



T.C.

SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
HAMİDİYE SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAZI UÇUCU VE SABİT YAĞ
KOMBİNASYONLARININ
CAENORHABDİTİS ELEGANS YAŞLANMA
MODELİNDE ANTI-AGING ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI

YAĐMUR ŞAHİN

TEZ DANIŞMANI
DOÇ. DR. MEHMET EVREN OKUR

FARMAKOGNOZİ ANA BİLİM DALI
FARMAKOGNOZİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

YÜKSEK LİSANS TEZİ
HAZİRAN/2022

İTHAF

"Bu çalışmayı aileme ithaf ediyorum."

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezimi tamamlamama yardımcı olan başta tez danışmanım Doç. Dr. Mehmet Evren OKUR olmak üzere tez çalışmalarımıdaki katkıları ve desteklerinden dolayı Prof. Dr. Abdullah Olgun'a, Arş. Gör. Meltem Güleç'e, Arş. Gör. Ayşe Esra Karadağ'a ve Arş. Gör. Sevede Nur Biltekin'e

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım...

Bu proje Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Biriminin (BAP) "2021/057" sayılı projesi ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

İTHAF	iv
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar LİSTESİ.....	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR	x
ÖZET	xi
ABSTRACT.....	xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. UÇUCU YAĞLAR.....	2
2.1.1. Uçucu Yağlar Hakkında Genel Bilgiler	2
2.1.2. Uçucu Yağ Elde Etme Yöntemleri	2
2.1.3. Lavandula Angustifolia	3
2.1.4. Elettaria Cardamomum.....	5
2.2. SABİT YAĞLAR	6
2.2.1. Sabit Yağlar Hakkında Genel Bilgiler.....	6
2.2.2. Sabit Yağ Elde Edilme Yöntemleri	7
2.2.3. Prunus Armeniaca	9
2.2.4. Persea Americana	10
2.3. DERİ VE YAŞLANMA	12
2.3.1. Deri Hakkında Genel Bilgi	12
2.3.2. Yaşlanma Sebepleri, Fizyolojisi Hakkında Genel Bilgiler.....	14
2.3.2.1. İntrinsik ve ekstrinsik cilt yaşlanması:.....	14
2.3.2.2. Epidermis yaşlanması:	14
2.3.2.3. Dermis yaşlanması:.....	15
2.3.2.4. Hipodermis yaşlanması:.....	15
2.4. CAENORHABDİTİS ELEGANS	15
2.4.1. Caenorhabditis Elegans Hakkında Genel Bilgiler	15
2.4.2. Caenorhabditis Elegans ve Yaşam Süresi Çalışmaları	16
2.4.3. C. elegans Nematodunda Termotolerans ve Sıcak Stresi	17
2.5. KOLAJENAZ VE ELASTİNAZ ENZİMLERİ	17

3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	19
3.1. BİTKİSEL MATERYAL TEMİNİ VE YAĞLARIN ELDESİ	19
3.2. GC/MS ANALİZİ	19
3.3. SABİT VE UÇUCU YAĞ KOMBİNASYONLARININ HAZIRLANMASI	20
3.3.1. C. elegans Protokolü.....	20
3.4. IN VİTRO ENZİM ÇALIŞMASI.....	20
3.4.1. Elastaz Enzim İnhibisyonu Deneyi	20
3.4.2. Kolajenaz Enzim İnhibisyonu Deneyi.....	21
3.4.3. Hücre Kültürü	21
3.4.4. Sitotoksite Analizleri	21
3.4.5. İstatistiksel Analiz	22
4. BULGULAR.....	23
4.1. UÇUCU YAĞ ELDESİ SONUÇLARI	23
4.2. C. ELEGANS TERMOTOLERANS DENEYİ SONUÇLARI	25
4.3. IN VİTRO ENZİM ÇALIŞMASI SONUÇLARI.....	28
4.4. SİTOTOKSİTE ANALİZLERİ.....	28
5. TARTIŞMA	31
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	35
KAYNAKLAR	36

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 4.1: Kayısı çekirdeği yağı ve avokado yağının yağ asidi bileşimi	23
Tablo 4.2: Lavanta ve kakule uçucu yağlarının GC-MS Analizi.....	24
Tablo 4.3: <i>C. elegans</i> termotolerans deneyi hayatta kalma süreleri ve <i>c. elegans</i> miktarları	26
Tablo 4.4: Termotolerans deneyi sonuçları istatistiki değerler.....	26
Tablo 4.5: Elastaz ve kollajenaz enzim inhibisyonu sonuçları	28
Tablo 4.6: Dört farklı kombinasyonun ve kontrol grubunun 24 saatlik uygulamasının HaCaT insan deri keratinosit hücreleri üzerine canlılığı yüzdesi ve standart sapması	30

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Soxhelet metodu (34)	8
Şekil 2.2. Deri ve katmanları (54)	13
Şekil 2.3: <i>C. elegans</i> yaşam döngüsü	16
Şekil 4.1: <i>C. elegans</i> 'ların gün bazında hayatta kalma yüzdeleri	27
Şekil 4.2: Kontrol grubu ve AL, AK, KK ve KL kombinasyonlarının 24 saatlik uygulamasının HaCaT insan deri keratinosit hücrelerinin canlılığı üzerine etkisi	29

SİMGELER VE KISALTMALAR

AK : Avokado Yağı- Kakule Yağı

AL : Avokado Yağı- Lavanta Yağı

K : Kontrol

Kk : Kayısı Çekirdeği Yağı-Kakule Yağı

KL : Kayısı Çekirdeği Yağı- Lavanta Yağı



BAZI UÇUCU VE SABİT YAĞ KOMBİNASYONLARININ CAENORHABDİTİS ELEGANS YAŞLANMA MODELİNDE ANTI- AGING ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

ÖZET

Amaç: Yaşlanma; vücut hücrelerinin DNA, lipit, protein gibi moleküllerinin sürekli hasara uğramasıyla gerçekleşen, ilerleyen süreçtir. Çalışmanın amacı çeşitli yağ kombinasyonlarının yaşlanma karşıtı etkilerinin araştırılmasıdır. Bu sebeple *C. elegans* termotolerans çalışması, elastaz ve kollajenaz enzim inhibisyonu deneyi ve hücre kültürü sitotoksosite deneyleri yapılmıştır.

Gereç ve Yöntem: Termotolerans için N2 tipi *C. elegans* kullanılarak, ölücanlı karşılaştırması yapılmıştır. Hareketlilik, canlılık belirtici olarak kullanılmıştır. Enzim inhibisyonu testleri in vitro olarak gerçekleştirilmiştir. Hücre kültüründe sitotoksosite çalışması yapılmıştır. Hücreler yağ kombinasyonlarına maruz bırakıldı ve % canlılık hesaplandı

Bulgular: Termotolerans testine göre kontrol grubu $4,70 \pm 0,13$; Kayısı-kakule grubu $5,44 \pm 0,15$; avokado-kakule $7,10 \pm 0,16$; kayısı-lavanta $8,05 \pm 0,23$ ve son olarak avokado-lavanta yağ kombinasyonlarında $10,71 \pm 0,29$ gün hayatta kalma süresi tespit edilmiştir. Yağ kombinasyonlarının elastaz ve kolajenaz enzim inhibisyonu üzerinde anlamlı etki göstermediği görülmüştür. Hücre kültürü çalışmasında avokado-lavanta yağ kombinasyonunun kontrol grubu ve diğer kombinasyonlara kıyasla hücre canlılığı üzerinde olumlu etkisi görülmüştür.

Sonuç: Hem *C. elegans* hem de hücre çalışmaları sonucunda yaşam süresi üzerinde en etkili kombinasyonun avokado-lavanta olduğu görülmektedir. Bunun yanında lavanta yağı, kakule yağına oranla ve avokado yağının da kayısı yağına göre canlılık üzerine daha etkili olabileceği söylenebilir.

Anahtar Kelimeler: *C. Elegans*, Enzim, Hücre, Termotolerans, Yaşam Süresi

INVESTIGATION OF THE ANTI-AGING EFFECTS OF SOME ESSENTIAL AND FIXED OIL COMBINATIONS IN THE *CAENORHABDITIS ELEGANS* AGING MODEL

ABSTRACT

Aim: Aging; It is a progressive process that occurs when the molecules of the body cells such as DNA, lipid, and protein are constantly damaged. The aim of the study is to investigate the anti-aging effects of various oil combinations. For this reason, *C. elegans* thermotolerance study, elastase and collagenase enzyme inhibition assay and cell culture cytotoxicity experiments were performed.

Materials and Methods: The number of living or dead *C. elegans* was experimentally evaluated depending on their response to oil combination. Motility offers a useful assay for the potential of nematode-based drug/chemical screening. In vitro enzyme inhibition assays were performed. Cytotoxicity study was performed on the cell line. Cells were exposed to oil combinations and then % viability was calculated.

Results: According to the thermotolerance test, following survival days were observed: the control group; 4.70 ± 0.13 , apricot-cardamom group; 5.44 ± 0.15 , avocado-cardamom; 7.10 ± 0.16 , apricot-lavender; 8.05 ± 0.23 , avocado-lavender group; 10.71 ± 0.29 . It was observed that oil combinations did not have a significant effect on elastase and collagenase enzyme inhibition. In the cell assay, the avocado-lavender oil combination improved on cell viability compared to the control group and other combinations.

Conclusion: As a result of both *C. elegans* and cell studies, it is seen that the most effective combination on lifespan is avocado-lavender. In addition, it can be said that lavender oil can be more effective than cardamom oil and avocado oil can be more effective on vitality than apricot oil.

Keywords: *C. Elegans*, Cell, Enzyme. Life Span, Thermotolerance

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Canlılar doğar, yaşam süreleri boyunca yaşlanır ve sonunda ölür. Yaşlanma doğal bir biyolojik süreçtir ve bu süreci etkileyen çevresel, genetik ve epigenetik birçok faktör vardır. Bu faktörlerden genetiğin etkileri *Caenorhabditis elegans*'da ilk olarak bakılmıştır. Bu çalışmada da *C. elegans* kullanılmıştır. *C. elegans* doğada ağaç diplerindeki toprakta yaşayan boyu ortalama 1 mm olan ve laboratuvar koşullarında da bir petri kabı içerisine *Escherichia coli* ile beslenerek hayatına devam edebilen çift cinsiyetli bir nematodur (1). Bu nematodların çalışmalarda tercih edilmelerinin sebepleri arasında genetik yapılarının insan genleriyle %80'e kadar benzerliği ve yaşam sürelerinin kısa oluşu sebebiyle çalışmanın kısa sürede sonuçlandırılabilmesi sayılabilir (2).

C.elegans nematodu, yaşlanmanın genetik yönlerini incelemek ve potansiyel olarak ömrü uzatan maddelerin ömür uzunluğu üzerindeki etkilerini test etmek için, tıpta ve biyolojide yaygın olarak kullanılan bir model organizmadır. Termotolerans çalışmaları ise, nematodlardaki yaşam süresi analizi çalışmalarının ilk basamağıdır. Sıcaklık stresi verilerek nematodun standart yaşam süresi kısa bir hale getirilir böylelikle deney süresi kısalmış olur.

Yüzyıllardır birçok bitkinin doğal yağları birçok hastalığın tedavisi için kullanılmaktadır. Son zamanlarda bu faydalar bilimsel olarak da kanıtlanmıştır. Kronik birçok hastalığın tedavisinde kullanılan doğal yağların insan ömrünü uzatan etkileri de olduğu ispatlanmıştır. *Lavandula angustifolia* (lavanta), *Persea americana* (avokado), *Elettaria cardomum* (kakule), *Prunus armeniaca* (kayısı) yağlarının *C. elegans* model organizmasının termotoleransı ve yaşam süresi üzerine etkilerinin araştırılması, bu çalışmanın ana konusunu ve amacını oluşturmaktadır. Termotolerans çalışmasına paralel olarak aynı yağlar kullanılarak hücre kültürü ve elastinaz, kolejenaz enzim inhibisyonu çalışmaları da uygulanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. UÇUCU YAĞLAR

2.1.1. Uçucu Yağlar Hakkında Genel Bilgiler

Esansiyel yağlar güçlü bir kokuya sahip, oda sıcaklığında uçucu ve doğal yağlardır. Aromatik bitkilerde sekonder metabolit olarak üretilir (3). Esansiyel yağlar çok fazla bileşene sahiptir. Asitler, alkoller, aldehitler, ketonlar, asiklik esterler, laktonlar, daha seyrek olarak azotlu ve kükürtlü bileşikler, kumarinler ve fenilpropanoidlerin homologları bunlara örnek olarak verilebilir. Uçucu yağlar en fazla terpen grubu içerir. Terpenler 5 karbonlu izopirenlerdir (C₅H₈). İçerdikleri terpen miktarına göre birçok terpen sınıfı vardır. Uçucu yağların ana bileşenleri monoterpen ve seskiterpenlerdir (4). Örneğin lavanta yağının temel bileşenleri linalol, kafur, terpinen-4-ol, linalil asetat, β-osimen and 1,8-sineoldür (5). Esansiyel yağların büyük çoğunluğu tedavilerde kullanılır (6). Aromaterapide antioksidan, antimikrobiyal, antifungal, ağrı kesici olarak ve anksiyete ve depresyon tedavisinde kullanılırlar. Doğal kozmetik endüstrisinde de büyük yerleri vardır (7).

2.1.2. Uçucu Yağ Elde Etme Yöntemleri

Uçucu yağlar elde edilecek yağ bitkinin hangi bölgesindeyse ona uygun bir şekilde elde edilir. En çok kullanılan ekstraksiyon metodları su buharı damıtması, çözücü ekstraksiyonu, CO₂ ekstraksiyonu, maserasyon, anfloraj, soğuk pres ve su distilasyonu olarak gösterilebilir. Bazı ekstraksiyon metodları bitkilerin bazı bölgeleri için en uygun olanıdır. Örneğin sitrus meyvesinin kabuğundaki uçucu yağ elde etmek için soğuk sıkım en ideal ekstraksiyon yöntemidir. Çünkü yağın elde edilebilmesi için kauğun sıkılması gerekir.

Su Buharı Damıtması: Uçucu yağ eldesi için genelde bu yöntem kullanılır. Çünkü çok yönlüdür, uçucu yağların dekompozisyonuna sebep olmaz ve de hem az hem de yüksek miktarda yağ eldesi için uygundur (8). Negatif yanları ise ekstraksiyon sürecinin uzun olması ve yüksek miktarda enerji harcanmasıdır (9).

Yöntemin temeli; soğutucuyla birleştirilen bir cam balon içinde suyla bitkinin 2-8 saat kaynatılarak, su buharıyla hareket eden yağ moleküllerinin soğutucuda yoğunlaştırılıp sudan ayrıştırılmasıdır esasen. Elde edilen uçucu yağ miktarı volumetrik olarak ifade edilir. Su distilasyonu toz şeklindeki materyallerde (kök vs) maksimum sonuç verir (9). Elde edilen yağ miktarı çok olmakla birlikte suyun kaynatılması esnasında uygulanan yüksek sıcaklık, termal reaksiyonlara neden olur. Bununla beraber artifak oluşumu, hidroliz ve isomerizasyon olayları meydana gelir (10).

Çözücü Ekstraksiyonu: Yağı elde edilecek bitki kısmı organik bir çözücüde kaynatılır. Bu çözücü çoğunlukla hekzan ya da etanol olur. Ekstraksiyon bittikten sonra organik çözücü damıtma ile geri getirilirken diğer fazda istenen uçucu yağ kısmı bulunur. Su buharı distilasyonuna kıyasla deney sıcaklığı daha düşüktür (11).

Soğuk Sıkım Yöntemi:

Bu yöntem yağını kabuğunda barındıran meyvelerden uçucu yağ eldesi için kullanılır. Fiziksel bir yöntemdir. Örneğin limon kabuğundan uçucu yağ elde etmek için limon kabuğunun dış kısmına kuvvet uygulanır ve limon yağı elde edilir (11).

2.1.3. Lavandula Angustifolia

Lavandula. angustifolia Lamiaceae familyasına ait 25-30 farklı çeşidi olan çok yıllık bir çalı bitkisidir. Dünya üzerinde genel olarak Bulgaristan, İtalya, Macaristan ve ülkemizde doğal olarak yetişir. Halk arasında güçlü bir kokuya ve tıbbi etkilere sahip olduğu bilinen bir bitkidir. Yaprakları ve çiçek başlarındaki salgı bezlerinden elde edilen fazlasıyla aromatik olan uçucu yağları kullanılır. *Lavandula. angustifolia* fenolik yapılarca zengindir. Şu ana kadar dokuz çeşit flavon 8 çeşit antosiyanin analiz edilmiştir. Güzel kokusu terpenoid bileşiklerden kaynaklıdır. Uçucu yağının içerisinde yüzlerce bileşen vardır. Ama en çok linalol, linalil asetat, lavandulil asetat, kafur ve 1,8-sineol içerir (12). Uçucu yağı fitokimyasal olarak değerlendirmek için önce su buharı distilasyonu veya çözücü ekstraksiyonuyla bitkiden uçucu yağ elde edilir, daha sonra bu yağ GC/MS ile analiz edilir. Bu sayede yağ içinde hangi kimyasal maddelerin bulunduğu ortaya çıkmış olur.

Lavanta yıllarca hastalıklarda bitkisel remedi olarak kullanılmıştır. Kullanımı yüz yıllar öncesine dayanmaktadır. Halk arasında vücut ağrılarında, sinir sistemi

rahatsızlıklarında ve rahatlama için kullanılır (13). Bitki infüzyonu dahilen kullanılarak gaz giderici, diüretik, anti-romatizmal, anti-epileptik, baş ağrısı ve migren gibi rahatsızlıklarda ağrı kesici olarak kullanılır (14). Su distilasyonu ile elde edilen uçucu yağı koklama sureti ile kullanılarak sedatif ve anti-depresan olarak kullanılır. Aynı zamanda lavanta uçucu yağı haricen anti-bakteriyel olarak kullanılır. İçeriğindeki linalol ve linalyl acetate yüksek miktarda anti-bakteriyel ve anti-fungal etkiye sahiptir. Parfüm ve kozmetik endüstrisinde de sıklıkla karşılaşılan bir yağdır (15). Onlar dışında anksiyete, uykusuzluk, depresyon, iştah kaybı, nefes ferahlatmak maksatlı ağız sularında da kullanılır (16).

Lavandula angustifolia ekstraktının cilt fibroblastındaki kolajen üretiminin azalmasını önlediği ortaya çıkmıştır. Fibroblast cildin bağ doku hücresidir, kolajen ve elastin burada üretilir. Artan yaş, UV ışınları gibi birçok sebeple kolajen üretimi azalır. Ji Hoon Ha ve arkadaşlarının çalışmasına göre fermente edilmiş *Lavandula angustifolia* ekstraktı ile UVB ışınlarına maruz kalan fibroblast hücrelerindeki kolajen %20 daha az azalmıştır (17).

Birçok araştırmacı tarafından *L. angustifolia* uçucu yağının önemli özelliklerinden biri olan antioksidan özelliği araştırılmıştır. ROS miktarının azalmasını sağlayan antioksidanların yaşlanma prosesini yavaşlatmada büyük bir öneme sahip olduğu unutulmamalıdır.

Lu Hui ve arkadaşları tarafından lavanta uçucu yağının kimyasal içeriği, antioksidan ve anti bakteriyel özelliği araştırılmış. Antioksidan ve anti bakteriyel kapasitesi linoleik asit sistemi ve bakteriyel gelişim inhibisyonu ile test edilmiştir. Sonuçlar 1,5-Dimethyl-1-vinyl-4-hexenyl butyrate (%43,73) ın en çok bulunan madde olduğu, daha sonra sırasıyla 1,3,7-Octatriene, 3,7-dimethyl- (%25,10), ökaliptol (%7,32) ve kafur (%3,79) olduğunu ortaya çıkarmış. Aynı zamanda lipid peroksidasyonuna karşı güçlü antioksidan aktivitesi olduğu ve de rinitle ilişkilendirilen *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus ascoformans*, *Proteus vulgaris* and *Escherichia coli* bu dört bakteri çeşidine karşı iyi antibakteriyel etkiye sahip olduğu ortaya çıkmıştır (16).

Atsumi ve Tonosaki *L. angustifolia* bitkisinin inhalasyon ile etkisini 22 kişilik bir çalışma grubu üzerinde antioksidan etkisi araştırmıştır. Deneklere 5 dakikada bir aroma koklatılmıştır ve kortizol, sekretuvar IgA ve α -amilaz

değişimlerine bakılmıştır. Bu maddeler vücudu oksidatif stresten koruma konusuyla ilişkili maddelerdir. Sekretuvar IgA ve α -amilaz seviyeleri değişmezken kortizol seviyesi anlamlı bir şekilde azalmıştır (18).

2.1.4. *Elettaria Cardamomum*

Kakule çok sık kullanılan bir baharattır ve hatta baharatların kraliçesi olarak bilinir. Hindistan, Guatemala, Sri Lanka, Endonezya, Tanzanya ve Meksika’da yetişir. Zingiberaceae familyasının çok yıllık çalimsı bir bitkisidir. Daha çok kurutulmuş meyveleri kullanılır. 2-5 m yüksekliğinde olup rizomlarının vejetatif bölünmesiyle çoğalır. Yaprakları 30-35 cm uzunluğunda ve 7-10 cm genişliğinde olup lanseolat yapıda koyu yeşil renktedir (19). Bitkinin üst kısmı pseudostem adı verilen ortalama 20 adet yaprağımsı yapı içerir. Aromatik tohumları sıklıkla baharat ve aroma verici olarak kullanılır Kakule *Elettaria*, *Amomum* ve *Aframomum* cinslerinin kurumuş meyveleridir. En sık kullanılanı Hindistan’da yetişen *Elettaria cardamomum* (L.) *Maton* cinsidir (20).

Ortalama bir kakule meyvesi %68,2 karbonhidrat, %10,6 protein, %2,4 yağ içerir.100 gram kurumuş kakule meyvesi 93 mg kalsiyum, 182 mg magnezyum, 124 mg potasyum, 183 mg fosfor, 100 mg sülfür ve 13 mg demir içermektedir (21).

Kurumuş kakule meyvesi yüzyıllardır hem mutfakta hem de geleneksel tedavi olarak astım kontrolü, diş ve diş eti enfeksiyonları, sindirim sistemi ve böbrek rahatsızlıkları (22), katarakt, mide bulantısı, ishal ve kalp rahatsızlıklarının tedavisinde kullanılmaktadır (23). Meyvesinin içerisinde bulunan uçucu yağ ona aromatik kokusunu ve tedavi edici özelliklerini verir (24).

Daha çok distilasyon metoduyla elde edilen uçucu yağının içerisinde 1,8-sineol, α -pinen, α -terpineol, linalil asetat, linalol gibi monoterpen içerikler ve α -terpinil asetat esteri bulunur (22). Yapılan bilimsel çalışmalarda uçucu yağının anti-enflamatuvar, kansere karşı koruma, antioksidan, anti-fungal, anti-viral, antidiyabetik ve mide koruyucu özelliklerinin olduğu ortaya çıkmıştır (23). Tıpta kakule uçucu yağının kalp ve damar hastalıkları tedavisi ve kontrolünde ayrıca akciğer ve böbrek hastalıklarında kullanılabileceği de kanıtlanmıştır (24).

Kakule uçucu yağının *S. aureus*, *E. coli*, and *Saccharomyces cerevisiae* türlerine karşı antimikrobiyal aktifliği 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ile ve

toplam fenolik içerik (TPC) metodlarıyla ölçülmüştür. Minimum inhibitör konsatrasyon (MİK) ve minimum bakterisidal konsatrasyon (MBK) ise seri dilüsyon metodu ile ölçülmüştür. Sonuçlara bakıldığında MBK .36 mg/mL, MİK *S. aureus*, *E. coli*, ve *S. cerevisiae* için sırasıyla 12.50, 25.00, ve 1.56 mg/mL olduğu görülmüştür. Antioksidan aktivitesine bakıldığında DPPH 517 nm ölçülmüştür. Bu deney sonuçlarına göre kakule uçucu yağının *S. aureus*, *E. coli*, and *S. cerevisiae* türlerine karşı antimikrobiyal özelliği vardır ve aynı zamanda antioksidan özelliği de bulunmaktadır (25).

Yapılan başka bir çalışmada *Elettaria cardamomum*, *Salvia triloba* ve *Lavandula angustifolia* uçucu yağları ve kombinasyonları ağız temizleme suyu formülasyonuna eklenmiştir ve antibakteriyel özelliğine bakılmıştır. Çalışma sonucuna göre *Salmonella typhii* bakterisine karşı bu üç uçucu yağ arasından tek etkili olanı kakule uçucu yağı çıkmıştır (26).

2.2. SABİT YAĞLAR

2.2.1. Sabit Yağlar Hakkında Genel Bilgiler

Sabit yağlar bitkilerin çeşitli parçalarından elde edilen yağlardır. Kimyasal olarak yağ asitlerinin gliseril esterleridir. Her farklı sabit yağ birbirlerinden içlerinde barındırdıkları yağ asitlerine göre ayrılır. Sabit yağlar sıvı ve katı formda olabilir ama çoğunlukla sıvıdırlar. Sabit yağlar eter, kloroform ve petrol eterinde çözünebilirler. Uçucu değildirler, kağıt üzerinde iz bırakırlar ve suda çözünmezler ve suya karışmazlar. Özgül ağırlıkları 1.0'den azdır yani suyun üzerinde kalırlar. Sabit yağlar tedavilerde kullanılabilirken aynı zamanda bazı yağlar ve ilaçlar için taşıyıcı olarak da kullanılır (27). Hint yağı, zeytin yağı, yerfıstığı yağı, soya, susam, badem, pamuk tohumu, mısır, aspir, kakao, keten tohumu, ayçiçek ve shea yağı sabit yağlara örnek olarak gösterilebilir (28).

Sabit yağlar yağ asitlerinden oluşur ve bu yağ asitleri genellikle 18, 20, 22 karbona sahip omega 3,6 ve 9 yapısındadır. Yağları birbirinden farklı kılan yağ asitlerinin oranlarıdır. Aynı çeşit yağ asidi bulunmasına rağmen farklı oranlarda bir araya gelmişlerdir. Doymuş ve doymamış olmak üzere 2 çeşit yağ asidi bulunur. Doymuş yağ asitlerine laurik, stearik ve palmitik asit örnek olarak gösterilebilir. Bu

yağ asitleri yapısında çift bağ taşımaz ve oda sıcaklığında katıdır. Örneğin hindistan cevizi yağı doymuş yağ asidine sahip bir yağdır. Doymamış yağ asitleri en az bir çeşit çifte bağ içerir ve ayçiçek yağı, zeytinyağı gibi sıvı yağlarda bulunur. Örneğin zeytinyağında bulunan oleik asit doymamış yağ asidine örnektir. Linoleik asit, linolenik asit de örnek olarak gösterilebilir (29). Sabit yağlar özelliklerine göre antibakteriyel, antifungal, antioksidan, antihelmintik, iç organları koruyucu, hastalık tedavi edici gibi birçok etkisi vardır (30).

Sabit yağlardan bazıları antibakteriyel özellik içerir. Örneğin çörek otunun tohumundan elde edilen sabit yağın içerisinde bulunan timohidrokinon (TQ) maddesinin antibakteriyel özelliği kanıtlanmıştır. Yapılan çalışmaya göre bu maddenin *S. aureus*'a yüksek derecede duyarlılığı olduğu kanıtlanmıştır. TQ maddesinin ise 3 µg/ml dozunun bakteriyostatik, 6 µg/ml dozunun ise bakterisit etki için yeterli olduğu bildirilmektedir (31).

Başka bir örnek olarak da *Petroselinum crispum* yani maydonoz bitkisi tohumu sabit yağının antioksidan etkisi ABTS testi ile değerlendirilmiştir. Sonuç olarak antioksidan etkisi olduğu ortaya çıktı. Fakat toplam fenol miktarı düşük olduğu için antioksidan özelliği de düşüktür (32).

2.2.2. Sabit Yağ Elde Edilme Yöntemleri

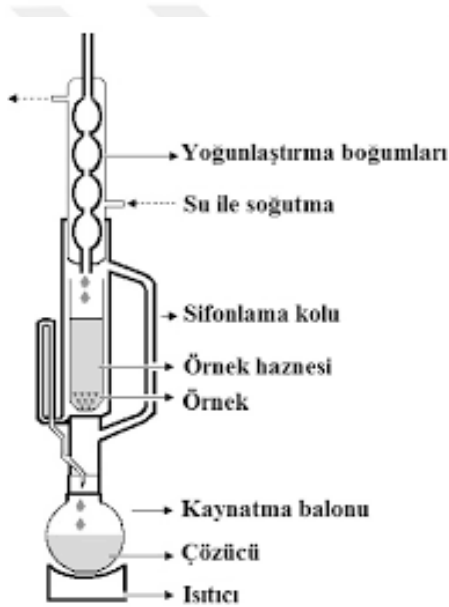
Sabit yağ elde etme yöntemleri çözücü destekli, süper-kritik sıvı destekli, mikrodalga destekli, ultrases destekli, enzim destekli ekstraksiyonlar, soğuk pres metodu olarak sayılabilir.

Yağ elde etme metodları yağın bitkinin bulunduğu kısmına göre değişir. Örneğin, sabit yağı meyvenin yumuşak kısmında bulunuyorsa mikrodalga metodu kullanılabilir. Avokado meyvesinin sabit yağı bu yolla elde edilebilir. Avokado meyvesi 2450 MHz, 859 W lık mikrodalgaya konur ve mikrodalganın yüksek seviyesinde ısıtılır. Daha sonra yağ mekanik bir şekilde sıkılarak elde edilir. Avantajları 10-30 dk gibi kısa sürede işlemin sonuçlanması, az miktarda çözücü kullanılması olarak sıralanabilir. Negatif yanı ise sadece yağı değil her maddeyi ekstrakte etmesi ve maliyetli bir işlem olmasıdır.

Soğuk pres yönteminde herhangi bir ısı ya da kimyasal kullanılmaz, tamamen mekaniktir. Bu sebeple yağın bozunma ihtimali yoktur ve besin değerini korur.

Negatif yanı ise verimin düşük olmasıdır. Örneğin zeytinyağı zeytin çekirdeği ezilerek üretilir.

Bir başka yöntem ise çözücü ekstraksiyonudur yani Soxhelet metodudur. Soxhelet metodunda katı materyalden yağ, materyalin birden fazla kez organik çözücüyle muamele edilmesi ile elde edilir. Kullanılan organik çözücülere hekzan, petrol eteri, benzen, kloroform örnek olarak verilebilir. Belirli bir süre organik çözücü ısıtılır, kaynatılır ve yine yoğunlaştırılır ve bu süreç deneyin prensibine göre belirli bir süre veya sayıda tekrarlanır. Bu süreçte yağ organik çözücüye hapsolür. Daha sonra organik çözücü ortamdan uzaklaştırılarak yağın kendisi elde edilmiş olur (33). Soxhelet aparatı ve parçalarının isimleri Şekil 1.2 de görüldüğü gibidir.



Şekil 2.1. Soxhelet metodu (34)

Süperkritik sıvı ekstraksiyonunun ise çözücü ekstraksiyonundan farkı çözücünün yüksek sıcaklık ve basınç düzeyinde süperkritik hale geçmesi ve böylelikle çözme ve yağa nüfus etme gücünün yükselmesidir. Bu yöntem son zamanlarda sıklıkla kullanılan yöntemlerden biridir. Diğer yöntemlerden en büyük farkı veriminin yüksek olması ve yağ eldesi süresinin kısa olmasıdır.

Enzim destekli sulu ekstraksiyonda ise organik çözücü kullanılmaz ki bu sebeple çevre dostu bir ayırma yöntemidir diyebiliriz. Bu yöntemde yağın bulunduğu hücre duvarları enzimler vasıtasıyla hidrolize uğratarak yağ elde edilir (33-35).

2.2.3. Prunus Armeniaca

Kayısı bitkisi Rosaceae familyasına ait olan ve Akdeniz ve Orta Asya taraflarında sıklıkla üretilir. Ülkemiz kayısı üretiminde dünyanın en büyük üreticisidir (36). Kayısı sabit yağı en fazla (%70,70) oleik asit, daha sonra linoleik (%22,41), palmitik (%3,14), stearik (%1,4), linolenik (%0,9) ve palmitoleik (%0,7) asit içerir (37).

Kayısı sabit yağı kayısı çekirdeğinden çözücü ekstraksiyonu veya soğuk sıkım yoluyla elde edilir. Yapısında yüksek oranda doymamış yağ asidi vardır, ayrıca insan vücudu için önemli olan sterol, tokokromanol ve skualen maddelerini de içerir. Zengin içeriğinden dolayı kayısı çekirdeği sabit yağı yenilebilen yağ olarak kullanılabilirken aynı zamanda kozmetik sektöründe, fonksiyonel ve medikal besin desteklerinde sıklıkla kullanılır (38).

Kayısı bitkisi meyvesinin yenmesi dışında halk arasında birçok hastalıkta kullanılır. Kayısı kabuğunu dekoksasyonu alerjik cildi rahatlatmak için kullanılır. Kayısının diğer kullanım alanları kanama tedavisi, infertilite, göz enflamasyonu ve kas ağrılarıdır. Kayısı çekirdeği yağı ise laksatif, ekspektoran olarak kullanılmaktadır (39). Kayısı çekirdeği yağı tıpta öksürük, kalp ve damar hastalıkları ve beyin hastalıklarının profilaksisinde ve tedavisinde kullanılmaktadır (40).

Kayısı çekirdeği yağının antimikrobiyal özelliği vardır. D. Yiğit ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada kayısı çekirdeği yağının antimikrobiyal özelliğine bakmak için 5 bakteri çeşidine ait (*Enterobacter aerogenes*, *E. coli*, *Proteus mirabilis*, *P. aeruginosa*, and *S. aureus*) 96 bakteri suşu, 9 maya türüne ait (*Candida albicans*, *C. glabrata*, *C. guilliermondii*, *C. kefyr*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. pseudotropicalis*, *C. tropicalis*, and *Geotrichum candidum*) 91 *Candida* suşu kullanılmıştır. Antimikrobiyal etkiye bakmak için disk difüzyon testi yapılmıştır. Pozitif kontrol olarak gram pozitif bakteri için ofloksasin (5 µg), gram negatif bakteri için sefaperazon–sulbajtam (105 µg) ve *Candida* türleri için amfoterisin B (30 µg) kullanılmıştır. Antimikrobiyal aktivite kayısı çekirdeği yağı, negatif ve pozitif kontrollerin test mikroorganizmalarındaki inhibisyon bölgesi

ölçülerek yapılmıştır. Daha sonra MİK ölçülmüştür. MİK ekstrelerin mikroorganizmaların gelişimini inhibe ettiği en düşük konsantrasyondur. Deney sonucuna göre kayısı çekirdeklerinin en fazla *E. coli* üzerinde (inhibisyon bölgesi: metanol ekstresinde $15 \pm 1,5$; su ekstresinde $15 \pm 2,2$ mm) etkili olduğu ortaya çıkmıştır (41).

Kayısı çekirdeği yağında bulunan E vitamini antioksidan özelliğine sahiptir. Böylelikle yaşlanma belirtilerini azaltır, ciltteki kırışıklıkları hafifletir, cilde sağlıklı ve dolgun bir görünüm kazandırır (42).

Bir çalışmada ise kayısı çekirdeği yağının (AO) miyokardiyal iskemi-reperfüzyona (IR) sahip sıçan modeli üzerinde potansiyel kardiyoprotektif etkileri *in vivo* olarak çalışılmıştır. Çalışmadaki sıçanlar beş gruba ayrıldı: sham opere edilenler, IR, düşük doz AO ile tedavi edilen (LD-AO-IR), orta doz AO ile tedavi edilen (MD-AO-IR) ve yüksek doz AO ile tedavi edilen IR (HD-AO-IR). LD-AO + IR, MD-AO + IR ve HD-AO + IR gruplarına, IR operasyonundan 14 gün önce sırasıyla günlük 2, 6 ve 10 ml/kg AO dozu verildi. Tetrazolium klorür boyaması, enfarktüs boyutunun ve enfarktüs ağırlığının toplam kalp ağırlığına oranının, AO ile tedavi edilen üç grupta IR grubuna kıyasla önemli ölçüde azaldığını ortaya koydu. Serum kreatin kinaz ve aspartat aminotransferaz aktiviteleri de benzer faydalı etkiler göstermiştir. AO ile tedavi edilen sıçanlarda miyokardiyal katalaz, süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz ve konstitütif nitrik oksit sentaz aktivitelerinin yanı sıra NO konsantrasyonlarının tümü artarken, malondialdehit içeriği ve indüklenebilir nitrik oksit sentaz azaldı. Bu bulgular, kayısı çekirdeği yağının güçlü kalp koruyucu etkileri olduğunu ve miyokard enfarktüslerinin tedavisi ve önlenmesi için bir besin olarak geliştirilebileceğini düşündürmektedir (43).

2.2.4. Persea Americana

Avokado, Meksika ve Orta Amerikada yetişir ve ilk defa Meksika'da kültürü yapılmıştır (44). Lauraceae familyasına ait Avokado dört mevsim yeşil kalan yapraklara sahiptir fakat yapraklar kısa ömürlüdür, 12 aydan fazla yaşamazlar. Hızlı uzayan bu bitkinin boyu 20 metreye kadar uzar, kökleri çok fazla derine inmez ve topraktaki suyu çekme gücü zayıftır. Avokado çok fazla çiçeğe sahip bir bitki olmasına rağmen çiçeklerinin %0,1'inden azı meyve verir. Çiçeklenmesi ve meyve vermesi 3 iklimsel faktöre bağlıdır. Bunlardan ilki kış mevsimindeki don süresi; bir

diğeri düşük sıcaklık ortalaması ve son olarak meyvelenme sürecindeki aşırı yükseklik sıcaklıktır (45).

Yarım avokadoda (68 g); 4,6 g besin posası, 0,2 gr toplam şeker, 345 mg potasyum, 5,5 mg sodyum, 19,5 mg magnezyum, 43 µg A vitamini, 6 mg C vitamini, 1,3 mg E vitamini, 14 µg K₁ vitamini, 60 mg folat, 0,2 mg B₆ vitamini, 1,3 mg niasin, 1,0 mg pantotenik asit, 0,1 mg riboflavin, 10 mg kolin, 185 µg lutein/zeaksantin, 57 mg fitosterol, 6,7 g yüksek- tekli doymuş yağ asitleri bulunur ve 114 kcal'dır. Avokado yağı %71 oranında tekli doymuş yağ asidi, %13 oranında ise doymuş yağ asidi içerir. Bu yağ asitleri sayesinde avokado yağı kan lipid profilini dengeye sokar ve yağda çözünen vitaminlerin verimini artırır (46).

Avokado ksantofil karotenoidi içerir. Bu karotenoit oksijen içeren ve yağda çözünen bir antioksidandır. Bu sebeple avokadolar diğer sebze ve meyveler arasında en fazla lipofilik antioksidan kapasitesine sahip meyvedir.

Yapılan bir çalışmaya göre avokado yoğunluklu beslenme düzeninin normal ve hiperkolesterolu olan bireylerin lipoprotein ve trigliserit miktarlarında iyileşmeye yol açtığı gözlemlenmiştir. 7 gün süren randomize kontrollü çalışmada 67 denek kullanıldı. 2 gruba ayrıldılar. İlk grup sağlıklı ve normal lipid seviyesine sahip bireyler ve 2.grup ise insülin seviyesi 201–400 mg/dL olan kolesterolü yüksek olan bireylerdi. Her grubun yarısına avokado zengini beslenme düzeni diğer yarısına ise izokalorik diyet avokadosuz diyet uygulandı. Sonuç olarak diyetine avokado ekleyen normal kolesterollü bireylerin serum kolesterol miktarı avokadosuz beslenen bireye göre %16 daha azalmıştır. Yüksek kolesterollü diyetine avokado eklenmiş bireylerin total serum kolesterolünde %17, LDL-C ve trigliserit seviyesinde %22 azalma; HDL-C seviyesinde ise hafif bir artış görülmüştür. Avokadosuz beslenen bireylerin seviyelerinde herhangi bir değişiklik görülmemiştir. Sonuç olarak beslenme düzenine avokado katmanın kardiyovasküler sağlık üzerinde anlamlı bir etkisi vardır (47).

Başka bir çalışma ile de avokadonun kilo kontrolünde etkili olduğu kanıtlanmıştır. Bu çalışmaya 61 tane sağlıklı, fazla kilolu ve obez bireyler katılmıştır. Bireylerin bazıları günde 200 g avokadoyla (30,6 g yağ) bazıları ise 30 g randomize bir şekilde margarin ve avokado yağı dışındaki diğer yağlarla 6 hafta 6 hafta boyunca beslendi. Sonuç olarak avokado yağı ile beslenen bireylerin yağ

miktarı yüzdesinde, BMI verisinde ve kilosunda azalış görüldü (48). Randomize tek kör, çarpazlama postprandiyal başka bir çalışmada ise öğle saatlerinde tüketilen yarım avokadonun kontrol bireylerine kıyasla açlık ve yeme isteğinin azaldığı doygunluğun arttığı görülmüştür. Çalışmaya 26 adet sağlıklı ama fazla kilolu bireyler katılmıştır (49).

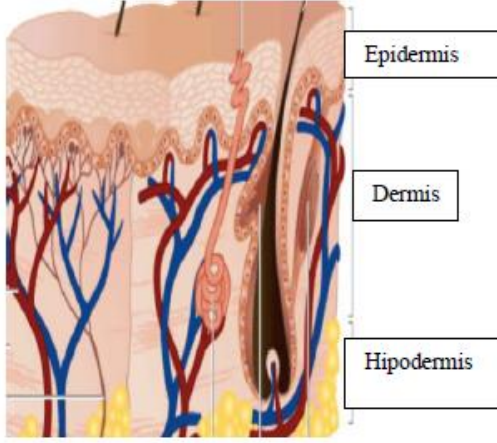
2.3. DERİ VE YAŞLANMA

2.3.1. Deri Hakkında Genel Bilgi

Deri vücudun en büyük organıdır ve vücut kütlesinin yüzde 10'undan fazlası deridir. Ortalama bir insandaki cildin yüzey alanı yaklaşık 1,67 m² ve 4,5 kg civarlarındadır. Deri vücudun dış çevreyle en fazla etkileşimde olan organıdır. Temel olarak üç tabakadan meydana gelir ve bunlar dışarıdan içe sırasıyla *Stratum corneum* (epidermisin en üst kısmı), epidermisin devamı, dermis ve hipodermistir (50). Epidermis de kendi içerisinde *Stratum corneum*, *S. lucidum*, *S. granulosum* ve *S. basale* olmak üzere dörde ayrılır. *S. corneum* keratinositlerden farklılaşan korneoist içerir. Bu hücreler *S. basale*'de sürekli yenilenir, eskidikçe *S. corneum*'a doğru çıkar ve en son orada ciltten ayrılır. Bu sürekli bir döngü şeklinde gerçekleşir (51). *S. lucidum* ince ölü keratinosit tabakasıdır. *S. lucidum* tabakasındaki keratinosit hücreler arası protein olan eleidin içerir. Eleidin bu tabakaya saydam bir görünüm verir. *S. granulosum*; *S. lucidum* ile *S. basale* arasındaki ince tabakadır. *S. granulosum*'da bulunan keratinositler sistein ve histidin miktarı açısından zengin granüller içerir. *S. basale* ise bazal keratinosit, Langerhans ve T hücreleri gibi bağışıklık hücreleri ve cilt pigmentasyonunda rol oynayan melanosit hücrelerini içerir (52).

Dermis ise cildin en kalın tabakasıdır, cilde güçlülük, destek ve esneklik sağlayan hücreleri barındırır. Dermiste bulunan duyu reseptörleri aracılığıyla vücut basınç, ağrı ve sıcaklığı hisseder. Dermiste bulunan küçük kan damarları ise cilde besin sağlar. Yağ bezleri ise yağ üreterek cildi nemli ve diri, saçları yumuşak tutarken aynı zamanda porlarda biriken bakterilerin ölmesine yardımcı olur. Dermiste ayrıca ter ve bezleri ve kıl folikülleri de bulunur (53). Şekil 2.3 de

görüldüğü gibi deri epidermis, dermiş ve hipodermis olmak üzere üç temel katmandan oluşmaktadır.



Şekil 2.2. Deri ve katmanları (54)

Cildin temel fonksiyonları şunlardır:

Koruma: Cilt patojenler ile vücut arasındaki anatomik bir bariyerdir. Ciltte bulunan Langerhans hücreleri edinilmiş bağışıklık sisteminin bir parçasıdır (55). Ter içerisinde lizozim vardır ve lizozim bakterilerin hücre duvarları arasındaki bağı yıkan bir maddedir (56).

His: Cilt çok fazla sayıda sinir ucu içerir ve bu sayede sıcak, soğuk, dokunuş, basınç ve doku yaralanması gibi hissiyatları algılarız.

Sıcaklık Düzenlenmesi: Cilt bünyesinde ihtiyacından daha fazla kan barındırır ve bu sayede vücudun enerji kaybını kontrol edebilir. Damarlar genişlediğinde perfüzyon artar ve ısı kaybı olurken damarlar kasıldığında deri kan akışı azalır ve böylelikle vücut ısısı korunmuş olur (57).

Depolama ve Sentez: Deri lipid ve su depolar. Aynı zamanda güneş ışınları aracılığıyla deride D vitamini sentezi gerçekleşir.

Boşaltım: Ter üre içerir. Deri üzerinden terleyerek vücuttan üreyi uzaklaştırmış oluruz.

Emilim: Transdermal patch gibi bazı ilaçlar cilt üzerinden uygulanabilir, deri vasıtasıyla maddeler vücuda salınabilir.

Suya Dayanıklılık: Deri suya dayanıklı bir bariyer görevi görerek bazı gerekli besinlerin su ile temasa geçtiğinde vücuttan uzaklaşmasını engellemiş olur (58)

2.3.2. Yaşlanma Sebepleri, Fizyolojisi Hakkında Genel Bilgiler

Yaşlanma hücre yıpranması, hücrel rezerv kapasitesinin azalması ve hücrelerin normal fonksiyonlarını yerine getirmemesi ile kendini gösteren, belli bir süre sonra organizmanın yaralanmaya ve hastalıklara karşı savunamaması en sonunda ise hayata adapte olamaması yani ölümle sonuçlanan bir süreçtir (59).

2.3.2.1. İntrinsik ve ekstrinsik cilt yaşlanması: Cilt yaşlanmasının intrinsik (kronolojik olarak yaşlanma) ve ekstrinsik (dış faktörler kaynaklı) olmak üzere iki çeşit ana sebebi vardır. İntrinsik yaşlanma zamanla gerçekleşen yaşlanmadır ve en büyük sebebi reaktif oksijen türleridir (60). Bu tür yaşlanma dermal mast hücreleri, fibroblast ve kolajen üretiminin azalmasıyla ve epidermisle dermis arasındaki bağların yassılaşması ile kendini gösterir. İntrinsik olarak yaşlanan cilt lekesiz, yumuşak, solgun, elastikiyeti azalmış ve ince kırışıklıklara sahip bir cilttir (61).

Ekstrinsik cilt yaşlanması ise sigara kullanımı, yanlış beslenme düzeni, kimyasallara maruziyet, fiziksel ve psikolojik travma ve UV ışınlarına maruziyet gibi sebeplerden dolayı meydana gelir. Bu faktörler reaktif oksijen türlerinin üretimini arttırarak dolaylı yoldan yaşlanmaya sebep olur (62).

Ekstrinsik yaşlanmanın en büyük sebebi kontrolsüz olarak UV ışınlarına maruziyettir. Yüzdeki derinin ekstrinsik yaşlanmasının sebebinin yüzde 80'inden fazlası sürekli olarak UV ışınlarına maruziyettir (63). Aktinik maruziyet epidermisin hücrel DNA'sında onarılmaz hasara yol açarken reaktif oksijen türlerinin oluşumuna sebebiyet verir. 30 dakikalık UV maruziyetinin reaktif oksijen türlerinde iki kat artışa sebebiyet verdiği ortaya çıkmıştır (64). UV ışınları kolajen sentezi sürecini bozup ciltte geçici kolajen kaybına sebep olur (65).

2.3.2.2. Epidermis yaşlanması: Epidermis koruyucu yassı epitel dokudan oluşur ve en dış tarafında ölü *S. corneum* bariyeri vardır. Keratin üreten keratinosit ve melanin içeren melanosit hücreleri de epidermiste bulunur. Aynı zamanda Langerhans hücreleri ve vücudu cilt vasıtasıyla vücuda yabancı mikroorganizmaların

girmesini engelleyen dendritik hücreleri bulunur. Yaşlandıkça melanosit ve Langerhans hücreleri kaybı görülür (66).

2.3.2.3. Dermis yaşlanması: Yaşlandıkça dermal hacim ve kalınlık ortalama %20 azalır. Mast hücrelerinde %50 kan akışı %60 azalır (53). Bunun sonucunda deri enfeksiyona ve yaralanmaya daha açık hale gelir. Bir yetişkinin hayatı boyunca dermiş kolajeninde yılda yüzde 1 azalış görülür. Yaşlanmış dermişte cildin şekil almasına yardımcı olan elastin lifleri zayıflar (64).

2.3.2.4. Hipodermis yaşlanması: Hipodermis yaşlandıkça deri altı yağ kaybı olur ve cilt kalınlaşarak darbelere karşı daha az dayanıklı hale gelir. Yağ tabakasının azalması hipodermisin vücut ısısının koruma özelliğinin zarar görmesi demektir. Yağ tabakasının azalması uzun vadede kemik kırıklarına dahi sebebiyet verebilir (64).

Tüm bunların sonucu olarak yaşlanmış bir ciltte kırışıklık ve sarkma; göğüs, koltuk altı ve kasık kıllarında azalma ve cilt sebumu giderek azaldığı için daha kuru bir cilt ve saç problemleri görülür.

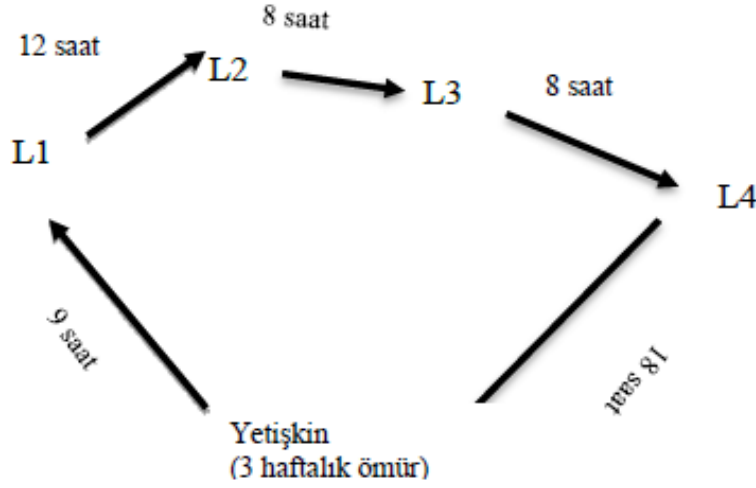
2.4. CAENORHABDITIS ELEGANS

2.4.1. Caenorhabditis Elegans Hakkında Genel Bilgiler

C. elegans doğada ağaçların diplerinde yaşayan, mikroskobik boyutlarda yani gözle görülemeyen, ortalama 1 mm boyutlarında ve hastalık yapmayan bir nematod türüdür. En önemli özelliklerinden biri çift cinsiyetli yani hermafrodit olmalarıdır. Yani hem sperm hem yumurta üretirler böylelikle üremelerini kendi kendilerine gerçekleştirebilirler. Görünümleri şeffaftır bu sebeple çalışmalarda tercih edilme sebepleridir. Aynı zamanda bu canlılar ömür uzunluğu analizleri ve genetik çalışmalarda en çok tercih edilenlerdedir (67).

C. elegans doğada olduğu gibi laboratuvar ortamında petri kabı içerisinde de yaşayabilir. Bu ortamdaki besin kaynakları *E. coli* bakterileridir. Canlının laboratuvar ortamında yetişkin duruma erişebilmesi oda sıcaklığında (20-25°C) ortalama 3 günü bulur (68). Yaşam ömürleri ortalama 20 gündür. Petri kabındaki *E. coli* miktarı azaldığında larva dönemindeki *C. elegans*'lar açlıktan korunma adına

kendilerini koruma altına alırlar. Bu dönemde metabolizmaları durur bu döneme dauer dönemi denir. Dauer dönemindeki nematodların özelliği beslenmeden yaşayabilmeleridir (69). Yaşanabilir ortam koşulları tekrardan sağlandığında L4 aşaması haline geri gelirler (70).



Şekil 2.3: *C. elegans* yaşam döngüsü

C. elegans nematodlarının yaşam siklusu toplamda dört evreden oluşur (L1, L2, L3 ve L4). L1 aşaması yaklaşık 12 saat sürer; diğer aşamalar ise yaklaşık 8 saat sürer. L4 evresinden yaklaşık 18 saat sonra, yetişkin hermafroditler, kendi ürettikleri spermalarının hepsini kullanana kadar 2-3 gün yeni canlılar üretmeye başlar. Üreme döngüsü biten nematodlar birkaç hafta daha yaşayabilirler. Dauer evresinde ise 4 aya kadar kalabilirler (71).

2.4.2. Caenorhabditis Elegans ve Yaşam Süresi Çalışmaları

Yaşlanma insanlık tarihinin en başından beri merak edilen bir süreç olmuştur. Yaşayan her organizma yaşlanma sürecini yaşar ve bu zamana kadar bu süreci tanımlamak ve yaşlanmayı yavaşlatmak adına birçok çalışma yürütülmüştür. Önceden, yaşlanma prosesindeki doku bozukluğunun sebeplerinin hücrelerin makro moleküllerine verilen hasar olduğu ortaya çıktı. Yaşlanma prosesiyle doğru orantılı bir şekilde doku hasarı artmaktadır. Yaşlanma özellikle kronik hastalıkların temel

risk faktörlerindedir. Bu zamana kadar *C. elegans*, solucan, maya, sinek ve fare gibi birçok canlıda yaşam ömrünü etkileyen genler ortaya çıkarılmıştır. Çalışmaları yapılan canlılarının yaşam süresini etkileyen bu genlerden (gerontogenler) bazılarının homologlarının insanlarda da var olduğu tespit edilmiştir. Bu uzun ömür genlerinin yaşlanma sürecini yavaşlatabileceği kanıtlanmıştır (72).

İlk gerontogen *C. elegans* nematodunda tespit edilmiştir (73). Uzun ömürlülük çalışmalarında daha çok *C. elegans* nematodları tercih edilmektedir. Çünkü *C. elegans* maliyeti düşük, hızlı bulunan ve hızlı sonuç alınabilen ve de hayat süreleri kısa olan bir canlıdır (74).

C. elegans genelde Alzheimer, Parkinson gibi nörodejeneratif hastalıkları ve yaşlılığı incelemek için kullanılır. Bu çalışmada ise antioksidan özellikli bazı yağların yaşlanma sürecine etkisini kanıtlamak için kullanılmıştır.

2.4.3. C. elegans Nematodunda Termotolerans ve Sıcak Stresi

Termotolerans, adından da anlaşılacağı üzere omurgasız canlının sıcaklığa gösterdiği dirençtir. Dış ortamdan gelen strese karşı direnç arttıkça canlının yaşam süresi artar yani yaşlılık süreci yavaşlar. Bu çalışmada antioksidan içerikli farklı çeşitlerdeki bitkisel yağların termotolerans üzerine etkisi yani yaşlanmayı yavaşlatıcı etkilerinin kıyaslanması amaçlanmıştır.

2.5. KOLAJENAZ VE ELASTİNAZ ENZİMLERİ

Cildin en dış tabakası olan ekstrasellüler matrikste fibroblastlar ve kolajen ve elastin adı verilen proteinler bulunur (75). Kolajen lifleri ile elastin lifleri fibroblast tarafından üretilir. Yaşlanma süreci sırasında oluşan reaktif oksijen cisimciklerinden fibroblastlar negatif etkilenir ve sonucunda ciltte yaşlanma belirtileri görülür (76). Elastin lifleri cildin elastikiyetinden sorumluyken kolajen ise cildin sağlamlığını etkiler (77).

Reaktif oksijen cisimcikleri metalloproteinazların oluşumlarını da tetikler. Metalloproteinazlar çinko transmembran içeren endopeptidazlardır. Kolajenaz ve elastinaz birer metalloproteinazlardır. Kolajenaz enzimi kolajeni parçalarken; elastinaz enzimi ise elastini parçalar (78).

Elastin ve kolajen gibi maddelerin enzimler sonucu parçalanması yaşlanma

sürecini hızlandırabilir. Bu sebeple bu enzimlerin inhibe edilmesi yaşlanma karşıtı olarak kullanılabilir (76). Bu çalışmada da kolajeni parçalayan kolajenaz ve elastini parçalayan elastinaz enzimlerine çalışmada kullanılan doğal yağlarla inhibisyon çalışması yapılmıştır. Bu yağların elastinaz ve kolajenaz enzimlerini inhibe edebilmesi durumunda yağlar yaşlanma karşıtı hammadde olarak kullanılabilir.



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. BİTKİSEL MATERYAL TEMİNİ VE YAĞLARIN ELDESİ

Kayısı çekirdekleri, lavanta çiçekleri ve kakule meyveleri kuru halde aktardan temin edilmiştir. Avokado meyvesi ise yaşı olarak marketten satın alınmıştır. Kayısı çekirdekleri bir havan yardımı ile hafifçe kırılmıştır. Avokado meyveleri ise çekirdekleri çıkarıldıktan sonra bir bıçak yardımı ile doğranmıştır. Sabit yağ eldesi için hazırlanan bir kağıt kartuşa doldurulan bitkisel materyal soxhlet cihazına yerleştirilmiştir. Geri çeviren soğutucu altında petrol eteri ile muamele edilen bitkisel materyalden alınan süzöntü evaporatörde yoğunlaştırılmış ve petrol eteri uzaklaştırılmıştır. Ardından darası alınmış kaptaki yağların ağırlıkları tartılmıştır.

Lavanta çiçekleri ve kakule meyvelerinin uçucu yağları bir Clavenger cihazı yardımı ile elde edilmiştir. Balon içerisine hacminin 1,5 katı kadar su konulan droglar kaynatılmış ve uçucu yağ su buharı içerisinde sürüklenerek geri çeviren soğutucuda yoğunlaştırıp dereceli bürette toplanmıştır.

3.2. GC/MS ANALİZİ

Kayısı çekirdeği, avokado, kakule ve lavanta yağı analizleri için Agilent 5975 GC-MSD sistemi kullanılmıştır. Taşıyıcı gaz akış hızı 0,8 mL/dk olarak ayarlanmış, kolon sıcaklık programı; 60°C'de 10 dk, 4°C/dk artışla 220°C'ye, 220°C'de 10 dk, 1°C/dk artışla 240°C'ye ve 240°C'de 20 dk. split oranı 30:1 şeklinde uygulanmıştır. Enjeksiyon portu sıcaklığı 250°C olarak set edilmiştir. Kütle spektrumları (MS) 70eV elektron enerjisi uygulanarak ve m/z 35-450 kütle aralığında alınmıştır. Sonuçlar rölatif yüzde (%) olarak pik alan hesaplamaları baz alınarak verilmiştir.

Madde tanımlanmaları, Başer Uçucu Bileşenler Kütüphanesi ve Adams, Wiley, MassFinder vb. diğer ticari uçucu bileşen GC/MS kütüphaneleri yanında literatür bilgileri de dikkate alınarak gerçekleştirilmiştir.

3.3. SABİT VE UÇUCU YAĞ KOMBİNASYONLARININ HAZIRLANMASI

Çalışmada kullanılan yağ kombinasyonları 1:1 oranında 0,2 ağırlık/ağırlık konsantrasyon olacak şekilde hazırlanmıştır.

3.3.1. C. elegans Protokolü

N2 tipi *C. elegans* 22±2°C'de *E. coli* OP50-1 suşu ekilmiş NGM içeren petrilere büyütülür. Deney petrilere kullanılacak olan sıvı *E. coli* kültürü 65°C'de 10 dk tutularak içeriğindeki bakterilerin ölmesi sağlanır. Yetişkin bireyler deney materyali içeren petrilere, petri başı ortalama 40 birey olacak şekilde transfer edilir. Deney petrilere alınan canlılara yeterli maruziyetin sağlanabilmesi için 24 saat oda sıcaklığında tutulur. Petriler önceden 35°C'ye ayarlanıp ısıtılmış inkübatördeki yüksek rezolüsyonlu tarayıcı üzerine yerleştirilir. Her 20 dk'da bir yüksek çözünürlüklü görüntü alınır. Bu süreçte petriler inkübatörden çıkarılmaz. Alınan görüntüler bir önceki ile karşılaştırılarak, hareketleri incelenir. Hareket eden bireyler canlı; hareketsiz olanlar ölü sayılır. Bu işlem tüm canlılar ölene kadar devam eder. Elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilir ve anlamlı bir fark olup olmadığı kontrol edilir.

3.4. IN VİTRO ENZİM ÇALIŞMASI

3.4.1. Elastaz Enzim İnhibisyonu Deneyi

Enzim olarak domuz pankreatik elastaz (E.C.3.4.21.36), (3,33 mg/mL) kullanılmıştır ve 0.2 mM Tris-HCl tamponu (pH=8.0) içinde çözülmüştür. Substrat, N-Süksinil-Ala-Ala-Ala-p-nitroanilid (SANA) da 1,6 mM'de tampon çözeltisi içinde çözülmüştür. 50 µL buffer, 50 µL test maddeleri ile 25 µL enzim, SANA eklenmeden önce 15 dk oda sıcaklığında ön inkübasyon gerçekleştirilmiştir. Pozitif kontrol grubu için kersetin, negatif kontrol için etanol kullanılmıştır. Reaksiyonu başlatmak için reaksiyon karışımına 125 µL substrat solüsyonu eklendi ve ardından mikropłaka oda sıcaklığında 20 dk inkübe edilmiştir. Absorbanstaki değişiklik 450 nm'de ölçülmüştür (79). Yağların kombinasyonları 1:1 oranında çalışılmıştır.

3.4.2. Kolajenaz Enzim İnhibisyonu Deneyi

Test maddeleri başlangıçta etanol içinde çözülmüştür. Enzim inhibisyon deneyi, “Kollajenaz Aktivite Deney Kiti (Kolorimetrik, abcam 196999) üreticinin talimatlarına uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Maddelerin enzim inhibisyonu kinetik modda 37°C’de çok modlu mikroparka okuyucu (SpectraMax i3) ile 345 nm’de ölçülmüştür. Maddelerin enzim inhibisyonu, kitte bulunan standartlarla karşılaştırılarak hesaplanmıştır. Tüm numuneler için ortalama değerler olarak % inhibisyon değerleri hesaplanmıştır. Çalışmalar iki tekrarlı olarak yapılmıştır.

3.4.3. Hücre Kültürü

Hücre kültürü deneylerinde kullanılan malzemeler Gibco, İngiltere, MTT tuzu Sigma’dan temin edilmiştir.

İnsan Deri Keratinosit HaCaT Hücre Hattı ve Kültürleme işlemleri;

HaCaT hücre hattı çoğaltımı için “Dulbecco’s Modified Eagle’s Medium / High Glucose” (DMEM/High, Gibco 41966) kullanıldı. Deneylerde kullanılacak besiyeri; steril DMEM/High solüsyonuna %10 (v/v) fetal sığır serumu (FBS), ve %1 (v/v) antibiyotik-antimikotik solüsyonu eklenerek hazırlandı.

Hücreler yüzde 80 oranında yüzeyi kaplayacak kadar çoğaldıklarında (üç günde 1) pasaj işlemleri gerçekleştirildi. Dört farklı kombinasyonun ve kontrol grubunun 24 saatlik uygulamasının HaCaT insan deri keratinosit hücreleri üzerine canlılığı yüzdesi ve standart sapması. Hücreler %90’dan fazla bağıl nem ve %5 CO₂ sağlayan 37°C’lık inkübatöre (Thermo Scientific, Heracell™ 150i) kaldırıldı. Hücrelerinin alt kültürlenmesi işlemleri laminar hava akımlı steril kabind (Heal Force HFsafe-1200 version 2.01) gerçekleştirildi (80)

3.4.4. Sitotoksosite Analizleri

Sitotoksosite analizi için gerçekleştirilen işlem basamakları yer almaktadır (81). Öncelikle 96 kuyucuklu kültür kaplarının her bir kuyucuğuna, 10⁵ hücre/well HaCaT hücre süspansiyonundan 200 µl konuldu. Kültür kabı %5 CO₂ sağlayan 37°C’lık etüvde inkübe edildi. Hazırlanan stoklardan 0,1–2000 µg/mL ajan içeren taze besiyerleri deney grubu hücrelerin üzerine farklı derişimlerde ilave edildi (kontrol grubunda sadece DMEM High Glukoz besiyerinden koyuldu). Kültür kabı

inkübatöre kaldırıldı. 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda hücrelerin üzerindeki besiyeri uzaklaştırıldı. 30 µl MTT stok çözeltisinden (0.5mg/ml, PBS içinde hazırlandı) eklendi. 4 saat inkübasyon süresinden sonra 150 µl Isopropanol eklendi. Çözelti homojenitesi için kültür kabı oda sıcaklığında çalkalayıcıda (Heidolph Unimax 1010) çalkalandı. Oluşan renkli ürünün 570 nm dalga boyundaki absorbanı mikropkaya okuyucuda (Spektramax i3) ölçüldü. Sonuçlar aşağıdaki denkleme göre değerlendirildi.

$$\% \text{ Canlılık} = (\text{Deney grubuna ait absorban} / \text{Kontrole ait absorban}) \times 100$$

Deneyler her seferinde 3 tekrarlı ve 3 ayrı periyotta gerçekleştirildi.

3.4.5. İstatistiksel Analiz

Tez çalışması kapsamında yapılan deneyler sonucu elde edilen tüm sonuçlar GraphPad Prism8 (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA; Version 8.4.3) istatistik programı yardımıyla değerlendirildi. Deney sonuçlarından elde edilen verilerde, kontrol grubu ve deney grubu arasındaki farklılık istatistiksel olarak değerlendirildi. $p < 0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. UÇUCU YAĞ ELDESİ SONUÇLARI

Sabit yağ verimi açısından değerlendirildiğinde çalışmamız sonucunda, kayısı çekirdeğinin sabit yağ verimi %10, avokado meyvelerinin sabit yağ verimi %0,5 olarak bulunmuştur. Uçucu yağ verimi açısından değerlendirildiğinde çalışmamız sonucunda lavanta çiçeklerinin uçucu yağ verimi %6, kakule meyvesinin uçucu yağ verimi ise %1 olarak bulunmuştur.

Metilasyondan sonra GC-MS ile analiz edilen her iki yağlı yağın da metil oleat açısından zengin olduğu bulundu (Tablo 4.1.). Analiz edilen uçucu yağlar arasında lavanta uçucu yağının linalool ve linalil asetat içeriği bakımından zengin olduğu, kakule uçucu yağının ise 1,8-sineol açısından zengin olduğu tespit edilmiştir (Tablo 4.2.).

Tablo 4.1: Kayısı çekirdeği yağı ve avokado yağının yağ asidi bileşimi

No	Madde	Kayısı (%)	Avokado (%)
1	Methyl palmitate	4,0	12,7
2	Methyl palmitoleate	0,5	4,7
3	Methyl stearate	0,8	-
4	Methyl oleate	74,4	55,1
5	Methyl elaidate	0,3	16,3
6	Methyl linoleate	20,0	11,2

Tablo 4.2: Lavanta ve kakule uçucu yağlarının GC-MS Analizi

RRI	Madde	Lavanta %	Kakule %
1032	α -pinene	0,1	0,3
1035	α -thujone	-	0,1
1076	Camphene	0,2	-
1118	β -pinene	0,1	0,1
1132	Sabinene	-	1,4
1174	Myrcene	0,6	0,6
1203	Limonene	0,4	0,9
1213	1,8-cineole	4,9	61,4
1246	(Z)- β -ocimene	0,7	-
1255	γ -Terpinene	-	0,2
1266	(E)- β -ocimene	0,4	-
1271	3-octonone	0,4	-
1280	p-cymene	0,1	0,4
1283	Hexyl acetate	0,3	-
1290	Terpinolene	0,1	-
1386	Octenyl acetate	0,2	-
1388	Hexyl butyrate	0,3	-
1450	<i>trans</i> -linalool oxide	0,6	-
1474	<i>trans</i> -Sabinene hydrate	-	0,2
1478	<i>cis</i> -Linalool oxide	0,6	-
1532	Camphor	8,1	-
1553	Linalool	37,6	7,3
1556	<i>cis</i> -Sabinene hydrate	-	0,1
1565	Linalyl acetate	27,0	1,6
1571	<i>trans</i> -p-Menth-2-en-1-ol	-	0,1
1611	Terpinen-4-ol	-	2,6
1612	β -caryophyllene	0,5	-
1617	Lavandulyl acetate	1,7	-
1706	α -Terpineol	8,0	0,2
1719	Borneol	0,5	-
1726	Germacrene D	0,1	-
1733	Neryl acetate	0,7	-
1765	Geranyl acetate	1,3	0,2
1857	Geraniol	1,7	1,8
2008	Caryophyllene oxide	0,2	-

4.2. C. ELEGANS TERMOTOLERANS DENEYİ SONUÇLARI

Tez çalışması kapsamında elde ettiğimiz uçucu ve sabit yağlar, çeşitli kombinasyonlarda hazırlandıktan sonra *C. elegans* termotolerans protokolüne göre çalışılmıştır. Kontrol grubu, çalışma dahilinde yağ kombinasyonlarının canlılık ve yaşam süresine olan etkilerini değerlendirmek için oluşturulmuştur. Bunun yanında yağ kombinasyonları şu şekilde oluşturulmuştur; kayısı ve kakule yağ kombinasyonu (Kk), avokado ve kakule yağ kombinasyonu (AK), kayısı ve lavanta yağ kombinasyonu (KL) ile avokado ve lavanta yağ kombinasyonları. Çalışma canlı-ölü kurtçuk sayımı ile değerlendirilmiştir. Ölü kurtçuklar öze ile alınarak uzaklaştırılmıştır. Sayıma bütün kurtçuklar ölüp ortamdaki uzaklaştırılana kadar devam edilmiştir.

Tablo 4.3’de gösterildiği gibi termotolerans testi sonucu kontrol grubunda yer alan kurtçuklar ortalama $4,70 \pm 0,13$ gün hayatta kalmıştır. Kayısı çekirdeği ve kakule yağ kombinasyonları ile termotolerans testi sonucunda $5,44 \pm 0,15$ gün hayatta kalma süresi tespit edilmiştir. Bunun yanında yine içeriğinde kakulenin bulunduğu avokado ve kakule yağ kombinasyonu ile ortalama $7,10 \pm 0,16$ gün yaşam süresi ölçülmüştür. Genel olarak değerlendirildiğinde avokado yağının kayısı çekirdeği yağına göre hayatta kalma süresini anlamlı derecede arttırdığı görülmektedir. Kakule yağı içeren kombinasyonlarda kakule yağının ortalama hayatta kalma süreleri üzerine anlamlı bir fark oluşturmadığı görülmektedir.

Termotolerans testi sonucunda kayısı çekirdeği yağı ve lavanta yağ kombinasyonu ile ortalama $8,05 \pm 0,23$ gün yaşama süresi ölçülmüştür. Bunun yanında yine lavanta yağı içeren avokado ve lavanta yağ kombinasyonu ile ise ortalama $10,71 \pm 0,29$ gün hayatta kalma süresi tespit edilmiştir. Kakule içeren kombinasyonlarda olduğu gibi lavanta içeren kombinasyonlarda da avokado yağı, kayısı çekirdeği yağına oranla kurtçukların yaşam süresi üzerinde olumlu bir etkiye sahiptir. Bunun yanında lavanta yağı ile kakule yağı karşılaştırıldığında lavanta yağının anlamlı derecede farklılık oluşturduğu görülmektedir. Çalışmamızda termotolerans testi ile ölçülen *C. elegans* yaşam süreleri üzerinde en etkili yağ kombinasyonu lavanta ve avokado yağ kombinasyonudur. Genel olarak değerlendirildiğinde lavanta yağının hayatta kalma süreleri üzerinde anlamlı bir etkiye sahip olduğu söylenebilir (Tablo 4.2.).

Tablo 4.3: *C. elegans* termotolerans deneyi hayatta kalma süreleri ve *c. elegans* miktarları

İsim	C.elegans Sayısı	Gün	Standart Sapma	%95 C.I.	% 25	% 50	% 75	% 90	% 100	%95Medya n C.I.
K	128	4,70	0,13	4,44 ~4,97	4	5	6	7	8	---
Kk	104	5,44	0,15	5,15 ~5,74	5	6	7	8	9	5,0~5,0
AK	140	7,10	0,16	6,78~7,42	6	7	8	9	13	---
KL	115	8,05	0,23	7,61~8,50	7	8	9	11	15	---
AL	195	10,71	0,29	10,15~11,28	8	10	14	16	21	9,0~10,0

***K**: Kontrol ***Kk**: Kayısı- Kakule ***AK**: Avokado- Kakule ***KL**: Kayısı- Lavanta ***AL**: Avokado- Lavanta

#: %mortalite bazında ömür süresi

Tablo 4.4: Termotolerans deneyi sonuçları istatistikî değerler

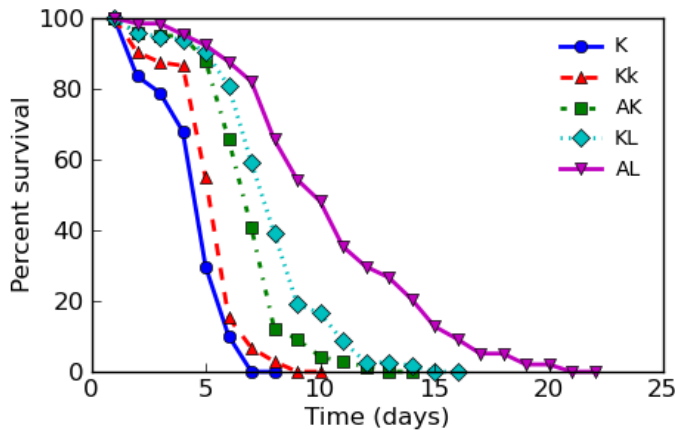
Durum	Chi ²	P- değeri	Bonferroni P- değeri
K vs Kk	15,83	0,0001	0,0003
K vs AK	130,51	0,0e+00	0,0e+00
K vs KL	151,21	0,0e+00	0,0e+00
K vs AL	273,22	0,0e+00	0,0e+00
Kk vs K	15,83	0,0001	0,0003
Kk vs AK	64,89	0,0e+00	0,0e+00
Kk vs KL	96,25	0,0e+00	0,0e+00
Kk vs AL	202,77	0,0e+00	0,0e+00
AK vs K	130,51	0,0e+00	0,0e+00
AK vs Kk	64,89	0,0e+00	0,0e+00
AK vs KL	16,99	3,8e-0,5	0,0002
AK vs AL	115,74	0,0e+00	0,0e+00
KL vs K	151,21	0,0e+00	0,0e+00
KL vs Kk	96,25	0,0e+00	0,0e+00
KL vs AK	16,99	3,8e-0,5	0,0002
KL vs AL	49,76	0,0e+00	0,0e+00
AL vs K	273,22	0,0e+00	0,0e+00
AL vs Kk	202,77	0,0e+00	0,0e+00
AL vs AK	115,74	0,0e+00	0,0e+00
AL vs KL	49,76	0,0e+00	0,0e+00

K: Kontrol ***Kk**: Kayısı- Kakule ***AK**: Avokado- Kakule ***KL**: Kayısı- Lavanta ***AL**: Avokado- Lavanta

Şekil 4.4’de görüldüğü üzere 0-5 gün aralığında kurtçuklar hiçbir grupta tamamen ölmemiştir. Ayrıca 5. gün sonunda avokado-lavanta, kayısı çekirdeği-lavanta, avokado-kakule yağ kombinasyonları ile %80’nin üzerinde canlılık oranı tespit edilmiştir. Bunun yanında 5. gün sonunda kayısı çekirdeği-kakule yağ kombinasyonu ile %60’ın altında ve kontrol grubunda ise %40’ın altında canlılık oranı görülmektedir.

5. ve 10. günler arası değerlendirildiğinde, kontrol grubundaki kurtçukların 7-8. günler içinde tamamen öldüğü görülmektedir. Aynı şekilde kayısı çekirdeği-kakule yağ grubunda da 10. gün sonunda canlılık tamamen ortadan kalkmıştır. Ayrıca avokado-kakule yağ kombinasyonu da sürekli artan bir ölüm oranı ile 10. gün sonunda anlamlı derecede azalma göstermiştir. Avokado ve lavanta kombinasyonu ise 10. gün sonunda %50 canlılık seviyesine sahiptir.

10. ve 15. günler arasında, avokado-kakule ve kayısı çekirdeği-lavanta yağ kombinasyonlarında canlı kurtçuklar görülsede oransal olarak değerlendirildiğinde anlamlı bir canlılık oranı görülmemektedir. Bunun yanında avokado ve lavanta yağ kombinasyonu ile canlılıkta %50’den %10 seviyelerine kadar azalma görülmektedir. Aynı kombinasyonun grubunda canlılığın tamamen sona ermesi 22-23. günlere kadar devam etmiştir. Buradan hareketle toplam canlılık değerlendirmesi sonucu 5. gün sonunda kombinasyonlar arasında ciddi bir farklılık görülmezken, 10. gün sonunda avokado-lavanta yağ kombinasyonu ile canlılık üzerindeki anlamlı derecede farklılık görülmüştür.



Şekil 4.1: *C. elegans* 'ların gün bazında hayatta kalma yüzdeleri

K: kontrol, Kk: kayısı-kakule, AK: avokado-kakule, KL: kayısı-lavanta, AL: avokado-lavanta

4.3. IN VİTRO ENZİM ÇALIŞMASI SONUÇLARI

Pozitif kontrol olarak çalışılan kersetin grubu ile yağ kombinasyonlarının elastaz ve kollajenaz enzimleri üzerindeki inhibitör etkileri in vitro olarak değerlendirilmiştir. Kersetin grubunun hem elastaz hem de kollajenaz enzimlerini yüksek oranda inhibe ettiği görülmektedir. Yapılan çalışmada yağ kombinasyonlarının genel olarak her iki enzim üzerinde yeterli aktiviteye sahip olmadığı görülmektedir. Bunun yanında kakule yağının elastaz enzimi üzerinde belirli bir etkiye sahip olduğu ve kakule yağının avokado yağı ile kombinasyonun bu etkiyi arttırdığı görülmektedir.

Tablo 4.5: Elastaz ve kollajenaz enzim inhibisyonu sonuçları

Madde	Elastaz inhibisyonu %	Kollajenaz inhibisyonu %
Kakule-Kayısı çekirdeği yağı	% 12,34±0,03	ED
Kakule-Avokado yağı	% 27,43±0,04	% 8,14±0,01
Lavanta-Kayısı çekirdeği yağı	ED	% 4,99±0,02
Lavanta-Avokado yağı	ED	ED
Kersetin	% 89±0,01	% 71,01±0,01

*ED: Etkili değil

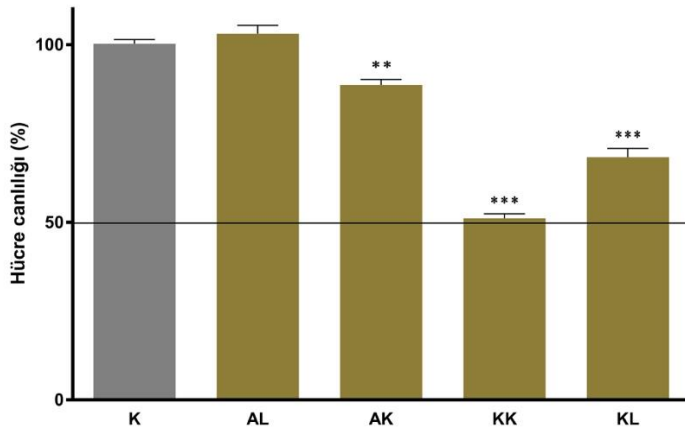
4.4. SİTOTOKSİTE ANALİZLERİ

HaCaT insan deri keratinosit hücreleri üzerine 4 farklı kombinasyonun sitotoksik etkilerini belirlemek amacı ile, 24 saatlik kültürlere 0.1, 50, 100, 250, 500, 1000, µg/mL konsantrasyonlarda maddelerden içeren besiyerleri ilave edildi. Hiç ajan uygulanmayan kontrol grubunun da besiyeri tazelandı. 24 saatlik inkübasyon periyodundan sonra MTT testi yapılarak veriler elde edildi. AL, AK, KK ve KL kombinasyonlarının hücreler üzerine 24 saatlik etkisinin analiz edildiği sonuçlar Şekil 4.5’de ve Tablo 4.6’da yer almaktadır.

Hücre kültürü ile yapılan sitotoksiste çalışması sonucunda kontrol grubu (100,02 ± 1,17) üzerinde herhangi bir etki gözlenmemiştir. Bunun yanında özellikle kayısı çekirdeği yağı ve kakule yağı kombinasyonun hücre canlılığı üzerinde istatistiksel olarak anlamlı derece ($p<0.001$) etki gösterdiği görülmektedir. Benzer

şekilde kayısı çekirdeği ve lavanta yağı kombinasyonu ile de anlamlı oranda ($p<0.001$) sitotoksik etki tespit edilmiştir. Buradan hareketle kayısı çekirdeği yağının hücreler üzerinde muhtemel bir sitotoksik etkiye sahip olduğu düşünülmektedir. Bunun yanında kayısı çekirdeği-lavanta ve kayısı çekirdeği-kakule yağ kombinasyonları karşılaştırıldığında lavanta yağının kakule yağına göre hücre canlılığı üzerinde daha etkili olduğu görülmektedir.

Yağ kombinasyonunda kakule yağı yerine lavanta yağı eklendiğinde hücre canlılığı üzerinde avokado yağının etkisinin kontrol grubuna göre arttığı ($103,87\pm2,32$) görülmektedir. Buradan hareketle hücresel düzeyde canlılık üzerine en etkili yağ kombinasyonu avokado ve lavanta yağı kombinasyonu olarak tespit edilmiştir.



Şekil 4.2: Kontrol grubu ve AL, AK, KK ve KL kombinasyonlarının 24 saatlik uygulamasının HaCaT insan deri keratinosit hücrelerinin canlılığı üzerine etkisi

K: kontrol, Kk: kayısı-kakule, AK: avokado-kakule, KL: kayısı-lavanta, AL: avokado-lavanta

Tablo 4.6: Dört farklı kombinasyonun ve kontrol grubunun 24 saatlik uygulamasının HaCaT insan deri keratinosit hücreleri üzerine canlılığı yüzdesi ve standart sapması

Kombinasyonlar	%
AL	103,87 \pm 2,32
AK	88,61 \pm 1,58
KK	51,11 \pm 1,31
KL	68,35 \pm 2,52
Kontrol	100,02 \pm 1,17



5. TARTIŞMA

Son yıllarda, artan yaşam sürelerinin bir sonucu olarak, dünya çapında yaşlı nüfus önemli ölçüde artmıştır. Nüfusun bu bölümünün 2050 yılına kadar 2 milyara ulaşacağı tahmin edilmektedir. Bu, kişisel sağlık bakımı ve halk sağlığı politikalarındaki iyileştirmelerin başarılı bir sonucu olarak görülse de kaçınılmaz olarak yaşla birlikte yaşlanmaya bağlı rahatsızlıklar ortaya çıkmakta ve bu da sağlık sistemleri ve toplum için yeni sorunlar yaratmaktadır (82). Kanseler, metabolik sendromlar ve nörodejeneratif bozukluklar gibi yaşlanmaya bağlı dejeneratif hastalıklar, etkili iyileştirici ilaçların veya tedavilerin yokluğu nedeniyle artan bir ekonomik yük ve küresel bir halk sağlığı sorunu teşkil etmektedir (83).

Hüresel düzeyde, yaşlanma ve yaşlanmayla ilgili hastalıklar, yaşam boyunca hasarlı makromoleküllerin (özellikle proteinler) ve hüresel organellerin birikimi ile ilişkilidir ve bu birikim ise düzensiz besin algılamasına, mitokondriyal işlev bozukluğuna, hücreler arası iletişimde değişikliğe, proteostaz kaybına, genomik istikrarsızlığa, epigenetik değişikliklere, telomer yıpranmasına, kök hücre tükenmesine ve hüresel yaşlanmaya öncülük etmektedir (84). Genetik, metabolik ve çevresel gibi birçok faktör bu süreçlerin hızlanmasına katkıda bulunabilir. Bununla birlikte, ilk iki faktörü kontrol etmek daha zordur, ikincisi ise tamamen bireyler tarafından kontrol edilebilir (85). Değiştirilebilir çevresel faktörler arasında diyet en umut verici yaklaşım gibi görünmektedir (86). İnsan diyeti, fenolik bileşikler gibi biyoaktif bileşiklerden zengin gıdalar alımına kolayca yönlendirilebilir, çünkü bu bileşikler, bitki türevli gıdalarda yaygın olarak bulunan doğal olarak oluşan fitokimyasallardır (87).

Biyolojik düzeyde bakıldığında yaşlanma, zamanla moleküler ve hüresel hasarın artmasından kaynaklanır. Bu durum, fiziksel ve zihinsel kapasitede zamanla azalışa, artan hastalık riskine ve en sonunda ölüme yol açar. Bu değişiklikler belli kalıplar dahilinde değildir. Kişiden kişiye göre yaşlanma prosesinin hızı değişiklik gösterebilir (88). Son yıllarda *Caenorhabditis elegans* organizması yaşlanma, yaşam süresi uzatma çalışmalarında sıklıkla tercih edilen bir organizma haline gelmiştir (89). Yaşam süresi üzerine yapılan çalışmalarında *C. elegans* kullanılmasının sebebi

bu organizmanın yaşam süresinin 2-3 hafta gibi kısa bir süre olması, hızlı üremesi, deneysel kolaylığı ve genetik yapısının bize benzemesidir (90).

Yaşam süresi uzunluğu, organizmanın çevresel strese karşı gösterdiği dirençle ilişkilidir. Termotolerans da bir nevi organizmanın sıcaklığa karşı gösterdiği dirençtir. Doğal bazı maddeler etkinlikleri özellikle antioksidan etkileri sebebiyle yaşam süresini uzatma özelliğine sahiptirler (91). Bu çalışmayla da içeriğindeki antioksidan dolayı seçilen yağ kombinasyonlarının *C. elegans* yaşam süresi üzerine etkileri araştırılmıştır. Sonuç olarak kullanılan yağ kombinasyonları kontrol grubuna göre kıyaslandığında, yaşam süresi üzerinde en etkili yağ kombinasyonunun avokado-lavanta karışımı olduğu saptanmıştır. Bu çalışmada pozitif kontrol olarak kersetin kullanılmıştır. Kersetinin, antioksidan etkisi bilinen bir flavonoiddir (92). Çok sayıda çalışma ile, kersetinin anti-oksidasyon, anti-inflamatuar ve anti-aging gibi birçok biyolojik aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir (93)

Uçucu yağlar hücreleri serbest radikallerin zararlı etkilerinden koruyan antioksidan özelliğe sahiptir (94). Yapılan çalışmalar bazı antioksidan özellikli içeriklerin yaşam süresini uzattığını gösterdi (95). Yaşlanmanın çeşitli teorileri arasında en popüler yaşlanma teorisi, yaşlanmanın oksidatif stres teorisi. Yaşlanma ve yaşa bağlı hastalıklara DNA, lipid ve proteinler gibi makromoleküllerin oksidatif hasarının neden olduğunu açıklar. Gelişmiş bir yaşam süresi, oksidatif stres veya ısı koşulları altında artan hayatta kalma ile sıkı bir şekilde bağlantılıdır (96). Lavanta uçucu yağı da güçlü antimikrobiyal ve antioksidan özellikleriyle bilinir. Antioksidan etkisi Dapkevicius ve ark. tarafından da gösterilmiştir (97). Baskın içerikleri antioksidan özellikli linalool, linalil asetat, terpinen-4-ol, asetat lavandulol, osimen ve sineoldür (94). Bu çalışmada kullanılan diğer yağlara kıyasla lavanta yağının antioksidan özellikli maddelere sahip olduğu saptandı ve en uzun yaşam süresi de 1:1 oranıyla hazırlanan avokado- lavanta kombinasyonuydu.

Yürüttüğümüz çalışmada yaşam süresini uzatmada etkili olan bir diğer yağ avokado yağı idi. Avokado yağı ciltte yaşlanma karşıtı bir etki yaratabilir. Bunun için yapılan bir çalışma da avokado yağının farelerin cildindeki çözülebilir kolajen miktarını arttırdığını gösterdi (98). Bizim yürüttüğümüz çalışmada da avokadolu yağ kombinasyonlarının avokadosuz yağ kombinasyonlarına göre solucanlarda yaşam

süresini daha da uzattığı görüldü. Buradan da avokado yağının yaşlanma karşıtı olarak kullanılabileceği düşünülebilir. Savaş ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmadan avokado ekstresinin bir dozu *C. elegans*'ların yaşam süresini uzatmıştır fakat diğer gruplarla istatistiksel olarak anlamlı bir fark ortaya çıkmadığı görülmüştür (99). Avokado yağının antioksidan aktivitesi de yapılan bir çalışmada yağın toplam flavonoid miktarıyla doğru orantılı oldupu saptanmış ve anlamlı görülmüştür. Ama yağındaki antioksidan aktivitesi kabuk ve yaprak kısımlarına göre daha az çıkmıştır. Aktivite için DPPH testi uygulanmıştır (100).

Bir çalışmada ise avokado ve oğul otunun *C. elegans* üzerindeki termotolerans etkisi incelendi. Çalışmanın sonucunda 50 ve 200 µg/ml olan oğulotu ekstreleri *C. elegans* termotoleransını arttırmış, 5 µg/ml olan ekstreler ise kontrol grubuna yakın sonuçlanmış. Avokado ekstresinin hiçbir dozunun termotoleransı arttırmadığı gözlemlenmiştir (101).

Doğal yağ ve ekstrelerin yaşam süresini uzatıp uzatmadığı test edilen birçok başka araştırma da yapılmıştır. Örneğin yapılan bir çalışmada yaban mersini ekstresi 50, 100 ve 200 mg/ml konsantrasyonlarında *C. elegans* üzerinde denenmiştir. Yaşam süresinde sırasıyla %22,2; %36,5; %44,4 oranlarında artış gözlemlenmiştir ve yaban mersini ekstresinin *C. elegans* yaşam süresini doza bağımlı olarak anlamlı bir şekilde uzattığı görülmüştür (102).

Yaşam süresi uzatma ve anti-aging çalışmaları için kullanılan assaylerden biri de kolajnez ve elastaz enzim inhibisyon assayleridir. UV ışığı, matris protein bozulmasına ve ardından cilt foto yaşlanmasına neden olan kolajenez ekspresyonunu uyarır. Elastaz ve hiyalüronidaz, dermiste, hücre dışı matriste sırasıyla elastin ve hiyalüronanın parçalanmasından sorumlu olan proteolitik enzimlerdir. Elastin kaybı, ciltte gözle görülür yaşlanma belirtilerine (kırışiklıklar, sarkma) neden olabilir (103). Kolajnez ve elastaz enzimleri sırayla kolajen ve elastin ekstrasellüler proteinlerin yıkımına sebep olur bu da ya yaşlanmaya sebep olur. Bu enzimlerin inhibisyonu ile yaşlanma süreci yavaşlatılabilir (104). Bizim yürüttüğümüz çalışmada, kontrol gurubuna kıyasla anlamlı etkiye sahip olmasa da sadece kakule-avokado yağ kombinasyonunun her iki enzim üzerinde inhibitör etkisi olduğu söylenebilir.

Hucre kultureleri, multiselüler organizmalara ait hücrelerin, suni ortamda bulunan alanlarda, sıcaklık, nem, besin vb faktörlerin kontrol edilerek kirliliklerden

uzak bir şekilde yasatılmasıdır (105). MTT (3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5 difenil tetrazolyum bromür) testi, MTT'nin mitokondriyal aktiviteyi belirleyen canlı hücreler tarafından formazan kristallerine dönüştürülmesine dayanır. Çoğu hücre popülasyonu için toplam mitokondriyal aktivite, canlı hücrelerin sayısı ile ilişkili olduğundan, bu test, ilaçların hücre hatları üzerindeki in vitro sitotoksik etkilerini ölçmek için yaygın olarak kullanılır (106). Bu çalışmada in vitro sitotoksik testi yapmak amacıyla hücre kültürü kullanılmıştır. Bu çalışmada dört farklı kombinasyonun ve kontrol grubunun 24 saatlik uygulamasının HaCaT insan deri keratinosit hücreleri üzerine sitotoksik çalışması yapıldığında sonucunda özellikle avokado-lavanta kombinasyonun hücresel düzeyde etkili kombinasyon olduğu söylenebilir. Ancak kayısı çekirdeği yağının ise hücreler üzerine sitotoksik etkiye neden olduğu düşünülmektedir.

Görüldüğü üzere yapılan çalışmalar birçok bitkisel yağın ve bitki ekstraktlarının *C. elegans* yaşam süresini arttırdığını ve/veya elastaz-kolajenaz inhibisyonu etkisi gösterdiğini kanıtlar niteliktedir. Bu çalışmada da hücreye göre daha kompleks bir canlı olan *C. elegans* ile yapılan çalışmalar hem de hücresel düzeyde yapılan çalışmalar sonucunda kombinasyon olarak avokado yağı ve lavanta yağı kombinasyonunun etkili olduğu görülmektedir. Çalışma sonucu elde ettiğimiz bu etkiler, lavanta uçucu yağının sahip olduğu linalool ve linalil asetat içeriğine ve avokado yağının sahip olduğu metil palmitat, metil oleat ve metil elaidat içeriğine bağlı olabileceği düşünülmektedir. Elde edilen bu veriler doğrultusunda ileride, lavanta uçucu yağının ve avokado yağının anti-aging etkileri üzerine çalışmalar daha kapsamlı yapılabilir.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Yaşlanma sürecini yavaşlatmak için doğal kaynaklardan elde edilen maddeler yaşlanma karşıtı ürün olarak kullanılmaktadır. Bu sebeple doğal uçucu yağların, ekstrelerin ve fonksiyonel besinlerin yaşlanma karşıtı etkilerini gözlemleyebilmek için çeşitli çalışmalar yapılmaktadır. *C. elegans* termotolerans modeli yaşlanma ve ömür uzatma çalışmalarında sıklıkla kullanılan bir çalışma türüdür. Bu çalışmada farklı yağ kombinasyonlarının (kakule-kayısı çekirdeği, kakule-avokado, lavanta-kayısı çekirdeği, lavanta-avokado) *C. elegans* üzerinde ömür uzatma etkisinin gözlemlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmanın sonucuna göre yağ kombinasyonlarından ömrü en çok uzatan iki kombinasyonun sırasıyla kayısı-lavanta ve avokado-lavanta olduğu görülmüştür.

Genel olarak tüm kombinasyonlara ayrı ayrı bakıldığında ve karşılaştırıldığında en fazla ömür uzatma etkisinin anlamlı bir şekilde lavantanın uzattığı söylenebilir. Lavanta yağının ve diğer yağların yaşlanma karşıtı etkilerinin kuvvetli bir şekilde ispatlanabilmesi, en etkili dozun ve uygulama şeklinin belirlenebilmesi için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Sonuç olarak ülkemiz lavanta üretimi açısından verimli bir ülkedir. Bu açıdan da lavanta yağının yaşlanma karşıtı etkisinin daha güçlü bir şekilde kanıtlanması ülkemiz insanların da bu etkiden daha fazla faydalanmasına yardımcı olabilir. Bunun yanında ülkemizde son yıllarda hem üretimi hem de tüketimi artan avokado meyvesinin yaşlanma karşıtı üzerine yapılacak ileri çalışmalar faydalı olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Ünlü E, Erdem C. (2010). Deri yaşlanmasında koruma ve tedavi yöntemleri. *Dermatoz*, 1(1):23-31.
2. Kim Y, Park Y, Hwang J, Kwack K. (2018). Comparative genomic analysis of the human and nematode *caenorhabditis elegans* uncovers potential reproductive genes and disease associations in humans. *Physiological Genomics*, 50(11):1002-1014.
3. Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. (2008). Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2):446-475. doi:10.1016/J.FCT.2007.09.106
4. De Groot AC, Schmidt E. Essential Oils, (2016). Part III: Chemical Composition. *Dermatitis*. 27(4):161-169. doi:10.1097/DER.000000000000193
5. Caputo L, Souza LF, Alloisio S, Cornara L, de Feo V. (2016). Coriandrum sativum and *Lavandula angustifolia* Essential Oils: Chemical Composition and Activity on Central Nervous System. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(12):1999. doi:10.3390/IJMS17121999
6. Tanker M, Tanker N. (1990). *Farmakognozi*. Vol 65. 2nd ed. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları; 1990.
7. Irshad M, Ali Subhani M, Ali S, Hussain A. (2020). Biological Importance of Essential Oils. *Essential Oils - Oils of Nature*. Published online January 8, doi:10.5772/INTECHOPEN.87198
8. A Comprehensive Guide to Essential Oil Extraction Methods. Accessed November 12, 2021. <https://www.newdirectionsaromatics.com/blog/articles/how-essential-oils-are-made.html>
9. Linskens H.F., Jackson J. F. B. (1997). *Modern Methods of Plant Analysis Vol 12: Essential Oils and Waxes*. 12.
10. Fakhari AR, Salehi P, Heydari R, Ebrahimi SN, Haddad PR. (2005). Hydrodistillation-headspace solvent microextraction, a new method for analysis of the essential oil components of *Lavandula angustifolia* Mill. *Journal of Chromatography A.*, 1098(1-2):14-18. doi:10.1016/J.CHROMA.2005.08.054
11. Kılıç, A. (2008). Uçucu Yağ elde etme yöntemleri. *Bartın Orman Fakültesi Dergisi*. 10(13):37-45.
12. Reverchon E, Porta G della, Senatore F. (2002). Supercritical CO2 Extraction and Fractionation of Lavender Essential Oil and Waxes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 43(6):1654-1658. doi:10.1021/JF00054A045
13. Denner SS. (2009). *Lavandula angustifolia* miller: English lavender. *Holistic Nursing Practice*. 23(1):57-64. doi:10.1097/01.HNP.0000343210.56710.FC
14. Hajhashemi V, Ghannadi A, Sharif B (2003). Anti-inflammatory and analgesic properties of the leaf extracts and essential oil of *Lavandula angustifolia* Mill. *Journal of Ethnopharmacology*. 89(1):67-71. doi:10.1016/S0378-8741(03)00234-4
15. Alexandra G, Lomascolo A, Sharifi-Rad J, et al. (2013). *Lavandula angustifolia* and lavandin (*Lavandula x intermedia*) grown in Western Romania. *Int J Agric Biol.*, 15:772-776. Accessed November 13, 2021. <http://www.fspublishers.org>
16. Hui L, He L, Huan L, XiaoLan L, AiGuo Z. (2010). Chemical composition of lavender essential oil and its antioxidant activity and inhibition against rhinitis-related bacteria. *African Journal of Microbiology Research.*, 4(4):309-313. doi:10.5897/AJMR.9000163
17. Ha JH, Rang Kim A, Lee KS, et al. (2019). Anti-Aging Activity of *Lavandula angustifolia* Extract Fermented with *Pediococcus pentosaceus* DK1 Isolated from Diospyros kaki Fruit in UVB-Irradiated Human Skin Fibroblasts and Analysis of Principal Components. *J Microbiol Biotechnol*. 29(1):21-29. doi:10.4014/JMB.1809.09037
18. Denner SS. (2009). *Lavandula angustifolia* miller: English lavender. *Holistic Nursing Practice*. 23(1):57-64. doi:10.1097/01.HNP.0000343210.56710.FC
19. Murugan M. (2011). *Factors and patterns of pesticides usage and sustainability of cardomom (Elettaria cardamomum (L.) Maton) in Indian cardamom hills*. Doctoral thesis, NIAS.
20. Tyagi RK, Goswami R, Sanayaima R, Singh R, Tandon R, Agrawal A. (2009). Micropropagation and slow growth conservation of cardamom (*Elettaria cardamomum* Maton). *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, 45(6):721-729. doi:10.1007/S11627-009-9234-6
21. Sontakke M.D., Syed H.M., Sawate A.R. (2018). Studies on extraction of essential oils from spices (Cardamom and Cinnamon). *Int J Chem Stud*. 6(2): 2787-2789.
22. Kaskoos RA, Ali M, Kapoor R, Akhtar MMS, Mir SR. (2013). Essential Oil Composition of the Fruits of *Elettaria cardamomum*. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants JEOP*. 9(1):81-84.

23. Nirmala M.A. (2000). Studies on the volatile of cardamom (*Elettaria cardamum*). *Journal of Food Science Technology*. 37):406-408.
24. Vaidya A., Rathod M. (2014). An in vitro studies of the immunomodulatory effects of Piper nigrum (black pepper) and *Elettaria cardamum* (cardamom) extracts using a murine macrophage cell line. *AIJRFANS*. 8(1):18-27.
25. Molaveisi M, Noktehsanj Avval M, Shahidi noghabi M, Mohammadi M. (2020). Chemical Composition, Antioxidant Potential, and Antimicrobial Activity of *Elettaria cardamomum* Essential Oil. *Infection Epidemiology and Microbiology*. 6(1):51-62. doi:10.29252/IEM.6.1.51
26. Karadağ AE, İpekçi E, Yağcılar AP, et al. (2020). Antimicrobial activities of mouthwashes obtained from various combinations of *Elettaria cardamomum* Maton., *Lavandula angustifolia* Mill. and *Salvia triloba* L. essential oils. *Natural Volatiles and Essential Oils*. 7(1):9-17. doi:10.37929/NVEO.685474
27. Fixed Oils: Castor Oils – Uses, Botanical Source, Characters, and Chemical Constituents. (2021). The Pharmacognosy.com.
28. Fatty Acids in Foods and their Health Implications (2021). Google Kitaplar.
29. Idowu Kazeem M, Ajanai Ogunwande I, Ogunwande IA. (2012). Role of fixed oil and fats in human physiology and pathophysiology Chapter 2 Role of Fixed Oil and Fats in Human Physiology and Pathophysiology. Published online. <https://www.researchgate.net/publication/236201475>
30. Güllü EB, Avcı G. (2013). Timokinon: *Nigella sativa*'nın Biyoaktif Komponenti. *Kocatepe Veterinary Journal*. 6(1):51-61. doi:10.5578/KVJ.5251
31. Halawani E. (2009). Antibacterial Activity of Thymoquinone and Thymohydroquinone of *Nigella sativa* L. and Their Interaction with Some Antibiotics. *Advances in Biological Research*. 3(6):148-152.
32. Piras A, Porcedda S, Falconieri D, et al. (2020). Supercritical extraction of volatile and fixed oils from *Petroselinum crispum* L. seeds: chemical composition and biological activity. <https://doi.org/101080/1478641920201810031>. Published online. doi:10.1080/14786419.2020.1810031
33. Sevindik O., Selli S. (2017). Üzüm çekirdek yağı eldesinde kullanılan ekstraksiyon yöntemleri. *GIDA* 42 (1): 95-103.
34. Selli S. (2017). Üzüm çekirdek yağı eldesinde kullanılan ekstraksiyon yöntemleri. *GIDA* 42 (1): 95-103.
35. Mofijur M, Rasul M.(2019). Recent Development in the Production of Third Generation Biodiesel from Microalgae. *Energy Procedia*. 156, 53-58.
36. Hummer K. E., Janick J. (2009). Rosaceae: Taxonomy, economic importance, genomics. In Folta, KM, Gardiner, SE (eds) Genetics and Genomics of Rosaceae. *Plant Genetics and Genomics: Crops and Models*. 6: 1-17.
37. Stryjecka M, Kiełtyka-Dadasiewicz A, Michalak M, Rachoń L, Głowacka A. (2019). Chemical Composition and Antioxidant Properties of Oils from the Seeds of Five Apricot (*Prunus armeniaca* L.) Cultivars. *Journal of Oleo Science*. 68(8):ess19121. doi:10.5650/JOS.ESS19121
38. Kiralan M., Özkan G., Küçüköner E., Özcelik M.M. (2019). Apricot Oils. In: Ramadan M., ed. *Fruit Oils: Chemistry and Functionality*. Springer; 505-519.
39. Scarci F. (2014). In Vitro Evaluations for a New Topical Anti-Aging Formulation. *Journal of Cosmetics, Dermatological Sciences ana Applications* 4(5).
40. Li S., Gene F., Wang P., Lu J., Ma M. Proteome analysis of the almond kernel (*Prunus dulcis*) . *Journal of Science of Food* 96(10):3351-7.
41. Yi It D, Yi N, Mavi A. (2009). Antioxidant and antimicrobial activities of bitter and sweet apricot (*Prunus armeniaca* L.) kernels. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 42(4):346-352.
42. Dikme G., Dikme, R. (2020). Kayısı çekirdeğinin insan sağlığına etkisi. *İnönü Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu Dergisi*. 8(1):175-188. doi:10.33715/INONUSAGLIK.700556
43. Zhang J, Gu H di, Zhang L, et al. (2011). Protective effects of apricot kernel oil on myocardium against ischemia–reperfusion injury in rats. *Food and Chemical Toxicology*. 49(12):3136-3141. doi:10.1016/J.FCT.2011.08.015
44. Wolk C. et al. (2011). Unprecedented Performance; Progress Toward Sustainable Value. *California Avocado Commission*. 4-5.
45. Carr M.K. (2013). The water relations and irrigation requirements of avocado (*Persea Americana* Mill.): A review. *Experimental Agriculture*. 49(02).

46. Dreher L. M., Davenport J. A. (2013). Hass Avocado Composition and Potential Health Effects, Critical Reviews. *Food Science and Nutrition*. 53(7):738-750.
47. Lopez- Ledesma R, Frati M., Hernandez D. (1996). Monosaturated fatty acid rich diet (avocado) for mild hypercholesterolemia. *Archives of Medical Sciences*. 27:519-523.
48. Pieterse Z, Jerling JC, Oosthuizen W, et al. (2005). Substitution of high monounsaturated fatty acid avocado for mixed dietary fats during an energy-restricted diet: Effects on weight loss, serum lipids, fibrinogen, and vascular function. *Nutrition*. 21(1):67-75. doi:10.1016/J.NUT.2004.09.010
49. Sabaté J, Wien M, Haddad E. (2012). Effect of incorporating avocados in meals on self-reported subjective feelings related to satiety in healthy overweight adults. *The FASEB Journal*. 26(S1):40.3-40.3. doi:10.1096/FASEBJ.26.1_SUPPLEMENT.40.3
50. Wong R, Geyer S, Weninger W, Guimberteau JC, Wong JK. (2016). The dynamic anatomy and patterning of skin. *Experimental Dermatology*. 25(2):92-98. doi:10.1111/EXD.12832
51. Hsu YC, Li L, Fuchs E. (2014). Emerging interactions between skin stem cells and their niches. *Nature Medicine*. 20(8):847-856. doi:10.1038/nm.3643
52. Nguyen A., Soulika AM. (2019). The Dynamics of the Skin's Immune System. *International Journal of Molecular Sciences*. 20(8):1811. doi:10.3390/IJMS20081811
53. Farage MA, Miller KW, Elsner P, Maibach HI. (2013). Characteristics of the Aging Skin. <https://home.liebertpub.com/wound>. 2(1):5-10. doi:10.1089/WOUND.2011.0356
54. Derinin Yapısı ve Fonksiyonları. Ankara Üniversitesi. acikders.ankara.edu.tr 3-4.
55. Proksch E, Brandner JM, Jensen JM. (2008). The skin: an indispensable barrier. *Experimental Dermatology*. 17(12):1063-1072. doi:10.1111/J.1600-0625.2008.00786.X
56. Todar K. (2017). *Immune Defense against Bacterial Pathogens: Innate Immunity*. 17 (2): 5-6.
57. Madison KC. (2003). Barrier Function of the Skin. *The Journal of Investigative Dermatology*. 121(2):231-241.
58. Stücker M, Struk A, Altmeyer P, Herde M, Baumgärtl H, Lübbers DW. (2002). The cutaneous uptake of atmospheric oxygen contributes significantly to the oxygen supply of human dermis and epidermis. *The Journal of Physiology*. 538(3):985-994. doi:10.1113/JPHYSIOL.2001.013067
59. Chemosky ME. (1972). Dry Skin and Its Consequences. *J Am Med Womens Assoc*. 27(133):1-15
60. Naidoo K, Birch- Machin MA. (2017). Oxidative Stress and Aging: The Influence of Environmental Pollution, Sunlight and Diet on Skin. *Cosmetics*. (1):4-15
61. Landau M. Exogenous Factors in Skin Aging. 2007;35:1-13. doi:10.1159/000106405
62. Valacchi G, Sticozzi C, Pecorelli A, Cervellati F, Cervellati C, Maioli E. (2012). Cutaneous responses to environmental stressors. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1271(1):75. doi: 10.1111/J.1749-6632.2012.06724.X
63. Flament F, Bazin R, Laquieze S, Rubert V, Simonpietri E, Piot B. (2013). Effect of the sun on visible clinical signs of aging in Caucasian skin. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology*. 6:221. doi:10.2147/CCID.S44686
64. Rigel DS. (2004). Photoaging. *Basic and Clinical Dermatology Series*. 29: 130-135.
65. Rinnerthaler M, Bischof J, Streubel MK, Trost A, Richter K. (2015). Oxidative Stress in Aging Human Skin. *Biomolecules*. 5(2):545-589. doi:10.3390/BIOM5020545
66. Year M., Gilchrest B. A. Aging of Skin. . In: *Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine*. Freedberg IM et al. McGraw- Hill; 2003.
67. Maglioni S, Schiavi A, Runci A, Shaik A, Ventura N. (2014). Mitochondrial stress extends lifespan in *C. elegans* through neuronal hormesis. *Experimental Gerontology*. 56:89-98. doi:10.1016/J.EXGER.2014.03.026
68. Brenner S. (1973). The genetics of behaviour. *British Medical Bulletin*. 29(3):269-271. doi:10.1093/oxfordjournals.bmb.A071019/2/29-3-269.PDF.GIF
69. Hu YO, Sun Y, Ye BP, Wang DY. (2007). Computational analysis of genetic loci required for amphid structure and functions and their possibly corresponding microRNAs in *C. elegans*. *Neuroscience Bulletin*. 23(1):9-20. doi:10.1007/S12264-007-0002-5
70. Friberg J. (2006) The control of growth and metabolism in *Caenorhabditis elegans*. Umea centrum for molecular pathogens. 45
71. Corsi K, Ann, Wightman Bruce, Chalfie M. (2015). Transparent Windows into Biology: A Primer on *Caenorhabditis elegans*. *Wormbook.org Genetics*. 200(2):387-407.
72. Akman Ş. (2008). Canlıların yaşam süresini etkileyen genler. *Türk Geriatri Vakfı ve Geriatri Gerontoloji Derneği*. 109:76-78.
73. Klass MR. (1983). A method for the isolation of longevity mutants in the nematode *Caenorhabditis elegans* and initial results. *Mechanisms of Ageing and Development*. 22(3-4):279-286. doi:10.1016/0047-6374(83)90082-9

74. Brenner SW. (1988). The Nematode *Caenorhabditis elegans*. *Cold Spring Harbor Laboratory*. 1(988):1091-1105.
75. Ndlovu G, Fouche G, Tselanyane M, Cordier W, Steenkamp V. (2013). In vitro determination of the anti-aging potential of four southern African medicinal plants. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 13(1):1-7. doi:10.1186/1472-6882-13-304/TABLES/3
76. Thring TS, Hili P, Naughton DP. (2009). Anti-collagenase, anti-elastase and anti-oxidant activities of extracts from 21 plants. *BMC Complementary Medicine and Therapies* 9(27).
77. Jenkins G. (2002). Molecular mechanisms of skin ageing. *Mechanisms of Ageing and Development*. 123(7):801-810. doi:10.1016/S0047-6374(01)00425-0
78. Raffetto JD, Khalil RA. (2008). Matrix metalloproteinases and their inhibitors in vascular remodeling and vascular disease. *Biochemical Pharmacology*. 75(2):346-359. doi:10.1016/J.BCP.2007.07.004
79. Ersoy E, Eroglu Ozkan E, Boga M, Yilmaz MA, Mat A. (2019). Anti-aging potential and anti-tyrosinase activity of three *Hypericum* species with focus on phytochemical composition by LC-MS/MS. *Industrial Crops and Products*. 141:111735. doi:10.1016/J.INDCROP.2019.111735
80. Wu S, Yu D, Liu W, et al. (2020). Magnoflorine from *Coptis chinensis* has the potential to treat DNCB-induced Atopic dermatitis by inhibiting apoptosis of keratinocyte. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 28(2):115093. doi:10.1016/J.BMC.2019.115093
81. Mosmann T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods*. 65(1-2):55-63. doi:10.1016/0022-1759(83)90303-4
82. Anastasiou CA, Yannakoulia M, Kosmidis MH, et al. (2017). Mediterranean diet and cognitive health: Initial results from the Hellenic Longitudinal Investigation of Ageing and Diet. *PLOS ONE*. 12(8):e0182048. doi:10.1371/Journal.Pone.0182048
83. Arruda HS, Neri-Numa IA, Kido LA, Maróstica Júnior MR, Pastore GM. Recent advances and possibilities for the use of plant phenolic compounds to manage ageing-related diseases. *Journal of Functional Foods*. 2020;75:104203. doi:10.1016/J.JFF.2020.104203
84. Russo GL, Spagnuolo C, Russo M, Tedesco I, Moccia S, Cervellera C. (2020). Mechanisms of aging and potential role of selected polyphenols in extending healthspan. *Biochemical Pharmacology*. 173:113719. doi:10.1016/J.BCP.2019.113719
85. Sgarbieri VC, Teresa M, Pacheco B. (2017). Premature or pathological aging: longevity. *Brazilian Journal of Food Technology*. 20(0). doi:10.1590/1981-6723.19416
86. Shishtar E, Rogers GT, Blumberg JB, Au R, Jacques PF. (2020). Long-term dietary flavonoid intake and risk of Alzheimer disease and related dementias in the Framingham Offspring Cohort. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 112(2):343-353. doi:10.1093/AJCN/NQAA079
87. Arruda HS, Neri-Numa IA, Kido LA, Maróstica Júnior MR, Pastore GM. (2020). Recent advances and possibilities for the use of plant phenolic compounds to manage ageing-related diseases. *Journal of Functional Foods*. 75:104203. doi:10.1016/J.JFF.2020.104203
88. Ageing and health. (2021). <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/ageing-and-health>. 3-4.
89. Olsen A. (2006). Lifespan extension of *Caenorhabditis elegans* following repeated mild hormetic heat treatments. *Biogerontology*. 7(4):221-30.
90. Guarente L, Kenyon C. (2000). Genetic pathways that regulate ageing in model organisms. *Nature*. 408(6809):255-262. doi:10.1038/35041700
91. Benedetti MG, Foster AL, Vantipalli MC, et al. (2008). Compounds that Confer Thermal Stress Resistance and Extended Lifespan. *Experimental gerontology*. 43(10):882. doi:10.1016/J.Exger.2008.08.049
92. Formica J v., Regelson W. (1995). Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids. *Food and Chemical Toxicology*. 33(12):1061-1080. doi:10.1016/0278-6915(95)00077-1
93. Zou H, Ye H, Kamaraj R, Zhang T, Zhang J, Pavak P. (2021). A review on pharmacological activities and synergistic effect of quercetin with small molecule agents. *Phytomedicine*. 92:153736. doi:10.1016/J.Phyomed.2021.153736
94. Prusinowska R, Śmigielski KB. (2014). Composition, biological properties and therapeutic effects of lavender (*Lavandula angustifolia* L.). A review. 60(2). doi:10.2478/hepo-2014-0010
95. Peng C, Wang X, Chen J, et al. (2014). Biology of ageing and role of dietary antioxidants. *BioMed Research International*. 1-13.

96. Zia A, Farkhondeh T, Pourbagher-Shahri AM, Samarghandian S. (2021). The role of curcumin in aging and senescence: Molecular mechanisms. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 134:111119. doi:10.1016/J.BIOPHA.2020.111119
97. Dapkevicius A, Venskutonis R, Van Beek TA, Linssen JPH. (1998). Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic herbs grown in lithuania. *J Sci Food Agric*. 77:140-146.
98. Werman MJ, Mokady S, Nimni ME, Neeman I. (1991). The effect of various avocado oils on skin collagen metabolism. *Connective Tissue Research*. 26:1-10.
99. Aiello A, Accardi G, Candore G, et al. (2020). Avokadonun (Persea americana) *Caenorhabditis elegans* termotoleransı üzerine etkilerinin incelenmesi. *Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Dergisi*. 4(1):30-36. doi:10.1186/S12979-016-0071-2
100. Kumar B, Cumbal L. (2016). UV-Vis, FTIR and antioxidant study of *Persea Americana* (Avocado) leaf and fruit: A comparison. *Revista de la Facultad de Ciencias Químicas*. 14:13-20. Accessed December 6, 2021. <https://publicaciones.ucuenca.edu.ec/ojs/index.php/quimica/article/view/1606>
101. Savaş N. (2021). Avokado (*Persea americana*) ve oğulotu (*melissa officinalis*) fonksiyonel besinlerinin, *caenorhabditis elegans* termotoleransı üzerine etkilerinin incelenmesi. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Yüksek Lisans Tezi, 43-47.
102. Wang H, Liu J, Li T, Liu RH. (2018). Blueberry extract promotes longevity and stress tolerance via DAF-16 in *Caenorhabditis elegans*. *Food & function*. 9(10):5273-5282. doi:10.1039/C8FO01680A
103. Tu PTB, Tawata S. Anti-Oxidant, Anti-Aging, and Anti-Melanogenic Properties of the Essential Oils from Two Varieties of *Alpinia zerumbet*. *Molecules*. 20(9):16723-16740. doi:10.3390/MOLECULES200916723
104. Wittenauer, J., Mackle, S. (2015). Inhibitory effects of polyphenols from grape pomace extract on collagenase and elastase activity. *Fitoterapia*, 101, 179–187.
105. Polat, E. (2020). Üç boyutlu hücre kültürü sistemlerine güncel yaklaşımlar. *Namık Kemal Tıp Dergisi*. 8(1):84-92. doi:10.37696/nkmj.679069
106. Meerloo J Van, Kaspers GJL, Cloos J. (2011). Cell sensitivity assays: The MTT Assay. 731:237-45.



