



T.C.

ÜSKÜDAR ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MOLEKÜLER BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

MOLEKÜLER BİYOLOJİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

D-GALAKTOZ İLE OLUŞTURULAN YAŞLANMA MODELİNDE ARDIÇ  
KATRANININ SERPİNE1 (PAI-1) DÜZEYİNE ETKİSİ

Kübra ERGÜN

TEZ DANIŞMANI

DOÇ. DR. Emel SERDAROĞLU KAŞIKÇI

İSTANBUL 2020



T.C.

ÜSKÜDAR ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MOLEKÜLER BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

MOLEKÜLER BİYOLOJİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

D-GALAKTOZ İLE OLUŞTURULAN YAŞLANMA MODELİNDE ARDIÇ  
KATRANININ SERPİNE1 (PAI-1) DÜZEYİNE ETKİSİ

Kübra ERGÜN

TEZ DANIŞMANI

DOÇ. DR. Emel SERDAROĞLU KAŞIKÇI

İSTANBUL 2020

## ÖZET

### D-GALAKTOZ İLE OLUŞTURULAN YAŞLANMA MODELİNDE ARDIÇ KATRANININ SERPINE1 (PAI-1) DÜZEYİNE ETKİSİ

Yaşlanma, biyolojik sistem içerisinde yer alan çeşitli biyokimyasal olaylarla bağlantılı doğal bir süreçtir. Yaşlanmaya bağlı olarak vücut dengesinde bir takım değişimler meydana gelmekte, fibrinolitik dengede bozulma gerçekleşmekte ve buna bağlı olarak SERPINE1 düzeylerinde önemli bir artış gözlenmektedir. Bu sistemde yer alan önemli Plazminojen aktivatör inhibitörü olan SERPINE1, yaşlanma ve replikatif yaşlılık, kanser diyabet, doku iyileşmesi ve re-jenerasyon gibi önemli biyolojik süreçlerde rol almaktadır. Ayrıca D-galaktoz kullanımı, oksidatif strese bağlı olarak yaşlanmayı tetiklemektedir. Çalışmamızda D-galaktoz ile oluşturulan taklitçi yaşlanma modelinde Ardiç katranının SERPINE1 (PAI-1) düzeyleri üzerine olan etkisini araştırdık. Bu çalışmada her grupta 8 adet olacak şekilde 40 adet Wistar-albino sıçan kullanıldı: Grup I; Kontrol, Grup II;150 mg/kg/gün D-galaktoz (%92 DMSO), Grup III; 0.25 µl katran(%98 DMSO), Grup IV; 150 mg/kg/gün D-galaktoz (%98 DMSO) + 0.25 µl katran (%98 DMSO), Grup V; en yüksek DMSO dozu verildi. 8 hafta deney süresi sonunda elde edilen plazma ve karın içi yağ dokularının SERPINE1 düzeyleri ELISA yöntemi ile ticari kit kullanılarak ölçüldü. İstatistiksel analizler için SPSS 22.0 versiyonu kullanılarak ANOVA-Tukey testi ile yapıldı. Gruplar arasındaki istatistiksel analizde  $p < 0.05$  anlamlı olarak kabul edildi. Elde ettiğimiz sonuçlara göre; istatistiksel olarak anlamlı olmasa da D-gal ve D-gal+katran grupları SERPINE1 düzeyleri kontrole göre kıyaslandığında plazmada artış gösterirken yağ dokusunda azalma gözlenmiştir. Katran grubu DMSO grubu ile kıyaslandığında SERPINE1 düzeylerinde plazma ve yağ dokusunda istatistiksel olarak anlamlı olmasa da azalma gözlenirken katran grubu kontrol grubu ile kıyaslandığında aynı düzeyde oldukları gözlenmiştir. Elde ettiğimiz sonuçlara göre; kullandığımız Ardiç katran dozunun yaşlanma modelinde tedaviye yönelik bir etkisi olabileceğini göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Yaşlanma, D-galaktoz, *Juniperus oxycedrus*, SERPINE1 (PAI-1), Antioksidan

## ABSTRACT

### Effect of *Juniper Tar* on SERPINE1 Level in Animal Model of Aging with D-Galactose

Aging is a natural process associated with various biochemical events in the biological system. In body was observed some changes with aging such as disruption of fibrinolytic balance and the consequently significant increase in SERPINE1 cases accordingly. In this study aim, explain the effect of *juniper tar* on SERPINE1 (PAI-1) levels in a rat model of aging with D-Galactose. SERPINE1, an important plasminogen activator inhibition in the fibrinolytic system plays a role in important biological processes such as senescence, replicative aging, cancer, diabetes, tissue healing, and regeneration. Also the use of D-galactose triggers aging due to oxidative stress. In this study; 40 Wistar Albino rats set to 5 groups with including 8 rats in each group: Group I; Control, Group II; 150 mg/kg/day D-galactose (%92 DMSO), Group III; 0.25  $\mu$ l tar (98% DMSO), Group IV; 150 mg/kg/day D-galactose (92% DMSO) + 0.25  $\mu$ l tar (98% DMSO), Group V; the highest dose of DMSO and injection intraperitoneally (i.p.) to rats. After 8 weeks of experiments, taken abdominal adipose tissues and plasma samples from rats was measured with the use of ELISA kits to observing SERPINE1 levels. ANOVA-Tukey tests were performed using SPSS 2.0. version for statistical analysis.  $p < 0.05$  accepted to significant (sig.) between groups. According to our results; although not statistically significant, SERPINE1 levels increased in plasma while decreased in abdominal adipose tissue in D-gal and D-gal+tar groups compared to control. Although not statistically significant, SERPINE1 levels was observed to decrease to plasma and tissues in Tar group compared to the DMSO group. Also, SERPINE1 levels are the same in the Juniper Tar group compared to the control group (not sig.). This result shows that a low dose of Tar may have a therapeutic effect in the aging model.

**KEYWORDS;** Aging, D-galactose, *Juniperus oxycedrus*, SERPINE1 (PAI-1), Antioxidant

## TEŞEKKÜR

Üsküdar Üniversitesi Moleküler Biyoloji bölümünde yürütmüş olduğum tez çalışmamda, bilgi ve deneyimleri ile bana daima yardımcı olan ve bilgi dağarcığının gelişmesi için teşvik eden saygıdeğer tez danışman hocam Doç. Dr. Emel SERDAROĞLU KAŞIKÇI'ya

Yüksek lisans eğitimim süresince deneyimlerini ve bilgilerini esirgemeyen değerli hocalarım, Prof. Dr. Muhsin KONUK, Prof. Dr. İsmail Tayfun UZBAY, Prof. Dr. Tunç ÇATAL, Doç. Dr. Türker Tekin ERGÜZEL, Dr. Öğr. Üyesi Tuba SEVİMOĞLU'na

Laboratuvar koşullarında bilgi ve deneyimlerini kaçınmadan benimle paylaşan değerli hocalarım Veteriner Hekim Burcu ÇEVRELİ ve Öğr. Yrd. Ayşe ÖZÇETİN ŞENÖZ'e

Lisans mezuniyeti sonrasında da yanımda olduğunu sürekli hissettiren, sorunlarımın üstesinden gelmek için motivasyondan ayırmayan ve bizlere her zorluğa rağmen pes edilmemesi gereken şeylerin olduğunu hissettiren saygıdeğer hocam Dr. Baki Yokeş'e

Yüksek Lisans Tez deney süresinde birlikte çalıştığım değerli ekip arkadaşım Refika Seher AYDOĞDU'ya ve bizlere laboratuvar koşullarında yardımcı olan Umur BOZKURT'a

İstatistiksel analizlerde yardımcı olan Tayfun GÖZLER'e

Bilgi ve manevi desteklerini esirgemeyen değerli beyin takım arkadaşlarım, Didem AKÇAMLI, Esra Nur GÜLTEKİN, Kadriye KOYUNCU, Özlem ERSOY ve Hatice KURNAZ'a

Tezime ilgili teknik yardımları ve motivasyon destekleri için Murat KELEŞ'e

Ayrıca tüm yardımları için Farmasina şirketinden Seda ÇOLPAN, Miray Cahide KARABAY ve Banu NOKAY'a

Tüm zor koşullara rağmen manevi desteğini hiçbir zaman esirgemeyen çok değerli ailem annem, babam ve abime,

Teşekkür ederim.

## BEYAN FORMU

Bu çalışmadaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında zgn olduğunu, tarafımdan üretildiğini ve şkdar niversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kılavuzuna göre yazıldığını beyan ederim



Tarih

Adı Soyadı

İmza

# İÇİNDEKİLER

ÖZET .....	i
ABSTRACT .....	ii
TEŞEKKÜR .....	iii
BEYAN FORMU .....	iv
TABLOLAR DİZİNİ .....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	ix
GRAFİKLER DİZİNİ .....	x
RESİMLER DİZİNİ .....	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	xii
1. GİRİŞ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	3
2.1. Yaşlanma .....	3
2.1.1. Yaşlanmanın Metabolik Yolakları .....	3
2.1.2. Reaktif Oksijen Türleri (ROT) .....	5
2.1.3. Antioksidanlar .....	6
2.2. SERPINE1 (Plazminojen Aktivatör İnhibitör-1) .....	7
2.2.1. SERPIN AİLESİ .....	7
2.2.2. SERPINE1'in Yapısı .....	8
2.2.3. SERPINE1'in Üretimi ve Düzenlenmesi .....	8
2.2.4. SERPINE-1'in (PAI-1) Mekanizması .....	10
2.3. Serpine1'in müdahil olduğu fizyolojik ve patolojik durumlar .....	14
2.3.1. Fizyolojik Durumlar .....	14
2.3.1.1. SERPINE1'in Yaşlanma İle Bağlantısı .....	14
2.3.1.2. Fibrozis ve Yara İyileşmesi .....	16
2.3.1.3. Rejenerasyon ve Yeniden doku oluşumu .....	17
2.3.2. Patolojik Durumlar .....	17
2.3.2.1. Ağırlık Artışı İle İlişkisi .....	17
2.3.2.2. Nöronal Hücre Kayıpları .....	18
2.3.2.3. Diyabet ve İnsülin Direnci .....	19
2.3.2.4. Kardiyovasküler Hastalıklar .....	19
2.3.2.5. Alzheimer ile İlişkisi .....	20
2.3.2.6. Depresyonla İlişkisi .....	20

2.3.2.7.	Kanser İle İlişkisi .....	20
2.4.	<i>Juniperus</i> türlerinin Tıp Alanında Kullanımı.....	21
2.4.1.	Ardıç Katranı ( <i>Juniperus oxycedrus Tar</i> ).....	22
3.	GEREÇ VE YÖNTEM .....	24
3.1.	Kimyasal Maddeler.....	24
3.2.	Cihazlar.....	24
3.2.	Grupların Hazırlanması.....	25
3.3.	Deney Grupları .....	25
3.4.	Örneklerinin Hazırlanması.....	26
3.5.	Doku Örneklerinin Hazırlanması .....	26
3.6.	Plazmada SERPINE1 Düzeyinin Ölçülmesi .....	27
3.7.	Yağ Dokusunda SERPINE1 Düzeyinin Ölçülmesi.....	27
3.8.	İstatistiksel Analiz.....	28
4.	BULGULAR .....	29
4.1.	Gruplar Arası Ağırlık, Yem ve Su Tüketimleri .....	29
4.1.1.	Kontrol Grubu İle Diğer Grupların Yem - Su ve Ağırlık Karşılaştırılması: .....	31
4.1.1.1.	Kontrol ile D-galaktoz grubunun karşılaştırılması .....	31
4.1.1.2.	Kontrol ile katran grubunun karşılaştırılması.....	31
4.1.1.3.	Kontrol ile D-gal+Katran grubunun karşılaştırılması .....	31
4.1.1.4.	Kontrol ile DMSO grubunun karşılaştırılması .....	31
4.1.2.	D-galaktoz ile diğer grupların karşılaştırılması .....	32
4.1.2.1.	D-galaktoz ile Katran grubunun karşılaştırılması.....	32
4.1.2.2.	D-galaktoz ile D-gal+Katran grubunun karşılaştırılması .....	32
4.1.2.3.	D-galaktoz ile DMSO grubunun karşılaştırılması.....	32
4.1.3.	Katran ile diğer grupların karşılaştırılması.....	32
4.1.3.1.	Katran ile D-gal+Katran grubunun karşılaştırılması.....	32
4.1.3.2.	Katran ile DMSO grubunun karşılaştırılması .....	33
4.1.4.	D-gal+Katran ile diğer grupların karşılaştırılması .....	33
4.1.4.1.	D-gal+Katran ile DMSO grubunun karşılaştırılması .....	33
4.2.	Plazma ve Dokudan SERPINE1 Miktarının Ölçümü .....	33
4.2.1.	Plazma SERPINE1-1 Düzeyinin Ölçümü .....	33
4.2.2.	Yağ Dokusunda SERPINE1-1 Düzeyinin Ölçülmesi .....	35
5.	TARTIŞMA.....	37
5.1.	Grupların Ağırlık, Yem ve Su Tüketimleri Karşılaştırılması .....	37



5.2.	D-galaktoz Tarafından oluşturulan Yaşlanma Modelinin SERPINE1 Üzerine Etkisi.....	37
5.3.	Ardıç Katranı Uygulanan Grubun SERPINE1 Üzerine Etkisi .....	40
5.4.	D-gal+Katran Uygulanan Grubun SERPINE1 Düzeyi Üzerine Etkisi .....	40
5.5.	DMSO Uygulanan Grubun SERPINE1 Düzeyi Üzerine Etkisi .....	41
6.	SONUÇ VE ÖNERİLER.....	43
	Ek1.Etik Kurul Onayı .....	53
	Ek2. Özgeçmiş .....	55



## **TABLolar DİZİNİ**

Tablo 1: Deney grupları



## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: Çoklu etkenler tarafından hücrede yaşlanmanın uyarılması

Şekil 2: Yaşlanmayı etkileyen etkenler

Şekil 3: SERPINE1'in düzenlenmesinde rol alan proteinler

Şekil 4: Fibrinolitik sistem aktivasyonu ve inhibisyonu

Şekil 5: Plazminojen'den Plazmin'e çevrim basamağında yer alan PAI-1, PAI-2 ve PAI-3'ün fibrinolitik sistemdeki plazminin regülasyonunda rol oynaması

Şekil 6: HtrA1'e bağlı olarak gerçekleşen TGF- $\beta$  sinyalizasyonu üzerinden PAI-1'in nöronal hücre kaybı ilişkisi.

## GRAFİKLER DİZİNİ

Grafik 1: Grafik1: Hayvan gruplarının 8 haftalık kilo ölçümlerinin karşılaştırılması.

Grafik 2: Hayvan gruplarının 8 haftalık su ölçümlerinin karşılaştırılması.

Grafik 3: Hayvan gruplarının 8 haftalık yem ölçümlerinin karşılaştırılması.

Grafik 4: Plazma da SERPINE1 düzeyinin ölçülmesi.

Grafik 5: Karın içi yağ dokusunda SERPINE1 düzeyinin ölçülmesi.



## RESİMLER DİZİNİ

Şekil1: Ardıç katranı, Otmanlar köyünden (Köyceğiz/Muğla) katran çıkartılması



## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

- ASCVD: Aterosklerotik kardiyovasküler hastalık
- A $\beta$ : Amiloid- $\beta$
- AQP3: Akuaporin-3
- BMI: Vücut kitle indeksi
- CHD: Kroner Kalp Hastalığı
- DMEM: Dulbecco's Modified Eagle's medium
- DVT: Derin ven trombozu
- ECM: Ekstrasellüler Matriks
- ERK: Ras/ekstrasellüler-düzenleyici sinyal kinaz
- FCH: Ailesel kombine hiperlipidemi
- FGF:  $\beta$ -fibroblast büyüme faktörü
- GSH: Glutasyon
- GPx: Glutasyon peroksidaz
- GR: Glutasyon reduktaz
- HOMA: Homeostaz model değerlendirme
- HOMA-IR: İnsülin direncinin homeostatik model değerlendirme
- HtrA1: Yüksek sıcaklığa duyarlı antijen 1
- IL-1: İnterleukin-1
- IL-6: İnterlökin-6
- IL-8: İnterlökin-8
- IGFBP3: İnsülin benzeri büyüme faktörü bağlanma proteini-3
- IGFBP5: İnsülin benzeri büyüme faktörü bağlanma proteini-5
- IGFBP7: İnsülin benzeri büyüme faktörü bağlanma proteini-7
- JCo: Juniperus communis*
- LDL: Düşük yoğunluktaki lipoprotein
- LPO: Lipid peroksidasyon
- MAPK: Mitojen-aktivasyonlu protein kinaz
- MDA: malondialdehit
- MetS: Metabolik sendrom
- MMP: Matriks Metalloproteinaz
- MMP4: Matriks metalloproteinaz-4

MTT: 3-(4, 5-dimethylthiazolyl-2)-2, 5-diphenyltetrazolium bromide  
PAI: Plazminojen aktivatör inhibitör  
PBS: fosfat tambonlu salin  
RCL: Reaktif merkez halkası  
ROT: Reaktif oksijen türlerini  
SASP: Yaşlanma ilişkili sekretör fenotip  
SERPINE1: SERPIN ailesi E sınıfı 1. üyesi / Plazminojen aktivatör inhibitör-1  
SERPINB2: PAI-2  
SERPINA5: PAI-3  
SNAI1: SNAIL ailesi transkripsiyon represörü 1  
SOD: Süperoksit dismutaz  
tPA: Doku Plazminojen aktivatörü  
TAFI: Trombin ile aktiveşebilen fibrolizis inhibitörü  
T2DM: Tip II diyabet  
TERT: Telomerase reverse transcriptase  
TG: Trigliserid  
TGF- $\beta$ : Transforming growth factor- $\beta$   
TIMP: Metalloproteinazların Doku İnhibitörleri  
TNF- $\alpha$ : Tümör nekroz faktörü- $\alpha$   
uPA: Ürokinaz Plazminojen aktivatörü  
uPAR: Ürokinaz Plazminojen aktivatör reseptörü  
VEGF: Vasküler endotel büyüme faktörünü  
VLDL: Çok düşük yoğunluktaki lipoprotein  
VN: Vitronektin

## 1. GİRİŞ

Yaşlanma; motor bilişsel fonksiyon, fibrinolitik sistem, trombositlerin fonksiyonel değişimi gibi çoğu biyolojik denge koşulunun yitildiği fizyolojik bir süreçtir (Eren ve ark., 2014; Abbate ve ark., 1993; Anson ve Bohr, 2000). Yaşlanma ile birlikte Reaktif oksijen türlerinde (ROT) ve buna bağlı olarak lipid peroksidasyonunda (LPO) artış görülmektedir. Bununla birlikte oksidatif stres ve antioksidan mekanizmaları arasında denge bozulmakta ve savunma sisteminde bozulma gerçekleşmektedir. Süperoksit dismutaz (SOD) ve Glutasyon (GSH) antioksidan sistemlerinin devreye girmesi beklenirken azalış görülmekte ve LPO'nun ikincil metaboliti olan malondialdehit (MDA)'da artış gözlemlenmektedir (Francis ve Baynosa, 2017; Ji ve ark., 2017; Zhao ve ark., 2017). Yaşlanma ile birlikte insülin benzeri büyüme faktörü bağlanma proteini-7 (IGFBP7), Yaşlanma ilişkili sekretör fenotip (SASP) ve Serpin ailesinin E sınıfının 1. üyesi (SERPINE1) gibi yaşlanmayla ilişkili proteinlerin ekspresyonlarında artış olmaktadır (Rodier ve Campisi, 2011). Yaşlanma ile birlikte yitirilen bu denge düzeni sonucu olarak diyabet, kanser, kardiyovasküler hastalıklarda, strese toleransın azalması gibi yaşlanmaya bağlı hastalıklar ortaya çıkmaktadır (Eren ve ark., 2014; Panda ve ark., 2018; Zhao ve ark., 2017).

Çoğu yaşa bağlı hastalıklar bozulmuş fibrinolitik sistem ile ilişkilendirilmektedir (Eren ve ark., 2014) Fibrinolitik aktivite yaşa bağlı olarak azalmakta ve bununla birlikte SERPINE1 düzeyi yaşa bağlı olarak artmaktadır (Abbate ve ark., 1993). Bu sistemde yer alan önemli Plazminojen aktivatör inhibitörü olan SERPINE1, yaşlanma ve replikatif yaşlılık, kanser diyabet, doku iyileşmesi ve re jenerasyon gibi önemli biyolojik süreçlerde rol almaktadır (Eren ve ark., 2014; Münch ve ark., 2017; Akour ve ark., 2018; Li ve ark., 2018). (Eren ve ark., 2014; Kortlever ve ark., 2008; Cardus ve ark., 2012; Takeshita ve ark., 2002). Yapılan çalışmada, yaşlanmış farelerin fibroblast ve endotel hücrelerinde SERPINE1 eksikliğinin olması, hücre büyümesinin durdurulmasına ve hücrenin yaşlanmadan kaçmasına neden olduğu görülmüştür. Buna rağmen çoğalan keratonositler de SERPINE1'in çok yüksek ekspresyonunun olmasının büyümenin durdurulmasını uyardığı görülmektedir. Ayrıca SERPINE1'in kısmi ya da tamamen kaybı yaşa bağlı hastalıkların oluşumunu önlediği yapılan çalışmalarda görülmektedir (Eren ve ark., 2014).



Tıbbi bitkiler, çeşitli hastalıklar için alternatif terapi yolu sağlamaktadır (Tsai ve ark., 2018). Melekotu, Ardiç gibi çeşitli bitkilerin alternatif terapi üzerinde önemli ölçüde yeri olduğu bilinmektedir. Ardiç bitkisi, baş ağrısı, soğuk algınlığı, sindirim gibi çeşitli hastalıklar üzerinde alternatif tedavi olarak denenmiştir. Ayrıca çeşitli ardiç türlerinin antioksidan, anti-inflamasyon ve anti-mikrobiyal aktivite sergilediği belirtilmiştir (Vasiljević ve ark., 2018). *Juniperus oxycedrus tar* ismi ile bilinen ardiç katranı, *J. oxycedrus* ağacından elde edilen uçucu bir yağ, yanıcı bir materyal olması dışında oksitleyici malzemeler ile reaksiyona girebilmektedir. Ardiç katranı, sedef hastalığı, kepek, egzama ve bazı deri hastalıklarında kaşıntı önleyici ilaç olarak kullanılmaktadır. Ayrıca Ardiç yağı, yanık ve yara iyileşme süresini de kısaltmaktadır (ANDERSEN, 2001).

Bu çalışmada; ardiç katranının, D-galaktoz ile oluşturulan taklit yaşlanma modelinde SERPINE1 (PAI-1) üzerine etkisi açıklanmaya çalışılacaktır. Çalışma sonucunda elde edilen verilerin; ardiç katranının SERPINE1 düzeylerinde oluşturduğu değişikliğin incelenmesi diğer çalışmalara ışık tutacağı öngörülmektedir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Yaşlanma

Yaşlanma, biyolojik sistem içerisinde yer alan çeşitli biyokimyasal olaylarla bağlantılı doğal bir süreçtir (Panda ve ark., 2018; Campisi ve di Fagagna, 2007). Yapılan çalışmalarda, nörodejeneratif hastalıklar, bilişsel hastalıklar, bunama, şizofreni, Alzheimer, parkinson diyabet, kanser ve kardiyovasküler hastalıkların yaşlanma ile ilişkili olduğu görülmektedir (Eren ve ark., 2014; Panda ve ark., 2018; Ji ve ark., 2017; Zhao ve ark., 2017).

Yaşlanmaya bağlı olarak vücut dengesinde değişimler meydana gelmektedir. Özellikle motor ve bilişsel fonksiyonlarda değişimler gözlenmektedir (Eren ve ark., 2014; Panda ve ark., 2018). Yaşlanma devam ettikçe, fibrinojen düzeylerinde yükselme, plazma içerisinde bulunan plateletlerde fonksiyonel olarak değişim, koagülasyon faktörlerinin üretiminin plazma içerisinde artışına bağlı olarak pıhtılaşma ve buna bağlı olarak hiperkoabilite değişimi de gerçekleşmektedir (Abbate ve ark., 1993). Ayrıca, Faktör VII ve faktör VIII koagülan aktiviteleri yaşla birlikte programlı bir şekilde artış göstermektedir (Abbate ve ark., 1993; Takeshita ve ark., 2002). Yapılan çalışmada plazma içerisinde ki fibrinojen düzeylerine bakıldığında; 65-79 yaşları arasındaki kişilerin 300 mg/dl, 47-54 yaşlarındaki kişilerin 280 mg/dl'ye sahip oldukları görülmektedir. Yaş ilerledikçe plazmada bulunan fibrinojen miktarının arttığı gözlemlenmektedir (Abbate ve ark., 1993; Kannel ve ark., 1987; Meade ve ark., 1977).

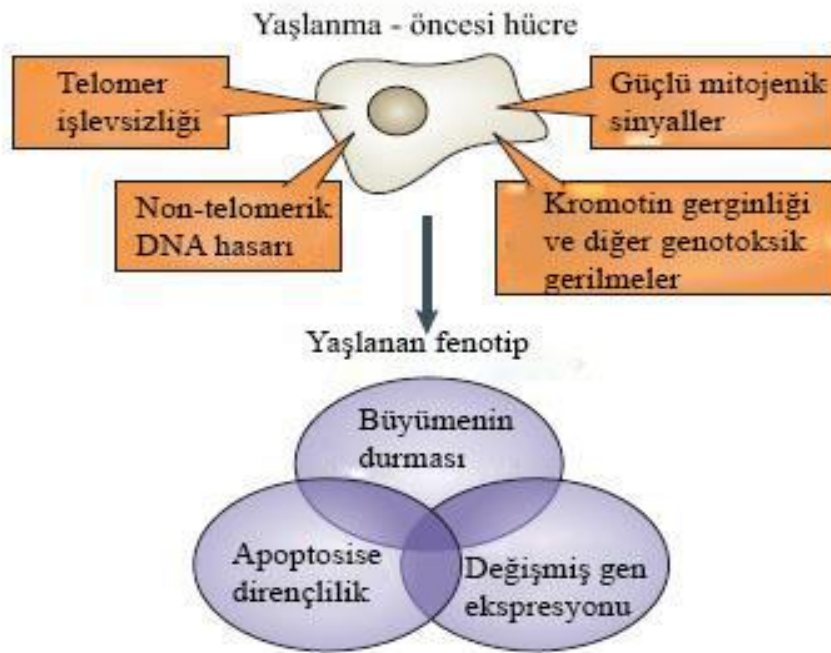
#### 2.1.1. Yaşlanmanın Metabolik Yolakları

Yaşlanan hücreler, pre-malignant ile de ilişkili olan interlökin-6 (IL-6), interlökin-8 (IL-8)'i yüksek düzeyde salgılamaktadır (Rodier ve Campisi, 2011; Coppé ve ark., 2008). Yaşlanmış fibroblast ve mezoteliyal hücrelerde, migrasyon ve invazyonunda uyarımını yapan Vasküler endotel büyüme faktörünü (VEGF)'nin salınımı ve ayrıca Matriks Metalloproteinaz (MMP)'lerinde salınımı gerçekleştirilir (Rodier ve Campisi, 2011; Coppé ve ark., 2006; Ksiazek ve ark., 2008). Bunların dışında, insülin benzeri büyüme faktörü bağlanma proteini-7 (IGFBP7), yaşlanma ilişkili sekretör fenotip (SASP), SERPINE1 salınımı da yaşlanmış hücrelerde ortaya çıkmaktadır (Rodier ve Campisi, 2011). Yaşlanan hücreler, pro-inflamatuar interlökinler, ROT, IGF-bağlanma

proteinleri, büyüme faktörleri, matriks-degradasyon enzimleri gibi çeşitli biyoaktif moleküllerini üretir ve salgılar (Nelson ve ark., 2012).

Yaşlanan hücreler, çeşitli etkenler tarafından uyarılır. Bunlara örnek olarak: telomerlerin fonksiyon kaybetmesi, sınırlı bölünme, telomerik olmayan DNA hasarları, genomik mutasyonlar, toksik –kimyasal-reaktif metabolitler, serbest radikaller, yetersiz hormon salınımı, onkogenler tarafından güçlü mitogenik sinyaller oluşturup DNA hasarına sebep olmaları gibi çeşitli stresörler bulunmaktadır. Ayrıca yaşlanmanın tümör baskılayıcı ajanlar ile de bağlantılı olduğu gösterilmektedir (Şekil1) (Campisi ve di Fagagna, 2007; Zhao ve ark., 2017; Rodier ve Campisi, 2011).

Yaşlanan hücreler, hücre döngüsü üzerinden etkilenmekle birlikte büyümelerinin G1 evrelerinde durduğu görülmektedir. Buna rağmen metabolik olarak aktiviteleri devam etmektedir (Campisi ve di Fagagna, 2007; Rodier ve Campisi, 2011). Yaşlanan hücrelerde ciddi bir hücresel değişim gözlemlenmektedir. Bu değişimlerden biri (bazı hücreler için) apoptozise dirençlidir. İnsanlardan alınan yaşlanmış fibroblastlarda büyüme durmuş ve değişmiş gen ekspresyonu görülmüştür. Ayrıca seramid üzerinden uyarılan apoptozisi gerçekleştiremediği ve dirençli olduğu görülmektedir. Bu durum endotel hücreler için geçerli değildir (Hampel ve ark., 2004; Campisi ve di Fagagna, 2007).



Şekil 1: Çoklu etkenler tarafından hücrede yaşlanmanın uyarılması (Campisi ve di Fagagna, 2007).

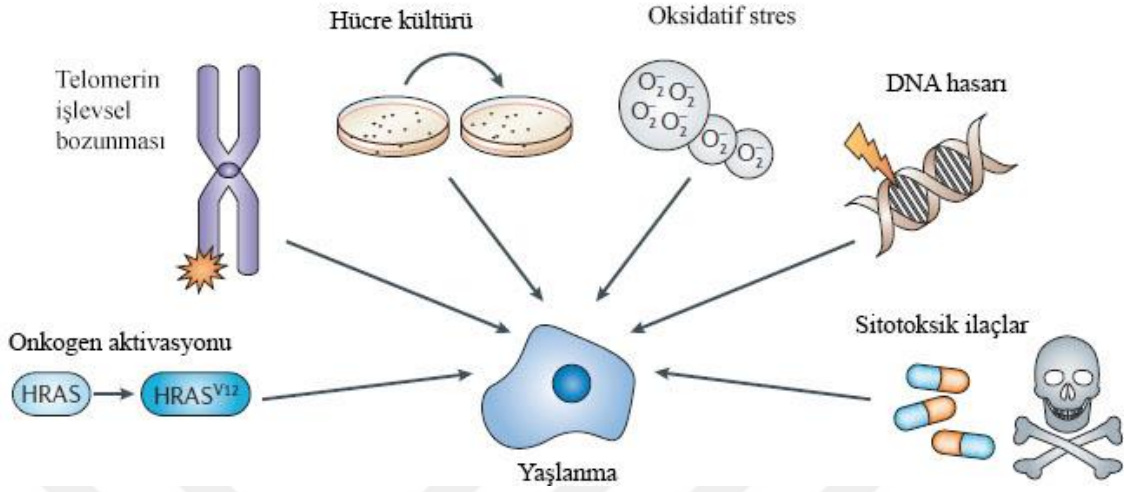
Aynı zamanda hücresel yaşlanmada, kök hücre ve öncül hücre dokularında tükenme gerçekleşebilmekte ve bu durum doku onarımı, re jenerasyon yeteneği gibi önemli fizyolojik olayların gerçekleşmesinde sorun oluşturabilmektedir (Rodier ve Campisi, 2011). Bunun dışında DNA hasarına bağlı yaşlanma, onkogen uyarımlı yaşlanma, zaman bağlı olarak gerçekleşen kromotin bozulması yaşlanmanın oluşması için temel etkenleri oluşturmaktadır. Ayrıca telomer-bağlantılı yaşlanma da başlı başına bir nedendir (Şekil2). Linear kromozomun bozulmasını engelleyen telomerlerde, her bölünme ile birlikte 50-200 baz arasında kayıp meydana gelir. Bu sorunu ortadan kaldırmak için sentezlenen telomeraz ters transkriptaz (TERT) enzimi telomerin kısalmasını önler. Ancak telomeraz aktivitesi telomeraz dışında gerçekleşen DNA hasarlarını ve yaşlanmayı tetikleyici moleküllerin oluşturduğu yaşlanmayı önleyemez (Campisi ve di Fagagna, 2007; Martens ve ark., 2000; Chen ve ark., 2001; Rodier ve Campisi, 2011).

### **2.1.2. Reaktif Oksijen Türleri (ROT)**

Yaşlanma üzerine kurulan önemli teorilerden biri serbest radikal teorisi. Hücre içerisinde oksijenin metabolik yollarda kullanılması sonucu serbest radikal türleri (ROT) meydana gelmektedir (Francis ve Baynosa, 2017; Anson ve Bohr, 2000). Ayrıca yaşla birlikte artan serbest radikaller ve antioksidan savunma sisteminin dengesinin bozulması sonucu oluşan oksidatif stres, yaşlanmanın temelini oluşturmakta kritik bir role sahiptir (Anson ve Bohr, 2000; Panda ve ark., 2018; Zhao ve ark., 2017). Ayrıca mitokondride meydana gelen bir hasar sonucunda oksidatif fosforilasyon azalmaktadır. Bunun sonucunda ROT ve serbest radikaller de artış gerçekleşmektedir (Parameshwaran ve ark., 2010). Yapılan bir çalışmada, yaşlanan hücrelerin yakın çevresine ROT'ni yayması sonucunda hücreleri DNA hasarına teşvik ettiği raporlanmıştır. Bu uyarımı hücreler arası sıkı bağlantıları (gap junction) üzerinden gerçekleştirdikleri düşünülmektedir (Nelson ve ark., 2012).

Hücre içerisinde önemli ROT yapıları; süperoksit ve hidroksil radikalleri olarak gösterilmekte ve bu yapıların toksik sonuçları LPO tarafından ortaya çıkartılmaktadır. Yaşla bağlantılı olarak artan LPO serbest radikaller sonucu da uyarılır. Bu süreç sonuç olarak doğrultusunda reaktif türlerin ortaya çıkması; membran hasarı, serbest radikallerin üretilmesi ve direk olarak DNA hasarına sebep olmaları ile

ilişkilendirilmişlerdir. ROT birikimi sonucu hücrede apoptozis de uyarılabilmektedir (Francis ve Baynosa, 2017; Zhao ve ark., 2017; Taviano ve ark., 2011).



Şekil 2: Yaşlanmayı etkileyen etkenler (Collado ve Serrano, 2006).

### 2.1.3. Antioksidanlar

Normal fizyolojik koşullarda ROT etkisini ortadan kaldırmak için antioksidan sistemi devreye girmektedir. Antioksidan sistemde; süperoksit dizmutaz (SOD), Glutasyon (GSH), Glutasyon peroksidaz (GPx), Glutasyon reduktaz (GR), katalaz gibi antioksidan mekanizmaları yer almaktadır (Francis ve Baynosa, 2017; Zhao ve ark., 2017; Taviano ve ark., 2011; Kaplán ve ark.). Oksidatif stresin oluşumuna ilk tepkiyi veren antioksidan enzim SOD'dur. SOD, süperoksit radikalleri peroksit'e çevrilmesini sağlamaktadır. Peroksit radikallerinin oluşumu ile birlikte membran lipidlerinin yıkımlarında artış oluşmaktadır ve bu artış yaşlanma ile ilişkilendirilmektedir. LPO, oksijen serbest radikallerinin lipidlere saldırdığı bir oksidan işlemidir. LPO'nun ikincil metaboliti olan malondialdehit (MDA)'dır. Dokuların hasarlarını gösteren bir belirteç olarak sayılmaktadır (Zhao ve ark., 2017; Ma ve ark., 2015; Alharby ve ark., 2019). Doğal antioksidanlar, yaşlanmanın önüne geçilebilmesi için önerilmektedir (Panda ve ark., 2018; Cai ve ark., 2004). Ayrıca çoğu Çin tıbbi bitkileri anti-yaşlanma ilaçları olarak düşünülmektedir (Bastianetto ve Quirion, 2002; Panda ve ark., 2018).

## **2.2.SERPINE1 (Plazminojen Aktivatör İnhibitör-1)**

Serpin ailesinin önemli üyesi olan SERPINE1, bir Plazminojen aktivatör inhibitörüdür. Ayrıca serin proteaz inhibitörü olarak da anılmaktadır (Simone ve ark., 2014). SERPINE1, perisellüler bölgede proteolitik aktivitesi olan Plazmin'in aktive olmasında rol oynayan Ürokinaz Plazminojen Aktivatörü (uPA) ve Doku Plazminojen Aktivatörleri (tPA) üzerine kovalent (Yasar Yıldız ve ark., 2014) olarak bağlanarak reaksiyonu durdurmaktadır (Simone ve ark., 2014; Lijnen, 2005; Mortensen ve ark., 2010; Cartier-Michaud ve ark., 2012; Milenkovic ve ark., 2017).

SERPINE1'in rolü çoğu biyolojik süreçlerde tam olarak belli değildir. Ancak pro-koagulan, pro-inflamatuvar, pro-fibrotik ve anti-adhesif, (hücre adezyonu), Ekstrasellüler Matris (ECM) fibrinolizisi, apoptozis, geç menapoz evresi (Kohler ve Grant, 2000), yaşlanma ve replikatif yaşlılık (Eren ve ark., 2014) gibi çeşitli fizyolojik süreçler ile ilişkilendirilmiştir. Ayrıca bozulmuş yara çözünürlüğü, aşırı kanama, tromboz, çoklu organ fibrozu gibi çeşitli biyolojik süreçlerin iyileşme anomalilerinde etkili görev aldığı görülmüştür (Simone ve ark., 2014). Yeniden doku oluşumu, doku iyileşmesi (Simone ve ark., 2014) diyabet, gibi çeşitli hastalıklarla bağlantılı olmasına karşın kanser progresyonuna (invazyon, anjiyogenezis, migrasyon ve metastaz) etkisi bakımından güçlü bağlantıları vardır (Münch ve ark., 2017; Akour ve ark., 2018; Milenkovic ve ark., 2017; Malinowsky ve ark., 2012; Yasar Yıldız ve ark., 2014; Fabre-Guillevin ve ark., 2008; Li ve ark., 2018).

### **2.2.1. SERPIN AİLESİ**

SERPİN'ler, 36 üyeden oluşan ve her birinin farklı biyolojik fonksiyonlara sahip olduğu geniş bir ailedir (Silverman ve ark., 2001). SERPIN ailesinde yer alan SERPINE1 (PAI-1), SERPINE2, SERPINB2 (PAI-2) ve SERPINA5 (PAI-3) Plazminojen aktivatör inhibitörü (PAI) olarak görev almaktadır (Märkl ve ark., 2017; Simone ve ark., 2014; Milenkovic ve ark., 2017; Pavón ve ark., 2016; Chern ve ark., 2010; Ebisch ve ark., 2008)

### 2.2.2. SERPINE1'in Yapısı

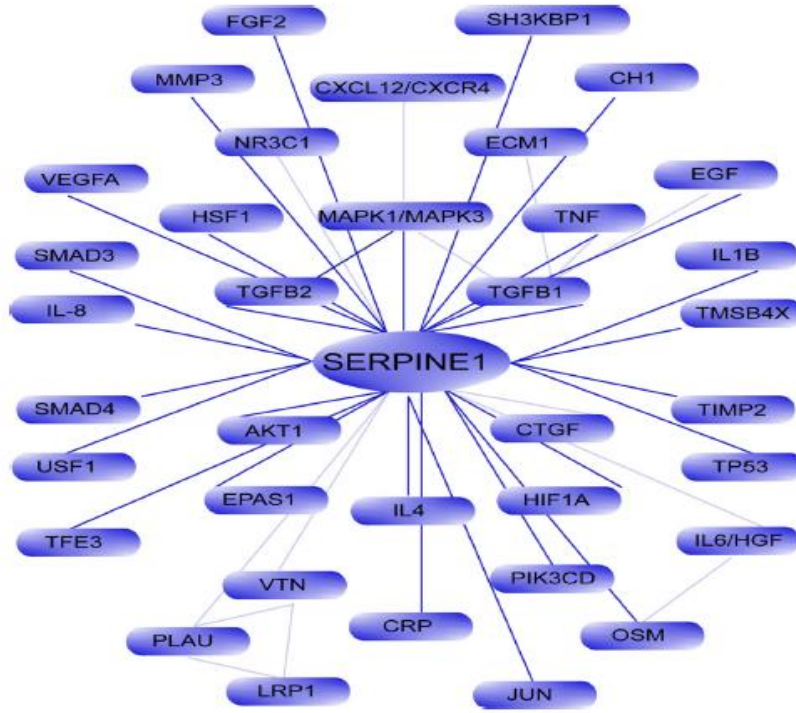
SERPINE1, 45 kDA ağırlığında tek zincirlik bir glikoproteindir. Yaklaşık 379 - 381 amino asit içerir. Yapısında sistein bulundurmaz ve bu yüzden disülfid bağları yoktur. Kromozom üzerinde 7q21.3-q22 lokasyonun da konumlanmakta dokuz ekzon ve sekiz intron içermektedir. Ayrıca 12.2 kb'lık bir büyüklük kaplamaktadır. Yapısında üç glikolizasyon bölgesi yer alır fakat bunlardan sadece iki tanesi (Asn209 ve Asn265) kullanılır. SERPINE1, ayrıca globüler bir proteindir. Yapısında A, B, ve C olarak adlandırılan 3-  $\beta$ \_sheet ve hA-hI olarak isimlendirilmiş 9  $\alpha$ -heliks yapısı bulundurur (Lijnen, 2005; Yasar Yıldız ve ark., 2014).

SERPINE1'in aktif, inaktif (latent) ve alt tabaka (substrate) olmak üzere üç formu bulunmaktadır. SERPINE1'in aktif formuna Vitronektin (VN) veya s-proteini (Lijnen, 2005) bağlandıktan sonra proteinin stabil formu olan latent formuna kendiliğinden dönüşür ve yarılanma ömrü uzar (Simone ve ark., 2014; Cartier-Michaud ve ark., 2012; Milenkovic ve ark., 2017). Majör  $\beta$ \_sheet yapısı içinde yer alan reaktif merkez halkası (RCL) yapısı içerir. Bu yüzden latent formuna döndüğü sırasında RCL bölgesine giriş engellenir. İnaktif edici bağlanımdan sonra tekrar denatüre edici ajanlarla birlikte bu bölge kısmi açılması gerçekleştirilerek aktif formuna tekrar dönüşebilir (Lijnen, 2005; Yasar Yıldız ve ark., 2014). Bu sayede oluşan VN stabilizasyonu fokal proteoliziz inhibisyonunu yükseltmiş olur (Simone ve ark., 2014).

### 2.2.3. SERPINE1'in Üretimi ve Düzenlenmesi

SERPINE1, yağ hücreleri, karaciğer hücresi, düz kas hücreleri, mezankimal hücreler, fibroblastlar, monosit/makrofajlar, stromal ve endotel hücreler tarafından üretilir. Hormonlar, büyüme faktörleri, endotoksin ve sitokin gibi çeşitli agonistler SERPINE1'in sentezi ve salınımını modüle etmektedir (Milenkovic ve ark., 2017; Lijnen, 2005; Barbato ve ark., 2009). Transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ), interlökin-1 (IL-1), tümör nekroz faktörü- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ),  $\beta$ -fibroblast büyüme faktörü (FGF), trombin, çok düşük yoğunluktaki lipoprotein (VLDL), düşük yoğunluktaki lipoprotein (LDL) SERPINE1'in ekspresyon kontrolünde önemli yeri tutmaktadır

(Şekil3) (Milenkovic ve ark., 2017; Yasar Yildiz ve ark., 2014). Ayrıca SERPINE1 transkriptinin SNAIL ailesi transkripsiyon represörü 1 (SNAI1) fonksiyonuna da bağlantılı olduğu bilinmektedir (Fabre-Guillevin ve ark., 2008). Anjiyotensin II, Anjiyotensin tip I, östrojen, ROT, glukoz, insülin, serbest yağ asitleri tarafından da düzenlenirler (Mo ve ark., 2015; Kohler ve Grant, 2000; Lijnen, 2005).



Şekil 3: SERPINE1'in düzenlenmesinde rol alan proteinler (Li ve ark., 2018).

SERPINE1, çeşitli stres koşullarında da uyarılabilmektedir. Örneğin; Damar endotel hücrelerinde yer alan SERPINE1, hücrelerde hipoksi koşulu olduğu zaman tirozin kinaz yolu ile uyarılabilmektedir (Lijnen, 2005). Yapılan bir çalışmada, hücrenin farklılaşması, çoğalması ve hücre adezyonu gibi önemli noktalarda rol alan p63'ün, hücrenin adezyonu ve hareketliliğini sağlayan SERPINE1, Matriks metalloproteinaz-4 (MMP4) ve Akuaporin-3 (AQP3)'ün yüksek ekspresyonuna neden olmuştur. Bu sonuçlar göstermektedir ki p63'ün SERPINE1 transkripsiyonunun düzenlenmesinde direk bir etkisi vardır (Gu ve ark., 2008).

SERPINE1, hücrelerde sentez edildikten sonra hızlıca hücre dışına salınmakta ve trombosit dışındaki hücrelerde yer almamaktadır. SERPINE1'in vücuttaki plazma konsantrasyonu 6-80 ng/mL'dir. Gün içerisinde bu değer değişim göstermektedir. Sabah saatleri SERPINE1 miktarının plazma içinde en yüksek olduğu saatlerdir. Öğlen ile



akşam saatlerinde bu miktar azalmaktadır. Ayrıca SERPINE1 promotörü üzerinde gerçekleşecek bir polimorfizm ile ekspresyon düzeyleri değişebilmektedir (Lijnen, 2005; Milenkovic ve ark., 2017; Yasar Yildiz ve ark., 2014; Mortensen ve ark., 2010; Marckmann ve ark., 1993; Eren ve ark., 2014; Mo ve ark., 2015).

#### **2.2.4. SERPINE-1'in (PAI-1) Mekanizması**

##### **2.2.4.1. Ekstraselüler Proteaz Sistemleri**

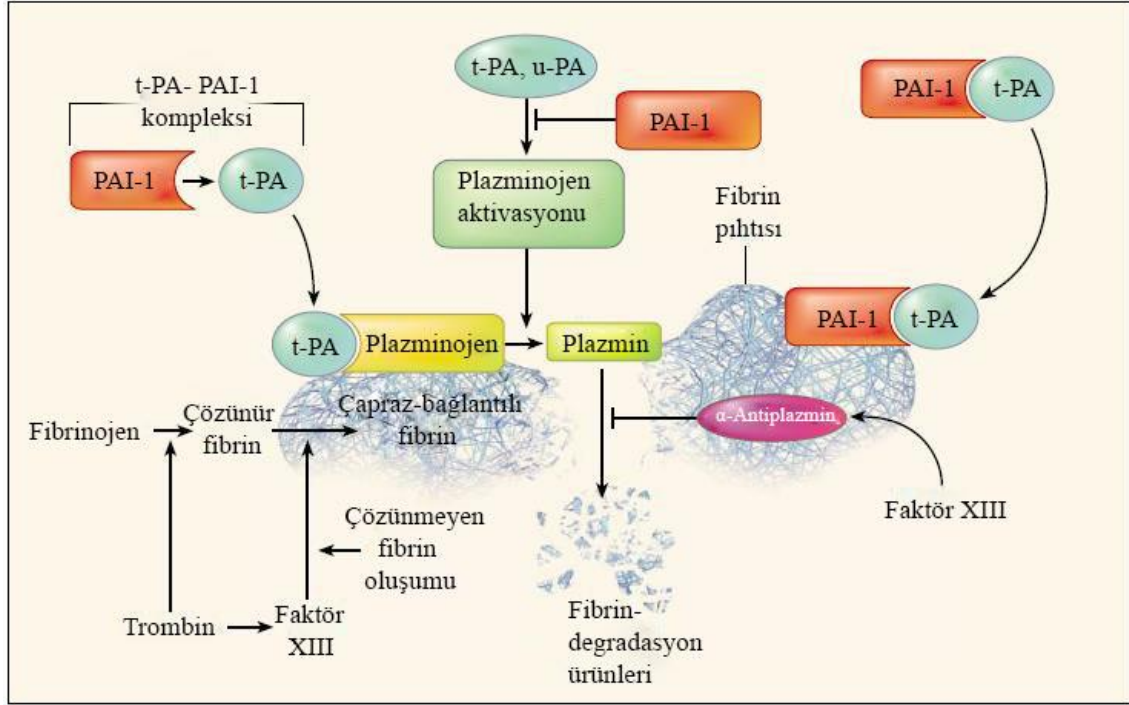
Ekstraselüler matriks'in yıkımı ve yeniden oluşumu çeşitli proteaz ve onların inhibitörleri tarafından sıkı bir şekilde kontrol edilmektedir. Bunlar Matriks metalloproteinaz (MMP) ve Plazminojen sistemidir. Plazminojen sistemi ECM'nin degradasyon'u ile ilişkilidir. Bu düzenlemeyi MMP, kollajenler, fibrinler ve fibronektinlerin bölünmesi üzerinden gerçekleştirir (Milenkovic ve ark., 2017).

##### **2.2.4.1.1. Plazminojen Aktivasyon Sistemi**

Memelilerin kan dolaşımında bulunan enzimatik bir sistem vardır. Bu sistem fibrinolitik sistem olarak adlandırılmaktadır (Plazminojen/plazmin sistemi). Bu sistemde yer alan Plazminojen, aktivatörleri tarafından plazmin'e çevrilerek aktif hale getirilmektedir. Aktif olan plazmin formu, ECM, kan damarı duvarı, bazal membran gibi bir çok önemli noktada bulunan ve bulunduğu ortama esneklik, kuvvet ve mekanik stabilizasyon sağlayan fibrin ve kollajen yapılarının parçalanmasını sağlamaktadır (Karsdal ve ark., 2017; Bazrafshan ve Stylios, 2019; Liu ve ark., 2019). Ayrıca bu sistem ile kan dolaşımında oluşan pıhtının çözülmesi de sağlanır (Şekil4) (Lijnen, 2005; Gu ve ark., 2008; Wu ve ark., 2019; Eren ve ark., 2014). Kollajen tiplerinin çoğu ve ECM moleküllerinin bir kısmı; hücrenin ortama yapışması, bitişik hücrelerin sinyalizasyon özelliği, farklılaşmaları, çoğalmalarını ve endokrin taşınma özelliğine sahip olmalarını sağlamaktadır (Karsdal ve ark., 2017). Ayrıca Plazmin, doğrudan ya da MMP'ler üzerinden düşünülen mekanizma ile ECM'nin yeniden modellenmesinde (Eren ve ark., 2014; Lijnen, 2001), doku onarımı, inflamasyon, embriyogenezis ve dokunun tekrar oluşumu gibi çeşitli biyolojik noktalarda rol almaktadırlar (Wu ve ark., 2019).

### 2.2.4.1.2. Plazmin'in İşleyiş Mekanizması

Plazmin'in pro-enzim formu olan Plazminojen, 92 kDa olan plazma glikoproteini ve bir serin proteazıdır. Ayrıca plazmin tek zincirlidir ve 7 domain içermektedir. Bu domainler; N-terminal Pan-apple domaini, 5 homolog kringle domainleri ve serin proteaz domainidir.



Şekil 4: Fibrinolitik sistem aktivasyonu ve inhibisyonu (Kohler ve Grant, 2000).

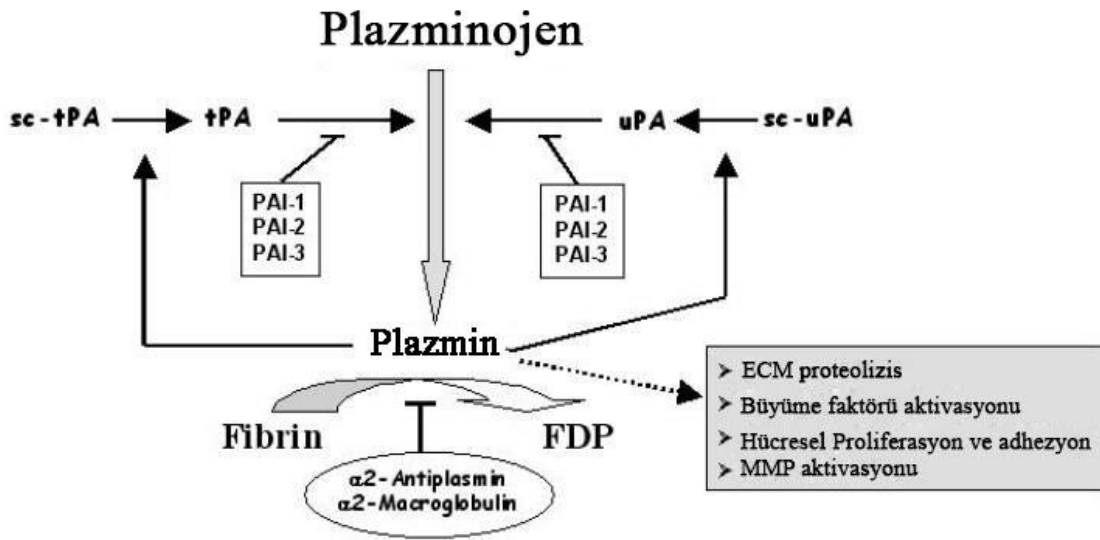
Plazmin, fibrin ve kollajen dışında, Vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF) (Roth ve ark., 2006), insülin benzeri büyüme faktörü bağlanma protein 5 (IGFBP5), ekstraselüler matriks, vitronektin, komplement C3 ve C5, Faktör V, VIII ve X gibi çeşitli yapıların da hidrolizini sağlar (Wu ve ark., 2019). Plazmin, MMP, TGF $\beta$ -1, laminin, tip IV kollajen ve fibronektin üzerinden proteolitik aktivitesini gerçekleştirir (Yasar Yıldız ve ark., 2014).

Fibrinolitik sistemin ana enzimi Plazmin, inaktif formu olan Plazminojenden, doku Plazminojen aktivatörü (tPA) ve ürokinaz Plazminojen aktivatörü (uPA) tarafından plazmin'e dönüştürülür (Şekil4). Plazminojen Aktivasyon Sistemi'nin aktivasyonu, ekstraselüler bölgede ki plazmin düzeyinin artışına neden olmaktadır (Lijnen, 2005; Wu ve ark., 2019; Humbert ve Lebrun, 2013; Eren ve ark., 2014). Ayrıca

tPA, kandaki pıhtının oluşumundan sonra ortamda bulunan fibrinlerin parçalanmasını, uPA üzerinden ise periselüler proteoliz'i gerçekleştirir (Yasar Yıldız ve ark., 2014; Lijnen, 2005).

### 2.2.4.1.3. Plazminojen Aktivatör ve İnhibitörleri

Matriks proteaz ve proteaz inhibitörleri sıkı bir şekilde birbirine bağlı olarak düzenlenirler. Plazminojenin Plazmin'e dönüştürülmesinde tPA ve uPA aktivatörleri önemli rol oynamaktadırlar (Şekil4,Şekil5) (Simone ve ark., 2014; Mortensen ve ark., 2010; Lijnen, 2005).



Şekil 5: Plazminojen'den Plazmin'e çevrim basamağında yer alan PAI-1, PAI-2 ve PAI-3'ün fibrinolitik sistemdeki plazminin regülasyonunda rol oynaması (Gilabert-Estelles ve ark., 2005).

**t-PA**; endotel hücreler dışında nöron ve mikroglia'larda üretilmektedir. Yetişkin fare beyinlerinin hipokampus, amigdala, beyincik gibi çeşitli bölümlerde yüksek ekspresyonu olmakta ve öğrenme, bellek, stres reaksiyonu, nöronal dejenerasyon ve bağımlılık gibi çeşitli proseslerle bağlantılıdır (Tsai, 2017; Melchor ve Strickland, 2005; Melchor ve ark., 2003; Sappino ve ark., 1993). Plazmin'in aktive olmasında görev alan tPA'nın ana görevi dolaşım içerisindeki fibrinlerin degradasyonunu sağlamaktır (Lijnen, 2005). Launay ve ark. yaptıkları çalışmada, SERPINE1'in düşük ekspresyonu durumunda tPA'nın yüksek proteolitik aktivesi belirtilmiştir (Launay ve ark., 2008).

**uPA;** aktiflenen plazmin'in çoğunlukla perisellüler proteolizisi için gereklidir. uPA, hücre yüzeyinde GPI-bağlantılı (Planus ve ark., 1997) bir membran proteini olan ürokinaz plazminojen aktivatör reseptörü (uPAR)'ne (ya da CD87 olarak da bilinir) bağlanarak hücre membranında bağlı olan plazminojenin aktivasyonunu başlatır ve ekstrasellüler proteolizisi geliştirir. Ayrıca uPA'nın uPAR'ye bağlanması ile birlikte uPAR içerisinde konformasyonel bir değişiklik olur. Ayrıca bu değişiklik uPAR'nin VN için afinitesini yükseltmekte ve çeşitli integrinler ile etkileşimini desteklemektedir. Bu etkileşimlerle birlikte mitojen-aktivasyonlu protein kinaz (MAPK), tirozin kinaz, Ras/ekstrasellüler-düzenleyici sinyal kinaz (ERK) gibi çeşitli sinyalizasyon yolları da aktive olur (Lijnen, 2005; Milenkovic ve ark., 2017; Märkl ve ark., 2017).

Fibrinolitik sistemin inhibisyonunu sağlayan yapılar,  $\alpha$ -2-antiplasmin (Wu ve ark., 2019; Roth ve ark., 2006),  $\alpha$ <sub>2</sub>-makroglobulin ve PAI-1, PAI-2, PAI-3, Trombin ile aktive olabilen fibrolizis inhibitörü (TAFI) tarafından inhibisyonu gerçekleşir (Şekil5) (Lijnen, 2005; Yasar Yıldız ve ark., 2014). Plazmin düzeyinin arttığı gözlemlenen yaralı dokuda  $\alpha$ -2-antiplasmin yüksek miktarda ortamda bulunması ile bloke edilmiştir (Roth ve ark., 2006). SERPINE1, kan içerisinde birincil ve predominant fizyolojik Plazminojen aktivatör inhibitörüdür (Mortensen ve ark., 2010). SERPINE1, tek ve çift zincirli tPA'ya ve çift zincirli uPA'ya hızlı bir şekilde tepki verir (Lijnen, 2005). SERPINE1, plazmin ve MMP aktivitesini Plazminojen aktivatörleri üzerinden yapmaktadır (Milenkovic ve ark., 2017; Yasar Yıldız ve ark., 2014). uPA'nın ana inhibitörü olan SERPINE1'in hücre adezyonu ve apoptotik yolların yüksek düzenlenmesi gibi intrasellüler sinyalizasyonları etkilemektedir (Malinowsky ve ark., 2012).

#### **2.2.4.2.Matrix Metalloproteinase Sistemi**

MMP'ler Ekstrasellüler Matriks (ECM) içerisinde degradasyonda görevli olan bir enzim sınıfıdır. Doku yenilenmesi ve organ gelişimi de dahil olmak üzere çeşitli fizyolojik işlemlerde ve hücre içi sinyalizasyonlarda görevlidirler. Ayrıca tümör mikro çevresini düzenlemede ve tümör ile stromal hücreler arasında moleküler haberleşmede önemli rol oynarlar (Yang ve ark., 2019; Kessenbrock ve ark., 2010; Page-McCaw ve ark., 2007). MMP-2, MMP -3, MMP -7, MMP -9 ve MMP-12 çeşitleri, negatif geri bildirim ile aktive edilebilmektedir. Örneğin; Plazminojenin degradasyonu sonucu

MMP'ler aktive edilebilmekte ve böylece plazminojenden plazmin'e dönüşüm engellenmektedir (Kessenbrock ve ark., 2010).

23 farklı MMP, insan vücudunda yapısal özellikleri ile kategorize edilir ve buldukları ortamlarda gösterdikleri fonksiyonlar farklıdır. Genel olarak MMP ailesinin yapısına bakıldığında, üç domainden oluşmaktadır. Bunlar, pro-peptid kısım, katalitik domain ve hemopeksin benzeri C- terminal domaindir. Birkaç MMP üyesi integrinlerin de dahil olduğu çeşitli reseptörlerin yüzeyleri ile etkileşimdedir yada ECM içerisinde kendilerine özel bölgelerde yer alırlar. Çeşitli proteinaz inhibitörleri dışında en önemli fizyolojik inhibitörü Metalloproteinazların Doku İnhibitörleri (TIMP)'dir ve bu inhibitörler tümör bölgesinde ekspresyonları yapılarak MMP'lerin proteolitik aktivitelerini durdururlar (Kessenbrock ve ark., 2010).

### **2.3.Serpine1'in müdahil olduğu fizyolojik ve patolojik durumlar**

#### **2.3.1. Fizyolojik Durumlar**

##### **2.3.1.1.SERPINE1'in Yaşlanma İle Bağlantısı**

Yaşlanma ile birlikte artış gösteren SERPINE1, yaşlanma ile bir bağlantısının olduğu düşünülmektedir. Bu durumda yaşlanmayı mı temsil ettiği yoksa yaşlanmayı düzenlemekle mi görevli olduğu tam olarak açıklanamamıştır. Fakat yapılan son çalışmalarla birlikte SERPINE1'in yaşlanmayı desteklediği (Elzi ve ark., 2012) görülmüştür. Daha önce yapılan çalışmalarda SERPINE1'in yaşlanma ile bağlantılı bir marker olduğu gösteriliyorken son çalışmalarla birlikte bu proteinin sadece yaşlanma ile bağlantılı olmadığı tespit edilmiştir (Eren ve ark., 2014; Collado ve Serrano, 2006; Goldstein ve ark., 1994; Kortlever ve Bernard, 2006; West ve ark., 1996). Çeşitli hücre tiplerinin replikatif yaşlanma sırasında SERPINE1 düzeyleri artış göstermiştir (Eren ve ark., 2014; West ve ark., 1996; Cardus ve ark., 2012). Ayrıca farelerin fibroblast ve endotel hücrelerinde SERPINE1 eksikliği, hücre büyümesinin durmasını sağladığı ve hücrelerin yaşlanmadan kaçtığı görülmektedir. Buna rağmen çoğalan keratonositler de SERPINE1'in çok yüksek ekspresyonunun olması büyümenin durdurulmasını uyardığı görülür (Eren ve ark., 2014; Kortlever ve ark., 2008). 3,6 ve 8 haftalık kl/kl farelerin plazmalarındaki SERPINE1 düzeylerinin yaşlanmaya bağlı olarak arttığı gözlemlenmiştir. Hangi dokunun plazma içerisindeki SERPINE1 düzeylerine kaynak

olduğu bakılmıştır. Sonuç olarak, böbrek, kalp, aort ve böbrek üstü bezinde yüksek miktarda mRNA düzeyine rastlanmıştır. Ayrıca kl/kl ve Wt fareler arasında karşılaştırma sonucunda; akciğer, karaciğer ve beyindeki SERPINE1 mRNA düzeyleri önemli bir farklılık göstermemiştir (Takeshita ve ark., 2002).

SERPINE1 aktivitesinin artması, plazmin düzeylerinin azalmasına neden olmaktadır. Bu durum, pro-trombotik aktivite ve pro-fibrotik evre ile sonuçlanmaktadır. SERPINE1'in giderek artan düzeyleri sonucunda atardamar trombozu, iskemi, venöz trombozu gibi çeşitli hastalıklara sebep olabilmektedir. Aşırı SERPINE1 düzeyleri, kollagen birikimi ve fibrinolitik hastalıklarında oluşmasına neden olmaktadır. Ayrıca SERPINE1'in kısmi ya da tamamen kaybının olması yaşa bağlı hastalıkların oluşumunu önlediği görülmektedir (Eren ve ark., 2014). Yaşlı erkek bireylerde, SERPINE1 düzeylerinin, vücut kitle indeksi (BMI), trigliserid (TG), total kolessterol, insülin gibi çeşitli belirteçler ile doğrudan ilişkili olduğu görülmektedir (Barbato ve ark., 2009). SERPINE1, yaşlanmayla bağlantılı olan diyabet, inflamasyon ve obezite de dahil olmak üzere çeşitli hastalıklar da yüksek düzeyde gözlemlenmektedir (Eren ve ark., 2014; Mortensen ve ark., 2010). Ayrıca SERPINE1, bağımsız olarak obezite, BMI, iç organ yağlanması, serumdaki TG düzeyi ve karaciğer yağlanması dahil olmak üzere çeşitli sonuçlarla da bağlantılıdır (Eren ve ark., 2014; Estells ve ark., 2001; Lindeman ve ark., 2007; Barbato ve ark., 2009).

Çoğu yaşa bağlı hastalıklar bozulmuş fibrinolitik sistem ile ilişkilidir ve ayrıca replikatif yaşlılık ile yaşlanma (homeostasis ve artmış hassasiyet) ile de bağlantısı vardır (Eren ve ark., 2014). Fibrinolitik aktivite yaşa bağlı olarak azalmaktadır ve bununla birlikte SERPINE1 düzeyi yaşa bağlı olarak artar (Abbate ve ark., 1993; Meade ve ark., 1979; Aillaud ve ark., 1986). BubR1<sup>H/H</sup> farelerinde yaşa bağlantılı olarak gerçekleşen mrn kısılması, katarakt, atardamar sertleşmesi gibi çeşitli fenotiplerin strese olan toleransı azalttığı ve iyileşme sürecinde bozulmalar oluşturduğu görülmüştür (Eren ve ark., 2014; Baker ve ark., 2012). Ayrıca insülin benzeri büyüme faktörü bağlanma proteini-3'n (IGFBP3) ekspresyonunun olması; hücreyi hipoksik koşul, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve doxorubicin-uyarımlı yaşlanma gibi çeşitli yaşlanma uyarılarına karşı olan tepkisini arttırmaktadır. Yaşlanmaya başlamış hücrenin sentezlediği SERPINE1'in ortamdaki varlığı, IGFBP3'n tPA tarafından parçalanmasına engel olmaktadır. Bu oluşan durumun yaşlanma ile bağlantılı olduğu düşünülmektedir (Eren ve ark., 2014; Elzi ve ark., 2012).

### 2.3.1.2.Fibrozis ve Yara İyileşmesi

Memelilerin kan dolaşımında enzimatik bir sistemi yürüten Plazminojen/plazmin sistemi, fibrin yapılarının degradasyonunu gerçekleştirir. Ayrıca bu sistem ile kan dolaşımında oluşan pıhtının çözülmesi de sağlanır. SERPINE1'in düzeyinin düşmesi ile birlikte oluşan fibrinolizis, kanama komplikasyonları ile ilişkilendirilmiştir (Lijnen, 2005). Ayrıca yapılan bir çalışmada; sıçanlardaki Serpine1 düzeyinin yükselmesi ile derin ven trombozu (DVT) oluşumunda önemli rol üstlendiği gösterilmiştir. Sıçanlardaki bu tıkanıklığın oluşma evrelerine bakıldığında; tıkanıklığın tamamlanması sırasında gittikçe artan TGF- $\beta$  ve çok daha yüksek ekspresyon gösteren SERPINE1'in yüksek ekspresyon gösterdiği görülmektedir (Mo ve ark., 2015). Ayrıca damar içinde oluşan DVT'nin çözülmesi, damar duvarının yeniden oluşumunu etkiler. Tromboz oluşumundan sonra damar duvarının yeniden oluşumu, pro-fibrotik büyüme faktörü, kollajen birikimi, MMP'lerin aktivasyonu ve ekspresyonunu gibi çeşitli faktörlerin etkisini içerir. Plazmin, DVT için tepki veren birincil fibrinolitik enzimdir. Pro-kollajen I ve II gen ekspresyonları SERPINE1 düzeyini artırır (Mo ve ark., 2015; Baldwin ve ark., 2012).

Doku yaralanmalarından sonra tepki olarak yara iyileşmeleri için yara onarım programları devreye girer. Bu programda aktiflenen proteinlerden bir tanesi de SERPINE1'dir ve onarım durumunda non-proteolitik (Milenkovic ve ark., 2017) etkide önemli role sahip olmaktadır. Bu iyileşme sürecinde belirgin olarak perisellüler proteolizis ve matriks yapısının yeniden modellenmesi göze çarpar. Durumu kontrol eden genlerde Serin proteazlar, Matriks metalloprotenazlar ve bunların inhibitörleridir (Serin proteazlar için SERPIN'ler ve MMP'ler için TIMP'ler). Hemeostasis bozulduğunda ve bu durumu tekrar denge haline getirmek için SERPINE1 ve vitronektin trombositlerin alfa- granüllerden serbest bırakılırlar. Bu durumda bir fibrin pıhtı oluşumuna teşvik ederler ve geçici bir matriks oluşturulmuş olur. Sonuç olarak bu akış doku onarımının bir parçası olan hücre migrasyonu ve proliferasyonu kolaylaştırmakta ve aynı zamanda kollajenlerin yeniden yapılandırılmasını sağlamaktadır (Simone ve ark., 2014).

### **2.3.1.3.Rejenerasyon ve Yeniden doku oluşumu**

Plazminojen Aktivatör (PA) sistemi, yumurtanın oluşum dönemleri, embriyogenesis, gibi çeşitli dönemlerde önemli rol oynamaktadır. Farelerde yapılan bir çalışmada SERPINE1'in, dokuya bağlı olarak sıkı denetim yaptığı ovaryum, uterus ve placentada gibi önemli noktalar da tekrar doku oluşumunun gerçekleştirebileceği gösterilmiştir. Oluşan plasenta'nın ortadan kaldırılıp tekrar oluşturulduğu bu rejenerasyon yeteneğinin sıkı bir şekilde SERPINE1 ve SERPINE2 tarafından denetlendiği görülmektedir (Chern ve ark., 2010).

Zebra balıklarının hasara uğramış kalpleri üzerinde yapılan bir çalışmada iki önemli endokardiyal molekül olan Notch (sinyalizasyonu) ve SERPINE1 değerleri bakılmış ve yüksek ekspresyonları bulunmuştur. Notch sinyalizasyonu kalpteki proliferasyon, gen ekspresyonlarının düzenlenmesi ve endokardiyum hücrelerin olgunlaşmasında önemli bir noktadır. Serpine1'in ise endokardiyal olgunlaşma, proliferasyon ve kardiyomiyosit proliferasyonunu kontrol ettiği görülür. Dışarıdan gelen bir etkiyle hasar oluşan bölümün, erken evrelerinde Serpine1 molekülleri gözlemlenmekte ve endotel hücrelerdeki rolü proliferasyon ve apoptoz üzerine olmaktadır (Münch ve ark., 2017).

### **2.3.2. Patolojik Durumlar**

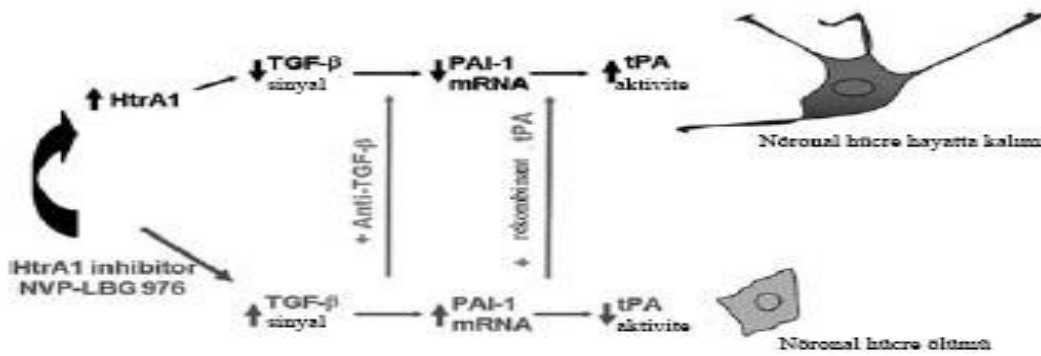
#### **2.3.2.1.Ağırlık Artışı İle İlişkisi**

Obezite, aşırı vücut yağlanması ile karakterize edilmektedir (Alessi ve Juhan-Vague, 2006). SERPINE1'in plazmadaki düzeyinin artışı, obezite ile de yapılan çalışmalarla ilişkilendirilmiştir (Lindeman ve ark., 2007; Skurk ve Hauner, 2004; Alessi ve Juhan-Vague, 2006). Bireyler üzerinde yapılan bir çalışmada, SERPINE1'in iç organ yağlanması ile güçlü bir ilişkisi olduğu bulunmakta ve iç organlara bağlı yağlanmanın SERPINE1 düzeyini arttırması ile bağlantılı olduğu görülmektedir (Lindeman ve ark., 2007; Carratala ve ark., 2018). Hiperlipidemik sıçanlarda, SERPINE1'in aktivitesi artmıştır ve fibrinolitik sistemin bozulduğu görülmektedir (Deng ve ark., 2017).



### 2.3.2.2.Nöronal Hücre Kayıpları

Bakteriyel bir serin-proteaz olan Yüksek sıcaklığa duyarlı antijen 1 (HtrA1)'in, beyin gelişiminde aktif olan işleme/bölünme sırasında artışı görülmektedir. Yapılan bir çalışmada, SERPINE1'in bulunduğu bölgedeki düzeyinin azalmasından önce HtrA1 proteinin çok yüksek ekspresyonu olduğu belirtilmiştir. HtrA1'in proteolitik aktivitesi bloke edildiği zaman SERPINE1'in mRNA düzeyinde artış olurken ciddi derecede nöronal hücre ölümleri meydana gelmiştir Yetişkin beyinlerde görüntülene düşük düzey TGF- $\beta$  sinyalizasyonunun beyin hasarına (Vivien ve Ali, 2006) neden olduğu görülmüştür. Yapılan çalışmada ise, yetişkin beyinlerde HtrA1'in çok yüksek mRNA ya da protein ekspresyonunun olması sonucunda TGF- $\beta$  bağlantılı SERPINE1 uyarımı oluşmuştur (Şekil6). TGF- $\beta$ 'nin merkezi sinir sistemi içerisinde bazı zıt etkilere sahip olduğu rapor edilmiştir (Launay ve ark., 2008).



Şekil 6: HtrA1'e bağlı olarak gerçekleşen TGF- $\beta$  sinyalizasyonu üzerinden PAI-1'in nöronal hücre kaybı ilişkisi. HtrA1'in blokajı ile birlikte TGF $\beta$  sinyalizasyonunda yüksek sinyalizasyon görülür. HtrA1 ve TGF $\beta$  üzerinden regülasyonu olan PAI-1'in bu şekilde gösterildiği üzere TGF $\beta$ 'nin yükselmesi ile birlikte PAI-1'in de yükselmesi ve buna bağlı olarak ortamdaki yüksek PAI-1'lerin tPA aktivitesini azaltmaya başlar. Bu durum sonucunda nöronal hücre ölümü gerçekleşir. Diğer normal koşulda ise nöronal hücrenin yaşam döngüsünde önemli bir yeri olduğu görülmektedir (Launay ve ark., 2008).

### **2.3.2.3.Diyabet ve İnsülin Direnci**

Koroner Kalp Hastalığının (CHD) gelişmesinde koagülasyon faktörlerinin önemli bir yeri vardır. Bu nedenle de koagülasyon ve fibrinolitik fonksiyonlar da meydana gelen değişiklikler CHD için güçlü bir belirleyiciliğe sahip olmaktadır. Tip 2 diyabet hastalarının SERPINE1 ekspresyonuna bakıldığında koroner kalp hastalığı olan hastalara kıyasla atardamar içerisinde daha yüksek oranda olduğu tespit edilmiştir bulunmuştur (Mortensen ve ark., 2010; Pandolfi ve ark., 2001). Kronik inflamatuvar ve pro-koagülant ile ilişkili olan kardiyovasküler hastalığın yüksek riski üzerinden karakterize edilen ailesel kombine hiperlipidemi (FCH) hastalarında yapılan bir çalışmada, insülin direnci olan FCH hastalarının SERPINE1 düzeyleri insülin direnci olmayan FCH hasta grubuna göre anlamlı derecede yüksek çıkmıştır. Kan içerisinde bulunan insülin, Homeostaz model değerlendirmesi (HOMA), glukoz ve SERPINE1 düzeylerinde anlamlı artış gözlemlenmiştir. Ayrıca İnsülin direnci ile pozitif bir korelasyon olduğu gösterilmiştir (Carratala ve ark., 2018). Hiperglisemi, vasküler endotel hücreler içerisinde SERPINE1 ekspresyonunu geliştirmektedir (Makino ve ark., 2016). Metabolik sendrom (MetS) ve Tip II diyabet (T2DM) hastalarda, MetS- pre-diyabetik grup hastalarına göre; plazma içerisinde SERPINE1 ve MMP9'un önemli ölçüdeki yüksek miktarı olduğu görülmüştür (Akour ve ark., 2018). T2DM hastaları üzerinde yapılan başka bir çalışmada insülin analogu olan Detemir'in kullanılması ile SERPINE1'in düzeyinde anlamlı bir azalma gözlemlenmiştir (Makino ve ark., 2016).

### **2.3.2.4.Kardiyovasküler Hastalıklar**

Kan içerisinde artan SERPINE1 miktarı, koroner arter hastalığı, kalp krizi, serebrovasküler, ateroskleroz gibi çeşitli hastalıklara sebep olmaktadır (Milenkovic ve ark., 2017; Pandolfi ve ark., 2001). Yapılan çalışmada, SERPINE1'in artmasıyla beraber bozulmuş olan fibrinolizis'in obez bireylerde kardiyovasküler hastalık riskini arttırabildiği gösterilmiştir (Lindeman ve ark., 2007; Kohler ve Grant, 2000). 2017 de T2DM bireyleri üzerinde yapılan bir çalışmada, perikardiyal yağlanması bulunan kişilerde SERPINE1 düzeylerinin anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür ve hastaların aterosklerotik kardiyovasküler hastalık (ASCVD) risk durumu da tespit edilmiştir. SERPINE1; perikardiyal yağlanma, İnsülin direncinin homeostatik model

değerlendirmesi (HOMA-IR) ile pozitif bir korelasyonu bulunmuştur (Bayomy ve ark., 2017).

### **2.3.2.5. Alzheimer ile İlişkisi**

Alzheimer, yaşlı bireylerde demans ve bilişsel gerilemeye sebep olan bir hastalıktır. Ayrıca amiloid- $\beta$  (A $\beta$ ) plaklarının ekstraselüler içerisindeki artımı göze çarpmaktadır. Yapılan bir çalışmada tPA aktivitesinin hipokampus ve amigdala bölgelerinde azaldığı görülmüştür. Bu azalma PAI-1'in tPA'nın inhibisyonunu sağlaması üzerinden oluşmuştur. Ayrıca PAI-1'in tPA-plazmin sistemini inhibe ederek A $\beta$  tortularının birikimini kolaylaştırdığı ile gösterilmiştir (Melchor ve ark., 2003).

### **2.3.2.6. Depresyonla İlişkisi**

Depresif bozukluklar; T2DM, obezite, ve MetS gibi çeşitli hastalıklarla yakından ilişkilidir. Depresif semptom gösteren hastalarda; plazma trombomodulin, SERPINE1 ve fibrinojen düzeylerinde önemli artış oluşturmuştur (Gorska-Ciebiada ve ark., 2016). Ayrıca depresif semptomlar, D-dimer, SERPINE1 ve fibrinojen düzeyinde artışı ile ilişkilidir (Geiser ve ark., 2008; Nemeroff ve Musselman, 2000). Stres ve depresyon sırasında SERPINE1 düzeyleri artış gösterirken tPA düzeylerinde düşüş meydana geldiği belirtilmiştir (Tsai, 2017).

### **2.3.2.7. Kanser İle İlişkisi**

Kolorektal kanser hastaları üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda, tümörlü dokuda SERPINE1 mRNA düzeyinin yüksek olduğu belirtilmiştir (Pavón ve ark., 2015). SERPINE1'in melanoma hücre hatlarında (WM793, 1205Lu ve WM278) güçlü şekilde yüksek ekspresyonu olmaktadır. Aynı zamanda SERPINE1'in ekspresyonunun bir siRNA tarafından bloke edilmesi, melanoma hücre hatlarında ki migrasyon ve invazyon üzerinde TGF- $\beta$ 'nın etkisini %60 oranla inhibe etmektedir (Humbert ve Lebrun, 2013; Wu ve ark., 2019).

Yapılan çalışmalarda agresif meme kanseri üzerinde SERPINE1'in belirleyici bir rolü olduğu bilinmektedir (Märkl ve ark., 2017). SNAI1 ve SERPINE1 kansere

hücrelerinde çok yüksek oranda ekspresyonları olurken kanserli hücre migrasyonunada etki ederler. SNAI1'in fonksiyonel olarak bloke edilmesi E-kaderin mRNA'sının re-ekspresyonuna ve SERPINE1'in azalmasına sebep olmaktadır. Bu durumda hücreler kolektif bir göç yaparlar. SNAI1'i ekspresyonunu yapan ana hücrelere bakıldığında, E-kaderinin azaldığı ve SERPINE1'in artışı ile sonuçlanırken migrasyon yapan hücrelerin tek tek göç ettiği görülmüştür (Fabre-Guillevin ve ark., 2008).

Mide Kanserinde, 368 hasta üzerinde prognostik role sahip olan genlerin hasta yaşam süreleri ile bağlantılarına bakılmıştır ve SERPINE1'inde aralarında bulunduğu 6 genin riskli prognostik gen olduğu tanımlanmıştır (Liu ve ark., 2018). Baş ve boyun kanserine sahip hastaların biyopsi örneklerinde prognostik bir marker olan SERPINE1'in yüksek düzeyine sahip olan hastalarda (orta düzey ve düşük düzey olanlarla kıyaslandığında) kısa progresyonsuz sağ kalımı oluşturduğu görülmüştür. Yüksek SERPINE1 düzeyine sahip hastalarda, diğer gruplara nazaran hayatta kalım sürelerinin düşmektedir. Tedavi sonrasında kanserin nüks etmesi ile SERPINE1 düzeyinin yüksekliği ile aralarında önemli bir ilişki vardır (Pavón ve ark., 2015).

#### **2.4. *Juniperus* türlerinin Tıp Alanında Kullanımı**

Tıbbi bitkiler, çeşitli hastalıklar için alternatif terapi yolu sağlamaktadır (Tsai ve ark., 2018). Melekotu, Likenler, Ardıç gibi bitkilerin, alternatif terapi olarak kanser üzerine etkisi gösterilmiştir (Tsai ve ark., 2018; Lin ve ark., 2013; Lantto ve ark., 2016; Emsen ve ark., 2016; Vasilijević ve ark., 2018). Ardıç bitkisi, baş ağrısı, soğuk algınlığı, jinekolojik hastalıklar, sindirim ve kanser gibi çeşitli hastalıklar üzerinde alternatif tedavi olarak denenmiş ve farklı ardıç türlerinin çeşitli kanser hastaları üzerinde sitotoksik etkisi gözlemlenmiştir (Vasilijević ve ark., 2018; Leporatti ve Ivancheva, 2003; Barrero ve ark., 2004; Yaglioglu ve Eser, 2017). Ayrıca çeşitli ardıç türlerinin antioksidan, anti-inflamasyon ve anti-mikrobiyal aktivite özellikleri belirtilmiştir (Vasilijević ve ark., 2018; Carpenter ve ark., 2012; Glišć ve ark., 2007; Lesjak ve ark., 2011; Orhan ve ark., 2011b). Örneğin *Juniperus communis* türünden elde edilen ekstraktlar, glioblastoma hücrelerinde 60 µg /ml oranında kullanımının hücre döngüsünü durdurduğu görülmüştür. Bu döngünün durdurulması, doza ve zamana bağlı olarak değişim göstermiştir. Ayrıca yapılan western blot çalışmasında, p53, p21 gibi tümör baskılayıcı genlerin ekspresyonunu yükseltirken aynı zamanda Rb, CDK2,

CDK4, siklin A, siklin B1, ve siklin D1 gibi hücre döngüsü kontrol noktası proteinlerinin de ekspresyonlarını inhibe etmiştir. Bu durumda G1-S fazı arası kontrol noktasının inhibisyonu üzerinden durdurulmuş olmaktadır. F344 sıçan modelinde, *Juniperus communis* (JCo) türünün glioblastomaların tedavisinde kullanımının anlamlı ölçüde glioblastoma boyutlarında küçülme gözlemlenmiştir (Tsai ve ark., 2018). C57/BL6 farelerinde yapılan bir çalışmada, ( $\mu\text{g/ml}$ ) JCo'nun B16/F10 melanoma hücrelerinde apoptosis üzerinden tümör hücrelerinin ölümünü başlattığı görülür. JCo'nun VEGFR/VEGFR1/VEGFR2, MMP9, MMP2 gibi sinyal yolunu inhibe etmektedir (30, 60, 90  $\mu\text{g/ml}$ ) (Gao ve ark., 2019).

#### 2.4.1. Ardıç Katranı (*Juniperus oxycedrus* Tar)

*Juniperus oxycedrus* ismi ile bilinen ardıç katranı, *J. oxycedrus* ağacından elde edilen uçucu bir yağdır. Ayrıca yanıcı bir materyaldir ve oksitleyici malzemeler ile reaksiyona girebilmektedir. Genellikle *Juniper* türü, kuzey Amerika, Asya ve Avrupa da olmak üzere kısa boylu ve çalılık şeklinde yayılmıştır. Ayrıca Türkiye (TÜMEN ve HAFIZOĞLU, 2003) içerisinde farklı bölgelerde çeşitli ardıç türü yetişmesiyle birlikte özellikle *Juniperus oxycedrus* türünün geniş bir yayılım (Gülsoy ve Çıvğa, 2016; Gülsoy ve Özkan, 2013) alanı bulunmaktadır. Ayrıca katran, geleneksel yöntemler kullanılarak elde edilmektedir (Arı ve ark., 2014) (Resim 1). Eter, kloroform, amil alkol gibi çeşitli çözücülerde çözünürken su içerisinde belli belirsiz ya da çok az oranda çözünmektedir. Ayrıca 1:20 oranında konulan katran su karışımının sonucu asidik bir yapı ortaya çıkar (ANDERSEN, 2001; Vasiljević ve ark., 2018).



Resim 1: Ardıç katranı, Otmanlar köyünden (Köyceğiz/Muğla) katran çıkartılması.

Ardıç katranı, sedef hastalığı, kepek, egzama ve bazı deri hastalığında kaşıntı önleyici ilaç olarak kullanılmıştır. Ayrıca Ardıç yağı, yanık ve yara iyileşme süresini daha da kısaltmaktadır (ANDERSEN, 2001). Ardıç katranının genç yetişkin sıçanlarda akut oral dozunun LD<sub>50</sub> oranını 6550-9770 mg/kg olarak belirlemiştir. Ayrıca toksik etkileri içerisinde depresyon ve mide-bağırsak sistemin tahrişi gözlemlenmiştir (Jenner ve ark., 1964; ANDERSEN, 2001). Seyreltilmemiş ardıç katranının tüysüz fareler ve tavşanların derileri üzerinde denenmiş ve deri tahribatına sebep olduğu görülmemiştir. Hastaların derilerinden alınan biyopsi sonuçları ve fare derilerinde denenilen ardıç katranı, kömür katranı bileşenlerinin üzerinde yapılan bazı deney sonuçlarında karsinogenik DNA hasarını uyardığı görülmüştür (Schoket ve ark., 1990; ANDERSEN, 2001).



### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada kullanılan kimyasallar ve cihazlar aşağıda yer almaktadır.

#### 3.1. Kimyasal Maddeler

- Dimethyl Sulfoxide (DMSO/BIOMATİK)
- D-Galaktoz (SIGMA)
- Dnaz, Rnaz Reagent (AMBRD DOĞA BİLİMLERİ)
- Ketamin (PFIZER/50mg/ml)
- Ksilazin (ALFASAN/20ng/1ml)
- PBS (SIGMA)
- Serum Fizyolojik (BİOFLEKS)

#### 3.2. Cihazlar

- Hassas Tartı (RADWAG/AS 220.R2)
- Terazı (RADWAG/AS220/C/2)
- Homojenizatör (ISOLAB/62L1L001)
- Santrifüj (BECKMAN COULTER/Allegra X-30R Centrifuge)
- Plate okuyucu (BİOTEK/ELx800)
- Isıtıcı-Karıştırıcı (ISOTEX)
- Distile Su Cihazı (Thermo Scientific)
- Plate yıkama cihazı (BİOTEK/ELx50)

#### 3.1. MTT Analizi

Hücre canlılık testi için sarı tetrazolium MTT (3-(4, 5-dimethylthiazolyl-2)-2, 5-diphenyltetrazolium bromide) kullanıldı. Yeterli büyüme gösteren hücre kültürü flasklarından, tripsin-EDTA yardımı ile hücreler kaldırıldı. 1300 rpm'de oda sıcaklığında 5 dk santrifüj edilip, pellet 4 ml Dulbecco's Modified Eagle's medium (DMEM) içinde süspansiyon edildi. Hücre solüsyonunda ölü hücreleri boyayan, canlı hücreler üzerine etki göstermeyen tripan mavisi boyası kullanılarak Thoma Lamında

hücre sayımı gerçekleştirildi. Hücre konsantrasyonları  $1 \times 10^5$  hücre/ml olacak şekilde ayarlandı. Ardından 96 kuyucuklu platede her bir kuyuya 90  $\mu$ l olacak şekilde hücre ekimi gerçekleştirildi. 1 gece 37 o C % 5 karbondioksitli etüvde inkübe edilerek hücrelerin kuyucuklara yapışması sağlandı. Ardıç katranı için: 1:10 1:20, 1:40, 1:80, 1:160, 1:320, 1:640, 1:1280, 1:2560, 1:5120 oranlarda % 0.1 DMSO-DMEM ile seyreltilerek hazırlanan örnekler kuyucuklara 10'ar  $\mu$ l olacak şekilde verildi. Kontrol grubu olarak, 10  $\mu$ l % 0.1 DMSO-DMEM verilip, 3 tekrarlı olacak şekilde 96 kuyucuklu tabakta hazırlandı. Deney ve kontrol grubu aynı şartlar altında 48 saat inkübe edildi.

### 3.2.Grupların Hazırlanması

Çalışmamızda, her grupta 8 adet olacak şekilde toplam 40 adet Wistar albino dişi sıçan kullanıldı. Kontrol grubu hiçbir işlem görmemiş sıçanlardan oluşmaktadır (Tablo 1).

Ardıç katranı olan grup için; ardıç katranı Otmanlar köyünden (Köyceğiz/Muğla) temin edildi. Ardıç katranı 1:80 oranında olacak şekilde DMSO ile çözüldü. Oluşturulan bu stoktan 0.4 mL alınarak 19.6 mL DMSO ile seyreltildi ve 1 ml subkutan (s.c.) olarak verildi (Katranın son konsantrasyonu: 0.25  $\mu$ l olacak şekilde ayarlandı. Ayrıca DMSO'nun son konsantrasyonu %98'dir).

D-gal grubu için; D-galaktoz 150 mg/kg/gün şeklinde s.c. olarak uygulandı. (DMSO'nun son konsantrasyonu %92'dir).

DMSO grubu için; DMSO dozu diğer gruplarda kullanılan en yüksek doz olarak belirlendi. Son konsantrasyonu %98 DMSO + 0.25  $\mu$ l/ml serum fizyolojik içerecek şekilde ayarlandı ve 1ml s.c. olarak sıçanlara uygulandı.

### 3.3.Deney Grupları

Çalışmamızda her grupta 8 adet olacak şekilde 40 adet 16 haftalık 200-250 gr dişi, Wistar Albino sıçanlar kullanıldı, *ad-libitum* olarak uygulandı. Çalışma için deney hayvanları; ÜSKÜDAB bünyesinde yer alan Üsküdar Üniversitesi Hayvan Deneyleri



Yerel Etik Kurulu (ÜÜ-HADYEK) tarafından 17.12.2018 tarih ve 2018-24 sayılı karar ile etik kurul onayı alınmıştır.

Deney hayvanları 5 gruba ayrıldı. Deney süresi 8 hafta olarak belirlendi (Tablo 1).

Tablo 1: Deney grupları.

GRUP	GRUP İSMİ	UYGULANANANAN KİMYASAL	DOZ	UYGULAMA
Grup I	Kontrol	-	-	-
Grup II	D-gal	D-gal	150mg/kg	(s.c)
Grup III	Katran	Katran	0.25 µl	s.c.
Grup IV	D-gal + Katran	D-gal + Katran	150mg/kg + 0.25 µl	s.c.
Grup V	DMSO	DMSO	(%98 DMSO)	s.c.

### 3.4.Örneklerinin Hazırlanması

8 hafta süren deney süresi sonrasında sıçanlar bir gece aç bırakıldı. Ketamin (80 mg/kg (intraperitoneal (i.p))) ve Ksilezin (10 mg/kg (i.p.)) uygulanarak anestezi altına alındı. Perfüzyon tekniği ile fizyolojik enjeksiyonu yapılarak dokular kandan arındırıldı ve karın içi yağ dokuları, Dnaz ve Rnaz reagent içeren 2 ml ependorflar içerisine alındı. Dokular +4°C'de muhafaza edildi. Sıçanların kanları sitrat içeren tüplere alınarak +4 °C, 1000 x g'de 15 dk santrifüj edildi. Elde edilen plazmalar -20 °C'de muhafaza edildi.

### 3.5.Doku Örneklerinin Hazırlanması

Dnaz ve Rnaz reagent içerisinde olan yağ dokusu, 1:9 oranında fosfat tamponu (PBS) ile homojenite edili. Elde edilen homojenat, 5000xg'de 5 dk +4°C'de santrifüj edildi. Santrifüj sonrasında süpernatant kısmı alındı ve. SERPINE1 düzeyleri ölçümü yapıncaya kadar -20°C de muhafaza edildi.

### 3.6.Plazmada SERPINE1 Düzeyinin Ölçülmesi

Deney hayvanlarından alınan plazma örnekleri, ELISA-Kit-for-Plasminogen-Activator-Inhibitor-1-(PAI1)-SEA532Ra PAI-1 miktar tayin kiti kullanılarak analiz edildi. Örneklerin analizi için izlenen yol aşağıdaki gibidir:

- 1- Reaktiflerin hazırlanması
  - a. Standart çözeltinin hazırlanması
  - b. Dilisyonların yapılması (20, 10, 5, 2.5, 1.25, 0.625, 0.312, 0 ng/mL.)
  - c. Tespit reaktifi A ve Tespit reaktifi B'nin hazırlanması
  - d. Yıkama solüsyonunun hazırlanması
  - e. TMB substratının hazırlanması
- 2- Standart ya da örnekler her kuyu için 100 µL olarak eklendi ve 1 saat 37 °C'de inkübe edildi.
- 3- Kuyulardan sıvılar alındı. 100 µL Tespit reaktifi A eklendi ve 1 saat 37 °C'de inkübe edildi.
- 4- Aspire edilerek 3 kere yıkama yapıldı.
- 5- 100 µL Tespit reaktifi B eklendi ve 30 dk saat 37 °C'de inkübe edildi.
- 6- Aspire edilerek 5 kere yıkama yapıldı.
- 7- 90 µL Substrat solüsyonu eklendi ve 20 dk 37 °C'de inkübe edildi.
- 8- 50 µL durdurma solüsyonu eklenir. 450 nm'de hemen okuması gerçekleştirilerek sonuçlar hesaplandı

### 3.7.Yağ Dokusunda SERPINE1 Düzeyinin Ölçülmesi

Hazırlanan doku homojenatları, E-EL-R0744-Elabscience PAI-1 miktar tayin kiti kullanılarak analiz edildi. Örneklerin analizi için izlenen yol aşağıdaki gibidir:

- 1- Reaktiflerin hazırlanması
  - Yıkama tamponu hazırlanması
  - Standart çalışılacak çözeltinin hazırlanması
  - Dilisyonların yapılması (20, 10, 5, 2.5, 1.25, 0.63, 0.31, 0 ng/mL.)
  - Biotinlenmiş Tespit Ab çalışma solüsyonu hazırlanması
  - Konsantre edilmiş HRP konjugatı çalışma solüsyonu hazırlanması

- 2- Standart ya da örnekler her kuyu için 100 µL olarak eklendi ve 90 dk 37 °C'de inkübe edildi.
- 3- Kuyulardan sıvılar alındı. 100 µL Biotinlenmiş Tespit Ab eklendi ve 1 saat 37 °C'de inkübe edildi.
- 4- Aspire edilerek 3 kere yıkama yapıldı.
- 5- 100 µL HRP konjugatı eklendi ve 30 dk saat 37 °C'de inkübe edildi.
- 6- Aspire edilerek 5 kere yıkama yapıldı.
- 7- 90 µL Substrat reaktifi eklendi ve 15 dk 37 °C'de inkübe edildi.
- 8- 50 µL durdurma solüsyonu eklenir. 450 nm'de hemen okuması gerçekleştirilerek sonuçlar hesaplandı

### **3.8.İstatistiksel Analiz**

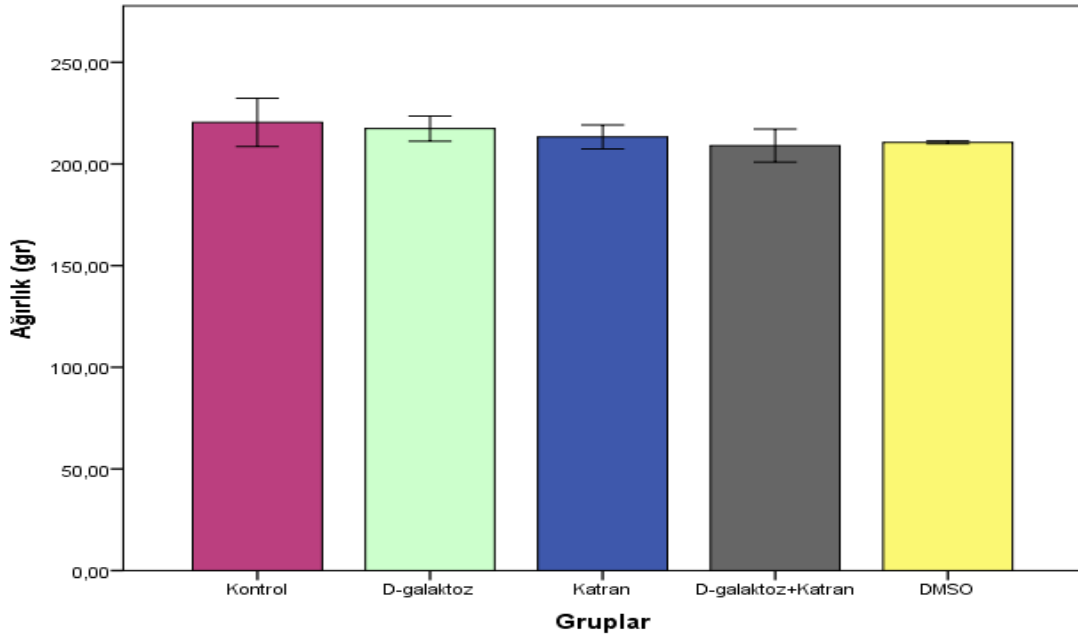
İstatistiksel analizler için SPSS 22.0 (Statistical Package for Social Sciences Inc, IL, USA) versiyonu kullanıldı. 5 grubun birbiri ile yem, su, ağırlık tüketimleri ve SERPINE1 düzeylerinin analizlerinin karşılaştırılması ANOVA-Tukey analizi kullanılarak yapıldı. Gruplar arasındaki istatistiksel analizde  $p < 0.05$  anlamlı olarak kabul edildi.

## 4. BULGULAR

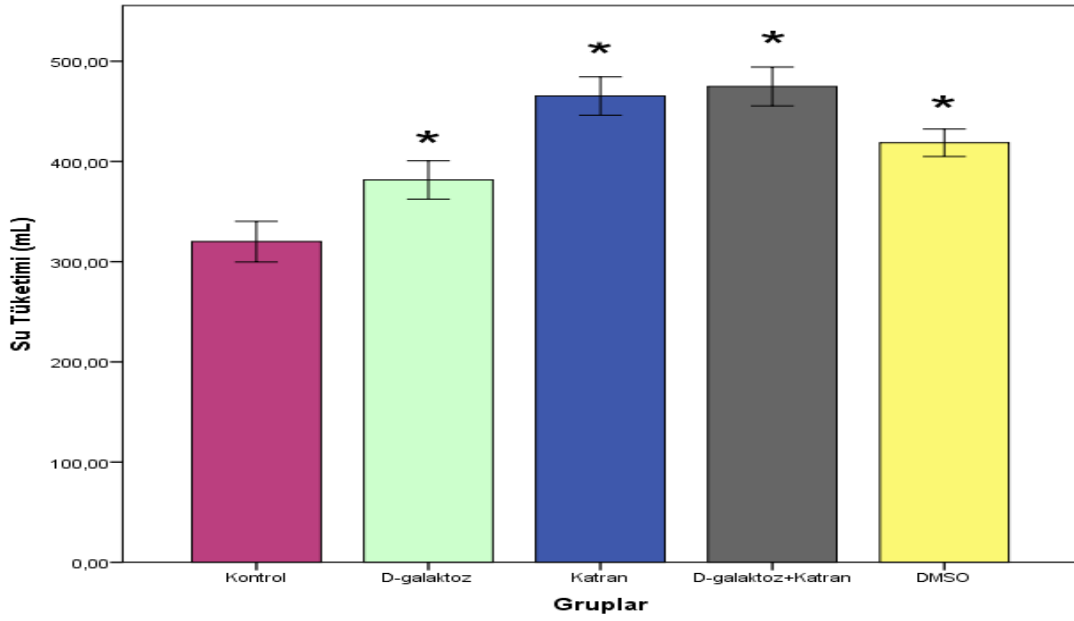
MTT analizi sonucu; ardıç katranının 1:80 oranındaki dozu uygulanılmaya kabul edilmiştir. Bulguların daha iyi yorumlanabilmesi için; gruplar arası yem, su, ağırlık tartımı ve grupların plazma ve dokulardaki SERPINE1 düzeyinin ölçümleri iki bölüme ayrılarak sunulmuştur.

### 4.1. Gruplar Arası Ağırlık, Yem ve Su Tüketimleri

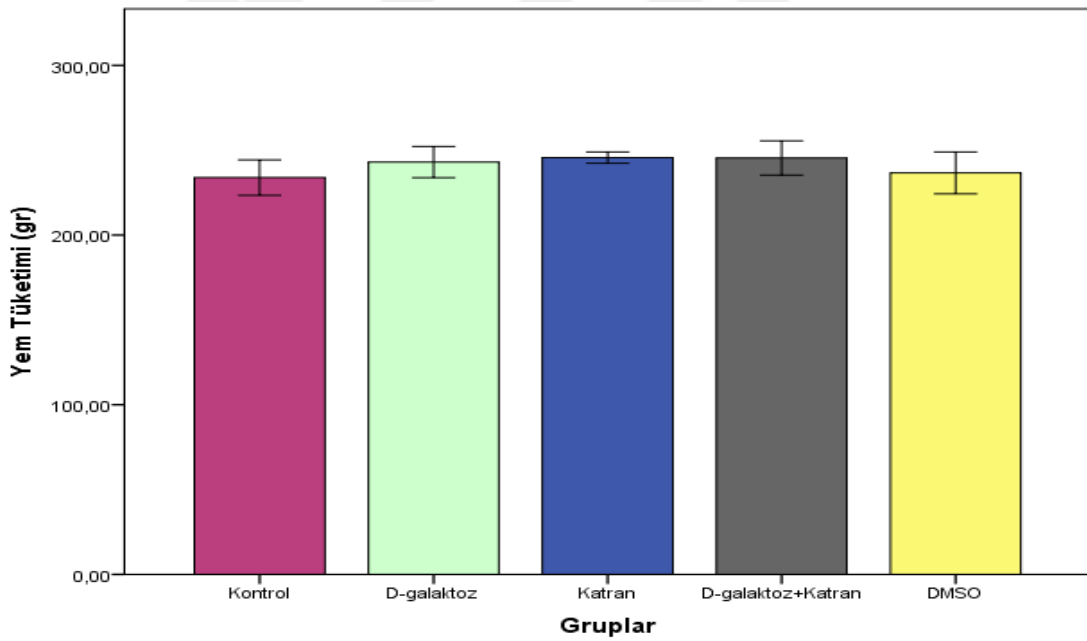
Belirlenen grupların 8 haftalık deney sonucuna göre; ağırlık, yem ve su tüketimlerinin sonuçları aşağıda yer alan Grafik 1, Grafik 2 ve Grafik 3’de gösterilmiştir.  $p < 0.05$  değeri anlamlı olarak kabul edilmiştir.



Grafik 1: Grupların 8 haftalık ağırlık ölçümlerinin karşılaştırılması. İstatistiksel olarak gruplar arasında anlamlı bir sonuç saptanmamıştır ( $p > 0.05$ ).



Grafik 2: Grupların 8 haftalık su tüketimi. İstatistiksel olarak gruplar arasında anlamlı bir sonuç saptanmıştır ( $p<0.05$ ).



Grafik 3: Grupların 8 haftalık yem tüketimi. İstatistiksel olarak gruplar arasında anlamlı bir sonuç saptanmamıştır ( $p>0.05$ ).

#### **4.1.1. Kontrol Grubu İle Diğer Grupların Yem - Su ve Ağırlık Karşılaştırılması:**

##### **4.1.1.1. Kontrol ile D-galaktoz grubunun karşılaştırılması**

Gruplar arasındaki ağırlık, yem ve su anlamlılığı Grafik 1, Grafik 2 ve Grafik 3 de gösterilmiştir. D-Galaktoz verilen grupta kontrole göre ağırlık bakımından istatistiksel olarak anlamlı olmasa da azalma görülmüştür ( $0.998 > 0.05$ ). Ayrıca D-galaktoz grubunun yem tüketimi kontrole göre fazladır ( $0.960 > 0.05$ ). Ayrıca D-galaktoz grubunda istatistiksel olarak anlamlı olmasa da su tüketimi bakımından artış gösterdiği gözlenmiştir ( $0.152 > 0.05$ ).

##### **4.1.1.2. Kontrol ile katran grubunun karşılaştırılması**

Gruplar arasındaki anlamlılık Grafik 1, Grafik 2 ve Grafik 3 de gösterilmiştir. Katran grubu kontrol grubuna kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı olmasa da yem tüketimi bakımından artış gözlenmiştir ( $0.906 > 0.05$ ). Ayrıca ağırlık artışı bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlenmemiştir ( $0.960 > 0.05$ ). Aksine su tüketiminde istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir ( $0.000 < 0.05$ ).

##### **4.1.1.3. Kontrol ile D-gal+Katran grubunun karşılaştırılması**

Gruplar arasındaki anlamlılık Grafik 1, Grafik 2 ve Grafik 3 de gösterilmiştir. D-gal+Katran grubunda kontrol grubuna göre ağırlık bakımından azalış ( $0.815 > 0.05$ ) ve yem tüketimi bakımından istatistiksel olmasa da bir artış gözlenmiştir ( $0.911 > 0.05$ ). Bununla birlikte D-gal+Katran grubunun daha fazla su tükettiği görülmüş ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $0.000 < 0.05$ ).

##### **4.1.1.4. Kontrol ile DMSO grubunun karşılaştırılması**

Gruplar arasındaki anlamlılık Grafik 1, Grafik 2 ve Grafik 3 de gösterilmiştir. İstatistiksel olarak anlamlı olmasa da DMSO grubunda ağırlık artışı kontrol grubuna göre azaldığı ( $0.883 > 0.05$ ) yem tüketiminde ise bir değişiklik olmadığı görülmektedir ( $1.000 > 0.05$ ). Ayrıca DMSO grubunun su tüketiminde istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu görülmüştür ( $0.005 < 0.05$ ).

#### **4.1.2. D-galaktoz ile diğer grupların karşılaştırılması**

##### **4.1.2.1. D-galaktoz ile Katran grubunun karşılaştırılması**

Gruplar arasındaki anlamlılık Grafik 1, Grafik 2 ve Grafik 3 de gösterilmiştir. İstatistiksel olarak anlamlı olmasa da katran grubunun ağırlığının D-galaktoz grubuna göre azaldığı ( $0.995 > 0.05$ ) ve yem bakımından ise bir değişiklik olmadığı görülmektedir ( $1.000 > 0.05$ ). Ayrıca katran grubunun su tüketiminin istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu bulunmuştur ( $0.022 < 0.05$ ).

##### **4.1.2.2. D-galaktoz ile D-gal+Katran grubunun karşılaştırılması**

Gruplar arasındaki anlamlılık Grafik 1, Grafik 2 ve Grafik 3 de gösterilmiştir. İstatistiksel olarak anlamlı olmasa da D-gal+katran grubunun ağırlık bakımından D-galaktoz grubuna göre azaldığı ( $0.931 > 0.05$ ) yem bakımından ise değişiklik olmadığı görülmüştür ( $1.000 > 0.05$ ). D-gal+katran grubunda su tüketiminde istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmüştür ( $0.009 < 0.05$ ).

##### **4.1.2.3. D-galaktoz ile DMSO grubunun karşılaştırılması**

Gruplar arasındaki anlamlılık Grafik 1, Grafik 2 ve Grafik 3 de gösterilmiştir. DMSO grubu, D-galaktoz grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı olmasa yem tüketimi ( $0.990 > 0.05$ ) ve kilo da azalmanın olduğu görülmektedir ( $0.967 > 0.05$ ). DMSO grubunun su tüketimine bakıldığında istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir artış olduğu görülmüştür ( $0.618 > 0.05$ ).

#### **4.1.3. Katran ile diğer grupların karşılaştırılması**

##### **4.1.3.1. Katran ile D-gal+Katran grubunun karşılaştırılması**

Gruplar arasındaki anlamlılık Grafik 1, Grafik 2 ve Grafik 3 gösterilmiştir. İstatistiksel olarak anlamlı olmasa da D-gal+Katran grubu, katran grubuna göre ağırlık bakımından azalmış ( $0.994 > 0.05$ ) ve yem bakımından ise bir değişim gözlenmemiştir ( $1.000 > 0.05$ ). D-gal+Katran grubunun su tüketiminde, istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir artış olduğu görülmüştür ( $0.996 > 0.05$ ).

#### **4.1.3.2. Katran ile DMSO grubunun karşılaştırılması**

Gruplar arasındaki anlamlılık Grafik 1, Grafik 2 ve Grafik 3 de gösterilmiştir. DMSO grubu katran grubu ile karşılaştırıldığında; yem tüketimine göre azalma ( $0.963 > 0.05$ ) ve ağırlık bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir değişim göstermediği görülmüştür ( $0.999 > 0.05$ ). DMSO grubu, istatistiksel olarak bakıldığında su tüketiminde anlamlı olmayan bir azalma olduğu bulunmuştur ( $0.398 > 0.05$ ).

#### **4.1.4. D-gal+Katran ile diğer grupların karşılaştırılması**

##### **4.1.4.1. D-gal+Katran ile DMSO grubunun karşılaştırılması**

Gruplar arasındaki anlamlılık Grafik 1, Grafik 2 ve Grafik 3 de gösterilmiştir. İstatistiksel olarak anlamlı olmasa da DMSO grubunun ağırlık bakımından D-gal+Katran grubuna göre değişim göstermediği ( $1.000 > 0.05$ ) ve yemi tüketimlerinin azaldığı görülmüştür ( $0.966 > 0.05$ ). Ayrıca DMSO grubunun su tüketiminin istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir azalma olduğu görülmüştür ( $0.222 > 0.05$ ).

#### **4.2. Plazma ve Dokudan SERPINE1 Miktarının Ölçümü**

##### **4.2.1. Plazma SERPINE1-1 Düzeyinin Ölçümü**

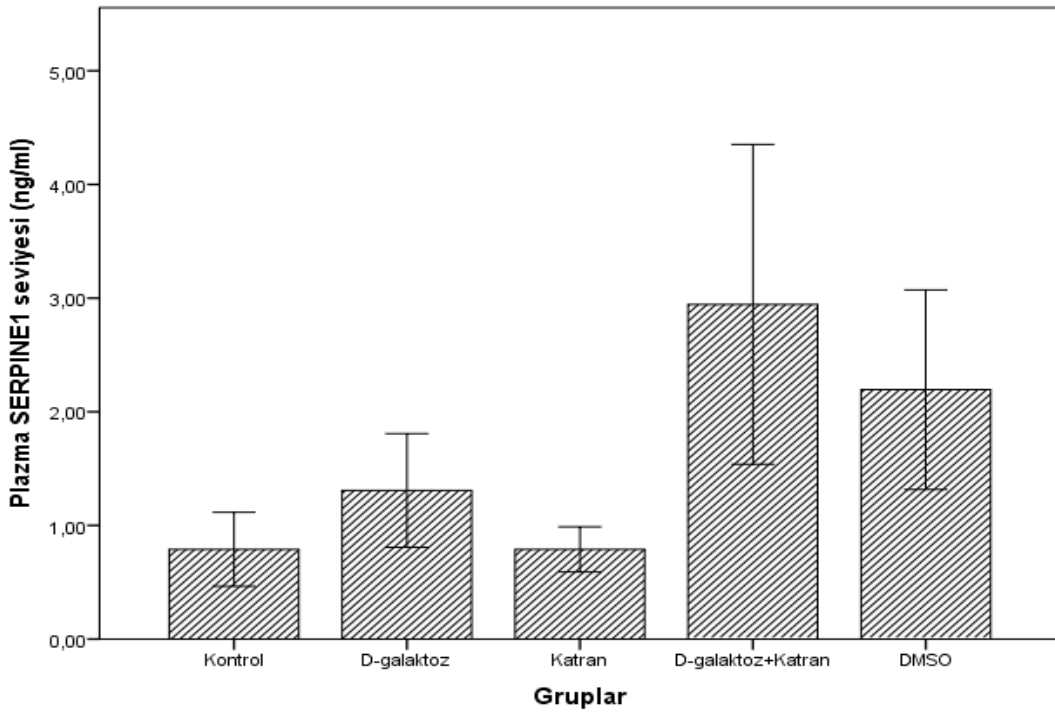
-20°C'den alınan plazma örnekleri, ELISA-Kit-for-Plasminogen-Activator-Inhibitor-1-(PAI1)-SEA532Ra kiti tarafından SERPINE1 düzeyi ölçüldü. Örnekler çift çalışıldı.

D-galaktoz uygulanan grup kontrol grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı olmasa da plazma SERPINE1 düzeyinde artış gözlenmiştir ( $0.990 > 0.05$ ) (Grafik 4). DMSO grubunun DMSO oran fibrinolitik sistemi bozmuş ve kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmasa da SERPINE1 düzeyinin yükseldiği görülmüştür ( $0.722 > 0.05$ ). Bununla birlikte katran grubundaki SERPINE1 düzeyi kontrol grubu ile karşılaştırıldığında değerlerin birbirine çok yakın olduğu görülmektedir ( $1.000 > 0.05$ ). Ayrıca D-gal+katran grubu kontrol grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir yükselme gözlenmiştir ( $0.333 > 0.05$ ).



Katran grubu, DMSO grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı olmasa da SERPINE1 düzeyinin azaldığı görülmüştür ( $0.721 > 0.05$ ). D-gal+katran grubunda, yaşlanma ve DMSO tarafından gelen fibrinolitik dengenin bozulması sonucu DMSO grubuna kıyasla daha yüksek SERPINE1 düzeyleri gözlemlenmiştir. Bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı değildir ( $0.961 > 0.05$ ). Özellikle bu grup için kullanılan ardiç katranı oranının düşük kaldığı görülmüştür. Katran grubu D-gal+katran grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı olmasa da SERPINE1 düzeylerinde azalma görülmüştür ( $0.333 > 0.05$ ).

D-gal+katran grubu, D-gal grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı olmasa da SERPINE1 düzeylerinde yükseliş gözlemlenirken ( $0.597 > 0.05$ ). Ayrıca katran grubu, D-gal grubu ile kıyaslandığında anlamlı olmasa da SERPINE1 düzeylerinde azalış ( $0.990 > 0.05$ ) ve D-gal grubu DMSO grubu ile kıyaslandığında anlamlı olmasa da bir azalma gözlenmiştir ( $0.931 > 0.05$ ).



Grafik 4: Plazma SERPINE1 düzeyleri.

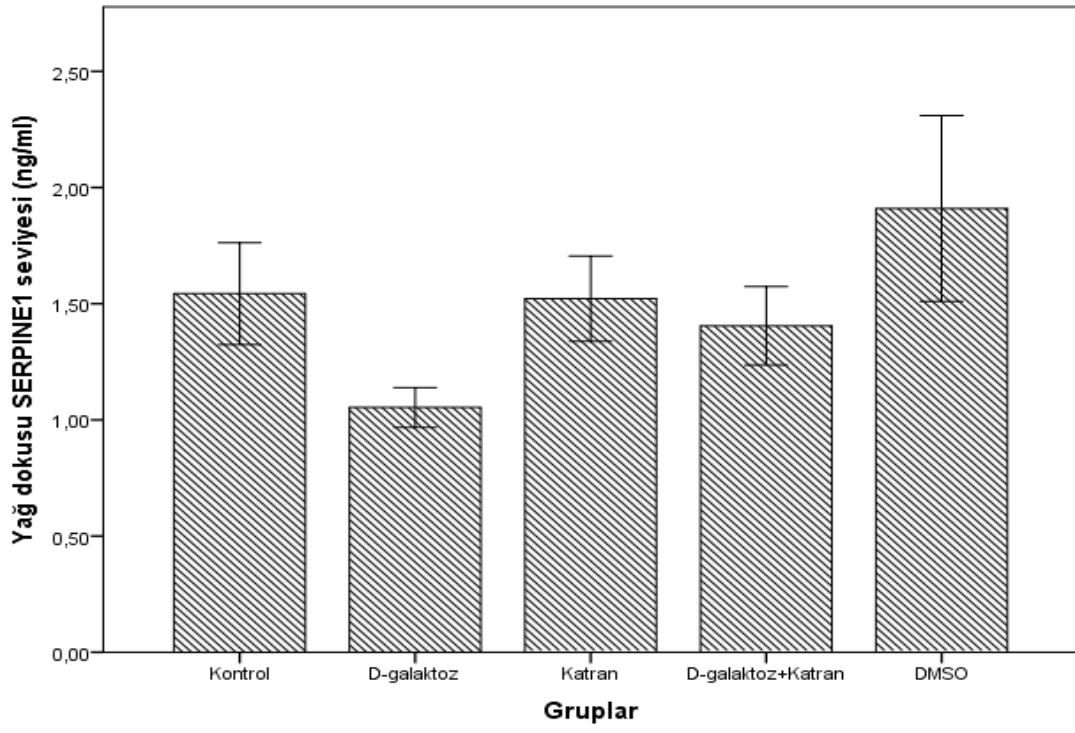
#### 4.2.2. Yağ Dokusunda SERPINE1-1 Düzeyinin Ölçülmesi

1:9 oranında PBS ile homojenat haline getirilen karın içi yağ dokuları, E-EL-R0744-Elabscience PAI-1 miktar tayin kiti ile birlikte SERPINE1 düzeyi ölçüldü. Örnekler çift çalışıldı.

D-galaktoz grubu kontrol grubu ile kıyaslandığında, SERPINE1 düzeylerinin artmış olması beklenirken azalma görülmüştür ( $0.590 > 0.05$ ) (Grafik 5). Katran grubunun SERPINE1 düzeyi kontrol grubu ile kıyaslandığında ise aynı sonuçları göstermiştir ( $1.000 > 0.05$ ). Bu sonuçlarla birlikte; katran grubunun DMSO grubu ile kıyaslandığında SERPINE1 düzeyleri anlamlı olmasa da azalma göstermiştir ( $0.770 > 0.05$ ). D-gal+katran grubu SERPINE1 düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı olmasa da, kontrol grubu ( $0.993 > 0.05$ ) ve katran grubuna göre azalmış ( $0.997 > 0.05$ ), D-galaktoz grubuna göre ise artmış olduğu görülmüştür ( $0.827 > 0.05$ ). Ayrıca D-gal+katran grubu DMSO ile kıyaslandığında anlamlı olmasa da SERPINE1 düzeyleri azalış göstermiştir ( $0.562 > 0.05$ ).

DMSO grubu kontrol grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı olmasa da SERPINE1 düzeylerinde artış gözlenmiştir ( $0.805 > 0.05$ ). Ayrıca D-gal grubunun SERPINE1 düzeyleri DMSO grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı olmasa da azalış göstermiştir ( $0.107 > 0.05$ ).

Plazma ve doku sonuçları birbiri ile karşılaştırıldığında gruplar arası SERPINE1 düzeylerinde farklılıklar bulunmuş ve kan ile dokular arası SERPINE1 düzeylerinin farklı olabileceğini düşündürmüştür.



Grafik 5: Karın içi yağ dokusunda SERPINE1 düzeyleri.

## 5. TARTIŞMA

İki ana grup altında topladığımız bulgularımızı literatürde yapılan çalışmalarla irdeledik.

### 5.1.Grupların Ağırlık, Yem ve Su Tüketimleri Karşılaştırılması

Yaşlanma ile birlikte vücut kütlesi değişimi ile birlikte yağ dağılımı da değişmeye başlamaktadır. Yapılan çalışmalarda yaşlı sıçanlarda zaman geçtikçe vücut ağırlığında artış olmaktadır (Fei ve ark., 2010). Ayrıca SERPINE1'in plazmadaki düzeylerinin artışı, obezite ile de yapılan çalışmalarla ilişkilendirilmiştir (Lindeman ve ark., 2007; Skurk ve Hauner, 2004; Alessi ve Juhan-Vague, 2006). Hiperlipidemik sıçanlarda, SERPINE1'in aktivitesi artmıştır ve fibrinolitik sistemin bozulduğu görülmektedir (Deng ve ark., 2017). Çalışmamızda D-galaktoz ile taklitçi yaşlanma modeli oluşturulan sıçanların ağırlık artışında kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı olmasa da azalma olduğu görülmüştür ( $p>0.05$ ) (Grafik 1). Literatürle zıt düşen bu sonuç; D-galaktozun, kullanılan %92 DMSO oranı üzerinden etkisinin azalması ile ilişkilendirilmiştir. Bununla birlikte gruplar arasında Yem ve ağırlık bakımından istatistiksel olarak bir anlamlılık bulunmamıştır. Grupların su tüketimlerine bakıldığında; D-gal+Katran, Katran ve DMSO gruplarının kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı derecede artış görüşmüştür ( $p<0.05$ ).

D-gal+katran diğer gruplara göre en fazla su tüketen gruptur. D-galaktoz ve katran gruplarıyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu görülmüştür ( $p<0.05$ ). Ayrıca Katran grubu, D-Galaktoz grubuna kıyasla anlamlı derecede su tüketmiştir ( $p<0.05$ ).

### 5.2.D-galaktoz Tarafından oluşturulan Yaşlanma Modelinin SERPINE1 Üzerine Etkisi

Yapılan çalışmalarda; D-galaktoz, Doxorubicin ve yaşlanma-ilişkili  $\beta$ -galaktosidaz (SA- $\beta$ gal) ajanların kullanıldığı yaşlanma modelleri oluşturulmaktadır (Chang ve ark., 2017; Li ve ark., 2016; Cebe ve ark., 2014; Saleh ve ark., 2019). D-galaktoz kullanımı, oksidatif strese bağlı olarak yaşlanmayı tetiklemekte ve bellek bozulmasına sebep olmaktadır (Ruan ve ark., 2013; Kumar ve ark., 2010; Panda ve ark., 2018; Campisi ve di Fagagna, 2007; Ji ve ark., 2017; Ghosh ve ark., 2016). Ayrıca

D-galaktoz, kendi metabolizması üzerinden ROT'ların oluşturulmasına katkıda bulunmaktadır (Parameshwaran ve ark., 2010; Ji ve ark., 2017) ve ayrıca D-galaktoz aşırı miktarda tüketildiğinde nörotoksiteye de neden olmaktadır (Panda ve ark., 2018). Biz de çalışmamızda, bu literatürlerin ışığı altında 150 mg/kg/gün olarak belirlediğimiz D-galaktoz dozu ile yaşlanma modeli oluşturduk.

3,6 ve 8 haftalık kl/kl fareleri üzerinde yapılan bir çalışmada, farelerin plazmalarındaki SERPINE1 düzeylerinin yaşlanmaya bağlı olarak arttığı gözlemlenmiş ve böbrek, kalp, aort ve böbrek üstü bezlerinde yüksek miktarda mRNA düzeyi bulunmuştur (Takeshita ve ark., 2002). Yapılan bir fare çalışmasında; yaşlı farelerin kalp dokularında, yaşlanma sonucu yüksek SERPINE1 ekspresyonu olduğu görülmüştür (Oishi ve ark., 2011). Ayrıca spontan hipertensif sıçan modelinde, yaşlı sıçanların SERPINE1 düzeyleri anlamlı derecede yüksek bulunmaktadır. (Ghosh ve ark., 2016; Chan ve ark., 2018). Literatürde oluşturulan taklitçi yaşlanma modelleri üzerinde SERPINE1 düzeylerinin yüksek olduğu tespit edilmiştir. Literatürde D-galaktoz üzerinden oluşturulan yaşlanma modelinde SERPINE1 düzeylerinin ölçümüne dair bir veri bulunmamaktadır.

D-galaktoz uygulanan Wistar sıçanlarda; bölgesel fibrosis bölgelerinin arttığı ve bu fibrotik programın başlamasında anahtar molekül olduğu düşünülen TGF- $\beta$  ve TNF- $\alpha$ , düzeylerinde artış olduğu görülmektedir (Saleh ve ark., 2019; Wei ve ark., 2017). Ayrıca başka bir çalışmada, D-galaktoz ile yaşlandırılan sıçan modelinde; TGF- $\beta$  üzerinden yaşlanma uyarımlı kollajen birikimi de gözlemlenmektedir (Chang ve ark., 2019). Yaşlanma modelleri baz alınarak, özellikle TGF- $\beta$ 'nın SERPINE1 düzeylerinde artışı tetiklediği bilgileri ile birlikte D-galaktoz ile oluşturulan yaşlanma modeli grubumuzun plazma SERPINE1 düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı olmasa da artış olduğu görülmüştür ( $p>0.05$ ) (Grafik 4). Kullanılan %92 DMSO çözeltisinin de fibrinolitik bozunmayı destekleyebileceği düşünülmektedir. Sonuçlarımız yapılan benzer çalışmalar ile uyumluluk göstermektedir.

Çalışmamızda, D-galaktoz verilen grubun yağ dokusu incelendiğinde, SERPINE1 düzeylerinin kontrol grubuna göre azaldığı görülmektedir (Grafik 5). SERPINE1 düzeylerinin bu azalımı; %92 oranında kullanılan DMSO'nun D-galaktoza karşılık iyileştirici bir etkisi olabilir mi? sorusunu akla getirmektedir. TNF- $\alpha$  uyarımlı HAEC hücreleri üzerinde yapılan bir çalışmada; %0.1 ve %1 konsantrasyonu uygulanan

DMSO'nun SERPINE1 düzeyleri üzerine bir etkisi olmadığını göstermektedir (Camici ve Steffel, 2006).

Yapılan başka bir çalışmada, yaşlı Wistar sıçanların plazmalarında ki SERPINE1 düzeyleri anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Genç yağ hücreleri ile karşılaştırıldığında; olgun yağ hücrelerindeki SERPINE1 mRNA ekspresyonunun anlamlı derecede yükseldiği görülmektedir. Ayrıca yaşlanma ile birlikte SERPINE1 mRNA düzeylerinin iki kat daha attığı görülmektedir. Bunlara kıyasla yaşlı hayvanların karaciğerindeki SERPINE1 mRNA düzeyinde bir değişiklik olmadığı görülmektedir. Yaşlı ve yetişkin sıçanların karaciğer ve yağ dokularındaki SERPINE1 mRNA düzeyleri karşılaştırıldığında; yağ dokusunun SERPINE1 mRNA düzeyinin karaciğere göre çok daha yüksek olduğu gösterilmektedir. Ayrıca yetişkin sıçanlardaki olgun yağ hücreleri ve stromal hücrelerindeki SERPINE1 ekspresyonunun benzer olduğu görülmektedir. Yaşlanma ile birlikte SERPINE1 mRNA düzeylerine bakıldığında, 24 aylık olan yaşlı sıçanların yağ hücrelerinde ki SERPINE1 ekspresyonunun kontrol grubuna göre çok daha yüksek olduğu gösterilmiştir. (Serrano ve ark., 2009).

FBN (Brown Norway hybrid) türü sıçanlarda yapılan bir çalışmada, 26 haftalık dişi sıçanlardan elde edilen karın içi yağlarda SERPINE1'in yüksek ekspresyonu olduğu görülmektedir. Fakat erkek sıçanlarda bu karşılaştırmada anlamlı bir sonuç elde edilmemiştir (Fei ve ark., 2010).

Yapılan başka bir çalışmada, ömür boyu kalori kısıtlamalı yemle beslenen yaşlı sıçanlarda ve eski *ad-libitum* beslenmesi olan sıçanların iç organlarındaki yağlarda; SERPINE1 ekspresyonlarının anlamlı derecede yüksek olduğu görülmektedir (Einstein ve ark., 2010).

Çalışmamız literatürle kıyaslandığında; D-galaktoz uygulanan sıçanların; iç yağlarının kontrol grubuna kıyasla SERPINE1 düzeylerinde artış beklenmiştir. Fakat aksine bu sonuçlarda istatistiksel olarak anlamlı olmasa da azalma gözlenmiştir ( $p>0.05$ ) (Grafik 5). Bu sonuç doku üzerinde DMSO'nun D-galaktoz üzerinden iyileştirici bir etkisi olduğunu düşündürmektedir.

### 5.3.Ardıç Katranı Uygulanan Grubun SERPINE1 Üzerine Etkisi

Ardıç katranı (*Juniperus oxycedrus*); eter, kloroform, amil alkol gibi çeşitli çözücülerde çözünürken su içerisinde belli belirsiz ya da çok az oranda çözünmektedir (ANDERSEN, 2001; Vasiljević ve ark., 2018). DMSO, özellikle suda çözünmeyen kimyasallar için sıklıkla çözücü olarak kullanılmaktadır, ayrıca serbest radikalleri ortadan kaldırması (temizlemesi) bilinen bir etkisidir. (Huang ve ark., 2016; David, 1972). DMSO, kemoteropatik ilaçların çözücüsü olması dışında, hematopoetik progenitör hücrelerin korunması için ve kök hücre transplantasyonu gibi çeşitli aşamalarda kullanılmaktadır. Ayrıca romatizma, gastrointestinal, akciğer ve nörolojik pek çok hastalığın tedavisi için kullanılmakta ve anti-tümör, anti-inflamatuvar ve antioksidan aktivitesi olduğu bilinmektedir. (Camici ve Steffel, 2006; Huang ve ark., 2016; David, 1972; Deol ve ark., 2019; Orhan ve ark., 2011a). DMSO için LD50 12000 mg/kg'dır. Bu doz artışında toksik etki göstereceği belirtilmiştir (Lewis, 2004, s: 1466).

Birçok hastalığın tedavi potansiyeline sahip olan ardıç katranı (*Juniperus oxycedrus*), D-galaktoz ile oluşturulmuş yaşlanma modeli üzerine etkisine dair literatürde herhangi bir veri bulunmamaktadır. Katran kullanılan grubun plazma sonuçlarına bakıldığında, SERPINE1 düzeyleri kontrol grubuna kıyasla daha düşük olması beklenirken, sonuçların birbirine yakın değerler olduğu görülmektedir. Bu durumun kullanılan 0.25 µl ardıç katranı ve çözüldüğü %98 DMSO karışımı ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. DMSO grubunda görüldüğü üzere; %98 DMSO oranının fibrinolitik bozunmayı tetiklediği görülmüştür. Buna rağmen uygulanan 0.25 µl katranın bu kıyaslama ile ciddi bir iyileştirici ve tedavi edici etkisi olduğu görülmektedir.

### 5.4.D-gal+Katran Uygulanan Grubun SERPINE1 Düzeyi Üzerine Etkisi

Çalışmamızda D-gal+katran grubuna bakıldığında, iki nedene bağlı olarak karşılaştırmamız gerekmektedir. İlk olarak; D-galaktoz tarafından oluşturulan taklitçi yaşlanma modelinde fibrinolitik düzeylerinin bozulması (Eren ve ark., 2014; Deng ve ark., 2017) ile SERPINE1 düzeyinde artış beklenmektedir. İkinci olarak; %98 DMSO tarafından gelen fibrinolitik dengenin bozulması ve buna bağlı olarak SERPINE1 düzeylerinde artış beklenmektedir. Katran grubu ile aynı doz katran verilen bu grupta da ardıç katranının bu bozunmayı ortadan kaldırıp kaldırmayacağı beklenmektedir. Sonuç

olarak; D-gal+katran grubunun kontrol grubu ile kıyaslandığında, plazma içi SERPINE1 düzeyi oldukça artış göstermiştir ve ayrıca DMSO grubundan daha yüksek bulunmuştur. Katran grubu ile kontrol grubu kıyaslandığında ardıç katranının miktarının iyileştirici bir etkisi olduğu görülmüştür. Fakat D-Gal+Katran grubu için bu iyileştirici doz miktarının yetersiz kaldığı görülmüştür.

Çalışmamızdaki D-gal+katran grubunun yağ dokusu SERPINE1 düzeyleri kıyaslandığı zaman ise belirtilen sonuçların tam tersi bir sonuç elde edilmiştir. Bu sonuca göre kontrol grubu ile kıyaslandığında SERPINE1 düzeylerinin azalma olduğu görülmüştür. Bu iki nedenle; ilişkili olarak 0.25 µl ardıç katranının iyileştirici etkisi üzerinden SERPINE1 düzeylerini azalığı görülmüştür.

D-galaktoz grubunun yağ dokularına bakıldığında kontrole kıyasla düşük, katran grubunun ise kontrole kıyasla hemen hemen yakın ama düşük SERPINE1 düzeylerine sahip olduğunu belirtmiştik. D-Gal+katran grubuna bakıldığında ise; ardıç katranının doku üzerinde iyileştirici etkisinin olduğu tespit edilmiştir.

### **5.5.DMSO Uygulanan Grubun SERPINE1 Düzeyi Üzerine Etkisi**

Huang ve ark. hayvan kaynaklı hücre hatlarında yaptıkları bir çalışmada; %1.5 konsantrasyonunda kullanılan DMSO'nun TGF- $\beta$  reseptörlerinin ekspresyonlarını hücre yüzeyinde arttırmaktadır. Ayrıca TGF- $\beta$ -uyarımlı SERPINE1'in mRNA ekspresyonunu arttırdığı da görülmektedir. Bu çalışmaya benzer, %2 DMSO uygulanan hücrelerde, IL-6 ve SERPINE1'in ekstrasellüler düzeylerinde inhibisyon gerçekleştiği görülmektedir (Srinivas ve ark., 1991). TNF- $\alpha$  uyarımlı HAEC hücreleri üzerinde yapılan bir çalışmada; %0.1 ve %1 konsantrasyonu uygulanan DMSO'nun SERPINE1 düzeyleri üzerine bir etkisi olmadığı görülmektedir (Camici ve Steffel, 2006).

Yapılan başka bir çalışmada, sıçanlardaki mikrovasküler endotel hücrelerinde, IL-1 uyarımlı SERPINE1 ekspresyonunun DMSO tarafından inhibe edildiği görülmektedir (Okada ve ark., 1998; Camici ve Steffel, 2006).

Çalışmamızda, yüksek doz olarak %98 DMSO uygulanan grubun plazma SERPINE1 düzeyleri, kontrol ve katran grubuna kıyasla daha yüksek olduğu görülmüştür. Katranının iyileştirici etkisi bu karşılaştırma ile tespit edilmiştir.



DMSO'nun farklı konsantrasyonları (0.01, 0.05, 0.1, 0.5 and 1.0%) HepG2 hücrelerinde de denenmiştir. %0.005'den %0.1'ye varan konsantrasyonlarda hücrelerin çoğalmasını sağlarken, %0.5'nin üzerinde yer alan bir konsantrasyonda çoğalması yönünde azalma görülmektedir. DMSO'nun düşük konsantrasyonlarının mitokondri ve hücre çoğalma üzerinde önemli bir rol oynayabileceği düşünülmektedir. Yapılan çalışmalarda ayrıca karaciğerde lipid birikimini ve ayrıca serbest yağ asidine bağlı hücreli lipotoksisiteyi azalttığı gösterilmiştir özelliği ile birlikte fibrinolitik sistemi bozduğu ve SERPINE1 düzeylerinin bu nedenle yüksek çıktığı bulgusunu yapılan çalışmalar desteklemektedir.



## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yapılan çalışmaların ışığında, 8 haftalık deney sonucunda; gruplar arası yem tüketimi ve ağırlık artışı bakımından birbirlerine yakın sonuçlar elde edilmiştir. Bu sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Katran, DMSO ve D-gal+katran uygulanan grupların kontrol grubuna göre su tüketimlerinin istatistiksel olarak anlamlı ölçüde yüksek olduğu görülmüştür. Ayrıca plazma ve yağ SERPINE1 düzeylerindeki değişimlere rağmen istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Çalışmamızın bazı gruplarında, plazma ve karın içi yağ dokularındaki SERPINE1 düzeylerinde farklılıklar tespit edilmiştir. D\_gal verilen sıçanlarda SERPINE1 düzeylerinin kontrole göre kıyaslandığında azaldığı, plazma SERPINE1 düzeylerinde ise azalış olduğu görülmüştür. Elde edilen bu sonuç farklı parametrelerde çalışılması ve aynı zamanda DMSO'nun etkisinin daha iyi anlaşılması adına öncü bir bilgidir. Ayrıca D-gal+katran grubu, kontrol ile karşılaştırıldığında plazma SERPINE1 düzeylerinin yüksek olduğu bulunmuştur. Bu durum katranın, yüksek dozdaki DMSO ve D-gal'un çifte etkisine karşı yeterli olmadığı yönündedir. Yağ dokularında ise SERPINE1 düzeylerinin kontrole göre azaldığı görülmüştür. Bu sonuç ile birlikte doku üzerinde ardıç katranının dozunun daha önemli olduğu bulunmuştur. Bu iki bulgunun birbirine zıt sonuç göstermesi; dokudan dokuya ve kan-doku arasında birbiri ile çelişen sonuçların ortaya çıkabileceğini göstermiştir. Gelecek çalışmalar için bu sonuçlar referans alınarak p21, TGF- $\beta$ , p16, TNF- $\alpha$ , SNAI, yaşlanma ile birlikte artan IGFBP7, SASP gibi bir çok parametrenin bakılarak mekanizmanın anlaşılmasına yardımcı olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca hangi dokunun plazmadaki SERPINE1 düzeyine etki eden kaynak olduğunun bakılması için diğer dokularında analiz edilmesi gerekmektedir.

Yüksek dozda DMSO verilen grubun, beklenildiği gibi plazma ve yağ dokusundaki SERPINE1 düzeylerinin kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur. Katran grubunun plazma ve yağ dokularındaki SERPINE1 düzeyleri, aynı dozda DMSO verilen grubun SERPINE1 düzeyine kıyasla iyileştirici etki göstererek azalış göstermiştir. Ayrıca katran grubunun hem plazma hem de dokuda, kontrol grubu ile kıyaslandığında aynı oranda SERPINE1 düzeyi görülmüştür. Bu durum DMSO'nun

yüksek toksik doz ve düşük miktarda ardıç katranı verilmesine rağmen iyileştirici bir etkisi olduğu göstermektedir. Bir sonraki çalışmalar için bu sonuç önem taşımaktadır.

Yaşlanma ile birlikte devreye giren ROT etkilerinin engellenmesi için antioksidan mekanizmaları devreye girmekte ve SOD, GSH, LPO gibi bir çok parametrenin düzeylerinde değişti gözlemlenmektedir (Francis ve Baynosa, 2017; Zhao ve ark., 2017; Taviano ve ark., 2011; Kaplân ve ark.).

Çalışmamızda; kan ve doku örneklerinden GSH, LPO, MDA, Nitrik oksit (NO) gibi önemli belirteçler bakılmamıştır. Literatüre önemli verilerin kazandırılması düşünüldüğünde bu belirteçlerin bakılması önem taşımaktadır.



## KAYNAKLAR

- Abbate R., Prisco D., Rostagno C., Boddi M. , Gensini G. F., 1993. Age-related changes in the hemostatic system. Springer.
- Aillaud M., Pignol F., Alessi M., Harle J., Escande M., Mongin M. , Juhan-Vague I., (1986). Increase in Plasma Concentration of Plasminogen Activator Inhibitor, Fibrinogen, von Willebrand Factor, Factor VIII: C and in Erythrocyte Sedimentation Rate with Age. *Thrombosis and haemostasis*, 56, 330-332.
- Akour A., Kasabri V., Bulatova N., Al S. M., Naffa R., Fahmawi H., Momani M., Zayed A. , Bustanji Y., (2018). Association of Oxytocin with Glucose Intolerance and Inflammation Biomarkers in Metabolic Syndrome Patients with and without Prediabetes. *The review of diabetic studies: RDS*, 14, 364-371.
- Alessi M.-C. , Juhan-Vague I., (2006). PAI-1 and the metabolic syndrome: links, causes, and consequences. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 26, 2200-2207.
- Alharby H., Abdelati T., Rizk M., Youssef E., Moghazy K., Gaber N. , Yafei S., (2019). Association of lipid peroxidation and interleukin-6 with carotid atherosclerosis in type 2 diabetes. *Cardiovascular Endocrinology & Metabolism*, 8, 73-76.
- ANDERSEN F. A., (2001). Final report on the safety assessment of Juniperus communis extract, Juniperus oxycedrus extract, Juniperus oxycedrus tar, Juniperus phoenicea extract, and Juniperus virginiana extract. *International journal of toxicology*, 20, 41-56.
- Anson R. M. , Bohr V. A., (2000). Mitochondria, oxidative DNA damage, and aging. *Journal of the American Aging Association*, 23, 199.
- Ari S., Kargioğlu M., Temel M. , Konuk M., (2014). Traditional tar production from the Anatolian black pine [Pinus nigra Arn. subsp. pallasiana (Lamb.) Holmboe var. pallasiana] and its usages in Afyonkarahisar, Central Western Turkey. *Journal of ethnobiology and ethnomedicine*, 10, 29.
- Baker D. J., Terzic C. M., Jin F., Pitel K. S., Niederländer N. J., Jeganathan K., Yamada S., Reyes S., Rowe L. , Hiddinga H. J., (2012). Erratum: Opposing roles for p16Ink4a and p19Arf in senescence and ageing caused by BubR1 insufficiency (Nature Cell Biology (2008) 10 (825-836)). *Nature Cell Biology*, 14, 649.
- Baldwin J. F., Sood V., Elflin M. A., Luke C. E., Dewyer N. A., Diaz J. A., Myers D. D., Wakefield T. , Henke P. K., (2012). The role of urokinase plasminogen activator and plasmin activator inhibitor-1 on vein wall remodeling in experimental deep vein thrombosis. *Journal of vascular surgery*, 56, 1089-1097.
- Barbato A., Iacono R., Tarantino G., Russo O., Sorrentino P., Avallone S., Galletti F., Farinara E., Della Valle E. , Strazzullo P., (2009). Relationships of PAI-1 levels to central obesity and liver steatosis in a sample of adult male population in southern Italy. *Internal and emergency medicine*, 4, 315-323.
- Barrero A. F., del Moral J. F. Q. I., Herrador M. M., Akssira M., Bennamara A., Akkad S. , Aitigri M., (2004). Oxygenated diterpenes and other constituents from Moroccan Juniperus phoenicea and Juniperus thurifera var. africana. *Phytochemistry*, 65, 2507-2515.
- Bastianetto S. , Quirion R., (2002). Natural extracts as possible protective agents of brain aging. *Neurobiology of Aging*, 23, 891-897.
- Bayomy O., Rao A. D., Garg R., Vaidya A., Kotin A. R., Reiber B., Nijmeijer S., Di Carli M. F., Jerosch-Herold M. , Kwong R. Y., (2017). Plasminogen activator inhibitor-1 and pericardial fat in individuals with type 2 diabetes mellitus. *Metabolic syndrome and related disorders*, 15, 269-275.
- Bazrafshan Z. , Stylios G. K., (2019). Spinnability of collagen as a biomimetic material: A review. *International journal of biological macromolecules*.

- Cai Y., Luo Q., Sun M., Corke H., (2004). Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life sciences*, 74, 2157-2184.
- Camici G., Steffel J., (2006). akhmedov a, Schafer n, baldinger J, Schulz u, et al. dimethyl sulfoxide inhibits tissue factor expression, thrombus formation, and vascular smooth muscle cell activation: a potential treatment strategy for drug-eluting stents. *Circulation*, 114, 1512-21.
- Campisi J., di Fagagna F. d. A., (2007). Cellular senescence: when bad things happen to good cells. *Nature reviews Molecular cell biology*, 8, 729.
- Cardus A., Uryga A. K., Walters G., Erusalimsky J. D., (2012). SIRT6 protects human endothelial cells from DNA damage, telomere dysfunction, and senescence. *Cardiovascular research*, 97, 571-579.
- Carpenter C. D., O'Neill T., Picot N., Johnson J. A., Robichaud G. A., Webster D., Gray C. A., (2012). Anti-mycobacterial natural products from the Canadian medicinal plant *Juniperus communis*. *Journal of ethnopharmacology*, 143, 695-700.
- Carratala A., Martinez-Hervas S., Rodriguez-Borja E., Benito E., Real J. T., Saez G. T., Carmena R., Ascaso J. F., (2018). PAI-1 levels are related to insulin resistance and carotid atherosclerosis in subjects with familial combined hyperlipidemia. *Journal of Investigative Medicine*, 66, 17-21.
- Cartier-Michaud A., Malo M., Charrière-Bertrand C., Gadea G., Anguille C., Supiramaniyam A., Lesne A., Delaplace F., Hutzler G., Roux P., (2012). Matrix-bound PAI-1 supports cell blebbing via RhoA/ROCK1 signaling. *PLoS One*, 7, e32204.
- Cebe T., Yanar K., Atukeren P., Ozan T., Kuruç A. I., Kunbaz A., Sitar M. E., Mengi M., Aydın M. Ş., Eşrefoğlu M., (2014). A comprehensive study of myocardial redox homeostasis in naturally and mimetically aged rats. *Age*, 36, 9728.
- Chan S.-L., Bishop N., Li Z., Cipolla M. J., (2018). Inhibition of PAI (plasminogen activator inhibitor)-1 improves brain collateral perfusion and injury after acute ischemic stroke in aged hypertensive rats. *Stroke*, 49, 1969-1976.
- Chang Y.-M., Chang H.-H., Lin H.-J., Tsai C.-C., Tsai C.-T., Chang H.-N., Lin S.-L., PadmaViswanadha V., Chen R.-J., Huang C.-Y., (2017). Inhibition of cardiac hypertrophy effects in d-galactose-induced senescent hearts by alpinate oxyphyllae fructus treatment. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2017.
- Chang Y. M., Tamilselvi S., Lin H. J., Tsai C. C., Lin Y. M., Day C. H., Viswanadha V. P., Chang H. N., Kuo W. W., Huang C. Y., (2019). Alpinia oxyphylla Miq extract ameliorates cardiac fibrosis associated with D-galactose induced aging in rats. *Environmental toxicology*, 34, 172-178.
- Chen Q. M., Prowse K. R., Tu V. C., Purdom S., Linskens M. H., (2001). Uncoupling the senescent phenotype from telomere shortening in hydrogen peroxide-treated fibroblasts. *Experimental cell research*, 265, 294-303.
- Chern S.-R., Li S.-H., Lu C.-H., Chen E. I. T., (2010). Spatiotemporal expression of the serine protease inhibitor, SERPINE2, in the mouse placenta and uterus during the estrous cycle, pregnancy, and lactation. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 8, 127.
- Collado M., Serrano M., (2006). The power and the promise of oncogene-induced senescence markers. *Nature Reviews Cancer*, 6, 472.
- Coppé J.-P., Kauser K., Campisi J., Beauséjour C. M., (2006). Secretion of vascular endothelial growth factor by primary human fibroblasts at senescence. *Journal of Biological Chemistry*, 281, 29568-29574.
- Coppé J.-P., Patil C. K., Rodier F., Sun Y., Muñoz D. P., Goldstein J., Nelson P. S., Desprez P.-Y., Campisi J., (2008). Senescence-associated secretory phenotypes reveal cell-nonautonomous functions of oncogenic RAS and the p53 tumor suppressor. *PLoS biology*, 6, e301.

- David N. A., (1972). The pharmacology of dimethyl sulfoxide. *Annual review of pharmacology*, 12, 353-374.
- Deng Z.-Y., Shan W.-G., Wang S.-F., Hu M.-M. , Chen Y., (2017). Effects of astaxanthin on blood coagulation, fibrinolysis and platelet aggregation in hyperlipidemic rats. *Pharmaceutical biology*, 55, 663-672.
- Deol P., Yang J., Morisseau C., Hammock B. D. , Sladek F. M., (2019). Dimethyl Sulfoxide Decreases Levels of Oxylipin Diols in Mouse Liver. *Frontiers in pharmacology*, 10.
- Ebisch I. M., Thomas C. M., Wetzels A. M., Willemsen W. N., Sweep F. C. , Steegers-Theunissen R. P., (2008). Review of the role of the plasminogen activator system and vascular endothelial growth factor in subfertility. *Fertility and Sterility*, 90, 2340-2350.
- Einstein F. H., Huffman D. M., Fishman S., Jerschow E., Heo H. J., Atzmon G., Schechter C., Barzilai N. , Muzumdar R. H., (2010). Aging per se increases the susceptibility to free fatty acid-induced insulin resistance. *Journals of Gerontology Series A: Biomedical Sciences and Medical Sciences*, 65, 800-808.
- Elzi D. J., Lai Y., Song M., Hakala K., Weintraub S. T. , Shio Y., (2012). Plasminogen activator inhibitor 1-insulin-like growth factor binding protein 3 cascade regulates stress-induced senescence. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109, 12052-12057.
- Emsen B., Aslan A., Togar B. , Turkez H., (2016). In vitro antitumor activities of the lichen compounds olivetoric, physodic and psoromic acid in rat neuron and glioblastoma cells. *Pharmaceutical biology*, 54, 1748-1762.
- Eren M., Boe A. E., Klyachko E. A. , Vaughan D. E. (Year) Published. Role of plasminogen activator inhibitor-1 in senescence and aging. *Seminars in thrombosis and hemostasis*, 2014. Thieme Medical Publishers, 645-651.
- Estellés A., Dalmau J., Falcó C., Berbel O., Castelló R., España F. , Aznar J., (2001). Plasma PAI-1 levels in obese children—effect of weight loss and influence of PAI-1 promoter 4G/5G genotype. *Thrombosis and haemostasis*, 86, 647-652.
- Fabre-Guillevin E., Malo M., Cartier-Michaud A., Peinado H., Moreno-Bueno G., Vallée B., Lawrence D. A., Palacios J., Cano A. , Barlovatz-Meimon G., (2008). PAI-1 and functional blockade of SNAI1 in breast cancer cell migration. *Breast Cancer Research*, 10, R100.
- Fei J., Cook C., Blough E. , Santanam N., (2010). Age and sex mediated changes in epicardial fat adipokines. *Atherosclerosis*, 212, 488-494.
- Francis A. , Baynosa R., (2017). Ischaemia-reperfusion injury and hyperbaric oxygen pathways: a review of cellular mechanisms. *Diving and hyperbaric medicine*, 47, 110-117.
- Gao H.-W., Huang X.-F., Yang T.-P., Chang K.-F., Yeh L.-W., Hsieh M.-C., Weng J.-C. , Tsai N.-M., (2019). Juniperus communis Suppresses Melanoma Tumorigenesis by Inhibiting Tumor Growth and Inducing Apoptosis. *The American journal of Chinese medicine*, 47, 1171-1191.
- Geiser F., Meier C., Wegener I., Imbierowicz K., Conrad R., Liedtke R., Oldenburg J. , Harbrecht U., (2008). Association between anxiety and factors of coagulation and fibrinolysis. *Psychotherapy and psychosomatics*, 77, 377-383.
- Ghosh A. K., Rai R., Park K. E., Eren M., Miyata T., Wilsbacher L. D. , Vaughan D. E., (2016). A small molecule inhibitor of PAI-1 protects against doxorubicin-induced cellular senescence. *Oncotarget*, 7, 72443.
- Gilabert-Estelles J., Castello R., Gilabert J., Ramon L. A., Espana F., Romeu A. , Estelles A., (2005). Plasminogen activators and plasminogen activator inhibitors in endometriosis. *Front Biosci*, 10, 1162-1176.
- Glišć S. B., Milojević S. Ž., Dimitrijević S. I., Orlović A. M. , Skala D. U., (2007). Antimicrobial activity of the essential oil and different fractions of Juniperus communis L. and a comparison with some commercial antibiotics. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 72.

- Goldstein S., Moerman E. J., Fujii S. , Sobel B. E., (1994). Overexpression of plasminogen activator inhibitor type-1 in senescent fibroblasts from normal subjects and those with Werner syndrome. *Journal of cellular physiology*, 161, 571-579.
- Gorska-Ciebiada M., Saryusz-Wolska M., Borkowska A., Ciebiada M. , Loba J., (2016). Plasma levels of thrombomodulin, plasminogen activator inhibitor-1 and fibrinogen in elderly, diabetic patients with depressive symptoms. *Aging clinical and experimental research*, 28, 843-851.
- Gu X., Coates P. J., Boldrup L. , Nylander K., (2008). p63 contributes to cell invasion and migration in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Cancer letters*, 263, 26-34.
- Gülsoy S. , Çivğa A., (2016). Diken ardıç (*Juniperus oxycedrus* L. subsp. *oxycedrus*) kozalaklarının uçucu yağ özellikleri ve çevresel faktörlerle ilişkileri. *Turkish Journal of Forestry*, 17, 142-152.
- Gülsoy S. , Özkan K., (2013). Determination of environmental factors and indicator plant species for site suitability assessment of Crimean Juniper in the Acipayam District, Turkey. *Sains Malaysiana*, 42, 1439-1447.
- Hampel B., Malisan F., Niederegger H., Testi R. , Jansen-Dürr P., (2004). Differential regulation of apoptotic cell death in senescent human cells. *Experimental gerontology*, 39, 1713-1721.
- Huang S. S., Chen C. L., Huang F. W., Hou W. H. , Huang J. S., (2016). DMSO Enhances TGF- $\beta$  Activity by Recruiting the Type II TGF- $\beta$  Receptor From Intracellular Vesicles to the Plasma Membrane. *Journal of cellular biochemistry*, 117, 1568-1579.
- Humbert L. , Lebrun J.-J., (2013). TGF-beta inhibits human cutaneous melanoma cell migration and invasion through regulation of the plasminogen activator system. *Cellular signalling*, 25, 490-500.
- Jenner P., Hagan E., Taylor J. M., Cook E. , Fitzhugh O., (1964). Food flavourings and compounds of related structure I. Acute oral toxicity. *Food and Cosmetics Toxicology*, 2, 327-343.
- Ji M., Su X., Liu J., Zhao Y., Li Z., Xu X., Li H. , Nashun B., (2017). Comparison of naturally aging and D-galactose induced aging model in beagle dogs. *Experimental and therapeutic medicine*, 14, 5881-5888.
- Kannel W. B., Wolf P. A., Castelli W. P. , D'Agostino R. B., (1987). Fibrinogen and risk of cardiovascular disease: the Framingham Study. *Jama*, 258, 1183-1186.
- Kaplán P., Tatarková Z., Lichardusová L., Sivoňová M. K., Tomašcová A., Račay P. , Lehotský J., Age-Associated Changes in Antioxidants and Redox Proteins of Rat Heart.
- Karsdal M. A., Nielsen S. H., Leeming D., Langholm L., Nielsen M., Manon-Jensen T., Siebuhr A., Gudmann N., Rønnow S. , Sand J., (2017). The good and the bad collagens of fibrosis—their role in signaling and organ function. *Advanced drug delivery reviews*, 121, 43-56.
- Kessenbrock K., Plaks V. , Werb Z., (2010). Matrix metalloproteinases: regulators of the tumor microenvironment. *Cell*, 141, 52-67.
- Kohler H. P. , Grant P. J., (2000). Plasminogen-activator inhibitor type 1 and coronary artery disease. *New England Journal of Medicine*, 342, 1792-1801.
- Kortlever R. M. , Bernards R., (2006). Senescence, wound healing, and cancer: the PAI-1 connection. *Cell cycle*, 5, 2697-2703.
- Kortlever R. M., Brummelkamp T. R., van Meeteren L. A., Moolenaar W. H. , Bernards R., (2008). Suppression of the p53-dependent replicative senescence response by lysophosphatidic acid signaling. *Molecular Cancer Research*, 6, 1452-1460.
- Ksiazek K., Jörres A. , Witowski J., (2008). Senescence induces a proangiogenic switch in human peritoneal mesothelial cells. *Rejuvenation research*, 11, 681-683.
- Kumar A., Prakash A. , Dogra S., (2010). Naringin alleviates cognitive impairment, mitochondrial dysfunction and oxidative stress induced by D-galactose in mice. *Food and Chemical Toxicology*, 48, 626-632.

- Lantto T., Laakso I., Dorman H., Mauriala T., Hiltunen R., Kõks S., Raasmaja A., (2016). Cellular stress and p53-associated apoptosis by *Juniperus communis* L. Berry extract treatment in the human SH-SY5Y neuroblastoma cells. *International journal of molecular sciences*, 17, 1113.
- Launay S., Maubert E., Lebeurrier N., Tennstaedt A., Campioni M., Docagne F., Gabriel C., Dauphinot L., Potier M., Ehrmann M., (2008). HtrA1-dependent proteolysis of TGF- $\beta$  controls both neuronal maturation and developmental survival. *Cell death and differentiation*, 15, 1408.
- Leporatti M. L., Ivancheva S., (2003). Preliminary comparative analysis of medicinal plants used in the traditional medicine of Bulgaria and Italy. *Journal of ethnopharmacology*, 87, 123-142.
- Lesjak M. M., Beara I. N., Orčić D. Z., Anačkov G. T., Balog K. J., Francišković M. M., Mimica-Dukić N. M., (2011). *Juniperus sibirica* Burgsdorf. as a novel source of antioxidant and anti-inflammatory agents. *Food Chemistry*, 124, 850-856.
- Li S., Wei X., He J., Tian X., Yuan S., Sun L., (2018). Plasminogen activator inhibitor-1 in cancer research. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 105, 83-94.
- Li X., Zhang Y., Yuan Y., Sun Y., Qin Y., Deng Z., Li H., (2016). Protective effects of selenium, vitamin E, and purple carrot anthocyanins on D-galactose-induced oxidative damage in blood, liver, heart and kidney rats. *Biological trace element research*, 173, 433-442.
- Lijnen H., (2001). Plasmin and matrix metalloproteinases in vascular remodeling. *Thrombosis and haemostasis*, 86, 324-333.
- Lijnen H., (2005). Pleiotropic functions of plasminogen activator inhibitor-1. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 3, 35-45.
- Lin Y.-L., Lai W.-L., Harn H.-j., Hung P.-H., Hsieh M.-C., Chang K.-F., Huang X.-F., Liao K.-W., Lee M.-S., Tsai N.-M., (2013). The methanol extract of *Angelica sinensis* induces cell apoptosis and suppresses tumor growth in human malignant brain tumors. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013.
- Lindeman J., Pijl H., Toet K., Eilers P., Van Ramshorst B., Buijs M., Van Bockel J., Kooistra T., (2007). Human visceral adipose tissue and the plasminogen activator inhibitor type 1. *International journal of obesity*, 31, 1671.
- Liu X., Wu J., Zhang D., Bing Z., Tian J., Ni M., Zhang X., Meng Z., Liu S., (2018). Identification of potential key genes associated with the pathogenesis and prognosis of gastric cancer based on integrated bioinformatics analysis. *Frontiers in genetics*, 9, 265.
- Liu X., Zheng C., Luo X., Wang X., (2019). Recent advances of collagen-based biomaterials: Multi-hierarchical structure, modification and biomedical applications. *Materials Science and Engineering: C*.
- Ma Z., Cui F., Gao X., Zhang J., Zheng L., Jia L., (2015). Purification, characterization, antioxidant activity and anti-aging of exopolysaccharides by *Flammulina velutipes* SF-06. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 107, 73-82.
- Makino H., Tanaka A., Hosoda H., Koezuka R., Tochiya M., Ohata Y., Tamanaha T., Miyamoto Y., Kangawa K., Kishimoto I., (2016). Effect of basal insulin therapy on vascular endothelial function and adipokine profiles in people with Type 2 diabetes. *Diabetic Medicine*, 33, 1737-1743.
- Malinowsky K., Wolff C., Berg D., Schuster T., Walch A., Bronger H., Mannsperger H., Schmidt C., Korf U., Höfler H., (2012). uPA and PAI-1-related signaling pathways differ between primary breast cancers and lymph node metastases. *Translational oncology*, 5, 98.
- Marckmann P., Sandström B., Jespersen J., (1993). Dietary effects on circadian fluctuation in human blood coagulation factor VII and fibrinolysis. *Atherosclerosis*, 101, 225-234.
- Märkl B., Hardt J., Franz S., Schaller T., Schenkirsch G., Kriening B., Hoffmann R., Rütth S., (2017). Tumor budding, uPA, and PAI-1 in colorectal cancer: Update of a prospective study. *Gastroenterology research and practice*, 2017.



- Martens U. M., Chavez E. A., Poon S. S., Schmoor C., Lansdorp P. M., (2000). Accumulation of short telomeres in human fibroblasts prior to replicative senescence. *Experimental cell research*, 256, 291-299.
- Meade T., Chakrabarti R., Haines A., North W., Stirling Y., (1979). Characteristics affecting fibrinolytic activity and plasma fibrinogen concentrations. *Br Med J*, 1, 153-156.
- Meade T., North W., Chakrabarti R., Haines A., Stirling Y., (1977). Population-based distributions of haemostatic variables. *British Medical Bulletin*, 33, 283-288.
- Melchor J. P., Pawlak R., Strickland S., (2003). The tissue plasminogen activator-plasminogen proteolytic cascade accelerates amyloid- $\beta$  ( $A\beta$ ) degradation and inhibits  $A\beta$ -induced neurodegeneration. *Journal of Neuroscience*, 23, 8867-8871.
- Melchor J. P., Strickland S., (2005). Tissue plasminogen activator in central nervous system physiology and pathology. *Thrombosis and haemostasis*, 93, 655-660.
- Milenkovic J., Milojkovic M., Stoimenov T. J., Djindjic B., Miljkovic E., (2017). Mechanisms of plasminogen activator inhibitor 1 action in stromal remodeling and related diseases. *Biomedical Papers of the Medical Faculty of Palacky University in Olomouc*, 161.
- Mo J., Zhang D., Ji G., Liu X., Fan B., (2015). TGF-beta1 and Serpine 1 expression changes in traumatic deep vein thrombosis. *Genet Mol Res*, 14, 13835-42.
- Mortensen L. S., Thomsen C., Hermansen K., (2010). Effects of different protein sources on plasminogen inhibitor-1 and factor VII coagulant activity added to a fat-rich meal in type 2 diabetes. *The review of diabetic studies: RDS*, 7, 233.
- Münch J., Grivas D., González-Rajal Á., Torregrosa-Carrión R., de la Pompa J. L., (2017). Notch signalling restricts inflammation and serpine1 expression in the dynamic endocardium of the regenerating zebrafish heart. *Development*, 144, 1425-1440.
- Nelson G., Wordsworth J., Wang C., Jurk D., Lawless C., Martin-Ruiz C., von Zglinicki T., (2012). A senescent cell bystander effect: Senescence-induced senescence. *Aging cell*, 11, 345-349.
- Nemeroff C. B., Musselman D. L., (2000). Are platelets the link between depression and ischemic heart disease? *American Heart Journal*, 140, S57-S62.
- Oishi K., Koyanagi S., Ohkura N., (2011). Circadian mRNA expression of coagulation and fibrinolytic factors is organ-dependently disrupted in aged mice. *Experimental gerontology*, 46, 994-999.
- Okada H., Woodcock-Mitchell J., Mitchell J., Sakamoto T., Marutsuka K., Sobel B. E., Fujii S., (1998). Induction of plasminogen activator inhibitor type 1 and type 1 collagen expression in rat cardiac microvascular endothelial cells by interleukin-1 and its dependence on oxygen-centered free radicals. *Circulation*, 97, 2175-2182.
- Orhan N., Berkkan A., Orhan D. D., Aslan M., Ergun F., (2011a). Effects of Juniperus oxycedrus ssp. oxycedrus on tissue lipid peroxidation, trace elements (Cu, Zn, Fe) and blood glucose levels in experimental diabetes. *Journal of ethnopharmacology*, 133, 759-764.
- Orhan N., Orhan I. E., Ergun F., (2011b). Insights into cholinesterase inhibitory and antioxidant activities of five Juniperus species. *Food and Chemical Toxicology*, 49, 2305-2312.
- Page-McCaw A., Ewald A. J., Werb Z., (2007). Matrix metalloproteinases and the regulation of tissue remodelling. *Nature reviews Molecular cell biology*, 8, 221.
- Panda S. S., Girgis A. S., Prakash A., Khanna L., Khanna P., Shalaby E. M., Fawzy N. G., Jain S. C., (2018). Protective effects of Aporosa octandra bark extract against D-galactose induced cognitive impairment and oxidative stress in mice. *Heliyon*, 4, e00951.
- Pandolfi A., Cetrullo D., Polishuck R., Alberta M., Calafiore A., Pellegrini G., Vitacolonna E., Capani F., Consoli A., (2001). Plasminogen activator inhibitor type 1 is increased in the arterial wall of type II diabetic subjects. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 21, 1378-1382.
- Parameshwaran K., Irwin M. H., Steliou K., Pinkert C. A., (2010). D-galactose effectiveness in modeling aging and therapeutic antioxidant treatment in mice. *Rejuvenation research*, 13, 729-735.

- Pavón M. A., Arroyo-Solera I., Céspedes M. V., Casanova I., León X., Mangues R., (2016). uPA/uPAR and SERPINE1 in head and neck cancer: role in tumor resistance, metastasis, prognosis and therapy. *Oncotarget*, 7, 57351.
- Pavón M. A., Arroyo-Solera I., Téllez-Gabriel M., León X., Virós D., López M., Gallardo A., Céspedes M. V., Casanova I., López-Pousa A., (2015). Enhanced cell migration and apoptosis resistance may underlie the association between high SERPINE1 expression and poor outcome in head and neck carcinoma patients. *Oncotarget*, 6, 29016.
- Planus E., Barlovatz-Meimon G., Rogers R. A., Bonavaud S., Ingber D. E., Wang N., (1997). Binding of urokinase to plasminogen activator inhibitor type-1 mediates cell adhesion and spreading. *Journal of cell science*, 110, 1091-1098.
- Rodier F., Campisi J., (2011). Four faces of cellular senescence. *The Journal of cell biology*, 192, 547-556.
- Roth D., Piekarek M., Paulsson M., Christ H., Bloch W., Krieg T., Davidson J. M., Eming S. A., (2006). Plasmin modulates vascular endothelial growth factor-A-mediated angiogenesis during wound repair. *The American journal of pathology*, 168, 670-684.
- Ruan Q., Liu F., Gao Z., Kong D., Hu X., Shi D., Bao Z., Yu Z., (2013). The anti-inflamm-aging and hepatoprotective effects of huperzine A in D-galactose-treated rats. *Mechanisms of ageing and development*, 134, 89-97.
- Saleh D. O., Mansour D. F., Hashad I. M., Bakeer R. M., (2019). Effects of sulforaphane on D-galactose-induced liver aging in rats: Role of keap-1/nrf-2 pathway. *European journal of pharmacology*, 855, 40-49.
- Sappino A.-P., Madani R., Huarte J., Belin D., Kiss J. Z., Wohlwend A., Vassalli J.-D., (1993). Extracellular proteolysis in the adult murine brain. *The Journal of clinical investigation*, 92, 679-685.
- Schocket B., Horkay I., Kósa Á., Paldeak L., Hewer A., Grover P. L., Phillips D. H., (1990). Formation of DNA adducts in the skin of psoriasis patients, in human skin in organ culture, and in mouse skin and lung following topical application of coal-tar and juniper tar. *Journal of investigative dermatology*, 94, 241-246.
- Serrano R., Barrenetxe J., Orbe J., Rodríguez J. A., Gallardo N., Martínez C., Andrés A., Páramo J. A., (2009). Tissue-specific PAI-1 gene expression and glycosylation pattern in insulin-resistant old rats. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 297, R1563-R1569.
- Silverman G. A., Bird P. I., Carrell R. W., Church F. C., Coughlin P. B., Gettins P. G., Irving J. A., Lomas D. A., Luke C. J., Moyer R. W., (2001). The serpins are an expanding superfamily of structurally similar but functionally diverse proteins evolution, mechanism of inhibition, novel functions, and a revised nomenclature. *Journal of Biological Chemistry*, 276, 33293-33296.
- Simone T. M., Higgins C. E., Czekay R.-P., Law B. K., Higgins S. P., Archambeault J., Kutz S. M., Higgins P. J., (2014). SERPINE1: a molecular switch in the proliferation-migration dichotomy in wound-“activated” keratinocytes. *Advances in wound care*, 3, 281-290.
- Skurk T., Hauner H., (2004). Obesity and impaired fibrinolysis: role of adipose production of plasminogen activator inhibitor-1. *International journal of obesity*, 28, 1357.
- Srinivas S., Sironmani T. A., Shanmugam G., (1991). Dimethyl sulfoxide inhibits the expression of early growth-response genes and arrests fibroblasts at quiescence. *Experimental cell research*, 196, 279-286.
- Takeshita K., Yamamoto K., Ito M., Kondo T., Matsushita T., Hirai M., Kojima T., Nishimura M., Nabeshima Y., Loskutoff D. J. (Year) Published. Increased Expression of Plasminogen Activator Inhibitor-1 with Fibrin Deposition in a Murine Model of Aging. *Seminars in thrombosis and hemostasis*, 2002. Copyright© 2002 by Thieme Medical Publishers, Inc., 333 Seventh Avenue, New ..., 545-554.

- Taviano M. F., Marino A., Trovato A., Bellinghieri V., La Barbera T. M., Güvenç A., Hürkul M. M., Pasquale R. D., Miceli N., (2011). Antioxidant and antimicrobial activities of branches extracts of five Juniperus species from Turkey. *Pharmaceutical biology*, 49, 1014-1022.
- Tsai S.-J., (2017). Role of tissue-type plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor-1 in psychological stress and depression. *Oncotarget*, 8, 113258.
- Tsai W.-C., Tsai N.-M., Chang K.-F., Wang J.-C., (2018). Juniperus Communis Extract Exerts Antitumor Effects in Human Glioblastomas Through Blood-Brain Barrier. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 49, 2443-2462.
- TÜMEN İ., HAFIZOĞLU H., (2003). Türkiye’de yetişen ardıç (Juniperus L.) türlerinin kozalak ve yaprak uçucu yağlarının bileşiminde bulunan terpen grupları. *Bartın Orman Fakültesi Dergisi*, 5.
- Vasilijević B., Knežević-Vukčević J., Mitić-Ćulafić D., Orčić D., Francišковиć M., Srdic-Rajic T., Jovanović M., Nikolić B., (2018). Chemical characterization, antioxidant, genotoxic and in vitro cytotoxic activity assessment of Juniperus communis var. saxatilis. *Food and chemical toxicology*, 112, 118-125.
- Vivien D., Ali C., (2006). Transforming growth factor- $\beta$  signalling in brain disorders. *Cytokine & growth factor reviews*, 17, 121-128.
- Wei J., Zhang G., Zhang X., Xu D., Gao J., Fan J., Zhou Z., (2017). Anthocyanins from black chokeberry (Aroniamelanocarpa Elliot) delayed aging-related degenerative changes of brain. *Journal of agricultural and food chemistry*, 65, 5973-5984.
- West M. D., Shay J. W., Wright W. E., Linskens M. H., (1996). Altered expression of plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor during cellular senescence. *Experimental gerontology*, 31, 175-193.
- Wu G., Quek A. J., Caradoc-Davies T. T., Ekkel S. M., Mazzitelli B., Whisstock J. C., Law R. H., (2019). Structural studies of plasmin inhibition. *Biochemical Society Transactions*, 47, 541-557.
- Yaglioglu A. S., Eser F., (2017). Screening of some Juniperus extracts for the phenolic compounds and their antiproliferative activities. *South African journal of botany*, 113, 29-33.
- Yang H., Jiang P., Liu D., Wang H.-Q., Deng Q., Niu X., Lu L., Dai H., Wang H., Yang W., (2019). Matrix Metalloproteinase 11 Is a Potential Therapeutic Target in Lung Adenocarcinoma. *Molecular Therapy-Oncolytics*, 14, 82-93.
- Yasar Yildiz S., Kuru P., Toksoy Oner E., Agirbasli M., (2014). Functional stability of plasminogen activator inhibitor-1. *The scientific world journal*, 2014.
- Zhao H., Li J., Zhang J., Wang X., Hao L., Jia L., (2017). Purification, in vitro antioxidant and in vivo anti-aging activities of exopolysaccharides by Agrocybe cylindracea. *International journal of biological macromolecules*, 102, 351-357.

## Ek1.Etik Kurul Onayı



T.C.

Üsküdar Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (ÜÜ-HADYEK)

Sayı: 2018-24

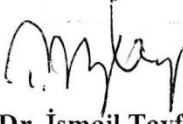
Konu: ÜÜ-HADYEK

28. kurul toplantısı

17.12.2018

**Sayın Dr. Öğr. Üyesi Emel Serdaroğlu Kaşıkçı**

“D-Galaktoz ile oluşturulan yaşlanma modelinde Ardiç katranı'nın oksidatif stres ve SERPIN-1 düzeylerine etkisi” adlı projeniz üniversitemiz Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından incelenerek onaylanmıştır.

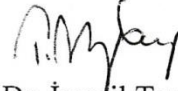


**Prof. Dr. İsmail Tayfun UZBAY**  
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanı  
MDBF / Dekan / Moleküler Biyoloji ve Genetik -  
Bölüm Başkanı

**Prof. Dr. Muhsin KONUK**  
Rektör Yardımcısı / MDBF / Moleküler Biyoloji ve  
Genetik (İngilizce) - Bölüm Başkanı / Fen Bilimleri  
Enstitüsü Müdürü / BİYOTEKMER Müdürü /  
PARGE Koordinatörü

**Burcu ÇEVRELİ**  
Veteriner Hekim  
Nöropsikofarmakoloji Uygulama ve Araştırma  
Merkezi

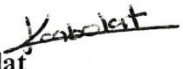
**Dr. Öğr. Üyesi Emel Serdaroğlu Kaşıkçı** (kattımdaki)  
Biyokimya Uzmanı  
MDBF / Moleküler Biyoloji ve Genetik



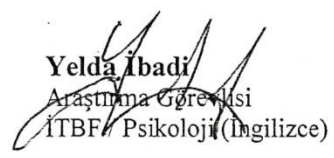
**Prof. Dr. İsmail Tayfun UZBAY**  
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanı



**Doç. Dr. Mesut KARAHAN**  
SHMYO / Biyomedikal Cihaz Teknolojisi



**Fadime Canbolat**  
Uzman Farmakolog  
SHMYO / Gıda Teknolojisi



**Yelda İbadi**  
Araştırma Görevlisi  
İTBF / Psikoloji (İngilizce)

**Mustafa Alper** (T. Z. n. l.)  
Sivil Toplum Örgütü Üyesi



**Akif Güztoklus**  
Sivil Üye

## Ek2. Özgeçmiş

### ÖZGEÇMİŞ

**Adı Soyadı** : Kübra Ergün  
**Doğum Yeri ve Tarihi** : İstanbul / 24.04.1992  
**Yabancı Dili** : İngilizce  
**Telefon** : 05389715552  
**E-Posta** : kubra.ergun.92@gmail.com

#### Eğitim Durumu :

**Lise** : Mehmet Salih Bal Ticaret Meslek Lisesi/Ağ İşletmenliği  
**Lisans** : Haliç Üniversitesi/Moleküler Biyoloji ve Genetik  
**Yüksek Lisans** : Üsküdar Üniversitesi/Moleküler Biyoloji

#### İş Tecrübesi:

2018-2019	<b>Üsküdar Üniversitesi</b> Altunizade/İstanbul Yetkili: Prof. Dr. Muhsin Konuk Pozisyon: Laboratuvar Yardımcı Asistan İş Tanımı: Öğrenci Lablarına Yardımcı Asistan (Rekombinant Tek. Genel Biyoloji, Moleküler Genetik Laboratuvarları) Süre: Bahar dönemi
23 Şubat 2017 - 28 Eylül 2017	<b>Soygen Laboratuvarı</b> Tophane /İstanbul Yetkili: Kayhan Soydan (532) 402 02 22 Pozisyon: Gönüllü Çalışma Süre: 7 ay

Ekim 2016 - Mart 2016	<b>Yeditepe Üniversitesi</b> Ataşehir/İstanbul Yetkili: Prof. Dr. Turgay İşbir Pozisyon: Yardımcı Asistanlık / Yüksek lisans Süre: 6 aylık
-----------------------	--

