



**T.C.  
BURDUR MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**ELLAJİK ASİT, KAFEİN VE BETAINİN  
TELOMERAZ ENZİM AKTİVİTESİ ÜZERİNE  
ETKİSİ**

**Muazzez TIKIRDIK**

**BURDUR, 2019**

**T.C.  
BURDUR MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**ELLAJİK ASİT, KAFEİN VE BETAINİN  
TELOMERAZ ENZİM AKTİVİTESİ ÜZERİNE  
ETKİSİ**

**Muazzez TIKIRDIK**

**Prof. Dr. Ayşe Gül MUTLU**

**BURDUR, 2019**

## YÜKSEK LİSANS JÜRİ ONAY FORMU

**Muazzez TIKIRDIK** tarafından **Prof. Dr. Ayşe Gül MUTLU** yönetiminde hazırlanan “**Ellajik Asit, Kafein ve Betainin Telomeraz Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi**” başlıklı tez tarafımızdan okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 30/04/2019

**Prof. Dr. Nilüfer ŞAHİN CALAPOĞLU** (Başkan)  
Süleyman Demirel Üniversitesi

**Doç. Dr. Pınar ASLAN KOŞAR** (Jüri Üyesi)  
Süleyman Demirel Üniversitesi

**Prof. Dr. Ayşe Gül MUTLU** (Jüri Üyesi)  
Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi

### ONAY

Bu Tez, Enstitü Yönetim Kurulu'nun \_\_\_\_\_ Tarih ve \_\_\_\_\_ Sayılı Kararı ile Kabul Edilmiştir.

.....  
**Prof. Dr. Ayşe Gül MUTLU**

\_\_\_\_\_  
Müdür  
Fen Bilimleri Enstitüsü

## ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum **“Ellajik Asit, Kafein ve Betainin Telomeraz Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi”** başlıklı bu tezin;

- Kendi çalışmam olduğunu,
- Sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi,
- Bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi,
- Kullandığım verilerde değişiklik yapmadığımı,
- Tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını,
- Bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı,
- Bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı,

bildirir, aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

02 /04 / 2019

Muazzez TIKIRDIK

## ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve tez sürecimde beni yönlendiren, karşılaştığım zorlukları bilgi ve tecrübesi ile aşmamda yardımcı olan ve akademik hedeflerimi belirlememde katkı sağlayan değerli Danışman Hocam Prof. Dr. Ayşe Gül MUTLU'ya teşekkürlerimi sunarım.

0545-YL-18 No`lu Proje ile tezimi maddi olarak destekleyen Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne, Süleyman Demirel Üniversitesi Deney Hayvanları Üretimi ve Deneysel Araştırma Laboratuvarı Yönetim Kurulu'na ve tez çalışmalarımındaki laboratuvar aşamasının bir bölümü gerçekleştirdiğim Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Deneysel Araştırma Laboratuvarı yetkililerine teşekkür ederim.

Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü personeline ve doktora öğrencileri Ali KIYAK, Hülya YILDIZ, Didem KORKMAZ ve İrem ALKAN'a teşekkür ederim.

Lisans, yüksek lisans ve tez çalışma sürecimde birlikte çalıştığım değerli dostum Aykut TOPAL'a vermiş olduğu tüm destekler için teşekkür ederim.

Tezimi hazırlamamda, emek ve desteğini esirgemeyen Veli ÇELİKYÜREK'e çok teşekkür ederim.

Evlatları olmaktan gurur duyduğum, eğitim hayatımın her aşamasında beni maddi ve manevi olarak tüm imkanları ile destekleyen, güven ve sevgilerini daima hissettiren sevgili anneme ve babama sonsuz sevgi ve şükranlarımı sunarım.

**Nisan, 2019**

**Muazzez TIKIRDİK**

# İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR .....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
ŞEKİL DİZİNİ.....	iv
ÇİZELGE DİZİNİ .....	v
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	vi
ÖZET .....	viii
SUMMARY .....	ix
1. GİRİŞ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	3
2.1. Telomer .....	3
2.1.1. Telomerlerin İşlevleri .....	3
2.1.2. Telomerlerin Yapısı ve Regülasyonu .....	3
2.1.3. Telomerik Proteinler.....	4
2.2. Telomeraz .....	6
2.2.1. Telomeraz Yapısı.....	6
2.2.2. Telomeraz Fonksiyonu .....	7
2.2.3. Telomer ve Telomerazın Sağlık İle İlişkisi .....	8
2.3. Besin Destekleri .....	9
2.3.1. Beslenme İle İlişkili Hastalıklar .....	10
2.3.1.1. Kardiyovasküler Hastalıklar.....	10
2.3.1.2. Obezite .....	10
2.3.1.3. Kanser.....	11
2.4. Betain.....	11
2.4.1. Betain Kaynakları.....	12
2.4.2. Betain Metabolizması.....	12
2.4.3. Betainin Fonksiyonları ve Canlılar İçin Önemi.....	13
2.4.3.1. Betainin Ozmotik Fonksiyonu .....	14
2.4.3.2. Betainin Karaciğer Sağlığı İle İlişkisi .....	15
2.4.3.3. Betainin Kalp Sağlığı İle İlişkisi .....	15
2.5. Kafein.....	16
2.5.1. Kafein Kaynakları.....	16
2.5.2. Kafein Metabolizması.....	17
2.5.3. Kafeinin Etki Mekanizmaları .....	19
2.5.3.1. Adenozin Reseptörleri.....	19
2.5.3.2. Merkezi Sinir Sistemi.....	19
2.5.3.3. Kardiyovasküler Sistem .....	19
2.5.3.4. Solunum Sistemi .....	20
2.5.3.5. Endokrin ve Metabolik Etkiler.....	20
2.5.4. Kafein Toksisitesi.....	20
2.5.5. Kafein ve Hastalıklar .....	21
2.6. Ellajik Asit.....	21
2.6.1. Ellajik Asit Kaynakları .....	22
2.6.2. Ellajik Asit Metabolizması .....	22
2.6.3. Ellajik Asit Fonksiyonları.....	23
2.6.4. Ellajik Asit İle İlgili Yapılan Deneysel Çalışmalar .....	23

3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	25
3.1. Materyal.....	25
3.1.1. Mus musculus (Swiss albino)'nun genel özellikleri.....	25
3.1.2. Örneklerin Temin Edilmesi .....	25
3.1.3. Çalışmada Kullanılan Cihazlar .....	25
3.1.4. Çalışmada Kullanılan Malzemelerin ve Ortamın Hazırlanması.....	26
3.2. Yöntem .....	27
3.2.1. Deney Hayvanlarının Bakımı .....	27
3.2.2. Betain, Kafein ve Ellajik Asit Çözeltilerinin Hazırlanması .....	27
3.2.3. Farelerin Gruplandırılması ve Uygulamalar.....	28
3.2.4. Farelerin Diseksiyonu.....	29
3.2.5. Kit Prosedürünün Uygulanması.....	29
3.2.6. Doku Ekstraktlarının Hazırlanması .....	29
3.2.7. TRAP PCR .....	30
3.2.8. ELISA.....	31
3.2.9. Lowry Protein Tayini .....	31
3.2.10. Protein Miktarının Hesaplanması .....	32
3.2.11. Relatif Telomeraz Aktivitesinin Hesaplanması.....	32
3.2.12. İstatistik Testler .....	32
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA .....	33
5. SONUÇ.....	38
KAYNAKLAR.....	40
ÖZGEÇMİŞ.....	55

## ŞEKİL DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
Şekil 2.1. Telomerleri oluşturan telomerik proteinlerin yapısı .....	5
Şekil 2.2. Telomeraz enziminin yapısı .....	7
Şekil 2.3. Betainin kimyasal yapısı. ....	11
Şekil 2.4. Metiyonin döngüsünde betain ve transmetilasyon .....	13
Şekil 2.5. Kafeinin kimyasal yapısı.....	16
Şekil 2.6. İnsanlarda kafein metabolizması.....	18
Şekil 2.7. Ellajik asitin kimyasal yapısı. ....	21
Şekil 3.1. Aura PCR kabininde sterilizasyon. ....	26
Şekil 3.2. Farelerin aklimatizasyon ortamı.....	27
Şekil 3.3. Farelere ajanların verilmesi.....	29
Şekil 3.4. Protein standart grafiği.....	32
Şekil 4.1. Relatif telomeraz aktivitesi. ....	34



## ÇİZELGE DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
<b>Tablo 2.1.</b> Betain içeriği yüksek besinler .....	12
<b>Tablo 2.2.</b> Bazı İçecekler, Gıda Maddeleri ve İlaçlardaki Kafein Miktarı .....	17
<b>Tablo 3.1.</b> Farelere verilen günlük betain, kafein ve ellajik asit dozları.....	28
<b>Tablo 3.2.</b> Termal döngü periyodu. ....	30
<b>Tablo 4.1.</b> Gruplardaki relatif telomeraz aktivitesi.....	33



## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

°C	: Santigrad Derece
µL	: Mikrolitre
A	: Adenin
atm	: Atmosfer Basıncı
B <sub>12</sub>	: Kobalamin
B <sub>6</sub>	: Piridoksin
BHMT	: Betain Homosistein Metil Transferaz
BSA	: Bovine Serum Albumine
CBS	: Systationin Sentaz
CH <sub>3</sub>	: Metil
CH <sub>3</sub> -THF	: 5-Metil Tetrafolat
COOH	: Karboksil
Cu <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	: Bakır Sülfat
dk	: Dakika
DIG-HRP	: Digoxigenin Antibody
DMSO	: Dimetil Sülfoksit
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
DNA-PK	: DNA'ya Bağımlı Protein Kinaz
DNaz	: Deoksiribonükleaz
ELISA	: Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay
G	: Guanin
g	: Gram
G <sub>1</sub>	: Gap 1
K	: Potasyum
kg	: Kilogram
LDL	: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
mg	: Miligram
mm-Hg	: Milimetre Civa
mRNA	: Mesajcı Ribonükleik Asit
MS	: Metiyonin Sentaz
MTHFR	: Metilen Tetrafolat Redüktaz

<b>Na</b>	: Sodyum
<b>Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub></b>	: Sodyum Karbonat
<b>NAFLD</b>	: Non-Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı
<b>NaOH</b>	: Sodyum Hidroksit
<b>PCR</b>	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
<b>RNA</b>	: Ribonükleik Asit
<b>RNaz</b>	: Ribonükleaz
<b>ROS</b>	: Reaktif Oksijen Türleri
<b>rpm</b>	: Revolutions Per Minute
<b>RTA</b>	: Relatif Telomeraz Aktivitesi
<b>SAM</b>	: S-adenosilmetiyonin
<b>sn</b>	: Saniye
<b>T</b>	: Timin
<b>TERC</b>	: Telomeraz RNA Bileşeni
<b>TERT</b>	: Telomer Ters Transkriptaz
<b>THF</b>	: Tetrahidrofolat
<b>TIN1</b>	: Telomerik Tekrar Bağlama Faktörü 1 Etkileşimli Nükleer Protein 1
<b>TIN2</b>	: Telomerik Tekrar Bağlama Faktörü 1 Etkileşimli Nükleer Protein 2
<b>TMB</b>	: 3,3',5,5'-Tetrametil Benzidin
<b>TRAP</b>	: Telomerase Repeated Amplification Protocol
<b>TRF1</b>	: Telomerik Tekrar Bağlama Faktörü 1
<b>TRF2</b>	: Telomerik Tekrar Bağlama Faktörü 2
<b>UV</b>	: Ultraviyole

# ÖZET

## Yüksek Lisans Tezi

### Ellajik Asit, Kafein ve Betainin Telomeraz Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi

Muazzez Tıkırdık

**Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi**  
**Fen Bilimleri Enstitüsü**  
**Biyoloji Anabilim Dalı**

**Prof. Dr. Ayşe Gül Mutlu**

**Nisan, 2019**

Lineer kromozomların uçlarındaki telomer adı verilen nükleotid tekrarları, kromozomları hem füzyonlardan, hem de replikasyon sırasında meydana gelen kısalmaların işlevsel genlere yansımından korur. Telomerleri uzatan telomeraz enzimi, yaşlanma, kanser ve kök hücre çalışmalarında oldukça önemli bir yere sahiptir. Telomerlerin kısalması ile yaşlanmanın, sürekli olarak uzatılması ile de kanserlerin ilişkili olduğunu gösteren kanıtlar vardır. Telomeraz enzimi ise telomerleri uzatan ve dolayısıyla inhibisyonu veya aktivasyonu ile hem yaşlanma ve hem de karsinogenez süreçlerini etkileyebilecek çok önemli bir enzimdir. Bu tez çalışmasında betain, kafein ve ellajik asit bileşiklerinin, telomeraz enzim aktivitesi üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Bu bileşikler doğada bol olarak bulunan, özellikle kahve, çay, nar, pancar gibi çok miktarda tüketebildiğimiz bazı besin maddeleri yoluyla vücudumuza aldığımız bileşiklerdir. Bu bileşiklerin doğal gıdalarla alınmasının yanısıra, özellikle betain ve ellajik asit, bilinen faydalarından dolayı tablet veya kapsül şeklinde besin desteği olarak da alınabilmektedir. Bu çalışmada, bahsedilen bileşiklerin telomeraz enzimi üzerine etkisi *Mus musculus* swiss albino fareler üzerinde araştırılmıştır. Farelerdeki telomeraz aktivitesi PCR-ELISA bazlı bir yöntem ile ölçülmüştür. Elde edilen sonuçlara göre betainin özellikle yüksek dozunda az da olsa bir inhibitör etkisi olduğu, kafeinin yüksek dozlarında inhibitör, düşük dozlarında aktivatör etki gösterebildiği, ellajik asitin ise yine hafif bir aktivatör etki gösterebildiği tesbit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Telomer, Telomeraz, Betain, Kafein, Ellajik asit

Hazırlanan bu Yüksek Lisans tezi Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 0545-YL-18 proje numarası ile desteklenmiştir.

# **SUMMARY**

**M. Sc. Thesis**

**The Effects of Ellagic Acid, Caffeine and Betaine on Telomerase Enzyme Activity**

**Muazzez Tıkırdık**

**Burdur Mehmet Akif Ersoy University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Biology**

**Prof. Dr. Ayşe Gül Mutlu**

**April, 2019**

Nucleotide repeats called telomeres at the ends of linear chromosomes protect chromosomes from both fusions and shortening occurring during replication. Telomerase, which elongate telomeres, has an important place in aging, cancer and stem cell studies. The aging process is related to the shortening of telomeres. There is evidence that cancers are associated with constant prolongation of telomeres. Telomerase enzyme is a very important enzyme that prolongs the telomeres and therefore can affect both the aging and carcinogenesis processes by its inhibition or activation. In this thesis, the effects of betaine, caffeine and ellagic acid compounds on telomerase enzyme activity were investigated. These compounds are found in nature as abundant in certain foods, especially coffee, tea, pomegranate, beet root. Besides taking these compounds with natural foods, especially betaine and ellagic acid can be taken as nutritional supplements in the form of tablets or capsules due to their known benefits. In this study, the effect of these compounds on telomerase enzyme was investigated on *Mus musculus* swiss albino mice. Telomerase activity in mice was measured by a PCR-ELISA based method. The results show that betaine has a slightly inhibitory effect, especially at high doses. Caffeine may act as an inhibitor in high doses, but may have activator activity at low doses. Also ellagic acid showed a mild activator effect.

**Keywords:** Telomere, Telomerase, Betaine, Caffeine, Ellagic acid

The present M.Sc. Thesis was supported by Burdur Mehmet Akif Ersoy University Scientific Research Projects Unit Under the Project number of 0545-YL-18.

# 1. GİRİŞ

Telomerler, ökaryotik kromozomların uçlarında bulunan, kromozom bütünlüğünün korunması için gerekli olan ve DNA dizilerinden oluşan fonksiyonel yapılardır (Blackburn, 2001; Blasco, 2005). Telomerik DNA dizileri, çoğu türde, kısa bir heksamerik dizi ünitesinin art arda tekrarlarıdır (Blackburn, 2001). Telomerik tekrarlar, kromozomal bütünlüğün korunmasına yardımcı olur (Shay ve Wright, 2002). DNA polimeraz enziminin replikasyon sentezi sırasında kromozomun 5' ucunu kopyalayamaması, hücre bölünmesi gerçekleştiğinde telomer tekrarlarının kaybıyla sonuçlanır. Bu durum hücresel büyümenin durması ile neticelenir ve çoklu kromozom uç füzyonları meydana geldiğinde telomerlerin kritik olarak kısalması hücre canlılığı kaybına neden olur (Shay ve Wright, 2002). Kanser hücrelerinde telomer uzunluğu, telomeraz enzimi tarafından korunur ve hücrelerin replikatif krizi atlmasına ve hücre ölümsüzlüğüne ulaşmasına izin verir (Kelland, 2007).

Telomeraz, ters transkriptaz olarak işlev gören, lineer (doğrusal) kromozomların uçlarını tamamen kaplayan ve telomerik dizileri yeniden oluşturan tek DNA polimerazdır (Sanchis-Gomar ve Lucia, 2015). Yaşlanma süreci ve karsinogenez için çok önemli bir enzimdir (Artandi ve Depinho, 2010). Telomeraz, embriyonik kök hücrelerde aktive edilir ve telomer uzunluğunun korunmasını sağlar. Ancak erişkin kök hücrelerin çoğunda telomeraz aktivitesinin seviyesi embriyonik kök hücrelere göre düşüktür. Bu nedenle, embriyonik kök hücreler ve kanser kök hücreleri haricindeki kök hücrelerde bile telomer kısalması gerçekleşir (Hiyama ve Hiyama, 2007).

Telomeraz enzimi, keşfinden beri moleküler bir hedef olmuştur. Günümüzde kullanılan kemoterapi ilaçları, hücreye yönelik ayırt edici özellik taşımadığı ve kanser hücreleri ile birlikte normal sağlıklı hücreler üzerinde de etkili olduğu için dezavantajlıdır. Bu nedenle telomeraz enziminin çoğu normal dokuda saptanmamasından dolayı, telomeraz inhibisyonunun daha spesifik bir hedef sağlayacağı fikri savunulmaktadır (Shay ve Wright, 2002; Buseman vd., 2012). Bunun yanı sıra telomeraz inhibitörlerinin diğer geleneksel veya deneysel kanser tedavileri ile kombinasyonlarında en etkili yöntemlerden biri olabileceği de düşünülmektedir (Shay ve Wright, 2002; Mutlu, 2017).

Diğer taraftan telomer kısalması ise hücresel yaşlanma ile ilişkilidir (Sandin ve Rhodes, 2014). Hücresel yaşlanmanın kansere karşı koruyucu bir mekanizma olduğu düşünülmektedir. Ancak ilerleyen evrelerdeki telomer disfonksiyonunun, yaşamın sonlarında tümör oluşumuna neden olabileceği ispatlanmıştır (Tarkanyi ve Aradi, 2008).

Ayrıca birçok epidemiyolojik çalışma, insanlarda kısa telomerlerin, yaşa bağlı birçok hastalıkla ilişkili olduğunu göstermektedir (Blasco, 2005; Boccardi ve Paolisso, 2014). Bu nedenle, telomeraz aktivatörlerinin de antiaging (yaşlanma karşıtı) ve telomeraz bağımlı hastalık tedavileri için önemli olduğu vurgulanmıştır (De Jesus vd., 2012; De Jesus ve Blasco, 2013; Mutlu, 2017).

Bu tezin amacı, kabuklu deniz ürünleri, ıspanak, şeker pancarı ve tam tahıllı besinlerde bulunan (Zeisel, 2003; Craig, 2004; Preedy, 2015) ve bir metil donörü olma özelliğine sahip olan (Ejaz vd., 2016) betain molekülünün; kahve ve kakao çekirdekleri, çay yaprakları ve bazı bitkilerde bulunan (Murphy ve Benjamin, 1981; IARC, 1991; Dlugosz ve Bracken, 1992; Carrillo ve Benitez, 1996), özellikle dikkat, hafıza ve duyum gibi çeşitli beyin fonksiyonlarını etkileyen uyarıcı bir molekül olan (Tsunoda vd., 2018) kafeinin; ve son olarak da odunsu bitkiler, çeşitli meyveler, kuruyemişler ve bazı damıtılmış içeceklerin içeriğinde bulunan ve fenolik bir bileşik olan (Talcott ve Lee, 2002) ellajik asit molekülünün, farelerdeki telomeraz enzim aktivitesi üzerindeki potansiyel inhibitör veya aktivatör etkilerini saptamaktır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Telomer

Telomerler, ökaryotik lineer kromozomların ucunda, protein bağlı art arda tekrarlanan basit DNA sekanslarından oluşan özel yapılardır (Blackburn, 1991). 1930'lu yılların sonlarında, Hermann J. Muller ve Barbara Mc Clintock tarafından, *Drosophila melanogaster*'in X ışınlarına maruz bırakılması sonucunda, kromozomun terminal ucunda koruyucu bir yapı olarak keşfedilen ve Yunanca'da "telos" (son) ve "meros" (kısım) olarak adlandırılan telomer yapısı ilk kez ortaya çıkarılmıştır. Bu yapının eksikliği durumunda, hücre ölümüne neden olacak şekilde kromozomun uçtan uca füzyonunun gerçekleşebileceği belirtilmiştir (Greider ve Blackburn, 1996).

Telomerler, DNA-protein kompleksleridir. Telomerik tekrarlar canlıdan canlıya farklılık göstermekle birlikte insan telomerleri çeşitli bağlayıcı proteinler ile ilişkili uzun ve tekrarlayan TTAGGG alt birimlerinden oluşur (Lin, 2004).

Ölüm ve yaşa bağlı hastalıkların başlangıcı telomer uzunluğunun ölçülmesi ile tahmin edilebilmektedir (Lin vd., 2015). Kanser ve kardiyovasküler hastalıklar gibi birçok hastalık patolojisinde telomer kısalmasının da etkili olduğu bildirilmiştir (Botha vd., 2012).

#### 2.1.1. Telomerlerin İşlevleri

Telomerler, kromozomları uçtan uca füzyon, rekombinasyon ve bozulmadan korur. Telomerler ile korunamayan kırılmış kromozom uçları, diğer kırılmış uçlar ile birleşebilir. Ayrıca bu uçlar, nükleazların bozunmasına karşı da hassastır. Bu nedenle kromozomlar, telomer dizileri olmadan kararsız durumdadır (Blackburn, 1991; Lin, 2004).

Hücre replikasyonunda telomerler, tamamen kopyalanamaz ve yavaş yavaş kısalır. Telomerler kritik bir kısalığa ulaştığında replikatif senesens olarak adlandırılan süreçte hücre çoğalması durur. Bu nedenle telomerler, hücrenin yaşlanma sürecinin kendine özgü bir mekanizması olarak işlev görür (Lin, 2004).

#### 2.1.2. Telomerlerin Yapısı ve Regülasyonu

Ökaryotik bir kromozomun genetik materyalini içeren çift sarmallı DNA molekülü, bir uçtan diğer bir uca dizildiğinde, ilk ve son diziler telomerik DNA dizileri olup, hem birincil dizilimleri hem de fonksiyonel özellikleri nedeniyle normal (nükleer) DNA dizilerinden farklıdır. Uzun ve tekrarlayan TTAGGG alt birimlerinden oluşan bu telomerik diziler, çift sarmal telomerik DNA'nın, çıkıntılı ve tek sarmallı, G (guanin) bakımından



zengin olan 3' ucuna sahip bir kısmını içerir. 3' G bölgesi telomerik proteinleri bulundurur ve bu bölgede telomerlerin korunması sağlanır. Ancak hücreler bölündüğünde, DNA polimeraz enzimi temel olarak genetik bilgiyi kaybeder ve yeni kopyalanan ipliklerin 5' ucunda boşluklar meydana gelir. Bu nedenle telomerik diziler, lineer kromozomların replikasyonu için gereklidir (Blackburn, 1984; Zakian, 1989; Blackburn, 1991; Epel vd., 2004; Geyikli vd., 2007).

Replikasyona uğrayan kromozom içindeki bir veya birden çok eş zamanlı bölgede, DNA polimeraz 3' ucunda bir primer ile başlar ve replikasyon şablonunun 5' ucuna doğru ilerleyerek 5'-3' yönde bir ana zincir ve bir de okazaki fragmentlerinden oluşan yeni bir zincir meydana gelir. (Reddel, 2000; Karp, 1999).

Ancak hücre bölünmesinde, DNA polimeraz enziminin ana zincirin 3' ucunda yeni bir sentez başlatamamasından dolayı, her replikasyon sonrasında telomerlerin boyunda bir kısalma meydana gelir (Ural, 2006). Bir kişinin yıllık telomer kısalmasının ortalama 30-60 baz çifti arasında olduğu bildirilmiştir (Sanchis-Gomar ve Lucia, 2015).

Kromozomların uç kısımlarında meydana gelen telomer kısalması kaybı ise ribonükleoprotein yapısında bir enzim olan telomeraz tarafından engellenir. Telomeraz enzimi, kendi RNA'sını kalıp olarak kullanarak telomerik tekrar dizilerini kromozomun 3' ucuna takar ve kromozom uçlarındaki telomer kısalmasını dengeler (Levy vd., 1992; Epel vd., 2004; Ural, 2006; Can ve Aslan, 2014).

Telomer bütünlüğünün korunması ve fonksiyonunun sürekliliğinin sağlanabilmesi için en az 3 faktörün gerekli olduğu vurgulanmıştır. Bu faktörlerin tekrarlanan TTAGGG sekanslarındaki minimum uzunluk, telomerik çıkıntının bütünlüğü ve telomer bağlayıcı proteinlerin düzenlenmesi olduğu düşünülmektedir (Blasco, 2003).

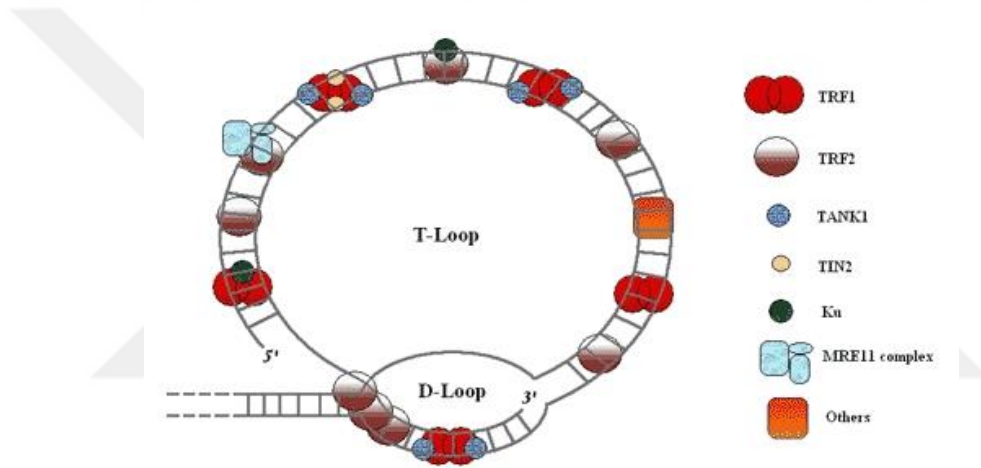
### **2.1.3. Telomerik Proteinler**

Çift sarmallı telomerik tekrarlar, doğrudan iki ana telomer bağlayıcı proteine bağlanırlar. Bu proteinler TRF1 (telomerik tekrar bağlama faktörü 1) ve TRF2 (telomerik tekrar bağlama faktörü 2)'dir (Steensel ve Lange, 1997).

TRF1, T halkasının çift sarmallı TTAGGG dizisinde bulunan bir homodimer olup telomerik DNA'da yakın kıvrımı indükleyerek ilmek oluşumuna ve stabilizasyona yardımcı olarak işlev görür. Deneysel kanıtlar, bir hücre içerisinde bulunan yabancı tip TRF1'in aşırı ekspresyonunun telomer kısalmasına neden olacağını, bunun yanı sıra mutant TRF1'in aşırı ekspresyonunun da telomeraz aktivasyonu ile telomer uzamasına yol açacağını göstermiştir (Greider, 1999; Shay, 1999; Blasco, 2003). Bu sonuçlardan yola

çıkarak TRF1'in telomerlere bağlandığında telomer uzamasını inhibe ettiği söylenebilir (Lange, 1999).

Telomer uzunluğunu düzenlerken TRF1 ile etkileşime giren çeşitli proteinler tanımlanmıştır. Bu proteinler, TRF1 etkileşimli nükleer protein 1 (TIN1 veya tankiraz 1) ve TRF1 etkileşimli nükleer protein 2 (TIN2 veya tankiraz 2)'dir (Smith vd., 1998; Kim vd., 1999). Bu proteinler, TRF1'in ribosilasyonundan ve TRF1'in telomerik DNA'ya bağlanmasının inhibisyonundan sorumludur (Greider, 1999; Shay, 1999). TIN1, TRF1'in asidik amino-terminal bölgesi ile etkileşime girerken, TIN2 ise TRF1'in homodimerizasyon bölgesi ile etkileşime girer (Collins, 2000). Telomerleri oluşturan telomerik proteinlerin yapısı Şekil 2.1' gösterilmiştir.



**Şekil 2.1.** Telomerleri oluşturan telomerik proteinlerin yapısı (Lin, 2004).  
(T- Loop; telomer ilmeği ve D-Loop; yer değiştirme ilmeği)

Telomer bağlayıcı proteinlerden bir diğeri olan TRF2 ise T ilmeğinin çift sarmallı TTAGGG tekrar dizisinde ve ilmek kuyruğunun bağlantı noktasında bulunur ve kromozom stabilizasyonunda önemli rol oynar. Yabani tip TRF2'nin aşırı ekspresyonu telomer uzunluğunu azaltırken, mutant TRF2 'nin ise p53'e bağlı hasar indüksiyonuna, füzyonun sona ermesine ve büyümenin durmasına neden olduğu bildirilmiştir (Greider, 1999; Shay, 1999; Smorgorzewska vd., 2000; Blasco, 2003).

TRF2 de tıpkı TRF1 gibi telomer uzunluğunu düzenlerken bazı proteinler ile etkileşim halindedir. hRAP1, RAD50, MRE11 ve NBS1 proteinleri TRF2 ile etkileşime giren kompleks proteinlerdir. hRAP1'in aşırı ekspresyonu telomer uzamasına neden

olurken, diğ er protein kompleksleri çift sarmal kırılmanın onarımında görev alır (Blasco, 2003).

Ku70, Ku86 ve DNA-PK (DNA'ya bağımlı protein kinaz) katalitik alt birimlerinden oluşan kompleks de TRF2 ile etkileşime girerek çift sarmal kopmaların onarımında füzyonu önlemede görev alır (Quintana-Ortí vd., 2000; Shay vd., 2001).

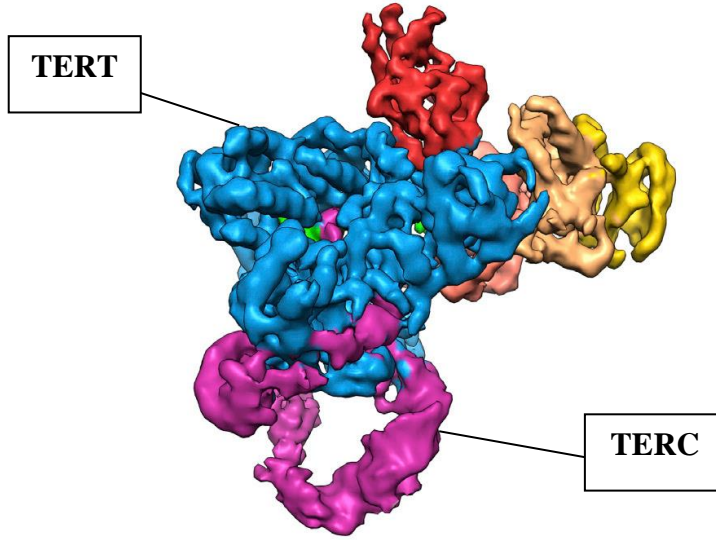
## **2.2. Telomeraz**

Telomeraz, ters transkriptaz olarak işlev gören, lineer koromozomların uçlarında bulunan ve telomerik dizileri yeniden oluşturan tek DNA polimerazdır (Sanchis-Gomar ve Lucia, 2015). Telomeraz enzim aktivitesi, sağlıklı bireylerde telomerlerin uzunluğu ile pozitif korelasyon gösterir (Kim vd., 2016).

Telomeraz aktivitesi ilk olarak *Tetrahymena pyriformis*'te daha sonra silikatlar, Oxytricha, Euplotes ve insan HeLa hücrelerinde in vitro olarak tanımlanmıştır (Blackburn, 1990, 1991). Telomeraz aktivitesinin, germ hattı hücrelerinde ve kök hücrelerde aktif durumda olduğu ancak somatik hücrelerde neredeyse hiç aktivitesinin olmadığı ya da çok az olduğu bildirilmiştir (Kozziel vd., 2011).

### **2.2.1. Telomeraz Yapısı**

Telomeraz enzimi, telomeraz RNA bileşeni (TERC) ve telomer ters transkriptaz (TERT) bileşenlerinden meydana gelir (Bachand vd., 2001; Shay vd., 2001; Blasco, 2003). Telomeraz enzimi yapısının simülasyonu Şekil 2.2.'de gösterilmiştir. Geleneksel ters transkriptazların aksine RNA ve DNA sentezi için şablon olan enzimin kendine özgü parçasıdır (Blackburn, 1991).



**Şekil 2.2.**Telomeraz enziminin yapısı (Jiang vd., 2018).

Telomeraz aktivitesinin ifadesi, transkripsiyon, mRNA olgunlaşması ve hTERT ile hTERC'nin olgunlaşması ve modifikasyonu dahil olmak üzere farklı seviyelerde düzenlenir. hTERT'in, telomeraz ekspresyonunun düzenlenmesinde en önemli belirleyici olduğu düşünülmektedir. Onkojen cMyc, transkripsiyon faktörü Sp1, insan papilloma virüsü 16, protein E6 ve steroid hormonları hTERT transkripsiyonunun pozitif düzenleyicilerini oluştururken, Mad1 transkripsiyon faktörü, p53, pRB, E2F gibi proteinler de negatif düzenleyicilerini oluşturur (Cong vd., 2002).

### **2.2.2. Telomeraz Fonksiyonu**

Yaşlanmayı, kanseri ve kök hücre yenilenmesini etkileyen telomeraz aktivitesi insan sağlığı için kritik bir belirleyicidir (Jiang vd., 2018). Telomeraz aktivitesi gelişim ve onkogenez arasında önemli bir köprü vazifesi görür (Shay, 2016). Telomerazın TERC ve TERT bileşenlerinde mutasyonlara bağlı olarak, kök hücreler ve germ hücre hatlarında telomeraz enziminin eksikliği, distaleratoz konjenita, aplastik anemi ve pulmoner fibroz gibi hastalıklar ile sonuçlanmaktadır (Armanios ve Blackburn, 2012).

Kanser hücrelerinin yaklaşık olarak %90'ının kısa telomer uzunluğu ve yüksek seviyede telomeraz aktivasyonu ile karakterize olduğu bulunmuştur. Oral kanser türlerinde %75, akciğer kanserinde %80, prostat kanserinde %84, karaciğer kanserinde %85, meme

kanserinde %93, nöroblastomlarda %94, kolorektal kanserlerde %95 ve mesane kanserlerinde %98 oranında telomeraz aktivitesi olduğu bildirilmiştir (Belair vd., 1997).

### **2.2.3. Telomer ve Telomerazın Sağlık İle İlişkisi**

Telomer kısalması ve telomeraz aktivitesinin kaybı, bir canlının yaşamı boyunca gerçekleşmektedir (Savela vd., 2013). Telomer sendromlarında, telomerlerin çok hızlı bir şekilde kısalarak hücrel yaşlanmayı ve doku hasarlarını arttırdığı bildirilmiştir (Glousker vd., 2015). Telomeraz aktivitesini azaltan telomeraz genlerindeki mutasyonlar, çoklu olarak sistemik bozukluğu tetiklemektedir (Glousker ve Lingner, 2018).

Sigara kullanımı, uyku düzeni, vücut kompozisyonu ve fiziksel aktivite gibi yaşam tarzı ile ilgili alışkanlıklar telomeraz aktivitesini de değiştirmektedir (Botha vd., 2012). Oksidatif strese maruz kalma telomerlerin kısalmasına neden olurken, stresteki azalma ise telomerlerin korunmasını sağlayabilir (Kim vd., 2016).

Bu konu ile ilgili yapılan birçok araştırma, obezite, yüksek kolesterol seviyesi ve sigara kullanımının yaşlılıkta daha kısa telomer uzunluğu ile ilişkili sağlık problemlerinin meydana geldiğini göstermiştir (Savela vd. 2013). Yaşlı bireylerdeki bu telomerik değişimler kardiyovasküler hastalıklar, kanser, diyabet ve demans gibi yaşa bağlı birçok komplikasyon ile karakterizedir (Botha vd., 2012; Savela vd., 2013).

Kronik kalp yetmezliği, koroner arter hastalığı ve miyokard enfarktüsü gibi kardiyovasküler hastalıklar dünya çapında önde gelen ölüm nedenleridir. Telomeraz aktivitesinin kardiyovasküler sistemin sağlıklı hücrelerinde aktif olduğu gözlemlenmiştir (Werner vd., 2008). Yapılan çalışmalarda, telomeraz aktivitesinin kardiyovasküler sistem üzerinde koruyucu bir etkisi olabileceği ve telomeraz enzim aktivitesi ile etkileşimin kardiyovasküler sistemde koruyucu bir etki yaratabileceği öne sürülmüştür (Zurek vd., 2016). Kalp sağlığı ve telomer uzunluğu ile ilgili bir çalışmada hızlı telomer kısalmasının koroner arter hastalığının gelişimi ile güçlü bir bağlantısının olduğu belirtilmiş ve koroner arter hastalığı, fareler üzerinde telomeraz gen terapisi ile etkili bir şekilde tedavi edilmiştir (Sanchis-Gomar ve Lucia, 2015).

Telomer uzunluğu meme, prostat, kolorektal, mesane, baş, boyun, akciğer ve böbrek kanseri gibi birçok kanser türünde hastalık riski, hastalığın ilerlemesi ve erken ölümlerin prognostik bir belirteci olarak ortaya çıkmaktadır (Ornish vd., 2008). Telomerler ve telomeraz aktivitesi, antikanser tedavilerin gelişmesinde çeşitli potansiyel hedefler sunmaktadır. Bu hedeflere yönelik üç farklı deneysel yaklaşım öne sürülmüştür (Lin, 2004). İlk olarak, telomeraz aktivitesi hücre ölümü ve hızlanmış senesensin indüksiyonu

ile çeşitli telomeraz inhibitörleri tarafından inhibe edilebilir. İkinci yaklaşım, telomerazı eksprese eden hücrelerin immün efektörler tarafından elimine edilmesidir. Üçüncü yaklaşım ise telomer fonksiyonunun bozulması ve hücre ölümünün uyarılması sonucunda bir mutant telomeraz RNA şablonu ifadesinin meydana gelmesidir. Bu yaklaşımın, telomeraz bağımlı tümör hücrelerinde ve telomeraz bağımlı normal hücrelerde etkili olabileceği belirtilmektedir (Hodes, 2001; Mergny vd., 2002).

Dengeli beslenme, düzenli fiziksel aktivite, yeterli uyku, stresten uzak kalma gibi sağlıklı alışkanlıklar kazanmak, yaşa bağlı telomer deformasyonunu azaltabilir ve telomerlerin onarımını teşvik edebilir. Böylece yaşlanma durumu yavaşlar ve yaşa bağlı hastalıkların gelişmesi riski de azalır (Aguilar, 2018).

### **2.3. Besin Destekleri**

Beslenme alışkanlıkları ve bu konudaki eğilimler sağlık, çevresel ve sosyal etkilere bağlıdır (Cencic ve Chingwaru, 2010). Bunun yanı sıra beslenmenin, bağırsak sağlığı üzerinde önemli bir etkisi vardır. Bağırsaklar, besinleri küçük besin moleküllerine ayırır, besinlerin bağırsak duvarlarından kana emilimini kolaylaştırır ve yabancı ya da toksik moleküllerin kan dolaşımına girmesine engel olur (Cencic ve Chingwaru, 2010). Besin tüketim kalıpları, meyve ve sebze bakımından daha zengin içeriklere sahip olan güney diyetlerinden, daha çok hayvansal gıda içeriğine sahip kuzey diyetlerine kadar büyük ölçüde değişim göstermektedir (Bronzwaer, 2008).

Beslenme alışkanlıkları erken bebeklik döneminden başlayarak yaşamın sonuna kadar devam eden bir süreçtir (Caetano, 2010). Bölge, din, aile yapısı ve kişisel alışkanlıklara göre de şekillenebilen beslenme alışkanlıkları, günümüzde özellikle ekonomik gelir, stres ve teknolojik gelişmeler gibi faktörlere bağlı olarak değişmektedir (Balsano, 2009; Cencic, 2010).

Son zamanlarda diyet takviyesi, besin desteği veya fonksiyonel besinler olarak adlandırılan, çeşitli vitamin ve mineral içeriğine sahip olan, doğal olarak elde edilen ya da laboratuvar ortamında üretilen, spor, sağlık ve bakım gibi farklı amaçlara yönelik tercih edilen takviyelerin kullanımı oldukça popülerdir (Schwenk ve Costley, 2002; Cencic ve Chingwaru, 2010; Dickinson ve MacKay, 2014; Marleen ve Lentjes, 2018).

Geçmişte vitamin ve mineral eksikliği bakımından ortaya çıkan hastalıkları tedavi etmek için kullanılan besin destekleri, günümüzde kanser, diyabet ve kardiyovasküler rahatsızlıklar gibi kronik hastalıkların riskini azaltmak için kullanılmaktadır (Rajakumar, 2003; Lim vd., 2012; Tapsell, 2016). Yapılan birçok araştırmada, Amerikalı yetişkinlerin

üçte ikisi gibi büyük bir çoğunluğunun ek besin desteği aldığı belirtilmiştir. Aynı zamanda besin desteği alan kişilerin, iyi bir diyet alışkanlığı kazanmak, düzenli fiziksel aktivite yapmak, tütün ürünlerinden kaçınmak gibi daha sağlıklı bir yaşam tarzı geliştirmeyi benimsedikleri vurgulanmıştır (Foote vd., 2003; Radimer vd., 2004; Bailey vd., 2011; Bailey vd., 2013).

Fonksiyonel besin destekleri, normal geleneksel gıda maddelerine benzerlik gösterir ve normal diyetin bir parçası olarak tüketilir. Besin destek maddelerinin bazıları spesifik özellikler taşır ve bireylerin sağlıklı bir yaşam sürmesi için gerekli miktarda vitamin, mineral, karbonhidrat, yağ ve protein gibi temel besin gereksinimlerini sağlar (Cencic ve Chingwaru, 2010). Çinko, magnezyum, kalsiyum, demir, krom ve selenyum gibi mineraller, B grubu vitaminleri, vitamin C, vitamin E ve multivitaminler ile kafein, ginseng ve kreatin gibi moleküller yaygın olarak tercih edilen besin destekleridir (Schwenk ve Costley, 2002).

### **2.3.1. Beslenme İle İlişkili Hastalıklar**

Genetik faktörler, sosyal yaşam, çevresel etkilerin yanı sıra beslenme düzeni birçok patolojik olgunun temelini oluşturmaktadır. Kardiyovasküler hastalıklar, obezite, diyabet ve kanser beslenme ile ilişkili kronik hastalıkların başında gelmektedir (Cencic ve Chingwaru, 2010).

#### **2.3.1.1. Kardiyovasküler Hastalıklar**

Kardiyovasküler hastalıklar, özellikle ekonomik olarak gelişmiş ülkelerde ölüm nedenlerinin yaklaşık %60'ını oluşturmaktadır (Stramba-Badiale vd., 2006). Özellikle doymuş ve trans yağlar ile et ürünlerinde bulunan düşük yoğunluklu lipoproteinlerin (LDL) oksidasyonu, plak oluşum sürecinin başlamasıyla ateroskleroz ve diğer kardiyovasküler hastalıkların patogeneğinde kilit bir rol oynamaktadır (Wang vd., 2007).

#### **2.3.1.2. Obezite**

Azalan yaşam süresi ve artan sağlık problemleri ile orantılı olan obezite, fazla vücut yağının birikmesi sonucunda meydana gelen patolojik bir durumdur (Haslam ve James, 2005). Obezitenin birçok nedeni olmakla birlikte, gelişimi genler ve çevresel etkenlerinin kompleks etkileşiminden kaynaklanmaktadır. Bir obezite hastasının, günlük enerji harcamasını arttırmaya ve aşırı enerji alımını azaltmaya yönelik davranışlar kazanması gerektiği bilinmektedir. Bunun sağlıklı ve dengeli beslenme alışkanlığı kazanmak ve

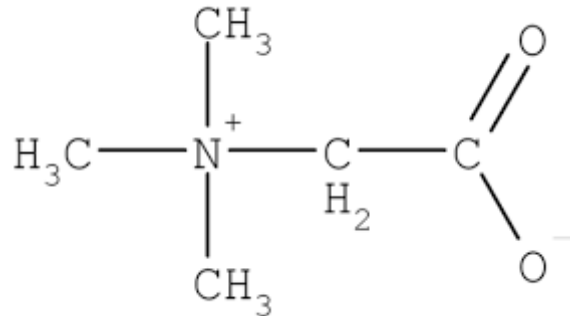
fiziksel aktivitenin çoğunlukta olduğu aktif bir yaşam tarzını benimseyerek mümkün olabileceği belirtilmiştir (Cencic ve Chingwaru, 2010).

### 2.3.1.3. Kanser

Dinamik ve uzun vadeli bir süreç olan kanser gelişimi, adım adım ilerleyen birçok faktörü içerir ve son aşamada metastaz adı verilen kontrolsüz hücre bölünmeleri ile vücuda yayılmaya başlar. Epidemiyolojik çalışmalar, diyet faktörlerinin karsinogenezi engelleyebileceğine yönelik kanıtlar sunmuştur. Ayrıca biyoaktif diyet bileşenlerinin veya doğal besin maddelerinin kanseri önlemeye yönelik etkilere sahip olduğu ortaya çıkarılmıştır (Balsano ve Alisi, 2009; Cencic ve Chingwaru, 2010). Bunlara ilaveten günümüzde antimitojenik ve antikarsinojen özelliklere sahip olan birçok gıda bileşeninin olduğu bilinmektedir (Pan vd., 2008).

### 2.4. Betain

Betain, glisin amino asitinin metillenmiş bir türevi olup, üç hidrofobik metil grubuna (CH<sub>3</sub>) ve bir hidrofilik karboksil grubuna (COOH) sahip bir amino asittir (Şekil 2.3.) (Mahmoudnia ve Madani, 2012). Kimyasal olarak reaktif olan üç metil grubundan dolayı metilamin olarak da adlandırılır (Yancey vd., 1982).



Şekil 2.3. Betainin kimyasal yapısı.

Kolin ve metiyonin gibi metil gruplarının donörü olarak görev yapan betainden sağlanan metil grupları, proteinlerin sentezi, enerji metabolizması, karnitin ve kreatin sentezi gibi çeşitli metabolik işlemler için transmetilasyon reaksiyonlarında kullanılır (Ratriyanto vd., 2009; Mahmoudnia ve Madani, 2012).



### 2.4.1. Betain Kaynakları

İlk olarak 19. yüzyılda şeker pancarı (*Beta vulgaris*) suyundan izole edilen betain, mikroorganizmalar, bitkiler ve hayvanlar olmak üzere hemen hemen tüm canlı türlerinde bulunur (Zeisel, 2003; Craig, 2004; Kathirvel vd., 2010). Başlangıçta betain, kümes hayvanlarına ve balıklara verilen yemlerde metiyonin ve kolinin yerine geçerek besin takviyesi olarak kullanılmıştır (Kidd vd., 1997). Bu sayede balıkların düşük tuz seviyesinden yüksek tuz seviyesine kadar hareket etmelerinin stresinden korumak için bir ozmolit görevi gördüğü gözlemlenmiştir (Virtanen, 1995).

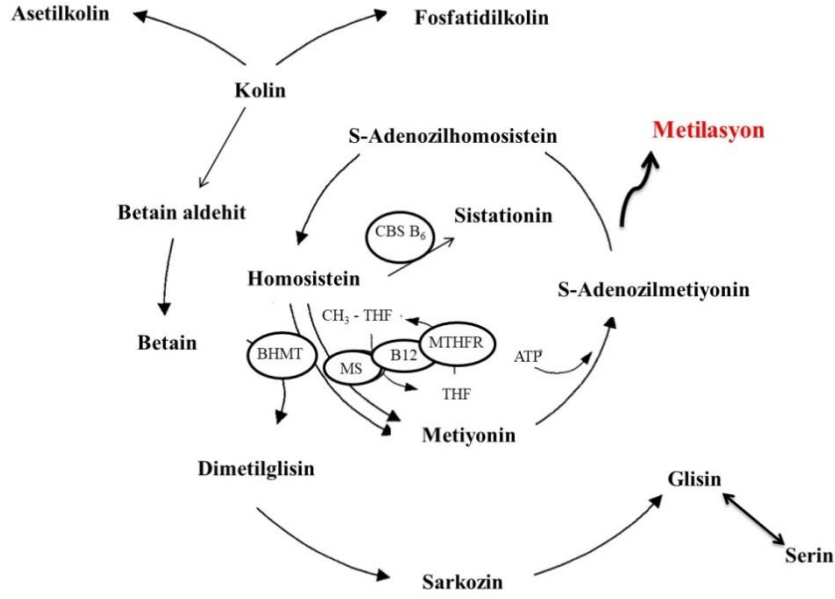
İnsan vücuduna ise farklı besin kaynakları ile betain alımı olur. Aşağıdaki tablo 2.1.'de belirtildiği gibi kabuklu deniz ürünleri, ıspanak, şeker pancarı ve özellikle tam tahıllı besinler yüksek miktarda betain içerir (Zeisel, 2003; Craig, 2004; Preedy, 2015).

**Tablo 2.1.** Betain içeriği yüksek besinler (Zeisel, 2003)

Gıda Maddesi	Betain İçeriği (mg/ 100g )
Buğday ekmeği	201
Buğday kepeği	1339
Buğday tohumu	1241
Ispanak	600–645
Pancar	114-297
Karides	219

### 2.4.2. Betain Metabolizması

Betain, memelilerin karaciğer ve böbrek hücrelerinin mitokondrilerinde meydana gelen bir dizi enzim reaksiyonu ile katabolize edilir. Bu transmetilasyon reaksiyonları, Şekil 2.5.'de gösterildiği gibi hayati biyolojik işlemlerde metil gruplarının metiyonin döngüsü yoluyla transferini içerir (Craig, 2004).



**Şekil 2.4.** Metiyonin döngüsünde betain ve transmetilasyon (Craig, 2004).

(B6, vitamin B-6; B12, vitamin B-12 (kobalamin); BHMT, betain homosistein metiltransferaz; CBS, sistationin sentaz; MS, metiyonin sentaz; MTHFR, metilentetrafolat redüktaz; THF, tetrafolat; CH<sub>3</sub>-THF, 5-metiltetrafolat)

Betain sağlıklı yetişkin bireylerde serum metionin, transmetilasyon oranı, homosistein remetilasyonu ve metionin oksidasyonunu artırır (Storch, 1991).

Wise ve diğerlerinin (1997) yaptığı bir çalışmada, betain enjeksiyonu yapılan hayvanların kırmızı kan hücrelerinde, S-adenosilmetiyonin (SAM)'de doza bağlı bir artış gözlemlenmiştir. Buna bağlı olarak proteinler, kreatin, fosfolipitler, hormonlar, poliaminler, karnitin, adrenalin ve DNA metilasyonunun sentezi de dahil olmak üzere birçok önemli yoldaki metil donöründe doza bağlı bir artış tespit edilmiştir (Wise vd., 1997).

Oral olarak alınan betain ise vücutta hızla emilir, dağıtılır ve metabolize edilerek idrarla atılır (Schwahn vd., 2003).

### 2.4.3. Betainin Fonksiyonları ve Canlılar İçin Önemi

Betain, glutasyon sentezinde bir substrat olarak görev alma, metil donörü olma ve organik bir ozmolit olma gibi üç temel fonksiyona sahiptir. Hayvan modelleri üzerinde yapılan çalışmalar, metabolik olarak sağlığın modüle edilmesinde betainin doğrudan rol oynadığını ve insanlar üzerinde de betainin terapötik bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir (Ejaz vd., 2016).

Yapılan araştırmalar, eksik DNA metilasyonunun, genetik instabiliteye, yaşlanmaya ve kansere yol açabileceğini göstermiştir (Newberne ve Rogers, 1986; Cooney, 1993; Blount vd., 1997). Başka bir çalışmada ise betainin mitokondriye bağımlı hücre ölümünü ve apoptozu önlediği bildirilmiştir (Graf vd., 2002; Ji ve Kaplowitz, 2003; Garrett vd., 2013).

Ayrıca betainin, antioksidan ve antiinflamatuvar özellikler ile hepatoprotektif potansiyele sahip olduğu ve epigenetik modifikasyonda da rol oynadığı düşünülmektedir (Kim vd., 2009; Ueland, 2011; Jung, 2013; Chen vd., 2015; Day ve Kempson, 2016).

#### **2.4.3.1. Betainin Ozmotik Fonksiyonu**

Betainin en önemli fonksiyonlarından biri ise canlılar için organik bir ozmolit olmasıdır (Lever vd., 2011). Örneğin; çoğu mikroorganizma, kuraklık ve sıcaklık sonucu meydana gelen hücresel strese karşı koymak için betain kullanır (Zou vd., 2016). Yine hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda betain kullanımının bu durumlarda arttığı gözlemlenmiştir. Çünkü hayvanlarda yüksek sıcaklık stresine maruz kalma durumunda, betain aracılığıyla dehidratasyonu önlemek, hücrelerde suyun stabilizasyonunu sağlamak ve büyümeyi desteklemek için ozmotik basıncı ayarlanır (Attia vd., 2005; Eklund vd., 2005, 2006; Sayed ve Downing, 2011).

Kuraklığa, yüksek tuz seviyesine veya sıcaklık stresine maruz kalmak mitokondride betain sentezini tetikler ve bu durum hücrelerde betainin birikmesine neden olur (Yancey vd., 1982). Eğer betain katabolize edilmezse organik bir ozmolit olarak kullanılır ve hücresel hidrasyon, hücre hacminin düzenlenmesini ve hücre fonksiyonunun sürdürülmesini sağlar (Haussinger, 1996). Yapılan bazı deneyler sonucunda betainin proteinlerin yüzeyine çok az bağlandığı veya hiç bağlanmadığı belirtilmiş ve bu sayede hücrelerin iyonik kuvveti etkilemeden suyun yüzey gerilimini kontrol etmesine olanak sağladığı ortaya çıkarılmıştır (Courtenay vd., 2000).

Ayrıca betain, tümör nekroz faktörünün salıverilmesi (Zhang vd., 1996), fagositoz, (Warskulat vd., 1996) prostaglandin oluşumu ve siklooksijenaz 2 ekspresyonunun (Zhang vd., 1996) ozmotik streste ki karaciğer makrofaj hücrelerinde (Kupffer hücreleri) bağışıklık fonksiyonunun modüle edilmesinden de sorumludur.

### 2.4.3.2. Betainin Karaciğer Sağlığı İle İlişkisi

Betainin fonksiyonlarına ve canlılar için önemine bakıldığında karaciğer betain metabolizmasında hayati bir öneme sahiptir. Dolayısıyla betainin karaciğer sağlığına yönelik etkileri ile ilgili bugüne kadar yapılmış olan birçok araştırma vardır.

Son zamanlarda üzerinde çalışılan konulardan biri de alkolsüz yağlı karaciğer hastalığı (NAFLD)'dir. Basit steatozdan başlayarak steatohepatit, aşırı fibroz doku oluşumu ve sonrasında siroza kadar ilerleyen karaciğer patolojisi NAFLD olarak adlandırılmaktadır (Matteoni vd., 1999). Klinik çalışmalar NAFLD tedavisinde betainin güvenli ve iyi tolere edilen bir ilaç olduğunu göstermiştir (Zhang vd., 2019).

Sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışmada ise betainin, sirozu önleyebildiği ve tedavi edebildiği belirtilmiştir (Webster, 1942; Best vd., 1969). Yüksek kolesterol diyeti ile beslenen sıçanlarda betainin, hepatik kolesterol ve fosfolipitleri harekete geçirdiği, hiperlipidemiye tedavi ettiği ve karnitin sentezinde de kullanılabildiği ortaya çıkarılmıştır (Turpin, 1985; Sugiyama vd., 1986; Odle, 1996).

Lever ve arkadaşları (2012) yaptıkları bir çalışma sonrasında plazma betain seviyesinin, sağlıklı insanlarda plazma kortizol konsantrasyonu ile negatif bir korelasyon gösterdiğini ortaya koymuştur (Lever vd., 2012). Akabinde Apicella ve arkadaşları (2013) ise betainin insanlarda akut egzersiz nöbetlerine cevap olarak yükselen, dolaşımdaki kortizol seviyesini düşürdüğünü belirtmiştir (Apicella vd., 2013).

### 2.4.3.3. Betainin Kalp Sağlığı İle İlişkisi

Değişen beslenme alışkanlıkları, sedental yaşam tarzı ve stres gibi faktörlerin neden olduğu sebepler başta olmak üzere dünyada sık görülen rahatsızlıklardan biri de günümüzde kalp hastalıklarıdır.

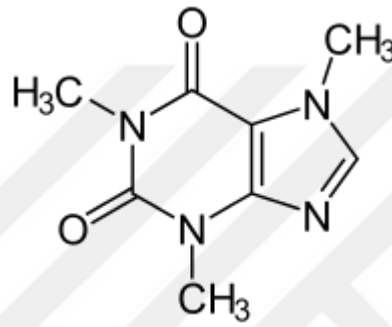
Schwahn ve arkadaşları (2007) fareler üzerinde yaptıkları bir çalışmanın sonucunda betain takviyesinin hiperhomosisteinemi farelerde aterosklerotik risk faktörlerini azalttığını bildirmiştir (Schwahn vd., 2007). Lv ve arkadaşları (2009) ise betain diyetinin, apolipoprotein E eksik farelerde lezyonları hafiflettiğini belirtmiştir (Lv vd., 2009).

Bu gibi veriler göz önüne alındığında, betain bakımından zengin bir diyetin, sağlıklı insanlar üzerinde kardiyovasküler hastalık riskini azaltabileceği fikri ortaya atılmış olup aynı zamanda karaciğer rahatsızlıkları ve ateroskleroz gibi patojenik durumlarda da betainin yararlı bir bileşik olabileceği belirtilmiştir (Olthof vd., 2003, 2005; Schwahn vd.,

2007; Lv vd., 2009; Kim vd., 2009; Jung vd., 2013; Zhang vd., 2016; Day ve Kempson, 2016).

## 2.5. Kafein

Kafein, başlıca kahve çekirdekleri, çay yaprakları, kakao çekirdekleri ve bazı bitkilerde bulunan doğal bir alkaloid bileşiktir (Murphy ve Benjamin, 1981; IARC, 1991; Dlugosz ve Bracken, 1992; Carrillo ve Benitez, 1996). Kafeinin dikkat, hafıza ve duyum gibi çeşitli beyin fonksiyonlarını etkileyen ve dünya çapında oldukça fazla tüketilen bir merkezi sinir sistemi uyarıcısı olduğu bildirilmiştir (Tsunoda vd., 2018).



Şekil 2.5. Kafeinin kimyasal yapısı.

Kafeinin temel bileşeni olan ksantin, üç metil grubu ile birleşerek kimyasal olarak şekillenir ve bu nedenle kafein sistematikte 1,3,7-trimetilksantin olarak adlandırılmıştır (Şekil 2.5.) (Blanchard ve Sawers, 1983).

### 2.5.1. Kafein Kaynakları

Kafeinin dünya çapında 63 bitkinin tohum ve meyvesinde bulunduğu tespit edilmiştir (Ensminger vd., 1995). Yaygın olarak kafein, kahve ve kakao çekirdekleri, çay yaprakları ve kola gibi içeceklerde bulunur. Bunların yanı sıra farmakolojik olarak aktif bir madde olan kafein, ağrı kesici ilaçlar, soğuk algınlığı veya grip ilaçları, zayıflama ilaçları ve bazı reçeteli ilaçların içeriğinde de yer alır (Murphy ve Benjamin, 1981; IARC, 1991; Dlugosz ve Bracken, 1992; Carrillo ve Benitez, 1996). Tablo 2.2.'de bazı içecekler, gıda maddeleri ve ilaçlardaki kafein miktarı verilmiştir.

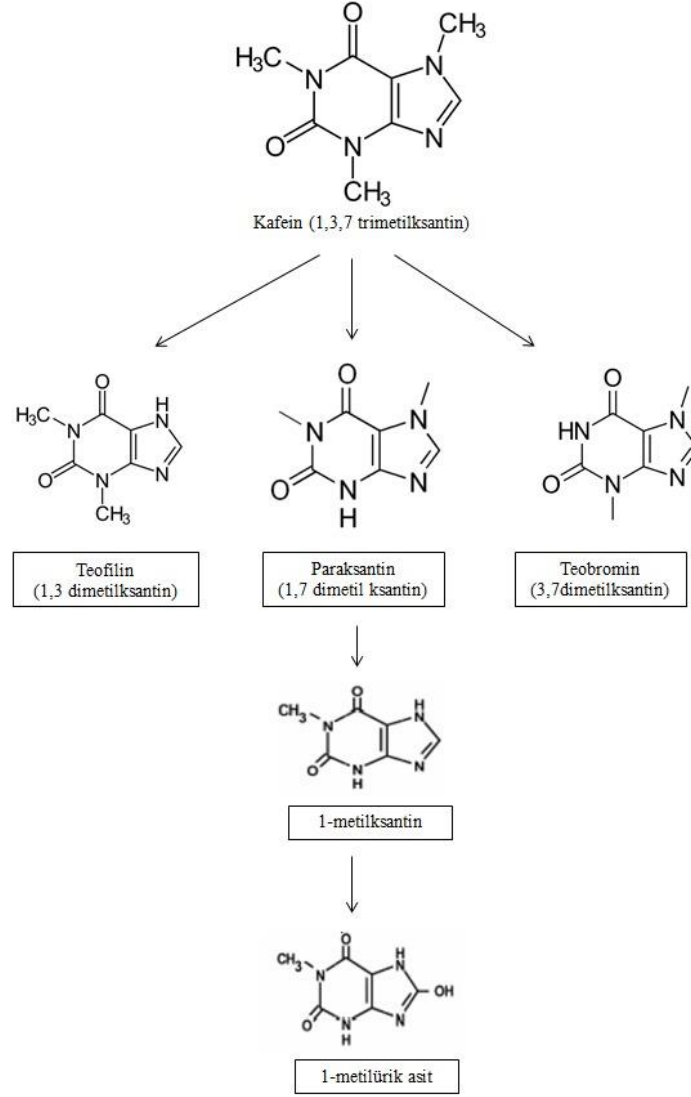
**Tablo 2.2.** Bazı İçecekler, Gıda Maddeleri ve İlaçlardaki Kafein Miktarı (Dlugosz ve Bracken, 1992; Barone ve Roberts, 1996; Shils vd., 1999; Tanda ve Goldberg, 2000).

<b>Maddeler</b>	<b>Kafein Miktarı</b>
Demlenmiş kahve	56-100 mg/100 ml
Hazır kahve ve Çay	20-73 mg/100 ml
Kola	9-19 mg/100 ml
Kakao ve çikolatalı yiyecekler	30-100 mg/ tablet-kapsül
Bazı ilaçlar	15-200 mg/ tablet-kapsül

Kahve ve çaydaki kafein içeriği, hazırlama yöntemine, kullanılan çay ya da kahvenin markasına ve servis kabının boyutuna bağlı olarak da farklılık göstermektedir (Stavric vd., 1988).

### **2.5.2. Kafein Metabolizması**

Kafein metabolizmasının primer bölgesi karaciğerdir (Stavric ve Gilbert, 1990; Arnaud, 1999). Kafein, vücuda alındıktan sonra gastrointestinal sistemden hızlı bir şekilde kan dolaşımına geçer ve tamamen emilir. 1-1.5 saat içerisinde kandaki kafein miktarı maksimum seviyeye ulaşır (Berger, 1988; Arnaud, 1999).



**Şekil 2.6.** İnsanlarda kafein metabolizması (Tang vd., 1987; Campbell, 1987; Nolen, 1989).

Kafein ilk adım olarak hepatic sitokrom enzimi tarafından demetilasyona uğratarak dimetilksantinlere metabolize edilir. Burada dimetilksantinlerin ana primer metaboliti paraksantindir. Daha düşük oranlarda ise Şekil 2.6.'da gösterilen teofilin ve teobromin primerleri meydana gelir. Paraksantin ana metabolitinden demetilasyon yolu ile 1-metilksantin ve 1-metilürük asit oluşur (Tang vd., 1987; Campbell, 1987; Nolen, 1989).

Kafeinin yarılanma ömrü ise cinsiyet, yaş, hamilelik ve sigara kullanma gibi faktörlere bağlı olarak 2-12 saat arasında değişkenlik gösterir. Sigara kullanan bireylerde

kafeinin elimine edilme oranının 2 kat arttığı gözlemlenmiştir (Aranda vd., 1979; Dalvi, 1986; Gilbert vd., 1986; Scott vd., 1989; Stavric ve Gilbert, 1990; James, 1991; Dlugosz ve Bracken, 1992; Eskenazi, 1993; Hinds vd., 1996; Arnaud, 1999; Karen, 2000).

### **2.5.3. Kafeinin Etki Mekanizmaları**

Kafeinin etkili olduğu mekanizmalar arasından adenozin reseptörlerine, merkezi sinir sistemine, kardiyovasküler sisteme, solunum sistemine ve endokrin sisteme ayrı başlıklar altında aşağıda yer verilmiştir.

#### **2.5.3.1. Adenozin Reseptörleri**

Kafeinin etki ettiği en önemli mekanizma, adenozin reseptörlerinin antagonizmasıdır (Fredholm, 1985). Adenozin, siklik adenozin monofosfat (cAMP)'ın hücrel konsantrasyonlarını arttırabilen ya da azaltabilen A1 ve A2 gibi farklı reseptörlere etki eden, lokal olarak salınan bir pürin hormondur. Adenozin reseptörleri, kardiyovasküler, solunum ve gastrointestinal sistemler ile beyin, böbrek ve yağ dokusunda bulunur (Lathia ve Benowitz, 1990). Kafeinin A1 ve A2 olmak üzere her iki adenozin reseptörünü seçici olmayan bir şekilde bloke ettiği ve kafeini diyetel olarak alan kişilerde kafein konsantrasyonlarının adenozinin etkilerini inhibe ettiği bildirilmiştir (Lathia ve Benowitz, 1990).

#### **2.5.3.2. Merkezi Sinir Sistemi**

Kafeinin bilinen temel özelliklerinden biri uyanık kalma süresini arttırması ve mental yorgunluğu azaltmasıdır. Düzenli olarak günlük hafif dozlarda kafein tüketen kişilerin, daha iyi bir zihinsel aktiviteye sahip oldukları bildirilmiştir (Smith, 2002). Ancak daha yüksek dozlarda kafein alınması durumunda ise uzun süre uykusuzluk, endişe, titreme ve nöbet geçirme gibi olumsuzluklar meydana gelebilir (Mathew ve Wilson, 1985).

#### **2.5.3.3. Kardiyovasküler Sistem**

Kafeinin etkileri üzerine yapılan bir çalışmada, iki fincan kahvede bulunan kafein dozunun, kan basıncını yaklaşık 5-10 mmHg yükselttiği, kalp atış hızını arttırdığı ve epinefrin, norepinefrin ve renin hormonlarının salınımına neden olduğu bildirilmiştir (Robertson vd., 1978; Pincomb vd., 1985).



Başka bir çalışmadan elde edilen sonuçlara göre ise kafeinin, karaciğer ve mezenterik kan akışını azalttığı ve postprandiyal ortostatik hipotansiyonlu hastalar üzerinde yararlı etkilere sahip olduğu ortaya çıkarılmıştır (Onrot vd., 1985, 1986).

Ayrıca kafeinin hem glomerüler filtrasyon oranını arttırarak hem de sodyum ve suyun yeniden tübüler emilimini inhibe ederek sodyum ve sudaki renal atılımı arttırdığı da bilinmektedir (Smits vd., 1985).

#### **2.5.3.4. Solunum Sistemi**

Kafeinin, medüller merkezi karbondioksite duyarlı hale getirerek solunum hızını arttırdığı tespit edilmiştir (Murat vd., 1981). Kafeinin, kronik obstrüktif akciğer hastalığı olan hastalarda minimum ventilasyonu arttırdığı ve astımı olan hastalarda ise bronkodilatör (astım ilacı sınıfı) görevinde rol oynadığı ortaya çıkarılmıştır (Gong vd., 1986).

#### **2.5.3.5. Endokrin ve Metabolik Etkiler**

Kafeinin endokrin ve metabolik etkilerine bakıldığında, uzun süre kafein tüketimi sonucunda, kafeinin lipit metabolizmasını etkileyebileceği düşünülmektedir (Yokogoshi vd., 1983). Epidemiyolojik çalışmalar, düzenli kahve tüketimi ile artmış serum kolesterol arasında bir ilişki olduğunu ortaya çıkarmıştır (Williams vd., 1985; Davis vd., 1988).

Kafeinin, dolaşım sistemindeki ağırlıklı olarak epinefrin olmak üzere katekolaminlerin, plazmadaki renin aktivitesinin, serbest yağ asitlerinin ve kortizolün metabolik hızını ve kandaki glikoz seviyelerini arttırdığı gözlemlenmiştir (Robertson vd., 1978; Jung vd., 1981).

#### **2.5.4. Kafein Toksisitesi**

Direkt olarak kafein alımına bağlı gerçekleşen klinik vakalar yaygın olmamakla birlikte, günde 1000 mg'dan fazla kafein tüketiminin kişiler üzerinde toksik etkiler ortaya çıkarabileceği bildirilmiştir (Mikkelsen, 1978; Stavric vd., 1988; James, 1991).

Yetişkinlerde kafein toksisitesi, sinirlilik hali, uykusuzluk, duyuusal rahatsızlıklar, diürez, aritmi, taşikardi ve gastrointestinal rahatsızlıklar gibi geniş klinik semptomlara neden olabilir. Çocuklarda ise şiddetli kusma, taşikardi, merkezi sinir sistemi ajitasyonu ve diürez ile karakterizedir (Stavric vd., 1988; James, 1991).

Yenidoğan bebeklerin kordon kanında önemli miktarda kafein bulunmaktadır (Hoff, 1982). Hamilelik döneminde fazla miktarda kafein tüketen annelerin bebeklerinde,

irritabilite, titreme ve kusmadan oluşan yenidoğan yoksunluğu sendromu meydana gelebileceği belirtilmiştir (McGowan vd., 1988).

### 2.5.5. Kafein ve Hastalıklar

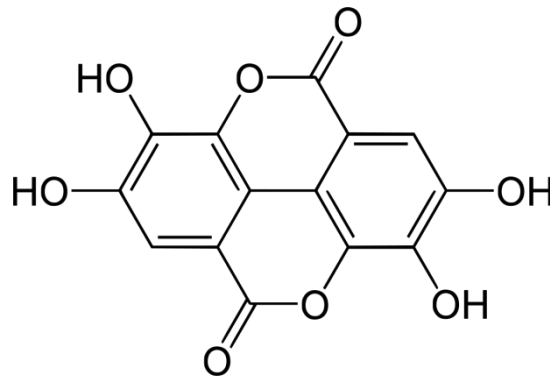
Günümüzde kafein ve hastalıklara ilişkin başlıca sağlık sorunları, koroner kalp hastalıkları, üreme bozuklukları ve psikiyatrik bozukluklardır. Bunlara ilaveten kafeinin semptomimetik ve analjezik ilaçlarla olan etkileşiminin kardiyovasküler sistem ve böbrek hasarlarına neden olabileceği bildirilmiştir. Kafein ve kanser ilişkisine bakıldığında ise kafeinin doğrudan kanser oluşumuna neden olduğuna dair net bulgular yoktur (Lathia ve Benowitz, 1990).

### 2.6. Ellajik Asit

Epidemiyolojik çalışmalar, meyve ve sebze içeriklerinde bulunan fitokimyasalların günlük diyet ile alınması durumunda, sağlık ve refahı artırmanın yanı sıra kanser gibi çeşitli kronik patolojik risklerin azaltılmasında da yararlı olabileceğini ortaya çıkarmıştır (Block vd.,1992; Weisburg vd., 2013).

Odunsu bitkiler, çeşitli meyveler, kuruyemişler ve damıtılmış içeceklerde bulunan ellajik asit fenolik bir bileşiktir (Talcott ve Lee, 2002). Şekil 2.7.'de ellajik asitin kimyasal yapısı verilmiştir.

Ellajik asit gibi fenolik fitokimyasalların oksidatif stresin olumsuz etkilerini doğrudan bir antioksidan gibi hareket ederek veya hücrel antioksidan enzim sistemlerini indükleyerek işlev gösterdiği düşünülmektedir (Vattem ve Shetty, 2004).



Şekil 2.7. Ellajik asitin kimyasal yapısı.

### 2.6.1. Ellajik Asit Kaynakları

Ellajik asit, bitkilerdeki hücre çeperi ve hücre zarının yapısal bileşenlerinden biri olan ve ellajitaninler olarak adlandırılan hidrolizlenebilir tanenler formunda bulunur. Ellajitaninler, hidroliz edildiklerinde ellajik asidi meydana getiren, ellajik asit içerikli glikoz esterleridir (Marwan ve Nagel, 1986; Chen vd., 2001).

Nar, ahududu, böğürtlen, çilek, kırmızı üzüm çekirdeği, ceviz, badem ve yeşilçay yüksek oranda ellajik asit içeriğine sahip olan besinlerdir (Landete, 2011; Weisburg vd., 2013). Bunun yanı sıra şarap ve üzüm suyu gibi damıtılmış içecekler de ellajik asit içeriğine sahiptir (Seeram vd., 2004).

Bitki kökenli besinlerin yapıtaşları olan fenolik bileşikler, beslenmedeki temel antioksidanları temsil etmekte olup günlük diyetle alımlarının yaklaşık 1 g olduğu belirtilmiştir (Scalbert ve Williamson, 2000).

### 2.6.2. Ellajik Asit Metabolizması

Ellajik asit metabolizması ile ilgili yapılan bir çalışmada, ratlara verilen ellajik asit dozunun %10'unun metabolit olarak emilerek idrar ve dışkı ile atıldığı gözlemlenmiştir (Doyle ve Griffiths, 1980). Sonrasında yapılan başka bir çalışmada ise yüksek dozda ellajik asit verilen farelerde emilimin %28 olduğu tespit edilmiştir (Teel ve Martin, 1988). Seeram, Lee ve Heber'in (2004) in vivo olarak insanlar üzerinde yürüttüğü bir araştırmada, nar suyunu tüketen kişilerde, ellajik asitin plazmada 1 saatlik postresyondan sonra maksimum konsantrasyonda tespit edilip 4 saat içinde hızlı bir şekilde emildiği gözlemlenmiştir. Bu nedenle insan plazmasındaki serbest ellajik asit varlığının fizyolojik pH ve bağırsak mikrobiyotası ile kolaylaştırılan ellajitaninlerin hidrolizi sonucunda salınabileceği düşünülmektedir (Seeram vd., 2004).

Ellajitaninler, in vivo fizyolojik koşullar altında ellajik asite hidrolize edilir ve ellajik asit daha sonra farklı ürolitinler üretmek için bağırsak mikrobiyotası tarafından kademeli olarak metabolize edilir (Landete, 2011).

Ürolitin A, ürolitin B, hidroksi ürolitin A, ürolitin A-glüküronid ve dimetil ellajik asit-glüküronid ellajik asit türevli metabolitlerdir (Talcott vd., 2006). Ürolitinlerin, kolon kanser hücrelerinin proliferasyonunu inhibe ettiği, hücre döngüsünün durdurulmasını uyardığı ve MAPK (mitojenle aktiveleştirilmiş protein kinaz sinyal yolağı) in vitro sinyalleşme gibi kolon kanseri gelişimi ile bağlantılı anahtar hücresel süreçleri modüle ettiği vurgulanmıştır (Larrosa vd., 2006; González-Sarriás vd., 2009).

### 2.6.3. Ellajik Asit Fonksiyonları

Radikalleri yok etme aktivitesi, kemopreventif ve anti-viral aktiviteler, kanser oluşumunu inhibe etme ve apoptozu indükleme gibi önemli biyolojik fonksiyonlarda ellajik asidin rol oynadığı belirtilmiştir (Xu vd., 2003; Seeram vd., 2004; Losso vd., 2004; Weisburg vd., 2013). Ellajik asit ile ilgili yapılan in vitro çalışmalarda, pankreas, meme, prostat bezi, lösemi, nöroblastom ve kolon kanseri gibi kanser hücrelerinin büyümesini inhibe ettiği tespit edilmiştir (Losso vd., 2004; Edderkaoui vd., 2008; Fjaeraa ve Nanberg, 2009; Hagiwara vd., 2010). Bu fonksiyonların yanı sıra ellajik asidin, matriks metaloproteinazları ve vasküler endotel büyüme faktörü ekspresyonunu düzenlediği de düşünülmektedir (Losso vd., 2004). Ayrıca antioksidan aktivite, östrojenik ve anti-östrojenik etkiler, anti-inflamatuar, antimikrobiyal ve prebiyotik fonksiyonlar için de ellajik asit önemli bir yere sahiptir (Landete, 2011).

### 2.6.4. Ellajik Asit İle İlgili Yapılan Deneysel Çalışmalar

Cozzi ve diğerlerinin yapmış olduğu bir çalışma sonucunda, ellajik asit aracılığıyla hidrojen peroksite karşı gözlenen sitogenetik korumanın, reaktif serbest radikallerin (ROS) uzaklaştırılması ile olabileceği öne sürülmüştür (Cozzi vd., 1995). Buna bağlı olarak da ellajik asidin koruyucu etkileri DNA bağlanması, ROS üretiminin inhibe edilmesi ve DNA'nın alkilasyon hasarından korunması gibi faktörlere dayandırılmıştır (Barch vd., 1996).

Ellajik asidin, Salmonella TA 98 ve TA100 test suşlarında aflatoksin B1 tarafından indüklenen mutajenezi inhibe ettiği bulunmuştur (Soni vd., 1997). Başka bir çalışmada ise ellajik asidin hem in vivo hem de in vitro olarak karbon tetra klorüre karşı hepatoprotektif aktivite sergilediği tespit edilmiştir (Singh vd., 1999).

Ellajik asit uygulaması ratların lenfositlerinde radyasyona bağlı olarak meydana gelen DNA kırılmalarını da önler. Ayrıca hücre döngüsünün G1'de tutuklanmasını indükleyerek hücrenin bölünmesini inhibe eder ve tümör hücrelerindeki apoptozu indükler (Arayanan vd., 1999).

Chen ve diğerleri, ellajik asidin ve diğer fenolik türevlerinin anti-tümör etkisinin, tümör promotörleri için bir reseptör görevinde olan protein kinaz C'nin bir redoks modifikasyonunun indüklenmesi aracılığı ile olabileceğini öne sürmüştür (Chen vd., 2000).

Ayrıca ellajik asidin, lipit peroksidasyonunu azaltmada ve glutasyonu arttırmada etkili olduğu bulunmuştur. Bunun glutasyonun hücre içi sentezini indükleme ve redükte glutasyonu yeniden üretme yoluyla olabileceği düşünölmektedir (Khanduja vd., 1999).



### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

Bu tez çalışması, Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Hayvan Deneyleleri Yerel Etik Kurulu'nun 390 no'lu etik kurul kararı ile gerçekleştirilmiştir. Tez çalışmasına yönelik deneyler ise, Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Deneysel Araştırma Laboratuvarı, Fen Edebiyat Fakültesi Biyokimya ve PCR Laboratuvarları'nda yapılmıştır.

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. *Mus musculus* (Swiss albino)'nun genel özellikleri

Günümüzde laboratuvar ortamında deney hayvanı olarak sıklıkla tercih edilen fareler, tarla ve ambarlarda yaşayan yabani ev faresi *Mus musculus*'tan köken almıştır. *Mus musculuslar*, küçük boyutlarda olmaları, üzerinde kolay bir şekilde uygulama yapmaya elverişli olmaları, fizyolojik olarak insanlara benzer özellikler taşımaları ve diğer deney hayvanlarına oranla nispeten daha az maliyetli olmaları nedeniyle bilimsel araştırmalarda sıklıkla tercih edilmektedir. Genel olarak antikor, ilaç, kanser, aşı gibi biyomedikal çalışmaların yanı sıra birçok biyolojik ve tıbbi araştırmalarda da *Mus musculus*'tan yararlanılır (Petter, 1976; Morse, 1981; Weber ve Olsson, 2008).

Bu çalışmada *Mus musculus*'un bir çeşidi olan swiss albino fareler kullanılmıştır.

##### 3.1.2. Örneklerin Temin Edilmesi

49 adet erkek swiss albino fare, Süleyman Demirel Üniversitesi Deney Hayvanları Üretimi ve Deneysel Araştırma Laboratuvarı'ndan, 6.12.2018 tarihinde temin edilmiştir.

##### 3.1.3. Çalışmada Kullanılan Cihazlar

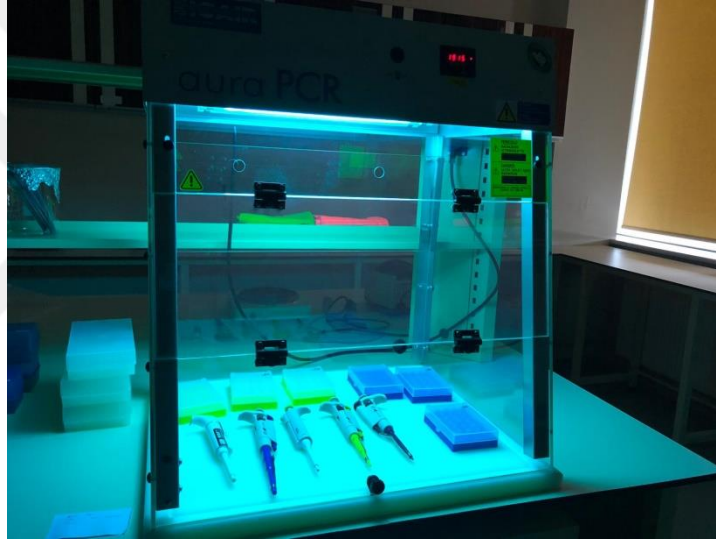
Termal döngü cihazı (Biorad C1000 Touch), vorteks (Dragon Lab Mx-f), santrifüj (Hettich), mini santrifüj (WiseSpin CF-10), manyetik karıştırıcı (WiseStir MSH-20A), doku homojenizatörü (Qiagen), aura PCR kabini (Bioair), mikropilaka çalkalayıcı inkübatörü (Zhwy-2000), mikropilaka okuyucu (Thermo), spektrofotometre (PG T70 UV/VIS), otoklav (Alp) ve derin dondurucu (Arçelik).

### 3.1.4. Çalışmada Kullanılan Malzemelerin ve Ortamın Hazırlanması

Çalışmada kullanılan diğer araç ve gereçler ise pipet uçları, ependorf tüpler, PCR tüpleri, cam tüpler, cam şişeler, beher, erlen, mezür, tek kullanımlık petripler, plastik ölçü kapları, raklar, makas, pens ve bistürüdür.

Pipet uçları, ependorf, cam ve PCR tüpleri, çözeltiler, cam malzemeler, metal malzemeler ve ısıya dayanıklı diğer malzemeler çalışmadan önce 121 °C'de 20 dk 1 atm basınçta otoklavlanarak sterilize edilmiştir.

Çalışma öncesinde, DNaz ve RNaz kontaminasyonuna engel olmak için çalışılan ortamın, kullanılan malzemelerin ve kullanılan kit solüsyonlarının steril olmasına dikkat edilmiştir.



**Şekil 3.1.** Aura PCR kabininde sterilizasyon.

Bunun yanı sıra pipetler, pipet uçları, tüpler ve raklar aura PCR cihazında UV ışık altında sterilize edilmiştir. (Şekil 3.1.) Bu çalışmada ultra saf su kullanılmıştır. Kit solüsyonları aliquotlara ayrılarak kontaminasyon riskine karşı laboratuvardaki diğer reaktif komponentlerinden uzak tutulmuştur. Çalışmada kullanılan ısıya dayanıklı tüm malzemeler otoklavlanmıştır. Çalışma sırasında steril eldiven, maske, önlük kullanılmıştır. Çalışmanın güvenliği açısından filtreli pipet uçları tercih edilmiştir.

## 3.2. Yöntem

### 3.2.1. Deneysel Hayvanların Bakımı

Süleyman Demirel Üniversitesi Deneysel Hayvanları Üretimi ve Deneysel Araştırma Laboratuvarı'ndan temin edilen 2.5-4.5 aylık, 49 adet ergin erkek fareler, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Deneysel Hayvanları Üretim ve Deneysel Araştırma Laboratuvarı'na getirilerek 7 gün boyunca alışma sürecine bırakılmıştır. Bu süreçte farelere, sadece normal pellet yem ve su verilmiştir. Şekil 3.2.'de farelerin aklimatizasyon ortamı gösterilmiştir.



Şekil 3.2. Farelerin aklimatizasyon ortamı.

### 3.2.2. Betain, Kafein ve Ellajik Asit Çözeltilerinin Hazırlanması

Farelere verilecek olan betain dozu, 180 mg/kg ve 90 mg/kg olarak belirlenmiştir. Bu doz farelere 10 µL sıvı içerisinde verilecek şekilde betain çözeltisi saf su içerisinde hazırlanmıştır. Kafein dozu ise 30 mg/kg ve 15 mg/kg olarak belirlenmiş ve yine 10 µL sıvı içerisinde verilmek üzere DMSO-yağ sıvılarında çözülerek kafein çözeltisi hazırlanmıştır. Son olarak ellajik asit dozu da 40 mg/kg olarak belirlenmiştir. Diğer çözeltiler gibi ellajik asit çözeltisi de 10 µL sıvı içerisinde verilecek şekilde DMSO sıvısında çözülerek hazırlanmıştır.

Betain, kafein ve ellajik asit çözeltilerinin dozları belirlenirken, bu bileşiklerin insanlar tarafından gıdalarla alınabilecek sınırlar içerisinde kalmasına dikkat edilmiştir. Kafein ile fareler üzerinde yapılan çalışmalarda genellikle 5-60 mg/kg arası dozlar kullanılmıştır. Bizim kullandığımız 30 mg/kg ve 15 mg/kg'lık dozlar yaklaşık 9 bardak ve 4,5 bardak filtre kahve ile insanların alabileceği dozlardır (Stavric vd., 1988; James, 1991; Dlugosz ve Bracken, 1992; Barone ve Roberts, 1996; Shils vd., 1999; Tanda ve Goldberg,



2000). Literatürde betain ile yapılan çalışmalarda dozlar, 50-1000 mg/kg arasında değişmekle birlikte çoğunlukla 100-200 mg/kg'lık dozlar kullanılmıştır (Zeisel, 2003; Craig, 2004; Kathirvel vd., 2010; Preedy, 2015). Ellajik asit ise literatür taramalarımızda 3 mg/kg ile 1000 mg/kg arasında değişen dozlarda kullanılmıştır (Marwan ve Nagel, 1986; Scalbert ve Williamson, 2000 Chen vd., 2001; Landete, 2011; Weisburg vd., 2013).

### 3.2.3. Farelerin Gruplandırılması ve Uygulamalar

Alışma süresi sonunda fareler, her kafeste 6, sadece bir kafeste 7 fare olacak şekilde 8 gruba ayrılmıştır. İçerisinde farelerin bulunduğu kafesler de bu gruplara uygun bir şekilde etiketlenmiştir. 30 gün boyunca her gün bu gruplandırmaya uygun bir şekilde betain, kafein, ellajik asit çözeltileri ve kontrol grubuna ait sıvılar farelere verilmiştir. Şekil 3.3.'te farelere ajanların nasıl verildiği gösterilmiştir.

Farelere, deney hayvanları çalışma prensiplerine uygun olarak el tutuş tekniği uygulanmıştır. Hayvanların olabildiğince strese maruz bırakılmamasına dikkat edilmiş ve gerekli hassasiyet gösterilmiştir. Ajanlar, farelere ağızdan otomatik pipet ile verilmiş olup, betain doz 1, kafein doz 1 ve ellajik asit sıvıları 10 µL, betain doz 2 ve kafein doz 2 sıvıları 5 µL ve kontrol DMSO ile kontrol DMSO-yağ sıvıları 7 µL'lik hacimde verilmiştir. Farelere verilen dozlar Tablo 3.1'de belirtilmiştir.

**Tablo 3.1.** Farelere verilen günlük betain, kafein ve ellajik asit dozları.

Ajan	Gruplardaki Fare Sayısı	Doz
Betain Doz 1	6	180 mg/kg
Betain Doz 2	6	90 mg/kg
Kafein Doz 1	6	30 mg/kg
Kafein Doz 2	6	15 mg/kg
Ellajik Asit	6	40 mg/kg
Kontrol DMSO (çözücü 1)	6	-
Kontrol DMSO-Yağ (çözücü 2)	7	-
Kontrol (-)	6	-



**Şekil 3.3.** Farelere ajanların verilmesi.

#### **3.2.4. Farelerin Diseksiyonu**

Diseksiyon işlemi Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Deneysel Araştırma Laboratuvarı'nın operasyon odalarında gerçekleştirilmiştir. Diseksiyon öncesi farelere eter anestezisi uygulanmıştır. Baygın bireyler köpük üzerine sırt üstü formda yatırılarak kol ve bacak kısımlarından iğne ile sabitlenmiştir. Göğüs boşluğu bistüri, pens ve makas yardımıyla açılmıştır. Karaciğer dokusu, içerisinde serum fizyolojik çözeltisi bulunan bir petriye alınarak perfüze edilmiştir. Her deneğe aynı işlemler uygulanarak sonraki işlemlerde kullanılmak üzere dokular ayrı ayrı ependorf tüplere alınmış ve derin dondurucuda saklanarak ertesi gün doku ekstraktları hazırlanmıştır.

Karaciğer dokularının kullanılmasının sebebi, farelerde en yüksek telomerez aktivitesinin, karaciğer ve testis dokularında bulunmasıdır (Prowse ve Greider, 1995).

#### **3.2.5. Kit Prosedürünün Uygulanması**

Bu araştırmada, Roche Telomerase PCR-ELISA kiti kullanılmıştır. Uygulamalar kit prosedüründe yer alan talimatlara göre gerçekleştirilmiştir.

#### **3.2.6. Doku Ekstraktlarının Hazırlanması**

200  $\mu$ L soğuk lizis tamponu koyulan ependorf tüplere karaciğer doku örnekleri eklenerek homojenitör ile parçalama işlemi uygulanmıştır. Bu işlem sonrasında lizatlar buz

üzerinde 30 dk'lık inkübasyon sonrasında 9500 rpm'de 20 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası lizatlardan 175 µL süpernatant kısım temiz ependorf tüplere alınarak TRAP PCR işlemine kadar derin dondurucuda saklanmıştır.

### 3.2.7. TRAP PCR

TRAP PCR işlemi aura PCR kabininde ve buz üzerinde yapılmıştır. Her PCR tüpüne 25 µL reaksiyon karışım solüsyonu ve 3 µL doku ekstraktı konulmuştur. Pozitif kontrol tüpleri için başlangıçta, 20 µL ultra saf su ile pozitif kontrol doku ekstraktı solüsyonu seyreltilip pozitif kontrol için bu seyreltilmiş solüsyon kullanılmıştır. Negatif kontrol tüpleri, pozitif kontrol doku ekstraktı solüsyonuna RNaz eklenerek hazırlanmıştır. Daha sonra 50 µL total hacmi sağlayacak şekilde, kontrol tüplerine 24 µL, diğer tüplere ise 22 µL ultra saf su eklenerek PCR işlemine hazır hale getirilmiştir.

**Tablo 3.2.** Termal döngü periyodu.

PCR Basamakları	Sıcaklık	Zaman	Döngü sayısı
Primer uzatma	25°C	20 dk	1
Telomeraz inaktivasyonu	94 °C	5 dk	1
<b>Amplifikasyon İşlemleri</b>			
Denatürasyon	94 °C	30 sn	25
Annealing (Bağlanma)	50 °C	30 sn	
Polimerizasyon	72 °C	90 sn	
Son Uzama	72 °C	10 dk	1

Tablo 3.2'de gösterilen şekilde PCR işlemi tamamlanmıştır. PCR ürünleri bir sonraki gün yapılacak olan ELISA prosedüründe kullanılmak üzere derin dondurucuda bekletilmiştir.

### 3.2.8. ELISA

Reaksiyon tüplerine 10 µL denatürasyon ayırıcı solüsyonu ve 2,5 µL amplifikasyon ürünü eklenerek tüpler, 25 °C'de 10 dk inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra tüplere 100 µL hibridizasyon tamponu eklenmiş ve her bir tüp kısaca vortekslenmiştir. Sonrasında kit içerisinde bulunan mikro plaka kuyucuklarına karışımdan 100 µL konularak çalkalamalı inkübatörde 37 °C 300 rpm'de 2 saat inkübe edilmiştir.

İnkübasyondan sonra kuyucuklardan hibridizasyon solüsyonunu uzaklaştırmak için 250 µL yıkama tamponu ilave edilerek 30 sn boyunca kuyucuklarda bekletilmiş ve yıkama işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu işlem 3 kez tekrarlandıktan sonra kuyucuklara, DIG işaretli problemleri tespit etmek için kullanılan antibody konjugatı olan anti-DIG-HRP çalışma solüsyonundan 100 µL eklenerek 25 °C 300 rpm'de 30 dk inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası 5 kez yapılan yıkama işlemi sonrasında HRP enzim katalizörlüğünde renk değiştiren, kromojenik bir substrat olan TMB solüsyonundan kuyucuklara 100 µL ilave edilmiş ve 25 °C 300 rpm'de 20 dk inkübe edilmiştir.

ELISA prosedürünün son aşamasında ise kuyucuklara 100 µL stop solüsyonu eklenerek 450 nm ve 690 nm'de mikro plaka okuyucu spektrofotometre ile 2 ölçüm yapılmıştır.

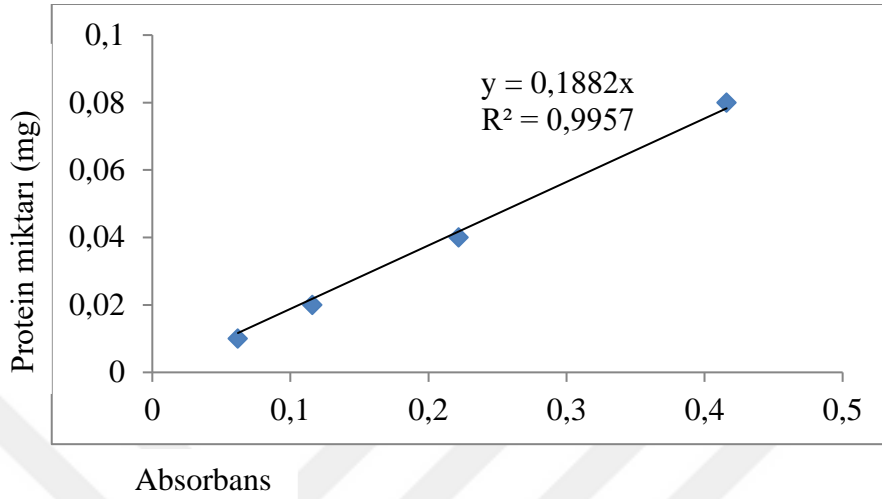
### 3.2.9. Lowry Protein Tayini

Lowry yöntemi kullanılarak doku ekstraktlarına protein tayini yapılmıştır. Başlangıçta 0,4 g NaOH 100 ml distile su içerisinde çözdürülerek bu karışıma 2 g Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> ilave edilerek ilk çözelti hazırlanmıştır. Sonrasında 0,2 g Na,K tartrat 10 ml distile suda ve 0,1 g Cu<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ise 10 ml distile suda çözülerek diğer çözeltiler hazırlanmıştır. Bu 3 çözelti 100:1:1 oranında sırasıyla karıştırılarak taze karışım A elde edilmiştir.

Her tüpe 2,5 ml karışım A ve 10 µL doku ekstratlarından eklenerek 2 kez vorteks yapılarak tüpler 10 dk bekletilmiştir. Folin ciocalteu solüsyonu, distile su ile 1:1 oranında dilüe edilerek her tüpe 250 µL eklenmiş ve tekrar 2 kez vorteks yapılmıştır. Lowry metodu, peptit bağları tarafından indirgenmiş olan bakır iyonlarının folin ciocalteu reaktifi ile reaksiyonu temeline dayanır. Vorteks sonrası tüpler karanlık bölmede 45 dk bekletilmiş ve 695 nm'de spektrofotometrede absorbans ölçümü yapılmıştır.

### 3.2.10. Protein Miktarının Hesaplanması

Protein tayini için BSA standartları ile yapılan grafik, Şekil 3.4.'de gösterilmiştir. Bu grafiğe göre her örneğin protein miktarı hesaplanmıştır.



Şekil 3.4. Protein standart grafiği.

### 3.2.11. Relatif Telomeraz Aktivitesinin Hesaplanması

Relatif telomeraz aktivitesi (RTA) değerleri, ELISA işleminden sonra mikro plaka okuyucu spektrofotometrede okunan absorbans değerlerinin protein miktarlarına bölünüp 100 ile çarpılmasıyla hesaplanmıştır.

### 3.2.12. İstatistik Testler

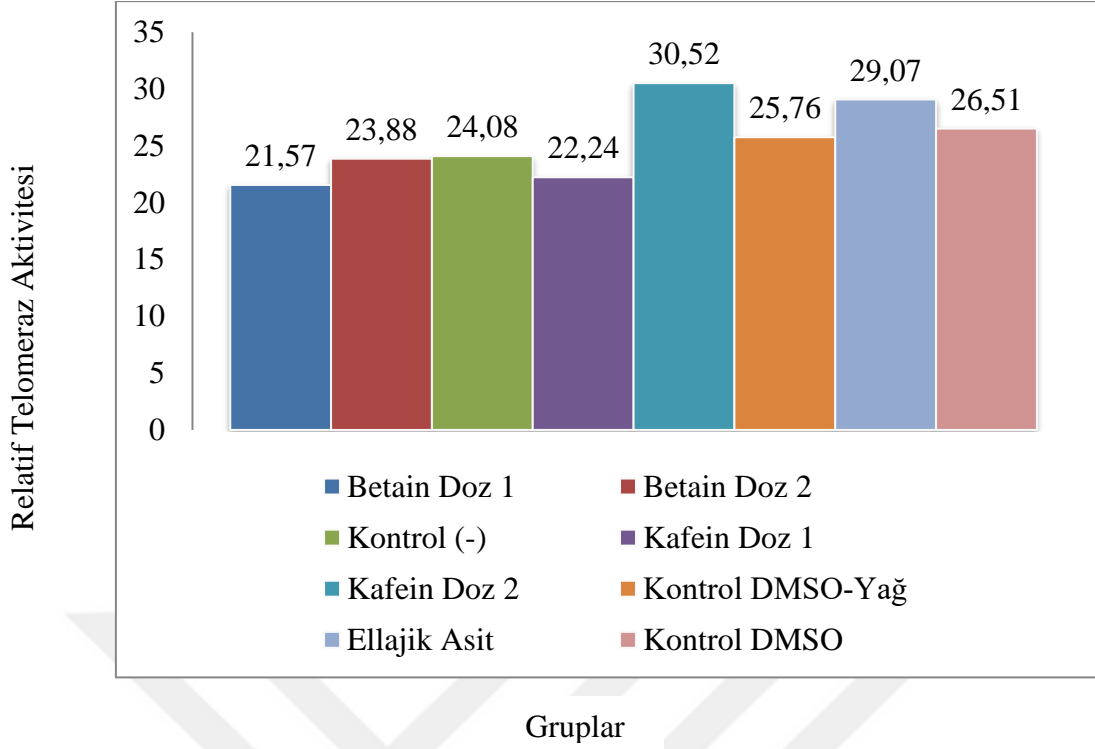
İstatiksel analizler için minitab programı kullanılarak, Mann-Whitney, KruskalWallis ve Mood's Median non-parametrik testleri uygulanmıştır.

#### 4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Relatif telomeraz aktivitesi sonuçları değerlendirilirken, her grup için uygulanan bileşik, hem kendi çözücüsü hem de hiçbir şey verilmeyen kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. Ayrıca aynı bileşiğin iki farklı dozunun da karşılaştırması yapılmıştır. Mann-Whitney testi ile yapılan istatistiksel analizler sonucunda kafeinin yüksek dozu ile kafeinin düşük dozu uygulanan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Ayrıca betain yüksek doz ve betain düşük doz; kontrol ve ellajik asit; kontrol ve çözücü 2 grupları arasında da Mood's Median testine göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark ortaya çıkmıştır ( $p<0,05$ ). Relatif telomeraz aktivitesi sonuçları Tablo 4.1 ve Şekil 4.1 de görülmektedir.

**Tablo 4.1.** Gruplardaki relatif telomeraz aktivitesi.

<b>Grup</b>	<b>Relatif Telomeraz Aktivitesi <math>\pm</math> SH</b>
Betain Doz 1	21.57 $\pm$ 1.1.5
Betain Doz 2	23.88 $\pm$ 0.88
Kafein Doz 1	22.24 $\pm$ 1.31
Kafein Doz 2	30.52 $\pm$ 2.77
Ellajik Asit	29.07 $\pm$ 1.86
Kontrol DMSO (çözücü 1)	26.51 $\pm$ 1.52
Kontrol DMSO-Yağ (çözücü 2)	25.76 $\pm$ 1.01
Kontrol (-)	24.08 $\pm$ 1.36



**Şekil 4.1.** Relatif telomeraz aktivitesi.

Sonuçlara bakıldığında zaman, ortalamaları birbirinden oldukça farklı görünen bazı grupların, istatistiksel analizlerde  $p < 0,05$  düzeyinde farklı çıkmamalarının sebebi olarak, bireysel varyasyonlar düşünülebilir. Her ne kadar laboratuvar fareleri uzun yıllar kendileşen soylardan oluşuyor olsalar da bireysel varyasyonlar her zaman söz konusudur ve genetik polimorfizmin sonucu olarak, bazı biyolojik özellikler açısından oldukça yüksek varyasyonlar gözlenebilmektedir (Paigen vd., 1985; Sellers vd., 2011).

Telomeraz enzim aktivitesi, yaşlanma sürecinde, kanserde ve kök hücrelerde oldukça önemlidir (Jiang vd., 2018). Fare, zebra balığı ve maya gibi çeşitli organizmalarda telomer kısalmasının, genomik kararsızlık ve ömür uzunluğu ile bağlantılı olduğu tespit edilmiştir (Blasco, 1997; Hemann, 2001). Yaş artışı gibi biyolojik olgular, erken yaşlanma sendromu gibi genetik hastalıklar veya özellikle stres gibi olumsuz çevresel faktörlerin etkisi ile hem proliferatif hem de anti-proliferatif hücrelerde telomer kısalması meydana gelir. Hücre bölünmesinin ardından, kritik bir uzunluk noktasına ulaşan telomerler kıalmaya başlar ve buna bağlı olarak organizmadaki yaşlanma süreci aktif hale gelir. Yaşlanma sürecinde, fonksiyonel hücrelerin kaybı, hayatta kalan ve anormal şekilde hasar gören hücrelerin birikmesiyle rejeneratif kapasite ve dokularda fonksiyon bozukluğu

meydana gelir (Olovnikov, 1996; Shay ve Wright, 2001; Granger vd., 2002; Ural, 2006; De Jesus ve Blasco, 2013).

İnsan vücudunda belirli dokulardaki hücrelerin kontrolsüz olarak çoğalmasıyla karakterize bir hastalık olan kanserin tedavisinde, telomeraz enzimi önemli bir rol oynamaktadır. Kanserli hücrelerin sınırsız olarak çoğalması, çoğunlukla telomeraz ekspresyonu ile gerçekleşmektedir. Kötü huylu tümörlerin, hemen hemen tüm spektrumlarında telomeraz aktivitesinin pozitif olduğu kanıtlanmıştır. İyi huylu tümörlerin ise çoğunun, sınırlı çoğalma kapasitesi ve yaşlanma ile paralellik gösteren telomeraz inaktivasyonu ile karakterize olduğu tespit edilmiştir (Olovnikov, 1996; Shay ve Wright, 2001; Granger vd., 2002; Ural, 2006; De Jesus ve Blasco, 2013).

Yaşlanma ve kanserde özellikle önemli olan telomeraz araştırmaları ile ilgili odak noktası olan konulardan biri de telomeraz inhibisyonu ve aktivasyonudur. Telomeraz inhibisyonu için deneysel ve klinik çalışmalar, nükleotitler ve nükleosit tipi ters transkriptaz inhibitörleri tarafından inhibisyon, nükleosit olmayan küçük moleküller tarafından doğrudan inhibisyon, telomeraz aktivitesinin oligonükleotid inhibitörleri, gen terapi, telomeraz spesifik fosforilasyon inhibitörleri, G-kuadrupleks stabilizörleri gibi birçok farklı şekillerde gerçekleştirilmektedir (Mutlu, 2017; Shay ve Wright, 2002; Saretzki, 2003; Tarkanyi ve Aradi, 2008; Buseman vd., 2012).

Bu tez çalışmasında telomeraz enzimi üzerine etkileri araştırılan betain, kafein ve ellajik asit molekülleri ile ilgili yapılmış olan ve literatürde yer alan klinik ve deneysel pek çok çalışma vardır. Fakat bu bileşiklerden kafein ve betainin telomeraz enzimi üzerine etkileri hakkında literatürde herhangi bir bilgi yer almamaktadır. Ellajik asitin telomeraz aktivitesine etkisi ile ilgili olarak da az sayıda makale mevcuttur.

Glisin amino asitinin bir türevidir ve temelde bir metil donörü olarak görev yapan betain, proteinlerin sentezi, enerji metabolizması ve kreatin sentezi gibi metabolik işlemlerde transmetilasyon reaksiyonları için önemlidir (Ratriyanto vd., 2009; Mahmoudnia ve Madani, 2012). Metilasyon için gerekli olan betainin eksikliği durumunda, genetik instabilite, yaşlanma ve kanser gibi olumsuzlukların ortaya çıkabileceği belirtilmiştir (Newberne ve Rogers, 1986; Cooney, 1993; Blount vd., 1997). Bunun yanı sıra betainin, mitokondriye bağımlı hücre ölümünü ve apoptozu engellediği ortaya çıkarılmıştır (Graf vd., 2002; Ji ve Kaplowitz, 2003; Garrett vd., 2013). Ayrıca betainin antioksidan ve antiinflamatuvar özellikler ile hepatoprotektif potansiyele sahip olduğu ve epigenetik modifikasyonda da rol oynadığı düşünülmektedir (Kim vd., 2009; Ueland, 2011; Jung, 2013; Chen vd., 2015; Day ve Kempson, 2016).



Bu tez çalışmasından elde edilen sonuçlara göre, betain özellikle yüksek dozunda telomeraz enzimini hafifçe inhibe etmektedir fakat bu inhibisyon istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bu tez çalışmasında farelere verilen dozların, özellikle günlük yaşamımızda herhangi bir yan etki göstermeden alabileceğimiz dozlar olmasına dikkat edilmiştir. Belki daha yüksek dozlar uygulansaydı, betainden kaynaklanan telomeraz inhibisyonunun daha belirgin hale geldiği görülebilirdi.

Farmakolojik olarak aktif bir bileşen olan kafein, çay, yeşilçay, kahve ve kakao gibi bitkisel ürünlerin yanı sıra günümüzde piyasada satılan birçok nöroaktif ilacın da içeriğinde yer almaktadır. Kafeinin, uyarma, zihinsel dinamikliği ve enerji potansiyelini artırma ve yorgunluk hissini azaltma gibi nörotransmitter etkilerine ilaveten birçok önemli biyolojik etkileri de vardır. Örneğin, kas gücü ve koordinasyonu üzerine olumlu etkilere sahip olan kafeinin, egzersiz sırasında substrat kullanımını etkileyerek yağ asitlerinin mobilizasyonunu arttırdığı için glikojen utilizasyonuna olan bağımlılığı da azalttığı bildirilmiştir. Buna ilaveten hücre döngüsü fonksiyonlarını etkilediği ve programlanmış hücre ölümü ile apoptozu indüklediği kanıtlanmıştır. Bode ve Dong (2007) yaptıkları bir araştırmada kafeinin düşük dozlarının apoptozu indüklediğini belirtmişlerdir. Kafeinin biyolojik etkilerinin yüksek (milimolar) ve düşük (mikromolar) arasında değişen dozlarına bağlı olarak fonksiyon gösterdiğine dair yapılan birçok çalışma vardır (Denaro vd., 1991; Nehlig vd., 1992; Bode ve Dong, 2007; Akça vd., 2018).

Bu tez çalışmasında, kafeinin hem yüksek ve düşük dozu arasında hem de kendi taşıyıcısı olan çözücü 2 kontrol grubu arasında oldukça farklı sonuçlar ortaya çıkmıştır. Kafein yüksek dozunun, telomeraz enzim aktivitesi üzerinde inhibitör bir etkiye sahip olduğu, düşük dozunun ise aktivatör bir etkiye sahip olduğu söylenebilir. Telomeraz üzerinde aktivatör ve inhibitör etkisi olduğu tespit edilen pek çok doğal bileşikte de buna benzer durumlar gözlenmiştir. Örneğin, deve diken bitkisinin içeriğinde bulunan silimarinin telomeraz aktivitesi üzerine etkileri araştırıldığında, hem yüksek ve düşük dozlarında, hem de kanserli ve kanserli olmayan hücreler üzerinde farklı etkiler gösterdiği tesbit edilmiştir. K562 lösemi hücre hattı, silimarin ile muamele edilmiş ve telomeraz aktivitesinin inhibe edilmesi sağlanmıştır. Ancak kanserli olmayan endotelial hücrelerde ise silimarinin telomeraz üzerinde aktivatör etkisinin olduğu gözlemlenmiştir. Benzer bir durum özellikle üzüm çekirdeğinin içeriğinde bulunan resveratrol bileşiği için de söylenebilir. Resveratrolün, bazı kanser hücrelerinde telomeraz aktivitesini inhibe ettiği ancak epitelial ve endotelial progenitör hücrelerde ise telomerazı aktive ettiği saptanmıştır. Yine resveratrol, düşük dozlarında telomeraz aktivatörü olarak etki

gösterirken, yüksek dozlarında ise telomeraz inhibitörü olarak davranmaktadır (Mutlu, 2017). Bu tez çalışmasında da, kafeinin telomeraz aktivasyonu ve inhibisyonu ile ilgili olarak doza bağlı bir etki gösterdiği ortaya çıkartılmıştır.

Fenolik bir bileşik olan ellajik asitin ise radikalleri yok etme, kemopreventif ve antiviral etki gösterme, kanser oluşumunu inhibe etme ve apoptozu indüklemeye gibi önemli fonksiyonlarda etkili olduğu tespit edilmiştir (Xu vd., 2003; Seeram vd., 2004; Losso vd., 2004; Weisburg vd., 2013). Ellajik asitin fonksiyonları üzerine yapılan in vitro çalışmalarda, pankreas, meme, prostat bezi, lösemi, nöroblastom ve kolon kanseri gibi kanser hücrelerinin büyümesini inhibe ettiği gösterilmiştir (Losso vd., 2004; Edderkaoui vd., 2008; Fjaeraa ve Nanberg, 2009; Hagiwara vd., 2010).

Ellajik asitin telomeraz enzim ekspresyonuna etkisi ile ilgili literatürde yapılmış bir adet çalışma vardır. Bu çalışmada MCF-7 kanser hücre hattında, çalışmada verilen ellajik asit dozunun telomerazın katalitik alt birimi olan hTERT ifadesini baskıladığı gösterilmiştir. Diğer pek çok doğal bileşik gibi, ellajik asit de kanserli ve normal hücrelerde veya düşük ve yüksek dozlarda farklı etki gösteriyor olabilir (Strati vd., 2009).

Bu tez çalışmasında elde edilen sonuçlara göre ise, uyguladığımız dozda ellajik asit, taşıyıcısı olan çözücü 1 kontrol grubu ile kıyaslandığında, telomeraz aktivitesini arttırmaktadır fakat bu aktivasyon istatistiksel olarak  $p < 0,05$  düzeyinde değildir. Bunun sebebi olarak, bireysel varyasyonların standart hata üzerine etkisini düşünmekteyiz.

## 5. SONUÇ

Yaşam koşullarının gün geçtikçe değişmesiyle birlikte sağlıklı ve düzensiz beslenme alışkanlıkları, sedental yaşam tarzı, stres, sigara ve alkol kullanımı, çevre kirliliği ve teknolojinin bir dezavantajı olan radyasyona maruz kalma gibi olumsuz faktörler oldukça artmaktadır. Bu faktörlerin bir sonucu olarak da günümüzde hastalıkların sayısında artış meydana gelmekte olup, kişilerin sağlıklarını koruyabilmeleri oldukça zorlaşmaktadır.

Kardiyovasküler hastalıklar, diyabet ve çeşitli kronik rahatsızlıkların yanı sıra kanser de, üzerinde en çok araştırmalar yapılan, birçok tedavi yöntemi geliştirilen ve farklı korunma yolları önerilen bir hastalıktır. Kanser ile ilgili en sık tercih edilen tedavi yöntemi kemoterapi ve radyoterapidir. Ancak bu tedavi yöntemleri hastalar üzerinde farklı yan etkilere sebep olduğu için, bunlara alternatif olabilecek pek çok tedavi yöntemi geliştirilmektedir. İşte telomeraz enzimi bu noktada önemli bir hedef haline gelmiştir.

Telomeraz enziminin keşfiyle birlikte, bu enzimin biyolojik fonksiyonları ile ilgili birçok bilimsel araştırma literatürde yerini almıştır. Kanser oluşum mekanizmaları incelendiğinde, kanser hücrelerinin sınırsız bölünme yeteneklerini telomeraz enzimi sayesinde kazandıkları tespit edilmiştir. Bu nedenle kanser tedavisinde telomeraz aktivitesinin inhibisyonu sağlanarak kanser hücrelerinin yok edilebildiği ile ilgili birçok klinik vaka örneği bulunmaktadır.

Ancak telomeraz enziminin fonksiyonu, sadece kanser hücrelerinin sınırsız bölünme yeteneği kazanmaları ile sınırlandırılmamalıdır. Şöyle ki, her hücre bölünmesi sonucunda kromozomların uç kısımlarında yer alan, art arda gelen dizilimlerden oluşan ve telomer adı verilen yapıların kısalması sonucunda hücre yaşlanma meydana gelmektedir. Yaşlanmanın moleküler mekanizmaları araştırıldığında, telomer ve telomeraz aktivitesi oldukça önemli bir yere sahiptir. Yaşlanma sürecini yavaşlatmak ve hücre yaşlanmanın önüne geçebilmek için telomeraz aktivasyonu üzerinde durulmaktadır. Bu nedenle telomeraz hem kanserde hem de yaşlanmada kilit bir rol oynadığı için hedef bir enzim olmuştur.

Telomeraz inhibisyonu ve aktivasyonu ile ilgili yapılan çalışmalar sonucunda, sentetik bileşiklerin yanı sıra doğada bulunan birçok bitkisel bileşiğin telomeraz üzerinde, aktivatör veya inhibitör etki sağlayan modifikatörler olabileceği ispatlanmıştır. Bu tez çalışmasında etkileri araştırılan betain, kafein ve ellajik asit de, elde edilen sonuçlara göre bitkisel kaynaklı telomeraz modifikatörleridir. Tartışma bölümünde de değinildiği gibi,

bitkisel kaynaklı telomeraz modifikatörlerinin etkileri dozlarına bağılı olarak değişkenlik göstermektedir.

Bu tez çalışmasından elde edilen sonuçlar göz önüne alındığında, günlük beslenme rutinine kişisel sağlık fonksiyonları dikkate alınarak betain, kafein ve ellajik asit içeriğine sahip olan yiyecekler veya içeriğinde bu bileşiklerin bulunduğu besin destekleri bir hekim ya da beslenme uzmanı denetiminde eklenebilir.



## KAYNAKLAR

- Aguilar, C.D., 2018. Effect of exercise and hypoxia on plasma telomerase. The Graduate College The University of Nevada, Las Vegas.
- Akça, F., Aras, D., Arslan, E., 2018. Kafein, etki mekanizmaları ve fiziksel performansa etkileri. *Spormetre*, 16(1): 1-12.
- Apicella, J.M., Lee, E.C., Bailey, B.L., Saenz, C., Saenz, J.M., Anderson, S.A., Craig, W.J., Kraemer, J.S., Volek, C.M., 2013. Maresh, betaine supplementation enhances anabolic endocrine and Akt signaling in response to acute bouts of exercise. *European Journal of Applied Physiology*, 113, 793–802.
- Aranda, J.V., Collinge, J.M., Zinman, R., Watters, G., 1979. Maturation of caffeine elimination in infancy. *Archives of Disease in Childhood*, 54, 946–949.
- Arayanan, B.A., Geoffroy, O., Nixon, D.W., 1999. P53/p21 (WAF1/CIP1) expression and its possible role in G1 arrest and apoptosis in ellagic acid treated cancer cells. *Cancer Letters*, 136, 215–221.
- Armanios, M., Blackburn, E.H., 2012. The telomere syndromes. *Nature Reviews Genetics*, 13, 693–704.
- Arnaud, M. J., 1999. Caffeine: chemistry and physiological effects. *Encyclopedia of Human Nutrition*, 206– 214.
- Artandi, S.E., Depinho, R.A., 2010. Telomeres and telomerase in cancer. *Carcinogenesis*, 31, 9–18.
- Attia, Y., R., Hassan, M., Shehatta, Abd-El-Hady, S. B., 2005. Growth, carcass quality and serum constituents of slow growing chicks as affected by betaine addition to diets containing 2. Different levels of methionine. *Poultry Science*, 4, 856–865.
- Bachand, F., Ibtissem, T., Autexier, C., 2001. Human telomerase RNA-protein interactions. *Nucleic Acids Research*, 29, 3385-3393.
- Bailey, R.L., Gahche, J.J., Lentino, C.V., Dwyer, J.T., Engel, J.S., Thomas, P.R., Betz, J.M., Sempos, C.T., Picciano, M.F., 2011. Dietary supplement use in the United States, 2003–2006. *Journal of Nutrition*, 141(2): 261–266.
- Bailey, R.L., Gahche, J.J., Miller, P.E., Thomas, P.R., Dwyer, J.T., 2013. Why US adults use dietary supplements. *JAMA Internal Medicine*, 173(5): 355–361.
- Balsano, C., Alisi, A., 2009. Antioxidant effects of natural bioactive compounds. *Current Pharmaceutical Design*, 15, 3063-3073.
- Barch, D.H., Rundhaugen, L.M., Stoner, G.D., Pillay, N.S., Rosche, W.A., 1996. Structure function relationships of the dietary anticarcinogen ellagic acid. *Carcinogenesis*, 17, 2650-2659.

- Barone, J.J., Roberts, H.R., 1996. Caffeine consumption. *Food and Chemical Toxicology*, 34, 119–129.
- Belair, C.D., Yeager, T.R., Lopez, P.M., et al., 1997. Telomerase activity: a biomarker of cell proliferation, not malignant transformation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94, 13677–13682.
- Berger, A., 1988. Effects of caffeine consumption on pregnancy outcome: a review. *Journal of Reproductive Medicine*, 33, 945–956.
- Best, C.H., Ridout, J.H., Lucas, C.C., 1969. Alleviation of dietary cirrhosis with betaine and other lipotropic agents. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 47, 73–9.
- Blackburn, E. H., Szostak, J. W., 1984. The molecular structure of centromeres and telomeres. *Annual Review of Biochemistry*, 53, 163–194.
- Blackburn, E. H., 1990. Telomeres and their synthesis. *Science*, 249, 489–490.
- Blackburn, E.H., 1991. Structure and function of telomeres. *Nature*, 350, 569–573.
- Blackburn, E.H., 1991. Telomeres. *TIBS*, 16, 378–381.
- Blackburn, E.H., 2001. Switching and signaling at the telomere. *Cell*, 106, 661–673.
- Blanchard, J., Sawers, S.J., 1983. The absolute bioavailability of caffeine in man. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 24(1): 93–98.
- Blasco, M.A., 2003. Mammalian telomeres and telomerase: why they matter for cancer and aging. *European Journal of Cell Biology*, 82, 441–446.
- Blasco, M.A., 2005. Telomeres and human disease: ageing, cancer and beyond. *Nature Reviews Genetics*, 6, 611–622.
- Block, G., Patterson, B., Subar, A., 1992. Fruit, vegetables and cancer prevention: a review of the epidemiological evidence. *Nutrition and Cancer*, 18, 1–29.
- Blount, B.C., Mack, M.M., Wehr, C.M., et al., 1997. Folate deficiency causes uracil misincorporation into human DNA and chromosome breakage: implications for cancer and neuronal damage. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94, 3290–5.
- Boccardi, V., Paolisso, G., 2014. Telomerase activation: a potential key modulator for human healthspan and longevity. *Ageing Research Review*, 15, 1–5.
- Bode, A.M., Dong, Z., 2007. The enigmatic effects of caffeine in cell cycle and cancer. *Cancer Letters* 247, 26–39.

- Botha, M., Grace, L., Bugarith, K., Russell, V. A., Kidd, M., Seedat, S., Hemmings, S. M. J., 2012. The impact of voluntary exercise on relative telomere length in a rat model of developmental stress. *BMC Research Notes*, 5(1): 697.
- Bronzwaer, S., 2008. EFSA scientific forum “from safe food to healthy diets”. EU risk assessment—Past, present and Future. *Trends in Food Science and Technology*, 19, 2-8.
- Buseman, C.M., Wright, W.E., Shay, J.W., 2012. Is telomerase viable target in cancer. *Mutation Research*, 730, 90–97.
- Caetano, M.C., Ortiz, T.T., da Silva, S.G., de Souza, F.I., Sarni, R.O., 2010. Complementary feeding: inappropriate practices in infants. *The Journal of Pediatrics*, 86.
- Campbell, M.E.S., Spielberg, S.P., Kalow, W., 1987. A urinary metabolite ratio that reflects systemic caffeine clearance. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 42, 157-65.
- Can, M.İ., Aslan, A., 2014. Yaşlanmanın moleküler temelleri. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 30(2):107-112.
- Carrillo, J.A., Benitez, J., 1996. CYP1A2 activity, gender and smoking, as variables influencing the toxicity of caffeine. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 41, 605–608.
- Cencic, A., Chingwaru, W., 2010. The role of functional foods, nutraceuticals, and food supplements in intestinal health. *Nutrients*, 2, 611-625.
- Cencic, A., Chingwaru, W., 2010. antimicrobial agents deriving from indigenous plants. *RPFNA*, 2, 83-92.
- Chen, C., Yu, R., Owuor, E.D., Kong, A.N., 2000. Activation of antioxidant-response element (ARE), mitogen-activated protein kinases (MAPKs) and caspases by major green tea polyphenol components during cell survival and death. *Archives of Pharmacal Research*, 23, 605-612.
- Chen, H., Zuo, Y., Deng, Y., 2001. Separation and determination of flavonoids and other phenolic compounds in cranberry juice by highperformance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 13;913(1–2), 387–395.
- Chen, J., Zhou, X., Wu, W., Wang, X., Wang, Y., 2015. FTO dependent function of N6-methyladenosine is involved in the hepatoprotective effects of betaine on adolescent mice. *Journal of Physiology and Biochemistry*, 71, 405–413.
- Collins, K., 2000. Mammalian telomeres and telomerase. *Current Opinion in Cell Biology*, 12, 378-383.
- Cong, Y-S., Wright, W.E., Shay, J.W., 2002. Human telomerase and its regulation. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 66, 407-425.

- Cooney, C.A., 1993. Are somatic cells inherently deficient in methylation metabolism? A proposed mechanism for DNA methylation loss, senescence and aging. *Growth, Development and Aging*, 57, 261–73.
- Courtenay, E.S., Capp, M.W., Anderson, C.F., Record, Jr, M.T., 2000. Vapor pressure osmometry studies of osmolyte-protein interactions: implications for the action of osmoprotectants in vivo and for the interpretation of “osmotic stress” experiments in vitro. *Biochemistry*, 39, 4455–71.
- Cozzi, R., Ricordy, R., Bartolini, F., Ramadori, L., Perticone, P., De Salvia, R., 1995. Taurine and ellagic acid: two differently acting natural antioxidants. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 26, 248-254.
- Craig, S.A., 2004. Betaine in human nutrition. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 80(3): 539–549.
- Dalvi, R.R., 1986. Acute and chronic toxicity of caffeine: a review. *Veterinary and Human Toxicology*, 28, 144–150.
- Davis, B. R., Curb, J. D., Borhani, N. O., Prineas, R. J., Molteni, A., 1988. Coffee consumption and serum cholesterol in the Hypertension Detection and Follow-up Program. *American Journal of Epidemiology*, 128: 124-36.
- Day, C.R., Kempson, S.A., 2016. Betaine chemistry, roles, and potential use in liver disease. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1860, 1098-106.
- De Jesus, B.B., Vera, E., Schneeberger, K., Tejera, A.M., Ayuso, E., Bosch, F., Blasco, M.A., 2012. Telomerase gene therapy in adult and old mice delays aging and increases longevity without increasing cancer. *EMBO Molecular Medicine*, 4, 691–704.
- De Jesus, B.B., Blasco, M.A., 2013. Telomerase at the intersection of cancer and aging. *Trends in Genetics*, 29, 513–520.
- Denaro, C.P., Brown C.R., Jacob III, R., Benowitz, N. L., 1991. Effects of caffeine with repeated dosing. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 40, 273-278.
- Dickinson, A., Douglas MacKay, D., 2014. Health habits and other characteristics of dietary supplement users: a review. *Nutrition Journal*, 13(14): 1-8.
- Dlugosz, L., Bracken, M.B., 1992 Reproductive effects of caffeine: a review and theoretical analysis. *Epidemiologic Reviews*, 14, 83–100.
- Doyle, B., Griffiths, L.A., 1980. The metabolism of ellagic acid in the rat. *Xenobiotica*, 10, 247–256.
- Edderkaoui, M., Odinkova, I., Ono, I., Gukovsky, I., Go, V.L.W., Pandol, S.J. Gukovskaya, A.S., 2008. Ellagic acid induces apoptosis through inhibition of nuclear factor  $\kappa$ B in pancreatic cancer cells. *World Journal of Gastroenterology*, 14, 3672-3680.



- Ejaz, A., Martinez-Guino, L., Goldfine, A.B., Ribas-Aulinas, F., De Nigris, V., Ribo, S., Gonzalez-Franquesa, A., Garcia-Roves, P.M., Li E., Dreyfuss, J.M., Gall, W., Kim, J.K., Bottiglieri, T., Villarroya, F., Gerszten, R.E., Patti, M.E., Lerin, C., 2016. Dietary betaine supplementation increases Fgf21 levels to improve glucose homeostasis and reduce hepatic lipid accumulation in mice. *Diabetes*, 65(4): 902–912.
- Eklund, M., Bauer, E., Wamatu, J., Mosenthin, R., 2005. Potential nutritional and physiological functions of betaine in livestock. *Nutrition Research Reviews*, 18, 31-48.
- Eklund, M., Mosenthin, R., Tafaj, M., Wamatu., J., 2006. Effects of betaine and condensed molasses solubles on nitrogen balance and nutrient digestibility in piglets fed diets deficient in methionine and low in compatible osmolytes. *Archives of Animal Nutrition*, 60, 289–300.
- Ensminger, A.H., Ensminger, M.E., Konlande, J.E., Robson, J.R.K., 1995. The concise encyclopedia of foods nutrition. *Crc Press. Boca London*, 136-137.
- Epel, E.S., Blackburn, E.H., Lin, J., Dhabhar, F.S., Adler, N.E., Marrow, J.D., Cawthon, R.M., 2004. Accelerated telomere shortening in response to life stress. *PNAS*, 101(49): 17312-17315.
- Eskenazi, B., 1993. Caffeine during pregnancy: grounds for concern. *Journal of the American Medical Association*, 270, 2973–2974.
- Fjaeraa, C., Nanberg, E., 2009. Effect of ellagic acid on proliferation, cell adhesion and apoptosis in SH-SY5Y human neuroblastoma cells. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 63, 254-261.
- Foote, J.A., Murphy, S.P., Wilkens, L.R., Hankin, J.H., Henderson, B.E., Kolonel, L.N., 2003. Factors associated with dietary supplement use among healthy adults of five ethnicities: the Multiethnic Cohort Study. *American Journal of Epidemiology*, 157(10): 888–897.
- Fredholm, B.B., 1985. On the mechanism of action of theophylline and caffeine. *Acta Medica Scandinavica*, 217, 149-53.
- Garrett, Q., Khandekar, N., Shih, S., Flanagan, J.L., Simmons, P., Vehige, J., Willcox, M.D.P., 2013. Betaine stabilizes cell volume and protects against apoptosis in human corneal epithelial cells under hyperosmotic stress. *Experimental Eye Research*, 108, 33–41.
- Geyikli, İ., Bayıl, S., Çiçek H., 2007. Yaşlanma ve telomeraz. *Türk Klinik Biyokimya Dergisi* 5(3): 111-115.
- Gilbert, S.G., So, Y., Klassen, R., Geoffroy, S., Stavric, B., Rice, D., 1986. Elimination of chronically consumed caffeine in the pregnant monkey (*Macaca fascicularis*). *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 239, 891–897.

- Glousker, G., Touzot, F., Revy, P., Tzfati, Y., Savage, S.A., 2015. Unraveling the pathogenesis of Hoyeraal-Hreidarsson syndrome, a complex telomere biology disorder. *British Journal of Haematology*, 170, 457–471.
- Glousker, G., Lingner, J., 2018. When telomerase causes telomere loss. *Developmental Cell*, 44, 281-283.
- Gong, H., Simmons, M. S., Tashkin, D. P., Hui, K. K., Lee, E. Y., 1986. Bronchodilator effects of caffeine in coffee. *Chest*, 89, 335-42.
- González-Sarrías, A., Azorín-Ortuño, M., Yáñez-Gascón, M.J., Tomás-Barberán, F.A., García-Conesa, M.T., Espín, J.C. 2009. Dissimilar in vitro and in vivo effects of ellagic acid and its microbiota-derived metabolites, urolithins, on the cytochrome P450 1A1. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(12): 5623–5632.
- Graf, D., Kurz, A.K., Reinehr, R., Fischer, R., Kircheis, G., Häussinger, D., 2002. Prevention of bile acid-induced apoptosis by betaine in rat liver. *Hepatology*, 36, 829–839.
- Granger, M.P., Wright, W.E., Shay, J.W., 2002. Telomerase in cancer and aging. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 41, 29–40.
- Greider, C.W., Blackburn, E.H., 1996. Telomeres, telomerase and cancer. *Scientific American*, 2, 92-97.
- Greider, C.W., 1999. Telomeres do D-loop-T-loop. *Cell*, 97, 419-422.
- Hagiwara, Y., Kasukabe, T., Kaneko, Y., Niitsu, N., Okabe-Kado, J., 2010. Ellagic acid, a natural polyphenolic compound induces apoptosis and potentiates retinoic acid-induced differentiation of human leukemia HL-60 cells. *International Journal of Hematology*, 92, 136-143.
- Haslam, D.W., James, W.P., 2005. Obesity. *Lancet* 366, 1197-1209.
- Haussinger, D., 1996. The role of cellular hydration in the regulation of cell function. *Biochemical Journal*, 313, 697–710.
- Hinds, T.S., West, W.I., Knight, E.M., Harland, B.F., 1996. The effect of caffeine on pregnancy outcome variables. *Nutrition Reviews*, 54, 203–207.
- Hiyama, E., Hiyama, K., 2007. Genetic and epigenetic modulation of telomerase activity in development and disease. *British Journal of Cancer*, 96, 1020–1024.
- Hodes R., 2001. Molecular targeting of cancer: telomeres as targets. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98, 7649-7651.
- IARC, 1991. Caffeine IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. *International Agency for Research on Cancer*, 51, 291–390.

- James, J. E., 1991. Caffeine and health, edited by J.E. James. *Academic Press*, London, 63–95.
- James, J.E., 1991. Pharmacology of caffeine. *Academic Press*, London, 19–41.
- Ji, C., Kaplowitz, N., 2003. Betaine decreases hyperhomocysteinemia, endoplasmic reticulum stress, and liver injury in alcohol-fed mice. *Gastroenterology*, 124 (5): 1488–1499.
- Jiang, J., Wang, Y., Susac, L., Chan, H., Basu, R., Zhou, Z.H., Feigon, J., 2018. Structure of telomerase with telomeric DNA. *Cell*, 173, 1179–1190.
- Jung, R. T., Shetty, P. S., James, W. P. T., Barrand, M. A., Callingham, B. A., 1981. Caffeine: its effect on catecholamines and metabolism in lean and obese humans. *Clinical Science*, 60, 527-35.
- Jung, Y.S., Kim, S.J., Kwon, D.Y., Ahn, C.W., Kim, Y.S., Choi, D.W., et al., 2013. Alleviation of alcoholic liver injury by betaine involves an enhancement of antioxidant defense via regulation of sulfur amino acid metabolism. *Food and Chemical Toxicology*, 62, 292-8.
- Karen, G., 2000. Caffeine during pregnancy? In moderation. *Canadian Family Physician*, 46, 801–803.
- Karp, G., 1999. DNA replication and repair. In: *Cell and Molecular Biology*.: John Wiley & Sons, 2nd ed. New York, NY, 575-607.
- Kathirvel, E., Morgan, K., Nandgiri, G., Sandoval, B.C., Caudill, M.A., Bottiglieri, T., French, S.W., Morgan, T.R., 2010. Betaine improves nonalcoholic fatty liver and associated hepatic insulin resistance: a potential mechanism for hepatoprotection by betaine. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 299, G1068–G1077.
- Kelland, L., 2007. Targeting the limitless replicative potential of cancer: the telomerase/telomere pathway. *Clinical Cancer Research*, 13, 4960–4963.
- Khanduja, K.L., Gandhi, R.K., Pathania, V., Syal, N., 1999. Prevention of N nitrosodiethylamine-induced lung tumorigenesis by ellagic acid and quercetin in mice. *Food and Chemical Toxicology*, 37, 313–318.
- Kidd, M.T., Ferket, P.R., Garlich, J.D., 1997. Nutritional and osmoregulatory functions of betaine. *World's Poultry Science Journal*, 53.
- Kim. S., Kaminker, P., Campisi, J., 1999. TIN2, a new regulator of telomere length in human cells. *Nature Genetics*, 23, 405-412.
- Kim, S.K., Seo, J.M., Chae, Y.R., Jung, Y.S., Park, J.H., Kim, Y.C., 2009. Alleviation of dimethylnitrosamine-induced liver injury and fibrosis by betaine supplementation in rats. *Chemico-Biological Interactions*, 177, 204-11.

- Kim, W., Ludlow, A. T., Min, J., Mender, I., Lai, T., Zhang, N., Stadler, G., 2016. Regulation of the human telomerase gene TERT by telomere position effect over long distances (TPE-OLD): implications for aging and cancer. *PLOS Biology*, 14(12): 1-25.
- Koziel, J.E., Fox, M.J., Steding, C.E., Sprouse, A.A., Herbert, B-S., 2011. Medical genetics and epigenetics of telomerase. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 15(3): 457-467.
- Landete, J.M., 2011. Ellagitannins, ellagic acid and their derived metabolites: a review about source, metabolism, functions and health. *Food Research International*, 44, 1150–1160.
- Larrosa, M., Tomás-Barberán, F.A., Espín, J.C., 2006. The dietary hydrolysable tannin punicalagin releases ellagic acid that induces apoptosis in human colon adenocarcinoma Caco-2 cells by using the mitochondrial pathway. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 17, 611–625.
- Lever, M., George, P.M., Atkinson, W., Molyneux, S.L., Elmslie, J.L., Slow, S., Richards, A.M., Chambers, S.T., 2011. Plasma lipids and betaine are related in an acute coronary syndrome cohort. *PLoS One*, 6(7): e21666.
- Lever, M., Storer, M.K., Lewis, J.G., George, P.M., Chambers, S.T., 2012. Plasma betaine concentrations correlate with plasma cortisol but not with C-reactive protein in an elderly population. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 50, 1635–1640.
- Levy, M.Z., Allsopp, R.C., Futcher, A.B., Greider, C.W., Harley, C.B., 1992. Telomere end-replication problem and cell aging. *Journal of Molecular Biology*, 225, 951-960.
- Lim, S.S., Vos, T., Flaxman, A.D., et al., 2012. A comparative risk assessment of burden of disease and injury attributable to 67 risk factors and risk factor clusters in 21 regions, 1990-2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet*, 2224–2260.
- Losso, J.N., Bansode, R.R., Trappey II, A., Bawadi, H.A., Truax, R., 2004. In vitro anti-proliferative activities of ellagic acid . *Journal of Nutritional Biochemistry*, 15, 672-678.
- Lv, S., Fan, R., Du, Y., Hou, M., Tang, Z., Ling, W., et al., 2009. Betaine supplementation attenuates atherosclerotic lesion in apolipoprotein E-deficient mice. *European Journal of Nutrition*, 48, 205-12.
- Mahmoudnia, N., Madani, Y., 2012. Effect of betaine on performance and carcass composition of broiler chicken in warm weather-a review. *International Journal of Agricultural Science*, 2, 675–683.
- Marleen, A., Lentjes H., 2018. The balance between food and dietary supplements in the general population. *Proceedings of the Nutrition Society*, 1-13

- Marwan, A.G., Nagel, C.W., 1986. Characterization of cranberry benzoates and their antimicrobial properties. *Journal of Food Science*, 51, 1069–1070.
- Mathew, R.J., Wilson, W.H., 1985. Caffeine induced changes in cerebral circulation. *Stroke*, 16 814-17.
- Matteoni, C.A., Younossi, Z.M., Gramlich, T., Boparai, N., Liu, Y.C., McCullough, A.J., 1999. Nonalcoholic fatty liver disease: a spectrum of clinical and pathological severity. *Gastroenterology*, 116, 1413–9.
- McGowan, I. D., Altman, R. E., Kanto, W. P., Jf., 1988. Neonatal withdrawal symptoms after chronic maternal ingestion of caffeine. *Southern Medical Journal*, 81, 1092- 94.
- Mergny, J.L., Riou, J.F., Mailliet, P., et al., 2002. Natural and pharmacological regulation of telomerase. *Nucleic Acids Research*, 30, 839-865.
- Mikkelsen, E.J., 1978. Caffeine and schizophrenia. *The Journal of Clinical Psychiatry*, 39, 732-36.
- Morse, H.C., 1981. The laboratory mouse-a historical perspective. *Academic Press*, New York.
- Murat, I., Moriette, G., Blin, M. c., Couchard, M., Flouvat, B., et al., 1981. The efficacy of caffeine in the treatment of recurrent idiopathic apnea in premature infants. *I. Pediatr*, 99, 984-89.
- Murphy, S.J., Benjamin, C.P., 1981. The effects of coffee on mouse development. *Microbios Letters*, 17, 91–99.
- Mutlu, A.G., 2017. Telomerase inhibitors and activators: pharmaceutical importance. Chapter 5.
- Nehlig, A., Daval, J.L., Debry, G., 1992. Caffeine and the central nervous system: mechanisms of action, biochemical, metabolic and psychostimulant effects. *Brain Research Reviews*, 17, 1139-170.
- Newberne, P.M., Rogers, A.E., 1986. Labile methyl groups and the promotion of cancer. *Annual Review of Nutrition*, 6, 407–32.
- Nolen, G.A., 1989. The developmental toxicology of caffeine. *Issues and Reviews in Teratology*, 4, 305–350.
- Odle, J., 1996. Betaine and carnitine. *Feed Manage*, 47, 25–7.
- Olovnikov, A.M., 1996. Telomeres, telomerase, and aging: origin of the theory. *Experimental Gerontology*, 31(4), 443-448.
- Olthof, M.R., van Vliet, T., Boelsma, E., Verhoef, P., 2003. Low dose betaine supplementation leads to immediate and long term lowering of plasma homocysteine in healthy men and women. *Journal of Nutrition*, 133, 4135–8.

- Olthof, M.R., Verhoef, P., 2005. Effect of betaine intake on plasma homocysteine concentrations and consequences for health. *Current Drug Metabolism*, 6, 15-22.
- Onrot, J., Goldberg, M.R., Biaggioni, I., Hollister, A.S., Kincaid, D., et al., 1985. Hemodynamic and humoral effects of caffeine in autonomic failure. *The New England Journal of Medicine*, 3(13): 549-54.
- Onrot, J., Shaheen, O., Biaggioni, I., Goldberg, M.R., Feely, J., et al., 1986. Reduction of liver plasma flow by caffeine and theophylline. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 40, 506-10.
- Ornish, D., Lin, J., Daubenmier, J., Weidner, G., Epel, E., Kemp, C., Blackburn, E. H., 2008. Increased telomerase activity and comprehensive lifestyle changes: a pilot study. *The Lancet Oncology*, 9(11): 1048-1057.
- Pan, M.H., Ghai, G., Ho, C.T., 2008. Food bioactives, apoptosis, and cancer. *Molecular Nutrition & Food Research*, 52, 43-52.
- Petter, W.L., 1976. The laboratory mouse. *The UFAW handbook on care and management of laboratory animals*. 193-210.
- Pincomb, G.A., Lovallo, W.R., Passey, R.B., Whitsett, T.L., Silverstein, S. M., et al., 1985. Effects of caffeine on vascular resistance, cardiac output and myocardial contractility in young men. *Am. T. Cardiol.* 56, 119-22.
- Preedy, V., 2015. Betaine: chemistry, analysis, function and effects. *Royal Society Chemistry*.
- Quintana-Ortí, Enrique, S., Fermin, A.G., Predrag, S., et al., 2000. Mammalian Ku86 protein prevents telomeric fusions independently of the length of TTAGGG repeats and the G-strand overhang. *EMBO Reports*, 11, 244-252.
- Radimer, K., Bindewald, B., Hughes, J., Ervin, B., Swanson, C., Picciano, M.F., 2004. Dietary supplement use by US adults: data from the national health and nutrition examination survey, 1999–2000. *American Journal of Epidemiology*, 160(4): 339–349.
- Rajakumar, K., 2003. Vitamin D, cod-liver oil, sunlight, and rickets: a historical perspective. *Pediatrics*, 112, e132–e135.
- Ratriyanto, A., Mosenthin, R., Bauer, E., Eklund, M., 2009. Metabolic, osmoregulatory and nutritional functions of betaine in monogastric animals. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 22, 1461– 1476.
- Reddel, R.R., 2000. The role of senescence and immortalization in carcinogenesis. *Carcinogenesis*, 21, 477-484.
- Robertson, D., Frolich, J.C., Carr, R.K., Watson, J.T., Hollifield, J.W., et al., 1978. Effects of caffeine on plasma renin activity, catecholamines and blood pressure. *The New England Journal of Medicine*, 298, 181-86.

- Sanchis-Gomar, F., Lucia, A., 2015. Acute myocardial infarction: 'telomerase' for cardioprotection. *Trends in Molecular Medicine*, 21(4): 203-205.
- Sandin, S., Rhodes, D., 2014. Telomerase structure. *Current Opinion in Structural Biology*, 25, 104–110.
- Saretzki, G., 2003. Telomerase inhibition as cancer therapy. *Cancer Letters*, 194, 209–219.
- Savela, S., Saijonmaa, O., Strandberg, T. E., Koistinen, P., Strandberg, A. Y., Tilvis, R. S., Fyhrquist, F., 2013. Physical activity in midlife and telomere length measured in old age. *Experimental Gerontology*, 48(1), 81-84.
- Sayed, M., J., Downing, 2011. The effects of water replacement by oral rehydration fluids with or without betaine supplementation on performance, acid-base balance, and water retention of heatstressed broiler chickens. *Poultry Science*, 90, 157–167.
- Scalbert, A., Williamson, G., 2000. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *The Journal of Nutrition*, 130, 2073–2085.
- Schwahn, B.C., Hafner, D., Hohlfeld, T., Balkenhol, N., Laryea, M.D., Wendel, U., 2003. Pharmacokinetics of oral betaine in healthy subjects and patients with homocystinuria. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 55(1): 6–13.
- Schwahn, B.C., Wang, X.L., Mikael, L.G., Wu, Q., Cohn, J., Jiang, H., et al., 2007. Betaine supplementation improves the atherogenic risk factor profile in a transgenic mouse model of hyperhomocysteinemia. *Atherosclerosis*, 195, e100-7.
- Schwenk, T.L., Costley, C.D., 2002. When food becomes a drug: nonanabolic nutritional supplement use in athletes. *American Orthopaedic Society for Sports Medicine*, 30(6): 907-916.
- Scott, N.R., Stambuk, D., Chakraborty, J., Marks, V., Morgan, M.Y., 1989. The pharmacokinetics of caffeine and its dimethylxanthine metabolites in patients with chronic liver disease. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 27, 205-13.
- Seeram, N.P., Lee, R., Heber, D., 2004. Bioavailability of ellagic acid in human plasma after consumption of ellagitannins from pomegranate (*Punica granatum* L.) juice. *hids*
- Sellers, R.S., Clifford, C.B., Treuting, P.M., Brayton, C., 2011. Immunological variation between inbred laboratory mouse strains: points to consider in phenotyping genetically immunomodified mice. *Veterinary Pathology* 49(1): 32-43.
- Shay, J.W., 1999. At the end of the millennium, a view of the end. *Nature Genetics*, 23, 382-383.
- Shay, J.W., Wright, W.E., 2001. Telomeres and telomerase: implications for cancer and aging. *Radiation Research*, 155, 188–193.

- Shay, J.W., Zhou, Y., Hiyama, E., et al., 2001. Telomerase and cancer. *Human Molecular Genetics*, 10, 677-685.
- Shay, J.W., Wright, W.E., 2002. Telomerase: a target for cancer therapeutics. *Cancer Cell*, 2, 257-262.
- Shay, J.W., 2016. Role of telomeres and telomerase in aging and cancer. *Cancer Discovery*, 6, 584-593.
- Shils, M.E., Olson, J.A., Shike, M., Ross, A.C., 1999. Modern nutrition in health and disease, 9th edn (Baltimore: Williams & Wilkins).
- Singh, K., Khanna, A.K., Chander, R., 1999. Hepatoprotective effect of ellagic acid against carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in rats. *Indian Journal of Experimental Biology*, 37, 1025-1026.
- Smith, A., 2002. Effects of caffeine on human behavior. *Food and Chemical Toxicology*, 40, 1243-1255.
- Smith, S., Giriati, I., Schmitt, A., de Lange, T., 1998. Tankyrase, a poly(ADP ribose) polymerase at human telomeres. *Science*, 282, 1484-1487.
- Smits, P., Thien, T., van't Laar, A., 1985. Circulatory effects of coffee in relation to the pharmacokinetics of caffeine. *The American Journal of Cardiology*, 56, 958-63.
- Smorgorzewska, A., van Steensel, B., Bianchi, A., Oelmann, S., Schaefer, M.R., Schnapp, G., de Lange, T., 2000. Control of human telomere length by TRF1 and TRF2. *Molecular and Cellular Biology*, 20, 1659-1668.
- Soni, K.B., Lahiri, M., Chackradeo, P., Bhide, S.V., Kuttan, R., 1997. Protective effect of food additives on aflatoxin-induced mutagenicity and hepatocarcinogenicity. *Cancer Letters*, 115, 129-133.
- Stavric, B., Klassen, R., Watkinson, B., Karpinski, K., Stapley, R., Fried, P., 1988. Variability in caffeine consumption from coffee and tea: possible significance for epidemiological studies. *Food and Chemical Toxicology*, 26, 111-118.
- Stavric, B., Gilbert, S.G., 1990. Caffeine metabolism: a problem in extrapolating results from animal studies to humans. *Acta Pharmaceutica Jugoslavica*, 40, 475-489.
- Storch, K.J., Wagner, D.A., Young, V.R., 1991. Methionine kinetics in adult men: effects of dietary betaine on L-[2H3-methyl-1-13C]methionine. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 54, 386-94.
- Stramba-Badiale, M., Fox, K.M., Priori, S.G., Collins, P., Daly, C., Graham, I., Jonsson, B., Schenck-Gustafsson, K., Tendera, M., 2006. Cardiovascular diseases in women: a statement from the policy conference of the European Society of Cardiology. *European Heart Journal*, 27, 994-1005.



- Strati, A., Papoutsi, Z., Lianidou, E., Moutsatsou, P., 2009. Effect of ellagic acid on the expression of human telomerase reverse transcriptase (hTERT)  $\alpha+\beta+$  transcript in estrogen receptor-positive MCF-7 breast cancer cells. *Clinical Biochemistry*, 42, 1358–1362.
- Sugiyama, K., Akai, H., Muramatsu, K., 1986. Effects of methionine and related compounds on plasma cholesterol level in rats fed a high cholesterol diet. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, Tokyo, 32, 537–49.
- Talcott, S.T., Lee, J.H., 2002. Ellagic acid and flavonoid antioxidant content of muscadine wine and juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 3186–92.
- Tanda, G., Goldberg, S.R., 2000. Alteration of the behavioral effects of nicotine by chronic caffeine exposure. *Pharmacology, Biochemistry and Behaviour*, 66, 47–64.
- Tang, B.K., Kadar, D., Kalow, W., 1987. An alternative test for acetylato phenotyping with caffeine. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 42, 509-13.
- Tapsell L.C., Neale, E.P., Satija, A., et al., 2016. Foods, nutrients, and dietary patterns: interconnections and implications for dietary guidelines. *Advances in Nutrition*, 7, 445–454.
- Tarkanyi, I., Aradi, J., 2008. Pharmacological intervention strategies for affecting telomerase activity: Future prospects to treat cancer and degenerative disease. *Biochimie*, 90, 156–172.
- Teel, R.W., Martin, R.W., 1988. Disposition of the plant phenol ellagic acid in the mouse following oral administration by gavage. *Xenobiotica*, 18, 397–405.
- Tsunoda, K., Sato, A., Kurata, R., Mizuyama, R., Shimegi, S., 2018. Caffeine improves contrast sensitivity of freely moving rats.
- Turpin, P., 1985. A double blind study of the effectiveness of beaufor betaine citrate ampules in the treatment of type IV hyperlipidemias. *Sem Hop*, 61, 2420–34.
- Ueland, P.M., 2011. Choline and betaine in health and disease. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 34, 3-15.
- Ural, A.U., 2006. Kök hücreler. *Türk Ortopedi ve Travmatoloji Birliği Derneği Dergisi*, 5(3-4): 140-145.
- Vattem, D.A., Shetty, K., 2004. Biological functionality of ellagic acid: a Review. *Journal of Food Biochemistry*, 29: 234–266.
- Virtanen, E., 1995. Piecing together the betaine puzzle. *Feed Mix*, 3, 12–7.
- Wang, C.Z., Mehendale, S.R., Yuan, C.S., 2007. Commonly used antioxidant botanicals: active constituents and their potential role in cardiovascular illness. *The American Journal of Chinese Medicine*, 35, 543-558.

- Warskulat, U., Zhang, F., Haussinger, D., 1996. Modulation of phagocytosis by anisoosmolarity and betaine in rat liver macrophages (Kupffer cells) and RAW 264.7 mouse macrophages. *FEBS Letters*, 391, 287–92.
- Webster, G.T., 1942. Cirrhosis of the liver among rats receiving diets poor in protein and rich in fat. *Journal of Clinical Investigation*, 21, 385–92.
- Weisburg, J.H., Schuck, A.G., Reiss, S.E., Wolf, B.J., Fertel, S.R., Zuckerbraun, H.L., Babich, H., 2013. Ellagic acid, a dietary polyphenol, selectively cytotoxic to HSC-2 oral carcinoma cells. *Anticancer Research*, 33, 1829-1836.
- Werner, C., Hanhoun, M., Widmann, T., Kazakov, A., Semenov, A., Pöss, J., Laufs, U., 2008. Effects of physical exercise on myocardial telomere-regulating proteins, survival pathways, and apoptosis. *Journal of the American College of Cardiology*, 52(6),470-482.
- Williams, P. T., Wood, P. D., Vranizan, K. M., Albers, J. J., Garay, S. C., et al., 1985. Coffee intake and elevated cholesterol and apolipoprotein B levels in men. *The Journal of the American Medical Association*, 253, 1407-11.
- Wise, C.K., Cooney, C.A., Ali, S.F., Poirier, L.A., 1997. Measuring S-adenosylmethionine in whole blood, red blood cells and cultured cells using a fast preparation method and high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 696, 145–52.
- Xu, Y., Deng, J.Z., Ma, J., Chen, S.N., 2003. Marshall R, Jones SH, Johnson RK, Hecht SM. DNA damaging activity of ellagic acid derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 11, 1593–6.
- Yancey, P.H., Clark, M.E., Hand, S.C., Bowlus, R.D., 1982. Somero GN. Living with water stress: evolution of osmolyte systems. *Science*, 217, 1214–22.
- Yokogoshi, H., Mochizuki, S., Takahata, M., Quazi, S., Yoshida, A., 1983. The hypercholesterolemic effect of caffeine-containing beverages and xanthine-derivatives in rats. *Nutrition Reports International*, 2S, S05-14.
- Zakian, V. A., 1989. Structure and function of telomeres. *Annual Review of Genetics*, 23, 579-604.
- Zeisel, S.H., Mar, M.H., Howe, J.C., Holden, J.M., 2003. Concentrations of cholinecontaining compounds and betaine in common foods. *Journal of Nutrition*, 133, 1302–7.
- Zhang, F., Warskulat, U., Haussinger, D., 1996. Modulation of tumor necrosis factor-alpha release by anisoosmolarity and betaine in rat liver macrophages (Kupffer cells). *FEBS Letters*, 391, 293–6.
- Zhang, F., Warskulat, U., Wettstein, M., Haussinger, D., 1996. Identification of betaine as an osmolyte in rat liver macrophages (Kupffer cells). *Gastroenterology*, 110, 1543–52.

- Zhang, M., Zhang, H., Li, H., Lai, F., Li, X.F., Tang, Y., et al., 2016. Antioxidant mechanism of betaine without free radicals scavenging ability. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.
- Zhang, L., Qi, Y., ALuo, Z., Liu, S., Zhang, Z., Zhou, L., 2018. Betaine increases mitochondrial content and improves hepatic lipid metabolism. *Food & Function*.
- Zou, H., Chen, N., Shi, M., Xian M., Song, Y., 2016. The metabolism and biotechnological application of betaine in microorganism. *Applied Microbiology and Biotechnology*.
- Zurek, M., Altschmied, J., Kohlgruber, S., Ale-Agha, N., Haendeler, J., 2016. Role of telomerase in the cardiovascular system. *Genes*, 7(29), 1-11.



## ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı : Muazzez TIKIRDIK

Doğum Yeri ve Yılı : Burdur / 24.01.1994



### Eğitim Durumu

	<u>Yıl</u>
Lise : Burdur Anadolu Lisesi	2009-2013
Lisans : Uşak Üniversitesi	2013-2017
Yüksek Lisans : Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi	2017-2019

### Çalıştığı Kurum / Kurumlar

	<u>Yıl</u>
1- Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü	2017-2018

### Yayımları (SCI ve diğer makaleler)

- 1- International Health Science and Life 2018 – Poster (Theories of Aging)