tedavi yanıtını izlemede değerli oldukları düşünülmektedir. Tümör baskılayıcı miRNA seviyelerinin dolaşımda arttığı ve bağışıklık tepkilerinde yer aldığı bildirilmiştir. Normal veya tümör hücrelerinden salınan hücre dışı miRNA'lar, farklı tümör hücreleri arasında parakrin

veya endokrin sinyal yollarının aracıları olarak işlev görebilir (Ji ve ark., 2017).

Farklı örnek kaynaklarından gelen miRNA'ların idiografik anlamları olabilir. İdrar hücresiz miRNA'ları, bazı ürolojik neoplazmalar için uygun potansiyel belirteçlerdir. Örneğin yapılan bir çalışmada araştırmacılar 543 idrar örneği üzerinde çok merkezli bir çalışma gerçekleştirmiş ve mesane kanserini iyi huylu hematüriden ayırt etmek için %90'dan fazla ($p < 0.001$) duyarlılığa sahip invaziv olmayan bir tanı aracı önermiştir, bu yöntem belirli bir noktada gereksiz sistoskopileri azaltabilir (Piao ve ark., 2019). Başka bir çalışma, idrar miR-126 seviyeleri ile çocuklarda çoğalan hemanjiomlar arasındaki ilişkiyi bildirmiştir (Pavlidis ve ark., 2018). Benzer şekilde beyin omurilik sıvısı örneklerinde çeşitli miRNA'ların ölçümünün, primer santral sinir sistemi lenfoması ayrımı için yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip olduğu öne sürülmüştür (Baraniskin ve ark., 2011). Buna ek olarak bazı doktorlar pankreas kanseri erken teşhisi için endoskopik ultrasonografi yöntemi ile ince iğne aspirasyonu (İİA) örneklerinde önemli miRNA'ları tespit etme konusunda uygulanabilir bir fikir ortaya atmışlardır (Vila Navarro ve ark., 2017). İdrar, tükürük, beyin-omurilik sıvısı, İİA örnekleri ve miRNA tespiti için kullanılan yaygın serum veya plazma gibi bu kaynakların klinik uygulamalarda mükemmel potansiyele sahip olduğu gösterilmiştir.

Bazı farklılıklarla birlikte, miRNA'lara dayalı olarak ortaya konulan bu tanı yöntemleri büyük öneme sahiptir. Biyobelirteç olarak tek başına miRNA kullananların aksine, bazı bilim insanları mide kanserinde önemli ölçüde aşırı ifade edilen altı miRNA gibi bir kanser türü için bir miRNA paneli tanımlamışlardır. Üç ekzosomal miRNA birlikte, metastatik akciğer kanserinin teşhisi için tek bir miRNA'dan daha yüksek doğruluk göstermiştir (Huang ve ark., 2017). Northern Blot ve TaqMan miRNA qRT-PCR analizlerinin doğrulanmasından

sonra, bilim insanları servikal intraepitelyal neoplazili servikal örneklerde miR-25/92a grubunun miR-22/29a grubuna göre önemli ölçüde daha yüksek oranı fark etmişler ve ardından servikal kanserler için erken bir tanı yöntemi önermişlerdir (Wang ve ark., 2014). Bu miRNA panelleri, kullanılan tek miRNA'dan daha etkili olabilir. Ancak, miRNA'ların kanser teşhis biyobelirteçleri olarak uygulanması için hala çözülmemiş zorluklar mevcuttur. Plazma ve doku arasındaki miRNA seviyelerinin farklılıkları, miRNA'nın seçici salınımı veya dolaşımdaki miRNA'ları etkileyen çeşitli parametreler (ilaçlar gibi) ya da henüz keşfetmediğimiz bir şeyden kaynaklı olabilir (He ve ark., 2020).

5. SONUÇ

miRNA'lar kanser yönetiminde klinik uygulamalarda, sadece tümör tanısında değil, aynı zamanda kötü huylu tümör potansiyelinin veya tedavi etkinliğinin değerlendirilmesinde ve tümör nüksü ve ilerlemesinin izlenmesinde kullanılabilir. Şimdiye kadar, birkaç miRNA klinik öncesi testlerde doğrulanmış ve daha ileri klinik araştırmalara bırakılmıştır. 2013 yılında, lipozom formüllü bir miR-34 taklidi olan MRX34 ile ilk miRNA replasman tedavisi, intravenöz enjeksiyon yoluyla ileri veya metastatik karaciğer kanseri olan hastalar için insan klinik çalışmalarına girmiştir (Beg ve ark., 2017). Ancak, miRNA tabanlı kanser tedavilerine ilişkin pek çok soru, düşük biyoyararlanım, hedef dışı etkiler veya uzun vadeli güvenlik dahil olmak üzere üstesinden gelinmeyi beklemektedir. Tüm bunlar bir araya getirildiğinde, kanserlerde giderek daha fazla miRNA biyobelirteci adayı ortaya çıktıkça, daha geniş kohortlarla yapılacak çalışmalara ihtiyaç duyulmakta ve miRNA düzensizliğinin tam mekanizmalarının anlaşılması gerekmektedir.

KAYNAKÇA

- Ai, C., Jiang, R., Fu, L., Chen, Y., 2015. Retracted Article: MicroRNA-495 mimics delivery inhibits lung tumor progression. *Tumor Biology*, 36: 729-735.
- Baraniskin, A., Kuhnhen, J., Schlegel, U., Chan, A., Deckert, M., Gold, R., 2011. Identification of microRNAs in the cerebrospinal fluid as marker for primary diffuse large B-cell lymphoma of the central nervous system. *Blood*, 117:3140–3146.
- Bartel, D.P., 2004. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*, 116(2): 281-297.
- Beg, M.S., Brenner, A.J., Sachdev, J., Borad, M., Kang, Y.K., Stoudemire, J., Hong, D.S., 2017. Phase I study of MRX34, a liposomal miR-34a mimic, administered twice weekly in patients with advanced solid tumors. *Investigational new drugs*, 35: 180-188.
- Bohnsack, M.T., Czapinski, K., Görlich, D., 2004. Exportin 5 is a RanGTP-dependent dsRNA-binding protein that mediates nuclear export of pre-miRNAs. *Rna*, 10(2): 185-191.
- Budhu, A., Ji, J., Wang, X.W., 2010. The clinical potential of microRNAs. *Journal of hematology & oncology*, 3: 1-7.
- Calin, G.A., Dumitru, C.D., Shimizu, M., Bichi, R., Zupo, S., Noch, E., Croce, C.M., 2002. Frequent deletions and down-regulation of micro-RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. *Proceedings of the national academy of sciences*, 99(24):15524-15529.
- Calin, G.A., Sevignani, C., Dumitru, C.D., Hyslop, T., Noch, E., Yendamuri, S., Croce, C.M., 2004. Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic

- regions involved in cancers. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(9): 2999-3004.
- Chang, R.M., Xiao, S., Lei, X., Yang, H., Fang, F., Yang, L.Y., 2017. miRNA-487a promotes proliferation and metastasis in hepatocellular carcinoma. *Clinical Cancer Research*, 23(10): 2593-2604.
- Chitwood, D.H., Timmermans, M.C., 2010. Small RNAs are on the move. *Nature*, 467(7314): 415-419.
- Conti, I., Varano, G., Simioni, C., Laface, I., Milani, D., Rimondi, E., Neri, L.M., 2020. miRNAs as influencers of cell-cell communication in tumor microenvironment. *Cells*, 9(1): 220.
- Denli, A.M., Tops, B.B., Plasterk, R.H., Ketting, R.F., Hannon, G.J., 2004. Processing of primary microRNAs by the Microprocessor complex. *Nature*, 432(7014): 231-235.
- Dorrance, A.M., Neviani, P., Ferencak, G.J., Huang, X., Nicolet, D., Maharry, K.S., Marcucci, G., 2015. Targeting leukemia stem cells in vivo with antagomiR-126 nanoparticles in acute myeloid leukemia. *Leukemia*, 29(11): 2143-2153.
- Fernandez, S., Risolino, M., Mandia, N., Talotta, F., Soini, Y., Incoronato, M., Verde, P., 2015. miR-340 inhibits tumor cell proliferation and induces apoptosis by targeting multiple negative regulators of p27 in non-small cell lung cancer. *Oncogene*, 34(25): 3240-3250.
- Flynt, A.S., Lai, E.C., 2008. Biological principles of microRNA-mediated regulation: shared themes amid diversity. *Nature Reviews Genetics*, 9(11): 831-842.
- Gougelet, A., Sartor, C., Bachelot, L., Godard, C., Marchiol, C., Renault, G., Colnot, S., 2016. Antitumour activity of an

inhibitor of miR-34a in liver cancer with β -catenin-mutations. Gut, 65(6): 1024-1034.

Hackanson, B., Bennett, K.L., Brena, R.M., Jiang, J., Claus, R., Chen, S.S., Plass, C., 2008. Epigenetic modification of CCAAT/enhancer binding protein α expression in acute myeloid leukemia. Cancer research, 68(9): 3142-3151.

Han, C., Zhou, Y., An, Q., Li, F., Li, D., Zhang, X., Kan, Q., 2015. MicroRNA-1 (miR-1) inhibits gastric cancer cell proliferation and migration by targeting MET. Tumor biology, 36: 6715-6723.

He, B., Zhao, Z., Cai, Q., Zhang, Y., Zhang, P., Shi, S., Wang, X., 2020. miRNA-based biomarkers, therapies, and resistance in Cancer. International journal of biological sciences, 16(14): 2628.

Huang, Z., Zhu, D., Wu, L., He, M., Zhou, X., Zhang, L., Liu, P., 2017. Six serum-based miRNAs as potential diagnostic biomarkers for gastric cancer. Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention, 26(2): 188-196.

Ji, W., Sun, B., Su, C., 2017. Targeting microRNAs in cancer gene therapy. Genes, 8(1): 21.

Jiang, L., Yu, L., Zhang, X., Lei, F., Wang, L., Liu, X., Li, J., 2016. miR-892b silencing activates NF- κ B and promotes aggressiveness in breast cancer. Cancer research, 76(5): 1101-1111.

Jiang, X., Bugno, J., Hu, C., Yang, Y., Herold, T., Qi, J., Chen, J., 2016. Eradication of acute myeloid leukemia with Flt3 ligand-targeted miR-150 nanoparticles. Cancer research, 76(15): 4470-4480.

Karagonlar, Z.F., Korhan, P., Atabey, N., 2015. Targeting c-M et in Cancer by Micro RNAs: Potential Therapeutic

- Applications in Hepatocellular Carcinoma. Drug Development Research, 76(7): 357-367.
- Knuckles, P., Vogt, M. A., Lugert, S., Milo, M., Chong, M.M., Hautbergue, G.M., Taylor, V., 2012. Drosha regulates neurogenesis by controlling neurogenin 2 expression independent of microRNAs. Nature neuroscience, 15(7): 962-969.
- Kumar, M.S., Lu, J., Mercer, K.L., Golub, T.R., Jacks, T., 2007. Impaired microRNA processing enhances cellular transformation and tumorigenesis. Nature genetics, 39(5): 673-677.
- Lagos-Quintana, M., Rauhut, R., Lendeckel, W., Tuschl, T., 2001. Identification of novel genes coding for small expressed RNAs. Science, 294(5543): 853-858.
- Laser, J., Lee, P., Mittal, K., Wei, J., 2007. Let-7 miRNAs inhibit leiomyoma growth through down regulation of HMGA2. Mod Pathol., 20: 205A
- Lee, S.H., Jung, Y.D., Choi, Y.S., Lee, Y.M., 2015. Targeting of RUNX3 by miR-130a and miR-495 cooperatively increases cell proliferation and tumor angiogenesis in gastric cancer cells. Oncotarget, 6(32): 33269.
- Lewis, B.P., Burge, C.B., Bartel, D.P., 2005. Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets. Cell., 120: 15–20
- Liu, W. L., Wang, H. X., Shi, C. X., Shi, F. Y., Zhao, L. Y., Zhao, W., Wang, G. H., 2019. MicroRNA-1269 promotes cell proliferation via the AKT signaling pathway by targeting RASSF9 in human gastric cancer. Cancer Cell International., 19: 1-13.

- Lu, J., Getz, G., Miska, E.A., Alvarez-Saavedra, E., Lamb, J., Peck, D., Golub, T.R., 2005. MicroRNA expression profiles classify human cancers. *Nature.*, 435(7043): 834-838.
- Lujambio, A., Ropero, S., Ballestar, E., Fraga, M.F., Cerrato, C., Setién, F., Esteller, M., 2007. Genetic unmasking of an epigenetically silenced microRNA in human cancer cells. *Cancer research.*, 67(4): 1424-1429.
- Ma, L., Teruya-Feldstein, J., Weinberg, R.A., 2007. Tumour invasion and metastasis initiated by microRNA-10b in breast cancer. *Nature.*, 449 (7163): 682-688.
- Mitchell, P.S., Parkin, R.K., Kroh, E.M., Fritz, B.R., Wyman, S.K., Pogosova-Agadjanyan, E.L., Tewari, M., 2008. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proceedings of the national academy of sciences*, 105(30): 10513-10518.
- Mladinov, D., Liu, Y., Mattson, D.L., Liang, M., 2013. MicroRNAs contribute to the maintenance of cell-type-specific physiological characteristics: miR-192 targets Na⁺/K⁺-ATPase β 1. *Nucleic acids research.*, 41(2): 1273-1283.
- Munker, R., Calin, G.A., 2011. MicroRNA profiling in cancer. *Clinical science.*, 121(4): 141-158.
- Pavlidis, L., Spyropoulou, G.A., Papas, A., Demiri, E., 2018. Urinary excretion of microRNA-126 is a biomarker for hemangioma proliferation. *Plastic and Reconstructive Surgery.*, 141(2): 319e-320e.
- Piao, X.M., Jeong, P., Kim, Y.H., Byun, Y.J., Xu, Y., Kang, H.W., Kim, W.J., 2019. Urinary cell-free microRNA biomarker could discriminate bladder cancer from benign

- hematuria. *International journal of cancer.*, 144(2): 380-388.
- Pong, S.K., Gullerova, M., 2018. Noncanonical functions of micro RNA pathway enzymes–Drosha, DGCR 8, Dicer and Ago proteins. *FEBS letters.*, 592(17): 2973-2986.
- Okada, C., Yamashita, E., Lee, S. J., Shibata, S., Katahira, J., Nakagawa, A., Tsukihara, T., 2009. A high-resolution structure of the pre-microRNA nuclear export machinery. *Science.*, 326(5957): 1275-1279.
- Reinhart, B.J., Slack, F.J., Basson, M., Pasquinelli, A.E., Bettinger, J.C., Rougvie, A.E., Ruvkun, G., 2000. The 21-nucleotide let-7 RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans*. *Nature.*, 403(6772): 901-906.
- Romero-Cordoba, S., Rodriguez-Cuevas, S., Rebollar-Vega, R., Quintanar-Jurado, V., Maffuz-Aziz, A., Jimenez-Sanchez, G., Hidalgo-Miranda, A., 2012. Identification and pathway analysis of microRNAs with no previous involvement in breast cancer. *PloS one.*, 7(3): e31904.
- Saini, H.K., Griffiths-Jones, S., Enright, A.J., 2007. Genomic analysis of human microRNA transcripts. *Proceedings of the National Academy of Sciences.*, 104(45): 17719-17724.
- Song, M.S., Rossi, J.J., 2017. Molecular mechanisms of Dicer: endonuclease and enzymatic activity. *Biochemical journal.*, 474(10): 1603-1618.
- Swahari, V., Nakamura, A., Baran-Gale, J., Garcia, I., Crowther, A.J., Gershon, T.R., Deshmukh, M., 2016. Essential function of dicer in resolving DNA damage in the rapidly dividing cells of the developing and malignant cerebellum. *Cell reports.*, 14(2): 216-224.

- Trang, P., Wiggins, J.F., Daige, C.L., Cho, C., Omotola, M., Brown, D., Slack, F.J., 2011. Systemic delivery of tumor suppressor microRNA mimics using a neutral lipid emulsion inhibits lung tumors in mice. *Molecular Therapy.*, 19(6): 1116-1122.
- Tseng, C.W., Huang, H.C., Shih, A.C.C., Chang, Y.Y., Hsu, C.C., Chang, J.Y., Juan, H.F., 2012. Revealing the anti-tumor effect of artificial miRNA p-27-5p on human breast carcinoma cell line T-47D. *International Journal of Molecular Sciences.*, 13(5): 6352-6369.
- Vasudevan, S., Tong, Y., Steitz, J.A., 2007. Switching from repression to activation: microRNAs can up-regulate translation. *Science.*, 318(5858): 1931-1934.
- Vila-Navarro, E., Vila-Casadesús, M., Moreira, L., Duran-Sanchon, S., Sinha, R., Ginés, À., Gironella, M., 2017. MicroRNAs for detection of pancreatic neoplasia: biomarker discovery by next-generation sequencing and validation in 2 independent cohorts. *Annals of surgery.*, 265(6): 1226-1234.
- Wang, X., Wang, H.K., Li, Y., Hafner, M., Banerjee, N. S., Tang, S., Zheng, Z.M., 2014. microRNAs are biomarkers of oncogenic human papillomavirus infections. *Proceedings of the National Academy of Sciences.*, 111(11): 4262-4267.
- Wang, L., Liu, C., Li, C., Xue, J., Zhao, S., Zhan, P., Chen, W., 2015. Effects of microRNA-221/222 on cell proliferation and apoptosis in prostate cancer cells. *Gene.*, 572(2): 252-258.
- Zeng, Y., Cai, X., Cullen, B.R., 2005. Use of RNA polymerase II to transcribe artificial microRNAs. In *Methods in enzymology.*, 392: 371-380).

- Zhang, B., Pan, X., Cobb, G.P., Anderson, T.A., 2007. microRNAs as oncogenes and tumor suppressors. *Developmental biology.*, 302(1): 1-12.
- Zhang, B., Farwell, M.A., 2008. microRNAs: a new emerging class of players for disease diagnostics and genetherapy. *Journal of cellular and molecular medicine.*, 12(1): 3-21.
- Zhang, J., Liu, Q.S., Dong, W.G., 2011. Blockade of proliferation and migration of gastric cancer via targeting CDH17 with an artificial microRNA. *Medical Oncology.*, 28: 494-501.
- Zhang, T., Xue, X., He, D., Hsieh, J.T., 2015. A prostate cancer-targeted polyarginine-disulfide linked PEI nanocarrier for delivery of microRNA. *Cancer letters.*, 365(2): 156-165.
- Zhang, M., Du, X., 2016. Noncoding RNAs in gastric cancer: Research progress and prospects. *World journal of gastroenterology.*, 22(29): 6610.
- Zhang, X., Pan, Y., Fu, H., Zhang, J., 2019. microRNA-205 and microRNA-338-3p reduces cell apoptosis in prostate carcinoma tissue and Incap prostate carcinoma cells by directly targeting the B-Cell lymphoma 2 (Bcl-2) gene. *Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research.*, 25: 1122.
- Zheng, S.R., Guo, G.L., Zhai, Q., Zou, Z.Y., Zhang, W., 2013. Effects of miR-155 antisense oligonucleotide on breast carcinoma cell line MDA-MB-157 and implanted tumors. *Asian Pac. J. Cancer Prev.*, 14: 2361–2366.
- Zhou, X., Zhang, C.Z., Lu, S.X., Chen, G.G., Li, L.Z., Liu, L.L., Yun, J.P., 2015. miR-625 suppresses tumour migration and invasion by targeting IGF2BP1 in hepatocellular carcinoma. *Oncogene.*, 34(8): 965-977.

FINDIK ZURUFU VE KABUĞUNUN FARKLI HABİTATLARDAN ALINAN *Amaranthus retroflexus* L. BİTKİSİ ÜZERİNDEKİ ALLELOPATİK ETKİSİ

Tuğba ÖZBUCAK¹

Yiğit Yavuz ÇINAR²

Zeynep Ilgın SUSUZLU³

1. GİRİŞ

Bitkiler arasındaki kimyasal etkileşim olarak tanımlanan Allelopati, bitkinin bireysel performansını, komünite yapısını ve bitki istilalarını etkilemektedir. Kimyasal etkileşimin temeli, bitkinin ürettiği kimyasalların çevreye salınması yoluyla diğerlerine engelleyici ya da uyarıcı etki yapmasına dayanmaktadır (Rice, 1984). Allelopatinin tarım, ormancılık ve süksesyondaki rolünü anlamak için 1970 yılından bu yana çok sayıda çalışma yürütülmüştür (Cheng ve Cheng, 2015). 1990'ların sonlarında yapılan çalışmalar bazı istilacı bitkilerin başarısında allelopatinin itici bir güç olduğunun belirlenmesinin ortaya konulması ile konu daha fazla dikkat çekmeye başlamıştır (Zhang ve ark., 2020).

Molisch (2001)'e göre, karşılıklı (allelo) ve algı (pathy) kelimelerinden oluşan allelopati, bitkilerin birbirlerini olumlu ve

¹ Prof. Dr., Ordu Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, tsiozbucak@hotmail.com, ORCID: 0000-0002-4784-3537.

² Öğrenci, Ordu Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, cyigityavuz@gmail.com, ORCID: 0009-0007-2889-5757.

³ Öğrenci, Ordu Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, zeynepilginsusuzlu@hotmail.com, ORCID: 0009-0005-0552-9952.

olumsuz olarak algılayabilme ve etkileşime girebilmeleri fikrini kapsıyordu. Ancak zamanla, pathy kelimesi sadece acı veya zarar olarak yorumlandı (Hierro ve Callawy, 2021). Tanımdaki bu anlamsal değişime bağlı olarak allelopati tanımı tartışılmakla beraber, günümüzde kimyasal olarak türetilmiş geniş bir negatif etkileşim şekli olarak tanımlanmaktadır (Cipollini ve ark., 2012). Bitkilerin biyokimyasalların salınımı yoluyla aktifleştirdiği inhibitörler, destekleyiciler ve karmaşık sinyaller aracılığıyla hem olumlu hem de olumsuz etkileşimde bulunduğu dair çok sayıda kanıt vardır (Metlen ve ark. 2009). Dolayısıyla, bitkiler arasındaki kimyasal iletişim toksinlerin salınımı ve etkisinin ötesine geçmektedir (Novoplansky 2019, Callaway & Li 2020). Allelopatinin bu etimolojik evrimi nedeniyle karışıklıktan kaçınmak için etkileşimler net kimyasal sonuçlar (olumlu, olumsuz, nötr) ile ifade edilmektedir. Farklı ekolojik şartların ve abiyotik stresin allelopatiyi etkileyebileceği bildirilmiştir (Ruan ve ark., 2016). Allelopatinin abiyotik stres ile artabileceği stres hipotezi (Rice 1984) ile ifade edilmektedir. Ayrıca, tür etkileşimleri, mekânsal ve zamansal çevresel koşullara göre güç ve yön bakımından değişiklik göstermektedir (Hierro ve Callawy, 2021).

Çeşitli çalışmalar, tarımsal sistemlerde allelopatik etkilerin yabancı ot kontrolü, zararlıların, hastalıkların, toprak beslenmesinin iyileştirilmesi ve mikrobiyal etkileşimler gibi avantajlarını bildirmiştir (Boydston ve ark., 2011; Tavella ve ark., 2021). Bitkiler büyüme ve gelişme sırasında ürettiği çeşitli sekonder metabolitler sayesinde çevredeki organizmalarla iletişim kurarlar ve böylece, büyüme, gelişim, savunma, üreme ve yaşam döngüsü gibi çok çeşitli ekolojik işlevleri yerine getirirler (Kigathi ve ark., 2019). Yaprak, gövde, çiçek, tohum, meyve ve/veya kök gibi farklı bitki kısımlarında bulunabilen ve allelokimyasallar olarak adlandırılan ikincil metabolizma ürünleri üretici bitkiden buharlaşma, yapraktan sızma, kök

eksüdasyonları ve bitki kalıntılarının ayrışması gibi farklı yollarla salınabilir (Xie ve ark., 2021).

Tarım topraklarının aşırı ve bilinçsiz kullanılan kimyasal girdiler nedeniyle kirlendiği birçok bilimsel çalışma ile ortaya konulmuştur (Altunlu, 2021). Bu kullanımı azaltacak ya da alternatif olabilecek organik kökenli gübre veya toprak düzenleyicilerin, sahip oldukları zengin besin elementi içerikleriyle toprağın yapısını iyileştirdiği bildirilmektedir (Bhadoria, 2011; Gül ve ark., 2018; Aygün, 2020). Tarımda özellikle yabancı otlar ile mücadelede herbisit kullanımı yerine, ekoloji temelli, fizyolojik bir süreç olarak tanımlanan allelopati uygulamaları önemli bir yere sahiptir (Artıkan ve Elibüyük, 2015). Agroekosistemlerde allelopatik özellikte bitkisel atıkların kullanımının herbisitlere olan ihtiyacı azaltabileceği belirtilmektedir (Javaid ve ark.,2007; Alsaadawı ve ark., 2011; Babu ve ark.,2014).

Tek yıllık, yazlık bir yabancı ot olan *Amaranthus retroflexus* L. tarla, bahçe, yol kenarı gibi farklı habitatlarda yaygın olarak rastlanabilen bir bitkidir. Horoz ibiği, Kırmızı köklü tilki kuyruğu yerel isimlerinden bazılarıdır. Ülkemizde özellikle tarım arazilerinde önemli sorun oluşturan yabancı otlar arasındadır (Kınay, 2014). Fındık ise ülkemizin Karadeniz Bölgesinde yetiştirilen dünya üretimi ve ihracatında önemli bir paya sahip olan sert kabuklu bir meyvedir (Yıldız, 2020).

Bu çalışmanın amacı, bölgemizin önemli bir ürünü olan fındığın bitkisel atıklarının allelopatik potansiyelini belirlemek ve farklı ekolojik şartlara sahip habitatlardan alınan *Amaranthus retroflexus* tohumlarının çimlenme potansiyellerini karşılaştırmaktır.

2. YÖNTEM

Yapılan çalışmada fındık zurufu ve kabuğu bitkisel atıklarının su ekstraktlarının *Amaranthus retroflexus* tohumları üzerindeki allelopatik etkisi belirlenmeye çalışılmıştır. Bu amaçla doğal ortamlarından toplanan *A. retroflexus* bitkisinin tohumları ile fındık atıklardan hazırlanan ekstraktlar çalışma materyalimizi oluşturmaktadır. Çalışmada kullanılan *A. retroflexus* L. bitkisi Ordu il sınırları içerisindeki doğal yayılış alanlarından 2023 yılı Eylül ve Ekim ayları arasında ilin doğusunda bulunan Cumhuriyet ile batısında bulunan Yason bölgesinden toplanmıştır. İlin iki farklı ucuna ait örneklerin kullanılmasının bir nedeni Ordu ilinin bitki coğrafyası açısından önemli bir konuma sahip olmasıdır. Ordu il sınırları içerisinde yer alan Melet Irmağı Karadeniz Bölgesini Öksin ve Kolşik olarak iki alt bölgeye ayırmaktadır. Bu nedenle Ordu ili ekolojik ve fitocoğrafik olarak önemli bir geçiş bölgesidir. Bir diğer neden ise alınan örneklerin farklı habitatları temsil ediyor olmasıdır. Cumhuriyet örnekleri denizden uzak, yol, tarla kenarından, Yason örnekleri ise denize yakın ve daha doğal bir ortamdan alınmıştır (Şekil 1).

Şekil 1. Çalışmada kullanılan *A. retroflexus* örneklerinin toplandığı doğal yayılış alanlarına ait fotoğraflar, A: Cumhuriyet, B: Yason



A

B

2.1. Toplanan Bitki Örneklerinin Elementel Analizleri

A. retroflexus örneklerinin yaprak, tohum ve meyve kısımlarının Azot (%N), Karbon (%C), Hidrojen (%H) ve Kükürt (%S) elementel analizleri Elementar Vario Micro Cube cihazı ile yapılmıştır.

2.2. Farklı Bitkisel Atıklardan Ekstrakt Hazırlanması

Çalışmada fındığın kabuğu ve zurufu kullanılmıştır. Atıklar toplanıp oda sıcaklığında kurutularak öğütülmüştür. Öğütülmüş bitki örneklerinden 25'er gr. alınıp üzerlerine 250 ml. su ilave edilerek 25°C'de çalkalamalı su banyosunda 24 saat boyunca çalkalanmıştır. Daha sonra filtre kağıdından geçirilerek koyu renkli şişelere süzdürülmüştür.

Bu şekilde hazırlanan ekstraktlardan ön çimlenme denemeleri yapılmıştır. Fındık kabuğu ve zurufunun ön çalışmalar sonuçlarına göre belirlenen %5 ve %10'luk dozları kullanılmıştır. Aynı zamanda çalışmada kullanılan fındık kabuğu ve zurufunun %5 ve %10'luk dozlarının toplam fenolik ve DPPH içerikleri de belirlenmiştir.

Toplam fenolik içeriğinin belirlenmesinde Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılmıştır (Singleton ve Rossi, 1965). Sonuçlar gallik asit eşdeğeri kullanılarak hazırlanan standart kalibrasyon eğrisinden yararlanılarak GA eşdeğeri olarak (mg GAE/g ekstrakt) belirlenmiştir. Ekstraktların serbest radikal temizleme kapasitesi 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil kullanılarak test edilmiştir. (DPPH) serbest radikali olarak ticari olarak satın alınmıştır.

2.3. Tohum Çimlendirme Denemeleri

Bitkiler oda sıcaklığında 15-20 gün bekletilen sonra sıvazlama veya silkeleme tekniği kullanılarak tohumlar çıkarılmıştır. Küçük, parlak ve siyah renkte olan tohumlar karanlık şişelere alınarak dormansi durumlarını korumak

amacıyla -20°C 'de çalışma yapılana kadar bekletilmiştir. Deneme öncesi tohumlar patojenlerle bulaşık olma ihtimaline karşın %0,5'lik hipoklorit çözeltisinde 5 dakika bekletildikten sonra 3'er defa 2,5 dakika süreyle saf suda bekletilerek sterilize edilmiştir. Çalışmada kullanılacak olan petri ve diğer malzemeler önceden otoklavda sterilize edilmiştir (Yıldız, 2020). İki kat kurutma kâğıdı içeren 9 cm'lik petrilere 10'ar tane sağlam, parlak görünümlü tohumlardan ekilmiştir. Her bir petriye fındık zurufu ve kabuğu ekstraktlarının %5 ve %10'luk dozlarından 2'şer ml ilave edilmiştir. Denemeler 3 tekerrürlü olarak yapılmıştır. Kontrol grubunda sadece saf su kullanılmıştır. Bu şekilde hazırlanan petriler 16 saat aydınlık/8 saat karanlık periyodunda, 30 oC sıcaklık ve %60 nem olarak ayarlanan iklim dolabına bir hafta süreyle bırakılmıştır (Erez ve Battal, 2022). Bir hafta boyunca izlenen tohumların çimlenme yüzdeleri ve kökçük uzunlukları belirlenmiştir. Çimlenme oranı, toplam çimlenen tohum sayısının 100 ile çarpılması ile elde edilen sonucun ekilen toplam tohum sayısına bölünmesiyle elde edilmiştir. Kökçük uzunlukları ise milimetrik olarak cetvel yardımıyla ölçülmüştür. Sonuçlar 3 yönlü ANOVA testi ile istatistiki olarak değerlendirilmiştir.

3. BULGULAR

3.1. Bitki Analiz Sonuçları

Çimlenme denemelerinde kullanılan tohumların alındığı *A. retroflexus* örneklerinin yaprak, tohum ve meyve kısımlarının elementel içerik sonuçları Tablo 1'de verilmiştir. Sonuçlara bakıldığında, yaprak ve tohum ağırlığı Yason örneklerinde Cumhuriyet örneklerine göre yüksek bulunmuştur. Meyve ağırlığı ise Cumhuriyet örneklerinde yüksektir.

Tablo 1. Cumhuriyet ve Yason'dan Toplanan *A. Retroflexus* Örneklerinin Elementel Analiz Sonuçları

Lokale/Bitki kısmı	Ağırlık (mg)	% N	% C	% H	% S
Cumhuriyet- Yaprak	0.7350	3.304	36.269	4.764	0.079
Yason - Yaprak	0.8160	1.839	36.793	4.984	0.000
Cumhuriyet- Meyve	0.7420	3.091	40.884	5.308	0.000
Yason - Meyve	0.4380	1.806	39.441	5.488	0.000
Cumhuriyet Tohum	0.5680	2.790	43.418	6.273	0.000
Yason - Tohum	0.5870	2.546	43.629	6.278	0.000

Çalışmada kullanılan fındık zurufu ve kabuğunun elementel analiz sonuçları değerlendirildiğinde fındık zurufunun azot konsantrasyonu kabuğa göre yüksek iken, karbon ve hidrojen konsantrasyonları düşük bulunmuştur (Tablo 2).

Tablo 2. Fındık Zurufu ve Kabuğunun Elementel Analiz Sonuçları

Materyal	N(%)	C(%)	H(%)	% S
Fındık zurufu	0,713	43,025	5,717	0.000
Fındık kabuğu	0,3525	48,4423	6,322	0.000

Tablo 3'te fındık zurufu ve fındık kabuğunun %5 ve %10'luk dozlarının toplam fenolik içeriği ve DPPH değerleri görülmektedir. Fındık zurufunun toplam fenolik ve DPPH değerleri fındık kabuğuna göre oldukça yüksektir. Ayrıca doz artışına bağlı olarak toplam fenolik içeriği ve DPPH değerlerinin arttığı tespit edilmiştir. Toplam fenolik içerik değerleriyle DPPH aktivitesi arasında yüksek korelasyon görülmektedir. Bu durum antioksidan aktivitenin fenolik içeriğe bağımlı olduğunu kanıtlamaktadır.

Tablo 3. %5 ve %10'luk Fındık Zurufu ve Kabuğunun Toplam Fenolik İçeriği ve DPPH Değerleri

Çimlenme denemesinde kullanılan bitkisel atık ve dozları	Toplam Fenolik İçeriği (µg /mL)	% DPPH Süpürme
Fındık Kabuğu %5	Belirlenemedi	0.49301
Fındık Kabuğu %10	0.163396	0.82169
Fındık Zurufu %5	0.679399	6.40920
Fındık Zurufu %10	0.869506	7.23089

3.2. Tohum Çimlenme Deneme Sonuçları

3.2.1. Çimlenme yüzdeleri sonuçları

Çimlenme oranlarına yönelik ortalamalarda sadece bölgelere göre istatistiksel anlamlı ($p<.01$) değişkenlik gözlenmiş (Tablo 4) ve söz konusu yüzdelik değerleri Tablo 5'te koyu olarak belirtilmiştir. Buna göre Cumhuriyet bölgesindeki *A. retroflexus* tohumlarının çimlenme yüzdesi (%59.43) Yason bölgesine göre daha yüksektir (%14.33) (Şekil 3). Her iki lokalitedeki çimlenme yüzdelerinin kontrole göre düşük olduğu belirlenmiştir (Tablo 5).

Tablo 4. Çimlenme Yüzdeleri Sonuçları

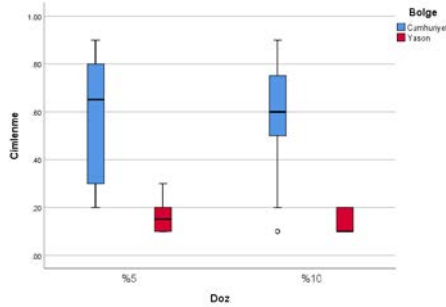
Vary. Kaynak	KT	sd	KO	F	Sig.
Bölge	3.803	1	3.803	89.646	0.000
Materyal	0.165	2	0.082	1.943	0.149
Doz	0.000	1	0.000	0.002	0.968
Materyal * Doz	0.001	2	0.001	0.017	0.983
Bölge * Materyal	0.056	2	0.028	0.659	0.520
Bölge * Doz	0.003	1	0.003	0.063	0.803
Bölge * Materyal * Doz	0.052	2	0.026	0.613	0.544
Hata	3.734	88	0.042		
Toplam	29.590	100			

sd: serbestlik derecesi, KT: Kareler toplamı, KO: Kareler ortalaması,

Tablo 5. Çimlenme Yüzdeleri İçin Tanımlayıcı İstatistikler ve Çoklu Karşılaştırma Sonucu

Bölgeler		Cumhuriyet			Yason			Toplam		
Materyal	Doz	n	m	sd	n	m	sd	n	m	sd
Kontrol	%5	12	67.50%	23.01%	6	16.67%	5.16%	18	50.56%	30.96%
	%10	12	67.50%	23.01%	6	16.67%	5.16%	18	50.56%	30.96%
	Total	24	67.50%	22.51%	12	16.67%	4.92%	36	50.56%	30.51%
F. Kabuk	%5	10	52.00%	29.36%	2	10.00%	0.00%	12	45.00%	31.19%
	%10	12	45.83%	27.12%	6	13.33%	5.16%	18	35.00%	27.06%
	Total	22	48.64%	27.65%	8	12.50%	4.63%	30	39.00%	28.69%
F. Zuruf	%5	12	56.67%	23.87%	4	17.50	9.57%	16	46.88%	27.26%
	%10	12	65.83%	16.21%	6	10.00%	0.00%	18	47.22%	30.06%
	Total	24	61.25%	20.50%	10	13.00%	6.75%	34	47.06%	28.34%
Toplam	%5	34	59.12%	25.39%	12	15.83%	6.69%	46	47.83%	29.21%
	%10	36	59.72%	24.08%	18	13.33%	4.85%	54	44.26%	29.63%
	Total	70	59.43%	24.55%	30	14.33%	5.68%	100	45.90%	29.34%

Şekil 3. Çimlenme Yüzdelерinin Bölge, Materyal ve Doz Kategorilerine Göre Hazırlanan Kutu Grafikleri



3.2.2. Kökçük Uzunluğu (cm) sonuçları

Kökçük uzunluğu verileri için sürdürülen analizler de sadece materyal grubu istatistiksel olarak anlamlı ($p < .01$) çıkmıştır (Tablo 6).

Tablo 6. Kökçük Uzunluğu (cm) Sonuçları

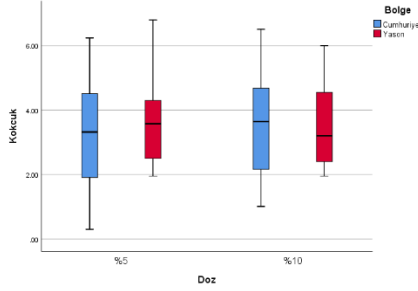
Vary. Kaynak	KT	sd	KO	F	Sig.
Bölge	3.143	1	3.143	1.329	0.253
Materyal	18.896	2	9.448	3.996	0.023
Doz	0.811	1	0.811	0.343	0.560
Materyal * Doz	0.660	2	0.330	0.140	0.870
Bölge * Materyal	3.842	2	1.921	0.812	0.448
Bölge * Doz	3.160	1	3.160	1.336	0.252
Bölge * Materyal * Doz	2.742	2	1.371	0.580	0.563
Hata	156.053	66	2.364		
Toplam	1138.778	78			

ANOVA sonrası yapılan karşılaştırma analizleri neticesinde söz konusu farklılığın fındık zurufunun kullanıldığı denemelerde kökçük uzunluğu ortalamasının kontrol bitkisi ortalamasına oranla oldukça yüksek çıkmasından kaynaklandığı belirlenmiştir (Tablo 7) (Şekil 4).

Tablo 7. Kökçük Uzunluğu (cm) Verileri İçin Tanımlayıcı İstatistikler ve Çoklu Karşılaştırma Sonucu

Bölgeler		Cumhuriyet			Yason			Toplam		
Materyal	Doz	n	m	sd	n	m	sd	n	m	sd
Kontrol	%5	9	2.98	1.31	5	2.92	1.01	14	2.96	1.17
	%10	9	2.98	1.31	5	2.92	1.01	14	2.96	1.17
	Total	18	2.98	1.27	10	2.92	0.95	28	2.96	1.15
Kabuk	%5	8	2.94	1.61	2	5.10	1.27	10	3.37	1.74
	%10	8	3.46	2.19	6	3.58	1.32	14	3.51	1.81
	Total	16	3.20	1.88	8	3.96	1.41	24	3.45	1.74
Zuruf	%5	9	3.99	1.81	3	4.58	1.92	12	4.14	1.77
	%10	9	4.14	1.43	5	4.08	1.43	14	4.12	1.38
	Total	18	4.07	1.59	8	4.27	1.51	26	4.13	1.54
Total	%5	26	3.32	1.61	10	3.86	1.57	36	3.47	1.59
	%10	26	3.53	1.67	16	3.53	1.27	42	3.53	1.52
	Total	52	3.42	1.63	26	3.65	1.37	78	3.50	1.54

Şekil 4. Kökçük Uzunluğu (cm) Değerlerinin Bölge, Materyal ve Doza Göre Hazırlanan Kutu Grafikleri



4. SONUÇ VE TARTIŞMA

Antropojenik faaliyetler, iklimsel, edafik ve topografik faktörler bir habitatta bulunan türleri ve onların işlevsel özelliklerini etkileyebilmektedir (Funk ve ark., 2017). Farklı özelliklere sahip habitatları temsil eden çalışma lokalitelerimiz olan Cumhuriyet ve Yason bitki örneklerinin yaprak, meyve ve tohumlarının azot (%N), karbon (%C), hidrojen (%H) ve kükürt (%S) elementel analiz sonuçları karşılaştırıldığında her iki lokaliteden alınan örneklerin yaprak, meyve ve tohum kısımlarının % C, H ve S içerik değerlerinin birbirine oldukça yakın olduğu görülmektedir. Bununla beraber, Cumhuriyet lokalitesinden alınan örneklerin yaprak, meyve ve tohum kısımlarının % N değerleri Yason'a göre yüksek bulunmuştur. Bitkinin azot konsantrasyonları aynı bitkinin farklı kısımlarına göre değişmekle beraber, çevre koşullarına göre de değişmektedir (Aygün, 2023). Bitkiler açısından azotun temel kaynağı topraktaki organik maddedir (Kaçar ve Katkat, 2009). Farklı ekolojik şartlar bitkinin topraktan alacağı azot miktarını etkileyebilir (Özbucak ve Sağlam, 2021). Cumhuriyet lokalitesinin Yason'a göre daha fazla tahribata ve tarımsal kaynaklı kirlenmeye maruz olması bitki örneklerindeki yüksek azot konsantrasyonunun nedeni olabilir (Sönmez ve Demir,

2011). Yapılan çalışmada Cumhuriyet tohumlarının çimlenme yüzdesinin Yason tohumlarına göre daha yüksek ve istatistiki olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($p<.01$). Cumhuriyet lokalitesinde tahribatın fazla olması bitkinin metabolit içeriğine etki ederek çimlenme üzerinde uyarıcı etki yapmış olabilir (Erez, 2009). Bitkisel atıkların allelopatik etkisi yabancı otların büyümesi üzerinde engelleyici ya da uyarıcı özelliğe sahiptir (Javaid ve ark., 2007). Stresli koşullar, içinde allelokimyasalların da olduğu sekonder bileşiklerin üretimini artırabilir (Selmar & Kleinwächter 2013). Abiyotik stresin bitkiler arasındaki allelopatik etkileşimlerin gücünü düzenlediği öne sürülmüştür (Reigosa ve ark. 2002; Top ve ark., 2017). Çalışılan bölgelerin iklimsel özellikleri karşılaştırıldığında yıllık ortalama sıcaklığın Cumhuriyet (17.7 °C) ve Yason (17.2 °C) lokalitesinde birbirine oldukça yakın olduğu rüzgar hızının ise, Yason'da (5.8m/s) Cumhuriyete (2.48m/s) göre yaklaşık iki kat fazla olduğu görülmektedir (Yeşil ve ark., 2021). Yapılan çalışmada Yason'dan toplanan *A. retroflexus* bitkilerinin denize çok yakın olması ve rüzgarında şiddetli olması nedeniyle tuz spreyine yani tuzluluğa maruz kalmış olabileceği düşünülmektedir. Bu durum Yason'dan alınan bitki tohumlarının çimlenme oranlarının düşük olmasının bir nedeni olabilir. Tuzluluk, bitki büyüme ve gelişmesi üzerinde olumsuz etki yapan bir abiyotik stres çeşididir (Dehnavi ve ark., 2020). Bitkiler üzerinde fizyolojik ve biyokimyasal etkilerinden dolayı tuzluluk, tohum veriminin ve çimlenmenin azalmasına neden olabilmektedir (Kaya ve ark., 2023). Her iki lokalitedeki çimlenme yüzdeleri kontrole göre düşük bulunmuştur. Bu da çalışmada kullandığımız fındık zuru ve kabuğunun inhibe edici allelopatik potansiyele sahip olduğunu göstermektedir. Bazı yabancı bitkilerin biberde (*Capsicum annuum* L.) allelopatik etki göstererek kontrole göre çimlenmeyi azalttığı belirlenmiştir (Özbay, 2018). *C. laurifolius* bitki ekstraktının *A. retroflexus* üzerinde kontrole göre çimlenmeyi azaltıcı allelopatik etki gösterdiği ifade edilmiştir (Kılıçgil, 2017).

Allelopatik etkisi belirlenmeye çalışılan fındık zurufu ve fındık kabuğunun %5 ve %10'luk dozlarının toplam fenolik içeriği ve DPPH değerleri karşılaştırıldığında fındık zurufunun her iki dozunun toplam fenolik ve DPPH değerleri fındık kabuğuna göre oldukça yüksek bulunmuştur. Ayrıca, doz artışına bağlı olarak toplam fenolik içeriği ve DPPH değerlerinin arttığı tespit edilmiştir. Kurtça (2021) tarafından yapılan çalışmada da fındık zurufunun özellikle su ekstraktlarının yüksek fenolik madde içeriğine dolayısıyla yüksek antioksidan aktiviteye sahip olması nedeniyle farklı alanlarda kullanılabileceği bildirilmiştir. Bununla beraber Sürek ve Büyükkileci (2018) tarafından yapılan çalışmada da bizim çalışmamızda olduğu gibi fındık zurufunun fındık kabuğundan daha yüksek fenolik madde içerdiği ifade edilmektedir. Yapılan çalışmada kökçük uzunluğu değerlerinin bölgeye ve doza göre değil fındık zurufu materyaline göre istatistiki olarak önemli olduğu bulunmuştur ($p<.01$). Bu sonuç fındık zurufunun sahip olduğu yüksek fenolik madde ve DPPH aktivitesi ile uyumludur. Ayrıca fındık zurufunun sahip olduğu yüksek azot içeriği de bu durumu desteklemektedir. Fasulye tarımında yabancı ot mücadelesinde kullanılan organik madde açısından zengin ayçiçeği atıklarının allelopatik etkisinin kullanılan herbisitlerden daha iyi sonuç verdiği belirtilmiştir (Alsaadawi ve ark., 2011). Bitki hücrelerinde sentezlenen allelokimyasallar herbisitlerde olduğu gibi hedef bitkinin enzim aktivitesini, hücre bölünmesini, zar geçirgenliğini etkileyerek tohumun çimlenmesine, bitkinin büyüme ve gelişimine etki etmektedirler (Gövez ve Uzundumlu, 2023). Sonuç olarak; *A. retroflexus* tohumlarından Cumhuriyet lokalitesindeki tohumların çimlenme yüzdesi Yason'a göre yüksek ve istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Tohum çimlenme denemelerinde kullanılan fındık zurufu ve kabuğunun ekstraktlarının hem Cumhuriyet hem de Yason örneklerinin tohumlarının kontrole göre daha az çimlendiği tespit edilmiştir. Diğer önemli sonuç, çimlenen tohumların kökçük uzunluğu üzerinde fındık zurufu materyali

ekstraktının fındık kabuğu ekstraktına göre yüksek ve istatistiki olarak önemli bulunmasıdır. Buna göre fındık zurufu su ekstraktlarının sahip olduğu yüksek fenolik madde ve DPPH içeriği ile *A. retroflexus* tohumlarında kökçük uzunluğunu arttırdığı tespit edilmiştir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçların ışığı altında yapılacak çalışmalar ile agroekosistemlerde farklı bitkisel kaynaklardan elde edilecek doğaya dost biyolojik temelli biyoherbisitlerin geliştirilmesini önerilebiliriz.

KAYNAKÇA

- Alsaadawi, I. S., Khaliq, A., Al-Temimi, A. A., & Matloob, A. (2011). Integration of sunflower (*Helianthus annuus*) residues with a pre-plant herbicide enhances weed suppression in broad bean (*Vicia faba*). *Planta Daninha*, 29, 849-859.
- Altunlu H (2021). Effect of microbial fertilizer and vermicompost applications on plant growth, yield and nitrate content of head lettuce (*Lactuca sativa* L. var *capitata*). *Mediterranean Agricultural Sciences* 34(1), 135-140.
- Arıkan, N., & Elibüyük, İ. Ö. (2015). Yabancı otlarla mücadelede allelopatinin kullanımı. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, (1), 46-50.
- Aygün, Y. Z., & Mert, M. (2020). Toprak düzenleyicileri ve azot uygulamalarının pamukta (*Gossypium hirsutum* L.) verim ve lif teknolojik özelliklere etkisi. *Biyolojik Çeşitlilik ve Koruma*, 13(3), 290-297.
- Aygün, S. (2023). Fındık Zurufu ve Biyokömürü ile Ekstraksiyonlarının Toprak Kalitesi ve Ekmeklik Buğday Gelişimine Etkileri.
- Bhadoria, B P S. (2011). Allelopathy: A Natural Way Towards Weed Management *American Journal of Experimental Agriculture* 1(1):7-20.
- Boydston, R.A.; Morra, M.J.; Borek, V.; Clayton, L.; Vaughn, S.F.(2011). Onion and weed response to mustard (*Sinapis alba*) seed meal. *Weed Sci.*, 59, 546–552.
- Callaway RM, Li L. (2020). Decisions, decisions, decisions: Plant roots detect and respond to complex environmental cues. *New Phytol.* 226:1112–13.

- Cheng, F. & Cheng, Z. (2015). Research progress on the use of plant allelopathy in agriculture and the physiological and ecological mechanisms of allelopathy. *Front. Plant Sci.*, 6, 1020.
- Cipollini D, Rigsby CM, Barto EK. (2012). Microbes as targets and mediators of allelopathy in plants. *J. Chem. Ecol.* 38:714–27.
- Dehnavi, A.R. Zahedi, M., Ludwiczak, A., Perez, SC. Piernik A. (2020). Effect of Salinity on Seed Germination and Seedling Development of Sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) Genotypes. *Agronomy*, 10, 859.
- Emre, E. R. E. Z., & Battal, P. (2022). Altı Farklı Bitki Türünün Allelopatik Aktivitelerinin Belirlenmesi. *Doğu Fen Bilimleri Dergisi*, 5(1), 30-38.
- Erez, M. E. (2009). *Lepidium draba* L., *Acroptilon repens* (L.) DC., *Thymus kotchyanus* Boiss&Hohen. var. *kotchyanus*, *Inula peacockiana* (Aitch. &Hemsl.) Koravin, *Salvia kronenburgei* Rech. f. ve *Phlomis armeniaca* Wild. Bitkilerinin allelopatik potansiyellerinin araştırılması.
- Funk, J.L., Larson, J.E., Ames, G.M., (2017). Revisiting the Holy Grail: using plant functional traits to understand ecological processes. *Biol. Rev.* 92, 1156–1173.
- Gövez, E., & Uzundumlu, A. S. (2023). Sürdürülebilir Kalkınmada Allelopatinin Önemi. *Sürdürülebilir Kalkınmada Tarımsal Faaliyetlerin Yeri ve Önemi*, 97.
- Gül, V., Öztürk, E., & Sezek, M. (2018). Ayçiçeği bitki artıklarının organik tarım amaçlı değerlendirilmesi. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 6(6), 676-679.

- Hierro, J. L., & Callaway, R. M. (2021). The ecological importance of allelopathy. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 52, 25-45.
- Kacar, B. & Katkat, V.A. (2009). Gübreler ve Gübreleme Tekniği. Genişletilmiş ve Güncellenmiş 2. Baskı, s.1-559, Nobel Yayın ve Dağıtım Ankara
- Kadioğlu, İ., Başaran, B., & Yalçın, Kaya (2015). *Amaranthus retroflexus* L.: An Invasive Plant. *Turkish Journal of Weed Science*, 18(3), 74-76.
- Kara, A., Varol, T., Elveren, M., & Etem, O. (2023). Kaya Tuzu ile Deniz Tuzu Stresinin Buğday (*Triticum vulgare* L.) ve Arpa (*Hordeum vulgare* L.) Üzerindeki Etkileri. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 23(3), 547-554.
- Kılıçgil, E. (2017). *Cistus laurifolius* bitkisinin allelopatik etkisi ve agroekosistemlerde biyoherbisit olarak ekolojik önemi (Doctoral dissertation, Anadolu University (Turkey)).
- Kınay, S. (2014). Kütahya ve Balıkesir (Bandırma) illeri'nden toplanan *Amaranthus retroflexus* L. tohumlarının çimlenme davranışları. *Dumlupınar Üniversitesi. Fen Bilimleri Üniversitesi. Yüksek Lisans Tezi, Kütahya.*
- Kigathi, R.N.; Weisser, W.W.; Reichelt, M.; Gershenzon, J.; Unsicker, S.B. Plant volatile emission depends on the species composition of the neighboring plant community. *BMC Plant Biol.* 2019, 19, 58.
- Köse, E. (2019). *Amaranthus retroflexus* L. tohumlarının Dormansi durumuna iklim koşullarının etkisi (Master's thesis, Kütahya Dumlupınar Üniversitesi/Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Kurtça, M. (2021). Bartın İlinde Yetiştirilen Fındığın (*Corylus avellana* L.) Zurufunun (Yeşil Yapraklı Kabuk)

- Antioksidan Özelliklerinin İncelenmesi. Ziraat Mühendisliği, (372), 25-33.
- Metlen KL, Aschehoug ET, Callaway RM. 2009. Plant behavioral ecology: dynamic plasticity in secondary metabolites. Plant Cell Environ. 32:641–53.
- Novoplansky A. 2019. What plant roots know? Semin. Cell Dev. Biol. 92:126–33.
- Özbay, N. (2018). Bazı tıbbi bitki ve yabancı ot ekstraktlarının biberin çimlenme ve fide gelişimi üzerine etkisi. Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi, 5(1), 81-85.
- Özbucak, T., & Sağlam, A. (2021). *Phytolacca americana* L. Bitkisinin Farklı Habitatlardaki Azot ve Fosfor Makro Element Değerlerinin Karşılaştırılması. Ordu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi, 11(2), 113-123.
- Rice, E.L. (1984). Allelopathy, 2nd edn. New York, NY: Academic press.
- Ruan X, Pan C-D, Liu R, Li Z-H, Li S-L. (2016). Effects of climate warming on plant autotoxicity in forest evolution: a case simulation analysis for *Picea schrenkiana* regeneration. Ecol. Evol. 6:5854–66.
- Sönmez, İ., & Demir, H. (2011). Tarımsal Kaynaklı Nitrat Kirliliği ve Olumsuz Etkileri. Uluslararası Katılımlı I. Ali Numan Kırac Tarım Kongresi ve Fuarı 27-30 Nisan, 2011
- Sürek, E., & Büyükkileci, A. O. (2018). Kritik altı su ile fındık atıklarından antioksidan bileşiklerin ekstraksiyonu. GIDA.
- Tavella, L.B.; Lima e Silva, P.S.; Monteiro, A.L.; de Oliveira, V.R.; de Oliveira Fernandes, P.L. Gliricidia sepium intercropping for weed management in immature corn ear production. Rev. Cienc. Agron. 2017, 48, 650–656.

- Xie, Y., Tian, L., Han, X., & Yang, Y. (2021). Research advances in allelopathy of volatile organic compounds (VOCs) of plants. *Horticulturae*, 7(9), 278.
- Yeşil, M., Yeşil, P., & Güzel, M. (2021). Ordu İli Biyoklimatik Konfor Bölgelerinin Belirlenmesi. *Kent Akademisi*, 14(4), 1059-1073.
- Yıldız, E., Kara, Ş. M., & Özcan, M. M. (2020). Bazı tıbbi bitki ekstraktlarının mısır, soya ve ayçiçeği tohumlarının çimlenmesi ve fide gelişimi üzerine allelopatik etkisi. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 7(4), 1218-1226.
- Yıldız, T. (2020). Türkiye’de fındık tarımında hasat-harman mekanizasyonu. *Tarım Makinaları Bilimi Dergisi*, 16(1), 12-22.
- Yurttaş Kiliñç, C. (2015). Bazı allelopatik bitki özütlerinin farklı yabancı ot tohumlarının çimlenmesi üzerine etkisi (Master's thesis, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Zhang, Z., Liu, Y., Yuan, L., Weber, E., & van Kleunen, M. (2021). Effect of allelopathy on plant performance: a meta-analysis. *Ecology Letters*, 24(2), 348-362.

MAKROFUNGUS POLİSAKKARİTLERİNİN BİYOLOJİK AKTİVİTELERİ

Nazlı Pınar ARSLAN¹

Handan ÇINAR YILMAZ²

Mesut TAŞKIN^{3*}

1. GİRİŞ

Makrofunguslar, mantarlar alemindeki *Basidiomycota* ve *Ascomycota* filumlarına ait olan heterotrofik organizmalardır. Bunların bazıları insanlar için toksik özellikte iken, bazıları hem gıda olarak tüketilme hemde insan sağlığı için önem arz eden önemli biyoaktif metabolitler üretmektedir. Makrofunguslar tarafından üretilen önemli biyokatif metabolitler polisakkaritler, proteinler, lipitler, pigmentler, vitaminler, ergosterol, ergotiyonin, peptitler, fenolikler, terpenoidler ve alkaloidlerdir. Makrofungusların polisakkaritleri tek tipte monomerden oluşan homopolisakkaritler yada birden fazla tipte monomerden oluşan heteropolisakkaritler tipinde olmaktadır. Bu polisakkaritler, özellikle gluklanlar sahip oldukları güçlü antioksidan, antibakteriyel, antifungal, antibiyofilm, immünomodülatör, yara iyileştirici, anti-kanser, hepatoprotektif, anti-inflamatuvar, anti-

¹ Doç. Dr., Bingöl Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikleri Bölümü, Patoloji Programı, Bingöl, Türkiye, nparslan55@hotmail.com.

² Dr. Öğr. Üyesi. Bingöl Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikleri Bölümü, Biyokimya Programı, Bingöl, Türkiye, hyilmaz@bingol.edu.tr.

^{3,*} Prof. Dr. Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Erzurum, Türkiye, mesut.taskin@atauni.edu.tr (sorumlu yazar).

aging ve hipolipidemik aktiviteleri ile bilinmektedir. Biyoaktif polisakkarit ürettiği tespit edilen en önemli makarofunguslar türleri ise *Lentinula edodes*, *Pleurotus ostreatus*, *Grifola frondosa*, *Schizophyllum commune* ve *Trametes versicolor*'dır.

2. POLİSAKKARİTLER

Polisakkaritler, birbirine glikosidik bağlarla bağlı monomerlerden oluşan yüksek moleküler ağırlıklı biyopolimerlerdir. Bu biyopolimerler bitkiler, hayvanlar, funguslar, bakteriler ve algler dahil tüm canlı organizmalar tarafından sentezlenmektedir (Arslan et al., 2023). Bu organizmalarda polisakkaritler enerji depolama, yapısal organizasyon, yüzeye tutunma, biyofilm oluşturma, konak kolonizasyonu, virülans, su tutma gibi hayati fonksiyonların yanı sıra onları kurumaya, patojenlere, konak immünitesine, oksitleyici ajanlara, antibiyotiklere, UV'ye, radyasyona, ağır metaller ve aşırı tuzluluğa karşı korur (Henriques and Love, 2007; Bazaka et al., 2011; Nocelli et al., 2016; Tucker et al., 2018; Ruiz-Herrera and Ortiz-Castellanos, 2019; Patel et al., 2023). Dahası toksik olmama, biyoyumluluk ve biyolojik olarak parçalanabilirlik gibi bazı mükemmel özelliklerinden dolayı bu organizmalardan elde edilen polisakkaritler gıda, nutrasötik, farmasötik, biyomedikal ve kozmetik endüstrilerinin yanı sıra tarım ve biyoremediasyon çalışmalarında da kullanılmaktadır (Ahmed et al., 2014; Castellane et al., 2015; Bouissil et al., 2019; Shanmugam and Abirami, 2019; Ullah et al., 2019; Mamede et al., 2023).

Monomer bileşimine göre bu polimerler iki ana gruba ayrılır. Birinci grup, yalnızca bir tip monomerin tekrar eden birimlerinden oluşan homopolisakkaritleri içerirken, ikinci grup yani heteropolisakkaritler, iki veya daha fazla tip monomerin tekrar eden birimlerinden oluşmaktadır (Esim et al., 2024).

Polisakkaritlerin en yaygın monomeri D-glukoz olsada, D-fruktoz, D-galaktoz, L-galaktoz, D-mannoz, L-arabinoz ve D-ksiloz gibi monomerlerde polisakkaritlerde yaygın olarak bulunmaktadır. Ayrıca bazıları D-glukozamin, D-galaktozamin, N-asetilnöraminik asit, N-asetilmuramik asit, glukuronik ve iduronik asitler gibi nadir monomerler de içermektedir (Mohammed et al., 2021). Elektrik yüklerine göre polisakkaritler ayrıca katyonik, anyonik, iyonik olmayan ve hidrofobik olarak sınıflandırılabilir. Diğer taraftan, zincir uzunluklarına ve dallanma şekillerine göre de kategorize edilebilirler (Murphy et al., 2023; Tudou and Samanta, 2023).

Polisakkaritlerin fonksiyonel özellikleri ve biyoaktiviteleri onların molekül ağırlığına, monomer bileşimine, dallanma derecesine, viskozitesine, kimyasal bağ yapılarına, çözünürlüklerine ve sülfat içeriklerine bağlıdır (Ma et al., 2013; Nguyen et al., 2024). Örneğin, moleküler ağırlık polisakkaritlerin biyolojik aktivitelerini ve çözünürlüğünü etkileyen önemli bir faktördür. Molekül ağırlıktaşı artış çözünürlüğü azaltmaktadır. Azalan çözünürlükte polisakkaritlerin hedef hücrelerin membranlarından girişini azaltmaktadır. Hücreye giren polisakkarit miktarı azaldığı içinde hedef hücrelerdeki biyolojik aktiviteleri düşmektedir. Kısacası, moleküler ağırlığı düşük olan polisakkaritlerin biyolojik aktiviteleri çoğunlukla daha düşük olmaktadır. Benzer şekilde yapısında sülfat grubu içeren polisakkaritlerin daha yüksek çözünürlüğe ve antikanser aktiviteye sahip olduğu bildirilmektedir (Su et al., 2016; Guo et al., 2017; Yu et al., 2018; Karadayi et al., 2021, Sheng et al., 2021; Kiddane and Kim, 2021; Yang et al., 2022). Yine yapısında galaktoz, ksiloz, mannoz, fruktoz, ksiloz, arabinoz ve uronik asit gibi monomerlere sahip olan polisakkaritlerin daha yüksek anti-kanser aktivite gösterdiği rapor edilmektedir (Xie et al., 2013; Karadayi et al., 2021; Yang et al., 2022).

3. MAKROFUNGUSLAR VE SINIFLANDIRMASI

Mantarlar, karbon (C), azot (N) ve fosfor (P) gibi elementlerin döngülerinde görev alarak ekosistemlerde birincil ayrıştırıcılar olarak rol oynayan ökaryotik organizmalardır. Dünyada yaklaşık 1,5 milyon mantar türünün olduğu tahmin edilmektedir. Bununla birlikte, doğada şu ana kadar sadece 60.000 tane mantar türü tespit edilmiştir. Mantarlar çoğunlukla karasal ortamda dağılsa da bir kısmı sucul ortamlarda da yayılım göstermektedir. Mantarlar dünyası üç ana grup altında inçelenmektedir: tek hücreli mayalar, çok hücreli filamentli mikro funguslar ve filamentli makro funguslar (mushroom) (Arslan vd, 2023).

Makrofunguslar, büyük, kolayca gözlemlenen spor taşıyan yapılara sahiptir. Bu organizmalar, bitkilerden farklı olarak klorofilden yoksundur. Bu yüzden, fotosentez yetenekleri olmayıp lignin, selüloz ve diğer önemli karbonhidratlar açısından zengin, çürümüş organik maddeler üzerinde heterotrof olarak gelişim gösterirler. Makrofunguslar, mantarlar alemindeki *Basidiomycota* ve *Ascomycota* filumları içerisinde yer almaktadır. Şuana kadar tanımlanmış 14.000 makrofungus türü bulunmaktadır (Chaturvedi et al., 2018; Niego et al., 2023).

4. MAKROFUNGUSLAR VE BİYOAKTİF METABOLİTLERİ

Makrofunguslar ekonomik değeri yüksek ve çok farklı farmakolojik özellikleri bulunan bu organizmalar, düşük maliyetle dünyanın her yerinde yetiştirilebilmektedir. Her geçen günde, makrofungusların gıda, sağlık ve biyoremediasyon çalışmalarındaki önemi giderek artmaktadır (Chaturvedi et al., 2018).

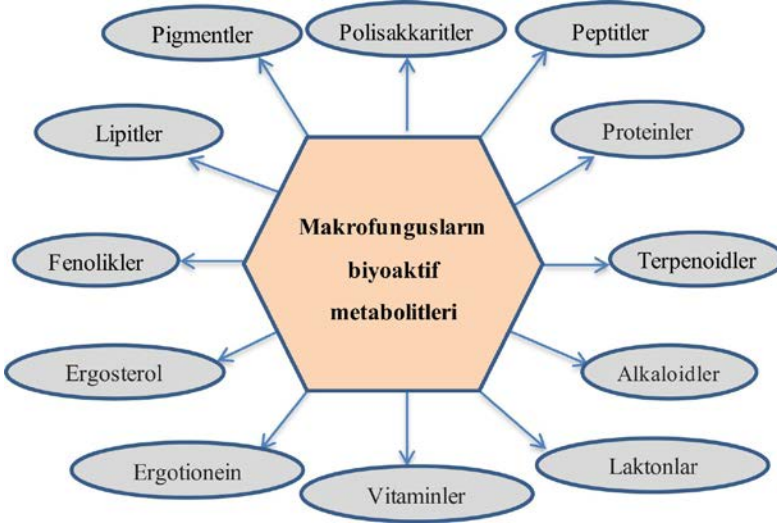
Makrofungusların bazıları içerdikleri toksik metabolitleri nedeniyle insanlar için tehlikelidir. Örneğin, *Amanita*, *Cortinarius*, *Tricholoma*, *Clitocybe* ve *Inocybe* cinsine makrofungusların ostreolysin, amatoxin, phallotoxin, agaritin, orellanine, gyromitrin, acromelic acid ve muscimol gibi zehirli toksinler ürettiği ve gıda zehirlenmelerine neden olduğu bildirilmektedir (Lima et al., 2012). Tam tersine, *Agaricus bisporus*, *Lentinus edodes*, *Morchella*, *Pleurotus* ve *Volvariella* türleri gibi bazı makrofunguslar ise yüksek fiber, protein, aminoasit, mineral ve vitamin içeriklerine ve düşük yağ içeriklerine sahip olması ve toksik metabolitler içermemesinden dolayı insanlar tarafından gıda olarak tüketilmektedir. Örneğin, vücut fonksiyonlarının uygun işleyişi için gerekli olan esansiyel amino asitleri ve linoleik ve oleik asitler gibi birçok temel doymamış yağ asitlerini içerdikleri için bunların gıda olarak tüketilmeleri önerilmektedir. “Edible Mushrooms” lar olarakta bilinen bu makrofunguslar, besin olarak tüketilmelerinin yanısıra çeşitli biyoaktif metabolitlerde üretmektedirler. Günümüze kadar yenilebilir mantarların yaklaşık olarak 2000 türü tanımlanmıştır (Chaturvedi et al., 2018; Assemie and Abaya, 2022; Li and Xu, 2022; Sunil and Xu, 2022; Niego et al., 2023).

Yenilebilir mantarların yanısıra, *Ganoderma lucidum*, *Coriolus versicolor*, *Lentinula edodes*, *Pleurotus ostreatus*, *Grifola frondosa*, *Hericium erinaceus*, *Antrodia cinnamomea* gibi makrofunguslar biyoaktif metabolitler ürettikleri için “medicinal mushroom” lar olarakta tanımlanmaktadır. Hatta, geleneksel tıpta, özellikle Asya ülkelerinde makrofunguslar yüzyıllardır çeşitli hastalıkların tedavisinde ilaç olarak kullanılmaktadır (De Silva et al., 2013).

Günümüzde ise yenilebilir veya tıbbi öneme sahip makrofunguslardan tıbbi öneme sahip ekstratlar yada saf metabolitler elde edilmektedir. Bu organizmlardan elde edilen önemli biyoaktif metabolitlere ise polisakkaritler, proteinler,

lipitler, pigmentler, vitaminler, ergosterol, ergotiyonin, peptitler, fenolikler, terpenoidler ve alkaloidler örnek verilmektedir (De Silva et al., 2013; Ślusarczyk et al., 2021; Venturella et al., 2021; Li and Xu, 2022; Timm et al., 2023).

Şekil 1. Makrofungusların biyoaktif metabolitleri



5. MAKROFUNGUS POLİSAKKARİTLERİ VE ÜRETİMİ

Makrofungus polisakkaritleri dağılımlarına ve hücre lokalizasyonlarına göre hücre içi (IPS) ve hücre dışı polisakkaritler (EPS) olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Monosakkarit kompozisyonuna göre makrofungus polisakkaritleri homopolisakkaritler ve heteropolisakkaritler olarak gruplandırılabilir (Wang et al., 2017; Wang et al., 2023). Makrofunguslar tarafından sentezlenen en yaygın homopolisakkaritler glikojen, kitin ve glukanolardır (Vetter 2023).

β -glukanlar makrofunguslardaki en yaygın polisakkaritler olup, β -(1-3) glikosidik bağlarla bağlanan ve sıklıkla yan zincirlerindeki glikoz kalıntılarına β -(1-6) bağlanan bir glikoz

kalıntısı omurgasından oluşan homopolisakkarit yapısında bulunmaktadır. Bunların glukanlarının molekül ağırlıkları çoğunlukla 10^4 ila 10^5 Da arasında (nadiren 10^6 Da' na kadar) arasında değişkenlik göstermektedir. Makrofungus kökenli homopolisakkarit yapısındaki en önemli glukanlar ise lentinan (*Lentinula edodes*'ten), pleuran (*Pleurotus ostreatus*'tan), grifolan (*Grifola frondose*'dan), schizophyllan (*Schizophyllum commune*'dan) ve krestin (*Trametes versicolor*'dan) dir. Bu glukanların sudaki çözünürlükleri ve moleküler ağırlıkları ise farklılık göstermektedir (de Jesus et al., 2018; Vetter 2023). Dahası, yapısal ve kimyasal olarak tanımlanmış bu glukanlara ilave olarak, literatürde homopolisakkarit yapısındaki farklı glukanlardan da bahsedilmektedir (Zhang et al., 2011; Valasques Junior et al., 2017). Diğer taraftan, bazı makrofuguslar ise mannoz, arabinoz, galaktoz, fruktoz, ksiloz, glikoz ve glukuronik asit gibi farklı monomerlerden oluşan heteropolisakkaritlerde üretmektedir (Arslan et al., 2023).

Makrofungus kökenli polisakkaritler meyve gövdelerinden (fruiting body) (sporofor), misellerden veya kültür filtratlarından ekstrakte edilmektedir (Arslan et al., 2023). Meyve gövdelerinden, β -glukanlar da dahil olmak üzere polisakkaritlerin ekstraksiyonunda kullanılan en yaygın teknikler sıcak su ve alkali ekstraksiyon ve ardından alkol ile çökeltmedir. Bununla birlikte, bu yöntemler uzun ekstraksiyon süreleri ve ekstraksiyon verimini düşüren yüksek sıcaklıklar gerektirir. Söz konusu bu eksiklerden dolayı, ultrason destekli ekstraksiyon (BAE), mikrodalga destekli ekstraksiyon ve süperkritik sıvı ekstraksiyonu dahil olmak üzere yeni ekstraksiyon teknikleri geliştirilmiştir. Bunların arasında BAE, geleneksel ekstraksiyon tekniklerine göre ucuz, çevre dostu, daha az zaman harcayan ve verimli bir alternatif olarak kabul edilmektedir. Bu yöntemde, ultrasonic dalga hücre duvarı yapısını bozmakta ve zarlardan difüzyonu hızlandırmaktadır (Aguiló-Aguayo et al., 2017).

6. MAKROFUNGUS POLİSAKKARİTLERİNİN BİYOAKTİVİTELERİ

Literatürde, makrofunguslardan elde edilen homopolisakkaritlerin ve heteropolisakkaritlerin antioksidan, antibakteriyel, antifungal, antibiyofilm, immünomodülatör, anti-kanser, hepatoprotektif, anti-inflamatuar, anti-aging, yara iyileştirici ve hipolipidemik aktiviteler gösterdiği rapor edilmektedir (Zhang et al., 2011; Zhong et al., 2013; Friedman 2016; Nataraj et al., 2022; Gou et al., 2023) (Şekil 2).

Şekil 2. Makrofungus Polisakkaritlerinin Biyoaktif Özellikleri



Örneğin, yapılan bir çalışmada (Zhang et al., 2015), araştırma ekibi tıbbi mantar *Pholiota nameko* SW-01'den ekstrakte edilen ekstra (EPS) ve hücre içi polisakkaritlerin (IPS) *in vitro* ve *in vivo* antioksidan potansiyelini araştırmıştır. Ekip, EPS ve IPS'nin *in vitro* da radikal giderme ($O_2\bullet$, DPPH ve $OH\bullet$) ve ferrik indirgeme potansiyeline sahip olduğunu, *in vivo* da ise SOD, GPx ve CAT gibi antioksidatif enzimlerin aktivitelerini artırdığını belirlemişlerdir. Yapılan başka bir çalışmada (Moharib et al., 2014), *Pleurotus sajor-caju* (PS1) ve *Lactuca sativa*'dan (PS2) elde edilen polisakkaritlerin *in vitro* ve *in vivo* anti-kanser

etkileri araştırılmıştır. Araştırma ekibi, bu polisakkaritlerin (PS1 ve PS2), karaciğer (HEPG2), servikal (HELA) ve meme (MCF7) karsinom hücre hatları göre kolon (HCT 116) hücre hattı üzerinde daha fazla inhibitör etki oluşturduğunu ortaya çıkarmıştır. Çalışmanın *in vivo* aşamasında ise, histolojik incelemede PS2 uygulamasının sıçanlarda kimyasal kaynaklı kolorektal kanser üzerinde daha yüksek inhibitör etkiye neden olduğu ve sıçanlarda serum ALP ve ALT düzeylerini daha fazla azalttığı belirlenmiştir. Hu ve arkadaşları (2021), *Auricularia delicata* makrofungusundan ekstrakte edilen polisakkaritin mannoz, fruktoz, glikoz ve galakturonik asitten oluşan bir heteropolisakkarit olduğunu ve bu polisakkaridin *in vitro*'da DPPH, ABTS, OH• ve O2• radikallerine karşı antioksidant aktivite gösterdiğini ortaya çıkarmıştır. Zuo ve arkadaşları (2021), *Sanghuangporus lonicericola* CBS17 makrofungusunun kültür sıvısından saflaştırdıkları polisakkaritin, *in vitro* antioksidant aktivite ölçümlerinde demir indirgeme ve radikalleri giderme (DPPH, OH• ve O2•), *in vivo*'da ise farelerde dekstran sodyum sülfatın neden olduğu ülseratif koliti hafiflettiğini ortaya çıkarmıştır. Nataraj ve arkadaşları (2022), *Calocybe indica*'dan elde edilen polisakaritin ksiloz, mannoz, fukoz, ramnoz, arabinoz, galaktoz ve glikozdan oluşan bir hetero-polisakarit olduğunu ve bu polisakkaritin *in vitro*'da radikal temizleme (ABTS, O2• ve DMPD radikalleri), demir indirgeme, metal şelatlama ve lipid peroksidasyonunu inhibe etme gibi biyolojik aktivitelere sahip olduğunu ortaya çıkarmıştır. Araştırma ekibi ayrıca bu polisakkaritin HeLa, kolon kanseri (HT29), prostat kanseri (PC3), karaciğer kanseri (HepG2) ve T lenfosit (Jurkat) hücre hattalarına karşı antikanser aktiviteye sahip olduğunu belirlemiştir. Thimmaraju ve Govindan (2022), *Hypsizygus ulmarius* mantarından elde edilen suda çözünme özelliğine sahip olan polisakaritin (HUP-2) galaktoz, glikoz, ramnoz ve mannoz polisakkaritlerinden oluştuğunu belirlemiş ve bu polisakkaridin *in vitro* antionsidant (DPPH ve ABTS radikallerini temizleme ve

demir indirgeme) ve antikanser aktiviteye (insan prostat kanseri hücre dizisi, PC3) sahip olduğunu belirlemiştir. Gou ve arkadaşları (2023), *Schizophyllum commune*' den ekstrakte edilen β -glukan tipdeki polisakkarit (şizofillan) antioksidan (DPPH, OH• ve O₂• – radikal temizleme aktiviteleri) ve foto-yaşlanmayı önleyici özellikler sergilediğini ortaya çıkarmıştır. Li ve arkadaşları (2023), *Lepista nuda*'dan izole edilen iki farklı heteropolisakkaritin (LNP-1 ve LNP-2) antioksidant (DPPH radikal temizleme) ve antikanser aktiviteye (insan melanom hücre hattı A375 üzerinde) sahip olduğunu tespit etmiştir. Qiu ve arkadaşları (2023), *Oudemansiella raphanipies*'ten izole edilen beş farklı polisakkaritin (ORPs) antioksidan özelliklerini araştırmış ve bu polisakkaritler arasında ORP-V, hem radikal temizleme hem de indirgeme gücü analizlerinde en güçlü *in vitro* antioksidatif potansiyele sahip olduğunu ortaya çıkarmışlardır. Araştırma ekibi ayrıca *in vivo*' da ORP-V'nin farelerde antioksidan enzimlerin (SOD, CAT, LDH ve GPx) aktivitelerinde önemli ölçüde arttırdığını ortaya çıkarmıştır. Farklı bir araştırma ekibi (Wang et al., 2022), yenilebilir bir mantar olan *Macrolepiota procera*'nın miselyum polisakkaritlerinin, erkek farelerde nonilfenol (NP) kaynaklı üreme bozuklukları üzerindeki koruyucu etkilerini ortaya çıkarmayı amaçlamıştır. Ekip, NP uygulmasının testis dokularında oksidatif strese, sperm sayısında ve testis indeksinde azalmaya, sperm deformasyonunda artışa, anormal hormon salgılanmasına ve patolojik hasara yol açtığını ancak, polisakkarit uygulamasının NP kaynaklı oksidatif stresi azalttığı ve üreme parametrelerindeki istenmeyen anormallikleri düzelttiğini belirlemiştir. Zhong et al (2013) sıvı kültürde büyütülen *Lepista sordida* miselyumdan ekstrakte edilen hücre içi polisakkaritlerin (CLSP) *In vitro*' da süperoksit anyonu, hidroksil radikali ve DPPH radikali karşı antioksidan aktivite gösterdiğini, *in vivo*' da ise fare beyinlerinde malondialdehit (MDA) oluşumunu azalttığını süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz

(GSH-Px) aktivitelerini arttırdığını ortaya çıkarmıştır. Li ve arkadaşları (2018) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, *Agaricus bisporus*'dan ekstrakte edilen asidik polisakkaritlerin (AcAPS-1, AcAPS-2 ve AcAPS-3) *in vitro* antioksidant ve *in vivo* yaşlanma karşıtı özellikleri test edilmiştir. Araştırma ekibi, AcAPS-2' nin diğer polisakkaritlere oranla hidroksil ve DPPH radikallerine karşı daha yüksek *in vitro* antioksidant aktivite gösterdiğini rapor etmiştir. Benzer şekilde, araştırma ekibi *in vivo* yaşlanma karşıtı analizlerde, AcAPS-2'nin serum enzim aktivitelerini, biyokimyasal seviyeleri, lipid içeriklerini ve antioksidan kapasiteyi daha güçlü düzenleyerek farelerde daha fazla hepatik ve nefrik koruma sağladığını belirtmiştir. Yapılan bir çalışmada (Zhang et al., 2016), *Pleurotus ostreatus*'tan ekstrakte edilen polisakkaritlerin tip 2 diyabet (yüksek yağlı diyet ve streptozotosin ile oluşturulan) sıçanlardaki etkileri araştırılmıştır. Çalışmanın ekibi polisakkaritlerin hiperglisemi ve hiperlipidemi düzeylerini azalttığını, insülin direncini iyileştirdiğini ve GSK3 fosforilasyonunu ve GLUT4 translokasyonunu aktive ederek glikojen depolamasını arttırdığını ortaya çıkarmıştır. Ekip ayrıca, polisakkaritlerin süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) aktivitelerini artırarak ve malonaldehit (MDA) seviyesini azaltarak oksidatif hasarı yatıştırdığını tespit etmiştir. Tüm bu sonuçlara dayanarak, çalışmanın ekibi *P. ostreatus*'tan ekstrakte edilen polisakkaritlerin tip 2 diyabete karşı koruyucu bir role sahip olduğunu ileri sürmüştür. Mapoung ve arkadaşları (2021) geleneksel tıpta kullanılan ve besin açısından zengin bir makrofungus olan *Auricularia auricula-judae* 'den izole ettikleri polisakkaritin (AAP) suda çözünme özelliğine sahip olduğunu, moleküler ağırlığının 158 kDa olduğunu, ana moner olarak mannoz, galaktoz ve glikoz' dan meydana geldiğini tespit etmiştir. Araştırma ekibi ayrıca AAP' nin *in vitro* antioksidan aktivite sergilediğini ve insan fibroblastlarında UVB'nin neden olduğu hücre içi ROS üretimini durdurduğunu

belirlemiştir. Dahası, araştırma ekibi bu polisakkaritin fibroblast ve keratinositlerinin proliferasyonunu ve kollajen sentezini artırarak yara iyileşme süreci üzerinde olumlu etkiler yaptığını ortaya çıkarmıştır. Muhaxi ve arkadaşları (2023) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, *Pleurotus ferulae*'dan izole edilen polisakkaritlerin (G-1, AG-1 ve AG-2) hepatoprotektif potansiyelleri araştırılmıştır. Söz konusu bu çalışmada, G-1'in insan hepatosit L02 hücrelerini H₂O₂'nin neden olduğu oksidatif hasara karşı korumada AG-1 ve AG-2'ye kıyasla daha üstün olduğu tespit edilmiştir. G-1' in SOD ve CAT aktivitelerini artırma, lipid peroksidasyonunu ve LDH üretimini baskılama, hücre stoplazmasından AST ve ALT sızıntısını azaltma, ROS seviyesini düşürme mitokondriyal membran potansiyelini stabilize etme ve hücre morfolojisini koruma gibi mekanizmalar aracılığı ile hepatoprotektif bir rol üstlendiği belirlenmiştir.

7. SONUÇ

Mushroom' lar olarak da bilinen makrofunguslar biyoaktif metabolitlerin en önemli kaynaklarından birisidir. Bu organizmalar tarafından sentezlenen polisakkaritler sahip oldukları biyoaktiviteler (antikanser, antioksidant, yaşlanma karşıtı, antimikrobiyal vb) sayesinde gıda, kozmetik, nutrasötik ve farmasötik endüstrilerinde uygulama alanı bulma potansiyeline sahiptir.

KAYNAKLAR

- Aguiló-Aguayo, I., Walton, J., Viñas, I., & Tiwari, B. K. (2017). Ultrasound assisted extraction of polysaccharides from mushroom by-products. *Lwt*, 77, 92-99.
- Ahmed, A. B. A., Adel, M., Karimi, P., & Peidayesh, M. (2014). Pharmaceutical, cosmeceutical, and traditional applications of marine carbohydrates. *Advances in food and nutrition research*, 73, 197-220.
- Arslan, N. P., Dawar, P., Albayrak, S., Doymus, M., Azad, F., Esim, N., & Taskin, M. (2023). Fungi-derived natural antioxidants. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1-24.
- Assemie, A., & Abaya, G. (2022). The effect of edible mushroom on health and their biochemistry. *International journal of microbiology*, 2022(1), 8744788.
- Bazaka, K., Crawford, R. J., Nazarenko, E. L., & Ivanova, E. P. (2011). Bacterial extracellular polysaccharides. *Bacterial Adhesion: Chemistry, Biology and Physics*, 213-226.
- Bouissil, S., Pierre, G., Alaoui-Talibi, Z. E., Michaud, P., El Modafar, C., & Delattre, C. (2019). Applications of algal polysaccharides and derivatives in therapeutic and agricultural fields. *Current Pharmaceutical Design*, 25(11), 1187-1199.
- Castellane, T. C. L., Persona, M. R., Campanharo, J. C., & de Macedo Lemos, E. G. (2015). Production of exopolysaccharide from rhizobia with potential biotechnological and bioremediation applications. *International journal of biological macromolecules*, 74, 515-522.

- Chaturvedi, V. K., Agarwal, S., Gupta, K. K., Ramteke, P. W., & Singh, M. P. (2018). Medicinal mushroom: boon for therapeutic applications. *3 Biotech*, 8, 1-20.
- de Jesus, L. I., Smiderle, F. R., Cordeiro, L. M., de Freitas, R. A., Van Griensven, L. J., & Iacomini, M. (2018). Simple and effective purification approach to dissociate mixed water-insoluble α - and β -D-glucans and its application on the medicinal mushroom *Fomitopsis betulina*. *Carbohydrate polymers*, 200, 353-360.
- De Silva, D. D., Rapior, S., Sudarman, E., Stadler, M., Xu, J., Aisyah Alias, S., & Hyde, K. D. (2013). Bioactive metabolites from macrofungi: ethnopharmacology, biological activities and chemistry. *Fungal Diversity*, 62, 1-40.
- Esim, N., Dawar, P., Arslan, N. P., Orak, T., Doymus, M., Azad, F., ... & Taskin, M. (2024). Natural metabolites with antioxidant activity from micro-and macro-algae. *Food Bioscience*, 105089.
- Friedman, M. (2016). Mushroom polysaccharides: chemistry and antiobesity, antidiabetes, anticancer, and antibiotic properties in cells, rodents, and humans. *Foods*, 5(4), 80.
- Gou, Z., Z. Peng, S. Wang, L. Chen, Z. Ma, Y. Kang, Sun, L., R. Wang, H. Xu, Y. Gu, and D. Sun. 2023. Efficient production and skincare activity evaluation of schizophyllan, a β -glucan derived from *Schizophyllum commune* NTU-1. *International Journal of Biological Macromolecules*, 241:124504.
- Guo, M. Q., Hu, X., Wang, C., & Ai, L. (2017). Polysaccharides: structure and solubility. *Solubility of polysaccharides*, 2, 8-21.

- Guo, Q., Liang, S., Xiao, Z., & Ge, C. (2023). Research progress on extraction technology and biological activity of polysaccharides from Edible Fungi: A review. *Food Reviews International*, 39(8):4909-4940.
- Henriques, I. D., & Love, N. G. (2007). The role of extracellular polymeric substances in the toxicity response of activated sludge bacteria to chemical toxins. *Water Research*, 41(18), 4177-4185.
- Hu, H., X. Teng, S. Zhang, T. Liu, X. Li, D. Wang. 2021. Structural characteristics, rheological properties, and antioxidant activity of novel polysaccharides from “Deer Tripe Mushroom”. *Journal of Food Quality*, 2021:1-12.
- Iwabuchi, N., Sunairi, M., Urai, M., Itoh, C., Anzai, H., Nakajima, M., & Harayama, S. (2002).
- Karadayi, Y. I., Aykutoglu, G., Arslan, N. P., Baltaci, M. O., Adiguzel, A., & Taskin, M. (2021). Production of water-soluble sulfated exopolysaccharide with anticancer activity from *Anoxybacillus gonensis* YK25. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 96(5), 1258-1266.
- Kiddane, A. T., & Kim, G. D. (2021). Anticancer and immunomodulatory effects of polysaccharides. *Nutrition and Cancer*, 73(11-12), 2219-2231.
- Li, C., & Xu, S. (2022). Edible mushroom industry in China: Current state and perspectives. *Applied microbiology and biotechnology*, 106(11), 3949-3955.
- Li, S., Liu, H., Wang, W., Wang, X., Zhang, C., Zhang, J., ... & Jia, L. (2018). Antioxidant and anti-aging effects of acidic-extractable polysaccharides by *Agaricus bisporus*. *International journal of biological macromolecules*, 106, 1297-1306.

- Li, Y., X. Guo, R. Zhong, C. Ye, and J. Chen. 2023. Structure characterization and biological activities evaluation of two hetero-polysaccharides from *Lepista nuda*: Cell antioxidant, anticancer and immune-modulatory activities. *International Journal of Biological Macromolecules*, 125204.
- Lima, A. D., Fortes, R. C., Novaes, M. G., & Percario, S. (2012). Poisonous mushrooms; a review of the most common intoxications. *Nutricion Hospitalaria*, 27(2), 402-408.
- Ma, L., Chen, H., Zhu, W., & Wang, Z. (2013). Effect of different drying methods on physicochemical properties and antioxidant activities of polysaccharides extracted from mushroom *Inonotus obliquus*. *Food Research International*, 50(2), 633-640.
- Mamede, M., Cotas, J., Bahcevandziev, K., & Pereira, L. (2023). Seaweed Polysaccharides in Agriculture: A Next Step towards Sustainability. *Applied Sciences*, 13(11), 6594.
- Mapoung, S., Umsumarng, S., Semmarath, W., Arjsri, P., Thippraphan, P., Yodkeeree, S., & Limtrakul, P. (2021). Skin wound-healing potential of polysaccharides from medicinal mushroom *Auricularia auricula-judae* (Bull.). *Journal of Fungi*, 7(4), 247.
- Mohammed ASA, Naveed M, Jost N. Polysaccharides; classification, chemical properties, and future perspective applications in fields of pharmacology and biological medicine (a review of current applications and upcoming potentialities). *J Environ Polym Degrad* 2021;29:2359-2371.
- Moharib, S. A., Abd El Maksoud, N., Ragab, H. M., & Shehata, M. (2014). Anticancer activities of mushroom polysaccharides on chemically-induced colorectal cancer

in rats. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 4(7), 054-063.

- Muhaxi, M., Liu, F., & Ng, T. B. (2023). Structural characterization and in vitro hepatoprotective activity of a novel antioxidant polysaccharide from fruiting bodies of the mushroom *Pleurotus ferulae*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 243, 125124.
- Murphy EJ, Fehrenbach GW, Abidin IZ, Buckley C, Montgomery T, Pogue R. et al. Polysaccharides—Naturally occurring immune modulators. *Polymers* 2023;15(10):2373.
- Nataraj, A., S. Govindan, P. Ramani, K. A. Subbaiah, S. Sathianarayanan, B. Venkidasamy, M. Thiruvengadam, M. Rebezov, M.A. Shariati, J.M. Lorenzo, and M. Pateiro. 2022. Antioxidant, anti-tumour, and anticoagulant activities of polysaccharide from *Calocybe indica* (apk2). *Antioxidants*, 11(9):1694.
- Nguyen, H. T., Pham, T. T., Nguyen, P. T., Le-Buanec, H., Rabetafika, H. N., & Razafindralambo, H. L. (2024). Advances in Microbial Exopolysaccharides: Present and Future Applications. *Biomolecules*, 14(9), 1162.
- Niego, A. G. T., Rapior, S., Thongklang, N., Raspé, O., Hyde, K. D., & Mortimer, P. (2023). Reviewing the contributions of macrofungi to forest ecosystem processes and services. *Fungal Biology Reviews*, 44, 100294.
- Nocelli, N., Bogino, P. C., Banchio, E., & Giordano, W. (2016). Roles of extracellular polysaccharides and biofilm formation in heavy metal resistance of rhizobia. *Materials*, 9(6), 418.
- Patel, A. K., Vadrale, A. P., Singhania, R. R., Michaud, P., Pandey, A., Chen, S. J., ... & Dong, C. D. (2023). Algal

- polysaccharides: current status and future prospects. *Phytochemistry Reviews*, 22(4), 1167-1196.
- Qiu, J., W. Shi, J. Miao, H. Hu, and Y. Gao. 2023. Extraction, isolation, screening, and preliminary characterization of polysaccharides with anti-oxidant activities from *Oudemansiella raphanipies*. *Polymers*, 15(13): 2917.
- Ruiz-Herrera, J., & Ortiz-Castellanos, L. (2019). Cell wall glucans of fungi. A review. *The Cell Surface*, 5, 100022.
- Shanmugam, M., & Abirami, R. G. (2019). Microbial polysaccharides-chemistry and applications. *Journal of Biologically Active Products from Nature*, 9(1), 73-78.
- Sheng, Z., Liu, J., & Yang, B. (2021). Structure differences of water soluble polysaccharides in *Astragalus membranaceus* induced by origin and their bioactivity. *Foods*, 10(8), 1755.
- Ślusarczyk, J., Adamska, E., & Czerwik-Marcinkowska, J. (2021). Fungi and algae as sources of medicinal and other biologically active compounds: A review. *Nutrients*, 13(9), 3178.
- Su, C. H., Lai, M. N., Lin, C. C., & Ng, L. T. (2016). Comparative characterization of physicochemical properties and bioactivities of polysaccharides from selected medicinal mushrooms. *Applied microbiology and biotechnology*, 100, 4385-4393.
- Sunil, C., & Xu, B. (2022). Mycochemical profile and health-promoting effects of morel mushroom *Morchella esculenta* (L.)—a review. *Food Research International*, 159, 111571.
- Thimmaraju, A., and S. Govindan. 2022. Novel studies of characterization, antioxidant, anticoagulant and anticancer activity of purified polysaccharide from

Hypsizygus ulmarius mushroom. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 27:100308.

- Timm, T. G., Costa, T. M., Alberton, M. D., Helm, C. V., & Tavares, L. B. B. (2023). Mushroom β -glucans: application and innovation for food industry and immunotherapy. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 107(16), 5035-5049.
- Tucker, M. R., Lou, H., Aubert, M. K., Wilkinson, L. G., Little, A., Houston, K., ... & Shirley, N. J. (2018). Exploring the role of cell wall-related genes and polysaccharides during plant development. *Plants*, 7(2), 42.
- Tudu M, Samanta A. Natural polysaccharides: Chemical properties and application in pharmaceutical formulations. *Eur Polym J* 2023;184:111801.
- Ullah, S., Khalil, A. A., Shaukat, F., & Song, Y. (2019). Sources, extraction and biomedical properties of polysaccharides. *Foods*, 8(8), 304.
- Valasques Junior, G. L., Boffo, E. F., Santos, J. D. G., Brandão, H. N., Mascarenhas, A. J., Cruz, F. T., & Assis, S. A. (2017). The extraction and characterisation of a polysaccharide from *Moniliophthora perniciosa* CCMB 0257. *Natural product research*, 31(14), 1647-1654.
- Venturella G, Ferraro V, Cirlincione F, Gargano ML. Medicinal Mushrooms: Bioactive Compounds, Use, and Clinical Trials. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021; 22(2):634.
- Vetter J. The Mushroom Glucans: Molecules of High Biological and Medicinal Importance. *Foods*. 2023 Feb 27;12(5):1009.
- Wang, Q., Wang, F., Xu, Z., & Ding, Z. (2017). Bioactive mushroom polysaccharides: a review on monosaccharide

- composition, biosynthesis and regulation. *Molecules*, 22(6), 955.
- Wang, Q., Xu, M., Zhao, L., Chen, L., & Ding, Z. (2023). Novel insights into the mechanism underlying high polysaccharide yield in submerged culture of *Ganoderma lucidum* revealed by transcriptome and proteome analyses. *Microorganisms*, 11(3), 772.
- Wang, W., Li, X., Zhang, Y., Zhang, J., Jia, L., 2022. Mycelium polysaccharides of *Macrolepota procera* alleviate reproductive impairments induced by nonylphenol. *Food Funct.* 13(10), 5794-5806.
- Xie, J. H., Liu, X., Shen, M. Y., Nie, S. P., Zhang, H., Li, C., ... & Xie, M. Y. (2013). Purification, physicochemical characterisation and anticancer activity of a polysaccharide from *Cyclocarya paliurus* leaves. *Food chemistry*, 136(3-4), 1453-1460.
- Yang, W., Zhao, P., Li, X., Guo, L., & Gao, W. (2022). The potential roles of natural plant polysaccharides in inflammatory bowel disease: A review. *Carbohydrate polymers*, 277, 118821.
- Yu, Y., Shen, M., Song, Q., & Xie, J. (2018). Biological activities and pharmaceutical applications of polysaccharide from natural resources: A review. *Carbohydrate polymers*, 183, 91-101.
- Zhang, J., N. Xu, G. Wang, H. Zhao, L. Lin, M. Jia, and L. Jia. 2015. *In vitro* and *in vivo* antioxidant effects of polysaccharides from Nameko medicinal mushroom, *Pholiota nameko* SW-01 (higher Basidiomycetes). *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 17(7).

- Zhang, M., Zhu, L., Cui, S. W., Wang, Q., Zhou, T., & Shen, H. (2011). Fractionation, partial characterization and bioactivity of water-soluble polysaccharides and polysaccharide-protein complexes from *Pleurotus geesteranus*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 48(1), 5-12.
- Zhang, Y., Hu, T., Zhou, H., Zhang, Y., Jin, G., & Yang, Y. (2016). Antidiabetic effect of polysaccharides from *Pleurotus ostreatus* in streptozotocin-induced diabetic rats. *International journal of biological macromolecules*, 83, 126-132.
- Zhong, W., Liu, N., Xie, Y., Zhao, Y., Song, X., & Zhong, W. (2013). Antioxidant and anti-aging activities of mycelial polysaccharides from *Lepista sordida*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 60, 355-359.
- Zuo, K., Tang, K., Liang, Y., Xu, Y., Sheng, K., Kong, X., ... & Wang, Y. (2021). Purification and antioxidant and anti-Inflammatory activity of extracellular polysaccharopeptide from sanghuang mushroom, *Sanghuangporus lonicericola*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101(3), 1009-1020.

ÜÇLÜ NEGATİF MEME KANSERİ ALT TİPİ İLE NÜKLEAR/ SİTOPLAZMİK YAPI İFADESİNİN İLİŞKİSİ: BİR META-ANALİZ ÇALIŞMASI

Özlem EROL¹

1. GİRİŞ

Dünya çapında meme kanseri en yaygın kanser türü olup kadınlar arasında kansere bağlı ölümlerin birincil nedenidir (Dünya Sağlık Örgütü, 2023). Meme kanserinin sınıflandırması temel olarak, hormon reseptör moleküllerinin ifadesine dayalı olarak yapılır. Bu hormon reseptörleri; östrojen reseptörü (ÖR), progesteron reseptörü (PR) ve İnsan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2 (HER2)'dir. ÜN'de, ÖR, PR ve HER2 ekspresyonu düşüktür veya hiç yoktur; dolayısıyla bu reseptörleri hedef alan ilaçlara yanıt vermez (Al-Mahmood vd., 2018). Halen ÜN'de standartlaştırılmış bir tedavi rejimi olmayıp temel tedavi stratejisi, platin bazlı ajanlar ile antrasiklin ve taksanlar üzerine kuruludur (Rampioni-Vinciguerra vd., 2022). ÜN, yüksek düzeyde hücre istilası ve genellikle beyin, akciğerler ve karaciğer olmak üzere iç organ metastazı ile karakterize olup, tüm meme kanseri alt tipleri arasında en agresif ve heterojen olanıdır (Vagia vd., 2020). Ayrıca özellikle genç hastalardaki içsel direnç ve tedavi ile gelişen kazanılmış direnç, yeni ilaç ve tedavi stratejilerine duyulan ihtiyacı artırmaktadır (Luo vd., 2023).

¹ Dr. Öğr. Üyesi, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, ozlemerol@comu.edu.tr, ORCID: 0000-0001-8821-5740.

Hippo sinyal yolu hücre proliferasyonu, hayatta kalma, farklılaşma, organ boyutu ve doku homeostazı dahil olmak üzere pek çok biyolojik süreci düzenleyen bir sinyal yoludur (Sung vd., 2021). Bu nedenle farklı kanser türlerinin oluşumu, ilerlemesi, metastatik özelliği ve ilaç direnci gelişiminde rol alması şaşırtıcı değildir (Cunningham & Hansen, 2022). Yes-ilişkili protein 1 (YAP1), hippo sinyal yolunun transkripsiyonel koaktivatörü olarak kilit rol oynar (Kwon vd., 2013). Hippo sinyal yolu aktivasyonu ile sitoplazmadaki YAP1 defosforile olur ve “WW-domain-içeren transkripsiyon regülatörü 1” (TAZ) ile kompleks oluşturur. Bu kompleks nükleusa geçer ve “transkripsiyonel artışla ilişkili domain” (TEAD) ile bağlanarak transkripsiyonel aktivasyon ile hücrenin yüksek düzeyde proliferasyonunu indükler (Luo vd., 2023). YAP1 ve TAZ’ın, meme kanserinde tümör başlaması, ilerlemesi, epitelial-mezenkimal geçiş, apoptozun baskılanması, büyüme faktöründen bağımsız çoğalma, kanser kök hücre üretimi ve ilaç direnci gibi çeşitli etkilere yol açtığı belirlenmiştir (Overholtzer vd., 2006; Zhao vd., 2023). Özellikle epitelial büyüme faktörü reseptörü (EGFR) ve HER2 aracılı sinyal iletimine dayalı tümör oluşumunda YAP1/TAZ’ın merkezi rolü vurgulanmıştır (Panciera vd., 2020; Luo vd., 2023). Erken nüks sergileyen ve uzak metastaz geliştiren en agresif meme kanseri alt tipi olan ÜN’de bazı tümör baskılayıcıların aşağı regüle edilmesi sonucu oluşan YAP1/TAZ aktivasyonunun tümör malignitesi ve ilaç direnci ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Vlahov vd., 2015). Ayrıca YAP1’in farklı transkripsiyon faktörleri ile sinerjistik olarak ÜN saldırganlığını ve metastazını teşvik için gen aktivasyonu yaptığı belirlenmiştir (Luo vd., 2023).

Meme kanseri oldukça heterojen özelliklere ve prognoza sahip alt tiplere sahip olup bu alt tiplerdeki klinik seyir, tedaviye cevap ve direnç gelişimi oldukça büyük değişkenlik göstermektedir (Zhao vd., 2023). Hippo sinyal yolunun meme kanseri de dahil farklı kanser türlerinde onkogenik karakterinin

aksine tümör baskılayıcı bir etkiye sahip olabileceği de öne sürülmüştür (Yousefi vd., 2022, Zhao vd. 2023). Meme kanseri alt tiplerinde YAP1'in rolünü anlamaya yönelik in vitro'dan kohort çalışmalarına pek çok araştırma yapılmıştır (Luo vd. 2023, Zhao vd. 2023) Sonuçlar YAP1'in bağlama göre onkogenik ya da tümör baskılayıcı olabileceğini öne sürmektedir. Lehn vd. (2014) luminal A alt tipinde düşük YAP1 ifadesinin nüksüz sağ kalımın azalması ile ilişkili olduğunu, diğer bir çalışma ÜN alt tipine ait tümör hücrelerinde ve çevreleyen stromada YAP1'in birleşik ekspresyonunun patolojik tam yanıtı ulaşma olasılığının azalmasıyla ilişkili olduğunu (Vici vd., 2016), çalışma grubunun daha sonraki bir çalışması ise HER2+ hasta grubunda tam tersi sonuçları ortaya koymuştur (Krasniqi vd., 2022). Alt tiplerde YAP1 ifadesine ve prognostik verilere dair farklı sonuçlar YAP1'n rolünü netleştirmeyi önlemektedir. YAP1 ifadesinin klinikopatolojik veriler ile ilişkisini ortaya koyan az sayıda çalışma olup bu çalışmalarda alt tipler göz önüne alınmamıştır. Son yıllarda yapılan bazı çalışmaların sonuçları ise alt tiplerde YAP1 ifadesi ve rolüne ait çelişkili veriler ortaya koymuştur (Park vd., 2023; Krasniqi vd., 2022; Vici vd., 2016).

Bu nedenle YAP1 proteini ile alt tipler arasındaki ilişkinin belirlenmesi için bu meta analiz yapılmış ve böylece meme kanserinde YAP1'in prognostik rolü ve dolayısıyla yeni tedavi stratejilerinin oluşturulmasına katkı sağlanması hedeflenmiştir.

2. ÇALIŞMA İÇERİĞİ

Bu çalışmada, farklı araştırmaların sonuçlarını birleştirmeyi, analiz etmeyi ve genel bir sonuca ulaşmayı sağlayan, istatistiksel, güçlü bir araştırma yöntemi olan meta analiz kullanılmıştır. Meta analiz, birbirinden bağımsız ama benzer sorulara yanıt arayan çalışmalara ait verileri toplar, bunları analiz eder ve sonuçları bir araya getirir. Meta analizin yapısal bir

yaklaşım gerektirdiği ve dikkatlice seçilmiş kriterlere dayandığı unutulmamalıdır.

2.1. Araştırma Stratejisi

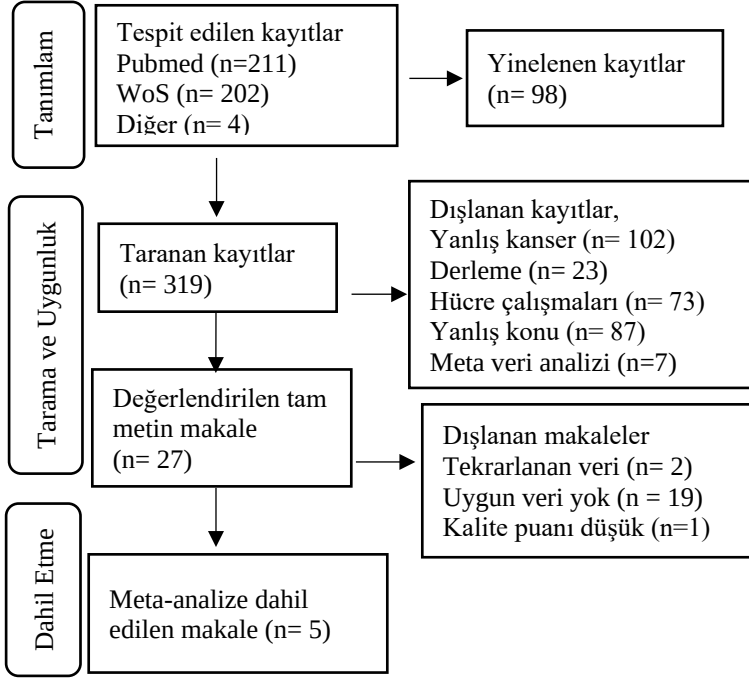
Bu meta analiz, “Sistemik İncelemeler ve Meta-Analizler için Tercih Edilen Raporlama Öğeleri” (PRISMA) önerilerine göre gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada PubMed için; ((((((breast tumor) OR (breast cancer) OR (breast neoplasms)) AND ((yap1) OR (yap) OR (yes-associated protein))) AND (expression))) AND (clinic*)) ile “Web of Science” için; breast tumor* (Topic) and YAP1 or YAP or "yes-associated protein" (Topic) and expression (All Fields) and clinical (All Fields) ile sorgulama yapılmıştır. Arama dönemi, 2000/01/01:2023/11/30 ve yayın dili olarak İngilizce seçilmiştir.

2.2. Dâhil Etme ve Hariç Tutma Kriterleri

Dâhil etme kriterleri şunlardır: (1) meme kanseri hastalarının dahil olduğu çalışmalar; (2) YAP1 protein varlığının nükleer/ sitoplazmik lokalizasyonda immünohistokimyasal olarak belirlendiği çalışmalar; (3) ÜN ve ÜN-olmayan alt tipler ile eşleşen YAP1 protein ifadesine dair veri içeren çalışmalar.

Dışlama kriterleri şunlardır: (1) meme kanseri dışındaki kanser türlerine ait çalışmalar; (2) hayvan deneyleri ve hücre çalışmaları; (3) meta veri analizi, derleme, tam metin olmayan ve verilerin çıkarılamadığı çalışmalar; (4) tekrarlı verilerin olduğu çalışmalar (Şekil 1).

Şekil 1. Meta-analiz sürecinin PRISMA akış şeması



2.3. Veri Çıkarımı ve Literatür Kalite Değerlendirmesi

Önceden belirlenmiş kriterlere göre veri çıkarılmış olup bu veriler; ilk yazar, yayın yılı, çalışmanın yapıldığı ülke, hasta sayısı, YAP1 lokalizasyonu, İHK puanlaması, antikora dair bilgiyi içeriyordu. Ayrıca bu aşamada çalışmaların meta-analize dahil edilmesi için çalışmaların metodolojik yaklaşım kalitesi, Joanna Briggs Enstitüsü'nün (JBI) yaygınlık verilerine yönelik eleştirel değerlendirme kontrol listesi aracılığıyla değerlendirildi (Munn vd., 2015). Cevap "Evet" olduğunda 1, diğer cevaplar için 0 puan verilerek 0-9 arasında değişen bir toplam kalite puanı elde edildi. Puanı 7-9 olan çalışmalar kabul edilebilir olarak değerlendirildi ve bu çalışmalar meta-analiz için veri çıkarma aşamasına dahil edildi.

2.4. Verilerin Analizi

Meta-analiz için ELIXIR-Macaristan tarafından desteklenen online analiz aracı kullanıldı (<https://metaanalysisonline.com/>). Verilerin analizinde, ÜN ve ÜN-olmayan alt tipler ile yüksek YAP ifadesi arasındaki ilişki, %95 güven aralığı (CI) ile olasılık oranı (OR) kullanılarak analiz edildi ve $P < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Heterojenliğin değerlendirilmesi τ^2 , χ^2 ve I^2 testi ile gerçekleştirildi (Higgins vd., 2003). Yayın yanlılığı huni saçılım grafiği simetrisi göz önüne alınarak ve ayrıca Egger'ın regresyon testi ile araştırıldı.

3. SONUÇ

Veri tabanlarında gerçekleştirilen taramalar ve literatür okumaları sonrası toplam 417 makaleye ulaşıldı. Bunlardan 98'inin yinelenildiği belirlendi ve dışlandı. Diğer makaleler başlıkları ve özetleri okunarak içleme ve dışlama kriterlerine göre 27 makalenin tam metin olarak değerlendirmeye uygun olduğu belirlendi. Bu makalelerden iki tanesinde verilerin tekrarlandığı, 19 tanesinin ise meta-analiz için uygun veri içermediği belirlendiği için dışlandı.

Daha sonra içleme kriterlerini tam olarak karşılayan 6 çalışma, kalite bakımından JBI yaygınlık verilerine yönelik eleştirel değerlendirme kontrol listesi aracılığıyla değerlendirildi. Beş tanesi 7 ve üzerinde kalite puanı alarak analize dahil edilmek üzere, verileri çıkarıldı (Tablo 1).

Tablo 1. Meta-analize dâhil edilen çalışmaların temel özellikleri ve kalite puanları

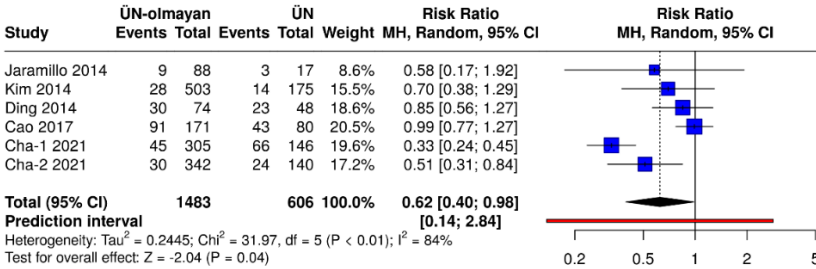
Yayınlar (Çalışma adı)	Ülke	Hasta Sayısı	YAP1 lokalizasyonu	İHK puanlaması	Antikorlara ait bilgiler	Kalite Puanı
Jaramillo- Rodríguez vd., 2014 (Jaramillo, 2014)	Meksika	105	Nüklear Sitoplazmik	İmage J yazılımı, araştırmacılar tarafından 5 farklı alanda (500 hücre) pozitif kontrollere göre, %0 boyama ifade yok, %1-10 hafif, %10-50 orta, >%50 yüksek ifade olarak değerlendirilip, pozitif olarak raporlanmış.	Cell Signaling Technology (1:100)	9
Kim vd., 2014 (Kim, 2014)	Güney Kore	678	Nüklear Sitoplazmik	Boyama yoğunluğu (0, 1, 2, 3) ve pozitif hücre yüzdesine göre; 2 ve 3 derecede boyanan hücreler %10'dan fazla ise pozitif olarak raporlanmış.	Santa Cruz Biotechnology (klon: 9A1) (1:100)	8
Ding vd., 2019 (Ding, 2019)	Çin	110	Nüklear Sitoplazmik	İmage J yazılımı ve araştırmacılar tarafından 3 farklı alanda negatif ve pozitif kontrollere göre normalize edilerek belirlendi ve ifade düşük/yüksek olarak raporlanmış.	Tavşan monoklonal antikor (Cell Signaling Technology, 14074) (1:400)	7
Cao vd., 2017 (Cao, 2017)	Çin	324	Nüklear	Boyama yoğunluğu (0, 1, 2, 3) ile hücre yüzdesinin çarpımından hesaplanan değer in medyanı kesme değeri olarak kullanılmış ve sonuçlar negatif, pozitif olarak raporlanmış.	Tavşan monoklonal antikor (Cell Signaling Technology, 14074) (1:400)	9
Cha vd., 2021 (Cha, 2021)	Kore	1) 455 2) 482	Nüklear	İnternal kontrole (2: orta derece ifade) göre boyama yoğunluğuna göre; 0 ve 1: düşük; 2 ve 3: yüksek olarak raporlanmış.	Fare monoklonal antikor (Santa Cruz Biotechnology (klon: 63.7) (1:200)	8

Bu meta analize hasta sayısı 105 ile 678 arasında değişen beş çalışma ile toplam 2154 hasta dahil edildi. Cha vd. (2021) tarafından gerçekleştirilen çalışmada iki farklı hasta kohortuna ait veriler raporlanmış olduğundan 5 çalışmadan 6 veriye ulaşıldı.

Meta analizde meme kanserli hastaların kanser doku örneklerinde, YAP1 protein ifadesinin İHK analizi ile pozitif veya yüksek olarak tanımlandığı ve ÜN ve ÜN-olmayan moleküler alt tiplere göre dağılımın yer aldığı veriler kullanılarak aralarındaki ilişki araştırıldı.

İlk meta analizde 5 çalışmadan 6 veri seti analiz edildi ve ÜN-olmayan kohortta toplam 1483 kişi, ÜN kohortta ise 606 denek yer aldı. Mantel-Haenszel yöntemi ile rastgele etkiler modeli kullanılarak yapılan ve olasılık oranlarını karşılaştıran analize göre, iki kohort arasında istatistiksel olarak fark bulunmakta olup, genel OR=0,53 olup %95 CI= 0,31- 0,93 idi (Şekil 2).

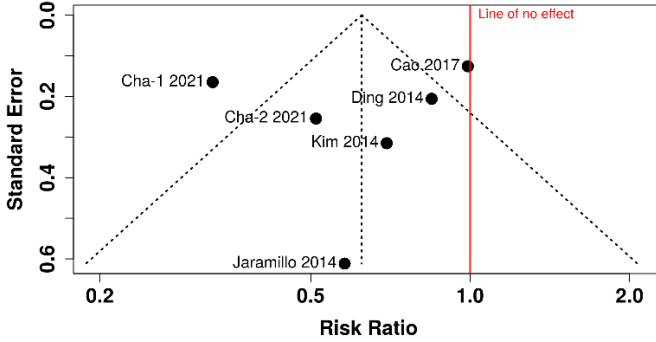
Şekil 2. ÜN ve ÜN-olmayan alt tipler ile nükleer lokalizasyondaki YAP1 ilişkisine dair meta analize ait orman grafiği



Bu analizde önemli bir heterojenlik tespit edildi ($p < 0,01$), ayrıca I^2 değeri, çalışmalar arasındaki değişkenliğin %84'ünün rastgele şanstın ziyade heterojenlikten kaynaklandığını gösterdi. Huni grafiği simetrisi olası bir yayın yanlılığına işaret etmedi (Şekil 3), ve aynı zamanda Egger testi de huni grafiği

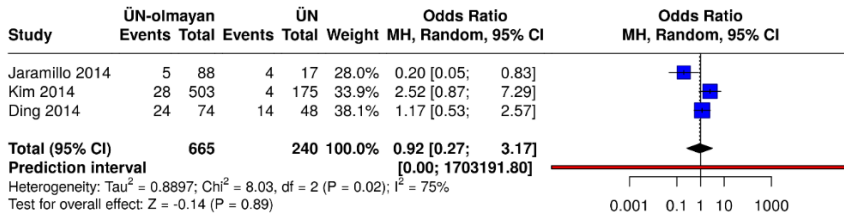
asimetrisinin varlığını reddetti (kesişim= 2,44, %95 CI= -3,64-8,53, t= 0,787, p= 0,476).

Şekil 3. ÜN ve ÜN-olmayan alt tipler ile ile nükleer lokalizasyondaki YAP1 ilişkisine dair meta analize ait huni saçılım grafiği



İkinci meta analizde toplamda 665 ÜN-olmayan kohortta ve 240 ÜN kohortta olmak üzere 3 çalışma analiz edildi. Yine Mantel-Haenszel yöntemi ile rastgele etkiler modeli kullanılarak yapılan analize göre, iki kohort arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamakta, genel OR= 0,92 olup %95 CI= 0,27- 3,17 idi (Şekil 4).

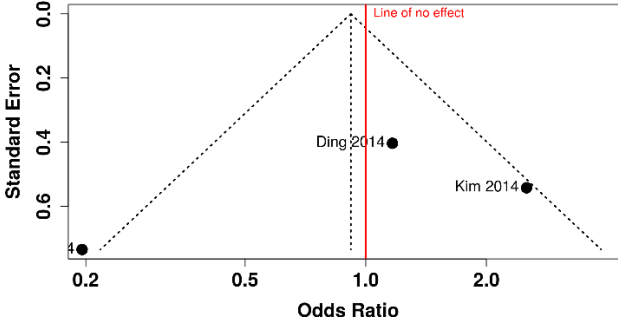
Şekil 4. ÜN ve ÜN-olmayan alt tipler ile sitoplazmik lokalizasyondaki YAP1 ilişkisine dair meta analize ait orman grafiği



Bu analizde de önemli bir heterojenlik tespit edildi ($p=0,02$). I^2 değeri, çalışmalar arasındaki değişkenliğin %75'inin rastgele şanstı zıyade heterojenlikten kaynaklandığını gösterdi. Huni grafiği olası bir yayın yanlılığını göstermezken (Şekil 5),

Egger testi de huni grafiği asimetrisini dışlayarak yanlılık olmadığını destekledi (kesişim= -4.03, %95 CI=-15.02- 6.97, t=-0.718, p= 0.604).

Şekil 5. ÜN ve ÜN-olmayan alt tipler ile sitoplazmik lokalizasyondaki YAP1 ilişkisine dair meta analize ait huni saçılım grafiği



Bu çalışma, meme kanseri hastalarının dahil edildiği birincil 5 çalışmada 2154 hastanın kanser doku örneklerinden İHK analiz ile elde edilen yüksek/pozitif YAP1 ifadesine ait veriler kullanılarak gerçekleştirildi.

YAP1 proteininin meme kanserindeki rolü oldukça tartışmalı olsa da mevcut bilgiler YAP1'in alt tiplere göre farklı roller üstlenebileceğini ortaya koymuştur (Luo vd., 2023; Zhao vd., 2023). YAP1'in hücre kültür çalışmaları ile nukleusta birikimini ve aşağı akış gen transkripsiyonunu teşvik ederek hücre hiperproliferasyonunu, epitelial-mezenşimal geçişi (EMT), metastazı ve ilaç direncini indüklediği belirlenmiştir (Zhao ve ark., 2008; Ma vd, 2019, Luo vd., 2023). Nitekim YAP1'in ÜN'de EMT'nin kritik bir düzenleyicisi olduğu belirlenmiştir (Liu vd, 2021). EMT, tümörlerin invaziv metastazında önemli bir başlangıç adımıdır. EMT yolu aktive edildiğinde epitel hücreler polaritesini kaybeder, çevre ve stromal hücrelerle temas ve hücreler arası etkileşimler azalır, bu da hücre göçünün ve hareketliliğinin artmasına izin verir (Chen vd., 2022).

Ayrıca YAP1'in yüksek ifadesi ile bağlantılı olarak hücredeki transkripsiyonel aktivasyonun meme kanserinde EMT'yi teşvik ile kök hücre karakteri kazandırdığı ve bağlantılı olarak ilaç direnci, invazyon, migrasyon yeteneği ile metastatik karakter kazanmaya neden olduğuna dair önemli kanıtlar vardır (Malla vd., 2023). Hücresel düzeydeki bu bilgiler ile bu çalışma ile ortaya konulan nükleer lokalizasyondaki yüksek YAP1 ifadesinin ÜN alt tip ile ilişkisi birbirini desteklemektedir.

Ayrıca mevcut çalışmada belirlenen ÜN alt tipi ile nükleer YAP1 pozitifliği arasındaki ilişki daha önce yapılan bir meta analizde kontrole göre, ÜN olmayan alt tiplerde daha düşük, ÜN alt tipinde ise daha yüksek YAP ifade seviyeleri olduğuna dair veriler ile de uyumludur (Li vd., 2022).

Nitekim YAP1'in gen amplifikasyonu veya protein hiper aktivasyonu aracılığıyla pek çok kanser tipinde onkogenik rolü ortaya konulmuş olup (Zhao vd., 2023), bu meta analiz de ÜN alt tipi için YAP1'in onkogenik rolünü desteklemektedir. Bu bakımdan YAP1'in ÜN alt tipi için potansiyel bir terapötik hedef olabileceğini düşünmekteyiz.

Fakat mevcut meta analiz için kapsamlı bir literatür araştırması yapılmasına rağmen, dahil edilen çalışma sayısı sınırlı ve ağırlıklı olarak Asya'dan hastaları içermekte idi, bu durum sonuçları etkilemiş ve sonuçların genellenebilirliğini sınırlandırmış olabilir. Nitekim her iki meta-analizde önemli bir heterojenlik tespit edilmiş olup, bu heterojenliğin temel kaynağının, çalışmaların hasta sayısındaki farklılık ile farklı sonuçları doğuran metodolojilerdeki değişkenlik ve/veya çalışmaların diğer özellikleri olabileceği düşünülmektedir.

Bu bakımdan meta-analiz ile elde edilen sonuçların doğrulanması ve genellenebilmesi için farklı etnik kökenlerdeki benzer hasta sayılarına sahip popülasyonlardan çalışmalar yararlı olacaktır. Ayrıca dahil edilen tüm çalışmalarda, dokulardaki

YAP1 protein ifade düzeyini niteliksel olarak saptamak için deney koşullarından, reaktiflerden, diğer teknik koşullardan ve puanlamanın standardize olmamasından büyük ölçüde etkilenen İHK analizi kullanılmıştı. Bu durumun da önemli bir sınırlama yaratabileceği unutulmamalıdır.

KAYNAKÇA

- Al-Mahmood, S., Sapiezynski, J., Garbuzenko, O.B., Minko T. (2018). Metastatic and triple-negative breast cancer: challenges and treatment options. *Drug Deliv. Transl. Res.*, 8,1483–1507.
- Cao, L, Sun, PL, Yao, M, Jia, M, Gao, H. (2017). Expression of YES-associated protein (YAP) and its clinical significance in breast cancer tissues. *Hum Pathol.*, 68,166-174.
- Cha, Y.J., Bae, S.J., Kim, D., Ahn, S.G., Jeong, J, Koo, JS, Yoo, T-K., Park, ... Yoon, C.I. (2021). High nuclear expression of yes-associated protein 1 correlates with metastasis in patients with breast cancer. *Front. Oncol.*, 11, 609743.
- Chen, G., Li, X., Ji, C., Liu, P., Zhou, L., Xu, D., Wang, D., Li, J., Yu, J. (2022). Early myeloid-derived suppressor cells accelerate epithelial-mesenchymal transition by downregulating ARID1A in luminal A breast cancer. *Front Bioeng Biotechnol*, 10, 973731.
- Cunningham, R., Hansen, C.G. (2022). The Hippo pathway in cancer: YAP/TAZ and TEAD as therapeutic targets in cancer. *Clin Sci (Lond)*, 136(3), 197-222.
- Ding, N., Huang, T., Yuan, J., Mao, J., Duan, Y., Liao, W., Xiao, Z. (2019). Yes-associated protein expression in paired primary and local recurrent breast cancer and its clinical significance. *Curr Probl Cancer*, 43(5), 429-437.
- Dünya Sağlık Örgütü (2023). Global breast cancer initiative implementation framework: assessing, strengthening and scaling up of services for the early detection and management of breast cancer.

- Higgins, J.P., Thompson, S.G., Deeks, J.J., Altman, D.G. (2003). Measuring inconsistency in meta-analyses. *BMJ*, 327(7414), 557-560.
- Jaramillo-Rodríguez, Y., Cerda-Flores, R.M., Ruiz-Ramos, R., López-Márquez, F.C., Calderón-Garcidueñas, A.L., (2014). YAP expression in normal and neoplastic breast tissue: an immunohistochemical study, *Arch Med Res*, 45(3), 223-228.
- Kim, S.K., Jung, W.H., Koo, J.S. (2014). Yes-associated protein (YAP) is differentially expressed in tumor and stroma according to the molecular subtype of breast cancer. *Int J Clin Exp Pathol.*, 7(6), 3224-3234.
- Krasniqi, E., Di Lisa, F. S., Di Benedetto, A., ... (2022). The impact of the hippo pathway and cell metabolism on pathological complete response in locally advanced HER2+ breast cancer: The TRISKELE multicenter prospective study. *Cancers*, 14(19), 4835.
- Kwon, Y., Vinayagam, A., Sun, X., Dephoure, N., Gygi, S.P., Hong, P., Perrimon, N. (2013). The hippo signaling pathway interactome. *Science*. 342(6159), 737-740.
- Lehn, S., Tobin, N. P., Sims, A. H., Stål, O., Jirström, K., Axelson, H., Landberg, G. (2014). Decreased expression of Yes-associated protein is associated with outcome in the luminal A breast cancer subgroup and with an impaired tamoxifen response. *BMC Cancer*, 14, 119.
- Li, L., Luo, J., Fang, J.Y., Zhang, R., Ma, J.B., Zhu, Z.P. (2022). Expression characteristics of the yes-associated protein in breast cancer: A meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*, 101(34), e30176.
- Liu, M.; Zhang, Y.; Yang, J.; Zhan, H.; Zhou, Z.; Jiang, Y.; Shi, X.; ... (2021). Zinc-dependent regulation of ZEB1 and

- YAP1 coactivation promotes epithelial-mesenchymal transition plasticity and metastasis in pancreatic cancer. *Gastroenterology*, 160, 1771–1783.e1771.
- Luo, J., Zou, H., Guo, Y., Tong, T., Chen, Y., Xiao, Y., Pan, Y., Li, P. (2023). The oncogenic roles and clinical implications of YAP/TAZ in breast cancer. *Br J Cancer*, 128(9), 1611-1624.
- Ma, S., Meng, Z., Chen, R., Guan, K. (2019). The Hippo pathway: biology and pathophysiology. *Annu. Rev. Biochem*, 88, 577–604.
- Malla, R., Kundrapu, D. B., Bhamidipati, P., Nagaraju, G. P., Muniraj, N. (2023). Unleashing the power of yes-associated protein in ferroptosis and drug resistance in breast cancer, with a special focus on therapeutic strategies. *Cancers*, 15(24), 5728.
- Munn, Z., Moola, S., Lisy, K., Riitano, D., Tufanaru, C. (2015). Methodological guidance for systematic reviews of observational epidemiological studies reporting prevalence and cumulative incidence data. *Int J Evid Based Healthc*, 13, 147–153.
- Overholtzer, M., Zhang, J., Smolen, G.A., Muir, B., Li, W., Sgroi, D.C., Deng, C.X., Brugge, J.S., Haber, D.A. (2006). Transforming properties of YAP, a candidate oncogene on the chromosome 11q22 amplicon. *Proc Natl Acad Sci USA*, 103(33), 12405-12410.
- Panciera, T., Citron, A., Di Biagio, D., ... (2020). Publisher Correction: Reprogramming normal cells into tumour precursors requires ECM stiffness and oncogene-mediated changes of cell mechanical properties. *Nat Mater*, 19(4), 475.

- Park, I., Lee, Y., Kim, J.H., vd. (2023). YAP1 Expression in HR+HER2- Breast Cancer: 21-Gene Recurrence Score Analysis and Public Dataset Validation. *Cancers (Basel)*, 15(20), 5034.
- Rampioni-Vinciguerra GL, Sonogo M, Segatto I, Dall'Acqua A, Vecchione A, Baldassarre G, Belletti B. (2022). CDK4/6 inhibitors in combination therapies: better in company than alone: A mini review. *Front Oncol*, 12, 891580.
- Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R.L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., Bray, F. (2021). Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*, 71(3), 209-249.
- Vagia, E., Mahalingam, D., Cristofanilli, M. (2020). The landscape of targeted therapies in TNBC. *Cancers*, 12, 916.
- Vici, P., Ercolani, C., Di Benedetto, A. ... (2016). Topographic expression of the Hippo transducers TAZ and YAP in triple-negative breast cancer treated with neoadjuvant chemotherapy. *J Exp Clin Cancer Res*, 35, 62.
- Vlahov, N., Scrace, S., Soto, M.S., ... (2015). Alternate RASSF1 transcripts control SRC activity, e-cadherin contacts, and YAP-mediated invasion. *Curr Biol*, 25(23), 3019-3034.
- Yousefi, H., Delavar, M.R., Piroozian, F., Baghi, M., Nguyen, K., Cheng, T., Vittori, C., Worthylake, D., Alahari, S.K. (2022). Hippo signaling pathway: A comprehensive gene expression profile analysis in breast cancer. *Biomed Pharmacother*, 151, 113144.
- Zhao, Y., Sheldon, M., Sun, Y., Ma, L. (2023). New insights into YAP/TAZ-TEAD-mediated gene regulation and

biological processes in cancer. *Cancers (Basel)*, 15(23), 5497.

MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK

yaz
yayınları

YAZ Yayınları
M.İhtisas OSB Mah. 4A Cad. No:3/3
İscehisar / AFYONKARAHİSAR
Tel : (0 531) 880 92 99
yazyayinlari@gmail.com • www.yazyayinlari.com