

Yabani Yenilebilir Bir Mantar Olan *Lycoperdon molle* Pers.'nin Antioksidan ve Antigenotoksik Potansiyeli

Buğrahan EMSEN¹, Büşranur GÜVEN², Abdullah KAYA³

^{1,2,3}Karamanoglu Mehmetbey Üniversitesi, Kamil Özdağ Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 70100, Karaman, Türkiye

¹<https://orcid.org/0000-0002-9636-2596>, ²<https://orcid.org/0000-0003-2858-491X>, ³<https://orcid.org/0000-0002-4654-1406>

✉: bugrahanemsen@gmail.com

ÖZET

Mevcut çalışmada, yenilebilir önemli mantar türlerinden biri olan *Lycoperdon molle* Pers.'nin kültüre edilmiş insan periferik lenfositleri üzerindeki antioksidan ve antigenotoksik etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Kurutulmuş taze *L. molle*'den elde edilen metanol (LMME) ve su (LMSE) ekstraktlarının farklı konsantrasyonları (1-100 mg/L) ile muamele edilen hücrelerdeki toplam oksidan durum (TOD) ve toplam antioksidan kapasite (TAK) değişimleri test edilmiştir. Bu analizlerin sonucunda, LMME ve LMSE'nin 100 mg/L'lik konsantrasyonun hücrelerdeki TOD oranını negatif kontrole kıyasla $p < 0.05$ düzeyinde yükselttiği belirlenmiştir. Her iki ekstraktın 1-25 mg/L konsantrasyonlu uygulamalarının sebep olduğu TAK düzeylerinin negatif kontrol grubu tarafından ortaya çıkarılan TAK oranından yüksek oldukları tespit edilmiştir. İlgili ekstraktların hücreler üzerinde genetik hasar oluşturma düzeyleri mikronükleus (MN) ve kromozom aberasyonu (KA) testleri ile belirlenmiştir. Her iki ekstrakt grubunda da 50 ve 100 mg/L konsantrasyonlu uygulamalar haricindeki denemelerin sebep oldukları MN ve KA frekanslarının negatif kontrole kıyasla istatistiksel açıdan ($p > 0.05$) farklı olmadığı tespit edilmiştir.

Araştırma Makalesi

Makale Tarihi

Geliş Tarihi : 07.02.2019

Kabul Tarihi : 18.04.2019

Anahtar Kelimeler

Genotoksisite
Makromantar
Oksidatif stres
Sitotoksisite

Antioxidant and Antigenotoxic Potential of *Lycoperdon molle* Pers., a Wild Edible Mushroom

ABSTRACT

In the present study, it was aimed to investigate the antioxidant and antigenotoxic effects of *Lycoperdon molle* Pers., one of the important edible mushroom species, on cultured human peripheral lymphocytes. Total oxidant status (TOS) and total antioxidant capacity (TAC) changes in the cells treated with different concentrations (1-100 mg/L) of methanol (LMME) and water (LMWE) extracts from dried fresh *L. molle* were tested. In the results of these analyses determined that the concentration of 100 mg/L of LMME and LMWE increased the TOS ratio in the cells at the level of $p < 0.05$ compared to the negative control. TAC levels caused by the applications of both extracts with 1-25 mg/L concentration were found to be higher than the TAC ratio, revealed by the negative control group. The levels of genetic damage of the respective extracts on the cells were determined by micronucleus (MN) and chromosome aberration (CA) tests. In both extract groups revealed that MN and CA frequencies which were caused by experiments other than 50 and 100 mg/L concentrations were not statistically ($p > 0.05$) different from negative control.

Research Article

Article History

Received : 07.02.2019

Accepted : 18.04.2019

Keywords

Genotoxicity
Macrofungus
Oxidative stress
Cytotoxicity

To Cite : Emsen B, Güven B, Kaya A 2019. Yabani Yenilebilir Bir Mantar Olan *Lycoperdon molle* Pers.'nin Antioksidan ve Antigenotoksik Potansiyeli. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 22(5): 724-732. DOI: ksutarimdog.v22i45606.523756

GİRİŞ

İnsan vücudunda metabolik faaliyetleri bozan, hücreleri yaralanmalara ve hatta ölüme kadar götürebilen faktörlerin başında oksidan maddeler

gelmektedir (Gallelli ve ark., 2018). Oksidanlar olarak adlandırılan maddelerin temelinde ise serbest radikaller yer almaktadır. Serbest radikaller, çevrelerindeki farklı bileşikler ile reaksiyona girebilen

ve yapılarında eşlenmemiş elektron bulunduran moleküllerdir. Ayrıca bu moleküllerdeki negatif elektron ve çekirdekdeki pozitif proton sayıları eşit değildir (Bartesaghi ve Radi, 2018). Bu sebeplerden dolayı serbest radikaller insan vücudundaki genetik materyaller ve proteinler gibi önemli moleküllere hasar verebilirler. Aynı zamanda bu moleküller hücre zarının seçici-geçirgenlik özelliğinin artmasına, hücre zarının yıkımına ve en nihayetinde hücrelerin ölümüne yol açabilirler. Bu hücre ölümleri genellikle proteinler, karbonhidratlar, nükleik asitler ve lipidler üzerindeki olumsuz etkilerden kaynaklanmaktadır (Rocha ve ark., 2010; Liaudet ve ark., 2013).

Serbest radikallerin ortaya çıkardığı oksidatif stres gibi olumsuz faaliyetleri engellemek için vücudumuzda bazı savunma mekanizmaları gelişmiştir. Reaktif oksijen türleri tarafından meydana gelen hasarları ortadan kaldırmak için vücudumuzda oluşan savunma sistemi antioksidan savunma mekanizması olarak adlandırılmaktadır (Fuchs-Tarlovsky, 2013). Adı geçen savunma mekanizmasında görevli bileşikler, ilaçların, kanserojen maddelerin ve toksik radikal reaksiyonlarının yüksek orandaki yan etkilerine karşı hücreleri direkt veya dolaylı olarak koruyan antioksidan maddelerdir (Fuchs-Tarlovsky, 2013; Valko ve ark., 2016). Antioksidan bileşikler vitamin A, C, E, poliaminler, melatonin, polifenoller, flavonoidler, karotenoidler, ksantofiller, melatonin ve tokoferoller gibi çok sayıda bileşikten oluşmaktadır (Wojcik ve ark., 2010; López-Jaén ve ark., 2013).

Birçok alanda özellikle gıda endüstrisinde, BHA (bütillendirilmiş hidroksi anisol), BHT (bütillendirilmiş hidroksi toluen), PGE (propil gallat) ve TBHQ (tersiyer-butil hidrokinon) gibi birçok sentetik antioksidandan faydalanılmaktadır. Bu antioksidanların etkili, kalıcı ve ucuz oldukları bilinmesine rağmen birçok potansiyel yan etkileri tespit edilmiştir (Sohaib ve ark., 2017; Yang ve ark., 2018). Sentetik antioksidan maddelerin mevcut yan etkileri göz önüne alındığında ve eski çağlardan beri insanoğlunun tedavi amaçlı sayısız tıbbi aromatik bitkiden yararlanmış olması, birçok araştırmacıyı doğal antioksidanlar üzerinde çalışmaya yönlendirmiştir.

Son zamanlarda organik veya inorganik çözücülerin yardımı ile yabani ya da kültür mantarlarından elde edilen ekstraktların ve onların içerdiği aktif bileşenlerin tedavi amaçlı kullanım potansiyellerinin ortaya konulduğu pek çok çalışma yapılmıştır (Manzi ve ark., 1999, Guillamón ve ark., 2010; Chen ve ark., 2018; Nallathamby ve ark., 2018). Ek olarak, bu mantar türlerinden bazılarının antioksidan, antienflamatuar, hipoglisemik, hipokolesterolemik, antihipertansif, immünomodülatör, hepatoprotektif, antibiyotik, antiviral, antibakteriyel, antitümör aktivitelerinin olduğu tespit edilmiş ve bazı tıbbi

girişimler için fizyolojik ajan olarak değerlendirilmişlerdir (Boa 2004; Cheung 2010; Guillamón ve ark., 2010; Chang ve Wasser, 2012; Sadi ve ark., 2016). Antioksidan özellikleri açısından mantarlar steroid, fenolik bileşik, terpen ve poliketidleri içeren çeşitli sekonder metabolizma ürünlerini yapılarında biriktirebilmektedir (Popescu ve ark., 2016). Özellikle hücreler için zararlı olarak bilinen serbest radikallerin temizlenmesinde etkili polisakkaritler ve polifenoller gibi çok çeşitli moleküller de yenilebilir mantarların birçoğunun yapısında bulunmaktadır (Sun ve ark., 2016). Yıllardır mantarlara ait ekstraktların ve aktif bileşiklerin farklı aktivitelerinin ortaya konulması amacıyla birçok çalışma gerçekleştirilmiştir. Bununla birlikte, yenilebilir mantar türlerinden olan *Lycoperdon molle* Pers.'nin insan periferik lenfositleri üzerine etkilerinin henüz tespit edilmediği anlaşılmıştır. Bu nedenle mevcut çalışmada, *L. molle*'den elde edilecek metanol ve su ekstraktlarının kültüre edilmiş insan lenfositleri üzerindeki sitotoksik, sitogenetik ve oksidatif aktivite potansiyellerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Mantar Örneği

Çalışmada taze halde kurutulmuş mantar örnekleri kullanılmıştır. *L. molle* örnekleri Gaziantep ilinin, İslahiye ilçesinin, Çubuk köyündeki çam ormanından toplanmış ve oda şartlarında kurutulmuştur. Oldukça yaygın bir tür olan *L. molle* örnekleri Breitenbach ve Kränzlin (1995) ve Desjardin ve ark. (2014)'ndan yararlanarak teşhis edilmiştir.

Ekstraksiyon

Toplanan mantarlar toz haline getirildikten sonra Soxhlet ekstraktöründe metanol ve su çözücülerinde ekstraksiyon işlemine tabi tutulmuştur (Emsen ve ark., 2018). Her bir mantardan 15 g kullanılmıştır. Ekstraktlar adi süzgeç kâğıdında süzülüş ve elde edilen süzüntüler döner buharlaştırıcı ile yoğunlaştırılmıştır. Son olarak, *L. molle*'nin metanol (LMME) ve su (LMSE) ekstraktları için sırasıyla %12.64 ve %15.78 verim ile ham ekstraktlar, liyofilize işleminin ardından elde edilmiştir.

Elde edilen kuru ekstraktlar hücre kültüründe kullanılan medyum içerisinde çözdürülerek denemelerde kullanılmıştır. Her bir ekstrakt için ayrı bir stok çözelti oluşturulmuştur. Stok çözeltiler denemelerde kullanıldığında, gerekli seyreltmeler yapılarak nihai ekstrakt konsantrasyonlarının 1, 5, 10, 25, 50 ve 100 mg/L olması sağlanmıştır. Negatif kontrol (Kontrol(-)) grubu olarak kurulan kültürlerle herhangi bir ekstrakt çözeltisi eklenmemiştir.

Toplam Antioksidan Kapasite (TAK) Analizi

Test edilen mantar ekstraktları ile muamele edilen

lenfositler üzerindeki TAK değişimlerini belirlemek amacıyla ticari TAK kiti kullanılmıştır. Kitin uygulamasında amaç, kullanılan örneklerin bir serbest radikal olan 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit) (ABTS) bileşiğinin oluşumunu inhibe etmek suretiyle sahip oldukları antioksidan düzeylerini belirlemektir. Kit uygulaması, vitamin E analogu olan ve Troloks eşdeğeri olarak adlandırılan kararlı bir antioksidan ile kalibre edilmektedir (Erel, 2004). TAK denemelerinde, pozitif kontrol (Kontrol (+)) olarak organik antioksidan bileşenlerden askorbik asit kullanılmıştır.

Toplam Oksidan Durum (TOD) Analizi

Test edilen mantar ekstraktları ile muamele edilen lenfositler üzerindeki TOD değişimlerini belirlemek amacıyla ticari TOD kiti kullanılmıştır. Kit uygulamasında, örnekte mevcut olan oksidan maddeler, demir iyonu içeren kompleksleri demir iyonuna oksitlemektedir. Oksidasyon reaksiyonu, reaksiyon ortamı içinde bol miktarda mevcut olan güçlendirici moleküller ile sürdürülmektedir. Demir iyonları asidik ortamda kromojen ile renkli bir yapı meydana getirmektedir. Spektrofotometrik olarak ölçülen renk yoğunluğu, örnekte bulunan oksidan moleküllerinin toplam miktarı ile ilişkilidir (Erel, 2005). TOD denemelerinde, kontrol (+) olarak hidrojen peroksit (H₂O₂) kullanılmıştır.

Kromozom Aberasyon (KA) Analizi

Heparinize kan örnekleri herhangi bir hastalığı ve aktif enfeksiyonu bulunmayan sağlıklı üç bireyden alınmıştır. Mevcut çalışma, Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (referans numarası: 01-2019/03). Kan numuneleri, kromozom medyumuna ilave edilmiş ve 24 saat sonra ortamın nihai mantar ekstrakt konsantrasyonlarının 1, 5, 10, 25, 50 ve 100 mg/L olması sağlanacak şekilde ekstraktlar deney tüplerine eklenmiştir. Ayrıca, kontrol (-) ve kontrol (+) (mitomisin-C (C₁₅H₁₈N₄O₅, 10⁻⁷ M)) grupları da kullanılmıştır. Kültürler 72 saat 37°C'de inkübe edilmiştir. Daha sonra kolsemite maruz bırakılan hücreler santrifüjleme işlemine tabi tutulmuştur. Potasyum klorür ile muamele edilen ve sabitleme işlemi gerçekleştirilen hücre süspansiyonu santrifüj edilmiştir. Son tespit işleminden sonra, sabit bir hücre süspansiyonunun damlası temiz bir lam üzerine damlatılmış ve oda sıcaklığında karanlık bir ortamda kurumaya bırakılmıştır. Preparatlar giemsa boyasında bekletilmiştir. Daha sonra yıkanarak tekrar kurutulan her bir uygulama için, KA'nın varlığını tespit etmek amacıyla 30 adet iyi yayılmış metafaz plağı analiz edilmiş ve hücre başına düşen ortalama KA değerleri hesaplanmıştır (Turkez ve ark., 2012).

Test edilen mantar ekstraktları ve kontrol gruplarının hücre proliferasyonu üzerine etkilerini test etmek

amacıyla mitotik indeks (MI) analizi kullanılmıştır. Bu analiz, KA testinde ortaya çıkan hücre bölünme evreleri aracılığı ile gerçekleştirilmiştir (Turkez ve ark., 2012).

Mikronükleus (MN) Analizi

Heparinize kan numuneleri, kromozom medyumuna ilave edilmiş ve 24 saat sonra ortamın nihai mantar ekstrakt konsantrasyonlarının 1, 5, 10, 25, 50 ve 100 mg/L olması sağlanacak şekilde ekstraktlar deney tüplerine eklenmiştir. Ayrıca, kontrol (-) ve kontrol (+) (mitomisin-C (10⁻⁷ M)) grupları da kullanılmıştır. Kültürler 72 saat 37°C'de inkübe edilmiştir. Sitoklazın B toplam inkübasyon süresinin bitiminden 24 saat önce kültüre eklenmiştir. Daha sonra, hücreler santrifüj edilmiş ve hipotonik tedavi uygulaması ile beraber KA preparatlarının hazırlanması için yukarıda bahsedilen uygulamalar gerçekleştirilmiştir. Sabitleme işleminden sonra, kültüre edilmiş hücreler santrifüj edilmiştir. Son tespit işleminden sonra, sabit bir hücre süspansiyonunun damlası temiz bir lam üzerine damlatılmış ve oda sıcaklığında karanlık bir ortamda kurumaya bırakılmıştır. Preparatlar giemsa boyasında bekletilmiştir. MN içeren hücrelerin sayısını hesaplamak için, en az 1000 çift nükleuslu lenfosit incelenmiş ve MN frekansı tespit edilmiştir (Turkez ve ark., 2012).

Test edilen mantar ekstraktları ve kontrol gruplarının hücre nükleuslarının bölünmeleri üzerine etkilerini test etmek amacıyla nükleer bölünme indeksi (NBİ) analizi kullanılmıştır. Bu analiz, MN testinde ortaya çıkan farklı sayıda nükleus içeren hücreler aracılığı ile gerçekleştirilmiştir (Turkez ve ark., 2012).

Verilerin Analizi

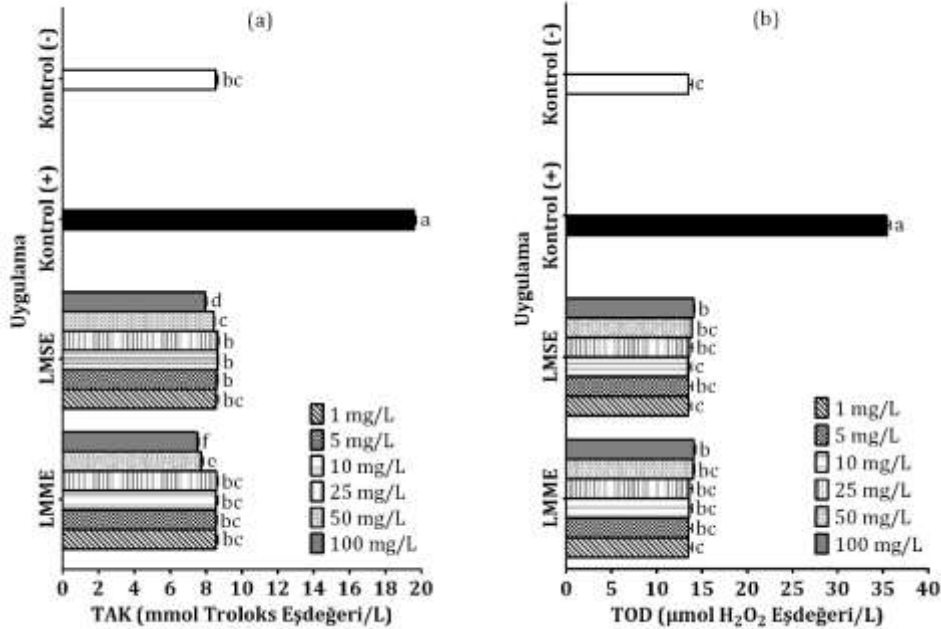
Uygulamalar neticesinde ortaya çıkan sonuçların istatistiksel analizleri SPSS 21.0 istatistik veri paketi aracılığı ile gerçekleştirilmiştir. Veriler arasındaki istatistiksel farklılıkların belirlenmesinde (%95 güven aralığında) post-hoc Duncan çoklu karşılaştırma testinden yararlanılmıştır. Grafik çizimleri GraphPad Prism 6.0 yazılımı ile gerçekleştirilmiştir.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Lycoperdon molle'nin su ve metanol ekstraktlarının farklı konsantrasyonları (1, 5, 10, 25, 50 ve 100 mg/L) ile muamele edilen lenfositlerdeki toplam antioksidan kapasite ve toplam oksidan durum değişimleri TAK ve TOD analizleri ile gerçekleştirilmiştir. Bu analiz türleri sayesinde, ilgili mantar ekstraktlarının bünyesinde barındırdıkları antioksidan bileşenler aracılığı ile hücreler üzerinde sebep oldukları oksidatif değişimler gözlenmiştir. TAK değişimi göz önüne alındığında, LMME ve LMSE'nin 1-25 mg/L konsantrasyonlu uygulamalarının sebep olduğu TAK düzeylerinin (8.55-8.66 mmol Troloks Eşdeğeri/L)

kontrol (-) tarafından ortaya çıkarılan TAK oranından (8.55 mmol Troloks Eşdeğeri/L) yüksek oldukları tespit edilmiştir. Bununla birlikte ilgili denemelerin TAK düzeyleri ile kontrol (-) arasında istatistiki açıdan ($p > 0.05$) fark bulunmamıştır. LMME'nin 50-100 mg/L (sırasıyla, 7.72 ve 7.52 mmol Troloks Eşdeğeri/L) ve LMSE'nin ise yalnızca 100 mg/L'lik (7.95 mmol Troloks Eşdeğeri/L) konsantrasyona sahip uygulamalarının kontrol (-)'ye kıyasla hücrelerdeki TAK düzeyini önemli derecede ($p < 0.05$) düşürdüğü belirlenmiştir. Kontrol (+) uygulaması ise sahip olduğu TAK değeri (19.62 mmol Troloks Eşdeğeri/L) ile diğer tüm deneme gruplarından yüksek ve önemli derecede ($p < 0.05$) farklı sonuca ulaşmıştır (Şekil 1a). Farklı mantar türlerinin sahip oldukları antioksidan bileşenler aracılığı ile hücreler üzerinde antioksidan kapasiteyi artırıcı etkileri farklı çalışmalar ile ortaya konulmuştur. *Agaricus bisporus* (Lange) Sing kültür mantarı ekstraktının kültüre edilmiş insan hepatik ve nöronal hücrelerde H_2O_2 tarafından indüklenen oksidatif strese karşı antioksidan özellikleri sayesinde koruyucu etki gösterdiği saptanmıştır (Guizani ve Waly, 2012). Yavru hamster böbrek fibroblastları üzerinde gerçekleştirilen bir çalışmada ise, *Pleurotus eryngii* (DC. Ex Fr.) Quel ve *Auricularia auricula-judae* (Bull.) Quel mantar ekstraktlarının H_2O_2 ile indüklenen oksidatif hücre hasarına karşı koruyucu

etki gösterdiği rapor edilmiştir (Oke ve Aslim, 2011). Aynı zamanda farklı mantar türlerinin metal şelatlama, indirgeme gücü, serbest radikal yakalama gibi farklı antioksidan aktivite göstermeleri yönünde çok sayıda bilimsel çalışma literatürde mevcuttur (Yeh ve ark., 2011; Usharani ve ark., 2013; Liu ve ark., 2014). Mantarların sahip olduğu antioksidan aktivitelerinin çoğunlukla yapılarında bulunan fenolik bileşiklerden kaynaklandığına dair bulgular da birçok bilim insanı tarafından rapor edilmiştir (Chen ve ark., 2016; Khatua ve ark., 2017; Khatua ve Acharya, 2018). Hücrelerin TOD düzeyleri incelendiğinde, farklı konsantrasyondaki tüm uygulamaların kontrol(+)'ya kıyasla çok düşük seviyede kaldığı belirlenmiştir. Ayrıca kontrol(-)'nin hücreler üzerinde sebep olduğu TOD değerinden (13.50 $\mu\text{mol } H_2O_2$ Eşdeğeri/L) daha yüksek seviyede verilere sahip olan ekstraktlar da dikkat çeken bir diğer husustur. LMME ve LMSE'nin 100 mg/L'lik (14.09 $\mu\text{mol } H_2O_2$ Eşdeğeri/L) uygulamalarının hücrelerdeki TOD oranını kontrol (-)'ye kıyasla $p < 0.05$ düzeyinde yükselttiği saptanmıştır. Bununla beraber, her iki ekstraktın 1-50 mg/L konsantrasyonlu uygulamalarının hücrelerdeki TOD düzeylerini anlamlı düzeyde ($p > 0.05$) değiştirmedikleri çalışma sonuçlarına yansımıştır (Şekil 1b).



Şekil 1. *Lycopodium molle*'nin su ve metanol ekstraktları ile muamele edilen lenfositlerde meydana gelen (a) TAK ve (b) TOD düzeyleri (Ortalama \pm Standart Sapma, $n = 3$) (Farklı harfler ile gösterilen değerler $p < 0.05$ düzeyinde birbirinden farklıdır.) LMME: *L. molle*'nin metanol ekstraktı; LMSE: *L. molle*'nin su ekstraktı; TAK: Toplam antioksidan kapasite; TOD: Toplam oksidan durum

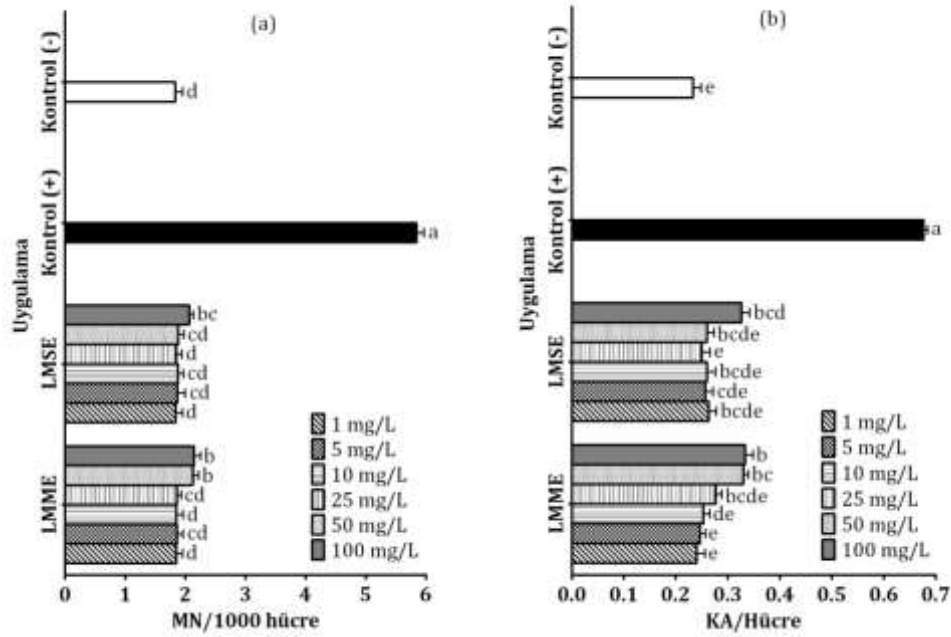
Daha önce gerçekleştirilen çalışmalarda, yenilebilir mantar türleri üzerinde ölçümü gerçekleştirilen TOD seviyelerinin kritik seviyelerde olmadığı ve ilgili mantarların antioksidan kapasitelerinin yüksekliği

tespit edilmiştir (Kaygusuz ve ark., 2017; Sevindik, 2018). Hiperkolesterolemik sıçanları üzerinde gerçekleştirilen bir çalışmada ise, *Lentinus edodes* (Berk.) Singer mantarı ile muamele edilen diyet

uygulama sonrasında sonra TOD seviyesinin önemli derecede azaldığı rapor edilmiştir (Nisar ve ark., 2017). Yenilebilir farklı mantar türlerinin hücrelerde ortaya çıkan oksidatif stresi de inhibe ettiğine dair çok sayıda çalışma araştırmacılar tarafından ortaya çıkarılmıştır (Jiang ve ark., 2011; Wang ve ark., 2014; Jovanovic ve ark., 2017). Test edilen mantar ekstraktlarının farklı konsantrasyonları (1, 5, 10, 25, 50 ve 100 mg/L) ile muamele edilen lenfositlerde meydana gelen genotoksisite seviyesinin değerlendirilmesi amacıyla MN ve KA analizlerinden yararlanılmıştır. MN denemelerinde en yüksek frekansa kontrol (+) uygulaması sahip olmuş ve bu uygulama tarafından ortaya çıkarılan MN değeri (5.84 MN/1000 Hücre), diğer tüm ekstrakt uygulamalarının sebep olduğu MN değerlerinden önemli derecede ($p < 0.05$) farklılık göstermiştir. LMME'nin 50 ve 100 mg/L'lik (2.12-2.14 MN/1000 hücre) ve LMSE'nin ise yalnızca 100 mg/L'lik (2.06 MN/1000 hücre) konsantrasyonu, kontrol (+) tarafından sebep olunan MN frekansından oldukça düşük değerlere sahip olduğu belirlenmiştir. Ek olarak, LMME'nin 50 ve 100 mg/L'lik ve LMSE'nin ise 100 mg/L'lik konsantrasyon değerleri diğer tüm uygulama sonuçlarına kıyasla istatistiksel açıdan ($p < 0.05$) farklılık gösterdikleri

belirlenmiştir. Test edilen diğer tüm konsantrasyonların lenfositlerdeki MN frekansını anlamlı düzeyde ($p > 0.05$) değiştirmedikleri çalışma sonucunda belirlenmiştir (Şekil 2a).

Çalışmada, mantar ekstraktları tarafından hücreler üzerinde sebep olunan KA analizinden elde edilen sonuçların MN testi sonuçları ile benzer olduğu belirlenmiştir. En yüksek KA frekansına kontrol (+) uygulaması sahip olmuş ve bu uygulama tarafından ortaya çıkarılan hücre başına KA değeri (0.67), diğer tüm ekstrakt uygulamalarının sebep olduğu KA değerlerinden önemli derecede ($p < 0.05$) farklılık göstermiştir. Kontrol (+)'dan sonra göze çarpan en yüksek değerlerin LMME'nin 50 ve 100 mg/L'lik (0.33 KA/Hücre) ve LMSE'nin ise yalnızca 100 mg/L'lik (0.32 KA/Hücre) konsantrasyonlara ait olduğu tespit edilmiştir. Aynı zamanda, bu değerler ile kontrol (-) değeri arasındaki farkın %95 güven aralığında anlamlı olduğu çalışma sonucunda belirlenmiştir. Diğer tüm ekstrakt uygulamaları tarafından lenfositler üzerinde ortaya çıkarılan KA verileri ile kontrol (-) verisi arasında istatistiksel açıdan ($p > 0.05$) önemli derecede bir fark tespit edilmemiştir (Şekil 2b).



Şekil 2. *Lycopodium molle*'nin su ve metanol ekstraktları ile muamele edilen lenfositlerde (a) MN ve (b) KA frekansları (Ortalama ± Standart Sapma, $n = 3$) (Farklı harfler ile gösterilen değerler $p < 0.05$ düzeyinde birbirinden farklıdır.) LMME: *L. molle*'nin metanol ekstraktı; LMSE: *L. molle*'nin su ekstraktı; MN: Mikronükleus; KA: Kromozom aberasyonu

Yenilebilir mantar türlerinin sağlıklı hücreler üzerinde genetik hasar oluşturmaması büyük önem taşımaktadır. Bu nedenle bu mantar türleri ile geçmiş yıllarda çok sayıda çalışma gerçekleştirilmiş ve antijenotoksik aktiviteleri çalışma sonuçlarına yansımıştır (Pachón-Peña ve ark., 2009; Kulshreshtha

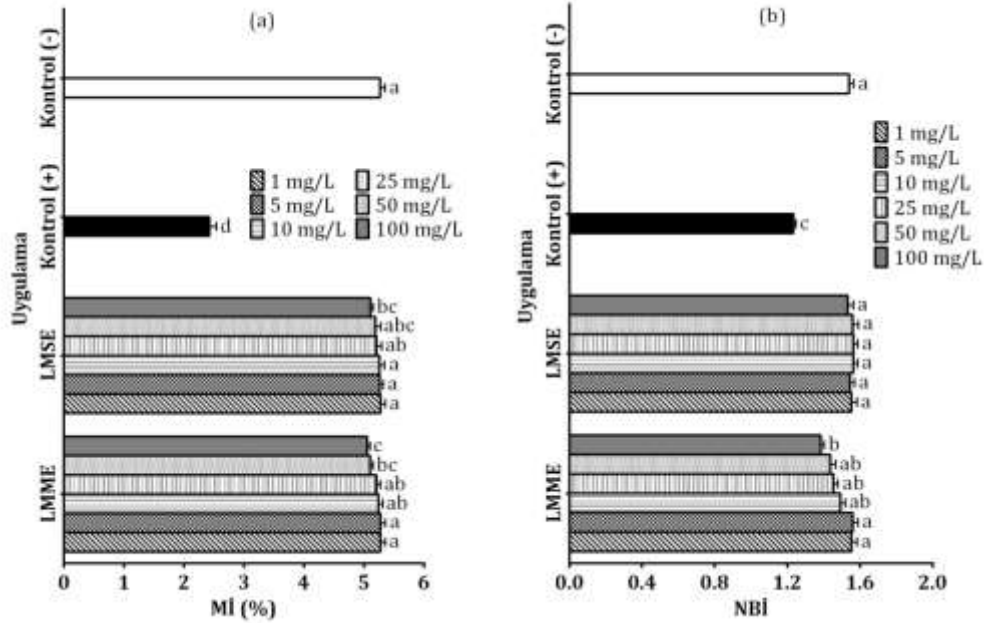
ve ark., 2011). Ayrıca yenilebilir mantar türleri haricinde diğer yabancı türlerin birçoğundan elde edilen ekstraktlar veya saf bileşenler aracılığı ile hücrelerde meydana gelen genetik hasarların inhibe edildiğine veya mantarların antijenotoksik potansiyelinin olduğuna dair çalışmalar da literatürde

mevcuttur. *Agaricus blazei* Murrill mantarından elde edilen su ekstraktının antijenotoksik ve antimutajenik etkilere sahip olduğu belirlenirken aynı zamanda anti-viral özelliği de gözlenmiştir (Sorimachi ve Koge, 2008). Gerçekleştirilen farklı bir çalışmada, *Psathyrella candolleana* (Fr.) Maire ve *Agaricus bisporus*'un sulu ekstraktlarının, doksorubisin maddesinin neden olduğu oksidatif DNA hasarını önleyebilen biyoaktif bileşikler içerdiği KA ve MN analizleri ile ortaya çıkarılmıştır (Al-Habib ve ark., 2018). *Cordyceps sinensis* (Berk.) Sacc. ile gerçekleştirilen bir çalışmada ise, araştırmacılar adı geçen mantarın oksidatif strese karşı etkili bir uygulama olarak kullanılabileceğini göstermiştir. DNA hasarında ortaya çıkan azalmanın ise antioksidan özellik ve DNA onarımının uyarılması ile ilişkili olabileceği savunulmuştur (Vasiljevic ve ark., 2016). İnsan lenfositleri üzerinde timol kaynaklı DNA hasarına karşı *Agaricus brasiliensis* Fr.'in etanol ekstraktının koruyucu aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Radaković ve ark., 2015).

LMME ve LMSE uygulamalarının lenfosit proliferasyonu üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesi amacıyla Mİ ve NBİ analizlerinden yararlanılmıştır. Mİ denemelerinde en düşük veriye kontrol (+) uygulaması sahip olmuştur ve bu uygulama

tarafından ortaya çıkarılan Mİ değeri (%2.42), diğer tüm ekstrakt uygulamalarının sebep olduğu Mİ değerlerinden önemli derecede ($p < 0.05$) farklılık göstermiştir. Her iki mantar denemesinde de konsantrasyon ve Mİ aktivite arasında negatif korelasyon olduğu gözlenmiştir. Lenfosit proliferasyonunu en yüksek derecede inhibe eden uygulamanın LMME'nin 50 ve 100 mg/L (sırasıyla, %5.10 ve 5.05) ve LMSE'nin ise yalnızca 100 mg/L (%5.11) konsantrasyonlu çözeltiler olduğu tespit edilmiştir. Bu konsantrasyonlar Mİ oranını kontrol (-)'ye kıyasla anlamlı derecede ($p < 0.05$) düşürmüştür. Diğer tüm ekstrakt denemeleri ile kontrol (-) arasında istatistiksel açıdan ($p > 0.05$) anlamlı bir fark tespit edilmemiştir (Şekil 3a).

LMME uygulaması haricinde LMSE'nin farklı konsantrasyonlu uygulamalarının hücrelerde tespit edilen NBİ'yi kontrol (-)'ye kıyasla anlamlı derecede ($p > 0.05$) değiştirmedeği görülmüştür. LMME denemelerinde ise, NBİ oranında konsantrasyona bağlı bir azalma gözlenmekle beraber, yalnızca maksimum konsantrasyonlu (100 mg/L) uygulamanın NBİ düzeyini (1.38) kontrol (-)'ye kıyasla anlamlı derecede ($p < 0.05$) düşürdüğü tespit edilmiştir (Şekil 3b).



Şekil 3. *Lycopodium molle*'nin su ve metanol ekstraktları ile muamele edilen lenfositlerde (a) Mİ ve (b) NBİ oranları (Ortalama \pm Standart Sapma, $n = 3$) (Farklı harfler ile gösterilen değerler $p < 0.05$ düzeyinde birbirinden farklıdır.) LMME: *L. molle*'nin metanol ekstraktı; LMSE: *L. molle*'nin su ekstraktı; Mİ: Mitotik indeks; NBİ: Nükleer bölünme indeksi

Birçok tıbbi mantar türünün genellikle farklı kanser hücre hatları üzerinde antiproliferatif etkisi gözlenmekle beraber, sağlıklı hücreler üzerinde de sitotoksik etki göstermediğine dair çeşitli çalışmalar mevcuttur. *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst. polisakkarit peptidinin hücre döngüsü tutulmasını

indükleyerek ve apoptozu teşvik ederek insan gliomu U251 proliferasyonunu doğrudan inhibe ettiği saptanmıştır (Wang ve ark., 2018). Bir diğer çalışmada, etanol çözücüsü kullanılarak ekstrakte edilen üç yenilebilir mantar olan, *Auricularia auricula-judae* ve *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singer'nun lösemi

hücreleri üzerindeki antiproliferatif etkileri ortaya çıkarılmıştır (Panthong ve ark., 2016). *Volvariella volvacea* (Bull. ex Fr.) Sing'dan izole edilen lektinin, doz ve zamana bağlı bir şekilde, lenfosit proliferasyonuna yol açan, aktivasyon molekülleri ve aktif T hücrelerinin hızlı ekspresyonunun indüklediğine dair moleküler düzeyde bir çalışma da farklı araştırmacılar tarafından gerçekleştirilmiştir (Sze ve ark., 2004).

Çalışma sonucunda, kurutulmuş taze *L. molle* örneklerinden elde edilen metanol ve su ekstraktlarının 1-25 mg/L'lik konsantrasyonlardaki uygulamaların insan lenfositleri üzerinde mutajenik etki göstermediği tespit edilmiştir. Ayrıca her iki ekstraktın da, antioksidan özellik gösterdiği belirlenmiştir. Sonuç olarak, gerçekleştirilen bu çalışma ile yenilebilir bir mantar olan *L. molle*'nin doğal yollarla oluşturulan antioksidan tedaviler kapsamında biyo-kaynak olarak kullanılabilme potansiyeline sahip olduğunu öngörmekteyiz.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Birimi tarafından 13-YL-17 numaralı proje ile desteklenmiştir. Desteklerinden dolayı Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi BAP Birimi'ne teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

- Al-Habib MN, Holliday J, Aladahmy MS 2018. *Psathyrella candolleana* and *Agaricus bisporus* Extracts Provide Protection against DNA Oxidative Damage Induced by Doxorubicin. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 20(8): 749–759.
- Bartesaghi S, Radi R 2018. Fundamentals on the Biochemistry of Peroxynitrite and Protein Tyrosine Nitration. *Redox Biology*, 14: 618–625.
- Boa E. 2004. Wild Edible Fungi, a Global Overview of Their Use and Importance to People, Non-Wood Forest Products, Rome.
- Breitenbach J, Kränzlin F 1995. Fungi of Switzerland, Verlag Mykologia, Lucerne.
- Chang ST, Wasser SP 2012. The Role of Culinary-Medicinal Mushrooms on Human Welfare with a Pyramid Model for Human Health. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 14(2): 95–134.
- Chen B-X, Wei T, Ye Z-W, Yun F, Kang L-Z, Tang H-B, Guo L-Q, Lin J-F 2018. Efficient CRISPR-Cas9 Gene Disruption System in Edible-Medicinal Mushroom *Cordyceps militaris*. *Frontiers in Microbiology*, 9(JUN): 1157.
- Chen J-L, Li Y, Lu K-K, Xia C-Y, Zhang X-L, Ming J 2016. Effects of Grinding Methods on the Antioxidant and Antiproliferative Activities of Phenolics in Mushroom Caps (*Lentinus edodes*). *Modern Food Science and Technology*, 32(12): 191–197.
- Cheung PCK 2010. The Nutritional and Health Benefits of Mushrooms. *Nutrition Bulletin*, 35: 292–299.
- Desjardin DE, Wood MG, Stevens FA 2014. *California Mushrooms: The Comprehensive Identification Guide*, Timber Press, London.
- Emsen B, Aslan A, Kaya A 2018. Biological Activities of *Platismatia glauca* (L.) W.L.Culb. & C.F.Culb. on Human Lymphocytes. *Süleyman Demirel University Journal of Natural and Applied Sciences*, 22(2): 840–848.
- Erel O 2004. A Novel Automated Direct Measurement Method for Total Antioxidant Capacity Using a New Generation, More Stable ABTS Radical Cation. *Clinical Biochemistry*, 37(4): 277–285.
- Erel O 2005. A New Automated Colorimetric Method for Measuring Total Oxidant Status. *Clinical Biochemistry*, 38(12): 1103–1111.
- Fuchs-Tarlovsky V 2013. Role of Antioxidants in Cancer Therapy. *Nutrition*, 29(1): 15–21.
- Gallelli CA, Calcagnini S, Romano A, Koczwara JB, de Ceglia M, Dante D, Villani R, Giudetti AM, Cassano T, Gaetani S 2018. Modulation of the Oxidative Stress and Lipid Peroxidation by Endocannabinoids and Their Lipid Analogues. *Antioxidants*, 7(7): 93.
- Guillamón E, García-Lafuente A, Lozano M, Arrigo M, Rostagno MA, Villares A, Martínez JA 2010. Edible Mushrooms: Role in the Prevention of Cardiovascular Diseases. *Fitoterapia*, 81: 715–723.
- Guizani N, Waly MI 2012. Mushroom Extract Protects against Hydrogen Peroxide-Induced Toxicity in Hepatic and Neuronal Human Cultured Cells. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 15(22): 1069–1074.
- Jiang Y, Wong JH, Fu M, Ng TB, Liu ZK, Wang CR, Li N, Qiao WT, Wen TY, Liu F 2011. Isolation of Adenosine, Iso-Sinensetin and Dimethylguanosine with Antioxidant and HIV-1 Protease Inhibiting Activities from Fruiting Bodies of *Cordyceps militaris*. *Phytomedicine*, 18(2–3): 189–193.
- Jovanovic JA, Mihailovic M, Uskokovic AS, Grdovic N, Dinic S, Poznanovic G, Mujic I, Vidakovic M 2017. Evaluation of the Antioxidant and Antiglycation Effects of *Lactarius deterrimus* and *Castanea sativa* Extracts on Hepatorenal Injury in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Frontiers in Pharmacology*, 8(OCT): 793.
- Kaygusuz O, Kaygusuz M, Dodurga Y, Seçme M, Herken EN, Gezer K 2017. Assessment of the Antimicrobial, Antioxidant and Cytotoxic Activities of the Wild Edible Mushroom *Agaricus lanipes* (F.H. Möller & Jul. Schäff.) Hlaváček. *Cytotechnology*, 69(1): 135–144.
- Khatua S, Acharya K 2018. Functional Ingredients and Medicinal Prospects of Ethanol Extract from *Macrocybe lobayensis*. *Pharmacognosy Journal*, 10(6): 1154–1158.
- Khatua S, Ghosh S, Acharya K 2017. *Laetiporus*

- sulphureus* (Bull.: Fr.) Murr. as Food as Medicine. *Pharmacognosy Journal*, 9(6): S1–S15.
- Kulshreshtha S, Mathur N, Bhatnagar P 2011. Pros and Cons of *P. florida* Cultivation for Managing Waste of Handmade Paper and Cardboard Industries. *IIOAB Journal*, 2(1): 45–48.
- Liaudet L, Rosenblatt-Velin N, Pacher P 2013. Role of Peroxynitrite in the Cardiovascular Dysfunction of Septic Shock. *Current Vascular Pharmacology*, 11(2): 196–207.
- Liu Y, Du YQ, Wang JH, Zha XQ, Zhang JB 2014. Structural Analysis and Antioxidant Activities of Polysaccharide Isolated from Jinqian Mushroom. *International Journal of Biological Macromolecules*, 64: 63–68.
- López-Jaén AB, Valls-Bellés V, Codoñer-Franch P 2013. Antioxidants: A Review. *Journal of Pediatric Biochemistry*, 3(3): 123–128.
- Manzi P, Gambelli L, Marconi S, Vivanti V, Pizzoferrato L 1999. Nutrients in Edible Mushrooms: An Interspecies Comparative Study. *Food Chemistry*, 65: 477–482.
- Nallathamby N, Phan C-W, Seow SL-S, Baskaran A, Lakshmanan H, Abd Malek SN, Sabaratnam V 2018. A Status Review of the Bioactive Activities of Tiger Milk Mushroom *Lignosus rhinocerotis* (Cooke) Ryvarden. *Frontiers in Pharmacology*, 8(JAN): 998.
- Nisar J, Mustafa I, Anwar H, Sohail MU, Hussain G, Ullah MI, Faisal MN, Bukhari SA, Basit A 2017. Shiitake Culinary-Medicinal Mushroom, *Lentinus edodes* (Agaricomycetes): A Species with Antioxidant, Immunomodulatory, and Hepato protective Activities in Hypercholesterolemic Rats. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 19(11): 981–990.
- Oke F, Aslim B 2011. Protective Effect of Two Edible Mushrooms against Oxidative Cell Damage and Their Phenolic Composition. *Food Chemistry*, 128(3): 613–619.
- Pachón-Peña G, Reyes-Zurita FJ, Deffieux G, Azqueta A, de Cerain AL, Centelles JJ, Creppy EE, Cascante M 2009. Antiproliferative Effect of Flavomannin-6,6'-Dimethylether from *Tricholoma Equestre* on Caco-2 Cells. *Toxicology*, 264(3): 192–197.
- Panthong S, Boonsathorn N, Chuchawankul S 2016. Antioxidant Activity, Anti-Proliferative Activity, and Amino Acid Profiles of Ethanolic Extracts of Edible Mushrooms. *Genetics and Molecular Research*, 15(4): gmr15048886.
- Popescu M-L, Costea T, Nencu I, Dușu LE, Gîrd CE 2016. Polyphenols Contents and Antioxidant Activity of Some Romanian Wild Edible Mushrooms. *Farmacia*, 64(2): 231–236.
- Radaković M, Stevanović J, Soković M, Radović D, Van Griensven LJLD, Stanimirović Z 2015. Evaluation of the Antigenotoxic Effects of the Royal Sun Mushroom, *Agaricus brasiliensis* (Higher Basidiomycetes) in Human Lymphocytes Treated with Thymol in the Comet Assay. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 17(4): 321–330.
- Rocha M, Hernandez-Mijares A, Garcia-Malpartida K, Bañuls C, Bellod L, Victor VM 2010. Mitochondria-Targeted Antioxidant Peptides. *Current Pharmaceutical Design*, 16(28): 3124–3131.
- Sadi G, Kaya A, Yalcin HA, Emsen B, Kocabas A, Kartal DI, Altay A 2016. Wild Edible Mushrooms from Turkey as Possible Anticancer Agents on HepG2 Cells Together with Their Antioxidant and Antimicrobial Properties. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 18(1): 83–95.
- Sevindik M 2018. Investigation of Oxidant and Antioxidant Status of Edible Mushroom *Clavariadelphus truncatus*. *The Journal of Fungus*, 9(2): 165–168.
- Sohaib M, Anjum FM, Sahar A, Arshad MS, Rahman UU, Imran A, Hussain S 2017. Antioxidant Proteins and Peptides to Enhance the Oxidative Stability of Meat and Meat Products: A Comprehensive Review. *International Journal of Food Properties*, 20(11): 2581–2593.
- Sorimachi K, Koge T 2008. *Agaricus blazei* Water Extracts as Alternative Medicines. *Current Pharmaceutical Analysis*, 4(1): 39–43.
- Sun L-P, Chang W-D, Bao C-J, Su X-J, Sun Y 2016. Nutritive Components and Antioxidative Characteristics of Six Wild Edible Boletus Mushrooms from Yunnan Province. *Modern Food Science and Technology*, 32(12): 279–286.
- Sze SCW, Ho JCK, Liu WK 2004. *Volvariella volvacea* Lectin Activates Mouse T Lymphocytes by a Calcium Dependent Pathway. *Journal of Cellular Biochemistry*, 92(6): 1193–1202.
- Turkez H, Aydin E, Aslan A 2012. *Xanthoria elegans* (Link) (Lichen) Extract Counteracts DNA Damage and Oxidative Stress of Mitomycin C in Human Lymphocytes. *Cytotechnology*, 64(6): 679–686.
- Usharani N, Jayakumar GC, Kanth S V., Rao JR 2013. 'In Vitro' Evaluation of the Antioxidant Activity in Relation with Structure and Kinetic Properties of Scleraldehyde. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 2(1): 22–29.
- Valko M, Jomova K, Rhodes CJ, Kuča K, Musílek K 2016. Redox- and Non-Redox-Metal-Induced Formation of Free Radicals and Their Role in Human Disease. *Archives of Toxicology*, 90(1): 1–37.
- Vasiljevic J, Zivkovic L, Cabarkapa A, Bajic V, Djelic N, Spremo-Potparevic B 2016. *Cordyceps sinensis*: Genotoxic Potential in Human Peripheral Blood Cells and Antigenotoxic Properties against Hydrogen Peroxide by Comet Assay. *Alternative Therapies in Health and Medicine*, 22(8): 24–31.
- Wang C, Lin D, Chen Q, Lin S, Shi S, Chen C 2018. Polysaccharide Peptide Isolated from Grass-Cultured *Ganoderma lucidum* Induces Anti-

- Proliferative and Pro-Apoptotic Effects in the Human U251 Glioma Cell Line. *Oncology Letters*, 15(4): 4330–4336.
- Wang CR, Zhou R, Ng TB, Wong JH, Qiao WT, Liu F 2014. First Report on Isolation of Methyl Gallate with Antioxidant, Anti-HIV-1 and HIV-1 Enzyme Inhibitory Activities from a Mushroom (*Pholiota adiposa*). *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 37(2): 626–637.
- Wojcik M, Burzynska-Pedziwiatr I, Wozniak LA 2010. A Review of Natural and Synthetic Antioxidants Important for Health and Longevity. *Current Medicinal Chemistry*, 17(28): 3262–3288.
- Yang X, Song W, Liu N, Sun Z, Liu R, Liu QS, Zhou Q, Jiang G 2018. Synthetic Phenolic Antioxidants Cause Perturbation in Steroidogenesis *In Vitro* and *In Vivo*. *Environmental Science and Technology*, 52(2): 850–858.
- Yeh J, Hsieh L, Wu K, Tsai C 2011. Antioxidant Properties and Antioxidant Compounds of Various Extracts from the Edible Basidiomycete *Grifola frondosa* (Maitake). *Molecules*, 16: 3197–3211.