

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
VETERİNERLİK BİYOKİMYASI ANA BİLİM DALI



**YAŞLANMANIN RATLARIN BEYİN DOKUSUNDAKİ TOTAL
ANTİOKSİDAN VE OKSİDANT DURUM İLE SİRTUİN-1 VE
SESTRİN-2 DÜZEYLERİNE ETKİSİ**

Yüksek Lisans Tezi

Damla CANAYAKIN

Danışman
Prof. Dr. Gülay ÇİFTÇİ

Bu çalışma PYO.VET.1904.21.007 proje numarası ile Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyon Başkanlığı tarafından desteklenmiştir.

SAMSUN
2023

TEZ KABUL VE ONAYI

Damla CANAYAKIN tarafından, **Prof. Dr. Gülay ÇİFTÇİ** danışmanlığında hazırlanan “YAŞLANMANIN RATLARIN BEYİN DOKUSUNDAKİ TOTAL ANTİOKSİDAN VE OKSİDANT DURUM İLE SİRTUİN-1 VE SESTRİN-2 DÜZEYLERİNE ETKİSİ” başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından 10.8.2023 tarihinde yapılan sınav sonucunda oy birliği ile başarılı bulunarak Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

	Unvanı Adı Soyadı Üniversitesi Ana Bilim/Ana Sanat Dalı	Sonuç
Başkan	Prof. Dr. Xxxxx XXXX Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ana Bilim Dalı	☐ Kabul ☐ Ret
Üye	Dr. Öğr. Üyesi Xxxxxx XXXX Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ana Bilim Dalı	☐ Kabul ☐ Ret
Üye	Doç. Dr. Xxxxx XXXX Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ana Bilim Dalı	☐ Kabul ☐ Ret

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

Prof. Dr. Ahmet TABAK
Enstitü Müdürü

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI

Hazırladığım Yüksek Lisans tezinin bütün aşamalarında bilimsel etiğe ve akademik kurallara riayet ettiğimi, çalışmada doğrudan veya dolaylı olarak kullandığım her alıntıya kaynak gösterdiğimi ve yararlandığım eserlerin Kaynaklar'da gösterilenlerden oluştuğunu, her unsurun enstitü yazım kılavuzuna uygun yazıldığını ve TÜBİTAK Araştırma ve Yayın Etiği Kurulu Yönetmeliği'nin 3. bölüm 9. maddesinde belirtilen durumlara aykırı davranılmadığını taahhüt ve beyan ederim.

Etik Kurul Gerekli mi?

Evet ☒

Hayır ☐

21 /06 / 2023
Damla CANAYAKIN

TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI

Tez Başlığı : YAŞLANMANIN RATLARIN BEYİN DOKUSUNDAKİ TOTAL ANTİOKSİDAN VE OKSİDANT DURUM İLE SİRTUİN-1 VE SESTRİN-2 DÜZEYLERİNE ETKİSİ

Yukarıda başlığı belirtilen tez çalışması için şahsım tarafından 20/06/2023 tarihinde intihal tespit programından alınmış olan özgünlük raporu sonucunda;

Benzerlik oranı : % 16

Tek kaynak oranı : % 2 çıkmıştır.

21 /06/ 2023
Prof. Dr. Gülay ÇİFTÇİ

ÖZET

YAŞLANMANIN RATLARIN BEYİN DOKUSUNDAKİ TOTAL ANTİOKSİDAN VE OKSİDANT DURUM İLE SİRTUİN-1 VE SESTRİN-2 DÜZEYLERİNE ETKİSİ

Damla CANAYAKIN
Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Veterinerlik Biyokimyası Ana Bilim Dalı
Yüksek Lisans, Ağustos/2023
Danışman: Prof. Dr. Gülay ÇİFTÇİ

Amaç: Bu çalışmada, deneysel olarak yaşlanmanın ratların beyin dokusundaki total antioksidan ve oksidan durum ile Sirtuin-1 ve Sestrin-2 düzeylerine etkisinin araştırılması amaçlandı.

Materyal Metot: Çalışma materyalini 24 adet Sprague Dawley ırkı 4 farklı yaş grubundaki ratlar oluşturdu, Grup 1 (n= 6) 1,5 aylık (12,5 puberta), Grup 2 (n= 6) 6 aylık (18 yıl), Grup 3 (n= 6) 12 aylık (30 yıl), Grup 4 (n= 6) 18 aylık rat (45 yıl) olarak deney grupları oluşturuldu. Çalışma sonunda ratların beyin dokusunda ve serumda Sirtuin-1 ve Sestrin-2 düzeyleri ELISA test kitleri ile Total Antioksidan (TAS), Total Oksidan Seviyesi (TOS) düzeyleri ise Rel Assay Diagnostics' kitleri ile belirlendi, Serumda glukoz, total kolesterol (TK), trigliserit (TG), total protein (TP), albümin düzeyleri ile ALT ve AST aktiviteleri spektrofotometrik olarak otoanalizör cihazında ölçüldü.

Bulgular: Grupların vücut ağırlık değişiminin düşükten yükseğe göre Grup 1, Grup 2, Grup 3 ve Grup 4 olduğu, ratların vücut ağırlık düzeyinin yaş ilerledikçe arttığı görüldü. Grup 1’de total protein, globülin ve trigliserit düzeyinin en düşük olduğu; Grup 4’te ise total protein, globülin ve total kolesterol düzeyinin en yüksek olduğu belirlendi. Plazmadaki ALB/GLO oranının yaşlanmayla beraber azaldığı ve Grup 1 en yüksek olduğu görüldü ($P<0.05$). Serum ve beyin dokusunda TAS düzeyi 1. Grupta (1,5 ay) en yüksek düzeyde olduğu yaş artıkça azalmaya başladığı bulundu. Serumda TOS ve OSI’nin 3. Grupta en düşük olduğu, 4. Grupta ise en yüksek olduğu saptandı ($P<0.05$). Beyin dokusunda TOS düzeyinin Grup1’de en düşük olduğu yaş ilerledikçe artmaya başladığı ve Grup 4 en yüksek olduğu belirlendi ($P>0.05$). Grup1’den Grup 3’e doğru yaş ilerledikçe beyin dokusundaki Sirtuin-1 ve Sestrin-2 düzeyinin artmaya başladığı bu artışın önemli olduğu ($P<0.05$) Grup 4 ise Grup 3’e göre azalmaya başladığı görüldü($P<0.05$).

Sonuç: Yaptığımız çalışmada, ratlarda yaş ilerledikçe serumda ve beyin dokusunda Sestrin-2 ve Sirtuin-1 protein düzeylerinin önce artış gösterdiği, sonrasında en yaşlı grubumuzda azaldığı görüldü. Yaşlanmayla beraber serumda ve beyin dokusundaki total antioksidan düzeyinin azaldığı ve oksidan düzeyinin ise arttığı bulundu. Sestrin-2 ve Sirtuin-1 proteinlerinin erken yaşlanmaya karşı koruyucu ve alternatif tedavi olarak ileride yapılacak çalışmalarda kullanılabileceği belirlendi.

Anahtar Kelimeler:Yaşlanma, Total Oksidan, Total Antioksidan, Sestrin-2, Sirtuin-1

ABSTRACT

THE EFFECT OF AGING ON THE TOTAL ANTIOXIDANT AND OXIDANT STATUS AND SIRTUIN-1 AND SESTRIN-2 LEVELS IN THE BRAIN TISSUE OF RATS

Damla CANAYAKIN
Ondokuz Mayıs University
Institute of Graduate Studies
Department of Veterinary Biochemistry
Master, August/2023
Supervisor: Prof. Dr. Gülay ÇİFTÇİ

Objective: In this study, it was aimed to experimentally investigate the effects of aging on total antioxidant and oxidant status and Sirtuin-1 and Sestrin-2 levels in brain tissue of rats.

Material and Method: The study material consisted of 24 Sprague Dawley rats in 4 different age groups. Group 1 (n= 6) 1,5 months (12,5 puberty), Group 2 (n= 6) 6 months (18 years), Group 3 (n= 6) 12 months (30 years), Group 4 (n= 6) 24 months (75 years). Experimental groups were formed as monthly rats (75 years). At the end of the study, Sirtuins-1 and Sestrin-2 levels in brain tissue and serum of rats were determined with ELISA test kits, Total Antioxidant (TAS) levels and Total Oxidant Level (TOS) levels were determined with Rel Assay Diagnostics kits. Glucose, total cholesterol (TK), triglyceride (TG), total protein (TP), albumin, ALT, AST activity in serum were determined spectrophotometrically in an autoanalyzer device.

Results: It was observed that the body weight changes of the groups were Group 1, Group 2, Group 3 and Group 4 according to low to high, and the body weight level of the rats increased with age. In Group 1, total protein and globulin, triglyceride levels were the lowest; Total protein, globulin, and total cholesterol levels were found to be the highest in Group 4. It was determined that the ratio of ALB/GLO in plasma decreased with aging, and Group 1 was the highest ($P<0.05$). It was determined that TAS level in serum and brain tissue was highest in Group 1 (1,5 months) and started to decrease with increasing age. It was determined that TOS and OSI in serum were the lowest in the 3rd Group and the highest in the 4th Group ($P<0.05$). It was determined that TOS level in brain tissue was the lowest in Group 1, it started to increase as the age progressed, and it was highest in Group 4 ($P>0.05$). As the age progressed from group 1 to Group 3, Sirtuin-1 and Sestrin-2 levels in the brain tissue started to increase, this increase was significant ($P<0.05$), and Group 4 started to decrease compared to Group 3 ($P<0.05$).

Conclusion: In our study, it was seen that the protein levels of Sestrin-2 and Sirtuin-1 in serum and brain tissue increased first, then decreases in our oldest group with age. It was found that with aging, the total antioxidant level in serum and brain tissue decreases and the oxidant level increases. It was determined that the proteins Sestrin-2 and Sirtuin-1 can be used in future studies as a preventive and alternative treatment against premature aging.

KeyWords: Aging, Total Oxidant, Total Antioxidant, Sestrin-2, Citruin-1

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimim süresince desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, kıymetli bilgi ve deneyimlerinden faydalanarak bugünlere gelmemi sağlayan değerli hocam, tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Gülay ÇİFTÇİ'ye şükranlarımı sunuyorum.

Yüksek Lisans eğitimim ve tez çalışmalarım süresince ilgi ve desteğini esirgemeyen Veterinerlik Biyokimyası Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Ali ERTEKİN'e teşekkür ederim.

Veterinerlik Biyokimyası Anabilim Dalı'nda yaptığım eğitim süresince bana emeği geçen, bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren Sayın Prof. Dr. Gül Fatma YARIM, Sayın Prof. Dr. Sena ÇENESİZ, Sayın Prof. Dr. Cevat NİSBET'e teşekkür ederim.

Hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, bana daima inanan, aldığım bütün kararları destekleyen, hayatımın her alanında yol gösteren, tez çalışmamın her aşamasında tüm zorlukları benimle beraber göğüsleyen aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma PYO.VET.1904.21.007 proje numarası ile Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından desteklenmiştir.

Damla CANAYAKIN

İÇİNDEKİLER

TEZ KABUL VE ONAYI	i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI	ii
TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT.....	iv
ÖN SÖZ VE TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
TABLolar DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Yaşlanma.....	3
2.1.1. Yaşlanmanın Tanımı	3
2.1.2. Yaşlanmanın Sınıflandırılması.....	3
2.1.3. Yaşlanmanın Epidemiyolojisi	4
2.1.4. Yaşlanmanın Kronik Metabolik Hastalıklar ile İlişkisi	4
2.2. Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres	5
2.3. Antioksidanlar ve Oksidanlar	7
2.4. Sirtuinler	8
2.4.1. Sirtuin-1 ve Yaşlanmayla İlişkisi	8
2.5. Sestrinler	9
2.5.1. Sestrin-2 ve Yaşlanmayla İlişkisi	11
3. MATERYAL VE METOT.....	14
3.1. Materyal	14
3.1.1. Araştırma Yeri ve Hayvan Materyali	14
3.1.2. Kan Örneklerinin Alınması ve Serum Eldesi	14
3.1.3. Beyin Dokusu Homojenizatının Hazırlanması	15
3.2. Beyin doku süpernatantında ve Serumda Sirtuin-1 ve Sestrin-2 Düzeyinin Belirlenmesi.....	15
3.2.1. Serumda Ve Beyin Dokusunda Total Antioksidan Seviye (TAS) Tayini.....	16
3.2.1. Serumda Ve Beyin Dokusunda Total Oksidan Seviye (TOS) Tayini	16
3.2.1. Serumda Bazı Biyokimyasal Parametrelerin Düzeyinin Belirlenmesi	17
3.2.1. Serumda Bazı Rutin Biyokimyasal Analizlerin Yapılışı Ve Prensipleri.....	17
3.3. İstatistiksel Değerlendirme	23
4. BULGULAR.....	24
4.1. Vücut Ağırlık Değişimi	24
4.2. Serumda Bazı Rutin Biyokimyasal Parametrelerin Düzeyleri.....	25
4.3. Serumda Ve Beyin Dokusunda Total Antioksidan Seviye (TAS) Ve Total Oksidan Seviye (TOS) Düzeyi Beyin Dokusunda TAS, TOS Ve OSİ Düzeyleri	27
4.4. Beyin Doku Süpernatantında Ve Serumda Sirtuin-1 Ve Sestrin-2 Düzeyleri	29
5. TARTIŞMA	31
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	39
KAYNAKLAR	41
EKLER	49
Ek.1: Etik Kurul İzni	49
ÖZ GEÇMİŞ	50

SİMGELER VE KISALTMALAR

ALB	: Albümin
ALT	: Alanin Aminotransferaz
AST	: Aspartat Aminotransferaz
GLU	: Glukoz
TG	: Trigliserid
TK	: Total Kolesterol
TP	: Total Protein
ALB	: Albümin
GLO	: Globulin
UA	: Ürik Asit
TAS	: Total Antioksidan
TOS	: Total Oksidan
OSI	: Oksidatif Stres İndeksi
BKİ	: Beden Kütle İndeksi
WHO	: World Health Organization
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
SIRT1	: Sitruin 1
SESN2	: Sestrin 2
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Oksidatif stresin hastalıklarla ilişkisi.....	7
Şekil 2.2. Sirtuin1 proteinin DNA onarımındaki rolü.....	9
Şekil 2.3. Stres ve transkripsiyon sonucu Sestrin2'nin patofizyolojik mekanizması	10
Şekil 2.4. Sestrin1, Sestrin2, Sestrin3'nin DNA hasarı, oksidatif stres, metabolik stres ve endoplazmik redikulum stresindeki mekanizması/rolü	11
Şekil 4.1. Grupların vücut ağırlık ortalamaları	24
Şekil 4.2. Gruplarda yer alan ratlar	24
Şekil 4.3. Grupların total protein(TP), albumin(ALB), globulin(GLO) ve albumin/globulin oranı (ALB/GLO)	26
Şekil 4.4. Grupların (Grup 1, 2, 3 ve 4) serumda ve beyin dokusundaki total antioksidan (TAS), total oksidan (TOS) ve oksidatif stres indeksi (OSI) düzeyleri	27
Şekil 4.5. Grupların serum Sirtuin-1 ve Sestrin-2 düzeyleri	29
Şekil 4.6. Grupların beyin dokusu Sirtuin-1 ve Sestrin-2 düzeyleri	29

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 3.1. Total Kolesterol düzeyinin belirlenmesi amacıyla kullanılan reaktifler	17
Tablo 3.2. Total Kolesterol düzeyinin belirlenmesinde kullanılan reaktifler	17
Tablo 3.3. ALT düzeyinin belirlenmesi amacıyla kullanılan reaktifler	18
Tablo 3.4. AST düzeyinin belirlenmesi amacıyla kullanılan reaktifler	19
Tablo 3.5. Total Protein düzeyinin belirlenmesi amacıyla kullanılan reaktifler	20
Tablo 3.6. Total Protein düzeyinin belirlenmesi	20
Tablo 3.7. Albumin düzeyinin belirlenmesi amacıyla kullanılan reaktifler	20
Tablo 3.8. Albumin düzeyinin belirlenmesi	21
Tablo 3.9. Glukoz düzeyinin belirlenmesi amacıyla kullanılan reaktifler	21
Tablo 3.10. Trigliserit düzeyinin belirlenmesi amacıyla kullanılan reaktifler	22
Tablo 3.11. Trigliserit düzeyinin belirlenmesi	22
Tablo 4.1. Grupların vücut ağırlık değişimleri	24
Tablo 4.2. Grup 1, 2, 3 ve 4'ün serumundaki total kolesterol (TK), trigliserit (TG), glukoz (Glu), ürik asit (UA), aspartat transaminaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT) düzeyleri	25
Tablo 4.3. Grupların total protein(TP), albumin(ALB), globulin(GLO) ve albumin/globulin oranı (ALB/GLO)	26
Tablo 4.4. Gruplar arasındaki korelasyon ilişkisi	27
Tablo 4.5. Grupların (Grup 1, 2, 3 ve 4) serumda ve beyin dokusundaki total antioksidan (TAS), total oksidan (TOS) ve oksidatif stres indeksi (OSI) düzeyleri	27
Tablo 4.6. Gruplar arasındaki korelasyon ilişkisi	28
Tablo 4.7. Serumda Sirtuin-1 ve Sestrin-2 düzeyleri.....	28
Tablo 4.8. Tüm beyin dokusunda Sirtuin-1 ve Sestrin-2 düzeyleri	29
Tablo 4.9 Gruplar arasındaki korelasyon ilişkisi	30

1. GİRİŞ

Yaşlanma canlıların doğumla başlayan ölüm ile biten bir yaşam sürecidir (Aslan ve Hocaoglu, 2017). Yaşlılık zamana bağlı olarak gerçekleşen eskime, yıpranma olarak tanımlanırken yaşlanma canlılar için hücre yapım ve onarımının zamanla yavaşlaması olarak tanımlanmaktadır. Canlılar biyolojik olarak önce doğar, sonra büyür ve gelişir; erişkinliğe ulaştıktan sonra üreme ve çoğalma sağlar, belirli bir erginlikten sonra hayat süresinin sonuna kadar geçen süreçte yaşlanır (Beğer ve Yavuzer, 2012).

Yaşlanmaya bağlı olarak canlının fiziksel görünümde değişiklikler, psikomotor özelliklerinde azalma, algının azalması, öğrenme yetisinin kaybı, sosyal olarak çevreye uyumda zorlanma görülür (Ergün ve ark., 2001; Ergün ve ark., 2003). Canlıların bu yaşamsal fonksiyonlarının azalması ve buna bağlı olarak hastalıkların görülmeye başlaması yaşlanmanın sonucudur (Hernandez-Segura et al., 2018). Hücrelerin fonksiyonel özelliklerini geri dönülemez biçimde kaybetmesi olarak tanımlanan yaşlanma sürecinde hücreler arası sinyalizasyonda bozulma, mitokondriyal sistemde bozulma, DNA ve genomik yapıda hasar gibi birçok işlevsel kayıp görülmektedir (Schmeer et al., 2019).

Günümüzde yapılan birçok çalışmada detaylı olarak yaşlanmaya bağlı hastalıkların nedenleri ve etkileri araştırılmaktadır. Bu hastalıklardan korunma süreci ve tedavi yöntemlerine dair yapılan araştırmalarda transkripsiyonda önemli görevi olan sessiz bilgi düzenleyici SIRT (Silent Information Regulator) proteinleri serbest radikalleri süpürücü olarak adlandırılan antioksidanlar, otofajiyi önleyen Sestrin proteinleri inceleme konusu olmuştur (Ajami et al., 2017). Sestrin ve Sirt proteinlerinin yaşlanmada etkileri olan önemli birer protein olduğu ve birçok hastalığın patogeneğinde etkili olduğu görüldü. Oksitatif stresi önleyerek hastalıkların tedavi sürecini hızlandırdıkları düşünülmektedir (Liguori et al., 2018).

Sirtuinlerin ve Sestrinlerin tip II diyabet, obezite, kanser, yaşlanma ve çeşitli nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Bu proteinlerin biyolojik sistemdeki rollerini tanımlamak, moleküler ve kimyasal yapısını anlamak araştırmamızın temel konusunu oluşturmaktadır (Wyss-Coray, 2016).

Bu çalışmada farklı yaş grubundaki ratların serum ve beyin dokusunda ki total antioksidan ve oksidan durum ile Sestrin-2 ve Sirtuin-1 proteinlerine ve serumdaki bazı biyokimyasal parametre (total protein, albumin, globulin, albumin/globulin oranı,

AST, ALT, total kolesterol, total trigliserid, ürik asit ve glukoz) düzeylerine etkilerinin belirlenmesini amaçlandı.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Yaşlanma

2.1.1. Yaşlanmanın Tanımı

Yaşlanma genetik olarak kontrol edilen ve organizmada çevreye bağlı yapısal ve işlevsel fonksiyonlarda kayıpların görüldüğü, canlının ölümüyle beraber sona eren süreçtir (Cankurtaran, 2005). Sözlük anlamına göre yaşlanma, yaş halinin artması ve yaşın etkilerinin görülmesidir. Dünya Sağlık Örgütüne göre canlının çevresine uyum sağlama yeteneğinin azaldığı, 65 yaş ve üzeri olan grup ‘yaşlı bireyler’ olarak tanımlanmıştır (Ardahan, 2010; Tarsuslu Şimşek ve ark., 2011). 1998’de yayınlanan Dünya Sağlık Örgütü raporuna göre organizmanın verimliliğinin azalması, sosyal yaşama katılımının azalması, başka bireylere bağımlı halde yaşama ve 65 yaş üstünde olma yaşlılık olarak kabul edilmektedir (Aslan ve Hoccoğlu, 2017). Yaşa bağlı olarak fonksiyonel kayıpların görüldüğü ve hastalık riskinin arttığı görülmektedir (Schmeer et al., 2019).

2.1.2. Yaşlanmanın Sınıflandırılması

Dünya Sağlık Örgütü 1963 yılında yaşlılığı 3’e ayırdı.

1. Grup orta yaşlı kişiler 45-59 yaş arası bireyler,
2. Grup yaşlılar 60-74 yaş arası bireyler,
3. Grup ileri derece yaşlı bireyler 75 yaş ve üzeri olarak sınıflandırdı.

Son yıllarda yapılan sınıflandırmalarda ise insan ömrü uzadıkça yaşlanma süreci değişmektedir. 65-75 yaş arası fonksiyonel kayıpların düşük olduğu süreç genç yaşlılık, 75-85 yaş aralığı kişilerin günlük aktivelerinin azaldığı durum orta yaşlılık, 85 yaş üzeri fonksiyonel kayıpların görüldüğü durum ise ileri derece yaşlılık olarak belirtildi (Öğüt ve Atay, 2012).

Birçok yaşlanma teorisi olmakla beraber programlı ve yıpranmaya bağlı yaşlanma ‘wear ve tear’ olarak genellenmektedir (Cankurtaran, 2005).

Yaşlanan organizmalar farklı yönlerden incelendiğinde çeşitli sınıflandırmalar yapılmaktadır. Bunlar;

- ❖ Kronolojik Yaşlanma: Doğumla başlayıp ölümle sona eren süreci kapsar. Fiziksel özellikler, mental sağlık durumu ve kişinin sosyal uyum düzeyi hakkında fikir vermez.

- ❖ **Biyolojik Yaşlanma:** Döllenme ile başlayan embriyo oluşumuyla devam eden süre olup kişinin anatomik ve fizyolojik değişimi hakkında bilgi verir.
- ❖ **Patolojik Yaşlanma:** Canlılarda hastalıkların oluştuğu fiziksel ve biyolojik değişikliklerin gözlenmesidir.
- ❖ **Psikolojik Yaşlanma:** Bireylerin çevreyle olan uyumunun zamanla olan değişimi ile mental gelişimini inceler.
- ❖ **Sosyal Yaşlanma:** Yaşa bağlı olarak sosyal ilişkilerde değişikliklerin yaşanmasıdır.
- ❖ **Ekonomik Yaşlanma:** Yaşlanma ile gelir seviyelerinin değişmesiyle beraber kişinin yaşamında meydana gelen değişikliklerdir (Kerem ve ark., 2001).

2.1.3. Yaşlanmanın Epidemiyolojisi

Gelişen teknoloji ve artan yaşam standartlarıyla beraber insanlarda ortalama yaşam süresi artmaktadır, günümüzde dünya nüfusunun yaklaşık yüzde 9'unu 65 yaş ve üzerindeki insanlar oluşturmaktadır (United Nations, 2017). Dünya Sağlık Örgütü'nün verilerine göre 2025 yılında 1,2 milyon insanın 60 yaş ve üzeri olacağı, 2050 yılında 2 milyar insanın yaşlı nüfus olarak adlandırılacağı ve bu yaşlı nüfusun %80'inin gelişen ülkelerde olacağı düşünülmektedir (Beğer ve Yavuzer, 2012; UN Department of Economic and Social Affairs, Population Division, 2017).

Yetişkin bireylerde mortalite oranının düşmesi ve doğurganlık oranının azalması sonucu dünyada yaşlı nüfus oranı artmaktadır. TÜİK verilerine göre Türkiye'de 65 yaş üstü nüfusun 2008-2040 yılları arasında %201 oranında artış göstermekte olup buda total nüfusun %9'unu oluşturacağı beklenmektedir (Tanır, 2020).

Türkiye'deki ortalama yaşam süresi ise kadınlarda 72, erkeklerde 68 olarak belirtilmektedir (TÜİK Haber Bülteni, 2018).

2.1.4. Yaşlanmanın Kronik Metabolik Hastalıklar ile İlişkisi

Yaşlanmanın sonucu olarak organizmadaki hücrelerde sinyalizasyon sorunu ile nörodejenarasyon oluşmaktadır. Beyinde yaşlanmaya bağlı lezyonların oluşumu Alzheimer hastalığında yatkınlığa neden olmaktadır. Yaşlanan hücrelerde moleküller oksitlenir ve lizozomların parçalayamayacağı düzeye ulaşır, bunların hücrelerde birikimi DNA hasarına ve erken yaşlanmaya neden olur (Wyss-Coray, 2016).

Yaşlanmaya bağlı olarak nöron ve kardiyak miyositlerde oksidan maddelerin birikimi görülür. Bu oksidan maddelerin birikimi Alzheimer, ateroskleroz gibi birçok dejeneratif hastalığın oluşmasına neden olur (Can ve Aslan, 2014).

İlerleyen yaşla beraber demans, diyabetes mellitus, görme bozukluğu, böbrek fonksiyonlarında bozukluk, osteoartrit gibi kronik hastalıklar yaygın hale gelir (St Sauver et al., 2015).

Kanser, hücrelerdeki metabolik düzensizlik, oksidatif stres, genomik hasarla bağlantılı bir hastalıktır. İleri yaş kanser için en önemli risk faktörlerinden biridir. Kanser hücrelerinde antioksidan savunmanın bir parçası olan Sestrinlerin tümörlü hücrelerin büyümesini önlediği ve proliferasyonunu düzenleyerek hücrenin hayatta kalmasını sağladığı bildirilmektedir. (Hee et al., 2013).

Alzheimer ve kardiyovasküler hastalıkların ilerleyen yaşla beraber insidansı artmaktadır. Dolaşımdaki apoE orta yaşa doğru artar, sonrasında yaşlanmayla beraber apoE konsantrasyonu azalmaya başlar. Karaciğerde üretimi azalan apoE molekülün kardiyak hastalıklarla ilişkili olduğu bilinmektedir (Sabaretnam et al., 2009).

Yaşlanmayla beraber canlı vücudunda kas kütlesi azalır, yağ kütlesi artar, insülin sekresyonu azalarak insülin direnci oluşur. Panreatik adacıklarda azalmayla beraber hücre replikasyon hızı azalır. Yaşla birlikte telomer yıpranması görülür. Yaşlı pankreas hücrelerinde B hücrelerinin kaybı ile birlikte tip 2 diyabet hastalığı görülmektedir (Tamura et al., 2016).

α -dikarbonil bileşikleri glioksal (GO) ve metilglioksalın (MGO) aminoasit grubu ile maillard reaksiyonu sonucu, ileri glikasyonun son reaksiyon ürünü olan (AGE) pensotidinler oluşur. Bu molekül kolajen üzerindeki lizin ve argininler ile tepkimeye girer. Cildin kendini yenilemesine ve kolajen onarımına engel olur, ciltte erken yaşlanma görülür (Noordan et al., 2013; Yaman, 2021).

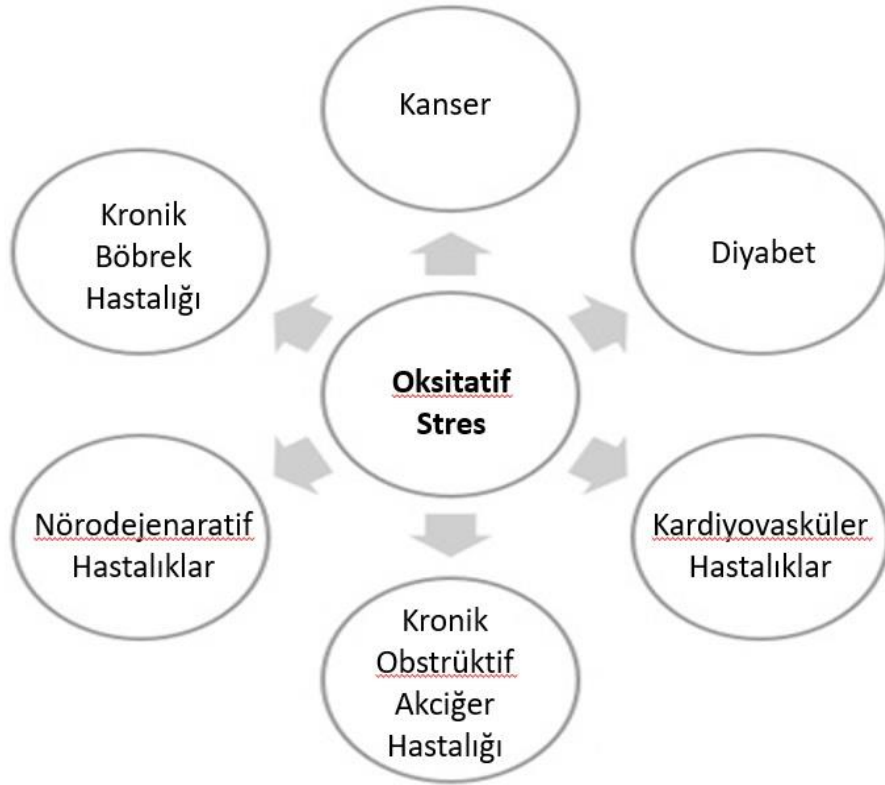
Yaşlanmayla beraber hasarlı ve yanlış katlanmış proteinler hücrelerde birikir. Hücrelerin protein homeostazı ısı şoku proteinleri (HSP) tarafından kontrol edilir. HSP konsantrasyonunun yaşlanmayla beraber azalması bağışıklık düzeyinin düşmesine ve inflamasyonun artmasına neden olur. Yanlış katlanmış ve toksik proteinlerin birikmesinin nörodejeneratif hastalıklarla ilişkili olduğu görüldü (Murshid et al., 2013).

2.2. Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres

1950 yılında Harman'ın savunduğu (MFRTA) serbest radikal teorisine göre yaşlanmanın nedeni oksidatif hasarın birikimi ve ROS salınımı olarak belirtilmektedir. Serbest radikallerin son yörüngesinde bir ya da daha fazla eşlenmemiş elektron parçası bulunuyorsa bunlar reaktif molekül olarak adlandırılmaktadır. Bu moleküller kolay etkileşime girerek bağışıklık ve sinyalizasyon sisteminde taşıyıcı olarak önemli rol oynar (Liguori et al., 2018). Oksijenli solunum yapan canlılarda hayatın devamlığı için oksijen çok önemlidir ve $O_2/2H_2O$ redoks sisteminde negatif entalpi yönünde tepkime kendiliğinden gerçekleşir. Metabolizmada azot ve oksijenden oluşan serbest radikaller birçok hücresel fonksiyonun zarar görmesine neden olur (Hamamcıoğlu, 2017). Bu serbest radikallerin birikimi oksidatif hasara neden olarak yaşlanmayı hızlandırır (Sadowska- Bartosz and Bartosz, 2014). Bu oksijen radikalleri anabolik ve katabolik reaksiyonlarda homeostatik dengeyi sağlayarak oksidatif stresi ve erken yaşlanmayı önlediği düşünülmektedir (De La Fuente, 2002).

Oksidatif stres, vücudunuzdaki serbest radikaller ve antioksidanlar arasındaki dengesizlik sonucu oluşur (Baldissera et al., 2017; Reuter et al., 2010; Noyan ve ark., 2004). Mitokondride üretilen oksidan maddeler (reaktif oksijen ve reaktif nitrojen) oksidatif hasar oluşturur, yaşlanmayla birlikte oksidan madde birikimi artar, DNA hasarını indüklemeye çalışan antioksidan sistemde yavaşlama görülür. Memeli canlıların hücrelerinde mitokondrisinde peroksit üretimi sonucu oksidan madde birikiminin artması hücre ömrünün kısalmasına neden olmaktadır. (Karan ve Tufan, 2010).

Canlı vücuduna dışarıdan alınan eksojen antioksidanlar (vitaminler, lipoikasit, koenzim Q, melatonin, resveratrol, kurkumin ve diğer polifenoller) DNA hasarını önlediği birçok çalışmada belirtilmiştir (Sadowska-Bartosz and Bartosz, 2014). Hastalıkların tedavisinde antioksidan takviyesinin iyileşme sürecini hızlandırdığı ve birçok hastalıkla ilişkili olduğu bildirilmiştir (Liguori et al., 2018).



Şekil 2.1. Oksidatif stres ve hastalıklarla ilişkisi (Liguori et al., 2018)

2.3. Antioksidan ve Oksidantlar

Antioksidanlar, reaktif oksijenlerin oluşturduğu hasarı önlemek, membran yapısını ve DNA hasarını ortadan kaldırmak için görevli olan yapılardır. Organizmadaki oksidant/antioksidan arasındaki dengenin korunmasında, oksidatif stresin önlenmesinde antioksidanlar önemli rol oynarlar (Kim et al., 2002; Kim et al., 2003).

Antioksidanlar endojen ve eksojen şeklinde iki gruba ayrılır. Endojen antioksidanlar ise enzimatik ve nonenzimatik olarak ikiye ayrılırlar. Glutasyon peroksidaz (GPx), katalaz (CAT), glutasyon redüktaz (GSH-R) ve süperoksit dismutaz (SOD) antioksidanları enzimatik antioksidanlardır. Nonenzimatik antioksidanlar ise Glutasyon, melatonin, ferritin, seruloplazmin, α - tokoferol, transferin, ürik asit, albümin, bilirubin, koenzimQ10, selenyum ve α -lipoik asittir. Eksojen antioksidanlar, β -karoten (vitamin A), askorbik asit (vitamin C), folik asit (vitamin B9) ve α -tokoferol (vitamin E) gibi antioksidandır (Karabulut ve Gülay, 2016).

Her hücrede moleküllerin oksidasyon ve indirgenme reaksiyonları sonucu serbest radikal üretimi olur. Serbest radikaller lipid, protein ve DNA ile reaksiyona

girerek işlevlerini bozar ve çeşitli hastalıkların oluşumuna katkı sağlar (Palmer and Kitchin, 2010). Antioksidanların, serbest radikallerinin yok edilmesinde ve etkisini azaltarak hücrenin ölüm riskini önlediği, yaşlanmayı yavaşlattığı saptandı. Sinir sisteminde nörodejeneratif bozukluklarda, kardiyovasküler, diyabet, kanser gibi hastalıkların etkisinin azaltılmasında önemli rol oynadığı bildirilmiştir. (Kim et al., 2002; Somogyi et al., 2007; Wickens, 2001).

2.4. Sirtuinler

İlk olarak *Saccharomyces Cerevisiae* maya hücrelerinde keşfedilen sirtuinler protein deasetilaz ve adenozin difosfat (ADP)-ribozil transferazda görevli protein sınıfında olduğu bulundu. Roy Frye tarafından 1999 yılında SIRT1 ve 5 homoloğu adlandırıldı (Bayram ve İğci, 2013).

Memeli hücrelerindeki yedi Sirtuin molekülü SIRT 1-7 olarak adlandırıldı. SIRT2 sitoplazma içinde, SIRT3, SIRT4 ve SIRT5 mitokondri üzerinde, SIRT7 nükleolde, SIRT1 ve SIRT6 hücre çekirdeği içinde bulunmaktadır. Metabolik reaksiyonlarda hücrenin büyüme ve gelişmesinde otofaji gibi biyolojik olaylarda ve yaşlanmanın gerçekleşmesinde önemli rol oynamaktadır (Demyanenko et al., 2020).

Sirtuinler DNA onarımını sağlayan, hücre döngüsünde görev alan, oksidatif stresin etkilerini azaltan, insülin duyarlılığını arttıran, hücre yaşlanmayı geciktiren nikotinamid dinükleotid (NAD⁺)-bağımlı deasetilazlardır (Lee et al., 2019).

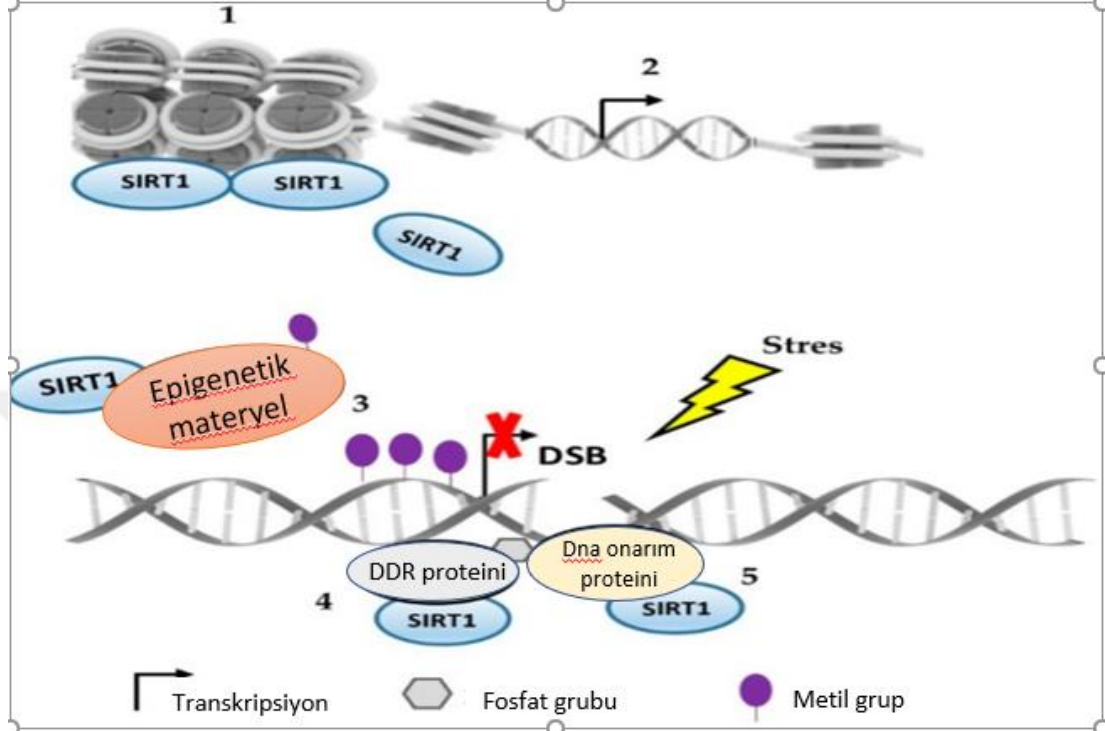
2.4.1. Sirtuin-1 ve Yaşlanma ile İlişkisi

Sirtuinler transkripsiyonda, enerji metabolizmasında, hücre döngüsünde önemli rol oynarlar. Nörodejeneratif, kardiyovasküler ve metabolik yaşlanmanın önlenmesinde görev alırlar. Sirtuinlerin sirkadiyen kontrolünü düzenlemede etkili olduğu ve bu sayede erken yaşlanmanın önlenmesinde önemli olduğu bildirildi (Imai and Guarente, 2014).

Hücre içindeki apoptotik moleküllerin temizlenmesinde otofajide Sirtuin proteinleri görev alır. Otofajinin yaşlanmayı geciktirdiği ve canlı ömrünü uzattığı görülmektedir (Rubinsztein et al., 2011).

Sirtuinler, sınıf III histon deasetilazlar, çekirdek ve sitoplazma arasında serbest dolaşabilen bir protein olup istemik inme sonrası beyin hücrelerinin onarım ve yenilenmesinde önemli rol oynar (Demyanenko et al., 2020).

SIRT1, kromatin iplik oluşumunda görev alarak DNA translasyonunda önemli rol oynar. Stres halinde DNA hasar bölgelerinde görev alarak transkripsiyonel susturma işleminde DNA onarımını sağlayan proteinleri taşıma ve tanıma, deasetilasyonuna yardımcıdır (Alves-Fernandesve and Jasiulionis, 2019).



Şekil 2.2. Sirt1 proteinin DNA onarımındaki rolü (4) Kısaltmalar: DDR proteini (DNA hasar tepkisi proteini) (Alves-Fernandesve and Jasiulionis, 2019).

Maya, kurt ve meyve sineğinde yapılan çalışmalarda Tor sinyalinin yaşlanmayı hızlandırdığı, AMP aktivasyonunun ve sirtuin geninin memelilerde hücre ömrünü arttırdığı düşünülmektedir (Karan ve Tufan, 2010).

Protein, histon ve kromatinin gen ekspresyonunda, yapısal modifikasyonunda Sirtuin1'in önemli bir yeri vardır. Erken yaşlanma ve cilt kanseriyle ilişkili olduğu düşünülen Sirtuin1 proteiniyle yapılan çalışmalar incelendiğinde ultraviyole radyasyonu sonucu oluşan DNA hasarını onarmada etkili olduğu görüldü (Bielach-Bazyluk et al., 2021).

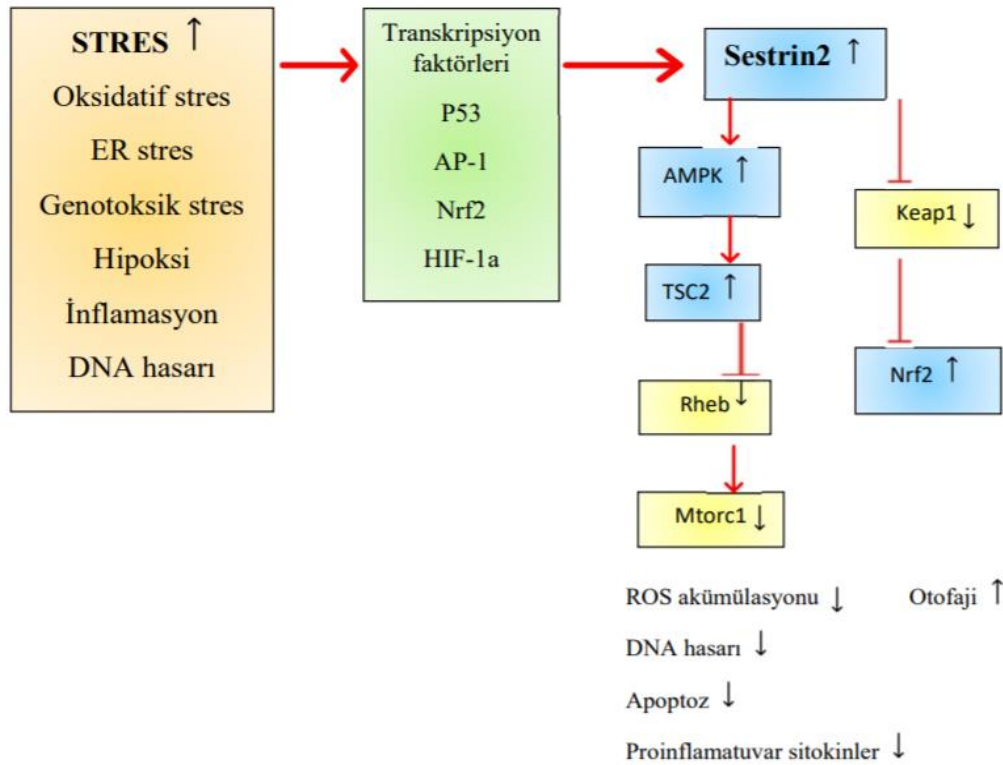
2.5. Sestrinler

Sestrinler ilk olarak 1999 yılında Velasco-Miguel ve arkadaşları tarafından tümör baskılayıcı ve hücre durması ile indüklenen hücre büyümesinde rol oynayan proteinler olarak tanımlandı (Che et al., 2021). Sestrin (SESN) proteinleri,

antioksidant, AMPK'yi aktive ve mTORC inhibe eden, otofaji uyararı ve yaşlanma karşıtı proteinler olarak adlandırılmaktadır (Çelik et al., 2020)

Peeters H ve Debeer P 2003 yılında yaptıkları çalışmalarda Sestrin 2 proteinin hücrede ROS birikimini önleyerek DNA hasarına karşı koruyucu bir protein olduğu, ROS üretiminin mortaliteyle ilişkili olduğu bildirildi (Kishimoto et al., 2021).

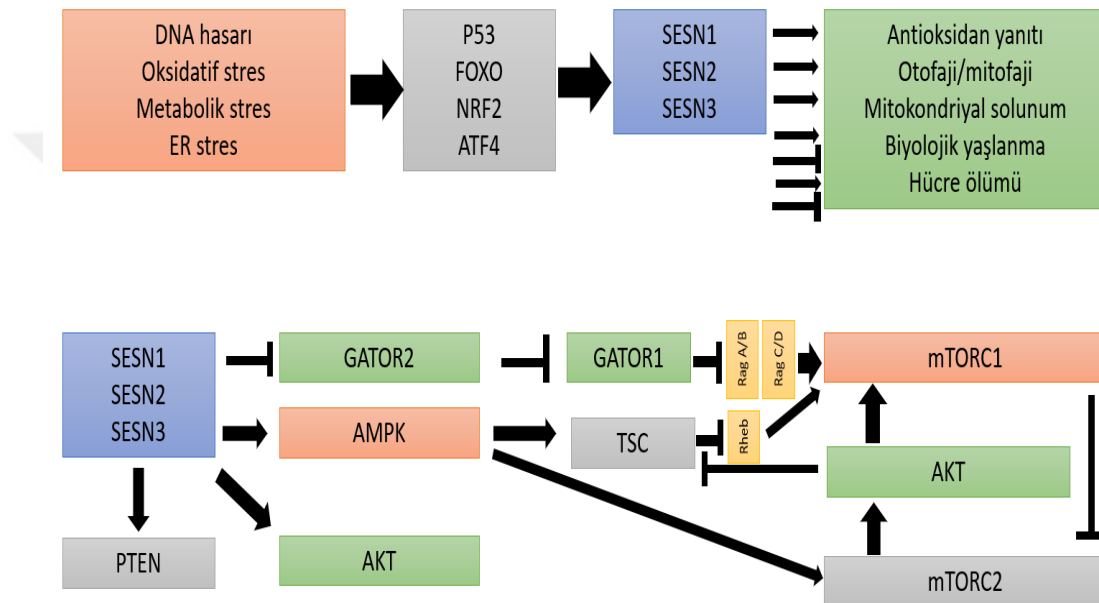
Sestrinler oksidatif stres, açlık, DNA hasarı, hipoksi durumlarında metabolik düzenleyici ve indükleyici protein olarak görev alırlar. Anabolik ve katabolik reaksiyonlarda, hücre onarımı ve hücre homeostazisini korumada önemli rol oynarlar (Pasha et al., 2017).



Şekil 2.3. Stres ve transkripsiyon sonucu Sestrin2'nin patofizyolojik mekanizması (Kishimoto et al., 2021)

Sestrinler (SESN) DNA hasarı, oksidatif stres ve hipoksi gibi hücrenin maruz kaldığı çevresel stresle up-regüle edilen genler tarafından kodlanan son derece korunmuş proteinlerdir. Yüksek antioksidan kapasiteye sahip bu proteinler artan stres koşullarında AMPK aktivasyonu yolu ile mTORC aktivitesini baskırlar. Sestrinler

(SESN), antioksidan, AMPK aktivatörü, mTORC inhibitörü, otofaji uyararı ve yaşlanma karşıtı proteinler olarak vurgulanmaktadır (Budanov, 2015; Lee et al., 2013).



Şekil 2.4. Sestrin1, Sestrin2, Sestrin3 proteinlerinin DNA hasarı, metabolik stres, endoplazmik retikulum stresi sonucundaki rolü (Haidurov and Budanov, 2020).

2.5.1. Sestrin-2 ve Yaşlanma ile İlişkisi

2013). Glukoz ve aminoasitler hücre bölünmesi ve çoğalmasında mTORC1 ve mTORC2'yi aktive ederek biyosentezi başlatır. Maya ve farelerde yapılan Sestrinle ilgili çalışmalarda; Sestrinin hem adenosin monofosfatla aktif olan protein kinazın (AMPK)'nın aktivasyonu hemde GTPaz hızlandırıcı proteini (GAP) aktifleştirerek mTORC1'in baskılanarak yaşam süresini uzattığı görüldü (Haidurov and Budanov, 2020). Hücrede protein ve lipid sentezi, hücre bölünmesi, mitokondriyal biyosentez ve otofajiyi mTORC1 (rapamisin kompleksi 1) tarafından kontrol edilir. Kromatin ipliğın uzaması ve protein sentezi için translasyonun başlamasını sağlayan S6 kinaz ve S6'yı aktifleştirir. mTORC2 ise ökaryot hücrelerde başlatma kodununu aktifleştiren 4E genini aktifleştirerek hücre iskeletinin kontrolünde ve otofajiyi önlemede önemli rol oynar (Quan et al., 2020).

Sestrin2 proteinin yaşa bağılı oluşan koroner arter hastalığına karşı koruyucu olduğu düşünülmektedir. Oksidatif stres sonucu oluşan KAH'TA kanda sestrin2 seviyelerine bakıldığında yüksek olduğu görüldü ve bu hastalığın ilerlemesini önlediği bildirildi (Kishimoto et al., 2021).

Sestrinin yaşlanma karşıtı bir protein olduğunu varsayan araştırmacılar istemik AMPK aktivasyonu ilişkisini inceleyen araştırmacılar yaşa bağılı olarak kalpte Sestrin2'nin ekspresyonunun azaldığını gördüler. Yaşlanmayla beraber Sestrin2-AMP sinyal iletiminin bozulması, yaşlı kalplerde I/R hasarına karşı uyarıcı sinyal mekanizmalarında önemli rolü olduğu görüldü (Quan et al., 2020).

Sestrin2'nin iskemik inme hastalığında alternatif bir tedavi olabileceğini savunan araştırmacılar sıçanlarda önce istemik inme oluşturarak sonrasında sıçanlara yüksek dozda Sestrin2 ekstrasyonu vererek beyindeki nörolojik etkileri değerlendirdiler ve inme sonrasındaki 10 günlük süreçte nörolojik bulguların azaldığı, beyin ödeminin azaldığı ve enfaktüs hacminin küçüldüğü görüldü. Sestrin molekülünün Nrf2 yolunu aktive ettiği ve immünizasyon düzeyini arttırdığı, damar uzunluğu ve sayısında pozitif yönde etkili olduğu görüldü (Li et al., 2020).

Sestrinler metabolik homeostazı düzenlemede görevlidirler. Sestrin eksikliği kas dejenerasyonu, dokunun hızlı yaşlanması, diyabetik sendromlarda ilerlemenin hızlanmasına neden olmaktadır. Sestrin2'nin karaciğer ve iskelet kası olmak üzere bir çok dokuda obezite ile ilgili olduğu düşünülmektedir. Sestrinler AMPK-mTORC1 sinyalizasyonunu düzenleyerek metabolizma hızına etki eder. mTORC1 inhibisyonu insülin üretimini etkileyerek insülin direnci oluşmasına neden olur. Yüksek yağlı diyetle beslenen farelerin glukoz ve lipid metabolizmalarında AKT sinyalizasyonunda

bozukluk olduğu insülin kaynaklı AKT aktivasyonunda Sestrin2'nin gerekli olduğu görüldü (Lee et al., 2012).

Sestrin2'nin inflamatuvar yanıt olarak düzenleyici rolünün araştırıldığı bir çalışmada lipopolisakkarit kaynaklı NO salınımı ve NADPH oksidazın inhibisyonunu sağlayarak hücre ölümünü ve ROS üretimini önlediği görüldü. Farelerde galaktozamin kaynaklı karaciğer hasarını, AST, ALT enzim aktivasyonunu ve hepatosit dejenerasyonunu azalttığı belirtildi (Yang et al., 2015).



3. MATERİYAL ve METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Araştırma Yeri ve Hayvan Materyali

Çalışma materyalini 24 adet Sprague-Dawley ırkı erkek rat oluşturdu. Ratlar Ondokuz Mayıs Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edildi. Çalışmaya 2021/14 numaralı Ondokuz Mayıs Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu izniyle başlandı. Çalışma boyunca 22 ± 2 °C'lik oda sıcaklığı, % 60 nem oranı, 12/12 saat aydınlık/karanlık ortamı sağlanan klinik olarak sağlıklı olan ad libitum olarak beslenen ratlar yaş aralığına göre gruplara ayrıldı.

Deneme Planı:

Grup 1 (n= 6) 1,5 aylık (12,5 puberta)

Grup 2 (n= 6) 6 aylık (18 yıl)

Grup 3 (n= 6) 12 aylık (30 yıl)

Grup 4 (n= 6) 18 aylık (45 yıl)

3.1.2. Kan Örneklerinin Alınması ve Serum Eldesi

Farklı yaş gruplarındaki ratların 12 saatlik açlığı takiben, ksilazin (10 mg/kg canlı ağırlık intra peritoneal) ve ketamin (60 mg ketamin hidrasklorür/kg canlı ağırlık, intra peritoneal) genel anestezisiyle karın ve göğüs bölgesi açılarak direkt kalplerinden kan alındı. Çalışma hayvanlarına eksanguinasyon (kansızlaştırma) yöntemiyle sakrifikasyon/ötenazi yapıldı. Her bir ratın kafatası açılarak beyin dokusu çıkarıldı (Novelli et al., 2007).

Beyin dokusu tartılarak biyokimyasal testler yapılana kadar -20°C'de saklandı.

Kan örnekleri laboratuvar ortamında 20 dk bekletilip pıhtılaşması sağlandıktan sonra +4 C ° 10 dk 1550 x g santrifüj edilerek serumları çıkartılarak alikotlara bölündü. Serumlar analiz işlemi gerçekleşene kadar -20 C°'de muhafaza edildi.

3.1.3. Beyin Dokusu Homojenizasyonunun Hazırlanması

Beyin doku homojenizasyonu ELISA test kiti prosedüründe belirtildiği şekilde hazırlandı. Bunun için homojenizasyondan önce doku buz soğukluğunda PBS (0.01 mol / L, pH 7.0-7.2) ile yıkandıktan sonra tartıldı. Doku ufak parçalara ayrıldıktan sonra buz içinde homojenizatör ile 5 mL PBS ile homojenizasyon gerçekleştirildi. Daha sonra buz içinde 1 veya 2 defa da ultrasonikatör ile hücre membranının

parçalanması sağlandı ve hücrenin daha iyi parçalanması için 2 kez dondurma çözündürme işlemi uygulandı. Daha sonra homojenat 5000 x g'de, 4°C 5 dk santrifüj edilerek süpernatant eppendorflara bölünerek -20 °C analiz yapılana kadar muhafaza edildi.

Beyin doku süpernatantlarında ve serumda Sirtuin-1 ve Sestrin-2 düzeyleri rata spesifik ELISA test kitleri prosedürü takip edilerek belirlendi.

3.1.4. Beyin doku süpernatantında ve Serumda Sirtuin-1 ve Sestrin-2 Düzeyinin Belirlenmesi

Sirtuin-1 Düzeyinin Belirlenmesi

Beyin doku süpernatantlarında ve serumda Sirtuin-1 düzeyinin belirlenmesi için ratlardan alınan örneklerde spesifik ELISA test kiti (BT LAB, Elisa kit, cat no.E1214Ra) kullanıldı. ELISA testi üretici firmanın bildirdiği metoda göre gerçekleştirildi. ELISA testinin saptama aralığının 0,1-40 ng /mL ve saptayabildiği en düşük konsantrasyonun da 0,048 ng /mL'nin altında olduğu bildirildi. Test metoduna göre öncelikle tüm solüsyonlar kullanılmadan önce oda sıcaklığına getirildi. Kit içerisinde bulunan hazır konsantre standart solüsyonundan (48 ng /mL) dilüsyonlar yapılarak standartlar oluşturuldu. Mikropleytin ilk ve son 6 kuyucuğuna 50 µl standart dilüsyonları, diğer kuyucuklara da 40 µl örnek ve 10 µl biotin antibody konuldu. Ayrıca başta ve sonda birer kuyucuk blank olarak ayrıldı ve bu kuyucuklara hiçbir solüsyon konulmadı. Blank olarak ayrılan kuyucuklar hariç olmak üzere diğer tüm kuyucukların üzerine 50 µl HRP-konjugat ilave edildi. Mikropleyt 37°C'de 1 saat inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda yıkama solüsyonu ile 5 defa yıkama gerçekleştirildi. Sonrasında tüm kuyucuklara 50 µl Substrate A ve 50 µl Substrate B solüsyonları eklendi ve karanlık ortamda 37°C'de 10 dk inkübe edildi. Süre sonunda tüm kuyucuklara 50 µl stop solüsyonu eklendi ve 10 dk içerisinde 450 nm'ye ayarlanmış olan ELISA reader da okundu. Belirlenen OD₄₅₀ değerleri Magellan Standard Tracker (V7-2) yazılımı ile standartlara ait OD₄₅₀ değerleri dikkate alınarak hesaplandı.

Sestrin-2 Düzeyinin Belirlenmesi

Beyin doku süpernatantlarında ve serumda Sestrin-2 düzeyinin belirlenmesi için ratlardan alınan örneklerde spesifik ELISA test kiti (BT LAB, Elisa kit, cat no.E2641Ra) kullanıldı. ELISA testi üretici firmanın bildirdiği metoda göre

gerçekleştirildi. ELISA testinin saptama aralığının 0.1-38 ng /mL ve saptayabildiği en düşük konsantrasyonun da 0.047 ng/mL'nin altında olduğu bildirildi. Test metoduna göre öncelikle tüm solüsyonlar kullanılmadan önce oda sıcaklığına getirildi. Kit içerisinde çıkan hazır konsantre standart solüsyonundan (40 ng/mL) dilüsyonlar yapılarak standartlar oluşturuldu. Mikropleytin ilk ve son 6 kuyucuğuna 50 µl standart dilüsyonları, diğer kuyucuklara da 40 µl örnek ve 10 µl biotin antibody konuldu. Ayrıca başta ve sonda birer kuyucuk blank olarak ayrıldı ve bu kuyucuklara hiçbir solüsyon konulmadı. Blank olarak ayrılan kuyucuklar hariç olmak üzere diğer tüm kuyucukların üzerine 50 µl HRP-konjugat ilave edildi. Mikropleyt 37°C'de 1 saat inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda yıkama solüsyonu ile 5 defa yıkama gerçekleştirildi. Sonrasında tüm kuyucuklara 50 µl Substrate A ve 50 µl Substrate B solüsyonları eklendi ve karanlık ortamda 37°C'de 10 dk inkübe edildi. Süre sonunda tüm kuyucuklara 50 µl stop solüsyonu eklendi ve 10 dk içerisinde 450 nm'ye ayarlanmış olan ELISA reader da okundu. Belirlenen OD₄₅₀ değerleri Magellan Standard Tracker (V7-2) yazılımı ile standartlara ait OD₄₅₀ değerleri dikkate alınarak hesaplandı.

3.1.5. Serumda ve Beyin dokusunda Total Antioksidan Seviye (TAS) Tayini

Beyin doku süpernatantlarında ve serumda total antioksidan seviyesi (TAS), Rel Assay Diagnostics'in Total Antioxidant Status kitine göre belirlendi (Erel, 2004). Kitin çalışma prensibine göre örnek içerisindeki antioksidanlar koyu mavi-yeşil renkli ABTS radikalini renksiz ABTS formuna indirger. Absorbsiyon miktarındaki değişim örneğin antioksidan miktarına bağlı olarak spektrofotometrik yöntemle ölçüldü.

3.1.6. Serumda ve Beyin dokusunda Total Oksidan Seviye (TOS) Tayini

Beyin doku süpernatantlarında ve serumda Total Oksidan Seviyesi (TOS), Rel Assay Diagnostics'in Total Oxidant Status kitine göre belirlendi (Erel, 2005). Örnek içerisindeki oksidanlar demir iyonu kenetleme kompleksini okside ederek ferik iyonla dönüştürür. Oksidasyon reaksiyonu, tepkime ortamında bulunan bazı moleküller tarafından uzatılmıştır. Ferrik iyon asidik ortamda kromojenle renkli bir kompleks oluşturur. Örnek içerisindeki oksidan miktarıyla doğru orantılı olacak şekilde spektrofotometrik absorbansta artış belirlendi.

$$OSİ \text{ (Arbitrary Unit)} = \text{TOS } (\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Equiv./L}) / \text{TAS (mmol Trolox Equiv. /L)}$$

3.1.7. Serumda bazı biyokimyasal parametrelerin düzeyinin ölçülmesi

Serumda glukoz, total protein, albumin, ürik asit, total kolesterol, trigliserit, ALT ve AST düzeyleri spektrofotometrik yöntemle otoanalizör cihazı kullanılarak ölçüldü. Bu cihazda kısaca; numune ve reaktifler cihaz tarafından uygun ölçülerde alınıp karıştırılarak belirli süre ve ısıda optik okuma yapılarak ilgili analiz sonuçları hesaplanmış olarak cihazdan alındı.

Total Kolesterol Düzeyinin Belirlenmesi

Total Kolesterol düzeyi Biosistem-TC kiti kullanılarak otoanalizör (Biosistem A25, İspanya) ile direkt enzimatik olarak ölçüldü (Sacks, 1999). Bu yöntemde kolesterol esterase, kolesterol esterlerini ayırdıktan sonra 4-kolesterolon oluşturmada ve kırmızı renkli quinon üretilmekte olup serumdaki kolesterol konsantrasyonu ile doğru orantılı olmaktadır. Test amacıyla serumlardan 10 µL alınarak 100 µL çalışma reaktifi ile karıştırıldı. 37°C’de 5 dakika inkübasyon sonrasında dakikadaki absorbanı değışimi 500 nm dalga boyu otoanalizör ile ölçüldü (Tablo 1). Elde edilen sonuçlar gruplar arasında karşılaştırmalı olarak değerlendirildi.

Tablo 3.1. Total kolesterol düzeyinin belirlenmesi amacıyla kullanılan reaktifler

Reaktif	Konsantrasyon
Phosphatebuffer	100mmol/L
Phenol	5 mmol/L
4-Aminoantipyrine	0,3mmol/L
Cholesterolesterase	>150KU/L
Cholesteroloxidase	>100KU/L
Peroxidase	5 KU/L

Tablo 3.2. Total Kolesterol düzeyinin belirlenmesinde kullanılan reaktifler

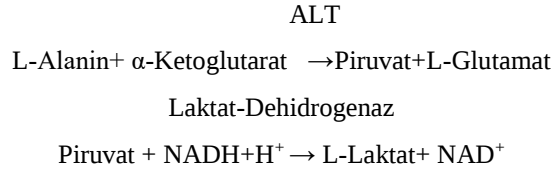
	Blank	Örnek
Reaktif	1000 µL	1000 µL
Distilesu	10 µL	—
Örnek	—	10 µL
37°C’de 10 dk inkubasyondan sonra absorbanı okundu.		
$\Delta A = [\Delta A_{sample}] - [\Delta A_{blank}]$		

Alanin Aminotransferaz Düzeyinin Belirlenmesi

Ölçümler Biosistem (Biosistem A25, İspanya) marka kit ile otoanalizör cihazı kullanılarak yapıldı. Bu işlem, IFCC (International Federation of Clinical Chemistry) metodu kullanılan kinetik bir yöntemdir (Bergmeyer et al., 1978).

Testin Prensibi

Alanin aminotransteraz aktivitesinin kinetik olarak belirlenmesinde;



ALT etkisiyle alanin, α -Ketoglutarik asitle reaksiyona girer ve pirüvat ile L-glutamatu verir. Oluşan pirüvat, alkali ortamda 2,4 dinitrofenilhidrazin ile reaksiyona girer. Oluşan fenilhidrazonların renk siddeti ALT aktivitesi ile doğru orantılıdır.

Tablo 3.3. ALT düzeyinin belirlenmesi amacıyla kullanılan reaktifler

R1:	Tris buffer, pH 7.8	125 mmol/L
	L-Alanin	625 mmol/L
	LDH	1500 U/L
R2:	α -Ketoglutarat	94 mmol/L
	NADH	0,23 mmol/L

Yapılışı

Numune serumunun 20 μ L'si, 200 μ L çalışma reaktifi ile karıştırıldı, 50 saniye inkübe edildi. Dakikadaki absorbans değişimi 175 saniye içinde 340 nm dalga boyu otoanalizörde ölçüldü.

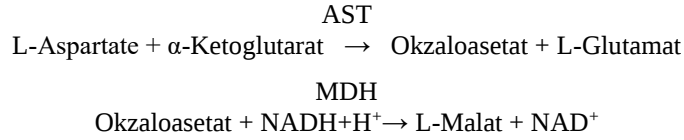
Aspartat aminotransferaz düzeyinin belirlenmesi

Aspartat aminotransferaz düzeyinin kantitatif ölçümünde International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) metodu kullanıldı (Stein et al., 1985).

Testin Prensibi

Aspartat amino transferaz aktivitesinin kinetik olarak saptanması: Bu metot örneklerin ön inkubasyonu için L-Aspartat, MDH ve LDH içeren Tris

(hydroxymethyl) aminomethan tampon solusyonu ile olmaktadır. Bu reaksiyona NADH eklenerek kinetik ölçüm yapıldı. AST aktivitesi tükenen NADH miktarı ile orantılı olarak gerçekleşmektedir.



MDH = Malat dehidrojenaz.

Oluşan okzaloasetat, alkali ortamda 2,4 difenilhidrazin ile reaksiyona girer. Oluşan fenilhidrazonların renk şiddeti AST aktivitesi ile doğru orantılıdır.

Tablo 3.4. AST düzeyinin belirlenmesi amacıyla kullanılan reaktifler

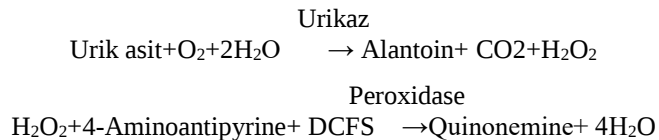
R1:	Tris buffer, pH 7.8	100 mmol/L
	L-Aspartat	330 mmol/L
	LDH	≥ 750 U/L
	MDH	≥ 530 U/L
R2:	α -Ketoglutarat	75 mmol/L
	NADH	0,23 mmol/L

Yapılışı

Serumda AST aktivitesi ADM107 katalog no'lu kit kullanılarak belirlendi. Deneme grubunun serumunun 20 µL'si, 200 µL çalışma reaktifi ile karıştırıldı ve 50 saniye inkübe edildi. Dakikadaki absorbans değişimi 175 saniye içinde 340 nm dalga boyunda ölçüldü.

Ürik Asit Düzeyinin Belirlenmesi

Ürik asit düzeyi Biosistem analizör kitleri kullanılarak otoanalizör (Biosistem A25, İspanya) cihazında oluşan renkli kompleks spektrofotometrik yöntemle ölçülerek belirlendi (Barham and Trinder, 1972; Fossati et al., 1980).



Total Protein Düzeyinin Belirlenmesi

Serumda total protein miktarı Biosistem-TP otoanalizör kiti kullanılarak otoanalizör cihazında bakır sülfatın iki ya da daha fazla peptit bağı taşıyan maddelerle

alkali ortamda reaksiyona girerek menekşe renkli kompleks oluşturmaya esasına dayanan yöntem ile ölçüldü (Weichselbaum, 1946). Bu amaçla deneme grubundaki her bir serumun 20 µL'si alındı ve 1 000 µL çalışma reaktifi cihaz tarafından alınıp küvetlerde karıştırarak 10 dakika süre ile inkübasyon sonrasında dakikadaki absorban değişimi 1 saat içinde 550 nm dalga boyunda ölçüldü. Elde edilen sonuçlar gruplar arasında karşılaştırmalı olarak değerlendirildi (Tablo 5 ve 6).

Tablo 3.5. Total Protein düzeyinin belirlenmesi amacıyla kullanılan reaktifler

Reaktif	Konsantrasyon
Sodyum-potasyum tartarat	32 mmol/L
Sodium hydroxide	200 mmol/L
Potassiumiodide	30 mmol/L
Cupric sulfate	12 mmol/L

Tablo 3.6. Total Protein düzeyinin belirlenmesi

	Blank	Örnek
Reaktif	1000 µL	1000 µL
Distile su	20 µL	—
Örnek	—	20 µL
37°C'de 10 dk inkubasyondan sonra absorbanı okundu.		
$\Delta A = [\Delta A_{\text{sample}}] - [\Delta A_{\text{blank}}]$		

Albumin Düzeyinin Belirlenmesi

Serumda albumin miktarı Biosistem-ALB otoanalizör kiti kullanılarak otoanalizör cihazında ölçüldü. Serumda kantitatif olarak 3,3',5,5'-tetrabrom, kresol sülfon ftalein (BCG) bağlanma esasına dayanan kit kullanılarak tüm serum örneklerinde albumin miktarı ölçüldü (Grant and Kachmar, 1976). Bu amaçla, deneme gruplarındaki her bir serumdan ve çalışma reaktifi ile cihaz tarafından aşağıda belirtilen oranlarda karıştırılarak, dakikadaki absorban değişimi 600 nm dalga boyunda ölçüldü. Elde edilen sonuçlar gruplar arasında karşılaştırmalı olarak değerlendirildi (Tablo 7 ve 8).

Tablo 3.7. Albumin düzeyinin belirlenmesi amacıyla kullanılan reaktifler

Reaktif	Konsantrasyon
Citrate buffer	30 mmol/L
Bromocresolgreen	0.26 mmol/L
Surfactant	1,5 g/L

Tablo 3.8. Albumin düzeyinin belirlenmesi

	Blank	Örnek
Reaktif	1000 µL	1000 µL
Distile su	10 µL	—
Örnek	—	10 µL

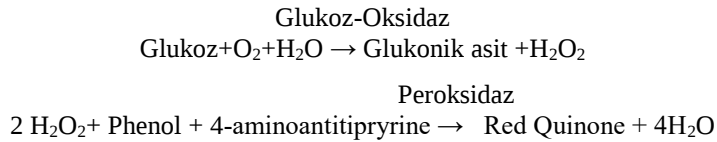
37°C’de 5 dk inkubasyondan sonra absorbansı okundu.
 $\Delta A = [\Delta A_{sample}] - [\Delta A_{blank}]$

Alb/Glo Oranının Hesaplanması:

TP değerinden Alb çıkarılarak Glo bulundu ve Alb düzeyi Glo’e bölünerekte Alb/Glo oranı hesaplandı.

Serumda Glukoz Düzeyinin Belirlenmesi:

Serumda glukoz düzeyi otoanalizör cihazında Biosistem analizör kiti kullanılarak belirlendi. Glukoz hidrojen peroksit ve glukonik asite oksitlenebilen bir bileşiktir. Hidrojen peroksit ise fenol ve 4-aminoantipyrin içinde red quinone dönüşmekte olup, reaksiyon spektrofotometrik olarak 500 nm’de okunarak ölçülmektedir. Red quinone renginin yoğunluğu serum içindeki glukoz konsantrasyonu ile doğru orantılıdır (Stein et al., 1985). Oluşan kırmızı renkli kinon bileşikler fotometrik olarak ölçüldü.



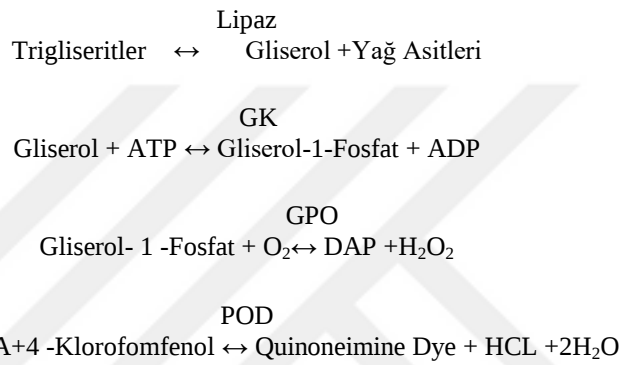
Tablo 3.9. Glukoz düzeyinin belirlenmesi amacıyla kullanılan reaktifler

Reaktif	Konsantrasyon
Fosfat buffer, pH 7.5	100 mmol/L
4-Aminoantipirin	0,3 mmol/L
Fenol	1 mmol/L
Peroksidaz	> 1000 mmol/L
Glukoz oksidaz	≥ 2000 U/L

Numune olan serum, çalışma reaktifi ile karıştırıldı, 50 saniye inkübe edildi. Dakikadaki absorbans değişimi 175 saniye içinde 500 nm dalga boyunda otoanalizörde ölçüldü.

Total Trigliserit Düzeyinin Belirlenmesi:

Trigliserid analizi, enzimatik kolorimetrik yöntem kullanılarak yapıldı. Serum örnekleri otoanalizörde Biosistem test kitleri kullanılarak ölçüldü. Trigliserid düzeyinin ölçümü, lipoprotein lipaz tarafından trigliseridlerin gliserol ve yağ asitlerine dönüşümü izleyen, gliserol kinaz, gliserol fosfat oksidaz ve peroksidaz enzimlerinin katalizlediği reaksiyonlar sonucunda gerçekleştirildi. Hidrojen peroksit, peroksidaz enziminin etkisiyle 4-aminofenazon ve 4-klorofenol ile etkileşerek pembe bir ürün oluşur. Rengin yoğunluğu trigliserid konsantrasyonu ile doğru orantılı olup spektrofotometrik olarak 505 nm’de belirlendi.



Tablo 3.10. Trigliserit düzeyinin belirlenmesi amacıyla kullanılan reaktifler

Reaktif	Konsantrasyon
Fosfat buffer,	50 mmol/L
4-Klorofenol	5 mmol/L
ATP	2 mmol/L
Mg ⁺²	4-5 mmol/L
Gliserokinaz	0,4 U/mL
Peroksidaz	0,5 U/mL
Lipoprotein lipaz	1,3 U/mL
4-Aminoantipirin	0,25 mmol/L
Gliserol-3-fosfat-oksidaz	1,5 U/mL

Tablo 3.11. Trigliserit düzeyinin belirlenmesi

	Blank	Örnek
Reaktif	1000 µL	1000 µL
Distile su	10 µL	—
Örnek	—	10 µL
37°C’de 10 dk inkubasyondan sonra 500nm absorbansı okundu.		
$\Delta A = [\Delta A_{\text{sample}}] - [\Delta A_{\text{blank}}]$		

3.2. İstatistiksel Analiz

Çalışmada elde edilen verilerin istatistiksel analizi için SPSS statistical software for Windows (SPSS-PC, SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA, Rao 1973) programı kullanıldı. Farklı yaş gruplarındaki ratların total protein, total kolesterol, glukoz, albümin, ürik asit, AST ve ALT değerlerindeki farklılığın belirlenmesinde One-way analysis of variance (ANOVA) testi ve Duncan's multiple range-test kullanıldı. Gruplar arası farklılıklar istatistiksel anlamlılık düzeyi $P < 0.05$ 'te anlamlı olarak kabul edildi. Tüm değişkenler ortalama ve standart hata (SE) olarak ifade edildi.



4. BULGULAR

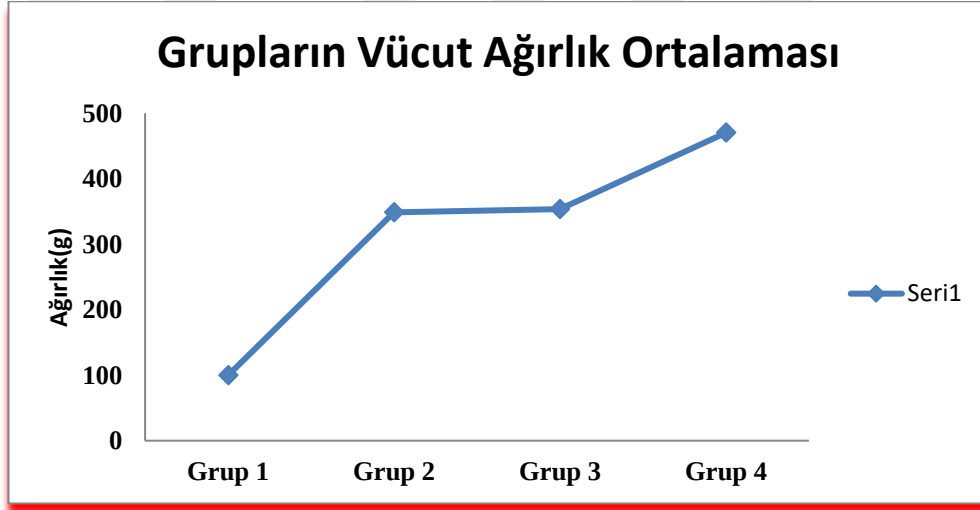
4.1. Vücut Ağırlık Değişimi

Grupların vücut ağırlıklarının ortalaması, standart hata (SE) değeri ile en düşük ve en yüksek ağırlıkları tabloda sunuldu, grafik ile gösterildi (Tablo 12, Şekil 5). Çalışma gruplarının ağırlık değişimleri şekilde gösterildi (Şekil 6).

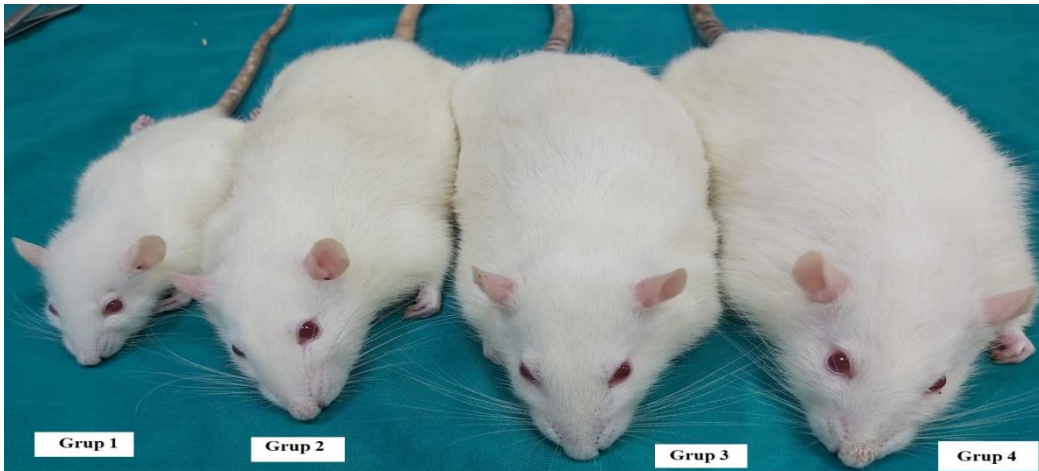
Tablo 4.1. Grupların vücut ağırlık değişimleri

	Ortalama± SE	Düşük	Yüksek
Grup 1	99,8±3,6 ^a	88	110
Grup 2	348,5±11 ^b	312	389
Grup 3	353,5±13,8 ^b	292	390
Grup 4	470,16±18 ^c	411	535

^{a, b, c}: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen gruplar arasındaki farklar önemli (P<0.05)



Şekil 4.1 Grupların vücut ağırlıklarının ortalaması



Şekil 4.2. Gruplarda yer alan ratlar

Grupların (Grup 1, 2, 3 ve 4) vücut ağırlıklarının ortalaması sırasıyla 99.8 ± 3.6 , 348.5 ± 11 , 353.5 ± 13.8 ve 470.16 ± 18 olarak belirlendi. Grup 1'in vücut ağırlığının en düşük olduğu ($P < 0.05$), Grup 3'te ise ve Grup 2'ye göre artış olduğu ama bunun önemli olmadığı ($P > 0.05$), Grup 4 ise en yüksek olduğu belirlendi ($P < 0.05$).

4.2. Serumda Bazı Rutin Biyokimyasal Parametrelerin Düzeyleri

1. grup 1,5 aylık (12,5 puberta), 2. grup 6 aylık (18 yıl), 3. grup 12 aylık (30 yıl), 4. grup 18 aylık olan Sprague-Dawley ırkı erkek ratların serum total kolesterol, total trigliserid düzeyleri ile AST ve ALT enzim aktivitelerinin ortalama ve standart hata değeri (ortalama $\pm$ SE) tabloda sunuldu (Tablo 13).

Tablo 4.2. Grup 1, 2, 3 ve 4'ün serumundaki total kolesterol (TK), trigliserit (TG), glukoz (Glu), ürik asit (UA), aspartat transaminaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT) düzeyleri

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4
AST(U/L)	$128,16 \pm 5,14$	$111 \pm 9,32$	$116,33 \pm 13,75$	$120,16 \pm 6,73$
ALT(U/L)	$43,5 \pm 2,89^a$	$50,5 \pm 2,9^{ab}$	$55,66 \pm 4,22^b$	$54 \pm 3,62^{ab}$
TK(mg/dL)	$54 \pm 2,67^a$	$42,5 \pm 1,87^b$	$43 \pm 2,65^b$	$64,16 \pm 2,97^c$
TG (mg/dL)	$31,33 \pm 2,15^a$	$65,5 \pm 9,21^{ab}$	$60,33 \pm 7,15^b$	$90,66 \pm 11,94^c$
UA (mg/dL)	$2,2 \pm 0,28^a$	$1,01 \pm 0,12^b$	$0,9 \pm 0,12^b$	$1,3 \pm 0,26^b$
Glu (mg/dL)	$136,5 \pm 8,06^a$	$154,83 \pm 4,79^{ab}$	$164,83 \pm 10,06^b$	$154,2 \pm 5,93^{ab}$

a, b, c, d: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen gruplar arasındaki farklar önemli ($P < 0.05$)

ALT enzim aktivitesi Grup 1'de en düşük olduğu Grup 1 ile Grup 3 arasında ki bu artışın önemli olduğu ($P < 0.05$) diğer gruplar arasında ise Grup 1 göre artış olduğu ama bunun önemli olmadığı belirlendi ($P > 0.05$).

Gruplar arasında AST enzim aktivitesi arasında farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlendi ($P > 0.05$).

Total kolesterol düzeyi Grup 2 en düşük olduğu, Grup 4 ise en yüksek olduğu belirlendi ($P < 0.05$).

Trigliserit düzeyi Grup 1 en düşük olduğu, Grup 4 ise en yüksek olduğu saptandı ($P < 0.05$).

Ürik asit düzeyinin ise grup 1 en yüksek olduğu, diğer gruplarda düşmeye başladığı belirlendi ($P < 0.05$).

Glukoz düzeyi Grup 1 en düşük olduğu, Grup 3 ise en yüksek olduğu ($P < 0.05$), Grup 2 ve 4 arasında ise farkın önemli olmadığı belirlendi ($P > 0.05$).

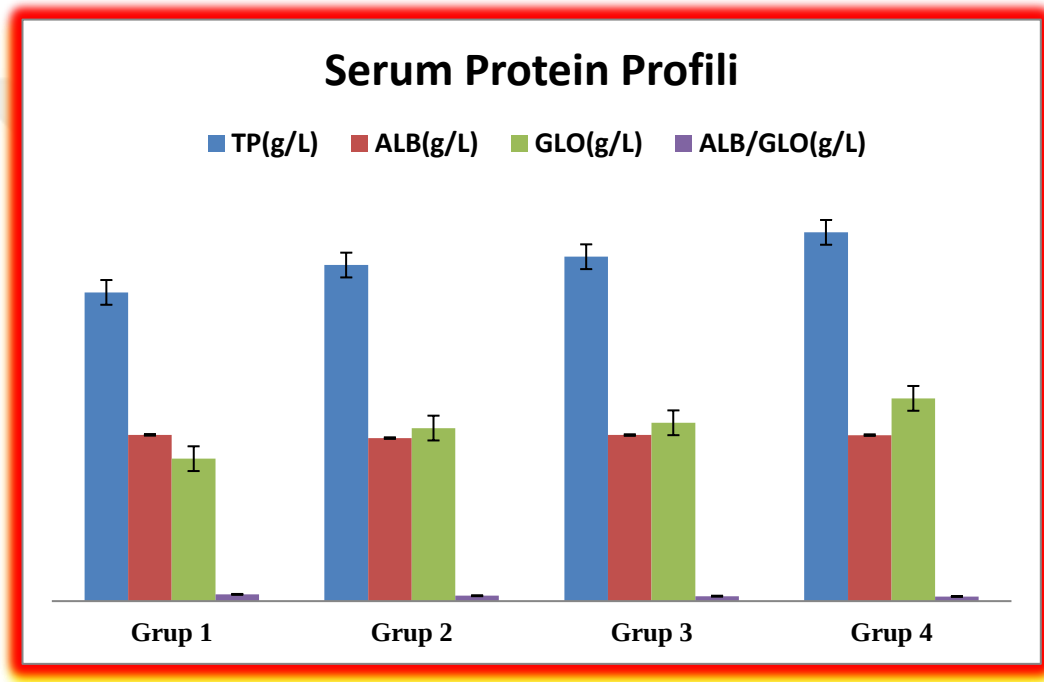
Grupların total protein (TP), albümin (ALB), globülin (GLO) ve albümin/globülin oranı (ALB/GLO) tablo ve şekilde sunuldu (Tablo 14).

Tablo 4.3. Grupların total protein (TP), albümin (ALB), globülin (GLO) ve albumin/globulin oranı (ALB/GLO)

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4
TP(g/L)	53,75±2,2 ^a	58,51±2,12 ^{ab}	59,96±1,02 ^{bc}	64,2±0,84 ^c
ALB(g/L)	28,95±1,18	28,38±0,58	28,91±0,77	28,9±0,74
GLO(g/L)	24,8±1,23 ^a	30,13±1,66 ^b	31,05±0,56 ^b	35,3±0,43 ^c
ALB/GLO(g/L)	1,17±0,04 ^a	0,94±0,04 ^b	0,86±0,08 ^b	0,81±0,02 ^b

a, b, c, d: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen gruplar arasındaki farklar önemli (P<0.05)

Total protein ve globulin miktarının Grup 1 en düşük olduğu, Grup 2 de artmaya başladığı Grup 4 en yüksek olduğu belirlendi. ALB/GLO oranı ise Grup 1 en yüksek olduğu yaş ilerledikçe azalmaya başladı belirlendi(P<0.05).



Şekil 4.3 Grupların total protein(TP), albumin(ALB), globulin(GLO) ve albumin/globulin oranı (ALB/GLO)

Gruplar arasındaki korelasyon ilişkisi tablo.15'te sunuldu.

Buna göre AST ile glukoz düzeyi arasında negatif bir korelasyon ($r=-0,539^{**}$) olduğu, ALT enzim aktivitesi ile TG, albumin, TP ve Glo arasında pozitif bir korelasyon olduğu ($r=0,429^*$, $0,431^*$, $0,543^{**}$, $0,457^*$) belirlendi.

TG ile TP, Glo arasında pozitif ($r=0,677^{**}$, $r=0,675^{**}$), Alb/Glo arasında ise negatif korelasyon belirlendi($r=-0,462^*$). Albumin ve TP arasında pozitif korelasyon ($r=0,573^{**}$) belirlendi.

TP ile albumin ve globülin arasında pozitif korelasyon ($r=0,573^{**}$, $0,936^{**}$) Alb/Glo arasında ise negatif korelasyon ($r=-0,796^{**}$) belirlendi.

Tablo 4.4. Gruplar arasındaki korelasyon ilişkisi

	AST	ALT	TK	TG	Alb	UA	TP	Glu	Glo	Alb/Glo
AST	1	0,22	0,32	-0,038	0,183	0,215	-0,08	-0,539**	-0,173	0,161
ALT		1	0,02	0,429*	0,431*	-0,388	0,543**	0,076	0,457*	-0,22
TK			1	0,347	0,201	0,387	0,403	-0,221	0,39	-0,108
TG				1	0,291	-0,126	0,677**	0,388	0,675**	-0,462*
Alb					1	0,298	0,573**	0,006	0,248	0,153
UA						1	-0,201	-0,299	-0,366	0,448*
TP							1	0,292	0,936**	-0,617**
Glu								1	0,343	-0,315
Glo									1	-0,796**
Alb/Glo										1

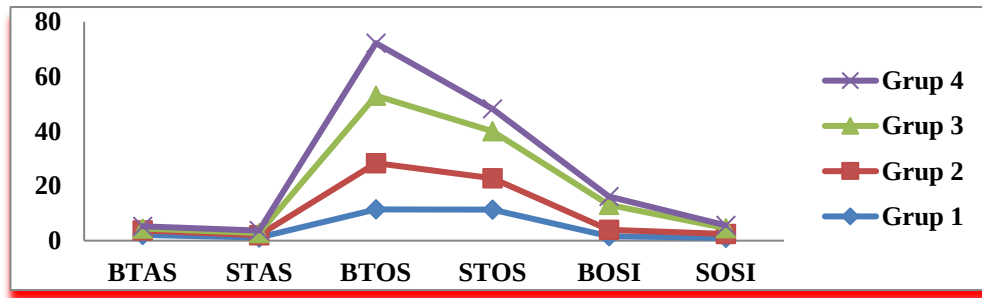
4.3.Serumda ve Beyin dokusunda Total Antioksidan Seviye (TAS) ve Total Oksidan Seviye (TOS) Düzeyleri

Grupların (Grup 1, 2, 3 ve 4) serumda ve beyin dokusundaki total antioksidant (TAS), total oksidan seviyesi (TOS) ve oksidatif stres indeksi (OSI) düzeyleri tabloda sunuldu (Tablo 16).

Tablo 4.5. Grupların (Grup 1, 2, 3 ve 4) serumda ve beyin dokusundaki total antioksidant (TAS), total oksidan (TOS) ve oksidatif stres indeksi (OSI) düzeyleri

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4
BTAS(mmol/g doku)	8,12±0,77	4,61±0,59	4,88±0,28	4,68±0,36
STAS(mmol/L)	1,18±0,12 ^a	0,8±0,04 ^b	0,89±0,06 ^b	0,81±0,05 ^b
BTOS(μmol/ g doku)	22,42±3,13	32,93±4,74	38,23±2,7	48,63±6,51
STOS(mmol/L)	11,37±1,42 ^{ab}	11,4±1,82 ^{ab}	8,2±1,43 ^a	17,26±2,86 ^b
BOSI	4,64±0,66 ^a	8,38±1,35 ^a	8,98±0,74 ^a	18,12±3,01 ^b
SOSI	1,01±0,15 ^a	1,42±0,19 ^{ab}	0,95±0,16 ^a	2,18±0,46 ^b

a, b, c : Aynı satırda farklı harflerle gösterilen gruplar arasındaki farklar önemli (P<0.05).



Şekil 4.4. Grupların (Grup 1, 2, 3 ve 4) serumda ve beyin dokusundaki total antioksidant (TAS), total oksidan (TOS) ve oksidatif stres indeksi (OSI) düzeyleri

Serumda ve beyin dokusunda TAS düzeyi 1. grupta (1.5 ay) en yüksek düzeyde olduğu yaş artıkça azalmaya başladığı belirlendi. Serumda TOS ve OSI'nin 3. grupta en düşük olduğu, 4. grupta ise en yüksek olduğu belirlendi ($P<0.05$). Beyin dokusunda TOS düzeyinin Grup1 en düşük olduğu yaş ilerledikçe artmaya başladığı ve Grup 4 en yüksek olduğu belirlendi ($P>0.05$) (Şekil 8).

Tablo 4.6. Gruplar arasındaki korelasyon ilişkisi

	BTAS	STAS	BTOS	STOS	BOSI	SOSI
BTAS	1	0,189	-0,364	0,123	-0,544**	-0,033
STAS		1	-0,273	-0,102	-0,259	-0,441*
BTOS			1	0,250	0,524**	0,399
STOS				1	0,198	0,901**
BOSI					1	0,324
SOSI						1

Beyinde TAS düzeyi ile beyinde OSI arasında serumda TAS ile serumda OSI arasında önemli düzeyde negatif korelasyon ($r=-0,544^{**}$, $r=-0,441^{*}$) olduğu belirlendi.

Beyinde TOS düzeyi ile beyinde OSI arasında serumda TOS ile serumda OSI arasında önemli düzeyde pozitif korelasyon ($r=0,524^{**}$, $r=0,901^{**}$) olduğu belirlendi.

4.4.Beyin doku süpernatantında ve Serumda Sirtuin-1 ve Sestrin-2 Düzeyleri

Grupların (Grup 1, 2, 3 ve 4) serumda ve beyin dokusundaki (Tablo.18) Sirtuin-1 ve Sestrin-2 düzeyleri tabloda sunuldu (Tablo 18).

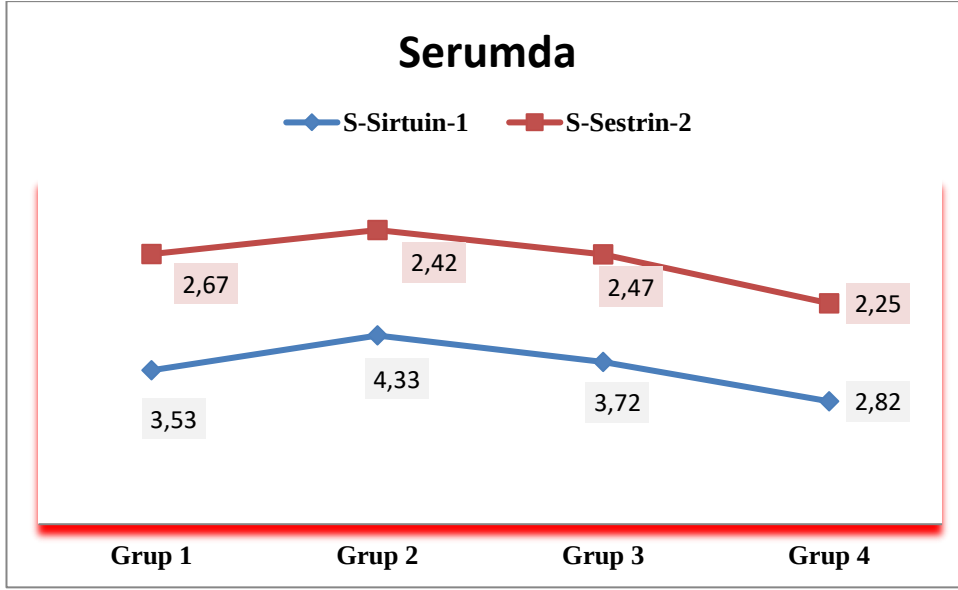
Tablo 4.7. Serumda Sirtuin-1 ve Sestrin-2 düzeyleri

	Sirtuin-1 (ng/ mL)	Sestrin-2 (ng/mL)
Grup 1	3,53±0,35 ^a	2,67±0,17
Grup 2	4,33±0,12 ^b	2,42±0,15
Grup 3	3,72±0,14 ^{ab}	2,47±0,16
Grup 4	2,82±0,23 ^c	2,25±0,23

a, b, c : Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen gruplar arasındaki farklar önemli ($P<0.05$).

Serumda Sirtuin-1 düzeyi Grup 2'de Grup 1'e göre artış olduğu ($P<0.05$) en yüksek Grup 2'de olduğu Grup 3 itibariyle azalmaya başladığı Grup 4 en düşük olduğu belirlendi ($P<0.05$) (Şekil.9).

Serumda Sestrin-2 düzeyi ise Grup 1 de en yüksek düzeyde olduğu yaş ilerledikçe azalmaya başladığı Grup 4'te ise en düşük olduğu ama bu farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlendi ($P>0.05$) (Şekil.9).



Şekil 4.5 Grupların serumundaki Sirtuin-1 ve Sestrin-2 düzeyleri

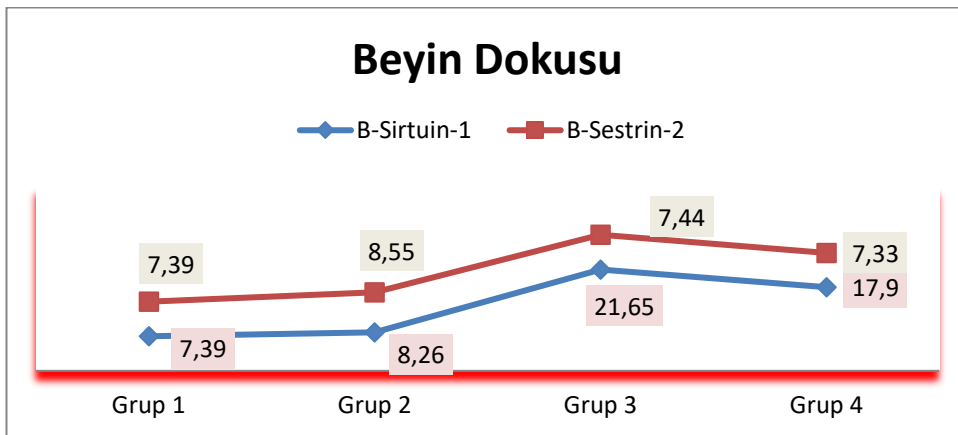
Tablo 4.8 Tüm beyin dokusunda Sirtuin-1 ve Sestrin-2 düzeyleri

	Sirtuin-1 (ng/ g doku)	Sestrin-2 (ng/ g doku)
Grup 1	7,39±0,76 ^a	7,39±0,33
Grup 2	8,26±0,56 ^a	8,55±0,8
Grup 3	21,65±1,68 ^b	7,44±0,3
Grup 4	17,9±1,6 ^c	7,33±0,28

^{a, b, c} : Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen gruplar arasındaki farklar önemli (P<0.05).

Beyin dokusunda Sirtuin-1 düzeyinin Grup 1'den Grup 3'e doğru yaş ilerledikçe artmaya başladığı bu artışın önemli olduğu (P<0.05) Grup 4 ise Grup 3'e göre azalmaya başladığı belirlendi (P<0.05).

Beyin dokusunda Sestrin-2 düzeyinin Grup 2 en yüksek olduğu Grup 3 ve Grup 4 tekrar azalmaya başladığı ama gruplar arasındaki bu farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlendi (P>0.05).



Şekil 4.6 Grupların beyin dokusundaki Sirtuin-1 ve Sestrin-2 düzeyleri

Grupların beyin dokusu ve serumdaki sirtuin-1, sestrin-2, TAS, TOS ve OSI korelasyon ilişkisi Tabloda sunulmuştur (Tablo.20).

Buna göre beyin dokusunda Sirtulin-1 ile OSI arasında önemli düzeyde pozitif korelasyon ilişkisi olduğu ($r=0,508^*$), TAS ile ise negatif korelasyon ilişkisi olduğu ($r=-0,476^*$) belirlendi.

Beyin dokusunda TAS ile OSI arasında önemli düzeyde negatif korelasyon olduğu ($r=-0,544^{**}$) belirlendi.

Serumda TAS ile OSI arasında önemli düzeyde negatif korelasyon olduğu ($r=0,445^*$) belirlendi. Serumda ve beyinde TOS ile OSI önemli düzeyde pozitif korelasyon ($r=-0,9^{**}$, $0,524^{**}$) belirlendi.

Tablo 4.9. Gruplar arasındaki korelasyon ilişkisi

	S-Sirtuin-1	S-Sestrin-2	B-Sirtuin-1	B-Sestrin-2	BTAS	STAS	BTOS	STOS	BOSI	SOSI
S-Sirtuin-1	1	0,222	-.233	0,285	0,048	0,028	0,120	0,318	0,043	0,272
S-Sestrin-2		1	-0,281	0,337	0,360	0,189	-0,298	-0,153	-0,201	-0,245
B-Sirtuin-1			1	-0,316	-0,476*	-0,236	-0,389	-0,123	0,508*	0,401
B-Sestrin-2				1	0,00	0,058	-0,389	-0,123	-0,256	-0,185
BTAS					1	182	-0,364	0,123	-0,544**	-0,33
STAS						1	-0,271	-0,107	-0,261	-0,445*
BTOS							1	0,250	0,524**	0,399
STOS								1	0,198	0,9**
BOSI									1	0,323
SOSI										1

5. TARTIŞMA

Yaşlanma; fizyolojik, biyolojik, psikolojik ve sosyal olarak sürekli devam eden dinamik bir süreçtir (Dziechciaz and Filip, 2014). Yaşlanma sonucunda canlılarda fonksiyonel kayıplar oluşmaktadır (Koldaş, 2017). İlerleyen yaş birçok hastalık için en önemli risklerden biridir (Schmeer et al., 2019). Yaşam sürecinde canlı genetiği ve hastalık modelleri üzerinde çalışmalar yapılarak yaşlanmayı yavaşlatmak ve sağlıklı yaşam süresini arttırmak hedeflenmektedir (Campisi et al., 2019). Yaşlanma sonucunda canlıların fiziksel özelliklerinde ve metabolik faaliyetlerinde farklılıklar gözükür. Yaşlanmayla beraber yağ dokusu ve vücut kütle indeksinde (BMI) artma görülürken, yağsız vücut kütle indeksi ve kemik mineral yoğunluğunda azalma görülür (JafariNasabian et al., 2017). Vücut kütlesi ve yağ dokusu birikiminin artması yaşa bağlı gelişen hastalıkların gelişme riskinin artmasına ve biyolojik yaşlanmanın hızlanmasına yol açar (Tzanetakou et al., 2012).

Yapılan bir çalışmada dişi ve erkek Wistar ratlarda vücut kütle indeksi, glukoz intoleransı, glisemi, lipid profili, leptin, adinopektin, insülin, kortikosteron, prolaktin, tirod ve triiyodotironin (T3) hormon düzeylerine bakıldı. 2, 6, 9, 12 ve 18 aylık ratlarda yapılan ölçümlerde yaşlı erkek sıçanlarda yaşlı dişi ve genç erkeklerle göre hiperglisemi ve glukoz intoleransı, total kolesterol, trigliserit, serbest yağ asitleri ve T3'ün düzeyinin yüksek olduğu görüldü. Yaşlanmayla beraber enerji ve lipid profilinin değiştiği, yaşlı dişilerin yaşlı erkek bireylere göre daha az etkilendiği bildirildi (Susana et al., 2020). Yaşlı ve genç ratların karşılaştırıldığı başka bir çalışmada ise vücut ağırlığı, serum trigliserit, total kolesterol, leptin ve insülin gibi metabolik sendroma neden olan parametreler takip edildiğinde yaşlı sıçanların serum düzeylerinin önemli düzeyde yükseldiği bildirildi (Ma et al., 2002). Çalışmamızda vücut ağırlık değişiminin Grup 1'in en düşük, Grup 4'ün ise en yüksek olduğu görüldü.

Yaşlanmayla beraber sıçanların karaciğerinde kolesterol birikimi olduğu, beyinde kolesterol sentezinin azaldığı ve beyinde kolesterol'ün uzaklaştırılmasından sorumlu enzim düzeyinin arttığı belirtildi (Nunes et al., 2022). 4 aylık ile 33 aylık farelerin karşılaştırıldığı bir çalışmada ise yaşlı farelerde total kolesterol'ün yüksek olduğu görüldü (Lewin and Timiras, 1985). Benzer bir çalışmada yaşlı sıçanların serum trigliserid, total kolesterol ve hepatik trigliserid düzeylerinin daha yüksek olduğu; serum glisemi seviyesinin ise daha düşük olduğu görüldü (Alves-Fernandes and Jasiulionis, 2019). Çalışmamızda total kolesterol ve trigliserid düzeyinin

yaşlanmayla beraber artış gösterdiği; Grup 2’de en düşük düzeyde, Grup 4’te ise en yüksek düzeyde olduğu belirlendi ($P<0.05$).

Yaşlanmaya bağlı olarak dokularda yağ birikiminin artması ROS üretimini arttıran faktörlerden biridir. 3 aylık ve 15 aylık farelerin lipit bakımından zengin ve fakir diyetle beslenmeleri sonucunda lipit içeriği zengin beslenen grupta lipit peroksidasyonu sonucu ROS miktarında artış göstererek doku ve organların daha hızlı dejenere olduğu bildirildi (Raulina de Jesus Dias et al., 2023). Yaşa bağlı olarak gelişen hiperglisemi ve oksidatif stres sonucu oluşan serbest radikallerin deney hayvanlarında yaşam süresini kısalttığı görüldü (Suji and Sivakami, 2004). Hiperglisemi ile oluşan glukoz otooksidasyonu protein glikasyonuna neden olarak reaktif oksijen (ROS) oluşumunu hızlandırdığı, lipid hidroperoksidasyonuna neden olduğu bildirildi (Osawa, 2018).

Hücre ve dokularda metabolizma yan ürünü olarak süperoksit radikalleri, hidrojen peroksit, hidroksil radikalleri yaygın olarak üretilen reaktif oksijen türlerindendir. Serbest radikallerin birikimi ile oksidatif stres ortaya çıkar. Oksidatif stres yaşlanma sürecini hızlandırarak birçok dejeneratif hastalığı tetiklediği belirtildi (Pizzino et al., 2017). Artan oksidatif stresin; DNA hasarı, mitokondriyal hasar, hücre lipit peroksidasyonunda bozulmaya neden olarak yaşlanmayı hızlandırdığı görüldü (Pyo et al., 2020).

Oksidatif metabolizma ürünlerinin beyinde birikmesiyle bilişsel aktivasyonun düştüğü ve motor nöronların azaldığı görüldü. Yaşlı kemirgenlerin hipokampusünde kolesterol kaybı olduğu, kolesterol katabolizmasının arttığı tespit edildi (Nunes et al., 2022). Genç ve 2 yaşındaki farelerin metabolik fonksiyonlarının karşılaştırıldığı bir çalışmada yaşlı farelerin plazmasındaki yağ asitlerinin arttığı, orta ve uzun zincirli açilkarbitinlerin ise azaldığı ve dokuda trigliserid birikiminin, glukoz yıkımının arttığı ve glukojen ara ürünü olan maltoz ve maltotetraozun da arttığı görüldü. Yaşlanmanın biyolojik belirtecinin glukoz ve yağ metabolizması ile redoks homeostazının bozulması olduğu belirtildi (Houtkoper et al., 2010). Çalışmamızda serum glukoz düzeyinin Grup 3’te en yüksek olduğu ve Grup 1’de ise en düşük düzeyde olduğu belirlendi($P<0.05$).

Oksidatif hasar sonucu oluşan oksitlenmiş proteinlerin yaşla birikimi, reaktif oksijen türlerin de artışına neden olmaktadır. Albuminin oksidasyonunun endotel hasarına neden olduğu, ROS üretimini arttırdığı, okside proteinlerin yaşlanma ile

ilişkili olduğu düşünülmektedir (Luna et al., 2016). 3, 13 ve 23 aylık Sprague-Dawley sıçanlarda yaşa bağlı olarak beyin dokularında alkalen proteaz aktivitesinin azaldığı ve oksitlenmiş proteinin arttığı bildirildi (Agarwal and Sohal, 1994). 3.5, 7, 12, 17, 33 aylık Sprague-Dawley sıçanların karaciğer, böbrek, kalp ve iskelet kasında yaşam süresi ve biyolojik metabolizmalarında döngü hızı takip edildi. Yaşlanmayla beraber beyinde pentoz yoluyla glukoz kullanımında azalma, protein sentezinde azalma ve nükleik asit sentezi için sağlanan riboz'un üretiminin düştüğü görüldü (Neidermüller, 1986). Çalışmamızda serumda total proteinin yaşlanmayla beraber arttığı görüldü. Total protein ve globulin miktarının Grup 1'de en düşük olduğu, Grup 2 de artmaya başladığı, Grup 4 ise en yüksek olduğu belirlendi. ALB/GLO oranı ise Grup 1 en yüksek olduğu yaş ilerledikçe azalmaya başladığı belirlendi ($P<0.05$).

Alanin aminotransferaz (ALT) birçok organ ve dokuda bulunan alanin ve alfa ketoglutarattan piruvat ve glutamat sentezlenen geri dönüşümsüz transaminasyonu katalizleyen, karaciğer fonksiyon testleri için yaygın olarak kullanılan karaciğer enzimidir (Smith, 2005; Nelson and Cox, 2004). Preuss ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 21 yaşından 64 yaşına kadar olan süreçte ALT düzeyinin arttığı görüldü. Yaşlanmayla beraber dolaşımdaki ALT enzim aktivitesinin artmasının metabolik sendrom, vücut kütlesi, bel çevresi, trigliserit ve açlık insülin seviyesi ile ilişkili olduğu görüldü. Metabolik sendrom ve tip2 diyabetin yaşam süresini kısalttığı, ALT'nin yaşam süresini uzatmak için takip edilmesi gerektiği düşünüldü (Preuss et al., 2018). Çalışmamızda ALT enzim aktivitesinin Grup 1'de en düşük olduğu Grup 4 ise en yüksek olduğu ve yaşlanma ile düzeyinin arttığı görüldü ($P>0.05$).

Aspartat transferaz karaciğer hücrelerinin sitoplazma mitokondrilerinde bulunan ve protein sentezinde önemli rol oynayan transferaz enzimdir (Ersoy, 2012). Yaşlanan ratlarda AST enzim aktivitesinin yetişkinliğe kadar düzenli bir artış eğilimi gösterdiği ve yaşlanmayla beraber sabit kaldığı bildirildi (Sharma and Patnaik, 1987). Çalışmamızda AST enzim aktivitesinin Grup 1'de en düşük olduğu yaşlanma ile AST enzim aktivitesinin arttığı ama bu artışın Grup 2, 3 ve 4 arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlendi ($P>0.05$).

Ürik asit, hidrofilik ortamda serbest radikallerin hücre içinden uzaklaştırılmasında rol oynar. Ürik asit, reaktif oksijen türlerinin hücre içinde birikmesini ve hücre-doku işlev bozukluğunun önlenmesinde etkilidir. Yaşlı erişkinlerin serumunda ürik asit seviyesinin düştüğü bildirildi (Guo, 2021). Pürin metabolizmasının son ürünü olan ürik asitin oksidatif stresi arttırdığı öne sürüldü (Siino

et al., 2022). 3 aylık farelerin doku ve plazmalarındaki ürik asit düzeyi 30 aylığa kadar ölçüldüğünde 12 aya kadar akciğer ve iskelet kasında artış gösterdiği, 30 aylığa kadar ise sabit kaldığı bildirildi. Farelerin çoğu dokularında ürik asit seviyesinin arttığı görüldü (Iwama, 2012). Ürik asitin peroksinitrik ve hidroksil radikalini temizleyebildiği bildirildi (Cutler et al., 2019). Sun ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada serum ürik asit düzeyinin erkeklerde yaşlanmayla birlikte azaldığı, kadınlarda ise arttığı görüldü (Geng et al., 2022). Fakat Boccordi ve arkadaşlarının yaptığı kohort bir çalışmada serum ürik asit düzeyinin yaşlanma ile ilişkili olmadığı belirtildi (Boccordi et al., 2020). Bizim çalışmamızda ise ürik asit düzeyinin Grup 1’de en yüksek olduğu, diğer gruplarda düşmeye başladığı belirlendi ($P<0.05$).

Reaktif oksijenler cilt bariyerindeki matriks metalloproteinazların artışına neden olur, dermiste kolajen parçalanması ile cildin yaşlanmasını hızlandırırlar (Shin et al., 2019; Shin et al., 2020). Yaşlanmayla beraber metabolik reaksiyonlar sonucu oluşan ROS’ların üretiminde ve oksitativ hasarda artış olduğu hücresel yanıtta ise azalma olduğu görüldü (Susana et al., 2020). Yapılan çalışmalarda yaşlanmayla birlikte ratların metabolik faaliyetlerinin düştüğü ve antioksidan savunma sisteminin bozulduğu görüldü. Yaşlanan ratların plazmalarındaki immünomodülatör faktörler incelendiğinde bağışıklık sisteminin zayıfladığı ve oksitativ hasarın arttığı, oksidan/antioksidan dengenin bozulduğu görüldü (Palaniyappan and Alphonse, 2011).

Antioksidanların diyetle takviye olarak dâhil edildiği bir çalışmada yaşam süresi üzerinde etkili olduğu düşünüldü. Lipoik asit takviyesinin oksitativ stresi engellediği, glutatyon düzeyini arttırdığı, lipid peroksidasyonu sonucu oluşan ürünleri azalttığı, bunun tedavi yöntemi olarak kullanıldığında senesens-hızlandırılmış pron fare 8 (SAMP8) türü farelerde ömrü kısalttığı görüldü (Sadowska-Bartosz and Bartosz, 2014). Başka bir çalışmada ise 9 ay boyunca antioksidan takviyesi yapılan tarla farelerinin yaşam süresinin kısaldığı bildirildi (Selman et al., 2013). Redoks hemostazının bozulması biyolojik yaşlanmayı hızlandırmaktadır. Genç ve yaşlı sıçanlara koenzim Q verilerek sitokin seviyelerinin ölçüldüğü bir çalışmada antioksidan takviyesinin plazma ve plazma membranında redoks dengesini koruduğu ve yaşlanma karşıtı tedavide kullanılabileceği belirtildi (Srivastava et al., 2022). Fare ve balıkların karaciğer ile böbrek hücreleri üzerinde yapılan bir çalışmada ise yaşlanmanın ana sebebinin serbest radikal hasar teorisine dayandığı, antioksidan aktivitesini arttırmak ROS seviyesini azalttığı, protein oksidasyonu ve lipid peroksidasyonunu baskılayarak yaşlanmayı yavaşlattığı görüldü (Song et al., 2022). 3,

6, 12, 24 aylık dişi wistar farelerin beyin dokusunda oksidatif stresin etkisi incelendiğinde 24 aylık ratlarda daha yüksek süperoksit dismutaz aktivitesi görüldü. Yaşlanma sürecinin 24 aylık ratlarda en yüksek oksidatif hasara neden olduğu gözlemlendi (Heemann et al., 2017). Benzer bir çalışmada ise yaşlı ratlarda oksidatif stres sonucu doku ve organlarda fonksiyon kaybı olduğu ve nitrit ile nitrat seviyelerinin arttığı görüldü (Alabarse, 2011). 5 haftalık ve 9 aylık sıçanlarda antioksidan ve redoks enzim aktivitesi karşılaştırıldığında yaşlı sıçanların beyinlerinde glutatyon peroksidaz aktivitesi daha yüksek olduğu görüldü (Kim et al., 2002). Beyin dokusunda glutatyon sisteminin bozulmasının nörodejenerasyon ve beyinin yaşlanmasıyla ilgili olduğu belirtildi. Çalışmamızda yaş artmaya başladıkça serumda ve beyin dokusunda TAS düzeyinin değiştiği, 1. Grupta (1,5 ay) en yüksek düzeyde olduğu belirlendi. Serumda TOS ve OSI'nin 3. grupta en düşük olduğu, 4. grupta ise en yüksek olduğu belirlendi ($P<0.05$). Beyin dokusunda TOS düzeyinin Grup1'de en düşük düzeyde olduğu yaş ilerledikçe artmaya başladığı ve Grup 4'te en yüksek olduğu belirlendi ($P>0.05$).

Sirtuinler memeli canlılarda metabolik yolları düzenler ve sirtuin eksikliği nörofizyolojik kayıplara bağlı beyin yaşlanmasının nedenleri arasında gösterilmektedir (Kadir ve Enver, 2017). Sirtuin-1'in yağ ve kolesterol sentezini baskıladığı, karaciğer hücresindeki lipid homeostazını kontrol etmekte görevli önemli bir protein olduğu belirtilmektedir. Farelerin hipotalamusunda Sirtuin1 düzeyinin yüksek olması fiziksel aktiveyi ve vücut ısısını arttırdığı, sirtuin kaybının ise ghrelin düzeyini etkileyerek obeziteye yatkınlığına neden olduğu bildirildi (Chang and Guarte, 2014). Sirtuinler mitokondrial fonksiyonları onararak mitofajiyi önlediği, süperoksit nedeniyle oluşan inflamasyonu azaltarak hücre yaşam süresini uzattığı belirtildi (Mihra et al., 2022). Farelerde yaşlanmayla beraber NAD⁺ düzeylerinin düştüğü, buna pankreas beta hücrelerindeki Sirt1 üretiminin azalmasının neden olduğu ifade edildi. Genç farelerde (18-24 ay) glukoz ile uyarılan insulin seviyesi yüksek seyrederken yaşlandıklarında NAD⁺ öncüsü olan nikotinamid mono nükleotid (NMN) takviyesinin NAD⁺ seviyelerini düzenlediği ve yaşa bağlı oluşan diyabeti önlediği görüldü (Chang and Guarte, 2014). Farelerde yapılan bir çalışmada Sirt1'in pankreasta glukoz ile uyarılan insülini pozitif yönde etkilediği görüldü (Moynihan et al., 2005). Başka bir çalışmada ise Sirtuin1'in oksidatif strese pankreastaki β -hücrelerinin ömrünü uzattığı görüldü (Kitamura et al., 2005). Sirtuinlerin farelerin uzun süreli açlık durumunda yağ dokusunda yağ depolanmasına neden olarak yaşam sürelerini uzattığı bildirildi (Longo and Finch, 2003). Sirt proteinlerinin vasküler yaşlanma olarak adlandırılan endotel ve

düz kas hücrelerinin yaşlanmasına karşı koruyucu rol oynadığı belirtildi (Kida and Goligorsky, 2016). Sirt1 proteini genel olarak nöronların çekirdeğinde bulunur ve DNA onarımında önemli rol oynarlar. Yaşlanmayla beraber Sirt1 protein düzeyinin azaldığı bildirildi. Braidı ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada yaşlanan sıçanların beyinin farklı bölgelerinde (frontal, temporal, oksipital lop ve hipokampusta) Sirt-1 ekspresyonunda artış olduğu bildirildi. 3, 12 ve 24. aylarda yapılan ölçümlerde 12 ve 24. aylar arasında beyinin tüm bölgelerinde Sirt1 protein düzeyinin azaldığı görüldü (Braidı et al., 2015). Çalışmamızda tüm beyin dokusunda Sirtuin-1 düzeyinin Grup1'den Grup 3'e doğru yaş ilerledikçe artmaya başladığı bu artışın önemli olduğu ($P<0.05$) ve Grup 4 ise Grup 3'e göre azalmaya başladığı belirlendi ($P<0.05$). Serumda Sirtuin-1 düzeyi Grup 2'de Grup 1'e göre artış olduğu ($P<0.05$) en yüksek Grup 2'de olduğu Grup 3 itibariyle azalmaya başladığı Grup 4 en düşük olduğu görüldü ($P<0.05$).

Sestrinler yüksek oranda korunmuş strese duyarlı proteinlerdir, sağlıklı insanlarda sestrin ekspresyonu düşük seyrederken yaşlanma, DNA hasarı ve oksidatif stres durumlarında sestrin düzeyi artarak metabolik homeostazın korunmasında görev oynadığı belirtildi (Baran, 2022). Sestrinler hücreleri ve dokuları oksidatif hasara karşı korur ve antioksidan savunmada önemli rol oynar. Birçok hayvan deneyinde sestrinlerin tükenmesi yağ birikimi, insülin direnci, kas rejenerasyonu, kardiyak ve mitokondriyal fonksiyon bozukluğu, tümör oluşumu ile ilişkili olduğu belirtildi (Ho et al., 2016; Lee et al., 2012). Beyinde yüksek enerjili sinyalizasyonun aktif olarak gerçekleşmesi sonucu reaktif ürünlerin ve oksidatif stresin artmasına neden olur (Chen et al., 2019; Hee Lee et al., 2012). Sestrin2 bazı genlerin ekspresyonunu dolaylı olarak düzenleyerek oksidatif stresi azaltır, hücre homeostazının korunmasında, otofaji, endoplazmik redikulum stresi ve apoptoz gibi hücre sel sinyal yollarını yeniden düzenlemede önemli rol oynar (Ala and Eftekhari, 2021). Yaşlı ve genç ratların kas yenilenme ve doku onarımının yaşlanmayla azaldığı, sestrin kaybının oksidatif stres metabolizmasıyla ilgili genlerin artışının regülasyona neden olduğu görüldü. Genç ratlarda sestrin eksikliğinin orta yaşlara gelindiğinde doku onarımı ve kendini yenileme hızını azalttığı görüldü (Yang et al., 2021). 4 aylık genç fareler ile 24 aylık yaşlı farelerin iskelet kasında Sestrin1 proteini seviyeleri karşılaştırıldığında yaşlı farelerde sestrinlerin aşırı ekspresyonu ile mTORC1 aktivitesinin artarak kas atrofisine karşı koruma sağladığı görüldü. Sestrinlerin büyüme ile ilişkili mTOR kompleksleri ile denge kurarak homeostatik otofajiyi aktive ederek kas kütleini koruma sağladığı bildirildi (Segales et al., 2020). Sestrin-2 ile yapılan çalışmalarda

farelerin beyin dokusunda oksidatif stres sonucu oluşan ROS'u baskılayarak nöral hücre ölümü ve yaşlanma hızını azalttığı görüldü. Stres ve metabolik hastalıklar ile hızlı yaşlanmanın artması sonucunda serum sestrin düzeyinin düştüğü görüldü (Ro et al., 2020). 4 aylık genç fareler ve 24 aylık yaşlı farelerin karşılaştırıldığı bir çalışmada yaşlı farelerin iskelet kasında mTORC1 aktivitesinin arttığı ve sestrin proteinlerinin ekspresyonunun azaldığı görüldü. Kas ve kuvvet kaybının yaşlanmayı hızlandırdığı, yaşam süresiyle ilişkili olduğu düşünüldü (Segalés et al., 2020). Sestrin-2 eksikliğinin farelerin kalbinde yaşlanma nedeni olup olmadığının ortaya konulması için yaşlı sıçanların kalp dokusu ile genç sıçanların kalp dokusunun incelendiği çalışmada yaşlı sıçanlarda miyokardiyal kompaktın arttığı, proinflatuar sinyalizasyon şiddetinin arttığı, kalbin I/R stresine karşı hassaslığının arttığı bildirildi. Sestrin-2 eksikliğinin kalpte, hücre içinde ROS birikimine neden olarak miyokardiyal hasara neden olduğunu belirtildi (Ren et al., 2020). Fare ve insan derisi üzerinde sestrinlerin onkolojik rolü araştırıldığı bir çalışmada, sestrin2'nin takviyesi sağlanarak artan 5'-adenozin monofosfat ile aktiveleştirilen protein (AMP) kinaz aktivasyonunu ve hücre proliferasyonunu azaltarak hücre sağkalımını desteklediği görüldü (Zhou et al., 2001). Farelerin böbreklerinde Sestrin-2 eksikliğinin ROS üretimini ve kan basıncını arttırdığı bildirildi (Ammar Zahid et al., 2023). Oksidatif stresin insülin direncinin nedenlerinden biri olduğu düşünülmektedir. Oksidatif stres sonucu polikistik over tanısı konulmuş olan kadınların serumda sestrin seviyesinin düştüğü, yüksek yağ asidinin hiperglisemiye yol açarak ROS üretimini arttırdığı belirtildi (Bestel et al., 2022). Diyabetin redoks dengesizliğine bağlı gelişen diyabetik periferik nöropati ile Sestrin2 proteinin ilişkisinin incelendiği bir çalışmada ise tip2 diyabetes mellitus tanısı konmuş 96 birey ile 39 sağlıklı birey karşılaştırıldı. Diyabetik nöropatili bireylerde Sestrin-2 seviyelerinin düşük olduğu, Sestrin-2 ile yüksek yoğunluklu lipoprotein ilişkili olduğu, Sestrin2'nin AMPK/mTORC1 yolunun aktivasyonu sonucu diyabetik böbrek hastalığıyla ilişkili olduğu belirtildi. Düşük Sestrin2 düzeyinin kanser ve nörolojik hastalıkları indükleyerek risk faktörü oluşturduğu bildirildi (Mao et al., 2021). Başka bir çalışmada ise Sestrin eksikliğinin farelerde insülin sinyalini azaltarak kan şekeri homeostazını koruduğu belirtildi (Kim et al., 2021). Çalışmamızda serumda Sestrin-2 düzeyinin Grup 1 de en yüksek düzeyde olduğu yaş ilerledikçe azalmaya başladığı Grup 4'te ise en düşük olduğu ama bu farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlendi ($P>0.05$). Beyin dokusunda Sestrin-2 düzeyinin Grup 2'de en yüksek olduğu, Grup 3 ve Grup 4'te tekrar azalmaya

başladığını ama gruplar arasındaki bu farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlendi ($P>0.05$).



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yaşlanma sonucunda, strese uyum cevabında azalma, hastalık risklerinin artışı ile birlikte vücut fonksiyonlarında geri dönüşümsüz kayıplar olur. Yaşlanmayla beraber metabolizma ve detoksifikasyon hızı düşer, vücutta serbest radikaller artar, hücre yenilenme hızı yavaşlar, hücre ölümü artarak ölüm riski artmaya başlar (Can ve Aslan, 2014; Şekeroğlu, 2009). Sestrin2 ve Sirtuin1 proteinlerinin mTOR aktivasyonunu düzenlediği, ROS'u azalttığı, antioksidan savunmada önemli rol oynadığı ve biyokimyasal mekanizmalara aracılık ederek yaşlanma karşıtı oldukları düşünülmektedir. Sestrinler ve sirtuinler, oksidatif stresin etkilerini ortadan kaldırarak hücre ve dokuları yaşlanmaya karşı koruyarak anti-aging etki gösterdiği bildirilmektedir.

Çalışmamızda farklı yaş grubundaki ratların serumda ve tüm beyin dokusundaki total antioksidan ve oksidant durum ile Sirtuin-1 ve Sestrin-2 düzeyleri ile bazı biyokimyasal parametre (serum total protein, albumin, globulin, albumin/globulin oranı, AST, ALT, toplam kolesterol, total trigliserid, ürik asit ve glukoz) düzeyleri belirlenerek yaşlanmayla ilişkisinin araştırılması amaçlandı.

Çalışma sonucunda;

- Ratların vücut ağırlık düzeyinin yaş ilerledikçe arttığı bu artışın Grup 4 en fazla olduğu görüldü.
- Grup 1'de total protein, globülin ve trigliserit düzeyinin en düşük olduğu;
- En yaşlı rat grubumuz olan Grup 4'te total protein, globülin ve total kolesterol düzeyinin en yüksek olduğu belirlendi.
- Serumda ALB/GLO oranının yaşlanmayla beraber azaldığı ve Grup 1'de en yüksek olduğu belirlendi ($P<0.05$).
- Serum ve tüm beyin dokusunda TAS düzeyinin 1. grupta (1,5 ay) en yüksek düzeyde olduğu yaş artıkça azalmaya başladığı belirlendi.
- Serumda TOS ve OSI'nin 3. grupta en düşük olduğu, 4. grupta ise en yüksek olduğu belirlendi ($P<0.05$).
- Beyin dokusunda TOS düzeyinin Grup 1 en düşük olduğu yaş ilerledikçe artmaya başladığı ve Grup 4 ise en yüksek olduğu belirlendi ($P>0.05$).
- Grup1'den Grup 3'e doğru yaş ilerledikçe beyin dokusundaki Sirtuin-1 ve Sestrin-2 düzeyinin artmaya başladığı bu artışın önemli olduğu ($P<0.05$),

Grup 4'te ise Grup 3'e göre azalmaya başladığı belirlendi ($P<0.05$).

Yaptığımız çalışmada Sestrin-2 ve Sirtuin-1 proteinlerinin yaş ilerledikçe azalmaya başladığı ve yaşlanmayı etkileyebileceği görüldü. Antioksidant ile Sestrin-2 ve Sirtuin-2 protein takviyesinin erken yaşlanmayı önleyebileceği, yaşlanmaya bağlı oluşan birçok kronik hastalığa karşı koruyucu olabileceği ancak bu konuda yapılacak daha kapsamlı ve daha uzun yaş grubundaki ratlarında dâhil edildiği deneysel çalışmalara ihtiyaç olduğu kanaatine varıldı.



KAYNAKLAR

- Agarwal, S., Sohal R. S. (1994). Aging and proteolysis of oxidized proteins, *Arch Biochem Biophys.* 15, 309(1). 24-8.
- Ajami, M., Pazoki-Toroudi, H., Amani, H., Nabavi S. F., Örgülü, N., Vacca, R. A., Atanasov, A. G., Mocan, A., Nabavi, S. M. (2017). Therapeutic role of sirtuins in neurodegenerative disease and their modulation by polyphenols. *Neuroscience and biobehavioral review.* 73, 39-47.
- Ala, M. and Eftekhari, S. P. (2021). Target Sestrin2 to Rescue the Damaged Organ, *Oxid Med Cell Longev.* 2, 8790369.
- Alabarse, P. (2011) Oxidative stress in the kidney of reproductive male rats during aging, *Experimental Gerontology.* 46, 241–248.
- Alves-Fernandes D. K. and Jasiulionis, M. G. (2019). The Role of SIRT1 on DNA Damage Response and Epigenetic Alterations in Cancer, *Int. J. Mol. Sci.* 20(13), 3153.
- Ammar-Zahid, M., Abdelsalam, S.S., Raiq, H. Parray, A., Korashy, H. M., Zeydan, E., Elrayess, M., and Agouni, A. (2023). Sestrin2 as a Protective Shield against Cardiovascular Disease. *Int J Mol Sci.* 2, 24(5), 4880.
- Ardahan, M. (2010). *Yaşlılık ve Huzurevi, Aile ve Toplum.* Yıl: 11 Cilt: 5 Sayı: 20 Ocak-Şubat-Mart.
- Aslan, M., ve Hocaoglu, Ç. (2017). Journal of Duzce University Health Sciences Institute. *J DU Health Sci.* 7(1). 53-62.
- Baldissera, M. D., Souza, C. F., Grando, T. H., Cossetin, L. F., Sagrillo, M. R., Nascimento, K. S da Silva, A., Machado, A. K., Da Cruz, I. B. M., Stefani, L. M., Klein, B., Wagner, R., Monteiro, S. G. (2017). Antihyperglycemic, antioxidant activities of tucumã oil (*Astrocaryum vulgare*) in alloxan-induced diabetic mice, and identification of fatty acid profile by gas chromatograph: New natural source to treat hyperglycemia. *Biomed Pharmacoth.* 270. 51-8.
- Baran, A.H. (2022). Nörodejeneratif Hastalıklarda Umut Verici Bir Terapötik Hedef: Sestrin-2, *Sağlık Akademisi Kastamonu.* 7(2). 352-36.
- Barham, D. ve Trinder, P. (1972). Oksidaz Sistemi ile Kan Şekerinin Belirlenmesi için Geliştirilmiş Renk Reaktifi. *Analist.* 97, 142-145.
- Bayram, A., ve İğci, M. (2013). Sirtuin Genleri ve İşlevleri, *Fırat Tıp Derg/Fırat Med J.* 18(3). 136-140.
- Beğ, T., and Yavuzer, H. (2012). Yaşlılık ve Yaşlılık Epidemiyolojisi, *Klinik Gelişim.* 25. 1-3.
- Bergmeyer, H., Scheibe, P., Wahlefeld, A. (1978). Optimization of methods for aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase, *Clinchem.* 24, 1, 58.
- Bestel, A., Elmas, B., Günkaya, O. S., Bestel, M., Yalçın Bahat, P. (2022). Could sestrin protein in serum be a new marker of oxidative stress in patients with polycystic ovary syndrome?, *Gynecol Endocrinol.* 38(12). 1109-1113.
- Bielach-Bazyluk, A., Zbroch, E., Mysliwiec, H., Rydzewska-Rosolowska, A., Kakareko, K., Flisiak, I., Hryszko, T. (2021). Sirtuin 1 and Skin: Implications in Intrinsic and Extrinsic Aging—A Systematic Review, *Mechanisms of Aging and Therapeutic Approaches to Target Age-Associated Chronic Diseases.* 10(4), 813.
- Boccardi, V., Carino, S., Marinelli, E. Lapenna, M., Kahireni, G., Bianco, A. R., Cecchetti, R., Rugiero, C., Mecocci, P. (2021). Uric acid and late-onset Alzheimer's disease: results from the ReGAL 2.0 project. *Aging Clin Exp Res.* 33(2):361-366.

- Braidy, N., Poljak, A., Grant, R., Jayasena, T., Mansur, H., Chan-Ling, T., Smythe, G., Sachdev, P., Guillemin, G. J. (2015). Differential expression of sirtuins in the aging rat brain, *Front Cell Neurosci.* 9: 167.
- Budanov, A. V. (2015). SESTRINs regulate mTORC1 via RAGs: The riddle of GATOR, *Molecular & Cellular Oncology.* 23, 2(3). 997113.
- Campisi, J., Kapahi, P., Lithgow, G. J., Melov, S., Newman, J. S., and Verdin, E. (2019). From discoveries in ageing research to therapeutics for healthy ageing, *Nature.* 571(7764): 183–192.
- Can, M. İ., Aslan, A. (2014). Molecular basis of aging, *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi.* 30(2):107-112.
- Cankuratan, M. (2005). Yaşlılık ve Yaşlanma Mekanizmaları, Antiaging ve Yaşam Tarzı Değişiklikleri, 7. Ulusal İç Hastalıkları Kongresi, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Geriatri Ünitesi, Ankara.
- Chang, H-C., and Guarte, L. (2014). SIRT1 and other sirtuins in Metabolism, *Trends Endocrinol Metab.* 25(3), 138–145.
- Che, X., Chai, J., Fang, Y., Zhang, W., Zu, A., Li, L., Sun, S. (2021). Sestrin2 in hypoxia and hypoxia-related diseases, *Redox Rep.* 26(1), 111–116.
- Chen, S-D., Yang, J-L., Lin, T-K., Yang, D-I. (2019). Emerging Roles of Sestrins in Neurodegenerative Diseases: Counteracting Oxidative Stress and Beyond, *J Clin Med.* Jul. 8(7), 1001.
- Cutler, R. G., Camandola, S., Feldman, N. Seon Yoon, J., Haran, J. B., Arguelles, S., and Mattson, M. P. (2019). Uric acid enhances longevity and endurance and protects the brain against ischemia, *Neurobiol Aging.* 75, 159–168.
- Çelik, H., Karahan, H. and Kellicen Uğur, P. (2020). Effect of atorvastatin on Aβ1-42 -induced alteration of SESN2, SIRT1, LC3II and TPP1 protein expressions in neuronal cell cultures, *J Pharm Pharmacol.* 72(3). 424-436.
- De la Fuente, M. (2002). Effects of antioxidants on immune system ageing, *Eur J Clin Nutr.* 56(3), 5-8.
- Demyanenko, S., Gantsgorn, E., Rodkin, S., Sharifulina, S. (2020). Localization and Expression of Sirtuins 1, 2, 6 and Plasticity-Related Proteins in the Recovery Period after a Photothrombotic Stroke in Mice, *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases.* Volume 29, Issue 10, 105152.
- Dziechciaz, M., and Filip, R. (2014). Biological psychological and social determinants of old age: bio-psycho-social aspects of human aging, *Ann Agric Environ Med.* 21(4), 835-8.
- Erel, O. (2005). A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin biochem.* 38:1103-1111.
- Erel O. (2004). A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin biochem.* 37, 277-285.
- Ergün, Ö. G., Uğuz, Ş., Bozdemir, N., Saatçi, E., Akpınar, E. (2001). Yaşlılık, depresyon ve serum kolesterol düzeyi arasındaki ilişki. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi.* 10, 419-425.
- Ergün, U. G. Ö., Bozdemir, N., Uğuz, Ş., Güzel, R., Burgut, R., Akpınar, E. (2003). Adana huzurevinde yaşayan yaşlılar ile aile hekimliği polikliniğine başvuran yaşlıların medikososyal özelliklerinin değerlendirilmesi, *Geriatri.* 6, 89-94.
- Ersoy, O. (2012). Karaciğer enzim yüksekliğinin değerlendirilmesi. *Ankara Medical Journal.* 12(3), 129- 135.
- Fossati, P., Prencipe, L., and Berti, G. (1980). Use of 3,5-dichloro-

- 2hydroxybenenesulfonicacid/4 aminophenazone chromogenic system in direct enzymic asay of uric acid in serum and urine. *Cli Chem.* (26), 227-231.
- Geng, R., Zhang, Y., Liu, M. Deng, S., Ding, J., Zhong, H. and Tu, Q. (2022). Elevated serum uric acid is associated with cognitive improvement in older American adults: A large, population-based-analysis of the NHANES database, *Front Aging Neurosci.* 8, 14, 1024415.
- Grant, G. H., Kachmar, J. F. (1976). The proteins of body fluids. *Fund Clin Chemistry.* (1). 4.
- Guo, S. M., Liu, Y-T., He, S. R., Wu, M-S., Tseng, W-T., Wu, R-C., Wu, I-C. (2021). Differential relationship of uric acid to mortality and clinical biomarkers of aging according to grip strength in older adults: a cohort study, *Aging (Albany NY).* 4, 13(7). 10555-10583.
- Haidurov, A., Budanov, V. A. (2020). Sestrin family – the stem controlling healthy ageing, *Mechanisms of Ageing and Development*, Volume 192, 111379.
- Hamamcıoğlu, A. C. (2017). Diyabette oksidatif stres ve antioksidanların rolü. *Türk Diyabet Obezite Derg.* 1(1). 1-7.
- Heemann, M. F., Silva, A. C. A., Salomon, T. B., Putti, J. S., Engers, V. K., Hackenhaar, F. S. and Benfato, M. S. (2017). Redox changes in the brains of reproductive female rats during aging, *Experimental Gerontology.* Volume 87, Part A. 8-15.
- Hernandez-Segura, A., Nehme, C., and Demaria, M. (2018). Hallmarks of Cellular Senescence. *Trends Cell Biol.* Volume 28(6), 01. 436-453.
- Ho, A., Cho, C-S., Namkoong, S., Cho, U-S. and Lee, J. H. (2016). Biochemical Basis Underlying Sestrins' Physiological Activities, *Trends Biochem Sci.* 41(7). 621–632.
- Houtkoper, R. H, Canto, C., Gezginler, R. J., and Auwerx, J. (2010). The secret life of NAD⁺: an old metabolite controlling new metabolic signaling pathways, *Endocr Rev.* 31(2). 194-223.
- Imai, S-İ., and Guarente, L. (2014). NAD⁺ and Sirtuins in Aging and Disease, *Trends Cell Biol.* 24(8). 464–471.
- Iwama, M., Kondo, Y., Shimokado, K., Maruyama, N., Ishigami, A., (2012). Uric acid levels in tissues and plasma of mice during aging, *Biol Pharm Bull.* 35(8). 1367-70.
- JafariNasabian, P., Inglis, J. E., Reilly, W., Kelly, O. J., and Ilich, J. Z. (2017). Aging human body: Changes in bone, muscle and body fat with consequent changes in nutrient intake. *Journal of Endocrinology.* 234. 37–51.
- Kadir, M. İ., and Enver, S. (2017). Sirtuins in Brain Aging and Neurological Disorders, *Crit Rev Eukaryot Gene Expr.* 27(4). 321-329.
- Karabulut, H., and Gülay, M. Ş. (2016). Serbest radikaller. *MAE Vet Fak Derg.* 4(1). 50-9.
- Karagül, H., Altıntaş, A., and Fidancı, U. R. (2000).” Klinik biyokimya”., Medisarı yayınevi, 1.baskı, Ankara.
- Karan, M. A., and Tufan, F. (2010). Yaşlanma Mekanizmaları, *Ege Journal of Medicine.* 49(3) 11-17.
- Kerem, M., Meriç, A., Kırdı, N. Cavlak, U. (2001). Ev ortamında ve huzurevinde yaşayan yaşlıların değişik yönlerden değerlendirilmesi. *Geriatrı,* 4(3). 106-12.
- Kida, Y., and Goligorsky, M. S. (2016). Sirtuins, cell senescence, and vascular aging, *Can J Cardiol.* 32(5). 634–641.
- Kim, H-G., Hong, S. M., Kim, S. J., Park, H. J., Jung, H-I., Lee, Y-Y., Ay, J-S., Lim, H. W., Parkı, E. H., Lim, C. J. (2003). Age-related changes in the activity of antioxidant and redox enzymes in rats, *Mol Cells.* 31, 16(3). 278-84.

- Kim, H-G., Hong, S. M., Kim, S. J., Park, H. J., Jung, H-I., Lee, Y-Y., Ay, J-S., Lim, H. W., Park₁, E. H., Lim, C. J. (2003). Age-related changes in the activity of antioxidant and redox enzymes in rats, *Mol Cells*. 31, 16(3). 278-84.
- Kim, J. W., No, J. K., Ikeno, Y., Pal Yu, B., Choi, J. S., Yokozawa, T., Chung H. Y. (2002). Age-related changes in redox status of rat serum. *Arch Gerontol Geriat*. 34. 9-17.
- Kim, M., Kowalsky, A. H., and Hee Lee, J. (2021). Sestrins in Physiological Stress Responses, *Annu Rev Physiol*. 10, 83. 381–403.
- Kishimoto, Y., Kondo, K., and Momiyama, Y. (2021). The Protective Role of Sestrin2 in Atherosclerotic and Cardiac Diseases, *International Journal of Molecular Sciences*. 22(3). 1200.
- Kitamura, Y. I., Kitamura, T., Kruse, J. P., Kruse, J-P., Raum, J. C., Stein, R., Gu, W., and Accili, D. (2005). FoxO1 protects against pancreatic β cell failure through NeuroD and MafA induction. *Cell Metab*. 2. 153–163.
- Koldaş, L. Z. (2017). What is aging and cardiovascular aging?, *Turk Kardiyol Dern Ars*. 45. 1-4.
- Lee, J. H., Budanov, A. V., and Karin, M. (2013). Sestrins orchestrate cellular metabolism to attenuate aging. *Cell Metab*. 18(6). 792–801.
- Lee, S-H., Lee, J-H., Lee, H-Y., Min, K- J. (2019). Sirtuin signaling in cellular senescence and aging, *BMB Rep*. 52(1). 24-34.
- Lee, J. H., Budanov, A. V., Talukdar, S. Park, E. J., Park, H. L., Park, H-W., Bandyopadhyay, G., Li, N., Aghajan, M., Jang, I., Wolfe, A. M., Perkins, G. A., Ellisman, M. H., Bier, E., Scadeng, M., Foretz, M., Viollet, B., Olefsky, J., Karin, M. (2012). Maintenance of metabolic homeostasis by Sestrin 2 and 3, *Cell Metab*. 5, 16(3). 311–321.
- Lewin, M. B., and Timiras, P. S. (1984). Lipid changes with aging in cardiac mitochondrial membranes, *Mech Ageing Dev*. 24(3). 343-51.
- Li, Y., Wu, J., Yu, S. Zhu, J., Zhou, Y., Wang, P., Li, L., and Zhao, Y. (2020). Sestrin2 promotes angiogenesis to alleviate brain injury by activating Nrf2 through regulating the interaction between p62 and Keap1 following photothrombotic stroke in rats, *Brain Research*. Volume 1745, (15), 146948.
- Liguori, I., Russo, G., Curcio, F., Bulli, G., Aran, L., Della-Morte, D., Gargiulo, G., Testa, G., Cacciatore, F., Bonaduce, D., and Abete, P. (2018). Oxidative stress, aging, and diseases, *Clin Interv Aging*. 26,13. 757-772.
- Longo, V. D., and Finch, C. E. (2003). Evolutionary medicine: from dwarf model systems to healthy centenarians?, *Science*. 28, 299(5611). 1342-1346.
- Luna, C., Alique, M., Naval Moral, E. Noci, M-V., Bohorquez-Magro, L., Carracedo, J., and Ramirez, R. (2016). Aging-associated oxidized albumin promotes cellular senescence and endothelial damage, *Clin Interv Aging*. 11: 225–236.
- Ma, X. H., Müzedar, R., Yang, X. M., Gabriely, I., Berger, R., Barzilai, N. (2002). Aging Is Associated With Resistance to Effects of Leptin on Fat Distribution and Insulin Action. *The Journals of Gerontology: Series A*. Volume 57, 6(1). 225–231.
- Mao, E-W., Cheng, X-B., Li, W-C., Kan, C-X., Huang, N., Wang, H-S., Hou, N-N., and Sun, X-D. (2021). Association between serum Sestrin2 level and diabetic peripheral neuropathy in type 2 diabetic patients, *World J Clin Cases*. 26; 9(36). 11156–11164.
- Moynihán, K. A., Grimm, A. A., Plueger, M. M., Bernal-Mizrachi, E., Ford, E., Cras-Meneur, C., Permutt, M. A., and Imai, S-I. (2005). Increased dosage of mammalian Sir2 in pancreatic β cells enhances glucose-stimulated insulin secretion in mice. *Cell Metab*. 2. 105–117.

- Murshid, A., Eguchi, T., Calderwood, S. K. (2013). Stress Proteins in Aging and Life Span, *Int J Hyperthermia*. 29(5). 442–447.
- Neidermüller, H. (1986). Effects of aging on the recycling via the pentose cycle and on the kinetics of glycogen and protein metabolism in various organs of the rat, *Arch Gerontol Geriatr*. 5(4). 305-16.
- Nelson, D. L., Cox, M. M. (2004). Amino acid oxidation and production of urea. *Lehninger Principles of Biochemistry*. 4rd edition, *WH Freeman*, 660-666.
- Noordam, R., Gunn, D. A., Tomlin, C. C. et al. (2013). And On behalf of the Leiden Longevity Study Group, High serum glucose levels are associated with a higher perceived age, *Age (Dordr)*. 35(1). 189–195.
- Noyan, T., Balahoroğlu, R., Kömüroğlu, U. (2004). Diyabetik Sıçanlarda İnsülinle Kombine Edilmiş A, E, ve C Vitamini Tedavisinin Antioksidan Enzimler Üzerine Etkileri. *Türk Klinik Biyokimya Dergisi*. 2(3). 113-119.
- Novelli, E. L., Diniz, Y. S., Galhardi, C. M., Ebaid, G. M., Rodrigues, H. G., Mâni, F., Fernandes, A. A., Cicogna, A. C., & Novelli Filho, J. L. (2007). Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats. *Laboratory animals*. 41(1). 111–119.
- Nunes, V. S., Ferreira, G. D. S., and Quintão, E. C. R. (2022). Cholesterol metabolism in aging simultaneously altered in liver and nervous system, *Aging (Albany NY)*. 14(3). 1549-1561.
- Osawa, T. (2018). Development and application of oxidative stress biomarkers, *Biosci Biotechnol Biochem*. 82(4). 564-572.
- Öğüt, S., and Atay, E. (2012). Yaşlılık ve oksidatif stres, *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*. 19(2). 68-74.
- Palaniyappan, A., and Alphonse, R. (2011). Immunomodulatory effect of DL- α -lipoic acid in aged rats, *Experimental Gerontology*, Volume 46, Issue 9, 709-715.
- Palmer, M. D., and Kitchin, J. S. (2010). Oxidative damage, skin aging, antioxidants and a novel antioxidant rating system, *J Drugs Dermatol*. 9(1). 11-5.
- Pasha, M., Eid, A. H, Eid, A. A, Gorin, Y., and Munusamy, S. (2017). Sestrin2 as a Novel Biomarker and Therapeutic Target for Various Diseases, *Oxid Med Cell Longev*. 2017: 3296294.
- Peeters, H., Debeer, P., Bairoch, A., Wilquet, V., Huymans, C., Parthoens, E., Fryns, J. P., Gewillig, Nakamura, Niikawa, N., Van de Ven, W., Devriendt, K. (2003) PA26 is a candidate gene for heterotaxia in humans: identification of a novel PA26- related gene family in human and mouse. *Hum.Genet*. 112. 573–580.
- Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., Squadrito, F., Altavilla, D., and Bitto, A. (2017). Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health, *Oxid Med Cell Longev*. 8416763.
- Preuss, H. G., Kaats, G. R., Mrvichin, N., Bagchi, D., Preuss, J. M. (2018). Circulating ALT Levels in Healthy Volunteers Over Life-Span: Assessing Aging Paradox and Nutritional Implications, *Emerging Topics in Nutrition*. 661-669.
- Pyo, S., Yun, S., Eun Yoon, Y., Choi, J-W., Lee, S-J. (2020). Mechanisms of Aging and the Preventive Effects of Resveratrol on Age-Related Diseases, *Molecules*. 25(20). 4649.
- Quan, N., Li, X., Zhang, J., Han, Y., Sun, W., Ren, D., Tong, Q., Li, J. (2020). Substrate metabolism regulated by Sestrin2–mTORC1 alleviates pressure overload-induced cardiac hypertrophy in aged heart, *Redox Biol*. 36. 101637.
- Raulina de Jesus Dias, M., Lopes Correia, T. M., de Oliveira Borges, J., Silva Dos Santos, L., Pereira, R., Augusto da Silva, R. A., de Jesus Soares, T., da Silva Coqueiro, R., and

- Mendes de Mangalhaes, A. C. (2023). Therapeutic or lifelong training effects on pancreatic morphological and functional parameters in an animal model of aging and obesity, *Experimental Gerontology*, Volume 175, 112144.
- Ren, D., Quan, N., Fedorova, J., Zhang, J., He, Z., and Li, J. (2020). Sestrin2 modulates cardiac inflammatory response through maintaining redox homeostasis during ischemia and reperfusion, *Redox Biol.* 34, 101556.
- Reuter, S., Gupta, S. C., Chaturvedi, M. M., Aggarwal, B. B. (2010). Oxidative stress, inflammation, and cancer: How are they linked, *Free Radic Biol Med.* 1. 49(11). 1603–1616.
- Ro, S-H., Fay, J., Cyuzuzo, C. I., Jang, Y., Lee, N., Song, H-S., Harris, E. N. (2020). SESTRINs: Emerging Dynamic Stress-Sensors in Metabolic and Environmental Health, *Front Cell Dev Biol.* 3(8). 603421.
- Sabaretnam, T., O'Reilly, J., Kritharides, L., Le Couteur, D. G. (2010). The effect of old age on apolipoprotein E and its receptors in rat liver, *Age (Dordr).* 32(1). 69–77.
- Sacks, H. (1999). Max Weber's ancient judaism. Theory, *Culture and Society.* 16(1). 31-39.
- Sadowska-Bartosch, I., and Bartosz, G. (2014). Effect of Antioxidants Supplementation on Aging and Longevity, *Biomed Res Int.* 404680.
- Schmeer, C., Kretz, A., Wengerodt, D., Stojiljkovic, M., Witte, O. W. (2019). Dissecting Aging and Senescence—Current Concepts and Open Lessons, *Cells.* 8(11). 1446.
- Segalés, J., Perdiguero, E., Serrano, A. L., Sousa-Victor, P., Ortet, L., Jordi, M., Budanov, A. V., Garcia-Prat, L., Sandri, M., M. T., David, Karin, M., Hee Lee, J., Munoz-Canoves, P. (2020). Sestrin prevents atrophy of disused and aging muscles by integrating anabolic and catabolic signals, *Nat Commun.* 11. 189.
- Selman, C., McLaren, J. S., Collins, A. R., Duthie, G. G., Speakman, J. R. Deleterious consequences of antioxidant supplementation on lifespan in a wild-derived mammal. *Biology Letters.* 9(4). 20130432.
- Sharma, R., and Patnaik, S. K. (1987). Regulation of aspartate aminotransferase isoenzymes by hydrocortisone in the liver of aging rats, *Archives of Gerontology and Geriatrics.* 6. 27-32.
- Shin, J., Bae, J., Park, S., Kang, H-G., Shin, S. M., Won, G., Kim, J-S., Cho, S-G., Choi, Y., Oh S-M., Shin, J., Kim, J. S., and Park, H-W. (2020). mTOR-Dependent Role of Sestrin2 in Regulating Tumor Progression of Human Endometrial Cancer, *Cancers (Basel).* 12(9). 2515.
- Shin, J-W., Kwon, S-H., Choi, J-Y., Na, J-I., Huh, C-H., Choi, H-R., and Park, K-C. (2019). Molecular Mechanisms of Dermal Aging and Antiaging Approaches, *Int J Mol Sci.* 20(9). 2126.
- Siino, V., Ali, A., Accardi, G., Aiello, A., Ligotti, M. E., Junior, S. M., Candore, G., Caruso, G., Levander, F., and Vasto, S. (2022). Plasma proteome profiling of healthy individuals across the life span in a Sicilian cohort with long-lived individuals, *Aging Cell.* 21(9). 13684.
- Smith, C., Marks, A., and Lieberman, M. (2005). Enzymes as catalysts. Marks“ Basic Medical Biochemistry: A Clinical Approach. 2nd edition, Philadelphia, Lippincott Williams and Wilkins, 135-136.
- Somogyi, A., Rosta, K., Pusztai, P., Tulassay, Z., and Nagy, G. (2007). Antioxidant measurements, *Physiol. Meas.* 28. 41–55.
- Srivastava, P., Verma, A. K., Arya, J. K., and Rizvi, S. İ. (2022). Modulatory effect of exogenous Coenzyme Q10 on redox and inflammatory biomarkers during aging in rats.

- St Sauver, J. L., Boyd, C. M., Grossardt, B. R., Bobo, W. V., Finney Rutten, L. J., Roger, V. L., O Ebbert, J., Therneau, T. M., Yawn, B. P., Rocca, W. A. (2015). Risk of developing multimorbidity across all ages in an historical cohort study: differences by sex and ethnicity. *BMJ*. 5.
- Stein, H., Mason, D. Y., Gerdes, J., O'Connor, N., Wainscoat, J., Pallesen, G., Gatter, K., Falini, B., Delsol, G., Lemke, H., Schwarting, R., Lennert, K. (1985). *Blood* 66. 848–858.
- Suji, G., and Sivakami, S. (2004). Glucose, glycation and aging. *Biogerontology*. 5(6). 365-73.
- Susana, Q. C., Wagner, R. L., Marcia, S., Debarba, L. K., Mecawi, A. S., A de Paula, F. J., Franci, C. R., Elias, L. L. K., Antunes-Rodrigues, J. (2020). Sex differences in body composition, metabolism-related hormones, and energy homeostasis during aging in Wistar rats, *Physiol Rep*. 8(20). e14597.
- Song, J., Cha, B., Moon J., Jang, H., Kim, S., Jang, J., Yong, D., Kwon, H. J., Lee, I. C., Lim, E. K., Jung, J., Park, H. G., Kang, T. (2022). Smartphone-Based SARS-CoV-2 and Variants Detection System using Colorimetric DNase Reaction Triggered by LoopMediated Isothermal Amplification (LAMP) with Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats (CRISPR), *ACS Nano*. 16(7). 11300 – 11314.
- Şekeroğlu, Z. A. (2009). Oksidatif mitokondrial hasar ve yaşlanmadaki önemi. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*. 2. 69-74.
- Tamura, Y., Izumiyama-Shimomura, N., Kimbara, Y., Nakamura, K-i., Ishikawa, N., Aida, J., Chiba, Y., Matsuda, Y., Mori, S., Arai, T., Fujiwara, M., Poon, S.S.S., Ishizaki, T., Araki, A., Takubo, K., and Ito, H. (2016). Telomere attrition in beta and alpha cells with age, *Age (Dordr)*. 38(3). 61.
- Tanır, F. Halk sağlığında güncel derlemeler, Akademisyen Yayınevi Bilimsel Araştırmalar Kitabı, syf.43, Mart, 2021, Ankara.
- Tarsuslu Şimşek, T., Tütün Yumin, E., Öztürk, A., Sertel, M., Yumin, M. (2011). Ev Ortamında Yaşayan Yaşlı Bireylerde Ağrı ile Sağlık Durumu, Mobilite ve Günlük Yaşam Aktivite Düzeyi Arasındaki İlişki, *Türk Fiz Tıp Rehab. Dergisi*. 57. 216-20.
- Türkiye İstatistik Kurumu Haber Bülteni, (2015). 18618.
- Tzanetakou, I. P., Katsilambros, N. L., Benetos, A., Mihailidis, D. P., Perrea, D. N. (2012). "Is obesity linked to aging?": adipose tissue and the role of telomeres, *Ageing Res Rev*. 11(2). 220-9.
- United Nations (UN), Department of Economic and Social Affairs, Population Division (2017). World Population Ageing 2017, Highlights (ST/ESA/SER.A/397).
- Weichselbaum, T. (1946). An accurate and rapid method for the determination of proteins in small amounts of blood serum and plasma. *Am J Clin Pat*. 16. 40-49.
- Wickens, A. P. (2001). Aging and the free radical theory. *Respiration Physiology*. 128. 379391.
- Wyss-Coray, T. (2016). Ageing, neurodegeneration and brain rejuvenation, *Nature*. 10; 539(7628). 180–186.
- Yaman, M. (2021). İleri Glikasyon Son Ürünlerinin (AGEs) Öncüllerinin in Vitro Biyoerişilebilirliklerinin Bazı Gıdalarda Belirlenmesi, *European Journal of Science and Technology*. 27. 598-604.
- Yang, B. A., Castor-Macias, J., Fraczek, P., Cornett, A., Brown L. A., Kim, M., Brooks., S.

- V., Lombaert, I. M. A., Hee Lee, J., Aguilar, C. A. (2021). Sestrins regulate muscle stem cell metabolic homeostasis, *Stem Cell Reports*. 14, 16(9). 2078-2088.
- Yang, J. H., Kim, K. M., Kim, M. G., Seo, K. H., Han, J. Y., Ka, S-O., Park, B-H., Shin, S. M., Ku, S. K., Cho, I. J., Ki, S. H. (2015). Role of sestrin2 in the regulation of proinflammatory signaling in macrophages, *Free Radic Biol Med*. 78. 156-67.
- Zhou, G., Myers, R., Li, Y., Chen, Y., Shen, X., Fenyk-Melody, J., Wu, M., Ventre, J., Doebber, T., Fujii, N., Musi, N., Hirshman, M. F., Goodyear, L. J., and Moller, D. E. (2001). Role of AMP-activated protein kinase in mechanism of metformin action, *The Journal of clinical investigation*. 108(8). 1167–1174.



EKLER

Ek.1: Etik Kurul İzni



T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

Sayı : E-68489742-604.01.03-36579
Konu : Hadyek izini hk

PROF.DR. GÜLAY ÇİFTÇİ
PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ

Laboratuvar hayvanları üzerinde Araştırma amaçlı çalışma yapmak üzere başvuran Prof. Dr. Gülay ÇİFTÇİ'nin 2021/14 Kabul nolu **“YAŞLANMANIN RATLARIN BEYİN DOKUSUNDAKİ TOTAL ANTİOKSİDAN VE OKSİDANT DURUM İLE SİRTUİN-1 VE SESTRİN-2 DÜZEYLERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI”** başlıklı projesi 18.03.2021 tarihli Kurul toplantısında OMU- HADYEK'in yönergesi kapsamında değerlendirilmiş ve Hayvan Hakları ve Deney Etik İlkelerine Uygun bulunmuştur. Karar onayı ekte sunulmuştur.

Bilgilerinizi rica ederim.

Prof. Dr. Mustafa AYYILDIZ
HADYEK Başkanı

Ek: ETİK KURUL KARARI 2021-14 G. ÇİFTÇİ

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

Belge Doğrulama Kodu : 8VYH-5ITR-0547

Belge Doğrulama Adresi : <https://ebyssorgu.omu.edu.tr>

Adres: Ondokuz Mayıs Üniversitesi Rektörlüğü

Telefon No : 0362 312 19 19

e-Posta : omu@omu.edu.tr

Fax No : 0362 457 60 91

İnternet Adresi : <http://www.omu.edu.tr/>

Bilgi İçin :Hayriye ÇELİK

Veri Giriş Personeli

Telefon No:



ÖZ GEÇMİŞ

Damla Canayakın, Samsun Anadolu Lisesi'ni bitirdikten sonra Ondokuz Mayıs Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi' Beslenme ve Diyetetik Bölümünden 2017 yılında mezun oldu. 2019 yılında OMÜ Veterinerlik Biyokimyası Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Programına başladı. 2021 yılından beri Trabzon Valiliği'nde görev yapmaktadır.

İletişim Bilgileri

ORCID ID : 0000-0003-4811-7710

Yayınlar:

1. Damla Canayakın, Yaşlanmanın ratlarda protein düzeyi ile plazma oksidan ve antioksidan parametreler üzerine etkisi, 4th International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences (EurasianBioChem 2021), November, 24-26, 2021.