

ANKARA ÜNİVERSİTESİ
BIYOTEKNOLOJİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TÜRK HALK İLAÇLARININ *Caenorhabditis elegans* ÖMÜR UZUNLUĞU
ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Nuri ERGEN

Danışman Öğretim Üyesi

Yrd.Doç.Dr. Arzu ATALAY

ANKARA

2012

Yrd.Doç.Dr. Arzu ATALAY danışmanlığında, Nuri ERGEN tarafından hazırlanan “Türk Halk İlaçlarının *Caenorhabditis elegans* Ömür Uzunluğu Üzerine Etkisinin Araştırılması” adlı tez çalışması 25/01/2012 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Temel Biyoteknoloji Anabilim Dalı’nda yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan:

İmza:

Üye:

İmza:

Üye:

İmza:

Yukarıdaki sonucu onaylıyorum.

Prof. Dr. Mustafa AKÇELİK

Enstitü Müdürü

TÜRK HALK İLAÇLARININ *Caenorhabditis elegans* ÖMÜR UZUNLUĞU ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

ÖZET

Yaşlanma, organizmanın zamanla fonksiyonunu kaybederek ölüme gitmesi sürecidir. Uzun yıllardır tıp dünyası, yaşam kalitesini arttırmaya yönelik çalışmalar yapmaktadır. Yaşam kalitesini arttırmanın yanısıra, maksimum yaşam süresinin ve ortalama yaşam süresininin de artırılması hedeflenmiştir. Yaşam kalitesi arttıkça insanın ömrünün uzaması ile birlikte, obezite, diyabet, ateroskleroz, kanser, parkinson, alzheimer ve depresyon gibi yaşlanma ile ilişkili hastalıkların görülme sıklığında bir artış gözlenmektedir. Yaşlanma alanındaki araştırmalar yalnızca ömrün uzamasına yönelik değil, aynı zamanda yaşlanmayla ortaya çıkan hastalıkların da engellenmesine yönelik olacağı için daha fazla önem kazanmaktadır.

Biyolojik süreçlerin aydınlatılmasında, model organizma kullanımı oldukça yaygındır. *Caenorhabditis elegans*'ın genomunun ve genetiğinin iyi bilinmesi, insan genleri ile %60-80'lere varan oranda homolog oluşu, ekonomik oluşu, laboratuvarında kolayca idame edilmesi ve ortalama 20 günlük yaşam süresine sahip oluşu, bu organizmanın yaşlanma çalışmalarında yaygın olarak kullanılmasına sebep olmaktadır.

Bilindiği gibi ilaçların önemli bir kısmı bitkisel kaynaklardan elde edilmektedir. Halk ilacı olarak kullanılan bir bitkiden, ilaç adayı molekül geliştirebilme ihtimali oldukça yüksektir. Türkiye, büyük çoğunluğu endemik olan zengin bir bitki örtüsüne ve oldukça zengin de bir halk ilacı kültürüne sahiptir. Bu tez çalışmasının amacı, Türk halk ilaçlarının ömür uzunluğuna olan etkilerinin araştırılmasıdır. Daha önce gerçekleştirilen Türk halk ilacı envanter çalışmalarından her derde deva olduğuna inanılan antidiyabetik ve antibakteriyel etkili toplam 12 adet bitkinin standart ekstralarının *C.elegans* ömür uzunluğuna olan etkisi incelenmiştir. Ayrıca ömür uzunluğuna pozitif etkisi tespit edilen bazı ekstralar için mutant deneyleri ile birkaç yolak analizi gerçekleştirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Türk Halk İlacı, yaşlanma, *Caenorhabditis elegans*, ömür uzunluğu

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF TURKISH FOLK MEDICINE ON

Caenorhabditis elegans LIFESPAN

ABSTRACT

Aging is a process, which contributes to the functional loss of an organism and ultimately carries it to death with the passage of time. For many years, medical science, is working to improve the quality of life. In addition to improving the quality of life, increasing the maximum life expectancy was also intended. The incidence of age related diseases such as obesity, diabetes, atherosclerosis, cancer, Parkinson's disease, Alzheimer and depression was observed to be increased with the improvement of life quality and increase in life expectancy. Research in the field of aging is getting important not only it is related to the prolongation of life expectancy, but also related to prevention of the diseases that occur with aging.

The use of model organisms is quite common for the elucidation of biological processes. *Caenorhabditis elegans* is a model organism that is commonly used in aging studies since its genome is well-known, it shows 60-80% homology with human genome, can be easily manipulated in laboratory conditions and it has nearly 20 days of survival time.

As it is well known that vast majority of the drugs are obtained from plant sources. There is a high probability of developing a drug candidate molecule from a plant used as a folk medicine. Turkey has a very rich flora most of which are endemic and has a rich folk medicine culture. The purpose of this study is to investigate the effects of Turkish folk medicines to aging and some age related diseases. 12 plant extracts with antidiabetic and antibacterial activities, which are believed to be panacea, were chosen from previously reported folk medicine inventory studies and their effects on *C. elegans* longevity was investigated. Additionally, some pathway analysis was also conducted with the experiments performed with mutant strains.

Key words: Turkish folk medicine, aging, *Caenorhabditis elegans*, lifespan

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca benden bilgisini, tecrübesini ve desteğini hiçbir şekilde esirgemeyip her şekilde bana destek olan ve yol gösteren, çok saygı duyduğum ve sevdiğim değerli danışman hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Arzu ATALAY'a,

Tez çalışmamda kullanılan bitki ekstralarını bize sağlayan, akademik işbirliği yaptığımız Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognözi Anabilim Dalı öğretim üyeleri Prof. Dr. Ekrem SEZİK'e, Prof. Dr. Didem DELİORMAN ORHAN'a, Doç.Dr. Mustafa ASLAN ve Arş.Gör. Sanem HOŞBAŞ'a,

Yüksek lisans eğitimim boyunca, bana aile ortamı yaşatan, her zaman bana destek olan çok sevdiğim ve değer verdiğim MHB grubu üyeleri ablalarım Yrd.Doç.Dr. Bala GÜR DEDEOĞLU ve Uzm.Bio. F.Funda DEMİRİSOY'a ve kızkardeşim Bio. Selen GÜÇLÜ'ye,

Beni koşulsuz seven, hayatım boyunca beni her konuda destekleyen ve benim yanımda olan, eğitim hayatımın bu aşamaya gelmesini sağlayan canım annem Nazan ERGEN, canım babam Bülent ERGEN ve canım kardeşim Okan ERGEN'e

Son olarak beni her konuda destekleyen ve bana son dakika bilim haberlerini vakit kaybetmeden ulaştıran canım teyzem Nalan BALIKÇI'ya sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	İ
ABSTRACT.....	İi
TEŞEKKÜR.....	İii
SİMGELER DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	Vii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	İx
1.GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	5
2.1. <i>C.elegans</i> Yaşlanma Sürecinde Etkisi Olan Genler ve Yolaklar.....	5
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	19
3.1. Materyal.....	19
3.1.1. Genel Reaktifler.....	19
3.1.2. Petri Kapları.....	19
3.1.3. <i>Ceanorhabditis elegans</i> Suşları.....	19
3.1.4. Bitki Ekstreleri.....	20
3.2. Yöntem.....	22
3.2.1. <i>Ceanorhabditis elegans</i> 'ların Genel İdamesi.....	22
3.2.2. <i>E.coli</i> OP50 Kültürü Hazırlanması.....	22
3.2.3. NGM (Nematode Büyüme Ortamı) Hazırlanması.....	22
3.2.4. Embriyoların İzole Edilmesi.....	23
3.2.5. Toksikite Deneyi İçin Bitki Ekstreli Besin Plağı Hazırlanması.....	23
3.2.6. Toksikite Deneyinin Başlaması ve Deneyin Genel Takibi.....	24
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	25
4.1. Resveratrol(Pozitif kontrol) Deneyi Sonuçları.....	25
4.2. <i>Helichrysum plicatum</i> Toksikite Deneyi Sonuçları.....	27
4.2.1. Yabani tip(N2) Deneyi Sonuçları.....	27
4.2.2 Mutant Deneyi Sonuçları.....	27
4.3. <i>Helichrysum stoechas</i> Toksikite Deneyi Sonuçları.....	33
4.4. <i>Urtica dioica</i> Toksikite Deneyi Sonuçları.....	33
4.5. <i>Vaccinium macrocarpon</i> Toksikite Deneyi Sonuçları.....	33
4.6. <i>Mrytus communis</i> Toksikite Deneyi Sonuçları.....	33

4.7. <i>Rubus sanctus</i> Toksisite Deneyi Sonuçları.....	40
4.8. <i>Salvia fruticosa</i> Toksisite Deneyi Sonuçları.....	40
4.9. <i>Salvia verticillata</i> Toksisite Deneyi Sonuçları.....	40
4.10. <i>Salvia tomentosa</i> Toksisite Deneyi Sonuçları.....	40
4.11. <i>Hedera helix</i> Toksisite Deneyi Sonuçları.....	40
4.12. <i>Paliurus spina</i> Toksisite Deneyi Sonuçları.....	40
4.13. <i>Plantago major</i> Toksisite Deneyi Sonuçları.....	41
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	51
KAYNAKLAR.....	54
EKLER.....	58
Ek 1. <i>Helichrysum plicatum</i> Deney Sonuçları.....	58
<i>Helichrysum plicatum sir-2.1</i> Mutant Deney Sonuçları.....	60
<i>Helichrysum plicatum sir-2.1, eat-2, daf-16</i> Mutant Deney Sonuçları.....	62
<i>Helichrysum plicatum daf-2</i> Mutant Deney Sonuçları.....	64
Ek 2. <i>Helichrysum stoechas</i> Deney Sonuçları.....	67
Ek 3. <i>Urtica dioica</i> Deney Sonuçları.....	69
Ek 4. <i>Myrtus communis</i> Deney Sonuçları.....	71
Ek 5. <i>Rubus sanctus</i> Deney Sonuçları.....	73
Ek 6. <i>Salvia fruticosa</i> Deney Sonuçları.....	75
Ek 7. <i>Salvia verticillata</i> Deney Sonuçları.....	77
Ek 8. <i>Hedera helix</i> Deney Sonuçları.....	79
Ek 9. <i>Salvia tomentosa</i> Deney Sonuçları.....	81
Ek 10. <i>Paliurus spina</i> Deney Sonuçları.....	83
Ek 11. <i>Plantago major</i> (çiçek) Deney Sonuçları.....	85
Ek 12. <i>Plantago major</i> (yaprak) Deney Sonuçları.....	87
Ek 13. Resveratrol Deney Sonuçları.....	89
ÖZGEÇMİŞ.....	91

SİMGELER DİZİNİ

FUDR : 5-Fluoro-2'-deoxyuridine

M : Molar

μ l : Mikrolitre

μ g : Mikrogram

rpm: Dakikada dönüş sayısı

°C: Santigrat derece

ddH₂O : Çift distile su

ml : Mililitre

OYS: Ortalama yaşam süresi

MYS: Maksimum yaşam süresi

TOR: Target of rapamycin(Rapamisin hedefi sinyal yolağı)

JNK: c-jun-N-terminal kinaz

DR: Kalori sınırlaması

DAF: Dauer formasyonu

IGF: İnsülin büyüme faktörü

PI3K: Fosfoinositid 3-kinaz

DEABL: 3,3-Dietil-2-pirolidinon

OD: Optik yoğunluk

NGM: Nematod büyüme ortamı

NaCl: Sodyum klorür

MgSO₄: Magnezyum sülfat

KH₂PO₄ : Potasyum dihidrojen fosfat

CaCl₂ : Kalsiyum klorür

' : dakika

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. : <i>Caenorhabditis elegans</i> 'ın yaşam döngüsü ve larval evreleri.....	3
Şekil 2.1. : <i>Caenorhabditis elegans</i> ömür uzunluğunda rol alan yolaklar	6
Şekil 2.2. : <i>Caenorhabditis elegans</i> 'ta insülin benzeri sinyal yolağı	8
Şekil 2.3. : İnsanda ve <i>C.elegans</i> 'ta yaşlanma üzerinde etkili olan insülin ve insülin benzeri sinyal yolaklarının karşılaştırılması	9
Şekil 2.4. : İnsülin sinyalinin <i>C.elegans</i> ömür uzunluğu üzerine etkisi	11
Şekil 2.5. : İnsülin sinyalinin bazı mutantlarda <i>C.elegans</i> ömür uzunluğu üzerine etkisi	12
Şekil 2.6. : Metforminin kalori sınırlaması yoluyla <i>C.elegans</i> ömür uzunluğu üzerine etkisi	12
Şekil 2.7. : Metforminin oksidatif strese karşı direnç yoluyla <i>C.elegans</i> ömür uzunluğu üzerine etkisi	13
Şekil 2.8. : Mavi yemişin(Blueberry) <i>C.elegans</i> ömür uzunluğu üzerine etkisi	14
Şekil 2.9. : <i>Ginkgo biloba</i> 'nın <i>C.elegans</i> ömür uzunluğu üzerine etkisi	15
Şekil 2.10. : Resveratrolün <i>C.elegans</i> ömür uzunluğu üzerine etkisi	16
Şekil 2.11. : Antikonvulsanların <i>C.elegans</i> ömür uzunluğu üzerine etkisi	17
Şekil 2.12. : Antidepresanların <i>C.elegans</i> ömür uzunluğu üzerine etkisi	18
Şekil 4.1: Resveratrol(Pozitif Kontrol) deneyi sonucu	26
Şekil 4.2: <i>Helichrysum plicatum</i> toksisite deneyi sonucu.....	28

Şekil 4.3.: <i>Helichrysum plicatum</i> toksisite deneyleri ortalama sonucu.....	29
Şekil 4.4. : <i>Helichrysum plicatum sir-2.1</i> mutantı deneyi sonucu.....	30
Şekil 4.5. : <i>Helichrysum plicatum</i> mutant deneyleri sonucu.....	31
Şekil 4.6. : <i>Helichrysum plicatum daf-2</i> mutantı deneyi sonucu.....	32
Şekil 4.7. : <i>Helichrysum stoechas</i> toksisite deneyi sonucu.....	34
Şekil 4.8. : <i>Urtica dioica</i> toksisite deneyi sonucu(10 µg/ml FUDR):	35
Şekil 4.9. : <i>Urtica dioica</i> toksisite deneyi sonucu(25 µg/ml FUDR):.....	36
Şekil 4.10. : <i>Vaccinium macrocarpon</i> toksisite deneyi sonucu.....	37
Şekil 4.11. : <i>Mrytus communis</i> toksisite deneyi sonucu.....	38
Şekil 4.12. : <i>Mrytus communis sir-2.1</i> mutantı deneyi sonucu.....	39
Şekil 4.13. : <i>Rubus sanctus</i> toksisite deneyi sonucu.....	42
Şekil 4.14. : <i>Salvia fruticosa</i> toksisite deneyi sonucu.....	43
Şekil 4.15. : <i>Salvia verticillata</i> toksisite deneyi sonucu.....	44
Şekil 4.16. : <i>Salvia tomentosa</i> toksisite deneyi sonucu.....	45
Şekil 4.17. : <i>Hedera helix</i> toksisite deneyi sonucu.....	46
Şekil 4.18. : <i>Paliurus spina christi</i> toksisite deneyi sonucu.....	47
Şekil 4.19. : <i>Plantago major</i> (çiçek) toksisite deneyi sonucu.....	48
Şekil 4.20. : <i>Plantago major</i> (yaprak) toksisite deneyi sonucu.....	49

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. : <i>Caenorhabditis elegans</i> yaşlanma sürecinde rol oynayan genler.....	7
Çizelge 3.1. : Toksikite denemeleri yapılan bitki ekstreleri	21
Çizelge 3.2. : Bitki ekstreleri konsantrasyonları.....	24
Çizelge 4.1. : Tez çalışmasında yer alan halk ilacı olarak kullanılan bitki ekstrelerinin yaban tip <i>C.elegans</i> ortalama ve maksimum ömür uzunluğuna etkisi.....	50

1. GİRİŞ

Yaşlanma, farklı organ sistemlerinde sürekli ve dejeneratif değişikliklerin meydana geldiği oldukça karışık bir süreçtir. Doku morfolojisi ve fonksiyonunda zamanla gelişen ve ilerleyen dejenerasyon sonucu önce üreme ardından yaşam durur. İnsanoğlu, varolduğundan beri, yaşlanmayı ve yaşlanma ile ilişkili hastalıkları engelleme çabası içerisinde. Uzun yıllardır tıp dünyası, yaşam kalitesini arttırmaya yönelik çalışmalar yapmaktadır. Yaşam kalitesini arttırmanın yanısıra, maksimum yaşam süresinin ve ortalama yaşam süresininin de artırılması hedeflenmiştir. Günümüzde, yaşlanmayı önleme veya geciktirme amaçlı pek çok bilimsel araştırma dünyada en çok para harcanan endüstrilerden biri olarak karşımıza çıkmaktadır. Yaşam kalitesi arttıkça insanın ömrünün uzaması ile birlikte, obezite, diyabet, ateroskleroz, kanser, parkinson, alzheimer ve depresyon gibi yaşlanma ile ilişkili hastalıkların görülme sıklığında bir artış gözlenmektedir. Dolayısıyla, yaşlanma alanındaki araştırmalar yalnızca ömrün uzamasına yönelik değil, aynı zamanda yaşlanmayla ortaya çıkan hastalıkların da engellenmesine yönelik olacağı için daha fazla önem kazanmaktadır (Baur JA vd 2006).

Son yıllarda tek bir gendeki mutasyonun sadece ömrü uzatmakla kalmayıp, yaşlanmayla ilişkili hastalıkların meydana getirdiği hasarı da azalttığı ortaya konmuştur. Örneğin, Irs1(Insulin receptor substrate) genindeki mutasyonun, farenin hem ömrünü uzattığı hem de daha sağlıklı olmasını sağladığı gösterilmiştir (Le Couteur D vd 2006). *C.elegans* ve *D.melanogaster*'de meydana gelen tek gen mutasyonlarının, yaşlılıkla ilişkilendirilen hastalıkların patolojisinde gerilemeye sebep olduğu da yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Wood JG vd 2004). İnsülin yolağının altında bulunan FOXO(forkhead transcription factor) proteini hem ömür uzunluğuna etki etmekte, hem de yaşlanma ile ilişkili hastalıkların gelişim sürecinde rol oynamaktadır (Cameron AR vd 2008).

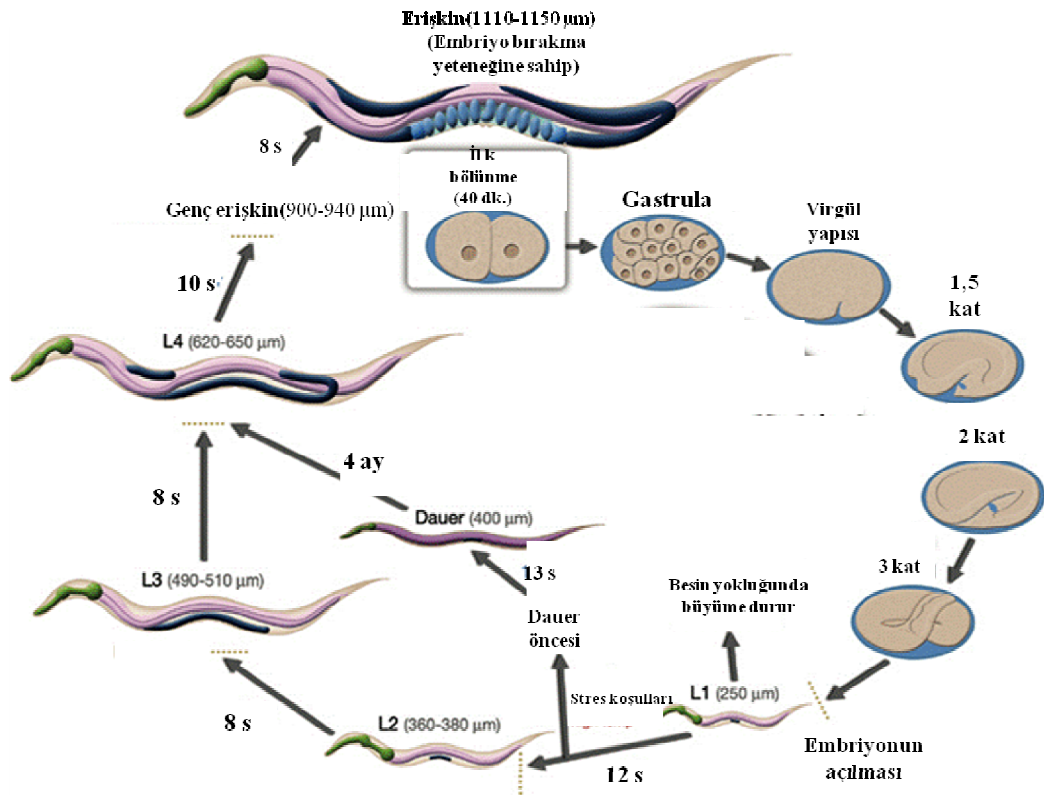
Biyolojik süreçlerin aydınlatılmasında, model organizma kullanımı oldukça yaygındır. Doğal olarak yaşlanma sürecinin aydınlatılmasında da fare, *Drosophila melanogaster*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Caenorhabditis elegans* gibi model organizmalar kullanılmaktadır (Olsen A. vd 2006). *Caenorhabditis elegans*, yapılan bilimsel

çalışmalarda yaygın olarak kullanılan bir model organizmadır. 2002 ve 2006 Nobel Tıp ve Fizyoloji ödülleri, bu model organizmanın kullanıldığı çalışmalara verilmiştir. İnsan genlerinin %60-80'inin homoloğu *C.elegans*'ta bulunduğundan, memelilere ait birçok keşif bu model organizma kullanılarak yapılmıştır (Ségalat L. 2006).

Caenorhabditis elegans, yaklaşık olarak 1mm boyunda, mikroskobik, patojen olmayan, doğada ağaç diplerinde yaşayan bir nematoddur (Hertweck M. vd 2003). Laboratuvar koşullarında, petri kabı içinde bakteriyle beslenerek idame ettirilebilir. Zigotta erişkine kadar her bir hücrenin akıbeti çok iyi bilinmektedir. *C.elegans* genomu dizilenen ilk çok hücreli, ikinci ökaryotik organizmadır. RNAi teknolojisi ve transgenik oluşturma gibi teknikler kolaylıkla uygulanabilir. Vücudu saydam olduğundan, 959 hücresi mikroskop altında kolaylıkla incelenebilir. Kas hücreleri, sinir sistemi, hipodermis, bağırsak, gonad, salgı bezleri ve dışkılama sistemi içermektedir. Ömrü laboratuvar koşullarında yaklaşık olarak 3 haftadır, hayat döngüsü (embriyodan-embriyo üreten erişkine) ise 20°C'de 3.5 gündür (şekil 1.1). Hermafrodit ve erkek olmak üzere iki cinsiyet vardır, her hermafrodit kendini dölleyerek yaklaşık 300 yavru üretebilir. Memeli olmayan bir sistem olmasına rağmen, metabolik sendrom, yaşlanma, kanser, nörodejeneratif hastalıklar, depresyon ve nöral dejenerasyon gibi pek çok insana ait hastalık modeli olarak kullanılmaktadır (Olsen A. vd 2006).

Caenorhabditis elegans bazı özelliklerinden dolayı yaşlanma çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır. En önemli özelliklerden birisi, *Caenorhabditis elegans*'ın ekonomik olmasıdır. Laboratuvar koşullarında, petri kabı üzerinde *E.coli* ile beslenerek büyütülebilmektedir. Bir diğer özelliği ve belki de yaşlanma çalışmalarında kullanılmasında en önemli faktör, ortalama 20 günlük yaşam süresine sahip olmasıdır. Kısa yaşam süresi, yaşlanma çalışmalarında daha çabuk sonuç elde edilmesi açısından önemlidir.

Genetiğinin ve zigottan erişkine kadar her bir hücresinin akıbetinin iyi bilinmesi, ayrıca genlerinin insan genleriyle %80 oranında homolog olması da, yapılan bilimsel çalışmalarda kolaylık sağlamaktadır. Ayrıca, bir ilacın etkisini tüm bir organizma üzerinde gözleyip analiz etme avantajı da *Caenorhabditis elegans*'ı yaşlanma çalışmalarında uygun model organizma olarak karşımıza çıkarmaktadır (Hertweck M vd 2003).



Şekil 1.1. : *Caenorhabditis elegans*'ın yaşam döngüsü (www.wormatlas.org)

Bilindiği gibi ilaçlar doğal kaynaklar ve biyolojik/kimyasal sentez yolu ile elde edilmektedir. Tabiat yeni ilaçların kazanılması için önemli bir kaynak olmuştur. Özellikle, bitkiler tarafından üretilen sekonder metabolitlerden ilaç üretim çalışmalarında yararlanılmaktadır. Yapılan istatistiksel çalışmalar kimyasal yolla sentezi yapılan 40.000 molekülden ancak birinin ilaç adayı olarak değerlendirmeye alınabildiğini, son yıllarda bilgisayar destekli molekül tasarımı teknikleri ile bu oranın, bir antiülser madde olan famotidin için ancak 800:1'e indirilebildiğini ortaya koymuştur. Bitkisel kaynaklarda ise bu oran çok yüksektir. Halk ilacı olarak kullanılan bir bitkiden ilaç adayı molekül geliştirebilme ihtimali 10:1 gibi çok yüksek bir orana çıkabilmektedir. Bu sonuç, halk ilacı çalışmalarının önemini ortaya koymaktadır. Türkiye, büyük çoğunluğu endemik olan zengin bir bitki örtüsüne sahiptir. Türkiye'deki zengin halk ilacı kültürü E.Sezik, E.Yeşilada ve arkadaşları tarafından, 1986-1995 yılları arasında Anadolu'da sürdürülen 4 kapsamlı proje ile "Anadolu Halk İlaçları Envanter Çalışması" kapsamında kayıt altına alınmıştır (Sezik vd 1991, Sezik vd 2001).

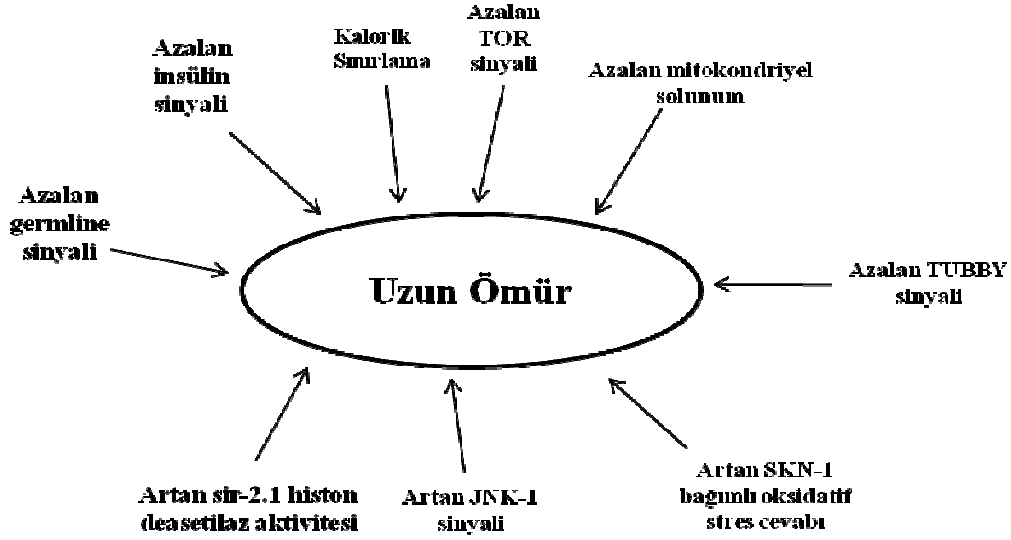
Bu tez çalışmasının amacı Türk halk ilaçlarının ömür uzunluğuna olan etkilerinin araştırılmasıdır. Bu amaçla Sezik ve arkadaşları tarafından oluşturulan Türk halk ilacı envanter çalışmalarından, halk arasında şeker hastalığına karşı kullanıldığı belirtilen, ayrıca Deliorman ve arkadaşları tarafından hazırlanan herderde deva ve antibakteriyel amaçla kullanılan toplam 12 adet bitkinin standart ekstralarının *C.elegans* ömür uzunluğuna olan etkisi incelenmiştir. Şeker hastalığına iyi geldiği düşünülen bitkilerin kullanılmasının nedeni, bu hastalığın yaşa bağlı görülme sıklığının artması ve yaşlanmada çok önemli rolü olduğu gösterilmiş olan insülin yolağının bozulmuş olmasıdır. Ayrıca antibakteriyel etkisi olduğu düşünülen ekstraların de ömür uzunluğuna olan etkileri incelenmiştir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Uzun yıllardır tıp dünyası, yaşam kalitesini artırmaya yönelik çalışmalar yapmaktadır. Yaşam kalitesini arttırmanın yanısıra, maksimum yaşam süresinin ve ortalama yaşam süresininin de arttırılması hedeflenmiştir. Yaşlanma araştırmalarında iki farklı yaşam süresi ölçülmektedir. Bunlardan birincisi ortalama yaşam süresi (OYS) olup, toplumdaki tüm bireylerin yaşam süresinin ortalamasını ifade eder. Maksimum yaşam süresi (MYS) ise toplumdaki en uzun yaşayan %10'luk dilimin ortalama yaşam süresini gösterir. Tıp, koruyucu hekimlik ve bilimdeki gelişmeler OYS'ni uzatmış, başka bir ifadeyle erken ölümleri önemli bir oranda önlemiş; ancak MYS değişmemiştir. MYS yaşlanma sürecinin bizzat kendisinin (birincil veya intrinsik yaşlanma süreci) bir göstergesidir. Birincil yaşlanma süreci diğer faktörlerden bağımsız olarak sadece yaşa bağlı ortaya çıkan değişikliklerdir (kas kitesinin azalması, abdominal yağda artış, bağişiklıkta azalma vb.). Bu nedenle yaşlanmaya karşı etkili uygulamaların OYS ile birlikte MYS'ni de uzatması beklenir.

2.1. *C.elegans* Yaşlanma Sürecinde Etkisi Olan Genler ve Yolaklar

C.elegans yaşlanma sürecinde, pek çok farklı yolaktaki genlerin etkisi gösterilmiştir (Schaffitzel ve Hetweck 2006). Bu yolaklardan başlıcaları; insülin/IGF-1 benzeri sinyal yolağı, JNK sinyal yolağı, oksidatif stres yolağı, mitokondri genleri ve TOR sinyal yolağıdır (şekil 2.1). Bu yolaklar ile, dolayısıyla yaşlanma süreci ile ilişkili olan genler tablo üzerinde gösterilmiştir (Çizelge 2.1).



Şekil 2.1. : *Caenorhabditis elegans* ömür uzunluğunda rol alan yollar

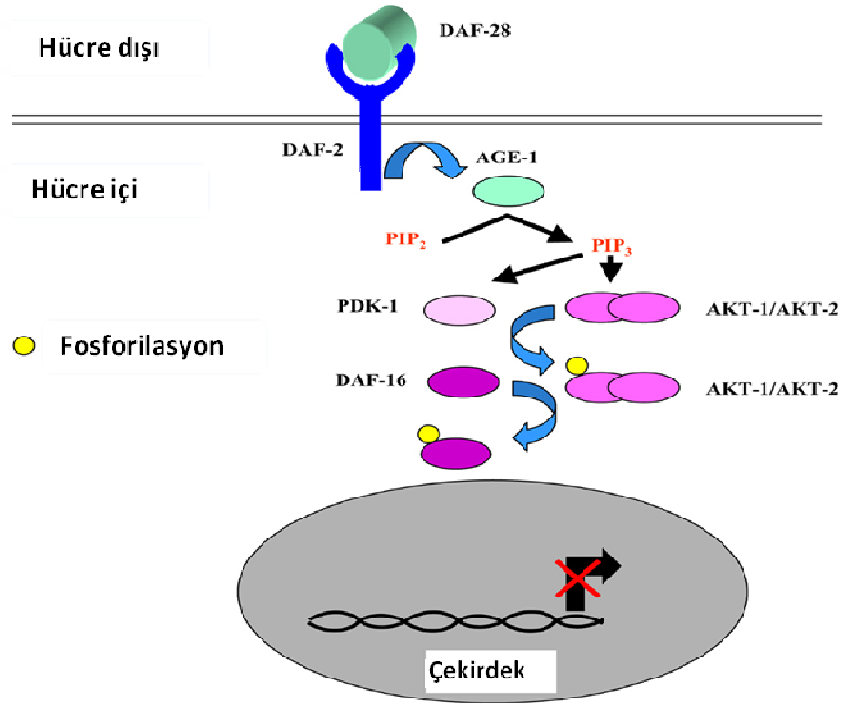
C.elegans ömür uzunluğunu etkileyen yollar şekilde gösterilmiştir. Azalmış insülin ve TOR sinyalleri, kalori sınırlaması ömür uzunluğunda artış ile ilişkilendirilmiştir. Ayrıca artan SIR-2.1 histon deasetilaz aktivitesi, JNK-1 sinyalleri ve SKN-1 bağımlı oksidatif stres cevabı ömür uzunluğunda artış ile ilişkilendirilmiştir. (Schaffitzel ve Hetweck 2006)

Yaşlanma sürecini en fazla etkileyen ve üzerinde en çok çalışma yapılmış sinyal yollarından birisi İnsülin/IGF-1 sinyal yolağıdır (Warner 2005). *C.elegans*'ta insülin sinyal yolağının inhibisyonu, dauer formunun oluşumuna sebep olur. Dauer formu, stres koşullarına dayanıklı, yaklaşık olarak 4 aylık bir yaşam süresine sahip form olarak tanımlanmaktadır. Normal yaşam süresinin yaklaşık 3 hafta olduğunu düşündüğümüzde, Dauer formu, yaşlanma çalışmalarında önemli ve incelenmesi gereken bir yapı olarak karşımıza çıkmaktadır. Ayrıca, insülin yolağı mutantları, yüksek oranda yağ depolaması ve strese karşı yüksek direnç göstermektedir (Sinclair 2005).

İnsülin benzeri moleküllerin, insülin benzeri DAF-2 reseptörüne bağlanması, bir grup protein kinaz molekülünün aktive olmasına sebep olur (Tan vd 2004). Bu protein kinazlardan birisi AGE-1/PI3K'dir. İnsülin sinyalinin gelmesiyle AGE-1, stres cevabında etkili bir transkripsiyon faktörü olan DAF-16'nın fosforilasyonuna sebep olur, böylece DAF-16'nın nükleusa giderek bazı stres cevabı genlerini aktive etmesi engellenmiş olur (Şekil 2.2). Dolayısıyla insülin sinyalindeki azalma stres cevabı genlerinin aktive olmasına sebep olmaktadır (Ewbank 2006).

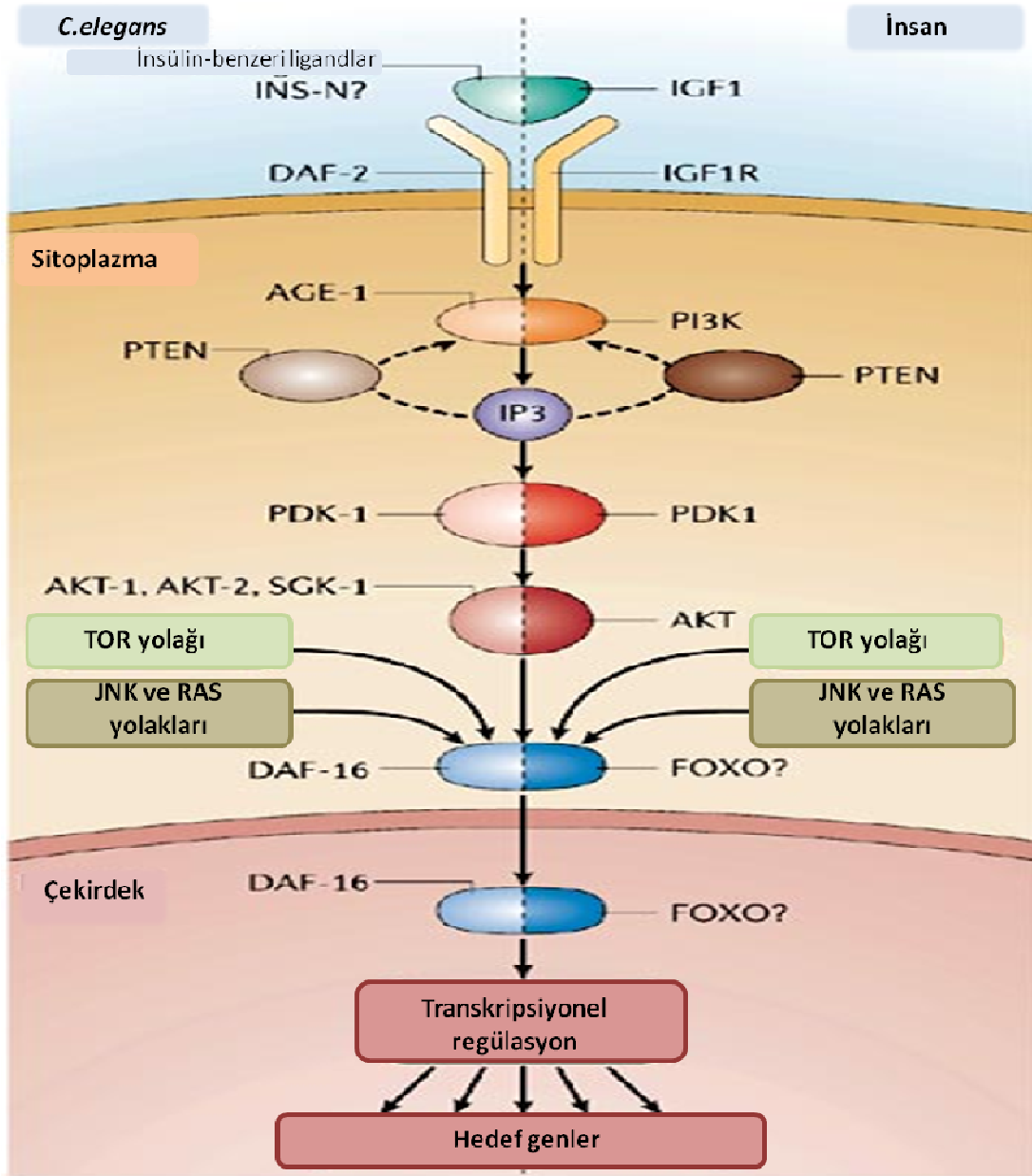
Gen	Fonksiyonu
İnsülin/IGF-1 benzeri sinyali	
daf-2	İnsülin / IGF-1 reseptörü
aap-1	Fosfoinositid 3-kinaz p50/p55 adaptör alt ünitesi
age-1	Fosfatidilinozitol-3-kinaz p110 katalitik alt ünitesi
daf-18	PTEN lipid fosfataz
pdk-1	3-fosfoinositid- bağımlı kinaz 1
sgk-1	Serum ve glukokortikoid-indüklenebilir kinaz
akt-1/2	Akt/protein kinaz B (PKB)
daf-16	Forkhead/winged heliks transkripsiyon faktörü
hsf-1	Isı şoku transkripsiyon faktörü
JNK sinyali	
jkk-1	JNK kinaz
jnk-1	c-Jun N-terminal kinaz
Oksidatif stres	
gsk-3	Glikojen sentaz kinaz
skn-1	bZIP transkripsiyon faktörleri benzeri
Germline sinyali	
glp-1	Notch ailesi reseptörü
mes-1	Tirozin kinaz reseptörü
daf-12	Nükleer hormon reseptörü
TOR sinyali	
let-363	TOR (rapamisin hedefi)
daf-15	TOR ilişkili düzenleyici protein
Diğer mekanizmalar	
aak-2	AMP-aktive protein kinaz katalitik alt ünitesi
sir-2.1	NAD ⁺ -bağımlı histon deasetilaz
eat-2	Nikotinik asetilkolin reseptörü alt ünitesi
tub-1	TUBBY protein ailesi

Çizelge 2.1. : *Caenorhabditis elegans* yaşlanma sürecinde rol oynayan genler (Schaffitzel ve Hetweck,2006)



Şekil 2.2. : *Caenorhabditis elegans*'ta insülin benzeri sinyal yolağı

C.elegans'ta insülin benzeri sinyal yolağı Şekil 2.2'de gösterilmiştir. İnsülin benzeri molekül DAF-28, DAF-2 reseptörüne bağlandığında, AGE-1 proteini aktive olur. AGE-1, stres cevabında etkili bir transkripsiyon faktörü olan DAF-16'nın fosforilasyonuna sebep olur, böylece DAF-16'nın nükleusa giderek bazı stres cevabı genlerini aktive etmesi engellenmiş olur (Ewbank 2006).



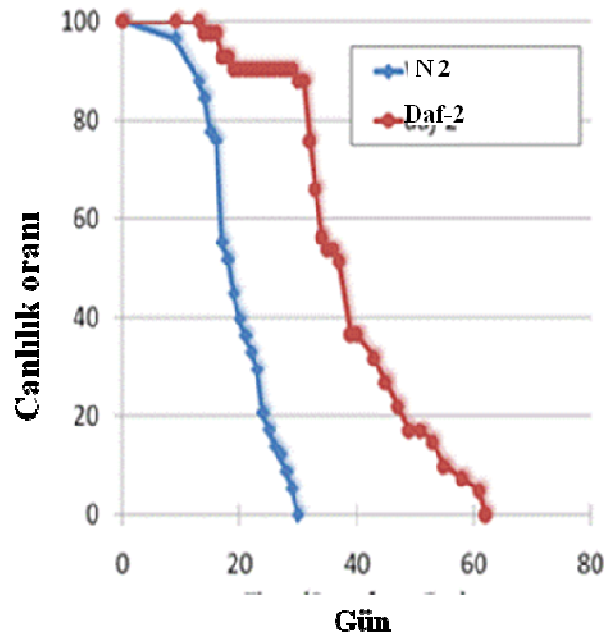
Şekil 2.3. : İnsanda ve *C.elegans*'ta yaşlanma üzerinde etkili olan insülin ve insülin benzeri sinyal yolaklarının karşılaştırılması
 İnsülin sinyal yolağının ve yaşlanma üzerinde etkisi olan yolakların evrimsel olarak korunduğu şekil üzerinde gösterilmiştir (Nature Reviews Genetics, 2005).

1993'te ilk presenilin'in *C.elegans*'ta keşfedilmesini takiben insan presenilin genindeki mutasyonların ailesel Alzheimer hastalığı ile ilgisi ortaya çıkarılmıştır (Berezovska O vd 1999). İnsan presenilin-1 geni *C.elegans*'ta ifade edildiğinde *C.elegans sel-12* mutasyonları sonucu ortaya çıkan nöral defektler tersine çevrilmiştir (Berezovska O vd 1999).

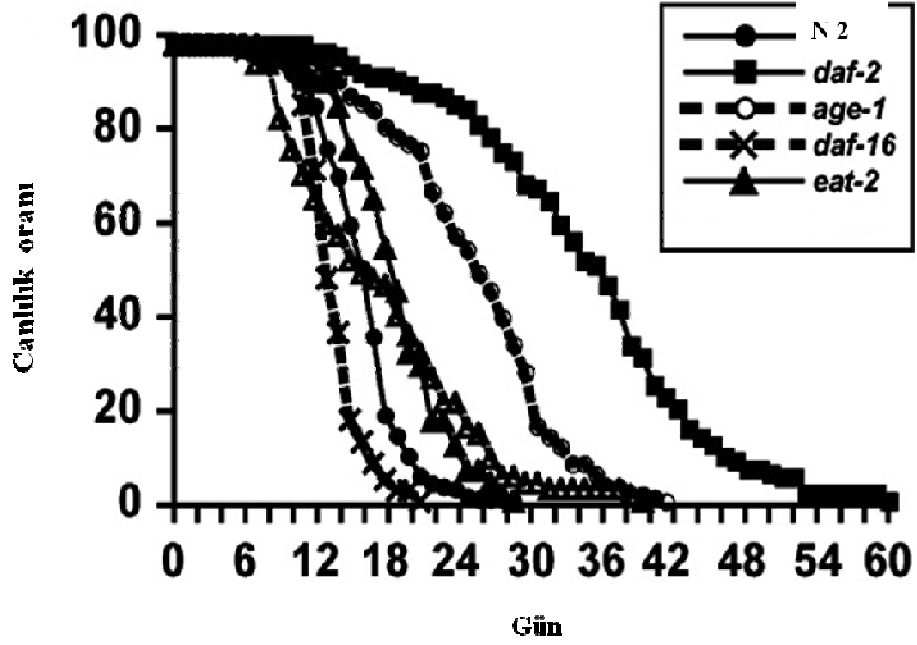
C.elegans sadece genetik bir model olarak değil ayrıca bir ilacın farmakolojik etkisinin tüm bir organizma üzerinde incelemek için de oldukça kullanışlı bir modeldir. Mesela fluoksetin isimli antidepresanın *C.elegans* serotonin emilim transporterleri olan SERT'i inhibe ederek *C.elegans*'ta serotonerjik sinyali arttırdığı gösterilmiştir (Ranganathan vd 2001). Bu bilgi fluoksetin çalışma mekanizması ve depresyonun moleküler mekanizması ile ilgili pek çok çalışma başlatılmasını teşvik etmiştir.

C.elegans diyabet, obezite ve yaşlanma çalışmaları için de model olarak kullanılmaktadır. 1997 de *C.elegans*'taki çalışmalar sırasında insulin yolağının negatif regülatörleri tanımlanmıştır. Bunlardan biri olan daf-16, forkhead transkripsiyon faktörü FOXO'nun *C.elegans* ortoloğudur. 2002'de FOXO İşlev kaybı (loss-of-function) mutasyonlarının insulin dirençli faredeki diyabetik fenotipi geri çevirdiği bulunmuştur (Nakae vd 2002). İnsan insulini *C.elegans*'ta ifade edildiğinde İnsülin/AKT yolağında rol alan daf fenotipini (dauer formation defective) geriye çevirmiş ve bu model Devgen ve Exelitis şirketleri tarafından tüm genomu kapsayan RNAi taramaları için kullanılmıştır (Nakae vd 2002). *C.elegans*'ta vitamin E, kalorik kısıtlama ve azalmış insülin sinyalleri *C.elegans* ömrünü uzatmaktadır (Tissenbaum ve Guarente 2002). Bunu takiben memelilerde homozigot daf-2 (insulin reseptörü) mutasyonu taşıyan faredeki azalmış insülin sinyali oksidatif strese direnci artırmıştır (Houthoofd vd 2005).

İnsülin sinyalindeki azalma, ömür uzunluğunun artışı ile ilişkilendirilmektedir (Artal-Sanz M vd. 2006). Irs1(Insulin receptor substrate) genindeki mutasyonun, farenin hem ömrünü uzattığı hem de daha sağlıklı olmasını sağladığı gösterilmiştir (Baur JA vd 2006). *C.elegans*'ta ise *daf-2* geninde meydana gelen mutasyon, insülin sinyalinde bir azalmaya yol açtığından, ömür uzunluğunda artışa sebep olmuştur (Olsen A vd 2006). (Şekil 2.4,2.5)

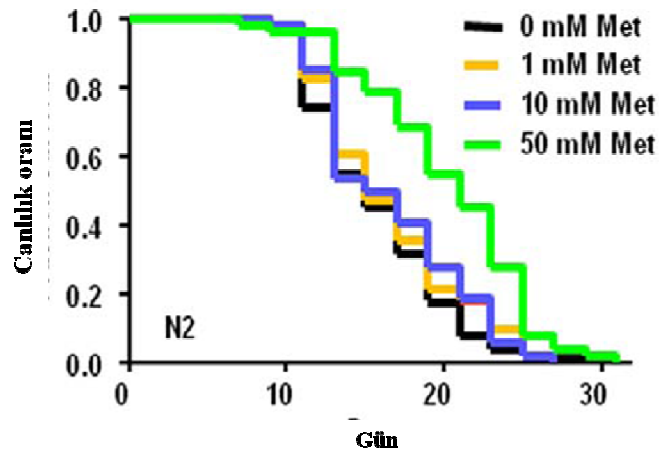


Şekil 2.4. : İnsülin sinyalinin *C.elegans* ömür uzunluğu üzerine etkisi (Olsen A vd 2006)

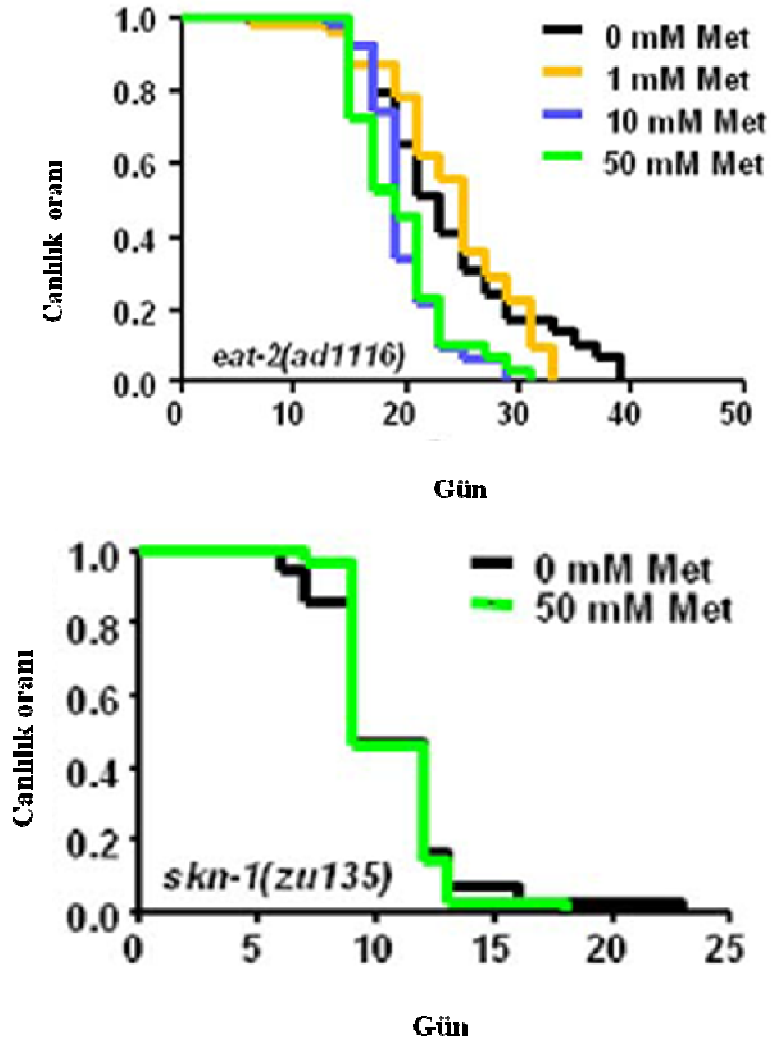


Şekil 2.5. : İnsülin sinyalinin bazı mutantlarda *C.elegans* ömür uzunluğu üzerine etkisi (Olsen A vd 2006)

Günümüzde diyabet ilacı olarak kullanılan metformin, kalori sınırlamasına ve oksidatif strese karşı dirence yol açarak, *C.elegans* ömür uzunluğu üzerinde etkili olmaktadır (Onken ve Driscoll 2010). (Şekil 2.6,2.7)



Şekil 2.6. : Metforminin yabani tip *C.elegans*'ta ömür uzunluğuna etkisi (Onken ve Driscoll 2010)



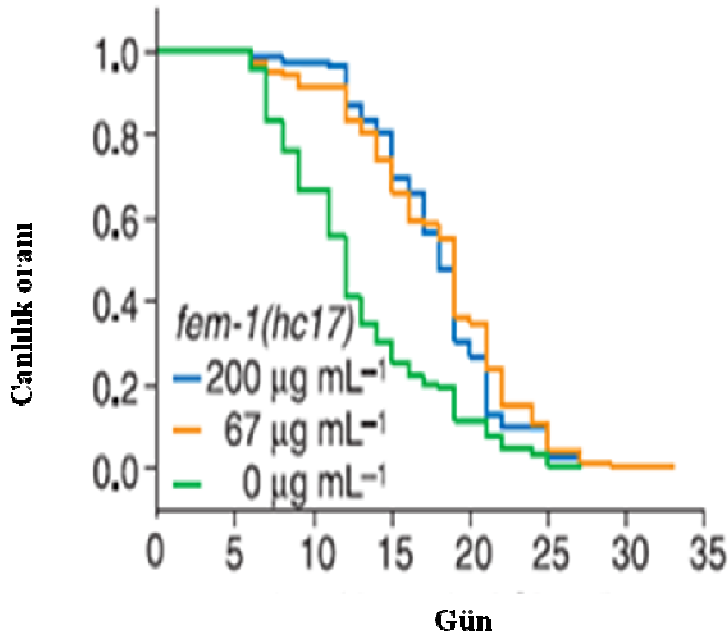
Şekil 2.7. : Metforminin kalori sınırlaması (üst panel) ve oksidatif strese karşı direnç yoluyla (alt panel) *C.elegans* ömür uzunluğu üzerine etkisi (Onken ve Driscoll 2010)

C.elegans yaşlanma sürecinde pek çok farklı yolaktaki genlerin etkisi gösterilmiştir, bu yollardan başlıcaları insülin/IGF-1-benzeri sinyal yolağı, JNK sinyal yolağı, oksidatif stres, mitokondri genleri ve TOR sinyal yolağıdır (Schaffitzel ve Hetweck, 2006).

Bitkiler primer metabolizmalarında yer almayan pek çok sekonder bileşikleri yaparlar. Bu sekonder bileşikler ekolojik uyum mekanizmalarında rol alır ve bitkinin strese karşı yaşamasını sağlarlar. Bu bileşiklerin, meyve ve sebzelerin insan sağlığı üzerindeki yararlı

etkilerinin sorumlusu olabileceği bilinmektedir. Önceki çalışmalarda meyve ve sebzelerde bulunan antioksidan/anti-enflamatuvar polifenolik bileşiklerin farelerde yaşlanmayı ters çevirdiği görülmüştür (Joseph vd 1999).

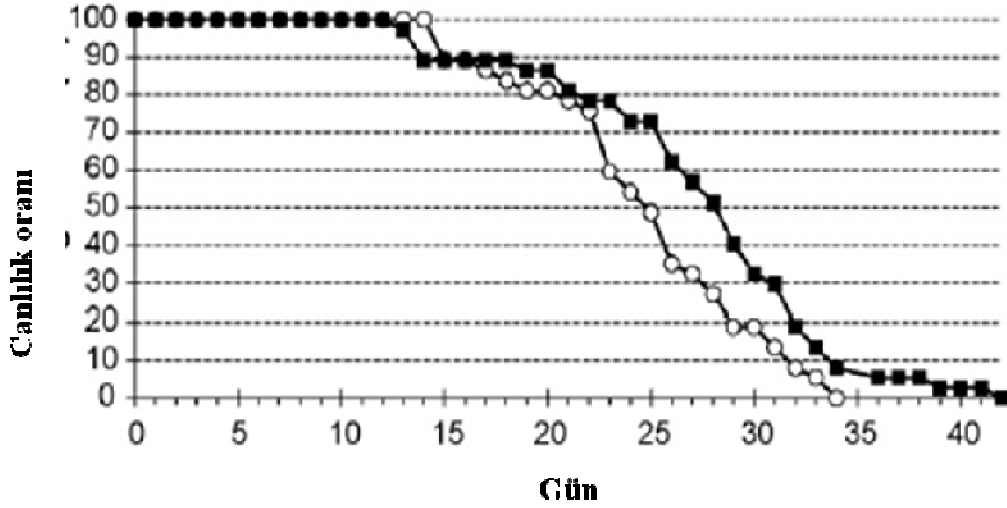
Pek çok bitki ekstresinin ömür uzunluğuna etkisi *C.elegans* üzerinde çalışılmıştır. Örneğin halk arasında mavi yemiş (blueberry) olarak bilinen *Vaccinium angustifolium* bitkisinden elde edilen ekstrenin *C.elegans*'ın ortalama ömrünü % 28 uzattığı görülmüştür (Wilson vd 2006).



Şekil 2.8. : Mavi yemişin (Blueberry) *C.elegans* ömür uzunluğu üzerine etkisi(Wolkow CA vd 2006)

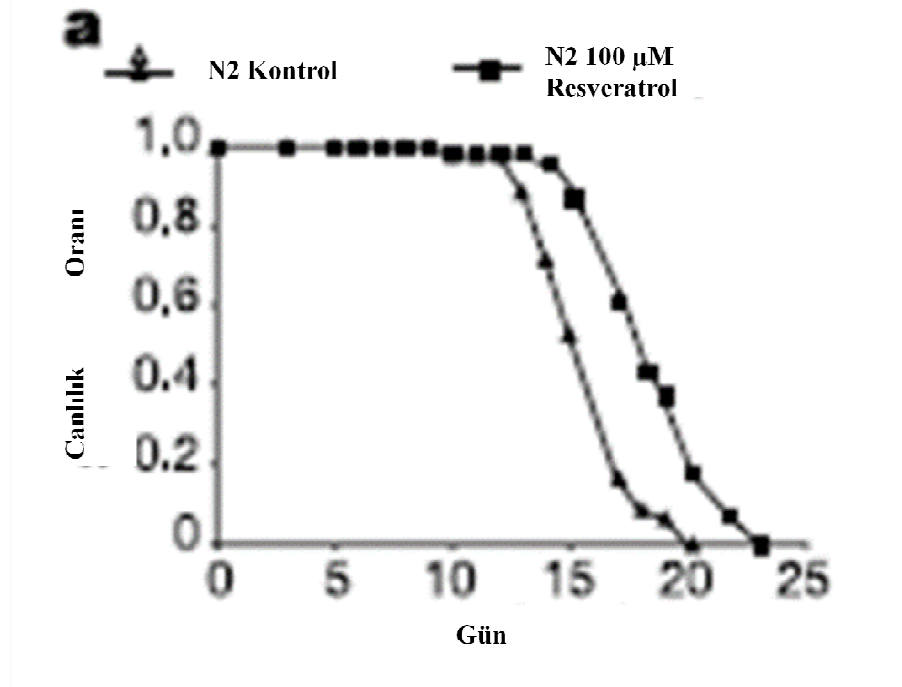
C.elegans ömür uzunluğuna etkisi çalışılan bir diğer bitki ekstresi ise *Ginkgo biloba* EGB761 ekstresidir. Oksidatif strese direnci artırarak % 10 oranında ortalama ömrü uzattığı gösterilmiştir (Kampkötter vd 2007).

C.elegans ömür uzunluğuna etkisi çalışılan bir başka bitki ekstresi ise *Ginkgo biloba* EGB761'dir. Oksidatif strese karşı direnci artırarak ömür uzunluğunda %10'luk bir artışa sebep olduğu gösterilmiştir (Kampkötter vd 2007).(Şekil 2.9)



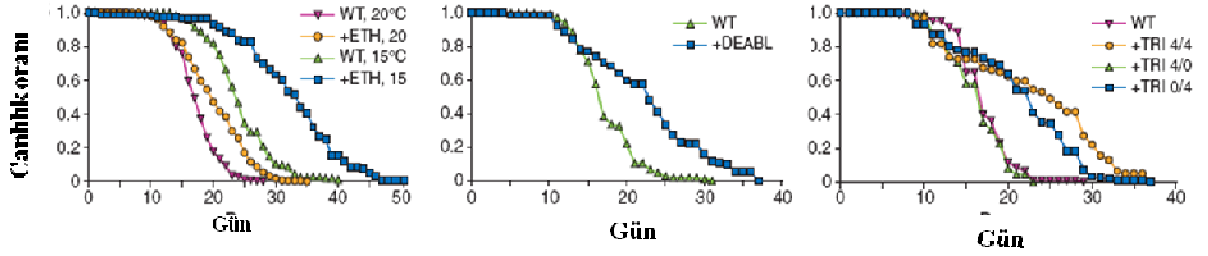
Şekil 2.9. : *Ginkgo biloba*'nın *C.elegans* ömür uzunluğu üzerine etkisi (Kampkötter vd 2007)

Son yıllarda ömür uzunluğuna olumlu etkisi olan ve en çok çalışılmış bileşiklerden birisi ise resveratroidir. Sir2 proteini NAD⁺-bağımlı protein deasetilazdır ve Sir2'nin fazla ifadesi *C.elegans*, maya ve sinekte ömrü uzatmaktadır (Guarente, 2005). Sinclair ve ekibi Sir2'yi aktive eden küçük bileşiklerin Sir2 fazla ifadesinin gösterdiği etkiyi göstereceğini varsayarak küçük bileşik kütüphanelerini taramışlardır (Howitz vd 2003). Bu çalışma sonunda bitki kökenli polifenolik bir bileşik olan resveratrolun (3,4'5-trihidroksitilbene) Sir2'yi aktive ettiği gösterilmiştir. Resveratrol'un ömür uzunluğuna etkisi iki çalışma sonucu ortaya çıkmıştır: 100 µM resveratrolun ortalama *C.elegans* ömrünü % 10 uzattığı ve bunu *sir-2.1* geni üzerindeki etkisi sonucu gerçekleştiği gösterilmiştir (Wood JG vd 2004). Diğer bir çalışmada farklı dozlarda resveratrol uygulaması sonucu 1 mM resveratrol ile *C.elegans* ömrünün % 18 arttığı görülmüştür (Baur JA vd 2006). Resveratrolun ömür uzunluğuna etkisi fare üzerinde de gösterilmiştir (Baur JA vd 2006).



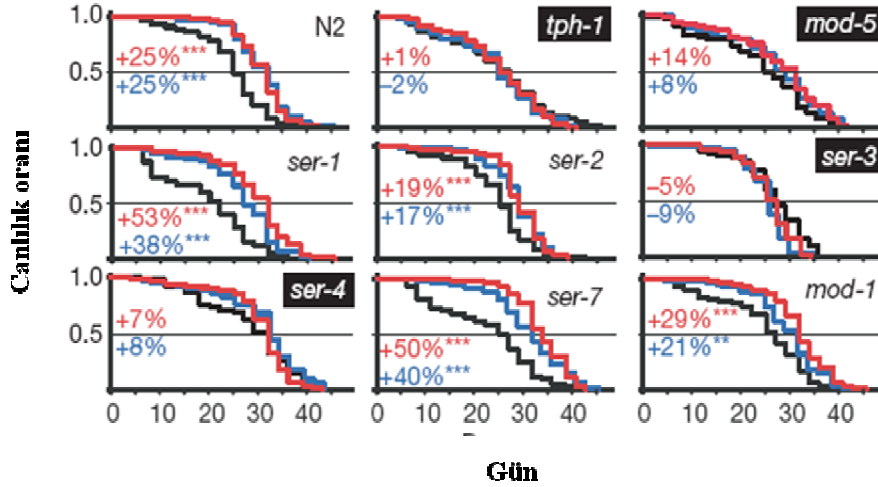
Şekil 2.10. : Resveratrolün *C.elegans* ömür uzunluğu üzerine etkisi(Wood vd 2004)

Bir diğerk çalışmada da, FDA tarafından onaylanan ve halen kullanımda olan 19 ilaç, yaşlanmadan sorumlu yolaklarda etkili olabileceği öngörülerek seçilmiş ve *C.elegans* ömür uzunluğuna etkisi incelenmiştir. Antikonvulsan olarak kullanılan etosüksimid isimli ilaç ortalama *C.elegans* ömrünü % 17 uzatmıştır (Evason vd 2005). Bunu takiben diğerk antikonvulsanlar denenmiş ve trimethadione *C.elegans* ömrünü % 47 uzatırken, DEABL(3,3-Dietil-2-pirolidinon) da % 31 uzatmıştır (Evason vd 2005).



Şekil 2.11. : Antikonvulsanların *C.elegans* ömür uzunluğu üzerine etkisi (Evason vd 2005)

Bu çalışmada oldukça az sayıda bileşik taranmıştır ancak kurtçuk yaşam tayini için geliştirilen yüksek işlem hacimli tarama yöntemleri kullanılarak, Kwok ve arkadaşları 14000 farklı kimyasal molekülü anti-aging fenotip için tarayacak bir sistem geliştirmiş, *C.elegans*'ın bu çalışmalar için ne kadar kullanışlı bir model organizma olduğunu bir kez daha göstermişlerdir. 2007 yılındaki bir çalışmada ise 88000 farklı molekül 384-kuyulu petri kaplarında *C.elegans* ömür uzunluğuna etkisi için taranmış ve sonuçta antidepresan olarak kullanılmakta olan mianserin isimli bileşiğin serotonin yolağı üzerindeki etkiye bağlı olarak *C.elegans* ömrünü % 20 uzattığı gösterilmiştir (Petrascheck vd 2007).



Şekil 2.12. : Antidepresanların *C.elegans* ömür uzunluğu üzerine etkisi (Petrascheck vd 2007)

Antibakteriyel özellikli bazı bileşiklerin de *C.elegans* ömür uzunluğunda termal ve oksidatif strese direnç göstererek artışa yol açtığı bilinmektedir. Örneğin antibakteriyel olarak kullanılan Quercetin ortalama ömür uzunluğunda %15 oranında artış sağlamıştır (Saul N vd 2008). Yine aynı çalışmada, Quercetin'in daf-16 geni üzerinden etki göstererek ömür uzunluğunu artırdığı tespit edilmiştir (Saul N vd 2008). Yapılan bir diğer çalışmada, DDS, 4,4'-diaminodiphenylsulfone antibakteriyel maddesinin ömür uzunluğunu artırdığı görülmüştür (Cho SC vd 2010). Ayrıca, antibakteriyel olarak kullanılan kafeik ve rosmarinik asitin de *C.elegans* ömür uzunluğu üzerinde artışa yol açtığı bildirilmiştir (Pietsch K vd 2011).

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Genel Reaktifler

Genel laboratuvar kimyasalları, Sigma Chemical Co.(St Louis, ABD), Merck (Darmstadt, Almanya) ve AppliChem (Darmstadt, Almanya)'dan sağlanmıştır.

3.1.2. Petri Kapları

Deneylerde kullanılan petri kapları 35 mm çapında olup, BD Falcon(ABD) ve Corning(ABD) firmalarından temin edilmiştir.

3.1.3. *Caenorhabditis elegans* suşları

Deneylerde kullanılan yabani tip ve mutant *C.elegans*'lar Minnesota Üniversitesi'ne bağlı *Caenorhabditis* Genetik Merkezi'nden(CGC) temin edilmiştir. Kullanılan mutantların özellikleri aşağıda belirtilmiştir.

Suş: VC199, **Genotip:** sir-2.1(ok434) IV. Sirtuin yolağı mutanı *C.elegans* ömür uzunluğu üzerinde artışa sebep olan resveratrolün bu gen ve yolak üzerinde etkili olduğu tespit edilmiştir (Sinclair DA 2005).

Suş: DA1814, **Genotip:** eat-2(ad465) II. Kalorik sınırlamanın bu gen üzerinde etkili olduğu düşünülmektedir.

Suş: CF1580, **Genotip:** daf-2(e1370) III; muIs84. İnsülin reseptörünün *C.elegans*'taki homoloğu

Suş: GR1307, **Genotip:** daf-16(mgDf50)I. Stres cevabı yolunda etkili olan FOXO transkripsiyon faktörünün *C.elegans*'taki homoloğu

3.1.4 Bitki ekstreleri

Sezik ve arkadaşları(1991) tarafından oluşturulan Türk halk ilacı envanter çalışmalarından faydalanarak ve yine kendileri ile işbirliği yapılarak, halk arasında her derde deva olduğuna inanılan antidiyabetik ve antibakteriyel etkili 12 adet bitki seçilerek *C.elegans* ömür uzunluğuna olan etkisi incelenmiştir. Bu bitkilerin toplanması ve standart ekstrelerin hazırlanması Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi ABD ekibi (Prof Dr Ekrem Sezik, Prof. Dr. Didem Deliorman Orhan, Doç. Dr. Mustafa Aslan, Arş. Gör. Sanem Hoşbaş) tarafından gerçekleştirilmiştir. Dekoksasyon yapmak için 1 gr kurutulmuş bitki materyali üzerine 100 ml distile su ilave edilmiş ve kısık ateşte 30' kaynatılmıştır. Soğuduktan sonra süzülerek liyofilize edilmiştir. İnfüzyon yönteminde ise 1 gr kurutulmuş bitki materyali üzerine 100 ml kaynar su ilave edilmiş ve üzeri kapatılarak 5' bekletilmiştir. Süzildükten sonra liyofilize edilmiştir. Doğrudan hazırlama içinse bitkinin meyveleri sıkılmış ve elde edilen usare liyofilize edilmiştir. Bu yöntemlerle hazırlanan sulu ekstreler tarafımıza liyofilize halde ulaştırılmış, su içinde çözüldükten sonra kullanılmıştır. Kullanılan bitki ekstrelerine ait detaylar Çizelge 3.1'de yer almaktadır.

No	Bitki Adı	Familiya	Mahalli* adı	Kullanılan Kısım	Hazırlanış Şekli	Lokasyon	% Bitkiden Elde Edilen
1	<i>Hedera helix</i> L.	Araliaceae	Sarmaşık	Yaprak	Dekoksiyon	Ankara Tenis Kulübü, Ankara	24.26
2	<i>Helichrysum plicatum</i> L.	Asteraceae	Altın otu	Kapitulum	İnfüzyon	Ilgaz Dağı, Bolu	27.66
3	<i>Helichrysum stoechas</i> L.	Asteraceae	Kudama Çiçeği	Kapitulum	İnfüzyon	Saint Pierre Kilisesi, Antakya	22.50
4	<i>Mrytus communis</i> L.	Myrtaceae	Mersin	Yaprak	Dekoksiyon	Narlı Kuyu, Mersin	12.46
5	<i>Paliurus spina christi</i> Miller	Rhamnaceae	Karaçalı	Meyve	Dekoksiyon	Gülнар Yaylaları, Mersin	30.65
6	<i>Plantago major</i> L.	Plantaginaceae	Sinir otu	Çiçek	Dekoksiyon	Işık Dağı, Ankara	17.97
	<i>Plantago major</i> L.	Plantaginaceae	Sinir otu	Yaprak	Dekoksiyon	Işık Dağı, Ankara	31.79
7	<i>Rubus sanctus</i> Schreber	Rosaceae	Böğürtlen	Yaprak	Dekoksiyon	İnözü Vadisi Beypazarı, Ankara	23.42
8	<i>Salvia fruticosa</i> L.	Lamiaceae	Adaçayı	Herba	Dekoksiyon	Kızılagac Ormanı, Bodrum	20.85
9	<i>Salvia tomentosa</i> Miller	Lamiaceae	Kırçayı	Herba	Dekoksiyon	Işık Dağı, Ankara	24.63
10	<i>Salvia verticillata</i> L.	Lamiaceae	Hart	Herba	Dekoksiyon	Işık Dağı, Ankara	35.39
11	<i>Urtica dioica</i> L.	Urticaceae	Isırgan	Yaprak	Dekoksiyon	Işık Dağı, Ankara	23.76
12	<i>Vaccinium macrocarpon</i> Aiton	Ericaceae	Yaban mersini	Meyve Usaresi	Doğrudan	Trabzon	39.13

Çizelge 3.1: Toksikite denemeleri yapılan bitki ekstraları

3.2. Yöntem

3.2.1. *Caenorhabditis elegans* İdamesi

Bu çalışmadaki tüm *Caenorhabditis elegans* protokolleri www.wormbook.org'da yer alan metodlara göre gerçekleştirilmiştir. *C.elegans* laboratuvar koşullarında petri kabında veya sıvı kültürde *Escherichia coli* bakterisinin OP50 suşu ile beslenerek yaşamını devam ettirir. OP50 suşu Urasil oksotrofudur ve böylece NGM (Nematode Growth Medium, Nematod büyüme ortamı) üzerinde büyümesi kısıtlanır. Bu da *C.elegans*'ın idamesinde ve mikroskop altında gözlenmesinde kolaylık sağlar. NGM petrilерinin üzerine taze *E.coli* OP50 (1 ml) eklenir, kurutulur ve üzerine transfer edilen kurtlar bununla beslenir. Besin bittikçe yenisine transfer edilirler. 16-25°C soğutmalı inkübatörde kültürü yapılır. Bu çalışmada kullanılan tüm suşlar 20°C'da idame ettirilmiştir. Kullanıma hazır plaklar soğuk odada saklanır.

3.2.2. *E.coli* OP50 Kültürü Hazırlanması

33µg/ml streptomisin içeren LB içine 1:100 oranında *E.coli* OP50 bakterisi eklenir ve 37°C'de 180 rpm'de gece boyu büyütülür (OD600=0.8).

3.2.3. NGM (Nematod büyüme ortamı) Hazırlanması

NGM, bir nematodun yaşamını sürdürmesi için gerekli olan maddeleri içerir ve şu şekilde hazırlanır: 1,2 gr NaCl, 1 gr bacto-pepton ve 6,8 gr bacto-agar ddH₂O ile 400 ml'ye tamamlanır ve otoklavlanır. Otoklavdan sonra ise, ısıya dayanıklı olmayan kimyasallar NGM'in üzerine şu sıra ile ilave edilir. 10 ml 1 M KH₂PO₄, 400 µl 5 mg/ml kolesterol, 400 µl 1M CaCl₂, 400 µl 1 M MgSO₄, 400 µl 10 mg/ml Streptomisin. Bu maddeler eklenip karıştırıldıktan sonra 100 mm petrilere 20 ml, 60 mm petrilere 8 ml ve 35 mm petrilere 4 ml olacak şekilde NGM konur ve polimerleşmeye bırakılır.

3.2.4. Embriyoların İzole Edilmesi

Bitki ekstreleri toksisite deneylerine başlamadan önce, embriyolar “Embriyo İzolasyonu” yöntemiyle izole edilirler (www.wormbook.org). Bu sayede kurtların aynı evrede büyümeleri yani senkronizasyonları sağlanmış olur.

Embriyo izolasyonu için 100 mm petri kabında büyümekte olan erişkin kurtlar 2 ml ddH₂O ile yıkanır (Bu esnada petri eğik tutulur böylece kurtçukların aşağıya doğru kayması sağlanır). Yıkama işleminden sonra kurtçuklar eppendorf tüpüne alınır ve buz üzerinde 5 dakika bekletilir. Daha sonra 2000 rpm’de 3 dakika santrifüj edilir. Santrifüjden sonra, eppendorf tüplerindeki sıvı, pellet kaldırılmadan 250 µl çizgisine kadar çekilir. Bu miktarın üzerine her defasında pipet ucu değiştirilerek sırası ile ; 650 µl ddH₂O, 200 µl 5M NaOH, 400 µl çamaşır suyu ilave edilir. Tüplerin kapakları kapatılır ve oda sıcaklığında 5’ inkübe edilir. Bu esnada tüpler dakikada bir kere alt üst edilerek karıştırılır. 2000 rpm’de 3’ santrifüj edilir. Santrifüjden sonra dipteki pellet oynatılmadan içindeki sıvı 0.1 çizgisine kadar çekilip üzerine 1 ml ddH₂O eklenir. Bu işlem 2 kez tekrar edilir. Bu işlemden sonra, tekrar 2000 rpm’de 3’ santrifüj edilir. Tüplerdeki sıvı 0.1 ml çizgisine kadar çekilir. Süpernatant atılıp, tüpte kalan 0.1 ml sıvı ve pellet karıştırılarak çekilir ve yeni besiyerine aktarılır. Son olarak besiyerine aktarılan embriyolar stereomikroskopta gözlemlenir.

3.2.5. Toksikite Deneyi İçin Bitki Ekstreli Besinplağı Hazırlanması

Kurtçuklar üzerinde denenecek olan bitki ekstreleri, Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi ABD’den temin edilmiştir. Liyofilize haldeki bu ekstreler, -20°C’de ışıktan uzak bir ortamda saklanmıştır.

Besinplakları hazırlanmadan 1 gün önce gece boyu OP50 bakteri kültürü büyütülmüştür. İhtiyaca göre uygun sayıda plate hazırlanmıştır. NGM üzerine kurtçukların üremesini, dolayısıyla nesillerin birbirine karışmasını engellemek amacıyla, 5-Fluoro-2’-deoksiüridin (FUDR) son konsantrasyonu 10 µg/ml olacak şekilde eklenmiştir.

Daha sonra bakteriler 65°C’de 30 dakika tutulmak suretiyle inkübe edilerek öldürülmüştür. Bu işlemden sonra, 4500 rpm’de 10 dakika santrifüjlenmiştir ve 1/10 dilüsyonda S Basal+10 mM MgSO₄ ile resüspanse edilmiştir.

Bitki ekstralarının hazırlanması ve plaklar üzerine eklenmesi ise şu şekilde olmaktadır: Öncelikle bitki ekstresi 5 mg/ml olacak şekilde su içinde çözülmüştür. NGM üzerine eklenen ve plak üzerine yayılan ekstre miktarları Çizelge 3.2.'de belirtilmiştir.

Son Konsantrasyon	1 ml ölü OP-50 kültüre eklenen miktar	Plate üzerine yayılan miktar (20 µl M9 içine konan miktar)
1000 µg/ml (1 numara)	200 µl(5 mg/ml stoktan)	20 µl ekstre(1000 µg/ml stoktan)
500 µg/ml (2 numara)	100 µl	10 µl ekstre + 10 µl M9
250 µg/ml (3 numara)	50 µl	5 µl ekstre + 15 µl M9
125 µg/ml (4 numara)	25 µl	2.5 µl ekstre + 17.5 µl M9
62.5 µg/ml (5 numara)	12.5 µl	1.25 µl ekstre + 18.75 µl M9
31.25 µg/ml (6 numara)	6.25 µl	0.62 µl ekstre + 19.38 µl M9
15.5 µg/ml (7 numara)	3.1 µl	0.32 µl ekstre + 19.68 µl M9
7.5 µg/ml (8 numara)	1.6 µl	0.16 µl ekstre + 19.84 µl M9
3.75 µg/ml (9 numara)	0.8 µl	0.08 µl ekstre + 19.92 M9
0 (kontrol) (10 numara)	-	-

Çizelge 3.2. : Toksikite deneyleri bitki ekstraları konsantrasyonları

Ekstreler besinplakları üzerine yayıldıktan sonra, üzerine bitki ekstresi eklenmiş (Çizelge 3.2.'de belirtilen konsantrasyonlarda) 50 µl ölü OP-50 ekilmiştir. Bitki ekstraları ışığa karşı hassas olabileceği için besinplaklarının kurutma işlemi karanlıkta laminar kabin içinde gerçekleştirilmiştir.

3.2.6. Toksikite Deneyinin Başlaması ve Deneyin Genel Takibi

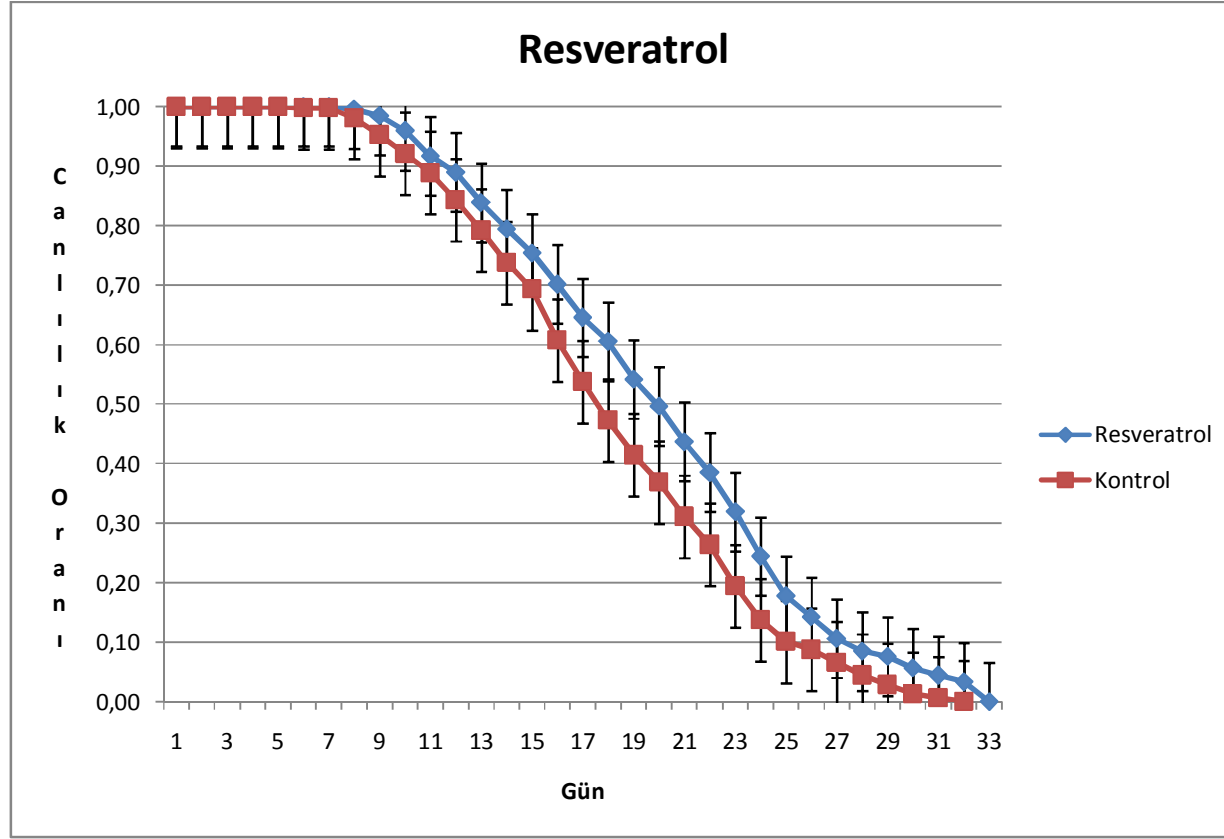
Toksikite deneyinin 0. gününde her bir plağın üzerine 75'er tane senkronize L4 transfer edilmiştir. Devam eden günlerde besin bittikçe kurtlar yeni besin plaklarına aktarılmıştır. Hergün elde edilen sonuçlar kaydedilmiş ve sonuçlar grafiklere aktarılmıştır. Deneyler 21°C'de gerçekleştirilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Çalışmada kullanılan tüm bitki ekstralarının öncelikli olarak toksik doz konsantrasyon tayini gerçekleştirilmiş, toksik olmayan dozlardan, belirgin şekilde OYS(ortalama yaşam süresi) ve MYSni (maksimum yaşam süresi) uzatanlar ile deneyler tekrar edilmiştir. Toksik doz tayini için yaban tip *C.elegans* N2 Bristol suşu kullanılmıştır. Aksi belirtilmediği takdirde tüm dozlarda 3 besinplağı (n=225) ile çalışılmıştır. Her doza maruz kalan birey sayıları (n) şekil altlarında verilmiş ve detaylı olarak canlılık yüzdeleri “Ekler” kısmında yer almaktadır. DNA replikasyonu inhibitörü tüm deneylerde FUDR 10 µg/ml olacak şekilde kullanılmıştır, FUDR embriyo gelişimi engellediği için bu tarz çalışmalarda yaygın olarak kullanılmakta ve hergün besinplağı değişimine gerek kalmamaktadır. Çalışmada 12 farklı bitki ekstresinin yanı sıra *C.elegans* ömür uzunluğuna pozitif etkisi kanıtlanmış resveratrol bileşiği de pozitif kontrol olarak kullanılmıştır.

4.1.Resveratrol(pozitif kontrol) Deneyi Sonuçları

100 µM Resveratrol pozitif kontrol olarak kullanılmış ve elde edilen sonuçlar Şekil 4.1’de gösterilmiştir. Beklendiği üzere resveratrol yabani tip N2 kurtçuklarda OYS’ni yaklaşık %10 artırmıştır.



Şekil 4.1. Resveratrol(Pozitif Kontrol) deneyi sonucu: Bağımsız 3 farklı deneyin ortalama sonuçları görülmektedir. FUDR 10 $\mu\text{g/ml}$. Hem 100 μM resveratrol hem de kontrol grubu için birey sayısı $n=675$ 'tir.

4.2. *Helichrysum plicatum* Toksikite Deneyi Sonuçları

Antidiyabetik ve antioksidant etkisi olan *Helichrysum plicatum* toksisite deneyleri sonucunda elde edilen sonuçlar, Şekil 4.2, Şekil 4.3, Şekil 4.4, Şekil 4.5 ve Şekil 4.6'da yer almaktadır.

4.2.1. Yabani Tip (N2) Deneyi

Yabani tipler üzerinde yapılan toksisite deneylerinin sonuçları Şekil 4.2 ve Şekil 4.3'te gösterilmiştir. Şekil 4.2'de yabani tip N2 üzerinde yapılan tek bir toksisite deneyinin sonucu gösterilmiştir (her doz için n=150). Bütün konsantrasyonlarda ortalama ömür uzunluğunda belirgin artış gözlenmiştir. Şekil 4.3'te ise birbirinden bağımsız zamanlarda yapılan 6 farklı deneyin sonuçları görülmektedir. 125 µg/ml, 62,5 µg/ml, 31,25 µg/ml, 15,5 µg/ml 3,75 µg/ml, 1,8 µg/ml konsantrasyonlarında ortalama yaşam süresinde artış görülmekle birlikte bazı deneylerde *Helichrysum plicatum* ömür uzunluğuna pozitif etki edip, diğerlerinde etmemiştir. Aşağıda gerçekleştirilen bazı mutant analizleri de yer almaktadır.

4.2.2 Mutant Deneyi Sonuçları

Mutantlar üzerinde yapılan toksisite deneylerinin sonuçları Şekil 4.4, Şekil 4.5 ve Şekil 4.6'da gösterilmiştir. 4 farklı mutant üzerinde deneme yapılmıştır. Üzerinde deneme yapılan mutantlar şunlardır:

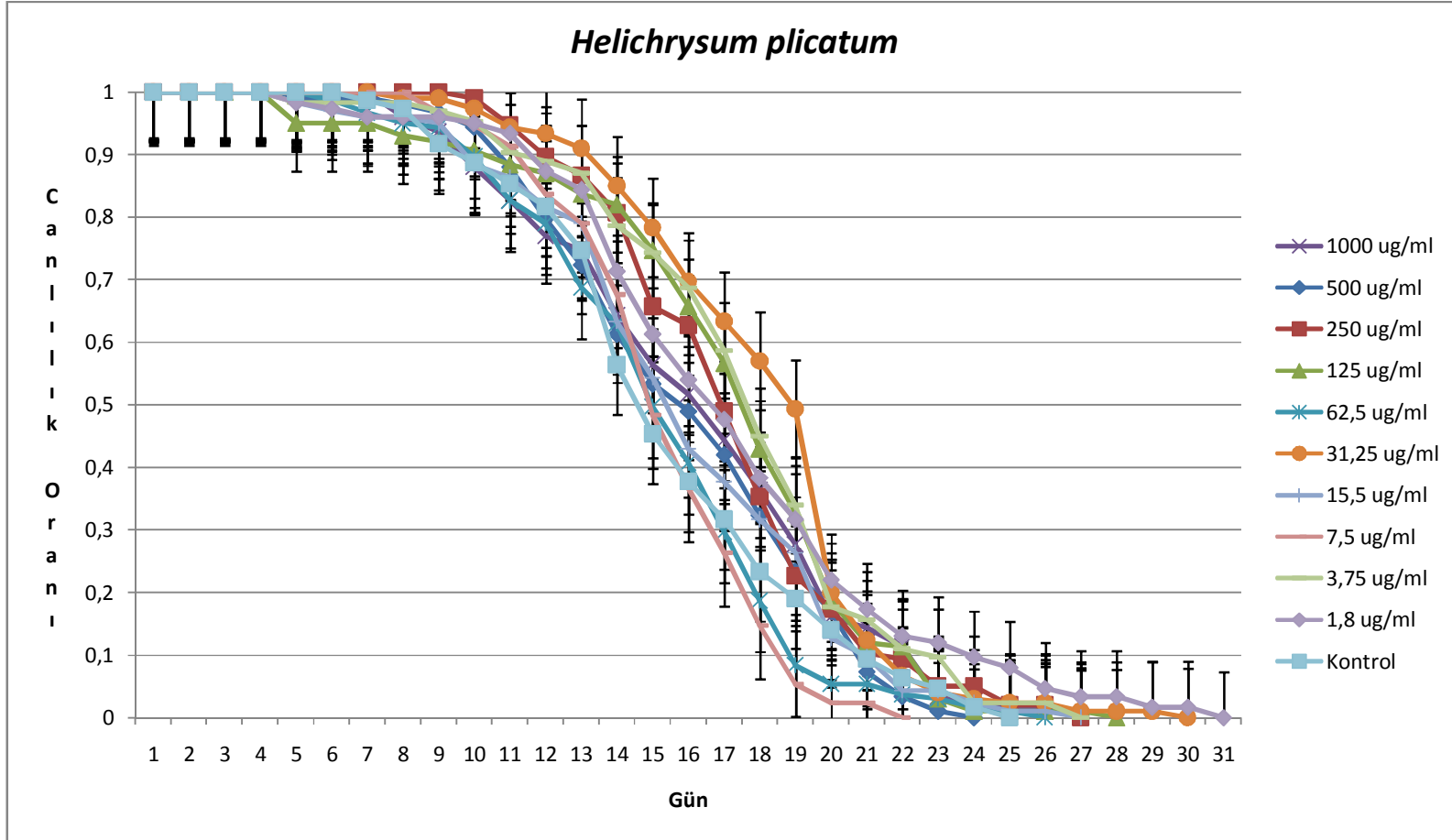
sir-2.1: Sirtuin yoluğı mutanı *C.elegans* ömür uzunluğı üzerinde artışa sebep olan resveratrolün bu gen ve yolak üzerinde etkili olduğı tespit edilmiştir (Sinclair DA,2005).

eat-2: Kalorik sınırlama modelidir.

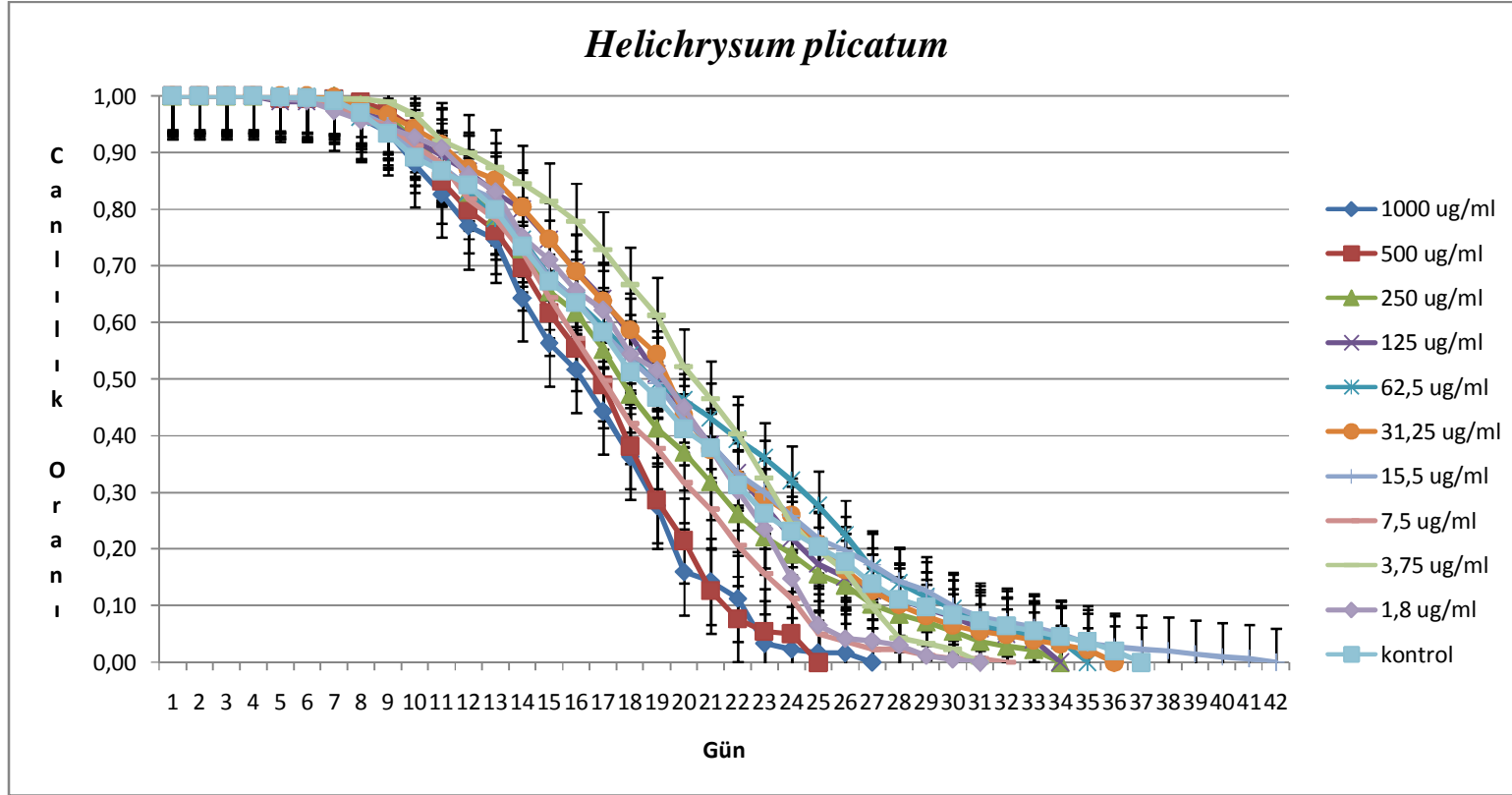
daf-2 :İnsülin reseptörünün *C.elegans* homoloğı

daf-16: Stres cevabı yolunda etkili olan FOXO transkripsiyon faktörünün *C.elegans* homoloğı

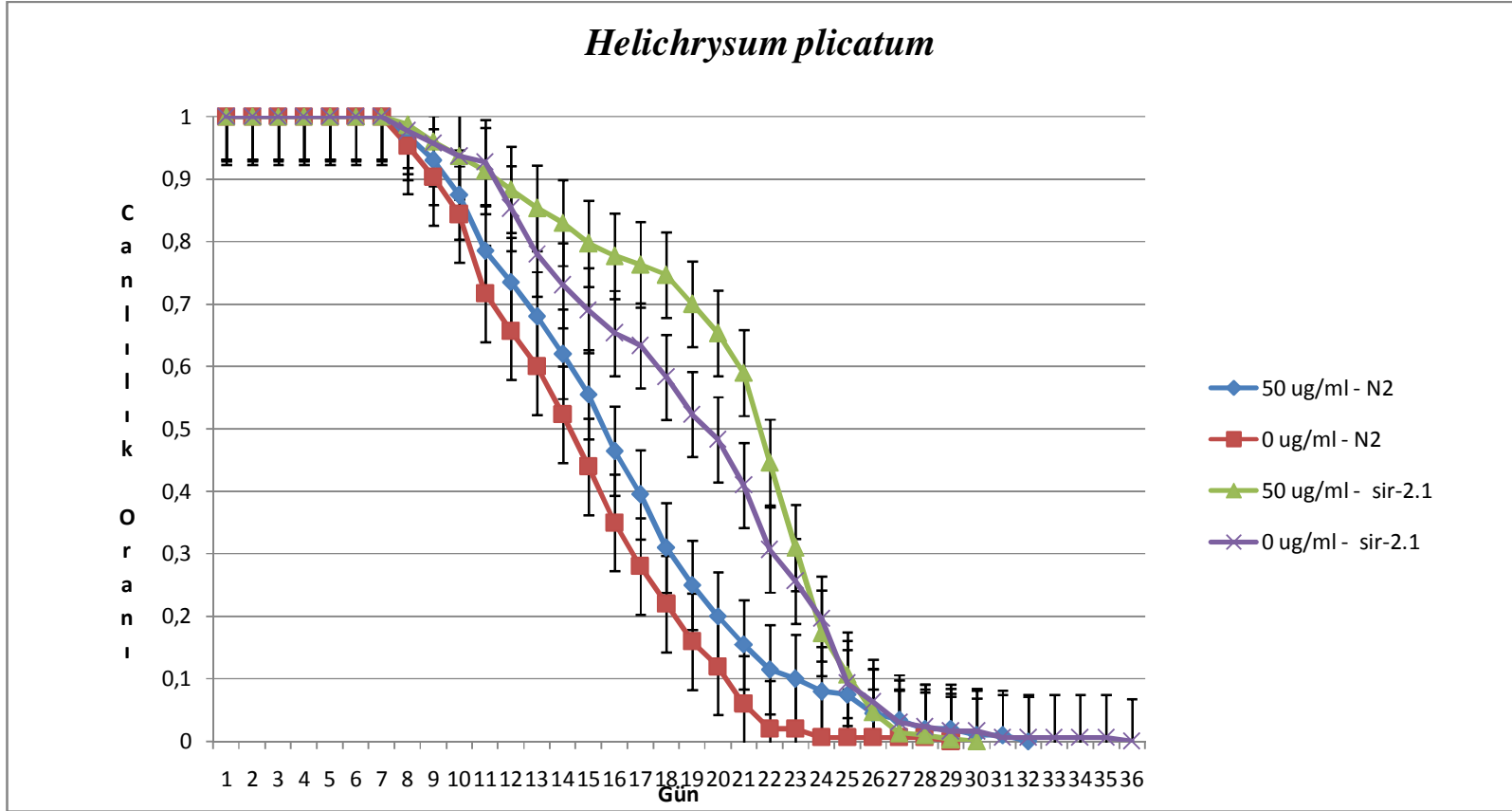
Şekil 4.4'te *sir-2.1* mutanı ve yabani tip N2 ile gerçekleştirilen deneyin sonucu görülmektedir. Hem mutanı hem de yabani tipte ortalama ömür uzunluğında artış gözlenmiştir. Bu sonuç bize *Helichrysum plicatum*'un *sir-2.1* geni üzerinde etkili olmadığını göstermektedir. Benzer şekilde Şekil 4.5 ve 4.6'da da *Helichrysum plicatum*'un ömür uzunluğuna olan pozitif etkisinin bu yolaklar üzerinden olmadığı görülmektedir.



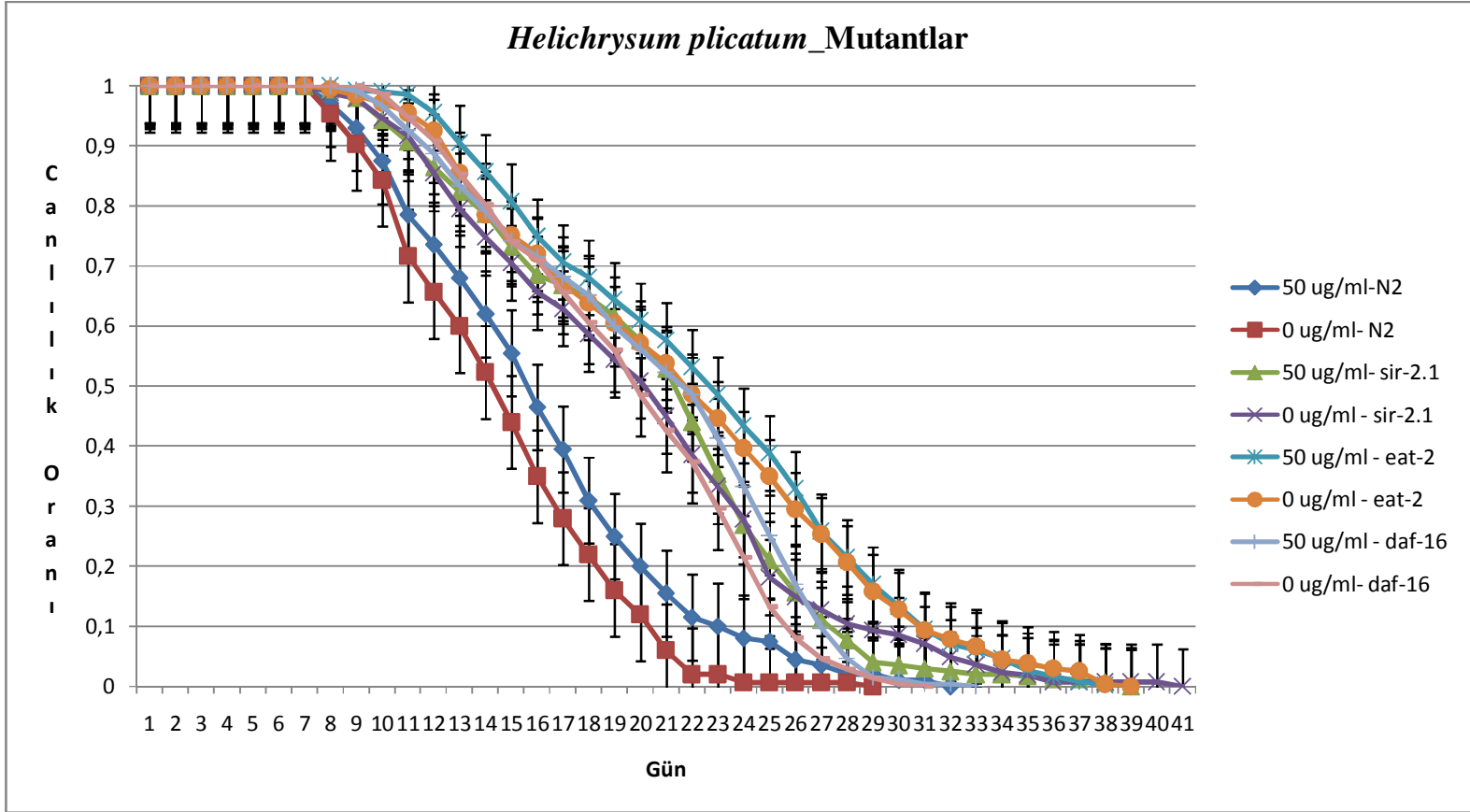
Şekil 4.2. *Helichrysum plicatum* toksisite deneyi sonucu: FUDR 50 µg/ml. Her bir konsantrasyon için birey sayısı n=150'dir.



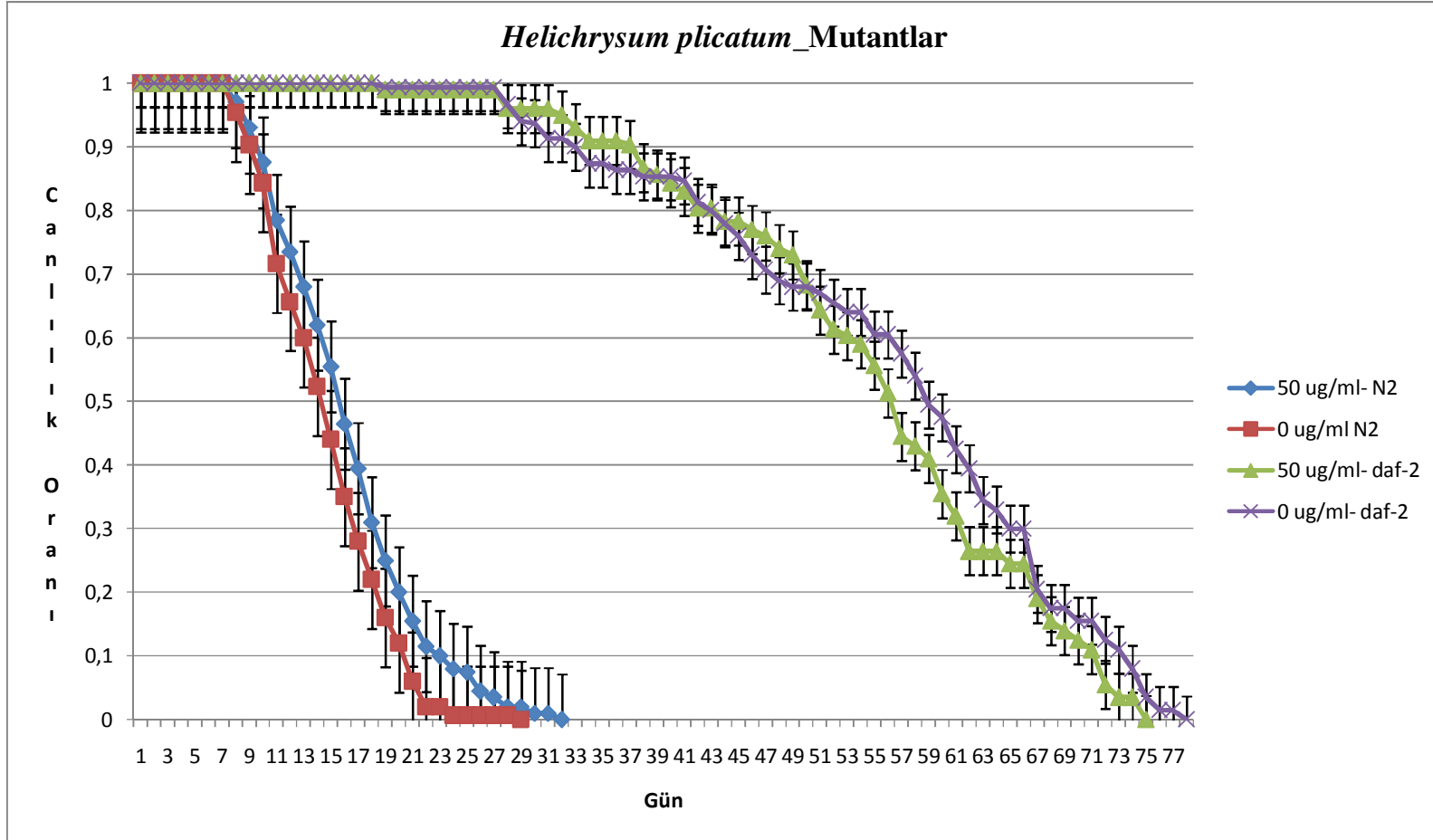
Şekil 4.3. *Helichrysum plicatum* toksisite deneyi sonucu: Birbirinden bağımsız 6 farklı toksisite deneyinin ortalama sonuçları görülmektedir. FUDR 10 µg/ml. Dozlar için birey sayıları şu şekildedir: 1000 µg/ml n=150; 500 µg/ml, 7,5 µg/ml, 3,75 µg/ml, 1,8 µg/ml her biri için n=500; 250 µg/ml, 125 µg/ml, 62,5 µg/ml, 31,25 µg/ml 15,5 µg/ml ve kontrol grubu her biri için n=1000'dir.



Şekil 4.4. *Helichrysum plicatum* sir-2.1 mutanti deneyi sonucu: FUDR 10 µg/ml. Hem mutant hem de yabancı tip için birey sayısı n=225'tir.



Şekil 4.5. *Helichrysum plicatum* mutant deneyleri sonucu: FUDR10 $\mu\text{g/ml}$. Bağımsız gerçekleştirilmiş 2 deneyin ortalama sonuçları görülmektedir. Hem mutantlar hem de yabancı tipler için birey sayısı $n=450$ 'dir.



Şekil 4.6. *Helichrysum plicatum daf-2* mutanlığı deneyi sonucu: FUDR 10 µg/ml. Hem mutanlık hem de yabancı tip için birey sayısı n=225'tir.

4.3. *Helichrysum stoechas* Toksikite Deneyi Sonuçları

Helichrysum stoechas toksisite deneyi sonuçları Şekil 4.7’de yer almaktadır. Birbirinden bağımsız 2 farklı deneyin ortalama sonuçları Şekil 4.7’de gösterilmiştir. 1000 µg/ml, 500 µg/ml ve 125 µg/ml konsantrasyonları ortalama ömür uzunluğunda artışa yol açmıştır.

4.4. *Urtica dioica* Toksikite Deneyi Sonuçları

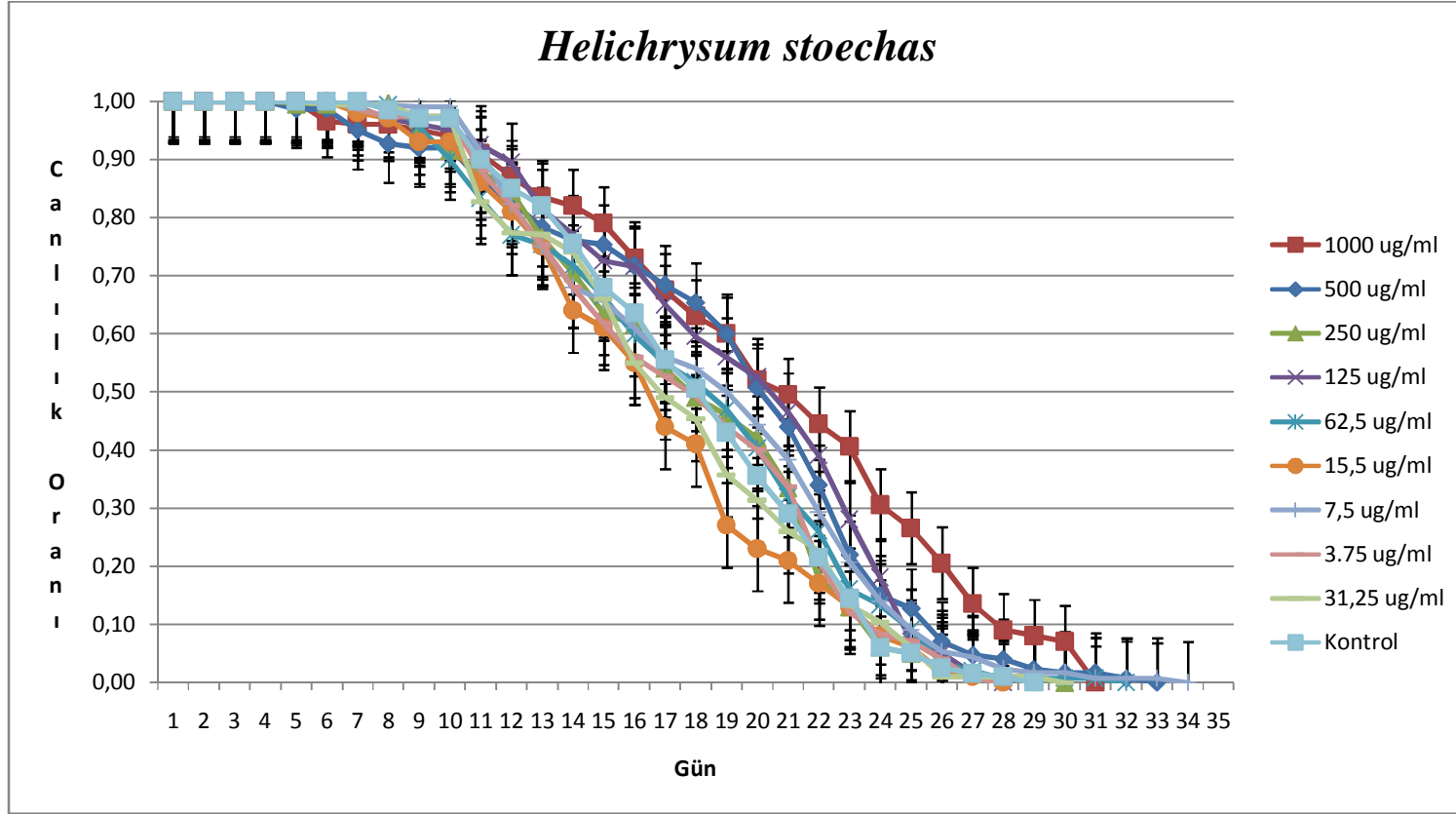
Urtica dioica toksisite deneyi sonucunda elde edilen sonuçlar Şekil 4.8 ve Şekil 4.9’da gösterilmiştir. 1000 µg/ml ve 500 µg/ml konsantrasyonlarında ortalama ömür uzunluğunda artış gözlenmiştir. 25 µg/ml FUDR kullanıldığında ise 1000 µg/ml, 250 µg/ml, 125 µg/ml, 31.25 µg/ml, 7.5 µg/ml ve 3.75 µg/ml konsantrasyonları ortalama ömür uzunluğunda artış gözlenmiştir (Şekil 4.9)

4.5. *Vaccinium macrocarpon* Toksikite Deneyi Sonuçları

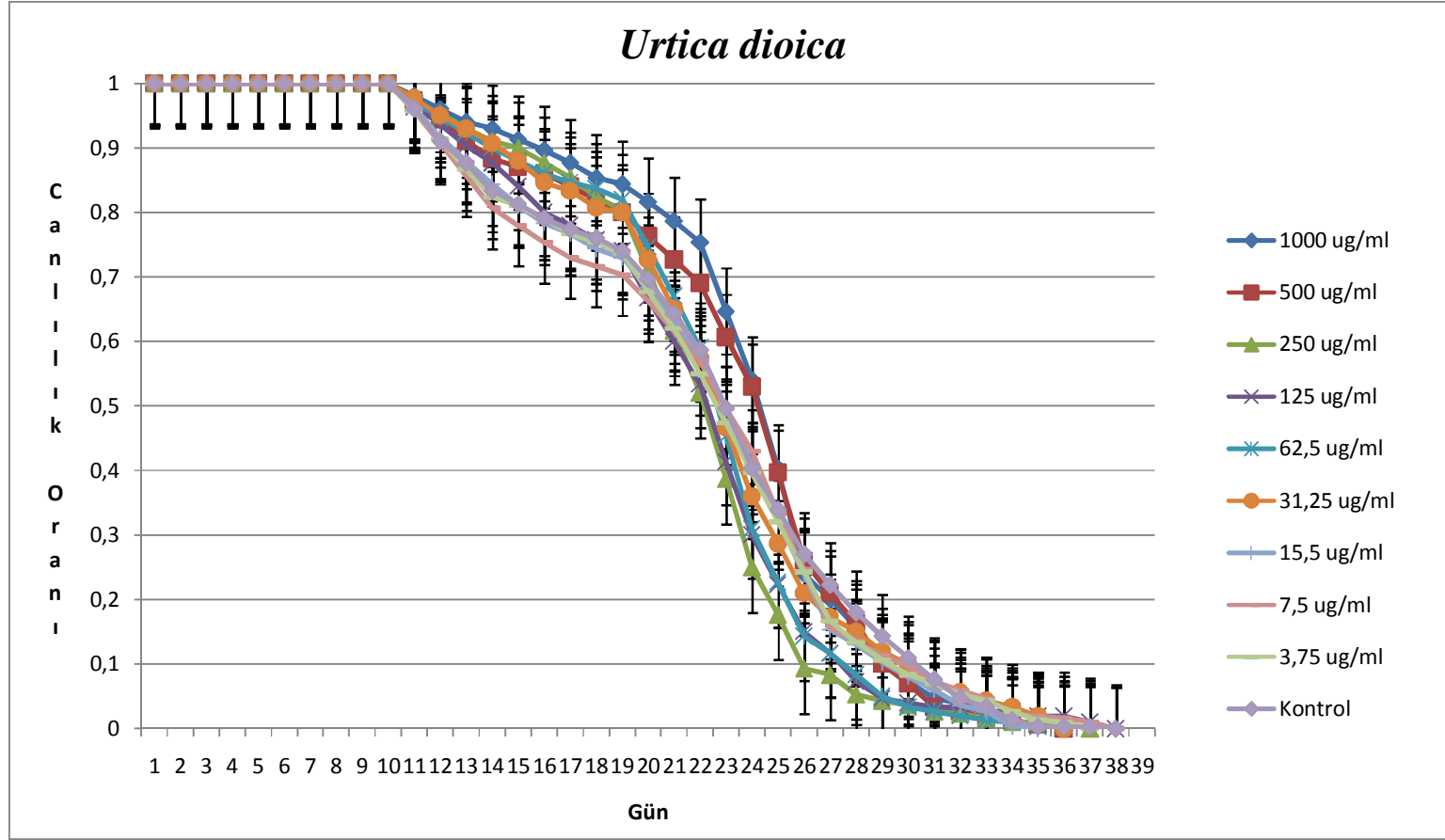
Vaccinium macrocarpon toksisite deneyi sonucunda elde edilen sonuçlar Şekil 4.10’da görülmektedir. Bütün konsantrasyonlar toksik geldiği için daha fazla analiz yapılmamıştır.

4.6. *Mrytus communis* Toksikite Deneyi Sonuçları

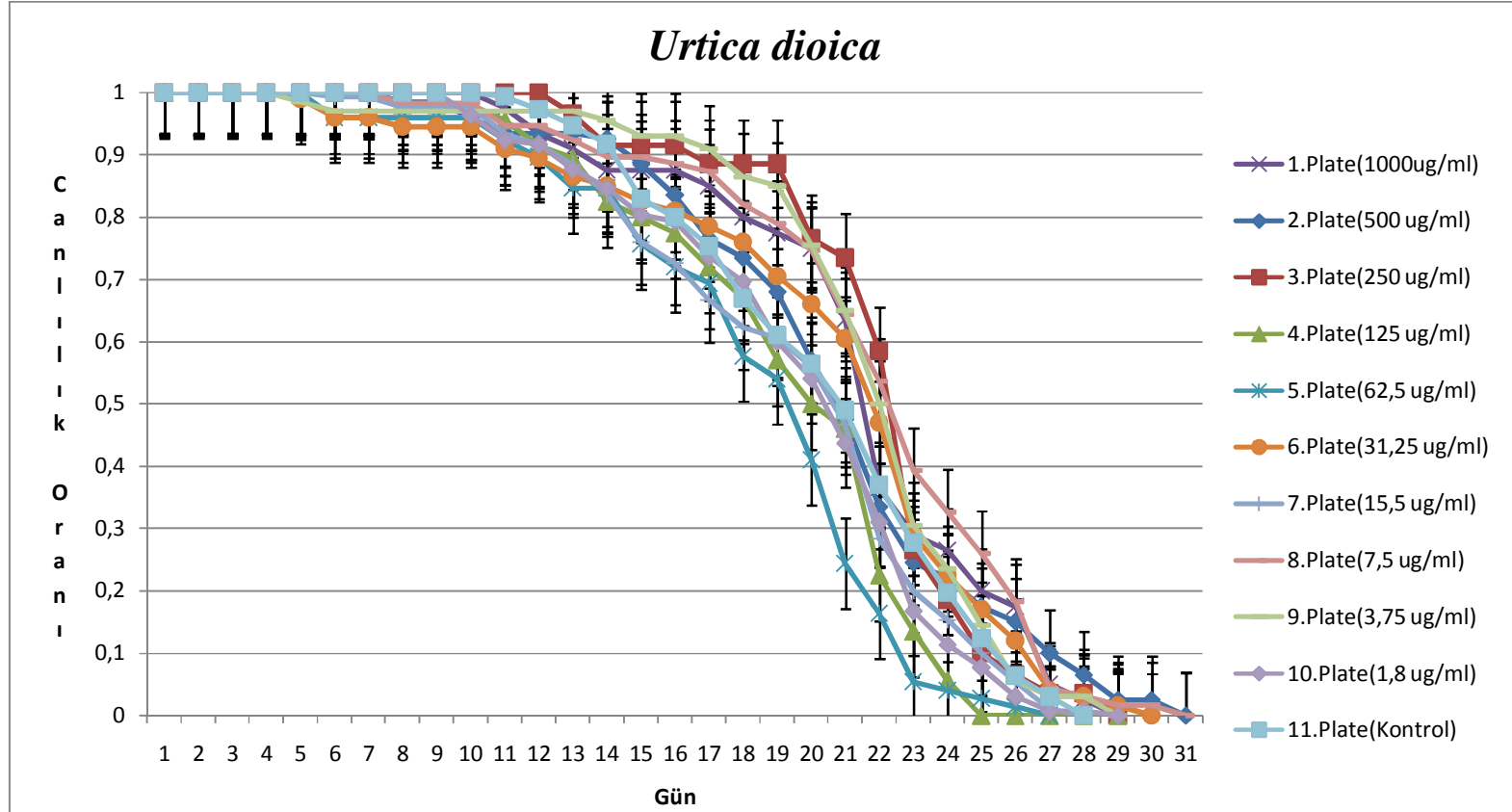
Mrytus communis toksisite deneyi sonucunda elde edilen sonuçlar Şekil 4.11’de gösterilmiştir. 500 µg/ml, 250 µg/ml, 125 µg/ml, 62.5 µg/ml, 31.25 µg/ml ve 3.75 µg/ml konsantrasyonları ortalama ömür uzunluğunda artışa yol açmıştır. N2 üzerinde ömür uzunluğuna etkisi pozitif olduğu için *Sir-2.1* mutanı ile de deneme yapılmıştır (Şekil 4.12). Ancak hem mutant hem de yabancı tipte ortalama ömür uzunluğunda artış gözlenmiştir. Bu sonuç bize *Mrytus communis*’in ömür uzunluğuna olan pozitif etkisinin *sir-2.1* geni üzerinden olmadığını göstermektedir.



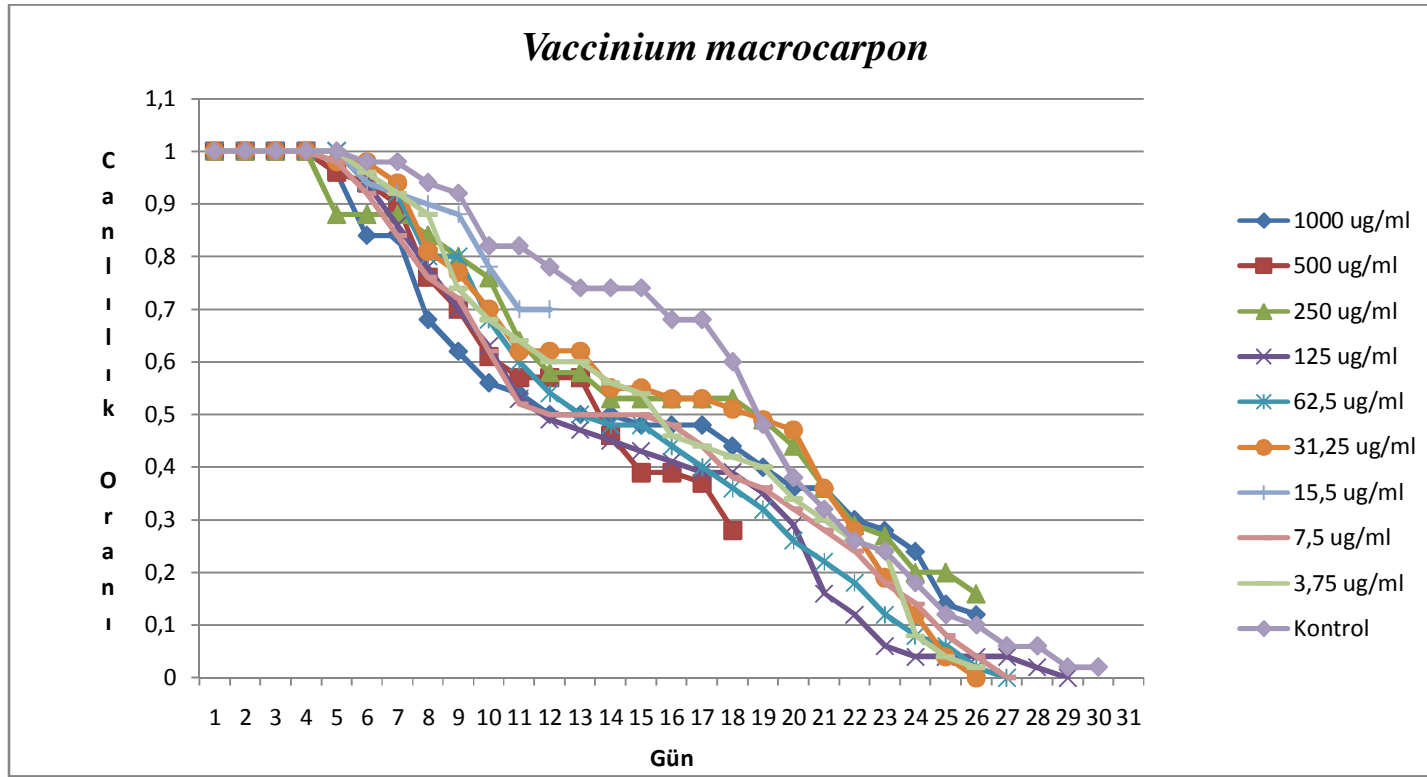
Şekil 4.7. *Helichrysum stoechas* toksisite deneyi sonucu: Birbirinden bağımsız 2 farklı toksisite deneyinin ortalama sonuçları görülmektedir. FUDR 10 µg/ml. Her bir konsantrasyon için birey sayısı n=450'dir.



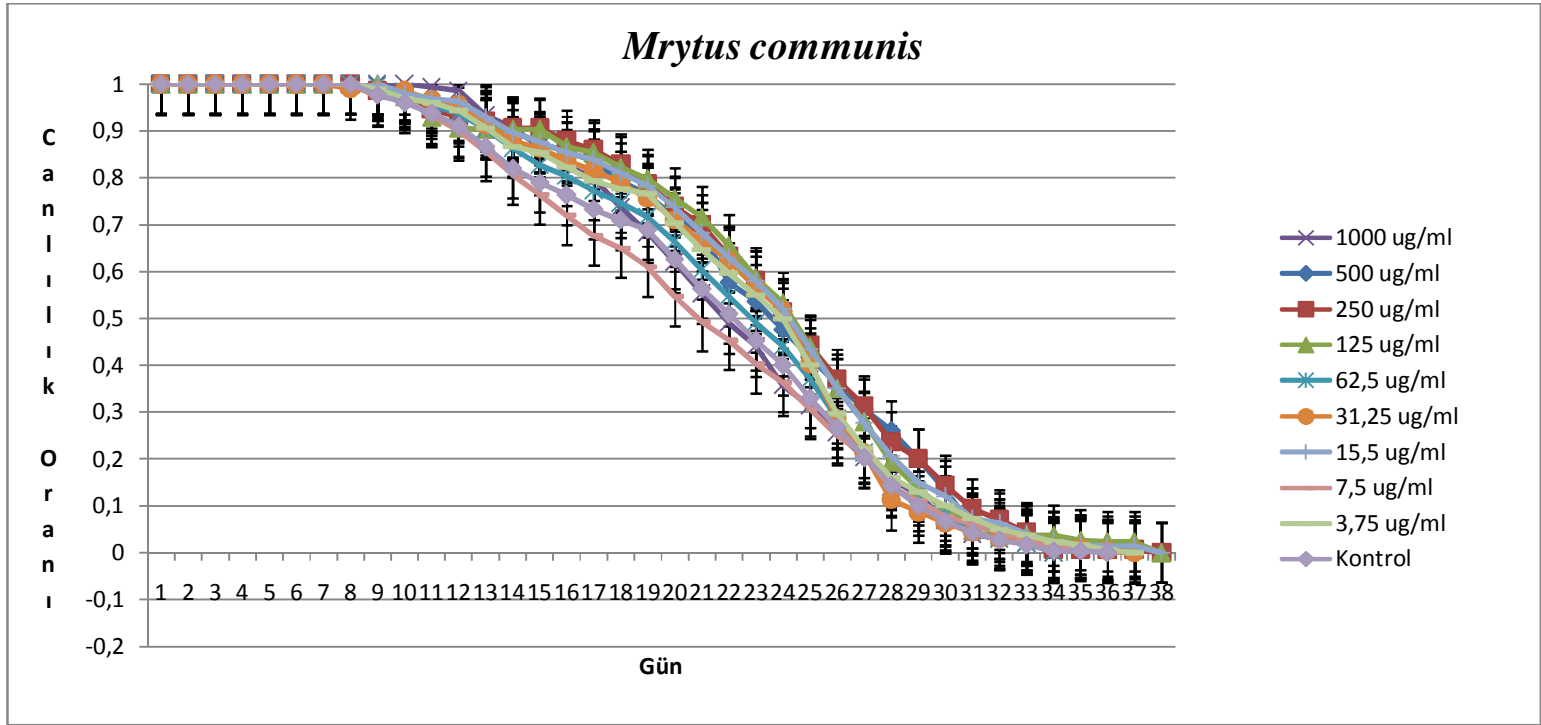
Şekil 4.8. *Urtica dioica* toksisite deneyi sonucu (10 µg/ml FUDR):: Bütün konsantrasyonlar için birey sayısı n=225'tir.



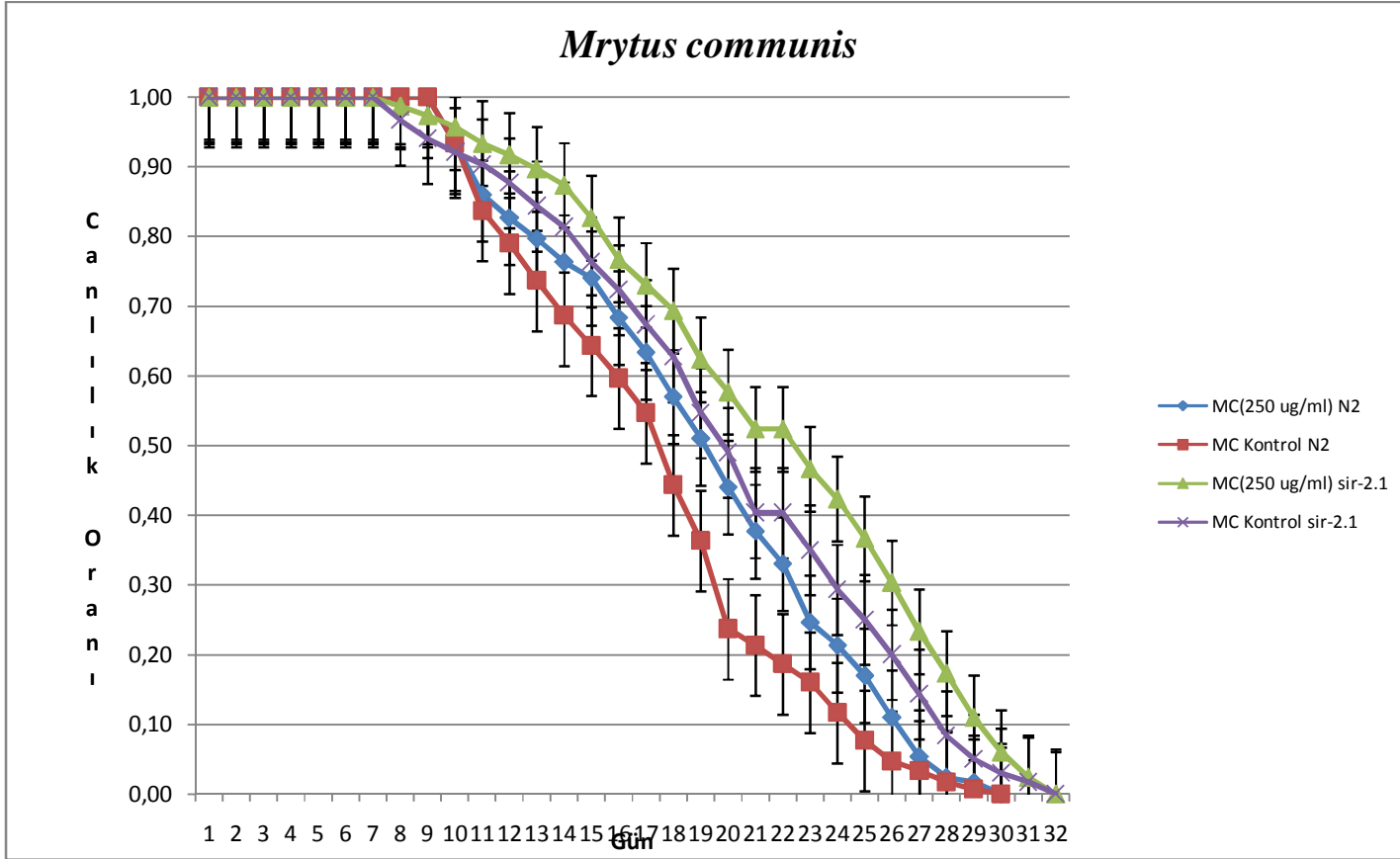
Şekil 4.9. *Urtica dioica* toksisite deneyi sonucu (25 µg/ml FUDR): Bütün konsantrasyonlar için birey sayısı n=225'tir.



Şekil 4.10. *Vaccinium macrocarpon* toksisite deneyi sonucu: Bütün konsantrasyonlar için birey sayısı n=225'tir. FUDR 10 µg/ml.



Şekil 4.11. *Mrytus communis* toksisite deneyi sonucu: Bütün konsantrasyonlar için birey sayısı n=225'tir. FUDR 10 µg/ml.



Şekil 4.12. *Mrytus communis* sir-2.1 mutanlığı deneyi sonucu: FUDR 10 µg/ml. Hem mutanlık hem de yabancı tip için birey sayısı n=225'tir.

4.7. *Rubus sanctus* Toksikite Deneyi Sonuçları

Rubus sanctus toksisite deneyi sonucunda elde edilen sonuçlar Şekil 4.13'te görülmektedir. 1000 µg/ml, 500 µg/ml, 250 µg/ml, 125 µg/ml, 62.5 µg/ml, 31.25 µg/ml, 7.5 µg/ml ve 3.75 µg/ml konsantrasyonları ortalama ömür uzunluğunda artışa yol açmıştır.

4.8 *Salvia fruticosa* Toksikite Deneyi Sonuçları

Salvia fruticosa toksisite deneyi sonucunda elde edilen sonuçlar Şekil 4.14'te gösterilmiştir. 250 µg/ml, 125 µg/ml ve 62.5 µg/ml konsantrasyonları ortalama ömür uzunluğunda artışa yol açmıştır.

4.9 *Salvia verticillata* Toksikite Deneyi Sonuçları

Salvia verticillata toksisite deneyi sonucunda elde edilen sonuçlar Şekil 4.15'te gösterilmiştir. 1000 µg/ml konsantrasyonu ortalama ömür uzunluğunda artışa sebep olmakla birlikte maksimum ömür uzunluğuna üzerinde etkili olmamıŐtır.

4.10 *Salvia tomentosa* Toksikite Deneyi Sonuçları

Salvia tomentosa toksisite deneyi sonucunda elde edilen sonuçlar Şekil 4.16'da gösterilmiştir. Bütün konsantrasyonların toksik geldiği grlmŐtir.

4.11 *Hedera helix* Toksikite Deneyi Sonuçları

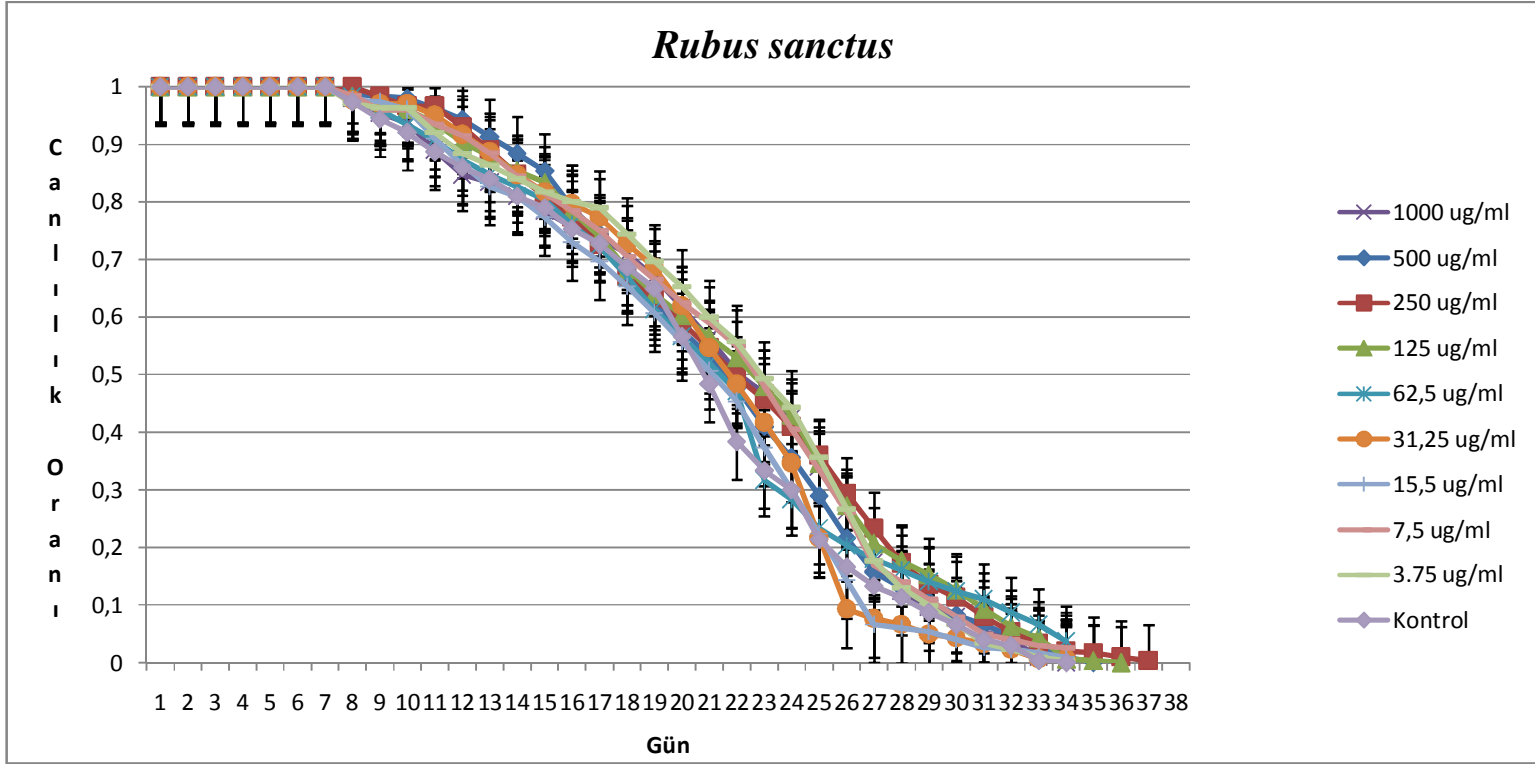
Hedera helix toksisite deneyi sonucunda elde edilen sonuçlar Şekil 4.17'de gösterilmiştir. Bütün konsantrasyonlar ortalama ömür uzunluğunda artışa yol açmıştır.

4.12 *Paliurus spina christi* Toksikite Deneyi Sonuçları

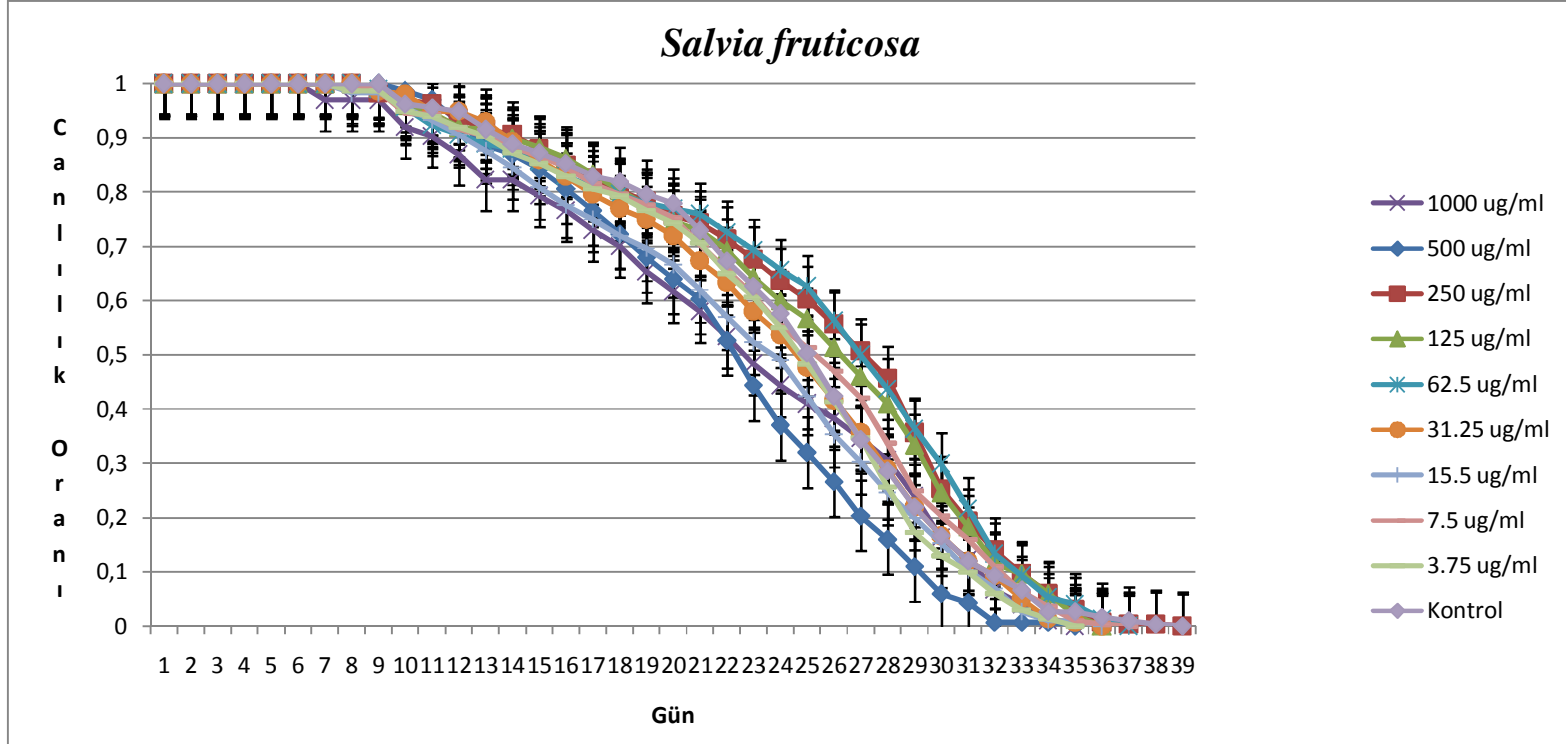
Paliurus spina christi toksisite deneyi sonucunda elde edilen sonuçlar Şekil 4.18'de gösterilmiştir. 1000 µg/ml ve 500 µg/ml konsantrasyonu ortalama ömür uzunluğunda artışa yol atıği gözlenmektedir.

4.13 *Plantago major* Toksikite Deneyi Sonuçları

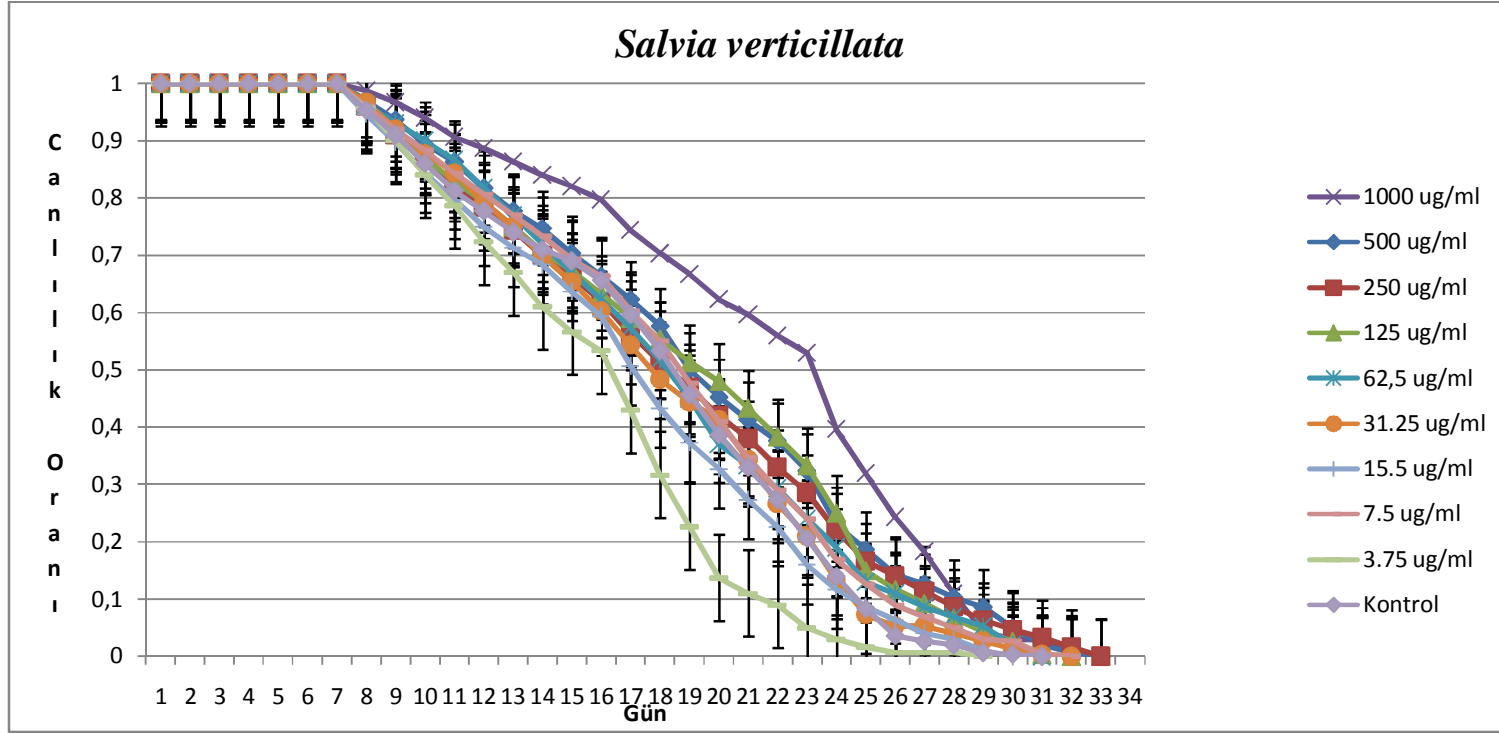
Plantago major (iek) toksisite deneyi sonucunda elde edilen sonuçlar Şekil 4.19’da gösterilmiştir. Ortalama mr uzunluğunda artış gözlenmemektedir. *Plantago major*(yaprak) toksisite deneyi sonucunda elde edilen sonuçlar ise Şekil 4.20’de gösterilmektedir. Ömür uzunluğu üzerinde artış gözlenmemiŐtir.



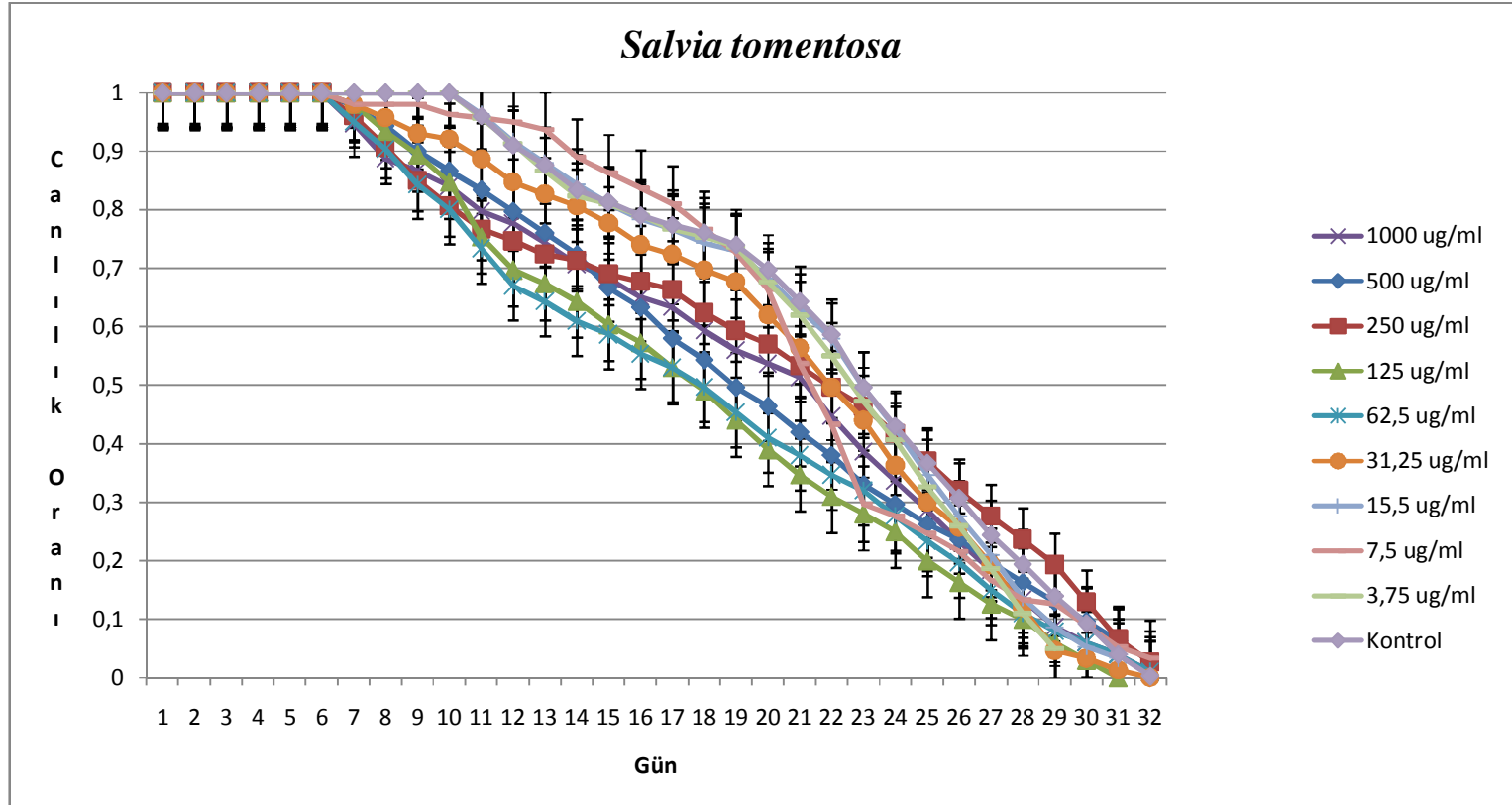
Şekil 4.13. *Rubus sanctus* toksisite deneyi sonucu: Bütün dozlar için birey sayısı n=225'tir. FUDR 10 µg/ml.



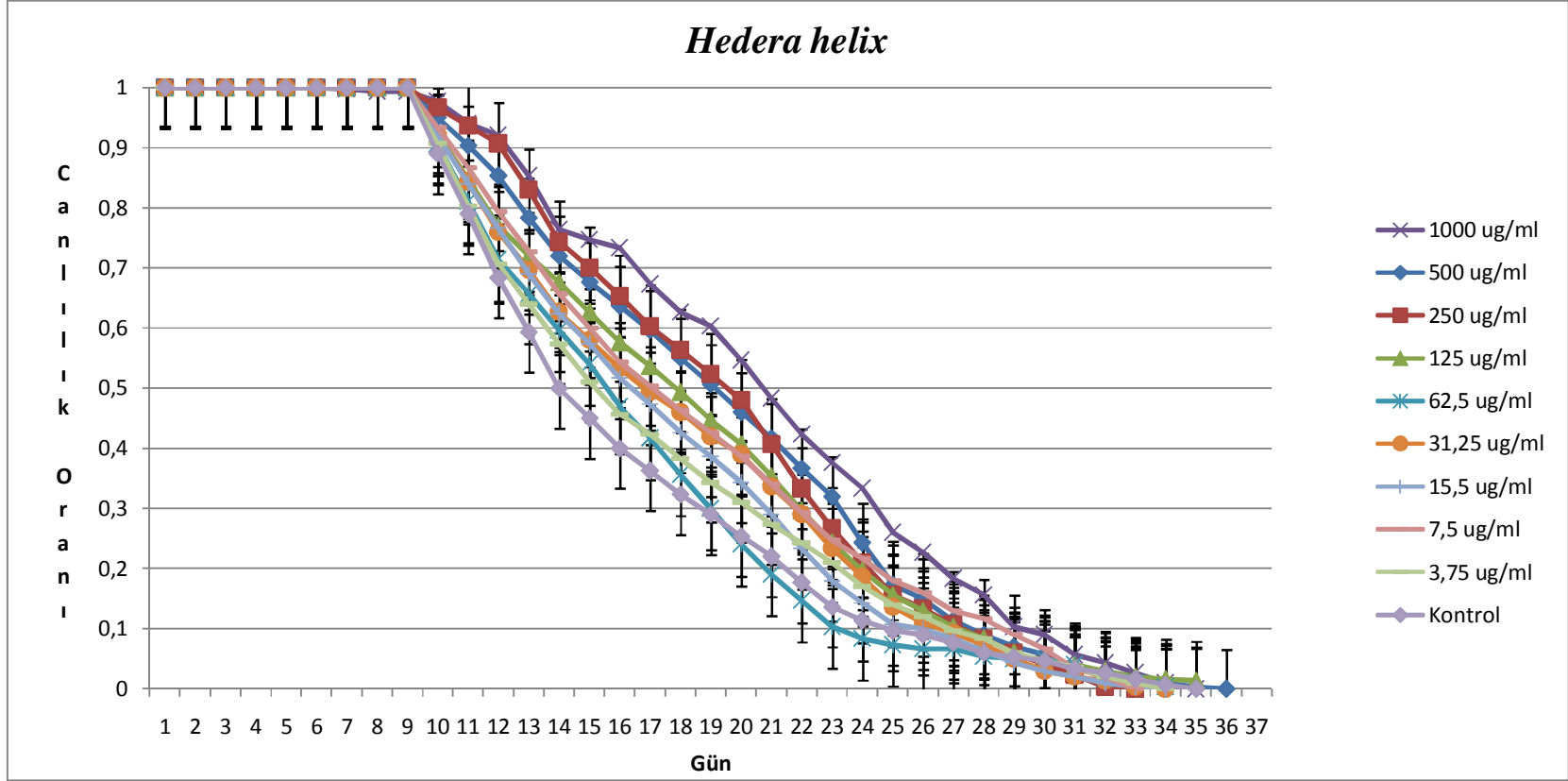
Şekil 4.14. *Salvia fruticosa* toksisite deneyi sonucu: Bütün dozlar için birey sayısı n=225'tir. FUDR 10 µg/ml.



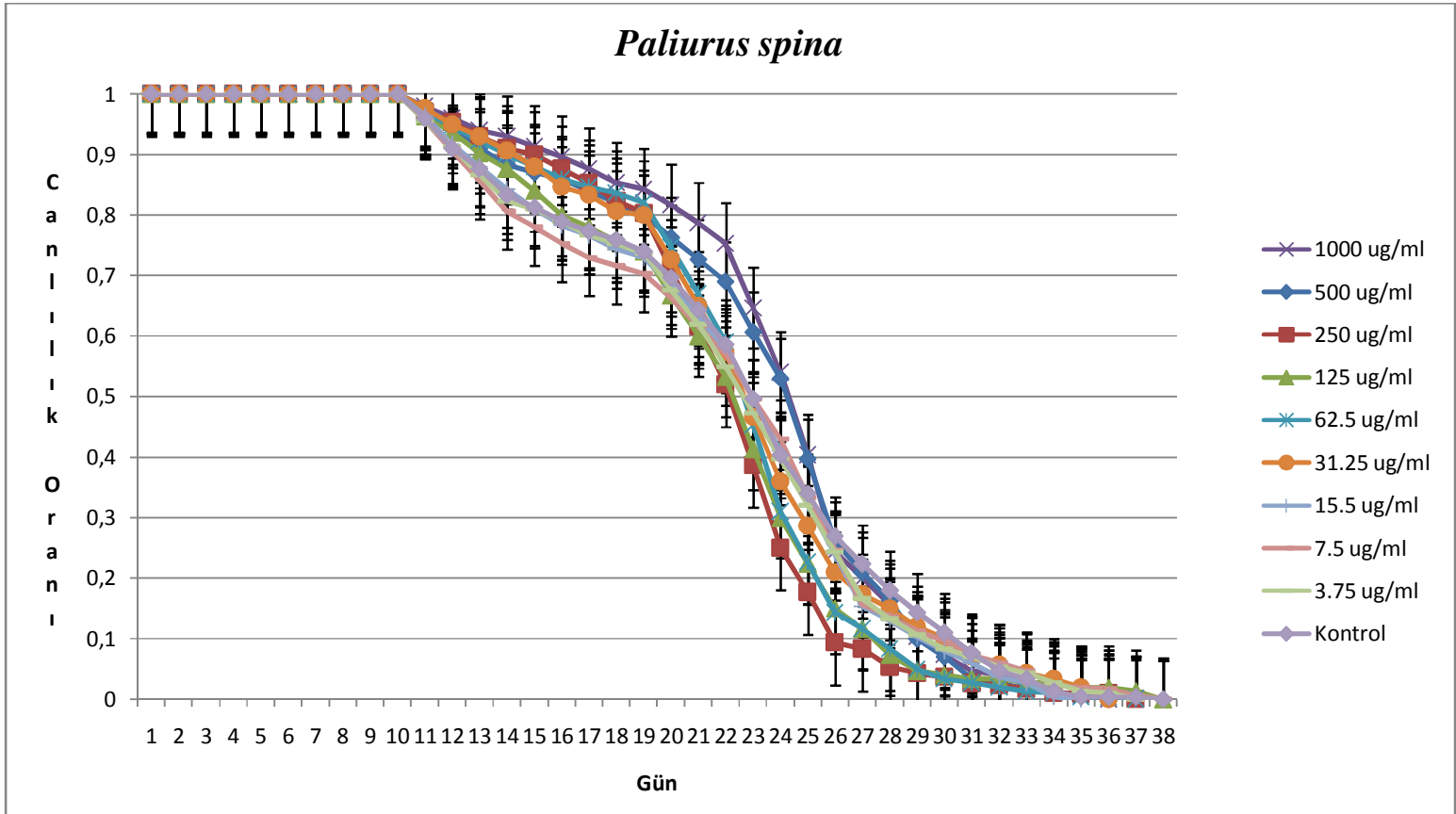
Şekil 4.15. *Salvia verticillata* toksisite deneyi sonucu: Bütün konsantrasyonlar için birey sayısı n=225'tir. FUDR 10 µg/ml.



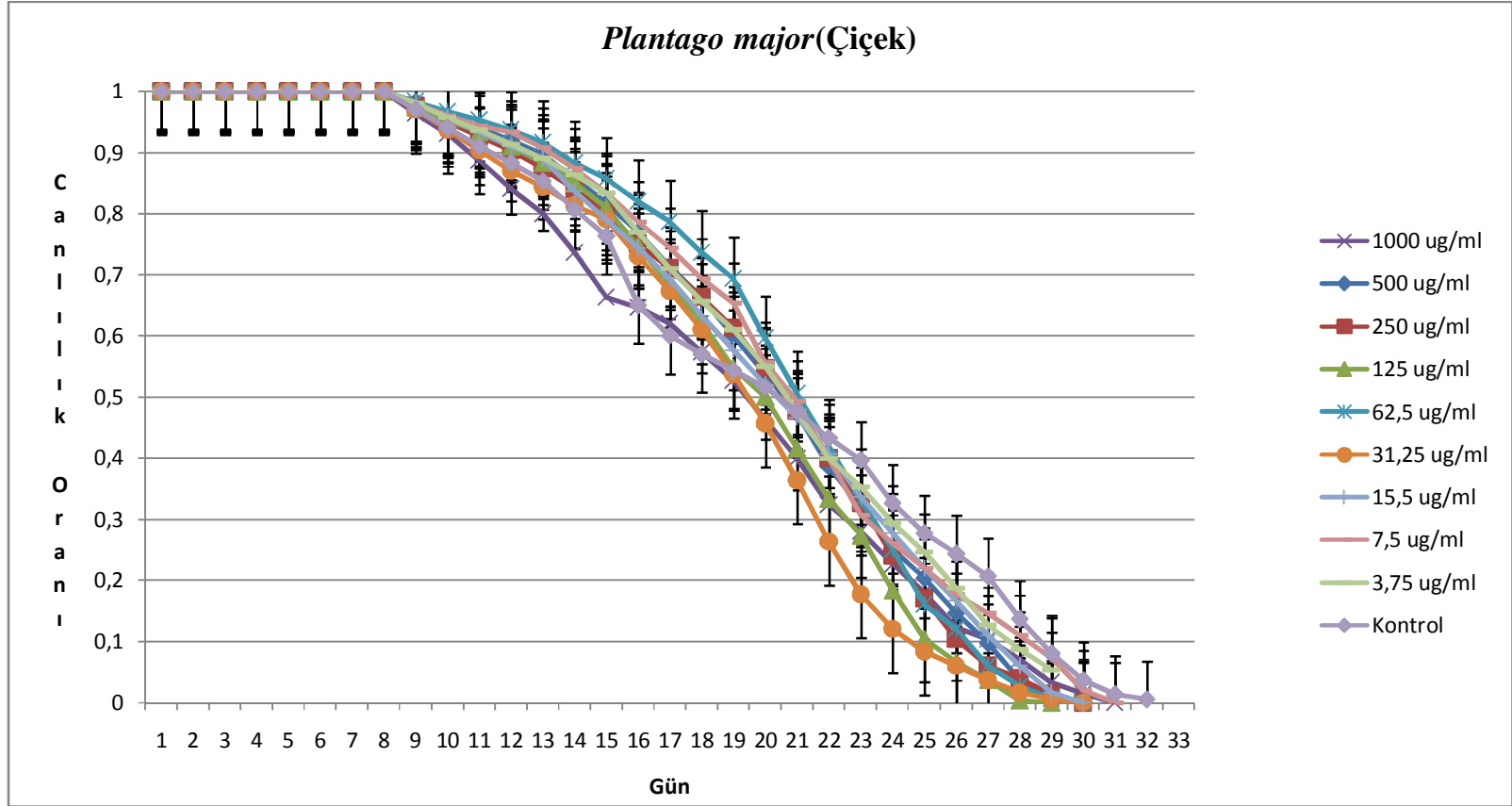
Şekil 4.16. *Salvia tomentosa* toksisite deneyi sonucu: Bütün konsantrasyonlar için birey sayısı n=225'tir. FUDR 10 µg/ml.



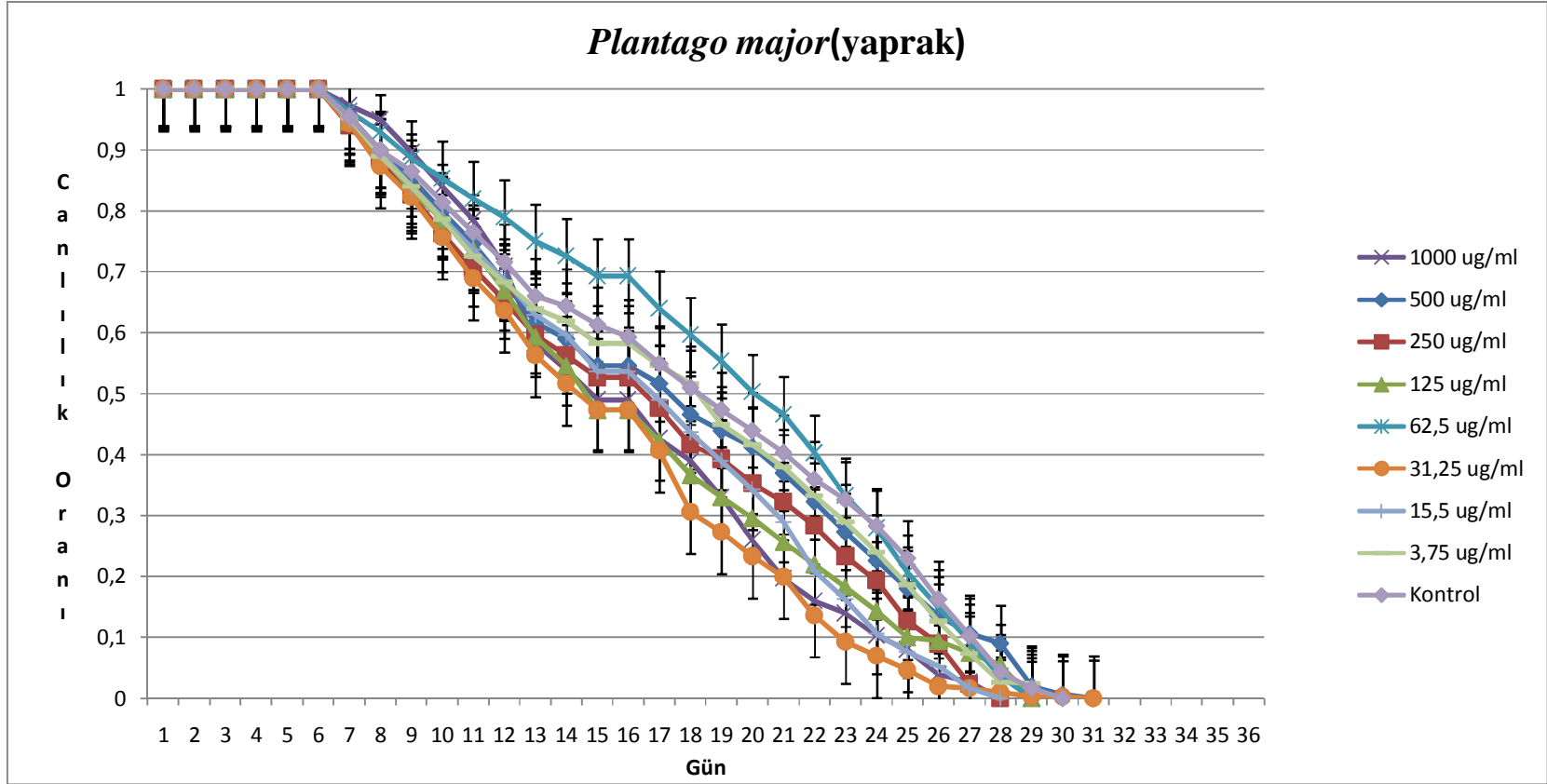
Şekil 4.17. *Hedera helix* toksisite deneyi sonucu: Bütün konsantrasyonlar için birey sayısı n=225'tir. FUDR 10 µg/ml.



Şekil 4.18. *Paliurus spina christi* toksisite deneyi sonucu: Bütün konsantrasyonlar için birey sayısı n=225'tir. FUDR 10 µg/ml.



Şekil 4.19. *Plantago major*(çiçek) toksisite deneyi sonucu: Bütün konsantrasyonlar için birey sayısı n=225'tir. FUDR 10 µg/ml.



Şekil 4.20. *Plantago major*(yaprak) toksisite deneyi sonucu: Bütün konsantrasyonlar için birey sayısı n=225'tir. FUDR 10 µg/ml

Bitki ekstresi	Etkin doz	N2 OYS	N2 +ekstre OYS	N2 MYS	N2+ ekstre MYS	P değeri
Resveratrol (pozitif kontrol)	100 µM	17.5±1.9	20±2.3	32±2.3	33±1.1	0.345
<i>Helichrysum plicatum</i> L.	31.25 µg/ml	18±4	19.5±3.2	37±7.8	36±7.9	0.729
<i>Helichrysum stoechas</i> L.	125 µg/ml	21±1.5	22.5±0.58	32±3.6	35±3.5	0.187
<i>Urtica dioica</i> L.	1000 µg/ml	23±1.3	24.5±0.75	37±3.5	35±2.6	0.205
<i>Mrytus communis</i> L.	125 µg/ml	22±0.75	24.5±1	36±1.2	38±3.1	0.065
<i>Rubus sanctus</i> Schreber	3.75 µg/ml	21±0.3	23±2.25	34±0.6	34±1.7	0.202
<i>Salvia fruticosa</i> L.	250 µg/ml	25±1.5	27±1.75	39±1.2	39±1.5	0.327
<i>Salvia verticillata</i> L.	1000 µg/ml	18.5±0.5	23±1.5	31±1	33±0.6	0.009
<i>Salvia tomentosa</i> Miller	15.5 µg/ml	23±1.5	23±0.87	33±1	33±2.1	0.877
<i>Hedera helix</i> L.	1000 µg/ml	14±1	20.5±0.5	35±2.6	35±1.2	0.001
<i>Paliurus spina christi</i> Miller	500 µg/ml	23±1.3	24.5±0.58	37±3.5	35±1.7	0.234
<i>Plantago major</i> L. (Çiçek)	62.5 µg/ml	20.5±0.5	21±0.6	33±1	30±1	0.491
<i>Plantago major</i> L. (yaprak)	62.5 µg/ml	18.5±0.5	20±1	30±1	29±0.6	0.523
<i>Vaccinium macrocarpon</i> Aiton	31.25 µg/ml	19	18.5	31	26	

Çizelge 4.1. Tez çalışmasında yer alan halk ilacı olarak kullanılan bitki ekstralarının yaban tip *C.elegans* ortalama ve maksimum ömür uzunluğuna etkisi (OYS:ortalama yaşam süresi,MYS:maksimum yaşam süresi, *:deney sırasında en etkin olan doz) (OYS ve MYS gün cinsinden verilmektedir)

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Yaşlanma, organizmanın zamanla fonksiyonunu kaybederek ölüme gitmesi sürecidir. Uzun yıllardır tıp dünyası, yaşam kalitesini arttırmaya yönelik çalışmalar yapmaktadır. Yaşam kalitesini artırmanın yanısıra, maksimum yaşam süresinin ve ortalama yaşam süresininin de artırılması hedeflenmiştir. Yaşlanma alanındaki araştırmalar yalnızca ömrün uzamasına yönelik değil, aynı zamanda yaşlanmayla ortaya çıkan hastalıkların da engellenmesine yönelik olacağı için daha fazla önem kazanmaktadır.

İlaçların büyük çoğunluğu bilindiği gibi bitkisel kaynaklardan elde edilmektedir. Halk ilacı olarak kullanılan bir bitkiden, ilaç adayı molekül geliştirebilme ihtimali oldukça yüksektir. Türkiye, büyük çoğunluğu endemik olan zengin bir bitki örtüsüne sahiptir ve oldukça zengin de bir halk ilacı kültürü vardır. Bu tez çalışmasında, Türk halk ilaçlarının yaşlanma üzerindeki etkilerinin araştırılması hedeflenmiştir. Bu amaçla Sezik ve arkadaşları tarafından oluşturulan Türk halk ilacı envanter çalışmalarından, halk arasında her derde deva olduğuna inanılan antidiabetik ve antibakteriyel etkili 12 adet bitkinin standart ekstrelerinin, yaşlanma ve ilaç tarama çalışmalarında sıklıkla kullanılan ve son derece kullanışlı bir model organizma olan *C.elegans* ömür uzunluğuna olan etkisi incelenmiştir. Ayrıca yapılmış olan bazı mutant deneyleri ile de yolak analizleri gerçekleştirilmiştir. *C.elegans* ve *D. melanogaster* gibi canlılar bir ilacın etkisinin tüm organizma üzerinde kısa sürede gözlenmesine olanak verdikleri için binlerce ilaç molekül adayının aynı anda yüksek işlem hacmi ile taranması için prelinik çalışmalar öncesi yaygın olarak kullanılmaktadır (Gill vd 2003, Kwok vd 2006, Petrascheck vd 2007).

Bu tez çalışmasında Halk ilacı olarak kullanılan bitki ekstrelerinin öncelikle toksisite deneyleri gerçekleştirilmiş ve toksik doz belirlenmeye çalışılmıştır. Ömür uzunluğuna pozitif etkisi *C.elegans* ve memeli sistemlerde kanıtlanmış olan (Wood vd 2004, Sinclair 2005, Le Couteur vd 2006, Puigserver vd 2006) resveratrol bileşiği de çalışmamızda pozitif kontrol olarak kullanılmış ve *C.elegans* ömür uzunluğunda %10 artış gözlenmiştir.

Bitki ekstraları ile elde ettiğimiz sonuçlara göre, *Vaccinium macrocarpon*, *Salvia tomentosa*, *Plantago major* bitkilerinin kullanılan tüm dozlarının toksik geldiği görülmüş ve daha fazla analiz yapılmamıştır.

Vaccinium'un bir diğer türü olan *Vaccinium angustifolium*'un ortalama ömür uzunluğunda artışa yol açtığı daha önce gösterilmiştir (Wilson vd 2006). *Vaccinium angustifolium* ve *Vaccinium macrocarpon*'un içeriklerinin büyük oranda benzer olabileceğini göz önüne alındığında yaptığımız deneylerin daha düşük dozla tekrarlanması gerektiği ortaya çıkmaktadır. Bir diğer olasılık da ekstraların hazırlanış Őekillerinin farklı olmasıdır.

Antidiyabetik etkili olduğuna inanılan *Helichrysum plicatum* zerinde en çok çalıştığımız bitki ekstresidir. Çalışmalarımız sırasında pek çok kez *C.elegans* mr uzunluğuna pozitif etkisi gözlenmişken, tekrarlanan toksisite deneyleri sonucunda, bazen aynı sonuçlar elde edilememiştir. Ortalama ve maksimum ömür uzunluğunda ortalama %10luk artışa yol açtığı gözlenmekte ancak P değeri oldukça yüksek çıkmaktadır. Ekstre bazen ömür uzunluğuna pozitif etki etmiş, bazen etmemiştir. Birey sayılarının oldukça yüksek olduğu bu tarz deneylerde birbirinden bağımsız zamanlarda yapılan deneylerin sonuçlarının tutarlı olması çok önemlidir. Tez çalışmasında da birbirinden bağımsız deneylerin ortalama sonuçları hesaplanıp analiz edilerek sonuçlar sunulmuştur. Bu sonuçlara göre, en yüksek 3 konsantrasyonun ortalama ömür uzunluğunda artışa yol amadığı, ancak diğer konsantrasyonların artışa yol açtığı gözlenmektedir. Ayrıca gerçekleştirilen mutant deneylerinde, *H.plicatum*'un etkisinin insülin yolağı, sirtin yolağı ve kalorik kısıtlama yolağı üzerinden olmadığı da grlmştir.

Diğer antidiyabetik etkili ekstralardan *Helichrysum stoechas*'ın OYS ve MYS üzerinde %10 artışa yol açtığı gözlenmekle birlikte deneyler arasındaki farklı sonuçlardan dolayı P değeri güvenilir sınırlar içinde değildir. Anti diyabetik etkili bir diğer ekstre olan *Urtica dioica* toksisite deneyleri sonucunda, OYSde artış gözlenmiş ancak MYSde gözlenmemiştir.

Antibakteriyel etkili olan *Salvia fruticosa* ve *Paliurus spina christi*'nin yapılan toksisite deneyleri sonucunda, bazı konsantrasyonlarının ortalama ömür uzunluğunda artışa yol açtığı grlmştir.

Antibakteriyel etkili *Salvia verticillata*'nın en yüksek konsantrasyonu OYS ve MYSde artışa yol açmış ve P değeri de 0.009 hesaplanarak oldukça anlamlı bir sonuç olduğu doğrulanmıştır. Gelecekte bu konsantrasyonla tekrar deneyleri yapılmalıdır.

Antibakteriyel etkili *Hedera helix*, *Mrytus communis* ve *Rubus sanctus* ekstrelerinin toksisite deney sonuçlarına bakıldığında, neredeyse tüm konsantrasyonların ortalama ömür uzunluğunda artışa yol açtığı gözlenmektedir. Bu ekstrelerin sirtuin geni üzerinden etkili olmadıkları gösterilmiştir. Umut vaat eden bu 3 ekstre üzerinde öncelikle tekrarlar ve sonrasında daha ayrıntılı analizler gerçekleştirilmelidir. Bu 3 bitkinin de antibakteriyel etkili olması başka yollar üzerinden etkili olabileceklerini düşündürmektedir. Oksidatif stres cevabı ile ilgili mutantlarda ve ısı stresine dayanıklılık denemeleri gerçekleştirilmelidir. Eğer mutantlar yardımı ile sonuç alınmazsa mikrodizin ve proteom analizleri ile tüm genom ve proteomdaki değişiklikler tayin edilip ömür uzunluğuna pozitif etkisi olan genler ve proteinlerin analizi gerçekleştirilerek sorumlu yollar tayin edilmelidir.

Bu tez çalışmasında ilk kez Türk Halk İlaçlarının ömür uzunluğuna olan etkileri *C.elegans* modeli üzerinde test edilmeye başlanmıştır. Pozitif etkisi olan ekstrelerin hangi gen yolları üzerinden etkisi olduğu, standart ekstrelerin fraksiyonlara ayrılıp etken madde saflaştırılması, memeli sistem deneyleri gibi prelinik çalışmalar bundan sonra üzerinde yoğunlaşılması gereken noktalar olacaktır.

KAYNAKLAR

Artal-Sanz M, de Jong L, Tavernarakis N. 2006. *Caenorhabditis elegans*: a versatile platform for drug discovery. *Biotechnol J.* (12):1405-18. Review.

Baur JA, Pearson KJ, Price NL, Jamieson HA, Lerin C, Kalra A, Prabhu VV, Allard JS, Lopez-Lluch G, Lewis K, Pistell PJ, Poosala S, Becker KG, Boss O, Gwinn D, Wang M, Ramaswamy S, Fishbein KW, Spencer RG, Lakatta EG, Le Couteur D, Shaw RJ, Navas P, Puigserver P, Ingram DK, de Cabo R, Sinclair DA. 2006. Resveratrol improves health and survival of mice on a high-calorie diet. *Nature.* 444(7117):337-42.

Berezovska O, Frosch M, McLean P, Knowless R, Koo E, Kang D, Shen J, Lu FM, Lux SE, Tonegawa S, Hyman BT 1999. The Alzheimer-related gene presenilin 1 facilitates notch1 in primary mammalian neurons. *Brain Res. Mol. Brain Research,* 69(2):273-80.

Cameron AR, Anton S, Melville L, Houston NP, Dayal S, McDougall GJ, Stewart D, Rena G. 2008. Black tea polyphenols mimic insulin/insulin-like growth factor-1 signalling to the longevity factor FOXO1a. *Aging Cell.* (1):69-77.

Cho SC, Park MC, Keam B, Choi JM, Cho Y, Hyun S, Park SC, Lee J. 2010. DDS, 4,4'-diaminodiphenylsulfone, extends organismic lifespan. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 107(45):19326-31.

Collins JJ, Evason K, Kornfeld K. 2006. Pharmacology of delayed aging and extended lifespan of *Caenorhabditis elegans*. *Exp Gerontol.* 41(10):1032-9. Review.

Evason K, Huang C, Yamben I, Covey DF, Kornfeld K. 2005. Anticonvulsant medications extend worm life-span. *Science* 307(5707):258-62.

Ewbank JJ. 2006. Signaling in the immune response. *WormBook.* Jan 23:1-12. Review.

Guarente L. Calorie restriction and SIR2 genes--towards a mechanism. 2005. *Mech Ageing Dev.* 126(9):923-8. Review.

Hertweck M, Hoppe T, Baumeister R. 2003. *C. elegans*, a model for aging with high-throughput capacity. *Exp Gerontol.* 38(3):345-6.

Houthoofd K, Braeckman BP, Lenaerts I, Brys K, Matthijssens F, De Vresse A, Van Eygen S, Vanfleteren JR. 2005. DAF-2 pathway mutations and food restriction in aging *Caenorhabditis elegans* differentially affect metabolism. *Neurobiology Aging.* 26(5):689-96.

Joseph JA, Shukitt-Hale B, Denisova NA, Bielinski D, Martin A, McEwen JJ, Bickford PC. 1999. Reversals of age-related declines in neuronal signal transduction, cognitive and motor behavioral deficits with blueberry, spinach or strawberry dietary supplementation. *J Neuroscience* 19(18):8114-21.

Kampkötter A, Pielarski T, Rohrig R, Timpel C, Chovolou Y, Wätjen W, Kahl R. 2007. The Ginkgo biloba extract EGb761 reduces stress sensitivity, ROS accumulation and expression of catalase and glutathione S-transferase 4 in *Caenorhabditis elegans*. *Pharmacol Res.* 55(2):139-47.

Le Couteur D, Shaw RJ, Navas P, Puigserver P, Ingram DK, de Cabo R, Sinclair DA. 2006. Resveratrol improves health and survival of mice on a high-calorie diet. *Nature.* 444(7117):337-42.

Nakae J, Kido Y, Accili D. 2002. Distinct and overlapping functions of insulin and IGF-1 receptors. *Endocrinology Rev.* 22(6):818-35

Olsen A, Vantipalli MC, Lithgow GJ. 2006. Using *Caenorhabditis elegans* as a model for aging and age-related diseases. *Ann N Y Acad Sci.* 1067:120-8. Review.

- Onken B, Driscoll M. 2010. Metformin induces a dietary restriction-like state and the oxidative stress response to extend *C. elegans* Healthspan via AMPK, LKB1, and SKN-1. *PLoS One*. 5(1):e8758.
- Petrascheck M, Ye X, Buck LB. 2007. An antidepressant that extends lifespan in adult *Caenorhabditis elegans*. *Nature*. 450(7169):553-6.
- Pietsch K, Saul N, Chakrabarti S, Stürzenbaum SR, Menzel R, Steinberg CE. 2011. Hormetins, antioxidants and prooxidants: defining quercetin-, caffeic acid- and rosmarinic acid-mediated life extension in *C. elegans*. *Biogerontology*. (4):329-47.
- Ranganathan R, Sawin ER, Trent C, Horvitz HR. 2001. Mutations in the *Caenorhabditis elegans* serotonin reuptake transporter MOD-5 reveal serotonin-dependent and independent activities of fluoxetine. *J Neuroscience*. 21(16):5871-84.
- Saul N, Pietsch K, Menzel R, Steinberg CE. 2008. Quercetin-mediated longevity in *Caenorhabditis elegans*: is DAF-16 involved? *Mech Ageing Dev*. 129(10):611-3.
- Schaffitzel E, Hertweck M. 2006. Recent aging research in *Caenorhabditis elegans*. *Exp Gerontol*. 41(6):557-63. Review.
- Ségalat L. 2006. Drug discovery: here comes the worm. *ACS Chem Biol*. 1(5):277-8. Review.
- Sezik E, Tabata M, Yeşilada E, Honda G, Goto K, Ikeshiro Y. 1991. Traditional medicine in Turkey. I. Folk medicine in northeast Anatolia. *J Ethnopharmacol*. 35(2):191-6
- Sezik E, Yeşilada E, Honda G, Takaishi Y, Takeda Y, Tanaka T. 2001. Traditional medicine in Turkey X. Folk medicine in Central Anatolia. *J Ethnopharmacol*. 75(2-3):95-115.

Sinclair DA. 2005. Toward a unified theory of caloric restriction and longevity regulation. *Mech Ageing Dev.* 126(9):987-1002. Review.

Tissenbaum HA, Guarente L. 2002. Model organisms as a guide to mammalian aging. *Development Cell.* 2(1):9-19.

Warner HR. 2005. Longevity genes: from primitive organisms to humans. *Mech Ageing Dev.* 126(2):235-42. Review.

Wilson MA, Shukitt-Hale B, Kalt W, Ingram DK, Joseph JA, Wolkow CA 2006. Blueberry polyphenols increase lifespan and thermotolerance in *Caenorhabditis elegans*. *Aging Cell.* 5(1):59-68.

Wood JG, Rogina B, Lavu S, Howitz K, Helfand SL, Tatar M, Sinclair D. 2004. Sirtuin activators mimic caloric restriction and delay ageing in metazoans. *Nature.* 430(7000):686-9. Erratum in: *Nature.* 2004 Sep 2;431(7004):107.

www.wormbook.org

www.wormatlas.org

EKLER

EK-1: *Helichrysum plicatum* Deneý Sonuçları(Kırmızı ile gösterilenler ortalama ömür uzunluđuna eriřilen günü ifade etmektedir)

1000 ug/ml	500 ug/ml	250 ug/ml	125 ug/ml	62,5 ug/ml	31,25 ug/ml	15,5 ug/ml	7,5 ug/ml	3,75 ug/ml	1,8 ug/ml	Kontrol	
1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	
1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	
1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	
1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	
1,00	1,00	1,00	0,99	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	0,99	0,99	1,00
1,00	1,00	1,00	0,99	1,00	1,00	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	1,00
1,00	1,00	1,00	0,99	0,99	1,00	0,99	0,99	0,99	0,99	0,97	0,99
0,96	0,99	0,98	0,97	0,96	0,98	0,97	0,96	0,96	0,99	0,96	0,97
0,94	0,97	0,96	0,96	0,95	0,97	0,95	0,95	0,95	0,99	0,94	0,93
0,88	0,94	0,92	0,92	0,91	0,94	0,90	0,91	0,91	0,97	0,93	0,89
0,83	0,85	0,87	0,89	0,87	0,91	0,88	0,88	0,88	0,92	0,91	0,87
0,77	0,80	0,83	0,87	0,83	0,87	0,84	0,82	0,82	0,90	0,86	0,84
0,75	0,76	0,79	0,83	0,78	0,85	0,82	0,78	0,78	0,87	0,83	0,80
0,64	0,70	0,73	0,80	0,75	0,80	0,74	0,73	0,73	0,85	0,75	0,73
0,56	0,62	0,65	0,75	0,68	0,75	0,68	0,64	0,64	0,81	0,71	0,67
0,52	0,56	0,62	0,69	0,64	0,69	0,64	0,57	0,57	0,78	0,66	0,63
0,44	0,49	0,55	0,64	0,59	0,64	0,58	0,50	0,50	0,73	0,62	0,58
0,36	0,38	0,47	0,58	0,54	0,59	0,54	0,42	0,42	0,67	0,54	0,51
0,28	0,29	0,41	0,51	0,49	0,54	0,49	0,38	0,38	0,61	0,52	0,47
0,16	0,22	0,37	0,44	0,46	0,44	0,43	0,32	0,32	0,52	0,45	0,41
0,14	0,13	0,32	0,38	0,43	0,38	0,39	0,27	0,27	0,47	0,38	0,38
0,11	0,08	0,26	0,33	0,39	0,32	0,33	0,21	0,21	0,40	0,30	0,31
0,03	0,06	0,22	0,28	0,36	0,29	0,30	0,16	0,16	0,33	0,24	0,26

0,02	0,05	0,19	0,22	0,32	0,26	0,26	0,11	0,24	0,15	0,23
0,02	0,00	0,16	0,17	0,28	0,21	0,22	0,05	0,20	0,07	0,20
0,02		0,14	0,15	0,22	0,16	0,20	0,04	0,16	0,04	0,18
0,00		0,10	0,13	0,17	0,13	0,17	0,02	0,10	0,04	0,14
		0,09	0,11	0,14	0,10	0,14	0,02	0,04	0,03	0,11
		0,07	0,10	0,12	0,08	0,13	0,01	0,03	0,01	0,10
		0,06	0,08	0,09	0,07	0,10	0,01	0,02	0,01	0,08
		0,04	0,06	0,07	0,05	0,08	0,01	0,00	0,00	0,07
		0,03	0,05	0,05	0,05	0,07	0,00			0,06
		0,02	0,04	0,05	0,04	0,06				0,06
		0,00	0,00	0,04	0,03	0,05				0,05
				0,00	0,02	0,03				0,04
					0,00	0,03				0,02
						0,02				0,00
						0,02				
						0,02				
						0,01				
						0,01				
						0,00				

stdev p değeri

OYS	19,5	21	17,5	23,5	15	22,5	3,188521078	0,728643156
	18,5	19,5	14,5	25	15	22	4,042482735	

stdev p değeri

MYS	34	26	28	43	27	43	7,867655305	0,885621029
	27	30	25	44	30	41	7,782458909	

***Helichrysum plicatum sir-2.1* Mutant Deneyi Sonucu** (Kırmızı ile gösterilenler ortalama ömür uzunluğuna erişilen günü ifade etmektedir)

50 ug/ml N2	0 ug/ml N2	50 ug/ml sir- 2.1	0 ug/ml sir- 2.1
1,00	1,00	1,00	1,00
1,00	1,00	1,00	1,00
1,00	1,00	1,00	1,00
1,00	1,00	1,00	1,00
1,00	1,00	1,00	1,00
1,00	1,00	1,00	1,00
1,00	1,00	1,00	1,00
0,97	0,95	0,99	0,98
0,93	0,90	0,96	0,96
0,88	0,84	0,94	0,94
0,79	0,72	0,91	0,93
0,74	0,66	0,88	0,85
0,68	0,60	0,85	0,78
0,62	0,52	0,83	0,73
0,56	0,44	0,80	0,69
0,47	0,35	0,78	0,65
0,40	0,28	0,76	0,63
0,31	0,22	0,75	0,58
0,25	0,16	0,70	0,52
0,20	0,12	0,65	0,48
0,16	0,06	0,59	0,41
0,12	0,02	0,45	0,31
0,10	0,02	0,31	0,26
0,08	0,01	0,17	0,20

0,08	0,01	0,11	0,09
0,05	0,01	0,05	0,06
0,04	0,01	0,01	0,03
0,02	0,01	0,01	0,02
0,02	0,00	0,00	0,02
0,01		0,00	0,02
0,01			0,01
0,00			0,01
			0,01
			0,01
			0,01
			0,01
			0,00

Helichrysum plicatum sir-2.1, eat-2, daf-16 Mutant Deneyi Sonucu (Kırmızı ile gösterilenler ortalama ömür uzunluğuna erişilen günü ifade etmektedir)

50 N2	ug/ml N2	0 ug/ml N2	50 ug/ml- sir-2.1	0 ug/ml- sir-2.1	50 ug/ml- eat-2	0 ug/ml- eat-2	50 ug/ml- daf-16	0 ug/ml- daf-16
	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
	0,98	0,98	0,99	0,99	1,00	1,00	1,00	1,00
	0,96	0,97	0,98	0,98	0,99	0,98	0,99	1,00
	0,93	0,93	0,94	0,95	0,99	0,97	0,97	0,99
	0,87	0,87	0,91	0,92	0,99	0,96	0,93	0,95
	0,81	0,81	0,87	0,85	0,96	0,93	0,89	0,91
	0,76	0,77	0,82	0,80	0,91	0,86	0,83	0,85
	0,71	0,71	0,79	0,75	0,86	0,79	0,79	0,80
	0,66	0,66	0,73	0,71	0,81	0,75	0,74	0,74
	0,60	0,60	0,69	0,66	0,75	0,72	0,72	0,71
	0,55	0,55	0,67	0,63	0,71	0,67	0,68	0,66
	0,51	0,52	0,65	0,59	0,68	0,64	0,65	0,61
	0,47	0,48	0,62	0,54	0,64	0,61	0,60	0,56
	0,42	0,43	0,58	0,51	0,61	0,57	0,56	0,49
	0,37	0,37	0,53	0,45	0,58	0,54	0,52	0,43
	0,32	0,32	0,44	0,39	0,53	0,49	0,49	0,37
	0,27	0,28	0,35	0,33	0,49	0,45	0,41	0,30

0,22	0,23	0,27	0,28	0,43	0,40	0,33	0,22
0,19	0,20	0,21	0,18	0,39	0,35	0,25	0,13
0,15	0,17	0,16	0,15	0,33	0,30	0,17	0,08
0,12	0,14	0,11	0,13	0,26	0,25	0,10	0,05
0,10	0,12	0,08	0,10	0,22	0,21	0,05	0,03
0,08	0,09	0,04	0,09	0,17	0,16	0,02	0,01
0,06	0,06	0,04	0,09	0,13	0,13	0,01	0,00
0,05	0,04	0,03	0,07	0,10	0,09	0,00	0,00
0,04	0,03	0,03	0,05	0,07	0,08	0,00	
0,03	0,02	0,02	0,04	0,06	0,07	0,00	
0,02	0,01	0,02	0,02	0,05	0,05		
0,01	0,01	0,02	0,02	0,03	0,04		
0,01	0,00	0,01	0,01	0,02	0,03		
0,01		0,01	0,01	0,01	0,03		
0,00		0,01	0,01	0,00	0,00		
		0,00	0,01		0,00		
			0,01				
			0,00				

***Helichrysum plicatum* daf-2 Mutant Deneyi Sonucu**

50 ug/ml N2	0 ug/ml N2	50 ug/ml- daf- 2	0 ug/ml daf-2
1,00	1,00	1,00	1,00
1,00	1,00	1,00	1,00
1,00	1,00	1,00	1,00
1,00	1,00	1,00	1,00
1,00	1,00	1,00	1,00
1,00	1,00	1,00	1,00
1,00	1,00	1,00	1,00
0,98	0,98	1,00	1,00
0,96	0,97	1,00	1,00
0,93	0,93	1,00	1,00
0,87	0,87	1,00	1,00
0,81	0,81	1,00	1,00
0,76	0,77	1,00	1,00
0,71	0,71	1,00	1,00
0,66	0,66	1,00	1,00
0,60	0,60	1,00	1,00
0,55	0,55	1,00	1,00
0,51	0,52	1,00	1,00
0,47	0,48	0,99	0,99
0,42	0,43	0,99	0,99
0,37	0,37	0,99	0,99
0,32	0,32	0,99	0,99
0,27	0,28	0,99	0,99
0,22	0,23	0,99	0,99

0,19	0,20	0,99	0,99
0,15	0,17	0,99	0,99
0,12	0,14	0,99	0,99
0,10	0,12	0,96	0,97
0,08	0,09	0,96	0,94
0,06	0,06	0,96	0,94
0,05	0,04	0,96	0,91
0,04	0,03	0,95	0,91
0,03	0,02	0,93	0,90
0,02	0,01	0,91	0,87
0,01	0,01	0,91	0,87
0,01	0,00	0,91	0,86
0,01		0,90	0,86
0,00		0,87	0,85
		0,86	0,85
		0,84	0,85
		0,83	0,85
		0,80	0,81
		0,80	0,80
		0,78	0,78
		0,78	0,76
		0,77	0,73
		0,76	0,71
		0,74	0,69
		0,73	0,68
		0,68	0,68
		0,64	0,67

0,61	0,66
0,60	0,64
0,59	0,64
0,56	0,61
0,51	0,61
0,45	0,58
0,43	0,54
0,41	0,50
0,36	0,48
0,32	0,43
0,27	0,40
0,27	0,35
0,27	0,33
0,25	0,30
0,25	0,30
0,19	0,21
0,16	0,18
0,14	0,18
0,13	0,16
0,11	0,16
0,06	0,13
0,04	0,11
0,04	0,08
0,00	0,04
	0,02
	0,02
	0,00

EK-2: *Helichrysum stoechas* Deney Sonuçları

1000 ug/ml	500 ug/ml	250 ug/ml	125 ug/ml	62,5 ug/ml	31,25 ug/ml	15,5 ug/ml	7,5 ug/ml	3,75 ug/ml	Kontrol
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1	1	1	1	1	1	1,00	1	1,00	1,00
1	1	1	1	1,00	1	1,00	1	1,00	1,00
1	1	1	1	1,00	1	1,00	1	1,00	1,00
1,00	1	1	1,00	1,00	1,00	1,00	1	1,00	1,00
0,99	0,99	1,00	0,99	1,00	1,00	0,99	0,98	0,99	0,99
0,96	0,96	0,98	0,97	0,97	0,97	0,97	0,96	0,97	0,97
0,94	0,95	0,96	0,96	0,94	0,95	0,95	0,93	0,95	0,94
0,91	0,91	0,93	0,94	0,92	0,91	0,92	0,91	0,91	0,91
0,88	0,88	0,90	0,91	0,88	0,87	0,89	0,87	0,87	0,88
0,85	0,85	0,86	0,88	0,85	0,83	0,86	0,84	0,83	0,84
0,80	0,79	0,82	0,84	0,80	0,80	0,80	0,80	0,79	0,79
0,73	0,74	0,78	0,80	0,76	0,77	0,74	0,75	0,75	0,73
0,68	0,70	0,75	0,77	0,72	0,73	0,70	0,68	0,69	0,68
0,63	0,66	0,71	0,74	0,68	0,68	0,65	0,62	0,62	0,63
0,58	0,63	0,66	0,71	0,62	0,65	0,62	0,56	0,59	0,59
0,54	0,59	0,61	0,67	0,56	0,60	0,58	0,49	0,56	0,54
0,55	0,51	0,50	0,60	0,55	0,52	0,50	0,38	0,56	0,49
0,49	0,45	0,39	0,54	0,48	0,43	0,41	0,26	0,49	0,43
0,44	0,38	0,30	0,42	0,39	0,30	0,34	0,20	0,44	0,34
0,38	0,32	0,20	0,31	0,30	0,17	0,26	0,14	0,39	0,25

0,34	0,25	0,10	0,20	0,21	0,04	0,19	0,07	0,34	0,16
0,30	0,20	0,06	0,13	0,15	0,03	0,15	0,01	0,29	0,07
0,26	0,17	0,01	0,05	0,10	0,02	0,10	0,00	0,16	0,05
0,18	0,10	0,00	0,02	0,05	0,01	0,06	0,00	0,03	0,02
0,13	0,06		0,01	0,04	0,00	0,05		0,02	0,01
0,11	0,04		0,01	0,04		0,03		0,01	0,01
0,10	0,03		0,00	0,01		0,03		0,01	0,003
0,03	0,02		0,00	0,00		0,03		0,00	0,003
0,03	0,01					0,03			0,003
0,01	0,01					0,02			0,003
0	0,01					0,01			0,00
	0					0,01			
						0,003			
						0,003			
						0,003			
						0,000			

				stdev	p değeri
OYS	22,5	22,5	21,5	0,577350269	0,186821797
	22	21	19	1,527525232	

				stdev	p değeri
MYS	34	28	28	3,464101615	0,746489343
	35	30	28	3,605551275	

EK-3: *Urtica dioica* Deney Sonuçları

1000 ug/ml	500 ug/ml	250 ug/ml	125 ug/ml	62,5 ug/ml	31,25 ug/ml	15,5 ug/ml	7,5 ug/ml	3,75 ug/ml	Kontrol	
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
1	1	1	1	1	1,00	1,00	1	1	1,00	1
1	1	1	1	1,00	1,00	1,00	1,00	1	1,00	1
1	1	1	1	1,00	1,00	1,00	1,00	1	1,00	1
1	1	1	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1
1	1	1	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1
1	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
0,98	0,97	0,97	0,96	0,97	0,98	0,96	0,96	0,96	0,96	0,96
0,96	0,94	0,95	0,94	0,95	0,95	0,92	0,91	0,91	0,91	0,91
0,94	0,91	0,93	0,90	0,92	0,93	0,88	0,86	0,87	0,87	0,88
0,93	0,88	0,91	0,88	0,90	0,91	0,84	0,81	0,82	0,82	0,83
0,91	0,87	0,90	0,84	0,88	0,88	0,81	0,78	0,81	0,81	0,81
0,90	0,86	0,88	0,80	0,86	0,85	0,78	0,75	0,79	0,79	0,79
0,88	0,84	0,85	0,78	0,85	0,83	0,77	0,73	0,77	0,77	0,77
0,85	0,82	0,82	0,76	0,84	0,81	0,74	0,72	0,75	0,75	0,76
0,84	0,80	0,80	0,74	0,82	0,80	0,73	0,70	0,74	0,74	0,74
0,82	0,76	0,71	0,67	0,75	0,73	0,68	0,66	0,68	0,68	0,70
0,79	0,73	0,62	0,60	0,67	0,65	0,63	0,62	0,62	0,62	0,64
0,75	0,69	0,52	0,53	0,59	0,57	0,58	0,57	0,55	0,55	0,59
0,65	0,61	0,39	0,41	0,45	0,47	0,50	0,50	0,47	0,47	0,50
0,54	0,53	0,25	0,30	0,31	0,36	0,41	0,43	0,40	0,40	0,40
0,40	0,40	0,18	0,22	0,23	0,29	0,32	0,33	0,32	0,32	0,34

0,24	0,26	0,09	0,15	0,14	0,21	0,24	0,25	0,24	0,27
0,20	0,21	0,08	0,12	0,12	0,17	0,15	0,16	0,17	0,22
0,16	0,16	0,05	0,07	0,08	0,15	0,13	0,14	0,13	0,18
0,10	0,10	0,04	0,05	0,05	0,12	0,10	0,11	0,11	0,14
0,07	0,07	0,04	0,04	0,03	0,10	0,08	0,10	0,08	0,11
0,05	0,03	0,03	0,03	0,03	0,07	0,06	0,07	0,07	0,08
0,04	0,03	0,02	0,03	0,02	0,06	0,04	0,06	0,05	0,05
0,02	0,02	0,02	0,03	0,01	0,04	0,03	0,05	0,04	0,03
0,01	0,01	0,01	0,03	0,01	0,03	0,00	0,02	0,03	0,01
0,01	0,01	0,01	0,02	0,00	0,02	0,00	0,02	0,01	0,003
0,00	0,00	0,01	0,02	0,00	0,00		0,02	0,01	0,003
		0,00	0,01				0,01	0,00	0,003
			0,00				0,00		0

stdev p değeri

OYS 25 24,5 23,5 0,763762616 0,205106455

23,5 21,5 24 1,322875656

stdev p değeri

MYS 36 35 31 2,645751311 1

38 32 32 3,464101615

EK-4: *Mrytus communis* Denev Sonuçları

1000 ug/ml	500 ug/ml	250 ug/ml	125 ug/ml	62,5 ug/ml	31,25 ug/ml	15,5 ug/ml	7,5 ug/ml	3,75 ug/ml	Kontrol
1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	0,99	1,00	1,00	1,00	1,00
1,00	0,99	0,99	1,00	1,00	0,99	1,00	0,97	0,99	0,98
1,00	0,99	0,98	0,97	0,98	0,99	0,98	0,97	0,97	0,96
0,99	0,96	0,95	0,93	0,95	0,97	0,97	0,93	0,96	0,94
0,99	0,94	0,93	0,91	0,94	0,96	0,96	0,90	0,94	0,91
0,93	0,92	0,92	0,90	0,90	0,91	0,93	0,86	0,91	0,87
0,91	0,90	0,91	0,90	0,86	0,88	0,90	0,81	0,87	0,82
0,87	0,87	0,91	0,90	0,83	0,86	0,88	0,76	0,85	0,79
0,83	0,86	0,88	0,87	0,80	0,84	0,85	0,72	0,82	0,76
0,80	0,84	0,86	0,85	0,77	0,82	0,84	0,68	0,79	0,73
0,74	0,79	0,83	0,82	0,75	0,79	0,81	0,65	0,78	0,71
0,68	0,76	0,79	0,80	0,72	0,76	0,78	0,61	0,77	0,69
0,62	0,72	0,74	0,76	0,66	0,71	0,74	0,55	0,70	0,63
0,55	0,68	0,70	0,72	0,60	0,67	0,68	0,49	0,65	0,56
0,49	0,58	0,63	0,66	0,55	0,62	0,63	0,45	0,60	0,51
0,44	0,54	0,58	0,59	0,49	0,57	0,58	0,40	0,55	0,45
0,36	0,48	0,51	0,53	0,44	0,52	0,52	0,36	0,50	0,40
0,31	0,42	0,44	0,44	0,37	0,40	0,43	0,31	0,40	0,33
0,26	0,36	0,37	0,35	0,29	0,29	0,35	0,25	0,30	0,27

0,20	0,31	0,31	0,28	0,21	0,21	0,28	0,21	0,22	0,20
0,16	0,26	0,24	0,19	0,14	0,11	0,21	0,14	0,16	0,14
0,12	0,20	0,20	0,14	0,11	0,09	0,15	0,11	0,13	0,10
0,07	0,13	0,14	0,09	0,08	0,06	0,12	0,08	0,10	0,07
0,04	0,06	0,09	0,06	0,05	0,04	0,07	0,06	0,07	0,04
0,03	0,05	0,07	0,04	0,03	0,03	0,06	0,04	0,05	0,03
0,02	0,04	0,04	0,04	0,02	0,03	0,04	0,03	0,04	0,02
0,00	0,02	0,01	0,04	0,00	0,01	0,02	0,01	0,02	0,00
	0,01	0,01	0,03		0,01	0,02	0,01	0,02	0,00
	0,00	0,01	0,02		0,00	0,01	0,00	0,01	0,00
	0,00	0,01	0,02		0,00	0,01		0,00	
		0	0			0			

stdev p değeri

OYS 25 24 23 1 0,065108506

21,5 23 22 0,763762616

stdev p değeri

MYS 32 36 38 3,055050463 0,741521056

36 34 34 1,154700538

EK-5 : *Rubus sanctus* Deneş Sonuçları

1000 ug/ml	500 ug/ml	250 ug/ml	125 ug/ml	62,5 ug/ml	31,25 ug/ml	15,5 ug/ml	7,5 ug/ml	3,75 ug/ml	Kontrol
1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
0,98	0,99	1,00	0,98	0,98	0,98	0,98	0,99	0,97	0,97
0,95	0,98	0,98	0,96	0,96	0,97	0,97	0,96	0,96	0,94
0,94	0,98	0,97	0,96	0,93	0,97	0,96	0,96	0,96	0,92
0,89	0,96	0,97	0,94	0,91	0,95	0,91	0,94	0,92	0,89
0,85	0,94	0,93	0,90	0,87	0,92	0,86	0,92	0,88	0,86
0,83	0,91	0,89	0,88	0,85	0,89	0,83	0,89	0,86	0,84
0,81	0,88	0,85	0,85	0,83	0,85	0,81	0,85	0,84	0,81
0,78	0,85	0,81	0,83	0,80	0,82	0,77	0,82	0,82	0,79
0,76	0,79	0,77	0,78	0,76	0,80	0,73	0,79	0,80	0,75
0,74	0,74	0,73	0,74	0,72	0,77	0,70	0,75	0,79	0,73
0,71	0,68	0,67	0,68	0,67	0,73	0,65	0,71	0,74	0,69
0,67	0,63	0,63	0,64	0,61	0,69	0,61	0,67	0,70	0,65
0,62	0,58	0,59	0,60	0,57	0,62	0,56	0,63	0,65	0,57
0,56	0,53	0,55	0,57	0,52	0,55	0,51	0,59	0,60	0,48
0,50	0,48	0,50	0,53	0,47	0,48	0,45	0,55	0,56	0,38
0,47	0,41	0,46	0,48	0,32	0,42	0,37	0,48	0,49	0,33
0,42	0,36	0,41	0,43	0,28	0,35	0,30	0,41	0,44	0,30
0,34	0,29	0,36	0,35	0,23	0,22	0,22	0,34	0,36	0,21
0,26	0,22	0,29	0,27	0,20	0,09	0,14	0,26	0,27	0,17
0,17	0,16	0,23	0,21	0,18	0,08	0,07	0,17	0,18	0,13

0,12	0,13	0,17	0,18	0,16	0,07	0,06	0,14	0,13	0,11
0,10	0,11	0,14	0,15	0,14	0,05	0,05	0,11	0,10	0,09
0,08	0,08	0,11	0,13	0,12	0,04	0,04	0,08	0,07	0,07
0,05	0,07	0,08	0,09	0,11	0,03	0,03	0,05	0,03	0,04
0,04	0,05	0,05	0,06	0,09	0,02	0,02	0,04	0,02	0,03
0,01	0,03	0,03	0,04	0,07	0,01	0,02	0,03	0,01	0,00
0,00	0,01	0,02	0,01	0,04	0,01	0,01	0,03	0,00	0,00
	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		
		0,01	0,00						
		0,00							

stdev **p değeri**

OYS 23 20,5 25 2,25 0,202185643

20,5 21 21 0,29

stdev **p değeri**

MYS 31 34 34 1,732050808 0,767643915

33 34 33 0,577350269

EK-6 : *Salvia fruticosa* Deney Sonuçları

1000 ug/ml	500 ug/ml	250 ug/ml	125 ug/ml	62,5 ug/ml	31,25 ug/ml	15,5 ug/ml	7,5 ug/ml	3,75 ug/ml	Kontrol
1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
0,97	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
0,97	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	0,98	1,00	0,99	1,00
0,97	1,00	0,98	0,99	0,99	0,99	0,98	0,99	0,99	1,00
0,92	0,99	0,97	0,96	0,96	0,98	0,96	0,95	0,95	0,96
0,90	0,97	0,96	0,95	0,92	0,95	0,93	0,94	0,94	0,96
0,87	0,93	0,94	0,92	0,91	0,95	0,91	0,92	0,92	0,95
0,82	0,89	0,92	0,92	0,89	0,93	0,88	0,90	0,90	0,92
0,82	0,87	0,91	0,90	0,88	0,89	0,85	0,88	0,87	0,89
0,79	0,84	0,88	0,88	0,86	0,86	0,81	0,87	0,85	0,87
0,77	0,81	0,85	0,86	0,83	0,83	0,78	0,85	0,83	0,85
0,73	0,77	0,83	0,83	0,81	0,80	0,75	0,82	0,81	0,83
0,70	0,72	0,80	0,80	0,80	0,77	0,72	0,80	0,79	0,82
0,65	0,68	0,78	0,78	0,78	0,75	0,70	0,78	0,77	0,80
0,62	0,64	0,76	0,75	0,77	0,72	0,67	0,75	0,74	0,78
0,58	0,60	0,74	0,73	0,76	0,67	0,62	0,70	0,71	0,73
0,53	0,53	0,71	0,69	0,73	0,63	0,57	0,66	0,65	0,67
0,48	0,44	0,68	0,64	0,69	0,58	0,52	0,61	0,61	0,63
0,44	0,37	0,64	0,60	0,66	0,54	0,49	0,55	0,55	0,58
0,41	0,32	0,60	0,57	0,63	0,48	0,42	0,51	0,48	0,50
0,38	0,27	0,56	0,51	0,56	0,42	0,35	0,47	0,41	0,42
0,35	0,20	0,51	0,46	0,50	0,36	0,30	0,42	0,35	0,34

0,31	0,16	0,46	0,41	0,44	0,29	0,25	0,34	0,26	0,29
0,24	0,11	0,36	0,33	0,36	0,22	0,20	0,25	0,17	0,22
0,16	0,06	0,25	0,25	0,30	0,17	0,15	0,20	0,13	0,17
0,12	0,04	0,19	0,18	0,22	0,12	0,10	0,16	0,10	0,12
0,07	0,01	0,14	0,12	0,13	0,09	0,07	0,11	0,06	0,09
0,04	0,01	0,10	0,10	0,09	0,05	0,03	0,06	0,03	0,07
0,01	0,01	0,06	0,06	0,05	0,01	0,01	0,04	0,01	0,03
0,00	0,00	0,03	0,02	0,04	0,01	0,01	0,01	0,00	0,03
		0,01	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00		0,02
		0,00		0,00			0,00		0,01
		0,00							0,00
		0,00							0,00

stdev p değeri

OYS 26,5 28,5 25 1,755942292 0,326819003

25,5 23,5 26,5 1,527525232

stdev p değeri

MYS 39 36 37 1,527525232 0,778049549

39 37 37 1,154700538

EK-7 : *Salvia verticillata* Deneş Sonuçları

1000 ug/ml	500 ug/ml	250 ug/ml	125 ug/ml	62,5 ug/ml	31,25 ug/ml	15,5 ug/ml	7,5 ug/ml	3,75 ug/ml	Kontrol
1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
0,99	0,97	0,96	0,96	0,96	0,97	0,95	0,96	0,96	0,95
0,97	0,94	0,91	0,92	0,93	0,92	0,90	0,92	0,90	0,91
0,94	0,89	0,87	0,87	0,90	0,88	0,84	0,88	0,84	0,86
0,91	0,86	0,82	0,83	0,87	0,84	0,80	0,84	0,79	0,81
0,89	0,82	0,78	0,79	0,82	0,79	0,75	0,81	0,72	0,78
0,86	0,78	0,74	0,75	0,77	0,75	0,71	0,77	0,67	0,74
0,84	0,75	0,70	0,71	0,72	0,70	0,68	0,73	0,61	0,71
0,82	0,70	0,66	0,67	0,67	0,65	0,64	0,69	0,57	0,69
0,80	0,66	0,62	0,63	0,62	0,60	0,59	0,66	0,53	0,66
0,74	0,62	0,56	0,59	0,57	0,54	0,51	0,60	0,43	0,60
0,70	0,58	0,51	0,55	0,52	0,48	0,43	0,55	0,32	0,53
0,67	0,50	0,47	0,51	0,45	0,44	0,37	0,48	0,23	0,46
0,62	0,45	0,42	0,48	0,37	0,41	0,33	0,41	0,14	0,39
0,60	0,41	0,38	0,43	0,33	0,34	0,27	0,35	0,11	0,33
0,56	0,38	0,33	0,38	0,29	0,27	0,23	0,29	0,09	0,27
0,53	0,32	0,29	0,33	0,24	0,21	0,16	0,24	0,05	0,21
0,40	0,23	0,22	0,25	0,19	0,13	0,12	0,17	0,03	0,14
0,32	0,19	0,17	0,15	0,13	0,07	0,09	0,13	0,02	0,08
0,24	0,14	0,14	0,12	0,11	0,05	0,06	0,09	0,01	0,04

0,18	0,13	0,11	0,09	0,09	0,05	0,04	0,07	0,01	0,03
0,11	0,10	0,09	0,07	0,07	0,04	0,03	0,05	0,01	0,02
0,04	0,09	0,06	0,04	0,05	0,03	0,01	0,03	0,00	0,01
0,03	0,05	0,05	0,03	0,02	0,01	0,00	0,03		0,00
0,03	0,02	0,03	0,00	0,00	0,00		0,00		0,00
0,01	0,01	0,02	0,00		0,00		0,00		
0,00	0,00	0,00							

stdev p değeri

OYS 22,5 21,5 24,5 1,53 0,009520176

18 18,5 19 0,50

stdev p değeri

MYS 33 32 33 0,58 0,01613009

31 30 29 1,00

EK-8 : *Hedera helix* Deney Sonuçları

1000 ug/ml	500 ug/ml	250 ug/ml	125 ug/ml	62,5 ug/ml	31,25 ug/ml	15,5 ug/ml	7,5 ug/ml	3,75 ug/ml	Kontrol
1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
0,99	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
0,99	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
0,98	0,95	0,97	0,92	0,91	0,92	0,92	0,93	0,91	0,89
0,94	0,90	0,94	0,85	0,81	0,84	0,84	0,87	0,80	0,79
0,92	0,85	0,91	0,77	0,71	0,76	0,77	0,79	0,71	0,68
0,85	0,78	0,83	0,72	0,66	0,70	0,69	0,73	0,64	0,59
0,76	0,72	0,74	0,68	0,60	0,63	0,62	0,66	0,57	0,50
0,75	0,68	0,70	0,63	0,54	0,58	0,57	0,60	0,51	0,45
0,73	0,64	0,65	0,58	0,47	0,53	0,52	0,54	0,46	0,40
0,67	0,60	0,60	0,54	0,42	0,49	0,47	0,50	0,42	0,36
0,63	0,55	0,56	0,49	0,36	0,46	0,43	0,46	0,38	0,32
0,60	0,51	0,52	0,45	0,30	0,42	0,39	0,43	0,34	0,29
0,55	0,46	0,48	0,41	0,24	0,39	0,34	0,39	0,31	0,25
0,48	0,42	0,41	0,35	0,19	0,34	0,29	0,34	0,27	0,22
0,42	0,37	0,33	0,30	0,15	0,29	0,23	0,29	0,24	0,18
0,38	0,32	0,27	0,24	0,10	0,23	0,18	0,25	0,21	0,14
0,33	0,24	0,21	0,20	0,08	0,19	0,14	0,22	0,17	0,11
0,26	0,17	0,16	0,16	0,07	0,14	0,11	0,18	0,14	0,10
0,23	0,15	0,13	0,13	0,07	0,11	0,10	0,16	0,12	0,09

0,18	0,11	0,11	0,10	0,07	0,09	0,08	0,13	0,10	0,08
0,16	0,09	0,08	0,08	0,05	0,07	0,06	0,12	0,08	0,06
0,10	0,07	0,06	0,06	0,05	0,05	0,04	0,09	0,06	0,05
0,09	0,06	0,04	0,05	0,05	0,03	0,03	0,07	0,05	0,05
0,06	0,04	0,02	0,04	0,04	0,02	0,02	0,03	0,04	0,03
0,04	0,02	0,00	0,03	0,02	0,01	0,01	0,02	0,02	0,03
0,03	0,02	0,00	0,02	0,01	0,00	0,00	0,00	0,01	0,02
0,01	0,01		0,02	0,00	0,00	0,00		0,00	0,01
0,00	0,00		0,01						0,00
	0,00		0,00						

stdev p değeri

OYS 21 21,5 20,5 0,5 0,000547077

14,5 13,5 15,5 1

stdev p değeri

MYS 35 35 33 1,154700538 0,234100627

31 30 35 2,645751311

EK-9 : *Salvia tomentosa* Deney Sonuçları

1000 ug/ml	500 ug/ml	250 ug/ml	125 ug/ml	62,5 ug/ml	31,25 ug/ml	15,5 ug/ml	7,5 ug/ml	3,75 ug/ml	Kontrol
1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
0,95	0,98	0,96	0,98	0,95	0,98	1,00	0,98	1,00	1,00
0,89	0,94	0,91	0,93	0,90	0,96	1,00	0,98	1,00	1,00
0,87	0,90	0,85	0,89	0,84	0,93	1,00	0,98	1,00	1,00
0,84	0,87	0,81	0,85	0,80	0,92	1,00	0,96	1,00	1,00
0,80	0,83	0,77	0,75	0,73	0,89	0,96	0,96	0,96	0,96
0,78	0,80	0,75	0,70	0,67	0,85	0,92	0,95	0,91	0,91
0,74	0,76	0,72	0,67	0,64	0,83	0,88	0,94	0,87	0,88
0,71	0,72	0,71	0,64	0,61	0,81	0,84	0,89	0,82	0,83
0,68	0,67	0,69	0,60	0,59	0,78	0,81	0,86	0,81	0,81
0,65	0,63	0,68	0,57	0,55	0,74	0,78	0,84	0,79	0,79
0,63	0,58	0,66	0,53	0,53	0,72	0,77	0,81	0,77	0,77
0,59	0,54	0,62	0,49	0,50	0,70	0,74	0,77	0,75	0,76
0,56	0,50	0,59	0,44	0,45	0,68	0,73	0,73	0,74	0,74
0,54	0,46	0,57	0,39	0,41	0,62	0,68	0,66	0,68	0,70
0,51	0,42	0,53	0,35	0,38	0,56	0,63	0,54	0,62	0,64
0,45	0,38	0,50	0,31	0,35	0,50	0,58	0,43	0,55	0,59
0,39	0,33	0,46	0,28	0,32	0,44	0,50	0,30	0,47	0,50
0,34	0,30	0,42	0,25	0,28	0,36	0,43	0,28	0,41	0,43
0,29	0,26	0,37	0,20	0,23	0,30	0,35	0,25	0,33	0,37

0,23	0,24	0,32	0,16	0,20	0,26	0,28	0,22	0,26	0,31
0,18	0,20	0,28	0,13	0,15	0,19	0,21	0,17	0,19	0,24
0,13	0,16	0,24	0,10	0,11	0,12	0,14	0,13	0,11	0,19
0,09	0,13	0,19	0,06	0,08	0,05	0,09	0,13	0,05	0,14
0,06	0,10	0,13	0,03	0,06	0,03	0,05	0,09	0,03	0,09
0,04	0,06	0,07	0,00	0,04	0,01	0,03	0,05	0,01	0,04
0,01	0,04	0,03		0,01	0,00	0,01	0,03	0,00	0,00
0,00	0,00	0,00		0,00		0,00	0,00		0,00

stdev p değeri

OYS 22 23,5 23,5 0,866025404 0,877390122

23,5 21,5 24,5 1,527525232

stdev p değeri

MYS 29 30 33 2,081665999 0,373900966

33 31 32 1

EK-10 :*Paliurus spina* Deney Sonuçları

1000 ug/ml	500 ug/ml	250 ug/ml	125 ug/ml	62,5 ug/ml	31,25 ug/ml	15,5 ug/ml	7,5 ug/ml	3,75 ug/ml	Kontrol
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1	1	1	1	1	1,00	1	1	1,00	1
1	1	1	1	1,00	1,00	1,00	1	1,00	1
1	1	1	1	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1
1	1	1	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1
1	1	1	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1
1	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
0,98	0,97	0,97	0,96	0,97	0,98	0,96	0,96	0,96	0,96
0,96	0,94	0,95	0,94	0,95	0,95	0,92	0,91	0,91	0,91
0,94	0,91	0,93	0,90	0,92	0,93	0,88	0,86	0,87	0,88
0,93	0,88	0,91	0,88	0,90	0,91	0,84	0,81	0,82	0,83
0,91	0,87	0,90	0,84	0,88	0,88	0,81	0,78	0,81	0,81
0,90	0,86	0,88	0,80	0,86	0,85	0,78	0,75	0,79	0,79
0,88	0,84	0,85	0,78	0,85	0,83	0,77	0,73	0,77	0,77
0,85	0,82	0,82	0,76	0,84	0,81	0,74	0,72	0,75	0,76
0,84	0,80	0,80	0,74	0,82	0,80	0,73	0,70	0,74	0,74
0,82	0,76	0,71	0,67	0,75	0,73	0,68	0,66	0,68	0,70
0,79	0,73	0,62	0,60	0,67	0,65	0,63	0,62	0,62	0,64
0,75	0,69	0,52	0,53	0,59	0,57	0,58	0,57	0,55	0,59
0,65	0,61	0,39	0,41	0,45	0,47	0,50	0,50	0,47	0,50
0,54	0,53	0,25	0,30	0,31	0,36	0,41	0,43	0,40	0,40
0,40	0,40	0,18	0,22	0,23	0,29	0,32	0,33	0,32	0,34

0,24	0,26	0,09	0,15	0,14	0,21	0,24	0,25	0,24	0,27
0,20	0,21	0,08	0,12	0,12	0,17	0,15	0,16	0,17	0,22
0,16	0,16	0,05	0,07	0,08	0,15	0,13	0,14	0,13	0,18
0,10	0,10	0,04	0,05	0,05	0,12	0,10	0,11	0,11	0,14
0,07	0,07	0,04	0,04	0,03	0,10	0,08	0,10	0,08	0,11
0,05	0,03	0,03	0,03	0,03	0,07	0,06	0,07	0,07	0,08
0,04	0,03	0,02	0,03	0,02	0,06	0,04	0,06	0,05	0,05
0,02	0,02	0,02	0,03	0,01	0,04	0,03	0,05	0,04	0,03
0,01	0,01	0,01	0,03	0,01	0,03	0,00	0,02	0,03	0,01
0,01	0,01	0,01	0,02	0,00	0,02	0,00	0,02	0,01	0,003
0,00	0,00	0,01	0,02	0,00	0,00		0,02	0,01	0,003
		0,00	0,01				0,01	0,00	0,003
			0,00				0,00		0

stdev p değeri

OYS 24,5 23,5 24,5 0,577350269 0,234100627

23,5 21,5 24 1,322875656

stdev p değeri

MYS 36 33 36 1,732050808 0,677868829

38 32 32 3,464101615

EK-11 :*Plantago major*(Çiçek) Deney Sonuçları

1000 ug/ml	500 ug/ml	250 ug/ml	125 ug/ml	62,5 ug/ml	31,25 ug/ml	15,5 ug/ml	7,5 ug/ml	3,75 ug/ml	Kontrol
1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
0,96	0,98	0,98	0,97	0,98	0,97	0,98	0,98	0,98	0,97
0,93	0,96	0,95	0,95	0,97	0,94	0,96	0,96	0,96	0,94
0,89	0,94	0,93	0,93	0,95	0,90	0,93	0,94	0,94	0,91
0,84	0,92	0,90	0,91	0,94	0,87	0,91	0,93	0,91	0,88
0,80	0,90	0,87	0,88	0,92	0,84	0,89	0,91	0,89	0,85
0,74	0,86	0,84	0,85	0,88	0,81	0,84	0,87	0,86	0,81
0,66	0,82	0,80	0,81	0,86	0,79	0,79	0,83	0,83	0,76
0,65	0,77	0,75	0,75	0,82	0,73	0,74	0,79	0,77	0,65
0,62	0,71	0,71	0,68	0,79	0,67	0,69	0,74	0,71	0,60
0,57	0,66	0,66	0,62	0,74	0,61	0,63	0,69	0,66	0,57
0,53	0,60	0,61	0,55	0,69	0,54	0,58	0,65	0,61	0,54
0,46	0,54	0,55	0,50	0,60	0,46	0,52	0,56	0,55	0,52
0,40	0,47	0,48	0,42	0,51	0,36	0,47	0,49	0,48	0,48
0,32	0,39	0,40	0,33	0,42	0,26	0,41	0,40	0,40	0,43
0,28	0,32	0,33	0,27	0,33	0,18	0,34	0,31	0,35	0,40
0,23	0,25	0,24	0,18	0,25	0,12	0,28	0,26	0,29	0,33
0,18	0,20	0,17	0,10	0,16	0,08	0,22	0,22	0,25	0,28

0,12	0,15	0,10	0,07	0,12	0,06	0,17	0,18	0,19	0,24
0,10	0,10	0,06	0,04	0,06	0,04	0,11	0,15	0,13	0,21
0,07	0,04	0,04	0,00	0,03	0,02	0,06	0,11	0,09	0,14
0,03	0,00	0,01	0,00	0,01	0,01	0,02	0,07	0,05	0,08
0,02		0,00		0,00	0,00	0,00	0,02	0,02	0,04
0,00							0,00	0,01	0,01
								0,00	0,01
									0,00

stdev p değeri

OYS 20,5 20,5 21,5 0,58 0,491767001

20,5 20 21 0,50

stdev p değeri

MYS 30 29 28 1 0,021311641

31 33 32 1

EK-12 :*Plantago major*(Yaprak) Deney Sonuçları

1000 ug/ml	500 ug/ml	250 ug/ml	125 ug/ml	62,5 ug/ml	31,25 ug/ml	15,5 ug/ml	7,5 ug/ml	3,75 ug/ml	Kontrol
1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
0,97	0,96	0,94	0,95	0,96	0,94	0,95	0,93	0,95	0,96
0,95	0,90	0,89	0,89	0,93	0,87	0,90	0,85	0,89	0,90
0,90	0,85	0,83	0,83	0,89	0,82	0,84	0,78	0,84	0,87
0,84	0,80	0,76	0,79	0,85	0,76	0,79	0,71	0,79	0,82
0,79	0,75	0,71	0,74	0,82	0,69	0,74	0,64	0,73	0,77
0,71	0,68	0,65	0,67	0,79	0,64	0,69	0,56	0,68	0,72
0,58	0,62	0,60	0,59	0,75	0,56	0,63	0,44	0,64	0,66
0,54	0,59	0,56	0,55	0,73	0,52	0,60	0,39	0,62	0,64
0,49	0,55	0,53	0,47	0,69	0,47	0,54	0,31	0,58	0,61
0,49	0,55	0,53	0,47	0,69	0,47	0,54	0,31	0,58	0,59
0,43	0,52	0,48	0,42	0,64	0,41	0,49	0,27	0,55	0,55
0,39	0,47	0,42	0,37	0,60	0,31	0,44	0,22	0,52	0,51
0,33	0,44	0,39	0,33	0,55	0,27	0,39	0,19	0,45	0,47
0,26	0,41	0,35	0,30	0,50	0,23	0,34	0,16	0,42	0,44
0,20	0,37	0,32	0,26	0,47	0,20	0,29	0,12	0,38	0,40
0,16	0,32	0,28	0,22	0,40	0,14	0,21	0,14	0,33	0,36
0,14	0,27	0,23	0,18	0,33	0,09	0,16	0,11	0,29	0,33
0,10	0,23	0,19	0,14	0,28	0,07	0,11	0,19	0,24	0,28
0,08	0,18	0,13	0,10	0,21	0,05	0,08	0,15	0,19	0,23

0,04	0,14	0,09	0,10	0,15	0,02	0,05	0,10	0,13	0,16
0,03	0,11	0,02	0,08	0,09	0,02	0,02	0,08	0,07	0,10
0,00	0,09	0,00	0,06	0,04	0,01	0,00	0,03	0,03	0,04
	0,02		0,00	0,00	0,00		0,03	0,03	0,02
	0,01				0,00		0,02	0,01	0,00
	0,00				0,00		0,00	0,00	

stdev p değeri

OYS	21	19	20,5	1,04	0,523
	18	18	18,5	0,60	

stdev p değeri

MYS	29	28	29	0,577350269	0,643329963
	30	29	28	1	

EK-13 :Resveratrol Deney Sonuçları

Resveratrol(100 uM)				Kontrol			
ort				ort			
1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	0,99	1,00	1,00
1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	0,99	1,00	1,00
1,00	1,00	0,99	1,00	0,99	0,99	0,97	0,98
0,98	1,00	0,97	0,98	0,95	0,98	0,93	0,95
0,95	0,98	0,95	0,96	0,91	0,96	0,89	0,92
0,93	0,92	0,90	0,92	0,87	0,94	0,85	0,89
0,91	0,90	0,86	0,89	0,83	0,89	0,81	0,84
0,85	0,87	0,79	0,84	0,77	0,85	0,75	0,79
0,80	0,84	0,74	0,79	0,71	0,79	0,71	0,74
0,76	0,82	0,69	0,75	0,67	0,75	0,66	0,69
0,74	0,77	0,60	0,70	0,64	0,70	0,48	0,61
0,71	0,72	0,51	0,65	0,60	0,64	0,37	0,54
0,69	0,67	0,46	0,61	0,56	0,58	0,29	0,47
0,64	0,58	0,41	0,54	0,52	0,50	0,22	0,41
0,59	0,54	0,36	0,50	0,49	0,45	0,17	0,37
0,56	0,48	0,28	0,44	0,46	0,37	0,10	0,31
0,51	0,39	0,25	0,39	0,42	0,28	0,09	0,26
0,44	0,32	0,20	0,32	0,35	0,17	0,07	0,19
0,36	0,22	0,15	0,24	0,27	0,10	0,04	0,14
0,31	0,15	0,08	0,18	0,24	0,04	0,02	0,10
0,27	0,10	0,06	0,14	0,23	0,03	0,01	0,09

0,23	0,05	0,04	0,11	0,19	0,01	0,00	0,07
0,19	0,03	0,04	0,09	0,13	0,00	0,00	0,04
0,16	0,03	0,04	0,08	0,09	0,00	0,00	0,03
0,13	0,02	0,03	0,06	0,04	0,00	0,00	0,01
0,11	0,00	0,02	0,04	0,02	0,00	0,00	0,01
0,08	0,00	0,02	0,03	0,00	0,00	0,00	0,00
0,00	0,00	0,00	0,00				

stdev p değeri

OYS 22 20,5 17,5 2,291287847 0,345523871

19,5 19 16 1,892969449

stdev p değeri

MYS 33 31 33 1,154700538 0,326164235

32 28 32 2,309401077

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Nuri ERGEN
Doğum Yeri: DİYARBAKIR
Doğum Tarihi: 13/05/1987
Medeni Hali: Bekar
Yabancı Dili: İngilizce

Eğitim Durumu

Lise: Ankara Özel Arı Fen Lisesi (2001-2004)
Lisans: İstanbul Üniversitesi/ Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü
(2004-2008)