



**T.C.
AFYONKARAHİSAR SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

**ÇAY AĞACI YAĞININ, L929 FİBROBLAST HÜCRELERİNİN
İNDÜKLENMİŞ SENESENSİNE ETKİSİNİN SASP PROTEİNLERİ
BAKIMINDAN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Tuğçe SANCAR
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Danışman
Doç. Dr. Fatma FIRAT**

2026-AFYONKARAHİSAR

**T.C.
AFYONKARAHİSAR SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**ÇAY AĞACI YAĞININ, L929 FİBROBLAST HÜCRELERİNİN
İNDÜKLENMİŞ SENESENSİNE ETKİSİNİN SASP PROTEİNLERİ
BAKIMINDAN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Tuğçe SANCAR
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Danışman
Doç. Dr. Fatma FIRAT**

**Bu çalışma; Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bilimsel Araştırma
Projeleri Birimi tarafından 24.LİS.008 kodlu proje ile desteklenmiştir.**

2026-AFYONKARAHİSAR

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim

Yüksek Lisans Öğrencisinin

Danışmanın

Adı Soyadı: Tuğçe SANCAR

Ünvanı Adı Soyadı: Doç. Dr. Fatma FIRAT

İmza:

İmza

KABUL VE ONAY

Doç. Dr. Fatma FIRAT danışmanlığında **Tuğçe SANCAR** tarafından hazırlanan “**ÇAY AĞACI YAĞININ, L929 FİBROBLAST HÜCRELERİNİN İNDÜKLENMİŞ SENESENSİNE ETKİSİNİN SASP PROTEİNLERİ BAKIMINDAN DEĞERLENDİRİLMESİ**” adlı bu çalışma jürimiz tarafından Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalında **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

...../...../.....

JÜRİ:

Başkan :.....(..... Üniversitesi)

.....

Üye :.....(..... Üniversitesi)

.....

Üye :.....(..... Üniversitesi)

.....

Üye :.....(..... Üniversitesi)

ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun tarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

...../...../.....

Doç. Dr. İsa GÜL

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Öncelikle çalışmamızı gerçekleştirebilmemiz için gerekli desteği sağlayan Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi ‘Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi’ne,

Yüksek lisans tez sürecimde ve kişisel gelişimimde bana kattığı her şey için derin bir minnet duyduğum; ilk günden itibaren güler yüzü, anlayışı ve desteğiyle, bilgi ve tecrübeleriyle yalnızca akademik anlamda değil, aynı zamanda yol gösterici olarak da her zaman yanımda olan; yenilikçi bakış açısı ve çözüm odaklı yaklaşımıyla tez sürecimin her aşamasında bana güç veren; çok değerli hocam Doç. Dr. Fatma Fırat’a,

Tez çalışmamın istatistiksel analiz sürecinde göstermiş olduğu ilgi, sabır ve fedakârlık için, kıymetli hocam Prof. Dr. İsmet DOĞAN’a,

Tez çalışmam boyunca engin bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım Prof. Dr. Halit Buğra KOCA’ ya ve Ar. Gör. Rumeysa ÇİNAR’a,

Tez çalışmam boyunca her zaman bana yardımcı olan hem ablalık hem de arkadaşlık ederek yol gösteren, bilgi ve desteğini esirgemeyen değerli hocam Ar. Gör. Tuğçe ALADAĞ’a,

Histoloji-Embriyoloji bölümünde geçirdiğim deney süresi boyunca benden anlayışını ve yardımlarını esirgemeyen her daim yanımda olan çalışma arkadaşım Esra ŞEN’e,

Kariyerimde ve hayatım boyunca her zaman yanımda olan, her koşulda beni destekleyerek bugünlere gelmemi sağlayan; doğru ve iyi bir insan olmam için yol gösteren ve sevgileriyle arkamdaki en büyük destek olan aileme içtenlikle teşekkür ederim.

ÇAY AĞACI YAĞININ, L929 FİBROBLAST HÜCRELERİNİN İNDÜKLENMİŞ SENESENSİNE ETKİSİNİN SASP PROTEİNLERİ BAKIMINDAN DEĞERLENDİRİLMESİ

Tuğçe SANCAR

Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi

Ocak 2026

Danışman: Doç. Dr. Fatma FIRAT

ÖZET

Hücrel senesens, hücre döngüsünün kalıcı olarak durması ve senesensle ilişkili sekretuar fenotip (SASP) olarak adlandırılan proinflatuar faktörlerin salınımı ile karakterizedir. SASP bileşenleri, doku homeostazının bozulmasında ve yaşlanma ile ilişkili patolojik süreçlerin gelişiminde önemli rol oynamaktadır. Bu çalışmada, çay ağacı yağının (Tea Tree Oil, TTO), L929 fibroblast hücrelerinde hidrojen peroksit (H_2O_2) ile indüklenen senesens üzerindeki olası koruyucu etkilerinin, özellikle SASP proteinleri açısından değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Hücre canlılığı MTT testi ile belirlendi, morfolojik değişiklikler ışık mikroskopisi ile incelendi, IL-6 ve IL-8 protein ifadeleri immünohistokimyasal yöntemle analiz edildi. Ayrıca toplam protein düzeyleri spektrofotometrik yöntemle ölçüldü ve senesens belirteci olarak β -galaktozidaz aktivitesi değerlendirildi. MTT sonuçlarına göre, TTO'nun 24. saatte IC_{50} değeri 10 μ L/mL olarak saptandı ve koruyucu etkinin incelenmesi amacıyla sitotoksik olmayan 1 μ L/mL konsantrasyon kullanıldı.

Morfolojik değerlendirmede, H_2O_2 uygulanan hücrelerde belirgin dejeneratif değişiklikler gözlenirken, TTO + H_2O_2 grubunda bu değişikliklerin kısmen azaldığı belirlendi. İmmünohistokimyasal analizlerde, IL-6 ve IL-8 ifadelerinde H_2O_2 grubunda anlamlı şekilde arttığı, TTO + H_2O_2 grubunda ise yalnızca H_2O_2 uygulanan gruba kıyasla anlamlı derecede azaldığı saptandı ($p<0,05$). β -galaktozidaz aktivitesi, H_2O_2 grubunda en yüksek düzeyde bulunurken, TTO + H_2O_2 grubunda belirgin şekilde azaldı.

Sonuç olarak, elde edilen bulgular çay ağacı yağının, oksidatif stres ile indüklenen fibroblast senesensinde SASP protein ekspresyonlarını ve senesens belirteçlerini kısmen baskılayarak koruyucu bir etki gösterebileceğini düşündürmektedir. Bu nedenle TTO, hücrel senesens ve yaşlanma ile ilişkili süreçlerde potansiyel bir modülatör olarak değerlendirilebilir.

Anahtar Kelimeler: Çay ağacı yağı, Hidrojen peroksit, Hücrel senesens, L929 fibroblast hücreleri, Hücrel senesens, IL-6, IL-8, Oksidatif stres, SASP, β -galaktozidaz,

EVALUATION OF THE EFFECT OF TEA TREE OIL ON INDUCED SENESCENCE OF L929 FIBROBLAST CELLS IN TERMS OF SASP PROTEINS

Tuğçe SANCAR

**Afyonkarahisar University of Health Sciences
Institute of Graduate Education Department of Histology and Embryology
Master's Thesis
January 2026
Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Fatma FIRAT**

ABSTRACT

Cellular senescence is characterized by the permanent arrest of the cell cycle and the release of proinflammatory factors known as the senescence-associated secretory phenotype (SASP). SASP components play an important role in the disruption of tissue homeostasis and the development of aging-related pathological processes. In this study, we aimed to evaluate the potential protective effects of tea tree oil (TTO) on hydrogen peroxide (H₂O₂) induced senescence in L929 fibroblast cells, particularly in terms of SASP proteins.

Cell viability was determined by the MTT assay, morphological changes were examined by light microscopy, and IL-6 and IL-8 protein expressions were analyzed by immunohistochemical methods. In addition, total protein levels were measured by spectrophotometric methods and β -galactosidase activity was evaluated as a senescence marker. According to the MTT results, the IC₅₀ value of TTO was determined to be 10 μ L/mL at 24 hours, and a non-cytotoxic concentration of 1 μ L/mL was used to investigate the protective effect.

In the morphological evaluation, while significant degenerative changes were observed in cells treated with H₂O₂, it was determined that these changes were partially reduced in the TTO + H₂O₂ group. In immunohistochemical analyses, IL-6 and IL-8 expression was significantly increased in the H₂O₂ group, while it was significantly decreased in the TTO + H₂O₂ group compared to the H₂O₂-treated group ($p < 0.05$). β -galactosidase activity was highest in the H₂O₂ group and decreased significantly in the TTO + H₂O₂ group.

In conclusion, the findings suggest that tea tree oil may exert a protective effect by partially suppressing SASP protein expression and senescence markers in oxidative stress-induced fibroblast senescence. Therefore, TTO can be considered a potential modulator in cellular senescence and aging-related processes.

Keywords: Cellular senescence, Hydrogen peroxide, IL-6, IL-8, L929 fibroblast cells, Oxidative stress, SASP, Tea tree oil, β -galactosidase.

İÇİNDEKİLER

İÇ KAPAK	i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK.....	ii
KABUL VE ONAY	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ.....	ix
TABLolar DİZİNİ	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	6
2.1. Hücrel Senesens	6
2.2. Senesens Çeşitleri.....	17
2.2.1. Replikatif Senesens	17
2.2.2. Strese Bağlı İndüklenen Prematür Senesens (SIPS).....	18
2.2.3. Onkogene Bağlı Senesens (OIS)	18
2.2.4. Oksidatif Stres ile İndüklenen Senesens	20
2.2.5. Epigenetik Olarak İndüklenen Senesens.....	20
2.2.6. Mitokondriyal Disfonksiyonla İlişkili Senesens (MiDAS)	20
2.2.7. Kemoterapiye Bağlı Senesens.....	20
2.2.8. Desidual Senesens	21
2.2.9. Terapi Kaynaklı Senesens (TIS)	22
2.3. Senesens İlişkili Salgı Fenotipi (Senescence-Associated Secretory Phenotype-SASP).....	23
2.3.1. İnterlökin-6 (IL-6)	27
2.3.2. İnterlökin-8 (IL-8)	29
2.3.3. İnterlökin-1 (IL-1)	29
2.3.4. IGF Yolu	30
2.3.5. Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF)	30
2.3.6. MMP Ailesi.....	31
2.4. Senesens ve Kanser	31

2.5. Çay Ağacı Yağı (Tea Tree Oil).....	32
3. GEREÇ VE YÖNTEM	34
3.1. Etik Kurul	34
3.2. Kimyasal Maddeler	34
3.3. Besiyeri ve Hücre Hazırlanması	35
3.4. Çalışma Gruplarının Belirlenmesi.....	36
3.5. MTT Metodu ile Hücre Canlılığı Tayini	36
3.6. İmmünohistokimyasal Boyama Metodu.....	37
3.7. β -Galaktozidaz Boyama İçin Protein Konsantrasyonu Belirleme	39
3.8. β -Galaktozidaz Boyama	39
3.9. İstatiksel Analiz.....	41
4. BULGULAR.....	42
4.1. MTT Sonuçları.....	42
4.2. Hücrelerin Morfolojik Değerlendirilmesi.....	42
4.3. İmmünohistokimyasal Boyama Değerlendirilmesi.....	43
4.3. Protein Konsantrasyon Sonuçları.....	47
4.4. β -Galaktozidaz Boyama Sonuçları.....	48
5. TARTIŞMA.....	50
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	56
6.1. Sonuç	56
6.2. Öneriler	57
7. KAYNAKLAR	58
8. EKLER	73
8.1. İntihal Raporu	73
8.2. Akademik Özgeçmiş	84
8.3. Etik Kurul	85

KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ

- SASP:** Senescence-associated secretory phenotype
- SIPS:** Strese Bağlı İndüklenen Prematür Senesens
- OIS:** Onkogene Bağlı Senesens
- MİDAS:** Mitokondriyal Disfonksiyonla İlişkili Senesens
- TIS:** Teraip Kaynaklı Senesens
- TP53/P53:** Tümör Protein 53
- DNA:** Deoksiribo nükleik asit
- DDR:** DNA Hasar Tepkisi
- DNA-SKARS:** Yaşlanmayı Güçlendiren Kromatin Değişiklikleri Olan DNA Segmentleri
- TNF:** Tümör Nekroz Faktör
- ROS:** Reaktif oksijen türleri
- VEGF:** Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
- MMP:** Matriks Metalloproteinaz
- NADP:** Nikotinamid adenin dinükleoitit fosfat
- µl:** Mikrolitre
- TTO:** Tea Tree Oil
- mL:** Mililitre
- cm:** Santimetre
- mm:** Milimetre
- DMSO:** Dimetil Sülfoksit
- CO₂:** Karbondioksit
- DAB:** 3,3'-diaminobenzidin
- PBS:** Fosfat Salin Tapmon
- PAI-1:** Plazminojen Aktivatör İnhibitörü
- DCR2:** Death Receptor 2
- CCN1:** Cysteine-rich 6
- HRAS:** Harvey Rat Sarcoma Viral Oncogene Homolog

AER: Apikal Ektodermal Sırt
HLAG: Human Leukocyte Antigen-G
IC50: Inhibitory Concentration 50
SPSS: Statistical Package for the Social Sciences
MTT: 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür
°C: Santigrat Derece
uNK: Uterus Doğal Öldürücü
HDMEC: İnsan Dermal Mikrovasküler Endotel Hücreleri
BET: Bromodomain ve Ekstraterminal Domain
GM-CSF: Granülosit-Makrofaj Uyarıcı Faktör
CTGF: Bağ Dokusu Faktörü
STAT3: Transkripsiyon Aktivatörü 3
SirT1: Histon Deasetilaz
Fe: Demir
Cu: Bakır
IL-6: İnterlökin 6
IL-8: İnterlökin 8
IFN: İnterferon
SAHF: Senescence-Associated Heterochromatin Foci
IGFB7: İnsülin Büyüme Faktörü 7
mTOR: Rapamisin Memeli Hedefi
NF1: Nörofibromin
HP1: Heterokromatin protein 1
JAK: Janus Kinase
CDK: Cyclin-Dependent Kinase
VHL: von Hippel-Lindau hastalığı
CXCL: C-X-C motif ligand
HPV: Human Papillomavirus
CHK2: Checkpoint Kinase 2

BrdU: 5-bromodeoksiuridin

UV: Ultraviyole

FMA: Farnesyltransferase Methyltransferase

MAPK/ERK: Mitogen-Activated Protein Kinase / Extracellular signal-Regulated Kinase yolları

β -gal: Beta Galaktozidaz

TAD: Topolojik Olarak İlişkili Alanlar

RB: Retinoblastoma

ATM: Ataksi teleanjiyektaziye uğramış gen

ATR: Ataksi-telenjiyektazi ile ilişkili Rad3

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 3.1: Kimyasallar	34
Tablo 3.2: Sarf Malzemeler	35
Tablo 3.3: Çalışma Grupları	36
Tablo 3.4: β -Galaktozidaz Uygulama Oranları	40
Tablo 4.1: İmmunohistokimyal İstatistiksel Parametrelerin İstatistiksel Analiz Sonuçları	44
Tablo 4.2: Protein Konsantrasyon Sonuçları.....	47
Tablo 4.3: β -Gal Sonuçları	48



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1: Hücresel yaşlanmanın ayırt edici özelliklerinin gösterimi.	9
Şekil 2.2: Hücresel senesens (Calcinotto et al., 2019).	11
Şekil 2.3: Yaşlanmanın temel bir göstergesi senesens (Maduro, Luís and Soares, 2021).	16
Şekil 2.4: Senesensle bağlantılı proliferasyonun baskılanmasında rol alan sinyal yolları	17
Şekil 2.5: SASP Örnekleri	25
Şekil 2.6: SASP farklı seviyelerde düzenlenir (Ghosh and Capell, 2016).	27
Şekil 2.7: IL-6 reseptör sistemi ve sinyal iletim yolları (Kojima et al., 2013).	28
Şekil 2.8: Çay Ağacı	32
Şekil 3.1: TTO MTT Canlılık Deneyi	37
Şekil 3.2: İmmünohistokimya Aşamaları	38
Şekil 3.3: Protein Örnekleri	39
Şekil 4.1: Çay Ağacı Yağı MTT Grafiği	42
Şekil 4.2: Hücrelerin Morfolojik Değerlendirilmesi	43
Şekil 4.3: Hücrelerin İmmünohistokimyal Değerlendirilmesi	45
Şekil 4.4: Hücrelerin İmmünohistokimyal Değerlendirilmesi.....	46
Şekil 4.5: β -Gal Sonuç Grafiği.....	48

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Hücrelerde yaşlılık, replikatif tükenme, anormal onkogen aktivasyonu (onkogen kaynaklı yaşlanma) veya kemoterapötiklerle tedavinin neden olduğu gibi moleküler hasar tarafından tetiklenen hücresel bir stres tepkisidir. Yaşlanan hücreler stabil bir şekilde durur, karmaşık bir sekretom üretir (yaşlanmayla ilişkili salgı fenotipi, SASP) ve transkripsiyonel, epigenetik, morfolojik ve metabolik değişiklikler dahil olmak üzere karakteristik değişikliklere uğrar (Gorgoulis ve ark.,2019). Senesens, hücre yaşlanması olarak kabul edilir. Senesens hücrelerde, hücre döngüsünün durması, çoğunlukla siklin bağımlı kinaz inhibitörleri olan p16INK4a ve p21CIP1 proteinlerinin artan seviyeleri ile ilişkilidir. Bu proteinler, CDKN2A ve CDKN1A genleri tarafından kodlanır ve hücre bölünmesini engelleyerek yaşlanmaya neden olurlar (Alimonti ve ark., 2010). 1961'de Hayflick ve Moorhead, birincil fibroblastların kültür ortamında belli bir sayıda bölünmeden sonra çoğalma kapasitelerini yitirdiğini bildirmiştir (Hayflick ve Moorhead, 1961). Bu süreç, her hücre bölünmesinde telomerlerin kısalmasıyla bağlantılıdır. Telomerler kritik bir uzunluğa ulaştığında, hücrelerin çoğalması durur ve bu durum "replikatif senesens" olarak adlandırılır. Replikatif senesens, hücreleri hem büyümeyi tetikleyici sinyallere hem de hücre ölüm sinyallerine karşı duyarsız hale getiren kalıcı bir hücre döngüsü durmasıdır. Hücresel yaşlanma, lizozomal aktivitenin artışı, mitokondriyal işlev bozukluğu, kromatin yapısının yeniden düzenlenmesi ve senesensle ilişkili salgı fenotipi (SASP) gibi biyolojik değişimlerle karakterize edilir. Telomerlerin kısalması, hücresel oksidatif stres, DNA hasarı ve onkojenik aktivite, mikro çevrede yer alan senesentetik komşu hücrelerin parakrin etkileri, hücre bölünmesinin kalıcı olarak duraklatılması senesensin nedenleri arasındadır. Yaşlanan hücreler, uzun süreli ve genellikle geri dönüşü olmayan bir hücre döngüsü durmasıyla karakterize edilir. Hücresel yaşlanma, iyonlaştırıcı radyasyon, UV ışınları, oksidatif stres ve epigenetik değişiklikler gibi aşırı stres faktörleriyle tetiklenebilir. Yaşlanmanın kaçınılmaz etkileri arasında tümör baskılanması, doku onarımı ve gelişim süreçleri yer alırken, paradoksal olarak tümör ilerlemesine de katkı sağlayabilir. Özellikle SASP, yaşlanmanın hem olumlu hem de olumsuz etkilerinin temelinde yer alan başlıca mekanizmalardan biridir. Hücreleri

etkileyen faktörlere göre senesens çeşitlerini dokuz grup altında inceleyebiliriz. Bunlar;

- Replikatif senesens,
- Strese Bağlı İndüklenen Prematür Senesens (SIPS)
- Onkogene Bağlı Senesens (OIS)
- Oksidatif Stres ile İndüklenen Senesens
- Epigenetik Olarak İndüklenen Senesens
- Mitokondriyal Disfonksiyonla İlişkili Senesens (MiDAS)
- Kemoterapiye Bağlı Senesens
- Desidual Senesens
- Terapi Kaynaklı Senesens (TIS).

Biz çalışmamızda hücrelerimize oksidatif stresle indüklenen senesensi uygulayacağız. Oksidatif stresle indüklenen senesens, hücrelerin H_2O_2 , demir (Fe) ve bakır (Cu) gibi metal iyonları, Fenton reaksiyonu ile hidroksil radikalleri oluşturmasıyla, Ultraviyole (UV) ışınları veya iyonize radyasyon gibi yüksek enerjili radyasyonlar, Glutasyon peroksidaz gibi antioksidan enzimlerin inhibitörleri kullanılarak oksidatif strese maruz kalması sonucu yaşlanma sürecine girmesi olarak tanımlanabilir. Oksidatif stres, hücre içindeki serbest radikallerin birikimi ve antioksidan savunma sisteminin yetersizliği nedeniyle oluşan bir düzensizliktir. Bu durum, hücresel bileşenlere (DNA, proteinler, lipidler) zarar vererek hücrenin normal işlevlerini bozar ve sonunda hücre ölümüne veya hücre yaşlanmasına yol açar. Hücrelerin senesenste olduğunu belirtmek için çeşitli biyobelirteçler gereklidir. Bu biyobelirteçlerden ilki durmuş hücre döngüsünün belirlenmesidir. Senesense giren hücreler hasarlı hücreler olarak kabul edilirler. Hasarlı hücreler, hücre döngüsü kontrol proteinleri tarafından tespit edilir ve hücre döngüsü G1 fazında durdurulur. Hücrelerde çekirdek boyamalarında doğal olmayan heterokromatik bölgelerin varlığı tespit edilmiştir. Senesensin bir diğer belirteci,

senesensteki hücrelerin çevrelerine senesensle ilgili salgı proteinleri (SASP) olarak bilinen proteinleri salgılamalarıdır. SASP lerden en yaygın bilinenler interlökin-8 (IL-8), interlökin-6 (IL-6), insülin büyüme faktörü (IGF) ve insülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein-7 (IGFB7)'dir. SASP moleküllerinin hücreden salgılanarak çevredeki hücrelerin senesensini de indükledikleri bildirilmiştir. Yaşlanan hücrelerin büyümesinin istikrarlı bir şekilde durdurulmasına rağmen, SASP'lerin esas olarak pro-inflamatuar sitokinler ve kemokinler, yeniden modelleme enzimleri ve büyümeyi teşvik eden moleküllerden oluşan karmaşık bir salgı programını indüklediği bilinmektedir. Bu SASP'nin yaşlanmanın koruyucu aktivitesine katıldığı ancak aynı zamanda yaşlanma sırasında yaşlanan hücrelerin patolojik birikimi ile ilişkili zararlı etkilerden de sorumlu olduğu göstermektedir. Bu nedenle senesentetik hücrelerin işaretlenebilmesi hem yaşlanma sürecini duraklatmak ya da yavaşlatmak adına hem de yaşlılıkla birlikte hücrelerde gelişen patolojik birikimi engellemek açısından önemlidir. Hücre senesensiyle ilgili çalışmalar değerlendirildiğinde, senesentetik hücrelerin işaretlenmesinde ve kalitatif olarak belirlenmesinde β -Gal aktivitesi kullanılabilir.

Epidermis, çoğunlukla keratinositlerden oluşan ve sürekli yenilenen bir tabakadır. Dermis ise kan damarları, sinirler ve çeşitli hücreleri barındıran daha kalın bir tabakadır. Hem epidermisteki keratinositler hem de dermiste bulunan fibroblastlar yaşlandıkça, ciltte kırışıklık, kuruluk ve elastikiyet kaybı gibi yaşlanma belirtileri ortaya çıkar. Yani hem epidermal keratinosit hem de dermal fibroblast senesensi cilt yaşlanmasına neden olur (Gruber ve ark., 2020; Wang ve ark., 2020; Fitsiou ve ark., 2021). Deri yaşlanması içsel ve dışsal birçok faktörden etkilenmektedir. UV etkisi, sigara, alkol, stres ve maruz kalınan kimyasallar gibi dışsal nedenler keratinosit ve fibroblast hücrelerinde yaşlanmayı tetikleyen ve hızlandıran faktörlerdir. Bu tezde de kullanılmış olan L929 hücreleri fare hipodermisinden elde edilmiş ve yüzeye yapışan çoklu morfolojiye sahip hücrelerdir. L929 fibroblast hücreleri, sitotoksisite testlerinde en sık kullanılan hücre türlerinden biridir. Kolayca kültürlenebilmeleri, hızlı çoğalmaları ve rahatlıkla saklanabilmeleri nedeniyle birçok maddenin sitotoksisite değerlendirmesinde tercih edilmektedir. Bilimsel çalışmalarda fare fibroblastı (L929) hücre hatları, sitotoksisite testlerinde kullanılmak üzere standart hücre kültürü hattı olarak önerilmektedir (Theerakittayakorn ve Bunprasert, 2011). Yara iyileşmesinde

proliferatif fazı başlatmada (Çınar ve ark., 2020) özellikle kollajen sentezine katkıda bulunan L929 fibroblast hücreleri, özellikle deneysel hücre kültürü çalışmalarında sıklıkla kullanılan hücrelerdir. Ayrıca, hücre kültürü çalışmalarının son yıllarda doku rejenerasyonu araştırmalarında artan bir önemi vardır (Sevim ve ark., 2024). Oksidatif stresin H_2O_2 ile indüklendiği sitotoksiteyi incelemek için en çok kullanılan hücrelerden biri de L929 fibroblastlarıdır.

Camellia sinensis, *Kunzea ericoides*, *Leptospermum scoparium*, *Leptospermum petersonii* ve *Melaleuca alternifolia* gibi çeşitli bitki türleri çay ağacı olarak adlandırılabilir. Bu bitkiler arasında en yaygın olarak bilinen ve kullanılan *Melaleuca alternifolia*'dır. Çay ağacı yağı (tea tree oil, TTO) esas olarak Avustralya'nın endemik bitkisi *Melaleuca alternifolia*'dan elde edilen uçucu bir yağdır. *M. alternifolia*'nın esansiyel yağı, ikincil metabolitler olarak *M. alternifolia*'dan uç dallarının ve yaprakların buhar veya hidrodistilasyon yoluyla elde edilir ve monoterpen açısından zengin, güçlü bir koku ile karakterize edilen uçucu bir yağdır. *M. alternifolia*'nın yapraklarından elde edilen çay ağacı esansiyel yağı, üç ana kemotipe ayrılabilir: terpinen-4-ol, terpinolen ve 1,8-sineol (Padovan ve ark., 2017). Terpinolen ve 1,8-sineol, çeşitli bileşimlere sahip baskın ve baskın olmayan bileşenlerin birleşiminden oluşur (Homer ve ark., 2000). Terpinen-4-ol kemotipi baskındır ve tıbbi açıdan çok daha fazla rağbet görür (Doran ve ark., 2006). Antioksidan ve büyümeyi teşvik edici işlevleriyle iyi bilinir. Büyük ölçüde antimikrobiyal özellikleri için kullanılan TTO, cilt enfeksiyonlarını tedavi etmek için kullanılan birçok formülasyona da dahil edilmiştir. *M. alternifolia*'dan elde edilen uçucu yağın güçlü serbest radikal temizleme özellikleri sergilediğini ve lipid peroksidasyonunu inhibe ettiğini gösteren birçok çalışma mevcuttur (Zhang ve ark., 2018). Ayrıca potansiyel bir antikanser ajan olarak da etki gösterebilir (Shapira ve ark., 2016).

Çay ağacı yağının bilinen antimikrobiyal ve anti-inflamatuvar etkilerinin yanında, son zamanlarda dermo-kozmetik alanda sıklıkla kullanıldığı ve yaşlanmayı geciktirici etkilerinden bahsedilmektedir. Çay ağacı yağı inflamasyonu azaltmaya (Chen ve ark., 2020; Yang ve ark., 2022), oksidatif stresi düşürmeye ve yara iyileşmesini artırmaya (Song ve ark., 2022), yardımcı olabilir ve biyomedikal alanlarda yaygın olarak uygulanmaktadır. Bunlardan yola çıkarak biz de çay ağacı yağının L929 deri fibroblast

hücrelerini senesensten dolayısıyla yaşlanmadan olası koruyucu etkisini ortaya çıkarmayı amaçlamaktayız.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Hücresel Senesens

Günlük hayatta sık sık kullandığımız ‘yaşlanma ve yaşlılık’ kelimeleri aslında eş anlamlı değildir (Rodier ve Campisi, 2011). Yaşlanma, tüm yüksek organizmaların artan morbidite ve mortalite olasılığıyla ilişkili olarak etkinlik ve yeniden üretilebilirliğinde zamanla kalıcı değişiklik olarak tanımlanan bir süreçtir (Höhn ve ark., 2017). Yaşlanma, biyolojik ve fizyolojik değişimlerin kademeli olarak ilerlediği bir süreci ifade ederken; yaşlılık, bu sürecin belirli bir evresini, yani yaşam döngüsündeki ileri bir dönemi tanımlamak için kullanılmaktadır. İnsan cildi, ilerleyen yaşla birlikte kırışıklık oluşumu, cilt kuruluğu, bariyer bütünlüğünün azalması ve epidermin incilmesi gibi işlevsel değişikliklere uğramakta; bu durum cildin iç ve dış etkenlere sürekli olarak maruz kalmasına neden olmaktadır. Yapılan çalışmalar, hücrelerin telomer kısalmasından bağımsız mekanizmalar da dâhil olmak üzere, çok sayıda ve farklı sinyalin etkisiyle organizmanın kronolojik yaşından bağımsız olarak hücresel yaşlanmaya girebildiğini göstermektedir. Bu doğrultuda yaşlı hücreler, embriyogenez sırasında doku gelişimine katkı sağladıkları dönemlerden, hasarlı hücrelerin yayılımını sınırladıkları, doku onarımına ve tümör baskılanmasına destek oldukları süreçlere kadar yaşamın herhangi bir evresinde tespit edilebilmektedir. Bu nedenle hücresel yaşlanma, evrimsel açıdan antagonistik pleiotropinin, yani hem yararlı hem de zararlı etkiler barındıran bir hücresel programın tipik bir örneği olarak değerlendirilmektedir. Hayflick ve Moorhead tarafından bulunan ve hücrelerin biyolojik ve değiştirilmez ölüm oranı, Peter Medawar ve George C. Williams’ın yaşlanma modeliyle uyumluluk gösterir (Hayflick ve Moorhead, 1961). Hücresel yaşlanma, organizmanın üreme döneminin sona ermesinden sonra zararlı etkiler gösterebilmesine rağmen, yaşamın erken evrelerinde bireyin hayatta kalma olasılığını arttırması nedeniyle evrimsel süreçte korunmuş bir mekanizmadır. Bu mekanizma sayesinde organizmalar, gençlik döneminde çevresel zorluklara karşı daha dirençli hâle gelmekte ve üreme başarısını arttırmaktadır. Hücresel senesens ise, ortamda mitojenik etkenlerin varlığı söz konusu olsa dahi, hücre döngüsünün geri dönüşsüz ve kararlı bir şekilde durması ile karakterize edilmektedir (Muñoz-Espín ve Serrano, 2014; Hernandez-Segura, Nehme ve Demaria, 2018). 1961 yılında Hayflick ve

Moorhead, kültür ortamındaki birincil fibroblastların artan pasaj sayısından sonra proliferasyon potansiyellerini kaybettiklerini bildirmiştir. Hücresel yaşlanma; genotoksik maddelere maruz kalma, beslenme yetersizliği, hipoksi, mitokondriyal fonksiyon bozuklukları ve kanser oluşumu gibi durumların yanı sıra, bu süreçleri tetikleyen genlerin aktive olması dâhil olmak üzere birçok stres faktörünün etkisiyle ortaya çıkan bir süreçtir. Bu çalışmalar doğrultusunda, kararlı hücre döngüsü durmasının birden fazla mekanizma tarafından düzenlenebildiği ve farklı fenotipler ile işlevlerle ilişkilendirilebilen, son derece karmaşık ve heterojen bir olguyu kapsadığı belirlenmiştir. (Hayflick ve Moorhead, 1961).

Hücresel senesensi, hücresel büyümenin korunduğu ancak hücre döngüsünün durması olarak kabul edersek; hücre sayısı, proliferasyon belirteci olarak Ki67, hücre döngüsü fazları gibi belirteçler veya proliferasyona işaret eden ölçümler ve senesensi diğer hücre durması durumlarından ayıran büyümüş hücre boyutu, β -galaktozidaz veya lipofuksin içeriğine yansıyan lizozomal genişleme gibi büyüme ve metabolik aktiviteyi gösteren belirteçler kullanılarak belirlenebilir. Aşırı miktarda stres hücresel yaşlanmaya neden olabilir (Ben-Porath ve Weinberg, 2004, 2005). Hücresel yaşlanmaya, kemoterapi veya X-ışınları gibi dış faktörlerin yanı sıra, vücut içindeki normal metabolik süreçler sonucu oluşan oksidatif stres ve mitokondriyal hasar gibi iç faktörler de sayılabilir. Hayat boyu maruz kaldığımız kimyasal maddeler, radyasyon ve diğer çevresel faktörler de hücresel yaşlanmayı hızlandırabilir. Hücresel yaşlanma, hücre içi veya hücre dışı strese yanıt olarak *in vitro* ve *in vivo* olarak gözlenebilir. Hücresel yaşlanmanın *in vivo*daki ilk çalışmaları yaşlı hücrelerin yaşla beraber arttığını göstermiştir. Yaşlanan hücrelerin yapılan çalışmalarla kemirgenlerde, primatlarda ve insanlarda hayatları boyunca biriktiği gözlemlenmiştir (Dimri ve ark., 1995).

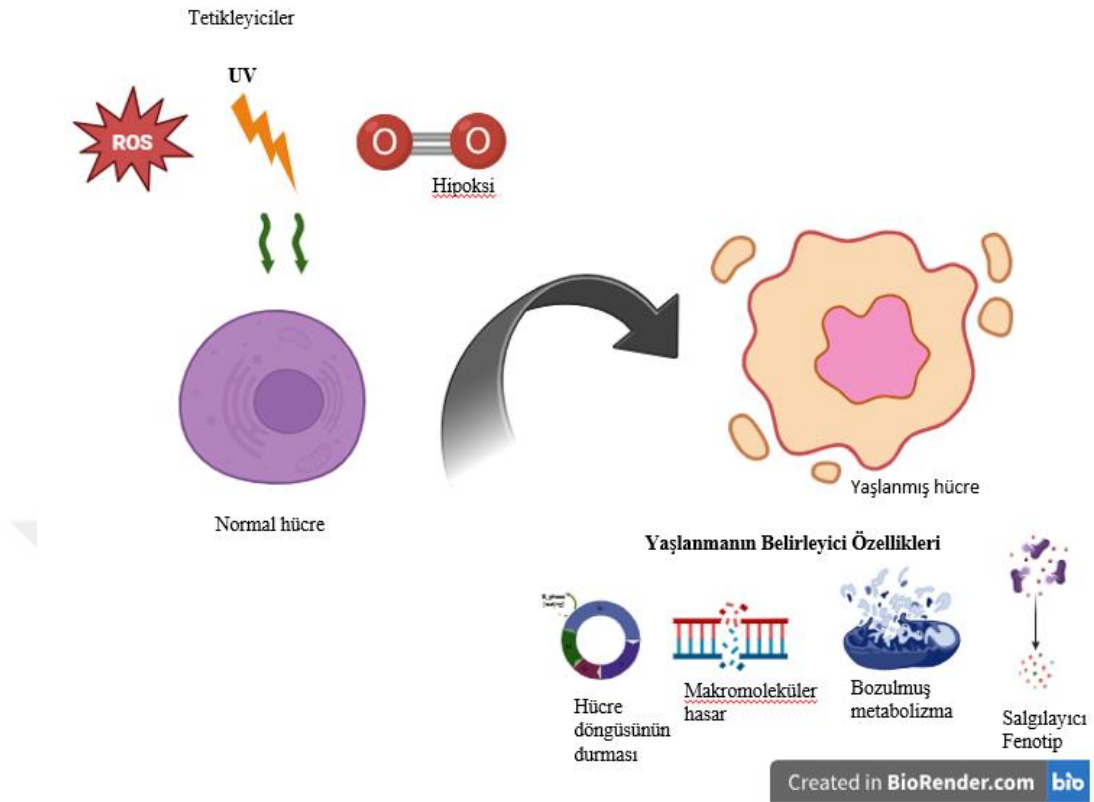
Campisi yaptığı araştırmalar sonucunda hücresel yaşlanmanın katkıda bulunduğunu düşündüğü süreçleri

- Tümör baskılanması,
- Yaşlanma,
- Tümör ilerlemesi,

- Doku onarımı

olarak belirtmiştir (Rodier and Campisi, 2011).

Hücresel yaşlanmayla ilişkili mekanizmaların incelenmesinde, özellikle insan birincil fibroblastları üzerinde olmak üzere, büyük ölçüde *ex vivo* modeller kullanılmaktadır. Çeşitli yaşlanma indükleyicileri tarafından aktive edilen bazı ortak özellikler olsa da, yaşlanma fenotipinde büyük bir değişkenlik gözlemlenmekte ve hücre tipi, uyaran ve zaman noktası gibi çeşitli faktörlere bağlıdır (Sharpless ve Sherr, 2015; Marthandan ve ark., 2016). Hücrelerin çeşitli stres faktörlerine maruz kalması sonucu meydana gelen hücresel senesens sürecinde p53 gibi tümör baskılayıcı genler tarafından aktive edilen p21, p16, p15 ve p27 gibi CDK inhibitörleri, hücre döngüsünü düzenleyen önemli bir protein olan Rb'yi fosforilasyondan alıkoyar. Fosforile olamayan Rb, E2F transkripsiyon faktörüne bağlı kalarak hücrenin G₁'den S fazına geçmesini engeller. Böylece hücre, bölünme potansiyelini kaybeder. Bu durum, hücrenin büyüme faktörleri gibi uyarıcı etkenlere karşı duyarsızlaşmasına neden olarak, hücrenin durgunluk halinden farklılaşır. Durgunlukta hücre, uygun koşullar sağlandığında bölünme potansiyelini korurken, senesentetik hücre bu potansiyeli kalıcı olarak kaybeder. Hücresel senesens telomer kısalması, DNA hasarı, genotoksik stres ve inflamatuvar sitokin salınımı gibi mekanizmalar tarafından yönlendirilen ve p53 ve siklin bağımlı kinaz inhibitörü p16'nın aktivasyonu ile sonuçlanan kalıcı bir hücre döngüsü durması olarak da ifade edilebilir (Collins ve Sedyv, 2003; Coppé ve ark., 2008; Li ve ark., 2016).



Şekil 2.1: Hücresel yaşlanmanın ayırt edici özelliklerinin gösterimi.

Hücre yaşlanmasının nedenleri: Telomer Kısaldması; Her hücre bölünmesi telomer kısalmasına yol açacaktır (Watson, 1972; Harley, Futcher ve Greider, 1990; Hastie ve ark., 1990; Gorgoulis ve ark., 2019). Bu kısalma, hücrenin yaşlanması ve bölünme yeteneğinin azalmasıyla ilişkilendirilir.

Genomik Hasar: Telomer disfonksiyonu, potansiyel onkojenik uyarıcılar arasında yer alarak senesens tepkisini indükleyebilir. Hücreler, genomik konumdan bağımsız olarak ciddi DNA hasarlarına senesens ile yanıt verir (Nakamura ve ark., 2008). Oksidatif stres gibi faktörler sonucu oluşan DNA lezyonları da hücreleri senesense sürükleyebilir (Chen ve ark., 1995; Parrinello ve ark., 2003; Nogueira ve ark., 2008; Barascu ve ark., 2012). Bu durum, genellikle DNA baz hasarına veya tek zincirli kırıklara neden olur.

Mitogenler ve Proliferasyonla İlişkili Sinyaller: Hücresel yaşlanma, tümör supresyonundaki rolüyle uyumlu olarak, güçlü, kronik veya dengesiz mitojenik sinyallerle de indüklenebilir (Blagosklonny, 2011).

Epigenomik Hasar: Hücresel senesens, kromatin organizasyonunda yaygın değişiklikler gerektirir (Adams, 2009) bu durum proproliferatif gen lokuslarında baskılayıcı heterokromatin oluşumunu içerir (Narita ve ark., 2003). Epigenomdaki bozulmalar da senesens tepkisini indükleyebilir.

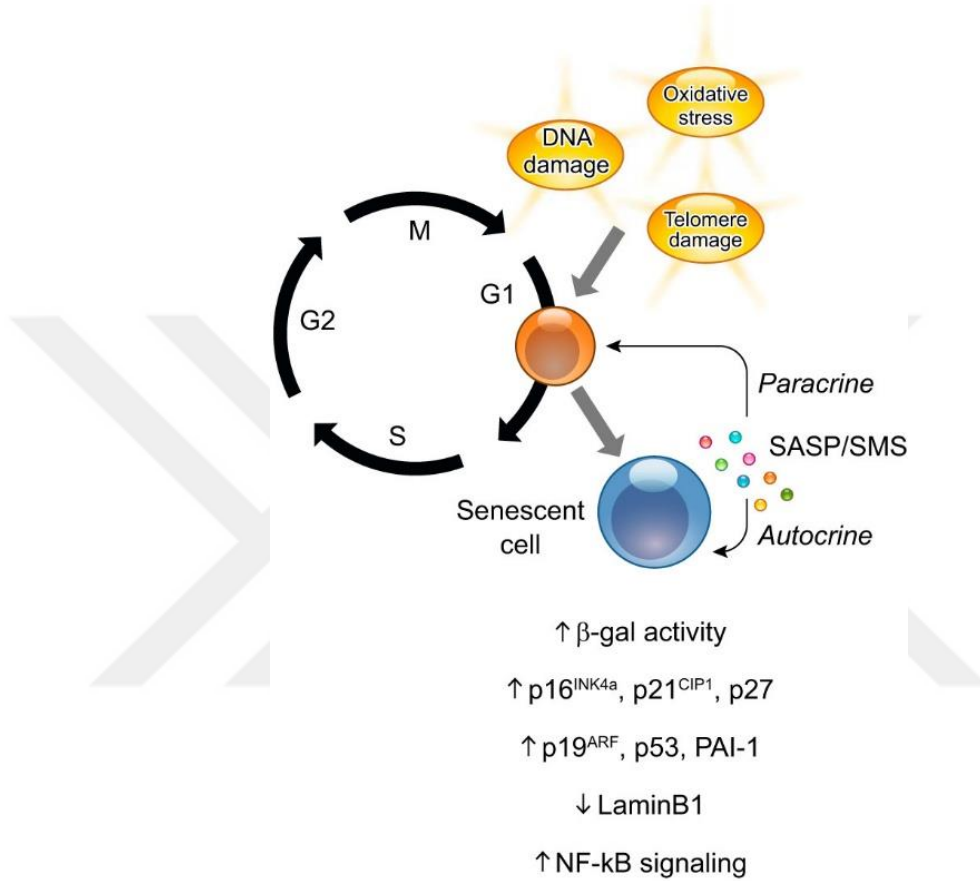
Mitokondriyal Disfonksiyon: Mitokondriler, hücrenin enerji üretim merkezleridir. Yaşla birlikte mitokondrilerde hasar birikir ve bu da enerji üretimini azaltır, oksidatif stresi artırır ve hücresel senesense neden olur.

Tümör Baskılayıcıların Aktivasyonu: Hücresel senesensi indükleyen uyarılar, çoğunlukla p53/p21 ve p16INK4a/pRB tümör supresör yollarından en az birini aktive ederek senesens büyüme durmasını oluşturur veya devam ettirir (Collins ve Sedivy, 2003; Campisi ve D'Adda Di Fagagna, 2007; Adams, 2009). p53, pRB, p21 veya p16INK4a'nın sürekli veya aşırı aktif olması, hücresel senesense yol açabilir (McConnell ve ark., 1998; Beauséjour ve ark., 2003). Güçlü bir senesens indükleyicisi, doğrudan DNA hasarı, işlevsiz telomerler, bozulmuş kromatin veya belirli onkogenlerin neden olduğu gibi güçlü mitojenik sinyallerden kaynaklanabilen (epi)genomik stresdir (Campisi ve D'Adda Di Fagagna, 2007). Bu stres sebepleri, stabil, sitolojik olarak tespit edilebilir nükleer odaklardan (Zglinicki ve ark., 2005) veya (senesensi güçlendiren kromatin değişiklikleri olan DNA segmentleri) DNA-SKARS'lardan (Coppé ve ark., 2011) yayılan kalıcı bir DNA hasar tepkisi (DDR) sinyali üretir. Bu kalıcı DDR odakları, hücre döngüsü ilerlemesini engelleyen genlerin transkripsiyonunu uyararak senesensi sürdüren p53 tümör baskılayıcısının (Rodier ve ark., 2009; Coppé ve ark., 2011) aktivitesini devam ettirir (Campisi ve D'Adda Di Fagagna, 2007).

Hücresel senesensin klasik ayırt edici özelliği, genellikle onkojenik uyarılara tepki olarak ortaya çıkan ve genellikle geri döndürülemez bir büyüme durmasıdır (Campisi ve D'Adda Di Fagagna, 2007). Hücre büyüme durmasının geri dönüşümsüz olması ve senesensin onkojenik bir stres yanıtı olması, senesentetik hücreleri durgun ve farklılaşmış hücrelerden ayırır.

Senesentetik hücreler morfolojik olarak incelendiğinde genellikle genişlemiş olarak görülür (Hayflick, 1965) ve dokularda veya hücrelerde sitolojik olarak tespit edilebilen

yaşlılıkla ilişkili bir beta-galaktozidaz (SA-Bgal) aktivitesi gösterir (Dimri ve ark., 1995). Senesentetik hücrelerde bazı mikroRNA'ların (miRNA'lar) seviyesi artar ve büyüme faktörleri, sitokinler, kemokinler ve proteazlar gibi birçok faktör salgılanır.



Şekil 2.2: Hücresel senesens (Calcinotto ve ark., 2019).

Deri fibroblast hücrelerinde yaşlanma; Hipertrofi ve artan granülarite: Senesentetik hücrelerde, boyutta gözlemlenebilir artış meydana gelir (Campisi, 2013; Davalos ve ark., 2013). Buna, mTOR (rapamisin memeli hedefi) sinyal yolunun aktivasyonu neden olur (Bent, Gilbert ve Hemann, 2016). Senesense giren fibroblastlarda dokuz kata kadar boyut artışı bulunmuştur (Campisi, 2013). Yaşlanma ile artan boyut, yaşlı keratinositlerde (Brégégère ve ark, 2003) ve insan melanositlerinde UVB ile indüklenen yaşlanma modelindeki (Martic ve ark., 2020) gibi diğer yaşlanma belirteçleriyle doğrulanmıştır. Hücre büyümesine ek olarak, yaşlanan deri hücrelerinin çekirdeklerinde de hipertrofi gözlemlenmiştir. Yapılan çalışmalarda özellikle fibroblast hücrelerinin ortalama nükleer alanının genç pasajlarda 255 μm^2 olduğu, geç

pasajlarda ise 293 μm^2 olduğu gösterilmiştir (Mehta ve ark., 2007). Senesentetik hücrelerdeki granüler içerik artışı, transmisyon elektron mikroskopuyla hücre içi elektron yoğun partiküllerin birikimi olarak gözlemlenebilir (Hwang, Yoon ve Kang, 2009).

Lizozomal kütlede artış ve SA- β -Gal boyama; Senesentetik hücrelerde lizozom miktarının artması, eski lizozomların birikmesi ve artan lizozomal biyogenez ile ilişkilidir. Lipofuskin birikimi, lizozomal dönüşüm mekanizmasındaki disfonksiyon ile uyumlu bir bulgudur (Georgakopoulou ve ark., 2012). Lipofuksinin anlamı Yunanca “lipo” (yağ) ve “fuscus” (koyu) kelimelerinden oluşmuştur (Höhn ve ark., 2017). Aynı zamanda, “yaşlanma floroforu” veya “yaşlanma pigmenti” olarak da isimlendirilir. Lipofuksin, yüksek oranda oksitlenmiş ve çapraz bağlanmış proteinler, lipidler ve şekerlerden oluşan çözünmeyen bir substrattır. Lizozomal boyut ve şekil artışı, senesensle ilişkili β -galaktozidaz (SA- β -Gal) aktivitesindeki artışla ilişkilidir. SA- β -Gal, senesentetik hücrelerde yukarı regüle olduğundan, rezidüel aktivitesi suboptimal pH 6.0'da izlenebilir. SA- β -Gal, kültür ve doku örneklerinde senesensin en yaygın kullanılan belirteçidir (Gary ve Kindell, 2005). Ancak, hücre kültürü sırasında konfluens gibi artefaktlar, yanlış pozitif sinyal tespitine katkıda bulunabilir (Holt ve Grainger, 2012).

Mitokondri birikimi; Yaşlanan hücrelerde daha fazla sayıda mitokondri bulunur ve organel büyümesi gözlemlenir. Yaşlı insan sünnet derisinden alınan diploid fibroblast hücrelerinde, mitokondrilerin boyutunun arttığı ve sayılarının iki katına çıktığı gözlemlenmiştir (Yoon ve ark., 2006). Buna rağmen, mitokondrilerin enerji üretme kapasitesi azalır ve bu durum, reaktif oksijen türleri (ROS) gibi zararlı moleküllerin ve endonükleaz G gibi enzimlerin salınımına neden olur (Passos ve ark., 2007; Studencka ve Schaber, 2017). Gözlemlenen mitokondri birikimi, esas olarak mitokondriyal otofaji (mitofaji) defektinden kaynaklanmakta ve işlevsiz mitokondrilerin birikmesine yol açmaktadır (Korolchuk ve ark., 2017). Yaşlı hücrelerde, bozuk mitokondri fonksiyonlarını telafi etmek ve onları hücre ölümünden korumak için mitokondri bölünmesi azalırken, mitokondri füzyonu artar (Correia-Melo ve Passos, 2015), mitokondri büyümesine katkıda bulunur (Dalle Pezze ve ark., 2014). Disfonksiyonel mitokondriler, yaşlı hücrelerde artmış ROS üretiminin önemli

bir kaynağını temsil eder ve bu, senesensin önemli bir fenotipik özelliğidir (Victorelli ve Passos, 2019). ROS ile ilişkili mitokondriyal hasar ve fotoyaşlanma arasında güçlü bir korelasyon bulunmaktadır.

Nükleer değişiklikler; Senesentetik hücre çekirdekleri, H3K9me3 ve heterokromatin protein 1 (HP1) ile birlikte bulunan ve hücre proliferasyonunda rol oynayan genleri transkripsiyonel olarak baskılayarak hücreleri senesentetik bir durumda kilitleyebilen sessiz bölgeler olan senesensle ilişkili heterokromatin odaklarını (SAHF'ler) içerebilir (Watanabe ve ark., 2018). SAHF'ler, 4',6-diamidino-2-fenilindol (DAPI) ile boyanarak görselleştirilebilir ve proliferasyon için gerekli genleri transkripsiyonel olarak baskılayan yoğunlaştırılmış kromatin alanlarını temsil eden floresan odakları olarak görünür (Aravinthan, 2015). *In vitro* koşullarda senesentetik hücrelerin uzun süreli takibi, DNA kaybı olmaksızın histon 3 ve 4'ün kademeli proteolizini ortaya koymuştur. SAHF'ler, nükleer lamina/membranın yapısal bir proteini olan lamin B1'in aşağı regülasyonunda da rol oynar (Salama ve ark., 2014; Hernandez-Segura, Nehme ve Demaria, 2018). SAHF'ler, senesensin evrensel bir belirteci değildir, ancak özellikle OIS durumunda gözlemlenir (Sharpless and Sherr, 2015). Lamin B1 aşağı regülasyonu öncelikli olarak p53 ve p16'ya bağlıdır, ancak p38 mitogenle aktive edilen protein kinazları (MAPK), NF-κB ve DNA hasar tepkisi (DDR) gibi diğer senesensle ilişkili sinyal yollarından bağımsızdır (Freund ve ark., 2012).

Senesens belirteç analizi, *in vivo* senesensi genel olarak üç grupta incelenebileceğini gösterir. Bunlar;

- Akut senesens,
- Embriyonik senesens,
- Kronik senesens.

Akut senesens, doku hasarı, yara iyileşmesi veya tümör oluşumu gibi belirli streslere yanıt olarak ortaya çıkar. Bu süreç, doku homeostazının korunması için gereklidir. Yara iyileşmesinde CCN1 proteini tarafından indüklenen miyofibroblast senesensi (Jun ve Lau, 2010), plasentada HLAG ile indüklenen nötrofil senesensi (Rajagopalan, 2014) ve neoplastik lezyonlarda onkogen ile indüklenen senesens (OIS) (Dhomen ve

ark., 2009) dahil olmak üzere doku homeostazı için gerekli olan ayrı streslere yanıt olarak meydana gelir.

Embriyonik senesens, gelişim sürecinde gerek olmayan dokuların gelişimini durduran ve ortadan kalkmasında rol oynayan faydalı bir süreçtir. Embriyonik senesens, klasik olarak yaşlanma ile ilişkili olan senesens modelinden farklı bir süreçtir. Bu süreçte, p21 veya p15Ink4b gibi proteinler tarafından hücre döngüsü duraksaması gerçekleşir ve p16Ink4a'nın katılımı olmadan doku şekillenmesi yönlendirilir (Muñoz-Espín ve ark., 2013; Storer ve ark., 2013). Bu durum, kanonik senesensin genellikle hücre hasar veya stres sonucu oluşmasının aksine, embriyonik gelişimin normal bir parçasıdır. p16Ink4a'nın embriyonik senesens sırasında gerekli olmamasının nedeni, farklı hücre tiplerinde farklı düzenleyici mekanizmaların işlemesidir. Hem akut hem de embriyonik senesens hücreleri, organizma için faydalı olabilir ve bağışıklık sistemi tarafından apoptoz veya fagositoz gibi mekanizmalarla programlanmış bir şekilde ortadan kaldırılabilir. Bu süreç, embriyonik gelişimin düzgün ilerlemesi ve organizmanın hayatta kalması için önemlidir.

Kronik senesens, hücrelerin uzun süreli maruz kaldığı stresler sonucu gelişen bir yaşlanma sürecidir. Proteinlerin yanlış katlanması, DNA hasarı ve telomer kısalması gibi çeşitli makromoleküler hasarlar, hücrelerin normal fonksiyonlarını yerine getirmesini engelleyerek senesense yol açar. Bu süreç, normal yaşlanmanın yanı sıra bazı hastalıkların da patogeneğinde önemli bir rol oynar. Terapiyle indüklenen senesens ise kanser gibi hastalıkların tedavisinde kullanılan radyoterapi ve kemoterapi gibi yöntemlerin bir yan etkisi olarak ortaya çıkar. Bu tedaviler, kanser hücrelerini öldürmenin yanı sıra sağlıklı hücrelerde de önemli ölçüde hasara neden olarak erken yaşlanmaya yol açabilir. Özellikle kanserden sağ kurtulularda sıklıkla gözlemlenen yorgunluk, saç dökülmesi gibi sorunlar, terapiyle indüklenen senesensin bir sonucu olabilir (Marcoux ve ark., 2013; Ness ve ark., 2015).

Hem kronik hem de terapiyle indüklenen senesens, hücrelerde ortak bir mekanizma olan makromoleküler hasar üzerinden gerçekleşir. Bu nedenle, senesensi hedef alan yeni tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi, yaşa bağlı hastalıkların ve kanser tedavisinin yan etkilerinin azaltılması için önemli bir araştırma alanıdır.

Senesens ve apoptoz, her ikisi de hasarlı veya potansiyel olarak zararlı hücreleri ortadan kaldırmak amacıyla evrimleşmiş, temel hücresel süreçlerdir. Bu nedenle, kanser ve yaşlanma gibi hücresel hasarın birikimiyle karakterize durumlar için oldukça önemli mekanizmalardır. Senesens, özellikle, hasarlı DNA veya onkojenik sinyaller gibi streslere yanıt olarak hücrelerin büyümeyi durdurdurur ve senesentetik hücreler yaşlanmayla beraber hücrede birikir. Bu durum, kanser gelişimini önlemek için önemli bir bariyer oluşturur (Muñoz-Espín ve Serrano, 2014).

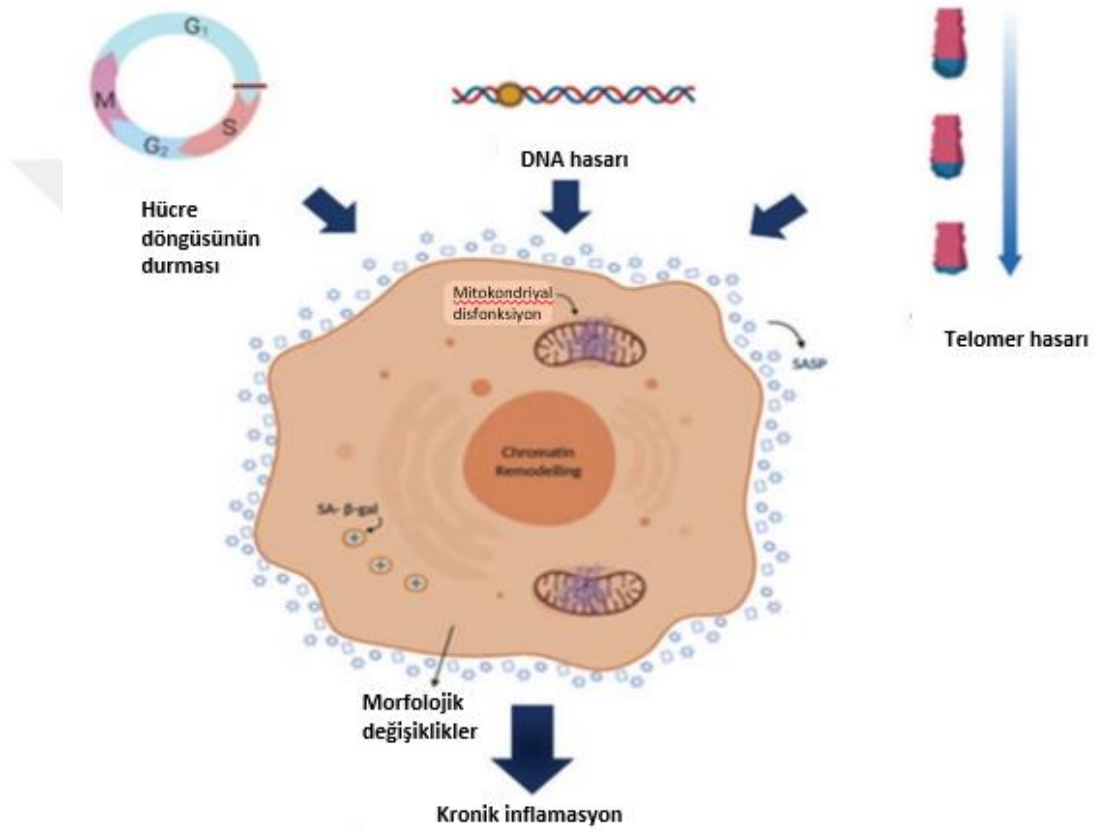
Senesensi tetikleyen faktörler ve bu sürecin moleküler mekanizmaları, hücre tipinin ve çevresel koşulların karmaşık etkileşimleri sonucu oldukça çeşitlilik gösterebilir. Bu durum, farklı hücrelerde senesensin farklı yollarla ve farklı hızlarda gerçekleşmesine neden olabilir.

Yaşlanma, kanser ilerlemesine karşı koyar; kanser gelişiminin erken evrelerinde koruyucu bir mekanizma olarak görev yapar. Kanser oluşumunda, onkojenik sinyallerin yoğunluğu zamanla artar ve belirli bir eşiğe ulaştığında p16 ve p53 gibi tümör baskılayıcı genler aktive olur. Bu durum, hücre döngüsünü durdurarak hücrelerin yaşlanmasına neden olur ve böylece tümör oluşumunu engeller. Bu nedenle, yaşlanma, adenom, tümör in situ gibi iyi huylu tümörlerin erken evrelerinde sıklıkla gözlemlenir (Collado, Blasco ve Serrano, 2007). Bu sonuçlar; yaşlanmanın, doku hasarını onarırken aynı zamanda kansere karşı bir savunma mekanizması olarak işlev gördüğünü göstermektedir.

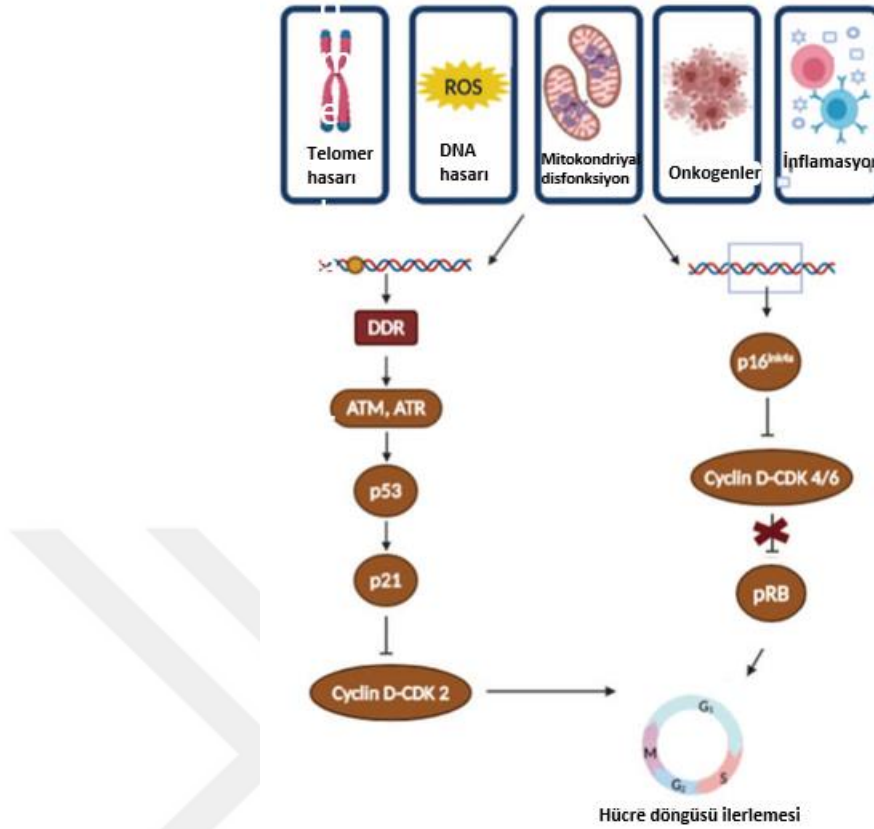
Uzun süre senesens durumunda kalan hücrelerin, *hTERT* lokusunun baskılanmasının kaldırılması, (Patel ve ark., 2016) demetilazların aşağı düzenlenmesi, (Yu ve ark., 2018; Zampetidis ve ark., 2021) topolojik olarak ilişkili alanların (TAD'ler) yeniden düzenlenmesi (Zampetidis ve ark., 2021) ve kök hücreyle ilişkili yeniden programlamayı içeren mekanizmalarla çoğalmaya devam edebileceğini ve kanser hücrelerinin özelliklerini geliştirebileceğini göstermiştir (Milanovic ve ark., 2018).

β -gal boyama, DNA hasar yanıtının aktivasyonu için bir belirteç olan γ H2AX gibi ek belirteçler için boyama ile kombine edilebilir. Ek olarak, senesentetik hücrelerde bulunmaması gereken negatif belirteçler, senesentetik olmayan hücreleri dışlamak için kullanılabilir. Bu belirteçler, Ki67 veya BrdU katılımı gibi hücre proliferasyonunu

veya senesentetik hücrelerden salgılanan ve bu nedenle çekirdeklerinde bulunmayan HGMB1 gibi proteinleri gösterir (Davalos ve ark., 2013). β -gal ve diğer belirteçlerin ardışık bölümlerde ayrı ayrı değerlendirilmesi, zahmetli ve pahalı bir prosedür olmasının yanı sıra, aynı hücre içinde birden fazla senesens biyobelirtecinin tespit edilmesine izin vermez ve dokulardan türetilen senesentetik hücrelerin kantitatif değerlendirilmesi olasılığını sınırlar.



Şekil 2.3: Yaşlanmanın temel bir göstergesi senesens (Maduro, Luís ve Soares, 2021).



Şekil 2.4: Senesensle bağlantılı proliferasyonun baskılanmasında rol alan sinyal yolları (Maduro, Luís ve Soares, 2021)

2.2. Senesens Çeşitleri

2.2.1. Replikatif Senesens

Hayflick ve Moorhead (Hayflick ve Moorhead, 1961) tarafından keşfedilen ilk senesens çeşidi olan replikatif senesens, hücrelerin bölünme sayısının sınırlanmasıyla ortaya çıkar. Replikatif senesens, hücreleri hem çoğalmayı uyaran mitojenlere hem de programlanmış hücre ölümünü tetikleyen apoptotik sinyallere karşı dirençli hale getiren, geri dönüşü olmayan bir hücre döngüsü durması durumudur (Muñoz-Espín ve Serrano, 2014; Sharpless ve Sherr, 2015). Hücre her bölündüğünde telomerleri kısalır ve kritik bir uzunluğa ulaştığında DNA hasarı tepkisi (DDR) tetiklenir. Bu durum, hücrenin senesense girmesine ve tümör oluşumunun önlenmesine yol açar (Collado, Blasco ve Serrano, 2007). Benzer şekilde, onkogenlerin veya tümör baskılayıcı genlerin aktive veya inaktive olması gibi genetik değişiklikler de DDR'ı tetikleyerek senesensi başlatabilir. Özellikle p53 ve p16 veya p21 gibi tümör baskılayıcı proteinlerin aktivasyonu, bu süreçte önemli bir rol oynar. Onkogen kaynaklı bu

senesens ilk olarak HRAS geni için ve daha sonra PTEN, MYC, BRAF, TP53, RAC1 gibi birçok gende (Gorgoulis ve Halazonetis, 2010) meydana gelen mutasyonlar, onkogen kaynaklı senesensi tetikleyebilir. Bu mekanizma, tümör oluşumunun erken evrelerinde etkili bir koruyucu sistem olarak görev yapar.

Replikatif senesens, p53 proteininin yanı sıra, p21, RB (Retinoblastoma) tümör baskılayıcı gen ailesi ve onların sinyal ortağı olan p16INK4A (RB genlerinin 5' ucunda görev alan siklin bağımlı kinaz inhibitörü) tarafından da düzenlenir. p53 ve RB-p16INK4A yolları, insan hücrelerinde senesens mekanizmasında kritik öneme sahiptir (Kuilman ve ark., 2010). Bu replikasyon sınırının nedenlerinden biri telomer kısalmasıdır. Telomerler, her hücre bölünmesi sonucu kademeli olarak azalan ve tüm kromozomların sonunda bulunan TTAGGG nükleotidinin ardışık tekrarıdır (Hemann ve Greider, 1999).

Hücrel senesens, hücre döngüsüyle ilişkilidir. Kısalan telomerler kritik bir uzunluğa geldiğinde, hücre döngüsünün G₁'den S fazına kadar kontrol noktalarını düzenlemede rol oynayan p53/siklin E/CDK2/RB yolları aracılığıyla hücre proliferasyonun durmasına neden olan DNA hasar cevabını (DDR) indükler. Telomer kısalması sağlıklı hücrelerde geri dönülmez ve onarılmaz olduğu için, bu olay senesensi indükler (Wyld ve ark., 2020).

2.2.2. Strese Bağlı İndüklenen Prematür Senesens (SIPS)

UV ışınları, hidrojen peroksit, kemoterapötik ilaçlar, iyonizan radyasyon gibi çeşitli hücrel stresler replikatif senesense benzer bir duruma, uyarılmış senesense (SIPS) yol açabilir. Her iki durumda da hücre bölünmesi durur ancak SIPS, telomer kısalması yerine, hücrenin dışarıdan gelen zararlı uyaranlara verdiği bir tepkidir. Replikatif senesens, telomerlerin kritik bir uzunluğa ulaşmasıyla tetiklenen programlı bir süreçken, SIPS, bu tür bir telomer disfonksiyonu olmaksızın ortaya çıkar (Russell ve ark., 2006; Suzuki ve Boothman, 2008).

2.2.3. Onkogene Bağlı Senesens (OIS)

Sağlıklı hücreler birçok onkogenin aktivasyonuna hücrel senesens geçirerek yanıt verir. Onkogenlerin aktivasyonu, hücrelerde proliferatif stres ve senesens

indüksiyonuna yol açarak tümör gelişimini sınırlar. Bu mekanizma, 'onkogen kaynaklı senesens' (OIS) olarak adlandırılır ve kanser gelişimini engelleyen önemli bir fizyolojik bariyer oluşturur. OIS'nin ilk deneysel kanıtı, insan fibroblastlarında onkogenik HRAS^{G12V}'nin aşırı ekspresyon deneylerinden geldi ve bu da kalıcı bir hücre döngüsü durmasıyla sonuçlandı (Courtois-Cox ve ark., 2006), HRAS^{G12V} aşırı ekspresyonuna p19^{ARF}, Pml, p53, retinoblastoma ve p16^{INK4a}'nın eş zamanlı yukarı regülasyonu ile ilişkilidir (Serrano ve ark., 1997; Palmero, Pantoja ve Serrano, 1998) ve bu genlerin inaktivasyonu HRAS^{G12V} kaynaklı hücre yaşlanmasının önlenmesinde rol oynar. Benzer şekilde, c-MYC, E1A veya DRIL1 gibi onkogenlerin koekspresyonu RAS^{G12V} kaynaklı yaşlanmayı atlatır (Peeper ve ark., 2002). HER2, EGFR ve PI3K gibi ek büyüme faktörü reseptörlerinin aşırı aktivasyonu da birincil ve tümör hücrelerinde yaşlanmayı tetikleyebilir ve bunların sinyalleme SASP'yi değiştirir (Angelini ve ark., 2013; Garbers ve ark., 2013). Onkogen kaynaklı senesens, başlangıçta insan fibroblastlarında onkogenik bir RAS formu ifade edildiğinde gözlemlendi (Serrano ve ark., 1997). Onkogenik stres altında, hücreler telomer kısalmasından bağımsız olarak akut bir senesens sürecine girebilir. Bu, tümör oluşumunu önlemek amacıyla aşırı onkogen ekspresyonuna karşı bir savunma mekanizmasıdır (Braig ve Schmitt, 2006). Onkogenik sinyallerle karşı karşıya kalan hücreler senesensi indükler ve hücre senesensin bozulması tümör gelişmesine yol açar. SV40 large T antijeni (LT), HPV onkoproteinleri E6 ve E7 gibi faktörler, p53 ve Rb gibi tümör baskılayıcı proteinleri inhibe ederek bu senesens mekanizmasını bozabilir. Bu durum, hücre senesensin yetersiz kaldığı durumlarda premalign lezyonların ve nihayetinde tümörlerin oluşmasına zemin hazırlar (Jha ve ark., 1998; Dimri, 2005). Tümör baskılayıcı PTEN (Alimonti ve ark., 2010) NF1 (nörofibromin) genlerin veya von Hippel-Lindau hastalığı (VHL) (Young ve ark., 2008) kaybı da senesensi tetikleyebilir. Bu durum, onkogenlerin aşırı aktifleşmesiyle benzer bir şekilde, hücrenin kontrolsüz büyümesini önleyici bir mekanizma olarak çalışır. Onkogen kaynaklı senesensin canlı organizmalarda gerçekleştiği ve tümör oluşumunu erken evrelerde engellediği gösterilmiştir. Bu süreç, CDKN2A lokusunun baskılanmasının ortadan kaldırılmasıyla karakterize edilir (Gil ve Peters, 2006; Kim ve Sharpless, 2006). Ayrıca, anormal DNA replikasyonu (Bartkova ve ark., 2006; Di Micco ve ark., 2006) ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) (Passos ve ark., 2009;

Debacq-Chainiaux ve ark., 2010) artışı gibi mekanizmalar da onkogen kaynaklı senesensi tetikleyebilir.

2.2.4. Oksidatif Stres ile İndüklenen Senesens

Hücreler, oksidan ajanlara maruz kaldıklarında veya oksijen yetersizliği (hipoksi) gibi stres koşullarında tutulduğunda, mitokondriyal fonksiyon bozulur ve erken yaşlanma (prematüre senesens) gözlenir (von Zglinicki ve ark., 1995; Chen ve ark., 2001). Oksidatif stres ile indüklenen senesens, hücrelerin reaktif oksijen türlerinin birikimi nedeniyle geri dönüşü olmayan proliferasyon arrestine uğramasıdır. Bu süreç hem normal yaşlanma hem de çeşitli patolojik durumlarda önemli bir rol oynar. Bu süreçte, oksidatif stresin tetiklediği p53 ve pRB gibi tümör baskılayıcı proteinlerin aktivasyonu, prematüre senesensi hızlandırıcı önemli bir mekanizmadır (Liu ve Xu, 2011; Estrada ve ark., 2013).

2.2.5. Epigenetik Olarak İndüklenen Senesens

Epigenetik olarak indüklenen senesens, gen ifadesinde DNA sekansında değişiklik olmadan meydana gelen kalıtsal değişikliklerin (epigenetik modifikasyonların) neden olduğu hücresel yaşlanma sürecidir. Bu senesens formu, çevresel faktörlerin ve yaşlanmanın hücre fonksiyonlarını nasıl etkilediğini açıklayan kritik bir mekanizmadır. DNA metilaz (5-aza-20-deoksisitidin) ve histon deasetilaz (suberoilanilid hidroksamik asit ve sodyum butirat) inhibitörlerinin epigenomda değişikliklere yol açarak hücreleri senesense sürükleyebilir (Petrova ve ark., 2016).

2.2.6. Mitokondriyal Disfonksiyonla İlişkili Senesens (MiDAS)

Mitokondriyal disfonksiyon olarak bilinen, mitokondrilerin normal işlevlerini yerine getirememesi durumu, hücresel yaşlanmayı tetikleyen önemli bir faktördür. Bu süreçte, yaşlanan hücreler, çevrelerine zararlı etkileri olan çeşitli maddeler (SASP) salgılar, bu tip senesense öne çıkan özelliğin bu olduğu düşünülmektedir.(Wiley ve ark., 2016).

2.2.7. Kemoterapiye Bağlı Senesens

Kanser tedavisinde kullanılan bleomisin, doksorubisin gibi DNA hasar indükleyiciler veya abemaciclib, palbociclib gibi kemoterapötik ajanlar hücresel senesensi

indükleyebilir (Petrova ve ark., 2016). Bu ilaçlar, sitotoksisite olmadan p21 proteininin upregülasyonu ve hücre proliferasyonunun durmasına neden olarak senesensi tetikler (Bojko ve ark., 2019). Yapılan çalışmalarda doksorubisin, irinotekan, metotreksat, 5-florourasil, oksaliptatin veya paklitaksel gibi ilaçların A549, SH-SY-5Y, HCT116, MDA-MB-231 ve MCF-7 gibi farklı kanser hücre hatlarında senesensi indüklediği gösterilmiştir (Bojko ve ark., 2019). Doksorubisin, irinotekan ve metotreksat en güçlü senesens indükleyicisi olurken; paklitaksel orta etkiye sahip olduğu ve oksaliptatin ve 5-florourasil senesense neden olmadığı gösterilmiştir (Bojko ve ark., 2019). Doksorubisin gibi kemoterapötik ajanlar, kanser hücrelerinde DNA hasarını indükleyerek ve reaktif oksijen türleri (ROS) üretimini artırarak antitümör aktivite gösterirler (Gewirtz, 1999). DNA hasarının ve toplam ROS üretiminin derecesi, hücre ölümüne, G1 veya G2 hücre döngüsü durmasına veya senesense neden olabilir (Lu ve Finkel, 2008).

2.2.8. Desidual Senesens

Desidualizasyon,

- (1) endometrial fibroblastların desidual hücrelere transdiferansiyasyonu ;
- (2) endometrial stromanın kapsamlı yeniden şekillenmesi;
- (3) maternal-fetal çapraz konuşmayı düzenleyen çok çeşitli moleküllerin üretimi;
- (4) anjiyogenez , embriyoya besin kaynağı görevi gören kapsamlı bir kan damarı ağı oluşturma;
- (5) maternal-fetal arayüzde bağışıklık düzenlemesine ve plasentasyon sırasında endometrial kan damarlarının yeniden şekillenmesine katkıda bulunan geniş ve seçici bir uterus doğal öldürücü (uNK) hücresi akışı ile karakterize edilir (Favaro, Abrahamsohn ve Zorn, 2014).

Desidual senesens uterinal siklusun sekretuar fazında, yani döllenmiş yumurtanın rahime yerleşmeye hazırlandığı dönemde, desidualizasyon süreciyle birlikte başlayan doğal bir senesens durumudur (Deryabin ve ark., 2020). Bu süreçte görülen senesentetik desidual hücreleri ortama çağırılan immün hücreler vasıtasıyla temizlenir,

böylece ortamın enflamatuvar dengesinin de korunmasında rol oynar. Senesentetik hücrelerin kısa zamanlı varlığı ve ardından temizlenmesi, doku iyileşmesinde önemli bir rol oynar. Bu süreç, pro-enflamatuvar fazın sonlanıp anti-enflamatuvar fazın başlamasını tetikler (Lucas ve ark., 2020). Uterinal siklusun proliferatif evresindeki hızlı endometrial büyümesi, bazı endometriyal stromal hücrelerde replikatif strese yol açar. Bu stres altındaki hücreler, sekretuvar evrede olgun desidual hücrelere değil, senesentetik desidual hücrelere dönüşür. Bu senesentetik hücreler kısa ömürlüdür ve uterus doğal öldürücü (uNK) hücreleri tarafından temizlenir. Strese dirençli stromal hücreler ise olgun desidual hücrelere dönüşerek ve IL-15 salgılayarak uNK hücrelerini ortama çeker. Böylece senesentetik hücrelerin temizlenmesi sağlanır (Brighton ve ark., 2017; Remziye KATIRCI, 2024). Senesentetik hücre sayısındaki artış ve bu hücrelerin ortamdan temizlenmemesi sonucunda erken doğuma yol açar. Bu yüzden senesentetik hücrelerin bu yönünden dolayı desidual senesense literatürde ‘iki ucu keskin kılıç’ denilmektedir (Marquez, Ibana ve Velarde, 2017).

2.2.9. Terapi Kaynaklı Senesens (TIS)

Hücresel yaşlanma, DNA hasarı, telomer kısalması, oksidatif stres, endoplazmik retikulum stresi, interferon yanıtları ve iyonize radyasyon gibi çeşitli stresörlere maruz kalmanın bir sonucu olarak ortaya çıkabilir (Packer ve Fuehr, 1977; Chen ve ark., 1995; Campisi ve D’Adda Di Fagagna, 2007; Acosta ve ark., 2008). UV, γ -ışınlaması, tert-bütül hidroperoksit (Acosta ve ark., 2008) veya antikanser kemoterapi ajanları (Sanchez-Prieto ve ark., 2000; Benhar, Engelberg ve Levitzki, 2002; Caldwell ve ark., 2011) gibi DNA hasarı ajanlarıyla uygulanan tedavinin hem normal hücrelerde hem de kanser hücrelerinde senesense neden olduğu bilinir; bu fenomene "terapi kaynaklı yaşlanma" (TIS) denilir (Chang ve ark., 2002; Courtois-Cox, Jones ve Cichowski, 2008; Ewald ve ark., 2010; Soto-Gamez ve Demaria, 2017; Vanpouille-Box ve ark., 2018). TIS, kanser çoğalmasını durdursa da normal hücrelerde senesens sürecini hızlandırır. TIS, replikatif yaşlanma ve stres kaynaklı yaşlanmayı birbirinden ayırmak oldukça zordur çünkü isimlendirme yalnızca hücreleri yaşlı bir fenotipe yönlendirebilecek farklı uyaranların spektrumunu yansıtır. Kanser tedavilerinde klinik kullanımda olan çeşitli ilaçlar TIS'ye aracılık edebilir; bunlara docetaxel, bleomycin,

siklofosfamid, doksorubisin, vinkristin, etoposid ve sisplatin dahildir (Ewald ve ark., 2010).

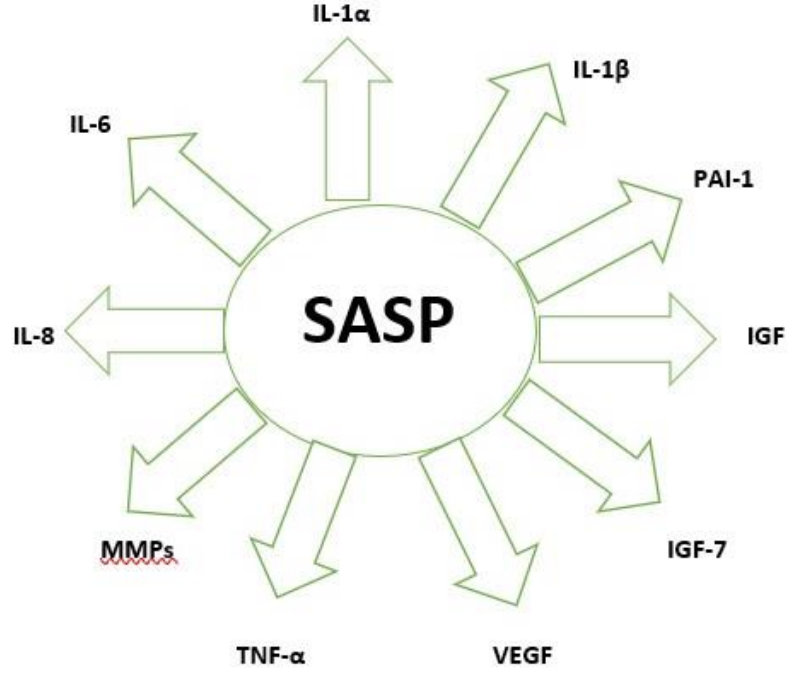
2.3. Senesens İlişkili Salgı Fenotipi (Senescence-Associated Secretory Phenotype-SASP)

SASP, karmaşık ve çok yönlü biyolojik aktivitelere sahiptir. SASP bileşenleri arasında yer alan büyüme ile ilişkili onkogenler ve amfiregulin gibi faktörler, çevredeki hücrelerin proliferasyonunu uyarmada rol oynar. Aynı zamanda, vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) gibi anjiyogenik proteinler aracılığıyla yeni kan damarlarının oluşumu desteklemede görev alır. Bu özellikleriyle SASP hem fizyolojik hem de patolojik süreçlerde önemli roller üstlenmektedir (Campisi, 2013). Aynı zamanda, bazı SASP faktörleri duyarlı hücrelerde epitelden mezenkimale geçişi tetikler. Bu nedenle, SASP faktörleri çoğalmasını ve farklılaşmasını değiştirebilir veya kök hücre nişlerini değiştirebilir (Coppé ve ark., 2010); Bunlara ek olarak, birçok SASP bileşeni doğrudan veya dolaylı olarak iltihabı teşvik eder; bu da hücre senesensin, yaşlanma ve yaşa bağlı hastalıklarda rolü açısından kritik bir öneme sahiptir. Bu faktörler arasında IL-6 ve IL-8 gibi sitokinler, inflamasyonun başlangıcında önemli bir rol oynarken, monosit kemotaktik proteinleri ve makrofaj inflamatuvar proteinleri gibi faktörler, immün yanıtı yönlendirir ve mikroçevreyi değiştiren güçlü etkilere sahiptir. Ayrıca, granülosit-makrofaj koloni uyarıcı faktör (GM-CSF) gibi proteinler hem hematopoietik hücreleri hem de immün hücrelerin fonksiyonlarını etkileyerek inflamasyonu daha da tetikleyebilir. Bu ve benzeri proteinlerin senesentetik hücreler tarafından salgılanmasının, en azından lokal ve muhtemelen sistemik olarak kronik inflamasyona neden olması düşünülmektedir (*Hücre senesens: Nedir, Neden ve Nasıl*, no date)

Yaşlanan hücre fenotipi sadece hücre çoğalmasının durmasıyla sınırlı değildir. Aslında, yaşlanan bir hücre metabolik olarak aktif olan ve protein ekspresyonu ve salgılanmasında geniş çaplı değişiklikler geçirmiş ve sonunda SASP'nin gelişimine yol açmış, potansiyel olarak kalıcı bir hücredir. Genç sağlıklı dokularda, SASP salgılanması genellikle geçicidir ve doku homeostazının korunmasına veya yeniden sağlanmasına yardımcı olur (Neves ve ark., 2015). Ancak, yaşlanmayla birlikte yaşlanan hücrelerin sayısındaki artış ve kronik bir SASP'nin kronik inflamasyon,

tümör oluşumu ve bozulmuş kök hücre yenilenmesi dahil olmak üzere yaşlanmanın birçok patolojik özelliğinin temel itici gücü olduğu düşünülmektedir (Neves ve ark., 2015; Tominaga, 2015).

SASP, ilk tanımlandığında, pro-inflamatuar sitokinler, proteazlar, proteaz inhibitörleri ve büyüme faktörleri gibi sınırlı sayıda molekülü belirlemek için kullanılan antikor tabanlı yöntemlerle gösterilmiştir. Kullanılan yöntemlerin sınırlılıkları nedeniyle, SASP'nin tüm bileşenlerini ve işlevsel çeşitliliğini detaylı bir şekilde ortaya koymak her zaman mümkün olmamaktadır (Acosta ve ark., 2008; Coppé ve ark., 2008; Kuilman ve ark., 2008; Rodier ve ark., 2009). SASP, zaman içerisinde dinamik bir şekilde gelişen bir süreçtir (Coppé ve ark., 2008). Hücreler, senesens indükleyici bir uyarana maruz kaldıktan yaklaşık 5 gün sonra tam bir SASP fenotipi kazanırken, hücre büyümesinin durması genellikle hasardan 24 saat sonrasında gerçekleşir. Bu kademeli süreç, farklı hücre tiplerinde ve çeşitli senesens indükleyicileri altında benzer şekilde gözlenir. Özellikle, p53 mutasyonları veya onkogenlerin aktivasyonu gibi genetik değişiklikler, SASP'nin daha hızlı gelişmesine neden olur. Bu bulgu, SASP'nin genotoksik strese karşı hücrenin geliştirdiği spesifik bir cevap olduğunu düşündürmektedir. SASP, genellikle genomik hasar, epigenetik bozulmalar veya bu gibi faktörlerin yol açtığı yaşlanma sürecinde gözlenen bir hücresel yanıt olarak ortaya çıkar. Sadece p21 veya p16^{INK4a} gibi belirli tümör baskılayıcı genlerin yapay olarak aşırı ifade edilmesiyle yaşlandırılan hücreler, yaşlanmanın bazı özelliklerini gösterebilir de, tipik SASP profilini sergilemezler (Coppé ve ark., 2011). Bunun aksine, DNA hasarı, telomer kısalması, epigenetik değişiklikler, mitojenik sinyaller ve oksidatif stres gibi çeşitli yaşlanma tetikleyicileri, hücrelerde farklı niteliklerde ve daha güçlü bir SASP yanıtını tetikler. Kanser, kronik inflamasyon ile sıkı bir ilişki içindedir (Grivnikov, Greten ve Karin, 2010). Yaşlanan hücrelerden salınan SASP'nin önemli bir bileşeni olan inflamatuvar sitokinler, bu bağlamda yaşa bağlı kanser gelişimini tetikleyebilir ve ilerletebilir. Ayrıca, IL-6 ve IL-8 gibi proinflamatuvar sitokinler, epitelden mezenkimale geçiş gibi invaziv özelliklerin kazanılmasına katkıda bulunur. Bu mekanizmalar, SASP'nin yaşa bağlı kanser riskini artıran önemli bir faktör olduğunu göstermektedir (Coppé ve ark., 2008; Young ve Narita, 2009).



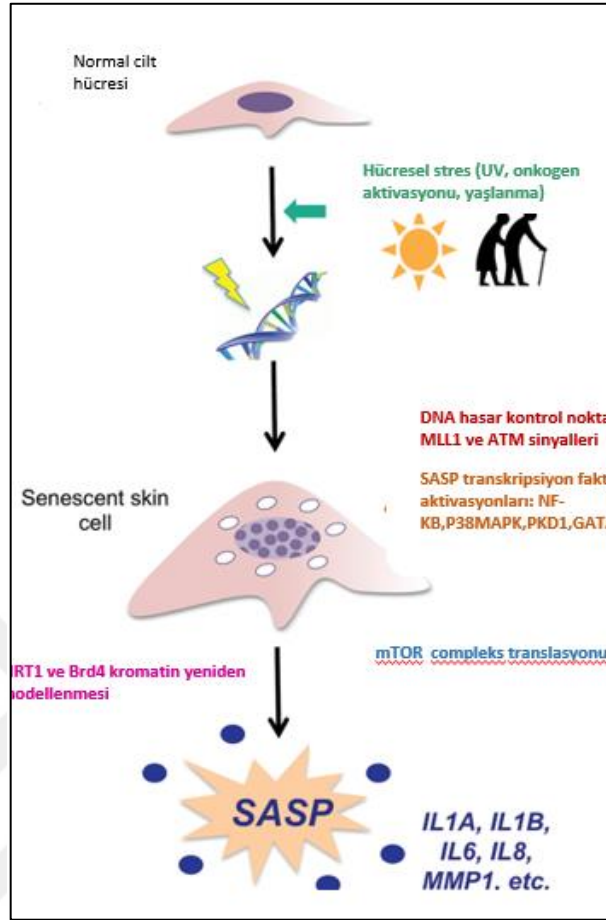
Şekil 2.5: SASP Örnekleri

SASP'nin temel unsurları, proinflamatuar sitokinler olan interlökin-6 (IL-6), interlökin-8 (IL-8) ve interlökin-1α'dır (IL-1α). IL-8 reseptörü CXC motif kemokin reseptörü 2'ye (CXCR2) bağlanan CXCL-2, CXCL-3 ve CXCL-5 gibi ek kemokinler, OIS'de SASP'nin önemli bileşenleridir. CCL-2 (MCP-1), CCL-20 (MIP-3α), CCL-7 (MCP-3), CXCL-4 (PF-4), CXCL1 (Gro-α) ve CXCL-12 (SDF-1), OIS ve replikatif senesens geçiren hücrelerin SASP'sinde tanımlanmıştır (Coppé ve ark., 2010). Senesentetik hücreler ayrıca insülin benzeri büyüme faktörü (IGF) yolunu modüle edebilen birçok insülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein (IGFBP) gibi büyüme faktörleri salgılar. SASP'nin önemli unsurları arasında, IL-8, IL-1, VEGF ve diğer CXCL/CCL ailesi kemokinlerini parçalayabildikleri için, senesensin düzenleyici unsurları olarak da hareket edebilen MMP-1 ve -3 gibi matris metalloproteinazlar (MMP'ler) da bulunur (Coppé ve ark., 2010).

SASP salgısının bir diğer önemli düzenleyicisi, bromodomain ve ekstraterminal domain (BET) ailesinin bir üyesi olan bromodomain içeren protein 4 (BRD4)'tür. BRD4, senesens salgısını pozitif yönde düzenlerken aynı zamanda senesens bağışıklık temizliğini de destekler. SASP'nin düzenlenmesinde rol oynayan bir diğer faktör ise, bazı dokularda sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü 3 (STAT3)'tür.

Gerçekten de, JAK yolunun inhibisyonu, bu faktörlerin negatif bileşenlerini ortadan kaldıran SASP'nin yeniden programlanmasıyla sonuçlanır (Toso ve ark., 2014). SASP aracılığıyla, senesentetik hücreler parakrin mekanizmalar yoluyla doku mikroçevresini etkileyebilir (Di Mitri ve Alimonti, 2016). Yaşamın erken dönemlerinde yararlı ancak ilerleyen dönemlerde zararlı olabilecek süreçler olabilir. Hücresel yaşlanma, yaşamın erken dönemlerinde kanser gelişimini baskılayan ancak yaşamın ilerleyen dönemlerinde yaşlanmayı ve yaşa bağlı patolojiyi yönlendiren evrimsel antagonistik pleiotropinin bir örneği olabilir

Bu aktiviteler, yaşlı hücrelerin doku mikro çevresini değiştirebileceği güçlü mekanizmalar sağlar (Coppé ve ark., 2010). SASP yara iyileşmesi için de önemlidir (Demaria ve ark., 2014). SASP genlerinin transkripsiyonu epigenetik mekanizmalarla kontrol edilir. Örneğin, histon deasetilaz SirT1 seviyeleri senesens sırasında azalır. Bu durum, promotör bölgelerindeki histon asetilasyonunun artmasına ve sonuç olarak sitokinler olan interlökin-6 (IL-6) ve interlökin-8 (IL-8) ifadesinin artmasına neden olur (Hayakawa ve ark., 2015). Ayrıca, matris metalloproteinazların (MMP'ler), kemokin reseptörlerinin (örneğin CXCR2), sitokinlerin (örneğin IL-6 ve IL-8) (Kuilman ve ark., 2010; Acosta ve ark., 2013; Çınar ve ark., 2020) ve insülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein 7'nin (IGFBP7) (Wajapeyee ve ark., 2008) varlığı, *in vitro* koşullarda yaşlanan dermal fibroblastlar ve melanositler için belirteç olarak kullanılmaktadır.

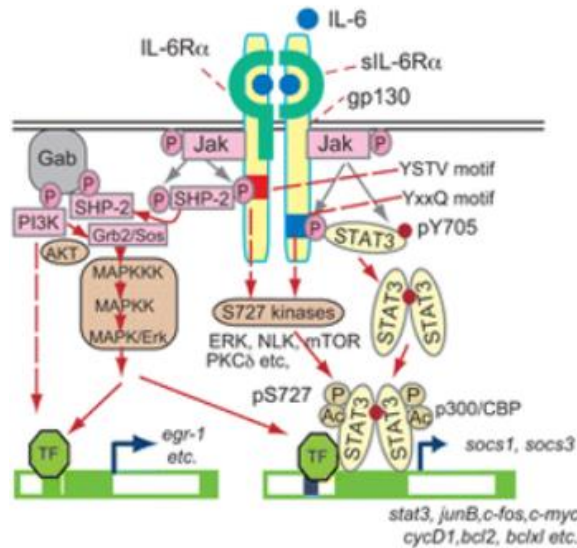


Şekil 2.6: SASP farklı seviyelerde düzenlenir (Ghosh ve Capell, 2016).

2.3.1. İnterlökin-6 (IL-6)

SASP'nin en belirgin sitokinlerinden biri, pleiotropik proinflamatuvar bir sitokin olan interlökin-6'dır. Yapılan çalışmalar, IL-6'nın fare ve insan keratinositleri, melanositleri, monositleri, fibroblastları ve epitel hücrelerinin DNA hasarı ve onkojenik stres kaynaklı yaşlanma süreçleriyle ilişkili olduğu yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur (Coppé ve ark., 2008; Kuilman ve ark., 2008). IL-6'nın ekspresyonu, p53 yolaklarından bağımsız olarak, DNA hasarına yanıt veren ATM ve CHK2 gibi proteinler tarafından doğrudan regüle edilir (Rodier ve ark., 2009). Bu durum, IL-6 salgılanmasının DNA hasarı ile güçlü bir ilişkili içerisinde olduğunu gösterir. Salgılanan IL-6, hücre yüzeyinde IL-6R gp80 ve gp130 reseptörlerini taşıyan tiplerini epitel, endotel gibi çeşitli hücre tiplerini vb. etkileyerek, yaşlanma sürecini çevre dokulara da yayabilir (Coppé ve ark., 2010). IL-6, temel olarak proinflamatuvar bir sitokin olarak tanımlansa da, belirli koşullar altında anti-inflamatuvar özellikler de

gösterebilmektedir. IL-6 reseptörü (sIL-6R) aracılığıyla gerçekleşen trans-sinyalleme mekanizması, IL-6'nın klasik reseptöre sahip olmayan hücrelerde de etki göstermesini sağlayarak daha geniş bir hücre yelpazesinde proinflatuar ve profibrotik süreçleri indüklemesine neden olur (Baran ve ark., 2018). Bu bağlamda IL-6, sitokin üreten hücrelerden komşu hücrelere inflammatuar sinyalleri yayarak çeşitli stres faktörleri tarafından aktive edilen, kendi kendini besleyen bir döngü oluşturabilir ve bu süreç DNA hasarı gelişimine neden olur (Rodier ve ark., 2009; Fang ve ark., 2014; Storci ve ark., 2019). Senesense giren cilt hücreleri tarafından salgılanan SASP, özellikle IL-6 gibi inflammatuar sitokinlerin plazma düzeylerinde yaşla birlikte artışa neden olabilir. Bu durum, ilerleyen yaşla beraber gözlemlenen kronik inflamasyonun önemli bir nedenidir ve çeşitli dejeneratif hastalıkların yanı sıra kanser riskini de artırabilir (Kiecolt-Glaser ve ark., 2003; Maggio ve ark., 2006; Naugler ve Karin, 2008). Proinflatuar bir sitokin olan IL-6, hem onkogen kaynaklı senesens (OIS) hem de replikatif senesens (RS) geçirmiş hücrelerin senesensle ilişkili sekretuar fenotipinde (SASP) kanonik olarak yukarı regüle edilir (Ghosh ve Capell, 2016).



Şekil 2.7: IL-6 reseptör sistemi ve sinyal iletim yolları (Kojima ve ark., 2013).

2.3.2. İnterlökin-8 (IL-8)

İnterlökin-8 (IL-8), başlıca fibroblastlar, endotel hücreleri ve immün hücreler tarafından salgılanan, güçlü kemotaktik ve proinflamatuvar özelliklere sahip bir sitokindir. Özellikle nötrofil kemotaksisi, anjiyogenez ve inflamatuvar yanıtın düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır (Baggiolini ve Clark-Lewis, 1992). IL-8 antikorları, IL-8'in biyolojik aktivitesini nötralize ederek sitokin hücre yüzeyindeki CXCR1 ve CXCR2 reseptörlerine bağlanmasını engeller. Bu etki sonucunda inflamatuvar hücre göçü, oksidatif stres yanıtı ve sitokin aracılı hücrel aktivasyon baskılanmaktadır (Murphy ve Tiffany, 1991). Hücre kültürü çalışmalarında IL-8'in inhibisyonunun, inflamasyonla ilişkili hücrel hasarın azalmasına ve hücrel morfolojinin korunmasına katkı sağladığı bildirilmiştir (Waugh ve Wilson, 2008). Bu nedenle IL-8 antikorları, inflamasyon ve oksidatif stres temelli hücrel yanıtların incelendiği deneysel çalışmalarda önemli bir düzenleyici ajan olarak kullanılmaktadır.

2.3.3. İnterlökin-1 (IL-1)

Yaşlanan hücreler tarafından ekspresyonunun arttığı gösterilen bir diğer interlökin sinyal yolu IL-1'dir (Garfinkel ve ark., 1994; McLachlan ve ark., 1995). Hem IL-1 α hem de - β , yaşlanan endotel hücreleri (Maier ve ark., 1990), fibroblastlar (Kumar, Millis ve Baguoni, 1992; Palmieri, Watson ve Rinehart, 1999) ve kemoterapi kaynaklı yaşlanan epitel hücreleri (Chang ve ark., 2002) tarafından aşırı ifade edilir ve salgılanır. Bu sitokinler, öncelikle nükleer faktör kappa B'yi tetiklemek ve protein 1 yollarını aktive etmek için hareket eden hücre yüzeyi reseptörleri (IL-1 reseptörü/Toll benzeri reseptör süper ailesi) aracılığıyla komşu hücreleri etkileyebilir (Mantovani ve ark., 2001). IL-1 ailesinden IL-1 α ve IL-1 β , SASP kapsamında daha düşük ekspresyon gösteren faktörlerdir (Coppé ve ark., 2008). IL-1 α , hücrel senesensin, endotel hücrelerinde ve damar sisteminde yaygın olarak kullanılan karakteristik bir belirteçidir (Mariotti ve ark., 2006). Yapılan çalışmalarda IL-1 ekspresyonunun insan fibroblastları senesens geçirdiği zaman arttığı tespit edilmiş ancak senesens yanıtındaki işlevsel rolü hakkında çok az şey bilinmektedir (Kumar, Millis ve Baguoni, 1992).

2.3.4. IGF Yolu

İnsülin benzeri büyüme faktörü (IGF)/IGF reseptör ağı, senesentetik hücrelerin mikroçevreleri üzerindeki etkisine de katkıda bulunabilir. Senesentetik endotel, epitel ve fibroblast hücreler, IGFBP-2, -3, -4, -5 ve -6 (Wang ve ark., 1996; Grillari ve ark., 2000; Coppé ve ark., 2008) ve düzenleyicileri IGFBP-rP1 ve -rP2 ayrıca bağ dokusu büyüme faktörü (CTGF) olarak da bilinir (Lopez-Bermejo ve ark., 2000; Kim ve ark., 2004). Son zamanlarda, birincil fibroblastlarda BRAF onkogeninin aktivasyonunun, komşu hücrelerde senesens ve apoptozu indüklemek için otokrin/parakrin yollarla etki eden IGFBP-7 salgılanmasına yol açtığı gösterilmiştir (Wajapeyee ve ark., 2008). IGF-1 sinyal iletimi, IGF-1 reseptörüne β alt biriminin bağlanmasıyla başlar ve reseptörün IGF-1R β tirozin kalıntılarının fosforilasyonunu tetikler. Bu önemli olayın başlangıcı, hücre içinde çeşitli sinyal kaskadlarının aktivasyonunu sağlar. Bu kaskadlar, hücre döngüsü progresyonu ve protein biyosentezinin düzenlenmesi gibi temel hücresel süreçlerde görev alır.

Yaşlanmayla artan süperoksit anyonlar, IGF-1 sinyal iletim yollarını baskılar. Bu durum, fibroblastların proliferatif kapasitesinin azalmasına ve anormal kolajen birikimine sebep olur (Singh ve ark., 2015). JunB transkripsiyon faktörü IGF-1 promotör aktivasyonunu baskılayarak, hem IGF-1'in hem de PI3K/AKT yolunun aktivitesini azaltır. Sonuç olarak, bu durum deri kök hücrelerinin yapısal ve metabolik nişlerinde bozulmaya ve dolayısıyla deri yaşlanmasının hızlanmasına neden olur (Singh ve ark., 2015).

2.3.5. Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF)

Vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF), bugüne kadar tanımlanmış en güçlü ve etkili anjiyojenik faktörlerden biri olarak kabul edilmektedir VEGF, anjiyogenez sürecinin temel düzenleyicilerinden biridir. Vasküler endotel hücrelerinde VEGF tarafından uyarılma; artmış damar geçirgenliği, hücre proliferasyonu, göçü ve invazyonu ile sonuçlanmaktadır (Dallas ve ark., 2007). VEGF'e (Watanabe ve ark., 1997) maruz bırakılan insan dermal mikrovasküler endotel hücreleri (HDMEC'ler) ile yapılan araştırmalar, anjiyogenez üzerindeki etkisine ek olarak, bunun aynı zamanda senesensin başlangıcını da geciktirebileceğini düşündürmektedir. Senesentetik hücrelerde vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) etkisi ile damar oluşumunda

rol oynayarak dokuda meydana gelen hasar sonrası rejenerasyona teşvik edilir (Coppé ve ark., 2010; Campisi, 2013).

2.3.6. MMP Ailesi

Replikatif veya stres kaynaklı senesens geçiren insan ve fare fibroblastlarında sürekli olarak yukarı düzenlenen MMP ailesi üyeleri stromelisin-1 ve -2 (sırasıyla MMP-3 ve -10) ve kolajenaz-1'dir (MMP-1) (West, Pereira-Smith ve Smith, 1989; Kumar, Millis and Baguoni, 1992; Zeng ve Millis, 1996; Liu ve Hornsby, 2007). Bazı durumlarda, senesentetik hücreler tarafından üretilen MMP-1 ve -3 (Hornebeck ve Maquart, 2003). SASP'de bulunan çözünür faktörlerin aktivitesini de düzenleyebilir. Örneğin, bu MMP'ler MCP-1, -2 ve -4 ve IL-8'i kesebilir (Angus McQuibban ve ark., 2002). SASP'yi oluşturan diğer çeşitli CXCL/CCL ailesi üyeleri de MMP-9, -2 veya -7 tarafından kesilebilir. Bu CXCL ve CCL sitokinleri, lökositler veya tümör hücreleri gibi komşu hücrelerden kaynaklanabilir (Van Den Steen ve ark., 2003). Bu kısır bir döngüye işaret eder. Hücre senesense girer, SASP salgısı başlar, MMP salgısı artar ECM yıkımı başlatılır, doku yapısı ve mekanik bütünlük bozulur ve komşu hücrelerde oluşan stres nedeniyle yeni hücre senesense sürüklenir.

2.4. Senesens ve Kanser

Yaşlanma bir hastalık olmasa da yaşlılık belirli problemler ve bunlara bağlı hastalıklarla ilişkilidir (Pitt ve Kaeberlein, 2015). Kronik yaşlanma sırasında telomer kısalması, UV ve oksidatif stres gibi etkenler dokulardaki erişkin kök/progenitor hücrelerinde DNA hasar birikimine neden olur. P16INK4A, p19ARF, ATM (ataxia-telangiectasia mutated) ve p53 gibi tümör baskılayıcı gen ürünlerinin aktivasyonunun yanı sıra erişkin kök/progenitor hücrelerin rejenerasyon yeteğinde rol oynayan büyüme faktörü sinyal kaskadlarının aşağı regüle edilmesi işlev bozukluklarına yol açar ve senesens, apoptoz gibi yollar indüklenir (Rossi, Jamieson ve Weissman, 2008; Mimeault ve Batra, 2009). Yaşlanma, tümör gelişimini ve ilerlemesini baskılayarak kansere karşı önemli bir koruma mekanizması sunar. Farklı tümör tiplerinde yapılan çalışmalar, yaşlanmanın tümör büyümesini durdurabildiği ortaya koymuştur. Bu güçlü antitümör etkisi, kanser tedavisinde yaşlanmayı artırıcı yöntemlerin geliştirilmesine ışık tutmuştur. 'Prosenesens tedavisi' olarak adlandırılan

bu yenilikçi yaklaşım, kanser hücrelerini senesense sokarak çoğalmalarını engellemeyi amaçlar (Calcinotto ve ark., 2019).

2.5. Çay Ağacı Yağı (Tea Tree Oil)

Bilimsel adı *Melaleuca alternifolia* olan çay ağacı bitkisi 1770 yılında ilk kez Kaptan James Cook tarafından keşfedilmiştir. O zamana kadar çay ağacı bitkisi Avusturalya yerlileri (Aborjinler) tarafından deri enfeksiyonlarını tedavi etmek için kullanılmaktaydı. Çay ağacı yağı, renksiz veya açık sarı renkli ve topraklı baharatlı bir kokuya sahiptir. Çay ağacı yağı, esas olarak Avustralya'nın yerli bitkisi olan *Melaleuca alternifolia*'dan türetilen uçucu bir yağdır (Carson, Hammer ve Riley, 2006; Patri ve Sahu, 2017). 18. yüzyıllarda Avustralya'da bilimsel araştırmalar yapılmıştır. Esansiyel yağ ilk kez 1925'te damıtılmış ve antiseptik, antibakteriyel ve antifungal etkileri dış hekimliği ve tıpta açıklanmış ve yayımlanmıştır. Çay ağacı yağı, özellikle dış cerrahisi için standart bir antiseptik ajan haline gelmiştir (Saller ve ark., 1998). Tıbbi olarak kullanılan yapraklar basit, 1-2.5 cm uzunluğunda ve derimsi özellikte olan bu yapraklar "çay ağacı yağı" olarak bilinen değerli terapötik yağın kaynağıdır (Tezgül Çakır ve ark., 2005). Avusturalya'nın yazı olan ekim-mayıs arasında oluşur. Çay ağacı bitkisi yağmurlu iklim sever.



Şekil 2.8: Çay Ağacı. <https://myplantin.com/plant/2660> erişim tarihi: 02.12.2025

Yapılan çalışmalarda çay ağacı yağının yüksek terpinen-4-ol içeriğine atfedilen geniş spektrumlu antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir (Tezgül Çakır ve

ark., 2005). ay ağacı yağına antimikrobiyal özellik kazandıran asıl bileşenler 1,8-sineole, terpinen-4-ol ve a-terpilenol olarak bildirilmiştir (Sharifi-Rad ve ark., 2017).

ay ağacı yağı, güçlü antiseptik etkisi ve yaygın kullanım alanı nedeniyle, dünyanın dört bir yanına ihraç edilmekte ve sıklıkla kullanılmaktadır. ay ağacı yağı, mikroorganizmalara karsı geniş spektrumlu bir antimikrobiyal etki göstermesi ve ciltte irritasyon yapmaması nedeniyle haricen kullanılan bir çeşit dezenfektan olarak kullanılır (Tezgül akir ve ark., 2005).

ay ağacı yağı günümüzde yaygın olarak sivilce, tırnak mantarı, yaralar ve enfeksiyonlar, bitler, oral kandidiyazis (pamukçuk), uuklar, kepek ve cilt lezyonları gibi çeşitli sorunlar için ilaç olarak kullanılmaktadır. Ayrıca diş macunu gibi kişisel hijyen ürünlerinde lezzet verici olarak ve kozmetikte de antiseptik madde olarak kullanımı yaygındır (Tezgül akir ve ark., 2005). 2015 yılında (Falci ve ark., 2015) Falci ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, çay ağacı yağının alt ekstremitte yaralarından izole edilen staphylococcus aureusa direli bakterilere etkili olduğu raporlanmıştır.

ay ağacı yağının ana bileşiği olan terpinen-4-ol'un, insan epidermisine çok kolay nüfuz ettiği rapor edilmiştir (Reichling ve ark., 2006). Terpenler TTO'da bol miktarda bulunur ve pozitif biyolojik aktiviteleriyle iyi bilinir. Örneğin, TTO'nun ana bileşenlerinden biri olan terpinen-4-ol, insan melanom hücrelerinin büyümesinin *in vitro* inhibisyonuyla ilişkilendirilmiştir (Calcabrini ve ark., 2004). TTO biyoaktif kimyasal matrisi nedeniyle, bazı çalışmalar yüzeysel kanser tiplerini tedavi etmek için kullanımını da varsaymıştır. Bazı araştırmalar, tropikal olarak uygulandığında TTO'nun, muhtemelen deriye nüfuz eden antioksidan bileşenleriyle ilişkili mekanizmalar ve sitotoksik etkisi yoluyla tümör büyümesini engelleyebileceğini bildirmiştir (Sara J. Greay ve ark., 2010; Ireland ve ark., 2012).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Etik Kurul

Çalışmamız kapsamında öncelikle Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Müdahale Olmayan Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu'ndan etik çalışma onayı (19.04.2024-2024/33) alındı.

3.2. Kimyasal Maddeler

Çalışmamda kullandığım kimyasal maddeler tablo 3.1'de, sarf maddeler tablo 3.2'de gösterildi

Tablo 3.1: Kimyasallar

RPMI 1640	RPMI-A, Capricorn Scientific
Penicilin-Streptomycin	CAPRICORN, CP23-6343
L-glutamin	CAPRICORN, CP23-6174
Fetal Bovine Serum	CAPRICORN, CP21-4024-HI
Trypsin EDTA	325-043-EL. Multicell
DMSO	190046, Serva
MTT	A015B, ABP Biosciences
%4 Paraformaldehit	Sc-281692, Chemcruz – Santa
Hidrojen Peroksit	K48739200714, Merck
Triton X-100	BS084-100ml, Biosharp
PBS	P3A82970, Biobasic
Mayer's Hematoksilin	Sigma, HX14931949
DAB	Thermo, HD47396
PBS	BioBasic, P3A82970
Primer antikor IL-8	Santa Cruz sc-8422
Primer antikor IL-6	SantaCruz sc-28343
β -Galactosidase (β –GAL) Activity Assay Kit	(Elabscience, E-BC-K631-M
Trypsin EDTA	325-043-EL. Multicell
Seconder kit	Thermo Scitentic, PHL129127
Çay Ağacı Yağı (TTO)	SHBQ5927, Sigma Aldrich

Tablo 3.2: Sarf Malzemeler

25 cm ² Kültür flask	707003, Nest Scientific
15 mL Santrifüj Tüpü	601002, Nest Scientific
50 mL Santrifüj Tüpü	602002, Nest Scientific
Steril Ca Şırınga Filtresi 0,22 µm	ASF33CA22S

3.3. Besiyeri ve Hücre Hazırlanması

Bu çalışmada, Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı hücre kültür laboratuvarında daha önce gerçekleştirilen çalışmalardan temin edilen L929 fare fibroblast hücre hattı kullanıldı.

L929 hücrelerinin kültürü için, %10 fetal bovin serum (FBS), %1 L-glutamin ve %1 Penisilin-Streptomisin (PAA) içeren RPMI 1640 besiyeri hazırlandı ve 0,22 µm gözenek çapına sahip membran filtreden süzülerek kullanıma hazır olarak muhafaza edildi.

Hücreler kültür yüzeyinin yaklaşık %70–80’ini kapladığında, laminar akımlı kabin altında mevcut besiyeri uzaklaştırıldı ve hücreler fosfat tamponlu salin (PBS) ile yıkandı. Ardından hücrelerin ayrılması amacıyla 37°C’de Tripsin-EDTA çözeltisi eklenerek 2-3 dakika inkübasyona bırakıldı. Hücrelerin yüzeyden ayrıldığı faz kontrast mikroskop (Zeiss) ile kontrol edildi.

Hücre ayrılmasının ardından, tripsin miktarının iki katı hacminde besiyeri eklenerek enzimatik aktivite durduruldu ve hücre süspansiyonu falkon tüplere alındı. Numuneler 25°C’de, 1000 rpm’de 5 dakika santrifüj edildi. Bu aşamalarda otomatik pipetler ve 5–10 mL hacimli steril serolojik pipet uçları kullanıldı.

Santrifüj sonrasında dibe çöken hücrelerin üzerindeki süpernatant uzaklaştırıldı ve hücre pelletleri homojen bir süspansiyon elde edilene kadar yeniden süspanse edildi. Son olarak, 25 cm²’lik kültür flaskları için 5 mL, 75 cm²’lik kültür flaskları için ise 12,5 mL besiyeri eklenerek hücreler kültüre alındı.

3.4. Çalışma Gruplarının Belirlenmesi

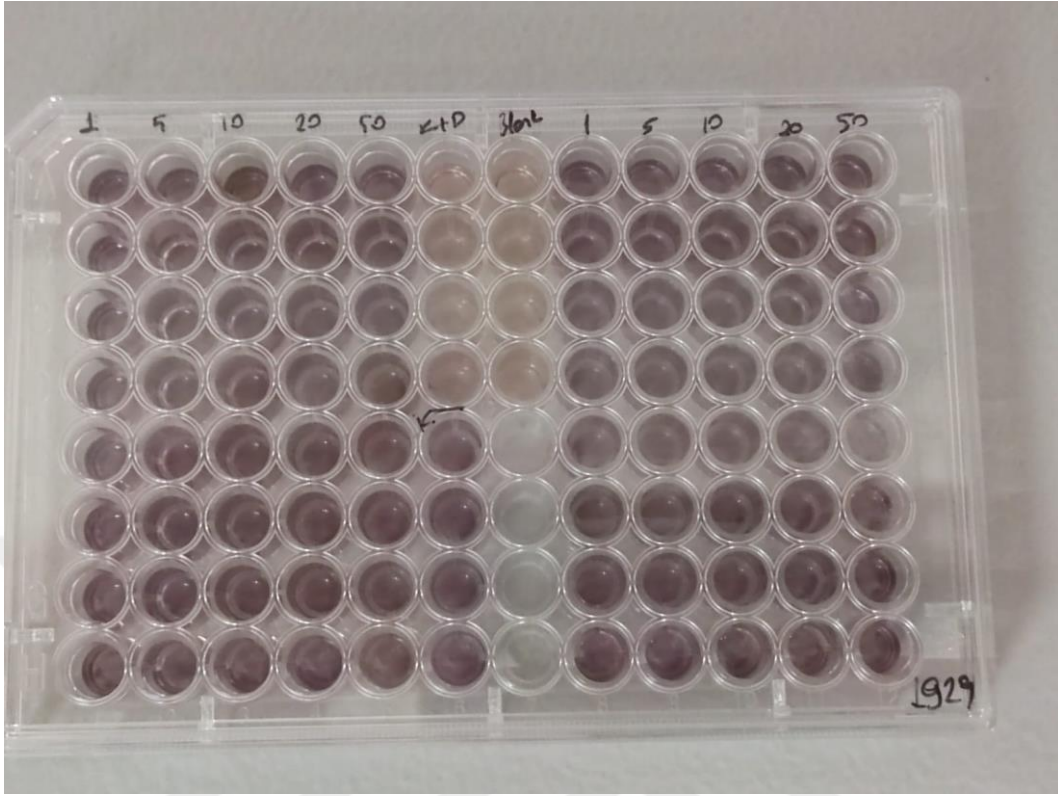
Bu çalışmada, L929 fare fibroblast hücre hattı hücre kültürü ortamında incelenmek üzere dört gruba ayrıldı: kontrol grubu, çay ağacı yağı uygulanan grup, çay ağacı yağı ve H₂O₂ birlikte uygulanan grup ve yalnızca H₂O₂ uygulanan grup. Böylece çalışma kapsamında toplam dört deney grubu oluşturuldu. Hücrelere H₂O₂ ile SIPS modeli oluşturuldu (Gerasymchuk ve ark., 2022). Oluşturulan çalışma grupları Tablo 3.3'te belirtildi.

Tablo 3.3: Çalışma Grupları

KONTROL	H ₂ O ₂	ÇAY AĞACI YAĞI	ÇAY AĞACI YAĞI+ H ₂ O ₂
IHC	IHC	IHC	IHC
β-Galaktozidaz Boyama	β-Galaktozidaz Boyama	β-Galaktozidaz Boyama	β-Galaktozidaz Boyama

3.5. MTT Metodu ile Hücre Canlılığı Tayini

L929 hücre kültürlerinde çay ağacı yağının farklı dozlarının hücreler üzerindeki sitotoksik etkilerini değerlendirmek ve IC₅₀ dozunu belirlemek amacıyla MTT (3-(4,5-methylthiazol-2-yl)-2,5-diaphenyltetrazolium-bromide) testi kullanıldı. Hücreler, 96 kuyucuklu kültür plakasına her bir kuyucuğa 2 x 10⁴ hücre gelecek şekilde dağıtıldı. Hücreler yapıştıktan sonra, çay ağacı yağının 1,5,10, 20 ve 50 µL/mL dozları 24 saat süreyle uygulandı, şekil 3.2'de gösterildi. Uygulama süresinin ardından, her kuyucuğa üreticinin talimatlarına göre hazırlanmış MTT (Sigma-Aldrich) kitindeki reagent A'dan 10 µl eklenerek 4 saat 37°C'de inkübe edildi ve süre sonunda regant B'den 100 µl eklenerek 2 saat 37°C'de inkübe edildi ve sürenin sonunda kolorimetrik olarak 570 nm'de absorbans ölçümü yapıldı (Almasoud ve ark., 2022). Her bir konsantrasyon için üçer kuyucuk kullanılarak deney üç kez tekrarlandı. Kontrol hücrelerinin canlılığı, tedavi uygulanmayan durumda %100 olarak kabul edildi ve deney hücrelerinin canlılık oranları bu referansa göre yüzde olarak ifade edildi. Bu deneyler, IC₅₀ dozunu saptamak amacıyla uygulandı ve çalışmanın sonraki aşamalarında kullanılacak olan doz bu şekilde belirlendi.



Şekil 3.1: TTO MTT Canlılık Deneyi

3.6. İmmünohistokimyasal Boyama Metodu

12 gözlü kültür kaplarına ekilen hücreler dört gruba ayrıldı. Kontrol grubu, H_2O_2 grubu, TTO grubu ve TTO+ H_2O_2 uygulama grupları için hücreler ekilip 24 saat süreyle inkübe edildi. Hücreler tutunduktan sonra H_2O_2 grubuna 1 saat 50 μM H_2O_2 uygulandı, TTO ve TTO+ H_2O_2 gruplarına belirlenen dozda çay ağacı yağı 24 saat uygulanarak hücreler 37 °C sıcaklıkta ve %5 CO_2 içeren etüvde inkübe edildi. 24 saat sonra çay ağacı bulunan besiyeri çekilerek TTO+ H_2O_2 grubuna 50 μM H_2O_2 uygulanarak 1 saat boyunca inkübe edildi, TTO grubuna ise sadece taze besiyeri uygulandı. 1 saat sonra TTO+ H_2O_2 ve H_2O_2 gruplarından H_2O_2 'yi uzaklaştırmak için kuyucuklardaki besiyeri yerine taze besiyeri eklendi. Uygulaması tamamlanan hücre grupları %4'lük Paraformaldehit solüsyonunda 30 dk fiks edildikten sonra PBS ile 3x5 dk olacak şekilde yıkandı. Permeabilizasyon için %0,1'lik Triton-X 100 ile 15 dk inkübe edilip ve tekrardan PBS ile yıkandıktan sonra 5 dk hidrojen peroksit (H_2O_2) uygulaması yapıldı. Yıkama yapıp 10 dk protein blok işleminin ardından da SASP'yi değerlendirmek için anti-IL-6 ve anti- IL-8 antikorları ile 1 gece inkübe edildi.

İnkübasyondan sonra sekonder antikorlar uygulanıp DAB kromojeniyle immunoreaktivitelerin görünürlüğü sağlandı, şekil 3.4’de gösterildi ve kapatma mediumu ile kaplanarak kapatılıp ışık mikroskobu altında değerlendirildi. Işık mikroskobu altında rastgele seçilen 10 alanda 500 hücre sayılarak H-Score değerlendirildi. Elde edilen veriler SPSS veri analizi programında değerlendirildi.

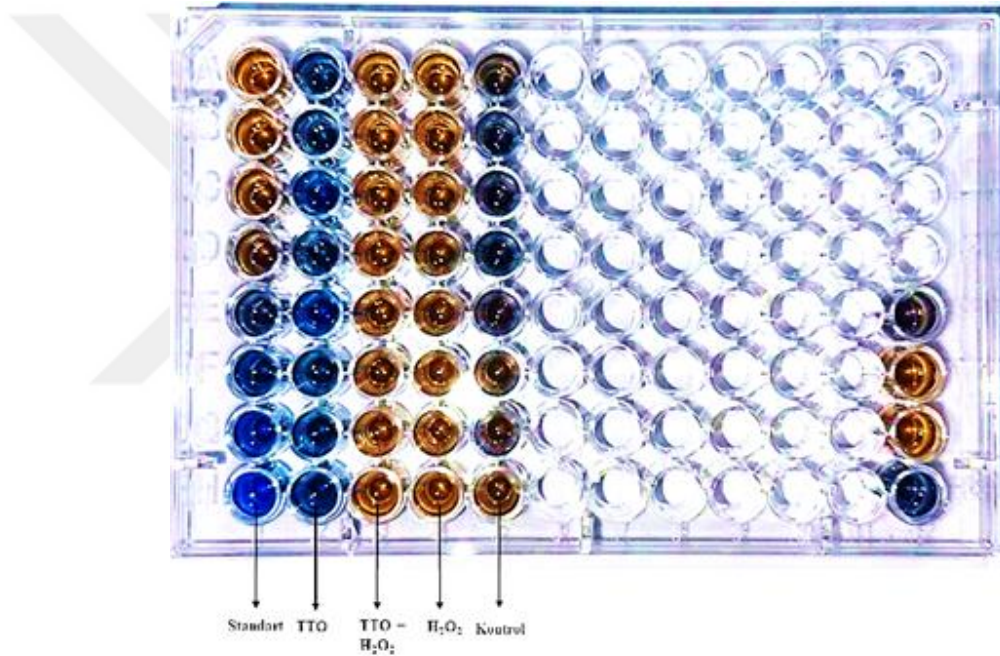


Şekil 3.2: İmmünohistokimya Aşamaları

3.7. β -Galaktozidaz Boyama İçin Protein Konsantrasyonu Belirleme

Hücre kültürü protein düzeyleri Brilliant Blue G boyası yöntemi ile Sigma marka ticari kitler kullanılarak (Saint Louis, Missouri, USA) üreticinin belirlediği talimatlara göre gerçekleştirildi. Sonuçlar $\mu\text{g/ml}$ protein olarak verildi.

BSA Standart solüsyonu konsantrasyonlar: 0, 62.5, 125, 250, 500, 1000, 2000 ve 4000 olarak hazırlandı. Her standarttan 5 μl eklendi, üzerine 250 μl Coomassie Brilliant Blue G solüsyonu eklendi. Çalışma grupları için 5 μl örnek eklendi 250 μl Coomassie Brilliant Blue G solüsyonu eklendi. Şekil 3.3'te gösterildi. 600 nm'de okutuldu.



Şekil 3.3: Protein Örnekleri

3.8. β -Galaktozidaz Boyama

Hücrelerin senesense girdiğinin doğrulanması amacıyla β -galaktozidaz boyaması uygulanmıştır. Deney öncesinde, kullanılan tüm reaktifler ve sarf malzemeleri oda sıcaklığına getirilmiştir. Substrat çalışma tamponunun hazırlanması için öncelikle su banyosu 90–100 °C'ye ayarlanmıştır. Bir vial substrat, 2 mL tampon solüsyonu ile çözüldürülmüş ve su banyosunda 90–100 °C'de ısıtılmıştır. Hazırlanan substrat solüsyonu, kullanım öncesinde oda sıcaklığına soğutulmuştur. Standart çözelti

hazırlığı kapsamında, 1 mmol/L konsantrasyonda standart çözelti elde etmek amacıyla 40 µL 20 mmol/L standart çözelti, 760 µL bidistile su ile karıştırılmıştır. Standart eğrisinin oluşturulması için ise, hazırlanan 1 mmol/L standart çözelti bidistile su kullanılarak farklı konsantrasyonlarda seyreltilmiş ve elde edilen standart solüsyonlar Tablo 3.4'te sunulmuştur.

Tablo 3.4: β-Galaktozidaz Uygulama Oranları

Öğeler	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
Konsantrasyon (mmol/L)	0	0.1	0.2	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8
1 mmol/L standart (µl)	0	20	40	80	100	120	140	160
Bidistile su (µl)	200	180	160	120	100	80	60	40

Örneklerin hazırlanması aşamasında, her bir kuyucuğa 1×10^6 adet hücre eklenmiştir. Hücreler, 0,01 M ve pH 7,4 olan fosfat tamponlu salin (PBS) ile yıkanmıştır. Yıkama işleminin ardından, 1×10^6 adet hücre 200 µL tampon (buffer) solüsyonu içerisinde, 4 °C'de ultrasonik hücre parçalayıcı kullanılarak homojenize edilmiştir. Elde edilen hücre homojenatları, 4 °C'de 10.000×g hızda 10 dakika süreyle santrifüj edilmiş; santrifüj sonrasında süpernatant dikkatlice ayrılarak buz üzerinde protein tayini gerçekleştirilmiştir. Süpernatantın protein konsantrasyonu belirlenmiş ve analizlerde bu değerler esas alınmıştır.

Analiz yöntemi kapsamında, standart kuyucuklara farklı konsantrasyonlarda 20 µL standart çözelti eklenirken, örnek ve kontrol kuyucuklarına 20 µL hücre süspansiyonu ilave edilmiştir. Takiben, standart ve kontrol kuyucuklarına 30 µL tampon solüsyonu, örnek kuyucuklarına ise 30 µL substrat çözeltisi eklenmiştir. Tüm kuyucuklara 10 µL aktivatör ajan ilave edilerek plakalar karıştırılmalı tabla üzerinde 37 °C'de 40 dakika süreyle inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından her kuyucuğa 140 µL kromojenik ajan eklenmiş, karıştırma işlemi sonrası plakalar karanlık ortamda 37 °C'de 10 dakika daha inkübe edilmiştir. Reaksiyon sonunda absorbans değerleri, 400 nm dalga boyunda mikroparka okuyucu kullanılarak ölçülmüştür.

3.9. İstatiksel Analiz

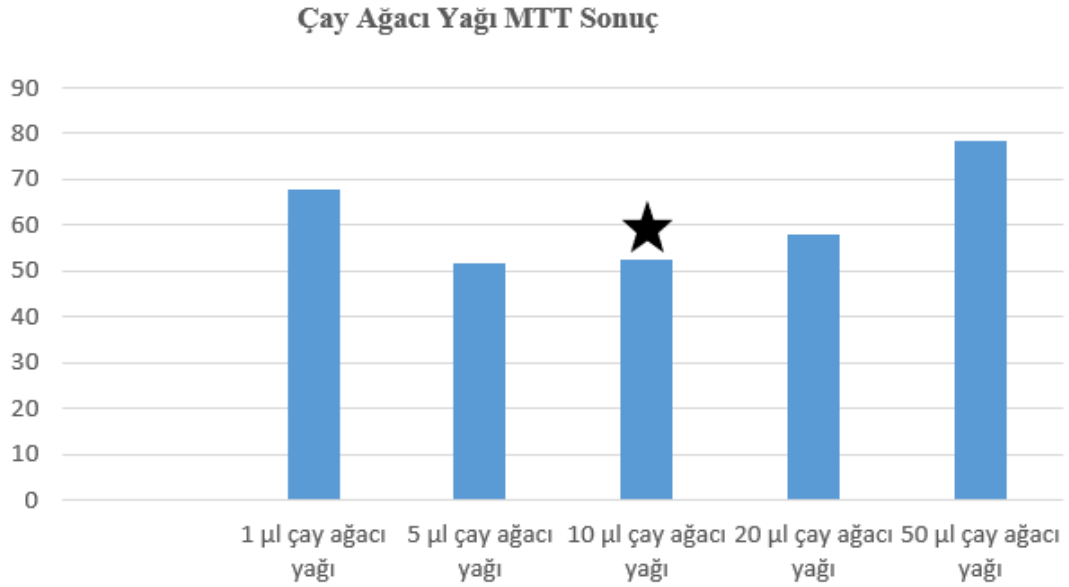
Deneysel çalışmalardan elde edilen veriler SPSS (Statistical Package for Social Sciences) istatistiksel veri analiz programında nicel veriler için Kruskal-wallis analizi ile nitel verilerin analizi için ise Ki-Kare Testi yapılarak değerlendirildi. İstatistiksel olarak $p<0.05$ değerleri anlamlı kabul edildi.



4. BULGULAR

4.1. MTT Sonuçları

L929 hücrelerinde farklı dozlarda çay ağacı yağı verilerek yağın konsantrasyonunu hücre canlılığı testi ile belirlendi. Yapılan MTT testinde, L929 hücrelerine 1µl, 5µl, 10µl, 20µl, 50 µl konsantrasyonları 24 saat süreyle uygulandı. L929 hücrelerinde çay ağacı yağının IC₅₀ değeri 24.saatte 10 µL/mL olarak saptandı. Ancak biz çalışmamızda çay ağacı yağının koruyucu etkisine baktığımız için 1 µL/mL konsantrasyonu uyguladık. Sonuçlar şekil 4.1’de gösterildi.

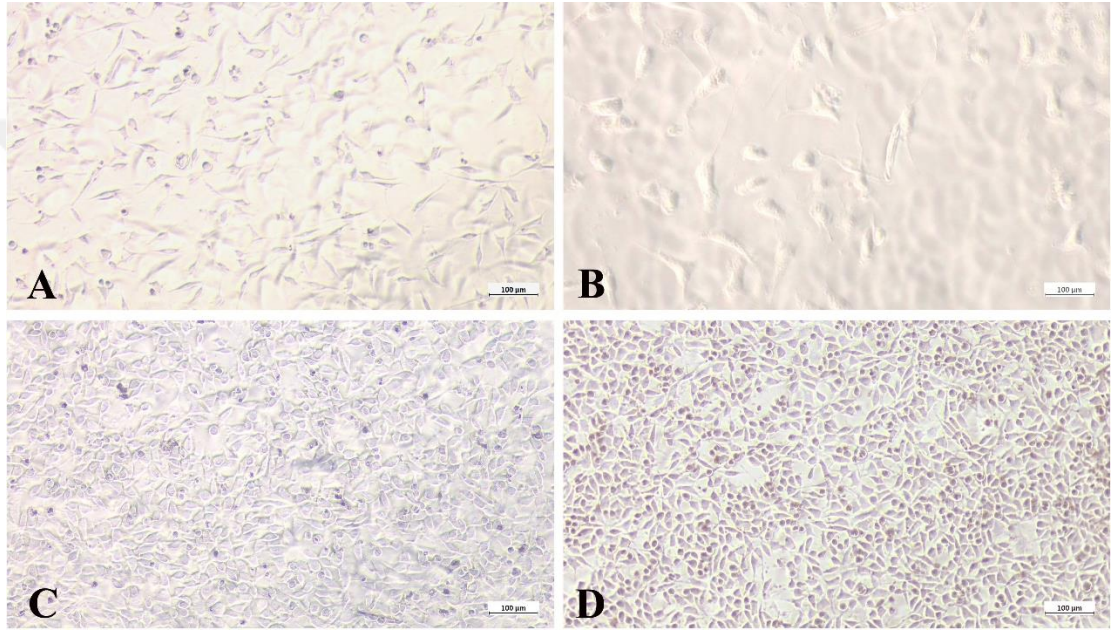


Şekil 4.1: Çay Ağacı Yağı MTT Grafiği

4.2. Hücrelerin Morfolojik Değerlendirilmesi

Hücre kültürü çalışmalarında gerçekleştirilen morfolojik değerlendirmede, kontrol grubundaki fibroblastların normal hücresel morfolojilerini koruduğu; iğsi uzantılara sahip, uzamış ve hücre-hücre bağlantılarının belirgin olduğu tipik fibroblast yapısının gözlemlendiği belirlendi. TTO (Tea Tree Oil) uygulanan grupta ise, kontrol grubuna kıyasla fibroblastların normal morfolojik özelliklerini kaybettiği; iğsi uzantıların belirgin şekilde azaldığı ve hücrelerin daha yuvarlak bir yapı kazandığı gözlemlendi. H₂O₂ uygulanan grupta, hücrelerde belirgin morfolojik değişiklikler saptanmış olup

sitoplazmanın genişlediği, hücresel şişme ile birlikte vakuolizasyonun arttığı görüldü. Bu bulgular, oksidatif stresin hücresel yapı üzerinde belirgin bir hasar oluşturduğunu düşündürmektedir. TTO + H₂O₂ uygulanan grupta ise, yalnızca H₂O₂ uygulanan grupla karşılaştırıldığında morfolojik değişikliklerin daha sınırlı olduğu gözlemlendi. Ancak bu gruptaki hücrelerin, kontrol grubuna kıyasla yine de daha geniş sitoplazmaya sahip olduğu ve tipik fibroblast morfolojisine özgü iğsi yapıyı büyük ölçüde kaybettiği belirlendi.



Şekil 4.2: Hücrelerin Morfolojik Değerlendirilmesi (A: Kontrol B: H₂O₂ C: TTO D: TTO+H₂O₂)

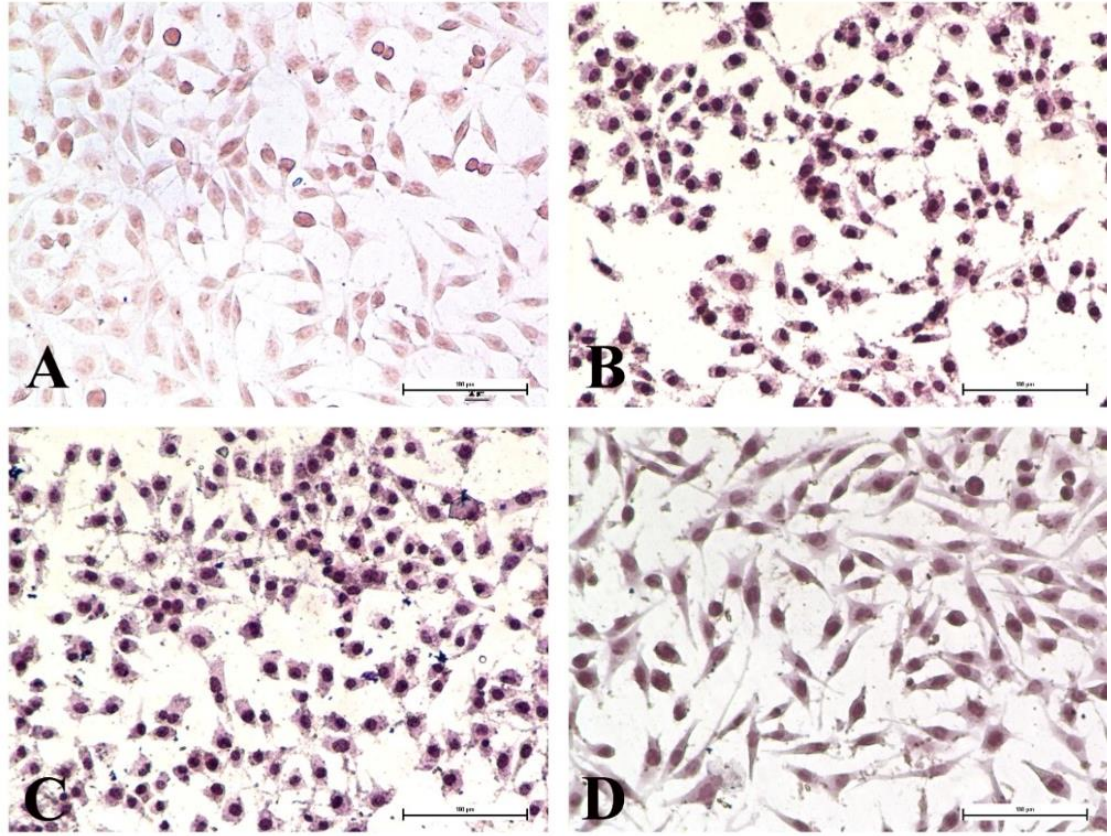
4.3. İmmünohistokimyasal Boyama Değerlendirilmesi

Çay ağacı yağı uygulaması sonrasında H₂O₂ ile senesense giren L929 fare fibroblast hücrelerinde SASP proteinlerine etkisi değerlendirmek için immünohistokimya metodu ile boyama gerçekleştirdik.

Tablo 4.1: İmmunohistokimyal İstatistiksel Parametrelerin İstatistiksel Analiz Sonuçları

ANTİKOR	GRUP	Ort. $\bar{x}$ SS
IL-6	KONTROL	109,080 $\pm$ 8,4577
	H ₂ O ₂	141,280 $\pm$ 4,1680
	TTO	130,360 $\pm$ 5,3449
	H ₂ O ₂ +TTO	122,660 $\pm$ 22,6642
IL-8	KONTROL	108,040 $\pm$ 5,9505
	H ₂ O ₂	143,680 $\pm$ 7,7390
	TTO	121,680 $\pm$ 3,8951
	H ₂ O ₂ +TTO	122,600 $\pm$ 22,2841

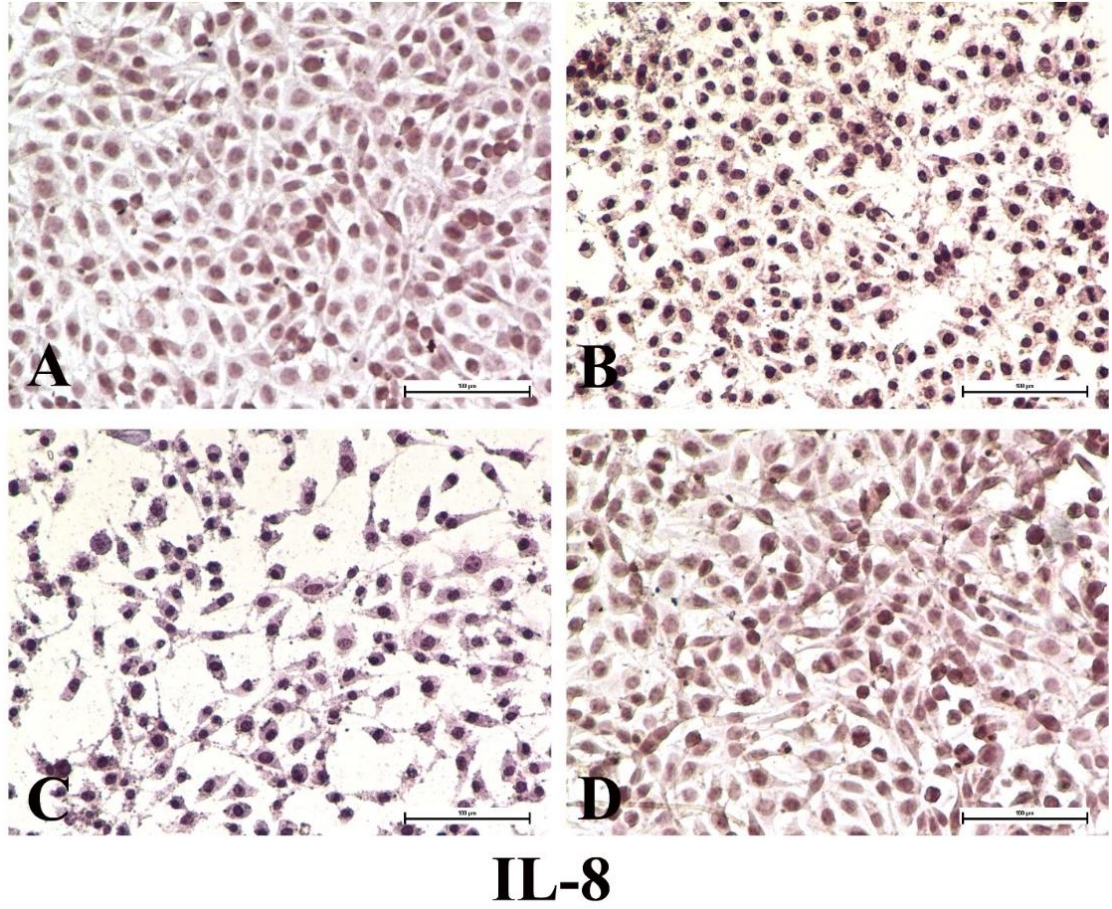
Kontrol grubunda IL-6 ifadesi $109,08 \pm 4,46$, TTO grubunda $130,36 \pm 6,34$, H₂O₂ grubunda ise en yüksek seviyeye $141,28 \pm 4,17$ H-Score olarak belirlendi. TTO grubunda IL-6 kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede yüksek, ancak H₂O₂ grubundan düşüktür. H₂O₂+TTO kombinasyon grubunda IL-6 düzeyi $122,66 \pm 22,66$, H₂O₂ grubuna kıyasla belirgin şekilde düşük, fakat kontrol grubundan yüksektir.



IL-6

Şekil 4.3: Hücrelerin İmmunohistokimyal Değerlendirilmesi (A: Kontrol B: H₂O₂ C: TTO
D: TTO+H₂O₂)

Kontrol grubunda IL-8 ifadesi $108,04 \pm 7,95$ H-Score olarak ölçüldü. TTO grubunda IL-8 düzeyi $121,68 \pm 3,90$, kontrolden yüksek, ancak H₂O₂'den düşüktür. H₂O₂ grubunda IL-8 ifadesi en yüksek değere ($143,68 \pm 7,74$) ulaşmıştır. H₂O₂+TTO kombinasyon grubunda IL-8 ifadesi ($122,60 \pm 22,28$), H₂O₂ grubuna kıyasla belirgin düşüş göstermiştir. Bu da TTO'nun, H₂O₂'nin tetiklediği IL-8 aşırı ifadesini de kısmen engellediğini ortaya koymaktadır.



Şekil 4.4: Hücrelerin İmmunohistokimyasal Değerlendirilmesi (A: Kontrol B: H₂O₂ C: TTO D: TTO+H₂O₂)

Boyama sonucunda; IL-6 ve IL-8 protein ifadelerinde; kontrol grubuna kıyasla H₂O₂ grubunda anlamlı bir artış görüldü. IL-6 ve IL-8 protein ifadelerinde; kontrol grubuna kıyasla TTO grubunda anlamlı bir artış görüldü ($p<0,05$). IL-6 ve IL-8 protein ifadelerinde; kontrol grubuna kıyasla TTO+H₂O₂ grubunda anlamlı bir artış görüldü ($p<0,05$). IL-6 ve IL-8 protein ifadelerinde; H₂O₂ grubuna kıyasla TTO+H₂O₂ grubunda anlamlı bir azalma görüldü ($p<0,05$).

4.3. Protein Konsantrasyon Sonuçları

Tablo 4.2: Protein Konsantrasyon Sonuçları (Sonuçlar $\mu\text{g/ml}$ protein olarak belirlenmiştir.)

STANDART	KONTROL	H ₂ O ₂	TTO	TTO+H ₂ O ₂
0	363,877	1,318	895,621	54,671
62.5	476,876	64	769,511	55,25
125	460,176	24,273	1893,493	67,75
250	546,694	111,55	795,548	70,25
500	357,421	69,337	2228,524	75,25
1000	223,725	45,854	848,798	80,737
2000	243,365	70,463	982,604	64
4000	182,637	68,027	1649,257	35,415

TTO grubunda, tüm konsantrasyonlarda kontrol grubuna kıyasla belirgin şekilde yüksek protein değerleri gözlemlendi. En yüksek değer 500 $\mu\text{g/mL}$ 'de 2228,524 $\mu\text{g/mL}$ olarak ölçüldü. Kombinasyon grubunda, protein değerleri H₂O₂ grubuna kıyasla belirgin şekilde yüksek, ancak kontrol ve TTO gruplarına kıyasla düşük bulundu.

Yapılan iki yönlü ANOVA testi sonucunda, gruplar arasındaki farkların istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir ($p < 0,001$). *Post-hoc* Tukey testine göre:

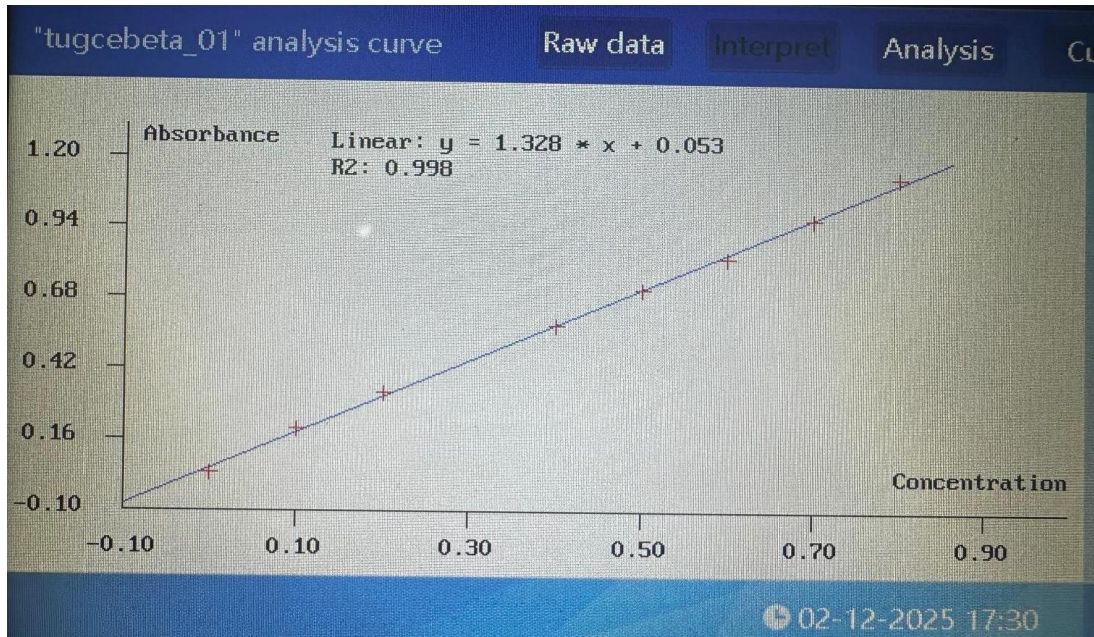
- TTO grubu ile kontrol grubu arasındaki fark 500 $\mu\text{g/mL}$ 'de anlamlıdır ($p < 0,01$).
- H₂O₂ grubu, tüm gruplardan anlamlı derecede düşüktür ($p < 0,001$).
- TTO + H₂O₂ grubu, H₂O₂ grubundan anlamlı derecede yüksektir ($p < 0,05$).

4.4. β -Galaktozidaz Boyama Sonuçları

β -Gal aktivite hesaplama: $(\Delta A_{400-b})/a/C_{pr}/T \times f \times 1000$

Tablo 4.3: β -Gal Sonuçları

Kontrol	H ₂ O ₂	TTO	TTO+H ₂ O ₂
607,199	84.194,787	123,856	2.029,071
232,531	1.733,291	144,193	2.007,735
240,970	4.569,428	58,601	1.637,757
202,834	994,309	139,474	1.579,329
310,245	1.599,632	49,791	1.474,393
495,638	2.418,903	130,721	1.373,842
455,648	1.547,157	112,922	1.733,061
607,156	1.630,896	67,273	3.131,951



Şekil 4.5: β -Gal Sonuç Grafiği

L929 fibroblast hücrelerinde kontrol, çay ağacı yağı (TTO), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve TTO + H_2O_2 kombinasyon gruplarında hücresel senesensin göstergelerinden biri olan β -galaktozidaz aktivitesi kolorimetrik yöntemle ölçüldü. Elde edilen sonuçlar, uygulanan farklı deneysel koşulların β -galaktozidaz düzeyleri üzerinde belirgin etkiler oluşturduğunu gösterdi.

β -galaktozidaz aktivitesi, kontrol grubuna kıyasla yalnızca çay ağacı yağı uygulanan grupta daha düşük bulundu. Hidrojen peroksit uygulanan grupta β -galaktozidaz düzeyinin belirgin şekilde arttığı saptanmıştır. TTO + H_2O_2 kombinasyon grubunda ise β -galaktozidaz düzeyinin yalnızca H_2O_2 uygulanan gruba kıyasla belirgin şekilde düşük olduğu görüldü.

Gruplar arası karşılaştırma yapıldığında, en yüksek β -galaktozidaz aktivitesinin H_2O_2 grubunda, en düşük aktivitenin ise kontrol grubunda gözlemlendiği; TTO uygulamasının hem tek başına hem de H_2O_2 ile birlikte kullanıldığında β -galaktozidaz düzeylerini azalttığı belirlendi.

5. TARTIŞMA

Bu tez çay ağacı yağının hücre senesensinde SASP proteinlerinden IL-6 ve 8 üzerinden olası yaşlanma karşıtı etkilerini değerlendirmiştir. Bu etkileri değerlendirmek için çay ağacı yağının IC₅₀ değeri MTT yöntemi kullanılarak belirlenmiş ve olası koruyucu etkisinden faydalanmak için bu değerden daha düşük olan doz 1 µL/mL kullanılmıştır. Çalışma grupları hiçbir uygulama yapılmayan kontrol, H₂O₂ ile oluşturulan yaşlanma grubu, H₂O₂ öncesinde çay ağacı uygulaması yapılan kombine grup ve sadece çay ağacı uygulaması yapılan grup olmak üzere tasarlanmıştır. H₂O₂ yaşlanma modeli sonrası hücrelerdeki yaşlanmanın varlığını göstermek için kalorimetrik β-galaktozidaz enzim yöntemi ile β-galaktozidaz enzimindeki artış gruplar arasında karşılaştırılmalı olarak değerlendirilmiştir. Tüm gruplar deney sonunda morfolojik olarak faz-kontrast mikroskop altında değerlendirildi. Gruplar arasında SASP proteinlerinden IL-6 ve IL-8'in protein ifadelerini immünohistokimyasal olarak H-score yöntemiyle değerlendirdik ve gruplar arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak yorumlandı. Bu çalışmada, L929 fibroblast hücreleri üzerinde çay ağacı yağının (Tea Tree Oil, TTO) sitotoksik ve koruyucu etkileri değerlendirilmiş; 24 saatlik inkübasyon süresinde TTO'nun IC₅₀ değeri 10 µL olarak belirlenmiştir. IC₅₀ değerinin belirlenmesi, TTO'nun hücreler üzerindeki doz-bağımlı sitotoksik etkisini ortaya koyarken, koruyucu etkiyi değerlendirmek amacıyla bu değer oldukça altında bir konsantrasyon olan 1 µL tercih edilmiştir. Literatürde, uçucu yağların ve özellikle TTO'nun düşük konsantrasyonlarda antioksidan savunma mekanizmalarını aktive edebildiği, buna karşın yüksek dozlarda hücre membran bütünlüğünü bozarak sitotoksositeye yol açabildiği bildirilmektedir (Carson ve ark., 2006; Hammer ve ark., 2012). Bu bağlamda, çalışmamızda kullanılan 1 µL TTO konsantrasyonu, hücre canlılığını baskılamadan oksidatif strese karşı koruyucu etki gösterebilecek fizyolojik olarak anlamlı bir doz olarak değerlendirilmiştir. Kim ve arkadaşları da yaptıkları çalışmalarda fibroblast hücrelerinde düşük doz TTO uygulamalarının hücresel proliferasyonu destekleyebildiği ve reaktif oksijen türlerine karşı hücresel toleransı artırabildiği yönündeki bulgular, elde etmişlerdir (Kim ve ark., 2004). Bu sonuçlar çalışmamızda kullanılan TTO dozunun hücre yaşlanmasına karşı koruyucu olarak potansiyele sahip olduğunu desteklemektedir.

Çalışma gruplarında deney sonrası morfolojik değişiklikler değerlendirildiğinde kontrol grubunda hücrelerin tipik fibroblast morfolojisini koruduğu, içsi ve uzamış yapıda olduğu gözlenmiştir. Bu morfolojik özellikler, sağlıklı fibroblastların aktin iskelet bütünlüğünü ve adezyon kapasitesini yansıtan normal fenotip ile uyumludur (Capes-Davis ve ark., 2021; Welter ve ark., 2024). Hücresel senesens, fibroblastlarda proliferasyonun durmasıyla birlikte belirgin morfolojik değişikliklerle karakterizedir. Senesentetik fibroblastlar artmış hücre alanı, yassı ve düzensiz hücre şekli, granüler sitoplazma ve nükleer reorganizasyon gösterir (Dimri ve ark., 1995; Campisi ve D'Adda Di Fagagna, 2007). H_2O_2 ile yaşlandırılan hücrelerde literatürdeki bu bilgi ile uyum gösterecek şekilde hücrelerin belirgin şekilde genişlediği, sitoplazmanın arttığı, hücre şeklinin düzensizleştiği ve vakuolizasyon benzeri yapısal değişimlerin ortaya çıktığı görüldü. Bu morfolojik değişimler, oksidatif stres altında fibroblastlarda sıkça bildirilen hücresel senesens ve stres yanıtı ile ilişkilendirilmektedir. H_2O_2 'nin reaktif oksijen türlerini artırarak sitoskeletal organizasyonu bozduğu, hücre yayılımını artırdığı ve "flattened" senesens fenotipini indüklediği gösterilmiştir (Toussaint, Medrano ve Von Zglinicki, 2000; Chen, Ozanne ve Hales, 2007). Çalışmamızda H_2O_2 grubunda gözlenen morfolojik bozulmaların oksidatif hasar ve senesensle ilişkili olabileceği düşünülmektedir. TTO uygulanan grupta hücre morfolojisinin kontrol grubuna yakın özellikler sergilediği, H_2O_2 grubuna kıyasla iyileşme yönünde değişiklikler sergilediği içsi uzantılarının daha normale yakın olduğu, hücre sınırlarının belirgin yapısını koruduğu ve sitoplazma içerisindeki vakuol benzeri yapıların H_2O_2 grubuna göre daha az olduğu görülmüştür. Bu durum, çay ağacı yağının hücre membranı ve sitoskeleton üzerinde koruyucu biyolojik etkiler gösterebildiğini düşündürmektedir. TTO'nun düşük konsantrasyonlarda hücre proliferasyonunu destekleyebileceği, ancak hücresel stres oluşturabilecek düzeylerde membran geçirgenliğini artırarak morfolojik değişimlere yol açabileceği bildirilmektedir (Hammer ve ark., 2012; Carson ve ark., 2006). Yapılan araştırmalara bakıldığında TTO'nun kanser hücreleri üzerinde morfolojik olarak etkisini hücrenin ölüme sürüklenmesi yönünde gösterdiğini söyleyen çalışmalar mevcuttur (S. J. Greay ve ark., 2010). Greay ve arkadaşları yaptıkları çalışmada kanser hücrelerine TTO uygulaması sonrasında tek hücre morfolojisi değerlendirdiklerini ve bu değerlendirme neticesinde hücrelerde organel şişmesi ve çekirdek/sitoplazma oranında sitoplazma lehine artış

olduğunu bildirmişlerdir. Aynı çalışmada hücrelerde hücre döngüsünün durdurulduğuna ve hücrelerin nekroza sürüklenerek hücre ölümünde artış olduğuna dikkat çekilmiştir. TTO uygulaması sonrası hücrelerin ölüme ve senesentetik hale doğru değişmelerinin sebebi zaten kanserleşmiş hücreler üzerinde etkisinin değerlendirilmesi ve tam IC₅₀ dozunun kullanılmasından kaynaklı olabilir. TTO bir şekilde sağlıklı olmayan hücreleri ölüme sürüklerken sağlıklı hücrelerde bu etkiyi göstermemesi koruyucu potansiyelinin olması konusunda bulgularımızı destekler niteliktedir (Assmann ve ark., 2018). TTO+ H₂O₂ kombinasyon grubunda ise hücre morfolojisinin yalnızca H₂O₂ uygulanan gruba kıyasla daha iyi korunmuş olduğu, ancak TTO ve kontrol gruplarına göre sağlıklı fibroblast morfolojisinin tam sergilenmediği görülmüştür. Bu morfolojik bulgular yine TTO nun koruyucu etkisye sahip olabileceği yönde literatüre uyum sağlamaktadır. Bu bulgu, TTO'nun stres koşulları altında hücre morfolojisini kısmen stabilize edebildiğini ve sitoskeletal hasarı sınırlayıcı bir etki gösterebileceğini düşündürmektedir. Yapılan çalışmalarda TTO'nun antioksidan özelliklerini gösteren sınırlı sayıda çalışma olmasına rağmen, reaktif oksijen türlerini baskılayarak hücre hasarı azalttığı ve hücre yapısal bütünlüğünü koruyabildiği rapor edilmiştir (Miguel ve Miguel, 2010). Dolayısıyla, kombinasyon grubunda gözlenen ılımlı morfolojik değişimlerin, TTO'nun hücre yaşlanmasına karşı koruyucu etkisi olabileceği yönünde yorum yapılmasını mümkün kılmaktadır. Literatürde TTO nun yaşlanma karşıtı ya da hücre senesensine olan engelleyici etkisini konu alan az sayıda çalışmanın olması bu konunun etraflıca tartışılmasını sınırlamaktadır. Bu açıdan bakıldığında çalışmamız TTO nun senesensi önleyici etkisini değerlendiren öncü çalışmalar arasında yer almaktadır.

L929 fibroblast hücrelerinde çay ağacı yağının (Tea Tree Oil, TTO) hücre yaşlanmasına karşı SASP proteinleri üzerindeki etkileri üzerindeki etkisini IL-6 ve IL-8 ifadesi üzerinden immünohistokimyasal olarak değerlendirildi. Boyama sonucunda; IL-6 ve IL-8 protein ifadelerinde; kontrol grubuna kıyasla H₂O₂ grubunda anlamlı bir artış görüldü. IL-6 ve IL-8 protein ifadelerinde; kontrol grubuna kıyasla TTO grubunda anlamlı bir artış görüldü. IL-6 ifadesindeki yükseliş ile IL-8 ifadesindeki artışın paralellik göstermesi H₂O₂'nin fibroblast hücrelerinde SASP ile ilişkili proinflatuvar proteinlerin geniş çapta aktive ettiğini düşündürmektedir (Coppe ve ark., 2010; Freund ve ark., 2010). IL-6 ve IL-8 protein ifadelerinde; kontrol grubuna

kıyasla TTO+H₂O₂ grubunda anlamlı bir artış görüldü. IL-6 ve IL-8 protein ifadelerinde; H₂O₂ grubuna kıyasla TTO+H₂O₂ grubunda anlamlı bir azalma görüldü. Yapılan çalışmalarda H₂O₂'nin fibroblast hücrelerinde güçlü bir oksidatif stres oluşturarak proinflatuvar sitokin ekspresyonunu artırdığını ve IL-6'nın bu süreçte önemli bir mediyatör rol oynadığını gösterilmiştir(Mittal ve ark., 2014; Tanaka, Narazaki ve Kishimoto, 2014). Yalnızca TTO uygulanan grupta IL-6 ifadesinde kontrol grubuna kıyasla artış göstermesi, çay ağacı yağının tek başına uygulandığında hücrelerde hafif düzeyde bir inflamatuvar yanıtı indükleyebileceğini düşündürmektedir. TTO'nun düşük ve orta konsantrasyonlarda immün yanıtı modüle edebildiği, bu etkinin hücresel adaptasyon veya hormetik yanıt mekanizmalarıyla ilişkili olabileceği bildirilmektedir (Carson, Hammer ve Riley, 2006; Hammer, Carson ve Riley, 2012). Bu durum, TTO'nun doğrudan antiinflamatuvar bir ajan olmaktan ziyade, hücresel stres yanıtını düzenleyici çift yönlü bir etkiye sahip olabileceğini düşündürmektedir. TTO+ H₂O₂ kombinasyon grubunda IL-6 düzeyinin H₂O₂ uygulanan gruba kıyasla daha düşük olması, çay ağacı yağının oksidatif stres koşulları altında IL-6 aracılı inflamatuvar yanıtı baskılayıcı bir etki gösterebildiğini ortaya koymaktadır. Bu sonuç, TTO'nun antioksidan özellikleri sayesinde reaktif oksijen türlerini nötralize ederek NF-κB gibi inflamasyonla ilişkili sinyal yollarının aktivasyonunu sınırlayabileceği yönündeki literatür bilgileriyle uyumludur (Miguel ve Miguel, 2010). Dolayısıyla, TTO'nun H₂O₂ ile indüklenen inflamatuvar yanıtı tamamen ortadan kaldırmasa da IL-6 ifadesini azaltarak hücresel hasarı öleyici bir rol oynadığı söylenebilir. Ancak TTO'nun tek başına uygulandığında IL-6 düzeylerini kontrol grubuna göre bir miktar artırabilmesi, bu ajanın biyolojik etkilerinin konsantrasyon, uygulama süresi ve hücresel mikroçevreye bağlı olarak değişkenlik gösterebileceğini ortaya koymaktadır. IL-8'in fibroblast kökenli inflamatuvar yanıtın önemli bir düzenleyicisi olduğu ve nötrofil kemotaksisini artırarak doku mikroçevresinde inflamasyonun sürdürülmesine katkı sağladığı bilinmektedir (Baggiolini ve Clark-Lewis, 1992). Benzer şekilde, daha önce yapılan çalışmalarda H₂O₂ ile indüklenen fibroblast senesensi sırasında IL-8 ifadesinin belirgin şekilde arttığı ve bu artışın NF-κB ve p38 MAPK yollarıyla ilişkili olduğu gösterilmiştir (Acosta ve ark., 2008). Öte yandan, bazı çalışmalarda antioksidan veya doğal bileşiklerin oksidatif stres altında IL-8 ifadesini baskılayabildiği bildirilirken, bu

etkinin hücre tipi ve uygulama koşullarına bağlı olarak değişkenlik gösterebildiği vurgulanmaktadır (Miguel ve Miguel, 2010). Dolayısıyla, mevcut çalışmada IL-6 ve IL-8 ifadelerinin H₂O₂ grubunda eş zamanlı olarak artması, L929 fibroblast hücrelerinde senesens ve inflamasyon eksenini güçlü biçimde aktive ettiğini ortaya koyarken, bu bulgular literatürde bildirilen SASP temelli mekanizmalarla genel olarak uyumludur ancak tüm SASP proteinlerinin immunohistokimyasal ifadelerinin ayrı ayrı değerlendirilmesiyle birlikte hücrel senesense TTO nun koruyucu etkisi açısından daha doğru olacaktır. Bu nedenle, çay ağacı yağının terapötik potansiyelinin daha net anlaşılabilmesi için farklı doz ve zaman noktalarında yapılacak ileri moleküler çalışmaların gerekli olduğu düşünülmektedir. L929 fibroblast hücrelerinde kontrol, çay ağacı yağı (TTO), hidrojen peroksit (H₂O₂) ve TTO+H₂O₂ kombinasyon gruplarında hücrel senesensin biyokimyasal göstergelerinden biri olan β -galaktozidaz aktivitesi kolorimetrik yöntemle ölçülmüştür. Elde edilen sonuçlarımıza göre, TTO grubunda β -galaktozidaz aktivitesi en düşük derecede ölçülmüştür. TTO nun uygulamasının kontrol, TTO+ H₂O₂ ve H₂O₂ gruplarında sırasıyla daha yüksek seviyelerde ölçülmesi TTO uygulamasının β -galaktozidaz enzim aktivitesini azaltıcı yönde etki ettiğini göstermiştir. Bu azalış TTO nun hücrede yaşlanma geciktirici etkiye neden olabileceğini düşündürmektedir. Yalnızca çay ağacı yağı uygulanan grupta β -galaktozidaz aktivitesi kontrol grubuna kıyasla daha düşük bulunması hücrede yaşlanmaya bağlı gelişen hasarın önlenmesi ve stres yanıtının oluşmasında geciktirici etkisinin olabileceğini düşündürmektedir. Yapılan *in vitro* senesens çalışmalarında beta galaktozidaz enzim yöntemi hücrel yaşlanmanın göstergesi olarak kabul edilmektedir ancak tek başına yeterli değildir. Destekleyici olarak p53/p21 ve p16INK4a/pRB tümör supresör genlerinin ekspresyonlarının da değerlendirmesi daha güvenilir bilgi sunmaya yardımcı olacaktır. Çay ağacı yağı (TTO), *Melaleuca alternifolia* bitkisinden elde edilen, geniş spektrumlu biyolojik aktiviteleri nedeniyle hem geleneksel hem de modern tıpta ilgi gören kompleks bir esansiyel yağdır. TTO'nun antimikrobiyal, antiviral, antifungal, antiprotozoal ve antioksidan etkileri, onu dermatolojik ve enfeksiyöz hastalıklar bağlamında önemli bir doğal ürün haline getirmiştir (Pazyar ve ark., 2013). TTO'nun son yıllarda en çok dikkat çeken özelliklerinden biri, *in vitro* ve hayvan modellerinde gösterilen antikanser aktivitesidir. Arcella ve Sanchez, TTO uygulamasının glioblastomlu farelerde tümör

boyutunu %80 oranında azalttığını bildirmiştir (Arcella ve Sanchez, 2021). Daha mekanistik çalışmalar, bu etkinin altında yatan süreçleri aydınlatmaktadır. Ramadan ve arkadaşları, TTO'nun malign melanom (A-375) ve skuamöz hücreli karsinom (HEp-2) hücrelerinde, p53 ve pro-apoptotik Bax protein ifadesini artırırken, anti-apoptotik Bcl-2 ifadesini azaltarak apoptotik mekanizmayı tetiklediğini göstermiştir (Ramadan ve ark., 2019). Bu, TTO'nun apoptotik yolağı yeniden aktive ederek tümör hücrelerini kemoterapiye daha duyarlı hale getirebileceğini düşündürmektedir. Yapılan bu çalışmalar incelendiğinde TTO nun etkisinin hücrelerde P53 ifadesini etkilemesi hücrenin bölünme siklusunda düzenleyici etkisi olabileceğine dikkat çekmektedir. Düzenleyici mekanizmaları etkilemesi ve antioksidan süpürücü özellikleri birleşerek sağlıklı hücrelerde senesense karşı koruyucu olarak daha etkili olacağı yönünde yorum yapılabilir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmanın bulguları, mevcut literatürle birlikte değerlendirildiğinde, çay ağacı yağının (TTO) hücresel düzeyde karmaşık ve çok yönlü bir biyolojik aktivite profiline sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Elde edilen veriler, TTO'nun potansiyel terapötik etkilerinin yanı sıra, etki mekanizmaları ve güvenli kullanım parametreleri hakkında kritik sonuçlara işaret etmektedir.

6.1. Sonuç

Proliferatif ve Sitoprotektif Potansiyel: Çalışmada, TTO'nun L929 fare fibroblast hücrelerinde hücre çoğalmasını (proliferasyonu) teşvik edebilen bir ajan olarak öne çıktığı gözlemlenmiştir. Daha da önemlisi, TTO, H_2O_2 'nin neden olduğu güçlü sitotoksik etkiye ve hücresel protein kaybına karşı kısmen koruyucu bir etki sergilemiştir. Bu bulgular, TTO'nun antioksidan kapasitesi veya hücre hayatta kalma yollarını aktive etme yeteneği ile ilişkili olabilecek bir hücre koruyucu (sitoprotektif) potansiyelini ortaya koymaktadır.

Anti-inflamatuar ve SASP Modülasyonu Etkisi: Deneysel bulgularımız, TTO'nun, hidrojen peroksit (H_2O_2) ile indüklenen hücresel senesens (yaşlanma) ile ilişkili sekretuar fenotipin (SASP) önemli belirteçleri olan IL-6 ve IL-8 sitokinlerinin aşırı ifadesini anlamlı derecede baskıladığını göstermiştir. Bu sonuç, TTO'nun, oksidatif stres kaynaklı inflamatuvar yanıtı modüle ederek anti-inflamatuar ve koruyucu bir rol üstlenebileceğini desteklemektedir. TTO'nun tek başına hafif bir inflamatuvar uyarıcı etki göstermesine rağmen senesensi baskılaması, onun homeostatik dengeyi destekleyici bir ajan olarak davranabileceğine işaret etmektedir. Mevcut verilerimiz, TTO'nun literatürde yaygın olarak belgelenen antimikrobiyal ve anti-inflamatuar özelliklerini destekler niteliktedir. Bununla birlikte, elde edilen proliferatif ve SASP-modüle edici etkiler, TTO'nun farmakolojik portföyünün daha önce yeterince vurgulanmamış yönlerini (örn., doku onarımını destekleyici, yaşlanma ile ilişkili kronik inflamasyonu hafifletici) aydınlatmaktadır. Bu etkilerin, TTO'nun geleneksel dermatolojik kullanım alanlarının (akne vulgaris, yüzeysel enfeksiyonlar) ötesine geçen, yara iyileşmesi ve dermokozmetik gibi yeni terapötik uygulamalar için bir temel oluşturabileceği düşünülmektedir.

Tüm bu olumlu potansiyele rağmen, literatür TTO'nun etkilerinin dar bir terapötik pencerede kaldığını ve kesinlikle doza bağımlı olduğunu göstermektedir. Düşük dozlarda anti-inflamatuar, antioksidan ve proliferasyonu destekleyici etkiler gözlemlenirken, yüksek dozlar toksisite, şiddetli irritasyon ve paradoksik olarak oksidatif strese yol açabilmektedir. Bu hormetik yanıt, TTO'nun aynı anda hem terapötik bir ajan hem de potansiyel bir toksin olabileceğini göstererek, kullanımında mutlak bir titizlik gerektirmektedir.

6.2. Öneriler

Elde edilen sonuçlar ve mevcut literatür ışığında, TTO'nun bilimsel temelli ve güvenli kullanımını sağlamak ve terapötik potansiyelini tam olarak değerlendirmek için ileri araştırma ve geliştirme çalışmalarının yapılması öneririz. TTO'nun hücre sel senesans, proliferasyon ve inflamasyon üzerindeki etkileri için kesin doz-yanıt eğrilerinin çıkarılması esastır. *İn vitro* ve prelinik *in vivo* modeller kullanılarak, maksimum terapötik fayda sağlayan minimal toksik dozun (terapötik indeks) belirlenmesi gerekmektedir. TTO'nun SASP baskılama (IL-6, IL-8 azaltımı), proliferasyonu teşvik ve sitoprotektif etkilerinin altında yatan sinyal yollarının (örneğin, Nrf2, NF-κB, MAPK, PI3K/Akt yolları) aydınlatılması gerekmektedir. Ayrıca, ana aktif bileşen terpinen-4-ol'ün ve oksidasyon ürünlerinin bu süreçlerdeki spesifik rolleri izole edilerek incelenmelidir. Bu çalışmada elde edilen umut verici *in vitro* bulguların, kronik yara, foto-yaşlanma veya deri atrofisi modelleri gibi ilgili hayvan modellerinde doğrulanması kritik öneme sahiptir. TTO'nun etkinliğinin, farklı taşıyıcı sistemler (krem, jel, nanoformülasyonlar) ile birlikte değerlendirilmesi, klinik öncesi geçiş için gereklidir.

7. KAYNAKLAR

- Acosta, J.C. *et al.* (2008) 'Chemokine signaling via the CXCR2 receptor reinforces senescence', *Cell*, 133(6), pp. 1006–1018. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2008.03.038>.
- Acosta, J.C. *et al.* (2013) 'A complex secretory program orchestrated by the inflammasome controls paracrine senescence', *Nature Cell Biology* 2013 15:8, 15(8), pp. 978–990. Available at: <https://doi.org/10.1038/ncb2784>.
- Adams, P.D. (2009) 'Healing and hurting: molecular mechanisms, functions, and pathologies of cellular senescence', *Molecular cell*, 36(1), pp. 2–14. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.MOLCEL.2009.09.021>.
- Alimonti, A. *et al.* (2010) 'A novel type of cellular senescence that can be enhanced in mouse models and human tumor xenografts to suppress prostate tumorigenesis', *Journal of Clinical Investigation*, 120(3), pp. 681–693. Available at: <https://doi.org/10.1172/JCI40535>.
- Almasoud, H.A. *et al.* (2022) 'Dose-Dependent Variation in Anticancer Activity of Hexane and Chloroform Extracts of Field Horsetail Plant on Human Hepatocarcinoma Cells', *BioMed research international*, 2022. Available at: <https://doi.org/10.1155/2022/5778411>.
- Angelini, P.D. *et al.* (2013) 'Constitutive HER2 signaling promotes breast cancer metastasis through cellular senescence', *Cancer Research*, 73(1), pp. 450–458. Available at: <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-12-2301>.
- Angus McQuibban, G. *et al.* (2002) 'Matrix metalloproteinase processing of monocyte chemoattractant proteins generates CC chemokine receptor antagonists with anti-inflammatory properties in vivo', *Blood*, 100(4), pp. 1160–1167. Available at: https://doi.org/10.1182/BLOOD.V100.4.1160.H81602001160_1160_1167.
- Aravinthan, A. (2015) 'Cellular senescence: a hitchhiker's guide', *Human Cell*, 28(2), pp. 51–64. Available at: <https://doi.org/10.1007/S13577-015-0110-X/FIGURES/3>.
- Arcella, A. and Sanchez, M. (2021) 'Natural substances to potentiate canonical glioblastoma chemotherapy', *Journal of Chemotherapy*, 33(5), pp. 276–287. Available at: <https://doi.org/10.1080/1120009X.2021.1873633>.
- Assmann, C.E. *et al.* (2018) 'Tea tree oil presents in vitro antitumor activity on breast cancer cells without cytotoxic effects on fibroblasts and on peripheral blood mononuclear cells', *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 103, pp. 1253–1261. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.BIOPHA.2018.04.096>.
- Baggiolini, M. and Clark-Lewis, I. (1992) 'Interleukin-8, a chemotactic and inflammatory cytokine', *FEBS letters*, 307(1), pp. 97–101. Available at: [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(92\)80909-Z](https://doi.org/10.1016/0014-5793(92)80909-Z).
- Baran, P. *et al.* (2018) 'The balance of interleukin (IL)-6, IL-6soluble IL-6 receptor (sIL-6R), and IL-6sIL-6Rsgp130 complexes allows simultaneous classic and trans-signaling', *Journal of Biological Chemistry*, 293(18), pp. 6762–6775. Available at: <https://doi.org/10.1074/jbc.RA117.001163>.
- Barascu, A. *et al.* (2012) 'Oxidative stress induces an ATM-independent senescence

- pathway through p38 MAPK-mediated lamin B1 accumulation', *EMBO Journal*, 31(5), pp. 1080–1094. Available at: <https://doi.org/10.1038/EMBOJ.2011.492>.
- Bartkova, J. *et al.* (2006) 'Oncogene-induced senescence is part of the tumorigenesis barrier imposed by DNA damage checkpoints', *Nature*, 444(7119), pp. 633–637. Available at: <https://doi.org/10.1038/NATURE05268>;KWRD=SCIENCE.
- Beauséjour, C.M. *et al.* (2003) 'Reversal of human cellular senescence: roles of the p53 and p16 pathways', *The EMBO journal*, 22(16), pp. 4212–4222. Available at: <https://doi.org/10.1093/EMBOJ/CDG417>.
- Ben-Porath, I. and Weinberg, R.A. (2004) 'When cells get stressed: an integrative view of cellular senescence', *The Journal of clinical investigation*, 113(1), pp. 8–13. Available at: <https://doi.org/10.1172/JCI20663>.
- Ben-Porath, I. and Weinberg, R.A. (2005) 'The signals and pathways activating cellular senescence', *The international journal of biochemistry & cell biology*, 37(5), pp. 961–976. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.BIOCEL.2004.10.013>.
- Benhar, M., Engelberg, D. and Levitzki, A. (2002) 'ROS, stress-activated kinases and stress signaling in cancer', *EMBO reports*, 3(5), pp. 420–425. Available at: <https://doi.org/10.1093/EMBO-REPORTS/KVF094>.
- Bent, E.H., Gilbert, L.A. and Hemann, M.T. (2016) 'A senescence secretory switch mediated by PI3K/AKT/mTOR activation controls chemoprotective endothelial secretory responses', *Genes & development*, 30(16), pp. 1811–1821. Available at: <https://doi.org/10.1101/GAD.284851.116>.
- Blagosklonny, M. V. (2011) 'Cell cycle arrest is not senescence', *Aging*, 3(2), pp. 94–101. Available at: <https://doi.org/10.18632/AGING.100281>.
- Bojko, A. *et al.* (2019) 'Diversity of the Senescence Phenotype of Cancer Cells Treated with Chemotherapeutic Agents', *Cells*, 8(12). Available at: <https://doi.org/10.3390/CELLS8121501>.
- Braig, M. and Schmitt, C.A. (2006) 'Oncogene-induced senescence: putting the brakes on tumor development', *Cancer research*, 66(6), pp. 2881–2884. Available at: <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-05-4006>.
- Brégégère, F. *et al.* (2003) 'Cellular senescence in human keratinocytes: unchanged proteolytic capacity and increased protein load', *Experimental Gerontology*, 38(6), pp. 619–629. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0531-5565\(03\)00059-7](https://doi.org/10.1016/S0531-5565(03)00059-7).
- Brighton, P.J. *et al.* (2017) 'Clearance of senescent decidual cells by uterine natural killer cells in cycling human endometrium', *eLife*, 6. Available at: <https://doi.org/10.7554/ELIFE.31274>.
- Calcabrini, A. *et al.* (2004) 'Terpinen-4-ol, the main component of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil inhibits the in vitro growth of human melanoma cells', *The Journal of investigative dermatology*, 122(2), pp. 349–360. Available at: <https://doi.org/10.1046/J.0022-202X.2004.22236.X>.
- Caldwell, M.E. *et al.* (2011) 'Cellular features of senescence during the evolution of human and murine ductal pancreatic cancer', *Oncogene* 2012 31:12, 31(12), pp. 1599–1608. Available at: <https://doi.org/10.1038/onc.2011.350>.
- Campisi, J. (2013) 'Aging, cellular senescence, and cancer', *Annual Review of*

Physiology, 75, pp. 685–705. Available at: <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-PHYSIOL-030212-183653>.

Campisi, J. and D'Adda Di Fagagna, F. (2007) 'Cellular senescence: when bad things happen to good cells', *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 2007 8:9, 8(9), pp. 729–740. Available at: <https://doi.org/10.1038/nrm2233>.

Capes-Davis, A. *et al.* (2021) 'Freshney's culture of animal cells : a manual of basic technique and specialized applications', p. 796.

Carson, C.F., Hammer, K.A. and Riley, T. V. (2006) 'Melaleuca alternifolia (Tea Tree) oil: a review of antimicrobial and other medicinal properties', *Clinical microbiology reviews*, 19(1), pp. 50–62. Available at: <https://doi.org/10.1128/CMR.19.1.50-62.2006>.

Chang, B.D. *et al.* (2002) 'Molecular determinants of terminal growth arrest induced in tumor cells by a chemotherapeutic agent', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(1), pp. 389–394. Available at: <https://doi.org/10.1073/PNAS.012602599>.

Chen, J.-H., Ozanne, S.E. and Hales, C.N. (2007) 'Methods of cellular senescence induction using oxidative stress', *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, 371, pp. 179–189. Available at: https://doi.org/10.1007/978-1-59745-361-5_14.

Chen, Q. *et al.* (1995) 'Oxidative DNA damage and senescence of human diploid fibroblast cells.', *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 92(10), pp. 4337–4341. Available at: <https://doi.org/10.1073/PNAS.92.10.4337>.

Chen, Q.M. *et al.* (2001) 'Uncoupling the senescent phenotype from telomere shortening in hydrogen peroxide-treated fibroblasts', *Experimental Cell Research*, 265(2), pp. 294–303. Available at: <https://doi.org/10.1006/excr.2001.5182>.

Chen, Z. *et al.* (2020) 'Tea Tree Oil Prevents Mastitis-Associated Inflammation in Lipopolysaccharide-Stimulated Bovine Mammary Epithelial Cells', *Frontiers in Veterinary Science*, 7. Available at: <https://doi.org/10.3389/FVETS.2020.00496>.

Çınar, İ. *et al.* (2020) 'Gossypin'in L929 Fibroblast Hücrelerindeki Hidrojen Peroksit Hasarına Karşı Koruyucu Etkilerinin Değerlendirilmesi', *Kafkas Tıp Bilimleri Dergisi*, 10(1), pp. 15–23. Available at: <https://doi.org/10.5505/kjms.2020.06025>.

Collado, M., Blasco, M.A. and Serrano, M. (2007) 'Cellular senescence in cancer and aging', *Cell*, 130(2), pp. 223–233. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2007.07.003>.

Collins, C.J. and Sedivy, J.M. (2003) 'Involvement of the INK4a/Arf gene locus in senescence', *Aging Cell*, 2(3), pp. 145–150. Available at: <https://doi.org/10.1046/J.1474-9728.2003.00048.X>.

Coppé, J.P. *et al.* (2008) 'Senescence-associated secretory phenotypes reveal cell-nonautonomous functions of oncogenic RAS and the p53 tumor suppressor', *PLoS biology*, 6(12). Available at: <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PBIO.0060301>.

Coppé, J.P. *et al.* (2010) 'The Senescence-Associated Secretory Phenotype: The Dark Side of Tumor Suppression', *Annual review of pathology*, 5, p. 99. Available at: <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-PATHOL-121808-102144>.

Coppé, J.P. *et al.* (2011) 'Tumor suppressor and aging biomarker p16(INK4a) induces

cellular senescence without the associated inflammatory secretory phenotype', *The Journal of biological chemistry*, 286(42), pp. 36396–36403. Available at: <https://doi.org/10.1074/JBC.M111.257071>.

Correia-Melo, C. and Passos, J.F. (2015) 'Mitochondria: Are they causal players in cellular senescence?', *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 1847(11), pp. 1373–1379. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.BBABIO.2015.05.017>.

Courtois-Cox, S. *et al.* (2006) 'A negative feedback signaling network underlies oncogene-induced senescence', *Cancer Cell*, 10(6), pp. 459–472. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2006.10.003>.

Courtois-Cox, S., Jones, S.L. and Cichowski, K. (2008) 'Many roads lead to oncogene-induced senescence', *Oncogene*, 27(20), pp. 2801–2809. Available at: <https://doi.org/10.1038/SJ.ONC.1210950>.

Dallas, N.A. *et al.* (2007) 'Functional significance of vascular endothelial growth factor receptors on gastrointestinal cancer cells', *Cancer and Metastasis Reviews*, 26(3–4), pp. 433–441. Available at: <https://doi.org/10.1007/S10555-007-9070-2>.

Dalle Pezze, P. *et al.* (2014) 'Dynamic modelling of pathways to cellular senescence reveals strategies for targeted interventions', *PLoS computational biology*, 10(8). Available at: <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PCBI.1003728>.

Davalos, A.R. *et al.* (2013) 'p53-dependent release of Alarmin HMGB1 is a central mediator of senescent phenotypes', *Journal of Cell Biology*, 201(4), pp. 613–629. Available at: <https://doi.org/10.1083/JCB.201206006>.

Debacq-Chainiaux, F. *et al.* (2010) 'P38MAPK in the senescence of human and murine fibroblasts', *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 694, pp. 126–137. Available at: https://doi.org/10.1007/978-1-4419-7002-2_10.

Demaria, M. *et al.* (2014) 'An essential role for senescent cells in optimal wound healing through secretion of PDGF-AA', *Developmental Cell*, 31(6), pp. 722–733. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2014.11.012>.

Deryabin, P. *et al.* (2020) 'The link between endometrial stromal cell senescence and decidualization in female fertility: the art of balance', *Cellular and molecular life sciences : CMLS*, 77(7), pp. 1357–1370. Available at: <https://doi.org/10.1007/S00018-019-03374-0>.

Dhomen, N. *et al.* (2009) 'Oncogenic Braf Induces Melanocyte Senescence and Melanoma in Mice', *Cancer Cell*, 15(4), pp. 294–303. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2009.02.022>.

Dimri, G.P. *et al.* (1995) 'A biomarker that identifies senescent human cells in culture and in aging skin in vivo', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 92(20), pp. 9363–9367. Available at: <https://doi.org/10.1073/PNAS.92.20.9363>.

Dimri, G.P. (2005) 'What has senescence got to do with cancer?', *Cancer cell*, 7(6), pp. 505–512. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.CCR.2005.05.025>.

Doran, J.C. *et al.* (2006) 'Genetic gains in oil yields after nine years of breeding *Melaleuca alternifolia* (Myrtaceae)', *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 46(11), pp. 1521–1527. Available at: <https://doi.org/10.1071/EA05205>.

Estrada, J.C. *et al.* (2013) 'Human mesenchymal stem cell-replicative senescence and oxidative stress are closely linked to aneuploidy.', *Cell death & disease*, 4(6). Available at: <https://doi.org/10.1038/CDDIS.2013.211>.

Ewald, J.A. *et al.* (2010) 'Therapy-Induced Senescence in Cancer', *JNCI Journal of the National Cancer Institute*, 102(20), p. 1536. Available at: <https://doi.org/10.1093/JNCI/DJQ364>.

Falci, S.P.P. *et al.* (2015) 'Antimicrobial activity of Melaleuca sp. oil against clinical isolates of antibiotics resistant Staphylococcus aureus', *Acta cirurgica brasileira*, 30(6), pp. 401–406. Available at: <https://doi.org/10.1590/S0102-865020150060000005>.

Fang, L. *et al.* (2014) 'ATM regulates NF- κ B-dependent immediate-early genes via RelA Ser 276 phosphorylation coupled to CDK9 promoter recruitment', *Nucleic acids research*, 42(13), pp. 8416–8432. Available at: <https://doi.org/10.1093/NAR/GKU529>.

Favaro, R., Abrahamsohn, P.A. and Zorn, M.T. (2014) 'Decidualization and Endometrial Extracellular Matrix Remodeling', *The Guide to Investigation of Mouse Pregnancy*, pp. 125–142. Available at: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394445-0.00011-4>.

Fitsiou, E. *et al.* (2021) 'Cellular Senescence and the Senescence-Associated Secretory Phenotype as Drivers of Skin Photoaging', *Journal of Investigative Dermatology*, 141(4), pp. 1119–1126. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.JID.2020.09.031/ASSET/E4398797-B441-451D-8E37-3D13E200F66D/MAIN.ASSETS/GR1.JPG>.

Freund, A. *et al.* (2012) 'Lamin B1 loss is a senescence-associated biomarker', *Molecular Biology of the Cell*, 23(11), pp. 2066–2075. Available at: <https://doi.org/10.1091/MBE.11-10-0884>.

Garbers, C. *et al.* (2013) 'Cellular senescence or EGFR signaling induces Interleukin 6 (IL-6) receptor expression controlled by mammalian target of rapamycin (mTOR)', *Cell Cycle*, 12(21), pp. 3421–3432. Available at: <https://doi.org/10.4161/CC.26431>.

Garfinkel, S. *et al.* (1994) 'Post-transcriptional regulation of interleukin 1 alpha in various strains of young and senescent human umbilical vein endothelial cells', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 91(4), pp. 1559–1563. Available at: <https://doi.org/10.1073/PNAS.91.4.1559>.

Gary, R.K. and Kindell, S.M. (2005) 'Quantitative assay of senescence-associated β -galactosidase activity in mammalian cell extracts', *Analytical Biochemistry*, 343(2), pp. 329–334. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.AB.2005.06.003>.

Georgakopoulou, E.A. *et al.* (2012) 'Specific lipofuscin staining as a novel biomarker to detect replicative and stress-induced senescence. A method applicable in cryo-preserved and archival tissues', *Aging (Albany NY)*, 5(1), p. 37. Available at: <https://doi.org/10.18632/AGING.100527>.

Gerasymchuk, M. *et al.* (2022) 'Modeling of the Senescence-Associated Phenotype in Human Skin Fibroblasts', *International journal of molecular sciences*, 23(13). Available at: <https://doi.org/10.3390/IJMS23137124>.

Gewirtz, D.A. (1999) 'A critical evaluation of the mechanisms of action proposed for

the antitumor effects of the anthracycline antibiotics adriamycin and daunorubicin', *Biochemical Pharmacology*, 57(7), pp. 727–741. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0006-2952\(98\)00307-4](https://doi.org/10.1016/S0006-2952(98)00307-4).

Ghosh, K. and Capell, B.C. (2016) 'The Senescence-Associated Secretory Phenotype: Critical Effector in Skin Cancer and Aging', *Journal of Investigative Dermatology*, 136(11), pp. 2133–2139. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.JID.2016.06.621/ASSET/2840F32C-3159-429A-8878-F0CAE64CDE07/MAIN.ASSETS/GR3.JPG>.

Gil, J. and Peters, G. (2006) 'Regulation of the INK4b-ARF-INK4a tumour suppressor locus: All for one or one for all', *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 7(9), pp. 667–677. Available at: <https://doi.org/10.1038/NRM1987;KWRD=LIFE+SCIENCES>.

Gorgoulis, V. *et al.* (2019) 'Cellular Senescence: Defining a Path Forward', *Cell*, 179(4), pp. 813–827. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2019.10.005>.

Gorgoulis, V.G. and Halazonetis, T.D. (2010) 'Oncogene-induced senescence: the bright and dark side of the response', *Current opinion in cell biology*, 22(6), pp. 816–827. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.CEB.2010.07.013>.

Greay, S. J. *et al.* (2010) 'Induction of necrosis and cell cycle arrest in murine cancer cell lines by Melaleuca alternifolia (tea tree) oil and terpinen-4-ol', *Cancer chemotherapy and pharmacology*, 65(5), pp. 877–888. Available at: <https://doi.org/10.1007/S00280-009-1093-7>.

Greay, Sara J. *et al.* (2010) 'Inhibition of established subcutaneous murine tumour growth with topical Melaleuca alternifolia (tea tree) oil', *Cancer chemotherapy and pharmacology*, 66(6), pp. 1095–1102. Available at: <https://doi.org/10.1007/S00280-010-1267-3>.

Grivennikov, S.I., Greten, F.R. and Karin, M. (2010) 'Immunity, Inflammation, and Cancer', *Cell*, 140(6), pp. 883–899. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.01.025>.

Gruber, F. *et al.* (2020) 'Cell aging and cellular senescence in skin aging — Recent advances in fibroblast and keratinocyte biology', *Experimental Gerontology*, 130, p. 110780. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.EXGER.2019.110780>.

Hammer, K.A., Carson, C.F. and Riley, T. V. (2012) 'Effects of Melaleuca alternifolia (tea tree) essential oil and the major monoterpene component terpinen-4-ol on the development of single- and multistep antibiotic resistance and antimicrobial susceptibility', *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 56(2), p. 909. Available at: <https://doi.org/10.1128/AAC.05741-11>.

Harley, C.B., Futcher, A.B. and Greider, C.W. (1990) 'Telomeres shorten during ageing of human fibroblasts', *Nature* 1990 345:6274, 345(6274), pp. 458–460. Available at: <https://doi.org/10.1038/345458a0>.

Hastie, N.D. *et al.* (1990) 'Telomere reduction in human colorectal carcinoma and with ageing', *Nature*, 346(6287), pp. 866–868. Available at: <https://doi.org/10.1038/346866A0>.

Hayflick, L. (1965) 'THE LIMITED IN VITRO LIFETIME OF HUMAN DIPLOID CELL STRAINS', *Experimental cell research*, 37(3), pp. 614–636. Available at:

[https://doi.org/10.1016/0014-4827\(65\)90211-9](https://doi.org/10.1016/0014-4827(65)90211-9).

Hayflick, L. and Moorhead, P.S. (1961) 'The serial cultivation of human diploid cell strains', *Experimental Cell Research*, 25(3), pp. 585–621. Available at: [https://doi.org/10.1016/0014-4827\(61\)90192-6](https://doi.org/10.1016/0014-4827(61)90192-6).

Hemann, M.T. and Greider, C.W. (1999) 'G-strand overhangs on telomeres in telomerase-deficient mouse cells', *Nucleic Acids Research*, 27(20), pp. 3964–3969. Available at: <https://doi.org/10.1093/NAR/27.20.3964>.

Hernandez-Segura, A., Nehme, J. and Demaria, M. (2018) 'Hallmarks of Cellular Senescence', *Trends in cell biology*, 28(6), pp. 436–453. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.TCB.2018.02.001>.

Höhn, A. *et al.* (2017) 'Happily (n)ever after: Aging in the context of oxidative stress, proteostasis loss and cellular senescence', *Redox Biology*, 11, pp. 482–501. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.REDOX.2016.12.001>.

Holt, D.J. and Grainger, D.W. (2012) 'Senescence and quiescence induced compromised function in cultured macrophages', *Biomaterials*, 33(30), pp. 7497–7507. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.BIOMATERIALS.2012.06.099>.

Homer, L.E. *et al.* (2000) 'Natural variation in the essential oil content of *Melaleuca alternifolia* Cheel (Myrtaceae)', *Biochemical Systematics and Ecology*, 28(4), pp. 367–382. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0305-1978\(99\)00071-X](https://doi.org/10.1016/S0305-1978(99)00071-X).

Hornebeck, W. and Maquart, F.X. (2003) 'Proteolyzed matrix as a template for the regulation of tumor progression', *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 57(5–6), pp. 223–230. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0753-3322\(03\)00049-0](https://doi.org/10.1016/S0753-3322(03)00049-0).

Hücresel Yaşlanma: Nedir, Neden ve Nasıl (no date). Available at: <https://www.hmpgloballearningnetwork.com/site/wounds/article/cellular-senescence-what-why-and-how> (Accessed: 23 February 2025).

Hwang, E.S., Yoon, G. and Kang, H.T. (2009) 'A comparative analysis of the cell biology of senescence and aging', *Cellular and molecular life sciences: CMLS*, 66(15), pp. 2503–2524. Available at: <https://doi.org/10.1007/S00018-009-0034-2>.

Ireland, D.J. *et al.* (2012) 'Topically applied *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil causes direct anti-cancer cytotoxicity in subcutaneous tumour bearing mice', *Journal of dermatological science*, 67(2), pp. 120–129. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.JDERMSCI.2012.05.005>.

Jha, K.K. *et al.* (1998) 'SV40-Mediated immortalization', *Experimental cell research*, 245(1), pp. 1–7. Available at: <https://doi.org/10.1006/EXCR.1998.4272>.

Jun, J. Il and Lau, L.F. (2010) 'The matricellular protein CCN1 induces fibroblast senescence and restricts fibrosis in cutaneous wound healing', *Nature Cell Biology*, 12(7), pp. 676–685. Available at: <https://doi.org/10.1038/NCB2070>.

Kiecolt-Glaser, J.K. *et al.* (2003) 'Chronic stress and age-related increases in the proinflammatory cytokine IL-6', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100(15), pp. 9090–9095. Available at: <https://doi.org/10.1073/PNAS.1531903100>.

Kim, K.H. *et al.* (2004) 'Expression of connective tissue growth factor, a biomarker in senescence of human diploid fibroblasts, is up-regulated by a transforming growth

factor- β -mediated signaling pathway', *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 318(4), pp. 819–825. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2004.04.108>.

Kim, W.Y. and Sharpless, N.E. (2006) 'The Regulation of INK4/ARF in Cancer and Aging', *Cell*, 127(2), pp. 265–275. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.10.003>.

Kojima, H. *et al.* (2013) 'IL-6-STAT3 signaling and premature senescence', *JAK-STAT*, 2(4), p. e25763. Available at: <https://doi.org/10.4161/JKST.25763>.

Korolchuk, V.I. *et al.* (2017) 'Mitochondria in Cell Senescence: Is Mitophagy the Weakest Link?', *EBioMedicine*, 21, pp. 7–13. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.EBIOM.2017.03.020/ASSET/4E3AD3C5-5BE8-4840-818E-BDC66F11888A/MAIN.ASSETS/GR3.JPG>.

Kuilman, T. *et al.* (2008) 'Oncogene-induced senescence relayed by an interleukin-dependent inflammatory network', *Cell*, 133(6), pp. 1019–1031. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2008.03.039>.

Kuilman, T. *et al.* (2010) 'The essence of senescence', *Genes & development*, 24(22), pp. 2463–2479. Available at: <https://doi.org/10.1101/GAD.1971610>.

Kumar, S., Millis, A.J.T. and Baguoni, C. (1992) 'Expression of interleukin 1-inducible genes and production of interleukin 1 by aging human fibroblasts.', *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 89(10), pp. 4683–4687. Available at: <https://doi.org/10.1073/PNAS.89.10.4683>.

Li, T. *et al.* (2016) 'Loss of p53-mediated cell-cycle arrest, senescence and apoptosis promotes genomic instability and premature aging', *Oncotarget*, 7(11), pp. 11838–11849. Available at: <https://doi.org/10.18632/ONCOTARGET.7864>.

Liu, D. and Hornsby, P.J. (2007) 'Senescent human fibroblasts increase the early growth of xenograft tumors via matrix metalloproteinase secretion', *Cancer research*, 67(7), pp. 3117–3126. Available at: <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-06-3452>.

Liu, D. and Xu, Y. (2011) 'p53, Oxidative Stress, and Aging', *Antioxidants & Redox Signaling*, 15(6), p. 1669. Available at: <https://doi.org/10.1089/ARS.2010.3644>.

Lopez-Bermejo, A. *et al.* (2000) 'Characterization of insulin-like growth factor-binding protein-related proteins (IGFBP-rPs) 1, 2, and 3 in human prostate epithelial cells: potential roles for IGFBP-rP1 and 2 in senescence of the prostatic epithelium', *Endocrinology*, 141(11), pp. 4072–4080. Available at: <https://doi.org/10.1210/ENDO.141.11.7783>.

Lu, T. and Finkel, T. (2008) 'Free radicals and senescence', *Experimental cell research*, 314(9), pp. 1918–1922. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.YEXCR.2008.01.011>.

Lucas, E.S. *et al.* (2020) 'Recurrent pregnancy loss is associated with a pro-senescent decidual response during the peri-implantation window', *Communications Biology* 2020 3:1, 3(1), pp. 1–14. Available at: <https://doi.org/10.1038/s42003-020-0763-1>.

Maduro, A.T., Luís, C. and Soares, R. (2021) 'Ageing, cellular senescence and the impact of diet: an overview', *Porto Biomedical Journal*, 6(1), p. e120. Available at:

<https://doi.org/10.1097/J.PBJ.0000000000000120>.

Maggio, M. *et al.* (2006) 'Interleukin-6 in aging and chronic disease: A magnificent pathway', *Journals of Gerontology - Series A Biological Sciences and Medical Sciences*, 61(6), pp. 575–584. Available at: <https://doi.org/10.1093/GERONA/61.6.575>,.

Maier, J.A.M. *et al.* (1990) 'Extension of the life-span of human endothelial cells by an interleukin-1 alpha antisense oligomer', *Science (New York, N.Y.)*, 249(4976), pp. 1570–1574. Available at: <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.2218499>.

Mantovani, A. *et al.* (2001) 'Decoy receptors: a strategy to regulate inflammatory cytokines and chemokines', *Trends in immunology*, 22(6), pp. 328–336. Available at: [https://doi.org/10.1016/S1471-4906\(01\)01941-X](https://doi.org/10.1016/S1471-4906(01)01941-X).

Marcoux, S. *et al.* (2013) 'Expression of the senescence marker p16INK4a in skin biopsies of acute lymphoblastic leukemia survivors: A pilot study', *Radiation Oncology*, 8(1), pp. 1–4. Available at: <https://doi.org/10.1186/1748-717X-8-252/FIGURES/1>.

Mariotti, M. *et al.* (2006) 'Interleukin I alpha is a marker of endothelial cellular senescent', *Immunity and Ageing*, 3. Available at: <https://doi.org/10.1186/1742-4933-3-4>.

Marquez, C.M.D., Ibana, J.A. and Velarde, M.C. (2017) 'The female reproduction and senescence nexus', *American journal of reproductive immunology (New York, N.Y. : 1989)*, 77(5). Available at: <https://doi.org/10.1111/AJI.12646>.

Marthandan, S. *et al.* (2016) 'Conserved genes and pathways in primary human fibroblast strains undergoing replicative and radiation induced senescence', *Biological Research*, 49(1). Available at: <https://doi.org/10.1186/S40659-016-0095-2>,.

Martic, I. *et al.* (2020) 'A new model to investigate UVB-induced cellular senescence and pigmentation in melanocytes', *Mechanisms of Ageing and Development*, 190, p. 111322. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.MAD.2020.111322>.

McConnell, B.B. *et al.* (1998) 'Inhibitors of cyclin-dependent kinases induce features of replicative senescence in early passage human diploid fibroblasts', *Current Biology*, 8(6), pp. 351–354. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0960-9822\(98\)70137-X](https://doi.org/10.1016/S0960-9822(98)70137-X).

McLachlan, J.A. *et al.* (1995) 'Immunological functions of aged human monocytes', *Pathobiology : journal of immunopathology, molecular and cellular biology*, 63(3), pp. 148–159. Available at: <https://doi.org/10.1159/000163946>.

Mehta, I.S. *et al.* (2007) 'Alterations to nuclear architecture and genome behavior in senescent cells', *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1100, pp. 250–263. Available at: <https://doi.org/10.1196/ANNALS.1395.027>.

Di Micco, R. *et al.* (2006) 'Oncogene-induced senescence is a DNA damage response triggered by DNA hyper-replication', *Nature*, 444(7119), pp. 638–642. Available at: <https://doi.org/10.1038/NATURE05327>,.

Miguel, M.G. and Miguel, M.G. (2010) 'Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Essential Oils: A Short Review', *Molecules 2010, Vol. 15, Pages 9252-9287*, 15(12), pp. 9252–9287. Available at: <https://doi.org/10.3390/MOLECULES15129252>.

Milanovic, M. *et al.* (2018) ‘Senescence-associated reprogramming promotes cancer stemness’, *Nature*, 553(7686), pp. 96–100. Available at: <https://doi.org/10.1038/NATURE25167>,.

Mimeault, M. and Batra, S.K. (2009) ‘Recent insights into the molecular mechanisms involved in aging and the malignant transformation of adult stem/progenitor cells and their therapeutic implications’, *Ageing research reviews*, 8(2), pp. 94–112. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.ARR.2008.12.001>.

Di Mitri, D. and Alimonti, A. (2016) ‘Non-Cell-Autonomous Regulation of Cellular Senescence in Cancer’, *Trends in Cell Biology*, 26(3), pp. 215–226. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2015.10.005>.

Mittal, M. *et al.* (2014) ‘Reactive Oxygen Species in Inflammation and Tissue Injury’, *Antioxidants & Redox Signaling*, 20(7), p. 1126. Available at: <https://doi.org/10.1089/ARS.2012.5149>.

Muñoz-Espín, D. *et al.* (2013) ‘Programmed cell senescence during mammalian embryonic development’, *Cell*, 155(5), p. 1104. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2013.10.019>.

Muñoz-Espín, D. and Serrano, M. (2014) ‘Cellular senescence: from physiology to pathology’, *Nature reviews. Molecular cell biology*, 15(7), pp. 482–496. Available at: <https://doi.org/10.1038/NRM3823>.

Murphy, P.M. and Tiffany, H.L. (1991) ‘Cloning of complementary DNA encoding a functional human interleukin-8 receptor’, *Science (New York, N.Y.)*, 253(5025), pp. 1280–1283. Available at: <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1891716>.

Nakamura, A.J. *et al.* (2008) ‘Both telomeric and non-telomeric DNA damage are determinants of mammalian cellular senescence’, *Epigenetics & Chromatin* 2008 1:1, 1(1), pp. 1–12. Available at: <https://doi.org/10.1186/1756-8935-1-6>.

Narita, Masashi *et al.* (2003) ‘Rb-mediated heterochromatin formation and silencing of E2F target genes during cellular senescence’, *Cell*, 113(6), pp. 703–716. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(03\)00401-X](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(03)00401-X).

Naugler, W.E. and Karin, M. (2008) ‘The wolf in sheep’s clothing: the role of interleukin-6 in immunity, inflammation and cancer’, *Trends in Molecular Medicine*, 14(3), pp. 109–119. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.MOLMED.2007.12.007>.

Ness, K.K. *et al.* (2015) ‘Frailty in childhood cancer survivors’, *Cancer*, 121(10), pp. 1540–1547. Available at: <https://doi.org/10.1002/CNCR.29211>,.

Neves, J. *et al.* (2015) ‘Of Flies, Mice, and Men: Evolutionarily Conserved Tissue Damage Responses and Aging’, *Developmental Cell*, 32(1), pp. 9–18. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.DEVCEL.2014.11.028>.

Nogueira, V. *et al.* (2008) ‘Akt Determines Replicative Senescence and Oxidative or Oncogenic Premature Senescence and Sensitizes Cells to Oxidative Apoptosis’, *Cancer Cell*, 14(6), pp. 458–470. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2008.11.003>.

Packer, L. and Fuehr, K. (1977) ‘Low oxygen concentration extends the lifespan of cultured human diploid cells [13]’, *Nature*, 267(5610), pp. 423–425. Available at: <https://doi.org/10.1038/267423A0>,.

- Padovan, A. *et al.* (2017) 'Four terpene synthases contribute to the generation of chemotypes in tea tree (*Melaleuca alternifolia*)', *BMC plant biology*, 17(1). Available at: <https://doi.org/10.1186/S12870-017-1107-2>.
- Palmero, I., Pantoja, C. and Serrano, M. (1998) 'p19(ARF) links the tumour suppressor p53 to Ras [6]', *Nature*, 395(6698), pp. 125–126. Available at: <https://doi.org/10.1038/25870>.
- Palmieri, D., Watson, J.M. and Rinehart, C.A. (1999) 'Age-related expression of PEDF/EPC-1 in human endometrial stromal fibroblasts: implications for interactive senescence', *Experimental cell research*, 247(1), pp. 142–147. Available at: <https://doi.org/10.1006/EXCR.1998.4341>.
- Parrinello, S. *et al.* (2003) 'Oxygen sensitivity severely limits the replicative lifespan of murine fibroblasts', *Nature Cell Biology*, 5(8), pp. 741–747. Available at: <https://doi.org/10.1038/NCB1024>.
- Passos, J.F. *et al.* (2007) 'Mitochondrial Dysfunction Accounts for the Stochastic Heterogeneity in Telomere-Dependent Senescence', *PLOS Biology*, 5(5), p. e110. Available at: <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PBIO.0050110>.
- Passos, J.F. *et al.* (2009) 'Cellular senescence: Unravelling complexity', *Age*, 31(4), pp. 353–363. Available at: <https://doi.org/10.1007/S11357-009-9108-1/FIGURES/2>.
- Patel, P.L. *et al.* (2016) 'Derepression of hTERT gene expression promotes escape from oncogene-induced cellular senescence', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 113(34), pp. E5024–E5033. Available at: https://doi.org/10.1073/PNAS.1602379113/SUPPL_FILE/PNAS.201602379SI.PDF.
- Patri, G. and Sahu, A. (2017) 'Role of Herbal Agents - Tea Tree Oil and Aloe vera as Cavity Disinfectant Adjuncts in Minimally Invasive Dentistry-An In vivo Comparative Study', *Journal of clinical and diagnostic research : JCDR*, 11(7), pp. DC05–DC09. Available at: <https://doi.org/10.7860/JCDR/2017/27598.10147>.
- Pazyar, N. *et al.* (2013) 'A review of applications of tea tree oil in dermatology', *International journal of dermatology*, 52(7), pp. 784–790. Available at: <https://doi.org/10.1111/J.1365-4632.2012.05654.X>.
- Peeper, D.S. *et al.* (2002) 'A functional screen identifies hDRIL1 as an oncogene that rescues RAS-induced senescence', *Nature Cell Biology*, 4(2), pp. 148–153. Available at: <https://doi.org/10.1038/NCB742>.
- Petrova, N. V. *et al.* (2016) 'Small molecule compounds that induce cellular senescence', *Aging Cell*, 15(6), pp. 999–1017. Available at: <https://doi.org/10.1111/ACEL.12518>.
- Pitt, J.N. and Kaeberlein, M. (2015) 'Why is aging conserved and what can we do about it?', *PLoS biology*, 13(4). Available at: <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PBIO.1002131>.
- Rajagopalan, S. (2014) 'HLA-G-mediated NK cell senescence promotes vascular remodeling: implications for reproduction', *Cellular & molecular immunology*, 11(5), pp. 460–466. Available at: <https://doi.org/10.1038/CMI.2014.53>.
- Ramadan, M.A. *et al.* (2019) 'Expression of P53, BAX, and BCL-2 in human malignant melanoma and squamous cell carcinoma cells after tea tree oil treatment in

vitro', *Cytotechnology*, 71(1), p. 461. Available at: <https://doi.org/10.1007/S10616-018-0287-4>.

Reichling, J. *et al.* (2006) 'In vitro studies on release and human skin permeation of Australian tea tree oil (TTO) from topical formulations', *European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics: official journal of Arbeitsgemeinschaft fur Pharmazeutische Verfahrenstechnik e.V.*, 64(2), pp. 222–228. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.EJPB.2006.05.006>.

Remziye KATIRCI (2024) *patolojik desidual senesense bağıli gelişen tekrarlayan gebelik kayıplarının desidual hücrelerinde progesteron analogu uygulamasının foxm1 ekspresyonuna etkisinin araştırılması*. Akdeniz Üniversitesi.

Rodier, F. *et al.* (2009) 'Persistent DNA damage signalling triggers senescence-associated inflammatory cytokine secretion', *Nature cell biology*, 11(8), pp. 973–979. Available at: <https://doi.org/10.1038/NCB1909>.

Rodier, F. and Campisi, J. (2011) 'Four faces of cellular senescence', *The Journal of cell biology*, 192(4), pp. 547–556. Available at: <https://doi.org/10.1083/JCB.201009094>.

Rossi, D.J., Jamieson, C.H.M. and Weissman, I.L. (2008) 'Stems cells and the pathways to aging and cancer', *Cell*, 132(4), pp. 681–696. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2008.01.036>.

Russell, M. *et al.* (2006) 'Grow-ING, Age-ING and Die-ING: ING proteins link cancer, senescence and apoptosis', *Experimental cell research*, 312(7), pp. 951–961. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.YEXCR.2006.01.020>.

Salama, R. *et al.* (2014) 'Cellular senescence and its effector programs', *Genes & development*, 28(2), pp. 99–114. Available at: <https://doi.org/10.1101/GAD.235184.113>.

Saller, R. *et al.* (1998) 'Pharmaceutical and medicinal aspects of Australian tea tree oil', *Phytomedicine: international journal of phytotherapy and phytopharmacology*, 5(6), pp. 489–495. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0944-7113\(98\)80048-2](https://doi.org/10.1016/S0944-7113(98)80048-2).

Sanchez-Prieto, R. *et al.* (2000) 'A role for the p38 mitogen-activated protein kinase pathway in the transcriptional activation of p53 on genotoxic stress by chemotherapeutic agents', *Cancer Research*, 60(9), pp. 2464–2472. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10811125/> (Accessed: 6 August 2025).

Serrano, M. *et al.* (1997) 'Oncogenic ras provokes premature cell senescence associated with accumulation of p53 and p16INK4a', *Cell*, 88(5), pp. 593–602. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)81902-9](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)81902-9).

Sevim, Ç. *et al.* (2024) 'Effect of Various Extracts Obtained From Bee Pollen on L929 Fibroblast Cell Proliferation', *Current Research in Health Sciences*, 1(1), pp. 1–7. Available at: <https://doi.org/10.5281/ZENODO.10779249>.

Shapira, S. *et al.* (2016) 'Terpinen-4-ol: A Novel and Promising Therapeutic Agent for Human Gastrointestinal Cancers', *PLOS ONE*, 11(6), p. e0156540. Available at: <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0156540>.

Sharifi-Rad, J. *et al.* (2017) 'Plants of the Melaleuca Genus as Antimicrobial Agents: From Farm to Pharmacy', *Phytotherapy research: PTR*, 31(10), pp. 1475–1494.

Available at: <https://doi.org/10.1002/PTR.5880>.

Sharpless, N.E. and Sherr, C.J. (2015) 'Forging a signature of in vivo senescence', *Nature reviews. Cancer*, 15(7), pp. 397–408. Available at: <https://doi.org/10.1038/NRC3960>.

Singh, K. *et al.* (2015) 'superoxide anion radicals induce igf -1 resistance through concomitant activation of ptp 1 b and pten ', *embo molecular medicine*, 7(1), pp. 59–77. available at: https://doi.org/10.15252/emmm.201404082/suppl_file/emmm201404082.reviewer_comments.pdf.

Song, Q. *et al.* (2022) 'Oxidized cyclodextrin inclusion tea tree oil to prepare long-lasting antibacterial collagen scaffold for enhanced wound healing', *Journal of Applied Polymer Science*, 139(19). Available at: <https://doi.org/10.1002/APP.52139>.

Soto-Gamez, A. and Demaria, M. (2017) 'Therapeutic interventions for aging: the case of cellular senescence', *Drug Discovery Today*, 22(5), pp. 786–795. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2017.01.004>.

Van Den Steen, P.E. *et al.* (2003) 'Gelatinase B/MMP-9 and neutrophil collagenase/MMP-8 process the chemokines human GCP-2/CXCL6, ENA-78/CXCL5 and mouse GCP-2/LIX and modulate their physiological activities', *European journal of biochemistry*, 270(18), pp. 3739–3749. Available at: <https://doi.org/10.1046/J.1432-1033.2003.03760.X>.

Storci, G. *et al.* (2019) 'Genomic stability, anti-inflammatory phenotype, and up-regulation of the RNaseH2 in cells from centenarians', *Cell death and differentiation*, 26(9), pp. 1845–1858. Available at: <https://doi.org/10.1038/S41418-018-0255-8>.

Storer, M. *et al.* (2013) 'XSenescence is a developmental mechanism that contributes to embryonic growth and patterning', *Cell*, 155(5), p. 1119. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2013.10.041/ATTACHMENT/3430E4EE-3088-4BDD-A704-CA1792AF5B98/MMC4.PDF>.

Studencka, M. and Schaber, J. (2017) 'Senoptosis: non-lethal DNA cleavage as a route to deep senescence', *Oncotarget*, 8(19), p. 30656. Available at: <https://doi.org/10.18632/ONCOTARGET.15693>.

Suzuki, M. and Boothman, D.A. (2008) 'Stress-induced premature senescence (SIPS)-influence of SIPS on radiotherapy', *Journal of radiation research*, 49(2), pp. 105–112. Available at: <https://doi.org/10.1269/JRR.07081>.

Tanaka, T., Narazaki, M. and Kishimoto, T. (2014) 'IL-6 in inflammation, immunity, and disease', *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 6(10). Available at: <https://doi.org/10.1101/CSHPERSPECT.A016295>.

Tezgül Çakır, N. *et al.* (2005) 'TEA TREE OIL: AS A PROMISING ANTIMICROBIAL AGENT', *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 34(4), pp. 315–327. Available at: https://doi.org/10.1501/ECZFAK_00000000042.

Theerakittayakorn, K. and Bunprasert, T. (2011) 'Differentiation Capacity of Mouse L929 Fibroblastic Cell Line Compare With Human Dermal Fibroblast', *International Journal of Medical and Health Sciences* [Preprint].

Tominaga, K. (2015) 'The emerging role of senescent cells in tissue homeostasis and

pathophysiology', *Pathobiology of Aging & Age-related Diseases*, 5(1), p. 27743. Available at: <https://doi.org/10.3402/PBA.V5.27743>.

Toso, A. *et al.* (2014) 'Enhancing Chemotherapy Efficacy in Pten-Deficient Prostate Tumors by Activating the Senescence-Associated Antitumor Immunity', *Cell Reports*, 9(1), pp. 75–89. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.CELREP.2014.08.044>.

Toussaint, O., Medrano, E.E. and Von Zglinicki, T. (2000) 'Cellular and molecular mechanisms of stress-induced premature senescence (SIPS) of human diploid fibroblasts and melanocytes', *Experimental Gerontology*, 35(8), pp. 927–945. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0531-5565\(00\)00180-7](https://doi.org/10.1016/S0531-5565(00)00180-7).

Vanpouille-Box, C. *et al.* (2018) 'Cytosolic DNA Sensing in Organismal Tumor Control', *Cancer cell*, 34(3), pp. 361–378. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.CCELL.2018.05.013>.

Victorelli, S. and Passos, J.F. (2019) 'Reactive Oxygen Species Detection in Senescent Cells', *Methods in Molecular Biology*, 1896, pp. 21–29. Available at: https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8931-7_3.

Wang, Z. *et al.* (2020) 'Aging-associated alterations in epidermal function and their clinical significance', *Aging*, 12(6), pp. 5551–5565. Available at: <https://doi.org/10.18632/AGING.102946>.

Watanabe, S. *et al.* (2018) 'Interactions of HP1 Bound to H3K9me3 Dinucleosome by Molecular Simulations and Biochemical Assays', *Biophysical journal*, 114(10), pp. 2336–2351. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.BPJ.2018.03.025>.

Watanabe, Y. *et al.* (1997) 'Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor (VPF/ VEGF) delays and induces escape from senescence in human dermal microvascular endothelial cells', *Oncogene*, 14(17), pp. 2025–2032. Available at: <https://doi.org/10.1038/SJ.ONC.1201033>.

Watson, J.D. (1972) 'Origin of concatemeric T7 DNA', *Nature New Biology*, 239(94), pp. 197–201. Available at: <https://doi.org/10.1038/NEWBIO239197A0>.

Waugh, D.J.J. and Wilson, C. (2008) 'The interleukin-8 pathway in cancer', *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*, 14(21), pp. 6735–6741. Available at: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-07-4843>.

Welter, E.M. *et al.* (2024) 'Machine learning-based morphological quantification of replicative senescence in human fibroblasts', *GeroScience*, 46(2), pp. 2425–2439. Available at: <https://doi.org/10.1007/S11357-023-01007-W>.

West, M.D., Pereira-Smith, O.M. and Smith, J.R. (1989) 'Replicative senescence of human skin fibroblasts correlates with a loss of regulation and overexpression of collagenase activity', *Experimental cell research*, 184(1), pp. 138–147. Available at: [https://doi.org/10.1016/0014-4827\(89\)90372-8](https://doi.org/10.1016/0014-4827(89)90372-8).

Wiley, C.D. *et al.* (2016) 'Mitochondrial Dysfunction Induces Senescence with a Distinct Secretory Phenotype', *Cell metabolism*, 23(2), pp. 303–314. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.CMET.2015.11.011>.

Wyld, L. *et al.* (2020) 'Senescence and Cancer: A Review of Clinical Implications of Senescence and Senotherapies', *Cancers 2020, Vol. 12, Page 2134*, 12(8), p. 2134.

Available at: <https://doi.org/10.3390/CANCERS12082134>.

Yang, T. *et al.* (2022) 'The Role of Tea Tree Oil in Alleviating Palmitic Acid-Induced Lipid Accumulation in Bovine Hepatocytes', *Frontiers in Veterinary Science*, 8. Available at: <https://doi.org/10.3389/FVETS.2021.814840>,.

Yoon, Y.S. *et al.* (2006) 'Formation of elongated giant mitochondria in DFO-induced cellular senescence: Involvement of enhanced fusion process through modulation of Fis1', *Journal of Cellular Physiology*, 209(2), pp. 468–480. Available at: <https://doi.org/10.1002/JCP.20753>.

Young, A.P. *et al.* (2008) 'VHL loss actuates a HIF-independent senescence programme mediated by Rb and p400', *Nature Cell Biology*, 10(3), pp. 361–369. Available at: <https://doi.org/10.1038/NCB1699>,.

Young, A.R.J. and Narita, M. (2009) 'SASP reflects senescence', *EMBO Reports*, 10(3), pp. 228–230. Available at: <https://doi.org/10.1038/EMBOR.2009.22>,.

Yu, Y. *et al.* (2018) 'Erratum: Targeting the Senescence-Overriding Cooperative Activity of Structurally Unrelated H3K9 Demethylases in Melanoma (Cancer Cell (2018) 33(2) (322–336.e8) (S1535610818300023) (10.1016/j.ccell.2018.01.002))', *Cancer Cell*, 33(4), p. 785. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2018.03.009>.

Zampetidis, C.P. *et al.* (2021) 'A recurrent chromosomal inversion suffices for driving escape from oncogene-induced senescence via subTAD reorganization', *Molecular Cell*, 81(23), pp. 4907–4923.e8. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2021.10.017>.

Zeng, G. and Millis, A.J.T. (1996) 'Differential regulation of collagenase and stromelysin mRNA in late passage cultures of human fibroblasts', *Experimental cell research*, 222(1), pp. 150–156. Available at: <https://doi.org/10.1006/EXCR.1996.0019>.

von Zglinicki, T. *et al.* (1995) 'Mild Hyperoxia Shortens Telomeres and Inhibits Proliferation of Fibroblasts: A Model for Senescence?', *Experimental Cell Research*, 220(1), pp. 186–193. Available at: <https://doi.org/10.1006/excr.1995.1305>.

Zglinicki, T. Von *et al.* (2005) 'Human cell senescence as a DNA damage response', *Mechanisms of Ageing and Development*, 126(1), pp. 111–117. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.mad.2004.09.034>.

Zhang, X. *et al.* (2018) 'In Vitro Evaluation of Antioxidant and Antimicrobial Activities of Melaleuca alternifolia Essential Oil', *BioMed research international*, 2018. Available at: <https://doi.org/10.1155/2018/2396109>.

8. EKLER

8.1. İntihal Raporu

tez önemli

ÖRJİNALLİK RAPORU

% **12**
BENZERLİK ENDEKSİ

% **9**
İNTERNET KAYNAKLARI

% **6**
YAYINLAR

% **3**
ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1 acikbilim.yok.gov.tr % **4**
İnternet Kaynağı

2 Submitted to Pamukkale Üniversitesi % **1**
Öğrenci Ödevi

3 Submitted to The Scientific & Technological
Research Council of Turkey (TUBITAK) % **1**
Öğrenci Ödevi

4 Demir, Leyla. "Çay Ağacı ve Portakal Yağlarının
Antibakteriyel ve Antifungal Etkinliğinin
Araştırılması", Sakarya Üniversitesi (Turkey),
2022 <% **1**
Yayın

5 ora.ox.ac.uk <% **1**
İnternet Kaynağı

6 tesisenred.net <% **1**
İnternet Kaynağı

7 theses.hal.science <% **1**
İnternet Kaynağı

8 file.elabscience.com
İnternet Kaynağı

		<% 1
9	openaccess.izmirakademi.org İnternet Kaynağı	<% 1
10	www.mgunata.com İnternet Kaynağı	<% 1
11	Arianna Calcinotto, Jaskaren Kohli, Elena Zagato, Laura Pellegrini, Marco Demaria, Andrea Alimonti. "Cellular Senescence: Aging, Cancer, and Injury", Physiological Reviews, 2019 Yayın	<% 1
12	Submitted to Istanbul Gelisim University Öğrenci Ödevi	<% 1
13	Submitted to University College London Öğrenci Ödevi	<% 1
14	era.ed.ac.uk İnternet Kaynağı	<% 1
15	Submitted to Erciyes Üniversitesi Öğrenci Ödevi	<% 1
16	iyrscl.mehmetakif.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1
17	Francis Rodier, Judith Campisi. "Four faces of cellular senescence", The Journal of Cell Biology, 2011	<% 1

18	www.iscs-conference.org İnternet Kaynağı	<% 1
19	Minji Bang, Onjeon Ryu, Do Gyeong Kim, Darine Froy Mabunga et al. "Tenovin-1 Induces Senescence and Decreases Wound-Healing Activity in Cultured Rat Primary Astrocytes", Biomolecules & Therapeutics, 2019 Yayın	<% 1
20	Aysun Özdemir, Yaprak Dilber Şimay Demir, Zeynep Elif Yeşilyurt, Mustafa Ark. "Senescent cells and SASP in cancer microenvironment: New approaches in cancer therapy", Elsevier BV, 2022 Yayın	<% 1
21	"Cellular Ageing and Replicative Senescence", Springer Science and Business Media LLC, 2016 Yayın	<% 1
22	Uysal, Aylin. "Köpeklerde atopik dermatitte kullanılacak aromaterapötik ürün formülasyonu geliştirilmesi", Bezmialem Vakıf University (Turkey) Yayın	<% 1
23	flore.unifi.it İnternet Kaynağı	<% 1

24	turkas.org İnternet Kaynağı	<% 1
25	Göktürk, Gözde. "Endometrioma tanılı hastalarda oksidatif stresin over rezervi üzerine Etkisinin Araştırılması", Bursa Uludag University (Turkey), 2024 Yayın	<% 1
26	Alejandra Estepa Fernández. "Preclinical evaluation of senescence-based strategies to improve cancer therapy", Universitat Politecnica de Valencia, 2022 Yayın	<% 1
27	"Handbook of Immunosenescence", Springer Science and Business Media LLC, 2019 Yayın	<% 1
28	Jong, Eric. "A Combined Cell and Gene Therapy to Treat Retinitis Pigmentosa", University of Toronto (Canada), 2023 Yayın	<% 1
29	edoc.ub.uni-muenchen.de İnternet Kaynağı	<% 1
30	hdl.handle.net İnternet Kaynağı	<% 1
31	Cihan, Cenay. "Glioblastoma Multiforme tumor hucrelerine karsi temozolomide Ve suberoylanilide hydroxamic acid'In	<% 1

Kombine/Sinerjik Tedavisinde Apoptoz etkinliginin arastirilmesi.", Marmara Universitesi (Turkey), 2021

Yayın

- 32 Jing Zhang, Haoyue Yu, Mao-Qiang Man, Lizhi Hu. "Aging in the dermis: Fibroblast senescence and its significance", Aging Cell, 2023

Yayın

- 33 Submitted to Selçuk Üniversitesi Öğrenci Ödevi

- 34 Akduman, Gül. "Sambucus Nigra L. Meyve Ekstresinin Antioksidan Kapasitesinin ve Kanser Hücre Hatlarında Sitotoksik Etkisinin Belirlenmesi", Marmara Universitesi (Turkey), 2024

Yayın

- 35 Barutca, Banu. "Bazi Bitki Ekstrelerinin Memeli Hucre Kulturlerinde Sitotoksik Aktivitelerinin In Vitro Arastirilmesi", Anadolu University (Turkey), 2021

Yayın

- 36 Benisch, Peggy. "Molekulare Analysen zur Knochenregeneration im Alter und bei Osteoporose", Universität Würzburg, 2011.

Yayın

37	Sayim, Mustafa. "Yaratıcı drama etkinliklerinin empatik eğilim ve sosyal beceri düzeyine etkisi", Bartın University (Turkey), 2024 Yayın	<% 1
38	toad.halileksi.net İnternet Kaynağı	<% 1
39	www.caltagmedsystems.co.uk İnternet Kaynağı	<% 1
40	www.nature.com İnternet Kaynağı	<% 1
41	www.turkiyeklinikleri.com İnternet Kaynağı	<% 1
42	"The Transcription Factor FOXM1 (Forkhead box M1)", Elsevier BV, 2013 Yayın	<% 1
43	discovery-pp.ucl.ac.uk İnternet Kaynağı	<% 1
44	hisarhospital.com İnternet Kaynağı	<% 1
45	link.springer.com İnternet Kaynağı	<% 1
46	tur.legatechnics.com İnternet Kaynağı	<% 1

47 "ADAM17 participa en la apoptosis fisiológica e inducida por xenoestrógenos durante la espermatogénesis", Pontificia Universidad Católica de Chile, 2015

Yayın

48 "The Functional Nucleus", Springer Science and Business Media LLC, 2016

Yayın

49 Akiş, Merve. "İnsan Umbilikal Ven Endotel Hücrelerinde Kalsitriol ve Parikalsitolün Oksidatif DNA Hasarı ve Onarımı Üzerine Etkilerinin İncelenmesi", Dokuz Eylül Üniversitesi (Turkey), 2024

Yayın

50 Eryilmaz, Isil Ezgi. "Farklı Direnç Fenotiplerine Sahip Prostat Kanseri Hücre Hatlarında Apigenin ve Fenetil İzotiyosiyanat (PEITC) Kombinasyonu ile Oluşturulan Prooksidan Kanser Terapi Modeli Etkinliğinin ve Moleküler Hedeflerinin Araştırılması", Bursa Uludağ University (Turkey), 2022

Yayın

51 O. Catanzano, M.C. Straccia, A. Miro, F. Ungaro et al. "Spray-by-spray in situ cross-linking alginate hydrogels delivering a tea tree oil microemulsion", European Journal of Pharmaceutical Sciences, 2015

Yayın

52	akademikarsiv.kilis.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1
53	dspace.ankara.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1
54	gcris.ieu.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1
55	theses.ncl.ac.uk İnternet Kaynağı	<% 1
56	Carey E. Lyons, Maria Razzoli, Alessandro Bartolomucci. "The impact of life stress on hallmarks of aging and accelerated senescence: Connections in sickness and in health", Neuroscience & Biobehavioral Reviews, 2023 Yayın	<% 1
57	Cristofalo, V.J.. "Replicative senescence: a critical review", Mechanisms of Ageing and Development, 200410/11 Yayın	<% 1
58	May J Reed, Nancy S Ferara, Robert B Vernon. "Impaired migration, integrin function, and actin cytoskeletal organization in dermal fibroblasts from a subset of aged human donors", Mechanisms of Ageing and Development, 2001 Yayın	<% 1

59	Okudur, Saadet Koç. "Ratlarda Hipokampus ve Subventriküler Zonda Hücresel Senesens Üzerine Kurkuminin Etkisi", Dokuz Eylül Üniversitesi (Turkey), 2024 Yayın	<% 1
60	Ruchi Kumari, Parmjit Jat. "Mechanisms of Cellular Senescence: Cell Cycle Arrest and Senescence Associated Secretory Phenotype", Frontiers in Cell and Developmental Biology, 2021 Yayın	<% 1
61	Stress Response Pathways in Cancer, 2015. Yayın	<% 1
62	adoc.pub İnternet Kaynağı	<% 1
63	fenbilimleri.istanbul.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1
64	hub.uoa.gr İnternet Kaynağı	<% 1
65	journals.tubitak.gov.tr İnternet Kaynağı	<% 1
66	m.moam.info İnternet Kaynağı	<% 1
67	qmro.qmul.ac.uk İnternet Kaynağı	<% 1

68	tr.ovalengineering.com İnternet Kaynağı	<%1
69	tr.ulfsciences.com İnternet Kaynağı	<%1
70	www.duvaryayinlari.com İnternet Kaynağı	<%1
71	www.halkhemder2025.org İnternet Kaynağı	<%1
72	"Cellular Senescence and Tumor Suppression", Springer Science and Business Media LLC, 2010 Yayın	<%1
73	Demirel, Gamze. "Bv2 Mikroglial Hücrelerinde İps İle İndüklenen İnflamasyonda Oluşan Sitokin Değişimlerinin Tespit Edilip, crp ve Kininogen-1'in Deiminasyonunun Western Blot İle Araştırılması", Necmettin Erbakan University (Turkey), 2024 Yayın	<%1
74	Ebru Emekli-Alturfan. "Zebrafish Models of Neurodegenerative Disorders", CRC Press, 2025 Yayın	<%1
75	Karakas, Didem. "Pankreas Kanseri ve Tumor Mikrocevresinin okaryotik Elongasyon Faktoru 2 Kinaz (Ef2k) Enzim İnhibisyonu Aracılığıyla	<%1

Hedeflenmesi", Bursa Uludag University
(Turkey), 2022

Yayın

-
- | | | |
|-----------|---|-----|
| 76 | Lucia Rackova, Mojmir Mach, Zuzana Brnoliakova. "An update in toxicology of ageing", Environmental Toxicology and Pharmacology, 2021 | <%1 |
| <hr/> | | |
| 77 | Raj K. Keservani, Prashant Kumar, Dheeraj Chitara. "Nutraceuticals In Management and Prevention of Diabetes - AAP Advances in Nutraceuticals", Apple Academic Press, 2025 | <%1 |
| <hr/> | | |
| 78 | orcid.org
İnternet Kaynağı | <%1 |
| <hr/> | | |
| 79 | vsip.info
İnternet Kaynağı | <%1 |
| <hr/> | | |
| 80 | Taşdan, Zeynep. "Aloe vera ve Cocos nucifera' Nın Antimikrobiyal, Antioksidan ve HepG2 Hücre Hattı Üzerindeki Antitümoral Etkinliğinin Belirlenmesi", Hitit University (Turkey) | <%1 |
| <hr/> | | |

8.2. Akademik Özgeçmiş

Kişisel Bilgiler:

Ad-Soyad: Tuğçe SANCAR

Uyruk: T.C.

Eğitim Bilgileri:

2023-2026: Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Lisanüstü Eğitim Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji Tezli Yüksek Lisans

2019-2021: Afyon Kocatepe Üniversitesi, Afyon Meslek Yüksekokulu, Aşçılık

2014-2019: Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Lisans

Araştırma Alanları:

Hücre Yaşlanması

Kanser

Hücre Kültürü

İmmünohistokimya

Sitokimya

Bildiriler

Uluslararası Bildiriler

Sancar, T. Alüminyum Potasyum Sülfatın (Şap) Sıçan Karaciğer Ve Böbrekleri Üzerine Etkilerinin Histolojik Olarak 3. Çankaya Uluslararası Bilimsel Çalışmalar Kongresi, 28-29 Şubat 2024, Ankara/Türkiye. (Sözlü Sunum)

Sancar, T. Borik Asitle Altuzan'ın İn Vitro Ortamda Prostat Kanseri Hücre Hattı Üzerine İyileştirici Etkisi, 4th International Health Sciences and Life Congress 08-10 April 2021 Burdur/Türkiye. (Sözlü Sunum/ Tam Metin)

Sancar, T. Metformin'in Serviks Kanseri Hücre Hattı Hela Hücrelerinin Metastatik Karakterine Olan Etkilerinin 2 Boyutlu Ve 3 Boyutlu Kültür Yöntemleriyle Karşılaştırmalı Olarak Değerlendirilmesi, 4. Uluslararası Bilimsel Araştırmalar Ve İnovasyon Kongresi 15 Aralık 2025, Bursa/Türkiye (Sözlü Sunum/ Tam Metin)

Sancar, T. Allantoin'in Mcf-7 Hücrelerinde Metastatik Potansiyel Üzerine Olası Düzenleyici Etkileri, 4. Uluslararası Bilimsel Araştırmalar Ve İnovasyon Kongresi 15 Aralık 2025, Bursa/Türkiye (Sözlü Sunum/ Tam Metin)

Referanslar

İstenildiğinde sunulacaktır.

8.3. Etik Kurul



T.C.
AFYONKARAHİSAR SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
MÜDAHALE OLMAYAN BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

Birimi : Etik Kurul Başkanlığı
Sayı : 2024/33
Konu : Etik Kurul Kararı

19.04.2024

Sayın; Doç. Dr. Fatma FIRAT
Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi
Tıp Fakültesi Histoloji Embriyoloji AD
AFYONKARAHİSAR

İlgi: Etik Kurul'un 19.04.2024 tarih ve 2024/33 sayılı kararı.

Sorumluluğunuzda yürütülecek olan "Çay Ağacı Yağının, L929 Fibroblast Hücrelerinin İndüklenmiş Senesensine Etkisinin SASP Proteinleri Bakımından Değerlendirilmesi" başlıklı çalışmanıza ilişkin alınan ilgi sayılı Etik Kurul Kararı ekte gönderilmiştir.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

EK:

1-İlgi sayılı karar (1 sayfa)

T.C.
AFYONKARAHİSAR SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
MÜDAHALE OLMAYAN BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

Toplantı Tarihi	19.04.2024	Toplantı Numarası	2024/2	Toplantı Saati	09:30
33- Doç. Dr. Fatma FIRAT'ın sorumluluğunda yürütülecek olan "Çay Ağacı Yağının, L929 Fibroblast Hücrelerinin İndüklenmiş Senesensine Etkisinin SASP Proteinleri Bakımından Değerlendirilmesi" konulu <u>Müdahale Olmayan</u> Bilimsel Araştırmalar için başvuru dosyası incelendi. Araştırma protokolüne uyularak, Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Müdahale Olmayan Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu Yönergesinde belirtilen hususlar yerine getirilmek ve sorumluluk araştırmacılara ait olmak üzere araştırmanın yapılmasında etik sakınca olmadığına toplantıya katılan üyelerin oy birliği ile karar verildi.					