

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BESLENME VE DİYETETİK YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

**SELAM OTU (*Levisticum officinale*) FONKSİYONEL
BESİNİNİN *Caenorhabditis elegans* TERMOTOLERANSI
ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

ECE BOZTEPE
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Doç. Dr. Serdal ÖĞÜT

Bu tez Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından SBF-18002 proje numarası ile desteklenmiştir.

AYDIN-2018

KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde Ece BOZTEPE tarafından hazırlanan “Selam Otu (*Levisticum officinale*) Fonksiyonel Besininin *Caenorhabditis elegans* Termotoleransı Üzerine Etkilerinin İncelenmesi” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 27/ 11 / 2018

Üye (T.D.) : Doç. Dr. Serdal ÖĞÜT
Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Şükrü GÜLEÇ
İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü Mühendislik Fakültesi

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Murat Kemal AVCI
Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi

ONAY:

Bu tez Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsününtarih vesayılı oturumunda alınannolu Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Enstitü Müdürü
Prof. Dr. Ahmet CEYLAN

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve tez süresince gerek bilgi gerek deneyimleriyle her zaman desteğini hissettiğim saygıdeğer danışman hocam Doç. Dr. Serdal ÖĞÜT'e,

Tez aşamasının her adımında sabrı, rehberliği, bilimsel bilgi ve tecrübeleriyle yardımcı olan ve deney sürecinin yürütüldüğü yer olan İstinye Üniversitesi'nin imkanlarını hiçbir şekilde esirgemedi sunan sayın hocam Prof. Dr. Abdullah OLGUN'a,

Deney aşamalarında destek olan İstinye Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Öğr. Üyesi Elif YAVUZ DOKGÖZ'e, Ar. Gör. Meltem GÜLEÇ'e, Öğr. Üyesi Ayşegül ÇALIŞKAN'a ve İstinye Üniversitesi'nin yardımsever laboratuvar personellerine,

Tezimin istatistiksel olarak değerlendirilmesine katkı sağlayan sayın Dr. Öğr. Üyesi Murat Kemal AVCI'ya,

Yüksek lisans tez deney çalışmaları boyunca her aşamada yanımda bulunan ve yardımlarını esirgemeyen sevgili arkadaşım Diyetisyen Nazmi SAVAŞ'a,

Projenin yürütülmesinde finansal destek sağlayan Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri'ne,

Her zaman yanımda olan, tezim süresince beni yüreklendiren ve bana inanan canım ailem; annem Tülay, babam Sami ve sevgili kız kardeşlerim Tuğçe ve Sude BOZTEPE'ye sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

KABUL ONAY	i
TEŞEKKÜR.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
TABLolar DİZİNİ.....	vii
ÖZET.....	viii
ABSTRACT.....	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. <i>Caenorhabditis elegans</i>	2
2.1.1. <i>Caenorhabditis elegans</i> 'ta Termotolerans.....	4
2.2. Fonksiyonel Besin.....	5
2.2.1. Bitkisel Kaynaklı Fonksiyonel Bileşikler.....	6
2.2.2. Diğer Fonksiyonel Bileşikler.....	10
2.3. <i>Levisticum officinale</i> (Selam otu).....	12
2.3.1. Botanik Özellikleri.....	13
2.3.2. Kimyasal Bileşimi.....	14
2.3.3. Selam Otu nun İnsan Sağlığı Üzerine Etkisi.....	17
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	19
3.1. GEREÇ.....	19
3.1.1. Kullanılan Laboratuvar Malzeme ve Araçları.....	19
3.1.2. Kullanılan Kimyasallar.....	19
3.2. Yöntem.....	20
3.2.1. NGM (nematod growth medium) Hazırlanması ve Bitki Ekstresinin NGM' İlave Edilmesi.....	20
3.2.2. <i>E.coli</i> OP50 Suşunun Hazırlanması.....	20
3.2.3. Selam Otu Bitki Ekstreli NGM'lere <i>Escherichia coli</i> Ekimi.....	20
3.2.4. FUDR (fluorodeoxyuridine) İlavesi.....	21

3.2.5. Senkronizasyon.....	22
3.2.6. Termotolerans Deneyi.....	22
3.2.6.1. FUDR içermeyen termotolerans deneyi.....	22
3.2.6.2. FUDR içeren termotolerans deneyi.....	23
3.2.6.3. Selam otu bitki ekstreli termotolerans deneyi.....	23
3.3. İstatistiksel Analiz.....	23
4. BULGULAR.....	24
5. TARTIŞMA.....	39
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	43
KAYNAKLAR.....	44
ÖZGEÇMİŞ.....	48

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

ADA	: American Dietetic Association
<i>C.elegans</i>	: <i>Caenorhabditis elegans</i>
°C	: Santigrat derece
CGC	: <i>Caenorhabditis</i> Genetik Merkezi
DAF	: Dauer formasyonu
DHA	: Dokosaheksaenoik asit
EPA	: Eikosapentoenoik asit
<i>E.coli</i>	: <i>Escherichia coli</i>
FudR	: fluorodeoxyuridine
GSH-Px	: Glutasyon peroksidaz
gr	: Gram
Hsp-16	: Heat shock protein-16
Hsp-70	: Heat shock protein-70
İnsülin/IGF-1	: İnsülin Like Growth Factor
JNK	: c-jun-N-terminal kinaz
MİK	: Minimal inhibisyon konsantrasyonu
ml	: Mililitre
N	: Molar
OD	: Optik Dansite
Ppm	: Milyonda bir (parts per million)
SOR	: Serbest Oksijen Radikali
SR	: Serbest Radikal
sn	: Saniye
TOR	: Target of rapamycin (Rapamisin hedefi sinyal yolağı)
UV	: Ultraviyole
μ	: mikro

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. <i>Caenorhabditis elegans</i> 'ın yaşam döngüsü.....	3
Şekil 2. Selam otu (<i>Levisticum officinale</i>) bitkisi.....	14
Şekil 3. Selam otunda bulunan önemli ftalitlerin kimyasal yapıları.....	15
Şekil 4. Selam otu bitkisinin farklı kısımlarının major uçucu yağ bileşenleri.....	16
Şekil 5. Selam otu bitkisinde bulunan kumarinlerin kimyasal yapıları.....	16
Şekil 6. FUDR'siz ekstresiz termotolerans deney sonuç grafiği.....	24
Şekil 7. FUDR'li ekstresiz termotolerans deney sonuç grafiği.....	24
Şekil 8. FUDR'li selam otu ekstreli termotolerans deney sonuç grafiği	25
Şekil 9. Selam otu ekstrelerinin <i>C.elegans</i> termotoleransı üzerine etkisini belirlemeye yönelik analiz sonuçları.....	29

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. Bazı önemli fitokimyasallar.....	8
Tablo 2. Deney gruplarının son konsantrasyonları ve NGM'lere eklenen <i>E.coli</i> ve <i>Levisticum officinale</i> bitki ekstresi miktarları.....	21
Tablo 3. Selam otu ekstralarının <i>C.elegans</i> termotoleransı üzerindeki etkisine yönelik elde edilen ham veriler.....	26
Tablo 4. Normalite Testi sonuçları.....	27
Tablo 5. Selam otu ekstralarının <i>C.elegans</i> termotoleransı üzerine etkisine yönelik test gruplarının varyans homojenitelerine ait test sonuçları.....	28
Tablo 6. Selamotu ekstralarının <i>C.elegans</i> termotoleransı üzerine etkisi ile ilgili tanımlayıcı veriler.....	28
Tablo 7. Selamotu Anova Testi.....	30
Tablo 8. Selamotu ekstralarının <i>C.elegans</i> termotoleransı üzerine etkilerinin belirlenmesinde TUKEY TESTİ sonuçları.....	31
Tablo 9. Selamotu ekstralarının <i>C.elegans</i> termotoleransı üzerine etkilerinin belirlenmesinde BONFERRONİ TESTİ sonuçları.....	32
Tablo 10. SelamotuKontrol (grup1) ve Selamotu20 (grup2) grubu arasında Bağımsız Örneklem T-testi sonuçları.....	33
Tablo 11. SelamotuKontrol (grup1) ve Selamotu100 (grup3) grubu arasında Bağımsız Örneklem T-testi sonuçları.....	34
Tablo 12. SelamotuKontrol (grup1) ve Selamotu200 (grup4) grubu arasında Bağımsız Örneklem T-testi sonuçları.....	35
Tablo 13. Selamotu20 (grup2) ve Selamotu100 (grup3) grubu arasında Bağımsız Örneklem T-testi sonuçları.....	36
Tablo 14. Selamotu20 (grup2) ve Selamotu200 (grup4) grubu arasında Bağımsız Örneklem T-testi sonuçları.....	37
Tablo 15. Selamotu100 (grup3) ve Selamotu200 (grup4) grubu arasında Bağımsız Örneklem T-testi sonuçları.....	38

ÖZET

SELAM OTU (*LEVISTICUM OFFICINALE*) FONKSİYONEL BESİNİNİN *CAENORHABDITIS ELEGANS* TERMOTOLERANSI ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

BOZTEPE E. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Beslenme ve Diyetetik Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2018.

Hastalıkların önlenmesi ve tedavi süreçlerinde besinlerin kullanılması, besinlerin sağlığı korumadaki etkisini daha iyi anlamamızı sağlamıştır. Antioksidan etki gösteren besinlerin insan sağlığı üzerine olumlu etkisi yapılan çalışmalarca gösterilmiştir. Bu çalışmada da antioksidan kapasitesi yüksek, aromatik bir bitki olan selam otu (*Levisticum officinale*) kullanılmıştır. Sıcak stresine karşı direnç (termotolerans) sağlayan antioksidan bileşikler, yaşlanmayı geciktirmekte bunun sonucu olarak da canlının yaşam süresinin artmasını sağlamaktadır. *Caenorhabditis elegans*'ın insan genleriyle büyük oranda benzerliği, genetik yapısının iyi bilinmesi ve yaşam süresinin kısa olması gibi özellikleri sayesinde yaşlanma çalışmalarında sıklıkla kullanılmaktadır. Deney, selam otu (*Levisticum officinale*) bitki ekstresinin farklı konsantrasyonları (20, 100 ve 200 µg/ml) ve kontrol grubu ile 35° C'de gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar değerlendirildiğinde 100 µg/ml konsantrasyonda hazırlanan selam otu ekstreleri *Caenorhabditis elegans* termotoleransını arttırırken 20 µg/ml ve 200 µg/ml konsantrasyonlardaki ekstreler kontrol grubu ile benzer sonuç vermiştir. *Levisticum officinale* ekstresi kullanılarak yapılacak daha sonraki çalışmalar için, elde edilen bu veriler önem arz edebilir.

Anahtar Kelimeler: *Caenorhabditis elegans*, termotolerans, *Levisticum officinale*, yaşlanma

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE EFFECT OF LOVAGE (*LEVISTICUM OFFICINALE*) FUNCTIONAL FOOD ON THERMOTOLERANCE OF *CAENORHABDITIS* *ELEGANS*

BOZTEPE E. Adnan Menderes University Institute of Health Science Nutrition and Dietetics Master's Thesis, AYDIN, 2018

The prevention of diseases and the use of nutrients in the treatment process have enabled us to better understand the impact of nutrients on health protection. The positive effects of antioxidant foods on human health have been shown by studies. In this study, lovage (*Levisticum officinale*) was used to have an aromatic plant with high antioxidant capacity. Antioxidant compounds that provide resistance to heat stress (thermotolerance) delay aging and consequently increase the life span of the organism. *Caenorhabditis elegans* is widely used in aging studies because of its similarity with human genes, its well-known genetic structure and short life span. The experiment was carried out at different concentrations (20, 100 and 200 µg / ml) of the plant extract of the lovage (*Levisticum officinale*) and at 35 ° C with the control group. When the results were evaluated, the lovage extracts prepared at a concentration of 100 µg / ml increased the *Caenorhabditis elegans* thermotolerance, while the extracts at concentrations of 20 µg / ml and 200 µg / ml showed similar results with the control group. For later studies using *Levisticum officinale* extract, these data may be important.

Key Words: *Caenorhabditis elegans*; thermotolerance; *Levisticum officinale*, aging

1. GİRİŞ

Yaşlanma, çoğu türün yaşadığı büyüleyici bir doğal durumdur. Bu süreci etkileyen genetik, çevresel, epigenetik ve birçok değişken faktör olduğu solucanlar, sinekler, mayalar ve fareler gibi birçok model organizmada gösterilmiştir. *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*), yaşlanmanın genetik temelini kabul edildiği ilk model organizmadır (Amrit ve ark, 2014). *C. elegans*'ın, insan genleriyle %60-80 oranındaki benzerliği, memelilere ait birçok çalışmanın bu canlıda yapılmasına olanak sağlamıştır. Nobel Tıp ve Fizyoloji ödülleri, 2002 ve 2006 yıllarında bu model organizmanın kullanıldığı bilimsel araştırmaya verilmiştir (Ergen, 2012). *C. elegans*, doğada ağaç diplerinde yaşayan, mikroskopik, patojen olmayan bir nematodur (Pirinç ve Türkoğlu, 2016). Hermafrodit ve erkek olmak üzere iki cinsiyeti bulunmaktadır. Yaşam süresinin kısa olması, yaşlanma çalışmalarında kullanılmasının önemli sebepleri arasındadır. Yaşam süresi boyunca tüm hücresel gelişim süreci çok iyi bilinmektedir. Memeli olmamasına rağmen yaşlanma, kanser, konjenital kalp hastalıkları, sinirsel bozukluklar, böbrek hastalıkları ve depresyon gibi insana özgü hastalık modeli olarak kullanılmaktadır (Olsen ve ark, 2006). Hastalıkları önlemede ve tedavi etmede uzun yıllar boyunca fonksiyonel besinlerden yararlanılmıştır (Childs, 2001). Fonksiyonel besinler, temel besin bileşenleriyle beraber vücutta özel fizyolojik etki oluşturan, hastalıklara karşı koruyan ve hastalıkların tedavisinde yardımcı olan gıdalar olarak tanımlanmaktadır. Fonksiyonel gıdalara verilen önemin artmasıyla beraber çalışmalara daha çok konu olmaktadır. Fonksiyonel bir bitki olan selam otu (*Levisticum officinale*) bu çalışmada kullanılan fonksiyonel gıdadır. Selam otundan, yüzyıllar boyunca hastalıklardan korunma ve tedavisinde yararlanılmıştır. Gıdalarda, tatlandırıcılarda, tıbbi preparatlarda ve kozmetiklerde yaygın olarak kullanılan aromatik bir bitkidir. Bitki içeriğindeki ana bileşenlerin çeşitli biyoaktivite gösterdikleri bildirilmiştir (Venskutonis, 2016). Yaşam ömrü uzunluğu ile sıcak stresine karşı direnç (termotolerans) arasında önemli bir ilişki vardır. Sıcak stresine karşı direnç arttıkça, canlı geç yaşlanmakta böylece yaşam süresi de artmaktadır. Antioksidan bileşikler, sıcak stresine karşı direnç sağlayabilmektedirler (Benedetti ve ark, 2008). Bu tez çalışmasının amacı, antioksidan kapasitesi yüksek olan selam otu bitkisinin, (*Levisticum officinale*) *Caenorhabditis elegans*'ın termotoleransı üzerine etkilerinin incelenmesini araştırmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Caenorhabditis elegans*

Caenorhabditis elegans, ağaç diplerinde yaşayan, mikroskopik, patojen olmayan bir nematodur. Laboratuvar şartlarında petri kabı içinde *Escherichia coli* bakterisi ile beslenir. Yumurtadan yeni çıkmış larvaları 0.25 mm, yetişkinleri ise 1 mm uzunluğundadır.

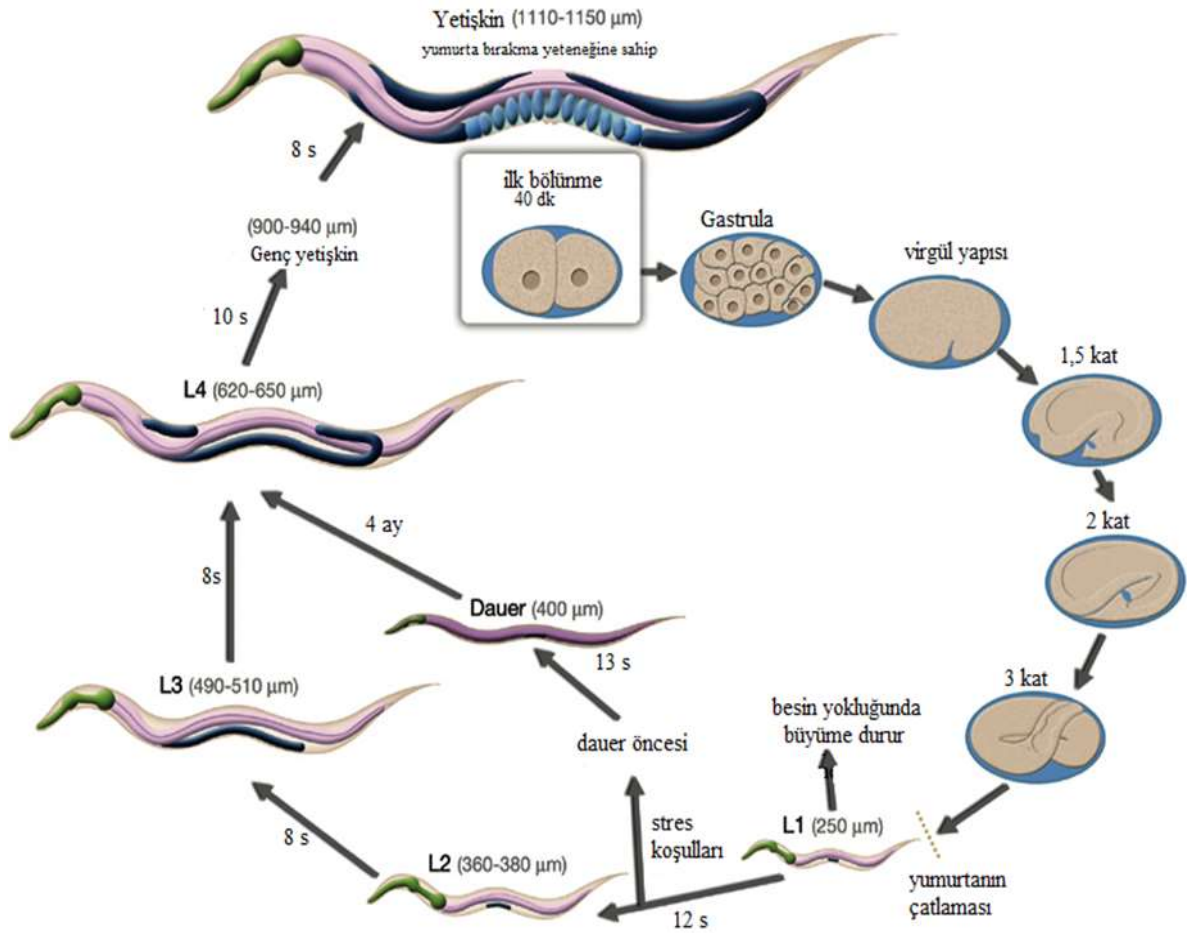
Yetişkin bir *C. elegans*'ın 959 hücresi vardır. Değişmez sayıda somatik hücreye sahip olması sayesinde fertilizasyondan yetişkinlik zamanına kadar her hücrenin takibi yapılabilmektedir (Sulston and Horvitz 1977; Kimble and Hirsh 1979; Sulston ve ark, 1983). Hızlı bir yaşam döngüsüne sahip olan *C. elegans*, yumurta evresinden yumurtlama evresine optimal koşullarda (25° C'de) 3 günde gelir. Hermafrodit ve erkek olmak üzere iki çeşit cinsiyet vardır. Erkek *C. elegans*'ın görülme sıklığı % 0.1'dir. Kendi kendini dölleyebilen *C. elegans* tüm petri kabını dolduracak kadar yumurta bırakabilmektedir.

Basit anatomik yapısına rağmen, yiyecek arama, beslenme, dışkılama, yumurtlama, dauer larva oluşumu, dokunmaya karşı tepki, koku ve tatma gibi birçok davranış şekli sergilemektedir. Kompleks davranışlar olarak erkek *C. elegans*'lar arasında çiftleşme, sosyal davranış olarak da hafıza ve öğrenme gibi özellikler sergilemektedir (Hall ve Altun, 2008).

C. elegans'ların yaşam döngüsü diğer nematodlara benzer şekilde dört larval evre ile yetişkinlik evresinden oluşur. Embriyonun oluşması ve gelişmesi 20° C' de yaklaşık 16 saat boyunca devam eder. Döllenen sonra oluşan yumurtanın kabuğu oldukça dayanıklıdır. Embriyo 24-hücre aşamasına kadar hermafrodit içerisinde tutulduktan sonraki aşamada artık hermafroditten tamamen bağımsızdır. Embriyoların yumurtadan çıktıkları ilk evre L1 evresidir. Yumurtadan çıkan larvalar bu aşamadan itibaren beslenmeye ve gelişmeye başlar. L1 aşaması yaklaşık 16 saat, diğer aşamaların tamamlanması ise 12 saat sürer. L4 evresinden yaklaşık 12 saat sonra, yetişkin hermafroditleri yumurta üretmeye başlar. Spermi tükenmiş bir hermafrodit, erkek *C. elegans* ile eşleşmesi sonucunda döllenmiş yumurta üretebilmektedir.

Ortamda besin miktarı azaldığında ve *C. elegans* sayısı çok fazla artış gösterdiğinde L2 larvaları alternatif bir yaşam döngüsüne girer ve bu evreye 'dauer evresi' denir (Golden ve Riddle, 1984). Dauer sinyali, L1 evresindeki *C. elegans*'lar tarafından işlenir. Dauer larva tabakası *C. elegans*'ın etrafını tamamen sarar. Larvanın beslenmesi ve gelişimi durur. Dauer larva tabakası kimyasallara karşı direncini artırmıştır. Bu nedenle dauer, çevresel streslere ve ajanlara karşı daha fazla koruma sağlar. Dauer larvalar, içerisinde besinin bulunduğu başka

bir ortama alındığında gelişimlerini biraz daha farklı bir L4 larvaları olarak devam ettirir. Yumurtanın çatlamasından yaklaşık olarak 45-50 saat sonra, 22-25 C’de yeni yetişkin olmuş *C.elegans* ilk yumurtasını bırakır. Böylece üreme yaşam döngüsünü tamamlamış olur (Hall ve Altun, 2008). Şekil 1 ‘de *C.elegans*’ın yaşam döngüsü gösterilmiştir.



Şekil 1. *Caenorhabditis elegans*’ın yaşam döngüsü (Ergen, 2012).

Yaşlanma çalışmalarında *C.elegans* kullanımının birçok avantajı vardır. Fazla miktarda *C.elegans* kolay ve ucuz bir şekilde elde edilmektedir. Yaşam süreleri kısa (25 C’de maximum 25 gün) olduğu için bu organizmada çalışmak daha çabuk sonuç almayı sağlar. Gelişimleri hızlı olup, yumurtaları, üreme yeteneğine 3 gün içerisinde ulaşır (Klass, 1977). Bir *C.elegans* ortalama 300 yumurta bırakır. Böylece bir *C.elegans* bir hafta içerisinde

yaklaşık 100.000 yavru üretebilir. Şeffaf bir yapısı vardır. *C.elegans*'ın anatomisi çok iyi bilinmektedir. Farklı bireylerde aynı hücreler arasında aynı sayıda nöral bağlantısı bulunmaktadır (Johnson, 2003).

İnsanlarda ve bazı model organizmalarda yaşam süresini belirleyen bazı genler saptanmıştır (Schaffitzel ve Hetweck, 2006). Bu model organizmaların yaşam sürelerini belirleyen genlerin homologları da insanda olduğu belirlenmiştir. *C.elegans*'ın yaşlanma sürecini etkileyen İnsülin/IGF-1 benzeri sinyal yolağı, JNK sinyal yolağı, oksidatif stres yolağı, mitokondri genleri ve TOR sinyal yolağı gibi birçok yolağı vardır. Yaşlanmayı etkileyen, en iyi karakterize edilmiş sinyal yolağı insülin / insülin büyüme faktörü (IGF-1)'dür. İnsülin / IGF-1 sinyal yolağındaki inhibisyon, *C. elegans*'ın yaklaşık 4 aylık yaşam formu olarak tanımlanan dauer girmesine neden olur. Bu sebeple, yaklaşık yaşam ömrü 3 hafta olan *C.elegans*'ın dauer formu, yaşlanma çalışmalarında önemli bir yere sahiptir. Homozigot daf-2 mutasyonu taşıyan farelerde azalmış insülin sinyali oksidatif strese karşı direnci yükseltmiştir. İnsülin sinyalindeki bu azalma yaşam süresindeki artış ile ilişkilendirilmiştir (Ergen, 2012).

2.1.1. *Caenorhabditis elegans*'ta Termotolerans

Yaşam ömrü uzunluğu ile çoklu çevresel strese karşı direnç gösterme arasında güçlü bir bağ vardır (Benedetti ve ark, 2008). *C.elegans*'ın, oksidatif stres, sıcak, soğuk, osmatik, hipoksi, hiperoksi, ultraviyole radyasyon, endoplazmik retikulum stresi ve ağır metal stresi gibi abiyotik streslere karşı direncini belirleyen sağkalım deneyleri, *C.elegans*'ın iç ve dış strese verdiği cevapların araştırılmasına katkıda bulunmaktadır (Park ve ark, 2017).

Organizmanın, çevresel bir uyarana hafif şiddette maruz kalması canlılığın ortama adapte olma sürecini hızlandırmaktadır. Hormesis olarak adlandırılan bu fenomen, Yunanca "hormaein" kelimesinden gelmektedir ve kışkırtmak, uyandırmak anlamını taşımaktadır (Kısım ve Uzunoğlu, 2012).

Isı stresi, hormesis test etmek ve uygulamak için belli bir amaç ile kullanılan streslerden biridir. Bunun sebebi sadece uygulanmasının kolay olması ve tutarlı sonuçların

elde edilmesi değil aynı zamanda ısı stresinin, ısı şoku tepkisi olarak bilinen evrimsel olarak iyi korunmuş bir stres tepki yolundan geçmesidir (Kılıçgün ve Gökşen, 2012).

Isı şoku transkripsiyon faktörü-1 (HSF-1) ve FOXO (forkhead transcription factor) transkripsiyon faktörü *Daf-16*, şaperon ekspresyonunu regüle eder, anormal proteinlerin birikmesini azaltır ve hücrel protein homeostazisine katkı sağlar (Park ve ark, 2017). *Daf-2* gen mutasyonu *C.elegans*'ta yaşam ömrünü %100'den daha fazla uzattığı bulunmuştur. *Daf-2* geni, memelilerde insülin benzeri reseptör proteinine homolog proteinleri kodlar. *Age-1* geni de memelilerde PI-3 kinaz proteinine homolog proteinleri kodlar. Isı şok genlerince kodlanan bu proteinler, hücrenin direnç kazanmasını sağlar. *C. elegans*'ta, Hsp-16 ve Hsp-70 gibi genlerin fazla ekspresyonunun da yaşam süresini artırdığı tespit edilmiştir (Köksal, 2010). Antioksidan maddeler de ısı şoku proteinleri gibi sıcak stresine karşı dayanıklılık sağlayabilir ve termotolerans etki yaratabilmektedirler (Benedetti ve ark, 2008).

2.2. Fonksiyonel Besin

Besinlerin temel görevi organizmanın metabolik ihtiyaçları için gereken maddeleri sağlamaktır. Besinler, metabolik aktivite için makro ve mikro besin öğelerinin yanı sıra sağlığı pozitif yönde etkileyecek besin bileşenleri de içermektedir. Hastalıkların önlenmesinde ve tedavi edilmesinde besinlerden yararlanılması, besinlerin sağlığı korumadaki etkisini daha iyi anlamamızı sağlamıştır. Besleyici özellikleri dışında, hastalık riskini azaltan ve vücuda katkı sağlayan bu besinlere fonksiyonel besinler denir (Coşkun, 2005). Sağlık besinleri, tıbbi besinler, düzenleyici besinler, özel beslenme amaçlı besinler ve farmakolojik besinler, fonksiyonel besinler yerine kullanılabilen diğer terimlerdir.

Fonksiyonel besinlerin herkes tarafından kabul görmüş tek bir tanımı yoktur. Beslenme ve Diyetetik Akademisi için; tüm gıdalarla birlikte zenginleştirilmiş veya geliştirilmiş gıdalar olarak tanımlanan yiyeceklerin de olduğu, düzenli olarak zengin bir diyetin parçası olarak tüketildiklerinde sağlık üzerinde olumlu etki yaratan besinlerdir. Kanada Sağlık Otoritesi için; fonksiyonel besin, geleneksel bir besin olabilir. Sıradan bir diyetle tüketilebilir, fizyolojik olarak yararları gösterilmiştir veya temel besin fonksiyonlarıyla birlikte kronik hastalık riskini azaltmak için kullanılabilir. Japon Sağlık, Çalışma ve Refah Bakanlığı göre fonksiyonel besin; 'FOSHU' (Japanese Foods for Specified Health Use - Gıdanın Sağlıklı

Yaşam İçin Kullanımı) sağlık fonksiyonları için bir besin bileşeni içermesi ve iddia ettiği fizyolojik etkilerinin kanıtlanmış olması gerekir (Kandıralı, 2014).

Bir besinin fonksiyonel besin olarak kabul edilebilmesi için belli özellikleri taşıması gerekmektedir (Vural, 2004).

- Sağlığı sürdürmekle birlikte diyetin gelişmesine yardımcı olmalıdır.
- Besin veya besin bileşenlerinin faydaları beslenme ve tıbbi temelleri olmalıdır.
- Besin veya besinin bileşenlerinin diyetle tüketilen miktarları beslenme veya tıbbi verilerle açıklanabilmelidir.
- Besin veya besin bileşenleri güvenilir olmalıdır.
- Besin bileşenlerinin fiziko-kimyasal özellikleri iyi tanımlanmalı ve bu bileşenler nicel ve nitel yöntemlerle tespit edilebilmelidir.
- Benzer besinlerle kıyaslandığında bu besinlerin içeriklerinin sağlığa zararlı bir etkisi olmamalıdır.
- Bu besinler sıradan beslenme programlarında bile bulunabilmelidir.
- Bu besinler sıradan gıdaların içeriğinde var olmalıdır.
- Bu besinler veya bu besinlerin bileşenleri ilaç yerine kullanılmamalıdır.

Amerika'da 1900'lü yıllarında başlarında , guatr hastalığını önlemek için sofraya tuzlarına iyot takviyesi yapmaya başlamıştır. Zenginleştirme yolu ile fonksiyonel besin elde etmenin ilk örneklerinden olmuştur (Korver, 1997). Önceki toplumlarda sarımsağın, diyare, gastrointestinal bozukluklar ve akciğer rahatsızlıklarında kullanıldığı bilinmektedir.

2.2.1. Bitkisel Kaynaklı Fonksiyonel Bileşikler

Fitokimyasal maddeler, bitkilerin doğal olarak yapılarında bulunan biyoaktif maddelerdir. Bu maddeler diyetle düzenli alındığında, antioksidan ve diğer fonksiyonel etkileri sayesinde hastalıkları önleyici, azaltıcı etkileri bulunur. (Savurdan, 2007).

Oksijen, insan yaşamı için çok önemlidir ama normal metabolizma sırasında üretilen bazı reaktif oksijen türleri oldukça tehlikelidir. Gelişen teknoloji, radyasyon, sigara, kötü beslenme biçimi, ultraviyole (UV), sağlıksız bir çevre-hava, kirli sular ve canlı hücrelerdeki oksijen metabolizması gibi birçok etmen serbest radikallerin (SR) oluşmasına neden olur. Serbest radikaller, hücre yapısında bulunan lipidlere, proteinlere, nükleik asitlere ve DNA'ya

zarar verir (Kasnak ve Palamutođlu, 2015). Vücutta serbest radikaller ile antioksidanlar arasında bir denge vardır. Denge, serbest radikal lehine kayarsa vücutta oksidatif stres meydana gelir. Bu durum kardiyovasküler, diyabet, hipertansiyon, kanser gibi hastalıkların oluşmasına neden olur. Sağlıklı ve yeterli bir beslenme ile besinlerden alınan antioksidanlar, serbest radikallerin sebep olduğu oksidasyonları engelleyerek hastalıklara yakalanma riskini azaltır. Bazı önemli fitokimyasallar tablo 1’de gösterilmiştir.



Tablo 1. Bazı önemli fitokimyasallar

Fitokimyasal Adı	Besin Kaynağı	Biyolojik Aktivitesi ve Olası Pozitif Etkileri
Karotenoid α -karoten, β -karoten, lutein, likopen, zeaksantin, β -kriptosantin	Kayısı, havuç, kavun, domates, biber, tatlı patates, kabak, brokoli, ıspanak ve diğer yeşil yapraklılar	Bazıları A vitaminine dönüştürülürken bazıları maküler dejenerasyon riskini azaltır ve antioksidan etki sağlarlar.
Flavonoid Flavonoller (kuersetin, kemferol, mirisetin), flavonlar (apigenin), kateşinler, antosiyaninler (siyanidin, delfinidin)	Meyveler, turunçgiller, selam otu, soğan, mor üzüm, yeşil çay, kırmızı şarap ve çikolata	Kılcal kan damarlarını güçlendirir, karsinojenleri bloke eder, kanser hücrelerinin hızlı büyümesini engeller.
Fitoöstrojenler Ligninler, izoflavon, genistein, daidzein, biochanin-A	Tofu, soya sütü, soya fasulyesi, keten tohumu, çavdar ekmeği	Östrojen gibi davranması; kanser hücrelerinin büyümesini yavaşlatır, kanserli hücre ölümüne neden olabilir, kan kolesterolünü düşürür, osteoporoz riskini azaltabilir.
Fitosterol β -sitosterol, stigmasterol, kampesterol	Fındık, baklagiller	Kolesterol emilimini azaltır, kolon kanser hücrelerinin büyümesini yavaşlatarak, kolon kanseri riskini azaltır.
Kapsaisin	Acı biber	Kan pıhtılaşmasını düzenler
İnositol	Susam ve soya fasulyesi	Serbest radikallerle savaşır, kansere karşı koruyucudur.

Glukosinolatlar, İzotiyosiyanatlar, İndoller	Brokoli, brüksel lahanası, lahana	Karsinojen hücre aktivitesini inhibe eden enzim aktivitesini artırır, östrojen metabolizmasını değiştirir, gen ekspresyonunun düzenlenmesini etkiler
Sülfürler ve Allium Bileşikleri	Soğan, sarımsak, pırasa, frenk soğanı	Karsinojenleri etkisiz hale getirir, bakterileri öldürür, kalp hastalıklarına karşı korur.
Saponinler	Fasulye ve bitkiler	Antioksidandır, kolesterol emilimini ve kanser riskini azaltır.
Elajik asit	Fındık, üzüm, çilek	Midede karsinojen oluşumunu önler.
Tanenler, Kateşinler	Çay ve kırmızı şarap	Kansere karşı koruyucudur.
Kurkumin	Zerdeçal ve hardal	Karsinojen oluşumunu azaltır, antioksidan ve anti-enflamatuvar etki
Sülforafan	Brokoli ve diğer turpgiller	Hayvanları meme kanserinden koruduğu kanıtlanmıştır.
Limonen	Turunçgil meyve kabukları	Kanser hücre büyümesini yavaşlatır.

*Tablo 1’de bazı önemli fitokimyasallar, besin kaynakları, biyolojik aktiviteleri ve olası pozitif etkileri yer almaktadır (Smolin ve Grosvenor, 2010).

2.2.2. Diğer Fonksiyonel Bileşikler

Diyet Lifleri

Diyet lifleri, bitki hücre duvarını oluşturan, nişasta olmayan polisakkaritler, sindirilmeyen oligosakkaritler, lignin ve dirençli nişastadan meydana gelir. Lifler, insan vücudu için enerji kaynağı değildir ve kullanılmadan dışarı atılırlar. Fizyolojik etkilerine göre çözünür ve çözünmez lif olarak gruplandırılırlar. Çözünür lifler, tüm diyet posasının %15-50'lik kısmını oluşturur. Pektik ögeler, sakızlar, β -glukan yapısındaki polisakkaritler, musilajlar ve dirençli nişasta suda çözünen posa türleridir. Bunlar, kurubaklagil, yulaf, arpa, elma gibi gıdalarda bulunurlar. Çözünmez lifler, diyetle çözünür posaya göre daha fazla yer alır. Selüloz, hemiselüloz ve lignin suda çözünmeyen liflerdir. Karnabahar, patates, yeşil fasulye, tam buğday unu ve meyve kabukları bu grubun içerisinde yer almaktadır (Samur ve Mercanlıgil, 2008).

Çözünür diyet lifleri, bağırsak florasını olumlu etkiler. Toksik maddeler ile bağırsağın temas süresini azaltarak bağırsak kanseri riskini azaltır (ADA, 2002). Diyetle liflerin 13 gr/gün artırılması ile bağırsak kanserinin % 31 azalacağı bildirilmektedir. Lifler, postprandiyal glisemik dolaşımı ve kan kolesterol seviyesini azaltır (Tümer ve Çolak, 2012). Lif içeren besinler, bünyesinde birçok fitokimyasalı da barındırdığı için hastalıklardan koruyucu etki göstermektedir.

Omega-3 Yağ Asitleri

Omega-3 çoklu doymamış yağ asitinin temel yağ asiti, α -linolenik asittir. Vücutta α -linolenik asit, eikosapentenoik asit (EPA) ve dokosaheksaenoik asitin (DHA) sentezlenmesinde görev alır (Şafak, 2012). Belirli bitkisel yağlar (keten tohumu yağı, ceviz yağı), deniz planktonları, yeşil yapraklı sebzeler, kabuklu yemişler, uskumru, ringa, ton, somon, alabalık, çinekop gibi yağlı balıklar omega-3 yağ asiti olarak gruplandırılan alfa-linolenik asit içerir. Vücut tarafından üretilmediği için dışarıdan alınması zorunludur (Turan ve ark, 2013).

EPA ve DHA'nın kardiyovasküler hastalıklar, depresyon, migren, eklem romatizması, diyabet, yüksek kolesterol, hipertansiyon, bazı kanser ve alerji gibi hastalıklara karşı koruyucu etkisi olduğu bildirilmiştir (Kaya ve ark, 2004). Bebeklerin beyin ve bağışıklık sisteminin gelişmesine katkı sağlar. Prostat ve meme kanseri tedavisinde diyetle eklenen

omega-3 'ün tedavi sürecini olumlu eklediğine dair çalışmalar mevcuttur (Çakmakçı ve Tahmas-Kahyaoğlu, 2012).

Probiyotikler, Prebiyotikler ve Sinbiyotikler

Probiyotikler, intestinal floranın mikrobiyal dengesine olumlu etkileri olan canlı besin öğeleri olarak tanımlanmaktadır. Probiyotiklerin en önemli grubu olan laktik asit bakterilerinin; *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* türleri en yaygın olanlarıdır. Yoğurt, kefir ve süt ürünleri probiyotik besinler grubundadır. Probiyotik kullanımı; laktoz intoleransı, diyare, crohn hastalığı, irritabl bağırsak sendromu ve antibiyotik kullanımı durumlarında önerilmektedir (Uymaz, 2010).

Prebiyotikler, konakçıya fayda sağlayan, sindirime uğramayan, kolon bakterilerinin üremesini teşvik eden gıda maddeleridir. Toksin üreten patojen mikroorganizmaların üremesine engel olmaktadır (Taşdemir, 2017). Pırasa, kuşkonmaz, sarımsak, soğan ve yulaf doğal prebiyotik kaynaklardır (Tekün, 2015). Kolon kanser riskini azaltırlar ve bağışıklık sisteminin güçlenmesine yardımcı olurlar.

Bağırsak florasının iyileştirilmesinde probiyotikler ile prebiyotiklerin birlikte kullanıldığı sinbiyotikler kullanılmaktadır. Sinbiyotik komplekslerinin en iyileri, Laktobasil GG -inulin, bifido bakteri-oligosakkaritler, bifido bakteri-laktobasil ile fruktooligosakkaritler – inülinidir (Kandıralı, 2014).

Vitamin ve Mineraller

a) Vitaminler

Vücut direncinin yükseltilmesinde, hücre bütünlüğünün korunmasında ve antioksidan-oksidan dengesinin kurulmasında antioksidan vitaminlerin rolü oldukça fazladır (Gündoğdu ve Ertekin, 2006). En önemli antioksidan vitaminler A, C ve E vitaminleridir. A, C ve E(α - tokoferol) vitaminleri, serbest oksijen radikallerinde (SOR) var olan yüksek enerjili elektronları içlerine alarak, SOR'un neden olacağı oksidatif hasarın azaltılmasına yardımcı olur (Karataş ve ark, 2006). Enzimatik reaksiyonlarda kofaktör olarak görev alırlar. Tokoferoller, sadece bitkiler tarafından sentezlenirler. Serbest radikalleri etkisiz hale getiren E vitamininin vücuttaki eksikliğinde, bu serbest radikaller hücrelere saldırıp, protein, karbonhidrat, lipit, nükleik asit, DNA ve enzim gibi hücre yapılarında geri dönüşümü

mümkün olmayan hasar bırakır. Vitamin E, C vitamini ile birlikte görev alır. A vitamini, serbest radikal türlerini etkisiz hale getirip hücreyi lipid peroksidasyonuna ve DNA hasarına karşı korumaktadır (Keleştemur ve Özdemir, 2011).

b) Mineraller

SOD, katalaz ve GSH-Px gibi antioksidan enzimlerin bir parçası olan bakır, çinko, demir ve selenyum mineralleri de antioksidan etki göstermektedirler. Hücresel bağışıklık sisteminde çinko büyük rol oynamaktadır. Kan hücre yapısında bulunan lenfosit ve nötrofillerin işlevlerini yerine getirmesinde bazı enzimlerin görevi vardır. Bu enzimlerin fonksiyonlarını yerine getirmesinde ise demir etkilidir. Hem oksidan hem de prooksidan görevi olan bakırın optimal miktarlarda alınması çok önemlidir. Çinko, askorbik asit (vit C), demir, früktoz ve sakkarozun diyetle ihtiyaçtan fazla alınması, bakır alımını azaltır. Bakırdan fakir bir diyet uygulanan farelerde oksidatif stresin arttığı görülmüştür. İnsanlarda yetersiz bakır alımında, karaciğerlerdeki demir konsantrasyonu artmakta ve antioksidan enzimleri düşüşe geçmektedir. GSH-Px 'in yapısından yer alan selenyum mineralinin diyetle yüksek miktarlarda olması kanser oluşumunu azalttığı, yapılan hayvan deneylerince gösterilmiştir (Velioglu, 2000).

2.3. *Levisticum officinale* (Selam Otu)

Tarihte Kullanımı

Levisticum officinale; aromatik kokusu, tıbbi ve süs özellikleri sayesinde yüzyıllar boyunca yetiştirilmiş ve kullanımı Antik Roma'ya kadar uzanan bir bitkidir. Roma İmparatorluğu zamanında yaşamış bir hekim olan Diosecorides Pedanius, bu bitki için 'libysticon' veya 'lygisticon' isimlerini kullanmıştır (Mirjalili ve Javanmardi, 2006). Selam otu, Orta Çağ'da evrensel bir tedavi yöntemi olarak kullanılmıştır. Benedict rahipleri, sindirim ve mide gazı şikayetlerinde selam otu bitkisinin tohumlarının çiğnenerek yenmesi gerektiğinin savunmuştur (Hogg, 2001).

Yaşam Alanı

Akdeniz Bölgesi'nde yetişen bir bitkidir. Güney Avrupa, Güney Asya, Balkanlar ve Kuzey Yunanistan'da doğal olarak yetişmektedir. Ayrıca buralarda bitkinin kültürü yapılmaktadır. İlave olarak Almanya, Hollanda ve Polonya'da da kültürü yapılmaktadır. Türkiye'de yetişmemektedir (Gözcü ve Sevindik, 2017).

Geleneksel Kullanımı

Hazımsızlık, mide yanması ve gazı şikayetlerinde, solunum yolu hastalıklarında (balgam söktürücü özelliği sebebi ile), idrar yolu hastalıklarında (idrar miktarını artırıcı özelliği ile) kullanılır. Böbrek taşı oluşumunu önler. Sistit ve bademcik iltihabında *Levisticum officinale*'nin antimikrobiyal özelliğinden yararlanır. Aromatik bir bitki olduğu için baharat olarak da kullanılmaktadır (Gözcü ve Sevindik, 2017).

2.3.1. Botanik Özellikleri

Levisticum officinale, maydanozgiller (*Apiaceae*) ailesinden aromatik bir bitkidir. Boyu 1- 2,5 m, çift çenekli ve çok yıllıktır. Gövde kısmı dik, dışı oyuklu yapıda, tüysüz ve tabanı 4 cm'den kalındır. Dalları kalın ve içi boş, yaprakları geniş ve koyu yeşil renktedir. Bitki haziran- ağustos arası çiçek vermektedir. Çiçekleri küçük ve yeşilimsi sarı rengindedir. Meyveleri, 5-7 mm uzunluğunda, sarımsı kahverengi renkte eliptik ve kıvrımlı yapıdadır (Gözcü ve Sevindik, 2017). Tohumlarının filizlenme verimi %68'dir. Tohumlarının ağırlığı, 1000 adeti yaklaşık 3.7 gr'dır (Mirjalili ve Javanmardi, 2006).

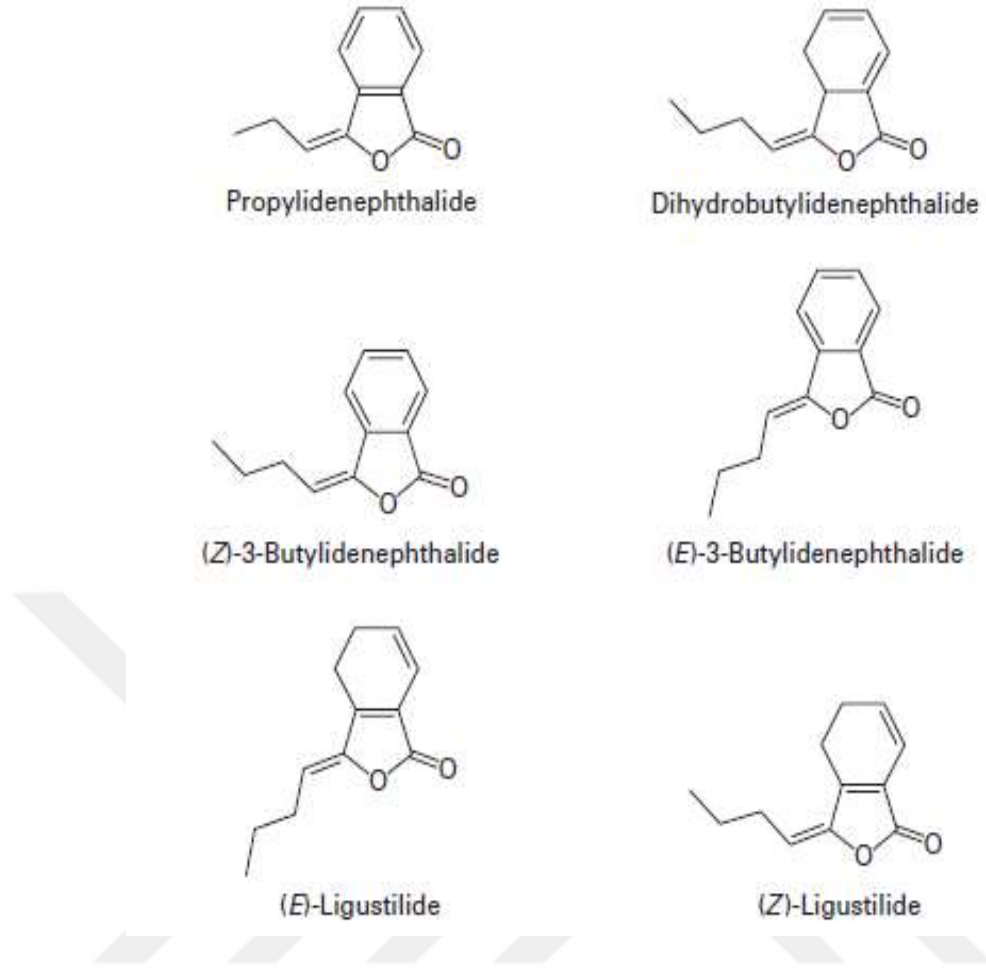


Şekil 2. Selam otu bitkisi (*Levisticum officinale*)

2.3.2. Kimyasal Bileşimi

Bitkinin tüm kısımlarından uçucu yağ elde edilir. Uçucu yağ, renksiz ya da çok soluk sarı rengindedir. Verimi ve kimyasal bileşimi, bitkinin yaşı ve kısımlarına, coğrafi değişkenliğe ve genetik yapısına göre farklılık göstermektedir.

Selam otunun kök, tohum ve yapraklarında 190'dan fazla bileşik içerdiği yapılan çalışmalarca rapor edilmiştir (Mirjalili ve ark, 2010). Bitkinin farklı kısımlarından elde edilen uçucu yağların kimyasal kompozisyonu oldukça farklıdır. Uçucu yağ bileşimi ftalitlerle (bütülden-, dihidrobutülden-, bütül- ve propilidenaftalid; sedanonik anhidrit; cis- ve trans-ligustilide; senkyunolide; izosenkyunolid, validene-4, 5-dihidroftalid) birlikte az miktarda terpenoid (α - ve β -pinenler, α - ve β -phellandrenes, γ -terpinen, karvakrol, öjenol ve 1- α -terpineol) ve uçucu asitlerden (bütirik asit, izovalerik asit, maleik asit, angelic asit) oluşur. Selam otundan elde edilen en önemli uçucu bileşik olan ftalitler, bitkinin köklerinde bulunan uçucu yağların %70'ini, yapraklarında bulunan uçucu yağların %25'ini, saplarında bulunan uçucu yağların %14.5'ini ve tohumlarındaki uçucu yağların ise %6'sını oluşturur. Önemli ftalitlerin kimyasal yapıları şekil 3' de gösterilmiştir. Çiçek (%40.8) ve tohumların (%61.5) ana bileşeni β -phellandrene, sap ve yaprakların ana bileşeni ise α -terpinil asetat (%70) olduğu rapor edilmiştir. β -phellandrene (% 69.3), terpenil asetat (% 4.2) ve α -terpineol (% 2.1) bileşenleri selam otu bitkisinin meyve yağında bulunan bileşenleridir (Mirjalili ve Javanmardi, 2006).

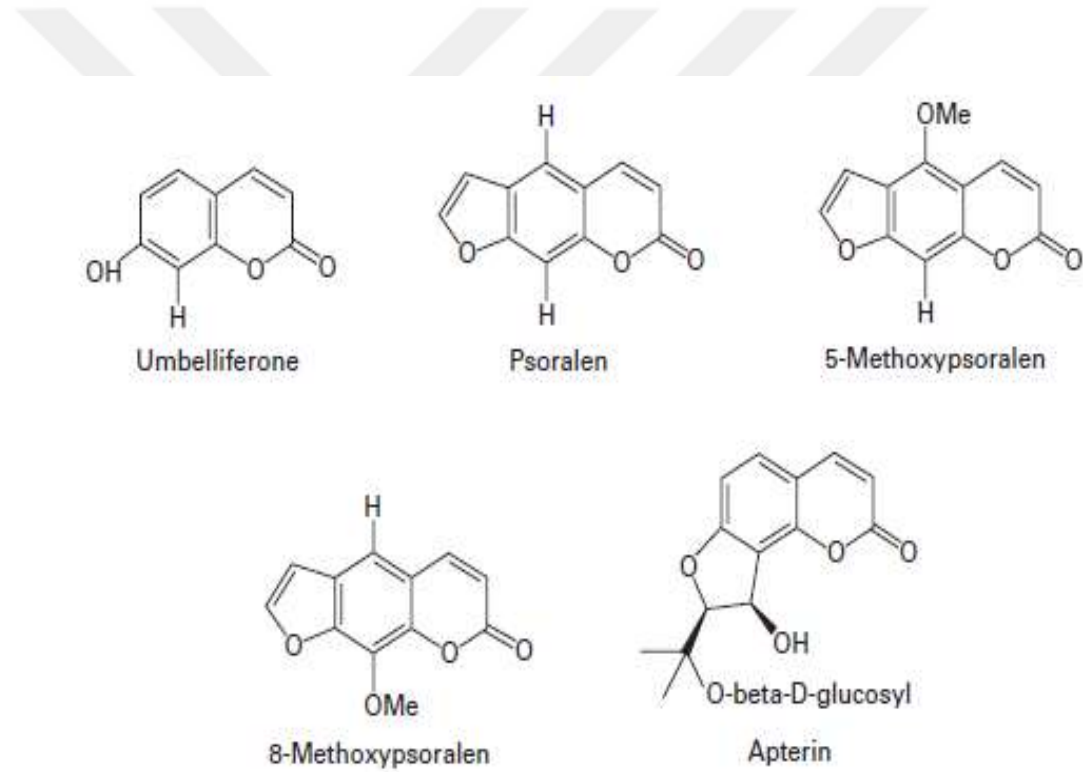


Şekil 3. Selam otunda bulunan önemli ftalitlerin kimyasal yapıları (Mirjalili ve Javanmardi, 2006)

Apiaceae ailesinin diğer üyeleri gibi selam otu da furokumarin içerir (Berenbaum, 1991). Selam otu bitkisinde bulunan kumarinlerin kimyasal yapıları şekil 5’de gösterilmiştir. Bitkinin farklı anatomik bölümleri fenolik asit ve tanen içerir (Najda ve ark, 2003). Bitki bölümlerinin fenolik asit içerikleri; kökler (% 0.12-0.16), saplar (% 0.30-0.39), yaprak (% 1.11-1.23) ve meyveler (% 1.32–1.41). Tanenler içerikleri; kökler (% 6.6), saplar (% 7.4), yapraklar (% 2.7) ve meyveler (% 1.8). Selam otu bitkisinin β -sitosterol de içeriği de bildirilmiştir (Mirjalili ve Javanmardi, 2006).

bileşen	yaprak	sap	çiçek/ tohum	kök
α -Pinene	0.4 – 0.8	1.0 – 1.2	2.9 – 5.3	2.0 – 12.7
β -Pinene	1.0 – 1.7	0.2 – 0.8	2.9 – 17.7	2.5 – 6.6
Myrcene	1.6 – 4.4	1.2 – 3.4	2.2 – 7.1	0.3 – 0.8
α -Phellandrene	0.4 – 1.2	0.1 – 1.2	1.0 – 2.9	0.2 – 0.5
β -Phellandrene	13.4 – 26.5	10.8 – 28.5	11.7 – 63.1	1.7 – 15.5
Pentylcyclohexadiene	0.3 – 0.9	0.2 – 0.5	0.2 – 0.4	7.4 – 29.3
α -Terpinyl acetate	49.7 – 70.0	48.2 – 68.9	4.5 – 16.2	0.1 – 0.2
(Z)-Ligustilide	4.4 – 11.7	4.8 – 13.8	5.6 – 16.0	37.0 – 67.5

Şekil 4. Selam otu bitkisinin farklı kısımlarının major uçucu yağ bileşenleri (Mirjalili ve Javanmardi, 2006)



Şekil 5. Selam otu bitkisinde bulunan kumarinlerin kimyasal yapıları (Mirjalili ve Javanmardi, 2006)

Medikal Alanda Kullanımı

Bitkinin yaprakları ve sapları demlenip, çay olarak tedavi amaçlı kullanılır. Meyve ve köklerinde diüretik ve karminatif uyarıcılar vardır. Uçucu yağın içeriğindeki ligustilid antispazmodik ve anti-astmatik etki göstermektedir (Hogg ve ark, 2001).

Yemeklerde Kullanımı

Selam otunun tüm parçaları, yemek için kullanılabilir. Çorbalarda, salatalarda, pizza, sos ve et yemeklerinde bitkinin sapları ve yaprakları kereviz yerine kullanılmaktadır. Et, ekme, patates, peynir, turşu, pilav ve tavuk yemekleri ile şekerleme ve likörler için ise bitkinin tohumları kullanılır. Yaprak , meyve ve köklerinden elde edilen uçucu yağların da gıdalarda kullanımı vardır (Mirjalili ve Javanmardi, 2006).

Bitkinin Kullanılmasına İlişkin Öneri ve Uyarılar

- Bitkinin kökleri, böbrek hastalıkları, hamilelik ve emzirme durumlarında kullanılmamalıdır.
- Toz haline getirilmiş selam otu bitki kökünün uzun dönem kullanımında güneş ışınlarında kaçınılmalıdır.
- Bitki kökleri kumarin içerdiği için antikoagülan ilaçlarla beraber kullanılması durumunda ilacın etkisini artırır.
- Bitki köklerinin 2 aydan daha uzun süre kullanımı önerilmemektedir.
- Köklerinden hazırlanan uçucu yağ, dahili olarak 5g/kg' dan fazla kullanımı kemirgenlerde ciltte tahrişe sebebiyet vermiştir (Gözcü ve Sevindik, 2017).

2.3.3. Selam Otu Bitkisinin İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri

Geleneksel tedavilerde uzun yıllar boyunca özellikle karminatif, idrar söktürücü, sindirim, anti-spazmodik ve balgam söktürücü olarak kullanılmıştır. Kolonun hassasiyetini azaltır, kolonun sağlıklı ve normal hareketine teşvik eder. İştahsızlığı

gidermeye yardımcı olabilir. Vücuttaki terlemeyi artırarak, vücudun soğumasını sağlayabilir. Ateşin giderilmesine yardımcı olabilir (Chillemi ve Chillemi, 2015).

Selam otu bitkisinin olgun meyvelerinden elde edilen uçucu yağın, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae*' a karşı değerlendirildiğinde, uçucu yağın sadece *Bacillus subtilis*' e karşı 0.9 µM minimal inhibisyon konsatrasyonu (MİK) değeriyle antibakteriyel etki yarattığı gözlemlenmiştir (Gözcü ve Sevindik, 2017).

Selam otu köklerinin metanollü ekstresinin pankreatik lipaz inhibisyonuna olan etkisi incelenmiştir. Ekstre miktarının 0.05 mg/mL ve 0.15 mg/mL yoğunluğu arasında yapılan çalışmada pankreatik lipaz enzimini %55 oranında baskıladığı bildirilmiştir (Gholamhoseinian ve ark, 2010).

Mensturasyon ağrılarını giderir, dolaşımı artırır. Selam otu bitki yapraklarının iyi bir emenagog (adet başlamasını uyarıcı etki) olduğu kabul edilmiştir (Mirjalili ve Javanmardi, 2006). Bitki köklerinden hazırlanan sulu ekstre kısırlaştırılan dişi farenin vajinal dokusuna enjekte edilmiştir ve bu sulu ekstre 200 IU/g' da dişi farede östrojenik etki yaratmıştır (Gözcü ve Sevindik, 2017).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. GEREÇ

Deneyde kullanılan N2 yabani tip *C. elegans* Minnesota Üniversitesi'ne bağlı *Caenorhabditis* Genetik Merkezi'nden (CGC) temin edilmiştir. Selam otu bitki yaprağı ekstresi dahil diğer tüm malzemeler İstinye Üniversitesi (İstanbul) Eczacılık Fakültesi'nden alınmıştır.

3.1.1. Kullanılan Laboratuvar Malzeme ve Araçları

Hassas terazi (Kern-PFB120-3), stereomikroskop (Zeiss-Stemi 508), santrifüj (Hitachi-CF-15RN), otoklav (Nüve-OT 40L) , etüv (Nüve-EN 120), parafilm, vorteks (Scilogex-MXS), steril petri kabı (60*15 mm), otomatik pipet, otomatik pipet ucu, parafilm, falcon tüp, spektrofotometre (Genesys10S-VIS), ph metre (Hanna-HI2211), erlen, distile su cihazı (Nüve-ND 12) buzdolabı, laminar akış kabini (Nüve-MN 120), İnkübatör (Nüve-EC 160).

3.1.2 Kullanılan Kimyasallar

Bacteriological Grade Agar (Multicell), Bacteriological Peptone (Multicell), NaCl (Carlo Erba), KH₂PO₄/K₂HPO₄ tamponları (Sigma), CaCl₂ (Merck), MgSO₄ (Merck), Kolesterol (Sigma-Aldrich), LB Agar (Sigma), LB Broth (Sigma), Fluorodeoxyuridine (Sigma Aldrich), Metanol (Merck).

3.2. Yöntem

3.2.1. NGM (nematod growth medium) Hazırlanması ve Bitki Ekstresinin NGM'e İlavesi

NGM, *C. elegans*'ların büyütülüp, idame ettirildiği besi yeri ortamıdır. Dört farklı erlenin içine ayrı ayrı 3,4 gr bacteriological agar, 0,5 gr bacto-peptone, 0,6 gr NaCl ve 200 ml distile su ilave edilir ve 125° C' de 15 dk otoklavlandıktan sonra 55° C'ye kadar soğutulur. Otoklavdan çıkarılan sıvı karışımlar musluk altında biraz soğutulur. Daha sonra içlerine 200 µl MgSO₄ (1M), 200 µl CaCl₂ (1M), 200 µl kolesterol (5 mg/ml), 5 ml KPO₄ tampon (ph:7) ilave edilerek homojen bir karışım olması sağlanır. 1. grup olan kontrol grubuna sadece metanol ilave edilmiştir. 2. konsantrasyon 20 µg / ml, 3.konsantrasyon 100 µg/ ml, 4. konsantrasyon 200 µg/ml olacak şekilde metanolde çözülmüş *Levisticum officinale* bitki ekstreleri 3 erlenin içine ayrı ayrı eklenir. NGM'ler 60 mm petrilere 30' ar adet olacak şekilde 7 ml eklenmiştir.

3.2.2. *E. coli* OP50 Suşunun Hazırlanması

LB agarda ekimi yapıp, büyütülen *E. coli* OP50 suşundan ucu steril edilmiş bir öze yardımıyla tek koloni alınıp, 15ml'lik falcon tüplerinde bulunan 10 ml'lik LB brotha steril ortamda ekimi yapılır. Lb broth'a ekimi yapılan *E.coli* 37° C inkübatörde bir gece büyütülür. (OD:595 = 0.5). *E.coli*, laminar kabinde iki saat UV'ye maruz bırakılarak öldürülmüştür.

3.2.3. Selam Otu Bitki Ekstreli NGM'lere *E.coli* Ekimi

C.elegans laboratuvar şartlarında petri kabında *Escherichia coli* bakterisinin OP50 suşu ile beslenir. OP50 suşu Urasil oksotrofudur. Bu sayede *C.elegans*'ın NGM üzerinde büyümesi kısıtlanır. Bu da *C.elegans*'ları gözlemlerken kolaylık sağlar. OP50 suşu patojen değildir ve havaya karışmaz. NGM üzerine *Escherichia coli* eklenir, kuruduktan sonra da N2 yabani tip *C.elegans* petrilere ilave edilir. Bu çalışmada bitki ekstresi (*Levisticum officinale*) içeren *E.coli* kullanılmıştır.

Tablo 2. Deney gruplarının son konsantrasyonları ve NGM'lere eklenen *E.coli* ve *Levisticum officinale* bitki ekstresi miktarları

	Son Konsantrasyonlar (NGM için)	<i>E.coli</i> + Ekstre Miktarı (30'ar petri için)
Grup-4	200 µg/ ml	9ml <i>E.coli</i> + 90µl ekstre
Grup-3	100 µg/ ml	9ml <i>E.coli</i> + 45 µl ekstre + 45 µl metanol
Grup-2	20 µg/ ml	9ml <i>E.coli</i> + 9 µl ekstre + 81 µl metanol
Kontrol grubu-1	Ekstre yok	9ml <i>E.coli</i> + 90 µl metanol

3.2.4. FUDR (fluorodeoxyuridine) İlavesi

NGM üzerine *E.coli* ekleyip kurummasını bekledikten sonra 60 mm'lik her bir petriye 200 µl 5-Fluoro-2'-deoksiüridin (FUDR) maddesi eklenir. Eklenen bu madde *C. elegans*'ların yumurta gelişimini önler ve nesillerin birbirine karışmasını engeller.

3.2.5. Senkronizasyon

C. elegans 'ların aynı evrede büyümelerini sağlamak amacıyla deneye başlamadan önce embriyo izolasyonu yöntemi kullanılır. Yapılan bu işleme senkronizasyon denir.

- İzolasyon yapılacak petri 3.5 ml steril su ile yıkanır. Petri hafif eğik tutularak *C. elegans* 'ların aşağıya doğru kayması sağlanır.
- Pipetaj yapılarak alınan yıkama sıvısı falcon tüpüne aktarılır.
- Falcon tüp hacmi, 3.5 ml' ye steril su ile tamamlanır.
- Aynı bir falcon tüpüne 0.5 ml 5N NaOH ve 1 ml çamaşır suyu koyulup, karıştırılır. Daha sonra 3.5 ml'lik steril su - *C. elegans* karışımının üzerine ilave edilir.
- Birkaç saniye vorteks ile karışımın homojen bir şekilde karışması sağlanır. Bu işlem her 2 dk'da bir 5 kere tekrar edilir.
- 10. dakika sonunda bu karışım 30 saniye boyunca 1300 xg'de santrifüj edilir.
- Tüpün dibinde 0.1 ml kalacak şekilde sıvının süpernatant(üst) kısmı atılır.
- Kalan sıvı 5 ml'ye steril su ile tamamlanır ve birkaç saniye vortekslenir.
- Daha sonra tekrardan 30 saniye 1300 xg'de santrifüj edilip, dibinde 0.1 ml kalacak şekilde sıvının süpernatant kısmı atılır.
- Bir pipet yardımıyla dipte kalanın 0.1 ml'lik yumurtalar, önceden hazırlanan besiyeri (NGM) üzerine aktarılır.
- Nematodlar, yetişkin evresine geldikten sonra deney çalışmasında kullanılmıştır.

3.2.6. Termotolerans Deneyi

3.2.6.1 FUDR içermeyen termotolerans deneyi

FUDR içermeyen *E.coli*'li ekstresiz 6 adet petriye, 40'ar senkron *C.elegans* aktarıldı. Deneyin 0. saatinde bütün petriyer 35° C'ye ayarlanmış inkübatöre bırakıldı. Birinci petri deneyin 6. saatinde, diğer petriyer de 2'şer saat aralıklarla olacak şekilde son petri deneyin 16. saatinde inkübatörden alınarak, *C.elegans* canlı ve ölü sayıları belirlendi. Yapılan bu termotolerans deneyinde Ld50 (yaklaşık yarısının öldüğü saat) deneyin 12. saatinde bulunmuştur (Şekil. 6).

3.2.6.2 FUDR içeren termotolerans deneyi

FUDR içeren *E.coli*'li ekstresiz 5 adet petriye, 40'ar senkron *C.elegans* aktarıldı. Deneyin 0. saatinde bütün petriler 35 C'ye ayarlanmış inkübatöre bırakıldı ve her 2 saatte bir inkübatörden 1 petri alınarak ölü ve canlı hayvan sayıları belirlendi. Ölü ve canlı hayvan sayılarına 2, 4, 6, 8, ve 10. saatlerde bakılmıştır. Yapılan bu termotolerans deneyinde Ld50 (yaklaşık yarısının öldüğü saat) deneyin 6. saatinde bulunmuştur (Şekil. 7).

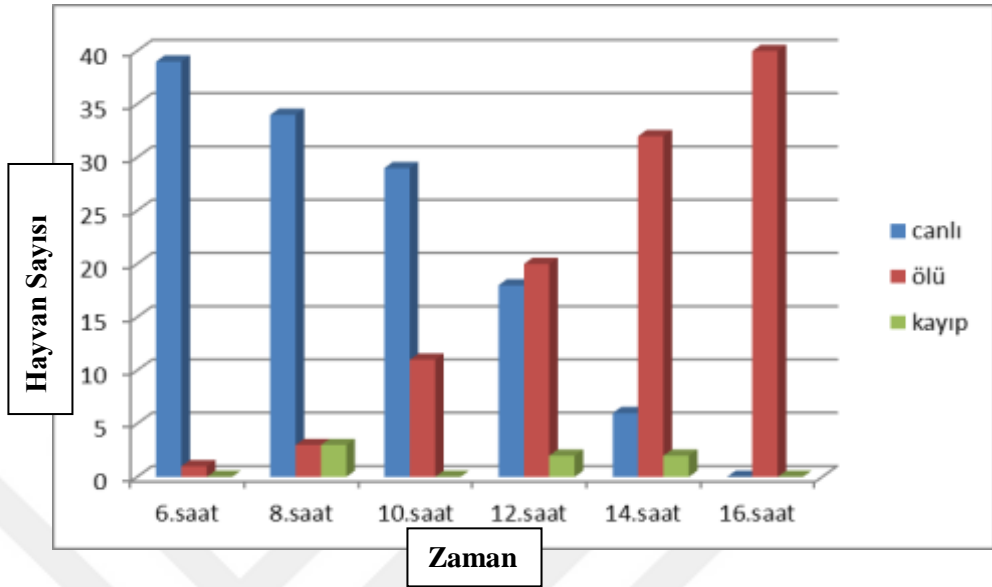
3.2.6.3. Selam otu bitki ekstreli termotolerans deneyi

Selam otu ekstreli termotolerans deneyi; 20µg/ml, 100µg/ml, 200µg/ml konsantrlerden ve kontrol grubundan 3'er petri alınarak toplamda 12 petri ile gerçekleştirilmiştir. Deneyin 0. saatinde her petriye 40'ar adet sekron *C.elegans* teker teker aktarılmıştır. *C.elegans*'lar, ekstreli petrilerde 25 C'de 24 saat boyunca bekletilmiştir. Bir gün boyunca oda sıcaklığında bekletilen tüm petriler 35 C'ye ayarlı inkübatörde 6 saat bekletildikten sonra, inkübatörden alınmıştır. Her petri için canlı ve ölü *C.elegans* sayımı gerçekleştirilip, not edilmiştir. Petriden kaçan hayvanlar çalışma dışı bırakılmıştır. 200µg/ml konsantreli petrilerden biri NGM kaynaklı sebeplerden dolayı deneyden çıkarılmıştır (Şekil. 8).

3.3. İstatistiksel Analizler

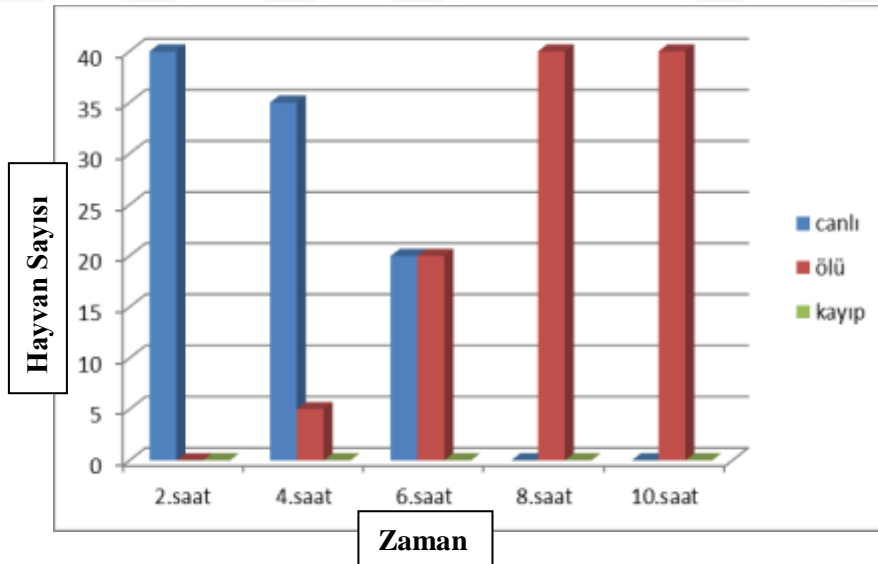
Deney sonucunda elde edilen veriler One-Way ANOVA ve T-Testi ile karşılaştırılmış olup $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Analizler, SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) 16.0 programında yapılmıştır.

4. BULGULAR



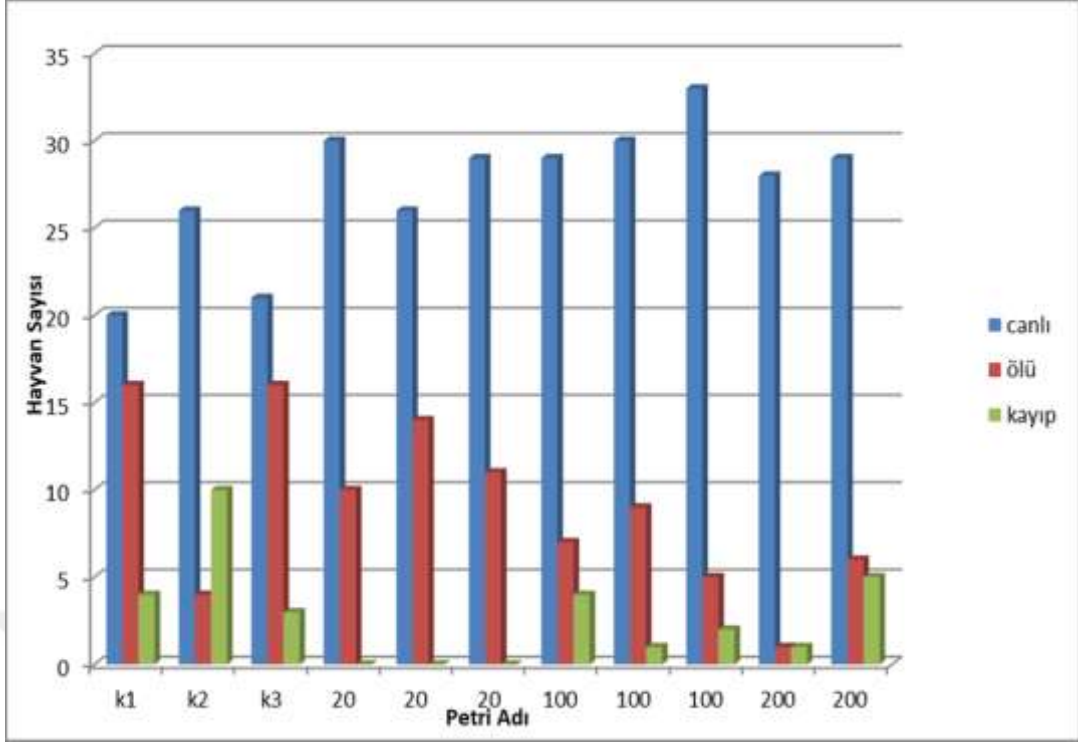
Şekil 6. FUDR'siz ekstresiz termotolerans deney sonuç grafiği

FUDR içermeyen termotolerans deney sonucunda LD50 12. saat olarak bulunmuştur.



Şekil 7. FUDR'li ekstresiz termotolerans deney sonuç grafiği

FUDR içeren termotolerans deney sonucunda LD50 6. saat olarak bulunmuştur.



Şekil 8. FUDR'li selam otu ekstreli deney sonuç grafiği

FUDR ve selam otu ekstresi içeren termotolerans deneyinin 6. saatinde tüm deney gruplarının canlı, ölü ve kayıp sayıları şekil 8'de gösterilmiştir.

Selam otu bitkisinden elde edilen ekstratların *C.elegans* termotoleransı üzerindeki etkilerini belirlemeye yönelik yapılan araştırmanın ham verileri aşağıdaki gibidir (Tablo.3). Elde edilen verilerin istatistiksel analizlerinde sadece canlı hücre sayıları dikkate alınmış, ölü ve kayıp sayıları analize dahil edilmemiştir.

Tablo. 3 Selamotu ekstrelerinin *C.elegans* termotoleransı üzerindeki etkisine yönelik elde edilen ham veriler

Deney Grubu	Canlı	Ölü	Kayıp
selamotukontrol-1	20	16	4
selamotukontrol-2	26	4	10
selamotukontrol-3	21	16	3
selamotu20-1	30	10	0
selamotu20-2	26	14	0
selamotu20-3	29	11	0
selamotu100-1	29	7	4
selamotu100-2	30	9	1
selamotu100-3	33	5	2
selamotu200-1	28	1	1
selamotu200-2	29	6	5

Farklı konsantrasyonlardaki selam otu ekstrelerinin *C. elegans* termotoleransına etkisini belirlemek için *C. elegans* yaşam süresi ortalamaları arasındaki farkı tespit etmek amacıyla varyans analizi yapılmıştır. Diğer bir ifadeyle deney gruplarındaki hayatta kalan *C. elegans* ortalamaları karşılaştırılmıştır. Bu çalışmada uygulanan selam otu ekstrelerinin konsantrasyonları ile *C.elegans* organizmalarının hayatta kalma sayıları (termotolerans yetenekleri) birbirinden bağımsızdır. Tablo.4’de termotolerans ortalamalarını karşılaştırmada ilk olarak elde edilen verilerin dağılımının normal olup olmadığı gösterilmiştir. Normalite testini uygulamak için 1: Selamotu-Kontrol, 2: Selamotu-20, 3: Selamotu-100, 4: Selamotu-200 deney gruplarının her biri için ayrı ayrı H0 ve H1 hipotezleri kurulmuştur.

H0: %95 güvenle veriler normal dağılımlıdır.

H1: %95 güvenle veriler normal dağılımlı değildir.

Tablo 4. Normalite Testi Sonuçları

	Grup	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
birim	SelalmotuKontrol	0.328	3	.	0.871	3	0.298
	Selamotu20	0.292	3	.	0.923	3	0.463
	Selamotu100	0.292	3	.	0.923	3	0.463
	Selamotu200	0.260	2	.			

a. Lilliefors Significance Correction

Normalite analizinde iki farklı test sonucu elde edilmektedir. Bunlardan birincisi "Kolmogorov-Smirnov", diğeri ise "Shapiro-Wilk" testidir (Tablo 4). Bu analizde, daha çok tercih edilen "Shapiro-Wilk" testi sonuçları dikkate alınmıştır. "Shapiro-Wilk" testinin güvenilirlik (Sig.) değerleri (Selamotu Kontrol için 0.298, Selamotu 20 için 0.463 ve Selamotu 100 için 0.463) 0.05' den büyük olduğu için tüm gruplar için H0 hipotezleri kabul edilmiştir. Yani tüm gruplar için "%95 güvenle veriler normal dağılımlıdır." denilebilir. Sadece Selamotu200 grubu için Shapiro-Wilk Sig değeri elde edilmemiştir, bunun nedeni deneysel süreçte sadece 2 paralel uygulanmasıdır.

Elde edilen verilerle, gruplar arasındaki varyansların homojen olduğunun tespiti yapılmıştır (Tablo 5). Yapılan varyans homojenite testi için "H0: %95 güvenle, grup varyansları homojendir" ve "H1: %95 güvenle, grup varyansları homojen değildir" hipotezleri kurulmuş ve test edilmiştir. Varyans homojenite testinde elde edilen güven değeri 0.215 olarak tespit edilmiştir. Dolayısıyla 0.05 den büyük ($p(0.215) > 0.05$) olduğu için (H0 kabul edilerek) grupların varyanslarının homojen olduğu belirlenmiştir.

Tablo 5. Selam otu ekstralarının *C. elegans* termotoleransı üzerine etkisine yönelik test gruplarının varyans homojenitelerine ait test sonuçları

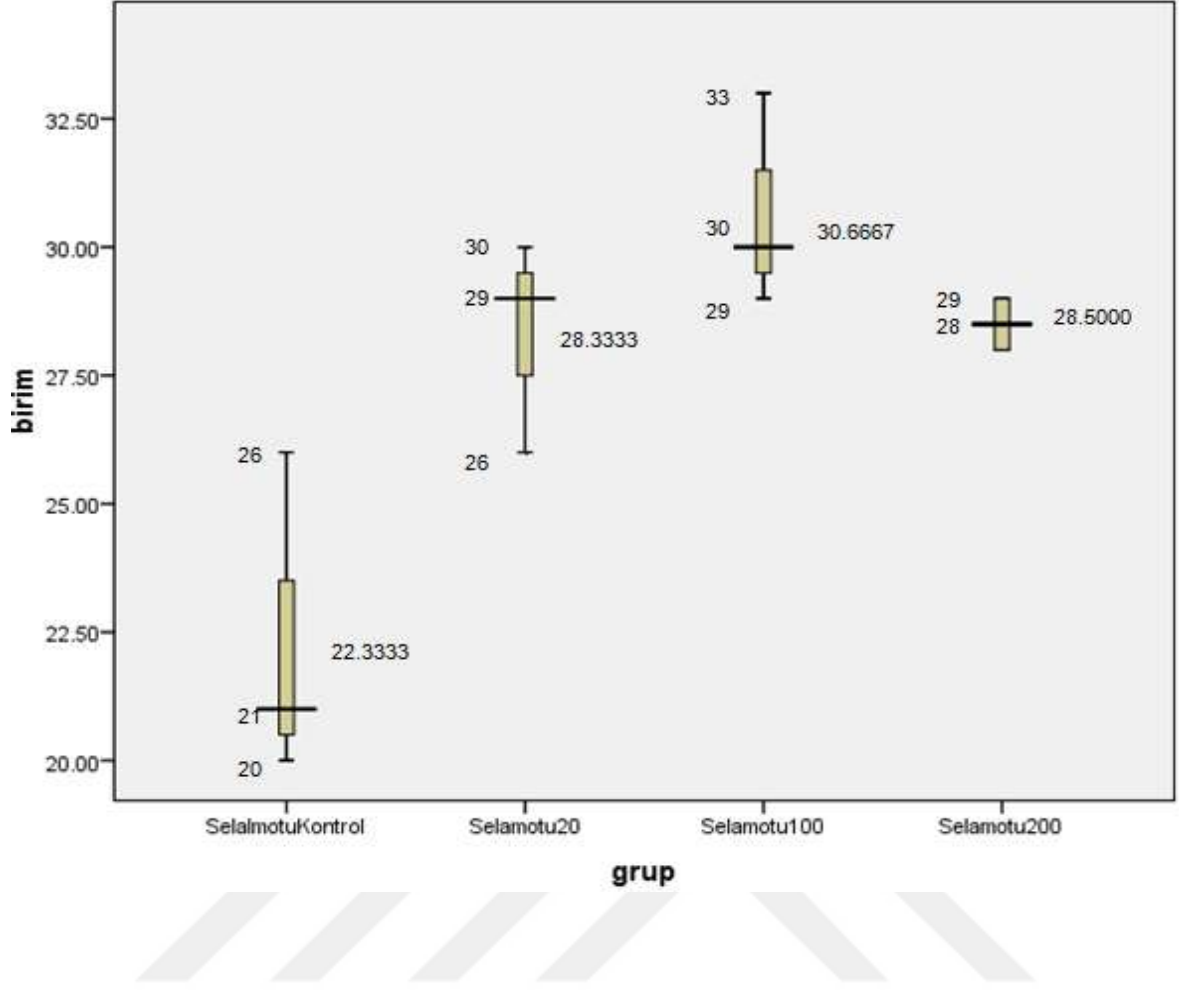
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.920	3	7	.215

Tanımlayıcı verilerde grup sayısı (N) 3 tür, yani deneyler 3 paralel olarak yapılmıştır. İstisna olarak 200 µg/ml uygulanan grupta 2 paralel yapılmıştır. Ortalamalara bakıldığında kontrol grubundan 20,100,200 grubuna doğru 22.33 ile başlayıp 28.33, 30.66, 28.50 şeklinde artış gösterdiği görülmektedir (Tablo.6).

Tablo 6. Selam otu ekstralarının *C.elegans* termotoleransı üzerine etkisi ile ilgili tanımlayıcı veriler

TANIMLAYICILAR						
Birim	N	Ortalama	Standart Sapma	Std. Hata	En küçük Değer	En büyük Değer
SelalmotuKontrol	3	22.3333	3.21455	1.85592	20	26
Selamotu20	3	28.3333	2.08167	1.20185	26	30
Selamotu100	3	30.6667	2.08167	1.20185	29	33
Selamotu200	2	28.5000	0.70711	0.50000	28	29
Total	11	27.3636	3.90571	1.17761	20	33

N: petri sayısı



Şekil 9. Selamotu ekstrelerinin *C.elegans* termotoleransı üzerine etkisini belirlemeye yönelik analiz sonuçları

(Yatay çubuklar ve soldaki rakamlar: 6 saatlik muamele sonunda hayatta kalan *C.elegans* bireylerinin sayısını ifade etmektedir. Sağdaki rakamlar: grup ortalamalarını göstermektedir.)

Varyans homojenitesi ve verilerin dağılımıyla ilgili Normalite test sonuçları elde edildikten ve tanımlayıcı veriler değerlendirildikten sonra, bitki ekstraktlarının konsantrasyonlarındaki değişim ile *C. elegans* termotolerans potansiyelleri arasındaki ortalamaları karşılaştırmak için en uygun test olan tek yönlü varyans analizine geçilmiştir. Tek yönlü varyans analizi için şu hipotezler kurulmuştur:

H0: %95 güvenle, grupların ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktur.

H1: %95 güvenle, grupların ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardır.

Tablo 7. Selam otu ANOVA Testi

Selam otu ANOVA testi					
Birim	Kareler Toplamı	Df	Ortalama Kare	F	Sig.
Gruplar arasında	114.045	3	38.015	6.912	0.017
Gruplar içinde	38.500	7	5.500		
Toplam	152.545	10			

Tek yönlü ANOVA testinde elde edilen "Sig." değeri 0.05 güven değerinden küçük olduğu için ($0.017 < 0.05$) olduğu için tek yönlü varyans analizi için kurulan H_0 hipotezi reddedilmiş, H_1 hipotezi kabul edilmiştir. Yani " %95 güvenle, grupların ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardır." sonucuna varılmıştır. Ancak bu sonuç hangi grupların ortalamaları arasında farklılıklar olduğunu belirlemek için yeterli değildir. Bu nedenle hangi gruplar [SelamotuKontrol (grup1), Selamotu20(grup2), Selamotu100(grup3) ve Selamotu200(grup4)] arasında *C.elegans* termotoleransına etki açısından farklılık olduğunu görmek için Tamhane veya Tukey testlerinden birinin yapılması gerekmektedir. Bu iki testten hangisinin kullanılacağına belirlenmesi için "varyans homojenite testi"nden elde edilen Sig. değeri dikkate alınmaktadır. Burada varyansların homojen olması halinde yani Sig değeri 0.05'den büyük ($p > 0.05$) olduğunda genellikle "Tukey" testi tercih edilmektedir. Varyansların homojen olmaması halinde ise yani Sig. değeri 0.05'den küçük ($p < 0.05$) olduğunda genellikle "Tamhane's T2" testi tercih edilmektedir.

Elde edilen Levene Sig değeri (Tablo 5'de) 0.215 olduğu için ($p > 0.05$) grupların varyanslarının homojen oldu kabul edilmiş ve Tukey testi yapılmasına karar verilmiştir.

Tukey testinde her bir grup diğerleri ile ayrı ayrı karşılaştırılmış ve sadece SelamotuKontrol grubu ile Selamotu100 grubu arasında Sig değerleri 0.05'den küçük olarak belirlenmiştir. Diğer bir ifadeyle; Tukey testinde her bir grup diğerleri ile ayrı ayrı ikişerli karşılaştırılmış ve bu karşılaştırılan grupların ortalamaları arasındaki farklar (Mean Difference) sayısal olarak verilmiştir. Bu sayısal değerlerin yanında bir yıldız (*) işaretinin bulunması bu ikili grubun ortalamaları arasında anlamlı bir farklılık olduğunu göstermektedir. SelamotuKontrol grubu ile Selamotu100 grubu arasında Sig değeri 0.0138 olarak belirlenmiştir [$p(0.0138 < 0.05)$]. Yani; 0.05'den küçük olarak Sig değeri sadece

SelamotuKontrol grubu ile Selamotu100 grubu arasında belirlenmiş, diğer gruplar arasında ise Sig değerlerinin 0.05 den büyük ($p>0.05$) olduğu tespit edilmiştir (Tablo 8).

Özel durumlarda, veri sayısının az olduğu zamanlarda Tukey testi yerine "Bonferroni" testi de seçilebilmektedir. Bu nedenle Tukey sonuçlarını Bonferroni testi ile doğrulanmak istenmiştir. Elde edilen Bonferroni test sonuçları Tablo 9'da verilmiştir ve Tukey testi sonuçları ile benzer [Sadece SelamotuKontrol grubu ile Selamotu100 grubu arasında Sig değeri $p(0.0221<0.05)$] olduğu belirlenmiştir.

Tablo 8. Selam otu ekstrelerinin *C. elegans* termotoleransı üzerine etkilerinin belirlenmesinde TUKEY TESTİ sonuçları

ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA					
BAĞIMLI DEĞİŞKEN:birim	(I) Grup	(J) Grup	Ortalama Fark (I-J)	Standart Hata	Sig.
Tukey HSD	SelamotuKontrol	Selamotu20	-6.0000	1.9149	0.0629
		Selamotu100	-8.3333*	1.9149	0.0138
		Selamotu200	-6.1667	2.1409	0.0876
	Selamotu20	SelalmotuKontrol	6.0000	1.9149	0.0629
		Selamotu100	-2.3333	1.9149	0.6356
		Selamotu200	-0.1667	2.1409	0.9998
	Selamotu100	SelalmotuKontrol	8.3333*	1.9149	0.0138
		Selamotu20	2.3333	1.9149	0.6356
		Selamotu200	2.1667	2.1409	0.7481
	Selamotu200	SelalmotuKontrol	6.1667	2.1409	0.0876
		Selamotu20	0.1667	2.1409	0.9998
		Selamotu100	-2.1667	2.1409	0.7481

*. Ortalama fark 0.05 seviyesinde anlamlıdır.

Tablo 9. Selam otu ekstrelerinin *C. elegans* termotoleransı üzerine etkilerinin belirlenmesinde BONFERRONİ TESTİ sonuçları

ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA					
BAĞIMLI DEĞİŞKEN:birim					
	(I) Grup	(J) Grup	Ortalama Fark (I-J)	Standart Hata	Sig.
Tukey HSD	SelamotuKontrol	Selamotu20	-6.0000	1.9149	0.0629
		Selamotu100	-8.3333*	1.9149	0.0138
		Selamotu200	-6.1667	2.1409	0.0876
	Selamotu20	SelalmotuKontrol	6.0000	1.9149	0.0629
		Selamotu100	-2.3333	1.9149	0.6356
		Selamotu200	-0.1667	2.1409	0.9998
	Selamotu100	SelalmotuKontrol	8.3333*	1.9149	0.0138
		Selamotu20	2.3333	1.9149	0.6356
		Selamotu200	2.1667	2.1409	0.7481
	Selamotu200	SelalmotuKontrol	6.1667	2.1409	0.0876
		Selamotu20	0.1667	2.1409	0.9998
		Selamotu100	-2.1667	2.1409	0.7481

*. Ortalama fark 0.05 seviyesinde anlamlıdır.

C. elegans termotolerans özelliğinin selam otu ekstrelerine bağlı olup olmadığını analiz etmek için uygulanan diğer bir test "Bağımsız Örneklem T-testi" dir. İki bağımsız grubun ortalamalarını karşılaştırmaya imkan sunan bu testin uygulanabilmesi için gerekli iki ön şart vardır. Bunlardan birincisi değişkenlerin normal dağılımlı olması, ikincisi ise grup varyanslarının homojenliğidir. Tablo 4'de verilerin normal olup olmadığı ile ilgili sonuçlar elde edilmiştir. Bu sonuçlara göre Sig değerleri 0.05 den büyük çıktığı için (H0 kabul edilir) verilerin normal dağılım gösterdikleri kabul edilmiştir.

Varyansların homojenliği de Tablo 5'de varyansların homojenitesi (Homogeneity of variance test) ile ilgili sig değerini 0.215 yani 0.05 den büyük ($p > 0.05$) olarak belirlenmiş ve gruplar arasındaki varyansın homojen olduğunu kabul edilmişti. Dolayısıyla T-testi için ön şartların sağlandığı anlaşılmaktadır.

Bağımsız Örneklem T-testinde iki farklı test vardır. Bunlardan biri "Levene" testi diğeri ise T-testi' dir. Levene testinde iki yada daha fazla grubun varyanslarının homojenliğini test edilirken T-testinde kullanılan bitki ekstresinin *C. elegans* termotoleransı üzerine etkisi incelenmektedir.

SelamotuKontrol (GRUP1) ile Sealmotu20 (GRUP2) arasındaki Levene testine bakıldığında sig. değeri $0.345 > 0.05$ olduğu için Levene testi için H_0 kabul edilir yani " %95 güvenle grupların varyansları homojen olarak kabul edilir". Bu durumda T-testine karar verirken Sig (2-tailed) değerini birinci satırdaki 0.053 dikkate alınmıştır ve Sig (2-tailed) 0.05 den büyük ($p > 0.05$) olduğu için H_0 hipotezi kabul edilir. Yani "%95 güvenle iki farklı konsantrasyonlarda (0 ve 20) uygulanan selam otu ekstralarının *C.elegans* termotoleransına etki ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktur. " denilebilir (tablo 10).

Tablo 10. SelamotuKontrol (grup1) ve Selamotu20 (grup2) grubu arasında Bağımsız Örneklem T-testi sonuçları

BAĞIMSIZ ÖRNEKLEM T-TESTİ										
Selamotu Kontrol-Selamotu20 (1-2)		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	T	df	Sig. 2-tailed	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
B i r i m	Equal variances assumed	1.143	0.345	-2.714	4.000	0.053	-6.00000	2.21108	-12.13895	0.13895
	Equal variances not assumed			-2.714	3.427	0.063	-6.00000	2.21108	-12.56616	0.56616

SelamotuKontrol (GRUP1) ile Sealmotu100 (GRUP3) arasındaki Levene testine bakıldığında sig. değeri $0.345 > 0.05$ olduğu için Levene testi için H_0 kabul edilir yani " %95 güvenle grupların varyansları homojen olarak kabul edilir. Bununla birlikte T-testine karar verirken Sig (2-tailed) değerini birinci satırdaki 0.020 değeri dikkate alınmıştır ve Sig (2-tailed) 0.05 den küçük ($p < 0.05$) olduğu için H_0 hipotezi reddedilmiş, H_0 hipotezi kabul edilmiştir. Yani "%95 güvenle iki farklı konsantrasyonlarda (0 ve 100 μg) uygulanan selam otu ekstralarının *C.elegans* termotoleransına etki ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardır. " denilebilir (Tablo 11).

Tablo 11. SelamotuKontrol (grup1) ve Selamotu100 (grup3) grubu arasında Bağımsız Örneklem T-testi sonuçları

BAĞIMSIZ ÖRNEKLEM T-TESTİ										
SelamotuKontrol- Selamotu100 (1-3)		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	Df	Sig. (2- tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
B i R i M	Equal variances assumed	1.143	0.345	-3.769	4.000	0.020	-8.33333	2.21108	-14.47228	-2.19438
	Equal variances not assumed			-3.769	3.427	0.026	-8.33333	2.21108	-14.89949	-1.76718

SelamotuKontrol (GRUP1) ile Selamotu200 (GRUP4) arasındaki Levene testine bakıldığında sig. değeri $0.112 > 0.05$ olduğu için Levene testi için H_0 kabul edilir yani "%95 güvenle grupların varyansları homojen" olarak kabul edilir. Bununla birlikte T-testine karar verirken Sig (2-tailed) değeri için birinci satırdaki 0.084 değeri dikkate alınmıştır ve Sig (2-tailed) 0.05 den büyük ($p > 0.05$) olduğu için H_0 hipotezi kabul edilir. Yani "%95 güvenle iki farklı konsantrasyonlarda (0 ve 200) uygulanan selam otu ekstralarının *C. elegans* termotoleransına etki ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktur." denilebilir (tablo 12).

Tablo 12. SelamotuKontrol (grup1) ve Selamotu200 (grup4) grubu arasında Bağımsız Örneklem T-testi sonuçları

BAĞIMSIZ ÖRNEKLEM T-TESTİ										
Selamotu Kontrol-Selamotu200 (1-4)		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	T	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
B İ R İ M	Equal variances assumed	4.966	0.112	-2.543	3.000	0.084	-6.16667	2.42479	-13.88345	1.55011
	Equal variances not assumed			-3.208	2.277	0.072	-6.16667	1.92209	-13.54402	1.21069

Selamotu20 (GRUP2) ile Selamotu100 (GRUP3) arasındaki Levene testine bakıldığında Sig. değeri $1.000 > 0.05$ olduğu için Levene testi için H_0 kabul edilir yani "%95 güvenle grupların varyansları homojen olarak kabul edilir. Bununla birlikte t-testine karar verirken Sig (2-tailed) değeri için birinci satırdaki 0.242 değeri dikkate alınmıştır ve Sig (2-tailed) 0.05 den büyük ($p > 0.05$) olduğu için H_0 hipotezi kabul edilir. Yani "%95 güvenle iki farklı konsantrasyonlarda (0 ve 200) uygulanan selam otu ekstralarının *C. elegans* termotoleransına etki ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktur." denilebilir (Tablo 13).

Tablo 13. Selamotu20 (grup2) ve Selamotu100 (grup3) grubu arasında Bağımsız Örneklem T-testi sonuçları

BAĞIMSIZ ÖRNEKLEM T-TESTİ										
Selamotu20- Selamotu100 (2-3)		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	T	df	Sig. (2- tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
B I R I m	Equal variances assumed	0.000	1.000	-1.373	4.000	0.242	-2.33333	1.69967	-7.05238	2.38572
	Equal variances not assumed			-1.373	4.000	0.242	-2.33333	1.69967	-7.05238	2.38572

Selamotu20 (GRUP2) ile Selamotu200 (GRUP4) arasındaki Levene testine bakıldığında Sig. değeri 0.05'den büyük ($0.190 > 0.05$) olduğu için Levene testi için H_0 kabul edilir yani "%95 güvenle grupların varyansları homojen olarak kabul edilir. Bununla birlikte t-testine karar verirken Sig (2-tailed) değeri için birinci satırdaki 0.923 değeri dikkate alınmıştır ve Sig (2-tailed) 0.05 den büyük ($p > 0.05$) olduğu için H_0 hipotezi kabul edilir. Yani "%95 güvenle iki farklı konsantrasyonlarda (0 ve 200) uygulanan Selamotu ekstrelerinin *C.elegans* termotoleransına etki ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktur." denilebilir (Tablo 14).

Tablo 14. Selamotu20 (grup2) ve Selamotu200 (grup4) grubu arasında Bağımsız Örneklem T-testi sonuçları

BAĞIMSIZ ÖRNEKLEM T-TESTİ										
Selamotu20- Selamotu200 (2-4)		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	Df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
B i r i m	Equal variances Assumed	2.850	0.190	-0.104	3.000	0.923	-0.16667	1.59571	-5.24493	4.91160
	Equal variances not assumed			-0.128	2.597	0.907	-0.16667	1.30171	-4.69822	4.36489

Selamotu100 (GRUP3) ile Selamotu200 (GRUP4) arasındaki Levene testine bakıldığında Sig. değeri 0.05'den büyük ($0.190 > 0.05$) olduğu için Levene testi için H_0 kabul edilir yani "%95 güvenle grupların varyansları homojen olarak kabul edilir. Bununla birlikte t-testine karar verirken Sig (2-tailed) değeri için birinci satırdaki 0.268 değeri dikkate alınmıştır ve Sig (2-tailed) 0.05 den büyük ($p > 0.05$) olduğu için H_0 hipotezi kabul edilir. Yani "%95 güvenle iki farklı konsantrasyonlarda (0 ve 200) uygulanan selamotu ekstrelerinin *C.elegans* termotoleransına etki ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktur." denilebilir (Tablo 15).

Tablo 15. Selamotu100 (grup3) ve Selamotu200 (grup4) grubu arasında Bağımsız Örneklem T-testi sonuçları

BAĞIMSIZ ÖRNEKLEM T-TESTİ										
Selamotu100- Selamotu200 (3-4)		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	T	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Differen ce	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
B I R I M	Equal variances Assumed	2.850	0.190	1.358	3.000	0.268	2.16667	1.59571	-2.91160	7.24493
	Equal variances not Assumed			1.664	2.597	0.209	2.16667	1.30171	-2.36489	6.69822

5. TARTIŞMA

Yaşam süresinin uzunluğu ile farklı streslere karşı direnç gösterme arasında güçlü bir bağ vardır. Termotolerans, organizmanın sıcak stresine karşı gösterdiği direnç olarak tanımlanmaktadır. Sıcak stresine karşı direnç arttıkça, organizma daha geç yaşlanmakta ve böylece yaşam süresi de artmaktadır. Antioksidan bileşiklerin de sıcak stresine karşı dayanıklılık (direnç) gösterebildiği belirtilmiştir (Benedetti ve ark, 2008). Bu çalışmada da antioksidan bir bitki olan selam otundan (*Levisticum officinale*) elde edilen farklı konsantrasyonların (20, 100 ve 200 µg/ml) *Caenorhabditis elegans* termotoleransı üzerine etkilerinin incelemesi amaçlanmıştır.

Artemisia annua (peygamber süpürgesi) bitkisinin % 0, 0.1, 1, 10 ve 100 konsantrasyonlarının çalışıldığı bir deneyde *C.elegans*'lar 35° C'de sıcağa maruz bırakılmıştır. Kontrol grubunun %73.3' ü hayatta kalırken, %100 konsantrasyon grubu %81.1 oranında hayatta kalmayı başarmıştır (Oh ve arkadaşları, 2016). Wiegant ve arkadaşları (2009) tarafından yapılan 250 µl/ml *Eleutherococcus senticosus* (veya *Acanthopanax senticosus*) ve 10–25 µg/ml *Rhodiola rosea* bitki adaptojen ekstralarının kullanıldığı çalışmada *C.elegans*'lar 35° C'de 3 saat bekletilmiş ve deney sonucunda da yaşam sürelerinin %10-20 arttığı gözlemlenmiştir. *Hypericum perforatum* (sarı kantaron) bitki ekstresinin farklı konsantrasyonları (1mg/mL, 0.1mg/mL, 0.01mg/mL) kullanılarak hazırlanan bir deneyde, *C.elegans*'lar 35° C'de bir süre bekletilmiş. 0.1mg/mL, 0.01mg/mL konsantrasyonları ile kontrol grubu arasında bir fark olmadığı ancak 1mg/mL konsantrasyonunun yaşam süresini azalttığı tespit edilmiştir (Kılıçgün ve Gökşen, 2012). Antioksidan aktivitesi yüksek olan dağ çayı (*Sideritis brevibracteata*) bitkisinin sulu ekstresi 1, 10, 100, 250, 500, 750, 1000, 1500 ve 2000 µg/mL konsantrasyonlarında hazırlanan ve kontrol grubuyla birlikte 35° C'de test edilen diğer bir çalışmada ise en etkili ekstre konsantrasyonunun 1500 µg/mL olduğu belirlenmiştir (Köksal, 2010).

Selamotu fonksiyonel bitki ekstresi kullanılarak yapılan bu çalışmada öncelikle *C. elegans* yaşam döngüsünün deney sonuçlarını etkilememesi için FUDR kimyasalından yararlanılmış ve yarılanma süresi tespit edilmiştir. Kontrol grubu olarak FUDR'siz grupta LD50 değerini yani başlangıç organizma sayısı olan 40 bireyin yarısının ölüp yarısının hayatta kaldığı süre 12. saat olarak tespit edilmiştir. Buna karşılık FUDR'li uygulamada LD50 değeri 6 saat olarak belirlenmiştir. Burada FUDR kullanılmadığında, her ne kadar sıcaklık *C. elegans* yaşam döngüsünü olumsuz etkilese de *C.elegans*'ın yaşam döngüsü

itibariyle yeni meydana gelen bireyler, sayının azalmasını geciktirmektedir. Ancak besiyeri ortamına FUDR ekleyerek DNA sentezini bloke etmek suretiyle hücre bölünmesini dolayısıyla da yeni bireylerin oluşması engellendiği için LD50 değeri daha küçük olmakta ve bu değer teorik olarak sadece ortam ısısından kaynaklanmaktadır.

Selam otu ekstraları, *C.elegans* üzerine, FUDR'li - LD50 değeri dikkate alınarak, 6 saat süreyle uygulanmıştır. Bu uygulamalarda Selam otunun 20 µg/ml, 100 µg/ml ve 200 µg/ml' lik ekstraları hazırlanmıştır. Kontrol grubunda ise Selam otu ekstresi hiç eklenmemiştir (0 µg/ml).

Elde edilen veriler kontrol edildiğinde (Bkz. Şekil 9.), 6 saat sonunda hayatta kalan *C.elegans* birey sayısının kontrol grubundan 20-100-200 grubuna doğru giderek arttığı görülmektedir. Dolayısıyla ilk bakışta selam otu ekstralarının *C.elegans*'ta bir termotolerans artışına sebep olduğu ve buna bağlı olarak hayatta kalan birey sayısının kontrol grubuna göre arttığı söylenebilmektedir. Ancak bu ifadeyi teyit etmek için daha detaylı istatistiksel analizlere ihtiyaç duyulmaktadır ki burada SPSS 16.0 programında Anova ve T-testi analizleri yapılmıştır.

Anova testi farklı gruplara ait varyansların farklı olup olmadığını ortaya koymayı sağlayan bir analiz çeşididir. Ancak gruplar arasında bir farklılık tespit edildiğinde bu farkın hangi gruplar arasında olduğu bilgisini vermemektedir. Aralarında fark olan grupları belirlemek için Post-hoc karşılaştırmaları ve T-Testi yapılmıştır. Anova ve T-Testinden önce verilerin Normalite'sini (normal dağılım gösterip göstermediklerini) ve Varyans Homojeniteleri'ni (varyansları homojen olup olmadığını) belirlemek için sırasıyla normalite testi (Normality plots with test) ve varyans homojenite testi (Homogeneity of variance test) yapılmıştır. Normalite testinde (Bkz. Tablo 4.) Shapiro-Wilk Sig değerleri Selamotu-Kontrol, Selamotu-20 ve Selamotu-100 grubu için (0.298, 0.463 ve 0.463) 0.05'den büyük olarak tespit edilirken Selamotu-200 grubu için Sig değeri elde edilememiştir. Selamotu-200 grubunun sig değeri elde edilememesi deneyin 2 paralel yapılmasından kaynaklanmaktadır. Bu sonuçlara göre selam otu ekstralarının *C.elegans* termotoleransı üzerine etkisini belirlemek için yapılan deneylere ait verilerin normal dağılıma sahip olduğu anlaşılmaktadır.

Varyans homojenite testinde ise Levene İstatistik Sig değeri (0.215), 0.05 güven değerinden büyük olarak belirlenmiştir. Dolayısıyla gruplar arasındaki varyansların homojen olduğu kabul edilmiştir. Verilerin normalliği ve varyansların homojenliği belirlendikten sonra Anova ve T-testine geçilmiştir.

Bu tez çalışmasında Grup1 (Selamotu-Kontrol), Grup2 (Selamotu-20), Grup3 (Selamotu-100) ve Grup4 (Selamotu-200) olmak üzere 4 grup incelenmiştir. Bu gruplarda

selam otu ekstrelerinin *C. elegans* termotoleransı üzerinde anlamlı bir fark oluşup oluşmadığını Tek Yönlü Anova analizi ile araştırılmıştır. Anova sig değeri 0.017 olarak belirlenmiştir. Bu değer 0.05 den küçük ($p=0.017<0.05$) olduğu için grupların ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu anlaşılmıştır. Diğer bir ifade ile *C. elegans* termotolerans özelliği bir veya birkaç grupta diğerlerine göre önemli ölçüde farklılık göstermektedir. Fakat ANOVA Sig değeri ile bu farkın hangi gruplar arasında olduğu yorumlanamamaktadır. Bu nedenle varyans homojenite testinde elde edilen Levene Sig değerine bakılarak Post-hoc karşılaştırması yapılmıştır. Çünkü Levene sig değeri 0.05 den büyük olursa yani varyansların homojen olması halinde Post-hoc Tukey testi yapılırken, bu değer 0.05 den küçük olduğunda yani varyansların homojen olmaması halinde Post-hoc Tamhane testi yapılır. Bulunan Levene Sig değeri 0.215, 0.05 den büyük olduğu için burada Tukey testi yapılmıştır.

Tukey testinde 4 grubun her biri ikişerli olarak birbiriyle karşılaştırılmıştır. Bütün ikili karşılaştırmalarda Sig değerleri 0.05 den büyük iken sadece Selamotu-Kontrol grubu ile Selamotu-100 grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur (Bkz. Tablo 8.). Çünkü Selamotu-Kontrol grubu ile Selamotu-100 grubu arasındaki sigma değeri 0.0138 olup 0.05 den küçüktür.

Tukey testi sonucunu doğrulamak amacıyla Tukey testi yerine de kullanılabilen ve özel durumlarda tercih edilen Bonferroni testi yapılmıştır. Bonferroni testi, Tukey testi sonuçları ile benzer bir şekilde sadece SelamotuKontrol grubu ile Selamotu100 grubu arasında Sig değeri (0.0221) 0.05 den küçük bulunmuş, diğer ikili karşılaştırmalarda ise bu dğer 0.05 den büyük çıkmıştır (Bkz. Tablo 9).

C.elegans termotoleransı üzerine etki etme açısından hangi gruplar arasında farklılık olduğunu belirlemek için uygulanan diğer test T-testidir. T-testi sonuçlarına bakıldığında Selamotu-Kontrol grubu ile Selamotu-20 grupları arasında sigma değeri 0.053 ($p>0.05$), Selamotu-Kontrol grubu ile Selamotu-100 grupları arasında 0.020 ($p<0.05$), Selamotu-Kontrol grubu ile Selamotu-200 grupları arasında 0.084 ($p>0.05$), Selamotu-20 grubu ile Selamotu-100 grupları arasında 0.242 ($p>0.05$), Selamotu-20 grubu ile Selamotu-200 grupları arasında 0.923 ($p>0.05$) ve son olarak Selamotu-100 grubu ile Selamotu-200 grupları arasında 0.268 ($p>0.05$) olarak belirlenmiştir. Görüldüğü gibi T-Testinde yapılan bu ikili karşılaştırmalarda sigma değer 0.05 den küçük olan değer sadece Selamotu-Kontrol grubu ile Selamotu-100 grupları arasında tespit edilmiştir. Dolayısıyla Selamotu-20, ve Selamotu-200 grupları Selamotu-Kontrol grubundan farklılık arz etmemiştir.

Veri bulgular çerçevesinde selam otu ekstralarının *C.elegans* termotoleransını arttırdığını ancak bu artışın ekstraların konsantrasyonları ile doğrudan bağlantılı olduğu ortaya çıkmaktadır. Tez araştırmalarında ortaya çıkarılan en önemli veri budur. 100 µg/ml konsantrasyonda hazırlanan selam otu ekstraları *C.elegans* termotoleransını artırırken 20 µg/ml ve 200 µg/ml konsantrasyonlardaki ekstralar kontrol grubu ile benzer sonuç vermesi şaşırtıcı bir sonuçtur. Çünkü 20 µg/ml nin düşük konsantrasyonda olması sebebiyle etkisiz kalacağı rahatlıkla anlaşılabilir bir sonuçtur. Ancak 100 µg/ml de kontrol grubuna göre anlamlı bir etki oluşturup, konsantrasyon seviyesi 200 µg/ml çıktığında bu etkinin ortadan kalkmış olması dikkat çekici bir sonuçtur. Bu sonuca göre; selam otu bitki ekstraları *C.elegans* termotoleransını artırıcı etki etmekte ve bu etki 100 µg/ml düzeyinde olmaktadır. Ancak bununla beraber selam otu ekstraları 20 µg/ml gibi düşük konsantrasyonlarda ve 200 µg/ml gibi yüksek konsantrasyonlarda *C.elegans* termotoleransı üzerine etkisini kaybetmektedir.

Elde edilen bu veriler doğrultusunda ileride selam otu ekstralarının *C.elegans* termotoleransı üzerine yapılacak daha kapsamlı araştırmalarda 100 µg/ml konsantrasyonuna odaklanan ve 100-110-120-130 µg/ml şeklinde üst sınırları ve 90-80-70-60 µg/ml gibi alt sınırları belirleyen analizler yapılabilir. Ayrıca optimum etki konsantrasyonu araştırılabilir. Bunun yanı sıra selam otu ekstralarındaki biyokimyasal bileşikler araştırılıp bu bileşiklerin *C.elegans*'ta termotoleransı artırıcı etkisini meydana getiren moleküler mekanizmalar gen ekspresyonu seviyesinde genom ve proteome odaklı incelenebilir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Levisticum officinale ülkemizde çok fazla tüketilmeyen fakat özellikle Uzak Doğu ve Bazı Akdeniz ülkelerinde fonksiyonel olarak kullanılan bir besindir. Ülkemizde bu bitki ile yapılmış çalışmalar yeterli sayıda değildir. Sağlık üzerine yapılan çalışmalar ise oldukça sınırlıdır. Bu tez çalışması bu açığa ışık tutması açısından önemli bir araştırmadır.

C. elegans yaşlanma ve beslenme çalışmalarında çok sık kullanılan organizmalardan biridir. Özellikle termotolerans çalışmaları için model bir organizmadır. Bu amaçla bu araştırmada *Levisticum officinale* fonksiyonel bitkisinin *C. elegans* nematodu üzerine etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Araştırma ve analiz verilerine göre *C. elegans* termotoleransını belli bir orana kadar arttırdığı belirlenmiştir. Termotoleransı artırıcı etkinin direk mi yoksa dolaylı yollardan mı etkilediği ise bilinmemektedir. Bunun için selam otu bitki ekstraterindeki biyokimyasal bileşiklerin, *C. elegans*'ta termotoleransı artırıcı etkisini meydana getiren moleküler mekanizmaları, gen ekspresyonu seviyesinde incelenmelidir. Selam otu bitkisi için en uygun konsantrasyonun belirlenebilmesi için ise daha kapsamlı çalışmalar yapılmalıdır. Özellikle moleküler düzeyde yapılacak çalışmalar *Levisticum officinale* bitkisinin değerini daha fazla ortaya çıkarabilir.

Bu çalışmada *C. elegans* termotoleransını artırıcı etki dozunun 100 µg/ml düzeyinde olduğu belirlenmiştir. Selam otu ile yapılacak daha sonraki yaşlanma ve termotolerans çalışmalarında bu doz etrafında optimal konsantrasyonun belirlenmesinin uygun olacağı düşünülmektedir. Ülkemizde *Levisticum officinale* bitkisinin yetiştiriciliği yapılmamaktadır. Ülkemize benzer coğrafi ve iklim koşullarına sahip Yunanistan gibi ülkelerde ise yetiştiriciliği yapılmaktadır. Bu yüzden antioksidanlar bakımından oldukça zengin olan selam otu bitkisinin bu tür çalışmalara daha çok katkı sağlaması ve insanların bu bitkinin yararlı etkilerinden daha fazla faydalanabilmesi için ülkemizde yetiştiriciliğinin sağlanmasının uygun olacağı düşünülmektedir. Yine bu bitki ile yapılacak hücre kültürü ve deney hayvanları çalışmalarının ülkemizde ve dünya genelinde artması konunun önemini arttıracaktır.

KAYNAKLAR

- ADA.** Health Implications of Dietary Fiber Position of ADA. *Journal of The American Dietetic Association* 2002, 102, 993-1000.
- Amrit F, Gandhi R, Ratnappan R, Keith SA, Ghazi A.** The *C. elegans* lifespan assay toolkit, *Science Direct* 2014, 68(3), 465-475.
- Benedetti MG, Foster AL, Vantipalli MC, White MP, Sampayo JN, Gill MS, Olsen A, Lithgow GJ.** Compounds that confer thermal stress resistance and extended lifespan. *Experimental Gerontology* 2008, 43, 882–891.
- Berenbaum MR.** Coumarins. Herbivores, Their Interactions with Secondary Plant Metabolites (2), 1, Gerald A. Rosenthal, May R. Berenbaum, Academic Press, California, 1991, 457.
- Childs NM.** Marketing issues for functional foods and nutraceuticals, In *Handbook of Nutraceuticals and Functional Foods*, Robert E. C. Wildman, Florida, CRC Press, 2001, 517-528.
- Chillemi S, Chillemi M.** The Complete Guide to Naturel Healing: A Naturel Approach to Healing the Body and Maintaining Optimal Health Using Herbal Supplements, Vitamins, Minerals, Fruits, Vegetables and Alternative Medicine. Lulu Press, 2015.
- Coşkun T.** Fonksiyonel besinlerin sağlığımız üzerine etkileri. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi* 2005, 48, 69-84.
- Çakmakçı S, Tahmas-Kahyaoglu D.** Yağ Asitlerinin Sağlık ve Beslenme Üzerine Etkilerine Genel Bir Bakış. *Akademik Gıda* 2012, 10(1), 103-113
- Ergen N.** Türk Halk İlaçlarının *Caenorhabditis elegans* Ömür Uzunluğu Üzerine Etkisinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara 2012, 2.
- Gholamhoseinian A, Shahouzehi B, Sharifi-far F.** Inhibitory Effect of Some Plant Extracts on Pancreatic Lipase. *International Journal of Pharmacology* 2010, 6(1), 18-24.
- Golden JW, Riddle DL.** The *Caenorhabditis elegans* dauer larva: developmental effects of pheromone, food, and temperature. *Developmental Biology* 1984, 102, 368-378.
- Gözcü S, Gökben Sevindik H.** *Levisticum officinale*. FFD Monografları Bitkiler ve Etkileri (3), Ömür Demirezer, Tayfun Ersöz, İclal Saraçoğlu, Bilge Şener, Ayşegül Köroğlu, Funda N. Yalçın, Özyurt matbaacılık, Ankara, 2017, 633-63.

- Gündoğdu S, Ertekin A.** İnsanlarda Üst ve Alt Solunum Yolu Enfeksiyonlarının Lipit Peroksidasyonu, Antioksidan Vitaminler ve Antioksidan Savunma Sistemleri Üzerine Etkilerinin Araştırılması. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 2006, 17 (1), 19-25.
- Hall DH, Altun ZF.** *C.elegans* Atlas. All Cold Spring Laboratory Press, New York 2008, 348.
- Hogg CL, Svoboda KP, Hampson JB, Brocklehurst S.** Investigation Into The Composition and Bioactivity of Essential Oil From Lovage (*Levisticum officinale* W.D.J. Koch). *The International Journal Of Aromatherapy* 2001, 11(3).
- Johnson TE.** Advantages and disadvantages of *Caenorhabditis elegans* for aging research. *Experimental Gerontology* 2003, 38, 1329–1332.
- Kandırallı Ş.** Özel Bir Sağlıklı Beslenme ve Diyet Danışmanlığı'na Başvuran Danışanların Fonksiyonel Besinlere Yönelik Farkındalığı, Bilgi Düzeyleri ve Tüketim Sıklıklarının Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Başkent Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2014, 4.
- Karataş F, Aşkın U, Halifeođlu İ, Dönder E.** Guatr'lı Hastalarda Antioksidan Vitaminler (A, E ve C), Selenyum ve Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px) Düzeylerinin Araştırılması. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 2006, 20 (4), 277 – 280.
- Kasnak C, Palamutođlu R.** Doğal Antioksidanların Sınıflandırılması ve İnsan Sağlığına Etkileri, *Türk Tarım - Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi* 2015, 3(5), 226-234.
- Kaya Y, Duyar HA, Erdem ME.** Balık Yağ Asitlerinin İnsan Sağlığı İçin Önemi. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri* 2004, 21(3-4), 365– 370.
- Kılıçgün H, Gökşen G.** Life span effects of *Hypericum perforatum* extracts on *Caenorhabditis elegans* under heat stress. *Pharmacognosy Magazine* 2012, 8(32), 325-328.
- Kısım A, Uzunoğlu S.** Hormesis: Toksik ajanların düşük dozlarına uyum sağlamada öncül fenomen. *Adli Tıp Dergisi* 2012, 26(3), 180-190.
- Kimble J, Hirsh D.** The post-embryonic cell lineages of the hermaphrodite and male gonads in *Caenorhabditis elegans*. *Developmental Biology* 1979, 70, 396-417.
- Klass MR.** 1977. Aging in the nematode *Caenorhabditis elegans*: major biological and environmental factors influencing lifespan. *Mechanisms of Ageing and Development* 1977, 6, 413-429.
- Korver O.** Healthy developments in the food industry. *Cancer Letters* 1997, 114, 19-23

- Köksal Z.** Dağ Çayı (*Sideritis brevibracteata*) Bitkisinin *Caenorhabditis elegans* Termotoleransı Üzerindeki Etkisinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Erzincan Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzincan 2010, 7.
- Mirjalili MH, Salehi P, Sonboli A, Hadian J, Ebrahimi SN, Yousefzadi M.** The composition and antibacterial activity of the essential oil of *Levisticum officinale* Koch flowers and fruits at different developmental stages. *Journal of Serbian Chemical Society* 2010, 75 (12), 1661–1669.
- Mirjalili MH, Javanmardi J.** Lovage. Handbook of herbs and spices (3), Peter KV, Boca Raton Boston New York Washington, DC, 2006, 438-452.
- Najda A, Wolski T, Dyduch J, Baj T.** Determination of quantitative composition of polyphenolic compounds occur in anatomically different parts of *Levisticum officinale koch*. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities* 2003, 6(1), 7-11.
- Oh SI, Kim JS, Kim CK, Yi SS, Kim SJ, Park SK.** Artemisia annua increases resistance to heat and oxidative stresses, but has no effect on lifespan in *Caenorhabditis elegans*. *Food Science and Technology Campinas* 2016, 36(2), 356-361.
- Olsen A, Vantupalli MC, Lithgow GJ.** Using *Caenorhabditis elegans* as a Model for Aging and Age-Related Diseases, *Annals of the New York Academy of Science* 2006, 1067, 120-128.
- Park HEH, Jung Y, Lee SJV.** Survival assays using *Caenorhabditis elegans*. *Molecules and Cells* 2017, 40(2), 90-99.
- Pirinç B, Türkoğlu Ş.** Etil Paraben ve Metil Parabenin *Caenorhabditis elegans*'ta Yumurta Verimi, Yaşama Yüzdesi ve Fiziksel Büyüme Üzerine Olan Etkilerinin Araştırılması. *Cumhuriyet Üniversitesi Fen Fakültesi Fen Bilimleri* 2016, 37(4), 372-390.
- Samur G, Mercanlıgil SM.** T.C. Sağlık Bakanlığı. "Diyet Posası ve Beslenme" 2008, Ankara 2008, 7-9.
- Savurdan H.** Üniversite Öğrencilerinin Fonksiyonel Besin Bilgi Düzeylerini Belirlemeye Yönelik Bir Ölçek Geliştirme: Geçerlilik ve Güvenilirlik Çalışması, Yüksek Lisans Tezi, Sosyal Bilimler Enstitüsü, Konya 2007, 5.
- Schaffitzel E, Hertweck M.** Recent aging research in *Caenorhabditis elegans*. *Experimental Gerontology* 2006, 41, 557–563.
- Smolin LO, Grosvenor MB.** Focus On Phytochemicals. In: Nutrition Science and Applications (2nd edition), Lorraine Raccuia, New Jersey, 2010, s 416-425.
- Sulston JE, Horvitz HR.** Post-embryonic cell lineages of the nematode, *Caenorhabditis elegans*, *Developmental Biology* 1977, 56, 110-156.

- Sulston JE, Schierenberg E, White JG, Thomson JN.** The embryonic cell lineage of the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Developmental Biology* 1983, 100, 64-119.
- Şafak M.** Sağlık Çalışanlarının Fonksiyonel Besinlere Yönelik Bilgi, Tutum ve Tüketim Durumlarının Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Haliç Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul 2012, 29.
- Taşdemir A.** Probiyotikler, Prebiyotikler ve Sinbiyotikler. *Sağlık Akademisi* 2017, 2(1), 72-88.
- Tekün E.** Farklı Eğitim Düzeylerindeki Obez Olan ve Olmayan Bireylerin Fonksiyonel Besinleri Kullanma Durumlarının Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Haliç Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 2015, 23.
- Tuna Keleştemur G, Özdemir Y.** Balıklarda Antioksidan Savunma ve Oksidatif Stres. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 2011, 4(1): 69-73.
- Turan H, Erkoyuncu İ, Kocatepe D.** Omega-6, Omega-3 Yağ Asitleri ve Balık. *Yunus Araştırma Bülteni* 2013, (2), 45-50.
- Tümer G, Çolak R.** Tip 2 diabetes mellitusda tıbbi beslenme tedavisi. *Deneyisel ve Klinik Tıp Dergisi* 2012, 12-15.
- Uymaz B.** Probiyotikler ve Kullanım Alanları. *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri* 2010, 16(1), 95-104.
- Velioğlu S.** Doğal Antioksidanların İnsan Sağlığına Etkileri. *Gıda Dergisi* 2000, 25(3), 167-176.
- Venskutonis PR.** Lovage Oils. In *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety*, ed. Victor R. Preedy, Academic Press, 2016, Pages 539–549.
- Vural A.** Fonksiyonel gıdalar ve sağlık üzerine etkileri. *Gıda ve Yem Bilimi Teknolojisi*, 2004, 6, 51-58.
- Wiegant FAC, Surinova S, Ytsma E, Langelaar-Makkinje M, Wikman G, Post JA.** Plant adaptogens increase lifespan and stress resistance in *C. elegans*. *Biogerontology* 2009, 10, 27–42.

ÖZGEÇMİŞ

Soyadı, Adı : Boztepe, Ece
Uyruk : T.C.
Doğum yeri ve tarihi : Aydın, 1991
E-mail : ecceboztepe@gmail.com
Yabancı Dil : İngilizce

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet tarihi
Y. Lisans	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi	-
Lisans	İzmir Şifa Üniversitesi	17.06. 2015

AKADEMİK YAYINLAR

PROJELER

Selam otu (*Levisticum officinale*) Fonksiyonel Besininin *Caenorhabditis elegans* Termotoleransı Üzerine Etkilerinin İncelenmesi- Araştırmacı Proje Yürütücüsü : Doç. Dr Serdal ÖĞÜT.