

T.C
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BEYAZ ÇÜRÜKÇÜL FUNGUSLARIN ANTİMİKROBİYAL VE
SİTOTOKSİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

AYFER KILIÇ

DOKTORA TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

EKİM 2017

T.C
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BEYAZ ÇÜRÜKÇÜL FUNGUSLARIN ANTİMİKROBİYAL VE
SİTOTOKSİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

AYFER KILIÇ

DOKTORA TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

EKİM 2017

Tezin Başlığı : Beyaz urukul Fungusların Antimikrobiyal Ve
Sitotoksik Etkilerinin Araştırılması

Tezi Hazırlayan : Ayfer KILIÇ

Sınav Tarihi : 2017

Yukarıda adı geçen tez jürimizce değerlendirilerek Biyoloji Anabilim Dalında Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Sınav Jürü Üyeleri
Tez Danışmanı:

Prof. Dr. Özfer YEŞİLADA

Tez Yrd. Danışmanı:

Doç. Dr. Elif APOHAN

Prof. Dr. Ahmet ÇABUK

Prof. Dr. Birgül ÖZCAN

Prof. Dr. Dilek ASMA

Prof. Dr. Sibel KAHRAMAN



Prof. Dr. Halil İbrahim ADIGÜZEL
Enstitü Müdürü

ONUR SÖZÜ

Doktora tezi olarak sunduğum ‘‘Beyaz ürükül Fungusların Antimikrobiyal ve Sitotoksik Etkilerinin Araştırılması’’ başlıklı bu çalışmanın bilimsel ahlak ve geleneklere aykırı dūřecek bir yardıma başvurmaksızın tarafımdan yazıldığını ve yararlandığım bütün kaynakların hem metin içinde hem de kaynakçada yöntemine uygun biçimde gösterilenlerden olduğunu belirtir, bunu onurumla doğrularım.

Ayfer KILIÇ

ÖZET

Doktora Tezi

BEYAZ ÇÜRÜKÇÜL FUNGUSLARIN ANTİMİKROBİYAL VE SİTOTOKSİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Ayfer KILIÇ

İnönü Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

116 + xi sayfa

2017

Danışman: Prof. Dr. Özfer YEŞİLADA

Yrd. Danışman: Doç. Dr. Elif APOHAN

Bu çalışmada *Trametes versicolor*'un 2 farklı suşu; *Trametes versicolor* ATCC 200801, *Trametes versicolor* (H) ve *Trametes trogii*'nin 2 suşu; *Trametes trogii* (A) ve *Trametes trogii* (İ) kullanıldı. İlk olarak bu suşların ekzopolisakkarit (EPS) üretim aktivitesi araştırıldı. Bu funguslar EPS üretebilmiştir. EPS kısmi oranda çözülebilmıştır ve bu nedenle yeterli sitotoksik ve antimikrobiyal etki izlenememiştir.

Çalışmanın ikinci kısmında, katı faz fermentasyonu sürecinden elde edilen özütlerin akciğer kanseri hücreleri (A549), sağlıklı akciğer bronşial epitel hücreleri (BEAS-2B) ve kronik myeloid lösemi (KML) (K562) hücreleri üzerine sitotoksik etkileri tripan mavisi ve MTT yöntemi ile araştırıldı. Fungus özütleri kanser hücre hatları üzerine sitotoksik ve proliferasyonu baskılayıcı etki göstermiştir. Bununla birlikte, sağlıklı akciğer epitel hücreleri üzerine de bu etkileri göstermişlerdir. KML hücrelerine etkili konsantrasyonlar akciğer kanser ve sağlıklı epitel hücrelerine etkili konsantrasyonlardan daha düşük bulunmuştur. Sonuçlar, fungal özütlerin farklı kanser hücre hatları üzerine farklı etki yapabileceğini göstermektedir. A549 ve BEAS-2B hücrelerinde, konsantrasyonlar ile doğru orantılı bir şekilde kaspaz aktivitesinde artış gözlemlendi. *T. versicolor* ATCC 200801, *T. versicolor* (H) ve *T. trogii* (A) özütlerinin konsantrasyonuna bağlı olarak K562 hücrelerindeki kaspaz-3 aktivitesi başta artarken yüksek konsantrasyonlarda azalmıştır.

Antimikrobiyal aktivitenin tespiti için 2 farklı test yöntemi (disk difüzyon ve minimum inhibe edici konsantrasyon (MİK)) uygulandı. Katı faz özütleri (50 mg/ml) uygulanmış disklerle yapılan çalışma sonuçları özütlerin bakteriler üzerine *Haemophilus influenzae* dışında herhangi bir antimikrobiyal etkisinin olmadığını gösterdi. *T. versicolor* ATCC 200801 özütünün MİK değerleri *Bacillus cereus* ve *Bacillus subtilis* üzerine 6.25 mg/mL iken *Candida albicans* ve *Candida tropicalis*'e 12,5 mg/mL olarak saptandı. Diğer bakteriler üzerine herhangi bir antibakteriyel etki gözlemlenmedi. *T. versicolor* (H) özütünün MİK değerleri *Salmonella typhi* NCTC 8394, *B. cereus*, *B. subtilis*, *C. albicans* ve *C. tropicalis* üzerine sırasıyla 12,5 mg/mL, 12,5 mg/mL, 12,5 mg/mL, 6.25 mg/mL ve 6.25 mg/mL olarak saptandı. *T. trogii* (A) ve *T. trogii* (İ) ise yalnızca *S. typhi* 8394'e karşı 12,5 mg/mL MİK değeri ile antimikrobiyal etki gösterdi.

Anahtar kelimeler: *Trametes versicolor*, *Trametes trogii*, sitotoksik aktivite, antimikrobiyal aktivite.

ABSTRACT

Ph.D. Thesis

INVESTIGATION OF ANTIMICROBIAL AND CYTOTOXIC EFFECTS OF WHITE ROT FUNGI

Ayfer KILIÇ

İnönü University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology
116 + xi pages

2017

Supervisor: Prof. Dr. Özfer YEŞİLADA
Co. Supervisor: Assos. Prof. Dr. Elif APOHAN

In this study, two different strains of *Trametes versicolor*; *Trametes versicolor* ATCC 200801 and *Trametes versicolor* (H) and 2 strains of *Trametes trogii*; *Trametes trogii* (A) and *Trametes trogii* (I) were used. Firstly, the exopolysaccharide (EPS) production activity of these strains were investigated. These fungi were able to produce EPS. EPS could be partially dissolved and therefore, there was not enough cytotoxic and antimicrobial effect.

In the second part of the study, cytotoxic effects of the extracts obtained from the solid phase fermentation process were investigated by trypan blue and MTT on lung cancer cells (A549), healthy lung bronchial epithelial cells (BEAS-2B) and chronic myeloid leukemia (CML) (K562) cells. Fungal extracts showed cytotoxic and proliferative suppression effect on cancer cell lines. However, they also showed these effects on healthy lung epithelial cells. The effective concentrations on CML cells were found to be lower than those on lung cancer and healthy epithelial cells. The results show that fungal extracts may have different effects on different cancer cell lines. In A549 and BEAS-2B cells, an increase in caspase activity was observed, which was directly proportional to the concentrations. Caspase-3 activity of K562 increased depending on the concentrations of *T. versicolor* ATCC 200801, *T. versicolor* (H) and *T. trogii* (A) extracts, however, it was decreased at high concentrations.

Two different test methods; disk diffusion and minimum inhibitory concentration (MIC) were applied to detect antimicrobial activity. The results of studies with solid phase extracts (50 mg/mL) showed that the extracts did not have any antimicrobial effect on bacteria except *Haemophilus influenzae*. The MIC values of *T. versicolor* ATCC 200801 extract were 6.25 mg/mL on *Bacillus cereus* and *Bacillus subtilis* and 12.5 mg/mL on *Candida albicans* and *Candida tropicalis*. No antibacterial effect was observed on the other bacteria. The MIC values of the *T. versicolor* (H) extract were determined as 12.5 mg/mL, 12.5 mg/mL, 12.5 mg/mL, 6.25 mg/mL and 6.25 mg/mL on *S. typhi* NCTC 8394, *B. cereus*, *B. subtilis*, *C. albicans* and *C. tropicalis*, respectively. *T. trogii* (A) and *T. trogii* (I) showed antimicrobial activity only against *S. typhi* 8394 with MIC value of 12.5 mg/mL.

Key words: *Trametes versicolor*, *Trametes trogii*, cytotoxic effects, antimicrobial effects.

TEŞEKKÜR

Çalışmamın her aşamasını planlayan, bana yol gösteren ve sabırla destek olan danışman hocam Sayın Prof. Dr. Özfer YEŞİLADA'ya ve çalışma süresince bana yardımcı olan ve desteğini esirgemeyen yardımcı danışman hocam Sayın Doç. Dr. Elif APOHAN'a;

Çalışmalarımıza 2010/118 numaralı proje ile maddi destek sağlayan İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri Birimi'ne;

Tezin deneysel aşamalarında bana yardımcı ve destek olan sevgili arkadaşlarım Sinem ERCAN, İlkay KILIÇASLAN, Yrd. Doç. Dr. Nilay GÜÇLÜER İLDİZ, Özgür YILMAZ ve Turgut Özal Tıp Merkezi Merkez Laboratuvar çalışanı arkadaşlarıma;

Desteklerini herkesten çok hissettiğim canım aileme;

tüm içtenliğimle teşekkür ederim...

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
TABLolar DİZİNİ	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	x
1. GİRİŞ	1
1.1. Tıbbi Funguslar	1
1.2. Beyaz Çürükçül Funguslar.....	7
1.2.1. <i>Trametes versicolor</i>	7
1.2.2. <i>Lentinus edodes</i>	9
1.2.3. <i>Ganoderma lucidum</i>	9
1.2.4. <i>Pleurotus ostreatus</i>	10
1.2.5. <i>Funalia trogii</i>	10
1.2.6. <i>Grifola frondosa</i>	11
1.3. Tıbbi Fungusların Etkileri.....	12
1.3.1. Hematolojik Etkileri.....	13
1.3.2. Antiviral Etkileri	13
1.3.3. Antitümör Etkileri	14
1.3.4. Antimikrobiyal Aktivite	15
1.3.5. Antioksidan Aktivite	16
1.4. Kanser	18
2. KAYNAK ÖZETLERİ	20
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	30
3.1. Çalışmada Kullanılan Funguslar	30
3.2. Çalışmada Kullanılan Fungusların Üretimi ve Saklanması	30
3.3. Çalışmada Kullanılacak Stok Fungus Kültürlerinin Hazırlanması	30
3.4. Çalışmada Kullanılan Besiyerlerinin Hazırlanması	30
3.5. Ekzopolisakkarit Eldesi.....	31
3.6. Kuru Ağırlığın Saptanması	31
3.7. Çalışmada Kullanılan Katı Besiyeri.....	31

3.8.	Katı Besiyerinin Hazırlanması, Ekim ve Üretim	31
3.9.	Liyofilizasyon	32
3.10.	Kullanılan Hücre Hatları ve Kültürü.....	32
3.11.	Hücrelerin Dondurulması ve Çözülmesi.....	32
3.12.	Hücre Canlılığının Saptanması-Tripan Mavisi Yöntemi	33
3.13.	MTT Yöntemi	33
3.14.	Kaspaz-3 Aktivitesinin Ölçümü.....	34
3.15.	Antimikrobiyal Etkinin Saptanması.....	34
3.15.1.	Kullanılan Test Mikroorganizmaları.....	34
3.15.2.	Disk Difüzyon Testi	34
3.15.3.	Minimum İnhibe Edici Konsantrasyon Testi	35
4.	ARAŞTIRMA BULGULARI	36
4.1.	Fungusların Ekzopolisakkarit ve Misel üretimi	36
4.2.	<i>T. versicolor</i> ATCC 200801'nin Sitotoksik Etkisi.....	40
4.3.	<i>T. versicolor</i> (H)'nin Sitotoksik Etkisi.....	46
4.4.	<i>T. trogii</i> (İ)'nin Sitotoksik Etkisi.....	52
4.5.	<i>T. trogii</i> (A)'nın Sitotoksik Etkisi	58
4.6.	Fungus Özütlерinin Kaspaz-3 Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi	68
4.7.	Fungusların Antimikrobiyal Etkileri	75
5.	TARTIŞMA VE SONUÇ	79
6.	KAYNAKLAR	88
	ÖZGEÇMİŞ	115

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 4.1.	<i>T. versicolor</i> ATCC 200801 suşunun 5 ve 10 günlük üretimi sonucu EPS ve biyokütle değişimi	37
Şekil 4.2.	<i>T. versicolor</i> (H) suşunun 5 ve 10 günlük üretimi sonucu EPS ve biyokütle değişimi	37
Şekil 4.3.	<i>T. trogii</i> (İ) suşunun 5 ve 10 günlük üretimi sonucu EPS ve biyokütle değişimi	38
Şekil 4.4.	<i>T. trogii</i> (A) suşunun 5 ve 10 günlük üretimi sonucu EPS ve biyokütle değişimi	38
Şekil 4.5.	<i>G. lucidum</i> suşunun 5 ve 10 günlük üretimi sonucu EPS ve biyokütle değişimi	39
Şekil 4.6.	<i>T. versicolor</i> ATCC 200801 özütünün A549 hücreleri üzerine sitotoksik etkisi	40
Şekil 4.7.	<i>T. versicolor</i> ATCC 200801 özütünün A549 hücrelerine etkisi (24. Saat)	41
Şekil 4.8.	<i>T. versicolor</i> ATCC 200801 özütünün A549 hücrelerine etkisi (48 Saat)	41
Şekil 4.9.	<i>T. versicolor</i> ATCC 200801 özütünün A549 hücrelerine etkisi (72. Saat)	42
Şekil 4.10.	<i>T. versicolor</i> ATCC 200801 özütünün BEAS-2B hücrelerine etkisi	42
Şekil 4.11.	<i>T. versicolor</i> ATCC 200801 özütünün BEAS-2B hücrelerine etkisi (24. Saat)	43
Şekil 4.12.	<i>T. versicolor</i> ATCC 200801 özütünün BEAS-2B hücrelerine etkisi (48. Saat)	43
Şekil 4.13.	<i>T. versicolor</i> ATCC 200801 özütünün BEAS-2B hücrelerine etkisi (72. Saat)	44
Şekil 4.14.	<i>T. versicolor</i> ATCC 200801 özütünün K562 hücrelerine etkisi.....	44
Şekil 4.15.	<i>T. versicolor</i> ATCC 200801 özütünün K562 hücrelerine etkisi (24. Saat)	45
Şekil 4.16.	<i>T. versicolor</i> ATCC 200801 özütünün K562 hücrelerine etkisi (48. Saat)	45

Şekil 4.17.	<i>T. versicolor</i> ATCC 200801 özütünün K562 hücrelerine etkisi (72. Saat).....	46
Şekil 4.18.	<i>T. versicolor</i> (H) özütünün A549 hücrelerine etkisi.....	46
Şekil 4.19.	<i>T. versicolor</i> (H) özütünün A549 hücrelerine etkisi (24. Saat)	47
Şekil 4.20.	<i>T. versicolor</i> (H) özütünün A549 hücrelerine etkisi (48. Saat)	47
Şekil 4.21.	<i>T. versicolor</i> (H) özütünün A549 hücrelerine etkisi (72. Saat)	48
Şekil 4.22.	<i>T. versicolor</i> (H) özütünün BEAS-2B hücrelerine etkisi.....	48
Şekil 4.23.	<i>T. versicolor</i> (H) özütünün BEAS-2B hücrelerine etkisi (24. Saat)	49
Şekil 4.24.	<i>T. versicolor</i> (H) özütünün BEAS-2B hücrelerine etkisi (48. Saat)	49
Şekil 4.25.	<i>T. versicolor</i> (H) özütünün BEAS-2B hücrelerine etkisi (72. Saat)	50
Şekil 4.26.	<i>T. versicolor</i> (H) özütünün K562 hücrelerine etkisi.....	50
Şekil 4.27.	<i>T. versicolor</i> (H) özütünün K562 hücrelerine etkisi (24. Saat)	51
Şekil 4.28.	<i>T. versicolor</i> (H) özütünün K562 hücrelerine etkisi (48. Saat)	51
Şekil 4.29.	<i>T. versicolor</i> (H) özütünün K562 hücrelerine etkisi (72. Saat)	52
Şekil 4.30.	<i>T. trogii</i> (İ) özütünün A549 hücrelerine etkisi.....	52
Şekil 4.31.	<i>T. trogii</i> (İ) özütünün A549 hücrelerine etkisi (24. Saat)	53
Şekil 4.32.	<i>T. trogii</i> (İ) özütünün A549 hücrelerine etkisi (48. Saat)	53
Şekil 4.33.	<i>T. trogii</i> (İ) özütünün A549 hücrelerine etkisi (72. Saat)	54
Şekil 4.34.	<i>T. trogii</i> (İ) özütünün BEAS-2B hücrelerine etkisi	54
Şekil 4.35.	<i>T. trogii</i> (İ) özütünün BEAS-2B hücrelerine etkisi (24. Saat).....	55
Şekil 4.36.	<i>T. trogii</i> (İ) özütünün BEAS-2B hücrelerine etkisi (48. Saat).....	55
Şekil 4.37.	<i>T. trogii</i> (İ) özütünün BEAS-2B hücrelerine etkisi (72. Saat).....	56
Şekil 4.38.	<i>T. trogii</i> (İ) özütünün K562 hücrelerine etkisi.....	56
Şekil 4.39.	<i>T. trogii</i> (İ) özütünün K562 hücrelerine etkisi (24. saat).....	57
Şekil 4.40.	<i>T. trogii</i> (İ) özütünün K562 hücrelerine etkisi (48. saat).....	57
Şekil 4.41.	<i>T. trogii</i> (İ) özütünün K562 hücrelerine etkisi (72. saat).....	58
Şekil 4.42.	<i>T. trogii</i> (A) özütünün A549 hücrelerine etkisi	58
Şekil 4.43.	<i>T. trogii</i> (A) özütünün A549 hücrelerine etkisi (24. Saat).....	59
Şekil 4.44.	<i>T. trogii</i> (A) özütünün A549 hücrelerine etkisi (48. Saat).....	59
Şekil 4.45.	<i>T. trogii</i> (A) özütünün A549 hücrelerine etkisi (72. Saat).....	60
Şekil 4.46.	<i>T. trogii</i> (A) özütünün BEAS-2B hücrelerine etkisi.....	60
Şekil 4.47.	<i>T. trogii</i> (A) özütünün BEAS-2B hücrelerine etkisi (24. Saat)	61
Şekil 4.48.	<i>T. trogii</i> (A) özütünün BEAS-2B hücrelerine etkisi (48. Saat)	61
Şekil 4.49.	<i>T. trogii</i> (A) özütünün BEAS-2B hücrelerine etkisi (72. Saat)	62

Şekil 4.50.	<i>T. trogii</i> (A) özütünün K562 hücrelerine etkisi	62
Şekil 4.51.	<i>T. trogii</i> (A) özütünün K562 hücrelerine etkisi (24. Saat).....	63
Şekil 4.52.	<i>T. trogii</i> (A) özütünün K562 hücrelerine etkisi (48. Saat).....	63
Şekil 4.53.	<i>T. trogii</i> (A) özütünün K562 hücrelerine etkisi (72. Saat).....	64
Şekil 4.54.	<i>T. versicolor</i> ATCC 200801 özütünün A549 hücrelerine etkisi	64
Şekil 4.55.	<i>T. versicolor</i> ATCC 200801 özütünün BEAS-2B hücrelerine etkisi	65
Şekil 4.56.	<i>T. versicolor</i> (H) özütünün A549 hücrelerine etkisi (48. Saat)	66
Şekil 4.57.	<i>T. versicolor</i> (H) özütünün BEAS-2B hücrelerine etkisi.....	66
Şekil 4.58.	<i>T. trogii</i> (İ) özütünün A549 hücrelerine etkisi (48. Saat)	67
Şekil 4.59.	<i>T. trogii</i> (İ) özütünün BEAS-2B hücrelerine etkisi (48. Saat).....	67
Şekil 4.60.	<i>T. trogii</i> (A) özütünün A549 hücrelerine etkisi (48. Saat).....	68
Şekil 4.61.	<i>T. trogii</i> (A) özütünün BEAS-2B hücrelerine etkisi (48. Saat)	68
Şekil 4.62.	<i>T. versicolor</i> ATCC 200801'in A549 hücrelerindeki Kaspaz-3 aktivitesi	69
Şekil 4.63.	<i>T. versicolor</i> (H)'nin A549 hücrelerindeki Kaspaz-3 aktivitesi	69
Şekil 4.64.	<i>T. trogii</i> (A)'nın A549 hücrelerindeki Kaspaz-3 aktivitesi	70
Şekil 4.65.	<i>T. trogii</i> (İ)'nin A549 hücrelerindeki Kaspaz-3 aktivitesi	70
Şekil 4.66.	<i>T. versicolor</i> ATCC 200801'in BEAS-2B hücrelerindeki Kaspaz-3 aktivitesi	71
Şekil 4.67.	<i>T. versicolor</i> (H)'nin BEAS-2B hücrelerindeki Kaspaz-3 aktivitesi	71
Şekil 4.68.	<i>T. trogii</i> (A)'nın BEAS-2B hücrelerindeki Kaspaz-3 aktivitesi	72
Şekil 4.69.	<i>T. trogii</i> (İ)'nin BEAS-2B hücrelerindeki Kaspaz-3 aktivitesi.....	72
Şekil 4.70.	<i>T. versicolor</i> ATCC 200801'in K562 hücrelerindeki Kaspaz-3 aktivitesi	73
Şekil 4.71.	<i>T. versicolor</i> (H)'nin K562 hücrelerindeki Kaspaz-3 aktivitesi	73
Şekil 4.72.	<i>T. trogii</i> (A)'nın K562 hücrelerindeki Kaspaz-3 aktivitesi	74
Şekil 4.73.	<i>T. trogii</i> (İ)'nin K562 hücrelerindeki Kaspaz-3 aktivitesi	74

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1.1.	Funguslar ve Tıbbi Etkileri	3
Tablo 4.1.	Katı faz özütlerinin disk difüzyon sonuçları	76
Tablo 4.2.	Katı faz özütlerinin MİK değerleri (mg/mL)	77

SİMGELER VE KISALTMALAR

A549	Akciğer kanser hücresi
BEAS-2B	Akciğer sağlıklı epitelyum hücresi
Blin-1	Lösemi hücresi
DMSO	Dimetil sülfoksit
EPS	Ekzopolisakkarit
FBS	Fetal bovin serum
g	Gram
HeLa	İnsan servikal kanser hücresi
Hep G2	Karaciğer kanser hücresi
HIV	Human immundeficiency virus
HL 60	Lösemi hücresi
HT29	Kolon kanser hücresi
IFN	İnterferon
IgG	İmmünglobulin G
IgM	İmmünglobulin M
IL	İnterlökin
K562	Kronik miyeloid lösemi hücresi
KML	Kronik miyeloid lösemi
L	Litre
LNCaP	Prostat kanser hücresi
MCF7	Meme kanser hücresi
MDA-MB-231	Meme adenokanser hücreleri
MİK	Minimum inhibe edici konsantrasyon
mL	Mililitre
Molt-4	Lösemi hücresi
MTT	3-4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolium bromid
Nalm-6	Lösemi hücresi
NB 4	Lösemi hücresi
Nm	Nanometre
P815	Mastositom hücreleri
PBMC	Normal perifer kan mononükleer hücreleri
PBS	Fosfat tamponlu tuz çözeltisi

PC3	Prostat kanser hücresi
PSK	Protein bağlı polisakkarit
PSP	Polisakkaropeptid
PU5-1.8	Lenfoid tümör hücresi
Raji	B hücreli lenfoma
RNI	Reaktif nitrojen araçları
RPMI8226	Lösemi hücresi
SDA	Sabouraud Dekstroz Agar
SDB	Sabouraud Dextrose Broth
STO	Stok temel ortam
SW480	İnsan kolorektal adenokarsinom hücre hattı
T_h	Yardımcı T hücre
THP-1	İnsan monositik hücre hattı
TNF	Tümör nekroz faktör
U-937	Lösemi hücresi
WRL	Lösemi hücresi

1. GİRİŞ

Uzun yıllardan beri Uzak doğu'da tedavi için funguslardan yararlanılmaktadır. Son yirmi yıldır Avrupa, Amerika gibi batılı ülkelerde de funguslar; besin olarak kullanımının yanı sıra tedavi amacıyla kullanılmaya başlanmıştır (Chatterjee vd, 2011; Roupas vd, 2012; Wasser, 2002; Pan Ming Li, 1992; Sharma, 2003). Protein bakımından oldukça zengin olan fungusların yağ oranı düşüktür. Aynı zamanda yüksek oranda karbohidrat ve lif içeriğinden dolayı düşük kalorili oluşu fungusları besin olarak değerli kılmaktadır (Kalac, 2009). Makromoleküllerin yanı sıra vitamin, vitamin öncüleri, mineraller, iz elementler (Kalac, 2009), özel beta-glukanlar gibi biyoaktif bileşikler de içerirler ve fenolik içeriğe bağlı olarak antioksidan özellik gösterirler (Ferreira vd, 2009; Yaltirak vd, 2009). Fungusların yaklaşık 14.000 tanımlanmış türü bulunmaktadır. Ancak 1,5 milyon tür olduğu tahmin edilmektedir. 2003 yılına kadar sadece %10'luk kısmı bildirilmiştir (Sharma, 2003). Fungusların, genellikle, %90'ı su ve %10'u kuru ağırlıktır. Protein içeriği %27-48 arasındadır, karbohidratlar %60'dan azdır, yağ oranı ise %2-8'dir (Crisan and Sands, 1978; Ranzani and Sturion 1998; Morais vd, 2000). Yaklaşık 35 fungus türünün ticari kültürü yapılmaktadır ve bunlardan yaklaşık 20'si endüstriyel boyutta üretilmektedir. Dünyada en çok kültürü yapılan fungus; *Agaricus bisporus*'tur. Bunu *Lentinus edodes*, *Pleurotus* türleri ve *Auricula auricula*, *Flamulina velutipes* ve *Volvariella volvacea* takip etmektedir (Sánchez, 2004).

Çok uzun yıllardır fungusların üretimi yapılmasına rağmen, funguslar üzerindeki temel araştırmalar ve endüstrisi son 40-50 yılda yapılmıştır (Chang ve Miles, 1989).

1.1. Tıbbi Funguslar

Funguslar besin olarak kullanımının yanı sıra, fizyolojik olarak yararlı olmaları ve toksik olmamaları nedeniyle tıbbi açıdan da oldukça önemlidir (Chris vd, 2005; Huang vd, 2008; Chatterjee vd, 2011; Wasser ve Weiss, 1999).

Tıbbi funguslar Asya ülkelerinde uzun yıllardır kullanılmaktadır ama batılı ülkelerde kullanımı son on yılda artış göstermiştir (Sharma, 2003). Antik çağlardan bu yana dünya genelinde insanlar tarafından ilaç olarak kullanılmaktadır. Dünyanın birçok yerinde fungusların ve metabolitlerinin çeşitli hastalıkların tedavisinde

kullanımını keşfetmek için denemeler yapılmış ve yapılmaktadır (Jose ve Janardhanan, 2000). Fungusların bir kısmı geleneksel olarak sağlığı korumak için ve kanser, inflamasyon, viral hastalıklar, hiperkolesterolemi, kan pıhtılaşması, hipertansiyon gibi hastalıkların önlenmesi ve tedavisinde kullanılmaktadır (Breene, 1990; Jong vd, 1991; Chihara, 1992; Wasser ve Weiss, 1999; Biswas vd, 2010). Fungusların ve metabolitlerinin en önemli özelliği olarak anti-neoplastik etkisi son yıllarda bilim adamlarının dikkatini çekmiştir. Fungus metabolitleri genellikle adaptojen ve immünostimülan olarak kullanılmaktadır ve şimdilerde klinik kullanımlarda en yararlı antitümör ajan olduğu düşünülmektedir (Jose ve Janardhanan, 2000).

Bilinen 14.000- 15.000 fungus türünün 700 kadarının tıbbi özellikleri tespit edilmiştir (Hawksworth, 2001). Ancak 1800 fungus türünün tıbbi açıdan öneminin olduğu tahmin edilmektedir. Son on yıldır *in vivo* ve *in vitro* şartlarda araştırmalar devam etmektedir. İmmünmodülatör etkiye sahip çok sayıda biyoaktif molekül funguslardan izole edilmiştir. Biyoaktif moleküller arasında düşük ve yüksek molekül ağırlığına sahip polisakkaritler, protein bağlı polisakkaritler, glikoproteinler (lektinler), triterpenoidler ve fungal immünmodülatör proteinler (Fips) bulunmaktadır (Chang, 1999; Ikekawa, 2001; Zhou ve Gao, 2002).

Son yıllarda funguslarla yapılan çalışmalarda, funguslarda besinsel ve farmasötik değeri olan birçok bileşiğin olduğu gösterilmiştir (Ferreira vd, 2009; Yaltırak vd, 2009).

Funguslarda biyoaktif moleküllerden biri de sterollerdir. Bunların çoğu ise ergosterol yani vitamin D'nin öncüsüdür. UV radyasyonuna maruz kaldığında funguslardaki ergosterol, vitamin D₂'ye (ergokalsiferol) dönüşmektedir. Funguslardaki vitamin D₂, hayvansal ürün tüketmeyenler için erişilebilen tek vitamin D kaynağıdır. Vitamin D'nin kemik için faydaları çok uzun yıllardır bilinmektedir. Ancak immün sistemin düzenlenmesinde rol oynadığı (Cantorna vd, 2004) ve kanseri önlediği (Zhao ve Feldman, 2001; Mezawa vd, 2010) son yıllarda tespit edilmiştir.

Tablo 1.1. Funguslar ve Tıbbi Etkileri

Fungus	Tıbbi Etkisi	Kaynaklar
<i>Trametes versicolor</i>	Antioksidan aktivite	Li & Xu, 1987; Qian, 1997; Ren vd, 1993
	Antidiyabetik aktivite	Ohwada vd, 2006
	Hepatit B'nin önlenmesi ve tedavisi	Yoshitani ve Takashima, 2009
	Karaciğer, meme, mide kanseri gibi tümör hastalıklarının ve bazı immün yetmezlik hastalıkların önlenmesi ve tedavisi	Sakai vd, 2008
	Gastrik ve kolorektal kanserli hastaların hayatta kalma oranlarını artırma	Shibata vd, 2011
	İmmün düzenleyici aktivite	Ramberg vd, (2010)
	Kolorektal kanserde hem doğal hem de kazanılmış bağışıklığı uyarma	Oba vd, 2007; Sakamoto vd, 2006
	B-16 melanom hücrelerinin canlı kalabilirliğini ve tümör hücrelerinin proliferasyonunu azaltma	Harhaji vd, 2008

Tablo 1.1. (devam)

Fungus	Tıbbi Etkisi	Kaynaklar
<i>Ganoderma lucidum</i>	Antioksidan aktivite	Chen vd, 2009; Jia vd, 2009; Xu vd, 2009
	İmmünmodülatör aktivite	Lin vd, 2006; Shao vd, 2004
	Antitümör aktivite (meme, kolorektal, serviks, over, endometriyum, prostat, akciğer kanserlerinde)	Li vd, 2007; Paterson, 2006; Yuen ve Gohel, 2008; Zhang vd, 2007; Wan vd, 2008; Hong vd, 2004; Chen vd, 2010; Jiang vd, 2004; Zhou vd, 2005
	Antiviral aktivite	Stanley vd, 2005
<i>Fomes fomentarius</i>	Antioksidan aktivite	Ito vd, 1976; Lee, 2005; Park, Kim vd, 2004
	Antiinflamatuvar aktivite	
	Antidiyabetik aktivite	
	Antitümör aktivite	
<i>Ganoderma tsugae</i>	Antitümör aktivite	Wang vd, 1993; Peng vd, 2003
<i>Lentinus edodes</i>	Antitümör aktivite	Liu vd, 2009; Oba vd, 2009; Kweon vd, 2002; Gu ve Belury, 2005
	Kemiklerin güçlenmesi	Lee vd, 2009

Tablo 1.1. (devam)

Fungus	Tıbbi Etkisi	Kaynaklar
<i>Agaricus blazei</i>	Natural Killer hücrelerinin aktivitesini artırma	Ahn vd, 2004
	Kemoterapinin yan etkilerini azaltma	Hsu vd, 2007
	Tip 2 diyabette insülin direncini azaltma	Hsu vd, 2008
	Hepatit B'de, Aspartat aminotransferaz ve alanin aminotransferaz enzimlerinin salgılanmasını azaltma.	Endo vd, 2010
	Lösemide, kanserli hücrelerin proliferasyonunu inhibe etme.	Itoh vd, 2008
	Akciğer ve mide kanserinde kromatin kondensasyonu olan hücrelerin ölümüne yol açma.	Barbisan vd, 2003; Angeli vd, 2006
	DNA hasarını azaltma	
<i>Inonotus obliquus</i>	Apoptozu indüklenmesi ve anti-apoptotik proteinlerin düzenlenmesi	Lee vd, 2009
	Tümör seçici sitotoksiste etkinliği	Youn vd, 2008
	DNA parçalanmasını azaltma	Lin vd, 2003 Park, Lee vd, 2004

Tablo 1.1. (devam)

Fungus	Tıbbi Etkisi	Kaynaklar
<i>Pleurotus ostreatus</i>	Antihipertansif, antidiyabetik, antikolesterolemik aktivite	Khatun vd, 2007
	Anti artritlik aktivite	Bauerova vd, 2009
<i>Pleurotus eryngii</i>	Antitümör aktivite	Hwang vd, 2003; Kim vd, 2004
	Antioksidan aktivite	Kim vd, 2004
	Karaciğer koruyucu	Chen, Ju vd, 2012, Chen, Mao vd, 2012
	İmmünsistem güçlendirici	Kang vd, 2004
	Antihiperlipidemik aktivite	Chen, Ju vd, 2012; Chen, Mao vd, 2012
<i>Grifola frondosa</i>	İmmün düzenleyici aktivite	Deng vd, 2009

1.2. Beyaz Çürükçül Funguslar

Beyaz çürükçül funguslar doğada yaygın olarak bulunurlar. *Basidiomycetes* sınıfında beyaz çürükçül funguslar biyoteknolojik çalışmalarda kullanılan lakkaz ve peroksidazlar gibi çeşitli enzimler sentezlerler (Wesenberg vd, 2002).

Beyaz çürükçül fungusların enzimlerinin kullanıldığı çalışmalara aşağıdaki örnekleri verebiliriz;

- a. Enzim üretimi (Rogalski vd, 1991; Apohan ve Yesilada, 2017; Gedikli vd, 2010).
- b. Ağır metal adsorpsiyonu (Dhawale vd, 1996; Gabriel vd, 1996; Akar vd, 2009).
- c. Tekstil fabrikası atık suları ve boyar maddelerin renginin giderimi (Yeşilada vd, 2003; Nyanhongo vd, 2002; Swamy ve Ramsay, 1999).
- d. Kağıt ve kağıt hamuru üretimi (Kuhad vd, 1997).
- e. Alkol ve zeytinyağı fabrikası atık suyunun biyolojik iyileştirilmesi (Jaouani vd 2006; Yeşilada ve Bozcuk, 1990; Yesilada vd, 1998).

1.2.1. *Trametes versicolor*

Trametes versicolor taksonomik olarak *Basidiomycetes* sınıfında, *Poliporales* ordosu, *Poliporaceae* familyasında yer alır (Emberger, 2008). Hastalıklarla savaşmak için ve vücudu korumak için sağlıklı ürünler olarak kullanılabilir. *T. versicolor* polisakkaritlerinin antioksidan etkileri oldukça fazladır, kan şekerini düşürürler; akciğer, meme, mide kanseri gibi tümör hastalıklarının ve hepatit B, bazı immün yetmezlik hastalıkların önlenmesi ve tedavisinde kullanılabilirler (Li & Xu, 1987; Qian, 1997; Ren vd, 1993).

Japonya'da *T. versicolor* CM-101 suşunun miselinden üretilen protein bağlı polisakkarit, PSK (ticari ismi, Krestin)'dir. %62'si polisakkarit, %38'i proteinden oluşmaktadır. Moleküler ağırlığı ortalama 94 kDa'dır. Karbohidrat iskeletin ana bileşeni glukozdur ve az miktarda galaktoz, mannoz, ksiloz ve fukoz bulunmaktadır (Sakagami ve Takeda, 1993). Ancak Çin'de aynı türün Cov-1 suşunun derin kültür miselinden elde edilen polisakkarit ise polisakkarit-peptittir (PSP). Bunun moleküler ağırlığı ise yaklaşık 100 kDa'dır ve %90 polisakkarit %10 peptitten oluşmaktadır (Jong ve Yang, 1999). PSP'nin karbohidrat iskeleti mannoz, ksiloz, galaktoz, arabinoz ve ramnozdan oluşmaktadır. PSK'da arabinoz ve ramnoz bulunmazken fukoz bulunmaktadır (Yang, 1993). Hem PSK hem de PSP'nin protein iskeleti,

aspartik asit, glutamik asit gibi asidik aminoasitlerce zengindir. Bunların ötesinde, aynı suşun farklı kısımlarından; şapkasından, miselinden ya da ekstraselüler sıvısından elde edilen polisakkaritlerin bile kimyasal yapısı ve fonksiyonları oldukça farklılık göstermektedir (Mizuno, Saito vd, 1995). PSK, Japonya’da gastrik ve kolorektal kanserin tedavisi için geliştirilmiştir. PSK’nın immün düzenleyici etkileri kısmen T hücrelerinin apoptozunu önlemesiyle ve kemoterapinin neden olduğu periferik nöropati ve kemik iliği baskılanmasını azaltmasına bağlıdır (Kono vd, 2008; Shibata vd, 2011). Ayrıca fare deneylerinde PSK’nın bazı ilaçların sitotoksitesini artırdığı gözlenmiştir (Kato ve Ooshiro, 2007; Kinoshita vd, 2010; Umehara vd, 2009; Yamasaki vd, 2009). PSK’nın immünstimülasyonla sağladığı antikanser etki, seçici TLR2 agonisti ve TGF- β pathway inhibitörü olarak rol oynamasıyla alakalıdır (Lu vd, 2011a; Lu vd, 2011b; Ono vd, 2012). İmmünstimülatör etkisinin yanı sıra, PSK’nın, çeşitli hücre hatlarının hücre döngüsünde durmasını sağlayarak proliferasyonunu inhibe ederek ve apoptozun indüklenmesini sağlayarak direkt olarak antitümör etki yaptığı gösterilmiştir (Hirahara vd, 2010; Hirahara vd, 2011, Jiménez-Medina vd, 2008).

PSP, Çin’de *T. versicolor*’dan üretilen bir başka proteoglykandır. Aynı türlerden üretilmesine ve PSK ve PSP aynı polisakkarit bileşimine sahip olmasına rağmen, polisakkarite bağlı protein birimlerinde değişiklik gösterirler (Ooi ve Liu, 2000). PSP apoptozu indükleyerek ve hücre döngüsünü durdurarak tümör hücre proliferasyonunu azaltmaktadır (Hsieh vd, 2006). PSP, insan kanser hücre döngüsünün S fazını hedefleyerek; doksorubisin, etoposid, kamptotesin ve siklofosfamid gibi bazı ilaçların sitotoksitesini artırmaktadır (Wan vd, 2008; Chan ve Yeung, 2006). Ayrıca PSP, prostat kanseri oluşturacak hücreleri hedef alarak prostat kanserini önleyici etkiye de sahiptir (Luk vd, 2011). PSP’nin *Astragalus* polisakkaritiyle olan yeni kombinasyonu önemli immünstimülatör etkiler göstermiştir ve adriamisin kaynaklı immünsupresyonda immünolojik etkileri yeniden düzenlediği, tümör dokudaki protein ekspresyonunu ve hücre apoptozunu düzenlediği gösterilmiştir. Bu sonuçlar PSP’nin kombinasyonlarının, tek başına gösterdiği etkiden daha yüksek etkiler sağladığını göstermektedir (Li vd, 2008).

1.2.2. *Lentinus edodes*

Lentinus edodes taksonomik olarak *Basidiomycetes* sınıfında, *Poliporales* ordosu, *Poliporaceae* familyasında yer alır (<http://eol.org/pages/192749/names>). Lentinan, yüksek moleküler ağırlığa (5×10^5 Da) sahip, *L. edodes*'in şapkasındaki hücre duvarından izole edilir ve genellikle düzenli olarak dallanmış iskelette β (1-3), yan zincirlerde ise β (1-6) glukoz bağları bulunur. Diğer fungus polisakkaritlerine göre daha yüksek antitümör etkisinin olduğu bildirilmiştir (Chihara vd, 1970). Japonya'da 1985'te lentinan enjeksiyonu uygulanmış ve gastrik kanserin tedavisinde adjuvan olarak üretilmiştir (Bisen vd, 2010). Lentinanın çeşitli kimyasal ilaçlarla ve diğer terapilerle olan sinerjistik etkisi de takip eden yıllarda gösterilmiştir. Gastrik kanserde, pankreas kanserinde, kolorektal kanserde ve hepatoselüler karsinomada lentinan adjuvanlarının kombinasyonları kullanılmaktadır. Bu kombinasyon kemoterapilerin, uygulama sürelerini uzattığı ve ratlarda kemoterapinin yan etkilerini azalttığı gösterilmiştir. Dolayısıyla, kanser hastalarının yaşam süresini uzatabilirler ve yaşam kalitesini artırabilirler (Zong vd, 2012). İçeriğinde lentinan olan diğer kombinasyon terapilerin de; lentinan/OK-432 (Yoshino, Yoshida vd, 2010), lentinan/DCV aşısı (Wang vd, 2007), lentinan/TACE/RFA (Yang vd, 2008); çeşitli kanserlere karşı herhangi bir yan etki olmadan antikanser potansiyeli artırdığı gözlenmiştir. Oral olarak uygulanan, ilerlemiş pankreas kanseri, hepatoselüler karsinoma, gastrik kanser ve kolorektal kanser için tamamlayıcı ya da alternatif tedavi olabilen lentinanın, güvenilir olduğu, hastaların hayatta kalmalarında etkili olduğu ve yaşam kalitesini de artırdığı gösterilmiştir (Hazama vd, 2009; Isoda vd, 2009; Oba vd, 2009; Shimizu vd, 2009; Yoshino, Watanabe vd, 2010).

1.2.3. *Ganoderma lucidum*

Ganoderma lucidum; *Basidiomycetes* sınıfı, *Aphylophorales* ordosu *Ganodermataceae* familyasında yer almaktadır (Chang ve Miles, 2004). *G. lucidum* uzun yıllardır bilinmektedir ve ölümsüzlük mantarı olarak da isimlendirilmektedir. Japonlar Reishi, Çinliler ve Koreliler Ling-Zhi veya Ling Chi (ölümsüzlük mantarı yada ölümsüzlük bitkisi) olarak da ifade etmektedirler (Zhao ve Zhang, 1994).

G. lucidum'un sıcak su özütü Çin'de yıllardır antitümör ve immünmodülatör ajan olarak kullanılmaktadır. Son zamanlarda, *G. lucidum*'dan antitümör ve immünstimülatör özelliği olan beş tane polisakkarit- protein/peptid konjugatı izole edilmiştir. Polisakkarit fraksiyonu 3 (F3) *G. lucidum*'dan elde edilen sıcak su ekstralarının en aktif bileşenidir (Wang vd, 2012). F3'ün makrofaj benzeri farklılaştırmayı ve insan lösemi THP-1 hücrelerinde apoptozu indüklediği bulunmuştur. F3'ün THP-1 hücrelerinde, reseptör oligomerizasyonu, özelleşmiş adaptör proteinlerin takviyesi ve kaspaz kaskadlarının aktivasyonu, tıpkı TNF- α ve TRAIL gibi ölüm reseptör ligandlarını indüklediği ileri sürülmüştür (Cheng vd, 2007; Hsu vd, 2009). Ling-Zhi polisakkarit F3'ün ve cisplatin ya da arsenik trioksitle olan kombinasyonları, mesane ürotelyal kanser hücreleri N/P (14) ve N/As (0.5)'nin cisplatin ve arsenik trioksitle olan direncini oldukça azaltmaktadır. Bu etkilerin tümü, apoptozla ilişkili proteinlerin ekspresyonlarını düzenlemesiyle ilgili olduğu gösterilmiştir (Huang vd, 2010).

1.2.4. *Pleurotus ostreatus*

Pleurotus genusunda yaklaşık 40 tür bulunmaktadır (Jose ve Janardhanan, 2000). *Pleurotus ostreatus*, *Basidiomycetes* sınıfı, *Agaricales* ordosunda bulunan *Tricholomataceae* familyasında yer alır. Geleneksel Çin tıbbında kullanılmaktadır ve yenilebilirdir. Kavak fungusu olarak da bilinir. Ana bileşenleri polisakkaritler, lektin, polipeptit, aminoasit ve fenol oksidazdır (Bomford, 1989; Goto vd, 1993). *P. ostreatus*, zengin protein, karbohidrat, mineral ve vitamin içeriği, lezzetli tadı ve düşük yağ oranı nedeniyle ticari açıdan önemli bir fungustur (Hernández vd, 2003; Kalmis vd, 2008). Bu fungusun antioksidan aktivitesi, immünmodülatör etkisi, antitümör etkisi, antiviral, antiinflamatuvar, antibiyotik ve kolesterolü düşürücü etkileri tespit edilmiştir (Jayakumar vd, 2006, Jayakumar vd, 2007; Wang vd, 2000; Regina vd, 2008).

1.2.5. *Funalia trogii*

Funalia trogii Basidiomycetes sınıfı, Polyporales ordosu, Polyporales familyasında yer alır (Anonymous, 2015).

F. trogii lignin içeren ağaçlar üzerinde oluşan beyaz çürükçül bir fungustur. Peroksidazlar ve polifenol oksidaz (lakkaz) enzimi aracılığıyla lignini yıkar (Reid, 1995; Tuor vd, 1995). *F. trogii*'nin antitümör ve sitotoksik aktivitesinin olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (Mazmanci vd, 2011; Rashid vd, 2011, Unyayar vd, 2006).

1.2.6. *Grifola frondosa*

Grifola frondosa, Basidiomycetes sınıfı, Aphyllophorales ordosu, Polyporaceae familyasına bağlı beyaz çürükçül bir fungustur. Asya, Kuzey Amerika ve Avrupa'da doğal olarak bulunur. Sağlık açısından çok yararlı olması nedeniyle "fungusların kralı" olarak adlandırılır (Mizuno, Zhuang vd, 1995). Bugünlerde polisakkarit içeriği ve sağlığı destekleyici özellikleri dikkat çekmektedir (Mayell, 2001).

D-fraksiyonu ve MD-fraksiyonu, Japonya'da *G. frondosa*'nın hem miselinden hem de şapkasından elde edilen biyoaktif β -glukanlardır. D-fraksiyonunun baskın olan kısmı protein bağlı polisakkarittir. Polisakkarit iskeletinin temeli β -glukandan (β - 1,3 dallı β - 1,6 glukan ve β -1,6 dallı β - 1,3 glukan) oluşmaktadır ancak yanı sıra birkaç tane tanımlanmamış protein birimi de bulunmaktadır. MD-fraksiyonu, D-fraksiyonunun ileri saflaştırılmasıyla elde edilir ve antikanser etkisi daha fazladır (Mayell, 2001). D ve MD- fraksiyonlarının çok iyi antitümör özelliğe sahip oldukları gösterilmiş ve bu nedenle Amerika ve Japonya'da faz I/II klinik denemelerine geçilmiştir. MD fraksiyonu kanser hücresinde BAK-1 geninin aktivasyonunu gerçekleştirerek apoptozun indüklenmesini sağlamaktadır (Soares vd, 2011). Interferon α -2b ve MD-fraksiyonu kombinasyonunun sinerjistik olarak, DNA-PK aktivasyonunu tetiklediği ve kanser hücresinin, hücre döngüsünde G1 fazında kalmasını sağladığı gösterilmiştir (Louie vd, 2009; Pyo vd, 2008). MD-fraksiyonunun, cisplatinin farelerde antitümör ve antimetastatik etkilerini arttırdığı ve neden olduğu immünsupresyon ve nefrotoksik etkileri azalttığı kanıtlanmıştır (Masuda, Inoue vd, 2009). Siklofosfamidle indüklenmiş granülositopenik farelerde,

MD fraksiyonunu, granulosit koloni stimule edici faktörü (G-CSF) üretimini çoğaltarak ve CXCR4/SDF-1 (stromal cell-derived factor 1)'in ekspresyonunu ayarlayarak, granulosit oluşumunu ve granulosit hareketlerini önemli ölçüde arttırmaktadır (Ito vd, 2009). *G. frondosa*'dan ayrıca, bir heteropolisakkarit olan maitake Z-fraksiyonu (MZF) izole edilmiştir. MZF, *in vivo* olarak tümör çoğalmasını hücre aracılı immüniteyle inhibe etmektedir ve murinlerde kolon kanserine karşı, kemik iliği dendritik hücre bazlı immütedavilerin özelliklerini artırdığı gözlenmiştir (Masuda, Matsumoto vd, 2009; Masuda vd, 2010).

1.3. Tıbbi Fungusların Etkileri

Yenilebilen funguslar, düşük yağ oranının yanı sıra, lifli yapısı ve fonksiyonel bileşenleri içermesi açısından önemlidir (Brene, 2010; Manzi vd, 2001). β -glukanlar; fungusların, mayaların, bitkilerin ve bakterilerin hücre duvarında bulunan uzun zincirli polisakkaritlerdir ve hayvanlarda bulunmaz. Bu nedenle; omurgalılarda, bu karbohidrat yapılar immunsistemleri tarafından tanınır (Brown ve Gordon, 2003). Direkt olarak lökositleri ve fagositleri aktive edebilirler (Smiderle vd, 2008). Bunun yanında sitokin ve kemokin gibi proinflamatuvar medyatörleri stimüle edebilirler (Scheperkin ve Quinn, 2006). Böylelikle antitümör (Mizuno vd, 1990), antioksidatif (Toklu vd, 2006), antiinflamatuvar (Dore vd, 2007) ve immünmodülatör (Zhang vd, 2007) olarak görev yapabilirler.

Tıbbi fungusların %77'sinden daha fazlası şapka formundan elde edilmektedir. Bunlar hem ticari ürünlerdir hem de doğal ortamlardan elde edilmektedir. Ürünlerin sadece %20'si laboratuvar ortamında üretilmiş misellerden elde edilmektedir ve bunların %2'si derin kültür yöntemiyle elde edilen ekstraselüler sıvılardır. Statik koşullarda derin kültür yöntemiyle oluşan miseller saf olmaktadır. Derin kültür yöntemi tutarlı ve sağlıklı fungus ürünleri elde etmenin en iyi yoludur.

Son yıllarda farmakolojik olarak aktif bileşikler tanımlanmaktadır. Biyolojik olarak aktif polisakkaritler en iyi bilinen fungus ürünüdür ve immün stimülan olarak rol oynayarak, özellikle çeşitli kanserlerin ve başka hastalıkların ilerleyiş hızını azaltmada etkilidir. Kemoterapi ve radyasyon terapisi sırasında oluşan yan etkileri, hücre seviyesinde rejeneratif etkileriyle azaltmaktadır.

1.3.1. Hematolojik Etkileri

Lektinler şekerlerin özgül olarak bağlandıkları protein ya da glikoproteinlerdir ve glikozillenmiş maddelere karşı özgül bir affiniteleri vardır (Liener, 1979). Bazı lektinler antitümör ve immünmodülatör aktivite göstermektedir (Ganguly ve Das, 1994; Wang vd, 1995; 1996; 1997). İmmün yanıt oluşumunda meydana gelen moleküler olaylarda lektin-karbohidrat etkileşimi, büyük rol oynamaktadır (Sharon ve Lis, 1972). Lektin terimi aglutinin, hemaglutinin ve fitohemaglutin terimleri yerine kullanılabilir. Eritrositlerin yüzey glikoproteinleri ile fungal lektin arasındaki etkileşim, yenilen fungusların hematolojik aktivitelerine bir örnektir. *Agaricus campestris*'ten elde edilen lektin, tetramer yapıdadır ve moleküler ağırlığı 64.000 kDa'dır (Sage ve Connett, 1969).

1.3.2. Antiviral Etkileri

Funguslarda antiviral bileşiklerin olduğunu ilk kez Cochran bildirmiştir (Goulet vd, 1960). Böylece Japonya'daki birçok fungusun araştırılmasına sebep olmuştur. *Lentinula edodes*'in şapka ve sporlarının farelerde influenza A/SW15 virüsüne karşı etkinliği saptanmıştır (Tsunoda ve Ishida, 1969). Antiviral aktivite, konakta interferon salınımını indükleyerek oluşmaktadır. Fungus ekstraktının fenolle fraksiyonu antiviral aktiviteyi arttırabilmektedir. Fungus ekstraktındaki RNA fraksiyonu interferonu indükleyebilir, çünkü çift iplikli DNA (ds-DNA)'nın interferonları indüklediği bildirilmiştir (Kleinschmid, 1972). Suzuki ve arkadaşları *L. edodes*'in spor ekstraktlarındaki ds-DNA'dan dolayı interferonları indüklediğini doğrulamıştır (Suzuki vd, 1973). ds-DNA, şapkaya ya da spora bağlı mikofajlardan kaynaklanmaktadır (Takehara vd, 1979; Ushiyama vd, 1971). Hatta sadece *L. edodes*'de değil çeşitli funguslarda virus benzeri partiküller bulunduğu tespit edilmiştir (Mori vd, 1978). Human immunodeficiency virus (HIV), kazanılmış immün yetersizlik hastalığı sendromu (AIDS) etkenidir. *L. edodes* miselinden elde edilen bir ekstraktın HIV'in *in vitro* replikasyonunu inhibe ederek anti-HIV etkisi bildirilmiştir (Tsunoda ve Ishida, 1969). Bu fungusun şapkasından elde edilen bir polisakkarit, lentinan, HIV enfeksiyonunu engelleyememektedir. Ancak, sulfat-lentinan kompleksi, HIV kaynaklı sitopatik etkiyi tamamen önlemektedir (Yoshida vd, 1988). *Trametes versicolor*'dan elde edilen PSK'nın *Ectromelia* virüsü ve

Cytomegalovirus enfeksiyonlarında antiviral aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir (Tsukagoshi vd, 1984.). Yine *Ganoderma lucidum*'un suda çözünebilir bir ekstraktının anti-HIV aktivitesinin olduğu bildirilmiştir (Kim, Shim vd, 1997). Ganoderiol F, ganodermanontriol, ganoderik asit b, ganodermanondiol, ganoderanotriol, ganolusidik asit, lucidumol B diye isimlendirilen anti-HIV bileşiklerin izole edildiği bildirilmiştir (el-Mekkawy vd, 1998; Min vd, 1998.). *Grifola frondosa*'nın sülfatlı özütlerinin *in vitro* olarak, HIV'le enfekte olmuş yardımcı T lenfositlerinin parçalanmasını %97 oranında azalttığı bildirilmiştir (Zhuang ve Mizuno, 1999). HIV'in AIDS oluşturma sürecinde, yardımcı T hücrelerinin miktarı önemli rol oynamaktadır (U.S. National Cancer Institute, 1992.).

1.3.3. Antitümör Etkileri

Funguslar besin ve tıbbi amaçlı olarak uzun yıllardır bazı Asya ülkelerinde tüketilmektedir. Günümüzde, fungusdan üretilen biyoaktif bileşikler modern klinik uygulamalarda bile kullanılmaktadır. Son 50 yıldır Japonya'da, Çin'de, Kore'de ve daha yakın zamanda da Amerika'da yapılan çalışmalar funguslardan üretilen bileşiklerin kanser tedavisindeki potansiyelini ortaya çıkarmıştır. Funguslardan üretilen bileşiklerin arasında polisakkaritler anti-kanser ve immünmodülatör özelliği en yüksek bileşik olarak bildirilmektedir. Funguslardan elde edilen polisakkaritlerin, immünmodülatör ya da biyolojik yanıt modifikatörü gibi rol oynayarak, tümörün büyümesini önlediği açıkça gösterilmiştir.

Fungusların çoğundaki polisakkarit ya da temel olarak polisakkarit içeren özütlerin antikanser özelliği hayvan modellerinde gösterilmiştir, bazıları ise insanlara uygulanmaya kadar ileri gitmiştir. Bunların kimyasal yapıları α - ya da β -glukanlardan ya da protein bağlı glukanlardan oluşmaktadır. Fungus polisakkaritlerinin beş tanesinin önemli düzeyde antikanser etkinliğe sahip olduğu gösterilmiştir. Bunlar; *Lentinus edodes*'den lentinan, *Grifola frondosa*'dan D-fraksiyonu, *Schizophyllum commune*'den schizophyllan, *Trametes versicolor*'dan polisakkarit-K ve polisakkarit-peptid (PSP)'dir (Wasser, 2002). Kökenleri farklı olsa da, bu polisakkaritlerin antitümör etkileri temel olarak, konak aracılı immünitedir (Sakagami vd, 1991; Takizawa, 1991). Polisakkaritlerin immün sistemde farklı etkilerinin olduğu gösterilmiştir (Chihara, 1992). β -glukanların bir membran reseptörüne, komplement reseptör tip 3'e bağlanarak, biyolojik yanıtı indüklediği

gösterilmiştir. Daha sonradan bu aktiviteyi sağlayan başka bir diğer reseptör, dektin-1, tanımlanmıştır (Zaidman vd, 2005).

1.3.4. Antimikrobiyal Aktivite

Antibiyotiklerin keşfi son yüzyılın en büyük bilimsel keşiflerden biri olmuştur. Bu bileşikler, organizmanın metabolik yapısına göre çeşitli yollardan etkinlik göstermektedirler (Fuchs, 2004). Hücre duvarı sentezinin inhibisyonu, hücre membran permeabilitesini değiştirme, kromozom replikasyonu ya da protein sentezine etki eden mekanizmaları vardır (Tenover, 2006). Antibakteriyel bileşikler çok çeşitli olmasına rağmen, ilk seçenek antibiyotiklere bakteriyel direnç git gide artmaktadır. Örneğin; *Klebsiella* spp. ve *Escherichia coli* gibi mikroorganizmalar geniş spektrumlu beta laktamaz üretmektedir ya da üçüncü kuşak sefalosporinlere direnç göstermektedir. Metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA), vankomisin dirençli *Enterococcus* spp., kolitsin ve karbapemen direnci geliştiren *Acinetobacter* spp. ve aminoglikozitler, karbapenemler ve sefalosporinlere direnç geliştiren *Pseudomonas* spp. dirençli mikroorganizmalara verilecek diğer örneklerdir (Sharma vd, 2014).

Antibiyotiklerin yaygın ve yanlış kullanılması sonucunda, çoklu ilaç direncinin de görüldüğü antibiyotiklere dirençli suşlar gelişmiştir (Kumar ve Schweizer, 2005). Önceden kolaylıkla tedavi edilebilen hastalıklar, günümüzde gelişen antibiyotik direncinden dolayı ciddi bir problem olmuştur (WHO report on infectious diseases, 2000; Peres-Bota vd, 2003). Dünyada antibiyotik tedavisine yanıt alınamayan enfeksiyöz hastalıkların sayısı git gide artmaktadır (Levy, 2005). Antibiyotik kullanımının düzenlenmesi ve hastahane enfeksiyonlarının azaltılmasına yönelik çalışmalar acilen gereklidir (French, 2005). Aynı zamanda antimikrobiyal tedavinin etkinliğinin artması için yeni antimikrobiyal özellikli maddeler geliştirilmelidir (van der Waaij ve Nord, 2000).

Dünya Sağlık Örgütü 2010 yılında tüm ülkelere çoklu ilaç direncine sahip bakterilerin yayılmasını önlemek için bu mikroorganizmalara karşı kullanılacak alternatif tedavilerin kalmayacağını öne sürerek kontrol prosedürleri önerdi (World Health Organization report antimicrobial resistance, 2012).

Mikroorganizmalarla oluşan enfeksiyon hastalıkları son yıllarda büyük problem haline gelmiştir. Antibiyotiklerin fazla kullanılmasıyla antibiyotiklere

dirençli bakteriler ve funguslar gelişmektedir. Ayrıca klasik antibiyotikler immün sistemi baskılama gibi yan etkilere de sahiptir. Sonuç olarak bitkilerden ya da funguslardan antimikrobiyal maddelerin keşfi oldukça önemlidir. Bu amaçla çoğu bitki ve fungus antimikrobiyal özellikleri açısından test edilmektedir (Karuppusamy, 2009; Lou vd, 2010).

Fungusların Yunan ve Roman halkı tarafından yüzyıllardır besin kaynağı ve geleneksel tıpta kullanıldığı bilinmektedir (Anke, 1989). Dioscorides, birinci yüzyıl Yunan doktoru, *Laricifomes (Fomitopsis) officinalis*'in tüberküloza iyi geldiğini tespit etmiştir (Stamets, 2002). Fungusların doğal çevre şartlarında yaşamlarını sürdürebilmeleri için antibakteriyel ve antifungal bileşiklere ihtiyaçlarının olduğu bilinmektedir. Bundan dolayı funguslardan elde edilecek antimikrobiyal bileşikler insanlar için de kullanılabilir. Funguslar, düşük ve yüksek moleküler ağırlığa sahip bileşiklerinden dolayı, doğal antibiyotik olarak kullanılabilirler. Düşük moleküler ağırlığa sahip bileşikler temel olarak sekonder metabolitlerdir; seskiterpenler ve diğer terpenler, steroidler, antrakınon ve benzoik asit türevleri ve kinolonlardır, ayrıca primer metabolit ürünlerinden oksalik asit gibi bileşiklerdir. Yüksek moleküler ağırlıklı bileşikler ise peptitler ve proteinlerdir (Lindequist vd, 2005).

Bakteriyel enfeksiyonların aksine viral enfeksiyonlar genel antibiyotiklerle tedavi edilemediğinden spesifik ilaçlara gereksinin duyulmaktadır. Funguslardan elde edilen özütlerin ya da ayrıştırılan bileşiklerin antiviral özelliklerinin olduğu gösterilmiştir. Bu bileşikler ya da özütler; viral enzimlerin inhibisyonuyla, viral nükleik asitlerin sentezinin ya da adsorbsiyonunun inhibisyonuyla ve virüslerin memeli hücrelerine alınmasını inhibe ederek, direkt olarak antiviral etkinlik gösterirler. Dolaylı olarak ise polisakkarit ya da diğer kompleks moleküllerin immünstimulan etkileri sayesinde etkinlik gösterirler (Brandt vd Piraino, 2000).

1.3.5. Antioksidan Aktivite

Oksidasyon, çoğu organizmada, biyolojik işlevleri yerine getirebilmek için gerekli olan enerjiyi üretmek için esansiyeldir. Ancak, canlı sistemde sürekli üretilen, oksijen merkezli serbest radikaller ve diğer reaktif oksijen türevleri hücre ölümü ve doku hasarına yol açmaktadır. (Halliwell ve Gutteridge, 1984).

Serbest radikallerle oluşan oksidatif hasar yaşlanma ya da ateroskleroz, diyabet, kanser ve siroz gibi hastalıklarla ilişkilendirilebilir (Halliwell & Gutteridge,

1984). Neredeyse bütün organizmalar süperoksit dismutaz, katalaz gibi enzimlerle ya da askorbik asit, glutatyon ve tokoferol gibi bileşiklerle serbest radikal hasarına karşı korunmaktadırlar (Mau vd, 2002; Niki vd, 1994). Antioksidan savunma mekanizması ve tamir sistemlerine rağmen organizmaların hiç birinde, hasarın tamamını elimine edecek sistem yoktur (Simic, 1988). Bu sebeple, antioksidan desteği ya da antioksidan içeren besinler insanlarda oksidatif hasarı azaltmak için yararlı olabilmektedir (Yanga vd, 2002).

Antioksidan özelliği olan doğal ürünler, sistemi korumada yardımcıdır ve dolayısıyla besin destekleri içerisinde antioksidanlara olan ilgiyi artırmaktadır. İnsan diyetlerindeki antioksidanlar, insan vücudundaki oksidatif hasarı azaltmaya yardımcı olduğu için ilgi çekmektedir (Barros vd, 2007).

Besinlerde sabitleyici olarak sentetik antioksidanlar kullanılmaktadır. En sık kullanılanı butillenmiş hidroksianizol (BHA), butillenmiş hidroksitoluen (BHT) ve tert-butillenmiş hidroksikinon (TBHQ)'dur. Bunlar yağ ve yağlı gıdalara oksidatif bozulmaları önlemek amacıyla uygulanır (Löliger, 1991). Ama deney hayvanlarında BHA ve BHT'nin antikanserojenik olmasının yanı sıra kanserojen olduğu da tespit edilmiştir. BHA, tümör oluşumunu hem başlatmakta hem de gelişimine destek olmaktadır. Son zamanlarda tümör oluşumunun, sadece tümörü geliştiren BHA ve BHT ile gerçekleştiği saptanmıştır (Botterweck vd, 2000).

Asya kültüründe yaygın bir şekilde yer alan, yenilebilen fungusların bazılarının, antioksidan aktiviteye sahip olduğu bulunmuş ve antioksidan özelliğın içeriklerindeki fenolik bileşiklerden kaynaklandığı saptanmıştır (Cheung vd, 2003).

Funguslar, fenolik bileşikler, poliketidler, terpenler ve steroidler gibi çeşitli sekonder metabolitler açısından zengindir. Gallik asit, kateşin, kafeik asit, quersetin, ellagic asit ve p-kumarik asit gibi fenolik bileşiklerin, antioksidan kapasitesi oldukça iyi bilinmektedir (Sun vd, 2007). Besin değerinin kalitesi, şapkanın kimyasal yapısına bağlıdır, özellikle de fenol içeriğine bağlıdır. Fenolik bileşikler, düşük yoğunluklu lipitlerin (LDL) oksidasyonunu inhibe etmesiyle antioksidan özelliği göstermektedir (Teissedre ve Landrault, 2000). Fenolik bileşikler, ateroskleroz ve kanserin inhibisyonunu sağlayan, esansiyel olmayan diyet bileşiklerinin önemli bir grubudur (Williams ve Iatropoulos, 1997). Hemen hemen bütün organizmalar, süperoksit dismutaz, katalaz gibi enzimler ve askorbik asit, tokoferoller ve glutatyon gibi bileşikler sayesinde serbest radikal hasarından korunmaktadır (Niki vd, 1994; Mau vd, 2002). Yaşlanma, fizyolojik fonksiyonların bozulması gibi durumlarda

antioksidan korunma mekanizmasının dengesi bozulabilir ve bu durumda hastalıklar ve hızlı yaşlanma ortaya çıkar (Mau vd, 2002).

Daha önce belirtildiği gibi son yıllarda fungusların tıbbi özellikleri ile ilgili olarak fungus sektöründe sürekli bir genişleme görülmektedir. Fungusdan türetilmiş preparatların (MDPS) hücrel DNA oksidatif hasarını önleme yeteneği, tek hücreli jel elektroforezi (" Comet ") deneyi ile değerlendirilmiştir (Shi vd, 2002). MDPS yaygın dokuz fungusın şapkasından elde edilmiştir. DNA oksidatif hasarına karşı koruma kabiliyetleri bakımından büyük farklılıklar göstermişlerdir. *A. bisporus* fruktifikasyon yapılarının soğuk su ekstraksiyonu (Ab- soğuk) ile en yüksek korunma sağlanırken *Ganoderma lucidum* (G1 - sıcak) sıcak su (100°C) ekstresi ile elde edilen MDP ondan sonraki en yüksek korumayı sağlamıştır. *G. lucidum*'un metanol ve sulu ekstraktlarının belirgin bir serbest radikal süpürücü faaliyet gösterdiği de rapor edilmiştir (Jones ve Janardhanan, 2000). Bu bulgular, bazı yenilebilir fungusların biyolojik olarak aktif bileşiklerinin oksidatif hasardan hücrel DNA'yı korumak için kaynak oluşturduğunu göstermektedir (Buswell ve Chang, 2002).

1.4. Kanser

Kanser dünyadaki ölüm nedenlerinin başında gelmektedir. Hastalık, anaplastik hücrelerin kontrolsüz olarak çoğalmasıyla, dokuları sarmaya ve diğer doku ve organlara metastaz yaparak dağılmasıyla karakterizedir. Kanseri, normal bir hücredeki kromozomal DNA'daki mutasyondan kaynaklanmaktadır. Dış etkenler (tütün, alkol, kimyasallar, enfeksiyöz ajanlar ve radyasyon gibi) ve iç etkenler (hormonlar, bağışıklık durumu, kalıtsal mutasyonlar, metabolizmadaki mutasyonlar gibi) bu süreci tetikleyebilir. WHO'nun bir raporunda dünya çapında 32,6 milyon insanın kanser olduğu tahmin edilmekte olup, 2012'de 8.2 milyon kişinin kanserden öldüğü bildirilmiştir. Bu rapora göre, 2030 yılına kadar 21 milyon yeni kanser vakası beklenmekte ve 13 milyon ölümün olacağı tahmin edilmektedir. Kanseri dünyadaki bütün ölümlerin %13'ünden sorumlu tutulmaktadır ama kanseri ölümlerinin %30'u anahtar risk faktörlerinden kaçınarak önlenmektedir (World Health Organization, 2014).

Yirminci yüzyılın ortalarına kadar nadir görülen akciğer kanseri oranı bu yüzyılın ikinci yarısında giderek artmıştır. Akciğer kanserleri en sık karşılaşılan kanserler arasındadır. Gelişmekte olan ülkelerde tüm kanseri ölümleri arasında

önemli bir yer tutmaktadır. WHO'nun raporuna göre 2015 yılında akciğer kanseri dünyada yaklaşık 1,5 milyon ölüme neden olmuştur (World Health Organization, 2017). Ülkemizde akciğer kanseri oranı (erkeklerde 75.87/100 000, kadınlarda 9.58/100 000) ve mortalite oranları giderek artmaktadır. Yani akciğer kanseri, kanser ölümleri arasında önemli bir yer tutmaktadır. Akciğer kanseri olgularının yaklaşık %85'ine evre III ve IV gibi geç evrelerde tanı konulabildiğinden tedavisi zor ve masrafları yüksektir (Ece, 2010).

Akciğer kanserleri; adeno kanser, skuamöz hücreli kanser, küçük hücreli kanser ve büyük hücreli kanser olmak üzere dört ana histolojik tiptedir (Kumar vd, 2013).

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Ikewawa ve arkadaşları, *Flammulina velutipes*, *Lentinus edodes*, *Pholiota nameko*, *Pleurotus ostreatus*, *P. spodoleucus* ve *Tricholoma matsutake*'den elde ettikleri sıcak su özütünün, Sarcoma 180'li albino farelerde, önemli ölçüde konak kaynaklı antitümör aktivite oluşturduklarını göstermişlerdir (Ikekawa, 2001). Chihara, lentinanın antitümör özellikleri gösteren ilk araştırmacılardan biri ve arkadaşları *L. edodes*'ten elde ettikleri polisakkarite Lentinan ismini vermişlerdir (Chihara vd, 1969).

Liu ve arkadaşları bir çalışmada, *Tricholoma lobayense*'nin polisakkarit-protein kompleksi (PSPC)'nin, *in vivo* ve *in vitro*, immünmodülatör ve antitümör özelliklerini araştırmışlardır. Farelerde Sarkom 180 tümör implantasyonu ile tümör oluşumu sağlanmıştır. Tümör implantasyonundan 24 saat sonra, PSPC, 10 gün boyunca 20mg/kg/gün intraperitoneal olarak farelere enjekte edilmiştir. PSPC uygulamasının bitmesinden iki gün sonra farelerde T hücrelerin mitojenik özelliklerine, periton eksuda hücrelerinin fagositik fonksiyonlarına, RNI (reaktif nitrojen araçları) oluşumu ve antitümör aktivitelerine, TNF- α üretim miktarına bakılmıştır. Ayrıca PSPC'nin melanom, HL-60, H3B, PU5-1.8 tümör hücreleri üzerine sitotoksik aktiviteleri araştırılmıştır. T hücrelerinin mitojenitesi, peritoneal eksuda hücrelerinin fagositik aktivitesi, tümör taşıyan farelerde normal farelerden daha düşük bulunmuştur. Ancak PSPC uygulanan tümör taşıyan farelerde T hücre mitojenitesinin ve peritoneal eksuda hücrelerinin fagositik aktivitesinin normal farelere göre artışı gözlenmiştir. RNI üretiminin PSPC uygulanan ve uygulanmayan tümör taşıyan farelerde, normal farelerden daha fazla olduğu gözlenmiştir. Tümör taşıyan farelerin (PSPC uygulanan ve uygulanmayan) peritoneal eksuda hücrelerinin P815 (mastositom hücreleri) hücrelerine karşı sitotoksik aktivitesi, normal farelerin peritoneal eksuda hücrelerinin aktivitesinden oldukça yüksek bulunmuştur. TNF- α üretiminin, PSPC uygulanan tümör taşıyan farelerde arttığı ancak tümör taşıyan ve PSPC uygulanmayan farelerde inhibe olduğu gözlenmiştir. PSPC'nin HL-60, H3B, PU5-1.8 hücrelerinin çoğalmasında önemli ölçüde, inhibe ettiği *in vitro* olarak tespit edilmiştir. Melanom hücrelerinin PSPC'ye daha az duyarlı olduğu gözlenmiştir (Liu vd, 1996).

Coriolus versicolor'dan elde edilen polisakkaropeptid-K, PSK (ticari ismi Krestin)'nin, farelerde yaşam süresini uzattığı, makrofajların fagositik özelliklerini

artırdığı ve retikuloendotelyal sistemin fonksiyonlarını artırdığı gösterilmiştir (Zhu, 1987).

Tindall ve Clegg'in yaptığı bir çalışmada, *C. versicolor*'un Kaposi Sarkomu tedavisi alan HIV pozitif hastalardaki etkisi araştırılmıştır. Otuzbeş yaş üstü erkek, HIV + ve kaposi sarkomu olan, CD4 seviyesi 250 den daha az olan hastalar çalışma grubunu oluşturmuştur. Ortalama 5,5 aylık *C. versicolor* desteği aldıktan sonra ve almadan önceki CD4 seviyeleri ölçülmüştür. *C. versicolor* verilmeye başlandıktan sonra her üç hastada da kaposi sarkomunda azalma, CD4 seviyelerinde ise bir hastada artış gözlenmiştir. *C. versicolor* desteği kesildikten sonra ise 3 hastada kaposi sarkomunun arttığı; CD4 seviyeleri iki hastada 250'nin altına düşmüş, bir hastada destek süresinde görülen miktarla benzer olduğu gözlenmiştir. Ancak desteğin kesilmesinden 120 gün sonra CD4 seviyeleri düşmüş ve kaposi sarkomu geri dönmüştür (Tindall ve Clegg, 1999).

Hirasawa ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada Shiitake fungusu (*Lentinus edodes*)'in kloroform, etilasetat ve su özütlerinin antimikrobiyal etkisi araştırılmıştır. Her üç özütün *Streptococcus* spp., *Actinomyces* spp., *Lactobacillus* spp., *Prevotella* spp., ve *Porphyromonas* spp. gibi oral orjinli bakterilere oldukça yüksek antimikrobiyal etkinliği olduğu gözlenmiştir. *Enterococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Escherichia* spp., *Bacillus* spp., ve *Candida* spp. gibi mikroorganizmaların ise özütlere karşı dirençli olduğu gözlenmiştir (Hirasawa vd, 1999).

Rashid ve arkadaşları *F. trogii* ATCC 200800'ün kanser hücre hatları üzerine *in vitro* ve *in vivo* etkisini araştırmışlardır. *F. trogii* özütünün (0.5–5.0 mg/mL) prostat (LNCaP ve PC3), kolon (HT29) ve meme (MCF7 ve MDA-MB-231) kanseri hücre hatları üzerine sitotoksik etkisinin olduğunu gözlemişlerdir. Sitotoksik etkinin apoptotik yolla olduğunu akridin oranj ve etidyum bromid boyama yöntemi ile tespit etmişlerdir. Özütün fibroblastlara sitotoksik etkisine baktıklarında önemli bir etkinin olmadığını gözlemişlerdir. Bağışıklık sistemi baskılanmış farelerde özütün *in vivo* etkisini araştırmışlar ve PBS ile karşılaştırdıklarında tümör boyutlarında 9 günlük bir gecikme gözlemişlerdir (Rashid vd, 2011).

Yapılan bir başka çalışmada, *F. trogii* ATCC 200800 soğuk tampon özütünün ve vitamin E'nin, oral diltametrin verilen sıçanlarda artan oksidatif stres üzerindeki koruyucu etkisi araştırılmıştır. Diltametrin uygulanan sıçanlarda kontrol grubuna göre; aspartat transaminaz (AST), alanin transaminaz (ALT), alkalın fosfataz (ALP) seviyeleri artarken, katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD), glutasyon peroksidaz

(GPx) ve glutatyon redüktaz (GRd) seviyeleri düşmüştür. Deltametrin uygulamasının hemen ardından verilen *F. troglia* özütü ve vitamin E'nin AST, ALT, ALP ve tiobarbitirik asit reaktif bileşenlerinin (TBARS) seviyelerinde önemli derecede azalma sağladığı gözlenmiştir. Vitamin E ve *F. troglia* özütünün deltametrinin zararlı etkisini azalttığı tespit edilmiştir (Mazmanci vd, 2011).

Lau ve arkadaşları, *C. versicolor* özütünün B hücreli lenfoma (Raji) ve iki tip promyelositik lösemi (HL-60, NB-4) hücreleri üzerine sitotoksik etkisini araştırmışlardır. Sitotoksik aktivitenin tayini için MTT ve apoptozun indüksiyonuna bakmışlardır. Apoptoz sırasında DNA kırılması sonucu açığa çıkan nükleozomların miktarını belirlemek için "Cell Death Detection ELISA^{PLUS}" kullanılmıştır. *C. versicolor* özütü, yabancı bir suşun şapka kısmından elde edilmiştir. *C. versicolor* özütünün 50-800 µg/mL konsantrasyonları doza bağımlı olarak Raji, NB-4 ve HL-60 hücrelerinin proliferasyonunu %90'dan daha fazla oranda inhibe ettiği tespit edilmiştir. Özütün normal karaciğer hücrelerine (WRL), kemoterapötik bir ilaç olan mitomisin C'ye göre herhangi bir önemli sitotoksik etkisinin olmadığı tespit edilmiştir. Bu da özütün tümör seçici olduğunu göstermektedir. *C. versicolor* özütüyle muamele edilen, Raji, NB-4 ve HL-60 hücrelerinde, nükleozom miktarlarının, sırasıyla, 5.6, 3.6 ve 3.6 kat arttığı ancak WRL hücrelerinde özütle muamele edildiklerinde önemli artışın olmadığı gözlenmiştir. *C. versicolor* özütünün lenfoma lösemik hücrelerinin proliferasyonunu, seçici ve doza bağımlı olarak ve muhtemelen apoptozu indükleyerek inhibe ettiği tespit edilmiştir (Lau vd, 2004).

Coriolus versicolor'dan elde edilen polisakkaropeptitin (PSP) insan lösemi Molt 4 hücreleri ve insan periferik kan mononükleer hücreleri üzerine sitotoksik etkisine *in vitro* olarak bakılmıştır. PSP'nin insan periferik kan mononükleer hücrelerinin çoğalmasını artırdığı ve bu hücrelerin interlekin 1 beta tümör nekrozis faktör alfa, interferon gama üretimini artırdığı gösterilmiştir. Molt 4 hücrelerinin çoğalmasını flow sitometrik analizlerle hücre döngüsünün S fazında tutuklu kalmasına sebep olarak ve sitotoksik etkisini apoptozu artırarak yaptığı gösterilmiştir (Lee vd. 2006)

Yapılan bir başka çalışmada *Coriolus versicolor*'un Cov-1 suşunun derin kültürden elde edilen PSP'nin (I'm-Yunity™) insan lösemi HL-60 ve U-937 hücreleri üzerine *in vitro* antitümör etkisine bakılmıştır. PSP özütlerinin hücre tipine bağlı olarak hücre döngüsünün G1/S ve G2/M fazlarında tutuklu kalmasına neden

olarak, hücre çoğalmasını inhibe ettiği ve apoptozu indüklediği gösterilmiştir (Hsieh vd, 2006).

Müller ve ark (2006) tarafından yapılan bir çalışmada, en hassas 6 farklı tip kan kanseri hücreleri (HL-60, U-937, K562, Blin-1, Nalm-6 ve RPMI8226) üzerine *G. lucidum*'un antikanser etkisi belirlenmiştir. Hücre döngüsü analizleri göze çarpan şekilde HL-60'ın G2/M safhasında tutuklu kaldığını göstermiştir. Dört kan kanseri hücre hattında (HL-60, Blin-1, U-937, RPMI8226) apoptozun %21-92 arasında olduğu belirlenmiştir. Sonuçlar, *G. lucidum*'un lösemi, lenfoma ve multiple miyeloma hücrelerine karşı büyük bir etkiye sahip olduğu ifade edilmiştir (Müller vd, 2006).

Bir başka çalışmada *Laetiporus sulphureus*'un antioksidan ve antimikrobiyal özelliğine bakılmıştır. Çalışmada *Pseudomonas aeruginosa* NRRL B-23, *Salmonella enteritidis* RSKK 171, *Escherichia coli* ATCC 35218, *Morganella morganii* (klinik izolat), *Yersinia enterocolitica* RSKK 1501, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 27736, *Proteus vulgaris* RSKK 96026, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* Cowan I, *Micrococcus luteus* NRRL B-4375, *Micrococcus flavus*, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Bacillus cereus* RSKK 863 bakterileri ve *Candida albicans* (klinik izolat) fungusu kullanılmıştır. Gram negatif bakterilere antimikrobiyal etkisi az olsa da Gram pozitif bakterilere yüksek etkinlik gösterdiği gözlenmiştir. *Candida albicans*'a da oldukça yüksek antifungal etki göstermiştir (Turkoğlu vd, 2007).

Yapılan bir başka çalışmada *C. versicolor*'un metanol özütlerinin, B16 fare melanom hücrelerine etkisi, *in vitro* ve *in vivo* olarak araştırılmıştır. *In vitro* olarak metanol özütün doza bağımlı bir şekilde melanom hücrelerini azalttığı gösterilmiştir. B16 hücrelerinin çoğalmasını hücre döngüsünün G0/G1 fazında tutuklu kalmasına neden olduğu ve hem apoptotik hem de nekrotik hücre ölümü ile sitotoksik etki gösterdiği kanıtlanmıştır. B16 melanom oluşturulan farelerin kontrol ve metanol özütü verilen grubunun peritoneal makrofajları incelenmiştir. Özüt verilen grupta tümör oluşumunun sabitlendiği gösterilmiştir (Harhaji vd, 2008).

Berovič ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada *G. lucidum* derin fermentasyon sürecinde üretilmiştir. Kültür sıvısından ve miselden elde edilen ekstraselüler ve intraselüler polisakkarit fraksiyonlarının immünstimülatör etkilerinin yüksek olduğu gösterilmiştir (Berovič vd, 2003). *L. edodes* ile yapılan bir başka çalışmada ise, şapka ve misel özütlerinin, insan meme adenokarsinom hücreleri (MCF-7) ve normal

fibroblast hücrelerine olan sitostatik ve sitotoksik etkileri araştırılmıştır. *L. edodes*'in şapka özütlerinin MCF-7 hücrelerinde doza bağımlı inhibitör etkileri gözlenmiştir. IC₅₀ değeri 73±14 µg/mL olarak bulunmuştur. Aynı konsantrasyonlardaki özütlerin normal fibroblast hücrelerine olan etkisi benzer ancak IC₅₀ değeri 140±30 µg/mL olarak bulunmuştur. *L. edodes*'in misel özütlerinin MCF-7 hücrelerinin proliferasyonunu inhibe ettiği konsantrasyonlar daha yüksek ve IC₅₀ değeri 11.236±4.856 µg/mL olarak bulunmuştur. Normal fibroblast hücrelerinin proliferasyonunu ise sadece yüksek konsantrasyonlarda (15.490±2.310 µg/mL IC₅₀ değeriyle) baskıladığı görülmüştür (Israilides vd, 2008).

Coriolus versicolor'un CM-101 suşundan elde edilen protein bağı polisakkarit (PSK)'nin insan ve modellerde *in vitro* ve *in vivo* antikanser özellik gösterdiği bir diğer çalışmada gösterilmiştir. Bu çalışmada lösemi, melanom, fibrosarkom, serviks, akciğer, pankreas ve gastrik kanser hücreleri üzerine etkisi araştırılmıştır. Aynı zamanda periferel kan lenfositleri üzerine de etkisi araştırılmıştır. PSK'nın, hücreleri G0/G1 fazında durdurarak, apoptozu ve kaspaz-3 ekspresyonunu artırarak *in vitro* etkinlik gösterdiği tespit edilmiştir. Bu sonuçlar PSK'nın *in vitro* tümör hücre çoğalmasına direkt bir sitotoksik aktivitesinin olduğunu göstermektedir. Aksine, periferel kan lenfositlerinin çoğalmasını sağlayan IL-2 ile sinerjistik etki yaptığı gösterilmiştir (Jiménez-Medina vd, 2008).

Ganoderma lucidum ve *Duchesnea chrysantha* ekstraktının, lösemi HL-60 hücreleri üzerine antikanser özelliğinin gösterildiği bir çalışma Kim ve ark. tarafından yapılmıştır. Çalışmada fungus ve bitki özütlerinin, insan lösemi hücrelerinin büyümesini önemli derecede baskıladığı ve apoptozu indüklediği tespit edilmiştir. Bu çalışmada özütlerin iyonize radyasyon tedavisinin etkinliğini artırıp artırmadığı da belirlenmiştir. Kombinasyon tedavi denemesinde hücre çoğalmasının baskılandığı HL-60 hücrelerinde mikronüklei formasyonun oluşması kadar apoptozun da indüklendiği ve hücre ölümünde artışa neden olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Hücrelerin, özütlerle ön muamelesinde sadece radyon-indüklü G2/M safhasında tutuklu kalan hücre sayısının azalmadığı aynı zamanda G1 fazında tutuklu kalan hücrelerde de artış görülmüştür. Özütlerle ön muamelenin radyasyon-indüklü apoptozu artırdığı gösterilmiştir (Kim vd, 2008).

Chen ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, *Fomes fomentarius*'un derin kültürüyle elde edilen EPS'nin, SGC-7901 hücrelerine (insan gastrik kanser hücreleri) olan antiproliferatif özelliğine bakmışlardır. Uygulanan EPS dozu ve

zamanı arttıkça antiproliferatif özelliğın de arttığı tespit edilmiştir. Ayrıca polisakkaritlerin kanser hücrelerinin proliferasyonuna etki etmediği düşük dozların, doksorubisinin etkisini artırıp artırmadığı da bu çalışmada araştırılmıştır. Polisakkaritlerin sitotoksik olmayan düşük dozları, doksorubisin ile birlikte verildiğinde, doksorubisinin tek başına verildiğinde oluşturduğu antiproliferatif etkinin üç katına çıktığı tespit edilmiştir (Chen vd, 2008). *Pleurotus ostreatus* ile yapılan bir çalışmada, suda çözünen polisakkarit POPS-1 etanolde çöktürülerek elde edilmiştir. POPS-1'in, HeLa tümör hücreleri üzerinde antitümör özelliğine bakılmıştır. İnsan embriyo böbrek 293T hücrelerine olan sitotoksik etkisinin HeLa hücreleri üzerine olan etkisinden daha düşük bulunduğu *in vitro* olarak gösterilmiştir (Tong vd, 2009).

İnsan kolorektal adenokarsinom hücre hattı (SW480 hücreleri) ve insan monositik hücre hattı (THP-1 hücreleri) ile yapılan bir çalışmada *Calvatia lilacina* (CL) *Pleurotus ostreatus* (PO) ve *Volvariella volvacea* (VV) nın antikanser etkisine bakılmıştır. PO ve VV protein özütlerinin SW480 hücrelerinde apoptotik mekanizmayı artırdığı gösterilmiştir. THP1 ve SW40 hücrelerinin canlılığının PO, VV ve CL'nin protein özütlerinin konsantrasyona bağlı olarak azaldığı gösterilmiştir (Wu vd, 2010).

Yang ve arkadaşları, bir çalışmalarında, *P. eryngii*'den elde ettikleri polisakkarit (PEPw)'nin, renal adenokarsinomu olan farelerde antitümör ve immünmodülatör etkisini araştırmışlardır. Farelerde tümör nodülleri büyüdükten 10 gün sonra, kontrol grubu (sadece PBS), düşük doz PEPw (50 mg/kg), orta doz PEPw (100mg/kg) ve yüksek doz PEPw (200mg/kg) uygulanan, dört gruba ayrılarak incelenmiştir. PEPw özütleri oral olarak, 20 gün boyunca verilmiştir. Kontrol grubu haricinde diğer 3 grupta uygulanan dozlara bağlı olarak tümör boyutlarında gerileme gözlenmiştir. ELISA yöntemiyle konsantrasyon artışına bağlı olarak IL-2 ve TNF- α seviyelerinde artış tespit edilmiştir. PEPw'nin humoral ya da hücresele immüniteyi artırdığını göstermek için organ indeksine ve mitojenle uyarılmış splenosit artışına bakmışlardır. Kontrole göre verilen dozlara bağlı olarak, dalak ve timus indeksinde önemli bir artış gözlenmiştir. Concanavalin-A (Con-A) ve lipopolisakkaritlerin (LPS) [Con-A T hücrelerini-hücresele immüniteyi, LPS B hücrelerini -humoral immüniteyi indükleyen mitojenlerdir (Marciani vd, 2000)] indüklediği splenositlerde de, kontrole göre, doza bağımlı önemli bir artış gözlenmiştir. NK hücreleri ve Sitotoksik T

hücreleri de, dozlara bağlı artan şekilde, kontrol grubundan daha yüksek bulunmuştur (Yang vd, 2013).

Ramaria flava ile yapılan bir çalışmada ise, fungusdan elde edilen etanol özütünün antikanser, antioksidan ve antimikrobiyal özellikleri araştırılmıştır. Etanol özütünün 200µg/mL konsantrasyonlarda, MDA-MB-231 tümör hücrelerine %71.66 oranında inhibitör etkisinin olduğu gösterilmiştir. Antimikrobiyal özelliğini araştırmak için, bakterilerden *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Escherichia coli* (ATCC 25922), ve *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), funguslardan ise *Fusarium graminearum*, *Gibberella zeae* ve *Cercospora albo-maculans* kullanılmıştır. Etanol özütün antimikrobiyal aktivitesine, agar kuyucuk difüzyon yöntemi ve MİK yöntemi ile bakılmıştır. Özüte en duyarlı bakteri *Staphylococcus aureus* iken, bunu *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* takip etmektedir. Özütün antifungal aktivitesi ise *Fusarium aenaceum* patojenine en yüksek bulunmuştur. *C. albo-maculans* ve *G. zeae* de duyarlı olarak gözlenmiştir (Liu vd, 2013).

T. versicolor (akuöz) özütünün meme kanserli farelerde 4T1 hücreleri ve 4T1-tümör hücrelerine antimetastatik ve antitümör etkisine bakılan bir çalışmada, düşük dozlarda, 4T1 hücrelerinin proliferasyonunu etkilemediği ancak nonsitotoksik dozların hücrelerin göçünü ve invazyonunu engellediği gösterilmiştir (Luo vd, 2014). Aynı zamanda, enzim aktiviteleri (AST, ALT, ALP, CK) ve MMP-9 (Matrix metalloproteinase 9) protein seviyelerinin özüt ile baskılandığını tespit etmişlerdir. Hayvan deneylerinde, özütün (1 g/kg, 4 hafta oral olarak beslendi), kontrol grubuna göre; tümör ağırlığını %36 ve akciğer metastazını %70.8 azalttığını göstermişlerdir. Bunların yanı sıra, yapılan analizlerde, meme kanserinin kemiğe verdiği hasarın özüt sayesinde azaldığı da 3D µ-CT analizleriyle tespit etmişlerdir. *T. versicolor* özütünün; dalak lenfositlerinden salınan IL-2, 6, 12, TNF alfa ve IFN gama seviyelerinde kayda değer artışlar sağladığını belirtmişlerdir. *T. versicolor* özütünün; antitümör, antimetastatik, immünmodülatör ve kemikleri koruyucu etkisi bu çalışmada saptanmıştır. *T. versicolor* özütü verilen ve kontrol grubu arasında, kilo ve plazma enzimleri açısından önemli bir farklılık saptanmamıştır ki böylece *T. versicolor*'un konağa toksik olmadığını ileri sürmüşlerdir (Luo vd, 2014).

Ho ve arkadaşlarının (2004) *T. versicolor* ile yaptığı bir çalışmada, elde edilen PSP'nin tümör oluşumunu baskıladığı gösterilmiştir. Anjiyogenez, tümörün çoğalması ve metastaz için kritik bir olay olarak değerlendirilmiştir. Bu sürecin durmasının, tümör proliferasyonuna, terapötik müdahalede bulunmak için bir yol

olduğunu belirtmişlerdir. S-180 tümör oluşturulan farelerde PSP'nin tümör dokusuna etkisini incelemişler; kontrol grubu ile PSP verilen grupla mikrokorozyon yapısını karşılaştırmışlar ve kontrol grubunda daha yoğun sinüzoidler ve sıcak noktaların olduğu; daha fazla anjiyogenetik özellik gözlemlemişlerdir. Tümör dokularının, endotelial hücre belirteçlerine (Faktör VIII) karşı, antikorlarla immünoboyanması ile, vasküler dansite ile tümör ağırlığında bir korelasyon olduğunu saptamışlar ki bunun PSP verilen farelerde daha düşük bulunduğunu tespit etmişlerdir. PSP'nin antitümör özelliğinin, antianjiyogenez ile sağlanmakta olabileceğini belirtmişlerdir. *T. versicolor* PSP'lerinin antitümör aktivitesinin, anti- anjiyogenetik özelliğinden olduğunu ileri sürmüşlerdir (Ho, Konerding vd, 2004).

T. versicolor'dan elde edilen biyopolimerlerin kompleman (anti-kompleman) sisteminin aktivasyonuna olan etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, *T. versicolor*'un sıcak su özütü ve metanol özütünün etkileri; sırasıyla %71,8 ve %98,1 oranında bulunmuştur (Jeong vd, 2004).

T. versicolor polisakkaropeptiti (PSP), kanser hastalarına kemo ya da radyoterapide yardımcı olarak önerilmektedir. Hastalarda, ağrının, bitkinliğin, iştah kaybının, mide bulantısı ve kusma gibi şikayetlerin azalmasına yardımcı olarak, yaşam kalitesini artırmakta olduğu da bildirilmiştir. PSP'nin vücut sıcaklığında nasıl bir değişiklik yaptığı bilinmediğinden, yapılan bir çalışmada, PSP'nin ratlarda, intraperitoneal uygulanmasının, doza bağlı olarak vücut sıcaklığını düşürdüğünü rapor etmişlerdir. Ancak kandaki TNF- α seviyesinin doza bağlı olarak arttığını gözlemlemişlerdir (Jedrzejewski vd, 2014).

Burkitt Lenfoma hücrelerine sitotoksik etkisinin araştırıldığı bir çalışmada PSK'nın hücrel apoptozu indükleyerek hücre çoğalmasını inhibe ettiği belirtilmiştir (Hattori vd, 2004).

Maruyama ve arkadaşları PSK ile yapılan çalışmaların çoğunda hücrel bağışıklıktan söz edilmekte olduğunu ileri sürmektedirler. Ancak bazı çalışmalarda PSK'nın antikor üretimini indüklediğini, humoral bağışıklığı uyardığını, *in vivo* olarak gösterildiğini de belirtmişlerdir. Ayrıca humoral bağışık yanıtın hücrel bağışık yanıtı bağılı olduğunu düşünmekte olduklarından yaptıkları çalışmada; PSK'nın İnsan B hücrelerinden (BALL-1) IgM salınımını artırdığını saptamışlardır. BALL-1 hücrelerinin primer bağışık yanıtta rol alan B-1 a hücreleriyle aynı karakteristik özelliklere sahip olduğunu bildirmektedirler. PSK'nın, direkt olarak B hücrelerini etkilemekte; bu bağlamda, aynı anda hem humoral yanıtı hem de hücrel

yanıtı artırmakta olduğunu belirtmişlerdir. PSK'nın hücresele bağışıklığı, özellikle antibakteriyel primer bağışık yanıtını artırdığını ileri sürmüşlerdir. PSK'nın direkt olarak B hücrelerini aktive ettiğı ve IgM salınımını artırdığını bildirmişlerdir (Maruyama vd, 2009).

PSP'nin antitümör etkisi bilinmesine rağmen klinik etkilerinin tam olarak açıklanmadığını ileri süren bir çalışmada; hastalığı ilerlemiş, geleneksel tedaviyi almış, küçük hücreli olmayan akciğer kanserli hastalarda, PSP'nin etkileri, çift körlü, randomize, plasebo-kontrollü olarak araştırılmıştır. Dört hafta boyunca PSP verilen hastaların, plasebo hastalarına göre lökosit, nötrofil, IgG ve IgM miktarlarında ve vücut yağ yüzdesinde artış tespit etmemişlerdir. PSP verilenlerde, hastalıktan kaynaklanan bitkinliğin, plasebo hastalarına göre azaldığını rapor etmişlerdir. PSP'nin, hastalığın ilerlemesini önemli ölçüde azalttığını gözlemlemişlerdir (Tsang vd, 2003).

T. versicolor'un etanol-su özütünün, immün modulator etkilerinin değerlendirildiğı bir çalışmada, fare dalak lenfositlerinin proliferasyonuna ve yardımcı T (T_h) hücreleri ile ilişkili sitokin üretimine bakılmıştır. *T. versicolor* özütünün fare dalak lenfositlerinin proliferasyonunu zamana ve doza bağılı olarak önemli ölçüde artırdığını saptamışlardır. T_h ile ilişkili IL-2 ve IL-12'leri içeren sitokinlerin üretimini önemli ölçüde arttığını, ancak IFN gama ve IL-18'in sadece ilk 24 saatte arttığını tespit etmişlerdir. (Ho, Lau vd, 2004).

Unyayar ve arkadaşları *C. versicolor* ve *F. trogii* ATCC 200800 standardize aküöz özütlerinin HeLa ve fibroblast hücreleri üzerine sitotoksik etkisini MTT yöntemi ile araştırmışlardır. HeLa hücreleri üzerinde sitotoksik etkisi olan konsantrasyonların fibroblast hücreleri üzerinde daha az sitotoksikiteye neden olduğunu tespit etmişlerdir. *F. trogii* ATCC 200800 özütünün HeLa hücreleri üzerine *C. versicolor* özütüne göre daha yüksek sitotoksik etki gösterdiğini saptamışlardır. Kontrol ile karşılaştırdıklarında *C. versicolor*'un %45, *F. trogii* ATCC 200800'ün %71.5 oranında proliferasyonu inhibe ettiklerini tespit etmişlerdir. Normal fibroblast hücrelerinde ise oranlar *C. versicolor*'da %38,7, *F. trogii* ATCC 200800'de %51,3'lere gerilemiş olduğunu saptamışlardır (Unyayar vd, 2006).

Armillaria mellea, *Grifola frondosa*, *Ganoderma frondosa*, *Codyceps militaris*, *Hericium erinaceus*, *Coriolus versicolor*, *Agaricus blazei* gibi fungusların aküöz özütlerinin akciğer metastazına karşı gösterdikleri inhibitör etkileri ve splenositlerin artışının gösterildiğı bir çalışmada; fungus özütlerinin, kolon kanserli

farelerde oral olarak uygulanmasının ardından, doza bağlı olarak, akciğer metastazını önemli ölçüde inhibe ettiğini tespit etmişlerdir. Bu fungus özütlerinin, T ve B hücre stimölasyonunu oldukça arttırdığını; CD3, CD19, CD4 ve CD8 pozitif hücrelerin sayısını da doza bağlı olarak arttırdığını bildirmişlerdir. Splenositlerden salınan IFN gama ve IL-4 seviyelerinin de arttığını gözlemlemişlerdir (Han vd, 2009).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Çalışmada Kullanılan Funguslar

Çalışmada *Basidiomycetes* sınıfına dahil olan beyaz çürükçül funguslardan *Trametes versicolor* ATCC 200801, Hatay'dan izole edilmiş olan *Trametes versicolor* (H), Malatya'nın Arapgir ilçesinden izole edilen *Trametes trogii* suşu (A), Malatya İnönü Üniversitesi Kampüsünden izole edilen *Trametes trogii* suşu (İ) ve Muğla bölgesinden izole edilen *Ganoderma lucidum* kullanıldı. Bu funguslar İnönü Üniversitesi Biyoloji Bölümü Biyoteknoloji laboratuvarında daha önceden izole edilmiştir ve saf kültür olarak muhafaza edilmektedir.

3.2. Çalışmada Kullanılan Fungusların Üretimi ve Saklanması

Çalışmada kullanılan fungusların devamlılıklarını sağlamak amacıyla yaklaşık her 4 haftada bir Sabouraud Dekstroz Agar (SDA) plaklarına pasajlama yapılarak 30 °C'de 6 gün inkübe edildi. Daha sonra suşlar +4 °C'de buzdolabında saklandı.

3.3. Çalışmada Kullanılacak Stok Fungus Kültürlerinin Hazırlanması

Öncelikle SDA plaklarında üremiş olan funguslardan yatık agarlara pasajlama yapıldı ve 6-7 gün 30°C'de inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası, 10 mL distile su eklenerek misel süspansiyonu hazırlandı. Hazırlanmış olan süspansiyonlardan 100 mL Sabouraud Dextrose Broth (SDB) içeren 250 mL'lik erlenlere steril koşullarda ekim yapıldı ve 30°C'de 150 rpm'de çalkalamalı koşulda 5-6 gün inkübe edildi. Daha sonra da, kültürler düşük devirde homojenize edilerek çalışmanın amacına uygun olarak ekim için stok fungus kültürleri olarak kullanıldı.

3.4. Çalışmada Kullanılan Besiyerlerinin Hazırlanması

Çalışmada, SDB ve ayrıca glukoz ile zenginleştirilmiş stok temel ortam (STO) ekzopolisakkarit üretimi amacıyla kullanıldı. STO; (g/L): KH_2PO_4 0.2, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.1, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05, $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 0.5, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.035, Glukoz 40 ve malt özütü 1 olacak şekilde hazırlandı ve otoklavda steril edildikten sonra kullanıldı.

3.5. Ekzopolisakkarit Ekstraksiyonu

Kültürler üretildikten sonra süzülerek filtrat elde edildi. Filtrata 4 katı soğutulmuş etanol eklendi ve bir gece +4°C'de bekletildikten sonra kuru ağırlıkları ölçüldü (Zhao vd, 2010; Llauradó vd, 2015).

3.6. Kuru Ağırlığın Saptanması

Fungus ve ekzopolisakkarit kuru ağırlık ölçümü gravimetrik yöntemle ölçüldü. Kültür darası alınmış filtre kâğıtlarından süzildükten sonra filtre kağıdı+fungus biyokütlesi 55 °C'de 1 gece kurutuldu. Daha sonra 2 saat desikatörde bekletildi ve kuru ağırlık saptandı. Ekzopolisakkarit kuru ağırlık ölçümünde de aynı yöntem kullanıldı.

3.7. Çalışmada Kullanılan Katı Besiyeri

Çalışmada katı substrat olarak buğday kepeği+soya unu kullanıldı. Buğday kepeği besin içeriği, kolay erişilebilirliği ve maliyetinin düşük olması nedeniyle; soya unu ise protein içeriği nedeniyle tercih edildi.

3.8. Katı Besiyerinin Hazırlanması, Ekim ve Üretim

Katı besiyeri, 3.5 g buğday kepeği+ 1.5 g soya unu/250 mL erlenlerde olacak şekilde hazırlandı ve erlene 15 mL distile su eklendi. Daha sonra 121°C'de 1 atm. basınç altında 45 dakika süresince otoklavda steril edildi. Her bir erlene 2 mL olacak şekilde fungus ekildi ve örnekler 30°C'de statik olarak 5 gün inkübe edildi. İnkübasyonun 5. gününde her bir erlene 40 mL distile su eklenerek, kültür öze yardımıyla parçalandı. 200 rpm'de 30°C'de 2 saat çalkalandı. Çalkalandıktan sonra kültür filtre edildi. Filtrat 4000 rpm'de 10 dk santrifüj edildi. Süpernatant alındı ve liyofilizasyon için hazırlandı.

Çalışmada ayrıca katı faz fermentasyonu sürecinden 2. bir yöntemle de özüt eldesi yapıldı. Bu yöntemde 10 günlük üretim sonucu erlenler 40°C'de 24 saat bekletilerek kurutuldu ve kültür alınarak öğütüldü. Daha sonra 1 g alınarak fosfat

tamponu içerisinde karıştırıldı ve 12000 g'de 15 dakika santrifüj edildi. Elde edilen süpernatant 40 µm'lik süzgeçlerden geçirildi ve sitotoksik aktivite tayini için kullanıldı (Ünyayar vd, 2006).

3.9. Liyofilizasyon

Liyofilizasyon için hazırlanan örnekten 10'ar mL alınarak plastik kaplara koyuldu. 1 gece -20°C'de bekletildi. Dondurulan örnekler liyofilizasyon cihazına yerleştirildi ve 24 saat bekletildi ve liyofilize kültür özütleri elde edildi. Liyofilize edilmiş kültürlerden 1g/20 mL RPMI 1640 olacak şekilde çözüldü. Çözülen örnekler 0.45 µm'lik filtrelerden geçirilerek sitotoksikite ve antimikrobiyal etki çalışmalarına hazır hale getirildi.

3.10. Kullanılan Hücre Hatları ve Kültürü

Akciğer kanser hücresi (A549), kronik miyeloid lösemi (K562) ve akciğer sağlıklı epitelium hücresi (BEAS-2B) İnönü Üniversitesi, Biyoloji Bölümü Hücre Kültür laboratuvarından temin edildi. Hücreler %10 fetal bovin serum (FBS), %1 penisilin-streptomisin içeren RPMI-1640 besiyerinde, %5 CO₂ içeren 37°C etüvde inkübe edildi. Besiyeri her 2 günde bir değiştirildi. Hücreler tripsin enzimi yardımıyla kültür flasklarından alındı ve steril santrifüj tüplerinde (falkon) 1000 rpm'de 5 dk santrifüjlendi. Süpernatant atıldı. Dipte kalan hücreler 2 mL fosfat tamponlu tuz çözeltisi (PBS) ile yıkandı. Tekrar 1000 rpm'de 5 dk santrifüjlendi. Santrifüj sonrası süpernatant atıldı ve pelet 15 mL besiyeri içeren 75 cm²'lik kültür flaskına alındı.

3.11. Hücrelerin Dondurulması ve Çözülmesi

Hücreler kültür flaskından falkonlara alındıktan sonra 1000 rpm'de 5 dk santrifüj edildi. Süpernatant atıldıktan sonra pelet 2 mL PBS ile yıkandı ve 1000 rpm'de 5 dk santrifüj edildi. Bu işlem iki kere tekrar edildi. Peletlere 900 µL FBS eklenip karıştırıldı ve 100 µL dimetil sülfoksit (DMSO) eklenerek tüplere alındı ve -80°C'de dondurularak saklandı.

Hücreler dondurucudan çıkarıldıktan sonra, 37°C'lik su banyosunda hızlı bir şekilde çözümleri sağlandı ve 15 mL RPMI-1640 içeren 75 cm²'lik kültür flaskına alındı. Bir gece 37°C'de %5'lik CO₂'lik etüvde inkübe edildikten sonra hücreler pasajlandı.

3.12. Hücre Canlılığının Saptanması (Tripan Mavisi Yöntemi)

Tripan mavisi boyası canlı hücrelerin membranlarından geçememektedir. Ancak ölü hücrelerin membranları parçalandığı için boya hücre içine girip mikroskopta mavi görünmesini sağlamaktadır. Böylece hemositometre lamı yardımıyla canlı ve ölü hücreler hesaplanmaktadır.

Altı kuyucuklu hücre kültür plaklarına her kuyucukta 10⁵ hücre olacak şekilde hücreler ekildi ve %5'lik CO₂ içeren etüvde 37°C'de bir gece inkübe edildi. A549 ve BEAS-2B hücreleri 24 saat inkübasyondan sonra fungus özütleri ile muamele edilirken K562 hücreleri aynı gün fungus özütleri ile muamele edildi. Daha sonra 48 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonrası tüm hücreler 15 mL'lik falkonlara toplandı ve 4000 rpm'de 15 dk santrifüj edildikten sonra süpernatant atıldı. 100 µL PBS ve 5 µL Tripan mavisi boyası eklendi. 5 dk bekletildikten sonra 10 µL alınarak hemositometrede canlı ve ölü hücreler sayıldı.

3.13. MTT Yöntemi

Hücreler 96 kuyucuklu hücre kültür plaklarına her kuyucukta 3x10³ hücre olacak şekilde ekildi. A549 ve BEAS-2B hücreleri 37°C'de %5'lik CO₂ içeren etüvde 24 saat inkübasyondan sonra fungus özütleri ile muamele edilirken, K562 hücreleri aynı gün fungus özütleri ile muamele edilerek inkübasyona bırakıldı. Fungus özütleri uygulandıktan sonra 24, 48 ve 72. saatlerde sonuçlar alındı. Her kuyucuğa 3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolium bromid (MTT) solüsyonundan (5mg/mL) 20 µL eklendi. Hemen sonra, 2-4 saat ışık almayacak şekilde 37°C'de %5'lik CO₂ içeren etüvde inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında plaklardaki sıvı döküldü ve 100 µL DMSO eklendi. 5 dk 100 rpm'de çalkalandı ve 570 nm'de absorbansları ölçülerek değerlendirildi.

3.14. Kaspaz-3 Aktivitesinin Ölçümü

Hücrelerdeki kaspaz-3 aktivitesindeki değişiklikler kaspaz-3 kolorimetrik yöntem kiti (BioVision Araştırma Ürünleri, ABD) ile saptandı. Hücreler (A549 ve BEAS2B hücreleri 1×10^5 hücre/2,5 mL/kuyucuk; K562 hücreleri 2×10^5 hücre/2,5 mL/kuyucuk) 48 saat özütlerle muamele edildikten sonra toplandı. 1000 rpm'de 10 dk santrifüj edildi. Süpernatant atıldı ve pelet üzerine 50 µL hücre liziz tamponu eklenerek 10 dk buzda bekletildi. Daha sonra, 10.000 g'de 1 dk santrifüj edildi ve süpernatant yeni ependorf tüplere alındı. Üzerine 200 µL hücre liziz tamponu eklendi. 96 kuyucuklu plaklara 50 µL örnek, 50 µL reaksiyon tamponu (10mM DTT içeren) ve 5 µL DEVD-pNA substrat eklenerek 2 saat CO₂'li inkübatörde 37 °C'de inkübe edildi. Spektrofotometre de 405 nm'de absorbanlar ölçüldü. Bradford yöntemiyle saptanan toplam protein konsantrasyonlarına bölünerek kaspaz-3 enzimin ünit aktivitesi hesaplandı.

3.15. Antimikrobiyal Etkinin Saptanması

3.15.1. Kullanılan Test Mikroorganizmaları

Antimikrobiyal etki testinde *Staphylococcus aureus* ATCC 25923- 29213, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella typhi* ATCC 14028, *Salmonella typhi* NCTC 8394, *Streptococcus pyogenes*, *Enterococcus faecium* nj-1, *Enterococcus gallinarum*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Haemophilus influenzae*, *Listeria monocytogenes* bakterileri ve ayrıca *Candida albicans* ve *Candida tropicalis* maya türleri kullanıldı.

3.15.2. Disk Difüzyon Testi

Test edilecek mikroorganizmalar %0.9'luk NaCl çözeltisinde (Serum fizyolojik) 0.5 McFarland'a (10^8 mikroorganizma/mL) eşdeğer olacak şekilde süspanse edildi ve Mueller Hinton agar besiyerine inokule edildi. Özütler steril 6 mm'lik boş disklerle 50 µL olacak şekilde emdirildikten sonra, diskler steril şekilde

plaklara yerleştirildi. Kùltùrler 37°C’de 24 saat inkùbe edildikten sonra oluşan inhibisyon zon çapları ölçùldù (CLSI, 2015).

3.15.3. Minimum İnhibe Edici Konsantrasyon Testi

Antibakteriyel ve antifungal aktivitenin testinde minimum inhibe edici konsantrasyon (MİK) testi de kullanıldı. MİK, mikroorganizmanın tüplerdeki ya da mikrodilüsyon kuyucuklarındaki üremesini tamamen inhibe eden en düşük antimikrobiyal madde konsantrasyonudur.

Bu yöntemde 96 kuyucuklu mikropalaklar kullanıldı. Her kuyucuğa Mueller-Hinton sıvı besiyerinden eklendikten sonra fungus özütleri eklenerek seri dilüsyon yapıldı ve 0.5 Mc Farland’a bağlı olarak standardize edilmiş mikroorganizma süspansiyonundan her kuyucuğa eklendi. Mikropalaklar 37°C’de 24 saat inkübasyon sonrası değerlendirildi. Üremenin olmadığı en düşük konsantrasyon MİK olarak belirlendi (CLSI, 2015).

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

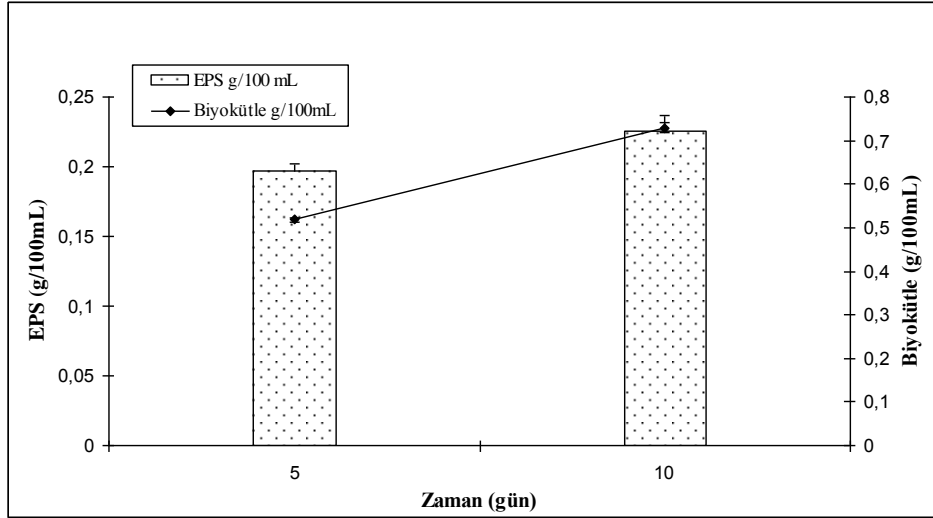
Çalışmada çeşitli beyaz beyaz çürükçül fungus suşları kullanılmıştır. *Trametes versicolor*'un 2 farklı suşu; *Trametes versicolor* ATCC 200801, *Trametes versicolor* (H) ve *Trametes trogii*'nin 2 suşu *Trametes trogii* (A) ve *Trametes trogii* (İ) ve *Ganoderma lucidum* kullanıldı.

4.1. Fungusların Ekzopolisakkarit ve Misel Üretimi

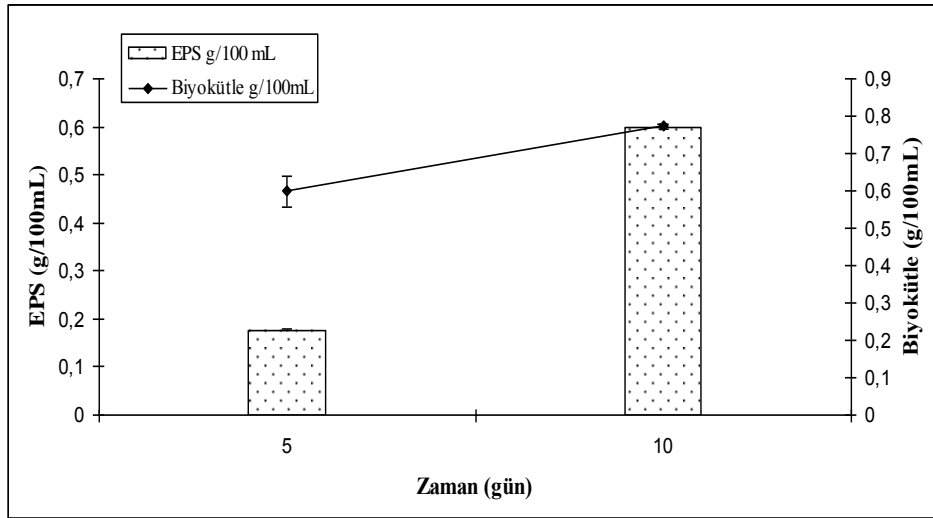
Çalışmanın ilk aşamasında, yukarıda sıralanan fungusların EPS üretim yetenekleri tespit edildi. Fungusların EPS üretim yetenekleri üzerine fermentasyon süresinin ve glukoz miktarının etkisinin saptanması için farklı inkübasyon sürelerinde (3-15 gün) ve farklı glukoz konsantrasyonlarında (0-40 g/L) deneyler yapıldı. Fungusların hepsinde optimum EPS üretimi için 10 günlük inkübasyon ve 40 g/L glukoz miktarının uygun olduğu tespit edildi.

Bu fungusların 40 g/L glukoz içeren STO ortamında 5. ve 10. günlerde ürettikleri EPS ve ayrıca biyokütle miktarları Şekil 4.1-4.5'de gösterilmiştir. Kullanılan fungusların tümünün EPS ürettiği ve üretimin ve biyokütle miktarının zamana bağlı olarak artış gösterdiği saptandı. Fungusların tümünün 5. güne göre 10. günde daha yüksek EPS ürettiği gözlemlendi.

T. versicolor ATCC 200801 5. günde 0,197 g/100mL EPS üretirken 10. günde 0,225 g/100mL üretmiş ve biyokütle de zamana bağlı olarak artmıştır (Şekil 4.1). *T. versicolor* (H) suşu ile ise 5. günde 0,177 g/100mL elde edilirken 10. günde 0,5985 g/100mL EPS elde edilmiştir (Şekil 4.2). *T. versicolor* (H) suşunun 10. günde ürettiği EPS düzeyi *T. versicolor* ATCC 200801 suşunun ürettiği EPS'den çok daha yüksektir (Şekil 4.2). Bu da doğadan izole edilen bu suşun EPS üretim yeteneğinin ATCC kültürüne göre yüksek olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.1. *T. versicolor* ATCC 200801 suşunun 5 ve 10 günlük üretimi sonucu EPS ve biyokütle değişimi



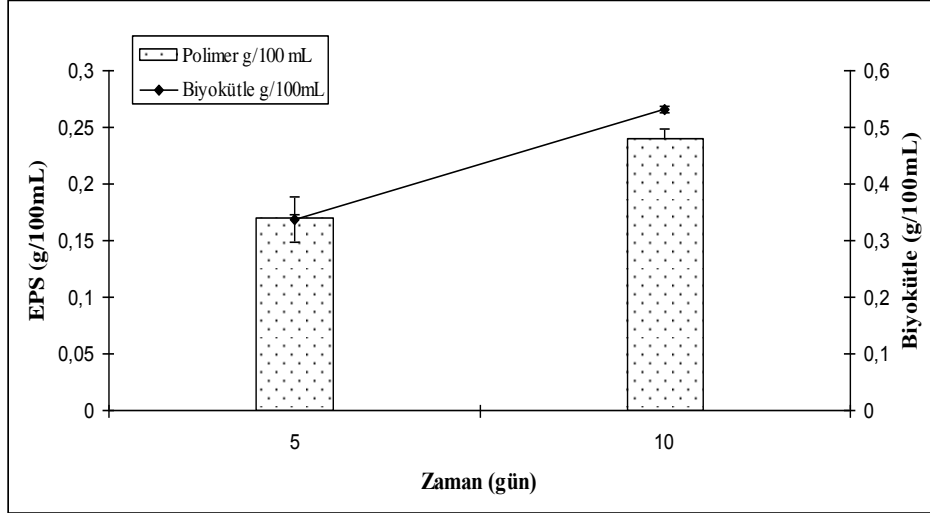
Şekil 4.2. *T. versicolor* (H) suşunun 5 ve 10 günlük üretimi sonucu EPS ve biyokütle değişimi

Çalışmada *T. trogii* suşlarının EPS üretim yeteneği ve biyokütle değişimi de saptanmıştır (Şekil 4.3-4.4).

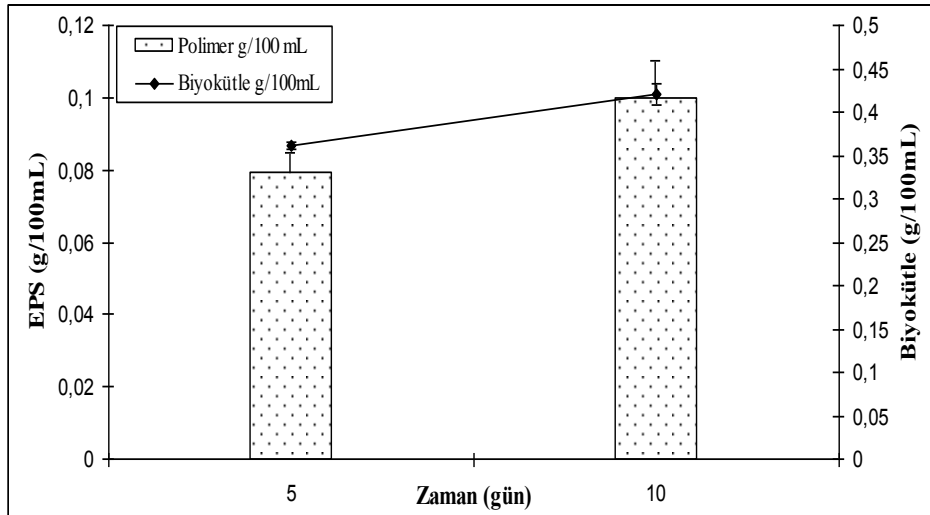
T. trogii (İ) suşunun EPS üretimi 5. günde 0,171 g/100mL iken 10. günde artış göstererek 0,241 g/100mL'ye ulaşmıştır (Şekil 4.3). *T. trogii* (A) suşunun ise 5. günde 0,079g/100mL ve 10. günde de 0,099 g/100mL EPS ürettiği saptanmıştır (Şekil4.4).

T. trogii (İ) suşunun EPS üretim yeteneği *T. trogii* (A) suşundan daha yüksek iken, *T. versicolor* ATCC 200801 ve *T. versicolor* (H)'den daha düşük olduğu

gözlenmiştir. *T. versicolor* suşları ile karşılaştırıldığı zaman *T. trogii* suşlarının daha düşük miktarda EPS ürettikleri gözlenmiştir. Sonuçlar bu türün EPS üretim yeteneğinin *Trametes* cinsine ait bu çalışmadaki diğer suşlardan daha düşük olduğunu göstermektedir.



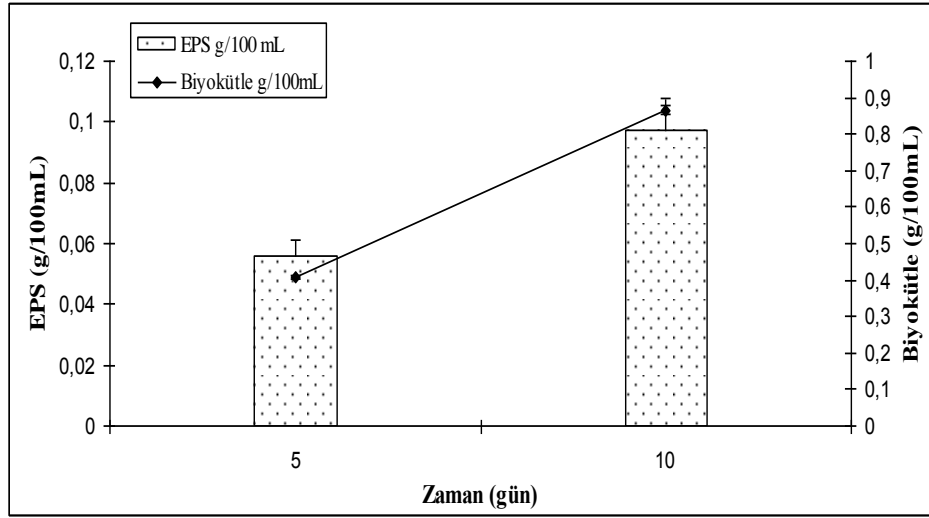
Şekil 4.3. *T. trogii* (İ) suşunun 5 ve 10 günlük üretimi sonucu EPS ve biyokütle değişimi



Şekil 4.4. *T. trogii* (A) suşunun 5 ve 10 günlük üretimi sonucu EPS ve biyokütle değişimi

G. lucidum'un ürettiği EPS miktarı *T. trogii* (A) suşunun ürettiği EPS miktarına yakın iken diğer *Trametes* suşlarının ürettiği miktara göre düşük olduğu

saptanmıştır. *G. lucidum*'un ürettiği EPS miktarı 5. günde 0,05 g/100mL iken 10. günde de 0,09 g/100mL'dir (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. *G. lucidum* suşunun 5 ve 10 günlük üretimi sonucu EPS ve biyokütle değişimi

Çalışmanın devamında elde edilen EPS'lerin sitotoksik ve antimikrobiyal etkisini test etmek amacıyla çeşitli çözücüler (DMSO, DMFO, soğuk ve sıcak distile su, etil alkol, metil alkol) kullanıldı. Elde edilen EPS'ler kullanılan çözücülerin tümünde, ya çok az çözüldüğünden ya da hiç çözünmediğinden yapılan ön çalışmalarda herhangi bir sitotoksik etki ya da antimikrobiyal etki tespit edilemedi.

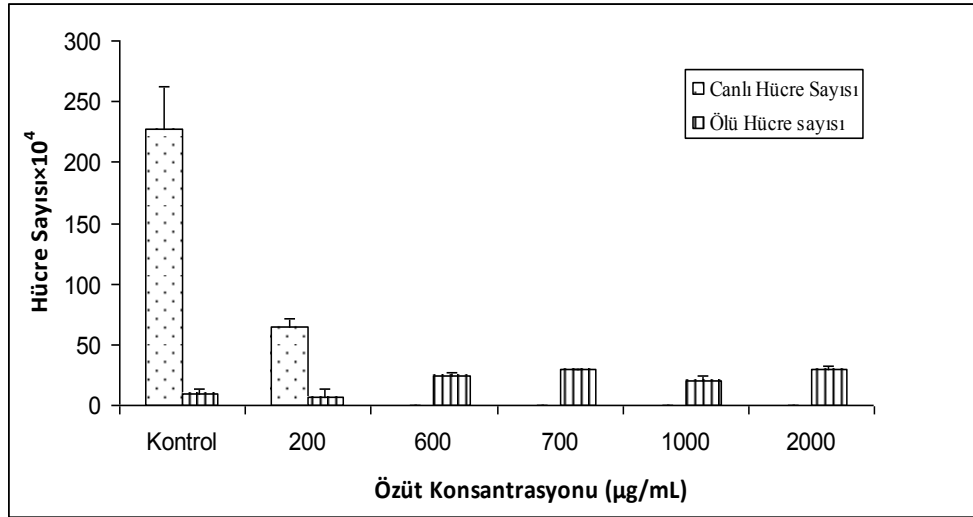
Bu nedenle, çalışmanın ikinci kısımda katı faz fermentasyon sürecinden elde edilen özütün sitotoksik etkileri araştırıldı. Çalışmanın bu aşamasında *T. versicolor* ATCC 200801, *T. versicolor* (H), *T. trogii* (A), *T. trogii* (İ)'den elde edilen özütlerin akciğer kanseri hücreleri (A549), akciğer sağlıklı epitelyum hücreleri (BEAS-2B) ve kronik myeloid lösemi (KML) (K562) hücreleri üzerine sitotoksik etkileri tespit edildi. Sitotoksik etki, tripan mavisini ve MTT yöntemi ile belirlendi. Tripan mavisini yöntemi; etkili konsantrasyon aralığını tespit etmek, proliferasyonun baskılanıp baskılanmadığını ya da sitotoksik etkinliğin varlığını tespit etmek amacıyla yapıldı. MTT yöntemi ise tripan mavisini doğrulamak, özütlerin IC₅₀ değerini hesaplamak ve optimum maruz kalma süresini tespit etmek amacıyla yapıldı.

Ön çalışmalarda *G. lucidum*'un katı faz sürecinden elde edilen özütünün hücreler üzerine sitotoksik etkisinin olmadığı tespit edildiğinden bu fungusla çalışma devam ettirilmedi.

4.2. *T. versicolor* ATCC 200801'nin Sitotoksik Etkisi

T. versicolor ATCC 200801 özütünün A549, BEAS-2B ve K562 hücrelerine etkisi öncelikle tripan mavisi yöntemiyle araştırıldı. Özüt A549 ve BEAS-2B hücrelerine uygulandıktan 48 saat sonra etkisini gösterirken, K562 hücrelerine 24 saatte etki ettiği mikroskopik incelemelerle tespit edildi ve hücreler bu saatlerde sayıldı.

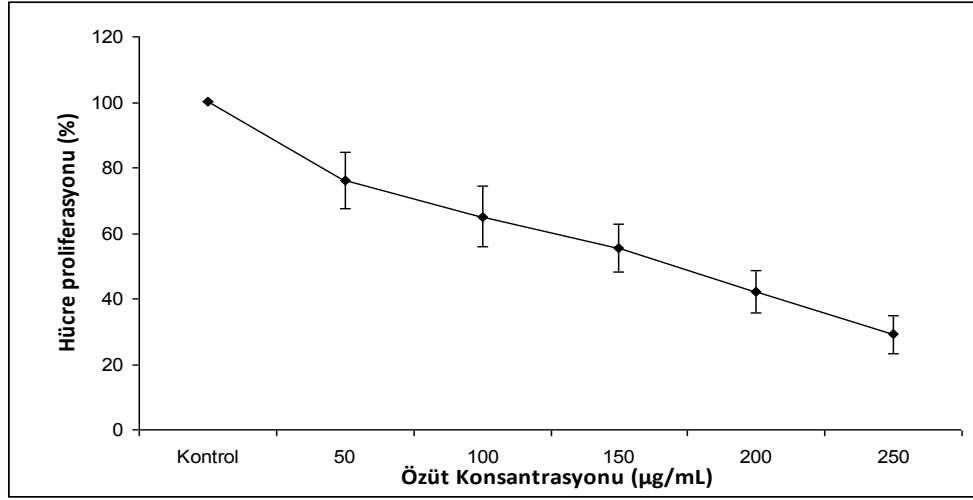
T. versicolor ATCC 200801 özütü A549 hücreleri üzerine farklı konsantrasyonlarda uygulandı ve sitotoksik etkisi 48 saat sonra canlı ve ölü hücreler sayılarak tespit edildi. Özütün A549 hücreleri üzerine hücre proliferasyonunu baskılayıcı etkisi olduğu belirlendi (Şekil 4.6).



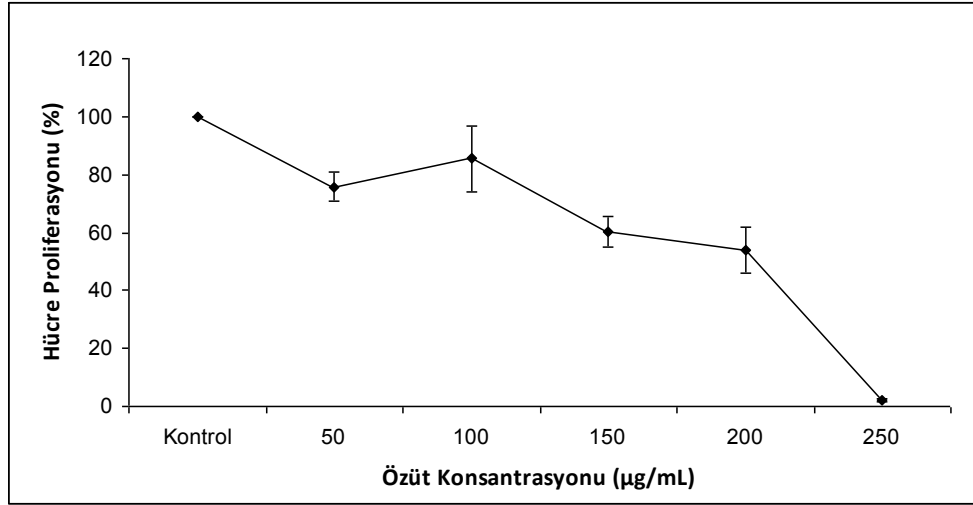
Şekil 4.6. *T. versicolor* ATCC 200801 özütünün A549 hücreleri üzerine sitotoksik etkisi

Özütün IC₅₀ değeri ve optimum maruz kalma süresini tespit etmek amacıyla özüt farklı konsantrasyonlarda 24, 48 ve 72 saat süreyle hücrelerle muamele edildi ve MTT yöntemiyle IC₅₀ değerleri hesaplandı.

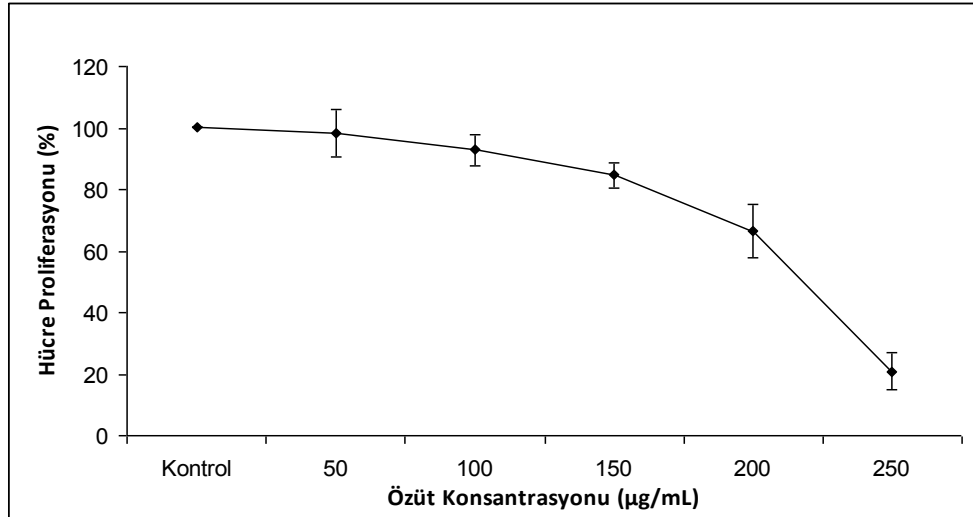
T. versicolor ATCC 200801 özütünün IC₅₀ değeri 24. saatte 170,4 µg/mL (Şekil 4.7), 48. saatte 203,8 µg/mL (Şekil 4.8) ve 72. saatte 218,1 µg/mL (Şekil 4.9) olarak hesaplandı. Maruz kalma süresinin artışına bağlı olarak IC₅₀ değerlerinde de artış olduğu belirlendi.



Şekil 4.7. *T. versicolor* ATCC 200801 özütünün A549 hücrelerine etkisi (24. Saat)

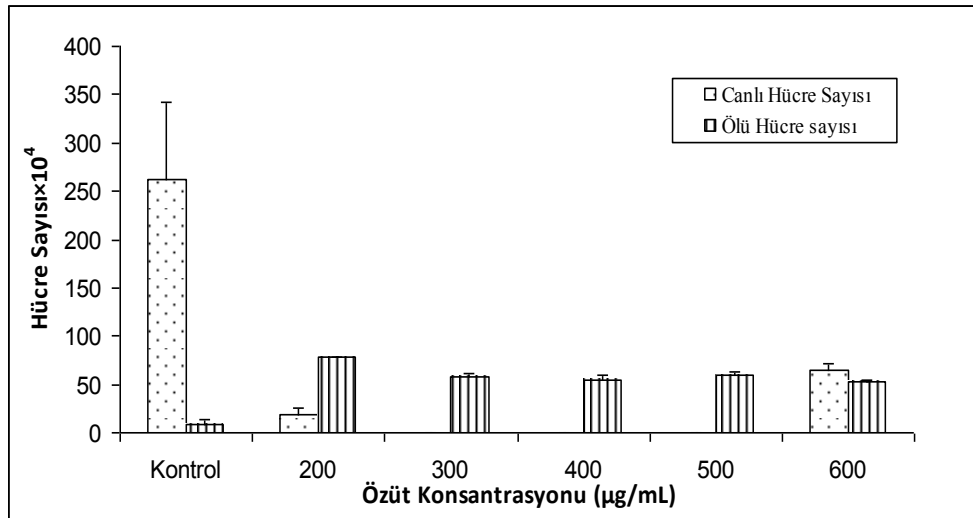


Şekil 4.8. *T. versicolor* ATCC 200801 özütünün A549 hücrelerine etkisi (48 Saat)



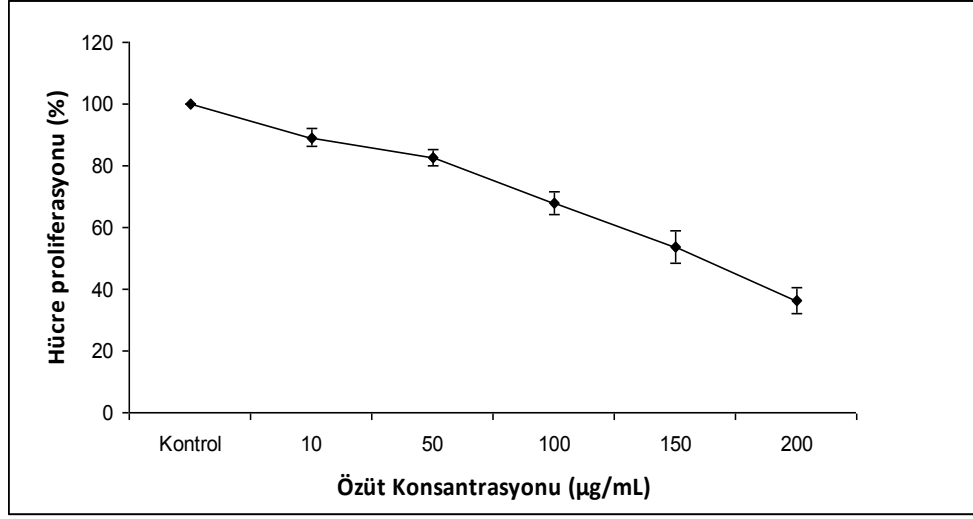
Şekil 4.9. *T. versicolor* ATCC 200801 özütünün A549 hücrelerine etkisi (72. Saat)

T. versicolor ATCC 200801 özütünün akciğer sağlıklı epitelyum hücreleri üzerine sitotoksik etkisi Şekil 4.10'da görülmektedir.

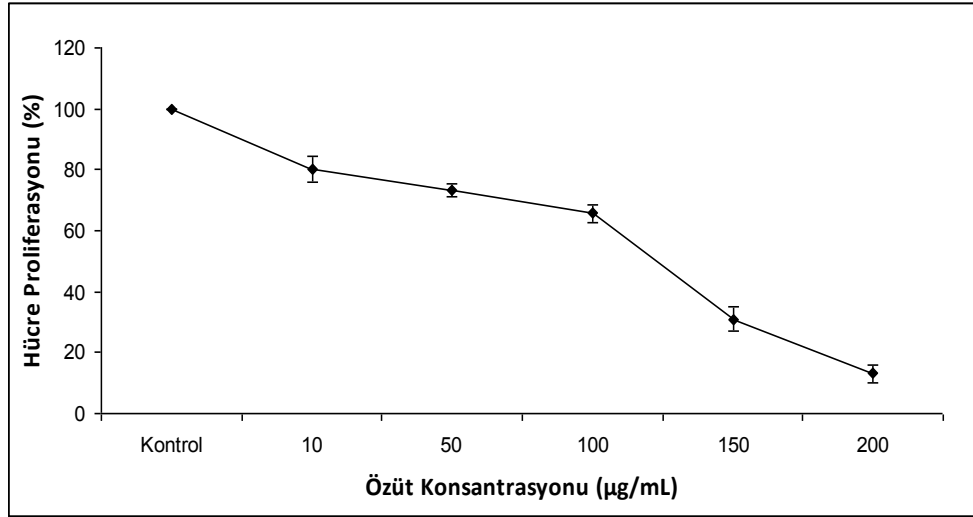


Şekil 4.10. *T. versicolor* ATCC 200801 özütünün BEAS-2B hücrelerine etkisi

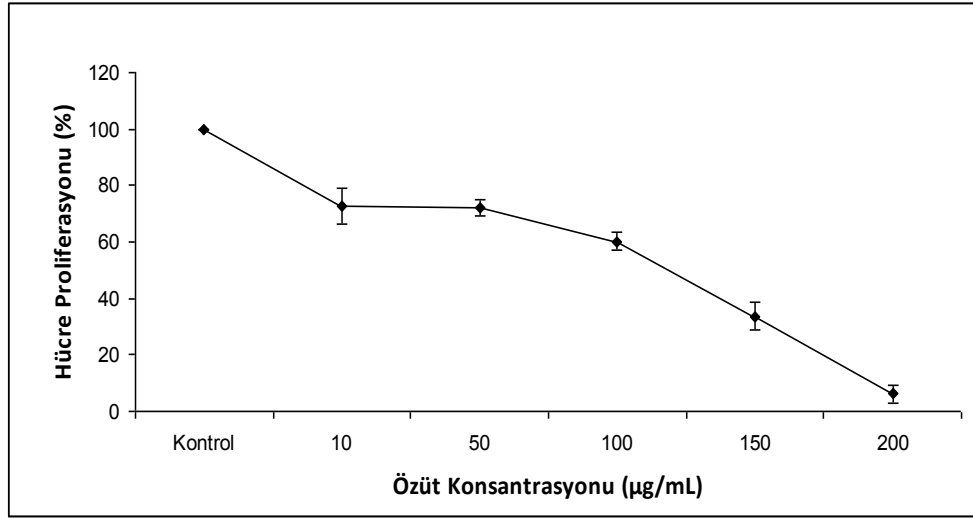
BEAS-2B hücreleri üzerine sitotoksik etkiyi tespit etmek amacıyla, özüt farklı konsantrasyonlarda hücrelerle muamele edildi ve 24, 48 ve 72 saat inkübasyon süreleri sonunda IC₅₀ değerleri hesaplandı. Özütün BEAS-2B hücreleri üzerine IC₅₀ değerleri 24. saatte 160,6 µg/mL (Şekil 4.11), 48. saatte 122,6 µg/mL (Şekil 4.12) ve 72. saatte 118,9 µg/mL (Şekil 4.13) olarak hesaplandı.



Şekil 4.11. *T. versicolor* ATCC 200801 özütünün BEAS-2B hücrelerine etkisi (24. Saat)

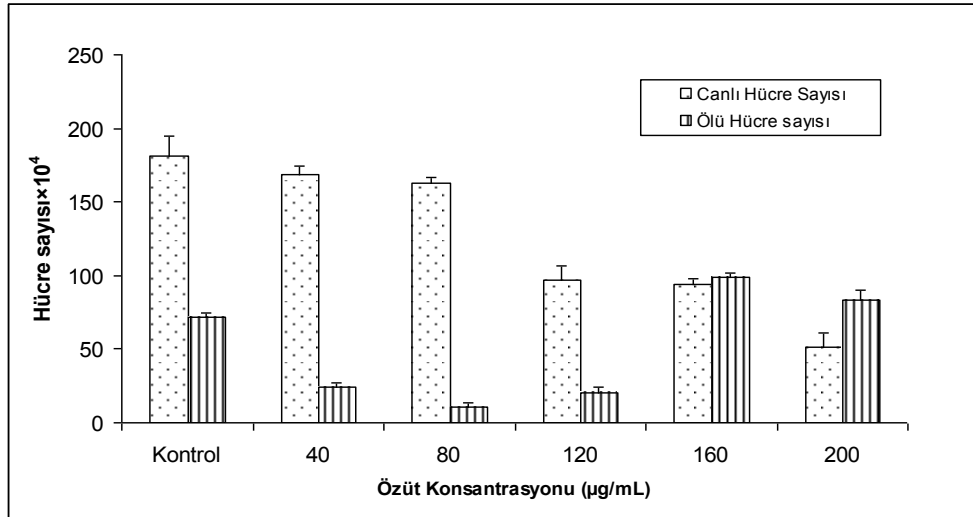


Şekil 4.12. *T. versicolor* ATCC 200801 özütünün BEAS-2B hücrelerine etkisi (48. Saat)



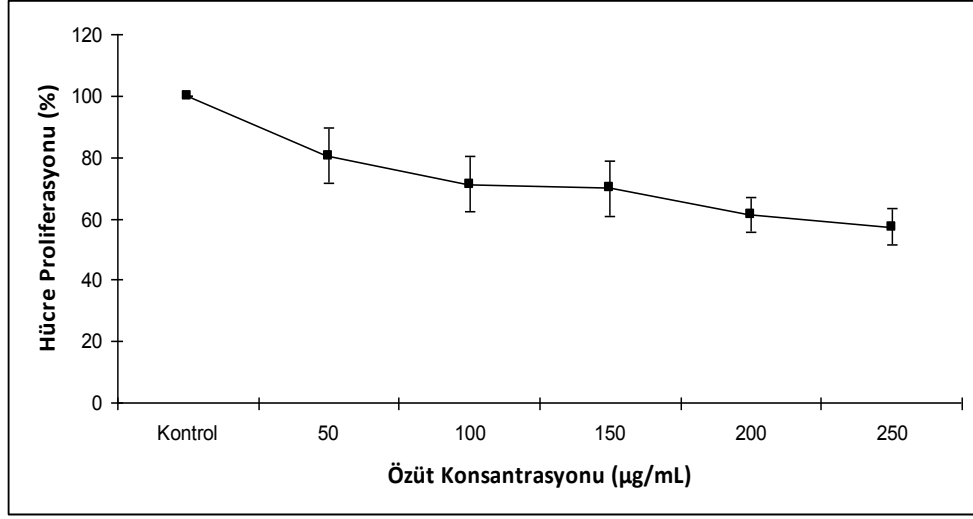
Şekil 4.13. *T. versicolor* ATCC 200801 özütünün BEAS-2B hücrelerine etkisi (72. Saat)

T. versicolor ATCC 200801 özütünün K562 hücreleri üzerine sitotoksik etkisi de araştırılmış ve sonuçlar Şekil 4.14’de gösterilmiştir. Bu şekil incelendiği zaman, özütün hem sitotoksik etki gösterdiği hem de proliferasyonu inhibe ettiği görülmektedir.

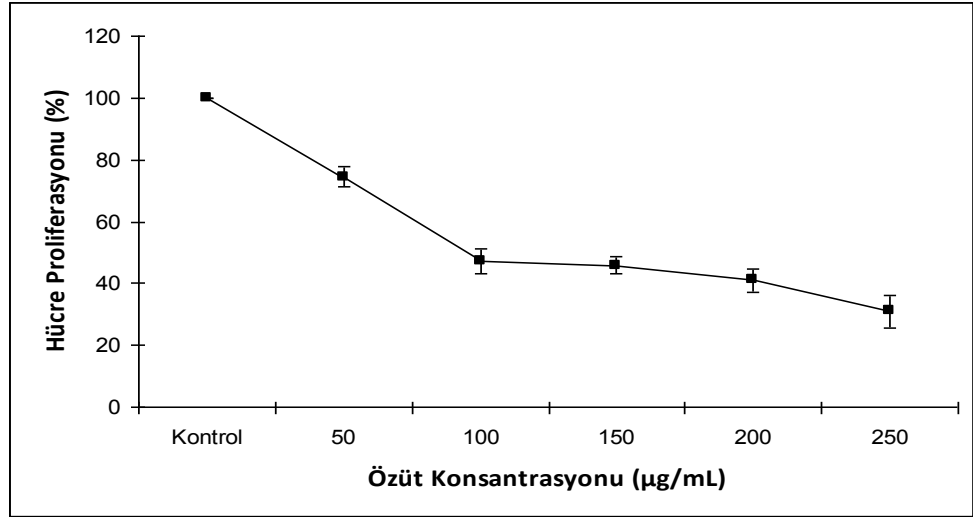


Şekil 4.14. *T. versicolor* ATCC 200801 özütünün K562 hücrelerine etkisi

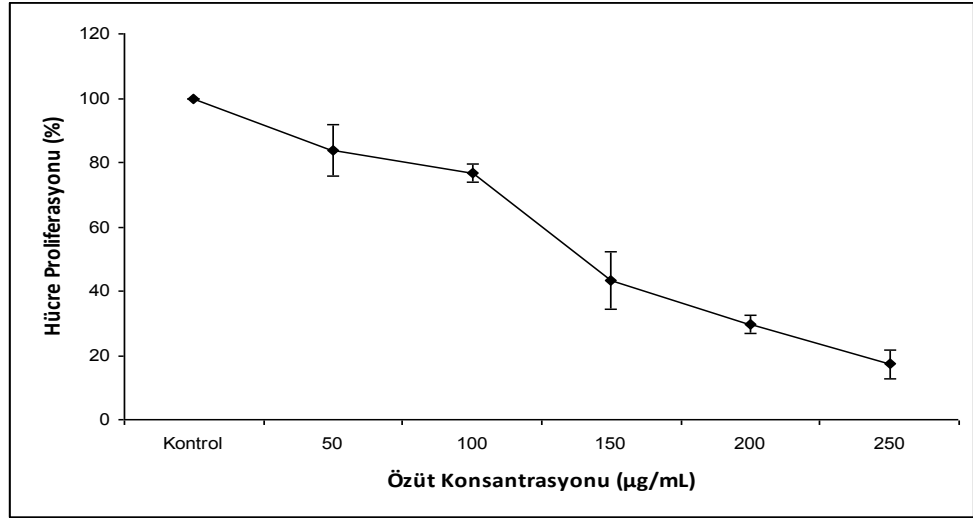
Hücrelerin, özüte optimum maruz kalma süresinin tespiti ve hücreler üzerine IC₅₀ değerini saptamak için MTT analizi de yapıldı. *T. versicolor* ATCC 200801 özütünün K562 hücreleri üzerine IC₅₀ değeri 24. saatte saptanamazken (Şekil 4.15), 48. saatte 95,09 µg/mL (Şekil 4.16) ve 72. saatte de 140,06 µg/mL (Şekil 4.17) olarak saptandı. Optimum maruz kalma süresi 48 saat olarak tespit edildi.



Şekil 4.15. *T. versicolor* ATCC 200801 özütünün K562 hücrelerine etkisi (24. Saat)



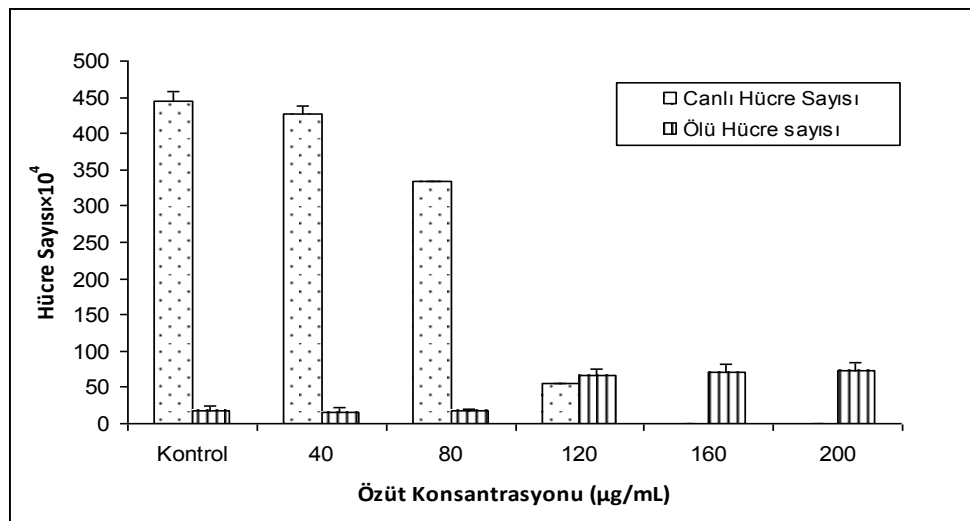
Şekil 4.16. *T. versicolor* ATCC 200801 özütünün K562 hücrelerine etkisi (48. Saat)



Şekil 4.17. *T. versicolor* ATCC 200801 özütünün K562 hücrelerine etkisi (72. Saat)

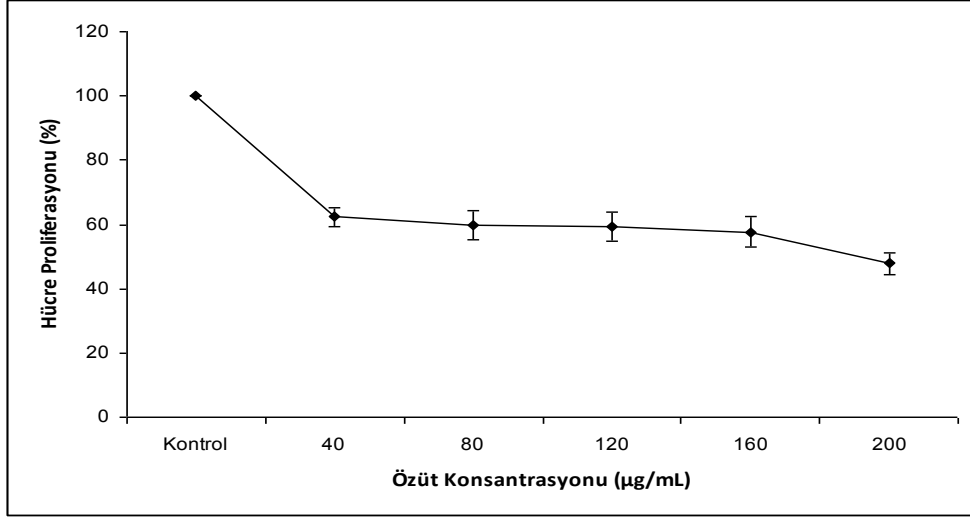
4.3. *T. versicolor* (H)'nin Sitotoksik Etkisi

Doğadan tarafımızca izole edilen *T. versicolor* (H) özütünün A549 hücreleri ve BEAS-2B hücreleri üzerine sitotoksik etkisinin araştırıldığı çalışmalarda özütün A549 hücreleri üzerine proliferasyonu baskılayıcı ve sitotoksik etkisinin olduğu, canlı hücrelerin azalması ve ölü hücrelerin varlığıyla tespit edildi (Şekil 4.18). Özütün IC₅₀ değerlerinin diğer suşlardan elde edilen özütlere oranla daha düşük olduğu saptandı.

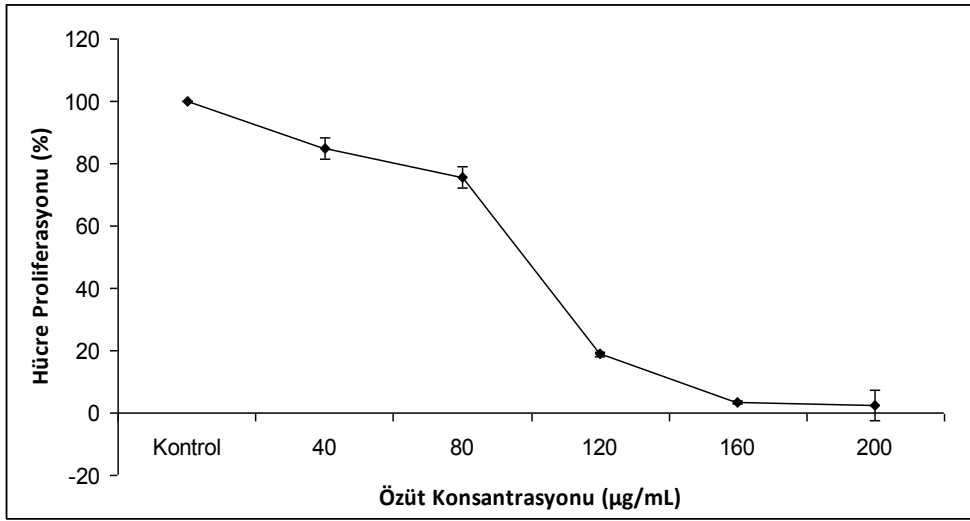


Şekil 4.18. *T. versicolor* (H) özütünün A549 hücrelerine etkisi

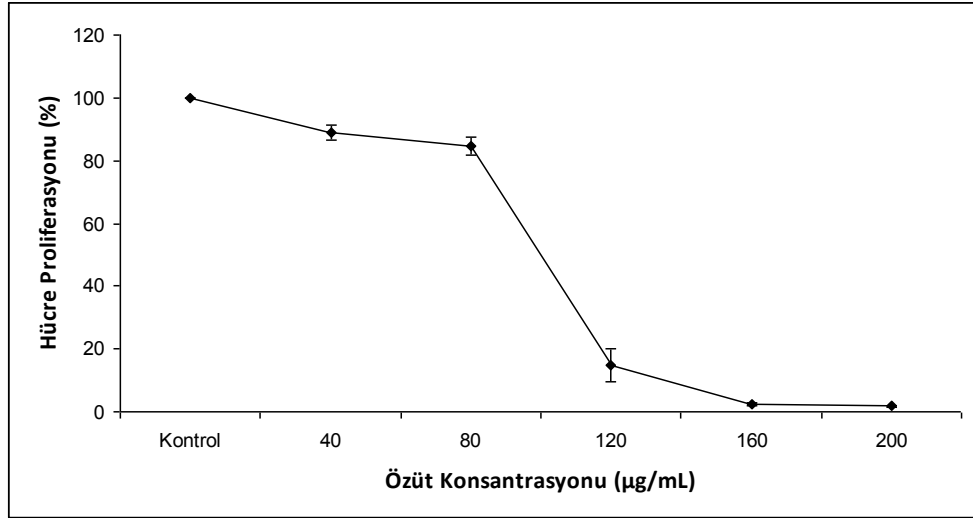
T. versicolor (H) suşuna ait özütün A549 hücreleriyle muamelesiyle IC₅₀ değerleri 24. saatte 191,2 µg/mL (Şekil 4.19), 48. saatte 98,1 µg/mL (Şekil4.20) ve 72. saatte 99,8 µg/mL (Şekil 4.21) olarak saptandı.



Şekil 4.19. *T. versicolor* (H) özütünün A549 hücrelerine etkisi (24. Saat)

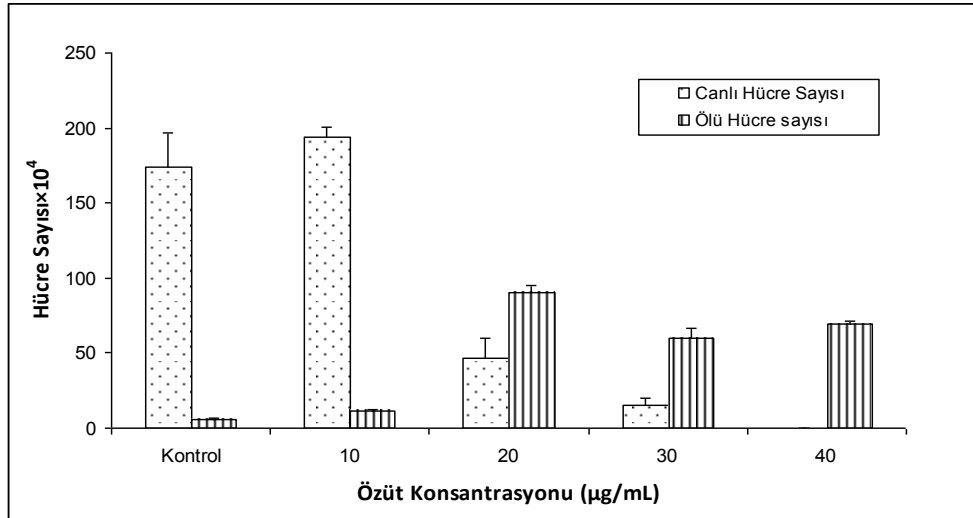


Şekil 4.20. *T. versicolor* (H) özütünün A549 hücrelerine etkisi (48. Saat)



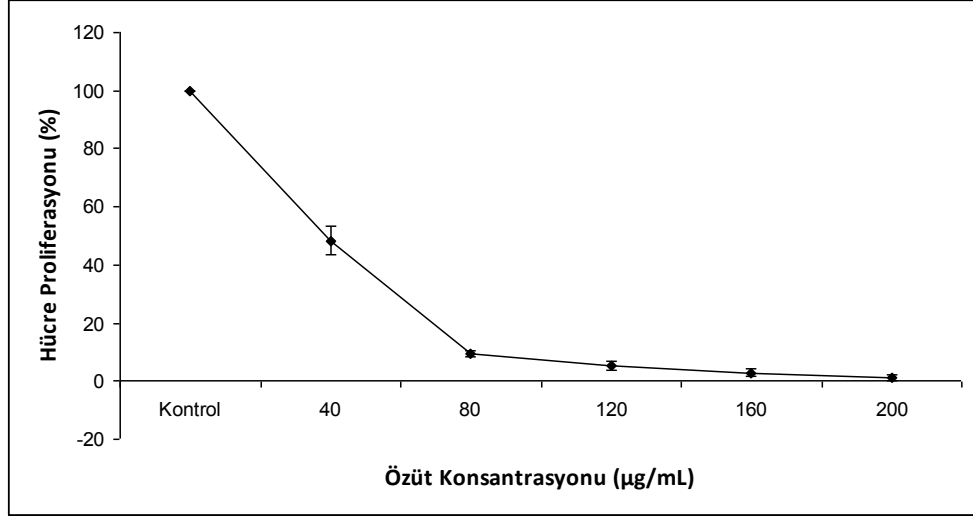
Şekil 4.21. *T. versicolor* (H) özütünün A549 hücrelerine etkisi (72. Saat)

T. versicolor (H) özütünün BEAS-2B hücreleri üzerine sitotoksik etkisinin olup olmadığı da araştırıldı. Özütün BEAS-2B hücreleri üzerine proliferasyonu baskılayıcı ve sitotoksik etkisinin olduğu gözlemlendi (Şekil 4.22).

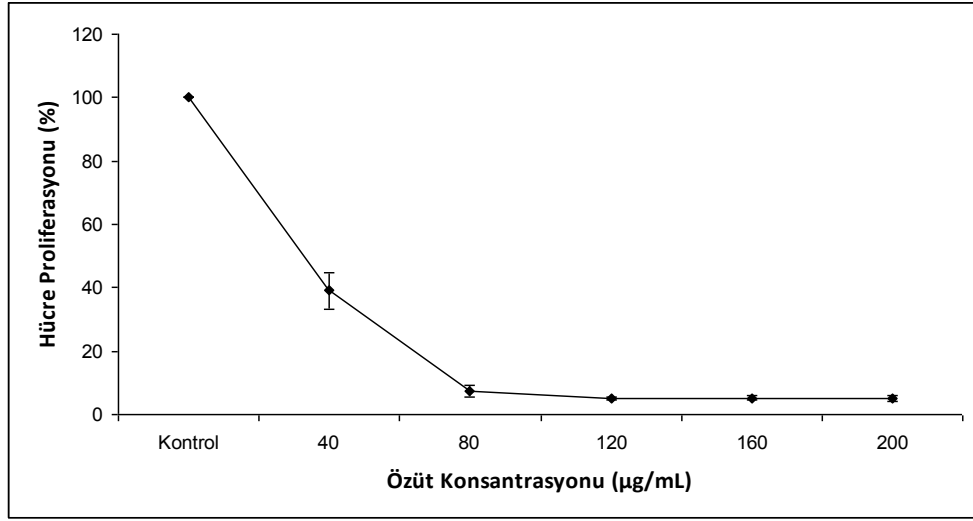


Şekil 4.22. *T. versicolor* (H) özütünün BEAS-2B hücrelerine etkisi

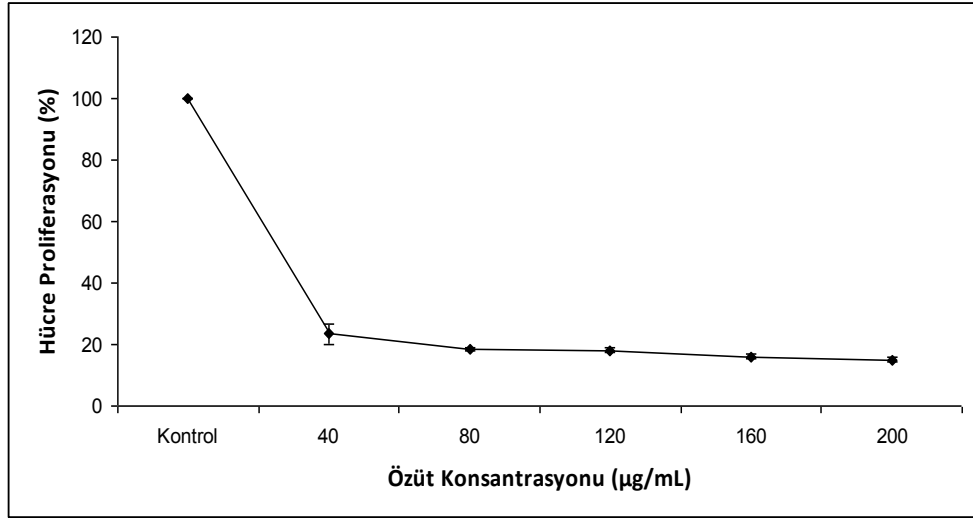
Özütün BEAS-2B hücreleriyle muamelesinden 24, 48 ve 72 saat sonra IC₅₀ değerleri hesaplandı ve 24. saatte 38,7 µg/mL (Şekil 4.23), 48. saatte 32,8 µg/mL (Şekil 4.24) ve 72. saatte 26,1 µg/mL (Şekil 4.25) olarak tespit edildi. *T. versicolor* (H) özütünün BEAS-2B hücreleri üzerine A549 hücrelerine göre daha düşük konsantrasyonlarda etki ettiği saptandı.



Şekil 4.23. *T. versicolor* (H) özütünün BEAS-2B hücrelerine etkisi (24. Saat)

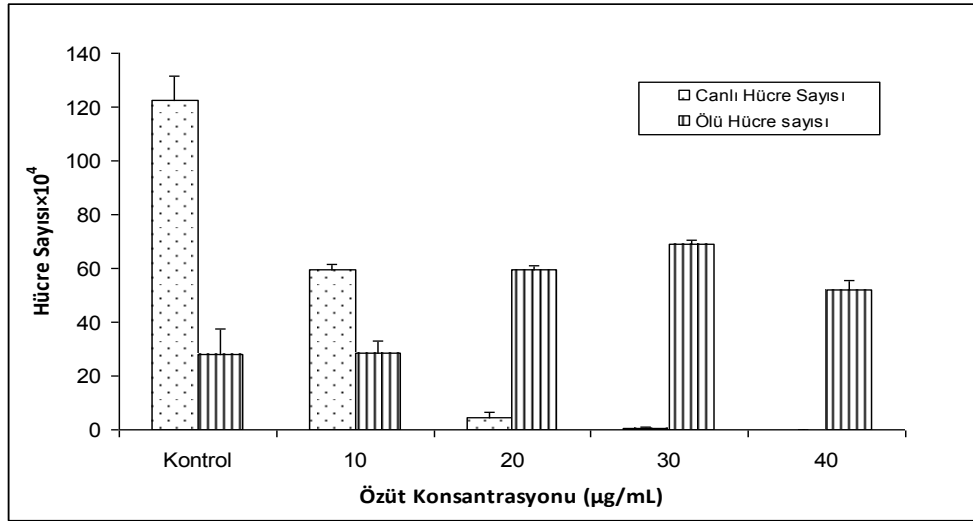


Şekil 4.24. *T. versicolor* (H) özütünün BEAS-2B hücrelerine etkisi (48. Saat)



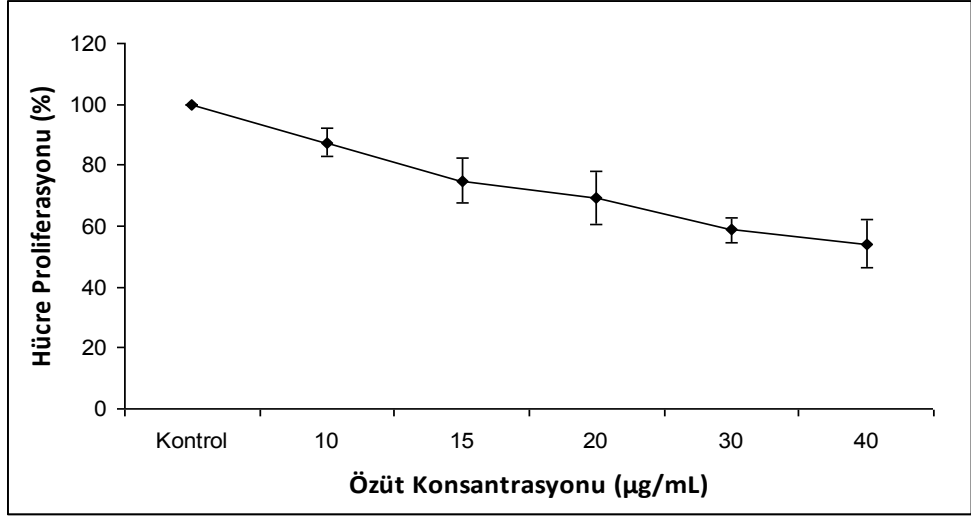
Şekil 4.25. *T. versicolor* (H) özütünün BEAS-2B hücrelerine etkisi (72. Saat)

T. versicolor (H) özütünün K562 hücreleri üzerine sitotoksik etkisi için öncelikle tripan mavisi analizi yapılarak etkili konsantrasyon aralığı belirlendi. Bu fungus özütünün K562 hücreleri üzerine düşük dozlarda sitotoksik ve proliferasyonu baskılayıcı etkiye sahip olduğu tespit edildi (Şekil 4. 26).

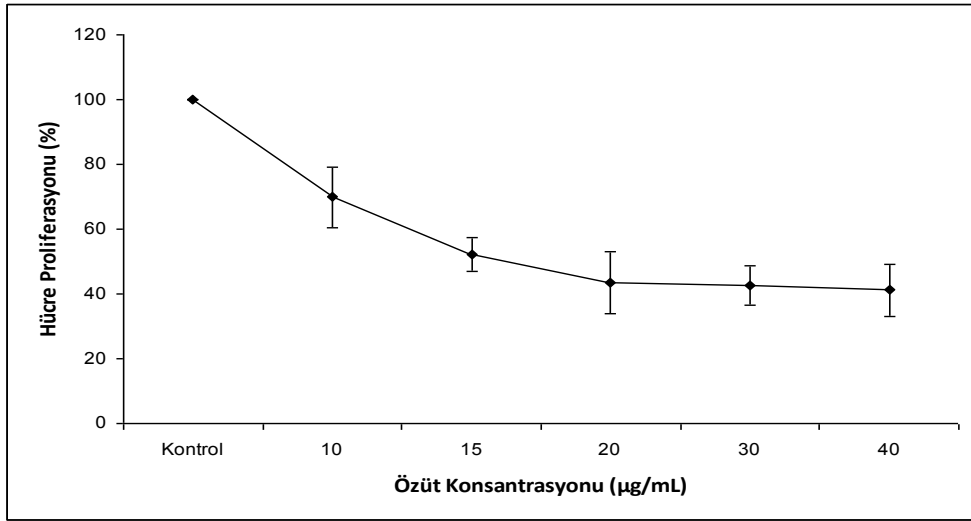


Şekil 4.26. *T. versicolor* (H) özütünün K562 hücrelerine etkisi

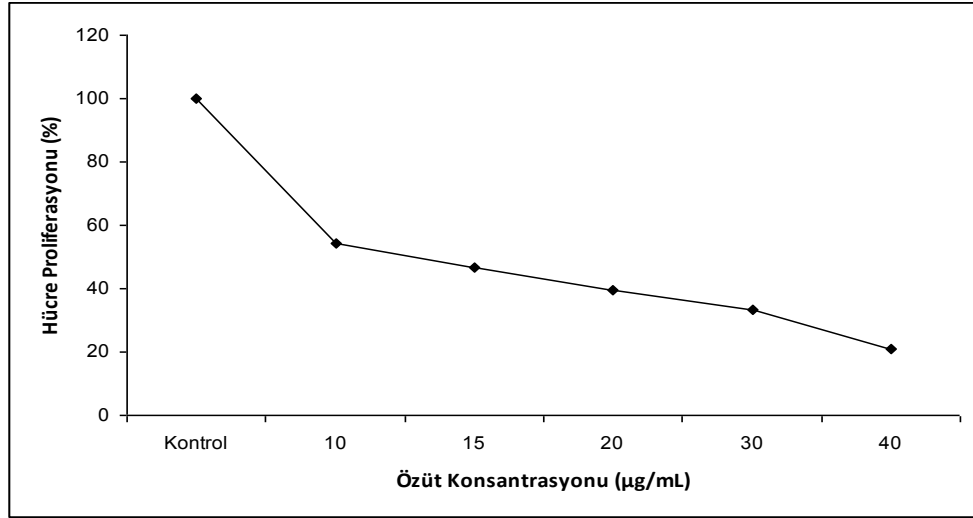
T. versicolor (H) özütünün, K562 hücreleri üzerine IC₅₀ değerleri; 24. saatte hesaplanamazken (Şekil 4.27), 48. saatte 16,25 µg/mL (Şekil 4.28) ve 72. saatte 12,70 µg/mL (Şekil 4.29) olarak saptandı.



Şekil 4.27. *T. versicolor* (H) özütünün K562 hücrelerine etkisi (24. Saat)



Şekil 4.28. *T. versicolor* (H) özütünün K562 hücrelerine etkisi (48. Saat)

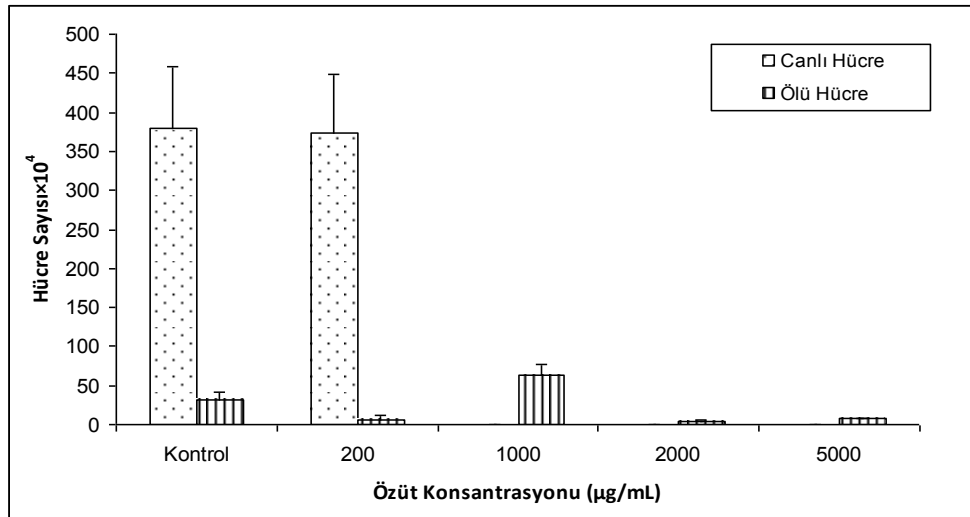


Şekil 4.29. *T. versicolor* (H) özütünün K562 hücrelerine etkisi (72. Saat)

4.4. *T. trogii* (İ)'nin Sitotoksik Etkisi

Yürütülen çalışmalar *T. trogii* (İ) özütünün A549 hücreleri üzerine etkili olan konsantrasyonlarının diğer *Trametes* türlerine ait özüt konsantrasyonlarından daha yüksek olduğunu göstermiştir.

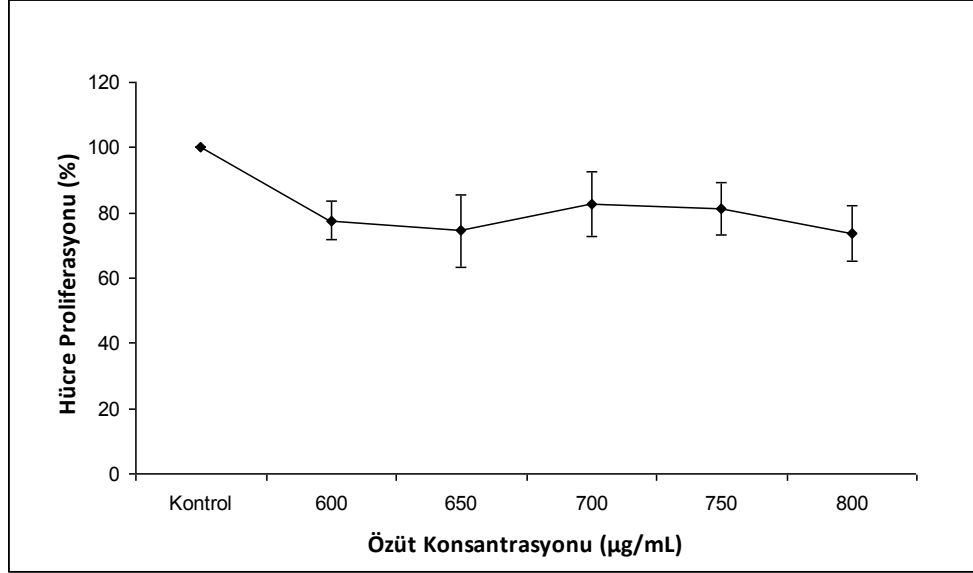
T. trogii (İ) özütünün A549 hücreleri üzerine sitotoksik etkisinden ziyade proliferasyonu baskılayıcı özelliğe sahip olduğu saptandı (Şekil 4.30).



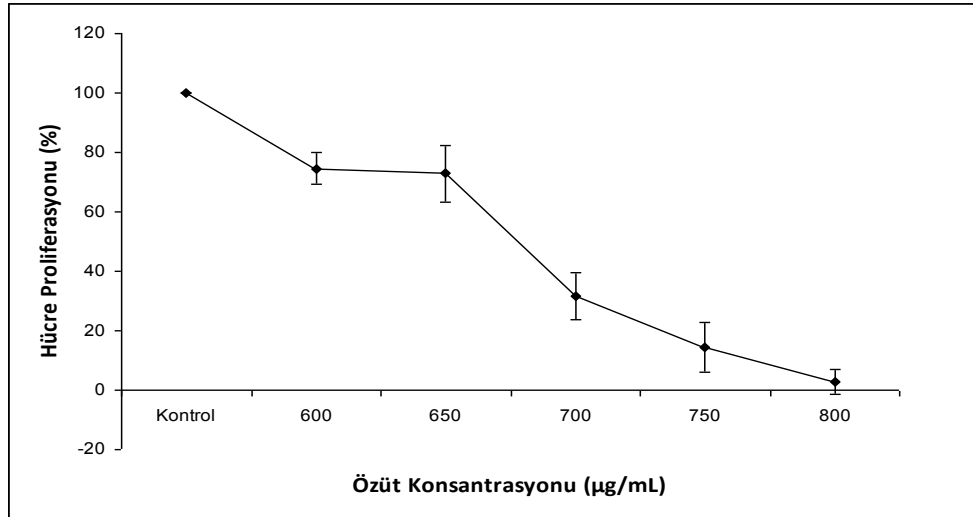
Şekil 4.30. *T. trogii* (İ) özütünün A549 hücrelerine etkisi

Özütün hücreler üzerine IC₅₀ değerleri ve optimum maruz kalma süresi MTT yöntemi ile belirlendi.

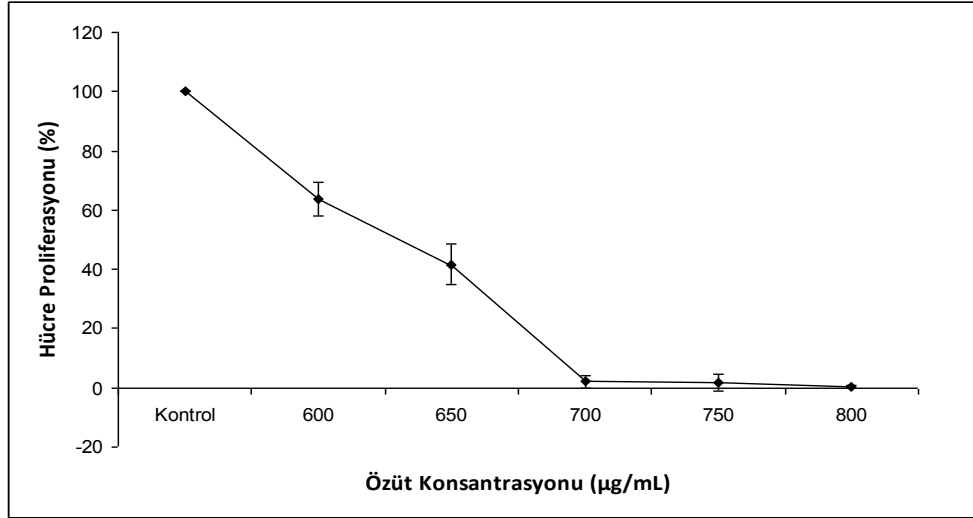
T. trogii (İ) özütünün A549 hücreleri üzerine IC₅₀ değeri 24. saatte hesaplanamazken (Şekil 4.31), 48. saatte 677,7 µg/mL (Şekil 4.32) ve 72. saatte 631,1 µg/mL (Şekil 4.33) olarak belirlendi. Bu özütünün A549 hücreleri üzerine sitotoksik etkisinin zamana bağlı olarak arttığı Şekil 4.31-33'de görülmektedir.



Şekil 4.31. *T. trogii* (İ) özütünün A549 hücrelerine etkisi (24. Saat)

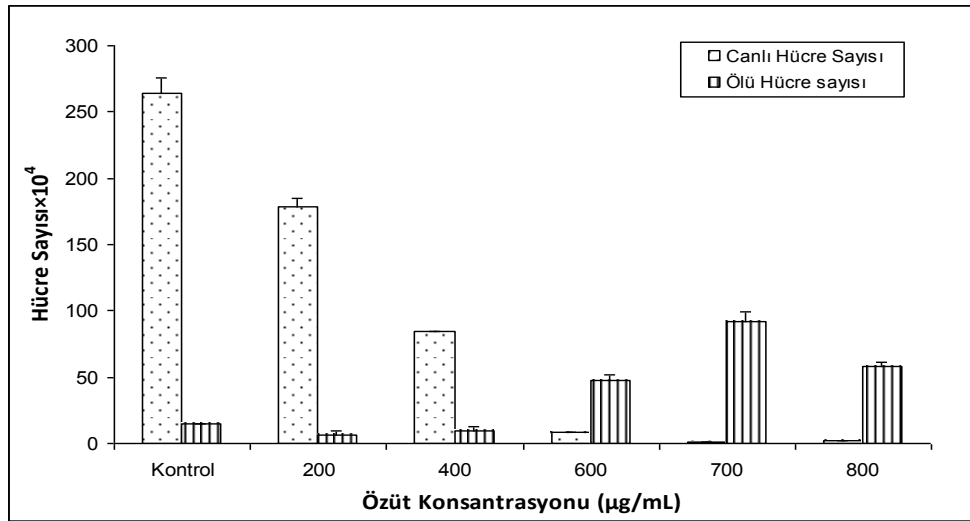


Şekil 4.32. *T. trogii* (İ) özütünün A549 hücrelerine etkisi (48. Saat)



Şekil 4.33. *T. trogii* (İ) özütünün A549 hücrelerine etkisi (72. Saat)

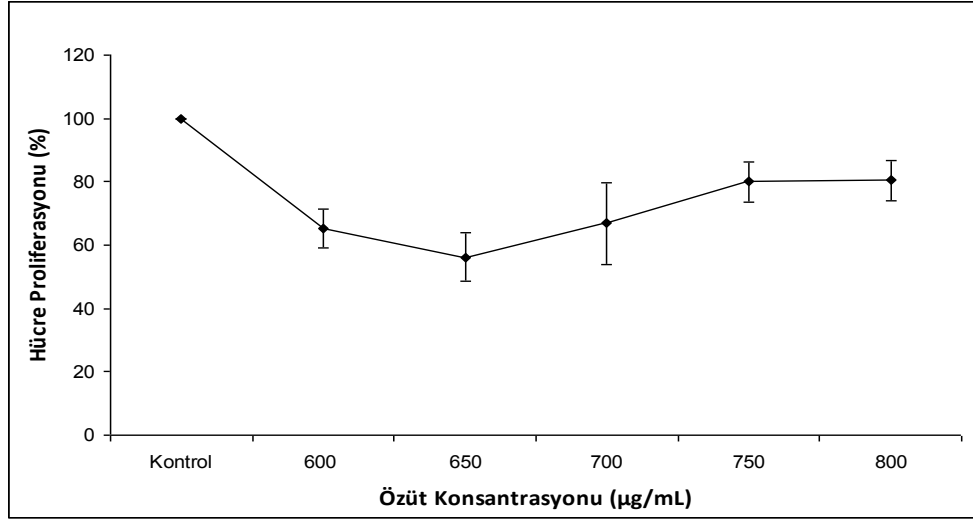
T. trogii (İ) katı faz özütünün BEAS-2B hücreleri üzerine proliferasyonu baskılayıcı ve sitotoksik etki yaptığı da saptanmıştır (Şekil 4.34).



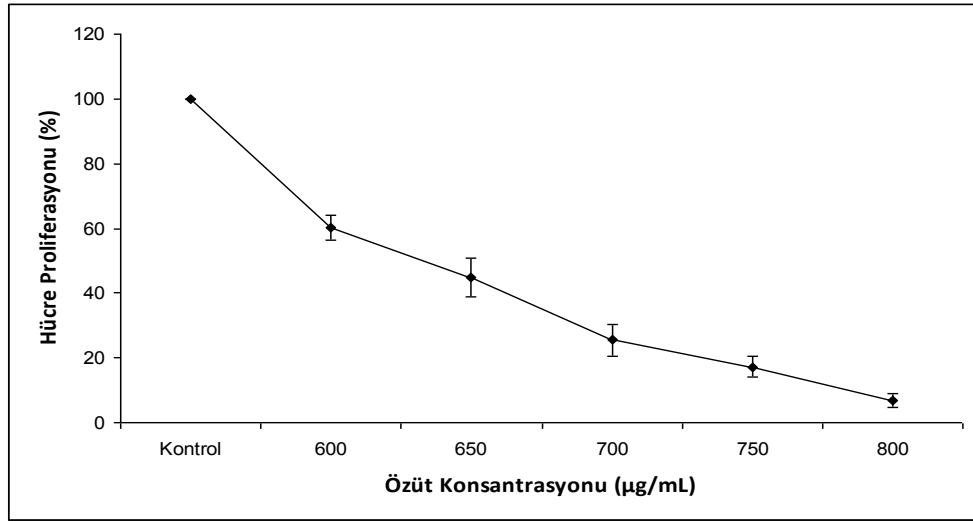
Şekil 4.34. *T. trogii* (İ) özütünün BEAS-2B hücrelerine etkisi

T. trogii (İ) özütünün BEAS-2B hücreleri üzerine etkili optimum maruz kalma süresi ve etkili konsantrasyonunu MTT analizi ile hesaplandı.

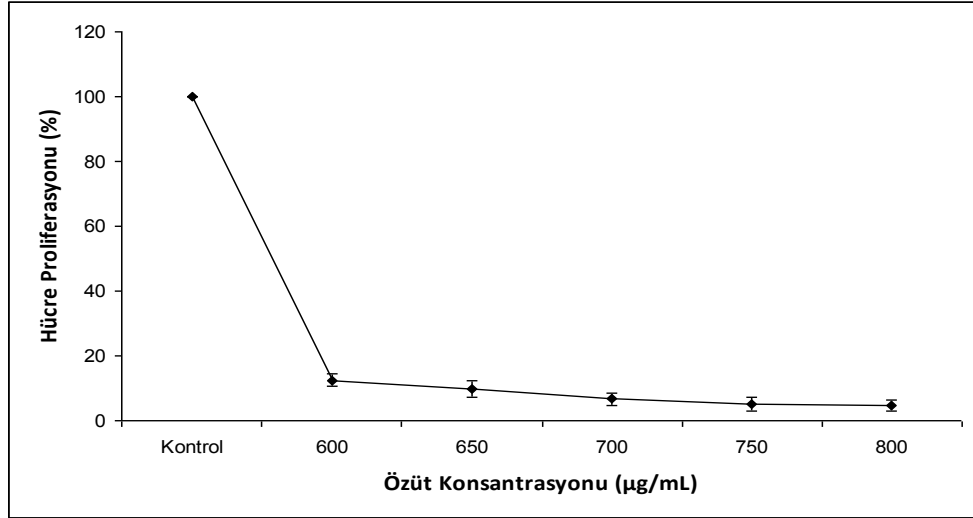
BEAS-2B hücreleri üzerine *T. trogii* (İ) özütünün IC₅₀ değeri 24. saatte hesaplanamazken (Şekil 4.35) 48. ve 72. saatlerde ise sırasıyla 632,9 µg/mL ve 343,3 µg/mL olarak hesaplandı (Şekil 4.36 ve Şekil 4.37). Özütün IC₅₀ değerinin zamana bağlı olarak düştüğü gözlemlendi.



Şekil 4.35. *T. trogii* (İ) özütünün BEAS-2B hücrelerine etkisi (24. Saat)

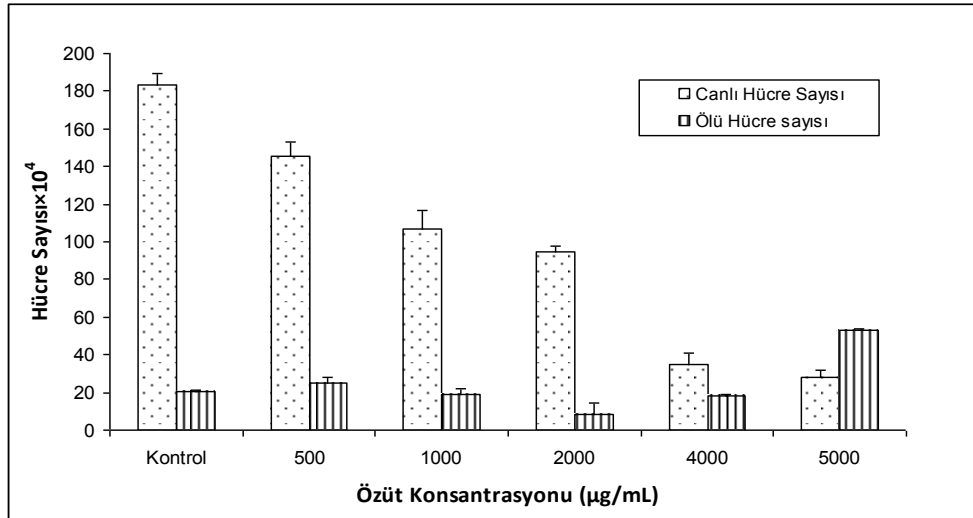


Şekil 4.36. *T. trogii* (İ) özütünün BEAS-2B hücrelerine etkisi (48. Saat)



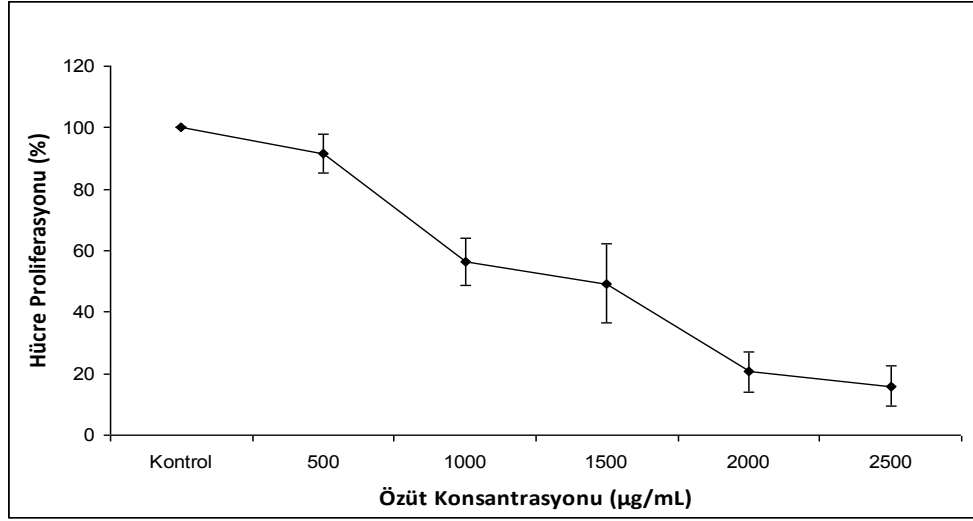
Şekil 4.37. *T. trogii* (İ) özütünün BEAS-2B hücrelerine etkisi (72. Saat)

T. trogii (İ) katı faz özütünün K562 hücrelerine sitotoksik etkisini belirlemek için özütün hücrelerle muamelesinden 24 saat sonra canlı ve ölü hücrelerin sayımı da yapıldı (Şekil 4. 38).

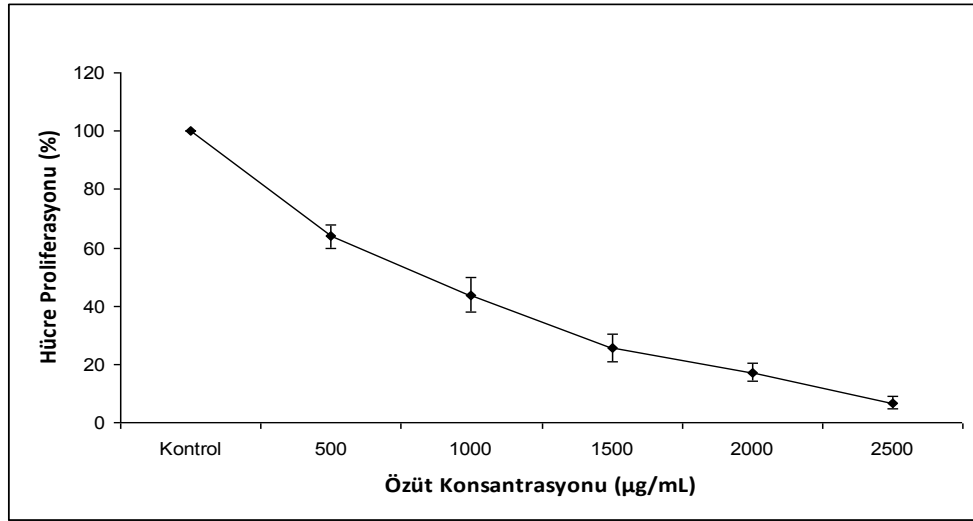


Şekil 4.38. *T. trogii* (İ) özütünün K562 hücrelerine etkisi

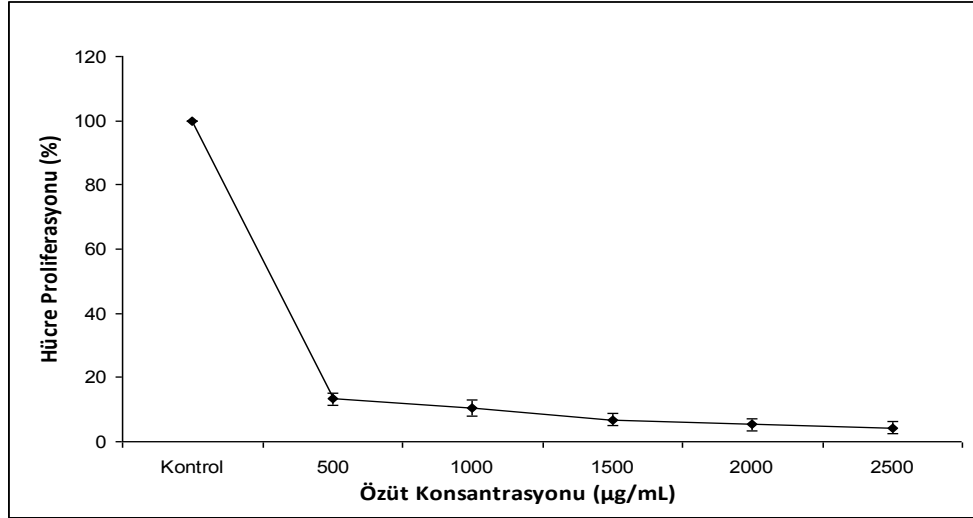
T. trogii (İ) özütünün K562 hücreleri üzerine etkili optimum maruz kalma süresi ve etkili konsantrasyonu hesaplandı ve buna göre IC₅₀ değerleri 24. saatte 1909,29 µg/mL (Şekil 4.39), 48. saatte 829,97 µg/mL (Şekil 4.40) ve 72. saatte 346,27 µg/mL (Şekil 4.41) olarak saptandı.



Şekil 4.39. *T. trogii* (İ) özütünün K562 hücrelerine etkisi (24. saat)



Şekil 4.40. *T. trogii* (İ) özütünün K562 hücrelerine etkisi (48. saat)

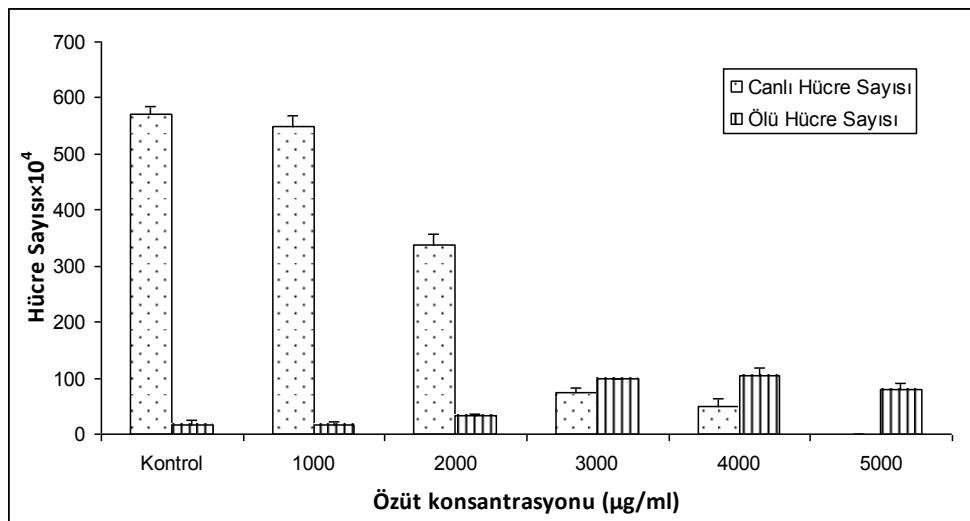


Şekil 4.41. *T. trogii* (İ) özütünün K562 hücrelerine etkisi (72. saat)

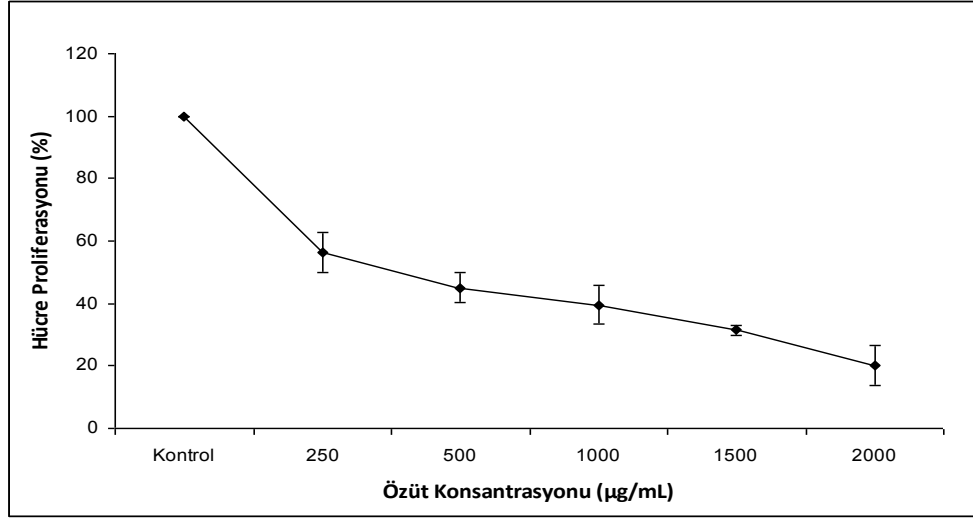
4.5. *T. trogii* (A)'nın Sitotoksik Etkisi

T. trogii (A) tarafımızdan doğadan izole edilen ve tıbbi yararları olduğu da bilinen suşlardandır. Bu nedenle bu fungus özütünün de A549, BEAS-2B ve K562 hücreleri üzerine sitotoksik ve proliferasyonu baskılayıcı etkisinin olup olmadığı araştırıldı (Şekil 4.42-53).

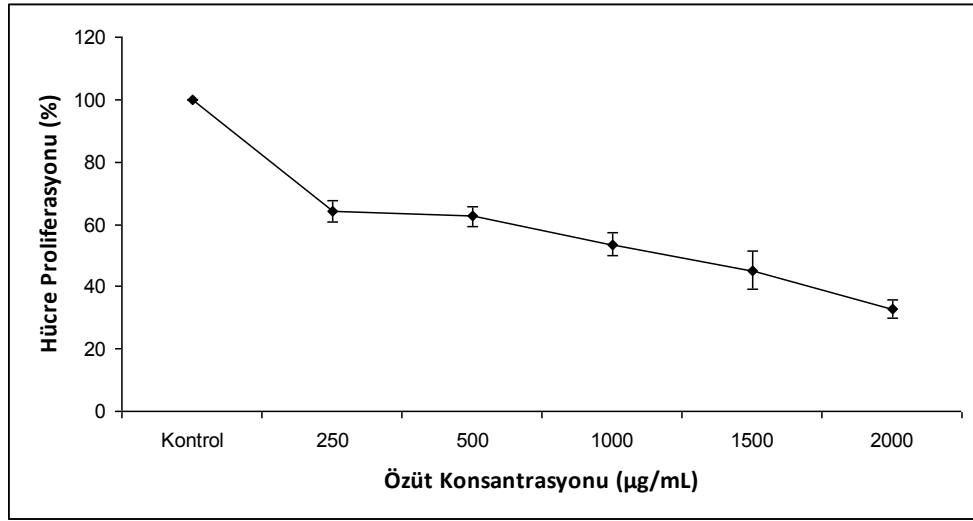
T. trogii (A) özütünün A549 hücreleri üzerine IC₅₀ değerleri sırasıyla 24. saatte 389,5 µg/mL (Şekil 4.43), 48. saatte 1217,7 µg/mL (Şekil4.44) ve 72. saatte de 1139,3 µg/mL (Şekil 4.45) olarak saptandı.



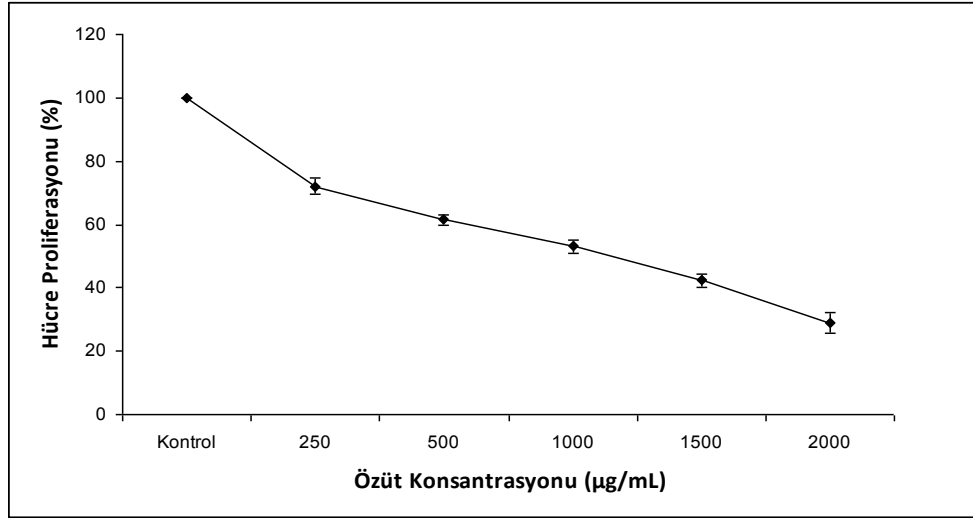
Şekil 4.42. *T. trogii* (A) özütünün A549 hücrelerine etkisi



Şekil 4.43. *T. trogii* (A) özütünün A549 hücrelerine etkisi (24. Saat)

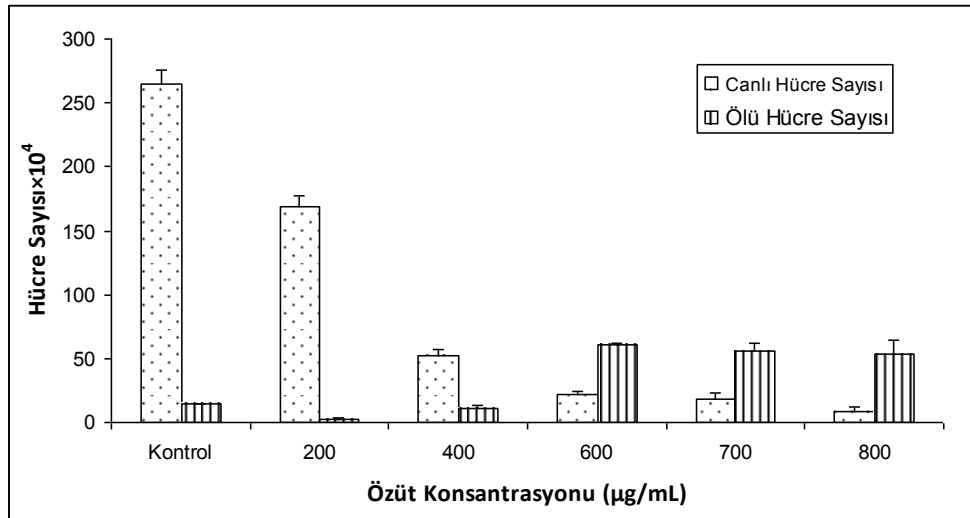


Şekil 4.44. *T. trogii* (A) özütünün A549 hücrelerine etkisi (48. Saat)



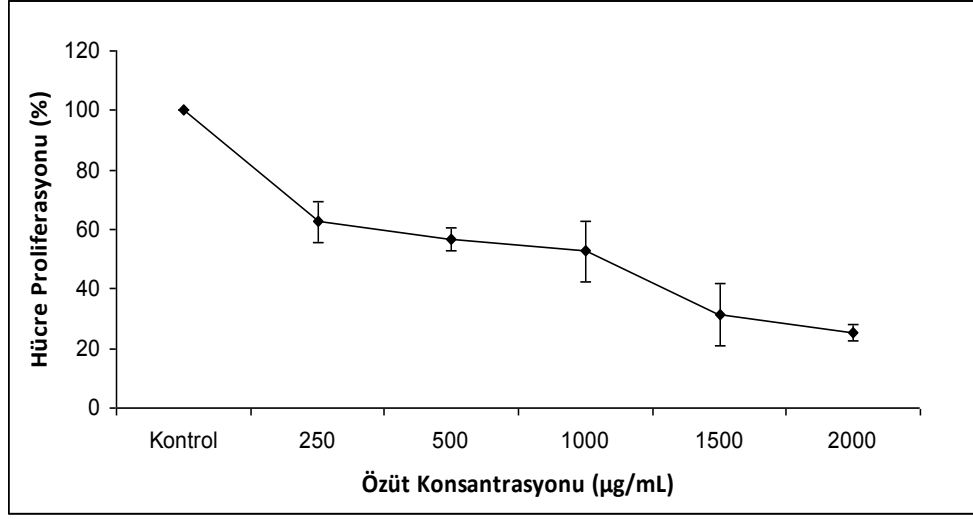
Şekil 4.45. *T. trogii* (A) özütünün A549 hücrelerine etkisi (72. Saat)

T. trogii (A) özütünün BEAS-2B hücreleri üzerine sitotoksik ve proliferasyonu baskılayıcı etkisinin olduğu gözlemlendi (Şekil 4. 46).

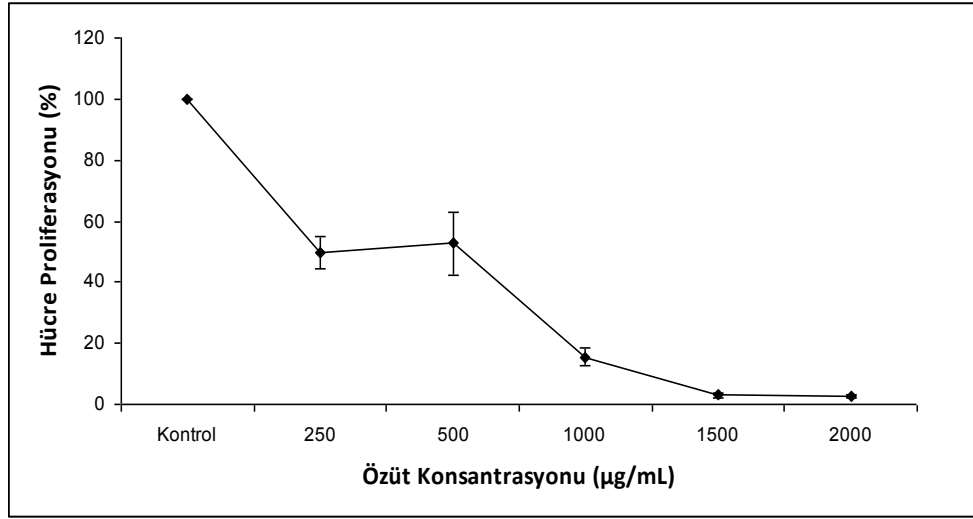


Şekil 4.46. *T. trogii* (A) özütünün BEAS-2B hücrelerine etkisi

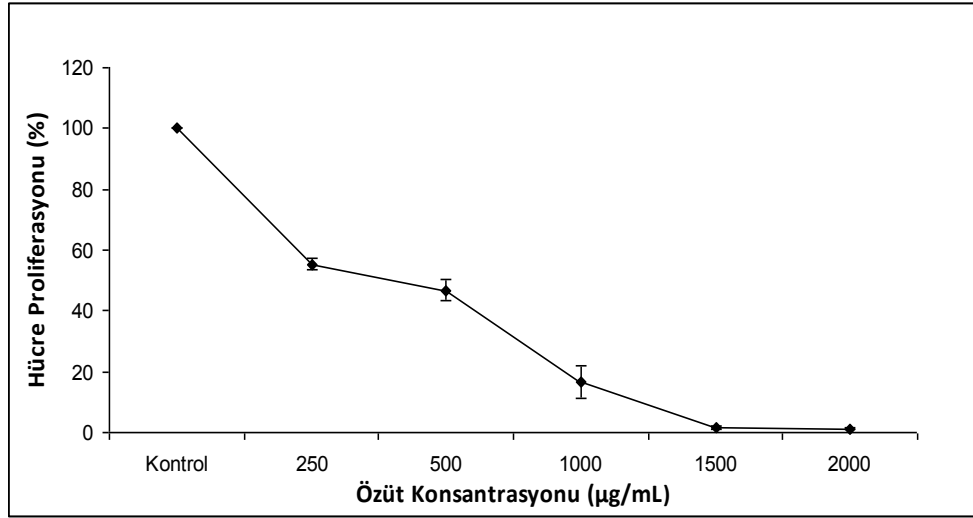
T. trogii (A) özütünün BEAS-2B hücreleri üzerine IC₅₀ değerleri 24. saatte 1062,9 µg/mL (Şekil 4.47), 48. saatte 537,3 µg/mL (Şekil 4.48) ve 72. saatte 407,3 µg/mL (Şekil 4.49) olarak hesaplandı. Zamana bağlı olarak özütün sitotoksik etkisinde artış olduğu da tespit edildi.



Şekil 4.47. *T. trogii* (A) özütünün BEAS-2B hücrelerine etkisi (24. Saat)

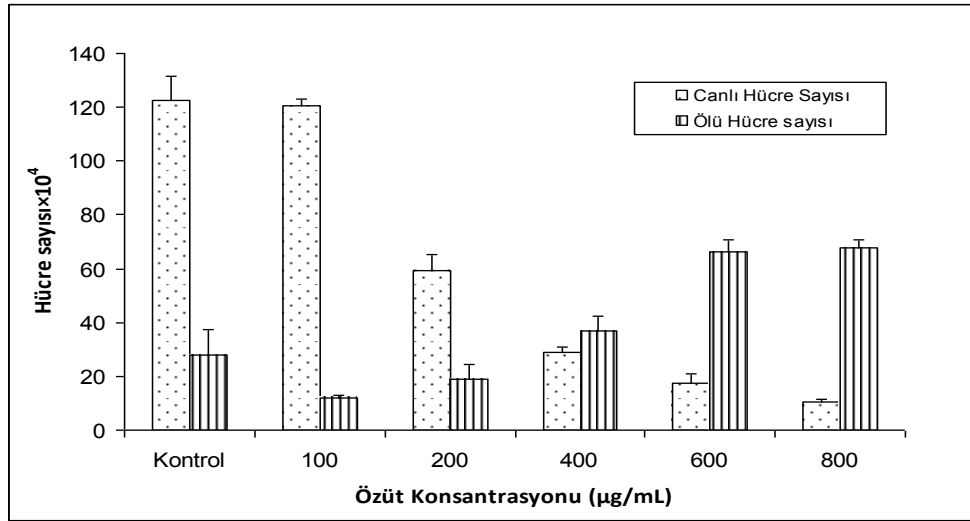


Şekil 4.48. *T. trogii* (A) özütünün BEAS-2B hücrelerine etkisi (48. Saat)



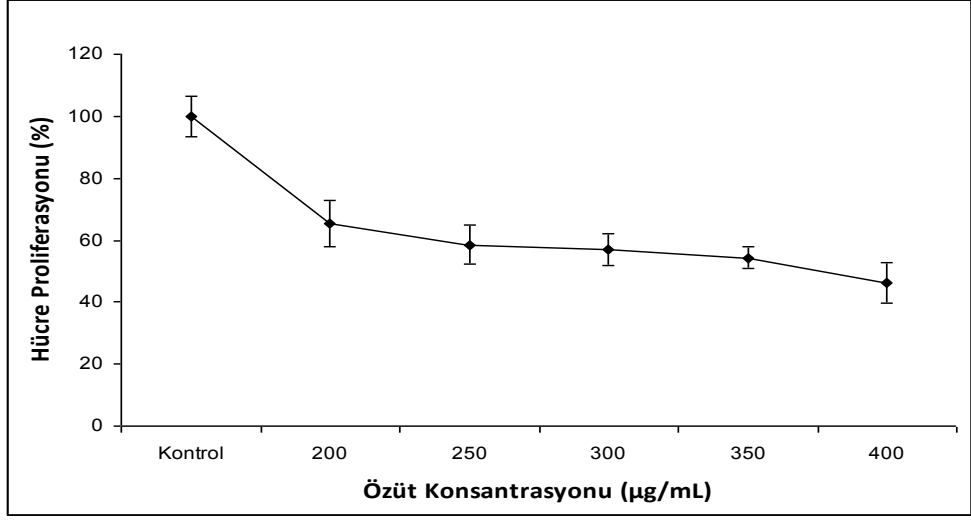
Şekil 4.49. *T. trogii* (A) özütünün BEAS-2B hücrelerine etkisi (72. Saat)

T. trogii (A) özütünün K562 hücreleri üzerine sitotoksik etkisinin daha düşük konsantrasyonlarda olduğu ve bu etkiyi daha kısa sürede (24 saat) gösterdiği Şekil 4.50'de görülmektedir.

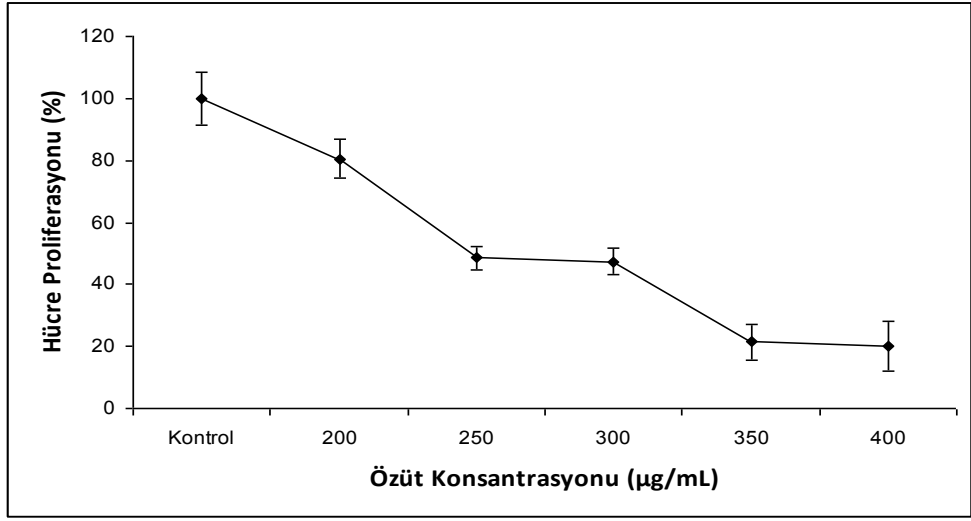


Şekil 4.50. *T. trogii* (A) özütünün K562 hücrelerine etkisi

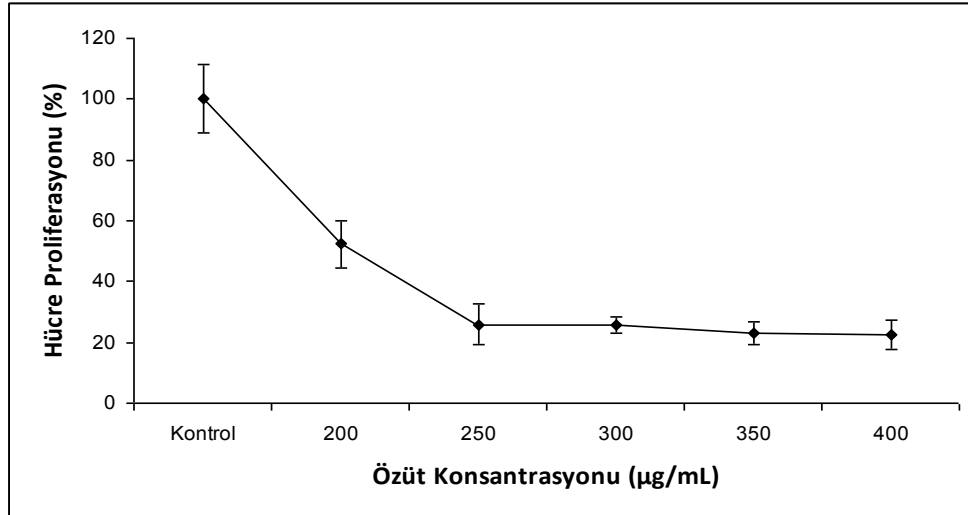
T. trogii (A) özütünün K562 hücreleri üzerine IC₅₀ değerleri 24. saatte 376,73 µg/mL (Şekil 4.51), 48. saatte 247,62 µg/mL (Şekil 4.52) ve 72. saatte 204,49 µg/mL (Şekil 4.53) olarak hesaplandı. Özütün, sitotoksik etkisinin zamana bağlı olarak arttığı tespit edildi.



Şekil 4.51. *T. trogii* (A) özütünün K562 hücrelerine etkisi (24. Saat)



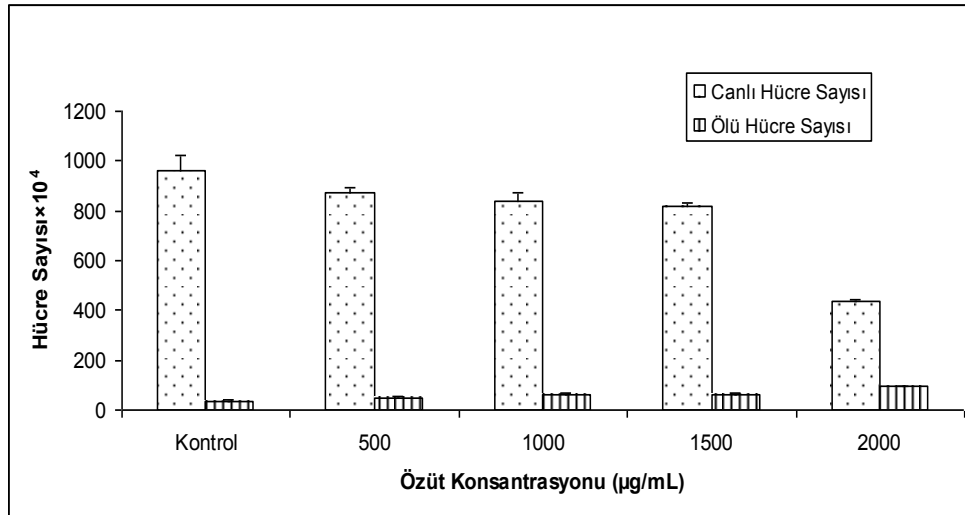
Şekil 4.52. *T. trogii* (A) özütünün K562 hücrelerine etkisi (48. Saat)



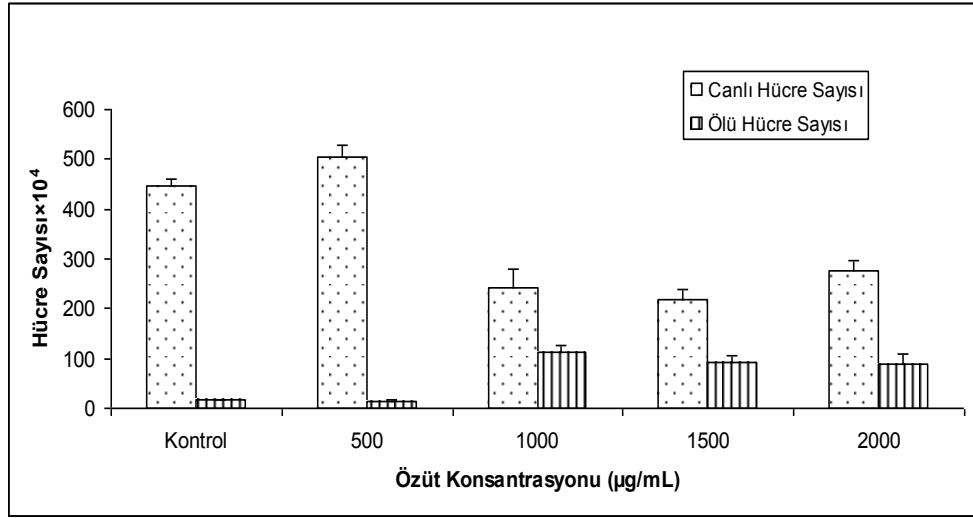
Şekil 4.53. *T. troglodytes* (A) özütünün K562 hücrelerine etkisi (72. Saat)

Çalışmada ayrıca materyal ve yöntemde belirtildiği gibi katı faz fermentasyonu sürecinden 2. bir yöntemle elde edilen özütün A549 ve BEAS-2B hücreleri üzerine sitotoksik ve proliferasyonu baskılayıcı etkisi de araştırıldı.

T. versicolor ATCC 200801 özütünün A549 ve BEAS-2B hücreleri üzerine sitotoksik ve proliferasyonu baskılayıcı etkisinin araştırıldığı çalışmada, uygulanan özüt konsantrasyonu arttıkça proliferasyon baskılanmasının ve sitotoksitenin arttığı gözlenmiştir. Özütün sitotoksik etkisinin A549 hücrelerine göre BEAS-2B hücreleri üzerine daha yüksek olduğu saptandı (Şekil 4.54 ve 4.55).

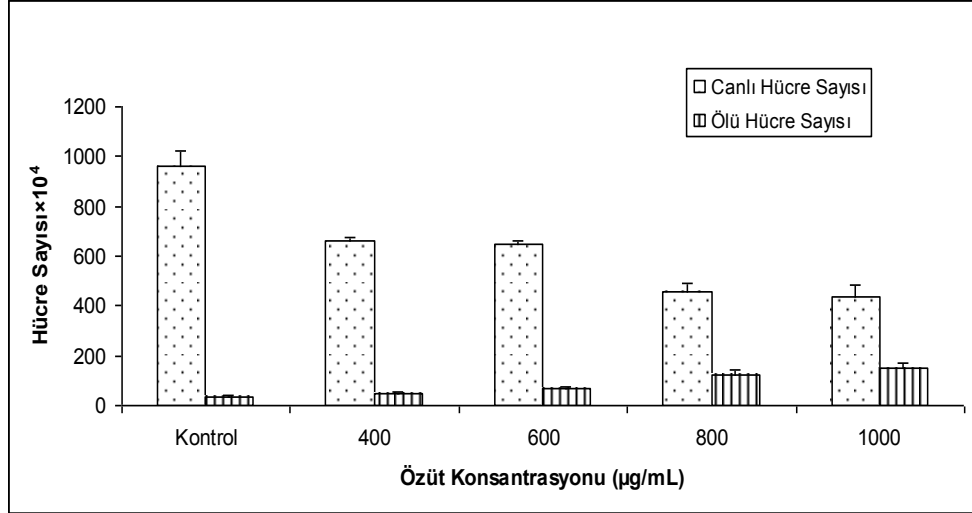


Şekil 4.54. *T. versicolor* ATCC 200801 özütünün A549 hücrelerine etkisi (48. Saat)

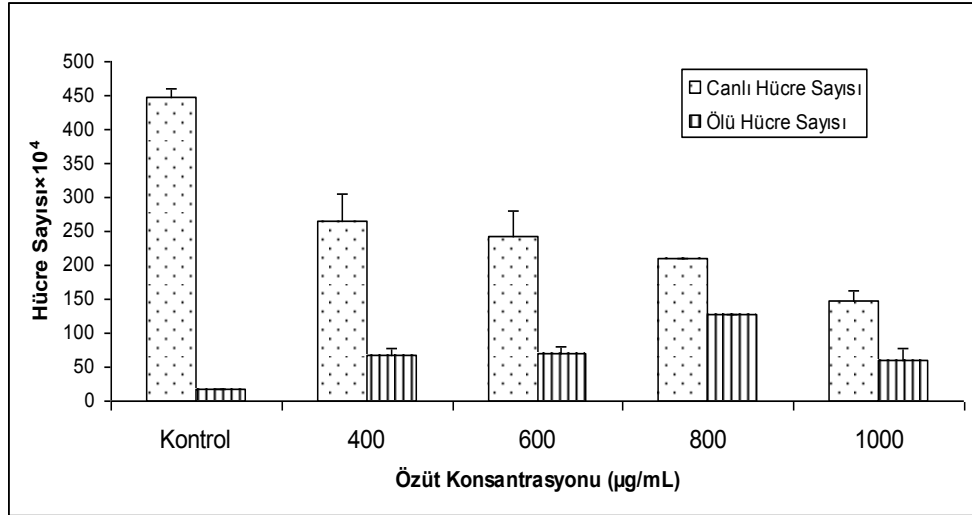


Şekil 4.55. *T. versicolor* ATCC 200801 özütünün BEAS-2B hücrelerine etkisi (48. Saat)

T. versicolor (H) özütünün A549 ve BEAS-2B hücreleri üzerine proliferasyonu baskılayıcı ve sitotoksik etkisine bakıldığında, BEAS-2B hücreleri üzerine etkin konsantrasyonların A549 hücrelerinden daha düşük olduğu saptanmıştır (Şekil 4.56 ve 4.57).

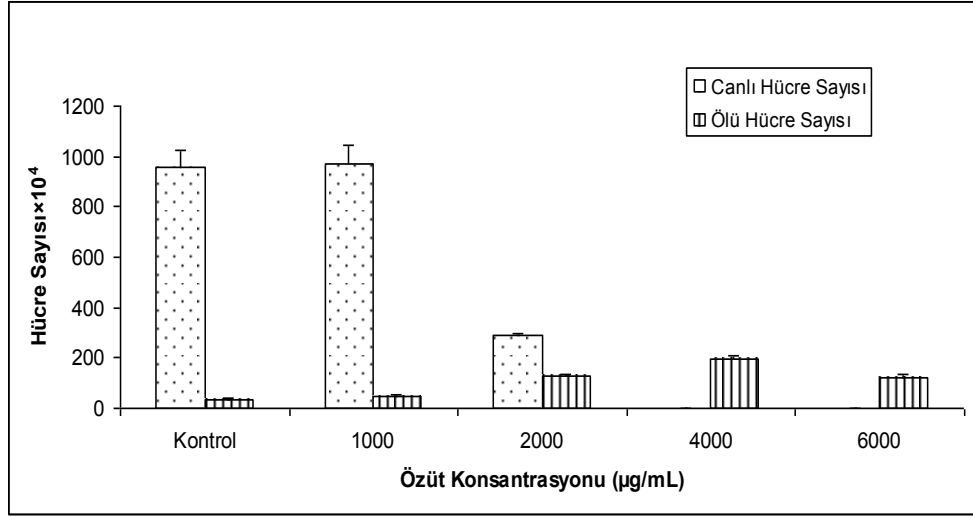


Şekil 4.56. *T. versicolor* (H) özütünün A549 hücrelerine etkisi (48. Saat)

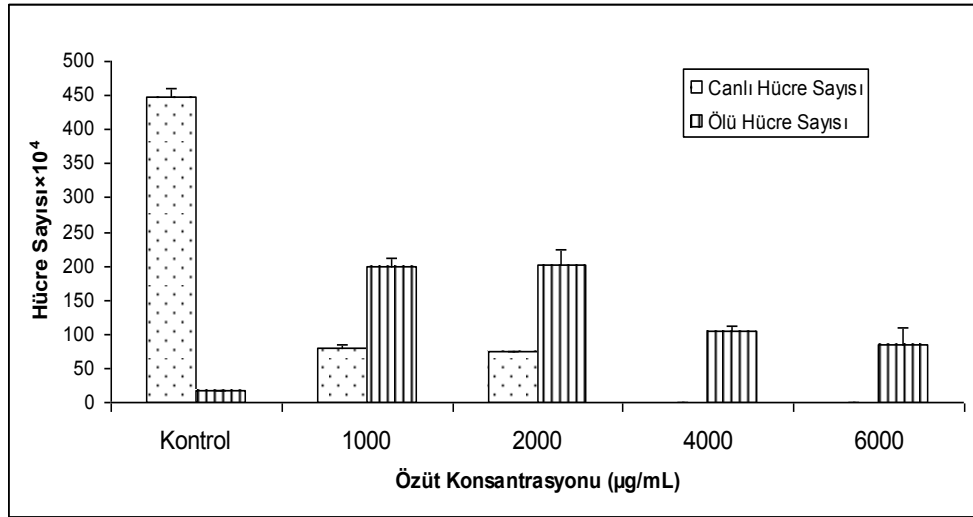


Şekil 4.57. *T. versicolor* (H) özütünün BEAS-2B hücrelerine etkisi (48. Saat)

T. trogii (İ) özütünün 2000 µg/mL konsantrasyonda A549 hücreleri üzerinde %50'den fazla proliferasyonu baskıladığı ve yine %50'den fazla sitotoksik etkisinin olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.58). Aynı konsantrasyonlar BEAS-2B hücrelerine uygulandığında proliferasyon inhibisyonunun ve sitotoksitenin daha yüksek olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.59).

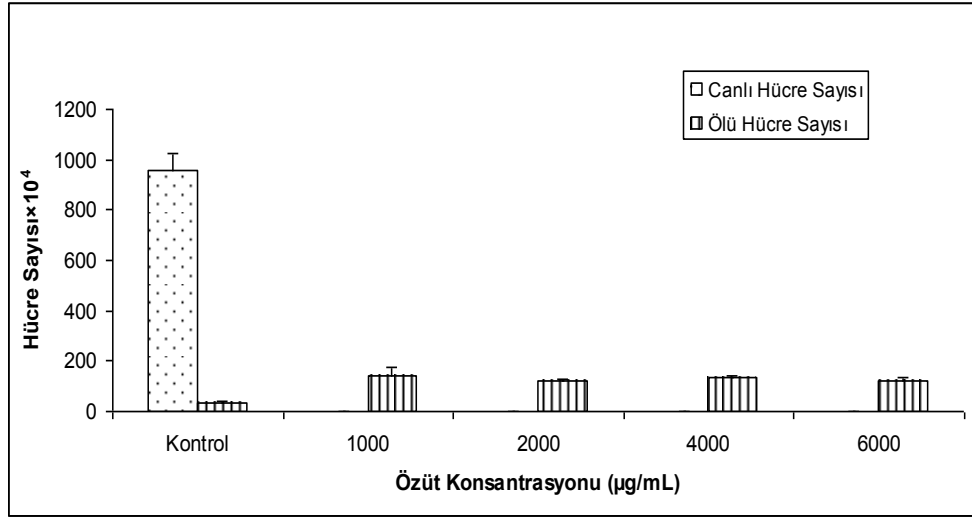


Şekil 4.58. *T. trogii* (İ) özütünün A549 hücrelerine etkisi (48. Saat)

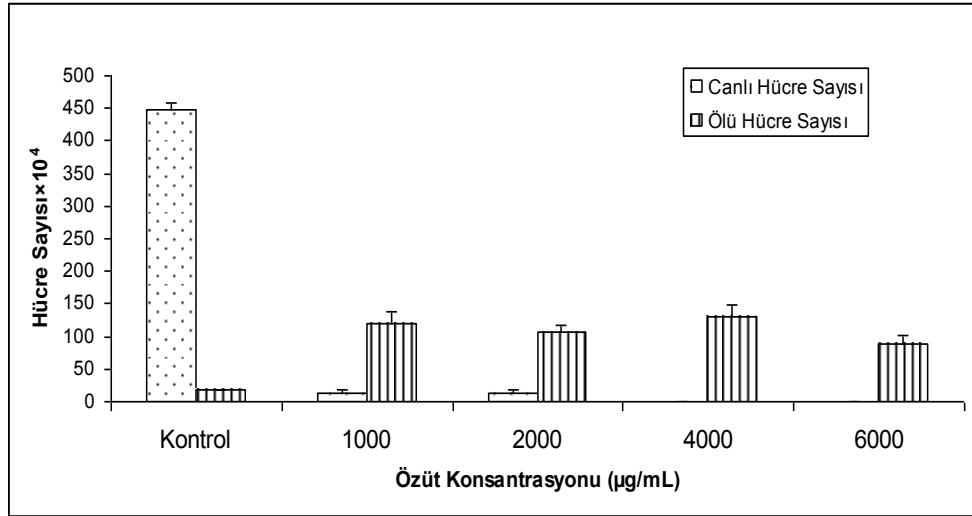


Şekil 4.59. *T. trogii* (İ) özütünün BEAS-2B hücrelerine etkisi (48. Saat)

T. trogii (A) özütünün A549 ve BEAS-2B hücreleri üzerine sitotoksik etkisinin çok yüksek olduğu saptanmıştır (Şekil 4.60-61).



Şekil 4.60. *T. trogii* (A) özütünün A549 hücrelerine etkisi (48. Saat)

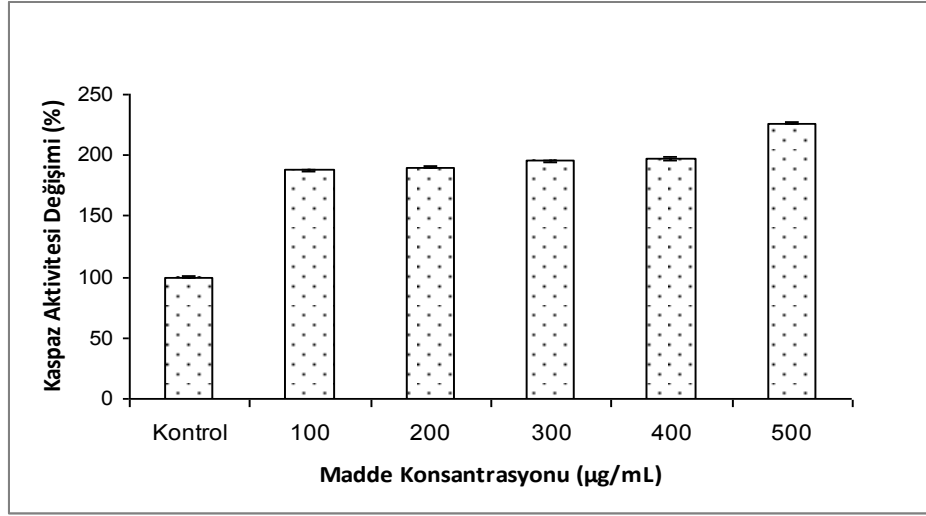


Şekil 4.61. *T. trogii* (A) özütünün BEAS-2B hücrelerine etkisi (48. Saat)

4.6. Fungus Özütlerinin Kaspaz-3 Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi

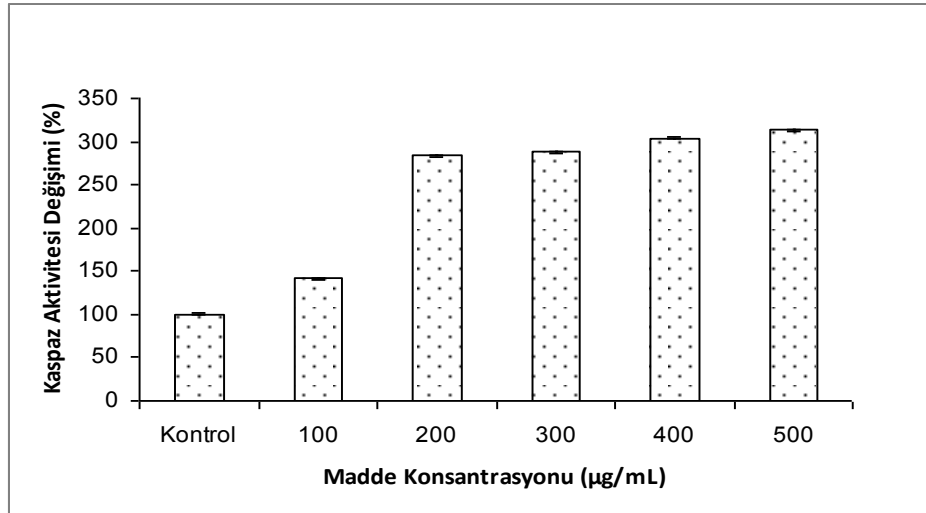
Fungus özütlerinin sitotoksik aktivitesinin apoptotik yolla olup olmadığını tespit etmek için kaspaz-3 enzim aktivitesindeki değişiklikler izlendi. Bu amaçla, fungus özütlerinin etkin konsantrasyonlarında araştırma yapıldı. A549 ve BEAS-2B

hücrelerinde, konsantrasyonlar ile doğru orantılı bir şekilde kaspaz aktivitesinde artış gözlemlendi (Şekil 4.62-73).



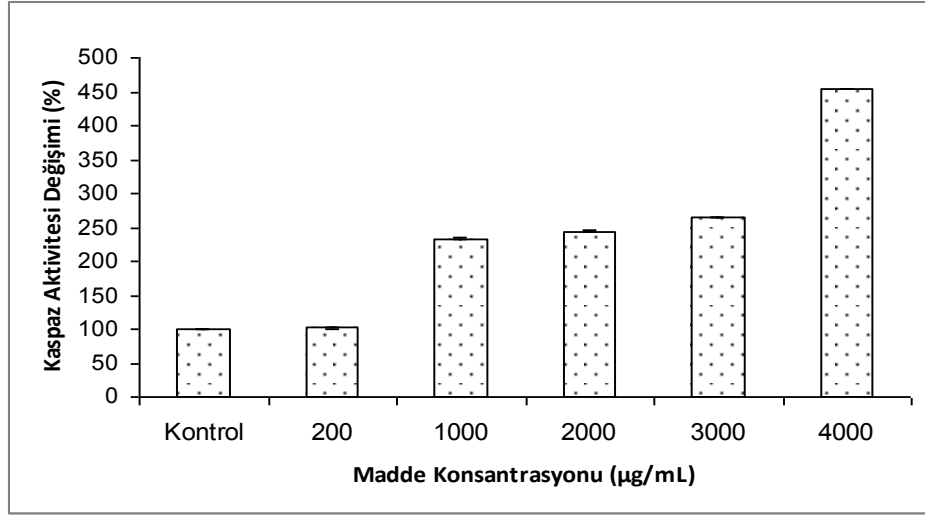
Şekil 4.62. *T. versicolor* ATCC 200801'in A549 hücrelerindeki Kaspaz-3 aktivitesi

T. versicolor ATCC 200801'in A549 hücreleri üzerine kaspaz aktivitesinin konsantrasyona bağlı olarak arttığı belirlendi.



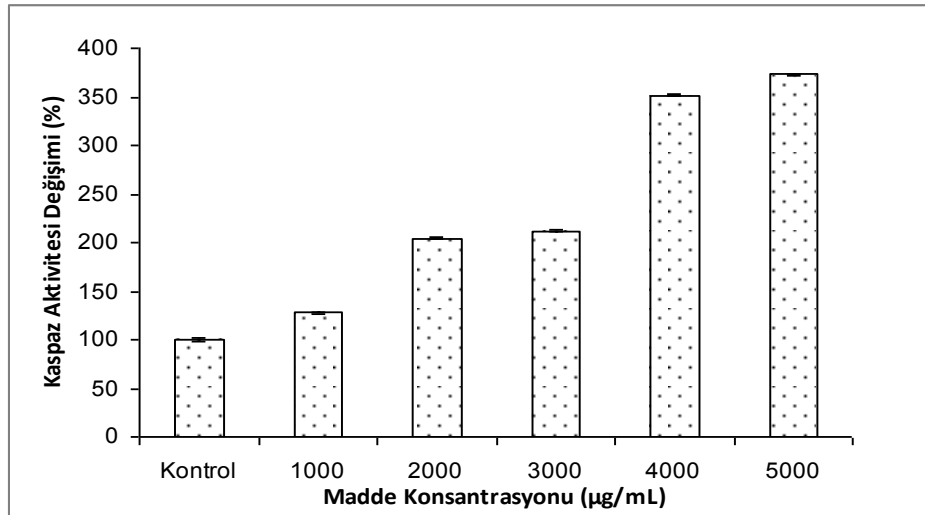
Şekil 4.63. *T. versicolor* (H)'nin A549 hücrelerindeki Kaspaz-3 aktivitesi

T. trogii (A)'nin A549 hücrelerindeki kaspaz-3 aktivitesinin 1000 µg/mL konsantrasyonda kontrole göre iki kat olduğu ve konsantrasyon arttıkça aktivitenin yükseldiği tespit edildi (Şekil 4.64).



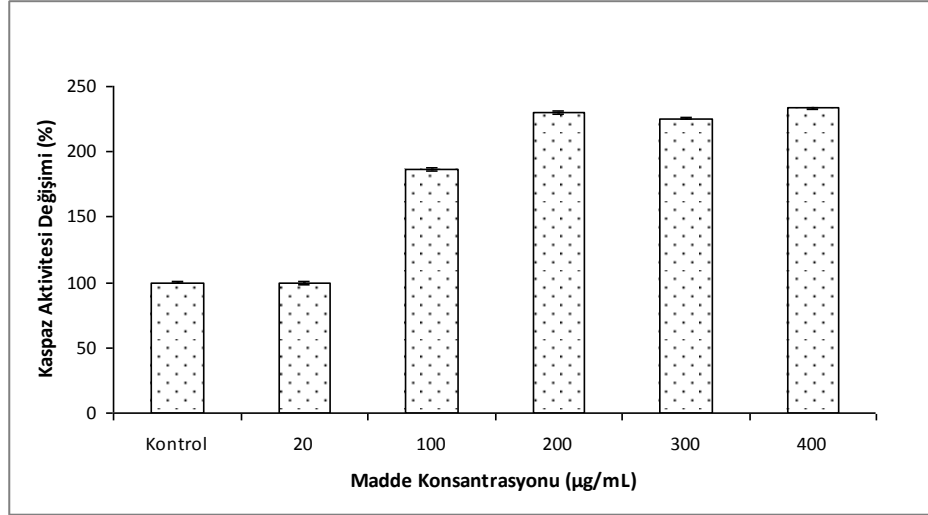
Şekil 4.64. *T. trogii* (A)'nin A549 hücrelerindeki Kaspaz-3 aktivitesi

T. trogii (İ)'nin A549 hücrelerinde kaspaz-3 aktivitesinin konsantrasyon artışına bağlı olarak arttığı tespit edildi. Uygulanan en yüksek konsantrasyondaki kaspaz aktivitesinin kontrole göre 4-5 kat arttığı Şekil 4.65'te görülmektedir.



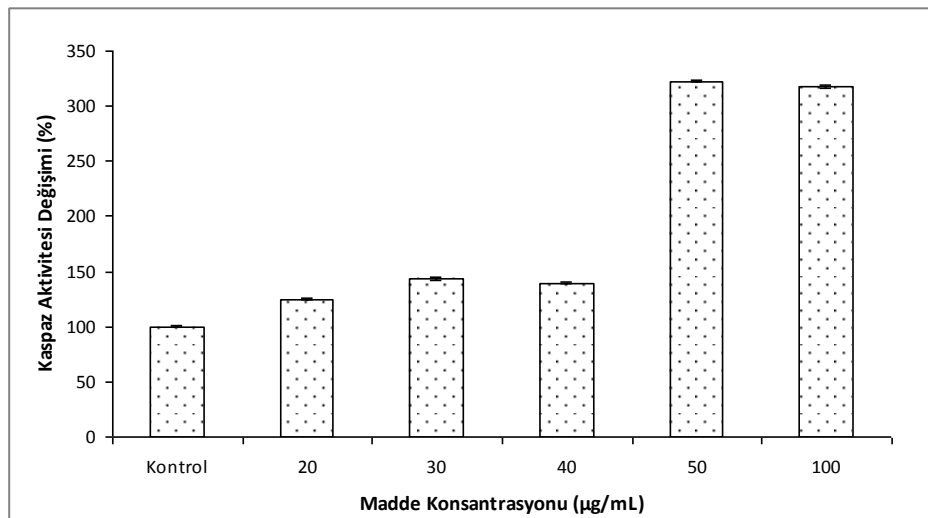
Şekil 4.65. *T. trogii* (İ)'nin A549 hücrelerindeki Kaspaz-3 aktivitesi

T. versicolor ATCC 200801'in BEAS-2B hücrelerinde kaspaz-3 aktivitesinin belirli bir konsantrasyona (200 µg/mL) kadar yükseldiği, daha yüksek konsantrasyonlarda (300-400 µg/mL) benzer seviyelerde kaldığı Şekil 4.66'da görülmektedir.



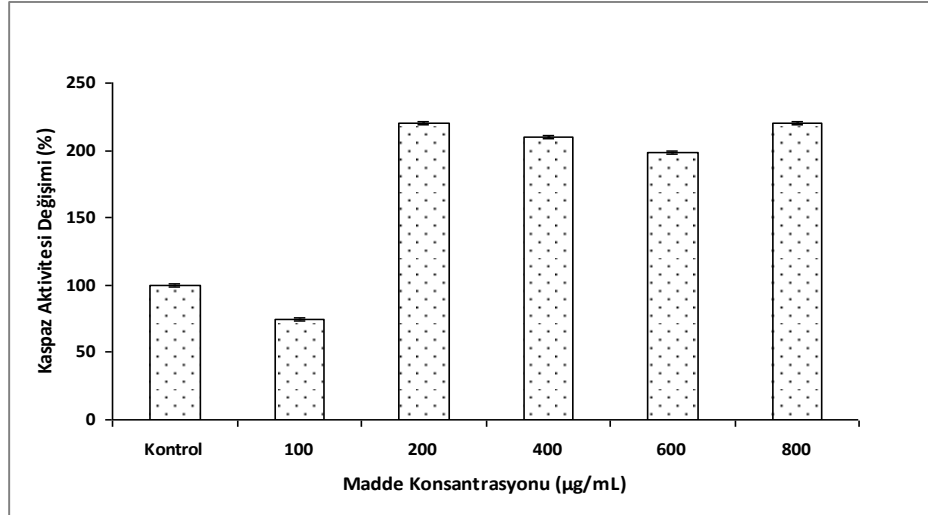
Şekil 4.66. *T. versicolor* ATCC 200801'in BEAS-2B hücrelerindeki Kaspaz-3 aktivitesi

Çalışmadaki diğer funguslara göre daha düşük konsantrasyonlarda sitotoksik etki gösteren *T. versicolor* (H)'nin BEAS-2B hücrelerinde kaspaz-3 aktivitesinin belirli bir konsantrasyona (50 µg/mL) kadar yükseldiği daha sonra benzer seviyelerde kaldığı saptandı (Şekil 4.67).



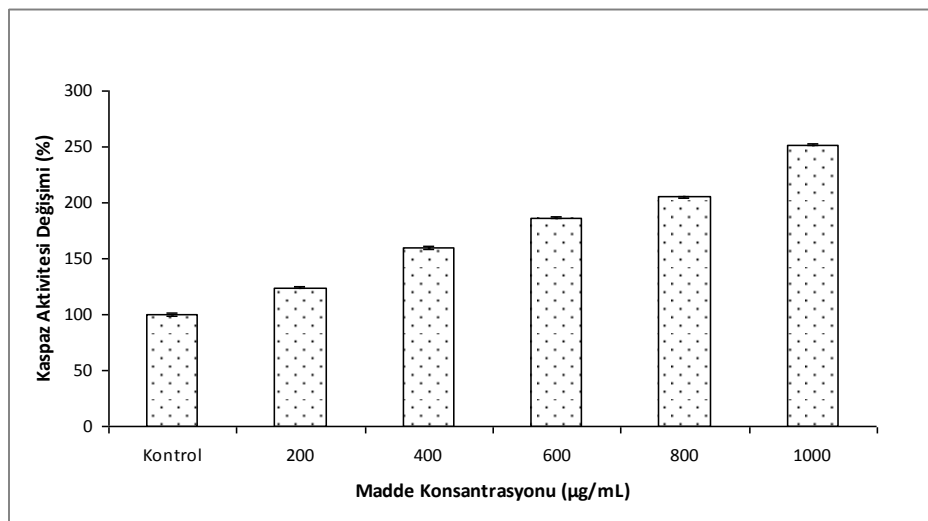
Şekil 4.67. *T. versicolor* (H)'nin BEAS-2B hücrelerindeki Kaspaz-3 aktivitesi

T. trogii (A)'nın BEAS-2B hücrelerinde kaspaz-3 aktivitesinin 200 µg/mL konsantrasyonda yükseldiği, sonraki konsantrasyonlarda ise benzer seviyelerde devam ettiği gözlemlendi (Şekil 4.68).



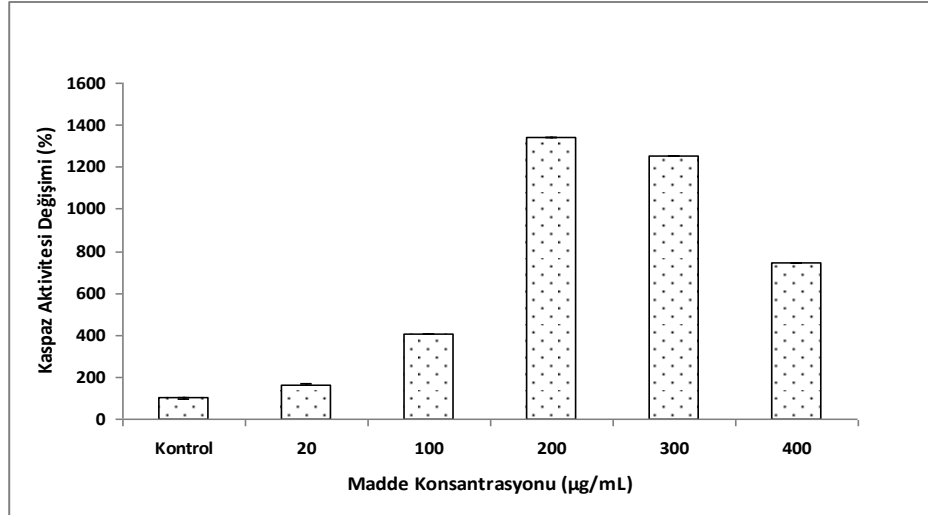
Şekil 4.68. *T. trogii* (A)'nın BEAS-2B hücrelerindeki Kaspaz-3 aktivitesi

T. trogii (İ) özütünün konsantrasyonu arttıkça BEAS-2B hücrelerinde kaspaz-3 aktivitesinin yükseldiği gözlemlendi (Şekil 4.69).



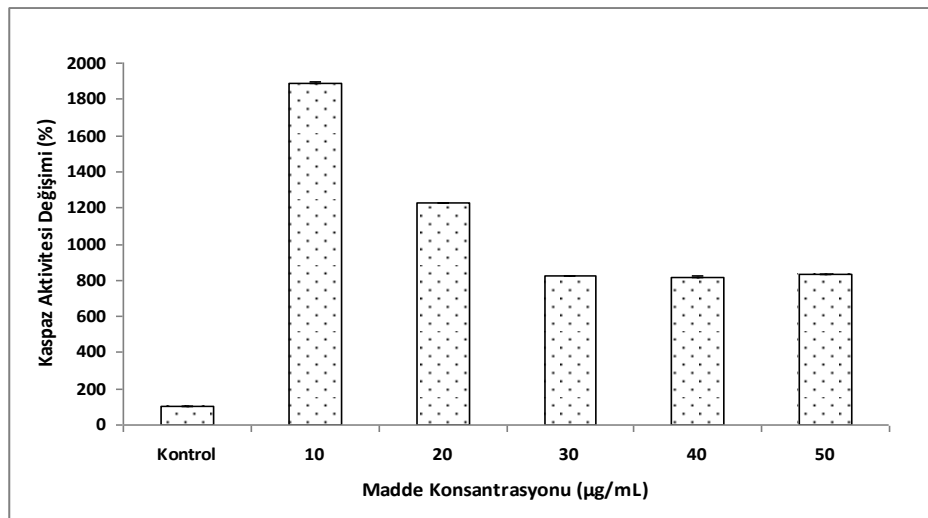
Şekil 4.69. *T. trogii* (İ)'nin BEAS-2B hücrelerindeki Kaspaz-3 aktivitesi

T. versicolor ATCC 200801'in K562 hücrelerindeki kaspaz-3 aktivitesinin 200 µg/mL'ye kadar arttığı, daha yüksek konsantrasyonlarda ise azaldığı saptandı (Şekil 4.70).



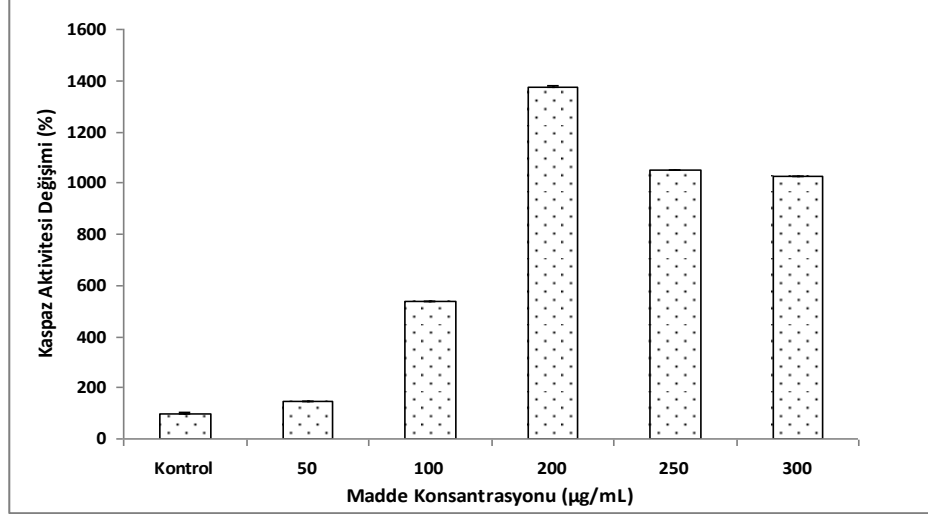
Şekil 4.70. *T. versicolor* ATCC 200801'in K562 hücrelerindeki Kaspaz-3 aktivitesi

T. versicolor (H) özütü K562 hücrelerine uygulandı. Uygulanan en düşük konsantrasyonda (10 µg/mL) kaspaz-3 aktivitesinin en yüksek olduğu, konsantrasyon artışına bağlı olarak kaspaz-3 aktivitesinin azaldığı tespit edildi (Şekil 4.71).



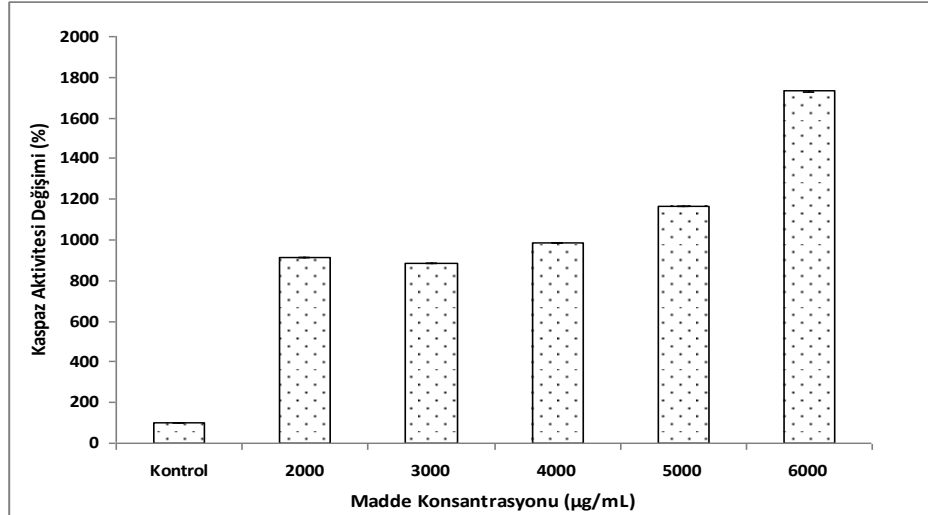
Şekil 4.71. *T. versicolor* (H)'nin K562 hücrelerindeki Kaspaz-3 aktivitesi

T. trogii (A)'nın K562 hücrelerindeki kaspaz-3 aktivitesinin başta konsantrasyonla birlikte arttığı, ancak yüksek konsantrasyonlarda azaldığı gözlemlendi. Kaspaz-3 aktivitesinin en yüksek olduğu konsantrasyon 200 µg/mL olarak tespit edildi (Şekil 4.72).



Şekil 4.72. *T. trogii* (A)'nın K562 hücrelerindeki Kaspaz-3 aktivitesi

T. trogii (İ)'nin K562 hücrelerindeki kaspaz-3 aktivitesinin konsantrasyon ile doğru orantılı arttığı saptandı (Şekil 4.73).



Şekil 4.73. *T. trogii* (İ)'nin K562 hücrelerindeki Kaspaz-3 aktivitesi

4.7. Fungusların Antimikrobiyal Etkileri

Çalışmanın bu kısmında, fungal özütlerin bakteri ve mayalar üzerine antimikrobiyal etkisinin olup olmadığı araştırıldı. Antimikrobiyal etkinliğin tespiti için 2 farklı test yöntemi (disk difüzyon ve minimum inhibe edici konsantrasyon (MİK)) kullanıldı. Test mikroorganizmaları olarak *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. pyogenes*, *E. faecium*, *E. gallinarum*, *B. cereus*, *B. subtilis*, *H. influenzae*, *L. monocytogenes*, *C. albicans*, *C. tropicalis* kullanıldı.

Katı faz özütleri (50 mg/mL) uygulanmış disklerle yapılan çalışmaların sonuçları özütlerin bakteriler üzerine *H.influenzae* dışında herhangi bir antimikrobiyal etkisinin olmadığını göstermiştir (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. Katı faz özütlerinin disk difüzyon sonuçları

Organizma	<i>T. versicolor</i> ATCC 200801	<i>T. versicolor</i> (H)	<i>T. trogii</i> (A)	<i>T. trogii</i> (İ)	Ciprofloksasin	Gentamisin	Ampisilin	Penisilin
<i>E. coli</i> ATCC 25922	-	-	-	-	28 mm	25 mm		
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	-	-	-	-	25 mm	23 mm		
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	-	-	-	-	28 mm	25 mm		
<i>S. typhi</i> NCTC 8394	-	-	-	-	26 mm	-		
<i>S. typhi</i> ATCC 14028	-	-	-	-	26 mm	-		
<i>S. pyogenes</i>	-	-	-	-		-		23 mm
<i>B. cereus</i>	-	-	-	-	-	-		
<i>B. subtilis</i>	-	-	-	-	-	-		
<i>E. gallinorum</i>	-	-	-	-	-	-		
<i>E. faecium</i>	-	-	-	-	25 mm	22 mm		
<i>H. influenzae</i>	-	-	9 mm	9 mm	-	-	20 mm	
<i>L. monocytogenes</i>	-	-	-	-	-	-	19 mm	

Disk difüzyon yönteminde etkinlik izlenemediğinden antimikrobiyal aktivitenin saptanması için MİK yöntemi uygulandı. Sonuçları Tablo 4.2’de verilmiştir.

Tablo 4.2. Katı faz özütlerinin MİK değerleri (mg/mL)

Organizma	<i>T. versicolor</i> ATCC 200801	<i>T. versicolor</i> (H)	<i>T. trogii</i> (A)	<i>T. trogii</i> (İ)	Ciprofloksasin	Gentamisin	Ampisilin	Penisilin	Flukonazol
<i>E. coli</i> ATCC 25922	-	-	-	-	<0,039	<0,024			
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	-	-	-	-	<0,039	<0,024			
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	-	-	-	-	<0,039	<0,024			
<i>S. typhi</i> NCTC 8394	-	12,5	12,5	12,5	<0,03	-			
<i>S. typhi</i> ATCC 14028	-	-	-	-	<0,03	-			
<i>S. pyogenes</i>	-	-	-	-		-		<0,06	
<i>B. cereus</i>	6,25	12,5	-	-	-	-			
<i>B. subtilis</i>	6,25	12,5	-	-	-	-			
<i>E. gallinarum</i>	-	-	-	-	-	-			
<i>E. faecium</i>	-	-	-	-	<0,039	<0,024			
<i>H.influenzae</i>	-	-	-	-		-	<0,125		
<i>L. monocytogenes</i>	-	-	-	-	-	-			
<i>C. albicans</i>	12,5	6,25	-	-					<0,024
<i>C. tropicalis</i>	12,5	6,25	-	-					<0,024

T. versicolor ATCC 200801 özütünün MİK değerleri Gram (+) bakterilerden *B. cereus* ve *B. subtilis*’e 6.25 mg/mL iken *C. albicans* ve *C. tropicalis* mayalarında 12,5 mg/mL’dir. Diğer bakteriler üzerine antibakteriyel etki gözlenmedi. *T. versicolor* (H) özütünün MİK değerleri *S. typhi* NCTC 8394, *B. cereus* ve *B.*

subtilis'te 12,5 mg/mL; *C. albicans* ve *C. tropicalis* için 6.25 mg/mL olarak saptandı. *T. trogii* (A) ve *T. trogii* (İ)'nin ise sadece *S. typhi* NCTC 8394'e karşı antimikrobiyal etki gösterdiği (MİK değeri 12,5 mg/mL) gözlemlendi.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Dünya Sağlık Örgütünün (WHO) verilerine göre; tüm dünyada insan ölümlerin en sık nedenleri arasında kanser, koroner arter hastalıklarından sonra ikinci sırada yer almaktadır. Akciğer kanseri, kanserle ilişkili ölümlerden biridir. Tüm kanser ölümlerinin yaklaşık üçte birini oluşturur. Tüm akciğer kanseri hastalarının sadece %15'i tanı aldıktan sonra 5 yıl veya daha fazla yaşamaktadır. Akciğer kanseri hem iyileştirilmesi zor hem de nüksetme oranı oldukça yüksek olan bir kanser türüdür. Hücreler uygulanan kemoterapiye direnç geliştirdiği için ölüme neden olur. Günümüzde uygulanan terapötik müdahaleler bu hastalığın epidemik oranı üzerinde az etkiye sahiptir ve ölüm oranı %85-90 arasındadır. Ayrıca tedavide kullanılan kemoterapötik ilaçlar çok fazla yan etkiye neden olmaktadır. Dolayısı ile tedavi için, daha az toksik olması nedeniyle doğal ürünlerin ve doğal yeni moleküllerin keşfi önemlidir (Wang vd, 2012).

Funguslar doğada yaygın olarak bulunur, çok çeşitli ve güçlü farmasötik ürünler içermektedir. *Basidiomycetes* sınıfına ait, antitümör etkisi olan yaklaşık 651 tür olduğu bilinmektedir (Fan vd, 2006). Funguslar ile ilgili literatüre bakıldığında, immün sistem hücrelerinin yanıtını uyaran fungus bileşiklerinin ve özütlerinin önemli ölçüde çalışıldığı görülmektedir. Bunların; kanser tedavisinde, immün yetmezliğe bağlı hastalıklarda, adjuvan olarak aşılarında, immün sistemi baskılayan ilaç kullanımı sonrasında ya da antibiyotik tedavisine ek olarak kullanılabilceği belirtilmektedir (Jong ve Birmingham, 1992). Antikanserojen, antioksidan ve antimikrobiyal özelliklerinden dolayı, funguslar Asya ülkelerinde çok uzun yıllardır geleneksel tıp alanında kullanılmaktadır (Liu vd, 2010; Zaidman vd, 2005).

Funguslar, biyolojik olarak aktif, çeşitli sekonder metabolitlere sahiptirler (Hussain vd, 2011). Lektinler, polisakkaritler, polisakkarit-peptitler, polisakkarit-protein gibi izole edilen sekonder metabolitlerin büyük kısmı immünmodülatör, antikanserojen ve antioksidan etkiye sahip olduğu, çeşitli yayınlarda bildirilmektedir. (Moradali vd, 2007; Huang vd, 2007; Rout ve Banerjee, 2007). Polisakkarit ve polisakkarit-peptit bileşiklerinin, direkt bir sitosidal etkisinden ziyade, sitokinler aracılığıyla makrofaj ve T-lenfositlerini aktive ederek antitümör etki gösterdiği düşünülmektedir (Wang vd, 1995; Kim, Kim vd, 1997; Wang vd, 1997; Sakagami vd, 1991). Örneğin *Pleurotus ostreatus*'tan elde edilen polisakkaritin lenfosit proliferasyonunu indüklediği tespit edilmiştir. Bu polisakkaritlerin, patojen

mikroorganizmalara ya da kansere karşı tedavi edici ajan veya besin olarak kullanımı önerilmektedir (Sun ve Liu, 2009).

β -glukanlar; fungusların, mayaların, bazı bakteri ve bitkilerin hücre duvarında bulunan uzun zincirli polisakkaritlerdir. Hayvanlarda ise bulunmazlar. Bu nedenle omurgalılarda doğal immün yanıt oluşmasına sebep olurlar (Brown ve Gordon, 2003). β -glukanlar direkt olarak lenfosit ve makrofajları aktive ederek sitokin ve kemokin gibi proinflamatuvar araçların salınımını stimüle ederler (Scheperkin ve Quinn, 2006; Smiderle vd, 2008). Bu bağlamda antitümör, antioksidatif, antiinflamatuvar ve immünmodülatör etkileri görülmektedir (Mizuno vd, 1990; Toklu vd, 2006; Dore vd, 2007; Zhang vd, 2007). Polisakkaritlerin aktivitesi; konformasyonu, kompozisyonu ve boyutu ile değişkenlik göstermektedir (Bohn ve Be Miller, 1995). Çeşitli funguslardan elde edilen özütler ve polimerlerin antiproliferatif ve antikanserojen etkilerinin olması, fungus polisakkaritlerinin ve özütlerinin, onkogenезin önlenmesinde, immün yanıtın güçlenmesinde, tümör hücrelerinin apoptozunun indüksiyonunda kullanılmasını mümkün kıldığı bildirilmektedir (Wasser, 2002). Fungal özütlerin sitotoksik etkisini gösteren çalışmalar mevcuttur.

Çalışmamızda *Trametes versicolor* ATCC 200801, *Trametes versicolor* (H), *Trametes trogii* (A) ve *Trametes trogii* (İ)'nin akciğer kanseri ve KML'ye karşı sitotoksik etkisi *in vitro* olarak tespit edilmiştir. Dört farklı *Trametes* suş özütünün, KML hücreleri üzerine sitotoksik etkisi araştırılmış ve *T. versicolor* ATCC 200801'in, KML hücrelerine doza bağımlı olarak proliferasyonu yaklaşık %50 oranında baskıladığı tespit edilmiştir. Belirli konsantrasyonlarda sitotoksik etkisinden çok, proliferasyonu baskılayarak sitotoksik aktivite gösterdiği saptanmıştır. Ancak daha yüksek konsantrasyonlarda sitotoksik etkisiyle, proliferasyonu baskılayan etkisinin hemen hemen aynı oranda olduğu görülmüştür (Şekil 4.14). *T. versicolor* (H)'nin KML hücrelerinde düşük konsantrasyonda antiproliferatif ve sitotoksik etkisinin %50'den daha fazla olduğu, daha yüksek konsantrasyonlarda antiproliferatif etkinliğinin arttığı belirlenmiştir (Şekil 4.26). Lau ve arkadaşları; *T. versicolor* özütünün, B hücreli lenfoma (Raji) ve iki tip promyelositik lösemi (HL-60, NB-4) hücrelerinin proliferasyonlarını, doza bağımlı olarak, %90 oranında inhibe ettiğini tespit etmişlerdir. Özütün normal karaciğer hücrelerine (WRL) ise herhangi önemli bir sitotoksik etkisinin olmadığını belirtmişlerdir (Lau vd, 2004). Hsieh ve arkadaşları *T. versicolor*'un Cov-1 özütünün (I'm-Yunity™), iki tip insan lösemi

hücresinde (HL-60 ve U-937); hücre siklusunun G1/S ve G2/M fazında tutulmasına sebep olduğunu, apoptozu indüklediğini, hücre proliferasyonunu inhibe ettiğini belirlemişlerdir. HL-60 hücrelerinin çoğalmasında, zaman ve doza bağlı olarak giderek artan, belirgin bir düşüş olduğu yine bu çalışmada gösterilmiştir (Hsieh vd, 2006). Lee ve arkadaşları (2006) *T. versicolor* kültüründen, farklı günlerde elde ettikleri PSP özütlerinin, insan normal periferal kan mononükleer hücrelerinde (PBMC) ve insan lösemi Molt-4 hücreleri üzerine etkisini çalışmışlardır. Molt-4 hücrelerinin çoğalmasındaki inhibisyonun, PSP'nin zamana bağlı olarak uğradığı değişim nedeniyle olabileceğini ifade etmişlerdir. PSP'nin, hücre döngüsünü S fazında durdurarak apoptozu indüklediğini göstermişlerdir. Kültür süresi uzadıkça PSP'nin biyolojik aktivitesinin arttığını, PBMC'lerin proliferasyonunda artış ile birlikte Molt-4 lösemi hücrelerinin proliferasyonunda ise azalma olduğunu tespit etmişlerdir (Lee vd, 2006).

Bu çalışmada kullanılan fungus özütlerinin akciğer kanser hücrelerine (A549) ve akciğer sağlıklı epitelyum hücrelerine sitotoksik etkisi; tripan mavisi ve MTT yöntemiyle araştırılmıştır. *T. versicolor* ATCC 200801 özütünün, tripan mavisi yöntemiyle, A549 hücrelerinde 48 saatte konsantrasyona bağlı olarak proliferasyonu %100'e kadar baskıladığı tespit edilmiştir (Şekil 4.6). MTT deneyinde ise, bu suşun A549 hücrelerinde 24. 48. ve 72. saatlerde IC₅₀ değerleri saptandı (Şekil 4.7-9). *T. versicolor* (H) suşunun, tripan mavisi yöntemiyle, akciğer kanser hücrelerinde 48. saatte belli konsantrasyonda proliferasyonu yaklaşık %90 oranında baskıladığı belirlenmiştir. Çalışılan yüksek konsantrasyonlarda (160, 200 µg/mL) ise proliferasyonu %100 baskıladığı görülmüştür (Şekil 4.18). Aynı fungus özütünün MTT yönteminde 24. 48. ve 72. saatlerdeki IC₅₀ değerleri saptanmıştır (Şekil 4.19-21). *T. versicolor* ATCC 200801 özütünün sağlıklı epitel hücrelerinde 48. saatte düşük konsantrasyonlarda antiproliferatif etkisinin yüksek olduğu saptanmıştır. Ancak yüksek konsantrasyonlarda antiproliferatif etkinin baskılandığı gözlemlenmiştir (Şekil 4.10). Özütün sağlıklı hücrelere karşı 24. 48. ve 72. saatlerdeki IC₅₀ değerleri hesaplanmıştır (Şekil 4.11-13). *T. versicolor* (H) suşunun sağlıklı hücrelerde, düşük konsantrasyonlarda antiproliferatif ve sitotoksik etkisi ile 24. 48. ve 72. saatlerdeki IC₅₀ değerleri tespit edilmiştir (Şekil 4. 22-25). *T. versicolor* (H) özütünün sağlıklı epitel hücrelerine, kanser hücrelerine göre daha düşük konsantrasyonlarda etki ettiği saptanmıştır. Jiménez-Medina ve arkadaşları; *T. versicolor*'un CM-101 suşundan elde edilen protein bağlı polisakkaritin; lösemi,

melanom, fibrosarkom, serviks, akciğer, pankreas ve gastrik kanserlerde tümör hücre proliferasyonuna etkisini araştırdıkları bir çalışmada; polisakkaritin, tümör hücreleri üzerine antiproliferatif etkisinin olduğu, ancak periferik kan hücrelerinin proliferasyonunu artıran IL-2 ile sinerjistik etki yaptığını tespit etmişlerdir (Jiménez-Medina vd, 2008).

Trametes genusundaki dört farklı suşun, KML hücrelerine antiproliferatif ve sitotoksik etkisine baktığımızda özütlerin farklı konsantrasyonlarının hücreleri farklı şekilde etkilediği gözlemlenmiştir. Konsantrasyonun artmasıyla antiproliferatif etkinin de arttığı belirlenmiştir. Harhaji ve arkadaşları, *T. versicolor*'un, terpenoid ve polifenol içeren metanol özütlerinin, B16 fare melanom hücrelerinin canlılığında, *in vitro* olarak doza bağlı olarak bir azalma olduğunu belirtmişlerdir. Metanol özütüyle muamele edilen hücrelerin G0/G1 fazında tutuklu kaldığını, apoptozun ve sekonder nekrozun indüklendiğini tespit etmişlerdir. *In vivo* olarak ise metanol özütünün, tümör gelişimini önlediğini bildirmişlerdir. Metanol özütünün uygulandığı grupta tümör kütesinin kontrol grubuna göre oldukça düşük olduğu, otopside ortaya konulmuştur. *T. versicolor*'un metanol özütünün, melanom hücreleri üzerine direkt etkisini antiproliferatif ve sitotoksik olarak; indirekt etkisini makrofajların antitümör aktivitesini artırarak gösterdiklerini belirlemişlerdir (Harhaji vd, 2008).

T. trogii (İ) ve *T. trogii* (A) özütlerinin sitotoksik etkisinin yüksek konsantrasyonlarda olduğu görülmüştür. *T. trogii* (İ) özütünün akciğer kanseri hücreleri üzerine etkilerini incelediğimizde; 48. saatte yüksek konsantrasyonlarda proliferasyonu tamamen baskıladığı görülmektedir (Şekil 4.30). *T. trogii* (İ) özütünün, MTT yöntemiyle akciğer kanserinde 24. saatte hesaplanamazken, 48. ve 72. saatlerdeki değerleri hesaplanmıştır (Şekil 4.31-33). *T. trogii* (A) özütünün A549 hücrelerine, 48. saatte, yüksek konsantrasyonlarda antiproliferatif etkisinin olduğu saptanmıştır (Şekil 4.42). *T. trogii* (A) özütünün A549 hücrelerinde etki ettiği IC₅₀ değerleri MTT yöntemiyle hesaplanmıştır (Şekil 4.43-45). *T. trogii* (İ)'nin KML hücrelerindeki antiproliferatif etkisinin yüksek konsantrasyonlarda olduğu gözlenmiştir. Antiproliferatif etkinin belirli konsantrasyonlarda %50'den daha fazla olduğu saptanmıştır. Bu konsantrasyonda sitotoksik etkinliğin çok olmadığı, ancak konsantrasyon artışına bağlı olarak sitotoksik etkinin arttığı belirlenmiştir (Şekil 4.38). *T. trogii* (A)'nın belli bir konsantrasyonda KML'deki antiproliferatif etkisinin %50 oranında olduğu saptanmıştır. Sitotoksik etkisinin ise konsantrasyon artışına bağlı olarak arttığı gözlenmiştir (Şekil 4.50). İnkübasyon süresinin, fungus

biyokütlesi ve ekzopolisakkarit üretim yeteneğini nasıl etkilediği incelenmiş olup, süre arttıkça, biyokütle ve ekzopolisakkarit üretiminin arttığı saptanmıştır (Şekil 4.1–5). Yapılan bir başka çalışmada *F. trogii*'nin EPS üretimi bakımından optimum kültür şartlarını belirlediği çalışmada; hayvanlarda *F. trogii*'nin besin olarak tüketilmesinin, kanser ve tümör metastazını önleyici etkilerinin olduğunu bildirmişlerdir. *F. trogii*'den elde edilen özütün insan karaciğer kanser hücrelerinde (Hep G2) apoptozu indüklediğini ve özüt konsantrasyonun artışına bağlı olarak arttıkça Hep G2 hücrelerinde canlılığın azaldığını belirlemişlerdir. *F. trogii* özütünün suda çözünürlüğü, dallanma sıklığı ve dallanma şekilleri gibi biyolojik faktörlerinden etkilenmesinden dolayı kanserde tedavi amaçlı kullanımın sınırlı olduğunu belirtmektedirler (He vd, 2012).

Ünyayar ve arkadaşları, *F. trogii* ve *C. versicolor*'un, standardize akuöz biyoaktif özütlerinin, insan serviks adenokarsinom (HeLa) ve fibroblast hücrelerine sitotoksik etkisini MTT yöntemiyle araştırdıkları çalışmada; özütün her iki hücre hattına da sitotoksik etkisinin olduğunu saptamışlardır. *F. trogii*'nin 10 µL konsantrasyonda uygulanmasının HeLa hücrelerinin proliferasyonunu %71.5, fibroblast hücrelerinin proliferasyonunu %51,3 oranında; *T. versicolor*'un 10 µL konsantrasyonda uygulanmasının ise HeLa hücrelerinin proliferasyonunu %45 oranında, fibroblast hücrelerinin de %38.7 oranında baskıladığını tespit etmişlerdir. Her iki özütün konsantrasyonunun artışına bağlı olarak, HeLa kanser ve fibroblast hücreleri üzerine sitotoksitenin arttığını bildirmektedirler. Özütlerin HeLa hücreleri üzerine sitotoksik etkisinin, aynı konsantrasyonda fibroblast hücreleri üzerine olan sitotoksik etkisinden daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir (Ünyayar vd, 2006). Ünyayar ve arkadaşlarının çalışmalarının aksine sunulan tez çalışmasında özütlerin akciğer sağlıklı epitelyum hücrelerine, akciğer kanser hücrelerine etki ettiği dozlardan daha düşük dozlarda etki ettikleri gözlenmiştir. KML hücrelerine etki ettiği konsantrasyonlar ise akciğer kanser ve sağlıklı epitelyum hücrelerine etki ettiği konsantrasyonlardan daha düşük bulunmuştur.

Kaspaz ailesinin doğrudan ya da dolaylı olarak apoptozun biyokimyasal ve morfolojik değişikliklerinden sorumlu olduğu bilinmektedir (Chang ve Yang, 2000). Kaspazlar sistein proteaz ailesinden oluşmaktadırlar (Ye vd, 2005). Başlatıcı kaspazlar olan kaspaz 8 ve kaspaz 9, iki farklı yoldan aktive olur. İlk yol, kaspaz 8 ile hücre ölüm reseptörü aracılı olmaktadır (Ashkenazi ve Dixit, 1998). Hücre ölümü ligandlarına ve reseptörlerine bağlandıktan sonra kaspaz 8, kaspaz-3'ü aktive eder

(Hengartner, 2000, Schempp vd, 2001). İkinci yolda ise kaspaz 9 rol alır ve mitokondri aracılı olmaktadır. Bu yoldaki anahtar molekül sitokrom c'dir ve mitokondriden sitozole atılır. Sitokrom c sitozole atılınca Apaf-1 ile birleşir ve kaspaz 9'u aktive ederek kaspaz-3'ün aktiflenmesi sağlanır (Nijhawan vd, 1997). Her iki yolda da kaspaz-3 aktive olmaktadır (Wang vd, 2003). Kaspaz-3 en etkili kaspazlardan biridir ve apoptozun biyokimyasal ve morfolojik değişimlerinin düzenlenmesinde rol oynar (Zimmermann vd, 2001) ve bu kaspaz kaskadı apoptozu başlatmaktadır (Olsson vd, 2002). Bu nedenle çalışmada hücre ölümünün apoptoz olup olmadığını tespit edebilmek için kaspaz-3'ün aktivitesi belirlendi. *Trametes* cinsine ait dört türün özüt konsantrasyonunun artışına bağlı olarak A549, akciğer sağlıklı epitelyum hücrelerinde kaspaz-3 seviyesinde artışa neden olduğu gözlenmiştir. Çalışmada elde edilen verilere göre fungus özütlerinin muamelesi sonrasında akciğer sağlıklı epitelyum hücrelerindeki kaspaz-3 aktivitesinin, A549 hücrelerinden daha yüksek olduğu görülmektedir. Jiménez-Medina ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada *T. versicolor*'un CM-101 suşundan elde edilen protein bağlı polisakkaritin; lösemi, melanom, fibrosarkom, serviks, akciğer, pankreas ve gastrik kanserlerin bir kısmında apoptotik aktiviteyi arttırdığını gözlemlemişlerdir. Kontrol olarak PSK ile muamele etmedikleri tümör hücrelerini kullandıkları çalışmada, AGS (gastrik kanser hücreleri), A549, B16 (fare melanom hücreleri) ve Ando-2 (insan melanom hücreleri)'nde apoptozda belli bir oranda artış gözlerlerken, JURKAT (T lenfosit lösemisi hücreleri), HeLa (Servikal adenokarsinom hücreleri) ve B9 (fare melanom hücreleri)'nde anlamlı bir artış gözlememişlerdir. K562 hücrelerindeki değişimine baktığımızda *T. versicolor* ATCC 200801, *Trametes versicolor* (H) ve *Trametes trogii* (A) özütlerinin belirli bir konsantrasyona kadar Kaspaz-3 aktivitesini arttırdığı ancak daha yüksek özüt konsantrasyonlarında bu aktivitenin düştüğü gözlenmiştir. *Trametes trogii* (İ)'de ise özüt konsantrasyonunun artışına bağlı olarak aktivitenin arttığı saptanmıştır (Jiménez-Medina vd, 2008). Rashid ve arkadaşları da *F. trogii* ATCC 200800'ün kanser hücre hatları üzerine *in vitro* ve *in vivo* etkisini araştırmış ve *F. trogii* özütünün (0.5–5.0 mg/mL) prostat (LNCaP ve PC3), kolon (HT29) ve meme (MCF7 ve MDA-MB-231) kanseri hücre hatları üzerine sitotoksik etkisinin olduğunu gözlemişlerdir. Sitotoksik etkinin apoptotik yolla olduğunu rapor etmişlerdir. Bununla birlikte, özütün fibroblastlar üzerine önemli bir sitotoksik etkisinin olmadığını rapor etmişlerdir (Rashid vd, 2011).

Sonuç olarak kullandığımız fungus özütleri kanser hücre hatları üzerine sitotoksik ve proliferasyonu baskılayıcı etki göstermiştir. Bununla birlikte, akciğer sağlıklı epitelyum hücreleri üzerine de etki gösterdiği saptanmıştır. KML hücrelerine etki eden konsantrasyonlar ise akciğer kanser ve sağlıklı epitelyum hücrelerine etki ettiği konsantrasyonlardan daha düşük bulunmuştur. Sonuçlar, fungal özütlerin farklı kanser hücre hatları üzerine farklı etki gösterebileceğini göstermektedir. Aynı zamanda, yalnızca farklı fungus türlerinden değil aynı türün soylarından elde edilecek özütlerin farklı etki gösterebilmesi de olasıdır. *T. versicolor* (H) suşunun KML hücreleri üzerinde düşük konsantrasyonlardaki antiproliferatif ve sitotoksik etkisi, aynı fungus türüne ait soyların etkilerinin farklı olabileceğini göstermektedir. Hatta kanser hücresi tipine göre etkileri de farklı olmaktadır.

Antibiyotiklerin yaygın kullanımına bağlı olarak, çoklu ilaç direncine sahip suşlar da dahil, antibiyotiklere dirençli patojenlerin arttığı ve dolayısıyla dünya çapında antibiyotik tedavisine yanıt alınamayan enfeksiyonların geliştiği bildirilmektedir (Kumar ve Schweizer, 2005; Levy, 2005). Antibiyotiklerin yaygın kullanımının ve hastane enfeksiyonlarının azaltılması için antimikrobiyal direncin, kontrol altına alınması gerektiği ileri sürülmektedir (French, 2005). Bu nedenle yeni antimikrobiyal maddelerin keşfinin, kontrol önlemleri arasında en önemli çözümlerden biri olduğu bildirilmiştir (van der Waaij ve Nord, 2000).

Basidiomycetes sınıfına dahil funguslar, karbohidratlar, mineral tuzlar ve çok önemli proteinler içermektedirler. Bu funguslar önemli miktarlarda sekonder metabolit sentezlerler. Bu metabolitlerin antitümör, antiviral, antiinflamatuvar, antitrombotik, sitostatik ve hipoglisemik aktiviteleri vardır (Breene, 1990, Chang ve Buswell, 1996, Wasser ve Weis, 1999, Kües ve Liu, 2000, Suay vd, 2000). Doğal çevrelerinde hayatta kalmaları için, antibakteriyel ve antifungal bileşiklere ihtiyaçları olduğundan, funguslar antimikrobiyal bileşikleri sentezlemektedir (Lindequist, 2005).

Çalışmamızda; *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. pyogenes*, *E. faecium*, *E. gallinarum*, *B. cereus*, *B. subtilis*, *H. influenzae*, *L. monocytogenes* bakterileri ve *C. albicans*, *C. tropicalis* mayaları üzerine; *T. versicolor* (ATCC 200801 ve H) ve *T. trogii* (İ ve A) suşlarının antimikrobiyal etkileri değerlendirilmiştir.

Antimikrobiyal etkinliğin ölçülmesi için; disk difüzyon ve MİK yöntemi olmak üzere iki farklı yöntem kullanılmıştır. Disk difüzyon yönteminde *H. influenzae*'ye karşı; *T. trogii* (İ) ve *T. trogii* (A) özütlerinin zayıf bir etkisi olduğu saptanmıştır.

İnhibisyon zonunun her iki özütte de 9 mm çapında olduğu belirlenmiştir. Diğer bakterilere karşı, herhangi bir inhibisyonun olmadığı tespit edilmiştir. *T. versicolor* ATCC 200801'in *B. cereus* ve *B. subtilis* üzerine minimum inhibe edici konsantrasyonunun 6,25 mg/mL; *C. albicans* ve *C. tropicalis*'te ise 12.5 mg/mL; *T. versicolor* (H)'nin *S. typhi*, *B. cereus* ve *B. subtilis*'te 12,5 mg/mL, *C. albicans* ve *C. tropicalis*'te ise 12.5 mg/mL; *T. trogii* (A) ve *T. trogii* (İ)'nin ise sadece *S. typhi*'ye karşı 12.5 mg/mL olduğu tespit edilmiştir. Janeş ve arkadaşları, *T. versicolor* ve çeşitli fungusların antimikrobiyal etkilerini, *E. coli*, *E. faecalis*, *P. aeruginosa* ve *S. aureus* bakterilerini kullanarak, iki farklı yöntemle araştırmışlardır. Disk difüzyon yönteminde hiçbir fungusun, *T. versicolor* dahil, antimikrobiyal özelliğini tespit etmemişlerdir. MİK yönteminde, *T. versicolor*'un *P. aeruginosa*'ya zayıf etkisinin olduğunu, diğer bakterilere etkinliğinin olmadığını saptamışlardır (Janeş vd, 2007).

Demir ve Yamaç, çalışmalarında, *Basidiomycetes* sınıfına ait olan; *Ganoderma carnosum*, *Polyporus arcularius*, *Lenzites betulina*, *Cerrena unicolor*, *Laetiporus sulphureus*, *Coprinus comatus* ve *Clavariadelphus truncatus*'un; ekzopolisakkarit presipitatlarının, bazidiyokarp özütlerinin ve derin kültürle üretilen misellerinin; *B. subtilis*, *S. aureus*, *Micrococcus luteus*, *E. faecium*, *E. coli*, *Proteus vulgaris*, *C. albicans*, *C. glabrata* mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal etkisini araştırmışlardır. Elde ettikleri 94 farklı özütün antimikrobiyal etkisi olduğunu saptamışlardır. Ancak antimikrobiyal etkinliğin zayıf olduğunu bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızın aksine özütlerin en çok *S. aureus*, *E. faecium* ve *M. luteum*'a karşı etkili olduğunu bildirmişlerdir (Demir ve Yamaç, 2008). Sunulan tez çalışmasında kullanılan özütlerin en çok, *S. typhi*, *B. cereus*, *B. subtilis*, *C. albicans* ve *C. tropicalis*'e etkili olduğu saptanmıştır.

Rosa ve arkadaşları, *Basidiomycetes* sınıfından, 84 türün 103 izolatının, antimikrobiyal etkisini araştırmışlardır. Özütleri sıvı kültürden elde etmişlerdir. *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *C. tropicalis*, *B. cereus*, *B. subtilis*, *E. faecalis*, *E. coli*, *L. monocytogenes*, *P. aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, *Streptococcus pyogenes*, ve *S. pneumoniae* mikroorganizmaları kullanmışlardır. Kullanılan 103 izolatın 15 (%14)'ünün, bir ya da daha fazla mikroorganizmaya karşı antimikrobiyal etkinlik gösterdiğini bildirmişlerdir. *Trametes* cinsine ait 7 izolatın (*T. cubensis* 3 suşu, *T. pubescens*, *T. versicolor*, *T. villosa* 2 suşu) antimikrobiyal etkinliğinin olmadığını disk difüzyon yöntemiyle tespit etmişlerdir (Rosa vd, 2003). Mevcut çalışmada kullanılan özütlerin

disk difüzyon yöntemiyle antimikrobiyal etkinliğinin olmadığı saptanmıştır. Sadece *T. troglitii* (A ve İ) *H. influenzae*'de 9 mm çapında bir inhibisyon zonu oluşturmuştur.

Güven ve arkadaşları; *T. versicolor* ATCC 200801'den elde ettikleri EPS ile yeni bir yara örtü malzemesi hazırlamışlardır ve bu malzemenin karakterizasyonunu yapmışlardır. *T. versicolor*'u sıvı besiyerinde ürettikten sonra, misellerini ayırıp, geriye kalan ekstraselüler sıvıyı jelleşene kadar beklettikten sonra liyofilize ederek kullanmışlardır. Kontrol olarak model bir antibiyotik olan siprofloksasini yara örtü malzemesine yüklemişler ve ikisini elektron mikroskobu kullanarak morfolojik açıdan karşılaştırmışlardır. EPS ile elde edilen yara örtü malzemeleriyle, siprofloksasin yüklü malzemelerin birbirleriyle bağlantılı olduğuna dair sonuçlar elde etmişlerdir. Sonuç olarak *T. versicolor*'dan elde edilen EPS'nin antimikrobiyal özelliğinden dolayı, yara örtü malzemelerine yüklenerek kullanılabileceğini önermişlerdir (Güven vd, 2011). *Trametes versicolor* ATCC 200801'in, *in vitro* olarak antimikrobiyal etkisi değerlendirildiğinde bazı mikroorganizmalara karşı zayıf bir etkinlik saptanmıştır. Ancak Güven ve arkadaşlarının çalışmasından farklı olarak, çalışmamız katı faz sürecinden elde edilen özütlerle yürütülmüştür. Özütlerin değişik yöntemlerle elde edilmesi, özütün sulandırım faktörleri gibi nedenlerden dolayı bu farklılıkların olduğu düşünülmektedir.

Pranitha ve arkadaşları *T. versicolor*'un şapka kısmından elde ettikleri metanol ve akuöz özütlerinin antibakteriyel ve antifungal etkilerini araştırmışlardır. *E. coli*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis*, *S. aureus*, *Penicillium* sps., *Aspergillus fumigatus*, *A. niger* ve *A. flavus* mikroorganizmalarını test etmişlerdir. Metanol özütlerinin; *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *A. fumigatus* ve *A. niger*'e karşı yüksek etkilerinin olduğunu tespit etmişlerdir. Akuöz özütlerin, metanol özütlere göre etkisinin oldukça düşük olduğunu saptamışlardır (Pranitha vd, 2014). Çalışmamızda katı faz sürecinden elde edilip özütlerin antimikrobiyal etkinliğinin zayıf olduğu belirlenmiştir.

Günümüzde ticari olarak kullanılan antimikrobiyal maddelere alternatif olabilecek doğal bileşiklerin araştırılması ve bulunması gelecekteki tehditten kurtulmamızı sağlayabilir. Farklı fungal suşlardan elde edilebilecek özüt ve bileşenlerin antimikrobiyal etkilerinin çalışılması bu açıdan önemlidir.

6. KAYNAKLAR

- Ahn, W.S., Kim, D.J., Chae, G.T., Lee, J.M., Bae, S.M., Sin, J.I., Kim, Y.W., Namkoong, S.E., Lee, I.P. (2004). Natural killer cell activity and quality of life were improved by consumption of a mushroom extract, *Agaricus blazei* Murill Kyowa, in gynecological cancer patients undergoing chemotherapy. *International Journal of Gynecological Cancer*. **14**, 589–594.
- Akar, S. T., Akar, T., Kaynak, Z., Anilan, B., Cabuk, A., Tabak, Ö. (2009). Removal of copper (II) ions from synthetic solution and real wastewater by the combined action of dried *Trametes versicolor* cells and montmorillonite. *Hydrometallurgy*. **97**, 98-104.
- Angeli, J.P., Ribeiro, L.R., Gonzaga, M.L., Soares Sde, A., Ricardo, M.P., Tsuboy, M.S., Stidl, R., Knasmueller, S., Linhares, R.E., Mantovani, M.S. (2006). Protective effects of beta-glucan extracted from *Agaricus brasiliensis* against chemically induced DNA damage in human lymphocytes. *Cell Biology and Toxicology*. **22**, 285–291.
- Anke, T. (1989). Basidiomycetes: A source for new bioactive secondary metabolites. *Progress in Industrial Microbiology*. **27**, 51 – 66.
- Anonymous. (2016) <http://eol.org/pages/192749/names> (on-line access on 5 Feb, 2016)
- Anonymous. (2015) <http://www.mycobank.org/Biolomics.aspx?Table=Mycobank&MycobankNr =297531> (on-line access on 3 Dec, 2015) .
- Apohan, E. and Yesilada, O. (2017). Production of laccase in olive oil mill wastewater and vinnase by immobilized *Trametes versicolor* and *Trametes trogii* with different supports. *Fresenius Environmental Bulletin*. **26**, 4261-4267.
- Ashkenazi, A. and Dixit, V.M. (1998) Death receptors: signaling and modulation. *Science*. **281**, 1305–1308.
- Barbisan, L.F., Scolastici, C., Miyamoto, M., Salvadori, D.M., Ribeiro, L.R., da Eira, A.F., de Camargo, J.L. (2003). Effects of crude extracts of *Agaricus blazei* on DNA damage and on rat liver carcinogenesis induced by diethylnitrosamine. *Genetics and Molecular Research*. **2**, 295–308.

- Barros, L., Ferreira, M.J., Queiros, B., Ferreira, I.C.F.R., Baptista, P., (2007). Total phenols, ascorbic acid, b-carotene and lycopene in Portuguese wild edible mushrooms and their antioxidant activities. *Food Chemistry*. **103**, 413–419.
- Bauerova, K., Paulovicova, E., Mihalova, D., Svik, K., Ponist, S. (2009). Study of new ways of supplementary and combinatory therapy of rheumatoid arthritis with immunomodulators. Glucomannan and Imunoglukan in adjuvant arthritis. *Toxicological and Industrial Health*. **25**, 329–335.
- Berovic, M., Habijanac, J., Zore, I., Wraber, B., Hodzar, D., Boh, B., Pohleven, F. (2003). Submerged cultivation of *Ganoderma lucidum* biomass and immunostimulatory effects of fungal polysaccharides. *J. Biotechnol.* **103**, 77–86.
- Bisen, P.S., Baghel, R.K., Sanodiya, B.S., Thakur, G.S., & Prasad, G.B. (2010). *Lentinus edodes*: A macrofungus with pharmacological activities. *Current Medicinal Chemistry*. **17**, 2419–2430.
- Biswas, G., Sarkar, S., Acharya, K. (2010). Free radical scavenging and anti-inflammatory activities of the extracts of *Astraeus hygrometricus* (Pers.) Morg. *Latin Am J Pharm.* **29(4)**, 549-553.
- Bohn, J.A., & Be Miller, J.N. (1995). (1→3)-b-D-Glucan as biological response modifiers: A review of structure–functional activity relationships. *Carbohydrate Polymers*. **28**, 3–14.
- Bomford, R. (1989). Immunological Adjuvants and Vaccines. (pp: 35–41) In: Gregoriadis, G., Allison, A.C., Poste, G. (Eds.) *Aluminium salts: perspectives in their use as adjuvants*. Plenum Press, New York.
- Botterweck, A.A.M., Verhagen, H., Goldbohm, R.A., Kleinjans, J., Brandt, P.A. v. d. (2000). Intake of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene and stomach cancer risk: results from analyses in the Netherlands cohort study. *Food and Chemical Toxicology*. **38**, 599–605.
- Brandt, C.R., Piraino, F. (2000). Mushroom antivirals. *Recent Res Dev Antimicrob Agents Chemother*. **4**, 11–26
- Breene, W. (1990). Nutritional and medicinal value of speciality mushrooms. *Journal of Food Protection*. **53**, 883-894.
- Brene, W.M. (2010). Nutritional and medicinal value of specially mushrooms. *Journal of Food Protection*. **53**, 883–894.

- Brown, G.D. and Gordon, S. (2003). Fungal β -glucans and mammalian immunity. *Immunology*. **19**, 311–315.
- Buswell, J.A. and Chang, S.T. (2002) Potential antioxidant/genoprotective properties of *Agaricus bisporus*. *Mushroom J.* 625-6.
- Cantorna, M., Zhu, Y., Froicu, M., Wittke, A. (2004). Vitamin D status, 1,25 dihydroxyvitamin D3 and the immune system. *Am. J. Clin. Nutr.* **80**, 1717S–1720S.
- Chan, S.L. and Yeung, J.H. (2006). Effects of polysaccharide peptide (PSP) from *Coriolus versicolor* on the pharmacokinetics of cyclophosphamide in the rat and cytotoxicity in HepG2 cells. *Food and Chemical Toxicology*. **44**, 689–694.
- Chang, H.Y. and Yang, X. (2000). “Proteases for cell suicide: Functions and regulation of caspases.” *Microbiol Mol Biol Rev.* **64** (4),821-46.
- Chang, S.T. (1999). World production of cultivated edible and medicinal mushrooms in 1997 with emphasis on *Lentinus edodes* (Berk) Sing in China. *International Journal of Medicinal Mushrooms*. **1**, 291 – 300.
- Chang, S.T. and Buswell, J.A. (1996) Mushroom nutraceuticals. *World J. Microbiol Technol.* **12**, 473-476.
- Chang, S.T. and Miles, P.G. (1989). The nutritional attributes and medicinal value of edible mushrooms (p:27-38). In: *Edible mushrooms and their cultivation*, CRC Press Inc, Florida.
- Chang, S.T. and Miles, P.G. (2004). *Mushrooms: Cultivation, Nutritional Value, Medicinal Effect, and Environmental Impact*. 2nd edn, CRC Press LLC, Boca Raton, pp. 1–7.
- Chatterjee, S., Biswas, G., Basu, S.K. and Acharya, K. (2011). Antineoplastic effect of mushrooms: a review. *Australian Journal of Crop Science*. **5**(7), 904-911.
- Chen, H.L., Ju, Y., Li, J.J., & Yu, M. (2012). Antioxidant activities of polysaccharides from *Lentinus edodes* and their significance for disease prevention. *International Journal of Biological Macromolecules*. **50**, 214–218.
- Chen, J.J., Mao, D., Yong, Y.Y., Li, J.L., Wei, H., & Lu, L. (2012). Hepatoprotective and hypolipidemic effects of water-soluble polysaccharidic extract of *Pleurotus eryngii*. *Food Chemistry*. **130**, 687–694.

- Chen, W., Zhao, Z., Chen, S.F., Li, Y.Q. (2008). Optimization for the production of exopolysaccharide from *Fomes fomentarius* in submerged culture and its antitumor effect *in vitro*. *Bioresource Technology*. **99**, 3187–3194.
- Chen, X., Wang, W., Li, S., Xue, J., Fan, L., Sheng, Z., & Chen, Y. (2010). Optimization of ultrasound-assisted extraction of Lingzhi polysaccharides using response surface methodology and its inhibitory effect on cervical cancer cells. *Carbohydrate Polymers*. **80**, 944–948.
- Chen, X.P., Chen, Y., Li, S.B., Chen, Y.G., Lan, J.Y. and Liu, L.P. (2009). Free radical scavenging of *Ganoderma lucidum* polysaccharides and its effect on antioxidant enzymes and immunity activities in cervical carcinoma rats. *Carbohydrate Polymers*. **77**, 389–393.
- Cheng, K.C., Huang, H.C., Chen, J.H., Hsu, J.W., Cheng, H.C., Ou, C.H., et al. (2007). *Ganoderma lucidum* polysaccharides in human monocytic leukemia cells: From gene expression to network construction. *BMC Genomics*. **8**, 411.
- Cheung, L.M., Cheung, P.C.K., & Ooi, V.E.C. (2003). Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts. *Food Chemistry*. **81**, 249–255.
- Chihara, G. (1992). Immunopharmacology of Lentinan, a polysaccharide isolated from *Lentinus edodes*: its applications as a host defence potentiator. *International Journal of Oriental Medicine*. **17**, 57-77.
- Chihara, G., Hamuro, J., Maeda, Y., Arai, Y., and Fukuoka, F. (1970). Fractionation and purification of the polysaccharides with marked antitumor activity especially Lentinan, from *Lentinus edodes*. *Cancer Res*. **30**, 2776–2781.
- Chihara, G., Maeda, Y., Humuro, J., Sasaki, T., and Fukuoka, F. (1969) Inhibition of Mouse Sarcoma 180 by polysaccharides from *Lentinus edodes*. *Nature*. **222**, 687–688.
- Chris, D., Meletis, N.D., and Jason E. Barker, N.D (2005). Medicinal Mushrooms. A Selective overview. *Alternative & Complementary Therapies*, **June**, 141-145.
- Clinical and laboratory Standards Institute (CLSI, 2015). Performance Standard for Antimicrobial Susceptibility Testing. Fifteenth Informational supplement. Document M100-S15, CLSI, Wayne, PA.
- Crisan, E.W. and Sands, A. (1978). Nutritional value (pp: 172–189). In: Chang ST, Hayes WA (Ed) *The biology and cultivation of edible mushrooms*. Academic Press, New York.

- Demir, M.S. and Yamaç, M. (2008). Antimicrobial activities of basidiocarp, submerged mycelium and exopolysaccharide of some native basidiomycetes strains. *Journal of Applied Biological Sciences*. **2** (3), 89-93.
- Deng, G., Lin, H., Seidman, A., Fournier, M., D'Andrea, G., Wesa, K., Yeung, S., Cunningham-Rundles, S., Vickers, A.J., & Cassileth, B. (2009). A phase I/II trial of a polysaccharide extract from *Grifola frondosa* (Maitake mushroom) in breast cancer patients: Immunological effects. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*. **135**, 1215–1221.
- Dhawale, S.S., Lane, A.C. and Dhawale, S.W. (1996). Effects of Mercury on White Rot Fungus *Phanerochaete chrysosporium*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **56**: 825-832.
- Dore, C.M.P.G., Azevedo, T.C.G., Souza, M.C.R., Rego, L.A., Dantas, J.C.M., Silva, F.R.F., et al, (2007). Antiinflammatory, antioxidant and cytotoxic actions of β -glucan-rich extract from *Geastrum saccatum* mushroom. *International Immunopharmacology*. **7**, 1160–1169.
- Ece, T. (2010). Akciğer kanserine genel bakış. (pp: 1-6) Aydın A, Can G (ed). *Akciğer Kanserinde Tedavi ve Bakım*, 1. Baskı. İpomet Matbaacılık San. ve Tic. Ltd. Şti. İstanbul.
- el-Mekkawy, S., Meselhy, M.R., Nakamura, N., Tezuka, Y., Hattori, M., Kakiuchi, N., Shimotohno, K., Kawahata, T., and Otake, T., (1998). Anti-HIV-protease substances from *Ganoderma lucidum*. *Phytochemistry*. **49**, 1651–1657.
- Emberger, G. (2008). Fungi growing on wood. Messiah College. [http://www.messiah.edu/Oakes/fungi on wood/index.html](http://www.messiah.edu/Oakes/fungi%20on%20wood/index.html).
- Endo, M., Beppu, H., Akiyama, H., Wakamatsu, K., Ito, S., Kawamoto, Y., Shimpo, K., Sumiya, T., Koike, T., & Matsui, T. (2010). Agaritine purified from *Agaricus blazei* Murrill exerts anti-tumor activity against leukemic cells. *Biochimica et Biophysica Acta*. **1800**, 669–673.
- Fan, L., Pan, H., Soccol, A.T., Pandey, A., Soccol, C.R. (2006). Advances in mushroom research in the last decade. *Food Technol. Biotechnol.* **44**, 303–311.
- Ferreira, I.C.F.R., Barros, L., Abreu, R, (2009). Antioxidants in wild mushrooms. *Curr. Med. Chem.* **16**, 1543–1560.
- French, G.L. (2005). Clinical impact and relevance of antibiotic resistance. *Adv Drug Deliv Rev.* **57**: 1514–1527.

- Fuchs, F.D. (2004) Princípios Gerais do Uso de Antimicrobianos. In: Fuchs F, Wannamacher L, Ferreira M, editors. Farmacologia Clínica – *Fundamentos da terapêutica Racional*. 3^a ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, p. 342.
- Gabriel, J., Kofronova, O., Rychlovsky, P. and Krenzelok, M. (1996). Accumulation and Effect of Cadmium in The Wood-Rotting Basidiomycete *Daedalea quercina*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **57**: 383-390.
- Ganguly, C. and Das, S. (1994). Plant lectins as inhibitors of tumour growth and modulators of host immune response, *Chemotherapy*. **40**, 272–278.
- Gedikli, S., Aytar, P., Ünal, A., Yamaç, M., Çabuk, A., Kolankaya, N. (2010). Enhancement with inducers of laccase production by some strains and application of enzyme to dechlorination of 2,4,5-trichlorophenol. *Electronic Journal of Biotechnology*. **13**, 1-15.
- Goto, N., Kato, H., Maeyama, J.-I., Eto, K., Yoshihara, S. (1993). Studies on the toxicities of aluminium hydroxide and calcium phosphate as immunological adjuvants for vaccines. *Vaccine*. **11**, 914–918.
- Goulet, N.R., Cochran, K.W., and Brown, C. (1960). Differential and specific inhibition of ECHO viruses by plant extracts, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **103**, 96–98.
- Gu, Y.H. and Belury, M.A. (2005). Selective induction of apoptosis in murine skin carcinoma cells (CH72) by an ethanol extract of *Lentinula edodes*. *Cancer Letters*. **220**, 21–28.
- Güven, E., Şam, M., Erdal, E., Karahaliloğlu, Z., Candan, D., Sağlam, N., Denkbaş, E. B. (2011). Antibacterial Agent Loaded Fungal Polymer for Use As A Wound Dressing. *Hacettepe J. Biol. & Chem.* **39** (3), 297–303.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C. (1984). Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochemical Journal*. **219**, 1–4.
- Han, S.S.R., Cho, C.K., Lee, Y.W., Yoo, H.S. (2009). Antimetastatic and Immunomodulating Effect of Water Extracts From Various Mushrooms. *J Acupunct Meridian Stud.* **2**(3), 218–227.
- Harhaji, L., Mijatovic, S., Maksimov-Ivanic, D., Stojanovic, I., Momcilovic, M., Maksimovic, V., Tufegdžic, S., Marjanovic, Z., Mostarica-Stojkovic, M., Vucinic, Z., & Stosic-Grujicic, S. (2008). Anti-tumor effect of *Coriolus versicolor* methanol extract against mouse B16 melanoma cells: In vitro and in vivo study. *Food and Chemical Toxicology*. **46**, 1825–1833.

- Hattori, T.S., Komatsu, N., Shichijo, S., Itoh, K. (2004). Protein-bound polysaccharide K induced apoptosis of the human Burkitt lymphoma cell line, Namalwa. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. **58**, 226–230
- Hawksworth, D.L. (2001). Mushrooms: the extent of the unexplored potential, *Int. J. Med. Mushrooms*. **3**, 333–337.
- Hazama, S., Watanabe, S., Ohashi, M., Yagi, M., Suzuki, M., Matsuda, K., et al. (2009). Efficacy of orally administered superfine dispersed lentinan (beta-1,3-glucan) for the treatment of advanced colorectal cancer. *Anticancer Research*. **29**, 2611–2617.
- He, P., Geng, L., Wang, Z., Mao, D., Wang, J., Xu, C. (2012) Fermentation optimization, characterization and bioactivity of exopolysaccharides from *Funalia trogii*. *Carbohydrate Polymers*. **89**, 17–23.
- Hengartner, M. (2000) The biochemistry of apoptosis. *Nature*. **407**, 770–776.
- Hernández, D., Sánchez, J.E., Yamasaki, K. (2003). A simple procedure for preparing substrate for *P. ostreatus* cultivation. *Bioresource Technology*. **90**, 145–150.
- Hirahara, N., Fujioka, M., Edamatsu, T., Fujieda, A., Sekine, F., Wada, T., et al. (2011). Protein-bound polysaccharide-K (PSK) induces apoptosis and inhibits proliferation of promyelomonocytic leukemia HL-60 cells. *Anticancer Research*. **31**, 2733–2738.
- Hirahara, N., Fujioka, M., Fujieda, A., Wada, T., & Tanaka, T. (2010). Analysis of the mechanism of apoptosis induction by PSK. *Gan To Kagaku Ryoho*. **37**, 2255–2257.
- Hirasawa, M., Shouji, N., Neta, T., Fukushima, K., Takada, K. (1999). Three kinds of antibacterial substances from *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. (Shiitake, an edible mushroom). *International Journal of Antimicrobial Agents*. **11(2)**, 151–157.
- Ho, C.Y., Lau, C.B.S., Kim, C.F., Leung, K.N., Fung, K.P., Tse, T.F., Chan, H.H.L., Chow, M.S.S. (2004). Differential effect of *Coriolus versicolor* (Yunzhi) extract on cytokine production by murine lymphocytes in vitro. *International Immunopharmacology*. **4**, 1549–1557.
- Ho, J.C.K., Konerding, M.A., Gaumann, A., Groth, M., Liu, W.K. (2004). Fungal polysaccharopeptide inhibits tumor angiogenesis and tumor growth in mice. *Life Sciences*. **75**, 1343–1356

- Hong, K.J., Dunn, D.M., Shen, C.L., Pence, B.C. (2004). Effects of *Ganoderma lucidum* on apoptotic and anti-inflammatory function in HT-29 human colonic carcinoma cells. *Phytotherapy Research*. **18**, 768–770.
- Hsieh, T.C., Wu, P., Park, S., & Wu, J.M. (2006). Induction of cell cycle changes and modulation of apoptogenic/anti-apoptotic and extracellular signaling regulatory protein expression by water extracts of P'm-Yunity™ (PSP). *BMC Complementary and Alternative Medicine*. **6**, 30.
- Hsu, C.H., Hwang, H.J., Chiang, Y.H., Chou, P. (2008). The mushroom *Agaricus blazei* Murill extract normalizes liver function in patients with chronic hepatitis B. *Journal of Alternative and Complementary Medicine*. **14**, 299–301.
- Hsu, C.H., Liao, Y.L., Lin, S.C., Hwang, K.C., Chou, P. (2007). The mushroom *Agaricus blazei* Murill in combination with metformin and gliclazide improves insulin resistance in type 2 diabetes: A randomized, double-blinded, and placebocontrolled clinical trial. *Journal of Alternative and Complementary Medicine*. **13**, 97–102.
- Hsu, J.W., Huang, H.C., Chen, S.T., Wong, C.H., & Juan, H.F. (2009). *Ganoderma lucidum* polysaccharides induce macrophage-like differentiation in human leukemia THP-1 cells via Caspase and p53 activation. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. **2011**, 358717.
- Huang, C.F., Lin, S.S., Liao, P.H., Young, S.C., and Yang, C.C. (2008). The Immunopharmaceutical Effects and Mechanisms of Herb Medicine. *Cellular & Molecular Immunology*. **5**, 19-31.
- Huang, C.Y., Chen, J.Y., Wu, J.E., Pu, Y.S., Liu, G.Y., Pan, M.H., et al. (2010). Ling-Zhi polysaccharides potentiate cytotoxic effects of anticancer drugs against drugresistant urothelial carcinoma cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **58**, 8798–8805.
- Huang, Q. L., Jin, Y., Zhang, L. N., Cheung, C. K., Kennedy, J. F., (2007). Structure, molecular size and antitumor activities of polysaccharides from *Poria cocos* mycelia produced in fermenter. *Carbohydrate Polymers*. **70**, 324–333.
- Hussain, I.A., Anwar, F., Nigam, P.S., Sarker, S.D., Moore, J.E., Rao, J.R., Mazumdar, A. (2011). Antibacterial activity of some *Lamiaceae* essential oils using resazurin as an indicator of cell growth. *Food Sci. Technol*. **44**, 1199–1206.

- Hwang, Y.J., Nam, H.K., Chang, M.J., Noh, G.W., & Kim, S.H. (2003). Effect of *Lentius edodes* and *Pleurotus eryngii* extracts on proliferation and apoptosis in human colon cancer cell lines. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*. **32**, 217–222.
- Ikekawa, T. (2001). Beneficial effects of edible and medicinal mushrooms on health care. *Int. J. Med. Mushrooms*. **3**, 291–298.
- Isoda, N., Eguchi, Y., Nukaya, H., Hosho, K., Suga, Y., Suga, T., et al. (2009). Clinical efficacy of superfine dispersed lentinan (beta-1,3-glucan) in patients with hepatocellular carcinoma. *Hepatogastroenterology*. **56**, 437–441.
- Israilides, C., Kletsas, D., Arapoglou, D., Philippoussis, A., Pratsinis, H., Ebringerova, A., Hribalova, V., Harding, S.E. (2008). In vitro cytostatic and immunomodulatory properties of the medicinal mushroom *Lentinula edodes*. *Phytomedicine*. **15**, 512–519.
- Ito, H., Sugiura, M., Miyazaki, T. (1976). Antitumor polysaccharide fraction from the culture filtrate of *Fomes fomentarius*. *Chem. Pharm. Bull.* **24**, 2575.
- Ito, K., Masuda, Y., Yamasaki, Y., Yokota, Y., & Nanba, H. (2009). Maitake betaglucan enhances granulopoiesis and mobilization of granulocytes by increasing G-CSF production and modulating CXCR4/SDF-1 expression. *International Immunopharmacology*. **9**, 1189–1196.
- Itoh, H., Ito, H., Hibasami, H. (2008). Blazein of a new steroid isolated from *Agaricus blazei* Murrill (himematsutake) induces cell death and morphological change indicative of apoptotic chromatin condensation in human lung cancer LU99 and stomach cancer KATO III cells. *Oncology Reports*. **20**, 1359–1361.
- Janež, D., Kreft, S., Jurc, M., Seme, K., Strukelj, B. (2007). Antibacterial Activity in Higher Fungi (Mushrooms) and Endophytic Fungi from Slovenia. *Pharmaceutical Biology*. **45(9)**, 700–706.
- Jaouani, A., Tabka, M.G. and Pennickx, M.J., (2006). Lignin Modifying Enzymes of *Coriolopsis polyzona* and Their Role in Olive Oil Mill Wastewater Decolourisation. *Chemosphere*. **9**, 1421-1430.
- Jayakumar, T., Ramesh, E., Geraldine, P. (2006). Antioxidant activity of the oyster mushroom, *P. ostreatus*, on CCl₄-induced liver injury in rats. *Food and Chemical Toxicology*. **44**, 1989–1996.

- Jayakumar, T., Thomas, P.A., Geraldine, P. (2007). Protective effect of an extract of the oyster mushroom, *P. ostreatus*, on antioxidants of major organs of aged rats. *Experimental Gerontology*. **42**, 183–191.
- Jedrzejewski, T., Piotrowski, J., Wrotek, S., Kozak, W. (2014). Polysaccharide peptide induces a tumor necrosis factor- α -dependent drop of body temperature in rats. *Journal of Thermal Biology*. **44**, 1–4.
- Jeong, S.C., Yang, B.K., Ra, K.S., Wilson, M.A., Cho, Y., Gu, Y.A., Song C.H. (2004). Characteristics of anti-complementary biopolymer extracted from *Coriolus versicolor*. *Carbohydrate Polymers*. **55**, 255–263.
- Jia, J., Zhang, X., Hu, Y., Wu, Y., Wang, Q., and Li, N. (2009). Evaluation of in vivo antioxidant activities of *Ganoderma lucidum* polysaccharides in STZ-diabetic rats. *Food Chemistry*. **115**, 32–36.
- Jiang, J., Slivova, V., Valachovicova, T., Harvey, K., Sliva, D. (2004). *Ganoderma lucidum* inhibits proliferation and induces apoptosis in human prostate cancer cells PC-3. *International Journal of Oncology*. **24**, 1093–1099.
- Jiménez-Medina, E., Berruguilla, E., Romero, I., Algarra, I., Collado, A., Garrido, F., et al. (2008). The immunomodulator PSK induces in vitro cytotoxic activity in tumour cell lines via arrest of cell cycle and induction of apoptosis. *BMC Cancer*. **8**, 78.
- Jones, S. and Janardhanan, K.K. (2000). Antioxidant and antitumor activity of *Ganoderma lucidum* (Curt.:Fr.) P. Karst.-Reishi (Aphyllophoromycetidae) from South India. *Int. J. Med. Mushrooms*. **2**, 195–200.
- Jong, S.C. and Birmingham, J.M. 1992. Medicinal benefits of the mushroom *Ganoderma*. *Adv. Appl. Microbiol.* **37**, 101-134.
- Jong, S.C. and Yang, X.T. (1999). *PSP-A powerful biological response modifier from the mushroom Coriolus versicolor*, in *Advanced Research in PSP*, Yang, Q.Y., Ed., Hong Kong Association for Health Care Ltd., Hong Kong, Intro. II.
- Jong, S.C., Birmingham, J.M., Pai, S.H. (1991) Immunomodulatory substances of fungal origin. *J Immunol Immunopharm.* **9(3)**, 115-122.
- Jose, N. and Janardhanan, K.K. (2000). Antioxidant and antitumor activity of *Pleurotus florida*. *Curr Sci.* **79(7)**, 941-943
- Kalač, P. (2009). Chemical composition and nutritional value of European species of wild growing mushrooms: a review. *Food Chem.* **113**, 9–16.

- Kalmis, E., Nuri, A., Hasan, Y., Fatih, K. (2008). Feasibility of using olive mill effluent (OME) as a wetting agent during the cultivation of oyster mushroom, *P. ostreatus*, on wheat straw. *Bioresource Technology*. **99**, 164–169.
- Kang, H.I., Kim, J.Y., Moon, K.D., Seo, K.I., Cho, Y.S., Lee, S.D. et al, (2004). Effect of the crude polysaccharide of *Pleurotus eryngii* on the activation of immune cells. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*. **33**, 1092–1097.
- Karuppusamy, S. (2009). A review on trends in production of secondary metabolites from higher plants by in vitro tissue, organ and cell cultures. *J. Med. Plants Res.*, **3**, 1222-1239.
- Katoh, R. and Ooshiro, M. (2007). Enhancement of antitumor effect of tegafur/uracil (UFT) plus leucovorin by combined treatment with protein-bound polysaccharide, PSK, in mouse models. *Cellular & Molecular Immunology*. **4**, 295–299.
- Khatun, K., Mahtab, H., Khanam, P.A., Sayeed, M.A., & Khan, K. (2007). Oyster mushroom reduced blood glucose and cholesterol in diabetic subjects. *Mymensingh Medical Journal*. **16**, 94–99.
- Kim, H.W., Shim, M.J., Choi, E.C., and Kim, B.K. (1997). Inhibition of cytopathic effect of human immunodeficiency virus-I by water-soluble extract of *Ganoderma lucidum*. *Arch. Pharmacol. Res.* **20**, 425–431.
- Kim, J.Y., Kang, H.I., Park, K.U., Moon, K.D., Lee, S.D., Cho, S.H. et al. (2004). Antioxidative and antitumor activities of crude polysaccharide fraction from *Pleurotus eryngii*. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*. **33**, 1589–1593.
- Kim, K.C., Jun, H.Y., Kim, J.S., Kim, I.G. (2008). Enhancement of radiation response with combined *Ganoderma lucidum* and *Duchesnea chrysantha* extracts in human leukemia HL-60 cells. *International Journal of Molecular Medicine*. **21(4)**, 489-498.
- Kim, R.S., Kim, H.W., Kim, B.K. (1997). Suppressive effects of *Ganoderma lucidum* on proliferation of peripheral blood mononuclear cells. *Mol. Cells*. **7**, 52-57.
- Kinoshita, J., Fushida, S., Harada, S., Makino, I., Nakamura, K., Oyama, K., et al. (2010). PSK enhances the efficacy of docetaxel in human gastric cancer cells

- through inhibition of nuclear factor- κ B activation and survivin expression. *International Journal of Oncology*. **36**, 593–600.
- Kleinschmid, T.W.J. (1972). Biochemistry of interferon and its inducers, *Annu. Rev. Biochem.* **41**, 576–597.
- Kono, K., Kawaguchi, Y., Mizukami, Y., Mimura, K., Sugai, H., Akaike, H., et al. (2008). Protein-bound polysaccharide K partially prevents apoptosis of circulating T cells induced by anti-cancer drug S-1 in patients with gastric cancer. *Oncology*. **74**, 143–149.
- Kuhad, R.C., Singh, A. and Eriksson, K. (1997). Microorganisms and enzymes involved in the degradation of plant fiber cell wall. In: Eriksson KEL, Editor. *Biotechnology in The Pulp and Paper Industry. Advances in Biochemical Engineering Biotechnology*. Berlin: Springer Verlag.
- Kumar A., Schweizer H.P. (2005). Bacterial resistance to antibiotics: Active efflux and reduced uptake. *Adv Drug Deliv Rev*. **57**, 1486–1513.
- Kumar, M., Abbas, A.K., Aster, J.C. (2013). *Robbins Temel Patoloji 9. Baskı*. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul. 910 p.
- Kües, U., Liu, Y. (2000). Fruiting body production in *Basidiomycetes*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **54**, 141–152.
- Kweon, M.H., Kwon, S.T., Kwon, S.H, Ma, M.S., & Park, Y.I. (2002). Lowering effects in plasma cholesterol and body weight by mycelial extracts of two mushrooms: *Agaricus blazei* and *Lentinus edodes*. *Korean Journal of Microbiology and Biotechnology*. **30**, 402–409.
- Lau, C. B., Ho, C. Y., Kim, C. F., Leung, K. N., Fung, K. P., Tse, T. F., Chan, H. H., Chow, M. S. (2004). Cytotoxic activities of *Coriolus versicolor* (Yunzhi) extract on human leukemia and lymphoma cells by induction of apoptosis. *Life Sci*. **75**, 797–808.
- Lee, C.L., Yang, X.T., & Wang Jennifer, M.F. (2006). The culture duration affects the immunomodulatory and anticancer effect of polysaccharopeptides derived from *Coriolus versicolor*. *Enzyme and Microbial Technology*. **38**, 14–21.
- Lee, G., Byun, H., Yoon, K., Lee, J., Choi, K., Jeung, E. (2009). Dietary calcium and vitamin D2 supplementation with enhanced *Lentinula edodes* improves osteoporosis-like symptoms and induces duodenal and renal active calcium transport gene expression in mice. *European Journal of Nutrition*. **48**, 75–83.

- Lee, J.S. (2005). Effects of *Fomes fomentarius* supplementation on antioxidant enzyme activities, blood glucose, and lipid profile in streptozotocin-induced diabetic rats. *Nutr. Res.* **25**, 187–195.
- Levy S.B. (2005). Antibiotic resistance—the problem intensifies. *Adv Drug Deliv Rev.* **57**, 1446–1450.
- Li, S.G., Wang, D.G., Tian, W., Wang, X.X., Zhao, J.X., Liu, Z., et al. (2008). Characterization and anti-tumor activity of a polysaccharide from *Hedysarum polybotrys* Hand.-Mazz. *Carbohydrate Polymers.* **73**, 344–350.
- Li, X.M., & Xu, L.Z. (1987). Comparison of anti-cancer effect of two polysaccharopeptide from *Coriolus versicolor* in vitro. *Acta Academiae Medicinae Shanghai.* **14(5)**, 326–329.
- Li, Y.Q., Fang, L., and Zhang, K.C. (2007). Structure and bioactivities of a galactose rich extracellular polysaccharide from submergedly cultured *Ganoderma lucidum*. *Carbohydrate Polymers.* **68**, 323–328.
- Liener, I.E. (1979). Protease inhibitors and lectins, *Int. Rev. Biochem.* **27**, 97–122.
- Lin, K., Kao, Y., Kuo, H., Yang, W., Chou, A., Lin, H., Yu, A., and Wong, C. (2006). Reishi polysaccharides induce immunoglobulin production through the TLR4/TLR2-mediated induction of transcription factor blimp-1. *The Journal of Biological Chemistry.* **281**, 24111–24123.
- Lin, S.B., Li, C.H., Lee, S.S., & Kan, L.S. (2003). Triterpeneenriched extracts from *Ganoderma lucidum* inhibit growth of hepatoma cells via suppressing protein kinase C, activating mitogen-activated protein kinases and G2-phase cell cycle arrest. *Life Sciences.* **72**, 2381–2390.
- Lindequist, U., Niedermeyer, T.H.J., Jülich W.D. (2005). The pharmacological potential of mushrooms. *eCAM.* **2**, 285-299.
- Liu, F., Ooi, V.E.C., Liu, W.K. and Chang, S.T. (1996). Immunomodulation and Antitumor Activity of Polysaccharide-Protein Complex From the Culture Filtrates of a Local Edible Mushroom, *Tricholoma lobayense*. *Gen. Pharmac.* **27(4)**, 621-624.
- Liu, J., Ning, A., Cao, J., Huang, M. (2009). Preliminary study on the anti-tumor effect of protein extracts of *Lentinus edodes* C91– 3 fermentation broth in mice with cervical cancer U14. *Zhongguo Weishengtaxixue Zazhi/Chinese Journal of Microecology,* **21**, 622–623.

- Liu, K., Wang, J., Zhao, L., Wang, Q. (2013). Anticancer, antioxidant and antibiotic activities of mushroom *Ramaria flava*. *Food and Chemical Toxicology*. **58**, 375–380.
- Liu, W., Wang, H., Pang, X., Yao, W., & Gao, X. (2010). Characterization and antioxidant activity of two low-molecular-weight polysaccharides purified from the fruiting bodies of *Ganoderma lucidum*. *International Journal of Biological Macromolecules*. **46**, 451–457.
- Llauradó, G., Morris, H. J., Ferrera, L., Camacho, M., Castán, L., Lebeque, Y., Beltrána, Y., Cos, P., Bermúdez, R. C. (2015). In-vitro antimicrobial activity and complement/macrophage stimulating effects of a hot-water extract from mycelium of the oyster mushroom *Pleurotus* sp. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. **30**, 177–183.
- Lou Z., Wang H., Lv W., Ma C., Wang Z, Chen S. (2010). Assessment of antibacterial activity of fractions from burdock leaf against food-related bacteria. *Food Control*. **21**, 1272-1278.
- Louie, B., Rajamahanty, S., Won, J., Choudhury, M., & Konno, S. (2009). Synergistic potentiation of interferon activity with maitake mushroom D-fraction on bladder cancer cells. *BJU International*. **105**, 1011–1015.
- Löliger, J. (1991). *The use of antioxidants in foods*. In Free radicals and food additives (pp. 121–150). London: Taylor & Francis.
- Lu, H., Yang, Y., Gad, E., Inatsuka, C., Wenner, C. A., Disis, M. L., et al. (2011a). TLR2 agonist PSK activates human NK cells and enhances the anti-tumor effect of HER2-targeted monoclonal antibody therapy. *Clinical Cancer Research*. **17**, 6742–6753.
- Lu, H., Yang, Y., Gad, E., Wenner, C. A., Chang, A., Larson, E. R., et al. (2011b). Polysaccharide krestin is a novel TLR2 agonist that mediates inhibition of tumor growth via stimulation of CD8 T cells and NK. *Clinical Cancer Research*. **17**, 67–76.
- Luk, S.U., Lee, T.K., Liu, J., Lee, D.T., Chiu, Y.T., Ma, S., et al. (2011). Chemopreventive effect of PSP through targeting of prostate cancer stem cell-like population. *PLoS One*. **6**, e19804.
- Luo, K.W., Yue, G.G.L., Ko, C.H., Lee, J.K.M., Gao, S., Li, L.F., Li, G., Fung, K.P., Leung, P.C., Lau, C.B.S. (2014). *In vivo* and *in vitro* anti-tumor and anti-

- metastasis effects of *Coriolus versicolor* aqueous extract on mouse mammary 4T1 carcinoma. *Phytomedicine*. **21**, 1078–1087.
- Manzi, P., Aquozzi, A. and Pizoferrato, L. (2001). Nutritional value of mushrooms widely consumed in Italy. *Food Chemistry*. **73**, 321–325.
- Maruyama, S., Akasaka, T., Yamada, K., Tachibana, H. (2009). Protein-bound polysaccharide-K (PSK) directly enhanced IgM production in the human B cell line BALL-1. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. **63**, 409-412.
- Masuda, Y., Inoue, M., Miyata, A., Mizuno, S., & Nanba, H. (2009). Maitake β -glucan enhances therapeutic effect and reduces myelosuppression and nephrotoxicity of cisplatin in mice. *International Immunopharmacology*. **9**, 620–626.
- Masuda, Y., Ito, K., Konishi, M., & Nanba, H. (2010). A polysaccharide extracted from *Grifola frondosa* enhances the anti-tumor activity of bone marrow-derived dendritic cell-based immunotherapy against murine colon cancer. *Cancer Immunology Immunotherapy*. **59**, 1531–1541.
- Masuda, Y., Matsumoto, A., Toida, T., Oikawa, T., Ito, K., & Nanba, H. (2009). Characterization and antitumor effect of a novel polysaccharide from *Grifola frondosa*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **57**, 10143–10149.
- Mau, J.L., Lin, H.C., Song, S.F. (2002). Antioxidant properties of several specialty mushrooms. *Food Research International*. **35**, 519–526.
- Mayell, M. (2001). Maitake extracts and their therapeutic potential. *Alternative Medicine Review*. **6**, 48–60.
- Mazmanci, B., Mazmanci, M.A., Unyayar, A., Unyayar, S., Cekic, F.O., Deger, A.G., et al. (2011). Protective effect of *Funalia trogii* crude extract on deltamethrin-induced oxidative stress in rats. *Food Chemistry*. **125**, 1037–1040.
- Mezawa, H., Sugiura, T., Watanabe, M., Norizoe, C., Takahashi, D., Shimojima, A., Tamez, S., Tsutsumi, Y., Yanaga, K., Urashima, M., (2010). Serum vitamin D levels and survival of patients with colorectal cancer: post-hoc analysis of a prospective cohort study. *BMC Cancer*. **10**, 347.
- Min, C.N., Nakamura, N., Miyashiro, H., Bae, K.W., and Hattori, M. (1998). Triterpenes from the spores of *Ganoderma lucidum* and their inhibitory activity against HIV-I protease. *Chem. Pharm. Bull.* **46**, 1607–1612.
- Mizuno T., Zhuang, C. and Maitake, C. (1995). *Grifola frondosa*: Pharmacological effects. *Food Rev. Int.* **11**: 135-149.

- Mizuno, T., Hagiwara, T., Nakamura, T., Ito, H., Shimura, K., Sumiya, T., et al. (1990). Antitumor activity and some properties of water-soluble polysaccharides from “Himematsutake” from the fruiting body of *Agaricus blazei* Murill. *Agricultural and Biological Chemistry*. **54**, 2889–2896.
- Mizuno, T., Saito, H., Nishitoba, T., and Kawagishi, H. (1995). Antitumour-active substances from mushrooms, *Food Rev. Int.* **11**, 23–61.
- Moradali, M.F., Mostafavi, H., Ghods, S., Hedjaroude, G.A. (2007). Immunomodulating and anticancer agents in the realm of macromycetes fungi (macrofungi). *Int. Immunopharmacol.* **7**, 701–724.
- Morais, M.H., Ramos, A.C., Matos, N., Santos-Oliveira, E.J. (2000) Note: production of shiitake mushroom (*Lentinus edodes*) on ligninocellulosic residues. *Food Sci Technol Int.* **6**, 123–128.
- Mori, K., Kuida, K., Hosokawa, D., and Takehara, M. (1978). Virus-like particles in several mushrooms, *Mushroom Sci.* **10** (Part I), 773–787.
- Müller, C.I., Kumagai, T., O’Kelly, J., Seram, N.P., Heber, D., Koeffler, H.P. (2006). *Ganoderma lucidum* causes apoptosis in leukemia, lymphoma and multiple myeloma cells. *Leukemia Research.* **30**(7), 841-848.
- Nijhawan, L.P., Budihardjo, D., Srinivasula, I., Ahmad, S.M., Alnemri, M. and Wang, X. (1997). Cytochrome c and dATP dependent formation of Apaf-1/caspase-9 complex initiates an apoptotic protease cascade. *Cell.* **91**, 479–489.
- Niki, E., Shimaski, H., Mino, M. (1994). Antioxidantism – Free Radical and Biological Defense. Gakkai Syuppan Center, Tokyo, Japan.
- Nyanhango, G.S., Gomes, J., Gübitz, G.M., Zvauya, R., Read, J. and Steiner, W. (2002). Decolorization of textile dyes by laccase from a newly isolated strain of *Trametes modesta*. *Water Res.* **36**, 1449-1465.
- Oba, K., Kobayashi, M., Matsui, T., Kodera, Y., & Sakamoto, J. (2009). Individual patient based meta-analysis of lentinan for unresectable/recurrent gastric cancer. *Anticancer Research.* **29**, 2739–2745.
- Oba, K., Teramukai, S., Kobayashi, M., Matsui, T., Kodera, Y., Sakamoto, J. (2007). Efficacy of adjuvant immunochemotherapy with polysaccharide K for patients with curative resections of gastric cancer. *Cancer Immunol Immunother.* **56**, 905-911.

- Ohwada, S., Ogawa, T., Makita, F., Tanahashi, Y., Ohya, T., Tomizawa, N., et al. (2006). Beneficial effects of protein-bound polysaccharide K plus tegafur/uracil in patients with stage II or III colorectal cancer: Analysis of immunological parameters. *Oncology Reports*. **15**, 861–868.
- Olsson, A.R., Lindgren, H., Pero, R.W. and Leanderson, T. (2002) Mechanism of action for N-substituted benzamide-induced apoptosis. *Br. J. Cancer*. **86**, 971–978.
- Ono, Y., Hayashida, T., Konagai, A., Okazaki, H., Miyao, K., Kawachi, S., et al. (2012). Direct inhibition of the TGF- β pathway by protein-bound polysaccharide through inactivation of Smad2 signaling. *Cancer Science*. **103**, 317–324.
- Ooi, V.E. and Liu, F. (2000). Immunomodulation and anti-cancer activity of polysaccharide–proteins complexes. *Current Medicinal Chemistry*. **7**, 715–729.
- Pan, Ming Li, MD. (1992) *Cancer treatment with Fu Zheng Pei Ben Principle*, Fujian Science and Technology, Press, China.–274.
- Park, Y.K., Lee, H.B., Jeon, E.J., Jung, H.S., & Kang, M.H. (2004). Chaga mushroom extract inhibits oxidative DNA damage in human lymphocytes as assessed by Comet assay. *BioFactors*. **21**, 109–112.
- Park, Y.M., Kim, I.T., Park, H.J., Choi, J.W., Park, K.Y., Lee, J.D., Nam, B.H., Kim, D.G., Lee, J.Y., Lee, K.T. (2004). Anti-inflammatory and anti-nociceptive effects of the methanol extract of *Fomes fomentarius*. *Biol. Pharm. Bull.* **27**, 1588–1593.
- Paterson, R.R.M. (2006). *Ganoderma*: A therapeutic fungal biofactory. *Phytochemistry*. **67**, 1985–2001.
- Peng, Y., Zhang, L., Zeng, F., Xu, Y. (2003). Structure and antitumor activity of extracellular polysaccharides from mycelium. *Carbohydrate Polymers*. **54**, 297-303.
- Peres-Bota, D., Rodriguez H., Dimopoulos G., DaRos A., Mélot C., Struelens M.J., Vincent J.L. (2003). Are infections due to resistant pathogens associated with a worse outcome in critically ill patients? *J Infect*. **47**, 307-316.
- Pranitha, V., Krishna, G., Singara Charya, M. A. (2014). Evaluation of antibacterial and antifungal activity of fruiting body extracts of *Trametes versicolor*. *Biolife*. **2** (4),1181-1184.

- Pyo, P., Louie, B., Rajamahanty, S., Choudhury, M., & Konno, S. (2008). Possible immunotherapeutic potentiation with D-fraction in prostate cancer cells. *Journal of Hematology & Oncology*. **1**, 25.
- Qian, Z.I. (1997). Polysaccharide peptide (PSP) restores immunosuppression induced by cyclophosphamide in rats. *The American Journal of Chinese Medicine*. **25(1)**, 27.
- Ramberg, J. E., Nelson, E. D., & Sinnott, R. A. (2010). Immunomodulatory dietary polysaccharides: A systematic review of the literature. *Nutrition Journal*, 9,54. (on-line journal).
- Ranzani, M.R., Sturion, G.L. (1998). Amino acid composition evaluation of *Pleurotus* spp cultivated in banana leaves. *Arch Latinoam Nutr* **48**, 339–348.
- Rashid, S., Unyayar, A., Mazmanci, M.A., McKeown, S.R., Banat, I.M., & Worthington, J. (2011). A study of anti-cancer effects of *Funalia trogii* *in vitro* and *in vivo*. *Food and Chemical Toxicology*. **49(7)**, 1477–1483.
- Regina, M.M.G., Elisabeth, W., Jamile, R.R., Jorge, L.N., Sandra, A.F. (2008). Alternative medium for production of *P. ostreatus* biomass and potential antitumor polysaccharides. *Bioresource Technology* **99**, 76–82.
- Reid, I.D. (1995). Biodegradation of lignin. *Can. J. Bot.* **73**, 1011–1018.
- Ren, B.Z., Dai, R.Z., & Li, B.B. (1993). Influence of PSP on immune function of tumor patients. *Chinese-German Journal of Clinical Oncology*. **20(5)**, 348–349.
- Rogalski, J., Lundell, T., Leonowicz, A. and Hatakka, A. (1991). Production of Laccase Lignin Peroxidase by Various Strains of *Trametes versicolor* Depending on Culture Condition. *Acta Microbiologica Polonica*. **40**: 221-234.
- Rosa, L.H., Machado K.M.G., Jacop, C.C., Capelari, M., Rosa, C.A., Zani, C.L. (2003). Screening of Brazilian *Basidiomycetes* for Antimicrobial Activity. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. **98(7)**, 967-974.
- Roupas, P., Keogh, J., Noakes, M., Margetts, C., Taylor, P. (2012). The role of edible mushrooms in health: Evaluation of the evidence. *Journal of Functional Food*. **4**, 687-709.
- Rout, S. and Banerjee, R. (2007) Free radical scavenging, anti-glycation and tyrosinase inhibition properties of a polysaccharide fraction isolated from the rind from *Punica granatum*. *Bioresour. Technol.* **98**, 3159–3163.

- Sánchez, C. (2004). Modern aspects of mushroom culture technology. *Appl Microbiol Biotechnol.* **64**, 756–762
- Sage, H.J. and Connett, S.L. (1969). Studies on a hemagglutinin from the meadow mushroom. *J. Biol. Chem.* **244**, 4713–4719.
- Sakagami H., Aoki T., Simpson A. and Tanuma S. I. (1991) Induction of immunopotential activity by a protein-bound polysaccharide, PSK (Review). *Anticancer Res.* **11**, 993-1000.
- Sakagami, H. and Takeda, M. (1993). *Diverse biological activity of PSK (Krestin), a protein-bound polysaccharide from Coriolus versicolor* (Fr.) Quel., in *Mushroom Biology and Mushroom Products*, Chang, S.T., Buswell, J.A., and Chiu, S.W., Eds., Chinese University Press, Hong Kong, chap. **25**.
- Sakai, T., Yamashita, Y., Maekawa, T., Mikami, K., Hoshino, S., & Shirakusa, T. (2008). Immunochemotherapy with PSK and fluoropyrimidines improves long-term prognosis for curatively resected colorectal cancer. *Cancer Biotherapy and Radiopharmaceuticals.* **23**, 461–467.
- Sakamoto, J., Morita S., Oba K., Matsui, T., Kobayashi, M., Nakazato, H., & Ohashi, Y. (2006). Efficacy of adjuvant immunochemotherapy with polysaccharide K for patients with curatively resected colorectal cancer: A meta-analysis of centrally randomized controlled clinical trials. *Cancer Immunology Immunotherapy.* **55**, 404–411.
- Schempp, C.M., Simon-Haarhaus, B., Termeer, C.C. and Simon, J.C. (2001) Hypericin photo-induced apoptosis involves the tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) and activation of caspase-8. *FEBS Lett.* **493**, 26–30.
- Scheperkin, I.A. & Quinn, M.T. (2006). Botanical polysaccharides: Macrophage immunomodulation and therapeutic potential. *International Immunopharmacology.* **6**, 317–333.
- Shao, B., Dai, H., Xu, W., Lin, Z. and Gao, X. (2004). Immune receptors for polysaccharides from *Ganoderma lucidum*. *Biochemical and Biophysical Research Communications.* **323**, 133–141.
- Sharma, A.K., Jana, Dr. A.M., Srivasta, Dr.A., Gupta, Dr. Madhu, Sharma, S., Gill, S.S. (2014). Antimicrobial properties of some edible mushrooms: A review. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences.* **3(5)**, 1009-1023.
- Sharma, N. (2003). Medicinal uses of macrofungi. *Ethnobotan.* **15**, 97-99

- Sharon, N. and Lis, H., (1972). Lectins: cell-agglutinating and sugar-specific proteins. *Science*. **177**, 949–959.
- Shi, Y.L., James, A.E., Benzie, I.F.F., and Buswell, J.A. (2002). Mushroom-derived preparations in the prevention of H₂O₂-induced oxidative damage to cellular DNA. *Teratogenesis Carcinogenesis Mutagenesis*. **22**, 103–111.
- Shibata, M., Shimura, T., Nishina, Y., Gonda, K., Matsuo, S., Abe, H., et al. (2011). PSK decreased FOLFOX4-induced peripheral neuropathy and bone marrow suppression in patients with metastatic colorectal cancer. *Gan To Kagaku Ryoho*. **38**, 797–801.
- Shimizu, K., Watanabe, S., Watanabe, S., Matsuda, K., Suga, T., Nakazawa, S., et al. (2009). Efficacy of oral administered superfine dispersed lentinan for advanced pancreatic cancer. *Hepatogastroenterology*. **56**, 240–244.
- Simic, M.G. (1988). Mechanisms of inhibition of free-radical processed in mutagenesis and carcinogenesis. *Mutation Research*. **202**, 377–386.
- Smiderle, F.R. Olsen, L.M. Carbonero, E.R. Baggio, C.H. Freitas, C.S. Marcon, R. et al (2008). Anti-inflammatory and analgesic properties in a rodent model of a (1-3), (1-6)-linked β -glucan isolated from *Pleurotus pulmonarius*. *European Journal of Pharmacology*. **597**, 86–91.
- Soares, R., Meireles, M., Rocha, A., Pirraco, A., Obiol, D., Alonso, E., et al. (2011). Maitake (D fraction) mushroom extract induces apoptosis in breast cancer cells by BAK-1 gene activation. *Journal of Medicinal Food*. **14**, 563–572.
- Stamets, P. (2002). Novel antimicrobials from mushrooms. *Herbal Gram*, **54**: 29-33.
- Stanley, G., Harvey, K., Slivova, V., Jiang, J., and Sliva, D. (2005). *Ganoderma lucidum* suppresses angiogenesis through the inhibition of secretion of VEGF and TGF-beta1 from prostate cancer cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **330**, 46–52.
- Suay, I., Arenal, F., Asenio, F. J., Basilio, A., Cabello, M. A., Diez, M. T., Garcia, J. B., del Val, A. G., Gorrochategui, J., Hernandez, P., Pelaez, F., Vicente, M. F. (2000). Screening of basidiomycetes for antimicrobial activities. *Antonie van Leeuwenhoek*. **78**: 129-139.
- Sun, T., Tang, J., Powers, J.R. (2007). Antioxidant activity and quality of asparagus affected by microwave-circulated water combination and conventional sterilization. *Food Chemistry*, **100**, 813–819.

- Sun, Y. and Liu, J. (2009). Purification, structure and immunobiological activity of a water-soluble polysaccharide from the fruiting body of *Pleurotus ostreatus*. *Bioresour Technol.* **100**, 983–6.
- Suzuki, F., Koide, T., Tsunoda, A., and Ishida, N. (1973). Mushroom extract as an interferon inducer (I) Biological and physiological properties of spore extracts of *Lentinus edodes*. *Mushroom Sci.* **9** (Part I), 509–520.
- Swamy, J. and Ramsay, J.A. (1999). The evaluation of white – rot fungi in the decolorization of textile dyes. *Enzyme. Microb. Technol.* **24**:130-137.
- Takehara, M., Kuida, K. and Mori, K. (1979). Antitumor effect of virus-like particles from *Lentinus edodes* (shiitake). *Arch. Virol.* **59**, 269–274.
- Takizawa, C. (1991). Clinical study on immunological activation response at the gastric cancer lesion by polysaccharide systemic administration. *J. Tokyo Med. College.* **49**, 177-185.
- Teissedre, P.L. and Landrault, N. (2000). Wine phenolics: contribution to dietary intake and bioavailability. *Food Research International.* **33**, 461–467.
- Tenover, F.C. (2006). Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. *Am J Infect Control.* **34**, 3-10.
- Tindall, J. and Clegg, E. (1999). The Effectiveness of *Coriolus versicolor* supplementation in the treatment of Kaposi's Sarcoma in HIV + Patients. Poster 8.16. *10th International Congress of Mucosal Immunology.* June 27- July 1. Amsterdam, Netherlands.
- Toklu, H.Z., Sener, G., Jahovic, N., Uslu, B., Arbak, S. & Yegen, B.C. (2006). β -glucan protects against burn-induced oxidative organ damage in rats. *International Immunopharmacology.* **6**, 156–169.
- Tong, H., Xia, F., Feng, K., Sun, G., Gao, X., Sun, L., Jiang, R., Tian, D., Sun, X. (2009). Structural characterization and in vitro antitumor activity of a novel polysaccharide isolated from the fruiting bodies of *Pleurotus ostreatus*. *Bioresource Technology.* **100**, 1682–1686.
- Tsang, K.W., Lam, C.L., Yan, C., Mak, J.C., Ooi, G.C., Ho, J.C., Lam, B., Man, R., Sham, J.S., Lam, W.K. (2003). *Coriolus versicolor* polysaccharide peptides lows progression of advanced non-small cell lung cancer. *Respir. Med.* **97**, 618–624.
- Tsukagoshi, S., Hashimoto, Y., Fujii, G., Kobayashi, H., Nomoto, K. and Orita, K. (1984) Krestin (PSK). *Cancer Treat. Rev.* **11**, 131-155.

- Tsunoda, A. and Ishida, N. (1969). A mushroom extract as an interferon inducer. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **173**, 719–726.
- Tuor, U., Winterhalter, K., Fiechter, A. (1995). Enzymes of white-rot fungi involved in lignin degradation and ecological determinants for wood decay. *J. Biotechnol.* **41**, 1–17.
- Turkoğlu, A., Duru, M.E., Mercan, N., Kivrak, I., Gezer, K. (2007). Antioxidant and antimicrobial activities of *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill. *Food Chemistry.* **101**, 267–273.
- U.S. National Cancer Institute. (1992). *In vitro* anti-HIV drug screening results, developmental therapeutics program, Jan. 17.
- Umehara, S., Fujiwara, H., Suchi, K., Okamura, S., Okamura, H., Todo, M., et al. (2009). PSK-mediated growth suppression and enhancement of 5-FU/docetaxel-induced cytotoxicity in human esophageal cancer cell lines. *Gan To Kagaku Ryoho.* **36**, 1972–1974.
- Unyayar, A., Demirbilek, M., Turkoglu, M., Celik, A., Mazmanci, M., Erkurt, A., Ünyayar, S., Cekic, Ö., Erkurt, A., Atacag, H. (2006). Evaluation of Cytotoxic and Mutagenic effects of *Coriolus versicolor* and *Funalia trogii* extracts on mammalian cells. *Drug Chem. Toxicol.* **1**, 1–15.
- Ushiyama, R., Nakai, Y., and Ikegami, M. (1971). Evidence for double-stranded RNA from polyhedral viruslike particles in *Lentinus edodes* (Berk.) Sing, *Virology.* **77**, 880–883.
- van der Waaij, D. and Nord, C.E. (2000). Development and persistence of multi-resistance to antibiotics in bacteria; An analysis and a new approach to this urgent problem. *Int J Antimicrob Agents.* **16**, 191–197.
- Wan, J.M., Sit, W.H., & Louie, J.C. (2008). Polysaccharopeptide enhances the anticancer activity of doxorubicin and etoposide on human breast cancer cells ZR-75-30. *International Journal of Oncology,* **32**, 689–699.
- Wang, G.Y., Zhang, J., Li, H., Zhang, C., Mizuno, T., Ito, H., Mayuzumi, H., Okamoto, H., & Li, J. (1993). Antitumor active polysaccharides from the Chinese mushroom Songshan Lingzhi, the fruiting body of *Ganoderma tsugae*. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry.* **57(6)**, 894–900.
- Wang, H.X., Gao, J.Q., Ng, T.B. (2000). A new lectin with highly potent antihepatoma and antisarcoma activities from the oyster mushroom P.

- Ostreatus. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. **275**, 810–816.
- Wang, H.X., Ng, T.B., Liu, W.K., Ooi, V.E.C., and Chang, S.T. (1995). Isolation and characterization of two distinct lectins with antiproliferative activity from the cultured mycelium of the edible mushroom *Tricholoma mongolicum*. *Int. J. Peptide Protein Res.* **46**, 508–513.
- Wang, H.X., Ng, T.B., Ooi, V.E.C., Liu, W.K., and Chang, S.T. (1997). Action of lectins from the mushroom *Tricholoma mongolicum* on macrophages, splenocytes and life-span in sarcoma-bearing mice. *Anticancer Res.*, **17**, 415–420.
- Wang, H.X., Ooi, V.E.C., Ng, T.B., Chiu, K.W., and Chang, S.T. (1996). Hypotensive and vasorelaxing activities of a lectin from edible mushroom *Tricholoma mongolicum*, *Pharmacol. Toxicol.* **79**, 318–323.
- Wang, J., Zhou, Z.D., & Xia, D.J. (2007). Study on effect of lentinan in enhancing antitumor action of dendritic cytochrome c vaccine and its mechanism. *Chinese Journal of Integrative Medicine*. **27**, 60–64.
- Wang, Y.B., Lou, Y., Luo, Z.H. F., Zhang, D. F. and Wang, Y.ZH. (2003) Induction of apoptosis and cell cycle arrested by polyvinylpyrrolidone K-30 and protective effect of a-tocopherol. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **308**, 878–884.
- Wang, Z.H., Wu, B.J., Zhang, X.H., Xu, M., Chang, H.M., Lu, X., et al. (2012). Purification of a polysaccharide from *Boschniakia rossica* and its synergistic antitumor effect combined with 5-Fluorouracil. *Carbohydrate Polymers*. **89**, 31–35.
- Wasser, S.P. (2002). Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides. *Applied Microbiology and Biotechnology*. **60**, 258.
- Wasser, S.P. and Weis, A.L. (1999). Medicinal properties of substances occurring in higher Basidiomycetes mushrooms: current perspective (review). *Int. J. Med. Mushrooms*. **1**, 31-62.
- Wesenberg, D., Buchon, F. and Agathos, S.N. (2002). Degradation of Dye Containing Textile Effluent by Agaric White - Rot Fungus *Clitocybula dusenii*. *Biotechnology Letters*. **24**: 989-993.

- Williams, G.M. and Iatropoulos, M.J. (1997). *Antiocarcinogenic effects of synthetic phenolic antioxidants*. In: Baskin, S., Salem, H. (Eds.), *Oxidants, Antioxidants, and Free Radicals*. Taylor & Francis, USA, pp. 341–350.
- World Health Organization report antimicrobial resistance (AMR). Available at http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2010/amr_20100820/en/index.html. Accessed January 21, 2012.
- World Health Organization report on infectious diseases 2000- Overcoming antimicrobial resistance. Available at <http://www.who.int/infectious-disease-report>. Accessed January 21, 2012.
- World Health Organization. (2017). Cancer. Retrieved from <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/>
- Wu, J.Y., Chen, C.H., Chang, W.H., Chung, K.T., Liu, Y.W., Lu, F.J. and Chen C.H. (2011). Anti-Cancer Effects of Protein Extracts from *Calvatia lilacina*, *Pleurotus ostreatus* and *Volvariella volvacea*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. Article ID 982368, 10 pages.
- Wu, S.R., Luo, X.L., Liu, B., & Gui, M.Y. (2010). Analyse and advise to research and development of wild edible fungi. *Food Science and Technology*. **35**, 100–103.
- Xu, J., Liu, W., Yao, W., Pang, X., Yin, D. and Gao, X. (2009). Carboxymethylation of a polysaccharide extracted from *Ganoderma lucidum* enhances its antioxidant activities in vitro. *Carbohydrate Polymers*. **78**, 227–234.
- Yaltirak, T., Aslim B., Ozturk S., Alli H. (2009). Antimicrobial and antioxidant activities of *Russula delica* Fr. *Food Chem. Toxicol.* **47**, 2052–2056.
- Yamasaki-Miyamoto, Y., Yamasaki, M., Tachibana, H., & Yamada, K. (2009). Fucoidan induces apoptosis through activation of caspase-8 on human breast cancer MCF- 7 cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **57**, 8677–8682.
- Yang, B., Liang, M.H., Zhang, Y.X., & Shen, B.Z. (2008). Clinical application of a combination therapy of lentinan, multi-electrode RFA and TACE in HCC. *Advances in Therapy*. **25**, 787–794.
- Yang, Q.Y. (1993). A brief introduction to the research of PSP, in 1993 *PSP International Symposium*, Yang, Q.Y. and Kwok, C.Y., Eds., Fudan University Press, Shanghai, China, intro. II.

- Yang, Z., Xu, J., Fu, Q., Fu, X., Shu, T., Bi, Y., Song, B. (2013). Antitumor activity of a polysaccharide from *Pleurotus eryngii* on mice bearing renal cancer. *Carbohydrate Polymers*. **95**, 615–620.
- Yanga, J.H., Lin, H.C., & Maub, J.L. (2002). Antioxidant properties of several commercial mushrooms. *Food Chemistry*. **77**, 229–235.
- Ye, M., Liu, J.K., Lu Z.X., Zhao, Y., Liu, S.F., Li, L.L., Tan, M., Weng X.X., Li, W., Cao, Y. (2005). Grifolin, a potential antitumor natural product from the mushroom *Albatrellus confluens*, inhibits tumor cell growth by inducing apoptosis in vitro. *FEBS Letters*. **579**, 3437–3443.
- Yesilada, O., Sik, S., Sam, M. (1998). Biodegradation of olive oil mill wastewater by *Coriolus versicolor* and *Funalia trogii*: effects of agitation, initial COD concentration, inoculum size and immobilization. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*. **14** (1), 37-42.
- Yeşilada, Ö. ve Bozcuk, A.N. (1990). Alkol Fabrikası Atığının Renginin Gideriminde Bazı Beyaz Çürükçül Fungusların Kullanımı. *Çevre Biyolojisi Sempozyumu*, Ankara.
- Yeşilada, Ö., Asma, D. and Cing, S., (2003). Decolorization of Textile Dyes by Fungal Pellets. *Process Biochemistry*. **38**, 933-938.
- Yoshida, O., Nakashima, K., Yoshida, T., Kaneko, Y., Yamamoto, I., Matsuzaki, K., Uryu, T., and Yamamoto, N. (1988). Sulfation of the immunomodulating polysaccharide lentinan: a novel strategy for antivirals to human immunodeficiency virus (HIV). *Biochem. Pharm.* **37**, 2887–2891.
- Yoshino, S., Watanabe, S., Imano, M., Suga, T., Nakazawa, S., Hazama, S., et al. (2010). Improvement of QOL and prognosis by treatment of superfine dispersed lentinan in patients with advanced gastric cancer. *Hepatogastroenterology*. **57**, 172–177.
- Yoshino, S., Yoshida, S., Maeda, N., Maeda, Y., Maeda, K., Hazama, S., et al. (2010). Clinical evaluation of the combination treatment of intrapleural or intraperitoneal administration of lentinan and OK-432 for malignant effusion. *Gan To Kagaku Ryoho*. **37**, 2798–2800.
- Yoshitani, S. and Takashima, S. (2009). Efficacy of postoperative UFT (Tegafur/Uracil) plus PSK therapies in elderly patients with resected colorectal cancer. *Cancer Biotherapy and Radiopharmaceuticals*. **24**, 35–40.

- Youn, M.A., Kim, J.K., Park, S.Y., Kim, Y., Kim, S.J., Lee, J.S., Chai, K.Y., Kim, H.J., Cui, M.X., So, H.S., Kim, K.Y. & Park, R. (2008). Chaga mushroom (*Inonotus obliquus*) induces G(0)/G(1) arrest and apoptosis in human hepatoma HepG2 cells. *World Journal of Gastroenterology*. **14**, 511–517.
- Yuen, J.W.M. and Gohel, M.D.I. (2008). The dual roles of *Ganoderma* antioxidants on urothelial cell DNA under carcinogenic attack. *Journal of Ethnopharmacology*. **118**, 324–330.
- Zaidman, B.Z., Yassin, M., Mahajna, J., & Wasser, S.P. (2005). Medicinal mushroom modulators of molecular targets as cancer therapeutics. *Applied Microbiology and Biotechnology*. **67**, 453–468.
- Zhang, M., Cui, S.W.M., Cheung, P.C.K. & Wang, Q. (2007). Antitumor polysaccharides from mushroom: A review on their isolation process, structural characteristics and antitumor activity. *Trends in Food Science and Technology*. **18**, 4-19.
- Zhao, J.D. and Zhang X.Q. (1994). Resources and taxonomy of Ling Zhi (ganoderma) in China. *Int. Symp. Ganoderma Res*, Beijing Medical University, Beijing.
- Zhao, L., Dong, Y., Chen, G., Hua Q. (2010). Extraction, purification, characterization and antitumor activity of polysaccharides from *Ganoderma lucidum*. *Carbohydrate Polymers*. **80**, 783–789.
- Zhao, X.Y. and Feldman, D. (2001). The role of vitamin D in prostate cancer. *Steroids*. **6**, 293–300.
- Zhou, S. and Gao, Y. (2002). The immunomodulating effects of *Ganoderma lucidum* (Curt.: Fr.) P. Karst. (Ling Zhi, Reishi mushroom) (Aphyllophoromycetidae), *Int. J. Med. Mushrooms*. **4**, 1–11.
- Zhou, S., Gao, Y., Chan, E. (2005). Clinical trials for medicinal mushrooms: Experience with *Ganoderma lucidum* (W.Curt.:Fr.) Lloyd (Lingzhi Mushroom). *International Journal of Medicinal Mushrooms*. **7**, 111–117.
- Zhuang, O. and Mizuno, T. (1999). Biological responses from *Grifola frondosa* (Dick.:Fr.) S.F. Gray-Maitake (Aphyllophoromycetidae), *Int. J. Med. Mushrooms*. **1**, 317–324.
- Zimmermann, K.C., Bonzon, C., Green, D.R. (2001). The machinery of programmed cell death. *Pharmacol. Ther.* **92** (1), 57–70.

Zong, A., Cao H., Wang, F. (2012). Anticancer polysaccharides from natural resources: A review of recent research. *Carbohydrate Polymers*. **90**, 1395–1410.

ÖZGEÇMİŞ

- Adı Soyadı** : Ayfer KILIÇ (SERİNDAG)
- Doğum Yeri ve Tarihi:** MALATYA - 14 /02 /1981
- Adresi** : Sevgi Mahallesi 667 Sokak No:4/13 Gaziemir/ İZMİR
- e-posta** : ayferserindag@gmail.com
- Lisans** : İnönü Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji
- Yüksek Lisans** : İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Tıbbi Mikrobiyoloji
- Mesleki Deneyim** : İnönü Üniversitesi
Turgut Özal Tıp Merkezi,
Merkez Mikrobiyoloji Laboratuvarı - Biyolog

Yayın Listesi:

1. Yetkin, Gülay; Kuzucu, Çiğdem; **Serindağ, Ayfer**. Bir yıl içinde incelenen kan kültürlerinde üreyen bakterilerin dağılımı. Türk Mikrobiyol Cem Derg. 36 (3): 155-159. 2006.
2. Duman, Yücel; Güçlüer, Nilay; **Serindağ, Ayfer**; Tekerekoğlu, Mehmet Sait. *Escherichia coli* Suşlarında Antimikrobiyal Duyarlılık ve Genişlemiş Spektrumlu-Beta Laktamaz (GSBL) Varlığı. Fırat Tıp Dergisi. 15, 4, 197- 200. 2010.
3. Duman, Yücel; **Serindağ, Ayfer**, Tekerekoğlu, Mehmet Sait. Klinik örneklerden izole edilen *Staphylococcus aureus*'ların antimikrobiyallere direnç durumu. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi. 16 (3) 145-148. 2009.
4. Tekerekoğlu, Mehmet Sait; Duman, Yücel; **Serindağ, Ayfer**; et al. Do mobile phones of patients, companions and visitors carry multidrug-resistant hospital pathogens? American Journal of Infection Control. Vol. 39, Issue 5, Pages 379-381. 2011.
5. Selma Ay, Ahmet Mansur, Barış Otlu, **Ayfer Serindağ**, Mehmet Sait Tekerekoğlu, Fikret Karademir. MBL E Test Araştırmasında 5 Farklı Marka

Müller-Hinton Agar Besiyerlerinden Elde Edilen Sonuçların Değerlendirilmesi.
Journal of Turgut Ozal Medical Center. 23(1): 21-25. 2016.

6. Elif Apohan, Ulku Yilmaz, Ozgur Yilmaz, **Ayfer Serindag**, Hasan Kucukbay, Ozfer Yesilada, Yusuf Baran. Synthesis, cytotoxic and antimicrobial activities of novel cobalt and zinc complexes of benzimidazole derivatives. Journal of Organometallic Chemistry. 828: 52-58. 2017.
7. Bugday, N., Kucukbay F. Z., Apohan, E., Kucukbay, H., **Serindag, A.**, Yesilada, O. (2017). Synthesis and Evaluation of novel benzimidazole conjugates incorporating amino acids and dipeptide moieties. Letters in Organic Chemistry. **14**, 198-206.
8. **Ayfer Serindağ**, Elif Apohan, Özfer Yeşilada. Akciğer kanseri hücreleri üzerine bazı beyaz çürükçül fungus ekstraktlarının sitotoksik etkilerinin araştırılması. 22. Ulusal Biyoloji Kongresi, 23-27 Haziran 2014, Osmangazi Üniversitesi, Eskişehir. B-P2-19.
9. Elif Apohan, Ülkü Yılmaz, Özgür Yılmaz, **Ayfer Serindağ**, Özfer Yeşilada, Hasan Küçükbay, Emin Kaya, Yusuf Baran, Yağmur Kiraz. Yeni Benzimidazol Metal Kompleks Bileşiklerinin KML Hücreleri Üzerine Sitotoksik Etkisi. Ulusal katılımlı Deneysel Hematoloji Kongresi, 17-19 Nisan 2015, Kayseri. P 59.
10. Elif Apohan, Ozfer Yesilada, Ozgur Yilmaz, **Ayfer Serindag**, Ulku Yilmaz, Hasan Küçükbay, Emin Kaya and Yusuf Baran. Cytotoxic effect of benzimidazole metal complex compounds on lung cancer cells (A549). 9th Biotechnology Congress, August 31-September 02, 2015. Orlando, Florida, USA. <http://dx.doi.org/10.4172/2155-9597.C7.014>.
11. Elif Apohan, **Ayfer Serindağ**, Özgür Yılmaz, Ülkü Yılmaz, Özfer Yeşilada, Hasan Küçükbay, Emin Kaya, Yusuf Baran. Kronik Myeloid Lösemi Hücreleri Üzerine Yeni Benzimidazol Metal Kompleks Bileşiklerle İmatinibin Birlikte Sitotoksik Etkisi. 18. Ulusal Biyoteknoloji Kongresi. 18-19 Aralık 2015, Konya. P-TBB-8.