

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ**



**Çörek Otu (*Nigella sativa* L.) Yağının *Caenorhabditis elegans* Üzerindeki
Biyolojik Etkilerinin Araştırılması**

**Fulya Cihan KÜRK YALDIZ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS**

ARALIK 2018

ANTALYA

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ**



**Çörek Otu (*Nigella sativa* L.) Yağının *Caenorhabditis elegans* Üzerindeki
Biyolojik Etkilerinin Araştırılması**

Fulya Cihan KÜRK YALDIZ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS

ARALIK 2018

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**Çörek Otu (*Nigella sativa* L.) Yağının *Caenorhabditis elegans* Üzerindeki
Biyolojik Etkilerinin Araştırılması**

Fulya Cihan KÜRK YALDIZ

BİYOLOJİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS

**Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon
Birimi tarafından FYL-2018-3827 nolu proje ile desteklenmiştir.**

ARALIK 2018

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Çörek Otu (*Nigella sativa* L.) Yağının *Caenorhabditis elegans* Üzerindeki
Biyolojik Etkilerinin Araştırılması

Fulya Cihan KÜRK YALDIZ

BİYOLOJİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS

Bu tez 21/12/2018 tarihinde jüri tarafından Oy birliği / Oy çokluğu ile kabul edilmiştir.

Dr. Öğr. Üyesi Gülgün GÜNDÜZ



Prof.Dr. Kayahan FIŞKIN



Dr. Öğr. Üyesi Asuman PEKGÖZ



ÖZET

Çörek Otu (*Nigella sativa* L.) Yağının *Caenorhabditis elegans* Üzerindeki Biyolojik Etkilerinin Araştırılması

Fulya Cihan KÜRK YALDIZ

Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Öğr. Üyesi Dr. Gülgün GÜNDÜZ

Kasım 2018, 52 sayfa

Çörek otu birçok ülkede olduğu gibi, ülkemizde de halk tıbbında çokça kullanılan, *Ranunculaceae* familyasına ait, tek yıllık otsu bir bitkidir. Yapılan birçok çalışmada çörek otundan elde edilen ürünlerin ve çörek otu bileşenlerinin çok sayıda faydalı sağlık etkileri olduğu bildirilmiştir. Bunların arasında az sayıda da olsa, çörek otundan elde edilen ürünlerin ve/veya bileşenlerinin antihelmintik/antiparazitik etkisi olduğuna dair çalışmalar da bulunmaktadır. *Caenorhabditis elegans* serbest olarak yaşayan, yani parazit olmayan *Rhabditidae* familyasına üye bir nematodur. *C. elegans* biyolojik çalışmalarda en sık kullanılan model organizmalardan biridir. Bu çalışmada çok sayıda pozitif sağlık etkisi bulunan çörek otu yağının yaşam uzunluğu, yumurtlama potansiyeli, canlı döl verme potansiyeli, sıcaklık stresi direnci ve oksidatif stres direncine etkisine bakılması, bunlara ilave olarak da antihelmintik (solucan düşürücü) /antiparazitik (asalak giderici) etkisini, konak olmaksızın doğrudan nematodlar üzerinde çalışarak test etmek amaçlandı. Bu kapsamda kontrol grubu, antihelmintik kontrol grubu ve 0,5 mg/ml ve 1 mg/ml, 2 mg/ml, 4 mg/ml, 8 mg/ml çörek otu yağı içeren dozlar olmak üzere 7 farklı deney grubu oluşturuldu. Her deney grubu her çalışma için beş set çalışıldı. Ömür uzunluğu belirleme deneyi kapsamında, *C. elegans* için normal yaşam ortamı sıcaklık değeri olan 20°C’de karşılaştırma yapıldı. Sıcaklık stresi deneyi kapsamında *C. elegans* için öldürücü olmayan 37°C sıcaklık altında karşılaştırma yapıldı. Oksidatif stres deneyi kapsamında parakuat kullanılarak oksidatif stres oluşturulan ortamda karşılaştırma yapıldı. Yumurtlama potansiyeli deneyi için yumurta bırakmaları beklenen ilk günden itibaren, hergün kültür ortamları değiştirilerek aynı saatte yumurta sayımı yapıldı. Canlı döl verme potansiyeli deneyi kapsamında ise hergün aynı saatte yumurtadan çıkan canlı birey sayısı not edildi.

Araştırma sonucunda, çörek otu yağının normal sıcaklıkta ömür uzunluğu belirleme deneyinde tüm deney gruplarının yaşamlarını istatistiksel olarak anlamlı derecede kısalttığı, sıcaklık stresi altında 1 mg/ml’lik konsantrasyon grubu hariç, diğer deney gruplarının ömrünü istatistiksel olarak anlamlı ölçüde kısalttığı, oksidatif strese direnç çalışmasında 0,5 mg/ml ve 1 mg/ml konsantrasyonları hariç diğer deney gruplarının ömür uzunluğunu anlamlı derecede kısalttığı bulundu. Yumurtlama potansiyeline etki deneyinde sonuçlar kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamsız bulunurken, canlı döl verme potansiyeline bakıldığında ise kontrol ve antihelmintik kontrol grubu hariç hiçbir deney grubundaki yumurtalardan canlı birey çıkmadığı gözlemlendi. Canlı döl verme potansiyeli çalışmasında kontrol ve antihelmintik kontrol gruplarının sonuçları ise kendi aralarında istatistiksel olarak anlamsız bulundu.

ANAHTAR KELİMELEER: Antihelmintik, antiparazitik, *Caenorhabditis elegans*, çörek otu yağı

JÜRİ: Dr. Öğr. Üyesi Gülgün GÜNDÜZ



Prof.Dr. Kayahan FİŞKİN



Dr. Öğr. Üyesi Asuman PEKGÖZ



ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE BIOLOGICAL EFFECTS OF BLACK CUMIN (*Nigella sativa* L.) OIL ON *Caenorhabditis elegans*

Fulya Cihan KÜRK YALDIZ

MSc Thesis in Biology

Supervisor: Asst. Prof. Dr. Gülgün GÜNDÜZ

November 2018, 52 pages

As in many countries, black cumin is a herbaceous plant that belongs to the family *Ranunculaceae*, which is widely used in folk medicine in our country. In many studies, it has been reported that the products obtained from black seed and black seed components have many beneficial health effects. Among these, there are a few studies that show that the products and/or components of black cumin have an antihelmintic/antiparasitic effect. *Caenorhabditis elegans* is a free living nematode member of the *Rhabditidae* family. *C. elegans* is one of the most commonly used organism in biological studies. In this study, numerous positive health effects of black seed oil on life expectancy, heat stress resistance, oxidative stress resistance, ovulation potential and live offspring potential, in addition to antihelmintic/antiparasitic effect, have been aimed to test directly by working on nematodes. In this context, 7 different experimental groups were performed including control group, antihelmintic control group and doses containing 0,5 mg/ml and 1 mg/ml, 2 mg/ml, 4 mg/ml, 8 mg/ml black seed oil. For each experimental procedures five sets were studied. In the normal life span determination of *C. elegans*, a normal ambient temperature of 20°C was used. The heat stress test was carried out at a non-lethal temperature of 37°. Oxidative stress test was performed in paraquat containing mediums. From the first day of egg laying, for egg laying potential test, egg counts were made at the same day time by changing culture media every day. In the live offspring potential experiment, the number of live individuals who hatched was counted and noted at the same day time every day.

At the end of the research, it was determined that the black seed oil was significantly shortened the lifespan of *C. elegans* in all experimental groups. Moreover, we found that temperature stress resistance study significantly reduced the life span in other experimental groups except the 1 mg/ml concentration group of black seed oil. In addition, it was found that oxidative stress resistance study significantly shortened the lifespan of the other experimental groups except 0,5 mg/ml and 1 mg/ml. The results of the effect on egg laying potential test were found statistically insignificant compared to the control group. When the live offspring potential was examined, it was observed that there were no living individuals in any experimental group except control and antihelmintic control groups. When the control and antihelmintic control groups were compared in the live offspring potential study, the results were not statistically significant.

KEY WORDS: Antihelmintic, antiparasitic, black cumin oil, *Caenorhabditis elegans*

COMMITTEE: Asst. Prof. Dr. Gülgün GÜNDÜZ

Prof. Dr. Kayahan FIŞKIN

Asst. Prof. Dr. Asuman PEKGÖZ



ÖNSÖZ

Ranunculace familyasının, *Nigella* cinsine ait üç farklı türden biri olan, halk arasında siyah kimyon, bereket tanesi adıyla da bilinen çörek otu, alternatif tıp alanında kullanılan bitki türleri ve bitkisel kaynaklı ürünler arasında, zengin tarihsel geçmişe sahip olmakla birlikte, uzun yıllardan bu yana yiyecek koruyucu ve lezzet arttırıcı olarak kullanılmaktadır. Çok sayıda pozitif sağlık etkisi bilinen çörek otunun antihelmintik/antiparazitik etkisi olduğuna dair de sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır.

Bu çalışmada çörek otu yağının, bir model organizma olan *Caenorhabditis elegans* üzerindeki ömür uzunluğuna olan etkisi, stres direncine etkisi, yumurtlama potansiyeli üzerindeki etkisi ve canlı döl verme potansiyeli üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Bu çalışmayla, antihelmintik/antiparazitik bir çalışmanın, bir konak olmaksızın, serbest yaşayan bir nematodda çalışılarak literatüre katkı sağlanması amaçlanmıştır.

Bana bu konuda çalışma imkânı sağlayan, tez konumun belirlenmesinde ve çalışmalarımın yürütülmesi sırasında her konuda içten ilgi, yardım ve desteğini gördüğüm ve bu tezin her aşamasında bilgi ve deneyimleriyle beni yönlendiren Akademik Danışman Hocam Sayın Dr. Öğretim Üyesi Gülgün GÜNDÜZ'e, çalışmamın istatistiksel analizleri sırasında yardımlarını esirgemeyen Sayın Öğr. Gör. Dr. Ebru KAYA BAŞAR'a, çalışmam sırasında emeği geçen Biyoloji Anabilim Dalı'ndaki arkadaşlarım doktora öğrencisi Burçin YALÇIN ve doktora öğrencisi Merve GÜNEŞ'e, bu çalışmayı maddi olarak destekleyen Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne (Proje No: FYL-2018-3827) teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam süresince ve tüm hayatım boyunca maddi manevi desteklerini her zaman hissettiğim, beni bugünlere getiren annem Sema KÜRK ve babam Ahmet KÜRK'e, kızımın babaannesi ve dedesi olmalarının yanında, çalışmalarım gereği yokluğumda annesi ve babası da olan annem Melek YALDIZ'a ve babam Cafer YALDIZ'a teşekkürlerimi sunarım. Tez çalışmamın başından beri en zor anlarımda her zaman yanımda bulunan ve bulunacak olan, varlığıyla bana yaşama sevinci sağlayan sevgili eşim Raşit Cihan YALDIZ'a, tez çalışmam gereğince kimi zaman bensiz uyumak zorunda kalan canım kızım Eylül Melek YALDIZ'a teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	iii
ÖNSÖZ.....	v
AKADEMİK BEYAN	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK TARAMALARI	4
2.1. Lipidler	4
2.1.1. Yağlar.....	4
2.1.1.1. Doymuş ve doymamış yağ asitleri	5
2.1.1.2. Esansiyel yağ asitler	6
2.2. Çörek Otu (<i>Nigella sativa</i> L.) Bitkisi	6
2.2.1. Çörek otunun kimyasal özellikleri	8
2.2.2. Çörek otunun etki mekanizması.....	9
2.2.2.1. Çörek otunun antioksidan etkisi	9
2.2.2.2. Çörek otunun antidiyabetik etkisi.....	10
2.2.2.3. Çörek otunun anti-inflamatuar etkisi.....	11
2.2.2.4. Çörek otunun antikanserojenik ve antitümöral etkisi.....	12
2.2.2.5. Çörek otunun antibakteriyel ve antifungal etkisi.....	12
2.2.2.6. Çörek otunun antihelmintik ve antiparazitik etkisi	15
2.3. Yaşlanma.....	16
2.4. <i>Caenorhabditis elegans</i>	17
3. MATERYAL VE METOT.....	21
3.1. Kullanılan Besiyerleri ve Kimyasal Malzemeler	21
3.1.1. Reaktifler.....	21
3.1.2. Petri kapları	21
3.2. <i>Caenorhabditis elegans</i> Kültürünün Sürdürülmesi.....	21
3.3. <i>C. elegans</i> 'ın Alımı	21
3.4. NGM (Nematod Büyüme Ortamı) Hazırlanması.....	21
3.5. Yumurta Toplama İşlemi.....	24
3.6. Çörek Otu Yağı Alımı	25

3.7. Çörek Otu Yağı İçerik Analizi	25
3.8. Normal Sıcaklıktaki Yaşam Uzunluğu Deneyi	25
3.9. Sıcaklık Stresine Tolerans Deneyi	25
3.10. Oksidatif Strese Tolerans Deneyi	25
3.11. Yumurtlama Potansiyeli Deneyi	25
3.12. Canlı Döl Verme Potansiyeli Deneyi	26
3.13. İstatistiksel Analizler	26
4. BULGULAR.....	27
4.1. Önçalışma Bulguları	27
4.2. Normal Sıcaklıkta Ömür Uzunluğu Deneyi	27
4.3. Sıcaklık Stresine Tolerans (Termotolerans) Deneyi Sonuçları.....	28
4.4. Oksidatif Strese Tolerans Deneyi	28
4.5. Yumurtlama Potansiyeline Etki Deneyi.....	29
4.6. Canlı Döl Verme Potansiyeline Etki Deneyi.....	30
4.7. Çörek Otu Yağı Analiz Sonuçları	31
5. TARTIŞMA	32
6. SONUÇLAR.....	37
7. KAYNAKLAR	39
8. EKLER.....	48
ÖZGEÇMİŞ	

AKADEMİK BEYAN

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Çörek Otu (*Nigella sativa* L.) Yağının *Caenorhabditis elegans* Üzerindeki Biyolojik Etkilerinin Araştırılması” adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

21.12/...../2018

Fulya Cihan KÜRK YALDIZ



SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

ml	:Mililitre
mg	:Miligram
M	:Molar
μ M	:Mikromolar
μ m	:Mikrometre
μ g	:Mikrogram
$^{\circ}$ C	:Santigrat Derece
%	:Yüzde

Ondalık ayraç olarak virgül (,) kullanılmıştır.

Kısaltmalar

Age	:Ageing Alteration
BAL	:Bronkoalveolar Lavaj
Daf	:Abnormal Dauer Formation
dH ₂ O	:Distile Su
DMSO	:Dimetil Sülfoksit
DNA	:Deoksinükleik asit
DTQ	:Ditimokinon
FAO	:Gıda ve Tarım Teşkilatı
FOXO	:Forkhead Box
FUDR	:5-Fluorodeoksiüridin
GSH	:Glutasyon
GS-MS	:Gaz Kromatografisi ve Kütle Spektrometresi
HPLC	:Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
HSP	:Isı Şoku Proteini
Igf	:İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü
İ. Ö	:İsa'dan Önce
L1	:Larval Dönem 1
L2	:Larval Dönem 2
L3	:Larval Dönem 3
L4	:Larval Dönem 4
LT	:Lökotren
NGM	:Nematod Büyüme Ortamı
NS	: <i>Nigella sativa</i>
OVA	:Oval Albümin
SOD	:Süperoksit Dismutaz
STZ	:Streptozotosin
THQ	:Timohidrokinon
THY	:Timol
TQ	:Timokinon
WHO	:Dünya Sağlık Örgütü

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. <i>Nigella sativa</i> L. bitkisi	2
Şekil 2.1. Dehidrasyon sentezi.....	5
Şekil 2.2. Yağ molekülü	5
Şekil 2.3. <i>Nigella sativa</i> tohumları	6
Şekil 2.4. Çörek otu bitkisinin Türkiye’deki dağılımı	7
Şekil 2.5. Çörek otu tohumu yağının dört ana aktif bileşeni	9
Şekil 2.6. Yetişkin hermafroditin sol yanal kısmındaki anotomik yapının şematik gösterimi.....	17
Şekil 2.7. <i>C. elegans</i> ’ın 20°C’deki yaşam döngüsü.....	18
Şekil 3.1. NGM dökülmüş petri kabı.....	22
Şekil 3.2. NGM üzerine <i>E. coli</i> ekimi yapılmış petri kabı.....	23
Şekil 3.3. Sağlıklı <i>C. elegans</i> görüntüsü	24
Şekil 4.1. Normal sıcaklıkaki ömür uzunluğu deneyinde <i>C. elegans</i> canlılık yüzdesi grafiği	27
Şekil 4.2. Sıcaklık stresi deneyinde <i>C. elegans</i> canlılık yüzdesi grafiği.....	28
Şekil 4.3. Oksidatif strese tolerans deneyinde <i>C. elegans</i> canlılık yüzdesi grafiği	29
Şekil 4.4. Yumurtlama potansiyeline etki deneyinde <i>C. elegans</i> yumurtlama potansiyeli ortalaması grafiği	30
Şekil 4.5. Canlı döl verme potansiyeline etki deneyinde <i>C. elegans</i> canlı döl verme potansiyeli ortalaması grafiği	31

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. NGM hazırlanırken kullanılan kimyasal malzemeler	21
Çizelge 3.2. NGM içerisine eklenen kimyasal malzemeler	22



1. GİRİŞ

Hastalıkların iyileştirilmesinde ve önlenmesinde bitkilerin ve bitkisel kaynaklı ürünlerin kullanımı, insanoğlunun yerleşik hayata geçmesini takiben gerçekleşen eski bir olgudur. Gelişmekte olan ülkelerde, kırsal toplumlara ait kültür ve geleneklerin önemli bir bölümünü bitkisel kaynaklı ilaçlar oluşturduğu bilinmektedir (Njume vd 2009). Günümüzde de aynı şekilde, dünya nüfusunun büyük bir kısmı, ilaç hammaddesi olarak bitkisel kaynakları kullanmaktadır. Gelişmekte olan ülkelerde hayatını devam ettiren insanların %80'inin temel sağlık ihtiyaçlarını karşılamak için, sıklıkla bitkisel kaynaklı geleneksel tedavilere güvendiklerini Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ilgili raporlarında açıklamıştır (Sekar ve Kandavel 2010). Gelişmiş ülkelerde ise reçete ile satılan ilaçların ortalama %25'lik kısmı, bitkisel kaynaklı kimyasallardan meydana gelmektedir (Principe 1991).

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) aracılığıyla, baharat olarak ve tıbbi amaçlı kullanılan yaklaşık 20.000 bitki türü olduğu bildirilmiştir (Maregesi vd. 2008). Türk farmakopisine kayıtlı 140 bitki türü olduğu bilinmektedir. Fakat halk arasında tıbbi tedavi amaçlı kullanılan bitki türü sayısı, kayıt altındaki bitki türü sayısından çok daha fazladır (Yiğit ve Benli 2005; Çenet vd. 2006).

Son yıllarda, insan sağlığı ve veteriner hekimlik (hem hastalıkların tedavisi hem de koruyucu olarak), gıda ve çevre alanlarında, tıbbi ve aromatik bitki türleri ile bu bitki türlerinden elde edilen aktif maddeler üzerindeki çalışmalar, bitki türlerinin ve ürünlerinin kullanımını teşvik etmektedir (Dattner 2003). Bu artan ilginin nedenlerine baktığımızda, yeterli seviyede maddi olanağı olmayan ve kimya endüstrisi olmayan, kalkınma amacı taşıyan ülkelerin, kendi ülke sınırlarındaki bitki türlerinden faydalanarak, ekonomik ve kolay uygulanabilir bir tedavi yöntemi geliştirebilmeyi amaçlamaları ilk sırada gelebilir. Bir diğer sebep, doğal olmayan, sentetik maddelerin bir kısmında görülmesi muhtemel olan, zararlı yan etkilerdir. Tıbbi aromatik bitki türleri uzun yıllardır tedavi maksatlı kullanıldıklarından dolayı yan etkileri iyi bilinmektedir, fakat tedavi amaçlı kullanılmaya yeni başlanan doğal olmayan sentetik ürünler, etkilerinin test edilip anlaşılması için yeterli zaman henüz geçmemiştir. Bazı ilkel ilaç maddelerinin bitkilerin ilaç olarak kullanılan kısımlarından (bitkisel drog) ya da sentetik maddelerden daha ekonomik ve daha az iş yüküyle elde edilebilme olanakları da bitki türlerine ve bitkisel ürünlere olan ilginin artışıyla açıklayıcı sebeplerindendir. Bitkisel drogları diğer tercihlerden daha tercih edilebilir kılan bir diğer sebep, sentetik ürünler genellikle tek bir etki gösterirken, bitkisel drogların birden fazla etkinliği birlikte gösterebilir olmalarıdır. Antibiyotiklerin de aralarında sayılabileceği sentetik ürünlerin bir kısmı ise, olası yan etkilerini önlemek amacıyla diğer bazı ilaçlara ihtiyaç gösterebilirler, ancak bitkisel droglarda olası yan etkileri önlemek amacıyla kullanımına ihtiyaç duyulacak başka bir ilaç gereksinimi söz konusu değildir (Abay 2006).

Bilimsel araştırma sonuçlarının değerlendirilmesi sonucunda hazırlanan Gıda ve Tarım Teşkilatı (FAO) ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ortak uzmanlarının hazırlamış olduğu rapor kapsamında, insan beslenmesinde yağların kullanımıyla ilgili önemli önerilere yer verilmiştir. Beslenme yoluyla alınan kalorilerin, %15-30'unun yağlardan sağlanması gerektiği ve tüketilen yağ miktarının önemli bir bölümünü ise, bitkisel kaynaklı sıvı yağların oluşturması gerektiği bildirilmiştir (Taşan ve Geçgel 2007).

Ülkemizde de tüketiciler, tüm dünyada olduğu gibi, yağ tüketimlerinde bitkisel sıvı yağları tercih eğilimine girmişlerdir (Matthaus ve Brühl 2003). Tüketiciler, besin kaynaklarının faydalı etkileri sayesinde hastalıkları önlemek ve/veya beslenmenin iyileştirilmesi kanalıyla, genel sağlık durumlarının iyileştirilmesi konusu ile daha ilgili hale gelmişlerdir. Son zamanlarda, tüketicilerin market alışverişlerinin üçte ikilik kısmındaki satın alma kararlarını, ya belirli bir özel sağlık durumunu, ya da sağlık riskini azaltma amaçlarının yönlendirdiği bildirilmiştir (Sloan 2000). Bitkisel yağların bilinen temel görevlerinin yanında, içeriklerindeki biyoaktif bileşenlerin insan sağlığına olumlu katkıları konusunda her geçen gün daha fazla bilgi edinilmesi, tüketicilerin soğuk presleme yolu ile üretilen ve rafine edilmeden tüketilen bitkisel kaynaklı yağlara olan ilgisinin giderek artmasını sağlamıştır. Karakteristik tada sahip olmalarıyla birlikte, yoğun renk ve özel aromaya sahip olan soğuk presleme yöntemiyle elde edilen yağlar, her geçen gün tüketicilerin ilgi ve beğenisini kazanmaktadır (Matthaus ve Brühl 2003).

Ranunculaceae familyası dünyada 59 cins ve 1900 kadar tür ile temsil edilen büyük bir familyadır. *Ranunculaceae* familyası bitkileri kuzey ve güney yarıkürenin ılıman, soğuk bölgelerinde daha fazla olmakla birlikte tüm dünyada yayılış göstermektedir (Heywood 1979; Evans 2002). *Nigella* cinsi bu familya bitkileri arasında gıda ve baharat olarak kullanıldığı gibi tıbbi açıdan da dikkat çeken bir cinstir (Tanker ve Tanker 1998; Evans 2002; Tanker 2004). *Nigella* cinsinin en çok kullanılan türlerinden biri *Nigella sativa* L. 'dır (Şekil 1.1).



Şekil 1.1. *Nigella sativa* L. bitkisi (https://en.wikipedia.org/wiki/Nigella_sativa, 2018)

N. sativa geçmişte olduğu gibi günümüzde de çok ilgi çeken bir bitkidir. *N. sativa* ve tohumundan elde edilen preparatlar, ülkemizde olduğu gibi Ortadoğu ve bazı Asya ülkelerinde gaz giderici, idrar söktürücü olarak, soğuk algınlığı, çeşitli romatizma, iltihabi hastalıklar, astım, sarılık, gibi pek çok hastalığın alternatif tedavisinde doğal bir ilaç olarak kullanılmaktadır (Baytop 1984; Randhawa ve Al-Ghamdi 2002). Bölgelerin iklim değişikliklerine bağlı olarak *N. sativa* tohumlarının yapısında, uçucu yağlar (%0,4-0,45), sabit yağlar (%32-40) proteinler (%16-19,9), aminoasitler, alkaloidler, tanenler,

saponinler, lifler (%5,5), karbonhidratlar (%33,9), mineraller (%1,79-3,44), askorbik asit, tiamin, niasin, pridoksin ve folik asit bulunmaktadır.

Sabit yağın yapısında ise doymamış yağ asitlerinden oleik asit, linoleik asit, eikozadienoik, araşidonik asit ve linolenik asit bulunmakla birlikte, doymuş yağ asitlerinden miristik asit, palmitik asit ve stearik asit bulunmaktadır. Uçucu yağın yapısında ise nigellon, karvakrol, p-simen, d-limonen α ve β -pinen ve farmakolojik olarak aktif temel bileşenlerden başlıca timokinon, ditimokinon, timohidrokinon ve timol bulunmaktadır (Baytop 1984; Randhawa ve Al-Ghamdi 2002).

Bugüne kadar yapılan araştırmalar *N. sativa* tohumu ve bileşenlerinin antikanserojenik (Kaseb vd. 2007), antitümöral (Badary 1999), antiülserojenik (Kanter vd. 2005), antibakteriyel (Halawani 2009), antiinflamatuvar ve analjezik (Abdel- Fattah vd. 2000), antioksidan (Badary vd. 2000), hipoglisemik (Badary vd. 1998; Badary 1999) bağışıklık sistemini güçlendirici (Salem 2005) etkilerinin olduğunu göstermektedir. Bunların yanında *N. Sativa* bileşenlerinin antihelmintik, antiparazitik etkisi (Ekanem ve Yusuf 2008) olduğuna dair çalışmalar da bulunmaktadır.

Biyolojik süreçlerin açığa kavuşturulmasında, model organizma kullanımına sıkça başvurulur. Ömür uzunluğu sürecinin aydınlatılmasında da fare, *Drosophila melanogaster*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Caenorhabditis elegans* gibi model organizmalar kullanılmaktadır (Olsen vd. 2006).

Caenorhabditis elegans, yapılan birçok bilimsel çalışmada sıklıkla kullanılan bir model organizmadır. 2002 ve 2006 Nobel Tıp ve Fizyoloji ödülleri, 2008 Nobel Kimya ödülü, bu model organizmanın kullanıldığı çalışmalara verilmiştir. İnsan genlerinin %40'ının homoloğu *C. elegans* 'ta bulunduğu için, memelilere ait birçok keşif bu model organizma kullanılarak yapılmıştır (Corsi 2006).

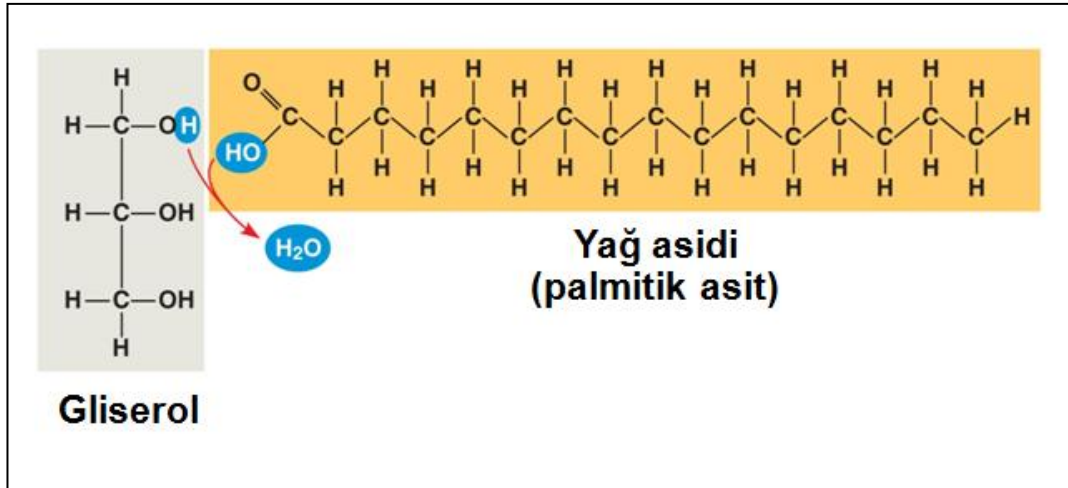
2. KAYNAK TARAMALARI

2.1. Lipidler

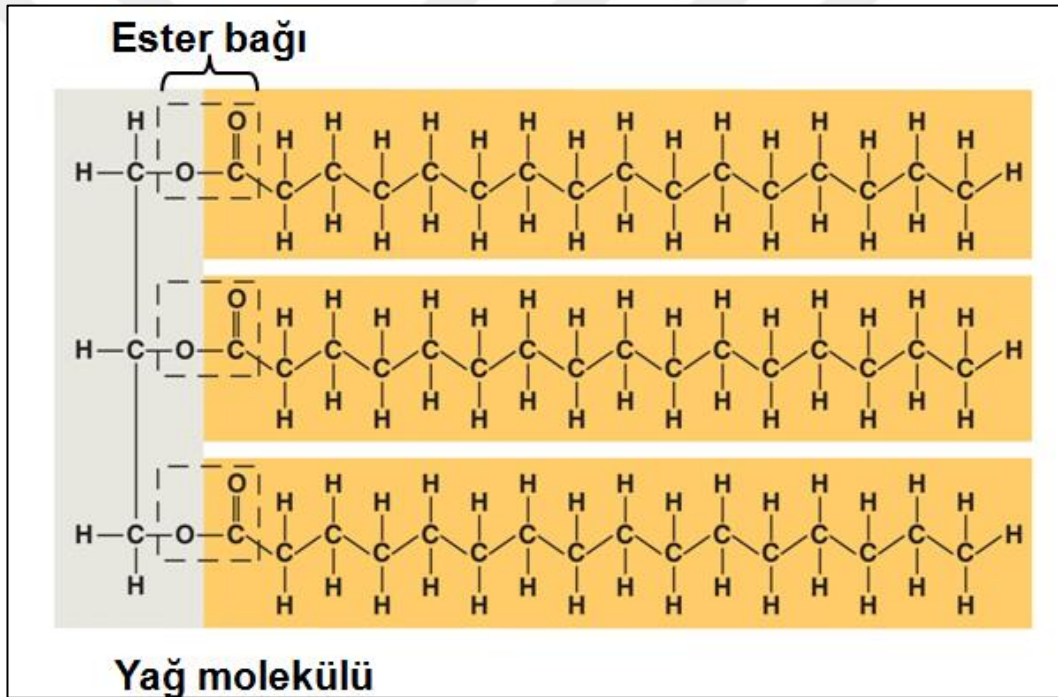
Lipidler, polimer yapısında olmayan büyük biyolojik molekül sınıflarından biridir. Lipid adı verilen moleküller önemli bir ortak özelliği paylaştıkları için bir araya gelerek gruplaşma eğilimindedirler. Bu önemli özellik, suya karşı çok az ya da hiç çekim göstermemeleridir. Lipidlerin bu hidrofobik davranışı, molekül yapısından kaynaklanmaktadır. Oksijenle birlikte bazı polar bağlar yapılarıyla birlikte, lipidler genellikle hidrokarbon yapıdadırlar. Gerçek (polimerik) makromoleküllerden daha küçük yapıda olan lipidler hem biçimsel olarak hem de işlevsel olarak çok değişken bir gruptur. Mumlar ve bazı pigmentler de lipidler grubuna dâhil olmakla birlikte en önemli lipid aileleri yağlar, fosfolipidler ve steroidlerdir (Campbell ve Reece 2008).

2.1.1. Yağlar

Verimli enerji depolama molekülleri olarak görev yapan yağlar, biyolojik membranların hidrofobik çekirdeğini oluşturmak ve çeşitli sinyal yollarına katılmakla görevli olup, dehidrasyon tepkimeleriyle küçük moleküllerin bir araya gelmesiyle oluşan polimer olmayan büyük moleküllerdir (Campbell ve Reece 2008; Deline vd. 2013) (Şekil 2.1). Bir yağ, gliserol ve yağ asitleri adı verilen iki ayrı tip küçük molekülden oluşur. Gliserol, üç karbonlu bir alkoldür ve her karbonunda bir hidroksil grubu içermektedir. Bir yağ asidi genel olarak 16 ya da 18 karbon içeren uzun yapılı bir karbon iskeletinden meydana gelir. Yağ asidinin bir ucunda karboksil grubu bulunmaktadır. Molekülün yağ asidi olarak adlandırılmasının nedeni, içerdiği bu fonksiyonel gruptan kaynaklanmaktadır. Karboksil grubuna bağlı olan uzun yapılı bir hidrokarbon zinciri bulunmaktadır. Yağ asitlerinin hidrokarbon zincirindeki polar olmayan karbon-hidrojen bağları, yağların hidrofobik özellik göstermelerinin sebebidir. Yağ oluşumu sırasında, üç tane yağ asidinin her biri bir ester bağı (hidroksil grubu ve karboksil grubu arasında kurulan bağ) aracılığıyla gliserole bağlanır, bunun sonucunda ortaya çıkan yağ (triacilgliserol), üç yağ asidi ve bir tane gliserol molekülü içermektedir (Şekil 2.2). Genellikle yiyecek paketlerinin üzerindeki içerik listesinde yağlardan, trigliserid adıyla söz edilir (Campbell ve Reece 2008).



Şekil 2.1. Dehidrasyon sentezi (Campbell ve Reece 2008)



Şekil 2.2. Yağ molekülü (Campbell ve Reece 2008)

2.1.1.1. Doymuş ve doymamış yağ asitleri

Yağ asitlerinin uzunluk, çift bağ sayıları ve yerleşimleri farklı olabilmektedir. Beslenme alanında yağlardan bahsedilirken genellikle, yağ asitlerinin yapısındaki hidrokarbon zincirinin yapısını anlatan, doymuş yağ ve doymamış yağ kavramları kullanılmaktadır. Zinciri oluşturan karbon atomları arasında hiç çift bağ bulunmuyorsa, karbon iskeletine mümkün olan en fazla sayıda hidrojen atomu bağlanır ve böyle bir yapının hidrojene doymuş olduğu belirtilerek, doymuş yağ asitleri olarak adlandırılırlar. Hayvansal yağlar genellikle doymuş yağ asitlerinden meydana gelen doymuş yağlardır. Bir ya da birden daha fazla çift bağ içeren yağ asitleri ise doymamış yağ asitleri olarak

adlandırılmaktadırlar, bitkisel yağlar doymamış yağlar grubundadır (Campbell ve Reece 2008).

2.1.1.2. Esansiyel yağ asitler

Yapılarında çift bağ bulunduran ve hayvanlarda gıdalar aracılığıyla dışardan alınması zorunlu olan yağ asidi grubudur. Eksikliğinde, deri epitelinde bozukluklar, gelişme düzeyinde yavaşlama, kısırılık görülebilmektedir. Esansiyel yağ asitlerinin bu derece önemli olmalarının sebebi, fosfolipidlerin yapı taşı olmaları sonucunda, hücre zarının yapısal elemanı olmaları, yağların kanda taşınmasında görev almaları, kanın pıhtılaşma metabolizmasında görev almaları ve sinir dokudaki sifingomyelin yapısına katılmalarıdır. Tüm bunların yanında, vücutta kalp damar hastalıklarının önlenmesi açısından önem taşıyan prostaglandin ve benzeri maddelerin sentezinde görev almalarıdır (Kayahan 2005).

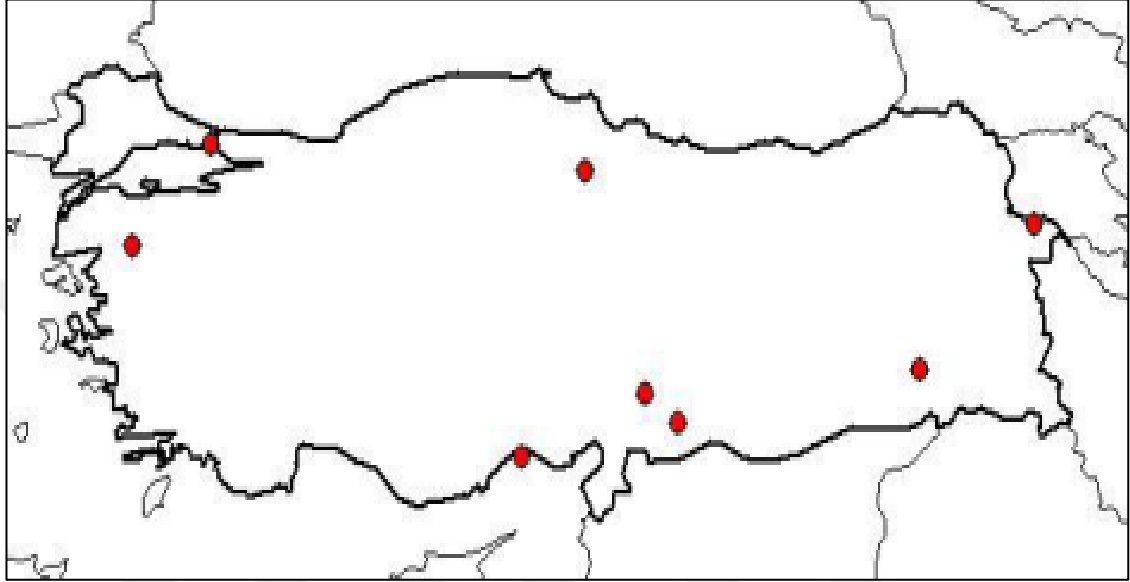
2.2. Çörek Otu (*Nigella sativa* L.) Bitkisi

Çörek otu (*Nigella sativa* L.), *Ranunculacea* (Düğünçiçeğigiller) familyasından olup, günümüzde öncelikle Doğu Akdeniz ülkeleri olmak üzere, çok sayıda ülkede yaygın şekilde tarımı yapılan, tek yıllık, otsu bir bitkidir. Çörek otu bitkisinin boyu 20-50 cm arasında değişmekle birlikte, gövde yapısı dik, tüylü, dallı ve seyrek. Bitkinin yaprakları almasıklı ve 3 parçalıdır. Çiçekleri uzun saplı ve tek tek konumlanmış olup, dalların uç kısımlarında bulunur. Haziran ve temmuz aylarında çiçek verir. Çiçekleri beyaz ya da açık mavi renkli ve sarıya çalan yeşil uçludur. Meyvesi çok sayıda tohum taşıyan bir kapsül halindedir. Tohumları çörek otu bitkisinin kullanılan en önemli kısmıdır, oval şekilli, üç köşeli ve 3 mm civarında uzunluğa sahip tanelerdir (İlisulu 1992) (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. *Nigella sativa* tohumları (https://en.wikipedia.org/wiki/Nigella_sativa 2018)

Dünya üzerinde 20 kadar türü olduğu bilinen çörek otunun tarımı, Güney Avrupa, Suriye, Pakistan, Hindistan, Mısır, Suudi Arabistan, İran, vb. ülkelerde çokça yapılmaktadır. Ülkemizde ise 14 kadar türü olduğu bilinen çörek otunun tarımı Trakya, Kuzey Anadolu ve Akdeniz bölgelerinde ve yoğun olarak Afyon, Isparta, Burdur ve Konya illeri civarında yapılmaktadır (Seçmen vd. 2000; Tonçer ve Kızıl 2004; Kar vd. 2007) (Şekil 2.4). Çörek otu ülkemizde, siyah tohum, siyah kimyon, bereket tanesi isimleriyle de bilinmektedir (Seçmen vd. 2000).



Şekil 2.4. Çörek otu bitkisinin Türkiye’deki dağılımı (Kılıç 2016)

Nigella cinsinin üç farklı türünden biri olan çörek otu, tıp alanında kullanılan bitkiler arasında zengin tarihsel geçmişe sahip olmakla birlikte, uzun yıllar boyunca yiyecek koruyucu ve lezzet artırıcı olarak kullanıldığı bilinmektedir (Ragaa 2010).

Arkeologlar tarafından, Eski Mısır’da İ.Ö 1333-1323 yılları arasında hüküm sürdüğü bilinen, 18. firavun Tutankamon’un krallar vadisindeki mezarında çörek otu tohumları bulunmuştur. Çörek otu tohumlarının Tutankamon’un ölümünden sonraki hayatında ona sağlıklı bir yaşam dilemek niyetiyle konulduğu düşünülmektedir. Ayrıca çörek otu bitkisinin ürünlerinden olan çörek otu yağının da Mısır kraliçesi Kleopatra tarafından sağlık ve güzellik elde etmek amacıyla kullanıldığı not edilmiştir. Modern bitki biliminin kurucusu kabul edilen ve en önemli temsilcilerinden, İ.Ö 40-90 yılları zamanında hayatta olduğu bilinen Penedius Dioskorides (Adana-Kozan’da yaşadığı bilinen ve Anavarzalı olarak tanınan) baş ağrısını azaltmada, diş ağrısını azaltmada, burun tıkanıklarını açmak amacıyla ve bağırsak parazitlerini düşürmek amacıyla çörek otu yağını kullanmıştır. Penedius Dioskorides, çörek otu tohumlarının adet döngüsü düzenleyici ve süt salgısını artırıcı etkisinden ve idrar söktürücü özelliklerinden de bahsetmiştir (Ragaa 2010).

İ.Ö 460-370 zamanlarında yaşadığı bilinen ve modern tıbbın kurucusu olarak görülen Hipokrat’ta çörek otunu, karaciğeri güçlendirmek, sindirim sistemi şikâyetlerini azaltmak amacıyla kullanmıştır. Çörek otu tohumlarının Hipokrat tarafından, yılan, akrep sokmaları sonucu meydana gelen hastalıkların tedavisinde, eski tümörlerin tedavisinde,

apse tedavisinde ve cilt döküntülerinin iyileştirilmesinde, baş bölgesi iltihaplarının kurutulmasında ve soğuk algınlığının iyileştirilmesinde kullanıldığından bahsedilmiştir (Gün 2011).

Batı'da yaygın olarak Avicenna olarak bilinen hekim ve filozof İbni Sina, insan tıbbı tarihinde bir işaret olarak kabul edilen ve Avrupa'da 17. yüzyıla kadar ana tıp metni olarak kullanılan ünlü tıp kitabı “Kanun” da çörek otundan bahsetmiştir. Yazılarında, çörek otunun vücudun enerjisini arttırdığını, yorgunluktan ve halsizlikten kurtarılmasında yardımcı olduğunu, koruyucu ve iyileştirici özelliklere sahip olduğunu belirtmiştir (Mohamad vd. 2016).

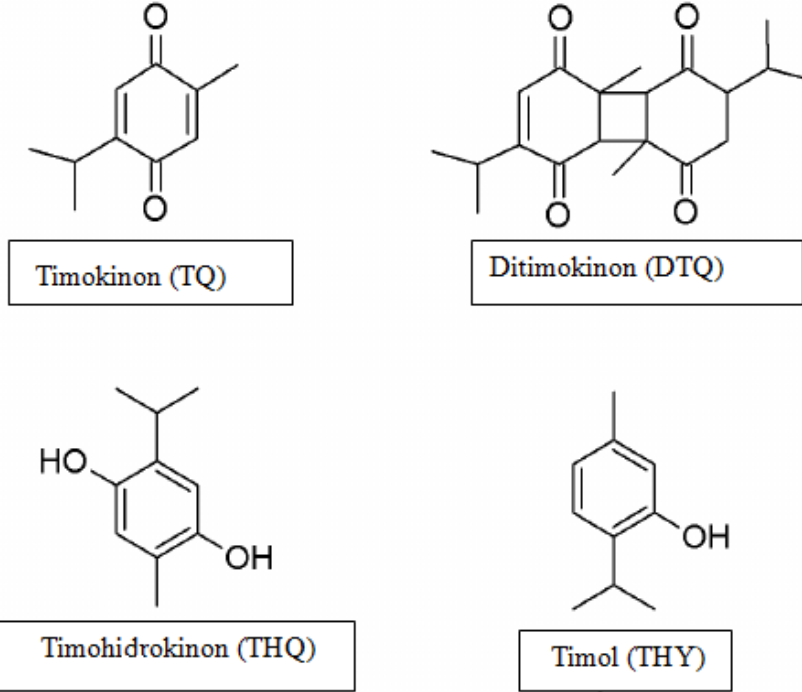
Çörek otunun çok sayıdaki olumlu özelliklerine dini söylemlerde de dikkat çekilmiştir. İslam dini peygamberi Hz. Muhammed'in Tıbb-ı Nebevi'sinde (İslam peygamberinin tıp ile ilgili hadislerini kaynak alan İslami tıp bilimi), çörek otu tohumlarının ürünlerinden, tüm dünyada geniş yelpazeli kullanım alanı olan bir ilaç olarak bahsedilmektedir (Bhatti vd 2009). İslam dini peygamberi Hz. Muhammed'in çörek otundan bu şekilde bahsetmesi halkı çörek otu kullanımına teşvik etmiştir.

Günümüzde modern tıbbın imkânları ne kadar ilerlemiş olsa da geleneksel halk tıbbı varlığını sürdürmektedir. Çörek otunun çok eski zamanlardan bugüne kadar bilinen faydalı etkilerini gözlemlemek amacıyla yapılan bilimsel çalışmalarla da çörek otu tohumu ve bileşenlerinin, antikanserojenik (Kaseb vd. 2007), antitümöral (Badary 1999), antiülserojenik (Kanter vd. 2005), antibakteriyel (Halawani 2009), antiinflamatuvar ve analjezik (Abdel-Fattah vd. 2000), antioksidan (Badary vd. 2000), hipoglisemik (Badary vd. 1998; Badary 1999), bağışıklık sistemini güçlendirici (Salem 2005) etkilerinin olduğunu gösterilmiştir. Bu çalışmaların yanında *N. sativa* bileşenlerinin antihelmintik/antiparazitik etkisi olduğuna dair çalışmalar da bulunmaktadır (Ekanem ve Yusuf 2008).

2.2.1. Çörek otunun kimyasal özellikleri

Kimyasal içeriği *Nigella sativa*'nın yetiştiği bölgenin iklim koşullarına göre değişiklik göstermekle birlikte *Nigella sativa* (NS) tohumları, ucucu yağlar (%0,4-0,45), sabit yağlar (%32-40), proteinler (%16-19,9), lifler (%5,5), karbonhidratlar (%33,9), mineraller (%1,79-3,44), vitaminler, alkaloidler, tanenler, saponinler içermektedir. Sabit yağın yapısında doymamış yağ asitlerinden olan oleik asit, linoleik asit, eikozadienoik ve araşidonik asit, doymuş yağ asitlerinden ise miristikasit, palmitik asit ve stearik asit bulunmaktadır. Ucucu yağın yapısında, nigellon, karvakrol, p-cymene, d-limonen, α ve β -pinen bulunmaktadır. Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemi yardımıyla yapılan analiz araştırmalarında *Nigella sativa* yağının dört ana aktif madde içerdiği gösterilmiştir (Ghosheh vd. 1999) (Şekil 2.5). Bu maddeler timokinon (TQ),

ditimokinon (DTQ), timohidrokinon (THQ, nigellon) ve timol (THY) dır. Timokinon 2-izopropil-5-metil-1,4-benzokinon yapısında olup, molekül formülü $C_{10}H_{12}O_2$ 'dir.



Şekil 2.5. Çörek otu tohumu yağının dört ana aktif bileşeni (Tangyuenyongwatana ve Gritsanapan 2014'ten uyarlanmıştır.)

Tüm bunlarla birlikte çörek otunda enzim fonksiyonlarında kofaktör olarak çalışan kalsiyum, potasyum, demir, çinko, magnezyum, selenyum bulunurken vitaminlerden A, B1, B2, B3, B6, B9 ve C vitaminleri bulunmaktadır (Işık 2009).

2.2.2. Çörek otunun etki mekanizması

Nigella sativa bitkisinin tohumlarının yağı ve özütünün öncelikle faydalı besin değeri taşıması söz konusudur. Bunun yanında çok sayıda farklı farmakolojik etkileri de bulunduğu gösterilmiştir (Varol 2008).

2.2.2.1. Çörek otunun antioksidan etkisi

Serbest oksijen radikalleri hücrelere saldırıp hücre membranını parçalarlar ve vücuttaki nükleik asit, lipit, protein ve enzimlerle etkileşime girerek hasara sebep olurlar (Salem 2005). Serbest radikallerin neden olduğu hasarın sebebi prooksidan ve antioksidanlar arasındaki dengenin bozulmasıdır (Murray vd. 2004).

Çörek otu tohumunun potansiyel özelliklerinden biri bileşeninin antioksidan aktifliği sayesinde toksisiteyi azaltma kabiliyetidir (Salem 2005; El Shenawy vd. 2008; Kanter 2009).

Çalışmalarda hem çörek otu yağının hem de çörek otunun aktif bileşenlerinden olan timokinonun, lipozomlarda meydana gelen non-enzimatik lipid peroksidasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir. Çörek otu yağı bileşenlerinin ve özellikle timokinonun önemli bir antioksidan ve serbest radikal süpürücü potansiyeline sahip olduğu ve bununla birlikte prooksidan aktivitesi olmadığı gösterilmiştir (Hosseinzadeh vd. 2007).

Sıçanlara iskemi/reperfüzyon uygulandığında timokinon ve çörek otu yağının, GSH (glutatyon) ve SOD (süper oksit dismutaz) düzeylerini normal düzeylere getirdiği görülmüştür (El-Abhar vd. 2003).

Farelerde yapılan bir çalışmada çörek otu yağının aktif temel bileşenlerinden olan timokinonun dokularda antioksidan bir ajan benzeri davranış sergileyip, membran-lipit peroksidasyonunu engellediği saptanmıştır (Mansour 2002).

Başka bir çalışmada, farelere CCl₄ (Karbon tetraklorür) enjeksiyonundan 1 saat önce profilaktik olarak timokinon verilmesi sayesinde, CCl₄'ün neden olduğu hepatotoksisite azaltılmış ve hepatik GSH miktarında belirgin düzeyde artış görülmüştür (Salem 2005).

Çörek otunun aktif temel bileşeni olan timokinon ile yapılan bir diğer çalışmada, timokinonun, izole hepatositleri, t-butilhidroperoksitin indüklediği toksisiteye karşı koruduğu görülmüştür (Ghosheh vd. 1999).

60 gün süresince CCl₄ verilerek yapılan bir diğer hepatotoksisite çalışmasında çörek otu ile yapılması amaçlanan tedavide, lipid peroksidasyonu ile karaciğer enzim seviyelerinde azalmayla beraber, düşük olan antioksidan enzim düzeylerinde artış bildirilmiştir (Kanter vd.2005).

Bir diğer çalışmada CCl₄'ün neden olduğu hepatotoksisiteye karşı timokinonun koruyucu aktivitesinin, bu ajanın lipid peroksidasyonunu inhibe etme kabiliyeti ile alakalı olabileceği söylenmiştir (Hosseinzadeh vd. 2007).

2.2.2.2. Çörek otunun antidiyabetik etkisi

Diyabetes mellitus, organizmada insülin üretiminin yetersizliğinden veya direnciden kaynaklanan, kan glikoz düzeyinin yüksekliği ile karakterize olmuş metabolik bir hastalık olarak tanımlanmakla beraber tarihin bilinen en eski hastalıklarındandır. Hayvan deneylerinde yapılan çalışmalar çörek otu tohumu uçucu yağının dört ana bileşeninden biri olan timokinonun hipoglisemik etkisini ve karaciğerdeki glukoneogenez düzeyini düşürerek antidiyabetik aktivite gösterebildiğini, insülin bağımlı olmayan diyabetes mellitus üzerinde tedavi edici özelliği olduğunu göstermiştir (Badary vd. 1998; Khan 1999; Badary 1999; Fararh vd. 2005).

Deneyssel diyabet oluşturmak için kullanılan bir kimyasal ajan olan streptozotosin (STZ) aracılığıyla üretilen diyabetik gebe fareler üzerinde yapılan araştırmada timokinonun serbest radikal seviyesini düşürerek embriyo malformasyonunu ortadan kaldırdığı ve ayrıca embriyo olgunlaşmasını arttırdığı gösterilmiştir (Al-Enazi 2007). STZ ile oluşturulan diyabet örneğinde çörek otu yağı kullanılarak uygulanan tedavide yüksek serum glikoz konsantrasyon düzeyinin azaldığı ve düşük olan insülin

konsantrasyon düzeyinin arttığı, glikoz düşüşünün sebebinin ise, pankreasın β hücrelerinin kısmi poliferasyonuna bağlı olabileceği ifade edilmiştir (Kanter vd. 2003).

Yapılan bir çalışmada çörek otu tohumunun ham özütünün INS832/13 (rat insülinoma hücre hattı) ve pankreatik β -hücrelerinin, β TC hücre dizilerinde insülin sekresyonu, iskelet-kas hücreleri ve 3T3-L1 (fare embriyo hücre hattı) adipozitleri üzerinde glikoz kullanımı sonucu etkileri araştırmıştır. Çörek otuyla tedavi, glukoz stimulasyonlu insülin salgılanmasını, glukoz duyarlılığı etkilemeden, önemli ölçüde arttırmıştır. Çörek otu tedavisi ayrıca β hücre çoğalma durumunu öncesine göre ciddi anlamda hızlandırmıştır. Çörek otuyla tedavi bazal glukoz alımını iskelet ve kas hücrelerinde ve adipozitler üzerinde yaklaşık %400 arttırmıştır. Bu olumlu aktivite adipozitlerdeki insülin düzeyinin ayarlanmasına olumlu katkı sağlamıştır. Çalışmanın sonucunda, farklılığa uğrayan preadipozitlerin çörek otuyla etkileşimi, 10 μ M rosiglitazon tedavisi ile karşılaştırıldığında trigliserit birikimini hızlandırmıştır. Çörek otu tohum özütünün *in vivo* antihiperglisemik etkileri tedavi edici olması açısından birbiriyle ilişki insülinotropik (insülin aktivitesini ve üretimini uyarıcı) ve insülin benzeri özelliklerin birlikte etkisi olarak değerlendirilebilir (Benhaddou-Andaloussi 2008).

Başka bir çalışmadaysa birbirinden farklı çörek otu tohumu ekstraktlarının insülin salgılanma düzeylerine katkı aktiviteleri çalışılmış, bunun için çörek otu tohumunun değişik fraksiyonları hazırlanmıştır. Yağsız fraksiyon, iki alt bölüme ayrılmıştır. Bunlardan birincisi asidik ve nötral bileşenler içermiştir, ikincisiye temel bileşenleri içermiştir. Hazırlanan ekstraktların insülin salgılama kat sayısına olan etkileri 8,3 mM/L glukoz varlığında *in vitro* olarak izole edilmiş olan ratların pankreatik adacıklarında, 0,01 mg/ml, 0,1 mg/ml, 1 mg/ml ve 5 mg/ml olarak belirlenen farklı konsantrasyonlarda karşılaştırılmışlardır. Çalışma sonucunda, yağsız hazırlanan bütün ekstraktların veya inkübasyon ortamındaki çörek otu tohumunun temel alt fraksiyonunun ilave edilmesi, adacıklardan glukoz yüklü insülin salınımı düzeyini ciddi ölçüde arttırmıştır. Asidik ve nötral alt fraksiyon varlığıdaysa, stimulator aktivite yalnızca yüksek konsantrasyonlarda görülmüştür. Çalışma verileri, çörek otu tohumlarının antidiyabetik aktiviteyi, kısıtlı derecede stimüle edilen insülin salınımı aracılığı sayesinde gösterebileceğini ifade etmiştir. Temel alt fraksiyon bahsi geçen stimulator aktiviteye ciddi oranda katkı sağlamıştır (Rchid vd. 2004).

2.2.2.3. Çörek otunun anti-inflamatuar etkisi

Çörek otunun ve içerdiği aktif bileşenlerin, antienflamatuar etkisi olduğu birçok çalışma aracılığıyla bildirilmiştir. Bu amaçla yapılan bir çalışmada araştırmacılar, *Nigella sativa* tohumlarının uçucu yağındaki en önemli aktif maddelerden biri olan timokinonun anti-inflamatuar etkisini, alerjik astımlı bir fare modelinde, astımın patofizyolojisinde önemli rol oynadığı bilinen kuvvetli inflammatuar aracı madde olan lökotrien (LT) biyosentezi açısından incelediklerini ifade etmişlerdir. Çalışma kapsamında model fareler, ovalbümin (OVA) antijeni ile duyarlı hale getirilmişlerdir. Bunun sonucunda fareler, bronkoalveolar lavaj (BAL) akışkanında artmış miktarda lökotrien B4 ve C4, Th2 (yardımcı T hücreleri 2) sitokinleri ve eozinofillere sahip olmuşlardır. Buna ek olarak, akciğer dokusunda eozinofili ve goblet hücre sayısında belirgin bir artış meydana gelmiştir. OVA yüklemesinden önce timokinon uygulanması, lökotrien biyosentezindeki ana enzim olan 5-lipoksijenazın, akciğer hücreleri tarafından ekspresyonunu baskılamış ve lökotrien-B4 (LTB4) ve lökotrien-C4 (LTC4) seviyelerini önemli ölçüde azaltmıştır.

Bu gözlemlere, hepsi hava yolu inflamasyonunun özellikleri olduğu bilinen Th2 sitokinlerinde, BAL sıvısında ve akciğer dokusu eozinofilisinde belirgin bir azalma durumları da eklenmiştir. Bu sonuçlar doğrultusunda araştırmacılar, deneysel astımda TQ'nun antiinflamatuvar etkisini gözlemlediklerini bildirmişlerdir (El Gazzar vd. 2006).

2.2.2.4. Çörek otunun antikanserojenik ve antitümöral etkisi

Yapılan çok sayıda *in vivo* ve *in vitro* çalışma ile çörek otu tohumu aktif bileşenlerinin antitümöral aktivitesi bildirilmiştir. Araştırmalar çörek otunun aktif bileşenlerinden olan timokinonun meme ve yumurtalık adenokarsinomu, kolorektal kanser, neoplastik keratinositler, insan osteosarkomu, fibrosarkoma, akciğer karsinomu, prostat kanseri ve benzeri çoğu kanser türünde hücrelerin proliferasyonuna inhibitör etki gösterdiğini ortaya koymuştur (Shoieb vd. 2003; Kaseb vd. 2007; Roepke vd. 2007).

Timokinonun hepatoselüler karsinoma hücrelerin çoğalmasını doz bağımlı olarak ciddi derecede yavaşlattığı ve hepatoselüler karsinom tedavisi açısından iyi bir potansiyel antikanser bileşiği olduğu ortaya koyulmuştur (Ahmed vd. 2008).

Timokinonun, insan umbilikal (göbek bölgesiyle ilgili) yeni endotel hücre göçünü, invazyonunu, proliferasyonunu ve tüp şekillenmesini inhibe ettiği bulunmuştur. Bu sonuçlara dayanarak timokinon, tümör anjiyogenezisi ile tümör büyümesini inhibe etmede ve kanseri tedavi etmede kullanılabilir olacak ilaç olabilme potansiyeli taşıdığı bildirilmiştir (Yi vd. 2008).

Timokinonun nükleer faktör-B'ye bağımlı olan antiapoptotik genleri azaltarak, kemoterapötik bileşikler aracılığıyla indüklenen pankreas hücrelerinin ölümünde rol aldığı ve antitümöral ilaçlarla timokinonun birlikte kullanılmasının ise büyüme inhibisyonunu artırıcı aktivite gösterdiği bulunmuştur (Banerjee vd. 2009).

2.2.2.5. Çörek otunun antibakteriyel ve antifungal etkisi

Yapılan araştırmalardan biri, *N. Sativa* uçucu yağının *Pseudomonas aeruginosa*'nın bazı suşları hariç olacak şekilde hem gram pozitif hem de gram negatif mikroorganizmaların büyüme hızını azalttığını göstermiştir. Fraksiyonlama işlemlerinin ardından yağın bu biyolojik aktiviteyi fenolik içeriği sayesinde gösterdiği anlaşılmıştır (Khan 1999). Çörek otu sulu ekstraktının ve metanol yardımıyla hazırlanan ekstraktının *Streptococcus mutans*'a karşı antibakteriyel aktivite gösterdiği görülmüştür. Bitki özütünün bu biyolojik aktivite sayesinde diş çürümesinin önlenmesi ve diş plaklarının önlenmesinde etkisi olduğu gösterilmiştir (Khan 1999).

Bir başka çalışmada çörek otundan elde edilmiş olan, etilen glikol yardımıyla hazırlanan çözeltisinin ve uçucu yağının *in vitro* olarak birtakım mikroorganizmalara (*Staphylococcus aureus*, *E. coli*, *S. typhi*, *S. niger*, *Vibrio cholerae*) karşı 1:100 seyreltilmiş halinde bile iyi bir antibakteriyel etki gösterdiği görülmüştür. Yağın gram pozitif ve gram negatif mikroorganizmalara karşı iyi derecede etkili olduğu ve aynı zamanda özellikle *Aspergillus penicillum* ile *Mikrosporyum* türlerine karşı *in vitro* antifungal aktivitesi Disk Difüzyon Metodu kullanımıyla test edilmiş ve iyi derecede antifungal aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir (Ali ve Blunden 2003).

Hanafy ve Hatem'in birlikte yaptıkları araştırmada *S. aureus*, *P. aeruginosa* gibi gram pozitif bakteriler ve *Candida albicans* gibi mayalar üzerinde çörek otu tohumlarının dietil eterli ekstraktı kullanılmıştır. Çörek otu tohumlarının eterli ekstraktı hem gram pozitif (*S. aureus*) hem de gram negatif (*P. aeruginosa*, *E. coli*, *C. albicans*) mikroorganizmalara karşı konsantrasyon bağımlı olmakla birlikte inhibitör etki göstermiştir (Hanafy ve Hatem 1991).

Aynı kişilerin bir başka araştırmasında ise metanol yardımıyla hazırlanan özüt, ticari antibiyotiklerden streptomisin ve gentamisin ile beraber kullanılarak test edilmiş ve sinerjistik bir antibakteriyel etkisi olduğu görülmüştür (Hanafy ve Hatem 1991).

Diğer *in vitro* çalışmalardan birinde çörek otu tohumunun uçucu yağının 37 enterik organizma (örn: *Shigella dysenteirae*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei* ve *Shigella boydii*) üzerinde gösterdiği antibakteriyel aktifliğinin ölçülmesi yoluyla önemli sonuçlar elde edilmiştir. Metanol yardımıyla hazırlanan ekstraktının *S. mutans* türünün aktifliğini inhibe etmesi sayesinde anti-plak etki gösterdiği, bu sayede diş çürümelerini engellediği görülmüştür (Ferdous vd. 1992).

İçlerinde çörek otu yağı da bulunan 16 uçucu yağın antimikrobiyal ve antifungal aktiflikleri konusunda yapılan bir çalışmada ise, bütün bu 16 yağ arasında çörek otu yağı, *C. albicans*'a karşı iyi derecede etki göstermiştir. Pirinç, buğday, pamuk benzeri ürünlerin büyüme, gelişmesini olumsuz yönde etkileyen parazitlerden *C. olivaceum* mantar türüne karşı bitkiyi koruma konusunda çörek otu yağının önemli bir yeri olduğu sonucuna varılmıştır (Aboul Ela vd. 1991).

El-Kamali vd. (1998) araştırmalarında, disk difüzyon yöntemiyle, çörek otu uçucu yağının gram pozitif (*S. aureus*, *Bacillus subtilis*) ve gram negatif (*E. coli* ve *P. aeruginosa*) bakterilere karşı etkili olduğunu göstermişlerdir. Çörek otu yağının antibakteriyel aktivitesi *Bacillus subtilis* türü üzerinde maksimum düzeyde izlenmiştir.

Sökmen vd. (1999) yaptıkları araştırmada çörek otunun eterle hazırlanmış ekstraktının gram pozitif bakteri (*S. aureus*), gram negatif bakteri (*P. aeruginosa*) ve *E. coli*'ye karşı *in vitro* antibakteriyel aktivitesi olduğunu göstermişlerdir.

Çörek otu tohumların ham alkaloit özütü ve sulu özütünün septik artritli hastalardan izole edilen çok sayıda çeşitli mikroorganizmalara karşı antibakteriyel aktivite gösterdiği görülmüştür. Ekstraktın *V. cholera*, *E. coli* ve *S. dysenteriae* türlerinin tüm suşlarına ve ilaçlara direnç gösteren bakterilere karşı çok iyi düzeyde etki gösterdiği görülmüştür (Morsi 2000).

Çörek otunun, patojenik bir maya olan *C. albicans* ve mantarlara karşı olduğu kadar *E. coli*, *B. subtilis*, *S. faecalis*, *S. aureus* ve *P. aeruginosa* türleri gibi çok sayıda bakteri suşuna karşı antibakteriyel etkisi görülmüştür (Hanafy ve Hatem 1991; Morsi 2000; Khan 2003).

Çörek otu tohumlarının çözünabilir fraksiyonları, *S. aureus* türü üzerinde *in vitro* olarak çalışılmış ve hiçbir öldürücü aktiviteye sahip olmadığı gözlenmiştir. Çörek otu tohumunun dietil eterli özütü *in vivo* tedavi amacıyla, infeksiyon bölgesine enjekte

edildiğinde farelerde başarılı sonuç elde edilmiş, öldürücü olmayan subkutanöz stafilokokkal infeksiyonda iyileşme göstermiştir (Hanafy ve Hatem 1991).

Bir diğer çalışmada *C. albicans* türünün fareleri infekte etmesiyle karaciğer, dalak, böbreklerde organizma kolonileri üretilmiştir. Bu model organizma kullanılarak çörek otu tohumlarının sulu özütünün antifungal aktivitesi çalışılmış, enfekte farelere *C. albicans* ile infeksiyonlarından 24 saat sonra başlayan günde üç defa çörek otu tohumlarının sulu özütü tedavi amaçlı verilmiş ve bütün enfekte organlarda fungus büyümesi iyi derecede inhibe edilmiştir. Bu çalışma, bitkinin mantar infeksiyonunu tedavi amaçlı geleneksel kullanımının doğruluğunu onaylar niteliktedir (Khan 2003).

Çörek otunun sulu özütü, farelerde kandidiyazise karşı *in vivo* olarak çalışılmış ve kuvvetli antifungal aktivite göstermiştir (Ramadan 2007).

2004 yılındaki bir çalışmada çörek otu ve *N. damascena* türüne ait bitki tohumlarından elde edilmiş olan uçucu yağları, farklı polaritedeki çeşitli özütleri, fraksiyonları, saf bileşikleri biyolojik aktivite durumlarını anlamak için incelenmiştir. Çalışma kapsamında yapılan antimikrobiyal testlerde, uçucu yağ sadece gram pozitif bakterilere karşı aktivite gösterirken özütler arasından da bütanolle hazırlanan özütünözür

P. Aeruginosa ve *S. aureus*'a karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği bulunmuştur (Fico vd. 2004).

Listeria monocytogenes türünün 20 farklı suşu üzerinde disk difüzyon yöntemi yardımıyla çörek otu tohumu yağının antibakteriyel etkisini anlamak amacıyla 2005 yılında yapılan çalışmada ise çörek otu tohumu yağı, bitkisel yağ (yağ kontrol) ve gentamisin (pozitif kontrol) ile doyurulan 3 disk petriye yerleştirilmiştir. Petriler 24 saat süresince 37°C'de inkübe edilmiş ve *L. monocytogenes* büyüme inhibisyon zonu için gözlenmiştir. Çörek otu tohumu yağı gentamisinden daha anlamlı bir şekilde ($P<0.01$), daha geniş bir inhibisyon zonu oluşmasına katkıda bulunarak *L. monocytogenes* türünün bütün suşlarına karşı iyi derecede antibakteriyel aktiflik göstermiştir. Bitkisel yağ ise *L. monocytogenes* üzerinde anlamlı inhibitör etki gösterememiştir (Nair vd. 2005).

Çörek otu tohumunun eter yardımıyla hazırlanan özütünün antifungal aktivitesinden sorumlu ve aktif bileşeni olan timokinon, dermatofitlerden *T. rubrum*'un dört farklı suşu, *T. interdigitale*, *T. mentagrophytes*, *Epidermophyton floccosum* ve *Microsporum canis*'in bir suşuna karşı test edilmiştir. Çörek otu tohumu, timokinon ve griseofulvinin (antifungal ilaç) eter yardımıyla hazırlanan özütünün seri dilüsyonları agar difüzyon metoduna uygun olarak çalışılmıştır. Çalışma sonuçları çörek otunun antidermatofit ilaçlar için iyi bir potansiyel kaynak olduğunu göstermiştir ve çörek otunun halk tıbbında mantarlı deri infeksiyonlarının tedavisi için kullanımını desteklemiştir (Aljabre vd. 2005).

Bir başka çalışmada, farklı çörek otu tohumu yağlarının antifungal aktiviteleri, patojenik ve endüstriyel suşlar dâhil olmak üzere yirmi mantara karşı test edilmiştir. Bütün yağların mantarlara karşı önemli aktiviteleri olduğu bulunmuştur, ancak uçucu yağın daha güçlü ve daha geniş antifungal aktiviteler gösterdiği bildirilmiştir (Islam vd. 1989).

2.2.2.6. Çörek otunun antihelmintik ve antiparazitik etkisi

Çörek otu tohumlarının antiparazitik özellikleri, *S. mansoni* mirasidyumu, serkaryası ve yetişkin kurtlara karşı *in vitro* olarak test edilmiştir. Sonuçlara göre çörek otu tohumları, parazitin bütün evrelerinde çok güçlü biosidal aktivite göstermiştir. Ayrıca özellikle erişkin dişi kurtların yumurta bırakmasını engellediği görülmüştür. Aynı çalışmada ayrıca konakçı oksidan ölümüne karşı yetişkin kurtların korunabilmesinde görevi olduğu bilinen bazı antioksidan enzimleri, üzerine DMSO'da ezilmiş haliyle çörek otu tohumu ekilmiş ve yine buna ek olarak konakçıların içindeki yetişkin kurtların hayatta kalmasında önemli görevi olan glikoz metabolizmasından bazı enzimler çalışılmıştır. Çalışmanın sonuçları, yetişkin kurtlarda çörek otu tohumunun, kullanılan ilaçlar, antioksidan enzimler, superoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz ve glikoz metabolizma enzimleri, heksokinaz ve glikoz-6-fosfat dehidrogenaz enzimlerinin aktivitelerindeki azalma durumuyla kendini gösteren bir oksidatif stres durumu oluşturduğunu göstermiştir (Mohamed vd. 2005).

Yine *Schistosomiasis mansoni* ile enfekte olmuş fareler üzerinde çörek otu kullanılarak yapılması amaçlanan tedavi sonucunda hem karaciğer hem de bağırsaklardaki yumurta sayısı azalmış ve bağırsak duvarı üzerinde ölü solucan sayısı artmıştır (Mahmoud vd. 2002).

Üçüncü dünya ülkelerinde görülme sıklığı fazla olan şistozomiyazis ile enfekte olmuş fare hücreleri üzerinde yapılan bir diğer çalışmada hem çörek otu özütünün hem de timokinonun şistozomiyazis kaynaklı olduğu bilinen kromozomal deformasyonlara karşı potansiyel koruyucu maddelerden oldukları bildirilmiştir (Aboul-Ela 2002).

Yapılan başka bir çalışmada çörek otu tohumu yağının bazı serum ve karaciğer enzimleri üzerindeki aktivitesi, *Trypanosoma brucei* ile enfekte olan sıçanlar üzerinde incelenmiştir. Çalışma bulguları, enfekte olmuş sıçanlarda parazit enfeksiyonunun azaldığını ve ömür uzunluklarının önemli ölçüde arttığını göstermiştir. Çalışma sonucunda aynı zamanda, serum alkalen fosfat aktivitesinde ve glutamat oksaloasetat ve glutamat pürivat transaminazlarda da anlamlı artışlar, karaciğer enzim aktivitelerinde ise anlamlı azalışlar görülmektedir. Araştırmacılar çörek otu tohumu yağının gözlenen bu antiparazitik etkisinin, çörek otu tohumu yağının konakçının bağışıklık sistemine olan katkısından kaynaklandığını düşündüklerini bildirmişlerdir (Ekanem ve Yusuf 2008).

Başka bir çalışmada çörek otunun sulu ve alkollü özütlerinin yanı sıra çörek otu tohumu yağının tedavi edici potansiyeli incelenmiştir. Çalışmada, çörek otunun preparatlarının farklı konsantrasyonları kültürlenmiş *Trichomonas vaginalis* trofozoitleri ile *in vitro* olarak inkübe edilmiş ve büyüme üzerindeki etkileri aynı koşullar altında metronidazol (antibiyotik ve antiprotozoal) ile karşılaştırılmıştır. Çalışma sonucunda hem alkollü ekstraktın ve hem de çörek otu yağının, *T. vaginalis* enfeksiyonunu tedavi etmede metronidazol kadar etkili maddeler oldukları kanıtlanmıştır. Çalışmacılar çörek otu yağının bu gözlenen kayda değer etkisinin, çörek otu tohumlarından elde edilen uçucu yağda bulunan bileşenlerden (omega 3, 6, 9 ve 7 yağ asidi) kaynaklanabileceğini bildirmişlerdir (Mahmoud vd. 2016).

2.3. Yaşlanma

Yaşlanma, organizmanın hücre, doku, organlarında zamanın ilerlemesiyle ortaya çıkan ve ölümle son bulan, geriye dönüşü mümkün olmayan yapısal ve fonksiyonel değişikliklerin tümüdür (Holliday 1995). Yaşlanma bir çok türün yaşadığı oldukça etkileyici bir durumdur. Geçtiğimiz yıllarda yapılan çalışmalar, yaşlanmanın sadece doku ve hücrelerin bozulmasından ibaret olmadığını, genetik yolların da bu süreçte oldukça etkili olduğunu göstermiştir (Lithgow vd. 2006). Solucanlar, sinekler, mayalar ve fareler gibi model organizmaların kullanıldığı çalışmalar, yaşlanmanın çevresel, epigenetik, genetik faktörlerden etkilenen, çok faktörlü bir durum olduğunu ortaya koymuştur (Amrit vd. 2014).

Yaşlanma, yaş almayla beraber fizyolojik fonksiyonların gerilemesi olarak tanımlanmıştır (Imahori vd. 1992). Son yıllarda bilim ve tıp dünyasındaki gelişmeler ile iyiye giden hayat standartları (sağlıklı beslenme ve hijyen gibi) ömür uzunluğu artışında etkili olmaktadır (Woodmansey vd. 2007).

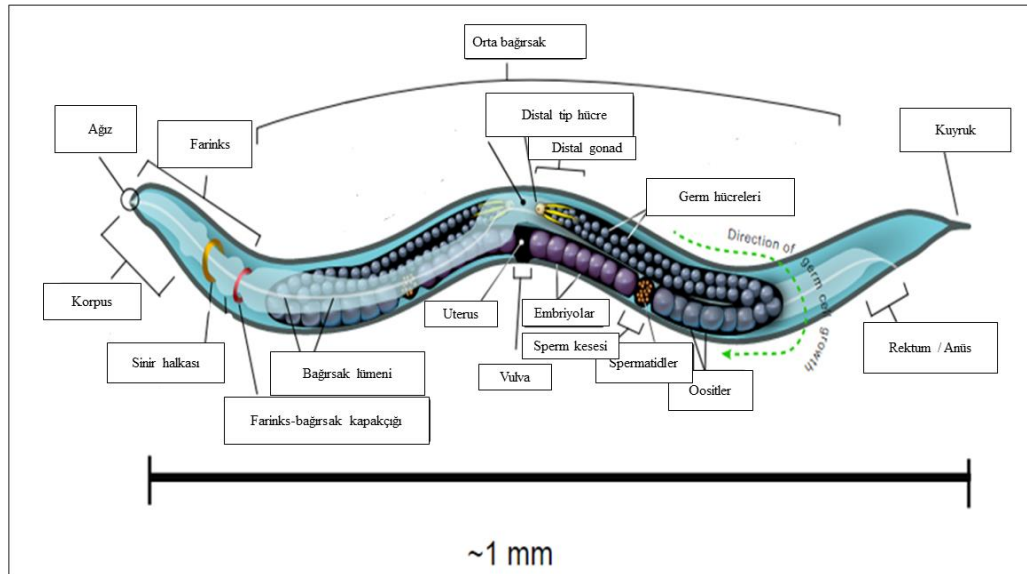
Hücrel farklılaşmalar, organizmada toplamda meydana gelen farklılaşmalar ve üreme olgunluğundan sonra meydana gelen fiziksel çöküş beraberinde zamana bağlı yaşlanma durumunu getirmektedir. Biyolojik yaşlanmanın birçok nedeni bulunmaktadır. Serbest radikallerin oluşturduğu hasarlar, telomer kısalması ve replikatif senesens, DNA hasar birikimi, DNA tamiri aksaklıkları, mitokondrial bozulma, bozuk protein/atık birikimi, çekirdek DNA'sı ve mitokondrial DNA'da meydana gelen mutasyonlar, nöroendokrin sistem hataları, immun sistem hataları bunlar arasında bulunur. Bütün hücrel değişimler ve bunlarla birlikte organizmada kendini gösteren birikmiş büyük değişimler organizmal yaşlanma olarak adlandırılır. Organizmal yaşlanma, yaşlılık hastalıkları da denilen dolaşım sistemi hastalıkları, kanser, nörodejenaratif hastalıklar gibi hastalıkların ortaya çıktığı durumlarla karakterize edilir (Jin 2010).

Yaşlanma çalışmalarında temel hedef, ömür uzunluğunun artışı ve yaşa bağlı hastalıkların önlenmesidir. Son yıllarda bazı hastalıkların klasik tedavilerine alternatifler önem kazanmaktadır ve bu konuda bilimsel çalışmaların sayısı da gün geçtikçe çoğalmaktadır.

Her türün kendine özgü bir ortalama ve maksimum yaşam uzunluğu vardır. İnsanın yaşam süresi göreceli olarak diğer pek çoğundan oldukça uzundur. Bu nedenle yaşam uzunluğu çalışmalarında, yaşam süresi kısa olan pekçok model organizma kullanılması söz konusudur. Çünkü paylaşılmış ortak biyolojik özelliklerden dolayı, insan yaşlanmasını anlamak için ve yaşlılık hastalıklarını geciktirmeye çalışmak üzere deneyler yapmak için yaşam süresi kısa olan model organizmalar oldukça bilgi sağlayıcı olurlar. Bunlardan biri *Caenorhabditis elegans*'tır.

2.4. *Caenorhabditis elegans*

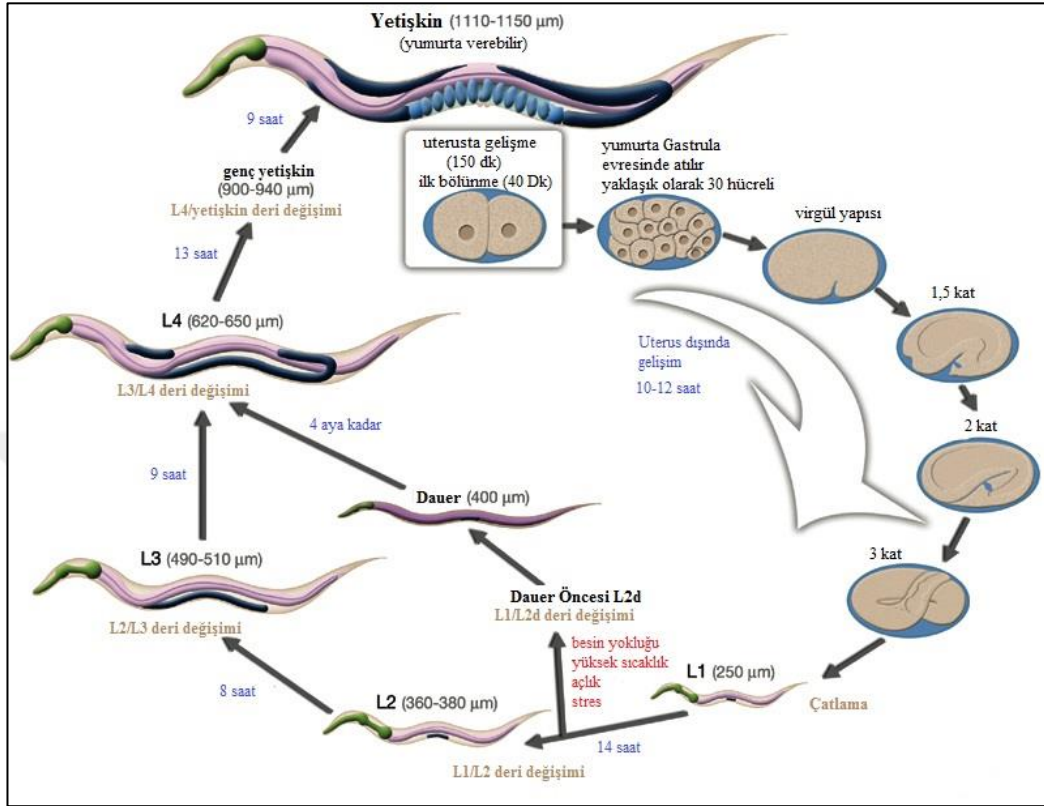
Caenorhabditis elegans toprakta serbest yaşayan, çeşitli toprak bakterileri ve mayalar ile beslenen bir nematodtur (Engelmann vd. 2010). Hermafrodit ve erkek olarak iki cinsiyete sahiptir. Hermafrodit *C. elegans*'lar hem yumurta hem sperm üreterek kendi üretkenliklerini sağlayabilirler. Yetişkinlerin boyu 1 mm uzunluğundadır (Şekil 2.6). Yetişkin hale gelmeleri laboratuvar koşullarında (20°C'de) *E. Coli* bakterisi ile beslenerek 3 gün sürmektedir. Üreme hücreleri dışında 600 hücresi bulunmaktadır ve bu hücrelerin yarısı nöronal sisteme ait olan hücrelerdir (Brenner 1973). Yetişkin bir *C. elegans*'ta çeşitli tipte dokularda olmak üzere yaklaşık olarak 1000 hücre bulunmaktadır (Corsi vd. 2006). Kültürde hermafrodit bireylerin yanı sıra erkek bireyler de bulunabilmektedir (Brenner 1973). *C. elegans*'ların yaşamını devam ettirebilmesi için uygun sıcaklık aralığı 16°C ile 25°C arasındadır. Laboratuvar çalışmalarını devam ettirebilmek için 20°C uygun bir sıcaklıktır (Byerly vd. 1976).



Şekil 2.6. Yetişkin hermafroditin sol yanal kısmındaki anatomik yapının şematik gösterimi (Schroeder (2013)'dan uyarlanmıştır.)

C. elegans genetik analizler ve ömür uzunluğu çalışmaları için uygun bir canlıdır (Maglioni vd. 2014). Genel avantajları boyutunun küçük olması, yaşam döngüsünün hızlı olması ve kendi üretkenliğini sağlayabilmesidir (Brenner 1973; Petersen vd. 2015). Son 40 yılda *C. elegans* yaşlanma çalışmalarında daha sık kullanılan bir model organizma haline gelmiştir. *C. elegans*'ın toplam ömür uzunluğu yaklaşık 20 gün civarındadır. Yaşlı *C. elegans*'ların fiziksel yetkinlikleri azalmakta, hareketleri rahat izlenebilmekte ve sonunda hareketsiz duruma gelmektedirler. Yaşlanmayla birlikte ortaya çıkan fiziksel farklılıklar lipofuksin oluşumu, koyu renkli pigmentler, vakuol benzeri yapıların görülmesi ve okside proteinlerin miktarındaki artıştır. Besin kıtlığında, popülasyondaki birey sayısı çok yoğun olduğunda ve ortam sıcaklığı değişimlerinde larva nematodlar kendilerini bu olumsuz etkilere karşı koruma altına almaktadır. Bu evre dauer larva dönemi olarak adlandırılır (Hu 2007). Dauer döneminde nematodların oral açıklıkları

kapalıdır, yani beslenmezler (Vanfleteren ve Braeckman 1999). Optimum olmayan çevre şartları altında, ağızları kapalı durumdadır ve farinks pompası çalışmaz, ancak yaşamlarını sürdürebilirler, yani aktiftirler (Riddle vd. 1981).



Şekil 2.7. *C. elegans*'ın 20°C'deki yaşam döngüsü (Mavi renkli yazılar nematodun bulunduğu evreyi geçirme süresini ifade etmektedir. İlk bölünme fertilizasyonun ardından yaklaşık 40 dakika içinde gerçekleşmektedir. Yumurta ise ilk bölünmeden yaklaşık olarak 150 dk sonra gastrula evresinde dışarı atılmaktadır. Yumurtanın çatlaması gastrula evresinden 10-12 saat sonra gerçekleşmektedir. Nematodların boyutları her evrede isminin yanında mikrometre cinsinden verilmiştir.) (Altun 2009'dan uyarlanmıştır.)

C. elegans'ın yaşam döngüsü, embriyonik dönem, 4 tane larval dönem (L1, L2, L3, L4) ve yetişkinlik dönemlerinden meydana gelmektedir. Her larval evrenin ardından nematodlar derilerini değiştirirler. Deri değişim döneminlerinde nematodların farinks pompası çalışmayı durdurur ve çok kısa bir uyku durumuna geçerler (Şekil 2.7). Bu kısa uyku durumu dönemine "lathergus" ismi verilmiştir (Raizen vd. 2008).

C. elegans biyolojik yaşlanma çalışmalarına bilgi açısından oldukça katkı sağlamış bir model organizmadır. Bu bilgilerden bir bölümü, özellikle yaşlanmayla alakalı hücresel yolların biyokimyasal detaylarıdır. Bu detaylar özellikle mutasyon çalışmaları yoluyla açığa çıkarılmışlardır. *C. elegans*'ta yaşlanma durumunu düzenleyen daf-2 gen yolağı en açık karakterize edilebilmiş yollardan birisidir (Morley ve Morimoto 2004). Daf-2 aktivitesinin artışı yetişkin nematodlarda yaşam süresinin kısalmasına sebep olmaktadır. Bu yaşam süresinin kısalması durumunu, çatal transkripsiyon faktörü daf-16'yı inhibe ederek gerçekleştirir (Millet ve Ewbank 2004).

Daf-16 çatal transkripsiyon faktörü hücre döngüsü kontrolünde, stres cevabında, büyüme ve gelişmede, yaşlanma olaylarında kilit gen durumundadır (Accili vd. 2004; Oh vd. 2006). Daf-2 gen yolağı ve *C. elegans* yaşam uzunluğu ilişkisi belirgin bir şekilde kurulmuştur (Ewbank vd. 2006).

İnsülin benzeri sinyaller ise metabolizma, büyüme, gelişim ve yaşam uzunluğunu düzenleyen sinyallerdir. İnsülin benzeri sinyal yolağı FOXO, transkripsiyon faktörü daf-16'nın aktivitesini negatif yönde düzenlemeye katkıda bulunur (Lee vd.2001).

Nematodun yaşam uzunluğunun artışı sağlayan en önemli mutasyonlardan biri insülin/IGF-1 sinyal kaskadında (şelalesinde) görülen mutasyondur. Stres durumu sonucunda veya insülin/IGF-1 sinyal yolağının inaktivasyonu sonucunda, daf-16 hızla nukleusa geçer. Daf-16'nın normalden fazla ifadesi, büyüme ve gelişmede yavaşlığa, strese karşı direnç durumunun ise artışına yol açar (Olsen vd. 2006). Her ne kadar strese karşı koruma ve dauer durumundaki etkileri bilinse de daf-16 hedefleri tam olarak anlaşılamamıştır (Murphy 2006).

Nematod *C. elegans*'ın dauer formu, stres direnci ve yaşam uzunluğu daf-2, age-1 ve daf-16 tarafından kontrol edilir. Daf-2 ve age-1 mutasyonları sıcaklık stresi, oksidan ve ultraviyoleye karşı direnci artırır (Barsyte vd. 2001). Bu mutasyona sahip nematodların moleküler şaperon HSP-16'sı yüksek seviyelerde gözlenmiştir (Olsen vd. 2006). Age-1 geninde meydana gelen mutasyon sıcaklık şokuna direnç göstererek %65 ömür uzunluğu sağlar. Bu etki daf-16 geninin aktivitesiyle benzer etki göstermektedir (Walker ve Lithgow 2003).

İnsülin/insülin benzeri sinyal yolları yaşam süresinin belirlenmesinde önemli rol oynamaktadır fakat hangi yolların ne derecede etkili olabildiği net olarak açıklanamamıştır. *C. elegans*'ta insülin/insülin benzeri sinyal yollarındaki mutasyonlar yaşam süresini arttırmaktadır. Bu mutasyonlar, stres yanıtı oluşturan genlerde meydana gelmektedir, ısı şoku proteinleri de bunlar arasındadır (Morley ve Morimoto 2004). Isı şoku proteinlerinin başlıcaları 5 ayrı gruba ayrılmıştır. Bu 5 grup; HSP100, HSP90, HSP70, HSP60 ve küçük ısı şoku proteinleridir (Kim vd. 1998). Isı şoku proteinleri normal gelişim evrelerinde bulunmaktadır, Isı şoku durumundaya da diğer stres durumlarında üretim miktarları artar. *C. elegans*'taki ısı şoku proteinlerinin sayısı 15'tir ve bunlardan 4 tanesi HSP16-1, HSP16-2, HSP16-41, ve HSP16-48 yalnızca stres durumundayken bulunmaktadır (Leroux vd. 1997). *C. elegans*'ın HSP-16 ifadesini ölçmek için 35°C'de öldürücü olmayan ısı şokuna maruz bırakıldığı bir çalışmada, nematodlar üretilen HSP miktarlarının seviyelerine göre gruplandırılmış ve yüksek düzeyde HSP üreten nematodların diğerlerine kıyasla uzun yaşadığı gözlenmiştir (Rea vd. 2005). Isı şoku protein ailesinin sentezlediği proteinler, hücrenin farklı çevresel stres durumlarına karşı yanıt vermesini sağlar ve hücrenin yaşamını sürdürebilmesi için gereklidirler. Öldürücü derecede olmayan sıcaklık çalışmalarında bu direnç mekanizmaları uyarılabilmektedir. Bu çalışmalar termotolerans (sıcaklık toleransı) çalışmaları olarak isimlendirilirler (Li vd. 1982).

Isı şoku proteinleri, öncelikle sıcaklık olmak üzere, çevresel ve biyokimyasal strese karşı proteinlerde meydana gelen yanlış katlanmaları ve normal olmayan birikimleri dengelemeye çalışmaktadır (Pralhad vd. 2008). Yokoyama 2002 yılında hsp-70, Walker ise 2003 yılında hsp-16 genlerinin *C. elegans*'da aşırı ifadeleri sonucunda

yaşam süresini arttırdığını bildirmişlerdir. Termal stres durumunda ısı şoku proteinlerinin ifadesinin arttığı bilinmektedir.

Organizmalar evrimsel açıdan çevre stresine karşı direnç göstermeye adapte olmuşlardır. Evrimsel direnç mekanizmalarının arasında en yoğun çalışan mekanizma ısı şoku proteinleridir. Tüm organizmalar sıcaklığa cevap olarak ısı şoku faktörlerini üretmelerine rağmen, üretilen proteinlerin denge ile önem durumu organizmalar arasında farklılık içermektedir (Queitsch vd. 2000). Strese direnç oluşturan moleküler şaperonlardan ubikitinlerin direkt olarak yaşam süresini düzenlediği pek çok çalışmacı aracılığıyla öne sürülmüştür. Yapılan çalışmalarda ısı şoku faktörlerinin yaşam süresini düzenlediğini göstermiştir (Morley ve Morimoto 2004).



3. MATERİYAL VE METOT

3.1. Kullanılan Besiyerleri ve Kimyasal Malzemeler

3.1.1. Reaktifler

C. elegans'ın yaşadığı ortam olan Nematod Büyüme Ortamı (Nematode Growth Medium (NGM))'nı hazırlanmak amacıyla; Agar (Merck), NaCl (Merck), Bacto-peptone (Merck), MgSO₄ (Merck), Etanol (Merck), Kolesterol (Amresco), CaCl₂ (Merck), KH₂PO₄/K₂HPO₄ tamponları (Merck) ve *C. elegans*'ın besini olan OP50 bakterisinin üretilmesi amacıyla Bacto Tryptone (Merck) ve Yeast Extract (Merck), yumurtlamanın engellenmesi amacıyla da FUDR (Fluorodeoxyuridine) (Alfa Aesar) kullanıldı.

3.1.2. Petri kapları

Deneylerde IsoLab firmasına ait 3,5 cm çaplı tek kullanımlık petri kapları kullanıldı.

3.2. *Caenorhabditis elegans* Kültürünün Sürdürülmesi

Tüm *Caenorhabditis elegans* çalışmaları www.wormbook.org'da yer alan uygulamalar esas alınarak yapıldı. NGM'li petrilerin üzerine *E. coli* OP50 (~9,52 log/kob/ml) eklendi, kuruması beklendi ve üzerine yaş gruplarına göre senkronize edilen genç yetişkin *C. elegans* transferi yapıldı. *C. elegans* kültürlerinin devamlılığı 20°C'lik NÜVE ES 120 model ısıtmalı-soğutmalı inkübatörde sürdürüldü. Takip ve sayımlar NİKON CD-S marka stereo mikroskopta yapıldı.

3.3. *C. elegans*'ın Alımı

Çalışma için gerekli olan *C. elegans* N2 (yabanıl tip) Bristol suşu ve *Escherichia coli* OP50 suşu "Caenorhabditis Genetic Center at the University of Minnesota"dan satın alındı.

3.4. NGM (Nematod Büyüme Ortamı) Hazırlanması

C. elegans'ın yaşadığı ortam olan NGM, Çizelge 3.1'de gösterildiği oranlarda hazırlanarak otoklavlandı.

Çizelge 3.1. NGM Hazırlanırken Kullanılan Kimyasal Malzemeler.

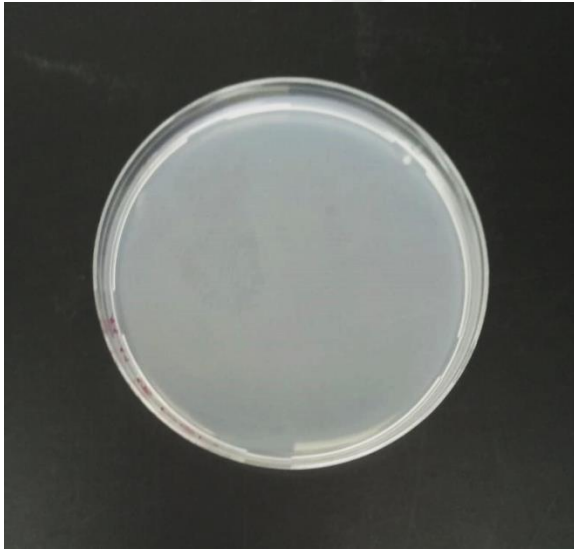
Kimyasal	Miktar	CAS Numarası
NaCl	3gr	7647-14-5
Pepton	2,5gr	73049-73-7
Agar	17gr	9002-18-0
Distile su ile 1L'ye tamamlanır.		

Otoklav işleminin ardından, besiyeri 60°C civarındayken, Çizelge 3.2’de gösterilen kimyasallar karışım içerisine eklendi.

Çizelge 3.2. NGM İçerisine Eklenen Kimyasal Malzemeler.

Konsantrasyon	Kimyasal	Miktar	CAS Numarası
1 M	KPO ₄	25 ml	-
1 M	MgSO ₄	1 ml	7487-88-9
1 M	CaCl ₂	1 ml	10043-52-4
5 mg/ml	Kolesterol	25 ml	57-88-5
Stok KPO ₄ tamponu hazırlamak için 108,3 gr KH ₂ PO ₄ ve 35,6 gr K ₂ HPO ₄ distile su ile 1L’ye tamamlanır (pH:6.0).			

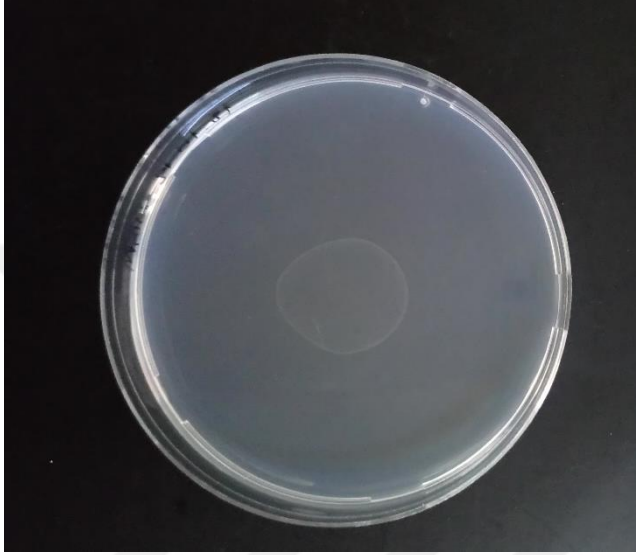
Tüm maddeler karıştırıldıktan sonra petri kaplarına eşit hacimde dökülüp soğuyarak katılaşmaları için bırakıldı (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. NGM Dökülmüş Petri Kabı (Fotoğraf F. C. Kürk Yıldız tarafından çekilmiştir.)

Normal sıcaklıkta ömür uzunluğu ve oksidatif stres deneyleri için NGM hazırlanırken nematodların yeni nesil nematodlar ile karışmasını engellemek üzere NGM karışımı içerisine 5-Fluoro-2'-deoksiüridin (FUDR) ilave edildi. Son konsantrasyon 25 µm olacak şekilde FUDR eklendi. Kullanılan FUDR25 mM’lık stok olarak hazırlandı. FUDR stok hazırlamak amacıyla 153,8 mg FUDR25 ml dH₂O içerisinde çözdürüldü. Yumurtlama potansiyeli deneyi, canlı döl verme potansiyeli deneyi ve sıcaklık stresi deneyleri için 5-Fluoro-2'-deoksiüridin (FUDR) kullanılmadı.

Denediğimiz çörek otu yağı tüm deney grupları için 0,5 mg/ml, 1 mg/ml, 2 mg/ml, 4 mg/ml, 8 mg/ml dozlarında hazırlanıp NGM içerisine eklendi (Kontrol ve pozitif kontrol (antihelmintik) grupları hariç). Çörek otu yağı bütün gruplarda %1'lik DMSO ile çözdürülerek hazırlandı. Deneylerde iki tür kontrol grubu kullanıldı. Bunlardan birisi sadece DMSO içeren (solvent kontrol) ve diğeri antihelmintik (400 M levamizol) içeren gruplardı. Peride katılaştıran NGM üzerine, LB (lutrient broth) sıvı besiyerinde çoğaltılan *E. coli* OP50 bakterisi ekildi ve *E. coli* çimenliği oluşturuldu (Şekil 3.2). Kuruyan çimenlik üzerine genç yetişkin bireyler aktararak deneyler başlatıldı.



Şekil 3.2. NGM üzerine *E. coli* ekimi yapılmış Petri Kabı (Fotoğraf F. C. Kürk Yıldız tarafından çekilmiştir.)

Ekim yapılan petrilerdeki yumurta, larva ve ergin dönemdeki *C. elegans*'ların görüntüsü Şekil 3.3'de gösterildi.



Şekil 3.3. Sağlıklı *C. elegans* görüntüsü (Fotograf NIKON CD-S marka stereo mikroskoptan F. C. Kürk Yıldız tarafından çekilmiştir.)

3.5. Yumurta Toplama İşlemi (Yaş Eşleştirmesi (Senkronizasyonu))

Yumurta toplama işlemi yapılarak tüm nematodların aynı yaş grubunda olarak deneye alınmaları sağlandı. Yumurta toplama işlemi için petri kaplarında bulunan *C. elegans* 'lar ve yumurtaları 3,5 ml steril saf su ile toplandı. Nematodlar ve yumurtaları saf su ile birlikte 15 ml'lik santrifüj tüplerine alındı. Hemen sonra üzerine taze olarak yeni hazırlanan 0,5 ml 5 N NaOH ile 1 ml çamaşır suyu karışımı eklendi ve karıştırıldı. Tüpler 2 dakikada bir 10 saniye süreyle vortekslemlendi. Vorteksleme işlemi 5 defa tekrarlandı. Vorteks işleminin ardından tüpler 3500 rpm de 30 saniye süreyle santrifüj edildi. Santrifüj sonunda çökeltiye dokunulmadan 1 ml seviyesine kadar dökelti kısmı alınıp atıldı, tüpe 1 ml steril distile su eklenip pipetaj yapıldı, sonrasında tekrar 3500 rpm de 30 sn süreyle santrifüj edildi. Bu işlem 3 defa tekrarlanarak ortam yıkaması yapıldı. Santrifüj işlemi tamamlandıktan sonra tüpte 0,5 ml sıvı kalacak şekilde dökelti atıldı. Çökelti kısmına nazikçe pipetaj yapıldı, çökeltideki nematod yumurtaları pastör pipetiyle besin çimenliği bulunan NGM üzerine damlalar halinde bırakılıp kuruması beklendi ve 20°C'de inkübatöre kaldırıldı.

3.6. Çörek Otu Yağı Alımı

Çörek otu yağı, diğer markalara oranla daha çok tercih edildiği tahmin edilen bir marka olarak eczaneden satın alınarak temin edildi.

3.7. Çörek Otu Yağı İçerik Analizi

Şişesi üzerinde içerik bilgilerinin tam olarak belirtilmediği ancak ayrıca bulunan ürün broşüründe kaba içerik bilgisine ulaşılan bir ticari ürün ile çalışıldığından, “çörek otu yağı örneği” yağ asidi içerik analizi GS-MS tarama, element analizi, Akdeniz Üniversitesi Gıda Güvenliği ve Tarımsal Araştırmalar Merkezi’ne yaptırıldı.

3.8. Normal Sıcaklıktaki Yaşam Uzunluğu Deneyi

Normal sıcaklıktaki yaşam süresi deneyi *C. elegans*’ın ömür uzunluğu süresince 20°C’ye ayarlanan inkübatörde gerçekleştirildi. Her gün aynı saatte canlı ve ölü nematod sayımı yapıldı, ölen nematodlar platin öze yardımıyla uzaklaştırıldı. Petriden kaçan ve hasta görünen nematodlar sayıma dâhil edilmedi. Nesillerin birbirleriyle karışarak deneyin doğru seyrini ve sayım işlemini etkilememesi için ömür uzunluğu deneylerinde yeni embriyo gelişimi ve yumurtaların çatlamasını önlenme amacıyla besiyeri hazırlanırken içine 10 µg/ml FUDR (5-Fluoro-2’-deoksiüridin) eklendi.

3.9. Sıcaklık Stresine Tolerans Deneyi

C. elegans’lar yaş senkronizasyon işleminin ardından genç yetişkin olduklarında kontrol grupları ve 0,5 mg/ml, 1 mg/ml, 2 mg/ml, 4 mg/ml ve 8 mg/ml dozlarında çörek otu yağı içeren petrilere aktarıldı. Petriler 20°C’ye ayarlanan inkübatörde 24 saat bırakıldı. 24 saat sonunda petriler 37°C’ye ayarlanan etüve kaldırıldı. Her iki saatte bir olmak üzere ölü nematodlar öze yardımıyla petriden uzaklaştırıldı ve sayıları not edildi. Sayıma bütün nematodlar ölüp petriden uzaklaştırılana kadar devam edildi.

3.10. Oksidatif Strese Tolerans Deneyi

Oksidatif bir ajan olan parakuat, konsantrasyonu 10mM olacak şekilde suda çözdürülerek petri kaplarındaki NGM agar yüzeylerine uygulandı. Petriler nematodlar transfer edilmeden önce kurumaları için bırakıldı ve kuruduktan sonra *E. coli* OP50 bakteri çimenlikleri oluşturuldu. Senkronizasyon yöntemiyle elde edilen genç yetişkin nematodlar petrilere transfer edilerek deneyler başlatıldı. Nematodların hareketleri gözlemlenerek ya da hareket etmiyorlarsa platin öze ile hafifçe dürtülerek yaşayıp yaşamadıkları kontrol edildi ve her gün ölen nematodlar sayılarak ortamdan uzaklaştırılarak sayıları not edildi. Petrilerden kaçan veya hasta görünen nematodlar deneyde dâhil edilmedi. Bütün nematodlar ölene kadar sayım devam etti.

3.11. Yumurtlama Potansiyeli Deneyi

Hermafrodit *C. elegans*’ların yumurtlama potansiyellerinde farklılık olup olmadığını belirlemek amacıyla genç yetişkin *C. elegans*’lar yumurtlamalarının kimyasal olarak engellenmediği NGM agar üzerine bırakıldı ve yumurtlama süresi sona erene kadar her gün aynı saatte bu yetişkin bireyler yeni bir petriye taşınarak yaşam ortamları

yenilendi ve geri kalan petrillerdeki yumurta sayıları not edildi. Petrilerden kaçan veya hasta görünen nematodlar deneye dâhil edilmedi.

3.12. Canlı Döl Verme Potansiyeli Deneyi

Hermafrodit *C. elegans* 'ların canlı döl verme potansiyellerinde değişiklik olup olmayacağını gözlemlemek için genç yetişkin *C. elegans* 'lar yumurtlamalarının ve gelişmelerinin kimyasal olarak engellenmediği, farklı dozlarda çörek otu yağı ve levamizol içeren NGM agar üzerine bırakıldı ve yumurtlamalarının ardından genç yetişkin bireylerin yaşam ortamları yenilendi ve arkada kalan yumurtalardan çıkan canlı birey sayıları aynı saatte not edildi, bu bireyler sayılarından emin olmak amacıyla iki gün takip edildi. Toplam yumurtadan çıkan canlı döl oranları belirlendi. Petrilerden kaçan veya hasta görünen nematodlar deneye dâhil edilmedi.

3.13. İstatistiksel Analizler

Normal sıcaklıkta yaşam süresi, sıcaklık stresine tolerans, oksidatif strese tolerans, yumurtlama potansiyeli, canlı döl verme potansiyeli deneyleri, SPSS 23.0 programında Kaplan-Meier yaşam analizi ve gruplar arası anlamlılık için log-rank testi kullanılarak karşılaştırmalar yapıldı. Canlı döl verme potansiyeli ve yumurtlama potansiyeli analizleri Kruskal Wallis testi kullanılarak yapıldı. Güven aralığı $p \leq 0.05$ olan sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

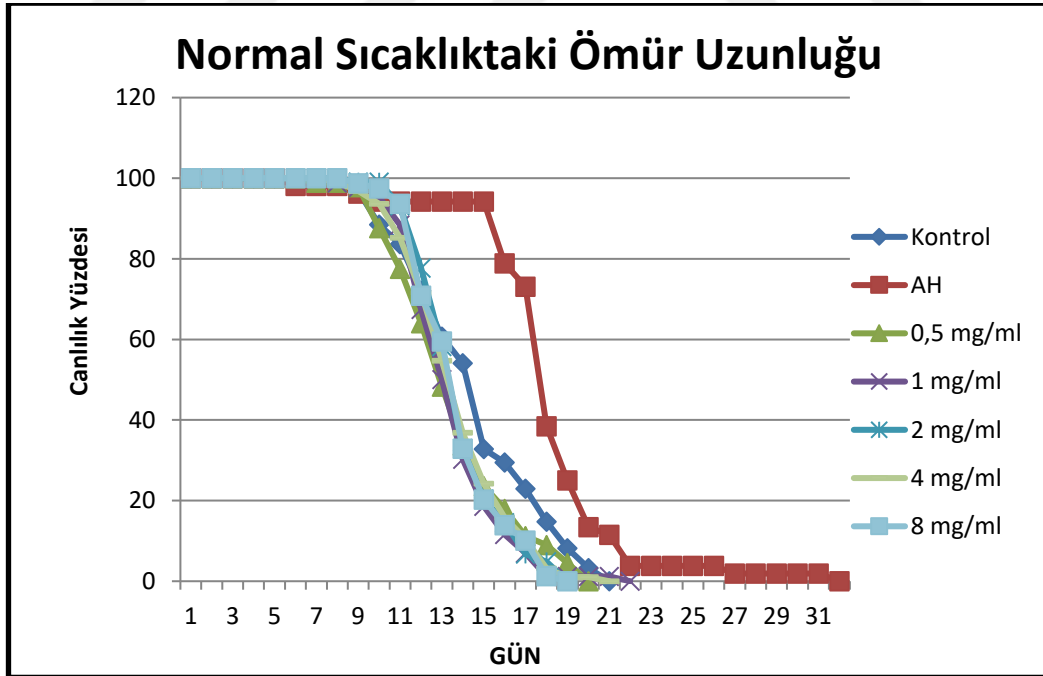
4. BULGULAR

4.1. Önçalışma Bulguları

Çalışmadan önce literatürde çörek otu yağı ve *C. elegans* çalışmalarını ararken, bu tür bir çalışmanın (bir poster özeti hariç) olmaması nedeniyle öncelikle çörek otu yağı bulunan ortamda *C. elegans*'ın yaşayıp yaşayamayacağına bakıldı. Bu ön denemede *C. elegans*'ın yağ bulunan ortamda yaşayabildiği ve hemen ölmediği gözlemlendi. Bu bilgi ışığında deneysel tasarımlar yapıldı. Deneysel tasarımda solvent kontrol grubu kullanmakla birlikte, bir de antihelmintik madde içeren ortamın bulunduğu kontrol grubu yani pozitif kontrol grubu kullanılması planlandı. Bu bağlamda pozitif kontrol grubunun (levamizol içeren) yaşam ortamında genç yetişkin *C. elegans*'ların aynı şekilde hemen ölmediği ancak felç olmuş gibi zor hareket ettikleri görüldü, buna rağmen bu ortamda uzun süre yaşayabildikleri ve yumurtlayabildikleri de gözlemlendi.

4.2. Normal Sıcaklıkta Ömür Uzunluğu Deneyi

İki kontrol grubu ve çörek otu yağının ve 0,5 mg/ml, 1 mg/ml, 2 mg/ml, 4 mg/ml, 8 mg/ml dozları olmak üzere yedi grup halinde gerçekleştirilen çalışmada her grup beş set olacak şekilde çalışıldı. Çalışma kontrolde 61 birey, antihelmintik kontrolde 52 birey, 0,5 mg/ml'lik dozda 89 birey, 1 mg/ml'lik dozda 86 birey, 2 mg/ml'lik dozda 103 birey, 4 mg/ml'lik dozda 95 birey, 8 mg/ml'lik dozda 79 bireyle tamamlandı, petrilere kaçan ve hasta görünen nematodlar sayıma dâhil edilmedi. Normal sıcaklıktaki yaşamsallık yüzde değerleri Şekil 4.1'de gösterildi.

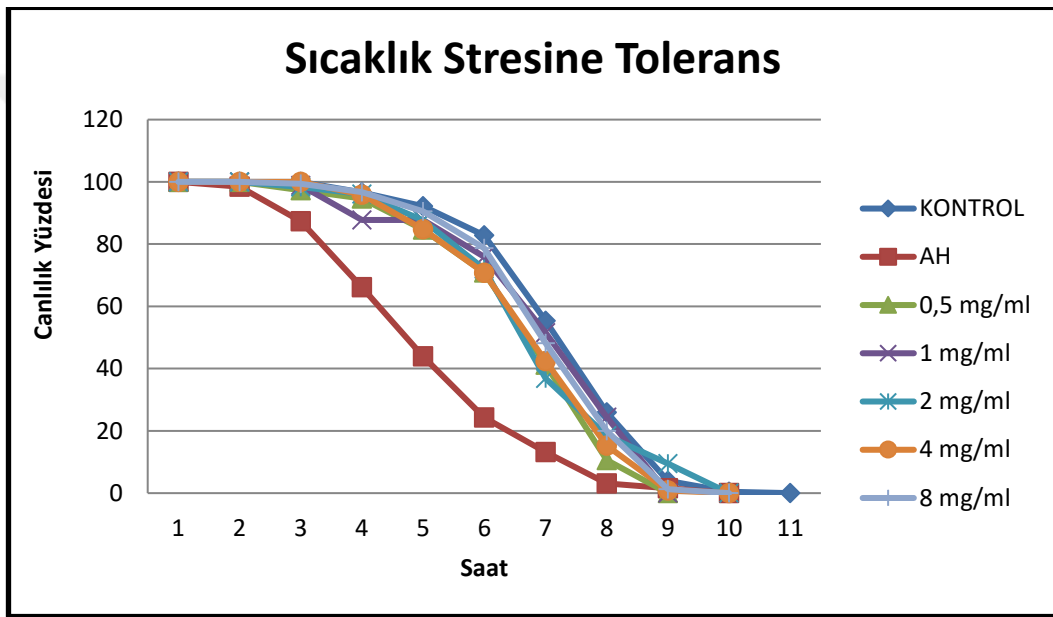


Şekil 4.1. Normal sıcaklıktaki ömür uzunluğu deneyinde *C. elegans* canlılık yüzdesi grafiği

İstatistiksel olarak çörek otu yağının kontrol grubuna göre bütün deney gruplarında nematodların ömür uzunluğunu anlamlı derecede kısalttığı bulundu ($p<0,05$).

4.3. Sıcaklık Stresine Tolerans (Termotolerans) Deneyi Sonuçları

Kontrol grupları ve çörek otu yağının ve 0,5 mg/ml, 1 mg/ml, 2 mg/ml, 4 mg/ml, 8 mg/ml dozları olmak üzere yedi grup halinde gerçekleştirilen çalışmada her grup beş set olacak şekilde çalışıldı. Çalışma, kontrol grubunda 204 birey, antihelmintik kontrol grubunda 189 birey, 0,5 mg/ml'lik doz grubunda 189 birey, 1 mg/ml'lik doz grubunda 262 birey, 2mg/ml'lik doz grubunda 179 birey, 4mg/ml'lik doz grubunda 243 birey ve 8 mg/ml'lik doz grubunda 305 bireyle tamamlandı, petrilere kaçan ve hasta görünen nematodlar sayılmadı. Sıcaklık stresine tolerans deneyinin yaşamsallık yüzde değerleri Şekil 4.2'de gösterildi.

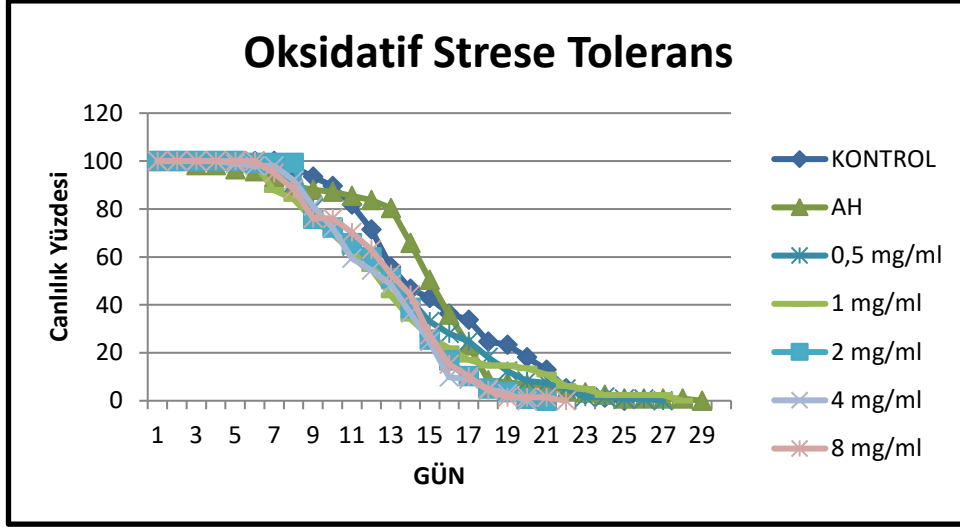


Şekil 4.2. Sıcaklık stresi deneyinde *C. elegans* canlılık yüzdesi grafiği

İstatistiksel olarak çörek otu yağının kontrol grubuna göre, 1 mg/ml çörek otu yağı konsantrasyon grubu hariç diğer gruplarda nematodların ömür uzunluğunu anlamlı derecede kısalttığı bulundu ($p<0,05$).

4.4. Oksidatif Strese Tolerans Deneyi

İki kontrol grubu ve çörek otu yağının 0,5 mg/ml, 1 mg/ml, 2 mg/ml, 4 mg/ml, 8 mg/ml dozları olmak üzere yedi grup halinde gerçekleştirilen çalışmada her grup beş set olacak şekilde çalışıldı. Çalışma kontrolde 77 birey, antihelmintik kontrolde 117 birey, 0,5 mg/ml'lik dozda 121 birey, 1 mg/ml'lik dozda 82 birey, 2 mg/ml'lik dozda 137 birey, 4 mg/ml'lik dozda 101 birey, 8 mg/ml'lik dozda 138 bireyle tamamlandı, petrilere kaçan ve hasta görünen nematodlar sayıma tabi tutulmadı. Oksidatif strese tolerans deneyinin yüzde yaşamsallık değerleri Şekil 4.3'te gösterildi.

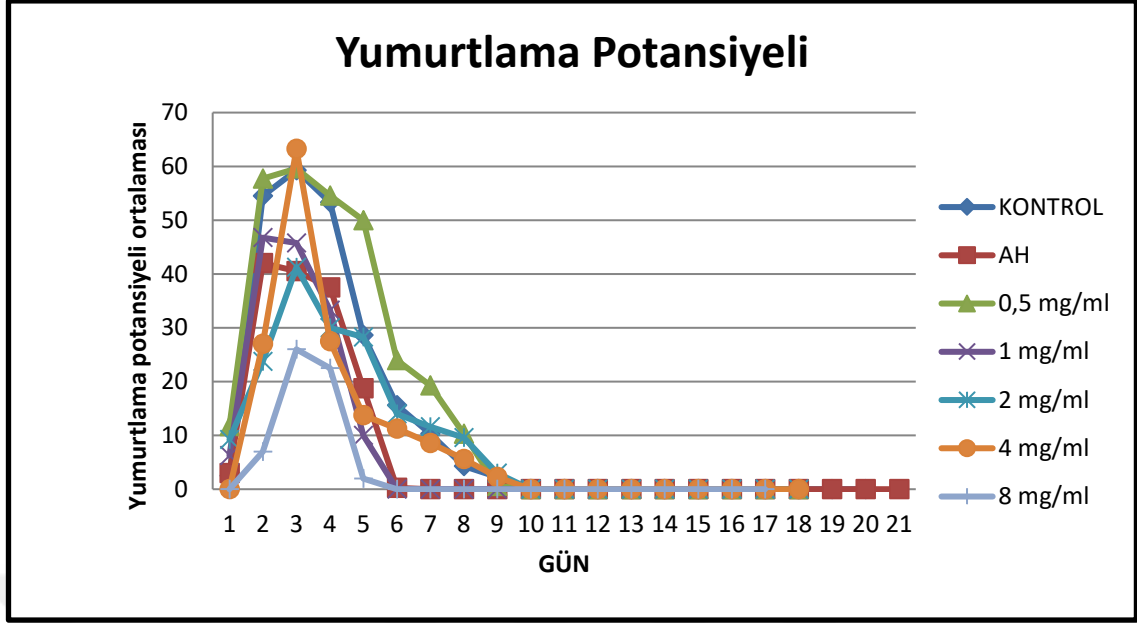


Şekil 4.3. Oksidatif strese tolerans deneyinde *C. elegans* canlılık yüzdesi grafiği

İstatistiksel olarak çörek otu yağının kontrol grubuna göre, antihelmintik kontrol, 0,5 mg/ml ve 1 mg/ml yağ içeren konsantrasyon grupları hariç diğer gruplarda nematodların ömür uzunluğunu anlamlı derecede kısalttığı bulundu ($p < 0,05$).

4.5. Yumurtlama Potansiyeline Etki Deneyi

İki kontrol grubu ve çörek otu yağının ve 0,5 mg/ml, 1 mg/ml, 2 mg/ml, 4 mg/ml, 8 mg/ml dozları olmak üzere yedi grup halinde gerçekleştirilen çalışmada her grup beş set olacak şekilde çalışıldı. Çalışma tüm gruplarda 20'şer bireyle tamamlandı, petrilere kaçan ve hasta görünen nematodlar sayıma tabi tutulmadı. Çörek otu yağının yumurtlama potansiyeline etkisi deneyinin ortalama değerleri Şekil 4.4'te gösterildi.

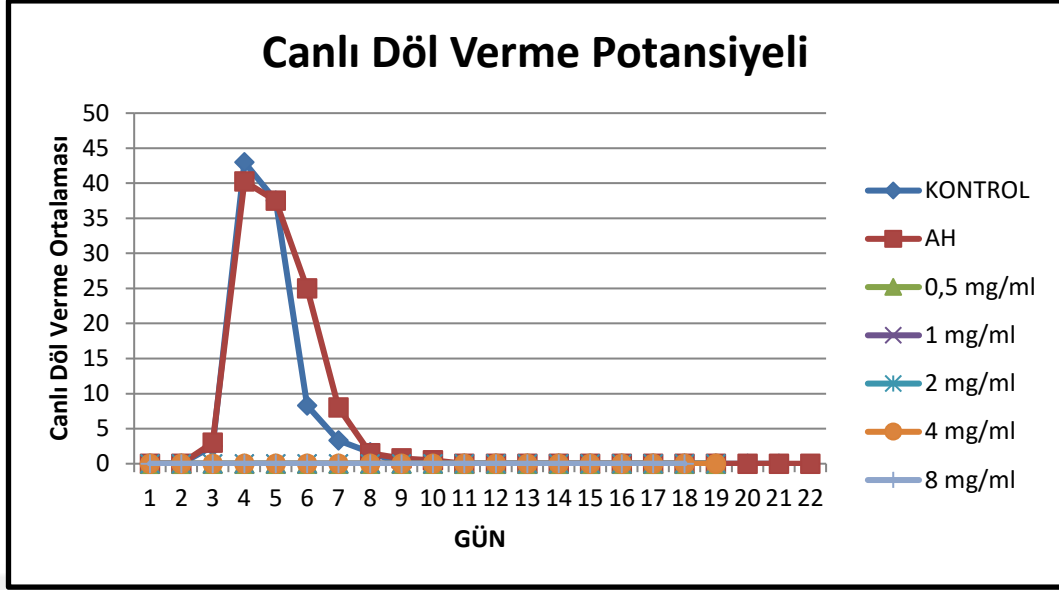


Şekil 4.4. Yumurtlama potansiyeline etki deneyinde *C. elegans* yumurtlama potansiyeli ortalaması grafiği

Çörek otu yağının yumurtlama potansiyeline etki deneyinde, kontrol grubuna göre diğer tüm deney gruplarının sonuçları istatistiksel olarak anlamsız bulundu ($p \leq 0.05$).

4.6. Canlı Döl Verme Potansiyeline Etki Deneyi

İki kontrol grubu ve çörek otu yağının ve 0,5 mg/ml, 1 mg/ml, 2 mg/ml, 4 mg/ml, 8 mg/ml dozları olmak üzere yedi grup halinde gerçekleştirilen çalışmada her grup beş set olacak şekilde çalışıldı. Çalışma tüm gruplarda 20'şer bireyle tamamlandı, petrilere kaçan ve hasta görünen nematodlar sayıma tabi tutulmadı. Çörek otu yağının canlı döl verme potansiyeline etkisi deneyinin ortalama değerleri Şekil 4.5'te gösterildi.



Şekil 4.5. Canlı döl verme potansiyeline etki deneyinde *C. elegans* canlı döl verme potansiyeli ortalaması grafiği

Kontrol ve antihelminetik kontrol grupları hariç diğer deney gruplarında, canlı döl beklediğimiz ilk günden itibaren hiç yumurtadan çıkış gözlenmediğinden bu gruplar arasında istatistiksel değerlendirme yapılamadı.

Canlı döl verme potansiyeline etki deneyinde, kontrol grubuna göre antihelminetik kontrol grubunun ikili karşılaştırma sonuçları istatistiksel olarak anlamsız bulundu ($p \leq 0.05$).

4.7. Çörek Otu Yağı Analiz Sonuçları

Akdeniz Üniversitesi Gıda Güvenliği ve Tarımsal Araştırmalar Merkezi'ne yaptırılan analizlerin tüm sonuçları Ek 1, Ek 2, Ek 3'tedir.

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada sağlıklı yaşama ve yaşlanma için gerekli olan hayat tarzı oluşturmada neredeyse ilk sırada yer alan beslenme ve besinin ilaç gibi kullanılması konularına bir yaklaşım sağlaması amacıyla kullanılacak veri üretilmesi amaçlandı. Çünkü besinlerimizin içine sağlık katkısı yüksek olan besini ilave etmek, özellikle de sağlıklı uzun ömürlülük sağlayacağı düşünülen besin maddelerini eklemek, yaşlılık hastalıklarına yakalanma durumunu geciktirebileceğinden ve bu sayede de daha kaliteli, daha aktif yaşamayı ve başarılı yaşlanmayı sağlayacağından dolayı oldukça önemlidir. Bu nedenle de son yıllarda çok fazla sayıda besin çeşidi hem sağlıklı beslenmeye katkı değerini bulmak hem de hastalıkların tedavisinde kullanmak üzere analiz edilerek *in vitro* ve *in vivo* etkileri yönünden değerlendirilmektedir.

Bu çalışmada ömür uzunluğu araştırmalarında sıklıkla tercih edilen bir model organizma olan *C. elegans* üzerinde çok sayıda pozitif sağlık etkisi olduğu bilinen ve oldukça yaygın olarak kullanılan bir alternatif tıp bitkisi olan çörek otunun ürünlerinden çörek otu yağının biyolojik etkileri araştırıldı.

Geleneksel halk sağlığında adından sıkça bahsedilen, ülkemizde aktarlardan, eczanelerden, gerekse de internet üzerinden satın alınabilecek olan çörek otu yağının ömür uzunluğuna, sıcaklık stres direncine, oksidatif stres direncine bakılarak ömrü uzatan ya da ömrü kısaltan bir etkisi olup olmadığı belirlenmeye çalışıldı. Bu amaçla yapılan ön denemede çörek otu yağı bulunan ortamda *C. elegans* 'ların yaşayabildiği görüldükten sonra deneysel tasarımlar yapıldı.

Üreme başarısı üzerindeki etkisi ölçülerek, canlının bir sonraki nesline bir sorun oluşturup oluşturmadığı da belirlenmeye çalışılırken, alternatif tıp ürünlerinden birine olan bakış açısına katkıda bulunulması amaçlandı.

Ayrıca bu tez çalışmasında alınan sonucun, ülkemizde aktarlar, eczane, internet pazarı gibi kanallar üzerinden satın alınabilen çörek otu yağına yeni bir bakış açısı kazandırarak, besin takviyelerinde yarar, zarar ve doz konularının değerlendirilerek bilinçli kullanılmasının önemini göstermesi amaçlandı.

Bu çalışmada vurgulanmak istenen bir diğer amaç, bir konak olmaksızın doğrudan bir nematod üzerinde çalışarak, çörek otu yağının antihelmintik/antiparazitik etki gösterip göstermeyeceğinin araştırılması ve literatüre bu konuda katkı sağlamaktır. Konak olmaksızın gözlenebilmesi olası olan antihelmintik/antiparazitik etki gözlemlendiği takdirde, helmintlerle enfekte olmuş memeli tedavileri ya da helmintlerle enfekte olmuş toprak iyileştirmeleri için organik kaynaklı ürün geliştirilmesi gibi yeni çalışmaların önünü açması da amaçlar arasındadır.

Ömür uzunluğu çalışması kapsamında elde edilen sonuçlara göre, çörek otu yağının tüm konsantrasyonlarda, normal sıcaklıkta (optimum yaşam ortamı sıcaklığı olan 20°C'de) *C. elegans* 'ın ömrünü kısalttığı bulundu. Kontrol grubuna karşı antihelmintik kontrol grubu ve çörek otu yağının farklı konsantrasyonları (0,5 mg/ml, 1 mg/ml, 2 mg/ml, 4 mg/ml, 8 mg/ml) karşılaştırmasındaki istatistiksel anlamlılık $p < 0,05$ değeri ile güvenilir bir sonuç verdi.

Yapılan sıcaklık stresine tolerans deneyinin sonuçlarına göre çörek otu yağının 1 mg/ml dozu hariç diğer tüm deney gruplarında nematodların ömrünü kısalttığı görüldü. Kontrol grubuna karşı, antihelmintik kontrol grubu ve çörek otu yağının farklı konsantrasyonları olarak çalışmada kullanılan 0,5 mg/ml, 2 mg/ml, 4 mg/ml, 8 mg/ml karşılaştırmasındaki istatistiksel anlamlılık $p < 0,05$ değeri ile güvenilir bir sonuç verdi. Ancak 1 mg/ml'lik doz için anlamlı bir sonuç görülmedi ($p > 0,05$). 1 mg/ml'lik dozun en düşük doz ya da en yüksek doz olmayışından yani orta değerde bir doz oluşundan dolayı elde edilen sonucun deneysel bir hata kaynaklı olmuş olabileceği yorumlandı.

Oksidatif strese direnç çalışması sonuçlarına göre çörek otu yağının, 0,5 mg/ml ve 1 mg/ml konsantrasyon grupları haricinde nematodların ömrünü kısalttığı not edildi ($p > 0,05$). Kontrol grubuna karşı, antihelmintik kontrol grubu ve çörek otu yağının 2 mg/ml, 4 mg/ml, 8 mg/ml karşılaştırmasındaki istatistiksel anlamlılık $p < 0,05$ değeri ile güvenilir bir sonuç verdi. Ömür uzunluğunu kısaltmayan 0,5 ve 1 mg/ml'lik dozların en düşük iki doz oluşundan dolayı, bunlardan elde edilen sonuçlar düşük doz yağ oranının oksidatif strese karşı cevabı olumlu ya da olumsuz etkilemediği şeklinde yorumlandı. Yani yüksek dozlardaki çörek otu yağı oksidatif strese cevabı negatif yönde etkilerken, düşük dozlardaki yağ oksidatif stres cevabında herhangi bir etki göstermedi.

Yumurtlama potansiyeline etkilerinin araştırıldığı çalışmanın sonucuna göre çörek otu yağının, çalışma kapsamında kullanılan hiçbir dozunda kontrol grubuna karşı az sayıda azalma olmakla birlikte, istatistiksel olarak anlamlı sonuç göstermediği bulundu. Yani çörek otu yağının nematodların yumurtlamasına engel olmadığı görüldü ($p > 0,05$).

Çalışmanın en çarpıcı sonuçlarının elde edildiği kısmı olan canlı döl verebilme potansiyeli çalışması sonucunda, tüm çörek otu içeren konsantrasyonlardaki (0,5 mg/ml, 1 mg/ml, 2 mg/ml, 4 mg/ml, 8 mg/ml) Petri kaplarında yumurtalardan canlı birey çıkmadığı görüldü. İstatistiksel veri analizi yapılacak canlı birey sayısı elde edilemediğinden istatistiksel değerlendirme yapılamadı. Bununla beraber, deneysel tasarımı bulunan iki farklı kontrol grubunun yumurta sayıları karşılaştırılması istatistiksel olarak yapılabildi ve aralarında anlamlı sonuç elde edilmedi. Yani, yağsız kontrol ortamında ve antihelmintik bileşik bulunan ortamda yumurtalardan canlı larva çıkışı gerçekleşti. Ancak solvent kontrol grubunda yumurtalardan sağlıklı larvalar çıkmış ve büyümüş olmakla birlikte, antihelmintik kontrol grubunda yumurtalardan çıkan larvaların büyüyemedikleri gözlemlendi. Antihelmintik kontrol grubunda kullanılan antihelmintik madde levamisolün etki şeklinin genç yetişkin nematodlarda sadece hareket engelleyicisi olmasından öte büyüme ve olgunlaşma engelleyicisi olduğu, çörek otu yağının ise genç yetişkin nematodlarda hareket engelleyicisi olmamakla birlikte embriyo gelişimini engelleyici/durdurucu etkisi olduğu görüldü. Bu bağlamda kontrol grubu hariç diğer deney gruplarında antihelmintik etki gözlenmiş oldu. Sonuçta çörek otu yağının bir şekilde antihelmintik özelliği olduğu ve bu özelliğin de teratojenik etkiden kaynaklanabileceği yorumlandı.

Ekanem ve Yusuf (2008) çörek otu tohumu yağının bazı serum ve karaciğer enzimleri üzerindeki aktivitesini, *Trypanosoma brucei* ile enfekte olan sıçanlar üzerinde incelenmişlerdir. Çalışma bulgularına göre, enfekte olmuş sıçanlarda parazit infeksiyonunun azaldığını ve ömür uzunluklarının önemli ölçüde arttığını görmüşlerdir. Çalışma sonucunda tüm bunlarla beraber serum alkalen fosfataz aktivitelerinde ve

glutamat oksaloasetat ve glutamat pürivat transaminazlarda da anlamlı artışlar, karaciğer enzim aktivitelerinde ise anlamlı azalışlar görmüşlerdir. Araştırmacılar çörek otu tohumu yağının gözlenen bu antiparazitik etkisinin, çörek otu tohumu yağının konakçının bağışıklık sistemine olan katkısından kaynaklandığını düşündüklerini bildirmişlerdir. Ekanem ve Yusuf'un çalışmasından farklı olarak, bu çalışma, konak olmaksızın serbest yaşayan bir nematodda çörek otu yağının gösterdiği bu antihelmintik/antiparazitik etkiyi test edilebilir hale getirebilebileceğini doğruladığından önem taşımaktadır.

Mahmoud vd. (2016) yaptıkları çalışmada çörek otunun sulu ve alkollü özütlerinin yanı sıra çörek otu tohumu yağının tedavi edici potansiyelini incelemişlerdir. Çalışmada çörek otunun preparatlarının farklı konsantrasyonları, kültürlenmiş *Trichomonas vaginalis* trofozoitleri (bir sporozoonun ergin safhası) ile *in vitro* olarak inkübe edilmiş ve büyüme üzerindeki etkileri aynı koşullar altında metronidazol (antibiyotik ve antiprotozoal) ile karşılaştırılmıştır. Çalışma sonucunda hem alkollü ekstraktın ve hem de çörek otu yağının *T. Vaginalis* infeksiyonunu tedavi etmede metronidazol kadar etkili maddeler olduklarını kanıtlamışlardır. Bu çalışmada ise antihelmintik kontrol olarak kullanılan levamizolün canlı dölün büyümesine karşı var olan olumsuz etkisi gibi, çörek otu yağı içeren tüm konsantrasyonlarda aynı olmasa da daha etkili olarak yumurtadan çıkışı engellediği gözlenmiştir.

Mahmoud vd. (2002) çalışmalarında *Schistosomiasis mansoni* ile enfekte olmuş farelerde tedavi amaçlı çörek otu kullanmışlardır. Çalışma sonucunda hem karaciğer hem de bağırsaklardaki yumurta sayısı azalmış ve bağırsak duvarı üzerinde ölü solucan sayısı artmıştır. Bu çalışmada benzer olarak kontrol grubuna kıyasla çörek otu yağı içeren tüm konsantrasyonlarda (0,5 mg/ml, 1 mg/ml, 2 mg/ml, 4 mg/ml, 8 mg/ml) yumurta sayısının bir miktar azaldığı görüldü ancak bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

Çörek otu tohumlarının antiparazitik özelliklerini araştıran Mohamed vd. (2005), *S. mansoni*'nin mirasidyum, serkarya ve yetişkin dönemlerindeki bireylerine karşı DMSO'da ezilmiş çörek otu tohumunu *in vitro* olarak test etmişlerdir. Sonuçlara göre çörek otu tohumları parazitin bütün evrelerinde çok güçlü biosidal etki göstermiştir. Buna ek olarak özellikle erişkin dişi kurtların yumurta bırakmalarını baskılamıştır. Mohamed vd. aynı çalışmada ayrıca, konakçının oksidan etki nedeniyle ölümüne karşı, yetişkin kurtların korunabilmesinde görevi olduğu bilinen kurdun bazı antioksidan enzimlerinin üzerinde ezilmiş haliyle çörek otu tohumu etkilerini ve yine bununla beraber konakçıların içindeki yetişkin kurtların hayatta kalmasında önemli görevi olduğu bilinen glikoz metabolizmasından bazı enzimlerin aktivitelerini çalışmışlardır. Çalışmanın sonuçlarına göre, yetişkin kurtlarda çörek otu tohumunun, antioksidan enzimler, superoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz ve glikoz metabolizma enzimleri, heksokinaz ve glikoz-6-fosfat dehidrogenaz enzimlerinin aktivitelerindeki azalma durumuyla kendini gösteren bir oksidatif stres durumu oluşturduğu gösterilmiştir. Mohamed vd. (2005)'nin çalışmalarına benzer olarak bu çalışmada da çörek otu yağı *C. elegans* üzerinde biosidal etki göstermiştir. Bu çalışmada yağın oksidatif stres oluşturma etkisi yerine, parakuat ile oksidatif stres oluşturulan ortamlarda oksidatif strese verilen cevabı test edilmiş olup, çörek otu yağının test gruplarında stres cevabını, 0,5 mg/ml ve 1 mg/ml dozlar hariç diğer tüm dozlarda oksidatif strese cevabı azalttığı gözlenmiştir. Yani bu dozlarda antihelmintik etkisini bariz şekilde arttırmıştır. En düşük iki dozda ise antihelmintik etkiyi çok fazla değiştirmemiştir.

Aboul-Ela (2002) üçüncü dünya ülkelerinde görülme sıklığı fazla olan *Şistozomiyazis* ile enfekte olmuş farelerin dalak hücreleri üzerinde yaptığı *in vivo* çalışmada hem çörek otu özütünün hem de timokinonun, şistozomiyazis kaynaklı olduğu bilinen konağın kromozomal deformasyonlarına karşı potansiyel koruyucu etkisini çalışmıştır. *Schistosoma* türünün sebep olduğu bilinen esas anormalliklerin özellikle kromozom 2, 6, 13 ve 14'de olmak üzere boşluklar, fragmanlar ve delesyonlar olduğu gösterilmiştir. Çalışma sonucunda hem çörek otu özütü hem de timokinon, şistozomiyazis enfeksiyonu sonucu ortaya çıkan kromozomal aberasyonlara (normalden sapma) karşı koruyucu maddeler olarak kabul edilmiştir. *Schistosoma* türüne karşı toksik olduğu bildirilen çörek otu ürününün bu toksik etkisi, bu çalışma kapsamında *C. elegans* üzerinde de görülmüştür. Aboul-Ela'nın bu çalışmasında belirtildiği gibi çörek otunun uçucu yağının aktif temel bileşenlerinden biri olan timokinonun da *C. elegans* üzerinde benzer etki gösterip göstermeyeceği ayrıca test edilmelidir, bu konuda yapılmasını planladığımız ileriki çalışma, tarafımızca tasarlanmıştır.

Bu çalışma kapsamında kullanılan çörek otu yağının Akdeniz Üniversitesi Gıda Güvenliği ve Tarımsal Araştırmalar Merkezi'ne yaptırılan GC-MS tarama analizi sonuçlarına göre, yağ içeriğinde en fazla bulunan madde, linoleik asit (%80,07)'tir. Bu tez çalışması kapsamında kullanılan çörek otu yağının içeriğindeki timokinon oranı, Akdeniz Üniversitesi Gıda Güvenliği ve Tarımsal Araştırmalar Merkezi'nde analiz için gerekli alt yapı olmadığından ve bu nedenle burada yapılamadığından bilinmemektedir. Tasarlanan ileriki çalışmalar için bu analizin yapılması çalışmaların sonucunun değerlendirilmesini ve yorumlanmasını kolaylaştıracaktır. "GC-MS tarama" analizi sonuçları, tez çalışması kapsamında kullanılan çörek otu yağının "yağ asidi tarama" sonuçlarıyla da birbirini desteklemektedir. Akgören-Palabıyık ve Aytaç (2018), ülkemizde yetişen çörek otunun sabit ve uçucu yağlarının kimyasal bileşimini araştırdıkları çalışmada çörek otu yağı içeriğindeki linoleik asit oranı %39,20-43,74 arasındadır. Çalışmamızda kullanılan ticari olarak satın alınan çörek otundaki linoleik asit değeri bu değerin yaklaşık iki katı kadardır. Bu bağlamda kullandığımız ticari çörek otu yağının saf çörek otu yağı olmadığı, başka bitkisel yağları da içerdiği şeklinde yorumlandı. Böyle olmakla birlikte ticari olarak satın alınan çörek otu yağının antihelmintik etkisini gösterecek kadar da çörek otu yağı olduğu görüldü. Ayrıca tez kapsamında kullanılan çörek otu yağının element analizi yapılmış ve analiz sonuçlarına göre yağ içeriğinde, Al (980 µg/L), Fe (44 µg/L), Mn (1,8 µg/L), Cu (38,4 µg/L), Zn (81 µg/L), Cr (21,7 µg/L) bulunmuştur. Element analizlerindeki bu sonuçlar, çörek otunun element içeriği olarak değerli bir besin takviyesi olabileceğini gösterdi. Fakat dikkat çeken yüksek olduğu düşünülen alüminyum değeri konusunda yapılan araştırmalarda Türk Gıda Kodeksi'nde besin içerisinde izin verilmiş sınır değerler olmadığı görüldüğünden yorumlanamadı. Alüminyum içerik miktarının sağlık etkileri açısından ileri değerlendirmesinin yapılması gerekliliği olabilir, çünkü son yıllardaki görüşe göre alüminyum, özellikle yaşlılık hastalıklarından olan nörodejeneratif hastalıkların (demansların) oluşumunda yer alıyor olabilir.

Çalışmamız sonucunda elde edilen bulgular, çörek otu yağının antihelmintik/antiparazitik etkisinin araştırılması açısından literatüre katkı vermekle birlikte, özellikle ekibimiz için *C. elegans* üzerinde yapılacak toksik çalışmalar açısından bir başlangıç çalışması olmuştur. Başka toksikoloji çalışmalarının da bu model organizma ile yapılabileceğini göstermektedir.

Gebe canlıların gebelik dönemlerinde bazı ilaçlara ve kimyasal maddelere maruz kaldıklarında bu maddelerin etkileri sonucu yavrularında meydana gelen malformasyonlara ve etken maddenin yapısına ve dozuna baēlı olarak meydana gelen yavru ölümü durumuna teratojenezis (teratojenik etki) denilmektedir ve bu çalışmada da çörek otu yaēının *C. elegans*'ın canlı döl verme potansiyeli üzerinde göstermiş olduēu çarpıcı etki göz önünde bulundurulduğunda, çörek otu yaēının içerisindeki bileşenlerin nematod yumurtalarının gelişimini engellediēi görölmüşür. Çörek otu yaēının gösterdiēi embriyo gelişimini engelleyen bu etkiyle, çörek otu yaēının *C. elegans* üzerinde teratojenik etki gösterdiēi söylenebilir. İnsanlar üzerinde çok sayıda saēlık yararı bilinen bir bitkinin antihelmintik etkisini teratojenik etkiye bağlamamızdan dolayı, insan fetal döneminde de aynı etkiyi gösterip göstermeyeceēi açısından deēerlendirilmesi gerekliliēi düşünölmektedir.



6. SONUÇLAR

Beşerî ve veteriner hekimlik gibi alanlarda yapılan araştırmaların çoğu hem koruyucu hekimlikte hem de hastalıkların tedavi edilmesinde sentetik ilaçların ve kimyasal maddelerin kullanılması yerine, bitkilerden elde edilen ürünlerin kullanımını teşvik etmektedir (Dattner 2003).

Çörek otu ve çörek otu tohumlarından elde edilen ürünler hem halen baharat olarak hem de yıllardır halk tıbbında bilinen çok sayıda faydalı etkisi sebebiyle en sık kullanılan bitkilerden biridir. Günümüzde de halen çörek otu ve çörek otu tohumundan elde edilen ürünler eczanelerde (markalı), aktarlarda (markalı veya markasız), internet pazarında ve hatta elden olmak üzere, geleneksel ve alternatif tıp alanına katkı olarak, satılmaktadır ve bu ürünlere kolaylıkla ulaşılabilir.

Bu çalışma insanların bu kadar kolay ve hızlı ulaşabildiği çörek otu bitkisinin ve ürünlerinin kullanımında yarar, zarar ve doz etkisinin önemine ve bilinçli kullanılmasının gerekliliğine dikkat çekmektedir. Bu çalışma kapsamında ticari olarak satılan çörek otu yağının sağlık boyutuna odaklanıldığından, çalışma tasarımındaki yağ örneği temini ticari olarak satılan çörek otu yağı hazır alınarak yapıldı, fakat bu çalışmanın değişik kaynaklardan elde edilmiş çörek otu ürünü örnekleriyle de çalışılmasının ve sonuçların benzerlik ve farklılıklarının tartışılmasının gerektiği görüldü.

Rhabditidae familyasından bir tür nematod olan *C. elegans* serbest yaşayan yani parazit olmayan bir canlıdır. Ancak *C. elegans* insan ve hayvanlardaki parazit solucan infeksiyonlarına karşı kullanılan antelmintik ilaçların çoğuna duyarlıdır (Holden-Dye ve Walker 2007). Bu nedenle çörek otu yağının antiparazitik ya da antihelmintik aktivitesinin model organizma olarak, parazit olmayan bir nematod türü olan *C. elegans* kullanılarak doğrulanmasıyla, antihelmintik/antiparazitik çalışma sonuçlarının diğer helmintler açısından da yorumlamasını sağlayarak, bu konuda literatüre katkıda bulunmuştur. Aynı zamanda moleküler genetik çalışmalarında sıklıkla tercih edilen bir model organizmanın bu alanda kullanılmasıyla, ileride yapılacak antihelmintik/antiparazitik araştırmaların moleküler düzeyde araştırılmasına olanak sağlayacağı görülmüştür.

Bu tez çalışması toprakta serbest halde yaşayan, parazitik özellik göstermeyen yani konağa ihtiyaç duymayan bir nematod türü üzerinde antihelmintik/antiparazitik çalışma yapılabilirdiğini gösterdiğinden, helmintlerle infekte olmuş memeli tedavileri ya da helmintlerle infekte olmuş toprak iyileştirmeleri için de yeni bakış açıları geliştirmeyi sağlayacaktır. Çıkarılan bu sonuçlarla çörek otu bitkisinin hem veterinerlik hem insan sağlığı hem de zirai mücadelede doğal bir ürünle etkili sonuç alınabileceğini göstermesi bakımından büyük önem taşımaktadır. Çörek otu bitkisi böceklerle karşı zirai mücadelede kullanılabilecek bir bitki olarak bazı araştırmalara konu olmuştur. Kısmen bu tür etkisi olduğu bilinen bir bitki olmakla birlikte korunması planlanan diğer bitkinin ürün verimliliğine herhangi bir olumlu katkısı olmadığı da belirtilmektedir (Yılmaz ve Telci 1997). Ancak bu çalışmanın tam canlı bitki ile yani tarlaya ekilerek yapılması söz konusudur. Çalışmamızın sonuçları ise bu tür çalışmaların çörek otu bitkisi özütleriyle yapılması gerekliliğini göstermesi bakımından yeni bir zirai mücadele bakış açısı geliştirilmesine katkı sağlayabilir.

Normal şartlarda parazitler ancak bir konak içinde canlı ve aktif olabildiğinden, parazitlere karşı toksik veya öldürücü olup olmadığı araştırılan bir maddenin konağa uygulanması gerekmektedir. Ancak bu durumda elde edilen sonuçların parazitin metabolizması ve konağın metabolizmasıyla ayrı ayrı etkileşimi göz önüne alınarak yorumlanması gerekmektedir. Bu çalışma özellikle bilinen çok sayıda faydalı etkisinin yanında antihelmintik/antiparazitik etkisini, serbest yaşayan bir nematod üzerinde, özellikle bir konağa ihtiyaç duymadan test edilebilir kıldığından önemlidir.

Çörek otu yağı içerisindeki aktif bileşenlerin kullanılmasıyla antihelmintik aktivitenin moleküler düzeyde araştırılması da önemli görülmektedir. Bu bağlamda ekibimizin ileriki çalışmaları da bu yönde planlanmıştır. Sonuç olarak yaptığımız çalışmada elde ettiğimiz verilerin ileride yapılacak olan ömür uzunluğu, sıcaklık stresi, oksidatif stres, yumurtlama potansiyeli, canlı döl verme potansiyeli ve teratojenik etki araştırmalarında araştırmacılara yol gösterici olabileceği düşünülmektedir.

Dünyanın bazı bölgelerinde, en çok da gelişmemiş bölgelerdeki maalesef hiç tedavi şansı bulamayan bu nedenle sürekli parazit enfeksiyonu ile yaşayıp, erken ölen insanların ve/veya hayvanların çörek otu ile tedavi seçeneği yakalaması oldukça mümkündür. Üstelik de son derece kolay ulaşılabilir, ucuz ve etkili bir yol olabilir. Başka bir sorun, parazitlerin zamanla onlara karşı kullanılan antiparazitik ilaçlara direnç geliştirebilmeleridir. Bu sonuçlar ile çörek otu yağının antiparazitik ilaçlar ile parazit tedavilerine ek, tedavi destekleyici doğal ürün olarak ya da bu tür enfeksiyonlara karşı koruyucu/önleyici olarak kullanılması önerilebilir. Bir başka taraftan da zirai mücadelede de toprak nematodlarının, yine kullanılan zirai mücadele ilaçlarına karşı direnç geliştirmesi söz konusu olduğundan, aynı şekilde zirai mücadelede kullanılan kimyasallara kombine tedavi geliştirilmesi amacıyla çörek otu ürünlerinin eklenmesi önerilebilir. Bu amaçlarla farklı tasarımlara sahip yeni araştırmaların devam etmesi gerekliliği vardır.

7. KAYNAKLAR

- Abay, E., 2006. Bazı Bitki Ekstraktlarının Antibakteriyal Etkilerinin Disk Difüzyon Yöntemiyle Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Kafkas Üniversitesi, Kars, 38 s.
- Abdel-Fattah, A.F.M., Matsumoto, K., Watanabe, H. 2000. Antinociceptive beffects of *Nigella sativa* oil and its major component, thymoquinone in mice. *EuropeanJournal of Pharmacolog*, 400: 89-97.
- Aboul Ela, M.A., El-Shaer, N.S., Ghanem, N.B. 1991. Antimicrobial evaluation and chromatographic analysis of some essential and fixed oils. *Pharmazie*, 51(12): 993-994.
- Aboul-Ela, E.I. 2002. Cytogenetic studies on *Nigella sativa* seeds extract and thymoquinone on mouse cells infected with schistosomiasis using karyotyping. *Mutat. Res*, 516: 11 – 17.
- Accili, D. and Arden, K.C. 2004. FoxOs at the crossroads of cellular metabolism, differentiation and transformation. *Cell*, 117: 421-426.
- Ahmed, W.A., Hassan, S.A., Galeb, F.M., El-Taweel, M.A., Abu-Bedair, F.A. 2008. The *in vitro* promising thymoquinone on hepatocellular carcinoma (HepG2) cell line. *Global Veterinaria*, 2(5): 233-241.
- Al-Enazi, M.M. 2007. Effect of thymoquinone on malformations andoxidative stres-induced diabetic mice. *Pak. J Biol Sci*, 10 (18): 3115-3119.
- Ali, B.H., Blunden, G. 2003. Pharmacological and toxicological properties of *Nigella sativa*. *Phytother. Res*, 17: 299– 305.
- Aljabre, S.H.M., Randhawa, M.A., Akhtar, N., Alakloby, O.M., Alqurashi, A.M., Aldossary, A. 2005. Antidermatophyte activity of ether extract of *Nigella sativa*and its active principle, thymoquinone. *J. Ethnopharmacol*, 101: 116-119.
- Altun, Z.F. and Hall, D.H. 2009. Introduction. In *WormAtlas*. Doi:10.3908/wormatlas.1.1 [Son erişim tarihi: 27.11. 2018].
- Amrit, F.R.G., Ratnappan R. and Keith S.A. 2014. The *C. elegans* lifespan assay toolkit, *Methods*, 68(3): 465–475.
- Badary, O.A. 1999. Thymoquinone attenuates ifosfamide-induced Fanconi syndrome in rats and enhances its antitumor activity in mice. *J. Ethnopharmacol*, 1999; 67: 135-142.
- Badary, O.A., Abdel-Naim, A.B., Abdel-Wahab, M.H., Hamada, F.M. 2000. The influence of TQ on doxorubicin-induced hyperlipitemic nephropathy in rats. *Toxicology*, 143: 219-226.

- Badary, O.A., Abdel-Naim, A.B., Abdel-Wahab, M.H., Hamada, F.M.A. 2000. The influence of thymoquinone on doxorubicin-induced hyperlipidemic nephropathy in rats. *Toxicology*, 143(3): 219-226.
- Banerjee, S., Kaseb, A.O., Wang, Z., Kong, D., Mohammad, M., Padhye, S., Sarkar, F.H., and Mohammad, R.M. 2009. Antitumor Activity of Gemcitabine and Oxaliplatin Is Augmented by Thymoquinone in Pancreatic Cancer. *American Association for Cancer Research*, 69(13): 5575–83.
- Barsyte, D., and Lithgow G. 2001. Longevity and heavy metal resistance in daf-2 and age-1 long-lived mutants of *Caenorhabditis elegans*. *Faseb*, 15: 627-634.
- Baytop, T. 1984. Türkiye’de Bitkiler İle Tedavi. İ.Ü. Yayınları No:3255, İstanbul, 520 s.
- Bhatti, U.İ., Rehman, F.U., Khan, M.A., Marvat, S.K. 2009. Effect of Prophetic Medicine Kalonji (*Nigella sativa* L) *Agriculture and Biology*. 3: 184-18.
- Brenner, S. 1974. The Genetics of *Caenorhabditis elegans*. *Genetics*, 77: 71-79.
- Byerly, L., Cassada, R.C. and Russell, R.L. 1976. The life cycle of the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Dev. Biol.* 51: 23-33.
- Campbell N.A. and Reece J.B. 2008. Biyoloji. Palme Yayınları:381, Ankara, 1281 s.
- Corsi, A.K. 2006. A Biochemist’s Guide to *C. elegans*, *Anal Biochem*, 359(1): 1–17.
- Çenet, M. ve Toroğlu, S. 2006. Tedavi amaçlı kullanılan bazı bitkilerin kullanım alanları ve antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi için kullanılan metodlar. *KSÜ Fen ve Mühendislik Dergisi*, 9(2): 12-20.
- Dattner, A.M. 2003. From Medical Herbalism to Phytotherapy in Dermatology: Back to the Future. *Dermatologic Therapy*, 16: 106-113.
- Deline, M. N., Vrablik, T.L., Watts, J.L. 2013. Dietary Supplementation of Polyunsaturated Fatty Acids in *Caenorhabditis elegans*. *Journal of visualized experiments: JoVE*. DOI:10.3791/50879
- Demirci, M. 2006. Gıda Kimyası. Kişisel Yayınlar, İstanbul, 290 s.
- Ekanem, J.T. and Yusuf, O.K. 2008. Some biochemical and haematological effects of black seed (*Nigella sativa*) oil on *T. brucei*-infected rats. *African Journal of Biomedical Research*, 11: 79 – 85.
- El Shenawy, N.S., Soliman, M.F., Reyad, S.I. 2008. The effect of antioxidant properties of aqueous garlic extract and *Nigella sativa* as anti-schistosomiasis agents in mice. *RevInst Med Trop Sao Paulo*, 50: 29-36.
- El-Abhar, H.S., Abdallah, D.M., Saleh, S. 2003. Gastroprotective activity of *Nigella sativa* oil and its constituent, thymoquinone, against gastric mucosal injury induced by ischaemia/reperfusion in rats. *J. Ethnopharmacol*, 84: 251– 258.

- El-Kamali, H.H., Ahmad, A.H., Mohammad, A.S., Yahia, A.A.M., El-Tayeb, I., Ali, A.A. 1998. Antibacterial properties of essential oils from *Nigella sativa* seeds etc. *Fitoterapia*, 69: 77–78.
- Engelmann, I. and Pujol, N. 2010. Innate immunity in *C. elegans*. *Adv Exp Med Biol*. 708: 105-121.
- Evans, W.C. 2002. Trease and Evans Pharmacognosy. 15th. Edition, New York: WB Saunders, Edinburgh, 585 s.
- Ewbank, J. J. 2006. Signaling in the immune response. *WormBook*, ed. The *C. elegans* Research Community, WormBook, http://www.wormbook.org/chapters/www_signalingimmuneresponse/signalingimmuneresponse.html [Son erişim tarihi: 27.11.2018].
- Fararh, K.M., Shimizu, Y., Shiina, T. 2005. Thymoquinone reduces hepatic glucose production in diabetic hamsters. *Research in Veterinary Science*, 79: 219-223.
- Ferdous, A.J., Islam, S.N., Ahsan, M., Hasan, C.M., Ahmed, Z.U. 1992. Invitro antibacterial activity of the volatile oil of *Nigella sativa* seeds against multiple drug-resistant isolates of *Shigella spp* and isolates of *Vibrio-cholerae* and *Escherichia-coli*. *Phytother. Res*, 6(3): 137-140.
- Fico, G., Panizzi, L., Flamini, G., Braca, A., Morelli, I., Tomè, F., Cioni, PL. 2004. Biological screening of *Nigella damascena* for antimicrobial and molluscicidal activities. *Phytother Res*, 18: 468-470.
- Ghosheh, O.A., Houdi, A.A., Crookscor, P.A. 1999. High performance liquid chromatographic analysis of pharmacologically active quinones and related compounds in the oil of the black seed (*Nigella sativa* L). *J Pharmaceut and Biomed Anal*, 19: 757-762.
- Gün, M., 2011. Kutsal Tohum (*Nigella sativa* L.) Çörek Otunun İyileştirici Etkisine İlişkin Bazı Bilgiler, VII. Lokman Hekim Tıp Tarihi ve Folklorik Tıp Günleri, ss 44, 11–14 Mayıs 2011, Çukurova Üniversitesi, Mersin Üniversitesi, Mersin.
- Halawani, E. 2009. Antibacterial acativity of thymoquinone andthymohydroquinone of *Nigella sativa* L. and their interaction with someantibiotics. *Advances in Biological Research*, 3(5-6): 148-152.
- Hanafy, M.S., Hatem, M.E. 1991. Studies on the antimicrobial activity of *Nigella sativaseed* (black cumin). *J. Ethnopharmacol*, 34: 275–278.
- Heywood, V.H. 1979. Flowering Plants of the World. Oxford University Press, Oxford, 335 s.
- Holden-Dye, L. and Walker, R.J. 2007. Anthelmintic drugs. WormBook: The OnlineReview of *C. elegans* Biology,

- http://www.wormbook.org/chapters/www_anthelminticdrugs/anthelminticdrugs.html [Son erişim tarihi: 27.11.2018].
- Holliday, R. 1995. Understanding Ageing. Press Syndicate of the University of Cambridge, Cambridge, 207 s.
- Hosseinzadeh, H., Parvardeh S., Asl M.N., Sadeghnia H.R., Ziaee T. 2007. Effect of thymoquinone and *Nigella sativa* seeds oil on lipid peroxidation level during global cerebral ischemia reperfusion injury in rat hippocampus. *Phytomedicine*, 14: 621-627.
- Hu, P.J. 2007. Dauer. WormBook, ed. The *C. elegans* Research Community, WormBook, doi/10. 1895/wormbook.1.144.1, <http://www.wormbook.org>. [Son erişim tarihi: 22.10.2018].
- Imahori, K. 1992. How I Understand Aging. *Nutrition Reviews*, 50(12): 351-352.
- Islam, S.K., Ahsan, M., Hassan, C.M., Malek, M.A. 1989. Antifungal activities of the oils of *Nigella sativa* seeds. *Pak J Pharm Sci.*, Jan; 2(1): 25-8.
- Işık, F. 2009. Trinitrobenzen sülfonik asit (tnbs) ile oluşturulan deneysel kolitte çörek otu (*Nigella sativa*) yağının koruyucu etkisinin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalı, İstanbul, 118 s.
- İlisulu, K. 1992. İlaç ve Baharat Bitkileri, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları. No: 1256, Ankara, 302 s.
- Jin, K. 2010. Modern Biological Theories of Aging. *Aging and Disease*, 1(2): 72-74.
- Kanter, M. 2009. Protective effects of thymoquinone on streptozotocin-induced diabetic nephropathy. *J Mol Hist*, 40: 107–115.
- Kanter, M., Coşkun, Ö., Budancamanak, M. 2005. Hepatoprotective effects of *Nigella sativa* L and *Urtica dioica* L on lipid peroxidation, antioxidant enzyme systems and liver enzymes in carbon tetrachloride-treated rats. *World JGastroenterol*, 11: 6684-6688.
- Kanter, M., Demir, H., Karakaya, C., Özbek, H. 2005. Gastroprotective activity of *Nigella sativa* L oil and its constituent, thymoquinone against acute alcohol-induced gastric mucosal injury in rats. *World Journal of Gastroenterology*, 11(42): 6662-6666.
- Kanter, M., Meral, I., Yener, Z., Özbek, H., Demir, H. 2003. Partial regeneration/proliferation of the cells in the islets of langerhans by *Nigella sativa* L. in streptozotocin-induced diabetic rats. *Tohoku J Exp Med*, 201: 213-219.
- Kar, Y., Sen, N., Tekeli, Y. 2007. Samsun yöresinde ve Mısır ülkesinde yetiştirilen çörek otu (*Nigella sativa* L.) tohumlarının antioksidan aktivite yönünden incelenmesi.

- Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Fen Dergisi (E-Dergi)*., 2(2): 197–203.
- Kaseb, A.O., Chinnakannu, K., Chen, D., Sivanandam, A., Tejjwani, S., Menon, M., Dou, Q.P., Reddy, G.P. 2007. Androgen receptor and E2F-1 targeted thymoquinone therapy for hormone-refractory prostate cancer. *Cancer Res*, 67: 7782-8.
- Kaya, Ş. 2011. Sıçanlarda bleomisin ile oluşturulan akciğer fibrozisi modelinde *Nigella sativa* yağının inflamasyon, fibrozis ve antioksidan enzimler üzerine etkisi. Uzmanlık Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, Isparta, 89 s.
- Kayahan M. 2005. Yağ kimyası. TMMOB Gıda Müh. Odası kitaplar serisi: 18.
- El Gazzar, M., El Mezayen, R., Nicolls, M.R., Marecki, J.C., Dreskin, S.C. 2006. Downregulation of leukotriene biosynthesis by thymoquinone attenuates airway inflammation in a mouse model of allergic asthma. *Biochim Biophys Acta*, 1760(7): 1088-95.
- Kayahan, M. 2005. Yağ kimyası.ODTÜ Geliştirme Vakfı Yayıncılık ve İletişim A.Ş. Ankara, 240 s.
- Khan, M.A. 1999. Chemical composition and medicinal properties of *Nigella sativa* Linn. *Inflammopharmacology*, 7(1): 15-35.
- Khan, M.A., Ashfaq, M.K., Zuberi, H.S., Mahmood, M.S., Gilani, A.H. 2003. The invivo antifungal activity of the aqueous extract from *Nigella sativa* seeds. *Phytother Res*, 17: 183-186.
- Kılıç, C. 2016. Çörek Otu (*Nigella sativa*L.)'nda Farklı Ekim Zamanı veTohumluk Miktarının Verim ve Kaliteye Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Aydın, 48 s.
- Kim, K.K., Kim, R. and Kim, S.H. 1998. Crystal structure of a small heat-shock protein. *Nature*, 394: 595-599.
- Lee, R., Hench, J. and Ruvkun, G. 2001. Regulation of *C. elegans* DAF-16 and its human ortholog FKHRL1 by the daf-2 insulin-like signaling pathway. *Current Biology*, 11: 1950-1957.
- Leroux, M.R., Melki, R., Gordon, B., Batelier, G. and Candido, E.P. 1997. Structurefunction studies on small heat shock protein oligomeric assembly and interaction with unfolded polypeptides. *J. Biol. Chem*, 272: 24646-24656.
- Li, G.C., Petersen, N.S. and Mitchell, H.K. 1982. Induced thermal tolerance and heat shock protein synthesis in Chinese hamster ovary cells. *International Journal of Radiation Oncology*, 8(1): 63-67.

- Maglioni, S., Schiavi, A., Runci, A., Shaik, A. and Ventura, N. 2014 Mitochondrial stress extends lifespan in *C. elegans* through neuronal hormesis. *Experimental Gerontology*, 56: 89–98.
- Mahmoud, M.A., Aminou, H.A., Hasnem, H.A. 2016. Are the fatty acids responsible for the higher effect of oil and alcoholic extract of *Nigella sativa* over its aqueous extract on *Trichomonas vaginalis* trophozoites? *J Parasit Dis.*, 40(1): 22-31.
- Mahmoud, M.R., El-Abhar, H.S., Saleh, S. 2002. The effect of *Nigella sativa* oil against the liver damage induced by *Schistosoma mansoni* infection in mice. *J Ethnopharmacol*, 79: 1-11.
- Mansour, M.A, Nagi, M.N., El-Khatib, A.S., Al-Bekairi, A.M. 2002. Effects of thymoquinone on antioxidant enzyme activities, lipid peroxidation and DT-diaphorase in different tissues of mice: a possible mechanism of action. *Cell Biochem Funct*, 20: 143-151.
- Maregesi, S.M., Pieters, L., Ngassapa, O.D., Apers, S., Vingerhoets, R., Cos, P., Berghe, D.A.V. and Vlietinck, A.J. 2008. Screening of some Tanzanian medicinal plants from Bunda district for antibacterial, antifungal and antiviral activities. *Journal of Ethnopharmacology*, 119: 58–66.
- Matthäus, B., Brühl, L. 2003. Quality of cold-pressed edible rapeseed oil in Germany. *Nahrung/Food*, 47: 413-419.
- Millet, A.C.M. and Ewbank, J.J. 2004. Immunity in *Caenorhabditis elegans*, *Current Opinion in Immunology*, 16: 4-9.
- Mohamad, K.A.S., Nurul K., Ghulam A., Suhaimi D., Noor H.H., and Durriyyah S.H.A. 2016. The Role of *Nigella sativa* and Its Active Constituents in Learning and Memory. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 6075679, 6.<http://dx.doi.org/10.1155/2016/6075679>
- Mohamed, A.M., Metwally, N.M., Mahmoud, S.S. 2005. *Sativa* seeds against *Schistosoma mansoni* different stages. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 100(2): 205-211.
- Morley, J.F. and Morimoto, R.I. 2004. Regulation of Longevity in *Caenorhabditis elegans* by Heat Shock Factor and Molecular Chaperones. *Molecular Biology of the Cell*, 15: 657–664.
- Morsi, N.M. 2000. Antimicrobial effect of crude extracts of *Nigella sativa* on multiple antibiotics resistant bacteria. *Acta Microbiol. Pol*, 49(1): 63-74.
- Murphy, C.T. 2006. The search for DAF-16/FOXO transcriptional targets: approaches and discoveries. *Exp Gerontol*, 41(10): 910-21.
- Murray, R.K., Granner, D.K., Mayes, P.A. and Rodwell, V.W. 2004. Harper's Biochemistry. 25th Ed. 169-170 p.

- Nair, M.K.M., Vasudevan, P., Venkitanarayanan, K. 2005. Antibacterial effect of black seed oil on *Listeria monocytogenes*. *Food Control*, 16: 395-398.
- Nas, S., Gökalp, H.Y., Ünsal, M. 2001. Bitkisel Yağ Teknolojisi. Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Ders Kitapları Yayın No: 005, Denizli, 329 s.
- Njume, C., Afolayan, A.J. and Ndip, R.N. 2009. An overview of antimicrobial resistance and the future of medicinal plants in the treatment of *Helicobacter pylori* Infections. *Afr. J. Pharm. Pharmacol*, 3: 685-699.
- Oh, S.W., Mukhopadhyay, A., Dixit, B.L., Raha, T., Green, M.R. and Tissenbaum, H.A. 2006. Identification of direct DAF-16 targets controlling longevity, metabolism and diapause by chromatin immunoprecipitation. *Nat. Genet*, 38: 251-257.
- Olsen, A., Vantipalli, M.C. and Lithgow, G.J. 2006. Using *Caenorhabditis elegans* as a model for aging and age-related diseases. *Ann N Y Acad Sci*, 1067: 120-128.
- Petersen, C., Dirksen, P. and Schulenburg, H. 2015. Why we need more ecology for genetic models such as *C. elegans*. *Trends in Genetics*, 31(3): 120-127.
- Prahlad, V., Cornelius, T. and Morimoto, R.I. 2008. Regulation of the Cellular Heat Shock Response in *Caenorhabditis elegans* by Thermosensory Neurons. *Science*, 320(5877): 811–814.
- Principe P., 1991. Monetizing the Pharmacological Benefits of Plants, United States Environmental Protection Agency, Washington DC. https://cfpub.epa.gov/si/si_public_record_Report.cfm?Lab=NERL&dirEntryID=49451 [Son erişim tarihi: 27.11.2018].
- Queitsch, C., hong, S., Vierling, E. and Lindquist, S., 2000. Heat Shock Protein 101 Plays a Crucial Role in Thermotolerance in *Arabidopsis*. *The Plant Cell*, 12(4): 479-492.
- Ragaa, H.M.S., 2010. Clinical and Therapeutic Trials of *Nigella sativa*. *TAF Prev Med Bull*, 9(5): 513-522.
- Raizen, D.M., Zimmerman, J.E., Maycock, M.H., TA, U.D., YOU, Y., Sundaram, M.V. and Pack, A.I. 2008. Lethargus is a *Caenorhabditis elegans* sleep-like state. *Nature*, 451: 569-572.
- Ramadan, M.F. 2007. Nutritional value, functional properties and nutraceutical applications of black cumin (*Nigella sativa*L.): an overview. *International Journal of Food Science and Technology*, 42: 1208–1218.
- Randhawa MA, Al-Ghamdi MS. 2002. A review of the pharmaco-therapeutic effects of *Nigella sativa*. *Pakistan J Med Res*, 41(2): 77- 83.
- Rchid, H., Nmila, R., Bessiere, J.M., Sauvaire, Y., Chokairi, M. 2004. Volatile components of *Nigella damascena* L. and *Nigella sativa* L. seeds. *J. Essent. Oil Res*, 16(6): 585-587.

- Rea, S.L., Wu, D., Cypser, J.R., Vaupel, J.W. and Johnson, T.E. 2005. A Stress-Sensitive Reporter Predicts Longevity in Isogenic Populations of *Caenorhabditis elegans*. *Nat Genet*, 37(8): 894–898.
- Recio, M.C. and Rios, J. L. 2005. Medicinal plants and antimicrobial activity. *Ethnopharmacology*, 100: 80-84.
- Riddle, D.L., Swanson, M.M. and Albert, P.S. 1981. Interacting genes in nematode dauer larva formation. *Nature*, 290: 668–671.
- Salem, M.L. 2005. Immunomodulatory and therapeutic properties of the *Nigella sativa* L. seed. *Int. Immunopharm*, 5: 1749-1770.
- Schroeder, K.D. 2013. A lateral (left) side anatomical diagram of an adult-stage *C. elegans* hermaphrodite. https://en.wikipedia.org/wiki/Caenorhabditis_elegans#/media/File:Caenorhabditis_elegans_hermaphrodite_adult-en.svg [Son erişim tarihi: 27.11.2018].
- Seçmen, Ö., Gemici, Y., Görk. G., Bekat, L., Leblebici E., 2000. Tohumlu Bitkiler Sistematigi. Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kitaplar Serisi No: 116, İzmir, 446 s.
- Sekar, S. and Kandavel, D. 2010. Interaction of plant growth promoting rhizobacteria (pgpr) and endophytes with medicinal plants. *New Avenues for Phytochemicals*, *J. Phytology*, 2:91-100.
- Shoieb, A.M., Elgayyar, M., Dudrick, P.S., Bell, J.L., Tithof, P.K. 2003. In vitro inhibition of growth and induction of apoptosis in cancer cell lines by thymoquinone. *Int J Oncol*, 22: 107-113.
- Sloan, A.E. 2000. The top ten functional food trends. *Food Technol*, 54(4): 33-62.
- Sokmen, A., Jones, B.M., Erturk, M. 1999. The *in vitro* antibacterial activity of Turkish medicinal plants. *J. Ethnopharmacol*, 67: 79–86.
- Tanbek, K. 2011. Ratlarda tiyoasetamidle indüklenen karaciğer hasarına karşı *Nigella sativa* (çörek otu) yağının etkisi. Yüksek Lisans Tezi, İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Malatya, 110 s.
- Tangyuenyongwatana, P. and Gritsanapan, W. 2014. Prasapalai: An essential Thai traditional formulation for primary dysmenorrhea treatment. *Association of Humanitas Medicine*, 4(2): 10.1-10.8.
- Tanker, M. ve Tanker, N. 1998. Farmakognozi Cilt I / Cilt II. 2 Baskı, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, Ankara, 347 s.
- Tanker, N., Koyuncu, M., Coşkun, M. 2004. Farmasötik Botanik. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları No: 88. Ankara, 434 s.
- Taşan, M., Geçgel, Ü. 2007. Karışım Sıvı Yağların Yağ Asiti Bileşimlerinin İncelenmesi. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 4(1):1.

- Tonçer, Ö., Kızıl, S., 2004. Effect of Seed Rate on Agronomic and Technologic Characters of *Nigella sativa* L. *International Journal of Agriculture & Biology*, 6(3): 529-532.
- Vanfleteren, J. and Braeckman, B.P. 1999. Mechanisms of life span determination in *Caenorhabditis elegans*. *Neurobiology of Aging*, 20: 487-502.
- Walker, G.A. and Lithgow, G.J., 2003. Lifespan extension in *C. elegans* by a molecular chaperone dependent upon insulin-like signals. *Aging Cell*, 2(2): 131-139.
- Woodmansey, E.J. 2007. Intestinal bacteria and ageing. *J Appl Microbiol*, 102: 1178-86.
- Yılmaz, G. ve Telci, İ. 1997. Bazı Tıbbi Bitkilerin Patates böceği (*Leptinotarsa decemlineata* Say) İle Mücadelede Kullanılabilmesi Üzerinde Bir Araştırma. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 14(1): 93-103.
- Yi, T., Cho S.G., Yi, Z., Pang, X., Rodriguez, M., Wang, Y., Sethi, G., Aggarwal, B.B., Liu, M. 2008, Thymoquinone inhibits tumor angiogenesis and tumor growth through suppressing AKT and extracellular signal-regulated kinase signaling pathways. *Mol Cancer Ther*, 7: 1789–1796.
- Yiğit, N. ve Benli, M. 2005. Ülkemizde yaygın kullanımı olan kekik (*Thymus vulgaris*) bitkisinin antimikrobiyal aktivitesi. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 3(8): 1-8.
- Yokoyama, K., Fukumoto, K., Murakami, T., Harada, S., Hosono, R., Wadhwa, R., Mitsui, Y., Ohkuma, S. Extended longevity of *Caenorhabditis elegans* by knocking in extra copies of hsp70F, a homolog of mot-2 (mortalin)/mthsp70/Grp75. *FEBS Lett*, 516(1-3): 53 – 57.

8. EKLER

EK-1. Çörek Otu Yağı Element Analizi Sonuçları.



AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
GIDA GÜVENLİĞİ VE TARIMSAL ARAŞTIRMALAR MERKEZİ

ÖZEL İSTEK MUAYENE VE ANALİZ RAPORU

Numune Geliş Tarihi	09.08.2018	Rapor No	2018-1358
Tahmini Rapor Tarihi			
Analiz	Yağ asidi, GC tarama, Element analizi		
İlgili Kişi Adı-Soyadı / Kuruluş	Dr. Öğr. Üyesi Gülgün Gündüz (YL. Öğr. Fülya Cihan Kürk Yaldız) / Akdeniz Üni.		
İlgili Kişi Adresi	Akdeniz Üni. Fen Fak. Bio. Böl.		
İlgili Kişi Telefon Numarası	05066800232		
İlgili Kişi E-Posta Adresi	fcihankurk@gmail.com		
TC Kimlik / Vergi No			
Analizin Başlama ve Bitiş Tarihi			
Numunenin Cinsi	SIVI		
Miktarı (net)	30 ml		
Numune Geliş Şekli	Elden		
Proje No / Yürütücü	FYL-2018-3827 / Dr. Öğr. Üyesi Gülgün Gündüz		

NUMUNE KODU	Adı - Cinsi	PARAMETRE	ANALİZ SONUÇLARI (µg/L)
2018-1356	Çörek Otu Yağı	Al	980
		Fe	44
		Mn	1,8
		Cu	38,4
		Zn	81,8
		Cr	21,7

NUMUNE KODU	Adı - Cinsi	PARAMETRE	ANALİZ SONUÇLARI
2018-1356	Çörek Otu Yağı	Yağ Asidi	EK
		GC-MS tarama	EK halinde gönderilecekler

< R.L. Raporlama Limitinin Altında

Yapılan muayene ve analizler sonucunda yukarıda belirtilen değerler tespit edilmiştir.

NOT 1: Bu analiz raporu adli-idari işlemlerde ve reklam amacıyla kullanılamaz.

NOT 2: Bu analiz raporunun hiç bir bölümü tek başına veya ayrı ayrı kullanılamaz.

NOT 3: Analiz sonuçları yukarıda belirtilen numune için geçerlidir.

NOT 4: İzniniz alınmadan raporlarımız çoğaltılamaz ve yayınlanamaz. İmzasız raporlar geçersizdir.

Analiz Uzmanı
Öğr. Gör. Murat KILIÇ

Merkez Müdürü
Prof. Dr. Mehmet İNAN

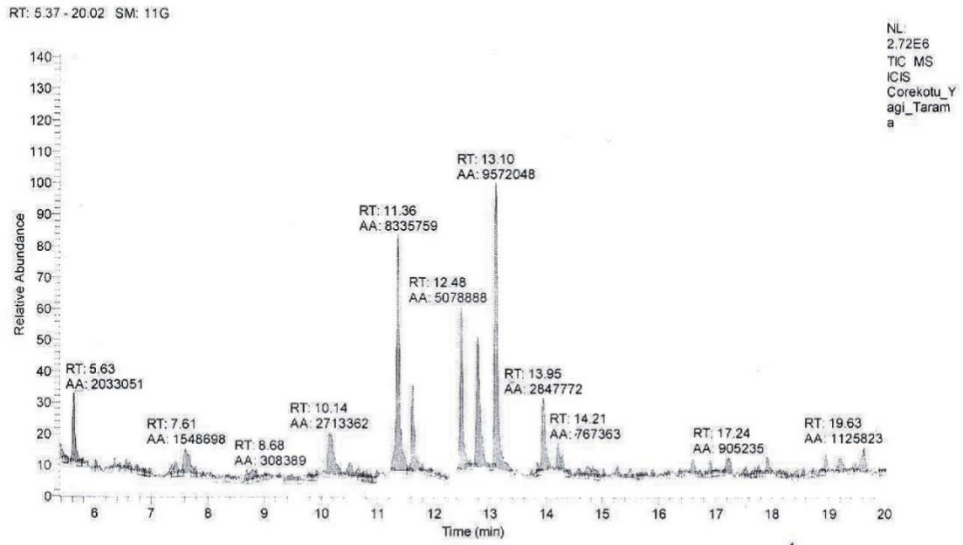
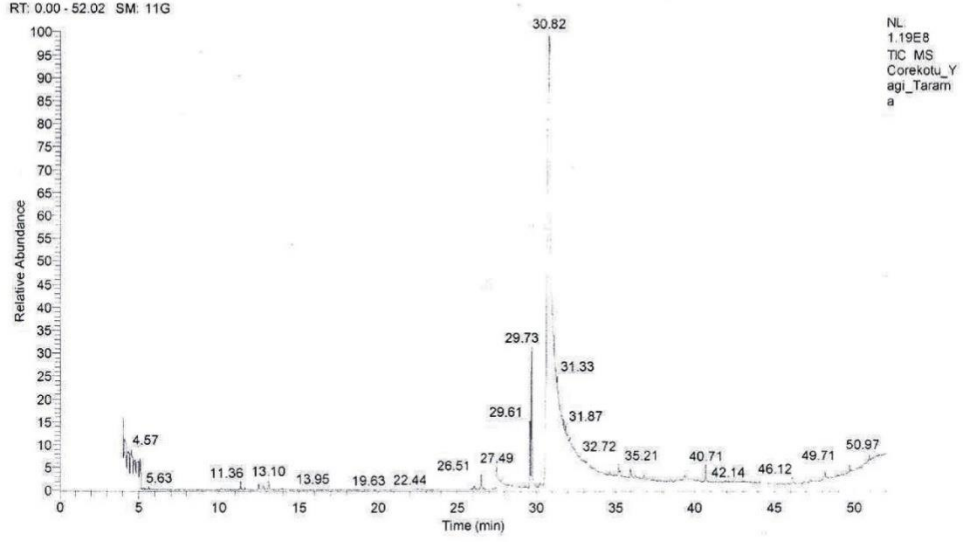
Analiz Uzmanı
Yük. Kimyager Taner ERKAYMAZ

EK-2. Çörek Otu Yağı Yağ Asidi Taraması Sonuçları.

Birim: ppm (mg/kg)			
Doymuş yağ asitleri (Saturated Fatty Acids-SFA)			
		Çörek Otu Yağı (mg/kg)	Çörek Otu Yağı %
C8:0	Caprylic acid	NF	NF
C10:0	Capric acid	NF	NF
C11:0	Undecanoic acid	NF	NF
C12:0	Lauric acid	17,479	0,002
C13:0	Tridecanoic acid	NF	NF
C14:0	Myristic acid	1014,529	0,101
C15:0	Pentadecanoic acid	208,798	0,021
C16:0	Palmitic acid	92776,128	9,278
C17:0	Heptadecanoic acid	258,906	0,026
C18:0	Stearic acid	25284,760	2,528
C20:0	Arachidic acid	1345,477	0,135
C21:0	Henicosanoic acid	21,126	0,002
C22:0	Behenic acid	501,577	0,050
C23:0	Tricosanoic acid	40,554	0,004
C24:0	Lignoceric acid	244,285	0,024
	ΣSFA	121714	12,17
Tekli doymamış yağ asitleri (Monounsaturated Fatty Acids-MUFA)			
Omega 5	C14:1	Myristoleic acid	NF
	C15:1	cis-10-Pentadecenoic acid	6,861
Omega 7	C16:1	Palmitoleic acid	1955,691
	C17:1	cis-10-Heptadecenoic acid	NF
Omega 9	C18:1n9c	Oleic acid	156583,858
Omega 9	C18:1n9t	Elaidic acid	20888,881
	C20:1n9	cis-11-Eicosenoic acid	17126,742
Omega 9	C22:1n9	Erucic acid	294,906
Omega 9	C24:1n9	Nervonic acid	6,983
	ΣMUFA	196864	19,69
Çoklu doymamış yağ asitleri (Polyunsaturated Fatty Acids-PUFA)			
Omega 6	C18:2n6c	Linoleic acid	421127,908
Omega 6	C18:2n6t	Linolelaidic acid	62101,810
Omega 6	C18:3n3	γ-Linolenic acid	52,939
Omega 3	C18:3n6	α-Linolenic acid	167163,415
	C20:2	cis-11,14-Eicosadienoic acid	12390,745
	C20:3n6	cis-8,11,14-Eicosatrienoic acid	8350,832
	C20:3n3	cis-11,14,17-Eicosatrienoic acid	96,440
	C20:4n6	Arachidonic acid	16,294
Omega 3	C20:5n3	cis-5,8,11,14,17-Eicosapentaenoic acid	41,202
	C22:2	cis-13,16-Docosadienoic acid	260,074
Omega 3	C22:6n3	cis-4,7,10,13,16,19-Docosahexaenoic acid	17,348
	ΣPUFA	671342	67,13
TOPLAM		989919	98,99
		989919	
		0,989919125	

NF : Tespit Edilemedi

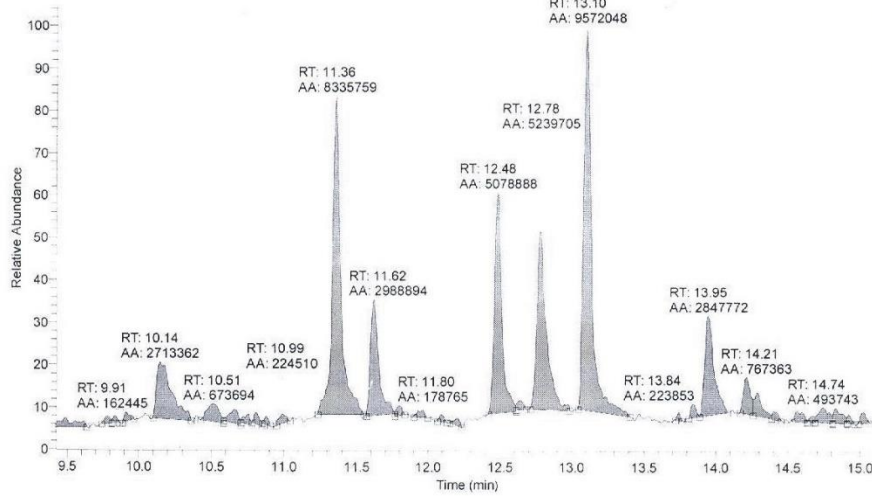
EK-3.Çörek Otu Yağı GC-MS Tarama Sonuçları.



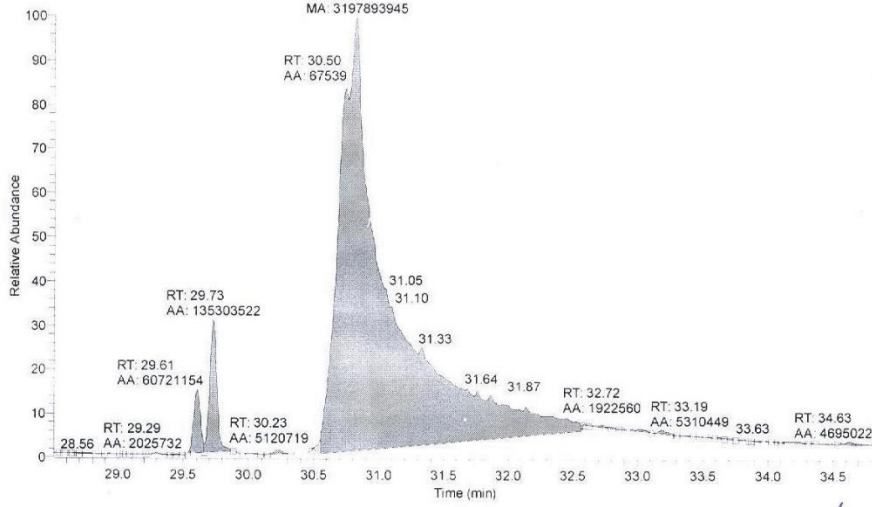
Tarih EK KAYMAZ

EK-3. Çörek Otu Yağı GC-MS Tarama Sonuçları (Devamı).

RT: 9.42 - 15.13 SM: 11G

NL:
2.72E6
TIC MS
ICIS
Corekolu_Y
agi_Taram
a

RT: 28.50 - 34.84 SM: 11G

NL:
1.19E8
TIC MS
Corekolu_Y
agi_Taram
a

Tamer ERKAYMAZ

EK-3. Çörek Otu Yağı GC-MS Tarama Sonuçları (Devamı).

Retention Time	Compound	Abundance	% Peak Area
10.14	Decanal	2710000	0,07
11.36	p-Mentha-3,6-diene-2,5-dione	8340000	0,21
11.62	Trans-2-Decanal	2990000	0,08
12.48	2,4-Octadienal	5079000	0,13
12.78	Carvacrol	5240000	0,13
13.10	2,4-Decadienal	9570000	0,24
13.95	Isoeugenol	2840000	0,07
26.06	7-Hexadecenoic acid, methyl ester	6530000	0,16
27.49	n-Hexadecanoic acid	31170000	0,78
29.61	9,12-Octadecadienoic acid, methyl ester	60700000	1,53
29.73	9-Octadecenoic acid, methyl ester	135300000	3,40
30.82	Linoleic acid	3186340000	80,07
	Tanımlanamayan Pikler	522627000	
	Total Area	3979436000	


Tunc ERKAYMAZ

ÖZGEÇMİŞ

Fulya Cihan KÜRK YALDIZ

fcihankurk@gmail.com



ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Yüksek Lisans	Akdeniz Üniversitesi
2014-2018	Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Antalya
Lisans	Akdeniz Üniversitesi
2010-2014	Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Antalya