



***Lentinula edodes* Ekstraktının Sıçan Karaciğer Dokusu Üzerine İnflamatuar ve Apoptotik Etkisinin Değerlendirilmesi**

Özlem Coşkun^{1*}, Özlem Öztöpuş², Başak Büyük³

¹Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı, Çanakkale, Türkiye (ORCID: 0000-0002-0741-5001)

²Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı, Çanakkale, Türkiye (ORCID: 0000-0002-1373-6311)

³İzmir Demokrasi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye (ORCID:0000-0003-1817-2241)

(İlk Geliş Tarihi 2 Temmuz 2020 ve Kabul Tarihi 27 Ağustos 2020)

(DOI:10.31590/ejosat.762597)

ATIF/REFERENCE: Coşkun, Ö., Öztöpuş, Ö. & Büyük, B. (2020). *Lentinula edodes* Ekstraktının Sıçan Karaciğer Dokusu Üzerine İnflamatuar ve Apoptotik Etkisinin Değerlendirilmesi, *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (19), 803-808.

Öz

Lentinula edodes (Shiitake mantarı) uzak Doğu ülkelerinde binlerce yıldır gıda ve ilaç olarak yetiştirilip kullanılmaktadır. Günümüzde dünya çapında en fazla tüketilen ikinci mantar türüdür. Dünya genelinde 100,000 veya daha fazla mantar türünün 100'den fazlasının toksik olduğu tahmin edilmektedir. Mantarlar, dünyanın pek çok yerinde değerli bir gıda maddesidir, ancak bazı türleri insanlarda zararlı etkilere neden olabilir, bazı durumlarda potansiyel olarak ölümcül olabilir. Son yıllarda mantar zehirlenmesi ile ilişkili kabul edilen klinik sendromların kapsamı genişlemiştir. Shiitake mantar türünün toksik etkisi konusunda çok az araştırmaya rastlanmış olup, konuyla ilgili bilimsel araştırmalara ihtiyaç vardır. Bu mantar türü yenilebilir, ancak bazı kişilerde küçük yan etkiler veya alerjik reaksiyonlar görülebilir. Literatürde shiitakeye bağlı toksikodermi ve shiitake dermatit vakaları bildirilmiştir. Shiitake mantar sporları alerjik reaksiyonlara neden olduğu tespit edilmiştir. Çalışmamızın amacı sıçanlara farklı dozda uygulanan shiitake mantarının karaciğer üzerine toksik etkisi olup olmadığını araştırmaktır. Çalışmada sıçanlara farklı dozlarda (düşük ve yüksek dozda) uygulanan Shiitake mantar ekstraktının karaciğere etkisi; TNF- α (inflamatuar belirteç), Bax, Bcl-2'nin (apoptotik belirteç) ekspresyon değişimleri incelenerek ve histopatolojik analizleri yapılarak değerlendirildi. Gruplara ait Bax, Bcl-2, TNF- α ekspresyon düzeyleri incelendiğinde Bax ekspresyon seviyesinde düşük doz ile kontrol grubu karşılaştırıldığında anlamlı bir düşüş izlendi ($p < 0,05$). Bcl-2 ekspresyon seviyesinde kontrol grubu ve yüksek doz grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir düşüş izlendi ($p < 0,05$). TNF- α ekspresyon seviyesinde yüksek doz ve kontrol grubu karşılaştırıldığında yine anlamlı bir düşüş izlendi ($p < 0,05$). Histopatolojik olarak gruplarda hidropik dejenerasyon ve sinüzoidal dilatasyon parametreleri değerlendirildi. Hidropik dejenerasyon ve sinüzoidal dilatasyon düşük dozda ve yüksek dozda, kontrol grubuna göre yüksek bulundu. Sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p = 0,0$ ve $p = 0,021$). Gruplara ait H&E boyama sonrasında Shiitake mantar ekstraktının doza bağlı olarak yapısal değişikliklerde hafif derecede artış saptanmıştır. Literatürde *Lentinula edodes* ekstraktının ishal ve deri döküntüsü gibi hafif yan etkilere yol açtığı, 1 hafta boyunca 50 mg/gün büyük dozlarda bile akut toksik olduğuna dair hiçbir kanıt bulunmamıştır. Sonuç olarak çalışmamızda shiitake mantarı uygulanan dozlarda sıçan karaciğer dokusuna gerek apoptotik belirteçlerin ekspresyonu bakımından gerekse histopatolojik olarak zararlı etki göstermemiştir.

Anahtar Kelimeler: *Lentinula edodes*, TNF- α , Bcl-2, Bax, karaciğer

Evaluation of Inflammatory and Apoptotic Effect of *Lentinula edodes* Extract on Rat Liver Tissue

Abstract

Lentinula edodes (Shiitake mushroom) have been grown and used as food and medicine in the Far East for thousands of years. Today, shiitake mushroom is the second most consumed mushroom species in the world and is one of the most grown edible mushrooms in the world. It is estimated that more than 100 of 100,000 or more fungal species worldwide are toxic. Mushrooms are a valuable foodstuff in many parts of the world, but some species can cause harmful effects on humans, in some cases potentially fatal. In recent years, the scope of clinical syndromes considered to be associated with fungal poisoning has expanded. Few studies have been found on the toxic effects of Shiitake mushroom species and scientific research is needed. This type of fungus is edible, but some people may experience minor side effects or allergic reactions. Toxicodermis and shiitake dermatitis cases have been reported in the

*Sorumlu Yazar:ÇanakkaleOnsekiz Mart Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyofizik Bölümü, Çanakkale, Türkiye, ORCID: 0000-0002-0741-5001, ozlemcoskun@comu.edu.tr

literature. Shiitake mushroom spores have been found to cause allergic reactions. The aim of this study was to investigate the toxic effects of shiitake fungus administered to rats on liver. In this study, the effect of Shiitake mushroom extract applied to rats at different doses (low and high doses) on liver was evaluated by examining expression changes of TNF- α (inflammatory marker), Bax, Bcl-2 (apoptotic marker) and histopathological analysis. When the Bax, Bcl-2, TNF- α expression levels of the groups were examined, a significant decrease was observed in the Bax expression level when the low dose was compared with the control group ($p < 0.05$). There was a significant decrease in Bcl-2 expression level compared to the control group and the high dose group ($p < 0.05$). When the high dose and control group were compared in TNF- α expression level, a significant decrease was observed again ($p < 0.05$). Histopathologically, hydropic degeneration and sinusoidal dilation parameters were evaluated in the groups. Hydropic degeneration and sinusoidal dilation were found at low dose and high dose compared to the control group. Results were statistically significant ($p = 0.0$ and $p = 0.021$). After the H&E staining of the groups, a slight increase was observed in the structural changes depending on the dose of Shiitake fungus extract. In conclusion, there is no evidence in the literature that *L. edodes* extract causes mild side effects such as diarrhea and skin rash, and is acute toxic even at large doses of 50 mg / day for 1 week. As a result, in our study, rat liver tissue did not show any harmful effects on the expression of apoptotic markers or histopathologically at doses applied with shiitake mushroom.

Keywords: *Lentinula edodes*, TNF- α , Bcl-2, Bax, liver

1. Giriş

Mantarlar sahip olduğu besin ve tıbbi özelliklerinden dolayı bileşimlerinde bulunan etken maddelerin ekstrakte edilmesiyle birçok hastalığın tedavisinde veya önlenmesinde etkin olarak kullanılmaktadır (Sarıkürkçü vd., 2004). Bazı mantar türleri içerdikleri bileşenler sayesinde antitümör, bağışıklık düzenleyici, kardiyovasküler ve antimikrobiyal özelliğe sahiptirler (Karmali, 2008). Tıbbi mantarların biyolojik olarak aktif bileşenlerinin tanımlanması ve bunların tedavi ve bağışıklık sistemi modülatörleri olarak kullanılması konusunda önemli bilgi ve araştırmalar vardır. Esas olan yenilebilir mantarların aktif bileşenlerinin, bütün mantarları tüketirken veya bu mantarlardan elde edilen ekstraktları in vitro kullanırken fayda sağlamak için yeterli miktarlarda bulunup bulunmadığıdır. Özellikle de yenilen mantar türlerinin toksikolojik yan etkileri konusunda endişeler bulunmaktadır. Alınan miktara bağlı olarak ölümcül olabilen farklı sendromlara neden olabilirler (Yu vd., 2009).

Shiitake mantarı (*Lentinula edodes*), Asya'da yetiştirilen dünya çapında en yaygın tüketilen yenilebilir ikinci mantar türüdür. Shiitake'den türetilen hem a hem de p-glukanlar "biyoaktifler" olarak kabul edilir ve her ikisi de adjuvan olarak kullanılır. Asya mutfağında shiitake mantarı taze tüketilir, kurutulur veya çeşitli yemeklerde pişirilir. Shiitake ayrıca turşu olarak da tüketilir. Doğu alternatif tıbbında, kurutulmuş shiitake veya ekstraktlarının artralji, miyalji, yorgunluk, kardiyopulmoner sağlık ve hatta kanser de dahil olmak üzere birçok koşulda yardımcı olduğu düşünülmektedir (Nguyvnd, 2017). Shiitake mantarı yenilebilir, ancak bazı kişilerde az da olsa yan etkilere veya alerjik reaksiyonlara neden olabilir. Literatürde shiitake mantarına bağlı toksikodermi ve shiitake dermatit vakaları bildirilmiştir. Shiitake mantar sporlarına karşı alerjik reaksiyonlar oluştuğu saptanmıştır (Rahman ve Choudhury, 2012).

Karaciğer birçok ilaç veya kimyasal ajanın metabolizması için temel organdır. Klasik tedavi amaçlı ilaçlar, vitaminler, alkol, kokain, ekstazi, mantar, endüstriyel kimyasal ilaçların yanı sıra özellikle son yıllarda kullanılan şifalı bitkilerin bazılarının da karaciğerde toksik olaylara neden olabileceği belirtilmiştir (Arıcı, 2008). Karaciğerde toksik etkiye yol açabilen başlıca mekanizmalardan biri doza bağımlı olandır (Bioulac-Sage ve Balabaud, 2014). Karaciğer dokusunun en önemli özelliklerinden bir diğeri de kendi kendini yenileyebilme özelliğidir. Bu özelliği akut gelişen karaciğer hasarlarında, hepatektomi gibi doku kayıplarının yaşandığı durumlarda görülmektedir. Enfeksiyon ya da inflamasyon gibi istenmeyen durumlarda yenilenmenin aksine hücre ve/veya doku kayıplarıyla sonuçlanabilmektedir (Hall, 2013). Bu durum hepatik yaralanma, hepatik virüs, iltihaplanma ve alkol tüketimi gibi birçok risk faktöründen kaynaklanabilir (Chen vd., 2012). *Lentinula edodes*, hepatit dahil olmak üzere bulaşıcı hastalıklarda terapötik uygulamalar için potansiyel tıbbi makro fungustur. *Lentinula edodes* ekstraktının antikanser aktivitesi ve immünoregülasyon aktivitesi gibi tıbbi etkiler gösterdiği ve kimyasalların yol açtığı karaciğer hasarına karşı koruduğu hepatik hücre kültüründe gösterilmiştir (Kojima vd., 2010; Akamatsu vd., 2004; Watanabe vd., 2006).

Sitokinler vücutta farklı hücreler tarafından sentezlenen çok yönlü fonksiyonel polipeptitler olup, haberci moleküller olarak işlev gören ve hücreler arası iletişimden sorumlu olan, bütün immün sistem hücrelerini aktive eden uyarılmış lenfositler, monositler ve makrofajlar ile bazı somatik hücreler tarafından sentezlenirler (Sacu ve Bildik, 2009). İnflamasyona, sitokinler olarak bilinen polipeptit yapıda çeşitli çözümler faktörler aracılık eder. TNF- α (Tümör Nekroz Faktör alfa) akut inflamasyonda rol oynayan proinflatuar sitokin olarak inflamasyonun anahtar modülatörleridir (Feghali ve Wright, 1997). Hücre zedelenmesi ile uyarılan immün sistem sitokinleri (TNF gibi) aktifleşip, hücre içi kaspazları tetikleyerek apoptozu tetikler (Jaeschke vd., 2002). Hayvan modellerinde yapılan birçok çalışmada, hepatik karaciğer yetmezliğinde TNF- α 'nin apoptozu indüklenmesinde ve sinyalin yıkılmasının tetiklenmesinde rol oynadığı belirlenmiştir (Liu, 2009). Sitokin seviyelerindeki değişiklikler karaciğer hasarı dahil olmak üzere doku hasarının biyobelirteçleri olarak önerilmiştir (Steuerwald vd., 2013). Mantar biyoaktifleri; makrofajlar, doğal öldürücü hücreler (NK Hücreleri) ve hatta T lenfositleri gibi immün hücrelerden TNF- α , IFN- γ (interferon-gama), IL-1 β (interlökin-1 beta) gibi proinflatuar sitokinlerin salgılanmasını tetikleyebildiği yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (Lull vd., 2005). Çalışmamızın amacı uzun zamandan beri faydalı ve çeşitli aktivitelere sahip olduğu bilinen shiitake mantarı ekstraktının sıçanlara düşük ve yüksek dozda uygulandığında karaciğer dokusuna etkisini inflamatuvar ve apoptotik belirteçlerin ekspresyon düzeylerini ve histopatolojik olarak etkisini değerlendirmektir.

2. Materyal ve Metot

2.1. Hayvan Modeli

Çalışmada 30 erkek Wistar Albino sıçan (300-350 g) kullanıldı ve Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından onaylandı (Karar numarası: 2019/08-03). Deney boyunca tüm sıçanlar standart barınma koşulları (22 °C oda

sıcaklığı ve 12 saatlik aydınlık / karanlık döngüsü) altında tutuldu. Hayvanlar ticari diyetle beslendi ve çeşme suyu içmelerine izin verildi.

2.2. Deney Düzeni

Çalışmada kullanılacak olan 30 adet erkek Wistar Albino cinsi sıçan, her grupta 10 hayvan olacak şekilde rastgele 3 gruba ayrıldı.

Grup 1: Serum fizyolojik (Kontrol) grubu (n:10)

Grup 2: Düşük doz (100 mg/kg) grubu (n:10)

Grup 3: Yüksek doz (400 mg/kg) grubu (n:10)

Dozlar (Grotto vd., 2016) referans alınarak belirlendi.

Kontrol grubuna ait sıçanlara serum fizyolojik 2 ml gavaj yoluyla günde 1 kez 7 gün süreyle uygulandı. Grup 2'ye her gün 100 mg/kg *Lentinula edodes* ekstraktı 2 ml serum fizyolojik içerisinde hazırlanarak 7 gün, günde 1 defa gavajla uygulandı. Grup 3'e her gün 400 mg/kg *Lentinula edodes* ekstraktı 2 ml serum fizyolojik içerisinde hazırlanarak 7 gün, günde 1 defa gavajla uygulandı.

2.3. *Lentinula edodes* Ekstraktının Elde Edilmesi

Çalışmada *Lentinula edodes* mantarından elde edilen ekstraktlar kullanıldı. Bunun için, farklı polariteye sahip çözücülerden yararlanıldı. Ekstraktlar elde edilmeden önce, kurutulmuş mantar parçaları filtre kağıdı ile 10'ar gramlık paketler haline getirilerek, Soxhlet cihazında (Wisd, Wise Therm) ekstrakte edildi. 10 g bitki için 300 ml çözücü kullanıldı. 12 saat sürecek ekstraksiyon sonunda, filtre kağıdı ile sarılı mantar parçaları cihazdan çıkartılıp etüvde kurumaya bırakıldı. Bu şekilde çözücüsünden arındırılan mantar örneği, ikinci çözücü ile ekstrakte edilmeye hazır hale getirildi. Ekstraksiyon sırasıyla etil alkol (C₂H₆O, KN: 78,37 °C) ve saf su (H₂O, KN: 100 °C) ile yapıldı. Daha sonra evaporatör (Spektral, Heidolph, Laborota 4001) yardımıyla ekstraktların çözücüleri tamamen uçuruldu. Elde edilen ham ekstraktlar buzdolabında (0-4 °C) muhafaza edildi. Test edilmeden önce saf suda çözülerek farklı konsantrasyonları hazırlanan ekstraktlar, membran filtre (0,2 µm) ile steril edildi.

2.4. Histopatolojik Değerlendirme

7 günlük uygulama sonunda hayvanlara Ketamin hidroklorür (35 mg/kg) ve Xylazin (15 mg/kg) anestezisi altında cerrahi işlem yapılarak karaciğer doku örnekleri alındı. Dokular % 10 nötr tamponlu formaline yerleştirildi. Fiksasyon, dehidratasyon ve temizleme işlemlerinden sonra karaciğer dokuları parafin içine gömüldü. Parafin blokları Rotatory Microtome (Leica RM2125 RTS) üzerinde 5 mm kalınlığında kesilerek hematoksilin-eozin (H&E) boyama işlemi yapıldı. Histopatolojik bölümlerdeki hidropik dejenerasyon, sinüzoidal dilatasyon varlığı ışık mikroskobu (ZeissAxioScope A1) altında incelendi ve aşağıdaki gibi 0-3 yarı kantitatif bir ölçekte derecelendirildi.

0: hasar yok

1: hafif hasar

2: orta hasar

3: şiddetli hasar

2.5. Genetik Analiz

Toplam RNA, QIAamp RNA spin kolonu (AmbionPure Link RNA Mini Kit) kullanılarak 10 ila 30 mg karaciğer dokusundan izole edildi. RNA kalitesi ve miktarı NanoDrop ND-1000 Spektrofotometre kullanılarak 260/280 absorbans oranı belirlendi. Sentezlenen cDNA örnekleri kantitatif Real-Time PCR (ABI Stepone) çalışması için kullanıldı. Gen ekspresyon seviyeleri Tagman probe kullanılarak analiz edildi. Kontrol olarak beta-aktin geni kullanıldı. TNF-α, Bax, Bcl-2 ve β-aktin primer probe ID numarası sırasıyla Rn01525859_g1, Rn01480161_g1, Rn99999125_m1, Rn00667869_m1'dir (ThermoFischer).

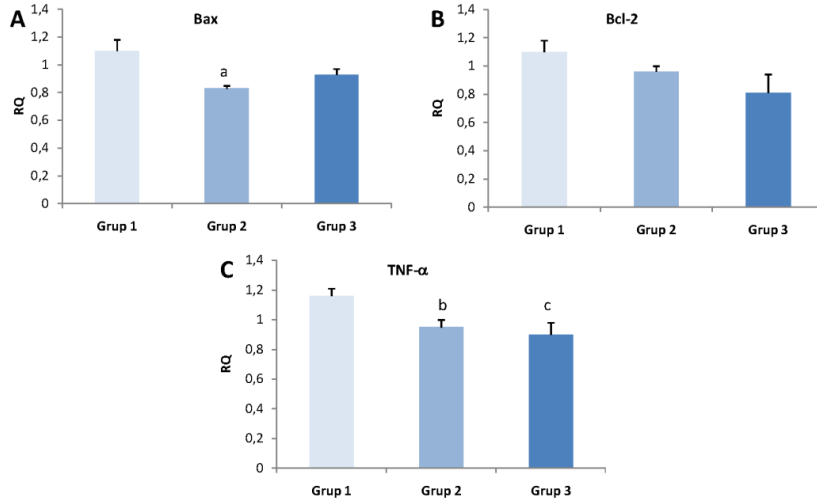
2.6. İstatistiksel Analiz

Verilerin istatistiksel analizi IBM SPSS Statistics Data Editor Version 2.1 kullanılarak gerçekleştirildi. Tanımlayıcı verileri sunmak için ortalama ve standart hata değerlerinin genetik ve histopatolojik sonuçları kullanıldı. Gruplar arasındaki fark ve karşılaştırma One-Way ANOVA ve ardından Tukey testi ile belirlendi. p < 0.05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3. Araştırma Sonuçları ve Tartışma

3.1. Gen Ekspresyon Analizi

Karaciğer dokusu TNF-α ekspresyon düzeyinin kontrol grubuna göre G2 ve G3'un yüksek bulunduğu, shiitake uygulamasından sonra Bcl-2 ekspresyonunun Grup 3'te, Grup 2'ye göre azaldığı Bax düzeyinin ise, yüksek doz shiitake verilen grupla kontrol grubunun yakın ekspresyon düzeyi gösterdiği belirlenmiştir.



Şekil 1. Gruplara ait Bax (A), Bcl-2 (B), TNF-α (C) ekspresyon düzeyleri.

Veriler, mRNA seviyeleri β-aktin ile normalize edildikten sonra $2^{-\Delta\Delta CT}$ olarak verildi. Tüm sonuçlar her gruptaki on sıçan için ortalama ± standart hata olarak sunulmuştur. a: Grup 1 ile karşılaştırıldığında, $p < 0,05$; b: Grup 1 ve Grup 3 ile karşılaştırıldığında $p < 0,05$; c: Grup 1 ile karşılaştırıldığında $p < 0,05$.

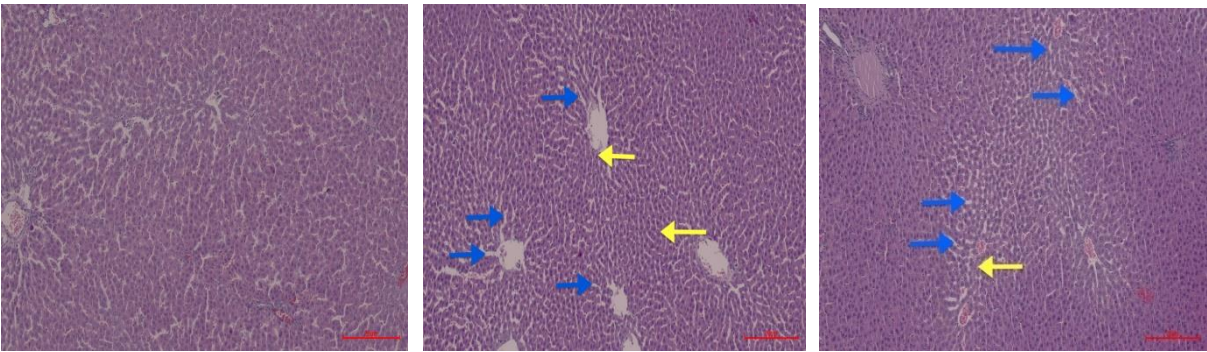
3.1.Histopatolojik Analiz

Histopatolojik olarak, her üç grupta da hidropik dejenerasyon, sinüzoidal dilatasyon parametreleri değerlendirildi. Hidropik dejenerasyon ve sinüzoidal dilatasyon için ortalama ve standart sapma değerleri Tablo 1’de verilmiştir. Hidropik dejenerasyon ve sinüzoidal dilatasyon Grup 2’de ve Grup 3’te Grup 1’e göre yüksek bulundu. Sonuçlar istatistiksel olarak anlamlıydı ($p = 0,0$ ve $p = 0,021$). Histopatolojik değişiklikler Tablo 1 ve Şekil 2’de görülmektedir.

Tablo 1. Hidropik dejenerasyon ve sinüzoidal dilatasyon sonuçları şu şekilde puanlandı: 0 = hasar yok, 1 = hafif hasar, 2 = orta hasar, 3 = ağır hasar. Sonuçlar her gruptaki on sıçan için ortalama ± standart hata olarak sunulmuştur. Hidropik dejenerasyon için a: Grup 2 ile karşılaştırıldığında $p=0,05$; b: Grup 3 ile karşılaştırıldığında $p<0,05$; Sinüzoidal dilatasyon için a: Grup 1 ile karşılaştırıldığında $p<0,001$; b: Grup 3 ile karşılaştırıldığında $p<0,001$.

	Grup 1 (C) (Ort ± SH) (n=10)	Grup 2 (Düşük doz) (Ort ± SH) (n=10)	Grup 3 (Yüksek doz) (Ort ± SH) (n=10)	p
Hidropik dejenerasyon	0,0±0,0 ^{a,b}	0,86±0,26	1,0±0,36	0,0
Sinüzoidal dilatasyon	0,0±0,0 ^{a,b}	1,43±0,2	1,5±0,22	0,021

Tüm sonuçlar, her gruptaki sekiz sıçan için ortalama ± standart hata olarak sunulmuştur.



Şekil 2. Grup 1, 2 ve 3’e ait karaciğer dokusu kesitlerinin Hematoksilen-Eozin boyama görüntüleri. Mavi oklar sinüzoidal dilatasyon, sarı oklar hidropik dejenerasyon alanlarını göstermektedir (Büyütme x100).

Bütün mantarlar potansiyel olarak immün-modülatör özellikte olan birkaç bileşene sahiptir. İn vitro veriler, bütün mantar ekstraktlarının makrofaj ve sitokinlerin T hücreleri üretimini, anti-tümör bağışıklığının artırılmasında faydalı olduğunu göstermektedir.

In vivo ortamda yenilebilir mantarların immün düzenleyici fonksiyonlarını tespit etmek daha zordur (Yu vd., 2009). *Lentinula edodes* ekstraktı toksik değildir ve daha ucuzdur, kapsüllenmiş formu, öncelikle hastalıkların önlenmesi ve sağlığın korunması için günlük bir besin takviyesi olarak önerilmektedir (Hobbs vd., 2010).

Son yıllarda shiitake mantarı insanlarda çeşitli klinik çalışmalarda kullanılmış ve farklı kanser türleri, kalp hastalıkları, hiperlipidemi, hipertansiyon, bulaşıcı hastalık ve hepatit gibi çok çeşitli hastalıklarda faydalı olduğu belirtilmiştir. Literatürde shiitake'e bağlı toksikodermi ve dermatit vakaları rapor edilmiş (Wasser, 2005). *L. edodes* miselyum, ishal ve deri döküntüsü gibi hafif yan etkiler görünse de, 1 hafta boyunca 50 mg'in üzerindeki büyük dozlarda bile, akut toksik olduğuna dair hiçbir belirti göstermediği, ciddi bir yan etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Bununla birlikte, ileri kanserli hastaların klinik çalışmalarında, GOT (Glutamat Okzalasetat Transaminaz) ve GPT (Glutamat Piruvat Transaminaz) karaciğer enzimlerinde hafif bir artış ve göğüs üzerinde hafif bir basınç hissi gibi küçük yan reaksiyonlar meydana getirdiği belirtilmiştir (Kitzberger vd., 2007; Vasser vd., 1997).

Yapılan bir çalışmada sıçan diyetine shiitake mantarının eklenmesi, plazma TAG (Triasilgliserol) seviyesini önemli ölçüde azalttığı ancak karaciğerde TAG konsantrasyonunu arttırdığı bildirilmiştir. Karaciğerde TAG birikiminin hepatik steatoz gelişimine katkıda bulunduğu bildirilmiştir. Bununla uyumlu olarak son zamanlarda farelerde shiitake mantarı ile zenginleştirilmiş diyetin hepatik steatozu indüklediği bildirilmiştir (Handayani vd., 2014). Son zamanlarda yapılan çalışmalar shiitake mantarlarının hepatik steatozu arttırdığı ve altı hafta boyunca shiitake mantarları ile zenginleştirilmiş bir diyetle beslenen farelerde karaciğer yağlanması ($p < 0,05$) olduğu dolayısıyla shiitake tüketiminin yağlı karaciğer gelişimi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Chandra vd., 2011). Bu çalışmada da shiitake uygulanan gruplarda kontrol grubuna göre hafif derece de hidropik dejenerasyon ve sinüzoidal dilatasyon alanları gözlemlendi.

Yapılan bir çalışmada parasetamol ile indüklenen hepatoksiteye karşı *L. edodes*'in koruyucu etkisinin incelendiği çalışmada elde edilen bulgular *L. edodes* ekstraktının hem antioksidan hem de hepatoprotektif özelliklere sahip umut verici bir aday olabileceği önerilmiştir (Sasidharan vd., 2010). Diğer bir çalışmada *Lentinula* enjeksiyonunun, sıçanlarda karaciğer tümörünün büyümesini yavaşlattığı bildirilmiştir. Shiitake mantar ekstraktındaki polisakkarit fraksiyonunun karaciğeri korumasının yanı sıra, karaciğer fonksiyonunu iyileştirdiği ve hepatit B'ye karşı antikor üretimini arttırdığı gösterilmiştir (Rahman ve Choudhury, 2012; Smith vd., 2002).

Sitokinler, hücrel ve humoral immün yanıtların gelişiminde, inflamatuvar yanıtların uyarılmasında, hematopoiezin düzenlenmesinde, hücrelerin çoğalmasının ve farklılaşmasının kontrolünde, yara iyileşmesi süreçlerinin başlatılmasında önemli rollere sahiptirler (Öztürk, 2001; Vilcek, 2008). TNF- α doğal ve kazanılmış bağışıklık, hücre düzenlenmesi, farklılaşması ve apoptoz süreçlerinde önemli rollere sahip pleiotropik bir sitokindir. TNF- α doku hasarı ya da fiziksel stres sonrası kanda ilk saptanabilen sitokindir ve birçok otoimmün hastalıkta inflamasyonun başlamasında ve devam ettirilmesinde önemli özellikleri bulunmaktadır. TNF- α , akut inflamasyonda endotel hücrelerini adezyon molekülleri ve göçten sorumlu küçük sitokinleri üretmek adına uyarmaktadır. Sonuç olarak enfeksiyon bölgesine nötrofil ve makrofajların yapışmasına aracılık etmektedir (Çayakar, 2018). Bizim çalışmamızda da kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, 100 mg/kg ve 400 mg/kg shiitake ekstraktı verilen gruplarda karaciğer dokusunda Bax ve TNF- α ekspresyon düzeyinin anlamlı şekilde azaldığı belirlenmiştir ($p < 0,05$). Bcl-2 ekspresyon düzeyi kontrol grubunun shiitake ekstraktı verilen 100 mg/kg ve 400 mg/kg grupla karşılaştırıldığında azaldığı ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmadığı görülmüştür ($p < 0,069$ ve $p < 0,456$).

Apoptoz, antiapoptotik ve proapoptotik proteinler arasındaki denge tarafından düzenlenir. Antiapoptotik Bcl-2 gen ailesi proteinleri (Bcl-2, Bcl-xL, bax, bad) apoptozun düzenlenmesinde rol oynarlar. Normalde Bcl-2 hücre proliferasyonuna neden olmadan hücrenin canlılığını sağlayan apoptoz inhibitörüdür (Bircan vd., 2005; Ramdial vd., 2000). Bcl-2 homodimerlerinin artışı hücre yaşamını sürdürmesine, Bax homodimer artışının hücre ölümüne neden olduğu bildirilmiştir (Ortiz vd., 2003). Antiapoptotik protein Bcl-2'nin apoptoza eğiliminin düşük olduğu yapılan bir çalışmada belirtilmiştir (Adams ve Cory, 2001). Bizim çalışmamızda da Bcl-2 ekspresyon düzeyi kontrol grubuna göre shiitake ekstraktı verilen gruplarda istatistiksel olarak anlamlı olmasa da düşüş göstermiştir. Bu çalışmada farklı dozlarda verilen shiitake ekstraktının karaciğer dokusunun histopatolojik incelemelerinde kontrole göre 100 mg/kg ve 400 mg/kg verilmiş gruplarda doza bağlı olarak hafif oranda yapısal değişiklikler gözlenmiştir. Dolayısıyla apoptotik belirteçlerde ve histopatolojik incelemelerde kontrole göre benzer sonuçların elde edilmesi, shiitake mantarının uygulanan dozlarda apoptotik süreç oluşturmadığı ve karaciğer dokusu üzerinde hasar oluşturmadığını göstermiştir.

4. Sonuç

Mantarlar içinde bulunan biyoaktif bileşiklerin katkı ve sinerjik etkilerinden yararlanarak sağlığın teşvik edilmesi için doğrudan diyetle kullanılabilir. Mantarların potansiyel terapötik etkileri çok büyüktür, ancak mantarların insanlara sağladığı çeşitli sağlık yararlarının ayrıntılı mekanizmaları, özellikle sağlık yararları etkilerine dair yeni kanıtların ortaya çıkmasıyla birlikte yoğun bir araştırma gerektirmektedir. Mantarların aktif bileşenlerinin izole edilerek potansiyel terapötik olarak kullanımı gelecek beklentilerdeki araştırmaların en önde gelenleri olmaya adaydır.

Kaynakça

- Sarıkürkçü, C., Karslı Semiz, D., Solak, M. H., & Harmandar, M. 2004. Muğla Yöresi Yenilebilir Mantar Ekstraktlarının Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi. *Türkiye*, 8, 26-28.
- Karmali, A. 2008. SOD Activity, Cytochrome P-450, Cytochrome P-450 Reductase and Secondary Metabolites-Chemical and Biological Properties in Mushroom Nutrition. *International Mycotherapy Institute*, 9-11.
- Yu, S., Weaver, V., Martin, K., & Cantorna, M. T. 2009. The effects of whole mushrooms during inflammation. *BMC immunology*, 10(1), 1-13.

- Hobbs, C. 2000. Medicinal value of *Lentinus edodes* (Berk.) Sing.(Agaricomycetidae). A literature review. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 2(4).
- Nguyen, A. H., Gonzaga, M. I., Lim, V. M., Adler, M. J., Mitkov, M. V., & Cappel, M. A. (2017). Clinical features of shiitake dermatitis: a systematic review. *International journal of dermatology*, 56(6), 610-616.
- Rahman, T., & Choudhury, M. B. K. 2012. Shiitake mushroom: a tool of medicine. *Bangladesh Journal of Medical Biochemistry*, 5(1), 24-32.
- Arıcı, S. 2008. Toksik hepatit. *Pamukkale Tıp Dergisi*, (2), 113-119.
- Bioulac-Sage, P, A, U, L, E, T, T, E., & Balabaud, C. 2009. Toxic and drug-induced disorders of the liver, In *Surgical Pathology of the GI Tract, Liver, Biliary Tract, and Pancreas*, 1059-1086.
- Guyton, A. C., & Hall, J. E. 2006. *Textbook of Medical physiology* 11 th Edition.
- Chen, M. F., Chung, H. H., & Lu, H. L. 2012. Protection of the extracts of *Lentinus edodes* mycelia against carbon-tetrachloride-induced hepatic injury in rats. *The Scientific World Journal*, 2012.
- Kojima, H., Akaki, J., Nakajima, S., Kamei, K., & Tamesada, M. 2010. Structural analysis of glycogen-like polysaccharides having macrophage-activating activity in extracts of *Lentinula edodes* mycelia. *Journal of natural medicines*, 64(1), 16.
- Akamatsu, S., Watanabe, A., Tamesada, M., Nakamura, R., Hayashi, S., Kodama, D., & Yagi, K. 2004. Hepatoprotective effect of extracts from *Lentinus edodes* mycelia on dimethylnitrosamine-induced liver injury. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 27(12), 1957-1960.
- Watanabe, A., Kobayashi, M., Hayashi, S., Kodama, D., Isoda, K., Kondoh, M., & Yagi, K. 2006. Protection against D-galactosamine-induced acute liver injury by oral administration of extracts from *Lentinus edodes* mycelia. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 29(8), 1651-1654.
- Sacu, D., Bildik, A. 2009. Deneysel Olarak Fibrosarkoma Oluşturulan Ratların Serumlarında İnterlökin 6 (IL-6) ve Tümör Nekrosis Faktör- α (TNF- α) Düzeylerinin Belirlenmesi.
- Feghali, C. A., & Wright, T. M. 1997. Cytokines in acute and chronic inflammation. *Front Biosci*, 2(1), d12-d26.
- Jaeschke, H., Gores, G. J., Cederbaum, A. I., Hinson, J. A., Pessayre, D., & Lemasters, J. J. 2002. Mechanisms of hepatotoxicity. *Toxicological sciences*, 65(2), 166-176.
- Liu, Q. 2009. Role of cytokines in the pathophysiology of acute-on-chronic liver failure. *Blood purification*, 28(4), 331-341.
- Steuerwald, N, M., Foureau, D, M., Norton, H, J., Zhou, J., Parsons, J, C., Chalasani, N, & Stolz, A. 2013. Profiles of serum cytokines in acute drug-induced liver injury and their prognostic significance. *PLoS One*, 8(12), e81974.
- Lull, C., Wichers, H, J., & Savelkoul, H, F. 2005. Antiinflammatory and immunomodulating properties of fungal metabolites. *Mediators of inflammation*, 2005(2), 63-80.
- Grotto, D., Bueno, D, C, R., de Almeida Ramos, G, K., da Costa, S, R., Spim, S, R, V., & Gerenutti, M. 2016. Assessment of the safety of the shiitake culinary-medicinal mushroom, *lentinus edodes* (agaricomycetes), in rats: Biochemical, hematological, and antioxidative parameters. *International journal of medicinal mushrooms*, 18(10).
- Yu, S., Weaver, V., Martin, K., & Cantorna, M, T. 2009. The effects of whole mushrooms during inflammation. *BMC immunology*, 10(1), 12.
- Wasser, S. P. 2005. Shiitake (*Lentinus edodes*). *Encyclopedia of dietary supplements*, 653-664.
- Kitzberger, C. S. G., Smânia Jr, A., Pedrosa, R. C., & Ferreira, S. R. S. 2007. Antioxidant and antimicrobial activities of shiitake (*Lentinula edodes*) extracts obtained by organic solvents and supercritical fluids. *Journal of food engineering*, 80(2), 631-638.
- Handayani, D., Meyer, B. J., Chen, J., Brown, S. H., Mitchell, T. W., & Huang, X. F. 2014. A high-dose shiitake mushroom increases hepatic accumulation of triacylglycerol in rats fed a high-fat diet: underlying mechanism. *Nutrients*, 6(2), 650-662.
- Chandra, L. C., Smith, B. J., Clarke, S. L., Marlow, D., D'Offay, J. M., & Kuvibidila, S. R. 2011. Differential effects of shiitake and white button mushroom-supplemented diets on hepatic steatosis in C57BL/6 mice. *Food and chemical toxicology*, 49(12), 3074-3080.
- Sasidharan, S., Aravindran, S., Latha, L. Y., Vijenthil, R., Saravanan, D., Amutha, S. 2010. In vitro antioxidant activity and hepatoprotective effects of *Lentinula edodes* against paracetamol-induced hepatotoxicity. *Molecules*, 15(6), 4478-4489.
- Rahman, T., & Choudhury, M.B.K. 2012. Shiitake mushroom: a tool of medicine. *Bangladesh Journal of Medical Biochemistry*, 5(1), 24-32..
- Smith, J., Rowan, N., & Sullivan, R. 2002. *Medicinal mushrooms: their therapeutic properties and current medical usage with special emphasis on cancer treatments* (p. 256). London: Cancer Research UK.
- Öztürk, C., 2001. Sitokinler, Mersin Univ Tıp Fak Derg, 2(4), 523-528.
- Vilcek, J., 2008. First demonstration of the role of TNF in the pathogenesis of disease. *The Journal of Immunology*, 181(1), 5-6.
- Çayakar, A. 2018. Nedir Bu Tümör Nekrozis Faktör Alfa?. *Türkiye Klinikleri İç Hastalıkları Dergisi*, 3(2), 67-76.
- Bircan, S., Çandır, Ö., Kapucuoğlu, N., & Başpınar, Ş. 2005. p53, BCL-2, bax expression in Basal Cell Carcinomas and Nontumoral Surrounding Skin. *Turkish Journal of Pathology*, 21(3-4), 044-048.
- Ramdial, P. K., Madaree, A., Reddy, R., & Chetty, R. 2000. bcl-2 protein expression in aggressive and non-aggressive basal cell carcinomas. *Journal of cutaneous pathology*, 27(6), 283-291.
- Ortiz, A., Justo, P., Sanz, A., Lorz, C., & Egido, J. 2003. Targeting apoptosis in acute tubular injury. *Biochemical pharmacology*, 66(8), 1589-1594.
- Adams, J. M., & Cory, S. 2001. Life-or-death decisions by the Bcl-2 protein family. *Trends in biochemical sciences*, 26(1), 61-66.