

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



Fomitopsis officinalis, Phellinus igniarius VE *Lactarius deliciosus*
MANTARLARININ SU EKSTRAKTLARININ *Caenorhabditis elegans*' TA
YAŞAM UZUNLUĞU VE STRES DİRENCİNE ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI

Ayşe ACAR

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS

TEMMUZ 2023

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



Fomitopsis officinalis, Phellinus igniarius VE *Lactarius deliciosus*
MANTARLARININ SU EKSTRAKTLARININ *Caenorhabditis elegans*' TA
YAŞAM UZUNLUĞU VE STRES DİRENCİNE ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI

Ayşe ACAR

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS

TEMMUZ 2023

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Fomitopsis officinalis, Phellinus igniarius VE *Lactarius deliciosus*
MANTARLARININ SU EKSTRAKTLARININ *Caenorhabditis elegans*' TA
YAŞAM UZUNLUĞU VE STRES DİRENCİNE ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI

Ayşe ACAR
BİYOLOJİ
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS

TEMMUZ 2023

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Fomitopsis officinalis, *Phellinus igniarius* VE *Lactarius deliciosus*
MANTARLARININ SU EKSTRAKTLARININ *Caenorhabditis elegans*' TA
YAŞAM UZUNLUĞU VE STRES DİRENCİNE ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI

Ayşe ACAR
BİYOLOJİ
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS

Bu tez 03/07/2023 tarihinde jüri tarafından Oybirliği ile kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Esra AYDEMİR (Danışman)

Prof. Dr. Bülent KAYA

Prof. Dr. İbrahim Hakkı CİĞERCİ

ÖZET

***Fomitopsis officinalis*, *Phellinus igniarius* VE *Lactarius deliciosus* MANTARLARININ SU EKSTRAKTLARININ *Caenorhabditis elegans*' TA YAŞAM UZUNLUĞU VE STRES DİRENCİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Ayşe ACAR

Yüksek Lisans, Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Esra AYDEMİR

Temmuz 2023; 39 sayfa

Yaşlanma, azalan doğurganlık ve geri dönüşü olmayan canlılığın yitirilmesi sürecidir. Fizyolojik işleyişin ilerlemesindeki düşüşü ve zamanla bozulmasını, aynı zamanda biyokimyasal süreçlerin olağanın dışına çıkmasını kapsamaktadır. Yaşa bağlı hastalıklar ve patolojileri, incelendiğinde reaktif oksijen türlerinde (ROT) bir artış ve ardından gelen oksidatif stres ile sıkı bir şekilde ilişki gözlemlenmiştir. Oksidatif stres, oksijenin canlı organizmalar tarafından aerobik solunumda kullanılmasının bir sonucudur ve ROT oluşumu ile antioksidan sisteminin bunları detoksifiye etme yeteneği arasındaki kalıcı bir dengesizlik durumu olarak tanımlanır. Antioksidanların varlığı ve işlevsel etkinlikleri oksidatif stresi önlemektedir.

Tıbbi mantarların antioksidan seviyeleri yüksektir ve doğal yolla elde edilebilmektedirler. Tıbbi mantarlardan *Fomitopsis officinalis*, *Phellinus igniarius* ve *Lactarius deliciosus* antioksidan aktiviteleri yüksek türlerdir. Antioksidan özelliklerinden dolayı birçok hastalığı ve rahatsızlıkları önleyici etkileri bulunmaktadır. Tüketimleriyle beraber hücredeki fazla ROT birikiminin azaltabilmektedirler ve bu antiaging özelliklerinin de ortaya koyulmasının gerekliliğini göstermektedir.

Bu tez çalışmasının amacı, *F. officinalis*, *P. igniarius* ve *L. deliciosus* mantarlarının su ekstraktlarının üç farklı dozunun *in vivo* model organizma *C. elegans* üzerinde ömür uzunluğuna etkisinin, oksidatif strese karşı etkisinin ve ROT seviyesindeki artışa etkisinin araştırılmasıdır. 100 µg/ml, 50 µg/ml ve 25 µg/ml olmak üzere üç farklı doz belirlenmiştir ve her mantar için üç grup olmak üzere kontrol ve solvent (PBS) grubuyla birlikte toplamda 11 grup oluşturulmuştur.

11 grupta yapılan 20°C'de ömür uzunluğu deneyinde *F. officinalis* mantarının 25 µg/ml dozu, *P. igniarius* mantarının 100 µg/ml dozu, *L. deliciosus* mantarının 100 µg/ml ve 50 µg/ml dozları ömür uzatmışlardır. Bu dört grubun oksidatif strese maruz bırakılarak oluşturulduğu deneyde diğer grupların ömür uzunlukları değişmezken *P. igniarius* 100 µg/ml ve *L. deliciosus* 50 µg/ml gruplarının ömrü kısalmıştır. Oksidatif stresi tedavi edemeyen bu grupların zamana bağlı ROT seviyeleri ölçümü deneyinde ise kontrole kıyasla deney grupları arasında farklılıklar olsa da *F. officinalis* 25 µg/ml ve *L. deliciosus* 50 µg/ml gruplarının zaman arttıkça kontrole kıyasla düşük ROT seviyelerini korudukları görülmüştür.

Mantarların oksidatif stresin ömür uzunluğuna etkisinin olmaması fakat oksidatif stres altında değilken ömrü uzatması, oksidatif stresin yaşlanmanın bir nedeni değil sonucu olduğunu göstermektedir. *F. officinalis*, *P. igniarius* ve *L. deliciosus* mantarlarıyla yapılacak gelecek çalışmalarda bu mantarların ömrü uzatmalarının altında yatan olası nedenlerin araştırılması gerektiği düşünülmektedir.

ANAHTAR KELİMELEER: *C. elegans*, *Fomitopsis officinalis*, *Lactarius deliciosus* Mantarlar, *Phellinus igniarius*, Serbest Radikaller, Yaşlanma

JÜRİ: Doç. Dr. Esra AYDEMİR

Prof. Dr. Bülent KAYA

Prof. Dr. İbrahim Hakkı CİĞERCİ



ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF WATER EXTRACTS OF *Fomitopsis officinalis*, *Phellinus igniarius* AND *Lactarius deliciosus* ON LONG LASTING AND STRESS RESISTANCE IN *Caenorhabditis elegans*

Ayşe ACAR

MSc Thesis in Biology

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Esra AYDEMİR

July, 2023; 39 pages

Aging is the process of decreasing fertility and irreversible loss of vitality. It includes the decline in the progression of physiological functioning and its deterioration over time, as well as the abnormality of biochemical processes. When age-related diseases and pathologies are examined, an increase in reactive oxygen species (ROS) and a tight relationship with the subsequent oxidative stress have been observed. Oxidative stress is the result of the use of oxygen by living organisms in aerobic respiration and is defined as a state of persistent imbalance between the generation of ROS and the ability of the antioxidant system to detoxify them. Presence and functional activities of antioxidants prevent oxidative stress.

Medicinal mushrooms have high antioxidant levels and can be obtained naturally. Among medicinal mushrooms, *Fomitopsis officinalis*, *Phellinus igniarius* and *Lactarius deliciosus* are species with high antioxidant activities. Due to its antioxidant properties, it has preventive effects on many diseases and disorders. With their consumption, they can reduce the accumulation of excess ROS in the cell and this shows the necessity of revealing their antiaging properties.

The aim of this thesis study is to investigate the effects of three different doses of water extracts of *F. officinalis*, *P. igniarius* and *L. deliciosus* fungi on the in vivo model organism *C. elegans* on longevity, the effect against oxidative stress and the increase in ROS level. Three different doses were determined as 100 µg/ml, 50 µg/ml and 25 µg/ml, and a total of 11 groups were formed, three groups for each mushroom, together with the control and solvent (PBS) groups.

In the longevity experiment conducted with 11 groups at 20°C, 25 µg/ml dose of *F. officinalis* mushroom, 100 µg/ml dose of *P. igniarius* mushroom, 100 µg/ml and 50 µg/ml dose of *L. deliciosus* mushroom increased lifespan. In the experiment in which these four groups were formed by exposing them to oxidative stress, the life span of the other groups did not change, while the lifespan of the *P. igniarius* 100 µg/ml and *L. deliciosus* 50 µg/ml groups were shortened. In the time-dependent measurement of ROT levels of these groups that could not treat oxidative stress, however, although there were differences between the experimental groups compared to the control, it was observed that the *F. officinalis* 25 µg/ml and *L. deliciosus* 50 µg/ml groups maintained lower ROT levels compared to the control as time increased.

The fact that the longevity of fungi is not due to prolongation of oxidative stress, but not to oxidative stress, suggests that prolongation of oxidative stress is a consequence, not a cause. The futures to be made with *F. officinalis*, *P. igniarius* and *L. deliciosus* mushrooms are based on the content of the possible reasons underlying the prolongation of the lifespan of these fungi.

KEYWORDS: Aging, *C. elegans*, *Fomitopsis officinalis*, Free Radicals, *Lactarius deliciosus*, Mushrooms, *Phellinus igniarius*

COMMITTEE: Assoc. Prof. Dr. Esra AYDEMİR

Prof. Dr. Bülent KAYA

Prof. Dr. İbrahim Hakkı CİĞERCİ

ÖNSÖZ

Yaşlanma çalışmalarının büyük bir bölümünü antioksidanlar oluşturmaktadır. Antioksidanların yaşlanmaya olan olumlu etkileri araştırmacıların bu bağlamda yapabilecekleri ve ilerleyebilecekleri en önemli konulardan biri haline getirmiştir. Doğal olarak elde edilebilir özelliğe sahip olmaları ulaşılabilirliği ortaya koymuş ve yaşlanmanın önemli etkenlerinden olmuştur.

Mantarların antioksidan özelliklerinin varlığı çalışıldıkça yaşlanma çalışmalarında antiaging etkisinin araştırılmasına yol açmıştır. Antioksidan özelliği fazla olan mantarlar aynı zamanda diğer çoğu özelliğiyle birlikte tıbbi mantarlar olarak da adlandırılmaktadır. *Fomitopsis officinalis*, *Phellinus igniarius* ve *Lactarius deliciosus* mantarları da tıbbi mantarlar arasında yer almaktadır. Yapılan araştırmalarda çokça antioksidan özelliklerinin varlığı ve bu yüzden yaşlanmaya katkı sunabileceği belirtilse de bu tez çalışmasında yer alan *F. officinalis*, *P. igniarius* ve *L. deliciosus* mantarlarının model organizma olan *Caenorhabditis elegans* üzerinde yapılmış bir yaşlanma çalışması bulunmamaktadır.

Bu tezin amacı *F. officinalis*, *P. igniarius* ve *L. deliciosus* mantarlarının antioksidan özelliklerini ortaya koyup farklı dozlarının *C. elegans* üzerinde ömür uzunluğuna etkisini, oksidatif strese olan yanıtını ve reaktif oksijen türevlerinin birikmesine nasıl bir etkisi olduğunu belirtmektir.

Yüksek lisans serüvenime başlarken bir gerontolog olarak biyolojiye dair çok bilgim yoktu. Ama farkı bir bakış açısından yaşlanmaya bakmak ve bu konuda uzmanlaşmak istediğimi biliyordum. Yaşlanmaya bakılacak en temel çerçeve de biyolojiydi.

Yaşadığım bu zorlu süreçte bana bilgi birikimini ve deneyimlerini aktaran, beni hep destekleyen ve uzun süre danışmanlığımı yaptıktan sonra emekli olan değerli hocam Doç. Dr. Gülgün GÜNDÜZ'e teşekkürlerimi sunarım. Bana bu yolculukta sadece bilgisini aktarmakla kalmayıp beni yüreklendirdiği için ve bana güvendiği için teşekkür ederim.

Gülgün hocamın yerini aratmayan ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, bana güvenip her şeyin üstesinden gelebileceğimi düşünüp her daim yanımda olan şu anki danışmanım Doç. Dr. Esra AYDEMİR'e ve ekip arkadaşlarım Serap ÖZKAYA GÜL'e, Beyzanur ŞİMŞEK'e teşekkürlerimi sunarım.

Çalıştığım mantarların temin eden Prof. Dr. Hasan AKGÜL'e ve Dr. Emre Cem Eraslan'a teşekkürlerimi sunarım. Laboratuvarı içerisindeki ölçüm aletlerini kullanmama olanak sağlayan Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi'nden hocam Prof. Dr. Salih ŞANLIOĞLU'na ve ekibindeki güler yüzlü karşılanma için bütün ekip çalışanlarına teşekkürlerimi sunarım.

Bütün yüksek lisans dönemimde benim yanımda durup destekleyen, aklımda oluşan soruları benimle çözümleyen arkadaşlarım Eda DELİK'e, Berfin EROĞLU'na, Fikriye Mehtap ŞEN'e, Yasemin GAYA'ya ve laboratuvar becerilerimi geliştirip destek veren Seren ÇELİKEL'e teşekkür ederim.

Bütün hayatım boyunca beni destekleyen maddi ve manevi her türlü yanımda olan annem Derya ACAR'a, babam İbrahim ACAR'a, kardeşim Ahmet ACAR'a ve tüm aileme teşekkür ederim.

Yüksek lisansta “2210-A Genel Yurt İçi Yüksek Lisans Programı” kapsamında bana destekte bulunan TÜBİTAK BİDEB'e teşekkürlerimi sunarım.



İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT.....	iii
ÖNSÖZ	v
AKADEMİK BEYAN	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiv
ÇİZELGELER DİZİNİ	xv
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK TARAMASI	3
2.1 Yaşlanma.....	3
2.2 Biyolojik Yaşlanma Teorileri.....	3
2.2.1 Telomer hasarı/kısalması teorisi	3
2.2.2 Mitokondriyal hasar teorisi	4
2.2.3 Oksidatif stres teorisi	4
2.3 Oksidanlar	4
2.4 Antioksidanlar.....	7
2.5 Mantarlar	9
2.6 <i>Caenorhabditis elegans</i>	10
3. MATERYAL VE METOD	13
3.1 Kullanılan Kimyasal Malzemeler	13
3.1.1 Reaktifler.....	13
3.2 <i>C. elegans</i> ve <i>E. coli</i> Kaynağı.....	13
3.3 <i>C. elegans</i> Kültürünün Sürdürülmesi.....	13
3.4 NGM (Nematod Büyüme Ortamı) Oluşturulması.....	13
3.5 <i>E. coli</i> 'nin, Çoğaltılması ve NGM Üzerine Uygulanması	14
3.6 Yumurta Toplama İşlemi (<i>C. elegans</i> Yaş Senkronizasyonu)	15
3.7 Mantar Ekstraktlarının Eldesi	15
3.8 Uygulanacak Kimyasalların ve Tampon Çözeltilerin Hazırlanması.....	15
3.9 Mantar Ekstraktlarının Antioksidan Testi	16
3.10 Mantar Ekstraktlarının 20°C'deki Ömür Uzunluğuna Etkisi	16
3.11 Mantar Ekstraktlarının Oksidatif Stres Altında Ömür Uzunluğuna Etkisi	16

3.12	Mantar Ekstraktlarının Reaktif Oksijen Türü Seviyesine Etkisi.....	17
3.13	İstatistiksel Analiz.....	18
4.	BULGULAR.....	19
4.1	Mantarların Antioksidan Testi Sonuçları.....	19
4.2	Mantar Ekstraktlarının 20°C’de <i>C.elegans</i> Ömür Uzunluğuna Etkisi	19
4.3	Mantar Ekstraktlarının Oksidatif Stres Altında <i>C. elegans</i> Ömür Uzunluğuna Etkisi	22
4.4	Mantar Ekstraktlarının <i>C. elegans</i> ’daki ROT Seviyesine Etkisi.....	24
5.	TARTIŞMA	27
6.	SONUÇ	31
7.	KAYNAKLAR	33
ÖZGEÇMİŞ		

AKADEMİK BEYAN

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “*Fomitopsis officinalis*, *Phellinus igniarius* ve *Lactarius deliciosus* Mantarlarının Su Ekstraktlarının *Caenorhabditis elegans*’ta Yaşam Uzunluğu ve Stres Direncine 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.

03/07/2023

Ayşe ACAR



SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

%	: Yüzde
µg	: Mikrogram
µl	: Mikrolitre
µM	: Mikromolar
1O ₂	: Singlet Oksijen
°C	: Santigrat Derece
CaCl ₂	: Kalsiyum Klorür
cm	: Santimetre
Cu ⁺	: Bakır İyonu
Fe ⁺²	: Ferroz
Fe ⁺³	: Ferrik
gr	: Gram
H ₂ O ₂	: Hidrojen Peroksit Radikali
HNO ₂	: Nitrik Asit
HO ₂ ·	: Hidroperoksil
HOCl	: Hipokloröz Asit
K ₂ HPO ₄	: Dipotasyum Fosfat
KCl	: Potasyum Klorür
KH ₂ PO ₄	: Monopotasyum Fosfat
KPO ₄	: Potasyum Fosfat
L	: Litre
LOO·	: Lipitperoksil
M	: Molar
MgSO ₄	: Magnezyum Sülfat

ml	: Mililitre
mM	: Milimolar
N ₂ O ₃	: Dinitrojen trioksit
N ₂ O ₄	: Dinitrojen tetraoksit
NaCl	: Sodyum Klorür
NaOH	: Sodyum Hidroksil
nm	: Nanometre
NO ⁻	: Nitrosil Anyonu
NO [·]	: Nitrik Asit
NO ⁺	: Nitrosil Katyonu
NO ₂	: Nitrojendioksit
NO ²⁺	: Nitronyum Katyonu
NO ₂ Cl	: Nitril Klorid
O ²⁻	: Süperoksit
O ₃	: Ozon
OH [·]	: Hidroksil
ONOO ⁻	: Peroksinitrit
ONOOH	: Peroksinitrit Asit
RO [·]	: Alkolsil
ROO [·]	: Peroksil
ROONO	: Alkil Peroksinitrit
Se	: Selenyum
sn	: Saniye
X	: Ortalama
Zn	: Çinko

Ondalık ayraç virgüldür (,).

Kısaltmalar

ATP	: Adenozintrifosfat
<i>C. elegans</i>	: <i>Caenorhabditis elegans</i>
DNA	: Deoksiribonükleik asit
<i>E. coli</i>	: <i>Escherichia coli</i>
<i>F. officinalis</i>	: <i>Fomitopsis officinalis</i>
FUDR	: 5-Fluoro-2'-deoksiüridin
G6PD	: Glukoz-6-fosfat Dehidrogenaz
GPx	: Glutasyon Peroksidaz
GR	: Glutasyon Redüktaz
H ₂ CDFDA	: 2',7'-Diklorodihidroflorescein diasetat
KAT	: Katalaz
<i>L. deliciosus</i>	: <i>Lactarius deliciosus</i>
L1	: Larva 1
L2	: Larva 2
L3	: Larva 3
L4	: Larva 4
LA	: Lütrient Agar
LB	: Lütrient Broth
NGM	: Nematod Growth Medium
OSI	: Oksidatif Stres İndeksi
<i>P. igniarius</i>	: <i>Phellinus igniarius</i>
PBS	: Fosfat Buffer Solution
PBST	: Fosfat Buffer Solution-Tween20
RNT	: Reaktif Nitrojen Türevleri
RONT	: Reaktif Oksijen ve Nitrojen Türevleri

ROT	: Reaktif Oksijen Türevleri
rpm	: Revolutions Per Minute
SH	: Standart Hata
SOD	: Süperoksit Dismutaz
TAS	: Total Antioksidan Seviyesi
TOS	: Total Oksidan Seviyesi



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Serbest radikallerin kaynağı (Aslankoç vd. 2019).....	5
Şekil 2.2. Serbest radikallerin sınıflandırılması (Pham-Huy vd. 2008).....	6
Şekil 2.3. Radikal olmayanların sınıflandırılması (Karabulut ve Gülay 2016)	6
Şekil 2.4. Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonu (Aslankoç vd. 2019)	7
Şekil 2.5. Antioksidanların Sınıflandırılması (Bunaciu vd. 2016)	8
Şekil 2.6. a) <i>Fomitopsis officinalis</i> ; b) <i>Phellinus igniarius</i> ; c) <i>Lactarius deliciosus</i> (Y. Cao vd. 2021; W. Elkhateeb vd. 2019; Xu vd. 2019)	10
Şekil 2.7. <i>C. elegans</i> 'ın gelişim evreleri. a) Yumurta; b) Larva 1; c) Larva 2; d) Larva 3; e) Larva 4; f) Genç yetişkin; g) Yetişkin hermafrodit birey; h) Yetişkin erkek birey (Lewis & Fleming 1995).....	11
Şekil 4.1. 20°C'de ömür uzunluğu deneyinde <i>C. elegans</i> canlı yüzdesi grafiği.....	20
Şekil 4.2. 20°C'de ömür uzunluğu deneyinde ortalama yaş grafiği	21
Şekil 4.3 Paraquatın farklı dozlarının ömür uzunluğuna etkisi.....	22
Şekil 4.4 Oksidatif strese yanıt deneyinde <i>C. elegans</i> canlı yüzdesi grafiği	23
Şekil 4.5 Oksidatif strese yanıt deneyi ortalama yaş grafiği.....	24
Şekil 4.6 Zamana bağlı ROT seviyeleri grafiği	24

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1. 20°C’de ömür uzunluğu deneyi ortalama yaşam süresi (gün) tablosu	20
Çizelge 4.2 Oksidatif strese yanıt deneyi ortalama yaşam süresi (gün) tablosu.....	23
Çizelge 4.3 Ortalama (X) ± standart hata (SH) ROT seviyeleri tablosu	26



1. GİRİŞ

Yaşlanma, günümüzde araştırmacıların çokça ilgisini çeken alanlardan birisi haline gelmiştir. Türkiye’de 2017’deki yaşlı oranı %8,5 iken 2022’deki yaşlı oranı %9,9 olmuştur. Nüfus projeksiyonlarına göre 2040 yılında %16,3 olacaktır (TÜİK 2023). Günümüzde hızla yaşlanan nüfus, yaşlanmayı anlamlandırıp yavaşlatmak veya tersine çevirebilmenin önemini vurgulamaktadır.

İlerleyen zamanla hücresel ve organizma fonksiyonlarının bozulması ve aksaması bütüncül olarak biyolojik yaşlanmayı tanımlamaktadır. Zamanla açığa çıkan değişiklikler kaçınılmaz değildir. Kronolojik olarak aynı yaşta olup biyolojik yaşları arasında farklılık olması olası bir durumdur. Aradaki farklılıklar göz önüne alındığında yaşlanma yavaşlatılabilir ve egzersiz, besin kısıtlaması, senolitik bileşikler gibi yaşamsal müdahalelerle yaşlanmanın olumsuz etkileri önenebilir (Buckley vd. 2022).

Oksidatif stres yaşlanmanın sebeplerinden birisini oluşturmaktadır. Serbest radikallerin üretilmesi ve bunların detoksifiye eden, çeşitli hücre fonksiyonlarını sürdürmek için önemli olan enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar arasındaki dengenin bozulması oksidatif stresin asıl sebebinin oluşturmaktadır. Hasarlı proteinlerin artışı, oksidatif strese yanıtaki azalma ve onarım sistemindeki bozulmalar da oksidatif stresin oluşumu ile ilişkilendirilmiştir (Kibreab vd. 2023).

Oksidatif stresi önlemek ve oksidatif dengeyi koruyabilmek için antioksidanların önemli görevleri bulunmaktadır. Doğal yolla alınabilen antioksidanlar bitkiler ve mantarlar gibi birçok canlıdan sağlanabilmektedir (Akbari vd. 2022).

Mantarlar dünyanın birçok yerinde yabani olarak yetişir ve ayrıca ticari olarak yetiştirilebilenleri de mevcuttur. Besin olabilen mantarlar değerli sağlık gıdalarındandır ve dünyanın birçok yerinde yüzyıllardır tıbbi olarak kullanılanları bulunmaktadır (Brower 1998; Rahi ve Malik 2016). Günümüzde tıbbi mantarlar fonksiyonel gıdalar olarak kabul edilmekte ve geleneksel ve tamamlayıcı tıbbın ilaçlarında kullanılmakta, reçetesiz satılmakta, sağlık takviyeleri olarak elde edilebilmektedir (Ayeka 2018; Rathee vd. 2012). Bazı mantar türleri, umut verici terapötik yetenekleriyle ünlüdür. Antik Çin’de ve çoğu Asya ülkesinde şifalı mantarların uzun ömür ve canlılığı artırma gücüne sahip olduğuna inanılmaktadır (Ulbricht 2015; Wu vd. 2010). Mantarların içerisindeki çeşitli fenolik bileşiklerin, polisakkaritlerin, terpenoidlerin ve diğer bileşiklerin varlığı, onların antikanser, antioksidan, antimikrobiyal, antiviral, antiaging, karaciğer koruyucu, hipoglisemik, hipokolesterolemik gibi güçlü biyolojik aktivitelerinin nedenidir ve her gün çok daha fazla biyolojik aktivite keşfedilmektedir (W. A. Elkhateeb vd. 2019).

Besin olarak tüketilebilen mantarlar özellikle daha önce tıbbi mantar olarak tanımlanmış olanlar da yüksek antioksidan özellik gösterebilen mantarlar olarak belirlenmiştir (Yildiz Turp vd. 2018). *Fomitopsis officinalis*, *Phellinus igniarius* ve *Lactarius deliciosus* türlerinin *in vitro* antioksidan özellikleri bilinmektedir (Dizeci ve Yildirim, 2023; Muszyńska vd. 2020; Seçil Erdoğan vd. 2017). Bu çalışmada bu üç mantar türünün bilinen *in vitro* antioksidan özelliklerinden yola çıkarak *in vivo* (*Caenorhabditis elegans*) antioksidan özelliklerinin, yani oksidan indüklenmesinin yapıldığı ortamda yaşam

uzunluğu ölçümleri ile yapılan stres yanıtına cevap ölçümü ve doğrudan reaktif oksijen türü (ROT) miktarı ölçümü yapılarak ortaya konulması planlanmıştır.

Bu tez çalışmasının amacı, mantarların antioksidan özelliklerinden yararlanarak oksidatif strese yanıtlarını test edip yaşlanma çalışmalarına katkı sağlamaktır. Bu kapsamda *F. officinalis*, *P. igniarius* ve *L. deliciosus* mantarlarının su ekstraktlarının 100 µg/ml, 50 µg/ml ve 25 µg/ml dozlarını *C. elegans* model organizmasının üzerinde ömür uzunluğuna etkisi, oksidatif strese yanıtı ve ROT seviyesine etkisi araştırılmıştır.



2. KAYNAK TARAMASI

2.1 Yaşlanma

Yaşlanma kavramının günümüzde birçok tanımı bulunmaktadır. Yaşlanma, azalan doğurganlık ve geri dönüşü olmayan canlılığın yitilmesi sürecidir. Fizyolojik işleyişin ilerlemesindeki düşüşü ve zamanla bozulmasını, aynı zamanda biyokimyasal süreçlerin olağanın dışına çıkmasını kapsamaktadır (Percival 2009).

Bu süreç hücresel yaşlanma, genomik istikrarsızlık, telomer aşınması, epigenetik değişiklikler, proteostaz kaybı, düzensiz besin Emilimi, mitokondriyal fonksiyon bozukluğu, kök hücre tükenmesi ve hücreler arası farklılaşmış iletişim gibi birçok biyolojik değişikliği kapsamaktadır (Tollefsbol 2007.; L. Zhang vd. 2022).

Bu değişiklikler canlıların dışsal ve içsel faktörlerle sürekli savaşır durumda olmasından etkilenmektedir. Canlıların onarım mekanizmalarındaki zamanla oluşan bozulmalar ve değişiklikler zarar verecek maddelerin birikimine ve böylece hücresel işlevdeki bozukluklara yol açmaktadır. Birbirini takip eden bozukluklar yaşlanmayı hızlandırmaktadır (Dodig vd. 2019).

Yaşlanmanın büyük bir bölümünü oluşturan biyolojik değişiklikler, literatürde yaşlanma teorileri adı altında karşımıza çıkmaktadır (Aldwin ve Gilmer 2013). Bu teorilerin ana konularını yaşlanmayı tetikleyebilen telomer hasarı/kısalması, DNA hasarı, kromatin bozulması, inflamasyon, epigenetik düzensizlik, onkojen aktivasyonu, mitokondriyal disfonksiyon ve oksidatif stres oluşturmaktadır (Dodig vd. 2019). Yaşlanmayla ilgili birçok biyolojik temelli teori olmasına rağmen günümüzde hala üzerinde çalışmaların sürdürüldüğü yaşlanmayı açıklayan temel iki konu bulunmaktadır. Bunlardan birisi DNA'daki telomerin kısalması, bir diğeri ise oksidatif stresin hücreye olan etkileridir (Öğüt ve Atay 2012).

2.2 Biyolojik Yaşlanma Teorileri

2.2.1 Telomer hasarı/kısalması teorisi

Ökaryotik kromozomların uçlarında bulunan ve evrimsel olarak korunmuş DNA'yı telomerler oluşturmaktadır. Telomerler genetik bilgiyi korur ve genomik istikrarsızlığa karşı koruma sağlamaktadırlar. 'Uç replikasyon sorunu' ve telomer son işlemesi nedeniyle hücre bölünmesiyle birlikte giderek kısalırlar (Sellami vd. 2021; Xuwen vd. 2019). Telomer uzunluğu biyolojik yaşlanmanın en önemli belirteçlerinden birini oluşturmaktadır.

Normal insan hücrelerinde telomeraz seviyeleri, telomer uzunluğunu korumak için yetersizdir ve her hücre bölünmesiyle ilerleyici yıpranmaya neden olur; bu nedenle, ölçülü telomer kaybı, sonuçta hücre bölünmelerinin sayısını ve hücresel yaşam süresini sınırlayan bir hücresel mitotik saat görevi görebilir (Simon vd. 2006).

Hayflick sınırını telomer replikasyonu ile ilişkilendiren ilk bilim adamı Olovnikov'du. Telomer uzunluğunun olası hücre bölünme turlarının sayısını

belirleyebileceğini öne sürdü (Olovnikov 1973). 1986'da Cooke ve Smith farklı dokulardaki telomer uzunluklarını karşılaştırdıklarında telomerler doğrudan hücre yaşlanmasıyla ilişkilendirildi (Cooke ve Smith 1986). Sonraki birkaç yıl içinde araştırmacılar, telomeraz telomerleri uzattığı için insan hücrelerinin replikasyon kapasitesinin arttığını buldular. Bu nedenle telomerler, hücrelerin “moleküler saati” olarak kabul edilmektedir (Müezzinler vd. 2013).

2.2.2 Mitokondriyal hasar teorisi

Mitokondriyal DNA'nın ve mitokondride ATP sentezinde görev alan kısımların oksidatif hasardan fazlaca etkilendiği belirtilmiştir. Bunun nedeni mitokondrinin etkilendiği kısımların aynı zamanda oksidatif hasara sebep olan radikallerin kaynağını oluşturmasıdır. Bununla birlikte mitokondriyal DNA etrafında zar benzeri bir koruyucu tabaka olmamasından dolayı oksidatif hasara daha açıktır. Böylece radikallerin fazla birikimi sonucunda oluşan oksidatif hasar yaşlanma sürecinde mitokondriyal genomda bozulmalara neden olmaktadır ve mitokondriyal disfonksiyonun başlıca nedenini oluşturmaktadır (Atli Şekeroğlu vd. 2009).

2.2.3 Oksidatif stres teorisi

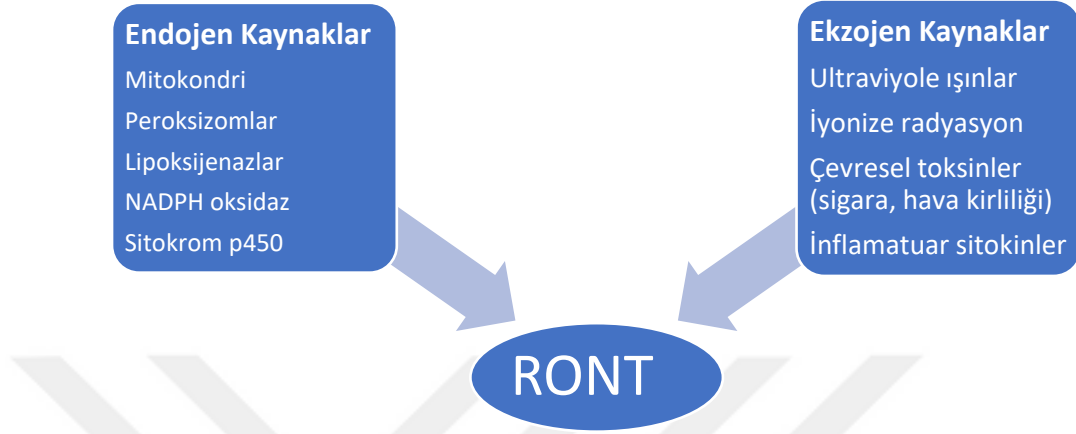
Yaşlanmanın oksidatif stres teorisi, yaşa bağlı fonksiyonel kayıpların, reaktif oksijen ve nitrojen türevleri (RONT) kaynaklı hasarların birikmesinden kaynaklandığı hipotezine dayanmaktadır. Yaşa bağlı hastalıklar ve patolojileri, incelendiğinde Reaktif oksijen türlerinde (ROT) bir artış ve ardından gelen oksidatif stres ile sıkı bir şekilde ilişki gözlemlenmiştir (Liguori vd. 2018).

Oksidatif stres, oksijenin canlı organizmalar tarafından aerobik solunumda kullanılmasının bir sonucudur ve ROT oluşumu ile endojen antioksidan sisteminin bunları detoksifiye etme yeteneği arasındaki kalıcı bir dengesizlik durumu olarak tanımlanır (Moldogazieva vd. 2019). 1959'da Denham Harman, biyomoleküler oksidasyon ve hücre hasarının altında yatan neden ve yaşlanma sırasında hücre fonksiyonlardaki değişikliklerin açıklaması olarak ROT birikimine işaret eden serbest radikal yaşlanma teorisini öne sürdü (Harman 2002).

2.3 Oksidanlar

Yaşam devamlılığı için gerekli olan temel elementlerden birini oksijen oluşturmaktadır. Hücre içerisindeki enerji üretimi sırasında oksijenin kullanılmasıyla beraber oksidan üretimi de meydana gelmektedir ve bunlar serbest radikaller ve radikal olmayanlar olarak adlandırılmaktadır. Serbest radikaller sürekli olarak üretilmektedir. Sadece enerji üretimi sırasında mitokondri de değil birçok endojen ve eksojen kaynaklar tarafından da üretilmektedirler (Karabulut ve Gülay 2016). Mitokondri ve peroksizom organelleri, lipoksijenaz ve NADPH oksidaz enzimleri ve sitokrom p450 mekanizması

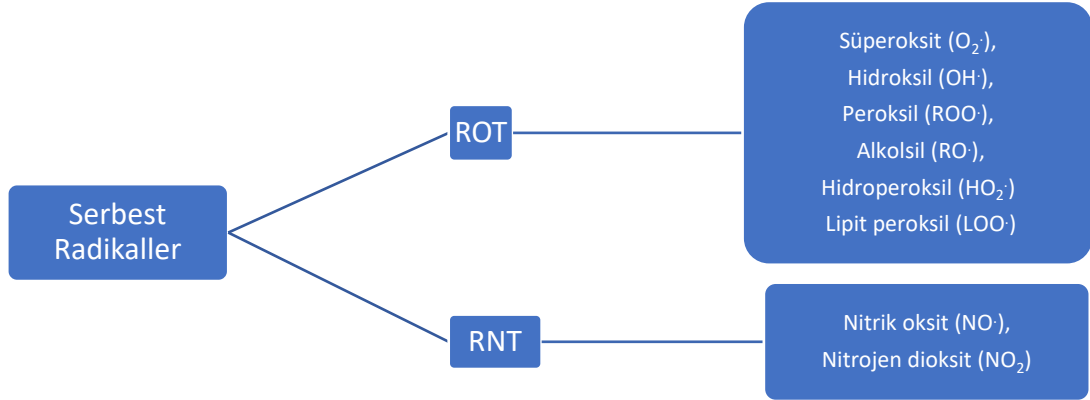
endojen kaynaklar arasında yer alırken ultraviyole ışınlar, iyonize radyasyon, inflamatuvar sitokinler ve sigara, hava kirliliği gibi çevresel toksinler endojen kaynakları oluşturmaktadırlar (Aslankoç vd. 2019).



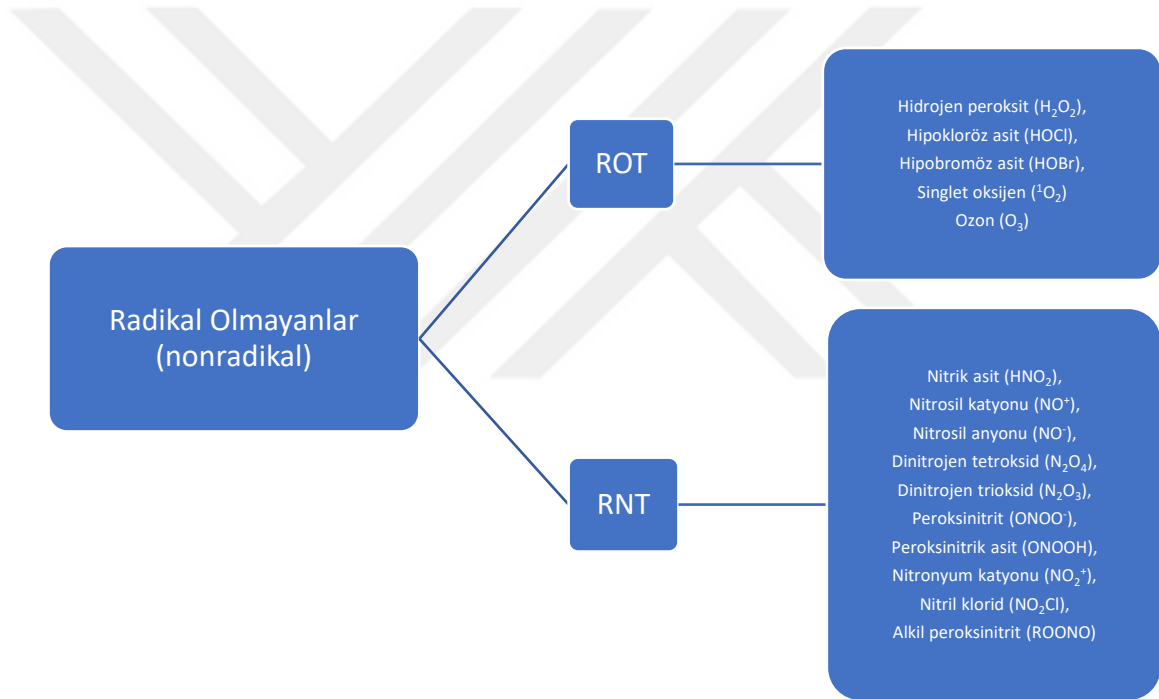
Şekil 2.1 Serbest radikallerin kaynağı (Aslankoç vd. 2019)

Üretilen serbest radikallerin zararları olduğu gibi yararları da bulunmaktadır. Proteinlerin, lipidlerin, nükleik asitlerin yapısında değişiklikler meydana getirebilmektedirler (Shinde vd. 2023). Serbest radikaller, düşük yoğunlukta yken kanser hücrelerinin yok edilmesi, enfeksiyonlara savunma oluşturulması, detoksifikasyon mekanizmalarında görev alması, kalsiyum salınımı, tirozin aminoasidini fosfatlaması ve büyüme faktörü sinyallerinde görev alması gibi hücrenin birçok yerinde yararlı şekilde görev yapmaktadır (Karabulut ve Gülay 2016).

Elektron yapılarında, dış orbitallerinde eşlenmemiş elektron taşımaktadırlar ve yüksek enerjiye sahiptirler (Pham-Huy vd. 2008). Serbest radikaller ROT ve RNT (Reaktif Nitrojen Türevleri) olmak üzere iki gruba ayrılmaktadırlar. Eşlenmemiş elektronları bulunmayan RONT molekülleri serbest radikal olarak adlandırılmamaktadırlar ve bu moleküllere radikal olmayan (nonradikal) denilmektedir. Fakat radikal olmayan molekül, serbest radikallerin oluşumu için gerekli olan reaksiyonlara yol açabilmektedirler (Genestra 2007).

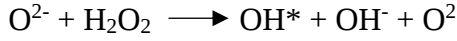


Şekil 2.2. Serbest radikallerin sınıflandırılması (Pham-Huy vd. 2008)



Şekil 2.3. Radikal olmayanların sınıflandırılması (Karabulut ve Gülay 2016)

Hidroksil radikali önemli radikallerden birisini oluşturmaktadır. DNA, lipitler, aminoasitler, proteinler, metaller ve glikoz ile ilişkilendirilen en güçlü radikal olduğu belirtilmiştir. Bu radikalın oluşumunda serbest radikal olmayan hidrojen peroksitin katkısı bulunmaktadır. Hidrojen peroksit, Fe⁺² ve Cu⁺ gibi geçiş metalleri ortamda bulunduğu Fenton reaksiyonu aracılığıyla ve süperoksit radikalleri ortamda bulunduğu ise Haber-Weiss reaksiyonu aracılığıyla hidroksil radikalini oluşturmaktadır (Şekil 2. 4.)(Aslankoç vd. 2019; Young ve Woodside 2001).

Fenton reaksiyonu**Haber-Weiss reaksiyonu**

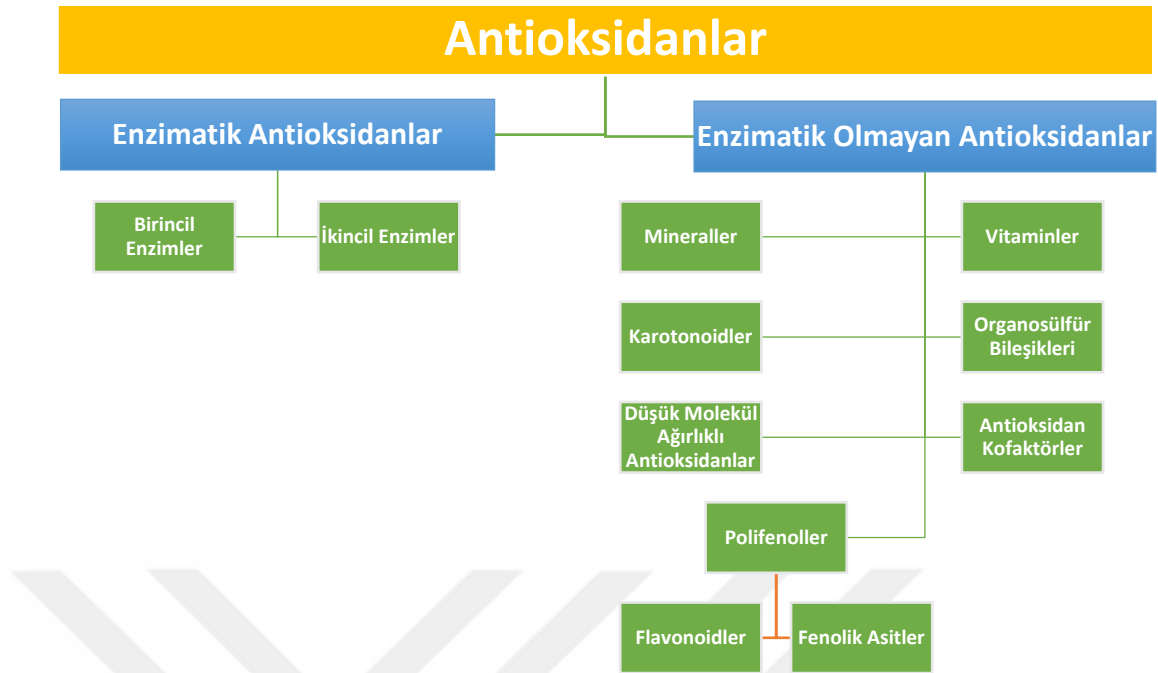
Şekil 2.4. Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonu (Aslankoç vd. 2019)

Organizmalarda oksidanların zararları olduğu gibi yararları da bulunmaktadır. Bundan dolayı oksidan molekülerin gereğinden fazla birikimi oksidatif strese sebep olmaktadır. Oksidatif stres kardiyovasküler hastalıklar, gastrointestinal hastalıklar, solunum ve boşaltım bozuklukları, kanser, diyabet, yaşlanma, spermde fonksiyon bozukluğu ve infertilite gibi rahatsızlıklara yol açabilmektedir. Bu gibi oksidatif stres kaynaklı hastalıkların önlenmesi için antioksidanlardan yararlanılmaktadır (Karabulut ve Gülay 2016).

2.4 Antioksidanlar

Oksidanların fazla birikimini önleme süreci yerinde doğal bir yolla üretilen veya gıdalar ve/veya bitkisel takviyeler tarafından dışarıdan sağlanan antioksidanlar tarafından düzenlenebilmektedir. Antioksidanlar, serbest radikalleri ortadan kaldırmak için önemli bir rol oynamaktadırlar (Akbari vd. 2022).

Antioksidanlar, enzimatik ve enzimatik olmayanlar olmak üzere iki gruba ayrılmaktadırlar. Enzimatik olan antioksidanların moleküler ağırlıkları düşüktür ve endojen olarak üretilmektedirler. Enzimatik olmayan antioksidanlar ise besin alımıyla elde edilmektedir ve polifenoller, vitaminler, mineraller, karotenoidler, organosülfüralleri içermektedir (Bunaciu vd. 2016; R. H. Liu 2004).



Şekil 2.5. Antioksidanların Sınıflandırılması (Bunaciu vd. 2016)

Enzimatik olan birincil enzimleri süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (KAT), glutatyon peroksidaz (GPx) oluştururken ikincil enzimleri ise glutatyon redüktaz (GR), glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) oluşturmaktadır. Çinko (Zn) ve selenyum (Se) mineral olan, A-C-E-K vitamin olan, β -karoten, likopen ve lutein karotenoid olan, glutatyon ve ürik asit düşük molekül ağırlıklı olan, koenzim Q-10 kofaktör olan, kuersetin, kaempferol, kateşin, hespertin, genistein, siyanidin ve chrysin flavonoid olan, ferulik asit ve gallik asit ise fenolik asit olan enzimatik olmayan antioksidanları oluşturmaktadır (Bunaciu vd. 2016).

Antioksidanlar savunma mekanizmalarını temizleme, baskılama, onarma ve zincir kırıcı etkileri olmak üzere dört farklı şekillerde göstermektedirler. Temizleme etkisiyle ROT'ların reaktifliğini azaltırlarken baskılama etkisiyle ROT'ların proton eksikliğini tamamlayarak pasif hale getirmektedirler. ROT'ların sebep olduğu hasarları da onarmaktadırlar. Bunlarla birlikte ROT'ların neden olacağı zincir reaksiyonlarında görev alan moleküllere bağlanarak bu reaksiyonların gerçekleşmesini önlemektedirler (Aslankoç vd. 2019).

Yüksek konsantrasyonda serbest radikallerin oluşturdukları oksidatif stres, hücre yapılarına, nükleik asitlere, lipitlere ve proteinlere hasar vermektedir. Hidroksil radikali DNA' daki tüm bileşenlerle reaksiyona girerek pürin, pirimidin ve deoksiriboz omurgasına zarar vermektedir. Lipit peroksidasyon ürünü olan ve mutajenik özelliği bulunan malondialdehit oluşumunu arttırmaktadır. Proteinlerin bileşenlerine bağlanarak parçalanmalarına sebep olmaktadır. Bunun gibi birçok hücrel hasara sebep olan serbest radikallerin oksidatif stres yaratmalarının engellenmesi için antioksidanların varlığıyla oksidatif denge sağlanmaktadır (Valko vd. 2007).

2.5 Mantarlar

Mantar tüketimi, yüksek besin değeri, arzu edilen tat ve aroması nedeniyle olağanüstü bir artış göstermektedir. Mantarlar, diyet, antioksidan ve terapötik değerleri nedeniyle dünya çapında ticaret için önemli malların yanı sıra, farklı rahatsızlıklara çare olarak gıda olarak tüketilmesinde büyük ilgi uyandırmaktadır (Mwangi vd. 2022).

Yerin üstünde veya altında oluşan kolayca görülebilen, büyük ve spor taşıyan yapılara sahip, ascomycetes ve basidiomycetes içeren mantarlar makrofungus olarak adlandırılmaktadır (Mueller vd. 2007). Yüksek ascomycetes ve basidiomycetes mantarları, antikanser ve immünolojik potansiyel ile farklı özelliklere sahiptir. Aynı zamanda hayati sağlık yararları sağlamaktadırlar ve geniş kapsamlı bir farmakolojik etki sürekliliği sergilemektedirler (Mwangi vd. 2022). Bu gibi özelliklere sahip mantarlar tıbbi mantarlar olarak da adlandırılmaktadır (Sánchez 2017).

Fomitopsis officinalis, *Phellinus igniarius*, *Lactarius deliciosus* mantarları literatürde tıbbi mantarlar arasında yer almaktadır (Dulger vd. 2002; W. A. Elkhateeb 2020; Zheng vd. 2018).

F. officinalis (aynı zamanda *Fomes officinalis*, *Agaricum officinalis* ve *Laricifomes officinalis* olarak da bilinmektedir), Polyporaceae familyasından ahşapta çürüten bir mantardır ve yaygın olarak "Agarikon" olarak bilinmektedir. Astım, öksürük, mide kanseri ve pnömoni tedavisi için kullanılmaktadır. *F. officinalis*, iğne yapraklı konaklarda bir parazit olarak veya kahverengi çürümeye neden olduğu ağaçlar öldükten sonra bir saprobiont olarak büyüebilmektedir. Meyve gövdesinin üst yüzeyi pürüzlü ve çatlaklı olup, tebeşir beyazı, kremi veya fındık rengine ince bir tabakaya sahiptir. Yaşlandıkça karpoforların rengi koyulaşır ve kuvvetli bir şekilde çatlar, uzunluğu 50 cm veya daha fazla olabilir (W. A. Elkhateeb 2020).

F. officinalis; eburikoik asit, sülfürenik asit, versisponik asit d, dehidroeburikoik asit, 3-ketodehidrosülfürenik asit, fomeffcinik asit a-e, fomeffcinik asit f-g, dehidrosülfürenik asit, fomeffcinol a-b, fomicilakton asit, agarik asit, fomitopsin a, officimalonik asitler a-h, fomitopsin c, fomitopsin f, g, h, tripanosit demalonil fomitopsin h ve tripanosidal fomitopsin d etil ester gibi çeşitli ikincil metabolitler üretir (Muszyńska vd. 2020).

Phellinus igniarius, turuncu renkli ve dut ağacında yetişen Hymenochaetaceae familyasına ait *Phellinus* cinsinde bir mantardır. Doğu ülkelerde şifalı ilaç olarak kullanılmaktadır ve halk hekimliğinde sağlığı pozitif yönde etkilediği, gastroenterik bozukluklar, kanser ve lenfotik hastalıklar gibi birçok hastalığı olumlu şekilde etkilediği bilinmektedir (Song vd. 2008). *P. igniarius*' da bulunan polisakkaritler, tümör büyümesi ve metastaz üzerinde inhibe edici etkiye sahiptir ve toksisitesi düşüktür (Guo vd. 2010).

P. igniarius, fenolik bileşikler, terpenler, stereoidler ve polisakkaritler gibi çeşitli sekonder metabolitler içermektedir. İçeriğindeki polifenoller, antikanserojenik özellik göstermektedir ve bunun sebebinin doğal bir antioksidan olmasından kaynaklığını düşünmektedirler. Inoscavin A ve hypholomine B fenoller *P. igniarius* içerisinde fazlaca bulunmaktadır ve antioksidan etkisinin kaynağını oluşturmaktadırlar (Shou vd. 2016).

Lactarius deliciosus, Russulaceae familyasına ait *Lactarius* cinsinde tüketimi oldukça fazla olan yenilebilir yabani mantardır. Bu mantar safran süt kapağı ve kızıl çam mantarı olarak da anılmaktadır (Dizeci ve Yildirim 2023). Antitümör antibakteriyel, antiviral ve immünmodüle edici özellikleriyle tıbbi mantar olarak da anılmaktadır (Qun vd. 2016). *L. deliciosus* içeriğinde alkoller, alkenler, aldehitler, ketonlar, fenoller, asitler ve esterler bulunmaktadır. Ana bileşikler arasında 1-okten3-alkol, dekanolik asit, miristik asit, aleit asit ve palmitik asit yer almaktadır (Qun vd. 2016). Yapılan bir çalışmada *L. deliciosus*'un içeriğinde flavonoid olan mirisetinin miktarının fazla olduğu belirtilmiştir (Dizeci ve Yildirim 2023).



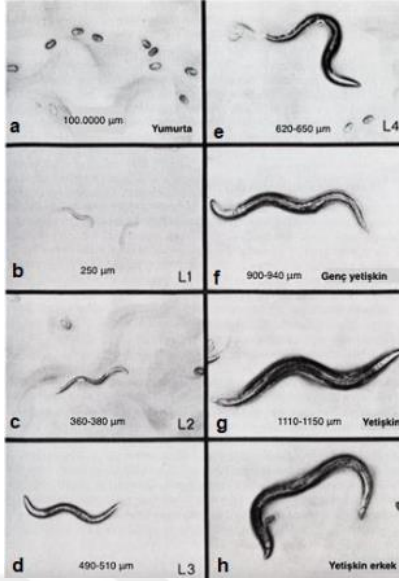
Şekil 2.6. a) *Fomitopsis officinalis*; b) *Phellinus igniarius*; c) *Lactarius deliciosus* (Y. Cao vd. 2021; W. Elkhateeb vd. 2019; Xu vd. 2019)

F. officinalis, *P. igniarius* ve *L. deliciosus* mantarlarının ortak özelliklerinden biri antioksidan özelliklerinin belirtilmiş olup hastalıkları önleyici ve tedavi edici özelliklerinden dolayı tıbbi ilaç olarak adlandırılmaktadırlar (Dizeci ve Yildirim 2023; W. Elkhateeb vd. 2019; Shou vd. 2016; Xu vd. 2019). Antioksidan özelliklerinden dolayı birçok hastalığı ve rahatsızlıkları önleyici etkileri bulunmaktadır. Tüketimleriyle beraber hücredeki fazla ROT birikiminin azaltabilmektedirler ve bu antiaging özelliklerinin de ortaya koyulmasının gerekliliğini göstermektedir.

2.6 *Caenorhabditis elegans*

Toprakta serbest halde yaşayabilen ve çürümekte olan bakteriyel besiyi içeren bitkiden izole edilebilen *Caenorhabditis elegans*, Rhabditidae familyasına ait *Caenorhabditis* cinsi bir nematoddur (Barrière ve Félix 2014). *C. elegans*, hermafrodit (XO) bireyler ve X kromozomundaki nadir gerçekleşen mutasyonla meydana gelen erkek bireyler olmak üzere iki farklı cinsiyette olabilmektedir (Wolff ve Zarkower 2008).

C. elegans'ların 20°C'de yaklaşık olarak 14 saat süren embriyogenez aşamaları bulunmaktadır. Embriyogenez sonrası yumurtadan çıkan bireyler larva aşamasına geçmektedirler. Bu aşama L₁, L₂, L₃ ve L₄ olmak üzere dört larval dönemden oluşmaktadır. Larval dönemlerden çıkan *C. elegans* yetişkinlik dönemine geçiş yapmaktadır. Larval dönem geçişlerinde deri değiştirmektedirler ve deri değiştirirken farinks pompalama durmaktadır ve lathergus denilen uyku durumunda kalmaktadırlar (Raizen vd. 2008).



Şekil 2.7. *C. elegans*'ın gelişim evreleri. a) Yumurta; b) Larva 1; c) Larva 2; d) Larva 3; e) Larva 4; f) Genç yetişkin; g) Yetişkin hermafrodit birey; h) Yetişkin erkek birey (Lewis & Fleming 1995)

Laboratuvar ortamında *C. elegans*'lar, 20°C'de ve *Eshcherichia coli* çimenliği oluşturulmuş agar üzerinde yaşamlarını devam ettirmektedirler. Yetişkin hale gelmeleri 3 gün sürmektedir ve ortalama yaşam süreleri +/- 20 gün sürmektedir (Byerly vd. 1976). Ortamdaki *E. coli* tükendikten sonra vücutlarındaki yağ kaynağından beslenerek genç larva aşamasında gelişimlerini durdurup dauer evresine girmektedirler. Dauer evresindeki *C. elegans*'ların ağızları kapalı ve farinks pompaları çalışmadığından beslenme gerçekleşmemektedir (Vanfleteren ve Braeckman 1999). Normal şartlar dışında yaşamlarını sürdürebilmek için dauer evresine giren *C. elegans*'lar bir ay gibi bir süre yaşayabilmektedirler (Riddle vd. 1981).

C. elegans, insan genleriyle %60-80 oranında ortoloğu bulunmaktadır ve insan hastalık genlerinden yaklaşık %40'ını genomunda bulundurduğu düşünülmektedir (Culetto ve Sattelle 2000). Protein kodlayan genlerinin ise %38'i insan genomunda ortologlara sahiptir (Shaye ve Greenwald 2011).

C. elegans, hızlı üreyebilme ve büyüebilme, genetik çalışmalarının kolay yapılabilme, mutantların heterozigot saklanabilmesi için organizma olarak dondurulabilme, küçük boyutta olması, düşük maliyetli olması gibi özelliklerinden dolayı genetik araştırmalar ve ömür uzunluğu araştırmalarında kullanılabilecek bir model organizmadır (Brenner 1974; Maglioni vd. 2014; Petersen vd. 2015).

Bu tez çalışmasında *C. elegans* üzerinde antioksidan özellikleri bulunan *F. officinalis*, *P. ignarius* ve *L. deliciosus* mantarlarının su ekstraktlarının 25 µg/ml, 50 µg/ml ve 100 µg/ml konsantrasyonlarında 20 °C'de ömür uzunluğuna etkisinin, oksidatif stres altında ömür uzunluğuna etkisinin ve organizma içerisinde ROT seviyelerine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Uygulanan farklı mantarların ve farklı konsantrasyonlarının

C. elegans'ın ömür uzunluğuna etkisinin antiaging çalışmalarına katkı yapacağı hedeflenmiştir.



3. MATERYAL VE METOD

3.1 Kullanılan Kimyasal Malzemeler

3.1.1 Reaktifler

C. elegans' ın yaşamsal ortamını oluşturan Nematod Growth Medium (NGM-Nematod Büyüme Ortamı)'nı hazırlamak için; NaCl (Merck), Bacto-peptone (Merck), Agar (Merck), MgSO₄ (Merck), CaCl₂ (Merck), Kolesterol (Amresco), K₂HPO₄/KH₂PO₄ (Merck), Etanol (Tekkim) kullanılmıştır. Bununla birlikte *C.elegans* 'ın beslenmesi için gerekli olan *E.coli* bakterisinin OP50 suşunun büyütülmesi için gerekli olan malzemeleri Bacto Tryptone (Merck) ve Yeast Extract (Merck) oluşturmaktadır. Deney sırasında yumurtlamayı engellemek için ise FUDR (Fluorodeoxyuridine(Alfa Aesar)) kullanılmıştır. Deneyde kullanılan *F. officinalis*, *P. igniarius* ve *L. deliciousus* mantarlarının ekstraktları Akdeniz Üniversitesi Mikoloji Laboratuvarı'ndan alınıp PBS (Fosfat Tamponu) ile çözdürülmüştür. Oksidatif strese yanıt deneyinde oksidatif stresi oluşturmak için Paraquat (Sigma Aldrich) kullanılmıştır. ROT seviyesini belirleyebilmek için H₂DCFDA (2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate (Sigma Aldrich)) ve PBST tamponu için NaCl (Merck), KCl (Merck), KH₂PO₄ (Merck), Tween20 (Merck), Na₂HPO₄ (Merck) kullanılmıştır.

3.2 *C. elegans* ve *E. coli* Kaynağı

Gerçekleştirilen bu tez çalışmasında kullanılmış olan *C. elegans* N2 (yabanıl tip) Bristol suşu ve nematodların beslenmesi için gerekli olan *E. coli* OP50 suşu "Caenorhabditis Genetic Center at the University of Minnesota" dan satın alınmıştır.

3.3 *C. elegans* Kültürünün Sürdürülmesi

C. elagans ile ilgili bütün çalışmalar www.wormbook.org' da belirtilen uygulamalar çerçevesinde gerçekleştirilmiştir. Önceden hazırlanmış NGM (Nematod Büyüme Ortamı) içeren petrilerin üzerine *E. coli* OP50 ($\approx 9,52 \log/\text{kob/ml}$) ilave edildikten sonra kuruması beklenmiştir. Oluşturulan *E. coli* çimenliğinin üzerine yaş senkronizasyonu yapılmış *C. elegans* transferi yapılmıştır. Transfer sonrasında kültürün sürdürülebilmesi için sıcaklığı 20°C'ye sabitlenmiş inkübatöre (NÜVE ES 120) yerleştirilmiştir. Gözlemler ve gerekli sayımlar stereo mikroskop (NIKON CD-S) aracılığıyla gerçekleştirilmiştir.

3.4 NGM (Nematod Büyüme Ortamı) Oluşturulması

C. elegans 'ın yaşamsal faaliyetlerini sürdürdüğü NGM hazırlanırken cam şişe içerisine NaCl (3gr/L), pepton (2,5 gr/L) ve agar (17 gr/L) tartılıp üzeri distile su ile tamamlandıktan sonra 120°C'de 20 dk otoklavlanmıştır. Otoklavlanan karışım içerisine önceden hazırlanmış CaCl₂ (1 ml/L), MgSO₄ (1 ml/L), KPO₄ (25 ml/L) ve kolesterol (1 ml/L) solüsyonlarından eklenmiştir. Şişe hafifçe karıştırılıp petri kaplarına eşit bir şekilde paylaştırılmış ve katılaşması beklenmiştir. Katılaştıran NGM'li petriler 4°C sıcaklıkta buzdolabında saklanmıştır (S. G. Cao vd. 2023).

NGM içerisine eklenen CaCl_2 , MgSO_4 ve KPO_4 solüsyonları daha öncesinden konsantrasyonları 1 M olacak şekilde distile su ile hazırlanıp otoklavlanmıştır. Kolesterol ise konsantrasyonu 5 mg/ml olacak şekilde etanol ile hazırlanıp filtre yardımıyla steril hale getirilmiştir.

3.5 *E. coli*'nin, Çoğaltılması ve NGM Üzerine Uygulanması

E. coli'nin büyümesi için gerekli olan ortam ve NGM ortamına aktarılması Xiao ve arkadaşlarının protokolü kullanılarak uyarlanmıştır (Xiao vd. 2023).

Lurient Broth (LB) *E. coli*'nin çoğaltılması için gerekli olan sıvı ortamdır. NaCl (1,25 gr), bacto yeast (1,25 gr) ve bacto tripton (2,5 gr) tartılarak bir şişe içerisine aktarılıp üzeri distile su ile 250 ml'ye tamamlanmıştır (pH: 7,5). Karışım otoklavlandıktan sonra LB şişesinin kapağı sıkıca kapatılıp 4°C'de saklanmıştır.

C. elegans'ın besinini oluşturan *E. coli*'nin yaşam ortamını oluşturan Lurient Agar (LA) hazırlamak için NaCl (1,25 gr), bacto yeast (1,25 gr), bacto tripton (2,5 gr) ve agar (3,25 gr) tartılarak üzeri distile su ile 250 ml'ye tamamlandıktan (pH: 7,5) sonra otoklavlanmıştır. Otoklavlanan LA petri kaplarına döküldükten sonra kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan LA içeren petri kapları 4°C'de buzdolabında saklanmıştır.

E. coli'yi yaşamsal ortamında kolonileşmesini sağlamak için LB besi yerinden (sıvı besiyeri) LA besi yerine ekim yapılmıştır. 50 ml'lik falkonda LB içerisinde bulunan *E. coli*'yi LA üzerine ekebilmek için çeker ocak yanında çalışılmıştır. Isıtılan ve steril edilen öze soğuduktan sonra falkon içerisine sokulup LA üzerine yayılmıştır. *E. coli*'yi tek bir koloni halinde elde edebilmek için öze her seferinde çeker ocakta steril hale getirilip soğutulmuştur ve özenin her sterilizasyon işleminden sonra LA'lı petri saat yönünde döndürülerek öze yardımıyla çizikler oluşturulmuş ve ekim işlemi gerçekleştirilmiştir. Ekim işleminin ardından parafilm ile petri kabının etrafını kapatılıp 37°C'ye ayarlanmış etüvde (MEMMERT) bir gece büyümeye bırakılmıştır. Ertesi gün petriler etüvden alınıp stok halinde saklamak için 4°C olan buzdolabına konulmuştur.

E. coli'yi LB besiyerine aktarmak için LA içerisinde oluşmuş tek koloni halindeki *E. coli*, çeker ocakta ısıtılarak steril edilmiş ve soğutulmuş öze yardımıyla alınıp, yine çeker ocak yanında 50 ml'lik falkona 25 ml doldurulmuş LB sıvı besi yeri içerisine daldırılmıştır. Öze falkon içerisinde birkaç kez hareket ettirildikten sonra falkon içerisinden çıkartılmıştır ve falkonun ağzı steri edilip gevşek bir şekilde kapatılmıştır. Ekim işleminden sonra LB içeren falkon 37°C'ye ayarlanmış etüvde bir gece büyümeye bırakılmıştır. Ertesi gün etüv içerisindeki LB beklenen bulanıklık seviyesine geldiğinde kapağı sıkıca kapatılıp etüvden çıkarılmıştır. Etüvden çıkarılan falkonlar 4°C'de buzdolabında kullanılmak üzere saklanmıştır.

Buzdolabında saklanan 50 ml'lik falkonda LB içerisindeki *E. coli*, NGM üzerinde çimenlik oluşturmak için steril kabin (JSR-JSCB 120SB) içerisine oda sıcaklığına gelmesi için bırakılmıştır. Oda sıcaklığına gelen LB içerisindeki *E. coli*'den belirli miktarda alıp NGM üzerine eklenmiştir. *E. coli* eklenen NGM'li petriler bir gece steril kabin içerisinde oda sıcaklığında bekletilmiştir. Ertesi gün NGM üzerindeki *E. coli* kuruduktan sonra 4°C buzdolabına kaldırılmıştır.

3.6 Yumurta Toplama İşlemi (*C. elegans* Yaş Senkronizasyonu)

NGM içerisindeki *C. elegans*'lar ve yumurtlar steril distile su yardımıyla birkaç kez yukardan aşağıya doğru pipetleyerek bir kenarda biriktirilip toplanmıştır. Toplanan *C. elegans*'lar ve yumurtalar, içerisinde 0.5 ml 5 N derişimindeki NaOH ve 1 ml çamaşır suyu (NaClOH) olan 15 ml' lik falkona eklenip üzeri steril distile su ile 5 ml'ye tamamlanmıştır. Falkon, 10 dakika boyunca 2 dakikada bir 10 saniye süreyle vortekslenmiştir. 6 kez vortekslenen falkon 3500 rpm' de 30 sn boyunca santrifüjlendikten (ARI-80-2A) sonra çökeltiye dokunmadan 1 ml seviyesine kadar süpernatant kısmı atılmıştır ve üzerine 5 ml seviyesine kadar steril distile su eklenmiştir ve falkon tekrar 30 sn boyunca 3500 rpm' de santrifüjlenmiştir. Bu yıkama işlemi 3 kez tekrarlandıktan sonra kalan çökelti pipetaj yapılmış ve yeni *E. coli* çimenliği olan NGM üzerine eklenip kurumaya bırakılmıştır. Kuruma tamamlandıktan sonra petri ler mikroskopta kontrol edilerek 20°C'deki inkübatöre konulmuştur (Stiernagle 2006).

3.7 Mantar Ekstraktlarının Eldesi

Mantarların ekstraksiyon işlemleri Akdeniz Üniversitesi Mikoloji Laboratuvarı tarafından yapılmıştır ve Alzorgi vd. (2017) ve Lee vd. (2009) çalışmasından uyarlanmıştır. *F. officinalis*, *P. ignarius* ve *L. deliciosus* olmak üzere 3 mantar türünün her biri için toplanan 1 kg yaş mantar 70°C'de 48 saat boyunca kurutulmuştur. Kurutulan mantarlar öğütülmüştür ve toz haline getirilmiştir. Toz haline getirilmiş olan mantar çeşitlerinin her birinden 40 gr tartılıp üzerine 400 ml distile su eklenmiştir. Bu karışım 24 saat bekletildikten sonra filtre kâğıdı yardımıyla süzölmüştür ve süzölen sıvı kısım Soxhlet cihazında 40°C'de 24 saat boyunca ekstre edilmiştir. Üç bağımsız ekstraksiyondan elde edilen toplam ekstrakt liyofilize edilerek ekstrakt toz haline getirilmiştir ve 4°C'de karanlık olacak şekilde buzdolabında saklanmıştır(Alzorgi vd. 2017; Lee vd. 2009).

3.8 Uygulanacak Kimyasalların ve Tampon Çözeltilerin Hazırlanması

Deneylerde bazı kimyasalların çözöcüsünü oluşturan ve ROT ölçümü için kullanılan PBS tamponu tablet (İnvitrogen) kullanılarak hazırlanıp filtre ile steril hale getirilmiştir.

ROT ölçümü sırasında kullanılması gereken PBS-T tamponu ise PBS tamponu içerisine 2 ml %0,1'lik Tween-20 kimyasalı eklenerek filtre ile steril hale getirilmiştir. PBS-T tamponu için pH: 7,2 olarak ayarlanmıştır.

Deneylerde kullanılacak olan liyofilize edilmiş *F. officinalis*, *P. ignarius* ve *L. deliciosus* mantarlarından konsantrasyonu 100 µg/ml olacak şekilde 20 ml' lik stok solösyon hazırlamak için 0,2 gr tartılmış ve 20 ml PBS içerisinde çözödürölmüştür. Çözölen mantar solösyonları filtreden geçirilip steril hale getirildikten sonra 1 ml'lik steril ependorflara paylaşırlmış ve -20°C'de saklanmıştır.

Deneylerde uygulanacak olan mantar dozları besiyeri içerisindeki son konsantrasyonu 100 µg/ml, 50 µg/ml ve 25 µg/ml şeklinde belirlenmiştir. Stoktan alınan solösyonlardan ½ ve ¼ oranında seyreltilerek 50 µg/ml ve 25 µg/ml dozları ayarlanmıştır. Her 100 ml besiyeri hazırlamak için mantar solösyonlarından 1 ml besiyerine eklenmiştir.

Bütün deneylerde nematodların aynı gelişim düzeyinde olması ve yeni nesil nematodların karışmasını engellemek için NGM hazırlanırken diğer solüsyonlarla birlikte (Çizelge 3.2.) besiyeri içerisinde son konsantrasyonu 25 µM olacak şekilde 5-Fluoro-2'-deosiüridin (FUDR) eklenmiştir. NGM içerisine eklenen FUDR öncelikle 25 mM (153,8 mg + 25ml distile su) konsantrasyonunda stok solüsyon halinde hazırlanmıştır.

C. elegans'ların üzerinde oksidatif stres yaratmak amacıyla alınan paraquatın 777 mM konsantrasyonunda stok solüsyonu PBS kullanılarak oluşturulmuştur. Besi yeri içerisine son konsantrasyonu 2,5 mM olacak şekilde paraquat eklenmiştir.

Mantar dozlarının *C. elegans* içerisindeki ROT seviyesine etkisinin ölçülmesi için kullanılan H₂DCF-DA kimyasalı besiyeri içerisindeki son konsantrasyonu 50 µM olacak şekilde ölçümden önce kurtçukların bulunduğu 96'lı plakalara eklenmiştir. H₂DCF-DA kimyasalının stok solüsyonu 250 µM olacak şekilde PBS ile hazırlanmıştır.

3.9 Mantar Ekstraktlarının Antioksidan Testi

Liyofilize mantar ekstraktlarının antioksidan kapasitelerinin belirlenmesi için "Rel Assay Diagnostics" firmasına gönderilmiştir.

3.10 Mantar Ekstraktlarının 20°C'deki Ömür Uzunluğuna Etkisi

Mantar ekstraktlarının *C. elegans* üzerinde 20°C'deki ömür uzunluğuna etkisi belirlenirken *F. officinalis*, *P. igniarius* ve *L. deliciousus* mantarlarının her birinden 100 µg/ml, 50 µg/ml ve 25 µg/ml olmak üzere üç doz belirlenip deney grupları oluşturulmuştur (Aranaz vd. 2021; Babac vd. 2021; Kittimongkolsuk vd. 2021). Mantar içermeyen kontrol grubu ve mantar içermeyen PBS içeren kontrol grubu da dahil olmak üzere toplamda 11 deney grubu (kontrol, PBS-kontrol, *F. officinalis* 100 µg/ml, *F. officinalis* 50 µg/ml, *F. officinalis* 25 µg/ml, *P. igniarius* 100 µg/ml, *P. igniarius* 50 µg/ml, *P. igniarius* 25 µg/ml, *L. deliciousus* 100 µg/ml, *L. deliciousus* 50 µg/ml, *L. deliciousus* 25 µg/ml) oluşturulmuştur. Mantarlar NGM içerisine otoklavdan sonra eklenip petrilere (İsolab-60mm-steril) paylaştırılmıştır. Kuruyan NGM'li petrilerin üzerine *E. coli* çimenliği oluşturulmuş ve bir gece bekletilip çimenliğin oluştuğundan emin olunduktan sonra yaş senkronizasyonu yapılmış L₄ gelişim düzeyindeki *C. elegans*'lar deney petrilere distile su yardımıyla aktarılmıştır. Her bir petriye en az 30 *C. elegans* olacak şekilde aktarım yapılmıştır. Her gün aynı saatte petrilerin içerisindeki kurtçuklar steril öze yardımıyla dürtülerek kontrol edilmiş ve ölü sayımı yapılarak ölümler ortamdaki uzaklaştırılmıştır. Sekizinci günde *C. elegans*'ların taze besiyerine aktarımı öze yardımıyla tek tek taşıyarak gerçekleştirilmiştir. Ortamdan kaçan *C. elegans*'lar sayıma dahil edilmemiştir. Deney seti 5 tekrar şeklinde hazırlanmıştır.

3.11 Mantar Ekstraktlarının Oksidatif Stres Altında Ömür Uzunluğuna Etkisi

Mantar ekstraktlarının oksidatif stresi altındaki *C. elegans*lar üzerindeki ömür uzunluğuna etkisi belirlenirken oksidatif stres yaratmak için prooksidan ajan olan paraquat kullanılarak diğer çalışmalardan uyarlanmıştır (Saier vd. 2018; Senchuk vd. 2017; Zöngür ve Sari 2023).

Oksidatif stres oluşturulması için *C.elegans*'a uygulanacak paraquatın besiyeri içerisindeki son konsantrasyonunun belirlenmesi için 1 mM, 2,5 mM, 5 mM ve 10 mM derişimlerinde paraquat solüsyonları hazırlanmıştır ve NGM içerisine eklenip *E.coli* çimenliğı oluşturulmuştur. Oluşturulan her bir petri içerisinde en az 30 tane olacak şekilde *C. elegans* eklenmiştir. Her gün petrilerin içerisindeki ölümler kontrol edilerek sayılmıştır. Ortamdan kaçan *C. elegans*'lar sayıma dahil edilmemiştir. Bu optimizasyon süreci içerisindeki deney grupları 3 tekrar şeklinde hazırlanmıştır.

20°C sıcaklıkta *C. elegans*'ların ömür uzunluğunu arttıran mantarlar ve dozları seçilerek deney grupları oluşturulmuştur. Bu deneyde kontrol, PBS-kontrol, *F. officinalis* 25 µg/ml, *P. igniarius* 100 µg/ml, *L. deliciousus* 100 µg/ml ve *L. deliciousus* 50 µg/ml olmak üzere toplamda 6 grup oluşturulmuştur. Otoklavlanan NGM içerisine mantarlarla birlikte besiyeri içerisinde son konsantrasyonu 2,5 mM olacak şekilde paraquat eklenerek petrilere (İsolab-60mm-steril) paylaştırılmıştır. Kuruyan NGM'li petrilerin üzerine *E. coli* eklenip ertesi gün çimenliğin oluştuğundan emin olunduktan sonra yaş senkronizasyonu yapılmış L₄ gelişim düzeyindeki *C. elegans*'lar her petriye en az 30 tane olacak şekilde steril distile su yardımıyla aktarılmıştır. Her gün petri kapları içerisindeki ölümler dürtülerek kontrol edilip sayılmıştır ve öze yardımıyla ortamdan uzaklaştırılmıştır. Ortamdan kaçan *C. elegans*'lar sayıma dahil edilmemiştir. Deney seti 5 tekrar şeklinde hazırlanmıştır.

3.12 Mantar Ekstraktlarının Reaktif Oksijen Türü Seviyesine Etkisi

Mantarların *C. elegans* üzerindeki ROT seviyelerinin belirlenmesi için oluşturulan deney literatürdeki çalışmalardan uyarlanmıştır (Büchter vd. 2013; Kampkötter vd. 2007; Yoon vd. 2018).

C. elegans organizmasındaki ROT seviyesini belirlemek için kullanılan 96'lı plaka üzerindeki kuyucuklara eklenecek nematod sayısı ve ölçüm süresi laboratuvar bünyesinde daha önceden yapılmış olan araştırmada belirlenmiştir (Çelikel 2022).

20°C'deki ömür uzunluğu deneyi sonucunda seçilen deney gruplarının (kontrol, PBS-kontrol, *F. officinalis* 25 µg/ml, *P. igniarius* 100 µg/ml, *L. deliciousus* 100 µg/ml ve *L. deliciousus* 50 µg/ml) besiyerleri dökülmüş ve *E. coli* çimenliğı oluşturulmuştur. Yaş senkronizasyonu yapılmış olan ve L₄ gelişim düzeyine gelmiş olan *C. elegans*'lar her deney petrisinde en az 70 tane olacak şekilde deney petrilere (İsolab-60mm-steril) distile su yardımıyla aktarılmıştır. 48 saat muameleden sonra *C. elegans*'lar PBS yardımıyla toplanarak 1 ml olacak şekilde ependorf içerisine eklenmiştir. 3500 rpm'de 30 saniye boyunca santrifüjlendikten (İsolab) sonra süpernatant kısmı atılıp üzeri tekrardan 1 ml'ye tamamlanmıştır. Bu yıkama işlemi 3 kez tekrar edilmiştir. Sonuncu santrifüj işleminden sonra süpernatant atılıp üzeri 1 ml'ye kadar PBST ile tamamlanmıştır. PBST içerisindeki *C. elegans*'lar 1 saat bekletilmiştir. 1 saat sonunda tekrar 3500 rpm'de 30 sn santrifüj yapıldıktan sonra süpernatant kısmı atılıp üzeri 500 µl'ye kadar PBS ile tamamlanmıştır. Birkaç kez pipetaj yapıldıktan sonra içerisinden, 50 µl PBS koyulmuş olan 96'lı plaka (Costar 3915) üzerindeki kuyucuklara 10 tane *C. elegans* gelecek şekilde ekleme yapılmıştır ve üzeri 80 µl'ye kadar PBS ile tamamlanmıştır. *C. elegans* eklenen kuyucukların her birine son konsantrasyonu 50 µM olacak şekilde 20 µl H₂DCF-DA kimyasalından eklenmiştir. Floresan spektrofotometrede (Fluoroskan Ascent FL) 37°C stres altında ROT oluşumu indüklenerek her 15 dakikada bir 3 saat boyunca

ölçüm yapılarak ROT seviyeleri belirlenmiştir (485 nm eksitasyon- 530 nm emisyon). Deney seti 5 tekrar şeklinde yapılmıştır.

3.13 İstatistiksel Analiz

Deneyler sonucunda ulaşılan bütün verilerde ortalama $\pm$ standart hata hesaplanmıştır. *C. elegans* üzerinde ömür uzunluğunu belirlediği mantarların 20°C’de ve oksidatif stres altında *C. elegans*’ın ömür uzunluğu üzerindeki etkisi deneylerinde sağkalım çalışmalarında yaygın olarak kullanılan Kaplan-Meier yaşam analizi uygulanıp log-rank testi yapılmıştır (Park vd. 2017).

Mantarların *C. elegans*’ların ROT seviyelerine etkisi deneyinde elde edilen veriler Two Way ANOVA- Dunnet testi ile analiz edilmiştir.

20°C’de ve oksidatif stres altında *C. elegans*’ın ömür uzunluğu üzerindeki etkisi belirlenen deneylerde analizler PASW Statistic 18 (SPSS) programı ile yapılmıştır. Mantarların *C. elegans* üzerindeki ROT seviyelerine etkisinin belirlendiği deneyde ise GraphPad Prism 9.5 programı kullanılarak analiz yapılmıştır. Anlamlılık kriteri $p \leq 0,05$ şeklinde belirlenmiştir ve değerlendirmeler bu kriter üzerinden yapılmıştır.

Canlılık yüzdelerinin ve ortalamaların bulunduğu grafikler Excel kullanılarak yapılmıştır.

4. BULGULAR

4.1 Mantarların Antioksidan Testi Sonuçları

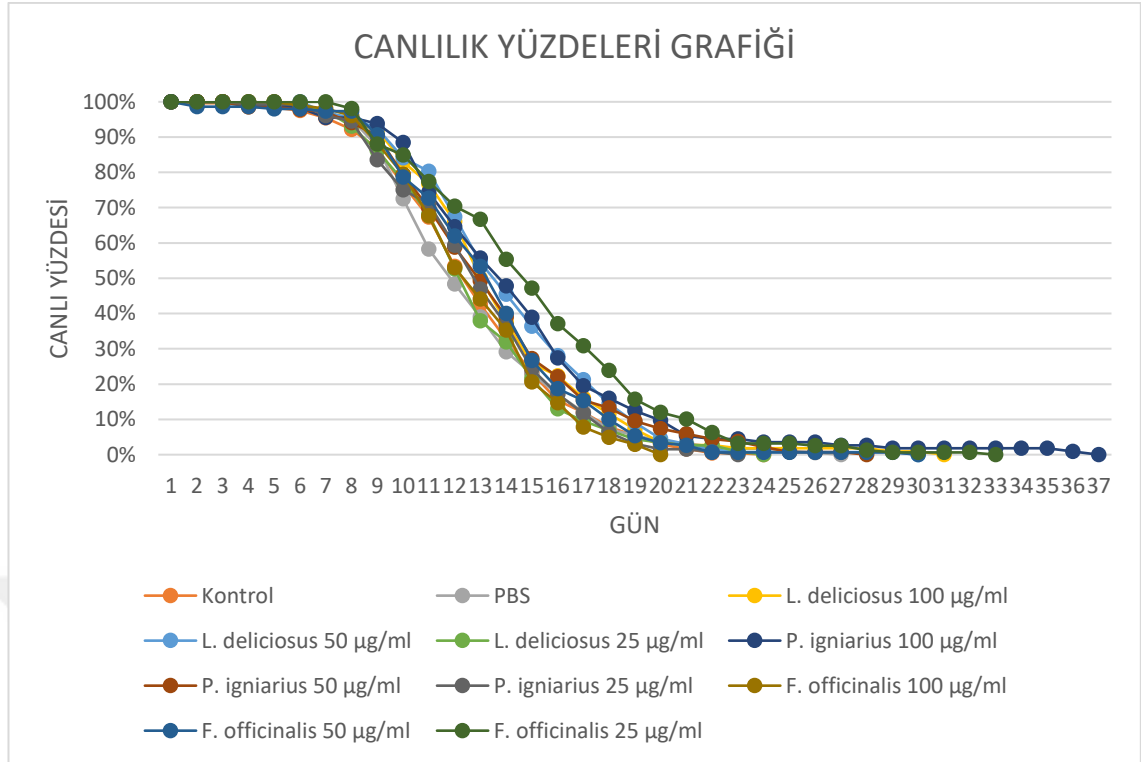
F. officinalis, *L. deliciosus* ve *P. igniarius* makromantar türlerinin toplam antioksidan (TAS), toplam oksidan (TOS) ve oksidatif stres (OSI) değerlerinin belirlenmesi için yapılan çalışmalar sonucunda, TAS değerleri sırasıyla 2.722, 2.214 ve 2.432 mmol/l olarak TOS değerleri 36.065, 18,935 ve 80.399 μ mol/l olarak ve OSI değerleri ise 1.325, 0.855 ve 3.305 olarak tespit edilmiştir.

Üç makromantar türünün arasında en yüksek antioksidan aktiviteye sahip olan mantar *L. deliciosus* olarak bulunmuştur. En yüksek oksidan seviye ise *P. igniarius* türünde ve OSI değeri en düşük tür ise yine *L. deliciosus*'da belirlenmiştir. Tüm bu verilerin ışığında *P. igniarius* türünün TOS değeri çok yüksek olduğundan antioksidan aktivitesinin normal seviyede olduğu belirlenmiştir fakat daha temiz lokasyonlardan toplanıp tüketilmesi tavsiye edilmektedir. *F. officinalis* türünün TAS, TOS ve OSI değerleri sonucu normal seviyede antioksidan aktivite tespit edilmiştir. Antioksidan özellik bakımından *L. deliciosus* türünün hem TAS değeri hemde OSI değeri incelendiğinde yüksek antioksidan aktivite gösterdiğinden dolayı doğal bir antioksidan kaynağı olabileceği düşünülmektedir.

4.2 Mantar Ekstraktlarının 20°C'de *C.elegans* Ömür Uzunluğuna Etkisi

Kontrol, PBS, *F. officinalis* 100 μ g/ml, *F. officinalis* 50 μ g/ml, *F. officinalis* 25 μ g/ml, *P. igniarius* 100 μ g/ml, *P. igniarius* 50 μ g/ml, *P. igniarius* 25 μ g/ml, *L. deliciosus* 100 μ g/ml, *L. deliciosus* 50 μ g/ml, *L. deliciosus* 25 μ g/ml olmak üzere 11 grupta deney sonlandırılmıştır. Kontrol grubunda 242, PBS grubunda 182, *F. officinalis* 100 μ g/ml grubunda 102, *F. officinalis* 50 μ g/ml grubunda 150, *F. officinalis* 25 μ g/ml grubunda 159, *P. igniarius* 100 μ g/ml grubunda 113, *P. igniarius* 50 μ g/ml grubunda 136, *P. igniarius* 25 μ g/ml grubunda 128, *L. deliciosus* 100 μ g/ml grubunda 112, *L. deliciosus* 50 μ g/ml grubunda 132, *L. deliciosus* 25 μ g/ml grubunda 116 *C. elegans* kullanılmıştır.

C. elegans' lar kontrol grubunda en fazla 24, PBS grubunda en fazla 27, *F. officinalis* 100 μ g/ml grubunda en fazla 20, *F. officinalis* 50 μ g/ml grubunda en fazla 30, *F. officinalis* 25 μ g/ml grubunda en fazla 33, *P. igniarius* 100 μ g/ml grubunda en fazla 37, *P. igniarius* 50 μ g/ml grubunda en fazla 28, *P. igniarius* 25 μ g/ml grubunda en fazla 23, *L. deliciosus* 100 μ g/ml grubunda en fazla 31, *L. deliciosus* 50 μ g/ml grubunda en fazla 30, *L. deliciosus* 25 μ g/ml grubunda en fazla 24 gün yaşamıştır (Şekil 4.1.).



Şekil 4.1. 20°C’de ömür uzunluğu deneyinde *C. elegans* canlı yüzdesi grafiği

Yapılan Kaplan Meier yaşam analizi testi sonucunda kontrol grubu ve PBS arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$). PBS grubuyla karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmayan deney gruplarını *F. officinalis* 100 µg/ml, *F. officinalis* 50 µg/ml, *P. igniarius* 50 µg/ml, *P. igniarius* 25 µg/ml ve *L. deliciosus* 25 µg/ml oluştururken ($p>0,05$) anlamlı bir fark bulunan deney gruplarını *F. officinalis* 25 µg/ml, *P. igniarius* 100 µg/ml, *L. deliciosus* 100 µg/ml ve *L. deliciosus* 50 µg/ml oluşturmaktadır ($p<0,05$). Anlamlı olan deney gruplarının PBS grubuna göre ortalama yaşları daha fazladır.

Çizelge 4.1. 20°C’de ömür uzunluğu deneyi ortalama yaşam süresi (gün) tablosu

Uygulama Ortamı	Ortalama (X) $\pm$ SH	P Değerleri
Kontrol	13,10 $\pm$ 0,23	
PBS	13,03 $\pm$ 0,28	
<i>F. officinalis</i> 100 µg/ml	13,12 $\pm$ 0,30	

(Devamı arkada)

Çizelge 4.1'in devamı

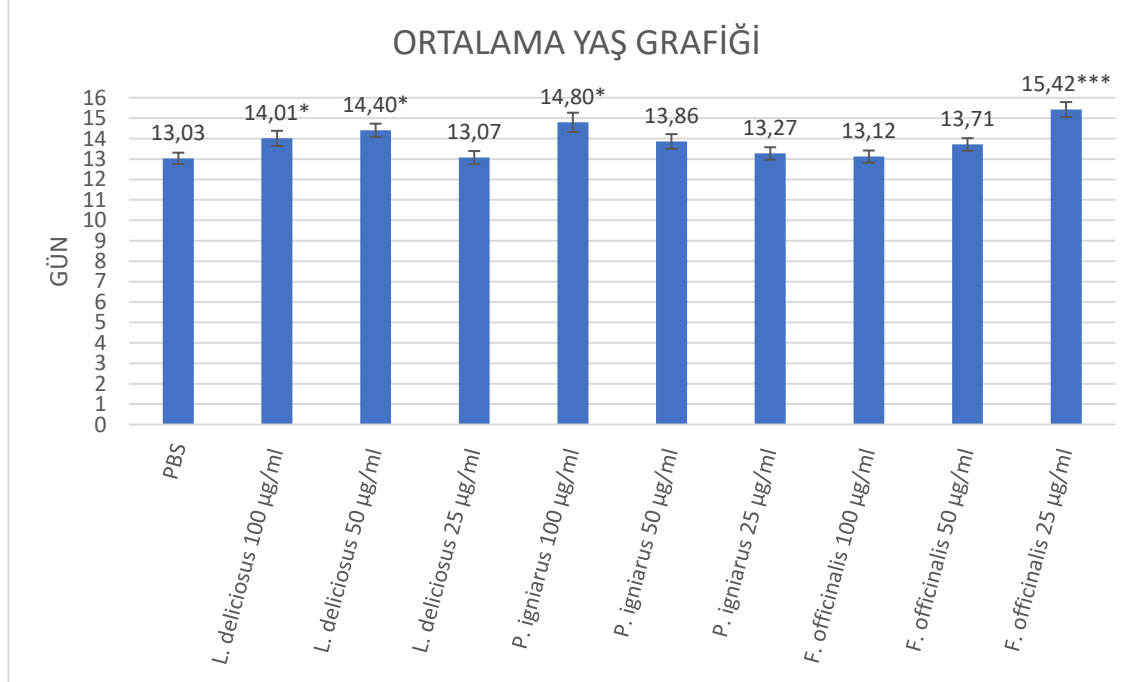
<i>F. officinalis</i> 50 µg/ml	13,71 ± 0,30	
<i>F. officinalis</i> 25 µg/ml	15,42 ± 0,36	0,000***
<i>P. igniarius</i> 100 µg/ml	14,80 ± 0,47	0,001*
<i>P. igniarius</i> 50 µg/ml	13,86 ± 0,36	
<i>P. igniarius</i> 25 µg/ml	13,27 ± 0,30	
<i>L. deliciosus</i> 100 µg/ml	14,01 ± 0,37	0,048*
<i>L. deliciosus</i> 50 µg/ml	14,40 ± 0,33	0,004*
<i>L. deliciosus</i> 25 µg/ml	13,07 ± 0,32	

X: 5 deney tekrarının ortalamasıdır. PBS ile karşılaştırıldığında anlamlı olan grupların *P* değeri belirtilmiştir ($P < 0,05$).

SH: Standart Hata

*: $P < 0,05$

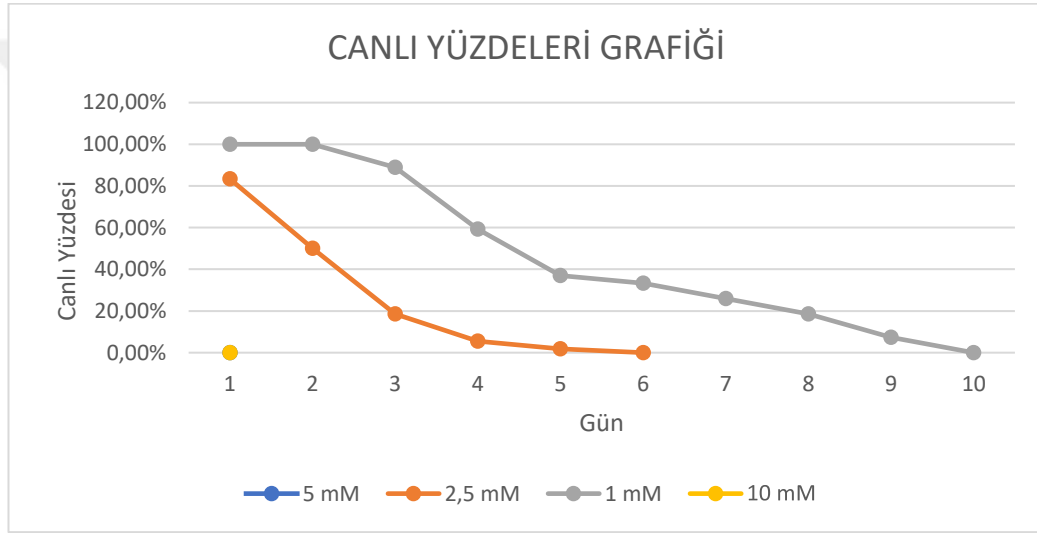
***: $P < 0,001$



Şekil 4.2. 20°C’de ömür uzunluğu deneyinde ortalama yaş grafiği

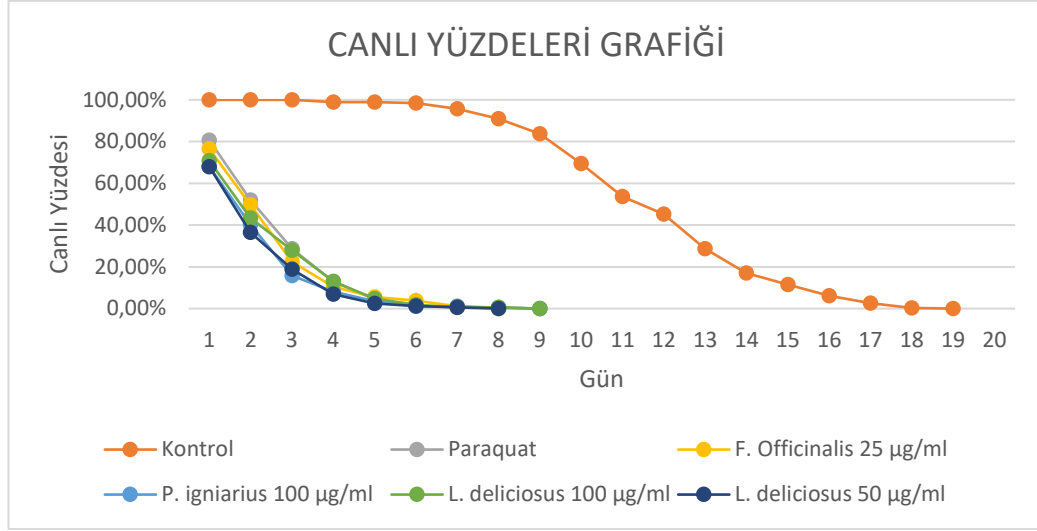
4.3 Mantar Ekstraktlarının Oksidatif Stres Altında *C. elegans* Ömür Uzunluğuna Etkisi

C. elegans'lara oksidatif stres yaratmak için uygulanacak olan prooksidan ajan paraquatın besiyeri içerisindeki son konsantrasyonuna karar verebilmek için yapılan optimizasyon deneyinde 1 mM, 2,5 mM, 5 mM ve 10 mM paraquat *C. elegans*'lara uygulanmıştır. 10 mM ve 5 mM paraquat uygulanan nematodların ilk gün öldüğü görülmüştür. 2, 5 mM uygulanan nematodlar en fazla 6 gün, 1 mM uygulanan nematodlar ise en fazla 10 gün yaşamışlardır. (Şekil 4.3). Nematodlara uygulanacak olan mantarların antioksidan özelliklerinin işe yarayıp yaramadığını gözlemleyebilmek için organizmanın antioksidan sistemini göz ardı edebilmek adına 2,5 mM paraquat kullanılması uygun görülmüştür.



Şekil 4.3 Paraquatın farklı dozlarının ömür uzunluğuna etkisi

Ömür uzunluğu deneyinde anlamlı olan gruplar seçilmiştir ve *C. elegans*'lara oksidatif stres yaratmak için prooksidan ajan olan paraquat uygulanmıştır. Kontrol, paraquat, *F. officinalis* 25 µg/ml, *P. igniarius* 100 µg/ml, *L. deliciosus* 100 µg/ml ve *L. deliciosus* 50 µg/ml olmak üzere toplamda 6 grupta 5 tekrar yapılarak deney sonlandırılmıştır. Kontrol grubunda 376, paraquat grubunda 202, *F. officinalis* 25 µg/ml grubunda 183, *P. igniarius* 100 µg/ml grubunda 197, *L. deliciosus* 100 µg/ml grubunda 168 ve *L. deliciosus* 50 µg/ml grubunda 159 nematod ile sayım yapılmıştır. *C. elegans*'lar deney gruplarında sırasıyla en fazla 19, 9, 8, 9, 9 ve 8 gün yaşamıştır (Şekil 4.4).



Şekil 4.4 Oksidatif strese yanıt deneyinde *C. elegans* canlı yüzdesi grafiği

Yapılan Kaplan- Meier yaşam analizi sonuçlarına göre kontrol grubu ve paraquat grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmuştur ($p < 0,05$). Uygulanan paraquatın oksidatif stres yaratarak ömrü kısalttığı bu şekilde ispatlanmıştır. Diğer gruplar paraquat grubuyla karşılaştırıldığında *F. officinalis* 25 µg/ml ve *L. deliciosus* 100 µg/ml gruplarıyla arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmazken ($p > 0,05$) *P. igniarius* 100 µg/ml ve *L. deliciosus* 50 µg/ml gruplarıyla arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ($p < 0,05$). Paraquat grubundaki nematodların ortalama yaşları 3 iken *P. igniarius* 100 µg/ml ve *L. deliciosus* 50 µg/ml gruplarındaki nematodların ortalama yaşları sırasıyla 2,38 ve 2,35'tir (Çizelge 4.2 ve Şekil 4.5).

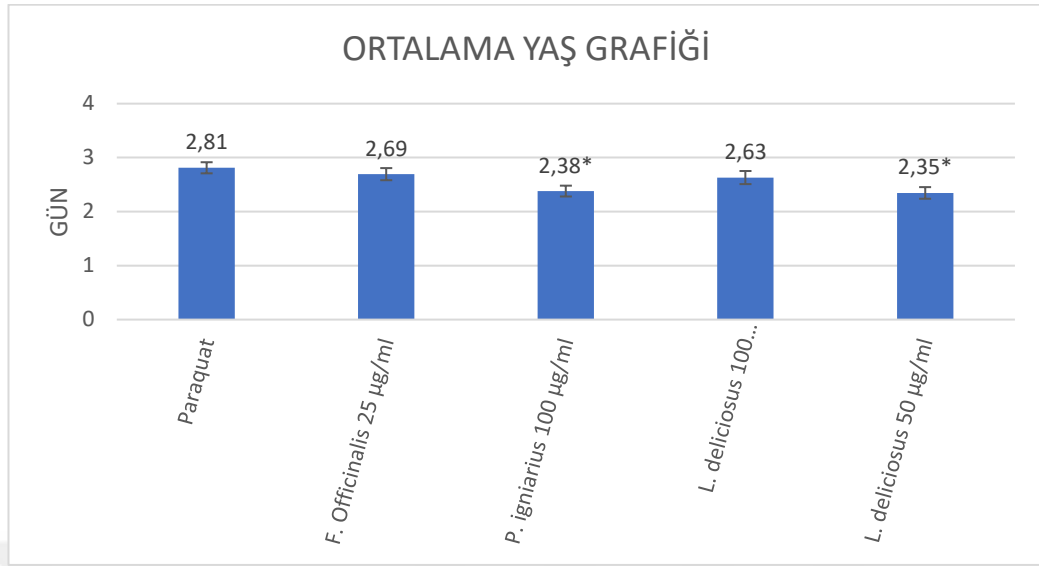
Çizelge 4.2 Oksidatif strese yanıt deneyi ortalama yaşam süresi (gün) tablosu

Uygulama Ortamı	Ortalama (X) ± SH	P Değerleri
Paraquat	2,81 ± 0,10	
<i>F. officinalis</i> 25 µg/ml	2,69 ± 0,11	
<i>P. igniarius</i> 100 µg/ml	2,38 ± 0,10	0,005*
<i>L. deliciosus</i> 100 µg/ml	2,63 ± 0,12	
<i>L. deliciosus</i> 50 µg/ml	2,35 ± 0,10	0,003*

X: 5 deney tekrarının ortalamasıdır. Paraquat ile karşılaştırıldığında anlamlı olan grupların P değeri belirtilmiştir ($P < 0,05$).

SH: Standart Hata

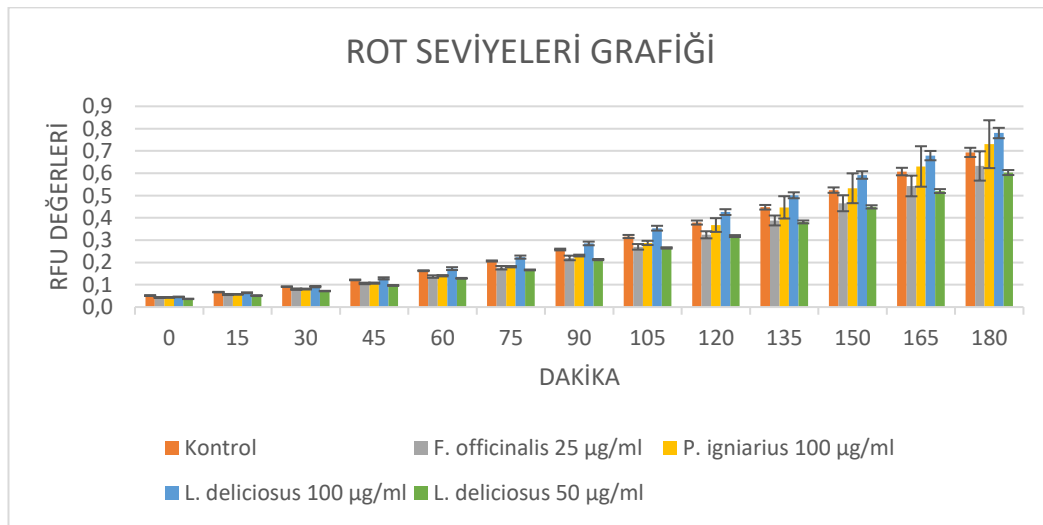
*: $P < 0,05$



Şekil 4.5 Oksidatif strese yanıt deneyi ortalama yaş grafiği

4.4 Mantar Ekstraktlarının *C. elegans*'daki ROT Seviyesine Etkisi

Ömür uzunluğu deneyinde istatistiksel olarak anlamlı sonuç veren mantar ekstraktlarının *C. elegans*'larda sıcaklık (37°C) ile indüklenmiş ROT seviyesine etkisini belirlemek için mantarla 48 saat tedavi edilen 10 nematod 96 kuyucuklu plakaya aktarılıp fluorosan boya (H₂DCFDA) kullanılarak 10 dakika 37°C de plakanın inkübasyonundan sonra her 15 dakikada bir nematodların ROT seviyelerinin ölçümleri alınmıştır ve tüm grupların zamana bağlı olarak ROT seviyelerinde artış olduğu görülmüştür (Şekil 4.6).



Şekil 4.6 Zamana bağlı ROT seviyeleri grafiği

İlk ölçümde kontrol ile kıyaslandığında *F. officinalis* 25 µg/ml, *P. igniarius* 100 µg/ml, *L. deliciosus* 100 µg/ml ve *L. deliciosus* 50 µg/ml gruplarının ROT seviyeleri daha düşük olduğu görülmüş ve istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermektedirler ($p<0,05$).

15.dakikadaki ölçümden 105.dakikadaki ölçüme kadar tüm gruplar kontrol grubuna göre kıyaslandığında *F. officinalis* 25 µg/ml, *P. igniarius* 100 µg/ml ve *L. deliciosus* 50 µg/ml gruplarının ROT seviyeleri istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gösterirken ($p<0,05$) *L. deliciosus* 100 µg/ml grubunun ROT seviyesi kontrole göre daha yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermemektedir ($p>0,05$).

105.dakikadaki ölçümde *F. officinalis* 25 µg/ml ve *L. deliciosus* 50 µg/ml grupları kontrol grubuyla kıyaslandığında daha düşük ROT seviyesine sahip olup istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gösterirken ($p<0,05$) *P. igniarius* 100 µg/ml ve *L. deliciosus* 100 µg/ml grupları kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermemektedirler ($p>0,05$). Bu durum, 120.dakikadaki ölçümde tüm gruplardaki ROT seviyesinde artış olsa da aynı şekilde görülmektedir.

135.dakikada ve 150.dakikada alınan ölçümde *F. officinalis* 25 µg/ml ve *P. igniarius* 100 µg/ml gruplarının ROT seviyeleri kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermezken ($p>0,05$) *L. deliciosus* 100 µg/ml ve *L. deliciosus* 50 µg/ml gruplarının ROT seviyeler kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermektedir ($p<0,05$).

165.dakikada alınan ölçümde *F. officinalis* 25 µg/ml, *P. igniarius* 100 µg/ml ve *L. deliciosus* 100 µg/ml gruplarındaki ROT seviyesi kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermezken ($p>0,05$) *L. deliciosus* 50 µg/ml grubundaki ROT seviyesi kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermektedir ($p<0,05$).

180.dakikada alınan ölçüm değerlendirildiğinde ise ölçümde yer alınan 4 grubun ROT seviyeleri kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı belirlenmiştir ($p>0,05$).

Deney grupların ROT seviyeleri kontrol ile kıyaslandığında zamana bağlı istatistiksel olarak anlamlı farklılıklarının değişmesinin sebebi zaman arttıkça deney gruplarının ROT seviyelerindeki artışın kontrol grubunun ROT seviyesindeki artışa göre daha fazla olacak şekilde ilerlediğidir (Şekil 4.6).

15.dakikadaki ölçümden 135.dakikadaki ölçüme kadar *L. deliciosus* 100 µg/ml grubundaki ROT seviyesi kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamsız çıkmasına rağmen 135.dakikada alınan ölçümden 180.dakikadaki ölçüme kadar istatistiksel olarak anlamlı çıkmasının sebebi ise *L. deliciosus* 100 µg/ml grubunun kontrol grubuna kıyasla ROT seviyesindeki artışın zamanla birlikte daha fazla olması ve ROT seviyesinin

135.dakikadaki ölçümden 180. Dakikadaki ölçüme kadar kontrol grubuna kıyasla daha yüksek olmasıdır (Şekil 4.6).

Birbirinden bağımsız 5 tekrar ile yapılan bu deney setindeki her grubun tekrarlarının ortalaması ve standart hataları her ölçüm için ayrı ayrı Çizelge 4.3'te gösterilmektedir.

Çizelge 4.3 Ortalama (X) ± standart hata (SH) ROT seviyeleri tablosu

	Kontrol	<i>F. officinalis</i> 25 µg/ml	<i>P. igniarius</i> 100 µg/ml	<i>L. deliciosus</i> 100 µg/ml	<i>L. deliciosus</i> 50 µg/ml
0.dk	0,02548 ± 0,0043058	0,02670 ± 0,0014013*	0,01795 ± 0,0005039*	0,02383 ± 0,0005704*	0,02610 ± 0,0015991*
15.dk	0,06713 ± 0,0011890	0,05642 ± 0,0023775*	0,05700 ± 0,0011246*	0,06432 ± 0,0018637	0,05151 ± 0,0019381*
30.dk	0,09168 ± 0,0008231	0,08027 ± 0,0032154*	0,08082 ± 0,0019343*	0,09163 ± 0,0029568	0,07189 ± 0,0011726*
45.dk	0,12187 ± 0,0016043	0,10599 ± 0,0034475*	0,10730 ± 0,0026335*	0,12873 ± 0,0047732	0,09693 ± 0,0010618**
60.dk	0,07535 ± 0,0145409	0,06326 ± 0,0022212*	0,06738 ± 0,0008144*	0,07069 ± 0,0017444	0,14719 ± 0,0442068**
75.dk	0,20660 ± 0,0024816	0,17634 ± 0,0078436*	0,18105 ± 0,0030886*	0,22401 ± 0,0069991	0,16660 ± 0,0018950**
90.dk	0,25808 ± 0,0038873	0,22034 ± 0,0102954*	0,23107 ± 0,0040107*	0,28534 ± 0,0082110	0,21293 ± 0,0026015*
105.dk	0,31638 ± 0,0070067	0,27012 ± 0,0124746*	0,28768 ± 0,0094212	0,35371 ± 0,0106950	0,26519 ± 0,0029826*
120. dk	0,19566 ± 0,0412732	0,16665 ± 0,0006333*	0,18174 ± 0,0100557	0,20908 ± 0,0069179	0,43791 ± 0,1313516*
135.dk	0,44758 ± 0,0102417	0,38828 ± 0,0221885	0,44708 ± 0,0500269	0,50120 ± 0,0133881*	0,38184 ± 0,0065287*
150.dk	0,52447 ± 0,0120559	0,46557 ± 0,0358619	0,53261 ± 0,0669284	0,59203 ± 0,0168092*	0,44918 ± 0,0072616*
165.dk	0,60767 ± 0,0167777	0,54308 ± 0,0463375	0,63031 ± 0,0907057	0,67904 ± 0,0208763	0,52007 ± 0,0088196*
180. dk	0,64167 ± 0,2264983	0,35198 ± 0,0009440	0,36459 ± 0,0132469	0,52641 ± 0,0580418	0,85483 ± 0,2368190

*: $P < 0,05$

** : $P < 0,001$

5. TARTIŞMA

Otın ve meslektaşları, yaşlanmanın ana nedenleri olarak genomik istikrarsızlık, telomer yıpranması, epigenetik değişiklikler, proteostaz kaybı, düzensiz besin algılama, mitokondriyal işlev bozukluğu, hücresel yaşlanma, kök hücre tükenmesi ve değişmiş hücreler arası iletişimi içeren dokuz özelliği önermektedirler (López-Otín vd. 2013).

Bahsedilen yaşlanmanın ana nedenlerinin altında yatan sebeplerden birisini oksidatif stres oluşturmaktadır. Oksidatif stresin sebebini ise serbest radikallerin üretilmesi ve bunları detoksifiye eden, çeşitli hücre fonksiyonlarını sürdürmek için önemli olan enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar arasındaki dengenin bozulması oluşturmaktadır. Hasarlı proteinlerin artışı, oksidatif strese yanıtındaki azalma ve onarım sistemindeki bozulmalar da oksidatif stresin oluşumu ile ilişkilendirilmiştir (Kibreab vd. 2023). Oksidatif stresi önlemek ve oksidatif dengeyi koruyabilmek için antioksidanların önemli görevleri bulunmaktadır. Doğal yolla alınabilen antioksidanlar bitkiler ve mantarlar gibi birçok canlıdan sağlanabilmektedir (Akbari vd. 2022).

Mantarlar yüzyıllar boyunca geleneksel Çin tıbbında yer almış, şapka ve gövdelerinden kurutulmuş ekstraktlar, batı ülkelerinde bitkisel ilaç pazarında önemli bir yer tutmaktadır. Tıbbi amaçla kullanılan mantarların önemli kısmı Basidiomycota şubesinde yer almaktadır. Bu mantarlar, tıbbi açıdan yararlı biyolojik ajanların sınırsız kaynakları olarak görülebilir (Money 2016).

Bu tez çalışmasında tıbbi mantar olarak bilinen *F. officinalis*, *P. igniarius* ve *L. deliciosus* mantarlarının su ekstraktlarının *C. elegans* üzerindeki ömür uzunluğu etkisi, oksidatif strese etkisi ve ROT seviyelerine etkisi olmak üzere 3 parametre üzerinden ölçümler gerçekleştirilmiştir. Her bir mantar ekstraktının 25 µg/ml, 50 µg/ml ve 100 µg/ml olmak üzere 3 dozu deneylerde kullanılmıştır. Mantarlar ile muamele edilmiş *C. elegans*'ların ömür uzunluğu ölçüldüğünde kontrole kıyasla *F. officinalis* 25 µg/ml, *P. igniarius* 100 µg/ml, *L. deliciosus* 100 µg/ml ve *L. deliciosus* 50 µg/ml gruplarının ömrü uzattığı görülmüştür. Ömrü uzatmalarının altında yatan sebebin mantarların antioksidan özelliklerinin varlığından kaynaklı olarak oksidatif stresi tedavi edici özelliklerinin olduğu ve dolayısıyla zamana bağlı ROT seviyelerindeki artışta bir azalma olduğu düşünülmektedir. Bu kapsamda prooksidan ajan olan paraquatla oksidatif stres oluşturulan *C. elegans*'lara ömrü uzatan mantar ekstraktları uygulanmıştır ve mantarların oksidatif stres altında ömre olan etkisi ölçüldüğünde hiçbir mantar ekstraktının oksidatif stresi tedavi edici özelliğinin olmadığı görülmüştür. Bu mantarlar ile muamele edilmiş *C. elegans*'ların ROT seviyeleri mantar ile muamele edilmemiş kontrol grubuna göre kıyaslandığında ise ilk ölçümlerde ortaya çıkan farklılık son ölçümlerde nispeten değişmiştir. Zamana bağlı olarak kontrol grubuyla kıyaslanan deney grupları arasında *F. officinalis* 25 µg/ml ve *L. deliciosus* 50 µg/ml grupları süreçle birlikte artan fakat kontrol grubuna göre daha düşük ROT seviyesine sahip oldukları görülmüştür. Aynı zamanda *L. deliciosus* 50 µg/ml grubunun ROT seviyesinin 180.dakikadaki ölçüm hariç diğer ölçümlerde kontrole kıyasla düşük ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür.

Kittimongkolsuk vd. (2021) yaptıkları çalışmada, *C. elegans*'ta üç *Lignosus rhinocerus* (LR) (etanol ekstraktı (LRE), soğuk su ekstraktı (LRC) ve sıcak su ekstraktı (LRH)) ekstraktının antioksidan etkileri ve *C. elegans*'ın ömür uzunluğuna etkileri araştırılmıştır. LRE (50 µg/ml, 100 µg/ml, 200 µg/ml), LRC (50 µg/ml, 100 µg/ml, 200 µg/ml) ve LRH (100 µg/ml, 200 µg/ml, 300 µg/ml) için üç doz denenmiştir. Oluşturulan deney gruplarıyla *C. elegans*'ın oksidatif strese yanıtı, ROT seviyesi ve ömür uzunluğu ölçülmüştür. Oksidatif stres yaratmak için prooksidan ajan olan juglon kullanılmıştır ve deney sonuçlarına göre tüm ekstraktın her dozunun oksidatif stresi tedavi edici olduğu belirlenmiştir. *C. elegans*'lar LRE, LRC ve LRH dozlarına maruz bırakıldıktan sonra ROT seviyeleri ölçülmüştür ve bütün deney gruplarının kontrole kıyasla ROT birikimini önemli ölçüde azalttığı görülmüştür. *C. elegans*'ların ömür uzunlukları ölçüldüğünde yine bütün deney gruplarının kontrol grubuna kıyasla ömrü uzattığı belirlenmiştir. Sonuç olarak bakıldığında LR mantarının farklı ekstraktlarının farklı dozlarının oksidatif stresi tedavi edici olması ve ROT seviyesini azaltması ömür uzunluğunu arttırmalarının arkasında yatan sebeplerden olduğu ispatlanmıştır (Kittimongkolsuk vd. 2021).

Aranaz vd. (2021) yapmış olduğu çalışmada fenolik bileşik içeren *Grifola frondosa* ekstraktının genotoksik özellik göstermediği belirlenmiş ve dozlarının (10 ve 20 µg/ml) *C. elegans* üzerindeki etkisi araştırılmıştır. 20 µg/ml dozunun ROS birikimini azalttığı ömrü uzattığı ve yaşlanma belirteçlerinden olan lipofuksin seviyesini azalttığı görülmüştür (Aranaz vd. 2021).

Wang vd. (2022) yaptıkları çalışmada *Lactarius deliciosus* mantarından elde edilen polisakkarit LDP-1 dozlarının *C. elegans* üzerindeki ömür uzunluğuna etkisi, oksidatif strese yanıtı ve indüklenmiş ROT seviyesine etkisi araştırıldığında tüm dozların kontrol grubuna kıyasla ömrü uzattığı, juglone ile oluşturulan oksidatif stresi tedavi ettiği ve juglone ile indüklenmiş ROT birikimini azalttığı bulunmuştur (Wang vd. 2022).

Zhang vd. (2016) yaptıkları çalışmada *Dictyophora indusiata* polisakkaritinin (DiPS) sadece paraquat kaynaklı oksidatif koşullar altında hayatta kalma oranını arttırdığını ve stres seviyesini azalttığını değil, aynı zamanda *C. elegans* modellerinde ROS ve malondialdehit (MDA) seviyelerini düşürdüğünü ve SOD aktivitesini arttırdığını göstermektedirler. Ayrıca DiPS, paraquat stresli nematodlarda membran potansiyeli ve ATP içeriği dahil olmak üzere mitokondrinin fonksiyonel parametrelerini de geri yükleyebilmiştir. Ek olarak, nükleer translokasyon deneyleri, polisakkaritin antioksidan aktivitesine stres yanıtı transkripsiyon faktörü DAF-16/FOXO'nun dahil olduğunu göstermektedir. Araştırmada yapılan diğer deneyler, DiPS'nin, poliglutamin ve amiloid-β proteininin aracılık ettiği nörodejeneratif hastalıkların transgenik nematod modellerinde ROS seviyelerini azaltabildiğini ve kemosensör davranış bozukluğunu hafiflettiğini ortaya koymaktadır (J. Zhang vd. 2016).

H. Liu vd. (2022) yaptıkları çalışmada *Lentinus edodes*'ten ekstrakte edilen Lentinan bileşiğinin 0,05, 0,25 ve 1,25 mg/ml konsantrasyonlarının *C. elegans*'ta yaşam süresi, hareket, üreme kapasitesi ve oksidatif stres direnci üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Tedavi edilmeyen kontrol ile karşılaştırıldığında 0,05, 0,25 ve 1,25 mg/ml'deki lentinanın ömrü %17,6, %35,3 ve %25,3 oranında önemli ölçüde uzattığı ve nematodların yavru boyutunu, hareket kabiliyetini ve stres direncini iyileştirdiği görülmüştür. Ayrıca, 0,25

mg/ml'de lentinan, hücre içi ROS ve MDA birikimini sırasıyla %38,1 ve %49,7 oranında önemli ölçüde azaltmıştır. Ek olarak, test edilen tüm konsantrasyonlarda lentinan, SOD ve KAT aktivitelerini önemli ölçüde artırmıştır (H. Liu vd. 2022).

Yao vd (2023), *Auricularia auricula* polisakkaritleriyle (AAPs) yaptıkları çalışmada iki solvent ekstraktla çalışmışlardır. Sonuçlar, AAPs-FD'nin (derin ötektik çözücü ekstraktı) DPPH'ye karşı güçlü radikal süpürme aktivitesi sergilediğini ve AAPs-FW'ye (su ekstraktı) kıyasla ABTS ve OH radikalleri için daha zayıf süpürme yeteneği sergilediğini göstermektedir. Ek olarak, her iki polisakkarit ekstraktı da belirli paraquat konsantrasyonlarında *C. elegans*'ın hayatta kalma oranını artırdı ve oksidatif stresi indükledi. AAPs-FD'nin antioksidan kapasitesi, düşük konsantrasyonlarda (0.125 mg/mL) AAPs-FW'ninkinden daha yüksekti. Bu, her iki polisakkaritin paraquat tarafından indüklenen oksidatif hasara karşı koruyucu bir etkiye sahip olduğunu gösterdi (Yao vd. 2023).

Auricularia üst sınıfına ait bir başka mantar türü ile yapılan çalışmada *Auricularia polytrichia* (AP) mantarının hekzan (APH), etanol (APE) ve su (APW) ekstraktlarının içerik analizleri gerçekleştirilmiş ve antioksidan özelliklerinden yola çıkarak HT-22 hücre içi ROS birikimine etkileri ve *C. elegans* üzerinde yaşam uzunluğuna etkileri ölçülmüştür. En yüksek fenolik bileşik içeriğine APW sahip olmasına rağmen en yüksek flavonoid içeriğine APE'nin sahip olduğu bulunmuştur. APE'nin tüm dozları (5 µg/ml, 10 µg/ml, 20 µg/ml, 40 µg/ml) ve APH'nin 40 µg/ml dozu HT-22 hücre içi ROS oluşumunu azaltmıştır. APE dozlarıyla *C. elegans* kullanılarak yapılan ömür uzunluğu deneyinde tüm dozlarının kontrol grubuna göre ömrü uzattığı görülmüştür. APW'nin APE'ye göre daha yüksek antioksidan aktivitesine sahip olmasına rağmen glutamatın sebep olduğu HT-22 hücre hasarına karşı koruma göstermemesinin sebebinin polar fenolik bileşiklerin zayıf hücre geçirgenliği olduğu düşünülmektedir (Sillapachaiyaporn vd. 2021).

Literatürde diğer tıbbi mantarlar (*L. rhinocerus*, *G. frondosa*, *D. Indusiata*, *L. edodes*, *A. Auricula*, *A. polytrichia*) ile yapılmış olan çalışmalara göre *C. elegans*'ın ömür uzunluğunu arttırdığı belirlenmiştir (Aranaz vd. 2021; Kittimongkolsuk vd. 2021; H. Liu vd. 2022; Sillapachaiyaporn vd. 2021; Yao vd. 2023; J. Zhang vd. 2016). Bu tez çalışmasındaki *F. officinalis*, *P. igniarius* ve *L. deliciosus* tıbbi mantarlarının su ekstraktlarının *C. elegans* üzerindeki ömür uzunluğuna etkisi literatürdeki çalışmaları desteklemektedir.

Ömür uzunluğu deneyinde *F. officinalis* 25 µg/ml, *P. igniarius* 100 µg/ml, *L. deliciosus* 100 µg/ml ve *L. deliciosus* 50 µg/ml gruplarının *C. elegans* organizmasının ömrünü uzatırken paraquat kaynaklı oksidatif stresi azaltmadığı belirlenmiştir. Sillapachaiyaporn vd. (2021)'nin yaptıkları çalışmada mantarların antioksidan aktivitelerinin fenolik bileşik kaynaklı olup hücre içerisine girememesi bu tez kapsamında elde edilen bulguları desteklemektedir.

Tez içerisindeki deneysel ölçümlerin farklılığı biyoaktif bileşiklerin hücreye alımındaki değişiklikten kaynaklanmasının yanı sıra ROT seviyesindeki artışın oksidatif strese ve oksidatif hasara sebep olmamasından da kaynaklanabilmektedir. Bu görüş

oksidatif hasar teorisinin savunduğu yaşlanmaya sebep olan ROT'ların fazlaca birikmesinin oksidatif strese sebep olması görüşünü desteklememektedir. Literatürde bu teori ile çelişen çalışmalar bulunmaktadır.

Yaşlanmanın oksidatif hasar teorisi SOD kaybının (özellikle sitosolik olan Cu/ZnSOD ve MnSOD) mitokondriyal olarak üretilen O₂'nin temizlenmesindeki katkıyı azaltarak hızlandırılmış yaşlanmaya neden olduğunu öngörmektedir. Beklendiği gibi, MnSOD kaybı oksidatif strese duyarlılığı artırır. Fakat Doonan ve arkadaşları 5 SOD geni üzerinde yaptıkları çalışmada sod-2 geni susturulmuş(sod-2(0)) olan *C. elegans*'larda, O₂ üretici paraquata dirençte orta düzeyde bir azalmaya neden olurken, sod-3 geninin susturulması, tek başına veya sod-2 geninin susturulmasıyla beraber paraquata dirençte bir etki yapmamaktadır. Bununla birlikte MnSOD izoformlarının kaybının yaşam süresi üzerinde etkili olmadığını göstermektedir ve bundan yola çıkarak mitokondriyal matris içerisindeki O₂'nin *C. elegans*'ta önemli bir yaşlanma nedeni olmadığını belirtmektedirler (Doonan vd. 2008). Uzun ömürlülük ile ilişkilendirilen SOD seviyesindeki artışın Yang ve arkadaşlarının da *C. elegans* ile yaptıkları çalışmada yaşam süresi ile ilişkili olmadığı gösterilmiştir (Yang vd. 2007).

Oksidatif hasar teorisini reddeden bu çalışmalar, antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirlenen *F. officinalis*, *P. igniarius* ve *L. deliciosus* mantarlarının *C. elegans*'ın ömür uzunluğundaki artışın, oksidatif stres ve ROT seviyelerindeki azalma ile ilişkili olmadığını desteklemektedir. Bu tez çalışmasında ve literatürden elde edilen sonuçlar çerçevesinde *C. elegans*'ın ömür uzunluğunun artmasının sadece antioksidan seviyelerindeki artışa bağlı olarak gerçekleşmediği düşünülmektedir.

6. SONUÇ

Yaşlanma ve yaşlılık çalışmalarının günümüzde üstünde durulan ana parametrelerinden birisini antioksidanlar oluşturmaktadır. Yaşlanmayla birlikte azalan antioksidan seviyesinin ve artan hücre içi ROT miktarı kaynaklı oluşan oksidatif stresin azaltılması ve yok edilmesi üzerine yapılan çalışmalar gün geçtikçe artmaktadır. Hücre içi antioksidan seviyesini arttırmak ve artan oksidatif stresin önüne geçebilmek için besin alımı yardımı ve ilaç takviyesi öne sürülmektedir. Besin alımı yardımıyla alınan antioksidan miktarının ilaç takviyesi ile alınan antioksidan miktarından daha az olduğu bilinmektedir. Literatürde antioksidan seviyesinin yaşlanma ile etkileşimi ile yapılan çalışmaların çoğunda antioksidan seviyesi ölçülen ve etkinliğine bakılan canlıların (bitki, mantar vb.) tüketiminin yanı sıra ilaç takviyesi haline getirilip getirilemeyeceği tartışılmaktadır.

Mantarlar, antioksidan araştırmalarında kullanılan en önemli canlılardan biridir. Bazı mantar türleri antioksidan, antiinflamatuvar, antikanser gibi özelliklerinden dolayı tıbbi mantar olarak adlandırılmaktadır. Son zamanlarda yapılan birçok çalışma tıbbi mantarların uzun ömürlülüğe etkisi olduğu ve antiaging uygulamalarda sıklıkla kullanılması gerektiği yönündedir.

F. officinalis, *P. igniarius* ve *L. deliciosus* mantarlarının tıbbi mantar olarak anıldığı bilinmektedir ve bu mantarların antioksidan özelliklerinin varlığı ömür uzunluğuna etkisini merak konusu haline getirmiştir.

Bu tez çalışmasında, *F. officinalis*, *P. igniarius* ve *L. deliciosus* mantarlarının *in vivo* *C. elegans* üzerindeki ömür uzunluğuna etkisi ve oksidatif strese etkisi araştırılmıştır. Yapılan antioksidan testi sonucunda üç mantarın arasında en yüksek antioksidan seviyesine sahip *L. deliciosus* mantarıdır. *C. elegans* üzerinde 3 farklı konsantrasyonda denenilen mantarlardan *F. officinalis*'in 25 µg/ml dozu, *P. igniarius*'un 100 µg/ml dozu, *L. deliciosus*'un 100 ve 50 µg/ml dozları ömrü uzattığı görülmüştür. Ömür uzatıcı etki göstermesine rağmen bu mantar dozları paraquat ile indüklenen oksidatif stres altında tedavi edici etki göstermemektedir. Fakat *F. officinalis* 25 µg/ml ve *L. deliciosus* 50 µg/ml dozları *C. elegans*'ın ROT seviyesini azalttığı belirlenmiştir.

Mantarların oksidatif strese karşı tedavi edici özelliğinin olmamasının sebebi, içeriklerinde flavonoid bileşiklerden daha çok fenolik bileşiklerin olduğu düşünülmektedir. Bu sebeple mantarların içeriğindeki ikincil metabolitler hücre zarından zor geçmekte ve *C. elegans* üzerindeki hücre içi oksidatif strese karşı etkilerini gösterememektedir. Bunun yanı sıra mantarların oksidatif stresi azaltıcı etkilerinin olmayışı fakat ROT seviyesinde azalışı sağlamalarındaki sebep ise antioksidanların her koşulda ROT seviyesini ve oksidatif stresi azaltıcı etkiye sahip olmadıkları literatürdeki çalışmalarla kanıtlanmıştır. Oksidatif stresin oluşturmuş olduğu hasarın antioksidan mantarlar tarafından tedavi edilememiş olması oksidatif stresin yaşlanmanın bir nedeni değil bir sonucu olduğunu kanıtlamaktadır.

Bu kapsamda *F. officinalis*, *P. ignarius* ve *L. deliciosus* mantarları ile *C. elegans* üzerinde yapılan ilk çalışma olmasıyla yaşlanma çalışmalarına katkı sağlayacağı düşünülmektedir.



7. KAYNAKLAR

- Akbari, B., Baghaei-Yazdi, N., Bahmaie, M., & Mahdavi Abhari, F. (2022). The role of plant-derived natural antioxidants in reduction of oxidative stress. *BioFactors*, 48(3), 611-633.
- Aldwin, C. M. and Gilmer, D. F. (2013). *Health, Illness and Optimal Aging* (S. W. Sussman, Ed.; 2. bs). Springer Publishing Company.
- Alzorqi, I., Sudheer, S., Lu, T. J., & Manickam, S. (2017). Ultrasonically extracted β -d-glucan from artificially cultivated mushroom, characteristic properties and antioxidant activity. *Ultrasonics Sonochemistry*, 35, 531-540.
- Aranaz, P., Peña, A., Vettorazzi, A., Fabra, M. J., Martínez-Abad, A., López-Rubio, A., Pera, J., Parladé, J., Castellari, M., Milagro, F. I., González-Navarro, C. J. (2021). Grifola frondosa (Maitake) extract reduces fat accumulation and improves health span in *C. elegans* through the Daf-16/Foxo and Skn-1/Nrf2 signalling pathways. *Nutrients*, 13(11), 3968.
- Aslankoç, R., Demirci, D., İnan, Ü., Yildiz, M., Öztürk, A., Çetin, M., Şirin Savran, E., Yilmaz (2019). Oksidatif stres durumunda antioksidan enzimlerin rolü-süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx). *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 26(3), 362-369.
- Atli Şekeroğlu, Z., ŞEKEROĞLU (2009). Oksidatif mitokondrial hasar ve yaşlanmadaki önemi. *Derleme Dergisi*, 2(2), 69-74.
- Ayeka, P. A. (2018). Potential of mushroom compounds as immunomodulators in cancer immunotherapy: A review. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2018, 1-9.
- Babac, B. D., Milton Dulay, R. R., Arwen Calpito, R. S., Domingo, M. A., Grace Macamos, M. M., Mangabat, A. R., & Zhyra Zoberiaga, N. L. (2021). In-vitro activity of ethanolic extract of *Lentinus strigosus* mycelia in N2 wild strain *Caenorhabditis elegans*-An animal model for obesity and its chemical composition. *Journal of Applied Biology & Biotechnology*, 9(1), 41-46.
- Barrière, A., & Félix, M. A. (2014). Isolation of *C. elegans* and related nematodes. *WormBook: the online review of C. elegans biology*, 1-19.
- Brenner, S. (1974). The genetics of *Caenorhabditis elegans*. *Genetics*, 77(1), 71-94.
- Brower, V. (1998). Nutraceuticals: poised for a healthy slice of the healthcare market? *Nature Biotechnology*, 16(8), 728-731.
- Buckley, M. T., Sun, E. D., George, B. M., Liu, L., Schaum, N., Xu, L., Reyes, J. M., Goodell, M. A., Weissman, I. L., Wyss-Coray, T., Rando, T. A., Brunet, A. (2022). Cell-type-specific aging clocks to quantify aging and rejuvenation in neurogenic regions of the brain. *Nature Aging*, 3(1), 121-137.

- Bunaciu, A. A., Danet, A. F., Fleschin, Ş., Aboul-Enein, H. Y. (2016). Recent applications for *in vitro* antioxidant activity assay. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 46(5), 389-399.
- Büchter, C., Ackermann, D., Havermann, S., Honnen, S., Chovolou, Y., Fritz, G., Kampkötter, A., & Wätjen, W. (2013). Myricetin-mediated lifespan extension in *Caenorhabditis elegans* is modulated by DAF-16. *International Journal of Molecular Sciences* 2013, 14(6), 11895-11914.
- Byerly, L., Cassada, R. C., & Russell, R. L. (1976). The life cycle of the nematode *Caenorhabditis elegans*: Wild-type growth and reproduction. *Developmental Biology*, 51(1), 23-33.
- Cao, S. G., Wang, H. L., Palikaras, K., Tavernarakis, N., Fang, E. F. (2023). Chemotaxis assay for evaluation of memory-like behavior in wild-type and Alzheimer's disease-like *C. elegans* models. *STAR Protocols*, 4(2), 102250.
- Cao, Y., Liu, Y., Wang, G., Wang, W., Li, Y., Xuan, L. (2021). Styryl pyranones with apoptosis activities from the sporocarps of *Phellinus igniarius*. *Phytochemistry Letters*, 44, 154-159.
- Cooke, H. J. and Smith, B. A. (1986). Variability at the telomeres of the human X/Y pseudoautosomal region. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, 51(1), 213-219.
- Culetto, E. and Sattelle, D. B. (2000). A role for *Caenorhabditis elegans* in understanding the function and interactions of human disease genes. *Human Molecular Genetics*, 9(6), 869-877.
- Çelikel, S. (2022). Fisetin ve mirisetin flavonoidlerinin *Caenorhabditis elegans*' ta yaşam uzunluğu ve stres direncine etkilerinin araştırılması. Yüksek lisans tezi, Akdeniz Üniversitesi, Antalya, 72 s.
- Dizeci, N., and Yildirim, Ö. (2023). *Lactarius deliciosus* ve *Lactarius salmanicolor* mantarlarının fenolik bileşikleri ve antioksidan etkilerinin değerlendirilmesi. *Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi / J. Fac. Pharm. Ankara*, 47(2), 567-575.
- Dodig, S., Čepelak, I., and Pavić, I. (2019). Hallmarks of senescence and aging. *Biochemia Medica*, 29(3).
- Doonan, R., McElwee, J. J., Matthijssens, F., Walker, G. A., Houthoofd, K., Back, P., Matscheski, A., Vanfleteren, J. R., Gems, D. (2008). Against the oxidative damage theory of aging: superoxide dismutases protect against oxidative stress but have little or no effect on life span in *Caenorhabditis elegans*. *Genes & Development*, 22(23), 3236-3241.
- Dulger, B., Yilmaz, F., Gućin, F. (2002). Antimicrobial activity of some *Lactarius* species. *Pharmaceutical Biology*, 40(4), 304-306.
- Elkhateeb, W. A. (2020). What medicinal mushroom can do? *Chemistry Research Journal*, 2020(1), 106-118.

- Elkhateeb, W. A., Daba, G. M., Thomas, P. W., Wen, T. C. (2019). Medicinal mushrooms as a new Source of natural therapeutic bioactive compounds. *Egyptian Pharmaceutical Journal*, 18(2), 88-101.
- Elkhateeb, W., Daba, G., Elnahas, M., Thomas, P. (2019). *Fomitopsis officinalis* mushroom: ancient gold mine of functional components and biological activities for modern medicine. *Egyptian Pharmaceutical Journal*, 18(4), 285.
- Erdoğan, S., Soylu, M. K., Başer, K. H. C. (2017). Bazı yabani mantarların antioksidan özellikleri. *Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 6, 254-260.
- Genestra, M. (2007). Oxyl radicals, redox-sensitive signalling cascades and antioxidants. *Cellular Signalling*, 19(9), 1807-1819.
- Guo, X., Zou, X., Sun, M. (2010). Optimization of extraction process by response surface methodology and preliminary characterization of polysaccharides from *Phellinus igniarius*. *Carbohydrate Polymers*, 80(2), 344-349.
- Harman, D. (2002). Aging: A theory based on free radical and radiation chemistry. *Science of Aging Knowledge Environment*, 2002(37).
- Kampkötter, A., Gombitang Nkwonkam, C., Zurawski, R. F., Timpel, C., Chovolou, Y., Wätjen, W., Kahl, R. (2007). Effects of the flavonoids kaempferol and fisetin on thermotolerance, oxidative Stress and foxO transcription factor DAF-16 in the model organism *Caenorhabditis elegans*. *Archives of Toxicology*, 81(12), 849-858.
- Karabulut, H., and Gülay, M. Ş. (2016). Serbest radikaller. *Mehmet Akif Ersoy University Journal of Health Sciences Institute*, 4(1), 50-59.
- Kibreab, S., Wang, Z., Zhu, X., Ren, Y., Jing, Y., Li, X., Li, L., Zhang, B. (2023). Reciprocal REG γ -Nrf2 regulation promotes long period ROS scavenging in oxidative stress-induced cell aging. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2023, 1-12.
- Kittimongkolsuk, P., Roxo, M., Li, H., Chuchawankul, S., Wink, M., Tencomnao, T. (2021). Extracts of the tiger milk mushroom (*Lignosus rhinocerus*) enhance stress resistance and extend lifespan in *Caenorhabditis elegans* via the DAF-16/FoxO signaling pathway. *Pharmaceuticals*, 14(93), 2-22.
- Lee, S. H., Hwang, H. S., Yun, J. W. (2009). Antitumor activity of water extract of a mushroom, *Inonotus obliquus*, against HT-29 human colon cancer cells. *Phytotherapy Research*, 23(12), 1784-1789.
- Lewis, J. A., and Fleming, J. T. (1995). Chapter 1 Basic Culture Methods. *Methods in Cell Biology*, 48(C), 3-29.
- Liguori, I., Russo, G., Curcio, F., Bulli, G., Aran, L., Della-Morte, D., Gargiulo, G., Testa, G., Cacciatore, F., Bonaduce, D., Abete, P. (2018). Oxidative stress, aging, and diseases. *Clinical Interventions in Aging*, 13, 757-772.
- Liu, H., Wang, Y., Zhang, W., Sun, W., Ji, X., Zhang, S., Qiao, K. (2022). Lentinan extends lifespan and increases oxidative stress resistance through DAF-16 and SKN-

- 1 pathways in *Caenorhabditis elegans*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 202, 286-295.
- Liu, R. H. (2004). Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. *The Journal of Nutrition*, 134(12), 3479-3485.
- López-Otín, C., Blasco, M. A., Partridge, L., Serrano, M., Kroemer, G. (2013). The hallmarks of aging. *Cell*, 153 (6), 1194-1217.
- Maglioni, S., Schiavi, A., Runci, A., Shaik, A., Ventura, N. (2014). Mitochondrial stress extends lifespan in *C. elegans* through neuronal hormesis. *Experimental Gerontology*, 56(2014), 89-98.
- Moldogazieva, N. T., Mokhosev, I. M., Mel’Nikova, T. I., Porozov, Y. B., Terentiev, A. A. (2019). Oxidative stress and advanced lipoxidation and glycation end products (ALEs and AGEs) in aging and age-related diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019(special issue), 1-14.
- Money, N. P. (2016). Are mushrooms medicinal? *Fungal Biology*, 120(4), 449-453.
- Mueller, G. M., Schmit, J. P., Leacock, P. R., Buyck, B., Cifuentes, J., Desjardin, D. E., Halling, R. E., Hjortstam, K., Iturriaga, T., Larsson, K. H., Lodge, D. J., May, T. W., Minter, D., Rajchenberg, M., Redhead, S. A., Ryvarden, L., Trappe, J. M., Watling, R., Wu, Q. (2007). Global diversity and distribution of macrofungi. *Biodiversity and Conservation*, 16(1), 37-48.
- Muszyńska, B., Fijałkowska, A., Sułkowska-Ziaja, K., Włodarczyk, A., Kaczmarczyk, P., Nogaj, E., Piętka, J. (2020). *Fomitopsis officinalis*: a species of arboreal mushroom with promising biological and medicinal properties. *Chemistry and Biodiversity*, 17(6), 3-12.
- Müezzınler, A., Zaineddin, A. K., Brenner, H. (2013). A systematic review of leukocyte telomere length and age in adults. *Ageing Research Reviews*, 12(2), 509-519.
- Mwangi, R. W., Macharia, J. M., Wagara, I. N., Bence, R. L. (2022). The antioxidant potential of different edible and medicinal mushrooms. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 147(2022), 1-15.
- Olovnikov, A. M. (1973). A theory of marginotomy: The incomplete copying of template margin in enzymic synthesis of polynucleotides and biological significance of the phenomenon. *Journal of Theoretical Biology*, 41(1), 181-190.
- Öğüt, S., and Atay, E. (2012). Yaşlılık ve oksidatif stres. *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi*, 19(2), 68-74.
- Park, H. E. H., Jung, Y., Lee, S. J. V. (2017). Survival assays using *Caenorhabditis elegans*. *Molecules and Cells*, 40(2), 90-99.
- Percival, S. L. (2009). Microbiology and aging: Clinical manifestations. *Microbiology and Aging: Clinical Manifestations*. Humana Press.
- Petersen, C., Dirksen, P., Schulenburg, H. (2015). Why we need more ecology for genetic models such As *C. elegans*. *Trends in Genetics*, 31(3), 120-127.

- Pham-Huy, L. A., He, H., Pham-Huy, C. (2008). Free radicals, antioxidants in disease and health. *International Journal of Biomedical Science: IJBS*, 4(2), 89-96.
- Qun, H., Lei, C., HongBo, S., FengPing, A., Hui, T., MeiYu, X. (2016). Effect of different drying method on volatile flavor compounds of *Lactarius deliciosus*. *Journal of Food Processing and Technology*, 7(8), 2-5.
- Rahi, D. K. and Malik, D. (2016). Diversity of mushrooms and their metabolites of nutraceutical and therapeutic significance. *Journal of Mycology*, 2016, 1-18.
- Raizen, D. M., Zimmerman, J. E., Maycock, M. H., Ta, U. D., You, Y. J., Sundaram, M. V., Pack, A. I. (2008). Lethargus is a *Caenorhabditis elegans* sleep-like state. *Nature*, 451(7178), 569-572.
- Rathee, S., Rathee, D., Rathee, D., Kumar, V., Rathee, P. (2012). Mushrooms as therapeutic agents. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 22(2), 459-474.
- Riddle, D. L., Swanson, M. M., Albert, P. S. (1981). Interacting genes in nematode dauer larva formation. *Nature*, 290(5808), 668-671.
- Saier, C., Büchter, C., Koch, K., Wätjen, W. (2018). *Polygonum multiflorum* extract exerts antioxidative effects and increases life span and stress resistance in the model organism *Caenorhabditis elegans* via DAF-16 and SIR-2.1. *Plants*, 7(3), 2-11.
- Sánchez, C. (2017). Bioactives from mushroom and their application. *Food Bioactives: Extraction and Biotechnology Applications*, 23-57.
- Sellami, M., Bragazzi, N., Prince, M. S., Denham, J., Elrayess, M. (2021). Regular, intense exercise training as a healthy aging lifestyle strategy: preventing DNA damage, telomere shortening and adverse DNA methylation changes over a lifetime. *Frontiers in Genetics*, 12, 856.
- Senchuk, M. M., Dues, D. J., Van Raamsdonk, J. M. (2017). Measuring oxidative stress in *Caenorhabditis elegans*: paraquat and juglone sensitivity assays. *Bio-protocol*, 7(1), 1-11.
- Shaye, D. D. and Greenwald, I. (2011). OrthoList: a compendium of *C. elegans* genes with human orthologs. *PLOS ONE*, 6(5), 1-12.
- Shinde, A., Ganu, J., Naik, P. (2023). Effect of free radicals & antioxidants on oxidative stress: A review. *Journal of Dental and Allied Sciences*, 1(2), 63-66.
- Shou, D., Dong, Y., Wang, N., Li, H., Zhang, Y., Zhu, Y. (2016). Simultaneous quantification of antioxidant compounds in *Phellinus igniarius* using ultra performance liquid chromatography-photodiode array detection-electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Plos One*, 11(9), 1-12.
- Sillapachaiyaporn, C., Rangsinth, P., Nilkhet, S., Ung, A. T., Chuchawankul, S., Tencomnao, T. (2021). Neuroprotective effects against glutamate-induced HT-22 hippocampal Cell damage and *Caenorhabditis elegans* lifespan/healthspan enhancing activity of *Auricularia polytricha* mushroom extracts. *Pharmaceuticals* 2021, 14(10), 2-19.

- Simon, N. M., Smoller, J. W., McNamara, K. L., Maser, R. S., Zalta, A. K., Pollack, M. H., Nierenberg, A. A., Fava, M., Wong, K. K. (2006). Telomere shortening and mood disorders: preliminary support for a chronic stress model of accelerated aging. *Biological Psychiatry*, 60(5), 432-435.
- Song, T. Y., Lin, H. C., Yang, N. C., Hu, M. L. (2008). Antiproliferative and antimetastatic effects of the ethanolic extract of *Phellinus igniarius* (Linneaus: Fries) quelet. *Journal of Ethnopharmacology*, 115(1), 50-56.
- Stiernagle, T. (2006,). Maintenance of *C. elegans*. Retrieved from http://www.wormbook.org/chapters/www_strainmaintain/strainmaintain.html [Son erişim tarihi: 24.06.2023].
- Tollefsbol, T. O. (2007). Biological aging, methods and protocols. Humana Press, America, 429 p.
- TÜİK. (2023). İstatistiklerle Yaşlılar 2022. <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Istatistiklerle-Yaslilar-2022-49667> [Son erişim tarihi: 24.06.2023].
- Ulbricht, C. (2015). An evidence-based systematic review of lutein by the natural standard research collaboration. *Journal of Dietary Supplements*, 12(4), 383-480.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T. D., Mazur, M., Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39(1), 44-84.
- Vanfleteren, J. R. and Braeckman, B. P. (1999). Mechanisms of life span determination in *Caenorhabditis elegans*. *Neurobiology of Aging*, 20(5), 487-502.
- Wang, X. H., Cheng, X. Du, Wang, D., Wu, Z., Chen, Y., Wu, Q. X. (2022). Antioxidant and anti-aging effects of polysaccharide LDP-1 from wild *Lactarius deliciosus* on *Caenorhabditis elegans*. *Food & Nutrition Research*, 66(2022), 1-12.
- Wolff, J. R. and Zarkower, D. (2008). Chapter 1 somatic sexual differentiation in *Caenorhabditis elegans*. *Current Topics in Developmental Biology*, 83, 1-39.
- Wu, Q., Tan, Z., Liu, H., Gao, L., Wu, S., Luo, J., Zhang, W., Zhao, T., Yu, J., Xu, X. (2010). Chemical characterization of *Auricularia auricula* polysaccharides and its pharmacological effect on heart antioxidant enzyme activities and left ventricular function in aged mice. *International Journal of Biological Macromolecules*, 46(3), 284-288.
- Xiao, Y., Zhang, L., Liu, Y. (2023). Protocol for assessing the healthspan of *Caenorhabditis elegans* after potential anti-aging drug treatment. *STAR Protocols*, 4(2), 1-9.
- Xu, Z., Fu, L., Feng, S., Yuan, M., Huang, Y., Liao, J., Zhou, L., Yang, H., Ding, C., Gentili, A., Fanali, C. (2019). Chemical composition, antioxidant and antihyperglycemic activities of the wild *Lactarius deliciosus* from China. *Molecules*, 24(1357), 2-15.

- Xuewen, Y. Z., Xuelu, L., Fei, D., Geng, W. X. (2019). Telomere and its role in the aging pathways: telomere shortening, cell senescence and mitochondria dysfunction. *Biogerontology*, 20(2019), 1-16.
- Yang, W., Li, J., Hekimi, S. (2007). A measurable increase in oxidative damage due to reduction in superoxide detoxification fails to shorten the life span of long-lived mitochondrial mutants of *Caenorhabditis elegans*. *Genetics*, 177, 2063-2074.
- Yao, J., Zeng, J., Tang, Y., Cheng, Y., Li, T., Yang, J., Zhang, Y. J. (2023). Effects of the extraction solvents on dissolution rate and antioxidant capacity of *Auricularia auricula* (Agaricomycetes) polysaccharides *in vitro* and *in vivo*. *International journal of medicinal mushrooms*, 25(5), 61-74.
- Yildiz Turp, G., Boylu, M., Dalı, A. (2018). Tıbbi ve yenilebilir mantarlar & et ürünlerinde kullanımı. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 28(1), 144-153.
- Yoon, D. S., Lee, M. H., Cha, D. S. (2018). Measurement of intracellular ROS in *Caenorhabditis elegans* using 2',7'-Dichlorodihydrofluorescein diacetate. *Bio-protocol*, 8(6), 1-8.
- Young, I. S. and Woodside, J. V. (2001). Antioxidants in health and disease. *Journal of clinical pathology*, 54(3), 176-186.
- Zhang, J., Shi, R., Li, H., Xiang, Y., Xiao, L., Hu, M., Ma, F., Ma, C. W., Huang, Z. (2016). Antioxidant and neuroprotective effects of *Dictyophora indusiata* polysaccharide in *Caenorhabditis elegans*. *Journal of Ethnopharmacology*, 192, 413-422.
- Zhang, L., Pitcher, L. E., Yousefzadeh, M. J., Niedernhofer, L. J., Robbins, P. D., Zhu, Y. (2022). Cellular senescence: a key therapeutic target in aging and diseases. *Journal of Clinical Investigation*, 132(15), 1-13.
- Zheng, S., Deng, S., Huang, Y., Huang, M., Zhao, P., Ma, X., Wen, Y., Wang, Q., Yang, X. (2018). Anti-diabetic activity of a polyphenol-rich extract from: *Phellinus igniarius* In KK-Ay mice with spontaneous type 2 diabetes mellitus. *Food and Function*, 9(1), 614-623.
- Zöngür, A. and Sari, M. (2023). Toxicity of paraquat and dicamba on *Caenorhabditis elegans* LC50 value. *Cumhuriyet Science Journal*, 44(1), 7-12.

ÖZGEÇMİŞ

Ayşe ACAR

ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Yüksek Lisans	Akdeniz Üniversitesi
2019-2023	Fen Fakültesi, Biyoloji Anabilim Dalı, Antalya
Lisans	Akdeniz Üniversitesi
2014-2019	Sağlık Bilimleri Fakültesi, Gerontoloji Bölümü, Antalya
Ön Lisans	Anadolu Üniversitesi
2017-2019	Açıköğretim Fakültesi, Sosyal Hizmetler Bölümü, Eskişehir