



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**YÜZME EGZERSİZİ VE YAŞLANMAYA BAĞLI
VASKÜLER DİSFONKSİYON: İRİSİN PEPTİDİNİN ROLÜ**

ZARİFE NİGÂR ÖZDEMİR KUMRAL
DOKTORA TEZİ

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
PROF.DR. HIZIR KURTEL

2017-İSTANBUL

TEZ ONAYI

Kurum : Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Programın seviyesi : Doktora
Anabilim Dalı : Fizyoloji
Tez Sahibi : Zariye Nigar ÖZDEMİR KUMRAL
Tez Başlığı : **Yüzme Egzersizi ve Yaşlanmaya Bağlı Vasküler Disfonksiyon:
İrisin Peptidinin Rolü**
Sınav Yeri : Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı
Sınav Tarihi : 21.09.2017

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman (Unvan, Adı, Soyadı)	Kurumu	İmza
Prof.Dr.Hızır Kurtel	Marmara Üni.Tıp.Fak.Fizyoloji ABD	
Sınav Jüri Üyeleri (Unvan, Adı, Soyadı)		
Prof.Dr.İnci ALİCAN	Marmara Ünü.Tıp Fak.Fizyoloji ABD	
Prof.Dr.Şule ÇETİNEL	Marmara Ünü.Tıp.Fak.Fizyoloji ABD	
Prof.Dr.Gökhan METİN	İstanbul Ünü.Tıp Fak.Fizyoloji ABD	
Doç.Dr.Bariş ÇAKIR	Maltepe Ünü .Tıp.Fak.Fizyoloji ABD	

Yukarıdaki jüri kararı Enstitü Yönetim Kurulu'nun 28/09/2017 tarih ve 96 sayılı kararı ile onaylanmıştır.


Prof. Dr. Göksel ŞENER
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Zarife Nigâr Özdemir Kumral

İmza



I-TEŞEKKÜR

Lisansüstü eğitimimde ve tez çalışmamda tecrübesi ve tavsiyeleri ile bu konuda çalışmamı mümkün kılan değerli danışman hocam **Prof. Dr. Hızır Kurtel**'e, kendisinden zor zamanlarda bile ümit kaybetmemeyi ve her zaman ilerlemeyi öğrendiğim, bölüme adım attığım andan itibaren fikirlerini ve desteklerini esirgemeyen değerli hocam **Prof. Dr. Berrak Yeğen**'e, tecrübesi ve desteğini esirgemeyen sevgili hocam **Prof. Dr. İnci Alican**'a, tez çalışmamın histolojik değerlendirmeleri için Histoloji ve Embriyoloji AbD'dan **Prof. Dr. Şule Çetinel**'e, sevgili **Dr. Özlem Tuğçe Çilingir Kaya**'ya ve **Yrd. Doç. Dr. Naziye Özkan**'a,

Bana aşıladığı bulaşıcı laboratuvar sevgisi için minnettar olduğum, her aradığımda büyük bir içtenlik ve sevgi ile karşılandığım sevgili hocam **Doç. Dr. Hale Zerrin Toklu**'ya.

Mevcudiyetleri yeten sevgili arkadaşlarım **Yrd. Doç. Dr. Betül Okuyan** ve **Yrd. Doç. Dr. Emine Alarçin**'e,

Varlığımın sebepleri, tüm hayatım boyunca koşulsuz desteği ve anlayışı için **aileme**, metaneti ile her daim yanımda olan eşim **Özgür** ve canım kızım **Nirun Asya**'ya teşekkür ederim.

Bu tez Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından **SAG-C- DRP-130515- 0160** numaralı proje ile desteklenmiştir.

II- İÇİNDEKİLER

I-TEŞEKKÜRLER	iii
II-İÇİNDEKİLER	iv
III- KISALTMALAR	viii
IV- ŞEKİL LİSTESİ	x
1. ÖZET	1
2. SUMMARY	2
3. GİRİŞ ve AMAÇ	3
4. GENEL BİLGİLER	8
4.1. Yaşlılık	8
4.1.1. Yaşlılık Epidemiyolojisi	9
4.1.2. Yaşlılık teorileri	10
4.2. Hücresel yaşlanma teorisi	11
4.2.1. Oksidatif hasar	13
4.2.2. Kronik inflamasyon	16
4.3. Yaşlanma fizyolojisi ve hastalıklar	18
4.3.1. Yaşlılık ve egzersiz	22
4.4. Deneysel modellerde yaşlanma	27
4.4.1. D-Galaktoz enjeksiyonu ile modellendirilmiş yaşlanma	30
4.5. İrisin	32
4.5.1. Fizyolojisi	32
4.5.2. Sentez ve Metabolizması	33

4.5.3. İrisin ve yaşlanma	34
4.5.4. İrisin ve egzersiz	34
4.6. Perivasküler adipoz doku ve yaşlılıkta önemi	36
5. GEREÇ VE YÖNTEM	37
5.1. Deney Hayvanları	38
5.2. Deney Grupları	38
5.3. Deneysel protokoller	38
5.4. Yüzme egzersizi	39
5.5. Kan ve Doku Örneklerinin Toplanması	39
5.6. Miyografi çalışmaları	40
5.7. Sitokin düzeylerinin tayini	42
5.8. Biyokimyasal Ölçümler	42
5.8.1. Myeloperoksidaz (MPO) aktivitesi ölçümü	42
5.8.2. Lipid Peroksidasyonu (Malondialdehit - MDA) tayini	42
5.8.3. Glutasyon (GSH) tayini	42
5.8.4. Protein tayini	43
5.8.5. Süperoksit Dismutaz (SOD) tayini	44
5.8.6. Katalaz (KAT) Aktivitesi tayini	44
5.8.7. Kan Biyokimyası	45
5.8.8. Plazma ve PVAD irisin düzeylerinin tayini	45
5.9. Histopatolojik incelemeler için kesit alımı ve takip süreci	46
5.9.1. İmmünohistokimya boyama yöntemi	46

5.10. İstatistik Yöntem	48
6. BULGULAR	49
6.1. Deney süresince vücut ağırlığı değişimi	49
6.2. Açlık kan şekeri, trigliserit ve kolesterol düzeyleri tayini	51
6.3. Plazma ve perivasküler adipoz doku iris in düzeyi tayini	53
6.4. Vücut yağ oranı tespiti	54
6.5. Perivasküler Adipoz Doku miktarı tayini	55
6.6. Kalp dokusunda Myeloperoksidaz (MPO) aktivitesi ve Malondialdehit (MDA) düzeyleri tayini	55
6.7. Kalp dokusunda Glutasyon (GSH), süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (KAT) düzeyleri tayini	57
6.8. Aort dokusunda süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (KAT) düzeyleri tayini	59
6.9. Plazma Tümör Nekrozis Faktör Alfa (Tnf-α) düzeyi tayini	61
6.10. İzole doku banyosu damar aktivitesi çalışmaları	62
6.10.1. Fenilefrin'e verilen kasılma yanıtlarının değerlendirilmesi	62
6.10.2. Karbakole verilen gevşeme yanıtlarının değerlendirilmesi	66
6.10.3. Sodyum Nitroprussid (SNP) yanıtlarının değerlendirilmesi	70
6.10.4. İris in yanıtlarının değerlendirilmesi	74
6.10.5. L-NAME uygulaması ile İris in yanıtlarının değerlendirilmesi	79
6.10.6. Kalp morfolojisinin Hematoksilen Eozin boyama prosedürü ile değerlendirilmesi	81
6.10.7. Aort morfolojisinin Hematoksilen Eozin boyama prosedürü ile değerlendirilmesi	83

6.10.8. Aort dokusunda imminhistokimyasal yöntem ile İrisin ekspresyonunun değerlendirilmesi	85
7. TARTIŞMA	89
8. KAYNAKLAR	106
9. ÖZGEÇMİŞ	130
10. Ek-1. Etik Kurul Onayı	138



III. KISALTMALAR

AGE: ileri glikasyon son ürünlerinin

AKGF: adiposit kaynaklı gevşetici faktör

AMPK: adenosin monofosfat ile aktive olan protein kinaz

ATP: adenosin 3'-trifosfat

BYD: beyaz yağ dokusu

cGMP: siklik guanozin monofosfat

COX-2: siklooksijenaz 2

CRP: C-reaktif protein

D-Gal: D-Galaktoz

DAB: 3,3'-diaminobenzidin

DNA: deoksiribonükleik asit

DY: doğal yaşlanma

E: egzersiz

EDTA: etilendiamin tetraasetik asitli

ELISA: the enzyme-linked immunosorbent assay

eNOS: endothelial nitrik oksit sentaz

FDNC5: protein 5 içeren fibronektin tip 3-domain

FFA: serbest yağ asitlerine

GPx: glutatyon peroksidaz

GTP: guanozin trifosfat

H&E: hematoksilin ve eosin

hs-CRP: yüksek duyarlılık C reaktif protein

IL-10: interlökin 10

IL-1 β : interlökin-1 beta

IL-6: İnterlökin-6

KAT: katalaz

KVH: kardiyovasküler hastalıklar

KYD: kahverengi yağ dokusunu

L-NAME: NG-nitro-L-arginine methyl ester

LV: sol ventrikül

MDA: malondialdehit

MPO: myeloperoksidaz

mtDNA: mitokondriyal DNA

NADPH: nikotinamid adenin dinükleotid fosfat

NF- κ B: nükleer faktör-kappa beta

NHANES III: Ulusal Sağlık ve Beslenme İnceleme Taraması

NO: nitrik oksit

PBS: phosphate buffered saline

PE: fenilefrin

PMN: polimorfnüveli nötrofiller

PPAR: peroxisome proliferator-activated receptor

PVAD: Perivasküler adipoz doku

ROM: reaktif oksijen metabolitleri

ROT: reaktif oksijen türleri

SF: serum fizyolojik

SNP: sodyum nirtoprussid

SOD: Süperoksit dismütaz

TCA: trikloro asetik asit

TGF- β 1: transforme edici büyüme faktörü beta-1

TNF α : tümör nekrozis faktör-alfa

UCP-1: uncoupling protein-1

IV. ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Yaşlanma ve egzersizin vücut ağırlığı üzerine etkisi

Şekil 2. Yaşlanma ve egzersiz ile birlikte sıçanlarda ölçülen metabolik parametrelerin karşılaştırılması

Şekil 3. Yaşlanma ile birlikte plazma ve PVAD'da azalan irisin düzeylerinin egzersiz ile iyileştirilmesi

Şekil 4. Yaşlanma ve egzersizin vücut yağ oranı üzerine etkisi

Şekil 5. Yaşlanma ve egzersizin PVAD miktarı üzerine etkisi

Şekil 6. Yaşlanma ve egzersizin kardiyak oksidan hasar ve inflamasyon üzerine etkisi

Şekil 7. Yaşlanma ve egzersizin kardiyak antioksidan parametreler üzerine etkisi

Şekil 8. Yaşlanma ve egzersizin aortik antioksidan parametreler üzerine etkisi

Şekil 9. Yaşlanma ve egzersizin proinflamatuvar sitokinlerden Tümör Nekrozis Faktör Alfa (TNF- α) üzerine etkisi

Şekil 10. Doğal yaşlanmada torasik aorta kasılabilirliğinin PVAD'dan bağımsız olarak bozulduğunun gösterimi

Şekil 11. Perivasküler adipoz doku (PVAD) varlığında (+) Doğal yaşlı ve D-Galaktoz (D-Gal) gruplarında egzersizin fenilefrin kasılma yanıtlarına etkisi

Şekil 12. Sedanter deneklerde endotel bağımlı gevşeme yanıtlarının PVAD varlığına göre farklılıklarının değerlendirilmesi

Şekil 13. PVAD (+) Doğal yaşlı ve D-Galaktoz (D-Gal) gruplarında egzersizin karbakol yanıtlarına etkisi

Şekil 14. Sedanter gruplar arasında kümülatif SNP uygulaması gevşeme yanıtlarının karşılaştırılması

Şekil 15. Egzersizli Gruplar arasında kümülatif SNP uygulaması ile düz kas yanıtlarının karşılaştırılması

Şekil 16. Doğal yaşlı ve D-Gal gruplarında PVAD'nun İrisin'e verilen yanıtlar üzerine etkisi

Şekil 17. Egzersiz ile birlikte Doğal yaşlı ve D-Gal gruplarının İrisin'e verdiği yanıtların PVAD (+) damarlarda karşılaştırılması

Şekil 18. Egzersiz ile birlikte Doğal yaşlı ve D-Gal gruplarının İrisin'e verdiği yanıtların PVAD (-) damarlarda karşılaştırılması

Şekil 19. LNAME uygulaması sonrası İrisin'e verilen yanıtların değerlendirilmesi

Şekil 20. Kalp kası hemotoksilen eozin boyamaları

Şekil 21. Aorta hemotoksilen eosin boyamaları

Şekil 22. İrisin kontrol immunhistokimya boyamaları

Şekil 23. Aort dokusunda irisin immunekspresyonu gösterimi

Şekil 24. Genç, doğal yaşlı ve D-Galaktoz ile yaşlandırılmış grupların irisin immunekspresyon skorları

Yüzme Egzersizi ve Yaşlanmaya Bağlı Vasküler Disfonksiyon: İrisin Peptidinin Rolü

Öğrencinin Adı: Zarife Nigâr Özdemir Kumral

Danışmanı: Prof.Dr. Hızır Kurtel

Anabilim Dalı: Fizyoloji

1. ÖZET

Amaç: Çalışmada doğal yaşlanma sürecinde ya da D-galaktoz ile taklit edilen yaşlanma modelinde; 1- egzersizin torasik aortada endotelial fonksiyon üzerindeki rolünü araştırmak, 2- iki farklı yaşlanma modelinin yağ dokusundaki irisin düzeylerini nasıl etkilediğini ortaya koymak ve yaşlanma ile ortaya çıkan olası vasküler bozukluklardaki rolünü göstermek hedeflenmiştir.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmada 12 haftalık (3 aylık) dişi (250-300 gr) Sprague Dawley sıçanlar kullanılmıştır. Deney grupları 3 aylık sedanter (Genç; n=10), 3 aylık egzersiz (Genç+E; n=10), 18 aylık doğal yaşlı sedanter (DY; n=10), 18 aylık doğal yaşlı egzersiz (DY+E; n=10), D-Galaktoz ile yaşlandırılmış sedanter (D-Gal; n=10) ve D-Galaktoz ile yaşlandırılmış egzersiz grubu (D-Gal+E; n=10) olmak üzere planlanmıştır. Biyokimyasal, histopatolojik ve immunhistokimyasal analizler için kalp ve aort dokusu alınmıştır. Plazma ve PVAD irisin düzeylerinin tayini yapılmıştır. Vücut yağ oranı tespiti ve ayrıca torasik aortadan perivasküler adipoz doku içeren/içermeyen (PVAD+/-) halkalar ayrı ayrı izole organ banyolarında çalışılmıştır.

Bulgular: Yaşlanma gruplarının kalp dokusunda hem DY hem de D-Gal gruplarında her ikisinde de oksidatif hasarda anlamlı şekilde artış ile birlikte antioksidan kapasitede anlamlı şekilde azalma tespit edilmiştir. Egzersiz ile birlikte bu parametrelerde anlamlı iyileşme kaydedilmiştir. Yaşa bağlı ortaya çıkan vasküler disfonksiyonun irisinin vazorelaksan yanıtlarına da etkili olduğu gösterilmiştir. Ayrıca yaşa bağlı bozulan irisin yanıtlarının düzenli egzersiz ile düzelebileceği ortaya konmuş, PVAD'nun irisine bağlı gevşeme yanıtlarındaki etkisi ilk defa vurgulanmıştır. Yaşlanma ile birlikte aorta azalan irisin immune ekspresyonu ile birlikte egzersiz ile artan ekspresyon gösterilirken PVAD'da egzersiz ile birlikte artan kahverengi yağ dokusundaki irisin ekspresyonu ifade edilmiştir. Artan PVAD irisin düzeyleri ELİSA ile de teyit edilmiştir.

Sonuçlar: Yaşlanma ile birlikte PVAD'da meydana gelen değişiklikler ve sonucunda damar yanıtlarında doğan farklılıkların tartışıldığı çalışmada sonuçlarımızın egzersiz ile birlikte irisin'e verilen yanıtlarda PVAD'nun katkısını aydınlatıldığını düşünmekteyiz.

Anahtar Sözcükler: yaşlılık, vasküler disfonksiyon, yüzme egzersizi, irisin, D-galaktoz, perivasküler adipoz doku

Swimming exercise and aging associated vascular dysfunction: The role of Irisin peptide

Student's name: Zarife Nigâr Özdemir Kumral

Supervisor: Prof. Hızır Kurtel

Department : Physiology

2. SUMMARY

Objective (Aim): The aim of this study is to investigate possible effect of exercise on endothelial function of thoracic aortae in both natural aging and D-galactose mimetic ageing models. The second aim of present study is to demonstrate the level of irisin on these aging models and also elucidate the role of irisin on vascular dysfunction resulted in ageing.

Material and Methods: Female Sprague-Dawley rats were obtained; 3-month-old, young group (n=10), 3-month-old young exercise group (n=10), 18-month-old, aged group (n=10), 18-month-old, aged exercise group (n=10) groups, D-galactose mimetic aging group (n=10), D-galactose induced aging exercise group (n=10). Cardiac and aortic samples were collected for biochemical, histopathological and immunohistochemistry examination. The body fat ratio was calculated and thoracic aortas were taken for contractile responses studies in the absence or presence of perivascular adiposes tissue (PVAT+/-). The levels of irisin in both plasma and PVAT were detected.

Results: Although there were concurrence between ageing models (natural aging and D galactose mimetic ageing) according to oxidative stress and decreased antioxidant capacities, it was obtained that the time for developing vascular dysfunction and the mechanism of action were different and inadequate in these models. Vasorelaxant responses of irisin in age-related vascular dysfunction have also been shown. In addition, age-related impaired irisin responses were found to be improved by regular exercise and the effect of PVAT on irisin-induced relaxation responses was emphasized for the first time. Immune expression of irisin decreased in aorta with aging and it was increased by exercise. Increased PVAD iris levels have also been confirmed with ELISA.

Discussion: In conclusion our results show the differences in vascular function and PVAT in aging and the contribution of PVAT to the response of irisin with exercise. The changes in PVAT with ageing and their effects on vascular response were discussed. The attribution of PVAT on response of irisin during exercise would be elucidated according to these results.

Key Words: aging, vascular dysfunction, swimming exercise, irisin, D-galactose, perivascular adipose tissue

3. GİRİŞ ve AMAÇ

Sürekli ve düşük dereceli inflamasyon sonucu biriken etkenler doğrultusunda ortaya çıkan doğal bir durum olarak adlandırılan yaşlanma süreci bir tür sistemik kronik inflamatuvar yanıt gibi, zamanla, yavaş yavaş doku hasarı oluşması ile gerçekleşir. Yaşlanma sürecinde vücudun doğal bağışıklık sistemi tarafından üretilen proinflamatuvar moleküller ve sitokinler metabolik faaliyetleri düzenlemede görevlidirler (Gilca ve ark., 2007). Kronik inflamatuvar süreç olan yaşlanmada özellikle dişilerde artış gösteren visceral yağ dokusu vücut enerji homeostazisini bozarak kardiyovasküler hastalık riskini artırırken bu dokudan salgılanan hormonların da (adipokinler) kronik inflamatuvar sürece katkıda bulundukları ve hücresel yaşlanma ile ilişkili oldukları bilinmektedir. Yaşlılıkta damar yapıları yeniden biçimlenerek fonksiyonlarında değişiklikler meydana gelmektedir, vasküler tonus değişiklikleri de dahil olmak üzere bu değişiklikler kalp ve damar hastalık risklerini artırmaktadır. Yaşlanma ile birlikte bozulan vasküler endotel işlevselliğinin vasküler hastalıkların patogenezinde rol oynadığı bilinmektedir (Muller-Delp ve ark., 2002). Yaşlanmada endotelial disfonksiyon olarak adlandırılan endotel bütünlüğünün bozulması endotel bağımlı gevşemede azalma ile kendini göstermektedir aynı zamanda damar duvarında fibrozis gelişmesi, elastin matriks dejenerasyonu, düz kas fizyolojisinde değişiklikler gibi duvarının diğer tabakalarını da kapsayan bir fonksiyon kaybı söz konusudur (Gu ve ark., 2014). Yapılan çalışmalar yaşlanma sürecinde endotel disfonksiyonun altında yatan mekanizmaların antioksidan savunma sistemi ve reaktif oksijen metabolitleri (ROM) üretimi arasındaki dengesizlikten meydana geldiğini ve artışı hücre hasarı ile direk ilişkili olan artmış oksidatif stres ile ilgili olabileceğini göstermektedir (Invidia ve ark.,

2007). Bir reaktif oksijen metaboliti (ROM) olan süperoksit anyonundaki artmış üretim nitrik oksit (NO) gibi endotel kaynaklı gevşetici moleküllerin fizyolojik etkilerini antagonize ederek damarın gevşeme cevabını bozabilmektedir dolayısıyla yaşlanma ile birlikte ortaya çıkan artmış intima-media kalınlığı, düz kas hücre sayısında azalma, endoteliyal NO üretim/kullanılabilirliğinde azalma ve artmış oksidatif stres damar homeostazını bozan mekanizmalar olarak görülmekte ve kardiyovasküler hastalıkların temelinı atmaktadır (Cadenas ve ark., 2000).

Düzenli fiziksel aktivitenin kalp damar hastalıklarında koruyucu rol oynadığı ve genel fiziksel sağlamlığın sürdürülmesi veya iyileştirilmesi için gerekli olduğu randomize klinik çalışmalar ile gösterilmiştir (Seals ve ark., 2000). Amaca yönelik fiziksel aktivite olarak adlandırılan egzersizin kronik infamatuvar süreçleri geri döndürme üzerindeki etkileri incelendiğinde ön plana çıkan mekanizmalar arasında endoteliyal disfonksiyonda azalma, azalmış yağ dokusu miktarı, sitokin salınımındaki değişiklikler, proinflamatuvar molekül salınımında azalma, genel stres cevabının düzenlenmesi, adezyon molekülü ekspresyonlarında değişiklikler, epigenetik değişiklikler ve transkripsiyon faktörlerinin düzenlenmesi sayılabilir. Yapılan çalışmalar sedanter hayat tarzının endotel disfonksiyon ile ilişkili olabileceğini, düzenli fiziksel aktivitenin ise sürtünme kuvveti aracılı endotel kaynaklı faktörlerin salınımını düzenleyerek endotelin fonksiyonunu koruduğunu göstermektedir (Seals ve ark., 2000). Egzersizin adipoz doku üzerine etkileri ve özellikle perivasküler adipoz doku (PVAD) üzerinde düzenleyici etkileri araştırılmaktadır (Boa ve ark., 2017). Her ne kadar egzersizin yaşlanma üzerindeki olumlu etkileri, sitokin salınımı, oksidan stres, enerji dengesi gibi çeşitli biyolojik yollar üzerinden araştırılmış ise de direk olarak yaşa bağlı ortaya çıkan

vasküler/endoteliyal disfonksiyonda düzenli egzersizin olası faydalı etkilerinin hangi mekanizmalar ile gerçekleştiği bilinmemektedir.

Hemen hemen tüm sistemik arterler beyaz yağ doku (BYD) ya da kahverengi yağ doku (KYD) olarak adlandırılmayacak PVAD tabakası ile çevrilidir. Örneğin, kemirgen mezenterik aortası hem BYD hem de KYD örnekleri taşıırken torasik ya da abdominal aorta daha çok KYD karakteristiğine sahiptir. Miyografi çalışmalarının çoğunda vazoaktif maddelerin yayılmasını önlemek varsayımına dayanan bir geleneğe dayanarak PVAD rutin olarak çıkarılır. Bu prosedür bir bakıma aynı anda birçok yerde bulunan bu dokunun biyolojik işlevi hakkında bilinenin bu kadar kısıtlı olmasına da neden olmaktadır. Literatürde egzersiz ve onun ile ilişkili olan irisin peptidinin vasküler fonksiyonu nasıl etkilediği ve PVAD'nun bu etkileşimdeki rolü ile ilgili çalışma da yoktur. Bu konular gerek egzersiz ile ortaya çıkan faydalı etkilerin mekanizmalarının anlaşılması gerekse irisinin potansiyel faydalı etkilerinin yaşlanmadaki rolünün anlaşılması açısından önem taşımaktadır.

Yaşlanma sürecinin kronik inflamatuvar değişikliklerle karakterize olduğu düşünülürse egzersizin gelişen bu inflamatuvar yanıtı alternatif bir savunma mekanizması oluşturduğu düşünülebilir. Egzersiz sonrası FNDC5 geni tarafından kodlanan, irisin adı verilen yeni bir peptidin viseral ve deri altı yağ dokusunda da eksprese edildiği gösterilmiştir (Irving ve ark., 2014, Roca-Rivada ve ark., 2013). Çalışmada egzersizden 1 hafta sonra BYD'da artmış FNDC5/irisin ekspresyonu görülmüş ve egzersizin bırakılmasını takip eden 3. haftada ise ekspresyon düzeylerinin azaldığı ortaya konulmuştur. Peptidin BYD hücrelerine nasıl etki ettiği, olası reseptörlerinin varlığı ve bunların yağ dokusunda meydana gelen esmerleşme ile ilişkisi henüz bilinmemektedir. Yaşlı bireylerde ise egzersize bağlı gözlenen

FNDC5 geni ekspresyonu artışları genç deneklerle karşılaştırıldığında daha yüksek bulunmuştur (Güngör ve ark., 2014). Boström ve arkadaşları sadece akut egzersizle değil 10 haftalık dayanıklılık ve direnç egzersizleriyle de dolaşımdaki irisin miktarının 2 kata kadar arttığını ve bu artışın iskelet kası FNDC5 mRNA ekspresyonundaki artış ile orantılı olduğunu göstermişlerdir.

Santral uygulanan irisin'in hipotalamik paraventriküler nükleus nöronlarını aktive ederek kalp debisini ve kan basıncını artırmak üzere görev yaparken, periferik olarak uygulanan (egzersiz veya soğuk uyaranlara yanıt olarak iskelet kasından türetilmiş irisini taklit eder) irisinin, sempatik outflow yoluyla indüklenen kan basıncının yükselmesini önlediği gösterilmiştir. İrisinin bu denli farklı yanıtlar doğurması onun enerji, kardiyovasküler aktivite, iskelet kası, beyin ve yağ dokusunu birleştiren önemli bir çapraz-organ mesajcısı olarak hizmet edebileceğini düşündürmektedir.

İrisin molekülünün kan-beyin bariyerini geçerek olası santral etkilerinin araştırıldığı Wrann ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada egzersizin kandaki irisin düzeylerini yükselttiği ve irisinin kan-beyin bariyerini geçerek bilişsel fonksiyonlarla ilişkili genlerde ve beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF) ifadesinde artışa neden olduğu gösterilmiştir. İrisin bu gibi nedenlerle metabolik hastalıklar veya yaşlanma ile ilişkili değişikliklere karşı tedavi potansiyeli olan bir ajan olarak düşünülebilir.

Bu bilgiler ışığında planlanan çalışmada; doğal yaşlanma sürecinde ya da D-galaktoz ile taklit edilen yaşlanma modelinde; 1- egzersizin torasik aortada endotelial fonksiyon üzerindeki rolünü araştırmak, 2- iki farklı yaşlanma modelinin

yağ dokusundaki irisin düzeylerini nasıl etkilediğini ortaya koymak ve yaşlanma ile ortaya çıkan olası vasküler bozukluklardaki rolünü göstermek hedeflenmiştir.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Yaşlılık

Canlı organizması temelden farklılaşarak değişik özellikler taşıyan hücrelerin oluşturduğu özelleşmiş yapıların bir arada bulunduğu kompleks bir yapıdır. Çeşitli hayvan türlerinde hayat süresinin esnek olduğu ve genetik ya da ilaç müdahalesi ile değiştirilebildiği gözlemlenmiştir. Yaşam sürecinin birçok tür için kaçınılmaz evresi olan yaşlılıkta moleküler olarak ortaya çıkan hasar organların fonksiyonunu bozarak inflamasyona ve bunu takiben hücre proliferasyonu sırasında hücresel devamlılığın negatif yönde işleyerek sonlandırılması ile ortaya çıkan bir tablodur (Gilca, Stoian, Atanasiu, & Virgolici, 2007). Hücrelerin özelleşmesindeki genetik programlamadan komşu hücreler ile metabolik süreçlerin uyumluluğu ve dış uyaranlara verilen uygun yanıtlara kadar uzanan homeostaz oldukça karmaşık bir bütünsel işlemdir. Fizyolojik şartlar altında metabolizmada meydana gelen bir değişiklik ya da bazı patolojik uyaranlar hücrede morfolojik ya da fizyolojik çeşitli adaptasyonlara neden olur. Metabolizmaya yönelik adaptasyon sınırlarını aşacak şekilde meydana gelen hücresel uyarılar hücrede hasar oluşturur ve bu hasar hücrenin eşik değerini aşarsa artık hücresel ölüm gerçekleşir. İnsanın yaşam beklentisi on dokuzuncu yüzyıldan beri büyük ölçüde artmıştır. Demografik kanıtlar, yaşlı nüfusun ölüm oranında azalma olduğunu ortaya koymuştur buna istinaden yavaş yavaş insan ömrünün uzatılabilir olduğunu ortaya koyacak çalışmalara yönelinmiştir (Oeppen & Vaupel, 2002,

Vaupel, 2010). Yaşlanma sürecini açıklığa kavuşturmak adına deneysel çalışmalar yapılmaktadır ve süreçte düşük düzeyde ama sürekli seyreden inflamasyon sonucu biriken etkenlerin beraberinde çeşitli hastalıkları ortaya çıkardığı düşünülmektedir (Chung ve ark., 2006). Bir süreç olan yaşlanma, organizmanın **sistemik kronik inflamatuvar** yanıtı olarak karşımıza çıkmaktadır. Son zamanlarda bu süreç “*inflammaging*” olarak özel bir isimlendirme bile almıştır (Zhuang & Lyga, 2014). İnflamatuvar süreçlerdeki aşırı aktif makrofajlarda gösterildiği gibi bu süreçte de düzensiz ve aşırı üretilmiş reaktif oksijen türleri (ROT) bağışıklık sistemi aktivasyonunda önemli nedensel faktör olarak karşımıza çıkmaktadır (Brod, 2000). Yaşlanma süreci ve yaş ile ilişkili hastalıklarda vücudun doğal bağışıklık sistemi tarafından üretilen proinflamatuvar moleküller ve sitokinlerin önemli rol oynadığı gösterilmiştir (Michaud ve ark., 2013). Bu bağlamda aslında yaşlanma çok sayıda organda progresif bir şekilde fonksiyonel ve yapısal azalma sağlayan, kalp ve damar sistemi üzerinde de önemli etkileri olan, üzerine birçok teori üretilmiş bir süreçtir.

4.1.1.Yaşlılık Epidemiyolojisi

Dünya genelinde 65 yaş ve daha yukarı yaş grubu yaşlı nüfus olarak kabul edilmektedir. 2015 yılı verilerine göre dünya nüfusunun %8,5’ini yaşlı nüfus oluşturmaktadır. Türkiye istatistik kurumu verilerine göre 2014 yılında Türkiye’de yaşlı nüfusun tüm popülasyona oranının %8 olduğu belirtilmiştir. Erkekler yaşlı nüfusun %43,6’sını oluştururken bu oran kadınlarda %56,4 olarak tespit edilmiştir. Ülkemizde yaşlı nüfus oranının 2023 yılında %10,2, 2050 yılında %20,8, 2075 yılında ise %27,7’ye yükseleceği tahmin edilmektedir. Türkiye en yüksek yaşlı

nüfusuna sahip ülkeler sıralamasında 167 ülke arasında 66. sırada yer almaktadır (www.tuik.gov.tr/PdfGetir.do?id=21520, Erişim tarihi: Kasım 2016).

4.1.2. Yaşlılık Teorileri

Biyolojik yaşlanma teorileri başta olmak üzere çok sayıda yaşlanma teorisi vardır ve genel anlamda geri dönüşü olmayan yapısal ve işlevsel değişikliklerin sadece genetik, biyolojik, psikolojik ve çevresel faktörlerle açıklanamayacak kadar çok boyutlu olduğu bilinmelidir. Kronolojik yaşlanma (intrensek yaşlanma) kişinin genetik alt yapısının belirtecidir, zamana bağlı bir süreçtir ve engellenemez. Yaşlanmanın hızı tüm canlılar arasında olduğu gibi aynı tür canlıların bireyleri arasında da farklılıklar gösterir. Ekstrensek yaşlanma ise beslenme alışkanlıkları, sedanter yaşam, sigara kullanımı, alkol tüketimi ve olumsuz çevresel faktörlere bağlı olarak ortaya çıkan yaşlanma tipidir (Podolskiy & Gladyshev, 2016). Serbest radikal teorisi, telomerlerin yaşa bağlı kısalma teorisi, insülin direnci gelişimi, mitokondriyal teori, bağışıklık fonksiyonunda azalma ile gelişen yaşlanma teorisi, sirkadyen saat deregülasyonu teorisi gibi bir dizi yaşlanma teorisi mevcuttur (Campisi, 2013). Bu teoriler yaşlanma etiolojisindeki çeşitliliği gösterse de, hepsinin hücrelerin iç değişiklikleri kavramına dayandığını vurgulamak gerekir. Hormon fonksiyon değişiklikleri ve bağışıklık düşüşü gibi birkaç istisna dışında mikroskobik düzeyde meydana gelen hücresel hasarın doku parçalanmasına ve geç dönemde organizmada makroskobik yaşlanmaya neden olduğu gizemini korumaktadır. Örneğin, dişilerde östrojen hormonunun koruyucu etkisinin varlığı, içerdikleri mitokondriyal

uncoupling proteinlerdeki farklardan dolayı redoks homeostazisinin dişi bireylerde daha etkin olarak düzenlendiği ve nörodejeneratif hastalıklara yakalanma insidansının daha düşük olduğu gösterilmiştir (Bhavnani, 2003). Mutasyon birikimi ve antagonistik pleiotropi yaşlanmanın genetik nedenlerini ele almaktadır. Çevresel stres tüm organizmanın farklı dokularında epigenom modülasyonuna ve fizyolojik değişikliklere katkıda bulunmaktadır. Fakat görüldüğu gibi her teori hücrelerin farklı bileşenlerinin fonksiyonel yeterlilikleri etrafında dönmekte ve makroskobik olarak yaşlanmanın nasıl ortaya çıktığını açıklayamamaktadır.

4.2. Hücresel yaşlanma teorisi

Yaşlanma genel olarak ele alındığında ise öncelikle hücresel yaşlanma daha sonra ise organizmanın yaşlanması söz konusudur. Diploit hücrelerin geri dönüşümsüz olarak bölünme özelliklerini kaybetmesi; hücrelerin apoptozise karşı dirençlerini yitirmeleri ve gen ekspresyon fonksiyonlarındaki değişikliklerin ortaya çıkmasıyla karakterize hücre döngüsünün durması şeklinde ortaya çıkan bir yaşlanma sürecidir. Evrimci biyolog August Weismann 1881 yılında yaralanmış bir dokunun kendisini sonsuza kadar yenileyemeyeceğini ve öleceğini de bildirmiştir; bu hipotezi takiben hücresel yaşlanma ilk olarak Dr. Leonard Hayflick tarafından "Hayflick sınırı" olarak adlandırma yaptığı fibroblastların keşfi çalışmalarına dayanmaktadır (Hayflick, 1965). Weismann'ın hipotezi son derece ileri görüşlü olmakla birlikte zamanında bu teorisini güçlendirecek ve test edebileceği DNA ve hücre kültürü çalışmaları yapma imkanı yoktu. Yaklaşık bir asır sonra gelişmiş hayvan hücre kültürü protokolleri geliştirilmesinden sonra kültürlerde yetişen somatik hücrelerin sınırlı büyüme potansiyeline sahip olduğu gösterilmiştir. Seri çalışmalarda 40 pasaj sonra insan hücrelerinin çoğalmayı durdurduğu ve yaşlanma belirtileri gösterdiği ortaya

konmuştur (Hayflick & MOORHEAD, 1961). Genellikle, hücre bölünmesini kesintiye uğratan çoklu tümör baskılayıcı proteinlerin yüksek ifadesi ile nükleer DNA'da replikasyon kaybı ve sonrasında somatik hücre proliferasyonunun sınırlandığı bir teori olarak tanımlanmaktadır (Shay ve ark., 1991). Yaşlanma aynı zamanda apoptozise karşı gelişen direnç, hücresel farklılaşmaya yapılan müdahale ve hücre fonksiyonunun değişmesi şeklinde de tanımlanmaktadır (Moiseeva ve ark., 2006). Araştırmacıların tek hücreli organizmalar üzerine yaptıkları yaşam süreci ile ilgili çalışmalar sonucunda bu organizmaların sahip olduğu potansiyel doğal ölümsüzlüğün zaman içinde değişerek onlara kompleks bir "yaşlanma fenotipi" kazandırdığını ve ölümlü çok hücreli organizmalara dönüştüklerini düşündürmüştür (Petrulia ve ark., 2014). Hayflick ile fibroblastların keşfinden sonra çok sayıda hücre türünün (endotel hücresi, vasküler düz kas hücresi, lenfositler, keratinositler) zamanla yaşlanma fenotipi gösterdiği ortaya konmuştur (Rodier & Campisi, 2011). Morfolojik olarak, yaşlanmış hücreler genişlemiş çekirdek ve Golgi aparatının yanı sıra vakuolize sitoplazmaya sahiptirler. DNA replikasyonunun yokluğunda ise metabolik olarak aktif yaşlanmış hücrelerde artan lizozomal β -galaktosidaz eşliğinde lizozomlarda genişleme de görülmektedir (Lee ve ark., 2006a). Telomer kısalması (Henriques & Ferreira, 2012), DNA hasarından dolayı gelişen yanıtlar ve doğurduğu sonuçlar (White ve ark., 2015), epigenetik değişiklikler (Sen ve ark., 2015), anormal kromozom sayısı varlığı (Thompson & Compton, 2010), oksidatif stres ve mitokondriyal disfonksiyon (Ziegler ve ark., 2015), inflamasyon, enerji ve biyoyararlanımının azalması, değişen metabolik regülasyon (Mazzocchi ve ark., 2014), kronik mitojenik sinyallenme (Blagosklonny, 2003), disfonksiyonel ekstraselüler matriks (Quan ve ark., 2013) hücresel yaşlanmayı tetikleyebilecek diğer

hücre içi hasar türevleridir. Yaşlanma ile ilgili yapılan çalışmaların artması ve çeşitlenmesi ile birlikte bazı teorilerin birleştirilmesi ile birlikte yaşlanmaya bir açıklama getirilmeye çalışılsa da bütün teoriler temelde hücrel yaşlanma teorisi etrafında dönmektedir (Kelly, 2011). Yaşlanma esnasında genomda istikrarsızlık ve sinyal iletişiminde değişikliklerle birlikte çok faktörlü bir süreç ile karşı karşıya kalınır. DNA hasarı ve hücrelerarası haberleşme sistemlerinde sonradan ortaya çıkan bu değişikliklerin birikmesi yaşlanma sürecinde immün ve inflamatuvar değişikliklerden sorumlu olmaktadır. Bu bağlamda, dokuların çoğunda yaşlanma sırasında gözlenen yaşlanmış hücrelerin sayısındaki artış, bu artık hücreleri temizlemek için bağışıklık sisteminin indirgenmiş kapasitesinin bir göstergesi olarak görülmektedir. Hasar görmüş ve yaşlanmış hücrelerin sürekli birikimi yaş ile ilişkili bir çok hastalıktan sorumlu tutulan sitokinler, kemokinler, proteazlar ve büyüme faktörlerinin salınmasını teşvik eder.

4.2.1. Oksidatif Hasar

Biyolojik yaşlanmada “serbest radikal teorisi” ilk kez 1956’da Harman tarafından öne sürülmüştür (Commoner ve ark., 1954). Süperoksit dismutazın (SOD) McCord ve Fridovich (McCord & Fridovich, 1969) tarafından keşfi ve Chance (Chance ve ark., 1979) tarafından in vivo H_2O_2 ’nin gösterilmesi bu teoriyi destekleyen basamaklar olmuştur. Serbest radikaller hücre metabolizması sırasında üretilen oldukça reaktif metabolitlerdir ve zamanla hücrede birikip çeşitli fonksiyonlarda hatalara neden olabilirler. Kesme reaksiyonu esnasında mutasyonlar veya kovalent bağ oluşumları ile bu hatalar meydana gelebilir. Serbest radikallerle uyarılan peroksitlerin birçok proteine kovalent olarak bağlanıp fonksiyonlarını değiştirdiği ve

bu proteinleri antijenik hale getiren malondialdehit (MDA) oluşumuna yol açtığı gösterilmiştir (Mooradian & Wong, 1991a, Mooradian & Wong, 1991b). Hücrede O₂'nin büyük oranda tüketildiği yer olan mitokondrinin rolü de radikal üretiminde yadsınamaz. Oksijenden kaynaklanan hasar yapıcı moleküllerin hepsinin serbest radikal olmaması nedeniyle bu grupta yeni bir isimlendirilmeye gidilmiş ve bu moleküller serbest radikal olsun/olmasın reaktif özellikleri nedeniyle reaktif oksijen metabolitleri (ROM) olarak adlandırılmışlardır. Bu tanımlamayı takiben “oksidatif stres teorisi” adını alan teori doğmuştur (Rattan, 2006).

Elektron transport zincirinden sızan elektronlar ROM üreterek elektron transport zinciri elemanlarını ve mitokondriyal DNA'yı (mtDNA) hasarlarken; bir kısır döngüyü de tetikleyerek mitokondriyal döngüyü zayıflatabilmektedir. Yaşlanma ile birlikte mtDNA hasarında artış olduğu da deneysel olarak gösterilmiştir (Pang ve ark., 2008, Van & Richardson, 2001). ROM, yaşlanma ile ortaya çıkan ateroskleroz ya da yaşlanmaya eşlik eden Parkinson hastalığı, Alzheimer hastalığı ve immün yetersizlikler gibi hastalıkların ortaya çıkması ve ilerlemesinde rol oynamaktadır (Lamberts ve ark., 1997). Oksidatif hasarlanmada denge unsuru olarak kabul edilen antioksidan enzimlerden SOD ve katalazın (KAT) yaşlanma ile birlikte çeşitli dokularda artış gösterdiği bulunmuştur (Cand & Verdeti, 1989).

Oksidatif stresin önlenerek redoks dengesinin sağlanması, dışarıdan antioksidan takviyesi verilmesi, oksidan enzim sistemlerinin mekanizma basamaklarında manüplasyonlar yapılması ile ilgili oluşturulan deneysel çalışmalarda yaş ile ilişkili hastalıkların komplikasyonlarının geciktirilmesi ya da tedavisi hedeflenmiştir (Orallo, 2008). Yaşlanma ile ilgili bu teoride oluşan hasar şiddeti, hasar birikimi ve hasara karşı verilen hücresel yanıtlar (harekete geçen sinyal

kaskadları) önem kazanmaktadır. Hücre sinyallerinin düzenlenmesinde ROM de pek çok basamakta rol almaktadır; bu nedenle bu teorinin bir alt basamağı da sayılabilecek yeni bir teori de “moleküler inflamatuvar teori” olarak karşımıza çıkmaktadır.

Sistemik enfeksiyonlar ve travmatik yaralar, enerji metabolizmasını ve adaptif bağışıklık sistemini tetikleyen IL-6 ve tümör nekrozis faktör-alfa'nın (TNF α) gibi sitokinlerin hepatik salgılanmasını etkileyerek bağışıklık sistemi yanıtlarını değiştirebilmektedir (Chou ve ark., 2008). Yaşlanma ile birlikte bu durumlara gelişen hassasiyet artmaktadır. Yaşla ilişkili olarak artan oksidatif stres ve inflamasyonun doğurduğu bir sonuç olarak aktive olan redoksa duyarlı transkripsiyonel faktörlerin proinflamatuvar gen ekspresyonunu artırdığı ve daha fazla doku hasarlanmasına yol açtığı gösterilmiştir. İnflamasyon nedeniyle yaşamın ilerleyen evrelerinde, ateroskleroz, Alzheimer hastalığı ve kanser önemli dejeneratif hastalıklar olarak ortaya çıkmakta ve bu sonuçlar insanda yaşlanmanın çekirdek süreci olarak kabul edilmektedir. C-reaktif protein (CRP), IL-6 ve diğer proinflamatuvar sitokinlerin kan düzeyleri, kardiyovasküler olaylar ve mortalite risklerinin belirteçleri olarak değerlendirilmektedir. Memeli ve çeşitli omurgasız modellerde yaşlanma sırasında inflamatuvar gen aktivasyonlarının arttığı gösterilmiştir (Kremsky ve ark., 2012). Bununla birlikte sağlıklı bireylerde bazı şartlar altında örneğin egzersiz yoğunluğu ile orantılı olarak iskelet kası tarafından serbestlenen IL-6 adipositlerin insülin duyarlılığını düzenlemesi ile ilişkili olabilir. Makromoleküler progresif hasar belirteçlerinin birikmesi yaşlanmanın temel karakteridir ve lipid peroksidasyonunun son ürünlerinden olan MDA'nın yaşlı organizmada birikip hasara neden olduğu kanıtlanmıştır (Kregel & Zhang, 2007). Sonuç olarak araştırmalar yaşlanmanın

biyolojisine odaklanmış, yaşlanma sürecindeki fizyolojik/fenotipik değişiklikler açıklanmaya çalışılmıştır.

4.2.2. Kronik inflamasyon

Yaşlanma için kesin bir neden söylemek mümkün olmasa da süreçte gelişen inflamatuvar yanıtın olduğu gösterilmiştir. Akut faz yanıtını da içeren bu süreç genel olarak ele alındığında aslında kronik bir inflamatuvar tablo karşımıza çıkmaktadır. Akut faz yanıtının kan düzeylerinin (CRP, IL-6 ve TNF- α) yaşlı bireylerde artma eğiliminde olduğu gösterilmiştir (Ferrucci *ve ark.*, 2005). Ulusal Sağlık ve Beslenme İnceleme Taramasına göre (NHANES III), kronik artmış akut faz proteinleri yüksek mortalite için risk göstergeleridir. LDL ve diğer lipid risk göstergeleri ile birlikte yüksek kan CRP, IL-6 ve diğer akut faz yanıtının artması aslında başlı başına kardiyovasküler hastalıkların bir göstergesi olarak kabul edilmektedir. Örneğin, IL-6 ve LDL'deki değişikliklerin izlenmesi ile kardiyovasküler olaylar hakkında risk tahmininin 10 kat daha yüksek olabileceği gösterilmiştir (Blankenberg *ve ark.*, 2003, Luc *ve ark.*, 2003a, Luc *ve ark.*, 2003b). Son yıllarda kardiyovasküler hastalık temeli veya risk faktörü olan diyabetli kişilerde yapılan çalışmalarda IL-6 düzeylerinin bağımsız olarak makrovasküler olayların ve ölümlerin klinik tahmini artırdığı gösterilmiştir (Lowe *ve ark.*, 2014). Birçok çalışmada düz kas hücreleri, aterosklerotik plakların köpük hücreleri ve PVAD gibi vasküler yatağın çeşitli kompartmanlarından akut faz proteinleri olan CRP (vasküler düz kas hücrelerinden) ve IL-6'nın üretilip salgılandığı gösterilmiştir (Guo *ve ark.*, 2003, Jialal & Devaraj, 2001). Bir başka inflamatuvar belirteç olan TNF- α miktarı artışı aşırı olduğunda miyokardiyal kasılabilirlik ve damar düz kas tonusu inhibe olur

ve kan basıncı düşer. Dolaşımda artan TNF- α kan glukoz düzeyinin bozulmasına ve devamında metabolik bozukluklara neden olur. Yaşlanmada gelişen aterosklerotik yapılar ile inflamasyonun da artan profile sahip olduğu ve bir kısır döngü şeklinde süreci hızlandığı söylenebilir.

İnflamatuvar değişiklikler son derece çeşitlidir ve beslenme, fiziksel aktivite ve çevresel faktörlerden etkilenirler. İnflamasyon genel olarak yaşlanma karşıtı stratejilerin yanı sıra belirli hastalıklar için terapötik müdahalelerin merkezi olarak da görülmektedir. Ayrıca, obezitenin küresel yayılması, kirlenen hava ve sudan kaynaklanan artmış inflamatuvar riskin yaşama katkısı ve bu faktörlerin gelecekteki artışları sonuçların sağlıklı değerlendirilmesi açısından sınırlayıcı bir faktör olabilir. Yaşlanmada inflamatuvar süreç üzerine bütünleştirici bir bakış açısı ile bakıldığında çevresel etkenlerin nedensel ve fonksiyonel düzeyde hücreler için anatomik ve fizyolojik farklılıklar oluşturabildiği düşünülmektedir. Meydana gelen fizyolojik değişikliklerde geliştirilen immün yanıtlar ve bu yanıtlarda harekete geçen yüzlerce gen ve çoklu sinyal yolları mevcuttur. Doğuştan gelen immün tepkilerin enerji rezervlerine duyarlı olduğu bilinmektedir; bu bağlamda yaşlanmada kalori kısıtlaması ve egzersizin ölçülebilir farklılıklar doğurduğu gösterilmiştir (Patel & Finch, 2002, Pawelec ve ark., 2010). İnflamasyonun yetişkin insan kalp (Abarbanell ve ark., 2009) ve beyinde (Mathieu ve ark., 2010) hücre proliferasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir. Öte yandan, yaşlı sıçanlarda nötrofillerin fagositik aktivitelerinin ve oksidatif patlamalarının azaldığı gösterilmiştir (Panda ve ark., 2009). Bununla birlikte, nötrofillerin dolaşımdaki seviyeleri azalırken monositlerin düzeyleri ise artma eğilimindedir. Doku hasarı, akut faz immün yanıtı ile ortak gen yanıtlarını aktive eder, yaşlanma esnasında ise kronik dejeneratif hastalıklarda olduğu gibi

yavaş inflamatuvar süreç etkilidir dolayısıyla açığa çıkan inflamatuvar tablodaki neden ve etkiyi gidermek karmaşık ve zordur.

4.3. Yaşlanma fizyolojisi ve hastalıklar

Yaşlanma ile birlikte sağlık profilinde ortaya çıkan değişikliklere (örneğin lipid düzeyleri, diyabet, hareketsiz yaşam tarzı, vb gibi) ilaveten aslında yaşlanma sürecinin kendisi bir çok hastalığın gelişimi için önemli bir risk faktörüdür. Kardiyovasküler hastalıklara dayalı ölümlerin %80'den fazlasının 65 yaş üstü yetişkinlerde görüldüğü gerçeği ele alınacak olursa yaşlılığın kardiyovasküler hastalık gelişimi için de önemli bir risk faktörü olduğunu söylemek doğru olacaktır (Lakatta, 2003, Lakatta & Levy, 2003b). Yaşlanma fizyolojisi ile ilgili literatüre bakıldığında endoteliyal fonksiyon değişikliklerini ve bu değişikliklerin mekanizmalarını araştıran çalışmaların oldukça kısıtlı sayıda olduğu görülmektedir (Brandes *ve ark.*, 2005, El *ve ark.*, 2012). Kardiyovasküler yaşlanmanın apoptoz ile birlikte kardiyomiyositler arası açılma ve kardiyomiyosit kaybı, kalan kardiyomiyositlerin hipertrofiye uğraması ve sonucunda artmış fibroz ile birlikte bozulmuş sistolik ve diyastolik disfonksiyon ile karakterize olduğu belirtilmiştir (Tunstall-Pedoe *ve ark.*, 1994). Yaşa bağlı kalp ve damar değişiklikleri endotel disfonksiyonunu ve intimal proliferasyonu (Gerhard *ve ark.*, 1996), artan arteriyel sertliği, sol ventrikül (LV) diyastolik disfonksiyonunu, LV patolojik hipertrofisini, azalmış sol ventrikül sistolik kapasitesini (Lakatta & Levy, 2003c, McGrath *ve ark.*, 1998) içerdği gibi kalp hızı değişkenliğinde azalma ve maksimal kalp hızında bir azalma ile karakterizedir (Port *ve ark.*, 1980). Yaşlanma ile birlikte gelişen endotel

disfonksiyonunda endoteldeki endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) aracılığı ile salınan ve düz kas üzerine önemli bir role sahip olan NO salınımı sekteye uğrar. NO GTP'nin cGMP'ye dönüşümünü sağlayan guanilat siklazı aktive eder ve cGMP damar düz kasını gevşetir. Yaş ile birlikte gelişen endotel fonksiyonlarında bozulma vasküler yanıtı da değiştirir. Bundan başka, yaşlanmanın bir sonucu olarak, kalp ve damar sistemi arasındaki etkileşim (ventrikül-arteriyel homeostazını korumak için) değişikliğe uğramaktadır. Yaşa bağlı bu gibi değişiklikler yaşlanmış kalbin fonksiyonlarında genellikle yetersiz olmasına neden olmaktadır (Dai & Rabinovitch, 2009). Kardiyovasküler risk üzerine cinsiyetin etkisi ise diğer aydınlatılması gereken bir parametre olup; bu konuda yapılan çalışmaların sınırlı sayıda olduğu gözlenmektedir. Premenopozal dönemde aynı yaş erkeklere kıyasla kadınlarda kardiyovasküler hastalık riskinde azalma olduğu ileri sürülse de menopoz sonrası kadınlarda bu etkinin kaybolduğu görülmektedir (Jousilahti ve ark., 1999, Kafonek, 1994). Framingham çalışmasında, 60 yaşından sonra kadınlarda (%69) sol ventrikül hipertrofisi, erkeklere göre (%15) daha sık görülürken; aort darlığı olan yaşlı kadınlarda sol ventrikül sistolik fonksiyonu ve kolajen yapısal anomalileri de daha düşük insidansa sahiptir (Hayward ve ark., 2000). Miyokard enfarktüsü sonrası için kısa ve uzun dönem prognozun kadınlar için kötü olduğu; ancak iskemik olmayan kardiyomiopati sonrasında sağkalım oranlarının erkeklere göre daha iyi olduğu bulunmuştur (Dart ve ark., 2002, Simon ve ark., 2001). Yaşlı kadın sağlığında kardiyovasküler hastalıklar nedeni ile ölüm, morbidite, sakatlık, fonksiyonel düşüş kadınların sağlık maliyetlerinin önde gelen nedenleri olarak karşımıza çıkmaktadır ve son yıllarda kardiyovasküler hastalıkların insidansında ciddi bir artış söz konusudur (Yazdanyar & Newman, 2009).

Yaşa bağı kardiyovasküler hastalıkların insidansındaki bu artışın birçok nedeni olabileceği gibi ROM'nin birikimi ile de yakından ilişkilidir (Sastre ve ark., 2000, Tosato ve ark., 2007). Reaktif oksijen metabolitleri arasında süperoksit anyonu (O_2^-), hidroksil radikali ($HO\cdot$), lipid radikalleri ($ROO\cdot$), nitrik oksit (NO) ve serbest radikal olmayan hidrojen peroksit (H_2O_2), peroksinitrit ($ONOO-$) ve hipokloröz asit kökleri ($HOCl$) sayılabilir. Artmış ROM seviyelerinin (ROM'a karşı antioksidan üretimindeki bozulmuş denge nedeniyle) doğurduğu oksidatif stresin hücre lipidleri, proteinleri ve DNA yapısına zarar verdiği ve hücre ölümüne neden olduğu gösterilmiştir (Elahi ve ark., 2009, Valko ve ark., 2006). El Assar ve ark. yaptıkları bir çalışmada yaşlanmanın kan damarı işlevinin bozulması ile birlikte görüldüğünü ve bunun kardiyovasküler hastalığa yol açan bir neden olduğunu ileri sürmüşlerdir (El, Angulo, Vallejo, Peiro, Sanchez-Ferrer, & Rodriguez-Manas, 2012). Yaşlanma ile birlikte ortaya çıkan artmış intima-media kalınlığı ve damar duvarında fibroz doku birikimi, düz kas hücre sayısında azalma, endotelial NO üretim/kullanılabilirliğinde azalma ve artmış oksidatif stres ile birlikte görülmekte ve damar hemostazını bozan mekanizmalar olarak geçmektedir. Bu değişiklikler vasküler disfonksiyonu tetikleyebilir ve kardiyovasküler hastalıkların temelini oluşturabilir (Muller-Delp ve ark., 2012). Vasküler endotelin işlevselliğinin vasküler hastalıkların patogenezinde rol oynadığı uzun süreden beri bilinmektedir. Endotel tabakanın fizyolojik bütünlüğü, çeşitli vazoaktif ajanlara vermiş olduğu yanıtlarla ölçülmektedir. Bu bütünlüğün bozulması endotel bağımlı gevşemede azalma ile kendini göstermekte ve endotelial disfonksiyon olarak adlandırılmaktadır. Endotelial disfonksiyonun kalp damar hastalıkları da dahil olmak üzere metabolik sendrom, yaşlanma gibi kronik inflamatuvar süreçlerin patogenezinde önemli bir rol

oynadığı bilinmektedir. Yaşlanmadaki vasküler disfonksiyon ise endotelial disfonksiyona ilave olarak damar duvarının diğer tabakalarını da kapsamakta, fibroz doku artışı, elastin matriks dejenerasyonu, düz kas fizyolojisinde değişiklikler ile kendini göstermektedir (Seals ve ark., 2011). Yapılan çalışmalar yaşlanma sürecinde endotel disfonksiyonun altında yatan mekanizmaların artmış oksidatif stres ile ilgili olabileceğini göstermektedir (Brandes, Fleming, & Busse, 2005, Patel ve ark., 2011, Sindler ve ark., 2011). ROM'lar mitokondri içinde, peroksizomlarda, sitozolik enzim sistemlerinin (NADPH oksidazlar, ksantin oksidaz vb) çeşitli aktiviteleri sonucu olarak üretilmektedir (Sies, 2014). Glutasyon peroksidaz (GPx), KAT ve SOD gibi enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemleri fizyolojik homeostazı korumaya çalışırlar. Bu homeostazın bozulması hücre çoğalması ve organizmanın ROM'a karşı savunmasını kısıtlayabilir. Artan ROM seviyeleri aynı zamanda redoks-duyarlı sinyal yollarını aktive edip çeşitli biyolojik mekanizmalarda da rol oynayabilmektedir (Durrant ve ark., 2009, Fleenor ve ark., 2010, Rojkind ve ark., 2002). Bir ROM olan süperoksit anyonundaki artmış üretim NO gibi endotel kaynaklı gevşetici moleküllerin fizyolojik etkilerini antagonize ederek damarın gevşeme cevabını bozabilmektedir (Czypiorski ve ark., 2013, Wenzel ve ark., 2008). Yaş ile birlikte gelişen oksidatif hasarın damar yapısında meydana getirdiği deformasyon ve dış etkenler sonucu gelişen aterosklerozun ilerlemesi ve kardiyovasküler risk göstergelerinin bu yeni yapı ile ilişkisi önemli araştırma konularından birisidir.

Çeşitli metabolik belirteçlerin kan düzeylerine bakıldığı çalışmalarda kalp krizlerinin %35'inin normal kan kolesterol düzeylerine sahip bireylerde gözleendiği ortaya koyulurken (Ridker ve ark., 2009) 40 yaş sonrasında açlık kan şekerinde hafif

yükselmeler kaydedilmiş ve bu yükselmelerin çoğunlukla kan basıncı ve ateroskleroz artışı ile seyrettiği belgelenmiştir (Yashin ve ark., 2010). Yaşlanma ile birlikte kan şekeri ve yağ metabolitleri düzeylerindeki değişiklikler aslında metabolik sendrom ve beraberinde birçok rahatsızlığın da tetikleyicisi olarak karşımıza çıkmaktadır.

4.3.1. Yaşlılık ve egzersiz

Diyet; yağ depolarında enerji depolanmasını sağlamanın yanı sıra pişirme sırasında üretilen ileri glikasyon son ürünlerinin (AGE) tüketilmesini de içeren, inflamasyon üzerine önemli sistemik etkileri olan bir faktördür. Genel bir ilke olarak, doğuştan gelen bağışıklık yanıtlarının düzenlenmesi enerji varlığında yapılabilmektedir (Morgan ve ark., 2007). Kalori kısıtlaması ile glikoz alımının azaltılması proinflamatuvar potansiyeli olan AGE üretiminin azalmasını beraberinde getirmektedir (Ulrich & Cerami, 2001). Sitokinlerin gen ifadesi üzerindeki etkilerinin kalori kısıtlanmasından nasıl etkilendiği araştırılmış ve yaşlanma sırasında beyin, kalp ve karaciğerde artan bu ekspresyonların (ifadelerin) kalori kısıtlaması ile azaldığı gösterilmiştir (Park ve ark., 2009). Canlı organizmada beyaz yağ dokusu (BYD) da proinflamatuvar sitokinleri salgılayan makrofajlardan zengindir. Özellikle visceral yağ dokusundan adipokinler ve IL-6 salgılanmaktadır. Diyabetik bireylerde karın bölgesindeki yağ artışı BYD'daki artış ile karakterizedir ve bu adipositlerden üretimi atan sitokinler ve telomer kısalmasının yaşlı bireylerden elde edilen verilerle ilişkili olduğu bulunmuştur (Minamino ve ark., 2009). Kalori kısıtlamasında olduğu gibi fiziksel aktivitede de sistemik inflamasyon yanıtları değişmektedir. Egzersizin proinflamatuvar bir sitokin olan IL-6'nın iskelet kası hücrelerinden salınımını yaklaşık 100 kat artırdığı bilinmektedir ve bu sitokin aynı zamanda anti-inflamatuvar

olan sitokinlerin (IL-10) kandaki düzeylerini de artırmakta, yağ oksidasyonunu stimüle etmekte ve TNF- α üretimini baskılamaktadır (Mathur & Pedersen, 2008a). Egzersiz ile salınan proinflamatuvar ve antiinflamatuvar sitokinlerin miktarı vücuda verdikleri yarar ve zarar arasındaki dengeyi belirler (Lira ve ark., 2009a, Lira ve ark., 2009b). Ancak IL-6'nın bu iyi etkilerini göstermesi için yeterli miktarda salınması gerekmektedir ve bu miktarda egzersizin şiddeti önemlidir (Petersen & Pedersen, 2005). Yaşlı sıçanlarda koşubandı egzersizinin renal lipid peroksidasyonunu (MDA) azalttığı ve kan IL-10 düzeyini artırdığı gösterilmiştir (Asghar ve ark., 2007). Egzersiz aynı zamanda makrofajların yağ dokusuna infiltrasyonunu da inhibe etmektedir (Woods ve ark., 2009). Egzersizin yaşlanmanın birçok kronik koşulunun riskini azalttığı kabul edilmektedir (Bruunsgaard, 2005, Mathur & Pedersen, 2008b). Literatüre bakıldığında etkili bir anti-inflamatuvar müdahale olan egzersiz yaşlanma karşıtı olarak da karşımıza çıkmaktadır (Goto ve ark., 2004, Radak ve ark., 2004). Egzersiz tüm antioksidan savunma sistemini artır ve redoks durumunun korunmasını sağlar (GSH/GSSG dengesi) ve böylece sitokinler, kemokinler gibi proinflamatuvar araçları önler (Sen, 1995, Seo ve ark., 2006).

Orta yaşlarda başlayan yüksek kan şekeri ve gliko proteinlerin vasküler hastalıkların riskine ivme kattığı varsayılmaktadır. Doğum öncesi ve sonrası çevresel faktörler, tütün dumanı, hava kirliliği, arteriyel dejenerasyon, obezite ve hiperglisemi yaşlanma belirtilerinin hızını etkilemektedir (vB ve ark., 2006). Yaşla birlikte artış gösteren visceral yağ dokusu, vücut enerji homeostazisini bozarak kardiyovasküler hastalık riskini artırırken adipoz dokudan salgılanan hormonların da (adipokinler) kronik inflamatuvar sürece katkıda bulundukları ve hücrel yaşlanma ile ilişkili oldukları bilinmektedir (Batra & Siegmund, 2012a). Kardiyovasküler hastalıklar

birçok ülkede başlıca ölüm nedeni olmaya devam etmektedir. İlerleyen yaş damar yapılarının yeniden biçimlenerek fonksiyonlarında değişikliğe sebep olmakta vasküler tonus değişiklikleri de dahil olmak üzere kalp ve damar hastalık riskleri artmaktadır (Linton *ve ark.*, 2015). Bu değişikliklerin sonucu olarak yaşlanma ile pulmoner arter basıncında değişiklikler gözlenmekte, sistemik arterlerin damar duvarlarında ise fibröz kalınlaşmalar ortaya çıkmaktadır (Fleenor, 2013, Lam *ve ark.*, 2009).

Yaşlanma ile birlikte metabolik hızın yavaşladığı bilinmektedir. Yavaşlayan metabolik hızın beraberinde getirdiği kardiyovasküler hastalık risklerinde, düzenli fiziksel aktivitenin koruyucu rol oynadığı ve genel sağlıklılık durumu için gerekli olduğu randomize klinik çalışmalar ile gösterilmiştir (Golbidi & Laher, 2013a). Fiziksel aktivitenin kronik infamatuvar süreçleri geri döndürme üzerindeki etkileri incelendiğinde ön plana çıkan mekanizmalar arasında endotelial disfonksiyonda azalma, azalmış yağ dokusu miktarı, sitokin salınımındaki değişiklikler, proinflamatuvar molekül salınımında azalma, genel stres cevabının düzenlenmesi, adezyon molekülü ekspresyonlarında değişiklikler, epigenetik değişiklikler, transkripsiyon faktörlerinin düzenlenmesi sayılabilir (Golbidi & Laher, 2013b, Lira *ve ark.*, 2014, Shephard & Balady, 1999). Vasküler akım stresinin endotel hücreleri üzerinde uyguladığı kuvvetlere bağlı olarak çeşitli gen aktivasyonlarına neden olmakta vazoaktif, proinflamatuvar/anti-inflamatuvar moleküller, sitokinler, büyüme faktörleri ve hormonların üretimine neden olarak endotelial biyolojide belirleyici olmaktadır (Safar & Boudier, 2005). Yapılan çalışmalar sedanter hayat tarzının endotel disfonksiyon ile ilişkili olabileceğini (Santos-Parker *ve ark.*, 2014), düzenli fiziksel aktivitenin ise sürtünme kuvveti aracılı endotelial kaynaklı faktörlerin

salınımını düzenleyerek endotelin fonksiyonunu koruduğunu göstermektedir (Kim ve ark., 2014). Orta şiddette fiziksel aktivitenin obeziteye yatkınlığı azalttığı ve bozulmuş kan şekeri düzeylerini iyileştirdiği bilinmektedir. Bozulmuş açlık kan şekerinin yaşlanma ile birlikte belirginleştiği ve bunun endotel kaynaklı gevşemede de bozulmaya neden olduğu, düzenli aerobik egzersizin bu bozulmayı orta yaşlı ve yaşlı bireylerde düzelttiği de gösterilmiştir (DeVan ve ark., 2013, Luttrell ve ark., 2013). Yapılan bir kohort çalışmasında günde 1 saat yürüyüşün koroner vazodilatör aktivitenin artışı ile pozitif korelasyon içerisinde olduğu gösterilmiştir (Nguyen ve ark., 2011). Ancak yaşa bağlı ortaya çıkan vasküler/endotelyal disfonksiyonda farklı egzersiz tiplerinin olası faydalı etkilerinin hangi mekanizmalar ile gerçekleştiğini araştıran sınırlı sayıda çalışma mevcuttur (Gu ve ark., 2014, Harris ve ark., 2010, Ritchie ve ark., 2013, Trott ve ark., 2009). Günümüzde egzersizin yaşa bağlı ortaya çıkan vasküler disfonksiyondaki iyileştirici etkilerinin nedenleri ve ilgili mekanizmalar araştırma konusudur.

İnsanlarda ve kemirgenlerde yapılmış birçok çalışmada istekli aerobik egzersiz ile TNF- α , nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) oksidaz, transforme edici büyüme faktörü beta-1 (TGF- β 1) gibi proinflamatuvar sitokinlerin düzeylerinde azalma ve NO biyoyararlanımında artma olduğu gösterilmiştir (Fleenor, Marshall, Durrant, Lesniewski, & Seals, 2010, Lesniewski ve ark., 2011, Seals ve ark., 2008, Seals ve ark., 2009). Farelerde yapılmış bir çalışmada düzenli egzersizin konduit arterlerde NADPH oksidaz düzeylerini azaltarak oksidatif stresi hafiflettiği gösterilmiştir. Düzenli egzersizin aynı zamanda yağ dokusu kaynaklı adipokinlerin salınımı ve sitokin düzeyleri üzerine etkili olarak kronik inflamatuvar süreçleri olumlu yönde etkilediği gösterilmiştir (Batra & Siegmund, 2012b, Despres, 2007).

Ayrıca bir çalışmada kronik aerobik egzersizin yaşlanmanın aort üzerinde meydana getirdiği hasarı, mitokondriyal fonksiyonları koruyarak ortaya koyduğu ileri sürülmüştür (Gu, Wang, Zhang, Ma, Liu, & Wang, 2014). Orta şiddette fiziksel aktivitenin obeziteye yatkınlığı azalttığı ve bozulmuş kan şekeri düzeylerini iyileştirdiği bilinmektedir. Bozulmuş açlık kan şekerinin yaşlanma ile birlikte belirginleştiği ve bunun endotel kaynaklı gevşemede de bozulmaya neden olduğu, düzenli aerobik egzersizin bu bozulmayı orta yaşlı ve yaşlı bireylerde düzelttiği de gösterilmiştir (DeVan, Eskurza, Pierce, Walker, Jablonski, Kaplon, & Seals, 2013, Luttrell, Seawright, Wilson, & Woodman, 2013). Düzenli fiziksel aktivitenin karbonhidrat ve lipid metabolizmasını iyileştirdiği, ventriküler aritmi insidansını düşürdüğü ve insulin duyarlılığını artırdığı ortaya konmuştur (Gaziano ve ark., 1997, Romijn ve ark., 1993). Diğer bir çalışmada yaşlı erkek bireylerde düzenli egzersizin kan basıncı üzerinde etkileri araştırılmış, fiziksel uygunluk (fitnes) düzeyinin artırılması ile sistolik ve diyastolik kan basıncı arasındaki farkın da arttığı ve hipertansiyon görülmesinin ise geciktiği ileri sürülmüştür (Liu ve ark., 2014). Egzersizin süresinin haricinde yoğunluğunun da önemli olduğunu ortaya koyan bir çalışmada düşük yoğunlukta yapılan egzersizin sedanter yaşlanma ile görülen bozulmaları iyileştirme ya da geciktirme yönünde etkisinin olmadığı; ancak yetişkinlik boyunca haftada 4 ila 5 egzersiz seansı olacak şekilde yapılan egzersizin sol ventrikül sertleşmesi gibi yaşa bağlı patofizyolojik durumların çoğunu önleyebildiği vurgulanmıştır (Osthus ve ark., 2012). Orta yaşlı bireyler için de egzersizin geç kalınmış bir yaklaşım olmadığı, aksine hiçbir zaman geç olmadığına dair yapılmış çalışmalar mevcuttur (Jak, 2012). Yaşlanma sürecinin kronik

inflamatuvar değişikliklerle karakterize olduğu düşünülürse egzersizin gelişen bu inflamatuvar yanıtı alternatif bir savunma mekanizması oluşturduğu düşünülebilir.

4.4. Deneysel modellerde yaşlanma

Yaşlanma ile ilgili yapılan insan çalışmaları bilimsel anlamda büyük katkılar sağlamakla birlikte yaşam tarzı, kültürel ve bölgesel farklılıklar, etik kaygıları gibi nedenlerle veri toplama ve söz konusu verilerin analizi için gerekli zaman ve maliyeti nedeniyle sınırlı olmaktadır bunun alternatifi olarak da deneysel modellerle yapılan çalışmalar literatürde önemli yer tutmaktadır. Geri dönüşümü olamayan hasarlanmalara karşı her canlı organizmanın her hücresinin verdiği yanıt farklı derecelerdedir ve gelişmiş organizmalarda ortaya çıkan bu farklı yanıtların nedenleri arasında cinsiyet de bulunmaktadır. Kadınların yaşlanma ile birlikte kardiyovasküler hastalıklara (KVH) yakalanma riskinin yükseldiğı bilinmektedir fakat konuyla ilgili cinsiyet odaklı yapılan çalışmalar sınırlı sayıdadır. Yapılan literatür taramasında deneysel KVH araştırmalarının çoğunlukla erkek yaşlı hayvan modelleri üzerinde yoğunlaştığı görülmektedir. Oysa ki 65 yaş üstünde ve özellikle metabolik sendrom tablosu içeren kadınlarda kardiyovasküler hastalıklara yakalanma oranı %66'dır (Cuddy, 2005). Bugüne dek yapılmış çalışmalar gözönüne alındığında yaşlanma ile birlikte gelişen değişmiş oksidan/antioksidan denge, bunlardan etkilenen glikoz ve lipit profili ve doğurdukları bozulmuş damar yanıtları kardiyovasküler hastalıkların zeminini oluşturmakta fakat karmaşık yapı altında yatan mekanizmaların araştırılması ağırlıklı olarak erkek cinsiyeti odaklı sürdürölmektedir, çalışmaların diğer cinsiyet için de ağırlık kazanması gerekmektedir.

Bu alışmalar sürdürülürken deneysel yaşlanma modelleri şekillendirilmiştir ve genetik olarak yaşlanmaya yatkın modellerin oluşturulmasının yanı sıra yaşlanmada ortaya çıkan oksidatif hasarı taklit eden kemirgen modelleri de hali hazırda kullanılmaktadır. ABD Ulusal Hayvan Modellerinde Yaşlanma Araştırma Komitesi “laboratuvar hayvanı” terimini “normatif biyolojisi ve davranışının incelenebildiği, biyolojisinde spontan veya uyarılmış patolojik bir sürecin araştırılabildiği, içinde bir ya da daha fazla bakımdan insan veya diğer hayvan türleri ile benzerliği bulunan denekler” olarak tanımlamaktadır. Açıklayıcı ve keşfedici olarak çeşitlendirilebilecek deneysel modellerde kullanılacak deneklerde spontan olarak bir modelin var olmasının yanı sıra bu denekler transgenik olarak ya da kimyasal bir ajanla bir modelin indüklenmesine tabi tutulmuş olabilirler. Biyogerontologlar yaşlanma ile ilgili ilk çalışmaları tek hücreli mayalarda (*Saccharomyces cerevisiae*), nematodlarda (*Caenorhabditis elegans*), meyve sineği (*Drosophila melanogaster*) ve laboratuvar faresinde yapmıştır (*Mus musculus*). Geleneksel, genetik, moleküler ve biyokimyasal temelli modeller uzun ömür vaat eden düzenleyiciler için değerli bilgiler sağladı ve yaşlanma süreçlerinin anlaşılmasında önemli katkılarda bulundular. Hayvan modellerinde istihdam için iki ana kriter mevcuttur: Araştırılan konunun kapsamının bu model ile ele alınabilir olması ve bulguların genelleştirilebilir olması. Kemirgenler ele alınacak olursa kobaylar insanlar gibi C vitaminini sentezleyemezler ve sağlıklı bir yaşam için dışardan takviye olarak almaları gerekmektedir fakat diğer laboratuvar kemirgenleri kendi sentezini gerçekleştirebilmektedir.

Yaşlanma ile ilgili araştırmalar için üç geleneksel model çokça çalışılmıştır (solucanlar, sinekler ve fareler). Kalori ya da diyet kısıtlaması tüm klasik modellerde yaşam süresini uzatmak için ortak payda olarak karşımıza çıkarken yaşam süresini

değiştiren tek gen mutasyonları da maya, solucanlar, sinekler ve farelerde tespit edilmiştir. Macaca mulatta insanlar ile %90 genomik benzerlik gösterir ve nörolojik fonksiyonlar ve hafıza çalışmalarında geleneksel yaşlanma modellerinde kullanılan primattır fakat hayvan hakları ile ilgili kaygılardan ötürü çalışmalar sınırlandırılmıştır. Laboratuvar şartlarında çalışılması kolay ve zahmetsiz olan kemirgenler yaşlanma ile ilgili araştırmalarda da cazip hale gelmişlerdir. Yaşlanma deneylerinde genetik temelli yaşlanmaya yatkın Fischer 344x Brown Norveç (F344xBN- FBNF1/NNiaHsd) sıçan soyu yaygın olarak kullanılmaktadır. Cinsiyet açısından bakıldığında dişi kemirgenler 5 aylık olduklarında dört beş gün süren bir östrus döngüsü olur. Üreme olgunluğu sırasında, yüksek ve sürekli östradiol düzeyleri, düşük progesteron seviyeleri, luteinize edici hormon dalgalanmaları yokluğu ve yumurtlama meydana gelir. Yumurtlamadaki düşüş kemirgenin bulunduğu şartlara bağlı olarak altı ile on sekiz ay arasında ortaya çıkar. Kemirgenler mensturasyon döngüsü görmesine rağmen, yumurtalıklardaki yumurtalarının sayısı ve kalitesinin azaldığı ve 18 ay üzerinde yumurtalık yaşlanmasına girdikleri gösterilmiştir. Bu aşama, azalmış östradiol ve progesteron ya da düşük düzeyde veya hiç gelişmeyen foliküller ile karakterizedir (Lu ve ark., 1979). Erişkinlikten yaşlılığa geçiş dönemindeki sıçanlarda (10-12 aylık arası) östrus döngüsündeki düzensizliklerde artışı oluşur (Lu, Hopper, Vargo, & Yen, 1979). Bu durum yumurtalık yaşlanmasını tarif etmekle birlikte aslında fizyolojik olarak yaşlanmanın başlamış olduğunu da düşündürmektedir. Dişilerde yapılan çalışmalarda hormon düzeylerindeki dalgalanmalar aslında kardiyovasküler sistem üzerine birçok etki doğurmakta ve hastalıkların altında yatan mekanizmaların araştırılmasını zorlaştıran bir etken olarak karşımıza çıkmaktadır (Acosta ve ark., 2009). Bu bağlamda

dişilerde yapılacak olan yaşlanma çalışmaları ile literatürün eksik noktalarına katkıda bulunulabilir.

4.4.1. D-Galaktoz enjeksiyonu ile modellendirilmiş yaşlanma

Vücutta doğal olarak bulunan ve indirgeyici özelliğe sahip monosakkarit olan D-galaktoz son yıllarda yaşlanma modelinde popüler olarak kullanılan bir ajan olarak karşımıza çıkmaktadır. Kalori alımının oluşturduğu inflamatuvar hasar ile aynı yolağı kullanacak şekilde organizma içerisine alınan D-galaktoz ($C_6H_{12}O_6$ - glikozun izomeridir), galaktoz oksidaz enzimi vasıtasıyla aldehit ve lipofilik yapıya sahip hidrojen peroksit (H_2O_2) dönüşür. Hücre zarından rahatça geçen H_2O_2 Fenton ve Haber-Weiss metabolik reaksiyonları sonucunda hidroksil radikalini ($OH^\cdot$) açığa çıkarır (Lee ve ark., 2006b) ve bu radikal oksidatif hasara ve devamında DNA hasarına yol açar. Aşırı miktarda glikozun alımı ile hidrojen peroksit ve hidroksil radikalleri artışı tetiklenmiş olur ve sonucunda mitokondriyal oksidatif hasar oluşturularak alternatif yaşlanma belirtilerinin artışına neden olan kaskad harekete geçirilir (Ho ve ark., 2003). D-galaktozun galaktoz oksidazın etkisi ile H_2O_2 ve aldoz oluşturduğu ve AGE oluşumunun uyarılması ile oksidatif stresi artırıcı etki gösterdiği bilinmektedir. Organizma içerisinde glikozun epimerizasyonu sonucu meydana gelen galaktoz insülininden bağımsız olarak hücre içerisine alınır. Oksidatif hasar temelli yaşlanma modelini taklit edeceği düşünülen D-galaktoz bu etkisinden dolayı intraperitoneal enjeksiyonu ile yaşlanmayı taklit edici bir model olarak kabul görmüştür. Hücrelerde yaşlanma sürecinde ROT'nin etkisiyle oluşan oksidatif hasar ve devamında gelişen hücresel proteinlerdeki redoks homeostazisi protein onarım sistemleri ile sürdürülür. Okside olmuş proteinlerin uzaklaştırılmaları

gerçekleştirilemezse daha ileri protein oksidasyonlarına yola açarlar (Cakatay ve ark., 2010). Birçok türde farklı birçok dozda yanıt gözlenen D-galaktoz enjeksiyonunun süresi de farklılık göstermektedir. Türler göre uygulamanın başladığı yaş da önem arz etmektedir. Türler içerisindeki cinsiyet farklılığının da doğal yaşlanma sürecinde etkisi olduğu düşünülecek olursa D-galaktoza verilen yanıtlar da cinsiyete göre değişiklik göstermektedir.

İlk olarak Çin’de farelere düşük dozda D-galaktoz enjeksiyonun hızlandırılmış yaşlanmada ortaya çıkan tablolara benzeyen nörolojik zararlar, antioksidan enzim aktivitesinde azalma ve zayıflamış immün yanıt ortaya çıkarttığı gösterilmiştir (Song ve ark., 1999a). Ayrıca hücre glikoz metabolizmasının da bozulduğu, oksidatif stresin tetiklendiği belirtilmiştir. Sıçanlara 6-10 hafta süreyle 60 mg/kg/gün i.p. D-galaktoz enjekte edilmesi oksidatif stres ve buna bağlı olarak böbrek dahil olmak üzere çeşitli dokularda serbest radikallerde artışa neden olmuştur (Aydin ve ark., 2012, Lei ve ark., 2008, Liu ve ark., 2009, Song ve ark., 1999b). Bir başka çalışmada bu gibi yanıtların devamlılığının ve geçerliliğinin sağlanması için dozun artırılması gerektiği ve 300 mg/kg ile ancak kalıcı hasarlar oluşturulabileceği tartışılmıştır (Parameshwaran ve ark., 2010). Bu bilgiler ışığında doğal yaşlanan hayvanlara kıyasla uygun zaman aralığında seçilmiş deneklere uygulanacak belirlenmiş doz D-galaktozun hedef süre içerisinde oluşturacağı hasarın doğal yaşlanma sürecinde hayvanlarda meydana getireceği bireysel farklılıklardan daha az bir varyasyona neden olacağı ön görülmektedir. Dişi deneklerin yaşlanmaya karşı daha dirençli olduğu bilinmektedir fakat D-galaktoz enjeksiyonu sonrası redoks homeostazisi ile cinsiyet farklı arasında kurulmuş herhangi bir bağlantı yoktur (Guevara ve ark., 2009, Hsieh ve ark., 2009). Genel olarak çalışmalar dişilerde östrojenin koruyucu

etkisini elemek amacı ile erkek deneklerde yapılmakta ve aslında cinsiyetçi bir yaklaşım sergilemektedir. D-galaktoz alan hayvanların 16-24 aylık doğal yaşlandırılmış hayvanlarla çok benzer yanıtlara sahip oldukları gösterilmiş olmakla birlikte doğal yaşılanan hayvanlar ile damar yanıtları açısından karşılaştırma yapan bir çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle bu tez çalışmamızda amaçlandığı gibi, perivasküler yağ dokusu ve damar yanıtları açısından doğal yaşlandırılmış hayvanlar ile D-galaktoz modeli ile yaşlanma mimetiği gerçekleştirilen hayvanların karşılaştırılması amaçlanmıştır.

4.5. İrisin

4.5.1. Fizyolojisi

Yaşlanma sürecindeki kronik inflamatuvar yanıtlarda egzersizin alternatif bir savunma mekanizması oluşturduğu düşünülmektedir ve bu amaçla yola çıkan araştırmacılar egzersizle tetiklenen mekanizmaları araştırırken peroksizom proliferatör ile aktive edilen reseptör gama koaktivatörü 1-alfa (PGC1- α) transkripsiyon faktörü ile ilgili araştırmalarını yürüten araştırmacılar akut egzersiz sonrası protein 5 içeren fibronektin tip 3-domain (FDNC5) geni tarafından kodlanan **irisin** adı verilen yeni bir peptit keşfetmişlerdir (Castillo-Quan, 2012).

4.5.2. Sentez ve Metabolizması

Egzersiz sonrası kaslardan salınımı gerçekleşen bu peptidin uncoupling protein-1 (UCP-1 veya termogenin) ekspresyonu artışı sonucu gerçekleşen termogenez yoluyla

ilişkili şekilde beyaz yağ dokusuna kahverengi yağ dokusuna dönüşümüyle ilgili olduğu öne sürülmektedir (Carriere ve ark., 2013, Nuutila, 2013). UCP'ler mitokondriyal transmembran proteinleridir ve mitokondri iç membran proton geçirgenliğini arttırıp bu sayede inter-membranda biriktirilen protonların (H^+) matrikse geçişini hızlandırarak artmış substrat oksidasyonunu ve ısı üretimini sağlarken ATP üretimini azaltırlar (uncoupling etki). İlave çalışmalarla irisinin sadece miyokin değil aynı zamanda bir adipokin olduğu ileri sürülmüştür (Roman ve ark., 2015). İrisin, FNDC5 geninin işlenmesi ile elde edilir ve molekül ağırlığı 12 kDa olarak tahmin edilmektedir (Novelle ve ark., 2013). Roca-Rivada ve arkadaşları FNDC5'in beyaz yağ dokusundan (BYD) salındığını gösteren ilk ekip olmakla birlikte aynı zamanda sıçan yağ dokusu örneklerinden salınan organik bileşenleri kullanarak yaptıkları çalışmada visceral ve deri altı yağ dokusunda da FNDC5 ifadesi ve salgılanması olduğunu göstermişlerdir. Bu ekip çalışmalarında egzersizden 1 hafta sonra BYD'da artmış FNDC5/irisin ekspresyonu gördüklerini ve 3 hafta sonra ise ekspresyon düzeylerinin azaldığını ortaya koymuşlardır (Irving ve ark., 2014, Roca-Rivada ve ark., 2013). İrisinin BYD hücrelerine nasıl etki ettiği, olası reseptörlerinin varlığı ve bunların termogenez ve yağ dokusunda esmerleşme ile ilişkisi bilinmemektedir (Bostrom ve ark., 2012).

4.5.3. İrisin ve Yaşlanma

Ayrıca plazma irisin düzeylerinin sağlıklı yetişkinlerde telomer uzunluğu tahmininde bulunmada yardımcı olduğu ileri sürülmektedir. Çalışmada bakılan diğer hiçbir parametre ile korelasyon görülmezken yalnızca plazma irisin düzeyleri ile telomer uzunluğu arasında ilişki saptanmıştır (Rana ve ark., 2014). Yaşlı bireylerde ise

egzersize bağılı gözlenen FNDC5 artışları genç deneklerle karşılaştırıldığında daha yüksek bulunmuştur (Huh ve ark., 2014).

4.5.4. İrisin ve Egzersiz

Bostrom ve arkadaşları sadece akut egzersizle değil 10 haftalık dayanıklılık ve direnç egzersizlerinde de dolaşımdaki irisin miktarının yaklaşık 2 kat artırdığını ve bu artışın iskelet kası FNDC5 mRNA ekspresyonundaki artış ile orantılı olduğunu göstermişlerdir (Bostrom ve ark., 2013). İrisin molekülünün sistemik etkileri dışında kan beyin bariyerini geçerek olası santral etkileri de araştırılmış, Wrann ve arkadaşları yaptıkları çalışmada egzersizin kandaki irisin düzeylerini yükselttiğini ve bu peptidin kan beyin bariyerini geçerek BDNF (beyin kaynaklı nörotrofik faktör) gibi bilişsel fonksiyonlarla ilişkili genlerde ifade artışına neden olduğunu ileri sürmüşlerdir (Wrann ve ark., 2013). Gerhard ve arkadaşları gen dizisi teknolojisini kullanarak FNDC5'in viseral yağ dokusu ve karın yağ dokusunda ifadesinin yüksek olduğunu, obezite cerrahisi geçiren ciddi obez hastalarda daha az ölçüde deri altı yağ dokusundan da eksprese edildiğini ve aynı şekilde, PGC1- α 'nın da bol miktarda yağ dokusu depolarında ifade edildiğini göstermişlerdir (Gerhard ve ark., 2014). Beyaz yağ dokusu birçok sitokin ve adipokin için kaynak olarak görev yapmaktadır. Kahverengi yağ dokusu ise çok sayıda UCP-1 içeren mitokondriye sahiptir ve özellikle toraksta, perikard çevresinde, interskapular aralıkta ve vasküler duvarda mevcuttur ve ısı dengesini korumak için kapiller ağdan zengindir (Bartelt & Heeren, 2014, Giralt & Villarroya, 2013, Irving, Still, & Argyropoulos, 2014). Birlikte ele alındığında, insan BYD'nun FNDC5 kaynaklı esmerleşme için gerekli anahtar otokrin bileleşenlere sahip olduğu anlaşılmaktadır. İrisin bu gibi nedenlerle

metabolik hastalıklar veya yaşlanma ile ilişkili değişikliklere karşı tedavi potansiyeli olan bir ajan olarak düşünülebilir.

Egzersiz ve damar kasılma yanıtları ile ilgili çalışmalar genellikle torasik aorta ile ilişkilendirilmiş olmakla beraber karın bölgesindeki yağlanma yaşlanma sürecinde daha belirgin olarak ortaya çıkmaktadır (Girerd ve ark., 1992, Rackley, 2004). Fakat yaşlanma sürecinde kilo alımını takiben yağ dokusu artışı ve viseral yağ hücrelerinden eksprese edilen materyallerde olduğu gibi damar çevresi yağ dokusundan eksprese edilen yapıların çeşitliliği de değişmektedir. Bu yüzden aortik perivasküler yağ dokusunun yaşlanma sürecindeki olası katkısı ve damar reaktivitesi üzerine etkisi önem kazanmaktadır. Buna ilave olarak, literatürde egzersiz ve onun ile ilişkili olan irisin peptidinin vasküler fonksiyonu nasıl etkilediği ile ilgili çalışma da yoktur. Bu konular gerek egzersiz ile ortaya çıkan faydalı etkilerin mekanizmalarının anlaşılması gerekse irisinin potansiyel faydalı etkilerinin yaşlanmadaki rolünün anlaşılması açısından önem taşımaktadır.

4.6. Perivasküler adipoz doku ve yaşlılıkta önemi

Yaşlılık ve beraberinde gelen hastalıklarda endotel homeostaz kaybı disfonksiyonun düzenlenmesinde önemli role sahiptir ve bilinen risk faktörlerinden bağımsız olarak aslında bu regülatör mekanizmaların devreye girmesi kalp-damar hastalıklarının gelişiminde rol oynar (Calles-Escandon & Cipolla, 2001). Araştırmacılar son yıllarda arteriyel tonusun parakrin düzenlenmesini araştırmak için endotelden bağımsız bir şekilde adiposit, perivasküler adipoz doku (PVAD) kaynaklı gevşeme faktörlerinin damar kası yanıtlarının düzenlenmesindeki etkileri üzerine yoğunlaşmışlardır

(Gollasch, 2012, Schleifenbaum ve ark., 2010). Arterleri çevreleyen adipoz dokunun (PVAD) vasküler homeostazda (Szasz & Webb, 2012) önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. Fare torasik aorta PVAD'sundan adiponektin (Fesus ve ark., 2007a), angiotensin1-7 (Lee ve ark., 2009), leptin (Galvez-Prieto ve ark., 2012a), adiponektin (Fesus ve ark., 2007b) ve hala belirlenemeyen adiposit kökenli gevşetici faktörler de dahil olmak üzere birçok vazoaaktif madde salgılandığı gösterilmiştir. Bu vazoaaktif etkiler endotelial NO sentezi ve salınması üzerinden gevşetici bir etkinin indüklenmesi (Galvez-Prieto ve ark., 2012b) şeklinde olabileceği gibi vasküler düz kas hücrelerindeki K⁺ kanallarının aktivasyonu (Gao ve ark., 2007) ile de gerçekleşebilmektedir. Daha yakın zamanda torasik aorta PVAD'sundan NOS'ın endotelial izoformunun (eNOS) (Araujo ve ark., 2015) eksprese edildiği ve NO ürettiği gösterilmiştir. PVAD kaynaklı NO bitişindeki torasik aort duvarının gevşemesini sağlamakta bu da onu damar için olası adiposit kaynaklı gevşetici faktör (AKGF) listesine koymaktadır (Xia ve ark., 2016, Xia & Li, 2016). Aorta boyunca PVAD'nun fenotipi çeşitlilik göstermektedir. Abdominal aorta beyaz yağ dokuya (BYD) sahipken torasik aorta yoğunlukla kahverengi yağ dokusunu (KYD) içermekle birlikte BYD'na da sahiptir (Fitzgibbons ve ark., 2011, Police ve ark., 2009). İnflamatuvar gen ekspresyonu ve immün hücre infiltrasyon göstergelerinin ekspresyon düzeylerinin torasik aortaya göre abdominal PVAD'da daha fazla olduğu görülmüştür ve bu KYD'a göre BYD'nun daha proinflamatuvar ve aterojenik bir fenotipe sahip olduğunu düşündürmektedir (Padilla ve ark., 2013). Yine PVAD'da endovasküler yaralanmaların esas olarak, TNF- α 'nın aracılık ettiği hızlı ve önemli değişikliklere neden olduğu gösterilmiştir ve bu değişiklikler de PVAD'da fenotipik değişikliklere neden olmaktadır (Takaoka ve ark., 2010). Torasik aorta PVAD'nun

vasküler reaktivite ve redoks düzeyleri üzerine etkileri hakkında hala araştırılması gereken noktalar mevcuttur. Abdominal ve torasik aorta karşılaştırması yapılacak olursa abdominal aortada PVAD'nun gevşetici etkisinden daha az söz edilmektedir (Watts ve ark., 2011). Böylesi bir bölgesel farklılığın altında yatan mekanizmaların belirlenmesi için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. Yakın zamanda yapılmış bir araştırmada torasik aort ve abdominal aort üzerine PVAD'nun anti-kontraktıl etkisi kıyaslandığında bu etkinin abdominal aort kısmında azaldığı ve bu azalmanın da ROM'leri üretimi ya da lipid peroksidasyonundan bağımsız bir şekilde eNOS kaynaklı NO üretimindeki azalmadan kaynaklandığı gösterilmiştir (Victorio ve ark., 2016).

5. GEREÇ VE YÖNTEM

“Yüzme Egzersizi ve Yaşlanmaya Bağlı Vasküler Disfonksiyon: İrisin Peptidinin Rolü” adlı çalışmanın Marmara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan onayı alındı (Ref no: 07.2015.mar.). Çalışmamız Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (BAPKO- proje no: SAG-C-DRP-130515-0160) tarafından desteklenmiştir.

5.1. Deney Hayvanları

Marmara Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezinden (DEHAMER) temini gerçekleştirilen 12 haftalık (3 aylık) dişi (250-300 gr) Sprague Dawley sıçanlar kullanılmıştır. Deney süresince haftalık vücut ağırlığı takipleri gerçekleştirilen hayvanların genel durumlarında bozukluk, aşırı kilo kaybı, inflamasyon görüldüğünde gruptan çıkarılmışlardır.

5.2. Deney Grupları:

1. 3 aylık genç sıçan grubu (Genç) (n=10)
2. 3 aylık genç sıçan egzersiz grubu (Genç+E) (n=10)
3. 18 aylık doğal yaşlı sıçan grubu (DY) (n=10).
4. DY + yüzme egzersizi yapan sıçan grubu (DY+E) (n=10).
5. D-Galaktoz ile yaşlandırılmış sıçan grubu (D-Gal) (n=10).
6. D-Galaktoz ile yaşlandırılmış sıçan + yüzme egzersizi grubu (D-Gal+E) (n=10).

Olmak üzere toplam 60 adet deney hayvanı kullanılmıştır.

5.3. Deneyel Protokoller:

Doğal Yaşlı Hayvanlar

Laboratuvar hayvanlarının ortalama yaşam süresi maksimum 3 yıl olarak göz önünde bulundurulduğunda deneyin sonlanmasının planlandığı 18 aylık süreç sonunda hayvanlar yaşlanmış olarak kabul edilmiştir (Andreollo ve ark., 2012).

D-Galaktoz ile yaşlanma modeli

Deney protokolüne göre 3 aylık erişkin olarak temin edilen dişi sıçanlara i.p. D-Galaktoz (300 mg/kg/ml) enjeksiyonu 9 hafta boyunca hergün sabah 9:00/10:00 arası yapılmıştır (Kumar ve ark., 2014).

5.4. Yüzme egzersizi:

Yüzme egzersizi yapacak deney hayvanları öncelikle rotarod testine (Olivares-Nazario ve ark., 2016) tabi tutularak motor aktiviteleri değerlendirildi ve bu bantta duramayan sıçanlar sedanter gruba dahil edildiler. Egzersiz uygulaması yüksekliği 47 cm, çapı 58 cm, derinliği 50 cm olan su tankında suyun derinliği 33 cm, sıcaklığı

30±2 °C koşullarında gerçekleştirildi. Deney başlamadan önce suya karşı gelişebilecek stresi önlemek amaçlı denekler 5 gün, günde 15 dakika olacak şekilde yüzdürülerek prosedüre alıştırdılar. Orta dereceli bir egzersiz uygulaması olarak kabul edilen egzersiz protokolünde (Kumral ve ark., 2016) deney hayvanları, 12 hafta boyunca haftada 5 gün, ilk 3 hafta günde 30 dakika takip eden 9 hafta boyunca günde 40 dakika olmak üzere yüzdüler. Sedanter gruplar ise egzersiz grupları yüzdürülürken eş zamanlı olarak kafeslerinden alınıp nemli havlu ile silinerek yeni kafeslere yerleştirildi.

5.5. Kan ve Doku Örneklerinin Toplanması

Deney protokol sürelerini tamamlayan sıçanlardan gece açlığını takiben son ağırlık takipleri yapıp eter anestezisi altında kalplerinden kan alındı ve ötenazi gerçekleştirildi. Göğüs kafesi açılarak hızlıca kalp çıkarıldı ve +4°C serum fizyolojik (SF) içerisine yerleştirildi. Kalp vurumu devam ettiği için kalp içerisindeki kan direne edilmiş oldu. Kurutma kağıdına alınan kalpte sol ön inen arter sol ventrikül için referans alınarak sagittal kesi ile tüm sıvı emdirilip yaş ağırlık tartımı yapıldı. Histopatolojik ve immunhistokimyasal analizler için %10'luk tamponlu formol fiksatorüne alınan sol ventrikül parçasının ardından kalan kalp dokusu biyokimyasal tayinler (MDA, GSH, SOD, KAT) için parçalara ayrılıp hızlıca -80 °C'ye kaldırıldı. Kalp alımını takiben torasik aorta nazikçe omurilikten ayrıldı ve üzerindeki perivasküler adipoz doku ile birlikte 37°C'de karboksijenle (CO₂ %5 ve O₂ %95) gazlandırılmış KREBS-Henseleit (pH=7,4) çözeltisine bırakıldı.

Vücut yağ oranı tespiti viseral yağ dokusu (mezenterik yağ dokusu + retroperitoneal yağ dokusu + perirenal yağ dokusu + perigonodal yağ dokusu) toplanıp tartılması sonucu elde edilen değerin son vücut ağırlığına oranının yüzdesi şeklinde yapılmıştır.

Total uzunluğu ölçülen torasik aortadan 6 mm uzunluğunda kesi alındı ve 3mm perivasküler adipoz doku içeren, 3 mm PVAD içermeyen halkalar ayrı ayrı izole organ banyolarına asıldı. Kalan aortanın bir kısmı histopatolojik ve immunhistokimyasal analizler için %10'luk tamponlu formol fiksatörüne alınırken diğer parça biyokimyasal tayinler için (SOD, KAT) -80 °C'deki derin dondurucuya yerleştirildi .

Kanlar plazma elde edilmek üzere EDTA'lı tüplere ve serum ayırmak üzere sarı kapaklı ticari tüplere ayrıldılar ve +4°C'de 3500 rpm'de 15 dk santrifüje edilip godelere alınıp -80 °C'ye kaldırıldılar.

5.6. Miyografi çalışmaları:

Her bir sıçandan hazırlanan iki torasik aort halkası 20 ml'lik izole organ banyosunun 1 ve 2 no'lu kanallarına asıldı. Isıtılmış (37° C) ve sürekli olarak gazlandırılan (%95 O₂ - %5 CO₂) doku banyosunun içindeki aort segmentine 500–1000 miligramlık gerim uygulandı ve dokular 40 dakika dinlenmeye bırakıldı. Bu süre zarfında 20 dakikada bir KREBS-Henseleit solüsyonu (mmol/L: 119 NaCl, 4.7 KCl, 1.2 KH₂PO₄, 1.2 MgSO₄·7H₂O, 25 NaHCO₃, 2.5 CaCl₂, ve 11 glikoz) yenilendi, 40 dakika sonunda sırasıyla aort halkalarının bulunduğu banyolardaki KREBS çözeltisi boşaltılarak 20'şer ml önceden su banyosunda 37° C'ye kadar ısıtılmış KCl (124 mM) eklendi. Maksimum kasılmanın gözlenip kaydedilmesinden sonra 3'er kez

yıkanan banyolardaki dokular 30 dakikalık dinlenime bırakıldılar. Damarlar maksimum doz elde edilene kadar kümülatif olarak logaritmik artırılan fenilefrin (PE, $3 \times 10^{-8} - 10^{-4} \text{M}$) kasılmalarına tabi tutuldu ve maksimum düz kas kasılma cevabının elde edildiği dozun bir düşüğü submaksimal yanıt olarak kaydedildi. Bu seri kasılmalardan sonra PE'li banyolar KREBS ile en az 3 defa yıkandı ve segmentler 30 dakika tekrar dinlenmeye bırakıldı. Ayrıca banyo içindeki Krebs solüsyonu dinlenme boyunca 10 dakika arayla yenilendi. Daha sonra PE'nin submaksimal dozu ile gerçekleştirilen ön kasılmayı takiben endotele bağımlı gevşeme cevaplarını göstermek üzere karbakol kümülatif (CCh, $10^{-8} - 10^{-4} \text{M}$) bir şekilde banyoya eklendi. Yukarıda belirtilen 30 dakikalık dinlenme periyodundan sonra düz kasa bağımlı gevşeme cevaplarının değerlendirilmesi amacıyla submaksimal fenilefrin ile tekrar kasılan damarlar bu kez kümülatif sodium nitroprussid (SNP, $10^{-9} - 10^{-5} \text{M}$) verilerek gevşetilmeye çalışıldı. Dokuların yıkayıp dinlendirilmesini takiben irisinin olası vazodilatör özelliğini test etmek amacıyla kontrol ve yaşlı gruplarının damar banyolarına submaksimal PE kasılmasını takiben iris 1, 3, 10, 30, 100, 300 ng/ml dozlarında eklenerek yanıtlar kaydedildi. Elde edilen yanıtlar sonrası banyolar 3'er kez yıkanarak damarlar dinlenme sürecine alındı. İrisin'e verilen yanıtlarına NO etkisini değerlendirmek amacıyla banyolara L-NAME (tek doz, 10^{-5}M) ilave edilip 20 dakika boyunca dokular inkübe edildi ve bu süre sonunda submaksimal PE ilavesini takiben aynı kümülatif dozlarda İrisin uygulanıp traseler kaydedildi.

5.7. Sitokin düzeylerinin tayini:

Serum TNF- α (Biosource Avrupa S.A., Nivelles, Belçika) düzeyi ölçümü için ticari ELISA kiti (Enzyme-Linked İmmunosorbent Assay) kullanıldı.

5.8. Biyokimyasal Ölçümler:

5.8.1. Lipid Peroksidasyonu (Malondialdehit - MDA) tayini:

Bu çalışmada kalp dokusunda MDA miktarı ölçüldü. Doku örnekleri (100–150 mg) trikloroasetik asit (TCA; % 10) eklendikten sonra homojenize (Ultra Turrax T10, Janke & Kunkel, IKA-Labortechnik) edildi. Homojenatlar (dakikada 3000 devirde, 4 °C’de) 15 dakika santrifüje edildikten sonra süpernatantlar başka bir tüpe alınarak (dakikada 15.000 devirde, 4°C’de) 8 dakika süre ile tekrar santrifüj edildi. Süpernatant örnekleri % 0,67’lik tiyobarbitürik asit (TBA) ile 100°C’deki su banyosunda 15 dakika kaynatıldı ve absorban değerleri 535 nm dalga boyunda köre karşı spektrofotometrede okundu. Lipit peroksidasyon düzeyi nmol MDA/gr doku şeklinde ifade edildi (Aykac ve ark., 1985, Buege ve Aust, 1978).

5.8.2. Glutasyon (GSH) tayini:

Glutasyonun düzeyinin ölçümü için lipit peroksidasyonu ölçümünde elde edilen süpernatantlar kullanıldı. Aynı süpernatant örneklerine 0.3 M Na₂HPO₄ ve Ellman ayırıcı (sodyum sitrat tamponunda 5,5'-Dithiobis-2-Nitrobenzoic Acid (DTNB, pH 8.0) eklendi. Karanlıkta 10 dakika bekletilen tüpler spektrofotometrede 412 nm dalga

boyunda köre karşı okundu. Sonuçlar nmol GSH/gr doku şeklinde ifade edildi (Aykac, Uysal, Yalcin, Kocak-Toker, Sivas, ve Oz, 1985).

5.8.3. Protein tayini:

Kalp ve aort dokularının proteinleri alkali ortamda bakır iyonları ile reaksiyona sokuldu ve fosfomolibdik - fosfotungstik asit reaktifi (folin) ile indirgendi. Yaklaşık 100'er mg alınan doku parçaları tüp içerisine koyulup 0,5 ml SF (% 0,9 NaCl) ilavesi yapılarak buz içerisinde 1 dk bekletildikten sonra homojenize edilerek (Haidolph Instruments, Silent Crusher M, D-91126, 24.000 RMP'de 40 sn (kalp) – 20 sn (aort)) hazırlanan doku homojenatları + 4 °C'de 10.000 RPM'de 20 dakika santrifüj edildi. Üstte kalan sıvı protein tayini yapılmak üzere kullanıldı. Öncelikle %5'lik, 10'luk ve 15'lik bovine serum albümin kullanılarak standartlar hazırlandı. Tüm deney tüplerine 3 ml 100/1 oranında 0,1N NaOH'da çözülmüş %2 Na₂CO₃ ve % 0,16 Na-tartarat'da çözülmüş %4 CuSO₄.5H₂O çözeltileri karışımından koyuldu. Deney tüplerinde 10 µl süpernatant ve sadece SF içeren bütün tüpler vorteksle karıştırıldıktan sonra oda sıcaklığında 30 dakika bekletildi. Tüplere 300 µL Folin-Fenol reaktifi vortekslenerek eklendi ve 45 dakika daha oda sıcaklığında beklendikten sonra absorbansları 500 nm'de köre karşı okundu. Standart grafiği çizildi ve doku protein miktarı (mg protein/g doku) cinsinden hesaplandı (Lowry ve ark., 1951).

5.8.4. Süperoksit Dismutaz (SOD) tayini:

Kalp ve torasik aorta dokularında SOD aktivitesi, riboflavin ile duyarlandırılmış o-dianisidinin foto-oksidasyon hızını arttırma yeteneği olarak ölçüldü (Myloie ve ark.,

1986). SF ile %10 oranında seyreltilen doku homojenatları 10 dakika 4000 rpm’de santrifüj edildi. Her tüpe 30 saniye ara ile 0,2 ml riboflavin ve süpernatant konularak 460 nm’de absorbans okundu. Daha sonra tüpler oda sıcaklığında 20 W floresans lamba bulunan kutu içinde 8 dakika inkübe edildi ve 460 nm’de absorbans tekrar okunup kaydedildi. Elde edilen ilk değerden son değer çıkarılmasından sonra süpernatantın SOD aktivitesi (U/mg protein/dak) cinsinden ifade edildi.

5.8.5. Katalaz (KAT) Aktivitesi tayini:

Kalp ve aort dokularından SF ile hazırlanan % 10’luk doku homojenatlarının 10 dak. 4000 rpm de santrifüj edilmesini takiben süpernatantlar alındı ve tekrar % 10 seyreltilerek 5-10 dakika içinde çalışıldı. Bu ölçüm esnasında numune ve kör olmak üzere 2 ependorf hazırlandı. Kör tüpünde 0,2 ml fosfat tampon ile 0,4 ml supernatant bulunurken numune tüpünde 0,2 ml supernatant ve 0,2 ml H₂O₂ içeren fosfat tampon vardı. 240 nm absorbansda okunan değerlerin farkı ilk 1 dakikada gözlenen H₂O₂’nin, H₂O’ya dönüşüm reaksiyonunun kinetiğinin analizi olarak ifade edildi ve ekstinksiyon katsayısının 0,004 (0,00394) mM⁻¹/ mm⁻¹ olarak hesaplandığı deneyde KAT aktivitesi (U/mg protein, dk.) şeklinde ifade edildi (Aebi ve ark., 1984).

5.8.6 Kan Biyokimyası:

Açlık kan şekeri düzeyleri deney başlangıcında, deneyi takip eden 5. ayda, 12. ayda ve son deney günü (15. ayda) sabah 09:00-10:00 sıçan kuyruğundan alınan kanın Accutrend glukometre kartına damlatılması ve sonrasında glukometreye

yerleştirilmesi ile ölçüldü. Dekapitasyon günü temin edilen serumdan total kolesterol ve trigliserit ölçümleri yapıldı.

5.8.7. Plazma ve PVAD iris düzeylerinin tayini:

Deney protokolleri sonunda dekapite edilen hayvanlardan alınan toplam vücut kanları Etilendiamin tetraasetik asitli (EDTA) tüplere alındı ve 4 °C’de, 3500 rpm’de 15 dk santrifüj edildi. Ayrılan plazma ependorflara ayrılıp deney gününe kadar -80 °C’de depolandı. Elde edilen plazmalardan İrisin düzeyleri ticari ELISA kiti (EK-067-52; Phoenix Pharmaceuticals, Inc. ABD) kullanılarak tayin edildi.

Dekapitasyon günü torasik aortalar etrafından nazıkçe ayrılan PVAD tartım işlemleri gerçekleştirildikten sonra ependorflara ayrılıp deney gününe kadar -80 °C’de depolandı. Deney günü dondurucudan çıkarılan örnekler buz kalıbı üzerinde küçük parçalara ayrıldı. Dokular %1’lik TCA içerisinde homojenize edildi ve homojenatlar 12,000rpm’de 30 dakika, 4°C’de santrifüje edildi. Süpernatandan 1 ml alındı, kalan örnekler ependorflara alındı ve -80 °C’ye kaldırıldı. Eldeki süpernatanın üzerine ortamı daha asidik yapmak için eş hacimde kit içerisinde hazır bulunan solüsyondan (RK-BA-1) 1 ml eklendi. Homojenatlar tekrar 12,000 rpm’de 20 dakika santrifüj edildi ve süpernatan alındı. Bu işlemlerin hepsi peptidazları inhibe etmek için buz kalıbı üzerinde gerçekleştirildi. PVAD’dan elde edilen bu numunelerdeki iris düzeyleri tayini ticari kitin yönergeleri doğrultusunda gerçekleştirildi.

5.9. Histopatolojik incelemeler için kesit alımı ve takip süreci

Kalp ve torasik aort dokusu %10'luk formalin ile fikse edildi ve rutin parafine gömme protokolü sonrası alınan kesitlerde kalp ve aort dokuları hematoxilen ve eosin (H ve E) ile boyanarak fotomikroskopta (Olympus BX51, Japonya) değerlendirildi. Aort dokularının kesitleri aynı zamanda immunohistokimyasal değerlendirme yapılmak üzere pozitif şarjlı lamlara alındı ve gerekli prosedürlere tabii tutuldu. Her deney grubunda 6-8 preparat ve her preparatta da rastgele seçilen 5 alan x40 büyütmede değerlendirildi.

5.9.1. İmmünohistokimya boyama yöntemi

Aort dokularında İrisin immünekspresyonunu değerlendirmek amacıyla peroksidaz (HRP) konjuge polimerik immünohistokimya boyama yöntemi kullanıldı. Bu yöntemde; formalin fikse parafin dokulardan, pozitif şarjlı lamlara 3 µm kalınlığında kesitler alınarak 37° C' lik etüvde 1 gece bekletildi. Ardından 5'er dakikalık sürelerle 3 ayrı ksilende kesitlerin deparafinizasyonu tamamlandı. Lamlar 10'ar dakika iki ayrı %96 etanolde bekletilerek hidrate edildi. Metanolde hazırlanmış %3 hidrojen peroksit çözeltisi ile 20 dakika süreyle dokulardaki endojen peroksidaz aktivitesi baskılandı. Bir sonraki aşamada, antijen geri kazanım işlemi için, kesitlere 200 W güçte mikrodalga fırında sitrat tampon çözeltisi (pH 6.0) ile 20 dakika ön işlem uygulandı. Lamlar oda ısısında 20 dakika soğutularak iki ayrı fosfat tampon çözeltisinde (pH 7,4 PBS) 5'er dakika yıkandı. Spesifik olamayan boyanmayı önlemek için dokulara 10 dakikalık protein blokaj (EXPOSE Rabbit spesifik HRP/DAB detection IHC kit, Abcam, Cambridge, UK) işlemi yapıldı. Blokaj

  zeltisi uzaklaştırılarak kesitlere 1:300 dilüsyon oranında tavşan anti-İrisin (H-067-17, Phoenix Pharmaceuticals, Inc., CA, USA) primer antikoru damlatıldı ve 4  C'de 1 gece inkübe edildi. İki ayrı PBS ile 5'er dakika yıkanan kesitlere HRP-Polimer (EXPOSE Rabbit spesifik HRP/DAB detection IHC kit, Abcam, Cambridge, UK) uygulandı ve 15 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında iki ayrı PBS ile tekrar 5'er dakika yıkanan kesitler 3,3'-diaminobenzidin (DAB) kromojeninde 5 dakika bekletildi. Mayer Hematoksilen ile 1 dakikalık nükleer zıt boyama yapıldı ve lamalar %96 'lık etanol ile dehidrate edildi. Kapama maddesi ile kapatılan lamalar ışık mikroskopunda değerlendirmeye alındı. Spesifik boyanmayı tespit edebilmek için aort dokuları ile eş zamanlı olarak deri dokusu pozitif ve negatif kontrol olarak kullanıldı. Pozitif kontrol dokusuna ait kesite tüm yöntem aşamaları uygulanırken, negatif kontrol dokusunda primer antikor aşaması atlandı. Aort dokusunda irisin immünekspresyonu pozitif ve negatif kontrol dokularındaki boyanma esas alınarak ışık mikroskopunda (Olympus CX41) 20x objektif ile iki araştırmacı tarafından k r şekilde semikantitatif olarak değerlendirildi ve Kameram Dijital Görüntüleme Sistemi kullanılarak 10x büyütmede fotoğraf görüntüsü alındı. Semikantitatif değerlendirmede skorum, irisin immünekspresyonu pozitif olan hücrelerdeki boyanma şiddeti ve boyanan alan yaygınlığına göre yapıldı. Bu değerlendirmede; hücrelerdeki sitoplazmik boyanma şiddeti; 0: boyanma yok; 0,5: Çok zayıf boyanma; 1: zayıf boyanma; 2: orta şiddette boyanma; 3: kuvvetli boyanma olarak skorlandı. Boyanma yaygınlığı, toplam alan ile boyanan alan oranlanarak; irisin negatif dokular için 0; boyanan alan %25 olan dokular için 0,1; boyanan alan %26-50 olan dokular için 0,4; boyanan alan %51-75 olan dokular için 0,6 ve %76-100 oranında homojen boyanma gösteren alanlar için 0,9 değerleri verilerek skorlandı. Toplam skor,

boyanma şiddeti ve boyanan alan yaygınlığının çarpımı ile elde edildi. İrisin immünekspresyonu aynı zamanda İmage J ticari programı (Horai ve ark., 2017) kullanılarak sitoplazmik boyanmanın hücrelerde oluşturduğu renge göre kontrast ayarlamaları yapılarak seçilen alan içerisindeki boyanma miktarı olarak da hesaplandı.

5.10. İstatistiksel Yöntemler

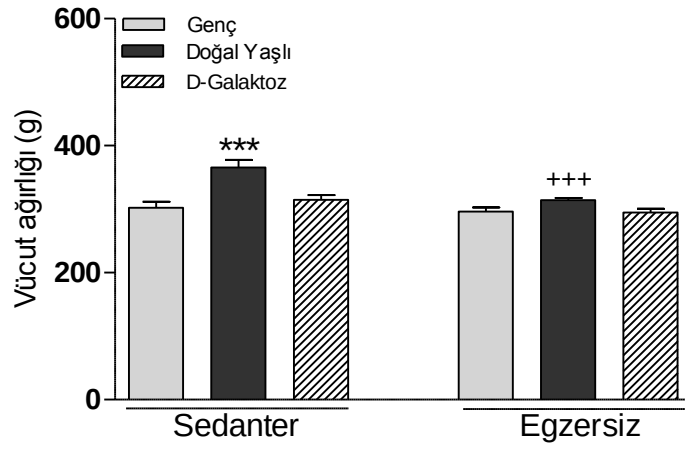
Deney sonucunda elde edilen bütün verilerin istatistiksel değerlendirmeleri Graph-Pad Prism 5.0 (GraphPad Software, San Diego; CA; USA) ticari istatistik programı kullanılarak yapıldı. Çalışmanın biyokimyasal ve damar yanıtları verilerinin değerlendirmeleri ortalama $\pm$ standart hata şeklinde sunuldu. Damar yanıtlarının değerlendirilmesinde gruplar arasındaki farkı ortaya koymak için iki yönlü varyans analizi (ANOVA) yöntemi kullanıldı. Maksimum etkinin %50'sini oluşturan konsantrasyon (EC50) değerleri istatistiksel analizlerinde fenilefrinin pD2 değerleri ve karbakol, irisin ve sodyum nitroprussidin gruplar arasındaki pD2 değerleri farkı 'student's *t*' testi kullanılarak değerlendirildi. Biyokimyasal verilerin analizlerinde tek yönlü ANOVA sonrası ileri analiz olarak Tukey-Kramer çoklu testi kullanıldı ve tüm testlerde $p < 0,05$ anlamlı kabul edildi.

6. BULGULAR

Çalışmamızda doğal olarak yaşlanmış (18 aylık) ve D-Galaktoz uygulaması ile oluşturulan yaşlanma modelinde egzersizin vücut ağırlığına, kan glikoz, serum kolesterol ve trigliserit, plazma irisin düzeylerine, yaşlanma belirteçlerine, serum TNF- α düzeylerine, oksidatif stres parametreleri ve antioksidan belirteçlere olan etkilerinin yanı sıra, yaşlanma sürecinde kardiyovasküler sistemde meydana gelen değişiklikler ve vasküler yanıtta irisin cevabı araştırılmış olup elde edilen bulgular aşağıda verilmiştir.

6.1. Deney Süresince Vücut Ağırlığı Değişimi

Deney başlangıcında hayvanlar 3 aylık olarak temin edildi ve takip eden 15 aylık süre içerisinde aylık olarak ağırlık takipleri yapıldı. Yaş ile birlikte beklendiği üzere genç gruba göre artış gösteren vücut ağırlıkları egzersiz yapmış doğal yaşlı grubunda anlamlı olarak azalma kaydetmiştir ($p<0,001$). D-Galaktoz alan yaşlandırılmış gruplarda ise sedanter ve egzersizli gruplar arasında farklılık bulunmamıştır (Şekil 1).



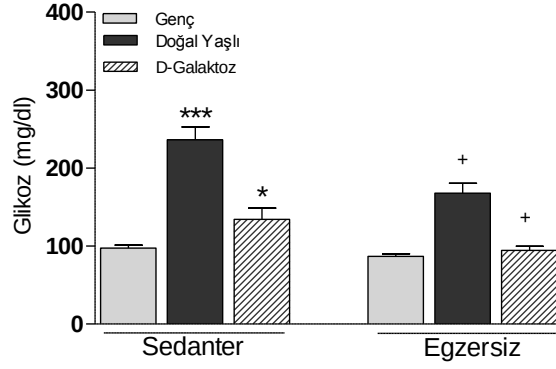
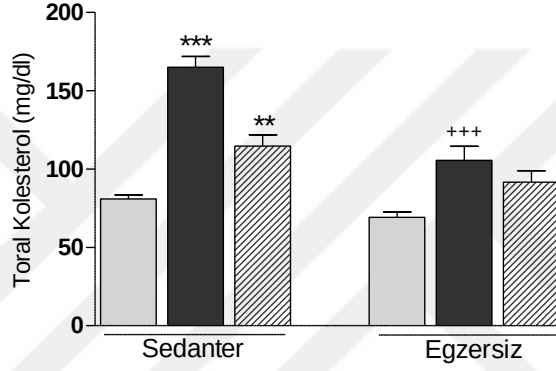
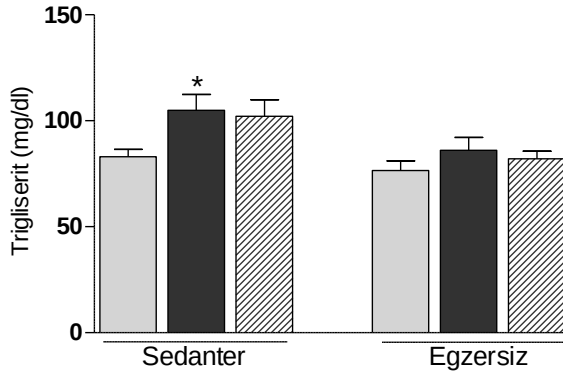
Şekil 1. Yaşlanma ve egzersizin vücut ağırlığı üzerine etkisi. *** $p < 0,001$ sedanter genç gruba göre, +++ $p < 0,001$ kendi sedanter grubuna göre anlamlılık değeridir.

6.2. Açlık kan şekeri, trigliserit ve kolesterol düzeyleri

Deney sonunda yapılan ölçümlerde; kan glukoz değerleri sedanter genç gruba kıyasla hem DY ($p<0,001$) hem de D-Gal ($p<0,05$) grubunda anlamlı şekilde artmıştır. Egzersiz ile birlikte DY ve D-Gal gruplarında bu değerlerin sedanter gruplarında kaydedilen yüksek değerlere kıyasla anlamlı ($p<0,05$) şekilde düştüğü tespit edilmiştir (Şekil 2, A).

Serum total kolesterol değerlerinin DY ve D-Gal sedanter gruplarda genç gruba kıyasla yükseldiği (sırasıyla; $p<0,001$, $p<0,01$) ve egzersiz ile birlikte DY grubunda bu artışın önlendiği gösterilmiştir ($p<0,001$). D-Gal+E grubunda kolesterol seviyelerinde bir düşüş kaydedilse de istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Şekil 2, B).

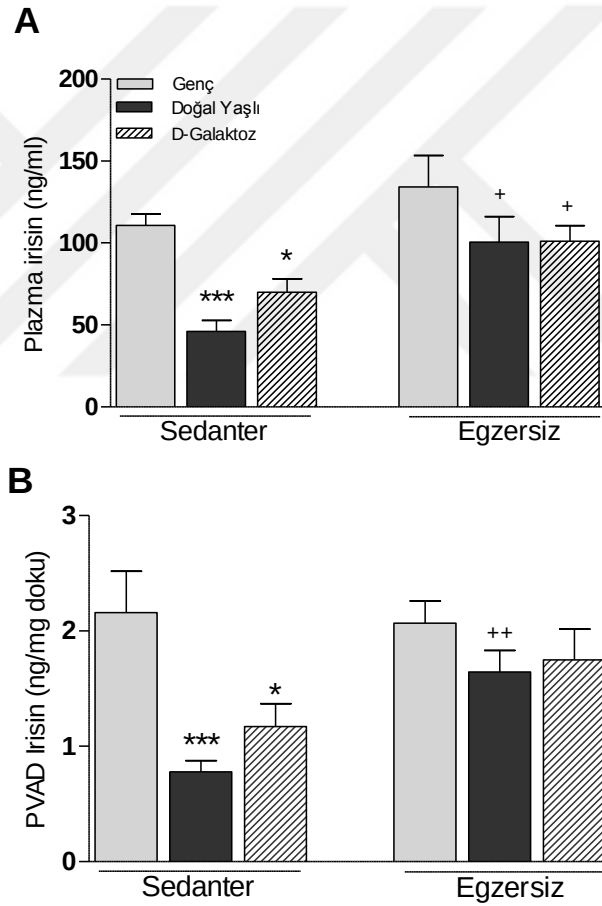
Deney sonunda sedanter DY grubunda genç gruba kıyasla anlamlı olarak artmış bulunan serum trigliserit düzeylerinin D-Gal grubunda anlamlı bulunmadığı ve egzersiz ile birlikte bu artışın kısmen ölenerek genç sedanter düzeylerinden farklı bulunmadığı tespit edilmiştir.

A**B****C**

Şekil 2. Yaşlanma ve egzersiz ile birlikte sıçanlarda ölçülen metabolik parametrelerin karşılaştırılması A) Glikoz, B) Total kolesterol, C) Trigliserit ***p<0,001, **p<0,01, *p<0,05 sedanter genç gruba göre, + p<0,05, +++ p<0,001 kendi sedanter grubuna göre anlamlılık değerleridir.

6.3. Plazma ve perivasküler adipöz doku irisin düzeyi tayini

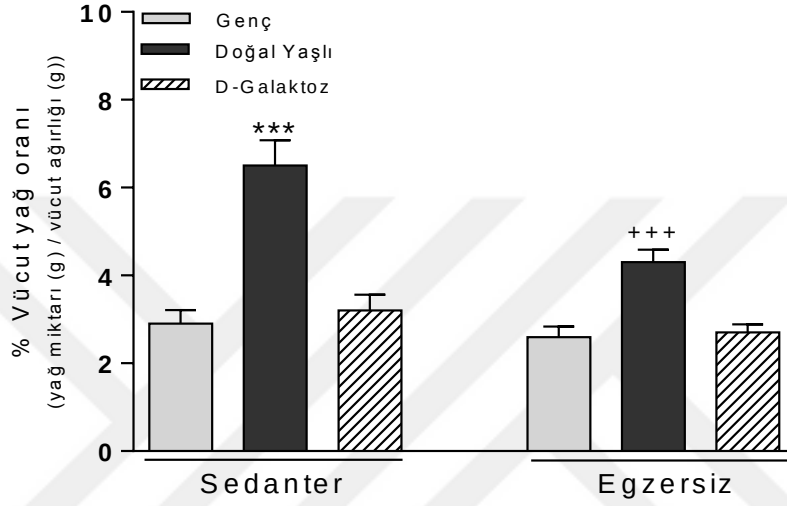
Sedanter genç grubuna kıyasla sedanter DY ve D-Gal gruplarında plazmada gösterilen azalmış irisin düzeyleri aynı şekilde PVAD'da da tespit edilmiştir (sırasıyla; $p<0,001$, $p<0,05$). Plazma irisin düzeylerinde gözlenen azalma yaşlı gruplarında egzersiz ile anlamlı şekilde ($p<0,05$) artmıştır (Şekil 3, A). PVAD'da ise egzersiz yalnızca DY grubunda irisin düzeyini anlamlı ($p<0,01$) şekilde arttırmıştır (Şekil 3, B).



Şekil 3. Yaşlanma ile birlikte plazma ve PVAD'da azalan irisin düzeylerinin egzersiz ile iyileştirilmesi. A) Plazma, B) PVAD irisin düzeyleri. *** $p<0,001$, * $p<0,05$ sedanter genç gruba göre, + $p<0,05$, ++ $p<0,01$ kendi sedanter grubuna göre anlamlılık değerleridir.

6.4. Vücut yağ oranları

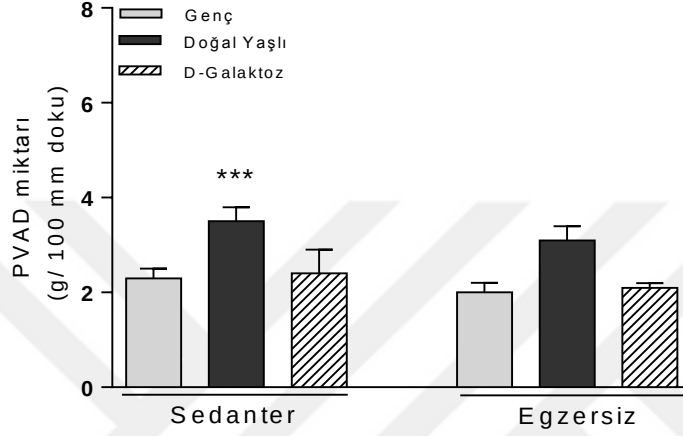
Sedanter genç grup ile karşılaştırıldığında sedanter DY grubunda vücut yağ oranı miktarı anlamlı şekilde ($p<0,001$) yüksek bulunmuş ve egzersiz ile birlikte bu artış anlamlı şekilde ($p<0,001$) düşmüştür (Şekil 4).



Şekil 4. Yaşlanma ve egzersizin vücut yağ oranı üzerine etkisi. *** $p<0,001$ sedanter genç gruba göre, +++ $p<0,001$ kendi sedanter grubuna göre anlamlılık değerleridir.

6.5. Perivasküler Adipoz Doku miktarları

Sedanter gruplarda PVAD miktarları karşılaştırıldığında genç gruba kıyasla DY grubunda anlamlı şekilde ($p<0,001$) artış olduğu tespit edilmiştir (Şekil 5) ve bu artış egzersiz ile değişmemiştir.

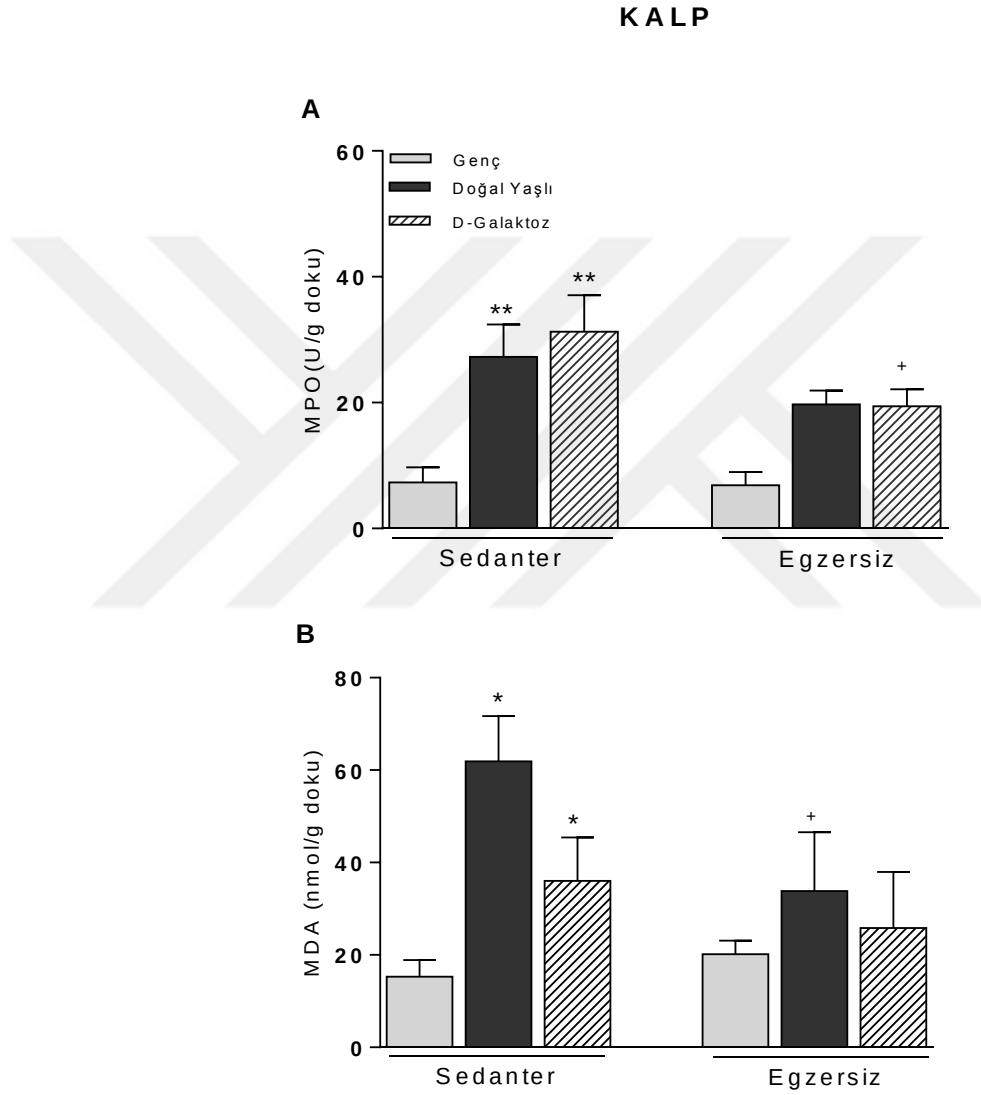


Şekil 5. Yaşlanma ve egzersizin PVAD miktarı üzerine etkisi. *** $p<0,001$ sedanter kontrol grubuna göre anlamlılık değeridir.

6.6. Kalp dokusunda myeloperoksidaz (MPO) aktivitesi ve malondialdehit (MDA) düzeyleri

Dokuya nötrofil göçünün bir belirteci olan MPO aktivitesinin kalp dokusundaki değerlendirmesinde; sedanter genç gruba kıyasla sedanter yaşlı gruplarında anlamlı şekilde artış ($p<0,01$) olduğu tespit edilmiştir. Egzersiz ile birlikte gerek DY ve D-Gal gruplarında düşüş kaydedilse de anlamlılık sadece D-Gal+E grubunda ($p<0,05$) kaydedilmiştir (Şekil 6, A).

Kalp dokusunda tayini yapılan lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA düzeylerinin sedanter genç gruba göre her iki sedanter yaşlı grupta anlamlı olarak arttığı ($p<0,05$) ve bu artışın egzersiz ile birlikte sadece DY+E grubunda anlamlı olarak ($p<0,05$) düşürüldüğü tespit edilmiştir (Şekil 6, B).



Şekil 6. Yaşlanma ve egzersizin kardiyak oksidan hasar ve inflamasyon üzerine etkisi. A) Myeloperoksidaz (MPO) aktivitesi B) Malondialdehit (MDA) düzeyi. * $p<0,05$, ** $p<0,01$ sedanter genç gruba göre, + $p<0,05$ kendi sedanter grubuna göre anlamlılık değerleridir.

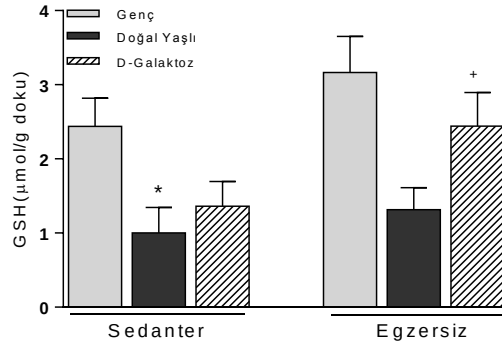
6.7. Kalp dokusunda glutatyon (GSH), süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (KAT) düzeyleri

Kalp dokusunda ölçümleri yapılan antioksidan parametrelerden GSH düzeylerinin sedanter genç gruba göre her iki yaşlı grubunda da tükendiği fakat DY grubunda anlamlılık düzeyine ulaştığı tespit edilmiştir ($p<0,05$). Egzersiz ile birlikte bu tükenmenin D-Gal+E grubunda anlamlı olarak engellenebildiği gösterilmiştir ($p<0,05$, Şekil 7, A).

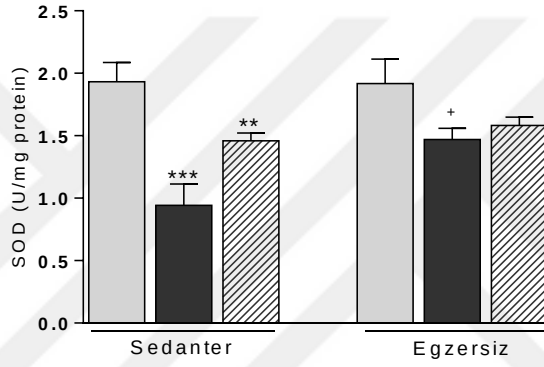
Diğer parametreler olan SOD ve KAT düzeylerinin ise sedanter DY ve D-Gal gruplarında anlamlı olarak düştüğü ($p<0,01-0,001$) fakat sadece DY+E grubunda anlamlı şekilde ($p<0,01$) arttığı gösterilmiştir (Şekil 7, B-C).

KALP

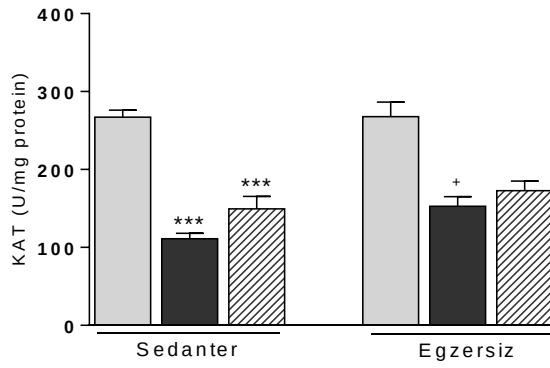
A



B



C



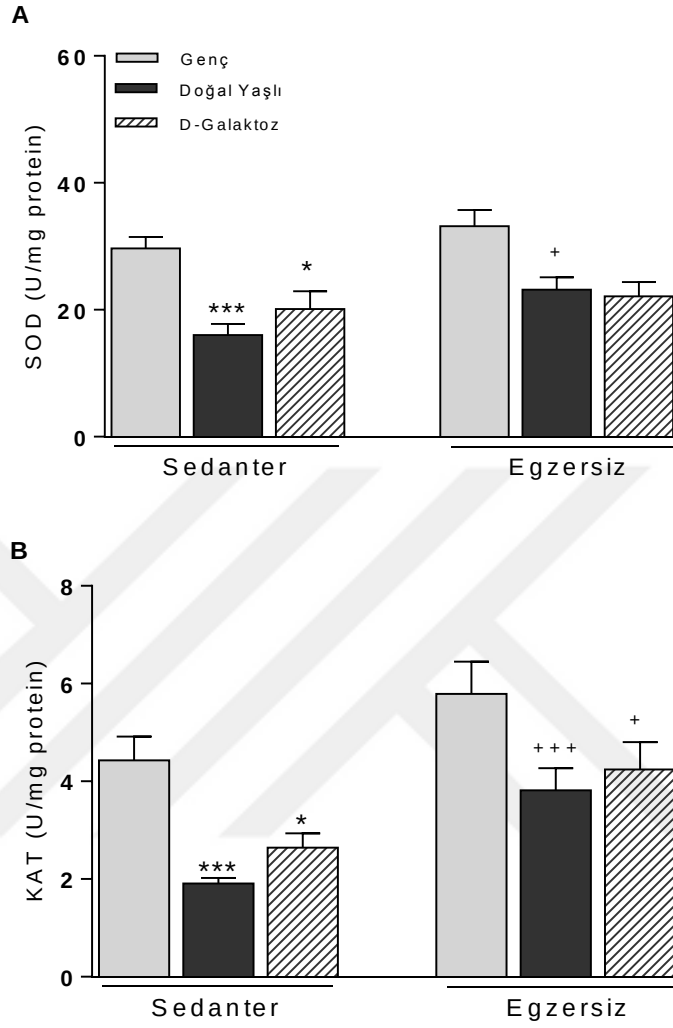
Şekil 7. Yaşlanma ve egzersizin kardiyak antioksidan parametreler üzerine etkisi. A) Glutatyon (GSH), B) Süperoksit dismutaz (SOD) C) Katalaz (KAT) düzeyleri. *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001 sedanter genç gruba göre, + p<0,05 kendi sedanter grubuna göre anlamlılık değeridir.

6.8. Aort dokusunda süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (KAT) düzeyleri

Aort dokusunda ölçümleri yapılan antioksidan parametrelerden SOD ve KAT değerlerinin sedanter genç gruba kıyasla sedanter DY ($p<0,001$) ve D-Gal ($p<0,05$) gruplarında anlamlı şekilde tükenmiş olduğunu tespit ettik. Bu tükenme SOD parametresinde DY+E grubunda ($p<0,05$) anlamlı şekilde yükselirken KAT parametresinde her iki egzersiz grubunda da anlamlı şekilde ($p<0,05$, $p<0,001$) yüksek bulundu (Şekil 8).



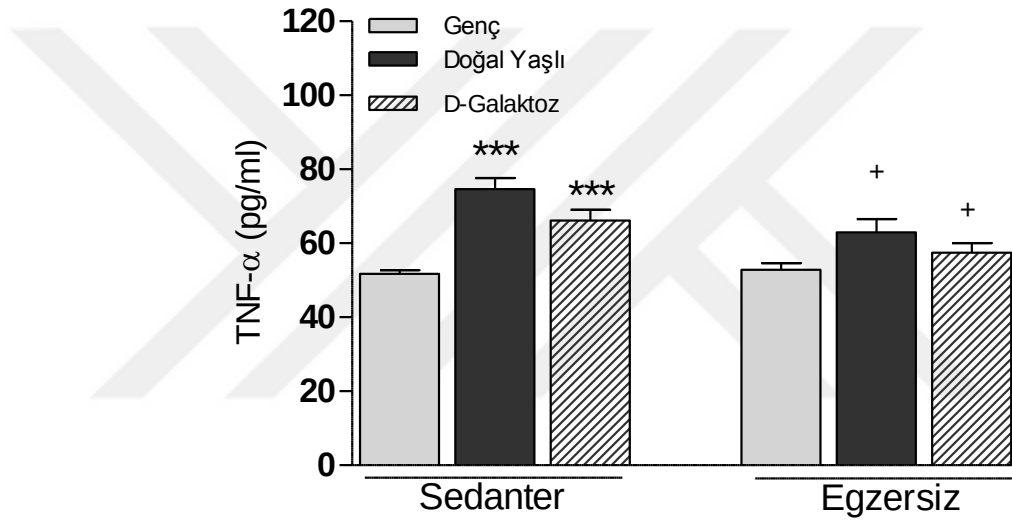
AORT



Şekil 8. Yaşlanma ve egzersizin aortik antioksidan parametreler üzerine etkisi. A) Süperoksit dismutaz (SOD), B) Katalaz (KAT) düzeyleri. * $p<0,05$, *** $p<0,001$ sedanter genç gruba göre, + $p<0,05$, +++ $p<0,001$ kendi sedanter grubuna göre anlamlılık değeridir.

6.9. Plazma Tumor Nekrozis Faktör - alfa (TNF- α) düzeyleri

Sedanter grupları kendi arasında karşılaştırdığımızda genç gruba göre DY ve D-Gal gruplarında TNF- α düzeylerinin anlamlı şekilde ($p<0,001$) arttığı tespit edilmiştir. Egzersiz ile birlikte artmış olan TNF- α düzeylerinin DY+E ve D-Gal+E gruplarında anlamlı şekilde ($p<0,05$) düştüğü gösterilmiştir (Şekil 9).



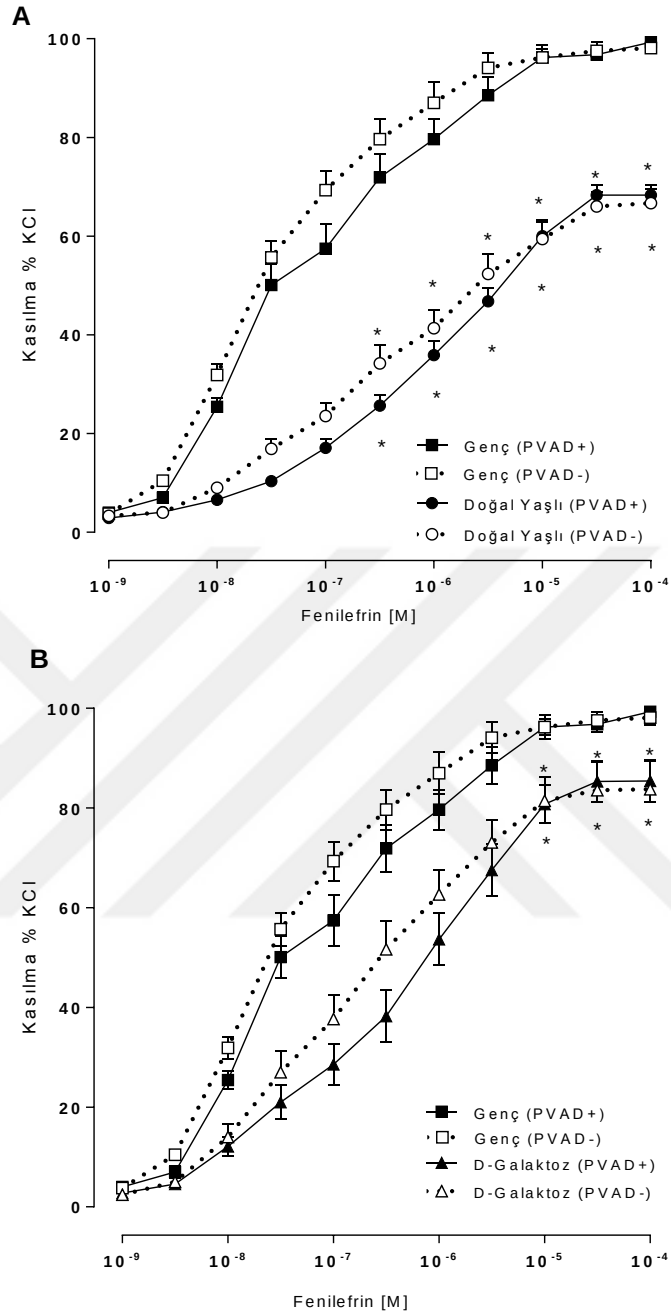
Şekil 9. Yaşlanma ve egzersizin proinflamatuvar sitokinlerden Tumor Nekrozis Faktör Alfa (TNF- α) üzerine etkisi. *** $p<0,001$ sedanter genç gruba göre, + $p<0,05$ kendi sedanter grubuna göre anlamlılık değeridir.

6.10. İzole doku (aort) banyosu damar aktivitesi çalışmaları

6.10.1. Fenilefrin'e verilen kasılma yanıtlarının değerlendirilmesi

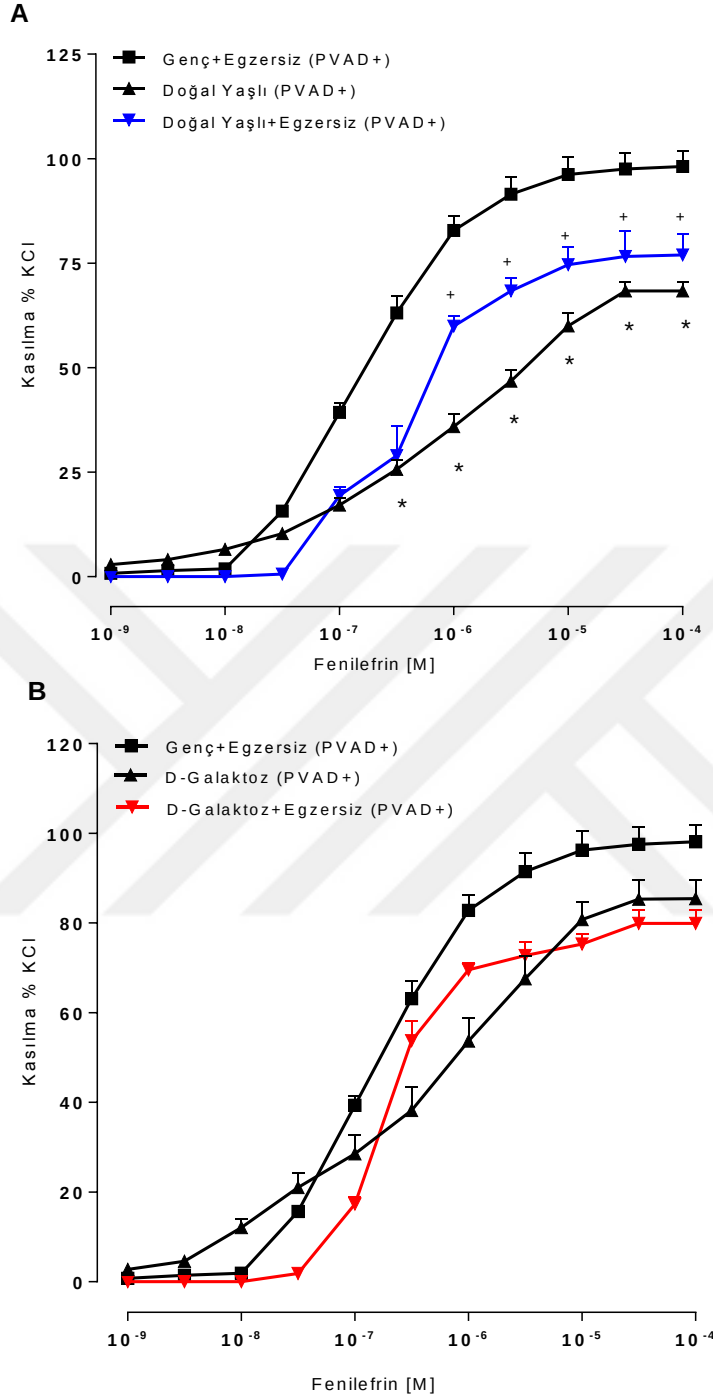
Dinlenme periyodu sonrasında 124 mM'lık KCl ile kasılan ve bu kasılma yanıtları %100 olarak kabul edilen damarlara kümülatif dozlarda fenilefrin (PE) uygulaması gerçekleştirildi. PVAD varlığı (+) ve yokluğunda (-) kasılma yanıtları alınan DY ve D-Gal gruplarının pD₂ değerleri karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunmadı. Sonrasında değerlendirmeler sedanter olan genç ve DY gruplarının PVAD ihtiva etmesine göre yapıldı. Aynı şekilde sedanter D-Gal grubunun da kıyaslaması gerçekleştirildi. Buna göre; PVAD (+)'lu deneklerin damarlarından elde edilen PE kasılma yanıtı pD₂ değerlerinin genç grubun yanıtları ile kıyaslandığında DY grubunda anlamlı olarak azaldığı gözlemlendi (p<0,001). Aynı şekilde PVAD (-)'lu deneklerde DY grubunda pD₂ değerlerinin anlamlı olarak azaldığı kaydedildi (p<0,001, Şekil 10, A). Sedanter DY grubu PE yanıtları PVAD ihtivasına göre kıyaslandığında anlamlı bir fark bulunmadı.

D-Galaktoz ile yaşlandırılmış gruplardaki PE kasılma yanıtları değerlendirildiğinde PVAD içeren (+) damarlardan elde edilen pD₂ değerlerinin genç grubuna kıyasla D-Gal grubunda anlamlı olarak azaldığı gözlemlenmiştir (p<0,05). Benzer şekilde PVAD içermeyen (-) deneklerde D-Gal grubunda pD₂ değerlerinin anlamlı olarak azaldığı kaydedildi (p<0,01, Şekil 10, B). Sedanter D-Gal grubu PE yanıtları PVAD ihtivasına göre kıyaslandığında gruplar arasında anlamlı bir fark tespit edilemedi.



Şekil 10. Doğal yaşlanmada torasik aorta kasılabilirliğinin PVAD'dan bağımsız olarak bozulduğunun gösterimi. Perivasküler adipoz doku (PVAD) varlığında (+) veya yokluğunda (-) A) Doğal yaşlı, B) D-Gal gruplarının genç PVAD (+) ve genç PVAD (-) gruplarına göre karşılaştırmaları. * $p < 0,05$ kendi genç grubuna göre.

Egzersiz yapan grupların karşılaştırılmasına bakıldığında; grup karşılaştırmaları PVAD içeren (+) sedanter ve egzersizli gruplar arasında yapılmıştır. Egzersizli genç gruptan alınan kasılma yanıtlarının DY grubunda anlamlı şekilde azaldığı ($p<0,05$) bununla birlikte DY+E grubunda DY grubuna kıyasla anlamlı arttığı bulundu ($p<0,05$). Ayrıca, pD2 değerlerinde de DY grubunda anlamlı düşüş olduğu ($p<0,05$) ve bu düşüşün egzersiz ile anlamlı şekilde iyileştirildiği gösterilmiştir ($p<0,05$, Şekil 11, A). D-Gal yaşlı gruplarında karşılaştırmalar yapıldığında fenilefrin cevaplarında gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmadı.



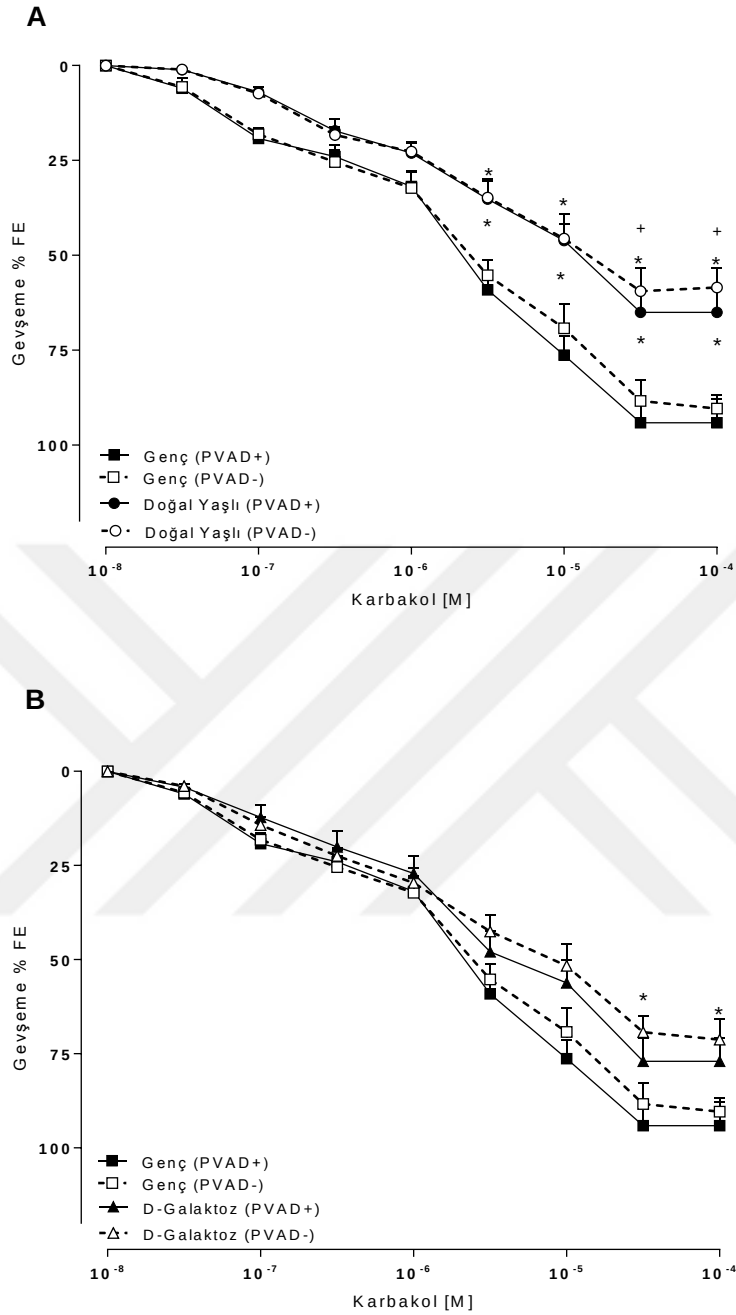
Şekil 11. Torasik aortlarda perivasküler adipöz doku (PVAD) varlığında (+) Doğal yaşlı ve D-Galaktoz (D-Gal) gruplarında egzersizin fenilefrin kasılma yanıtlarına etkisi. A) Doğal yaşlı, B) D-Gal grupları. * $p < 0,05$ Genç+Egzersiz grubuna göre, + $p < 0,05$ Doğal yaşlı grubuna göre.

6.10.2. Karbakole verilen gevşeme yanıtlarının değerlendirilmesi

Submaksimal PE uygulamasını takiben banyoya ilave edilen karbakole verilen doz yanıt eğrilerinden gevşeme yanıtları değerlendirildi (Şekil 12). Sedanter DY grubu PVAD ihtivasına göre genç grupla karşılaştırıldığında anlamlı farklılık bulunmadı.

Genç grup PVAD (+) damar yanıtları ile DY grubu karşılaştırıldığında DY grubunda daha yüksek karbakol konsantrasyonlarında endotel bağımlı gevşeme yanıtları elde edilirken gruplar arası fark anlamlı bulunmuştur (Şekil 12 A., $p<0,05$). Benzer şekilde PE ile önceden kasılmış PVAD (-) damarlarda da karbakole verilen bozulmuş gevşeme yanıtları kaydedildi ($p<0,05$). Yaşlı gruplar PVAD ihtivasına göre karşılaştırıldıklarında PVAD (+) damarlardan alınan yanıtların PVAD (-) damarlardan alınan yanıtlardan anlamlı şekilde daha iyi olduğu kaydedildi ($p<0,05$).

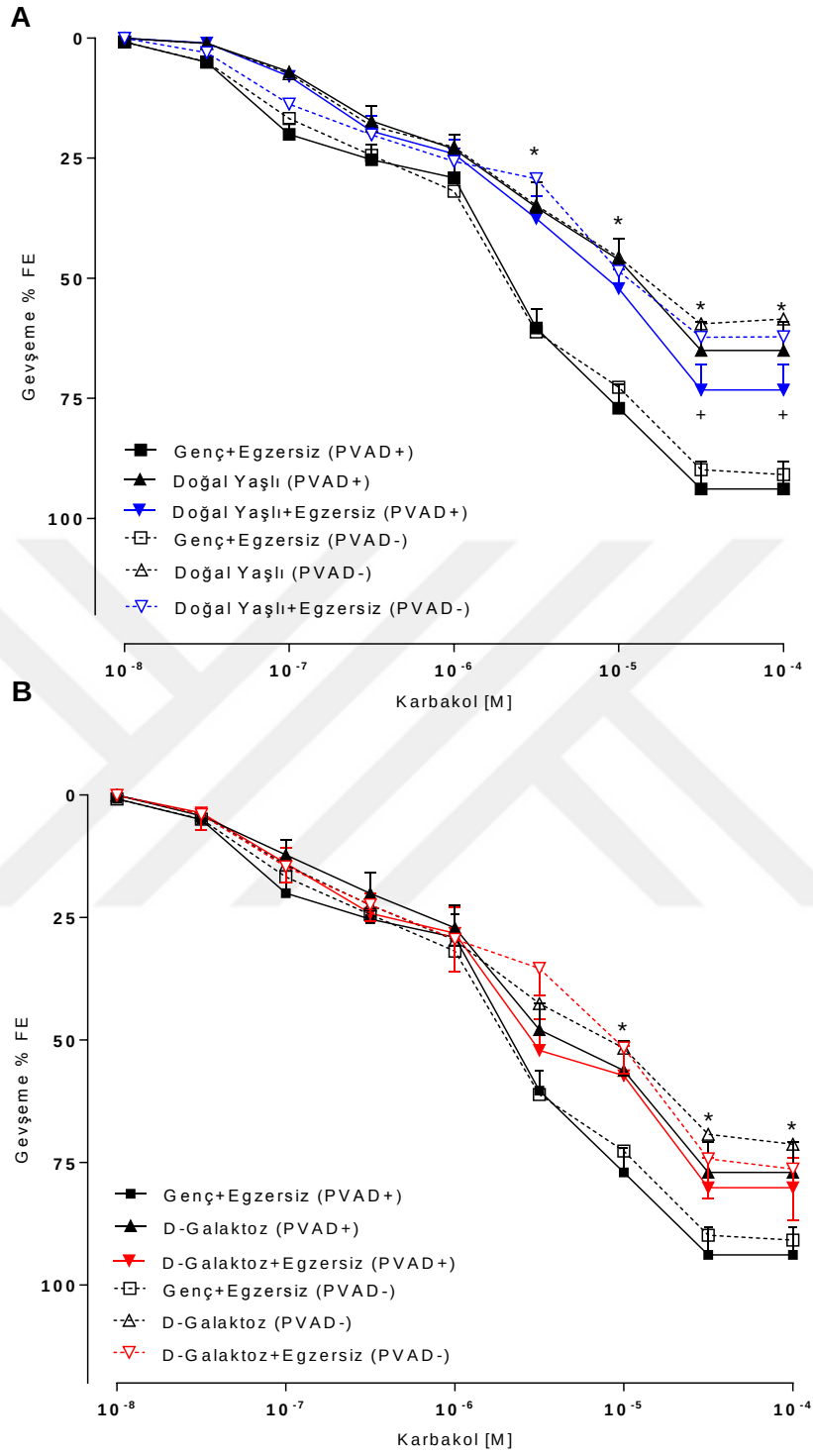
D-Galaktoz ile yaşlandırılmış gruplarda, PVAD ihtivasına göre gruplar arası farklılık değerlendirildiğinde gevşeme yanıtlarında azalma eğilimi olduğu kaydedildi fakat anlamlı bulunmadı. Yüksek dozlarda PVAD içermeyen (-) D-Gal grubu karbakol yanıtlarının genç PVAD (-) gruba göre anlamlı şekilde bozulduğu kaydedildi ($p<0,05$).



Şekil 12. Sedanter deneklerde endotel bağımlı gevşeme yanıtlarının PVAD varlığına göre farklılıklarının değerlendirilmesi. A) Doğal yaşı / Genç, B) D-Galaktoz / Genç grupları. * $p < 0,05$ kendi genç grubuna göre; + $p < 0,05$ kendi PVAD (+) grubuna göre anlamlılık değerleridir.

Egzersiz ile birlikte Doğal yaşı PVAD (+) grubunda elde edilen endotel bağımlı azalmış gevşeme yanıtının anlamlı şekilde iyileştiği gözlenirken ($p<0,05$), D-Galaktoz PVAD (+) grubunda elde edilen bozulmuş gevşeme yanıtları egzersiz uygulamasından anlamlı olarak etkilenmedi

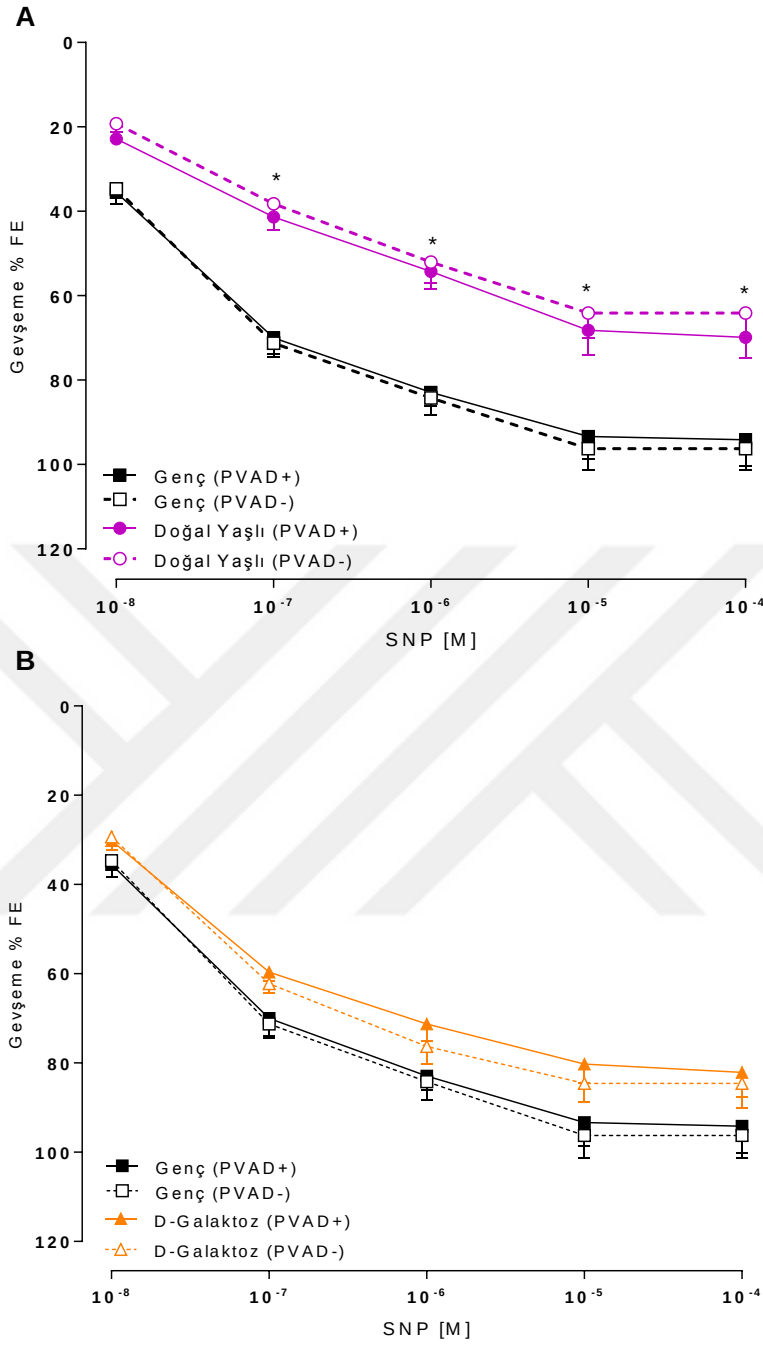




Şekil 13. PVAD (+) Doğal yaşlı ve D-Galaktoz (D-Gal) gruplarında egzersizin karbakol yanıtlarına etkisi. * $p < 0,05$ Genç egzersiz grubuna göre, + $p < 0,05$ kendi sedanter grubuna göre anlamlılık değerleridir.

6.10.3. Sodyum Nitroprussid (SNP) yanıtlarının değerdendirilmesi

Banyolara submaksimal fenilefrin dozlarının ilavesi sonrası kümülatif dozlarda bir NO donörü olan SNP uygulamasının damarlarda gevşeme cevabına neden olduğu gösterildi (Şekil 14.). Doğal yaşlanma grubunda PVAD (+) olan damarların Genç PVAD (+) damarlarından alınan yanıtlara göre anlamlı şekilde ($p<0,05$) azalmış cevap oluşturduğu gösterildi. Her iki yaşlanma modelinde de PVAD (-) gruplar ile PVAD (+) gruplar karşılaştırıldığında anlamlı bir fark gözlenmedi. D-Gal grubunda PVAD (+) damarlarının SNP yanıtlarında genç gruba kıyasla kısmi bir azalma olduğu gözlendi fakat kaydedilen bu azalma istatistiksel bir fark göstermedi.

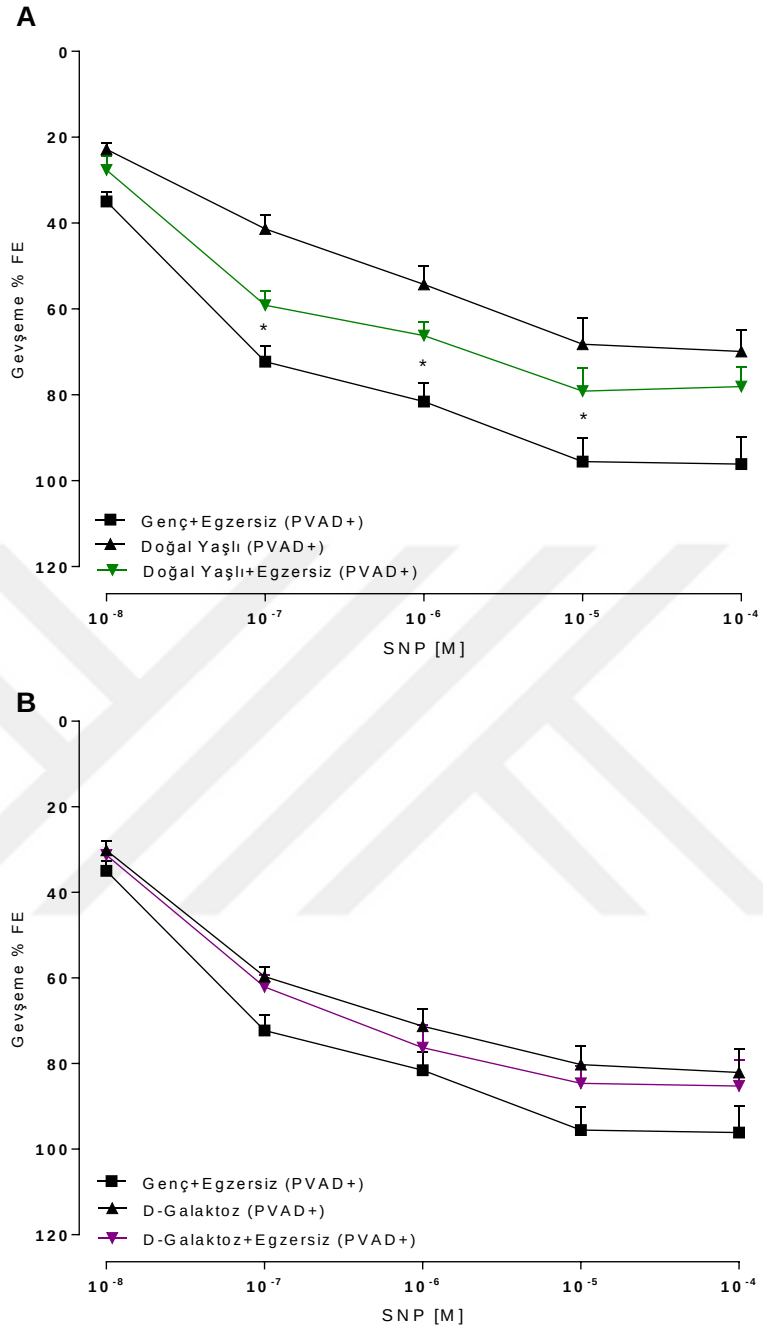


Şekil 14. Sedanter gruplar arasında kümülatif SNP uygulaması gevşeme yanıtlarının karşılaştırılması. **A)** Doğal yaşı, **B)** D-Gal grupları. * $p < 0,05$ Genç gruba göre anlamlılık değerleridir.

Egzersiz ile birlikte alınan SNP yanıtlarında bütün gruplarda bir artış eğilimi olmakla birlikte (Şekil 15.) bu artışlar gruplar arası karşılaştırmalar yapıldığında istatistiksel bir anlamlılığa kavuşmamıştır.

Bu bulgular sıçan aortalarında endotelden bağımsız gevşeme cevaplarının doğal yaşlanma grubunda daha belirgin olacak şekilde değiştiğini göstermekle birlikte egzersiz uygulaması belirgin bir etki oluşturmamıştır.

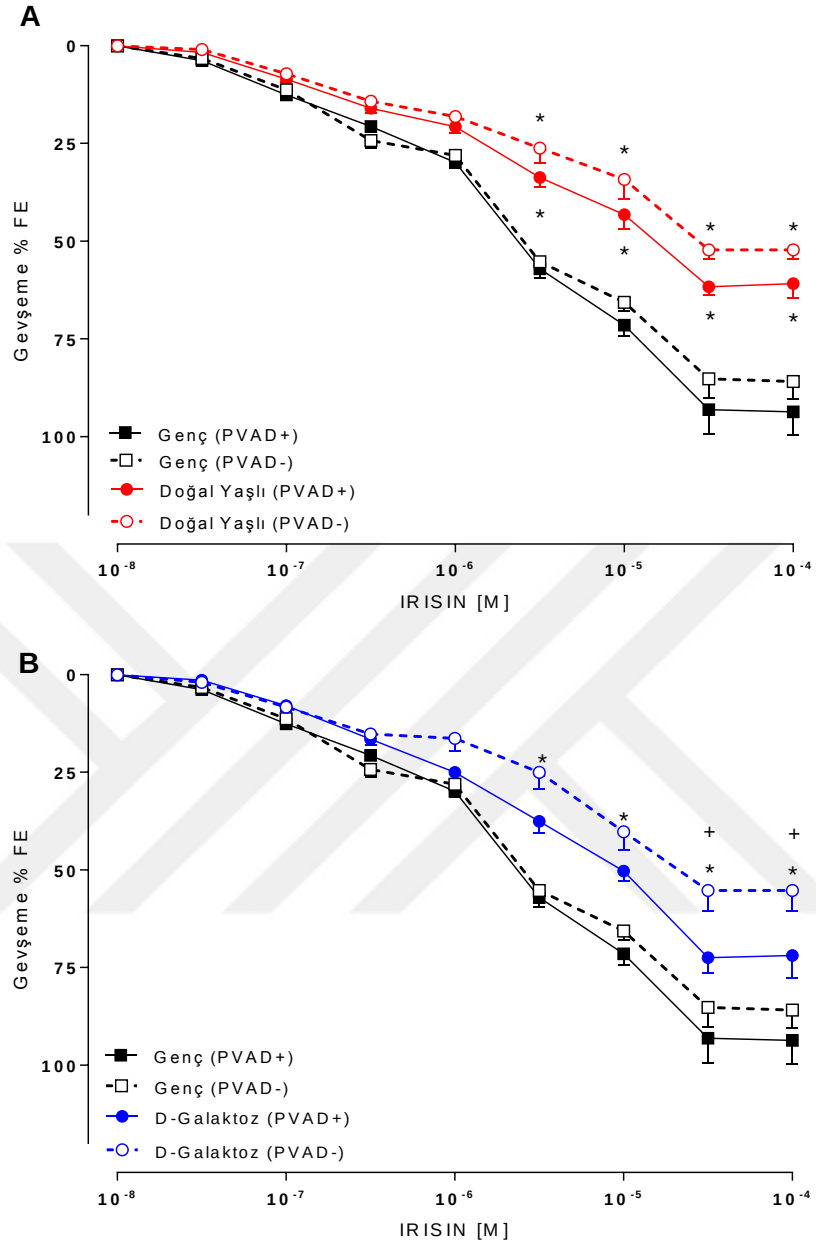




Şekil 15. Egzersizli Gruplar arasında kümülatif SNP uygulaması ile düz kas yanıtlarının karşılaştırılması. A) Doğal yaşı, B) D-Gal grupları. * $p<0,05$ Genç gruba göre anlamlılık değerleridir.

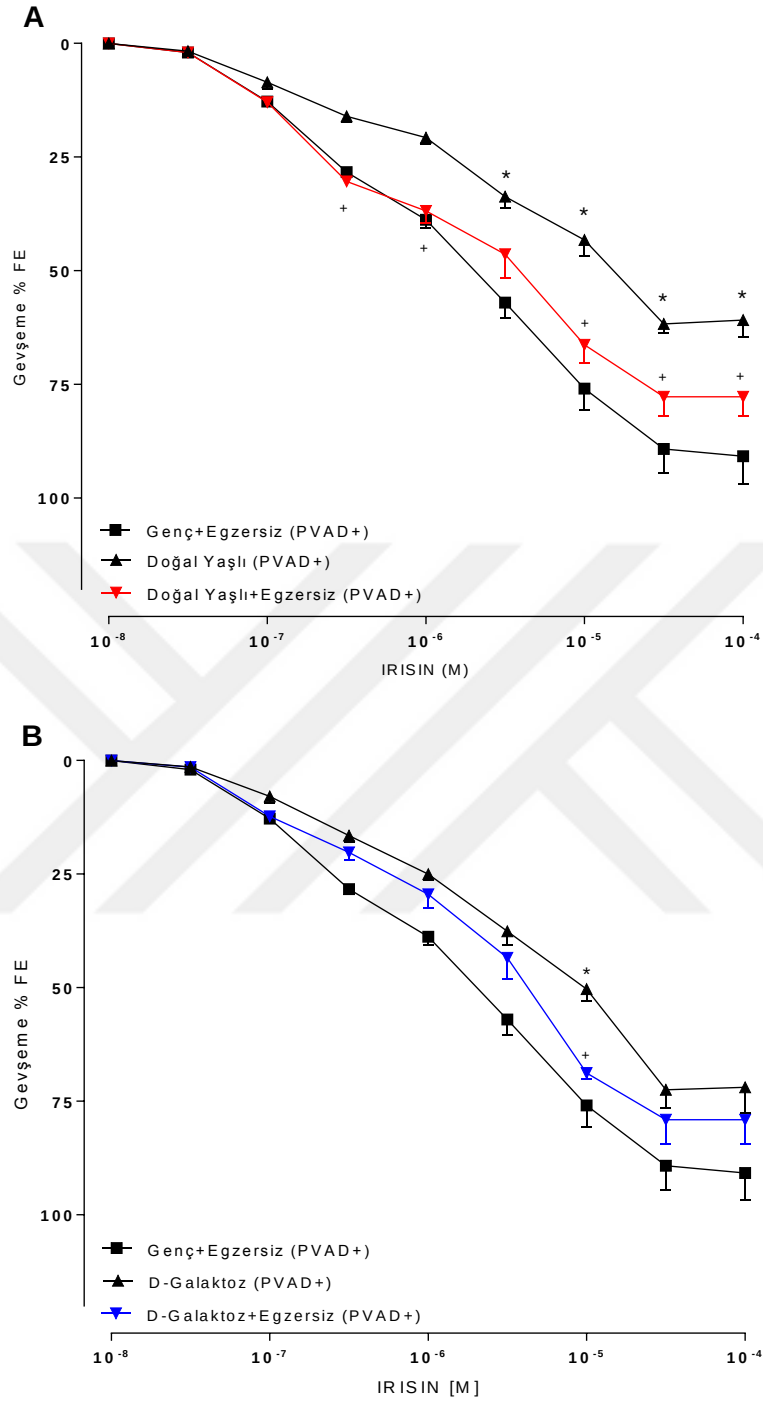
6.10.4. İrisin yanıtlarının değerlendirilmesi

Çalışmamızda sıçan torasik aorta preparatlarına submaksimal fenilefrin ilavesi sonrasında eklenen kümülatif dozlarda (10^{-8} - 10^{-4} M) irisin'in doza bağımlı bir gevşemeye neden olduğu gösterildi (Şekil 16.). Damar çevresinde PVAD varlığından bağımsız şekilde Genç gruba kıyasla alınan yanıtlar doğal yaşlı grubunda anlamlı şekilde azalmış ($p<0,05$) bulundu (Şekil 16, A). D-Galaktoz grubunda PVAD (+) olan damarlardan alınan yanıtlarda Genç gruba kıyasla istatistiksel bir fark tespit edilmezken PVAD (-) damarlardan alınan yanıtlarda Genç PVAD (-) grubuna kıyasla D-Galaktoz PVAD (-) grubunun irisine verdiği gevşeme cevabının anlamlı şekilde düştüğü ($p<0,05$) kaydedildi (Şekil 16, B). D-Gal grubunda PVAD (-) damarlardan alınan yanıtların PVAD (+) damarlardan alınan yanıtlardan anlamlı şekilde düşük olduğu da gösterilmiştir ($p<0,05$).

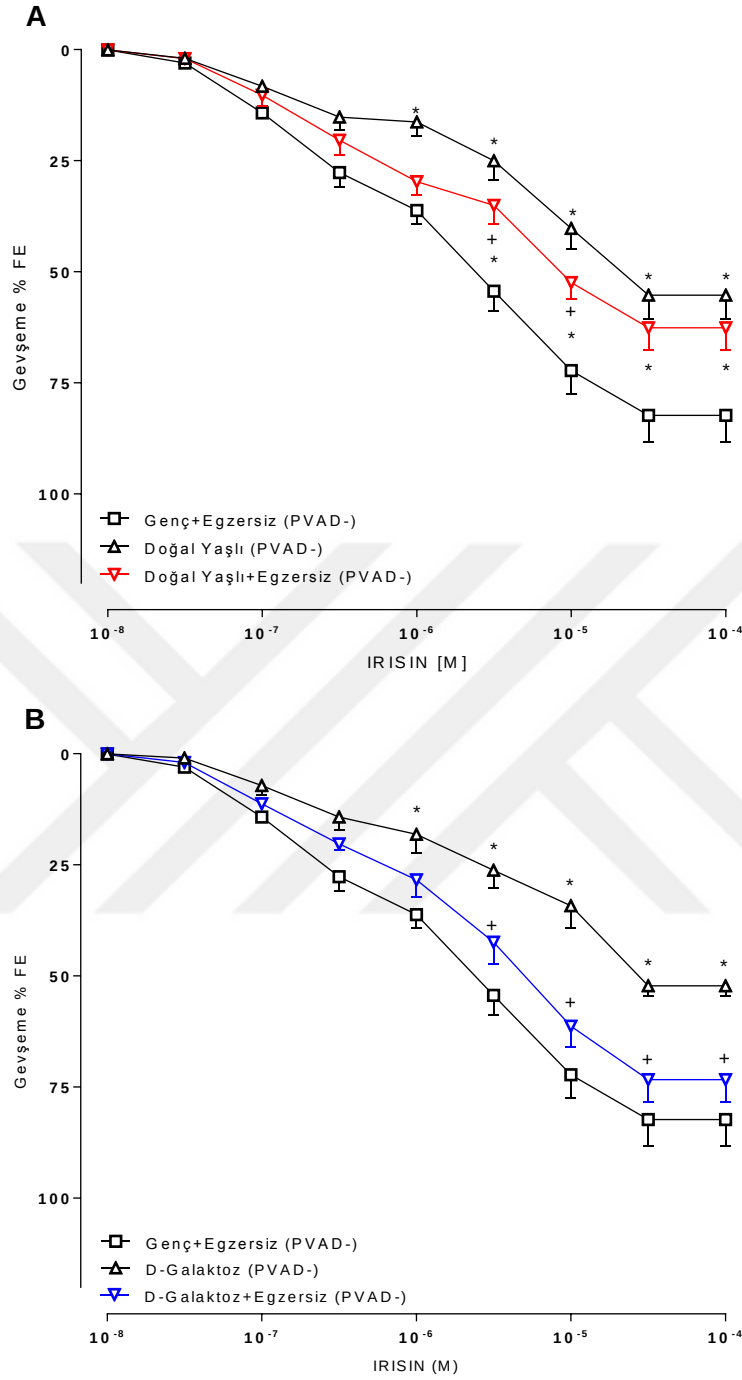


Şekil 16. Doğal yaşlı ve D-Gal gruplarında PVAD'nun İrisin'e verilen yanıtlar üzerine etkisi. * $p < 0,05$ sedanter genç gruba göre. + $p < 0,05$ kendi PVAD (+) grubuna göre anlamlılık değerleridir.

Yaşlanma ile birlikte irisin'e verilen bozulmuş gevşeme yanıtlarının egzersiz ile iyileştirildiği gösterildi (Şekil 17, A). Doğal Yaşlı PVAD (+) grubuna kıyasla Doğal Yaşlı+ Egzersiz PVAD (+) grubundan elde edilen yanıtların anlamlı şekilde arttığı gözlemlendi ($p<0,05$). Damarlardan PVAD (-) gruplarda kıyaslama yapıldığında böyle bir fark gözlemlenmedi. Egzersizli Genç PVAD (-) grubuna kıyasla egzersizli D-Galaktoz PVAD (-) grubu yanıtları kıyaslandığında anlamlı şekilde ($p<0,05$) düşük olduğu gözlemlendi (Şekil 17, B). Egzersiz yapan D-Gal gruplarının irisin'e verdikleri yanıtların sedanterlerin verdikleri yanıtlardan farklı olmadığı görüldü.



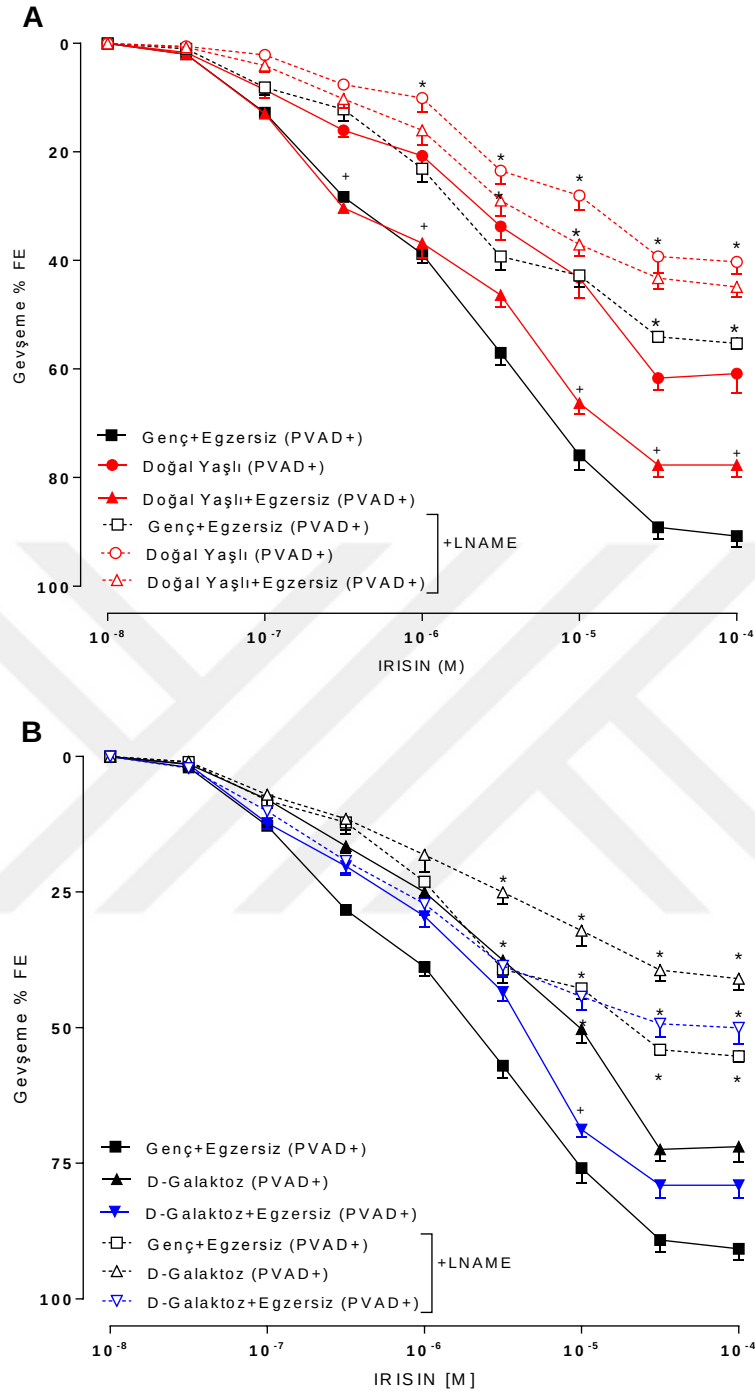
Şekil 17. Egzersiz ile birlikte Doğal yaşı ve D-Gal gruplarının İrisin'e verdiği yanıtların PVAD (+) damarlarda karşılaştırılması. * $p < 0,05$ Genç+Egzersiz grubuna göre. + $p < 0,05$ kendi sedanter grubuna göre anlamlılık değerleridir.



Şekil 18. Egzersiz ile birlikte Doğal yaşlı ve D-Gal gruplarının İrisin'e verdiği yanıtların PVAD (-) damarlarda karşılaştırılması. *p<0,05 Genç+Egzersiz grubuna göre. +p<0,05 kendi sedanter grubuna göre anlamlılık değerleridir.

6.10.5. L-NAME uygulaması ile İrisin yanıtlarının değerdendirilmesi

İrisin'e verilen gevşeme yanıtlarının NO bağımlı olup olmadığını değerdendirmek amacıyla doku banyolarına 10^{-5} M L-NAME uygulandı ve 20 dk boyunca dokuların inkübe olmaları beklendi. İnkübasyon süresi sonrası submaksimal fenilefrin ilavesini takiben kümülatif dozlarda İrisin uygulaması gerçekleştirildi L-NAME uygulaması ile alınan vazorelaksan yanıtlar PVAD varlığında değerdendirildi (Şekil 19. A ve B). Damarlara L-NAME uygulaması yapıldıktan sonra İrisin dozlarına alınan gevşeme yanıtlarının hem DY hem de D-Gal gruplarında anlamlı şekilde düştüğü kaydedildi ($p<0,05$). Doğal Yaşlı+Egzersiz grubunun İrisin'e verdiği iyileşmiş yanıtlar ortamdaki NO inhibe edildiğinde anlamlı şekilde azaldı ($p<0,05$) (Şekil 19. A).

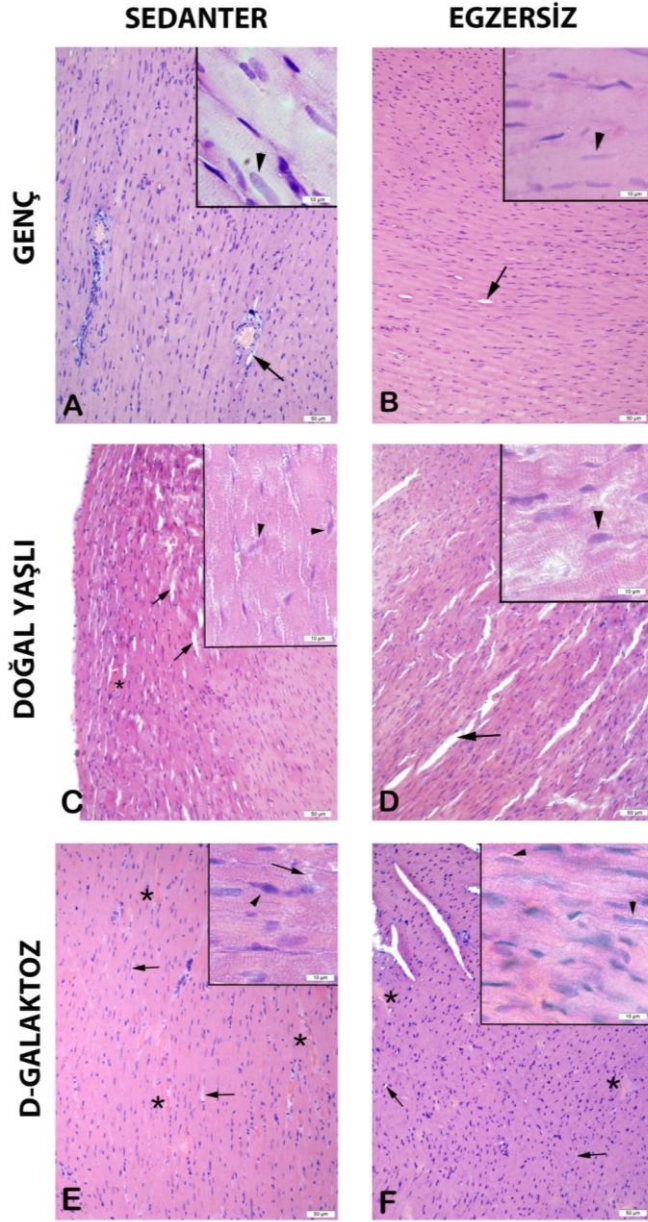


Şekil 19. LNAME uygulaması sonrası İrisin'e verilen yanıtların değerlendirilmesi. * $p < 0,05$ Genç+Egzersiz grubuna göre. + $p < 0,05$ kendi sedanter grubuna göre anlamlılık değerleridir.

D-Galaktoz gruplarının İrisin'e verdikleri cevaplar değerlendirildiğinde genç gruba kıyasla ortama LNAME ilavesi ile NO inhibisyonunun yapıldığı damarlarda gevşeme yanıtlarının anlamlı şekilde düştüğü kaydedildi ($p<0,05$). Egzersiz ile birlikte NO inhibisyonu yapılmadan D-Galaktoz uygulaması ile bozulmuş olan İrisin yanıtlarının iyileştirildiği gösterilmiştir (Şekil 19. B).

7.1. Kalp morfolojisinin Hematoksilen Eozin boyama prosedürü ile değerlendirilmesi

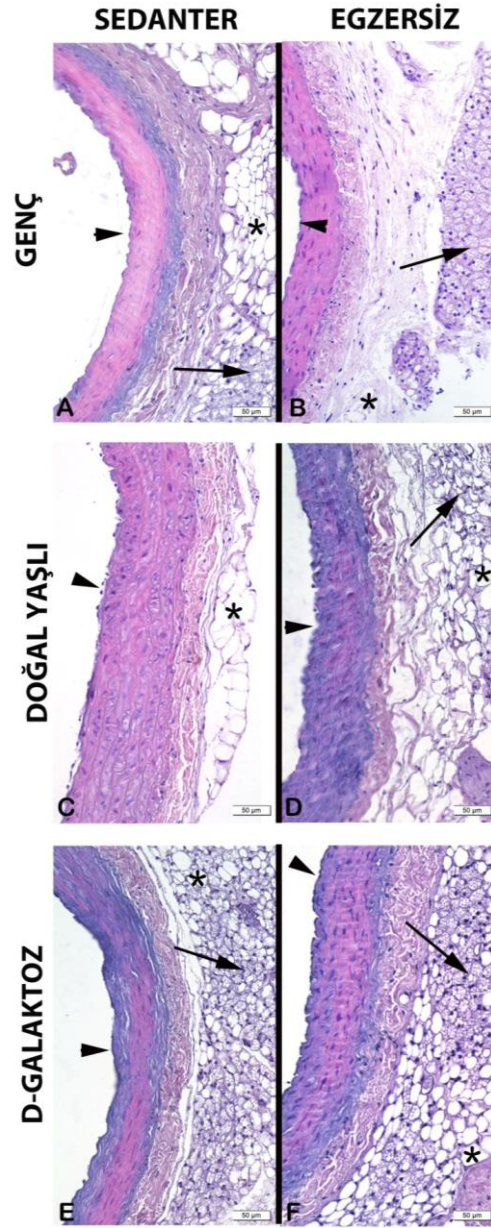
Genç-sedanter ve Genç+E gruplarının kalp preparatları arasında morfolojik bir fark gözlenmezken (Şekil 20. A ve B) DY gruplarının sedanter grubunda kalp kas demetleri arasındaki bağ doku genişlemesi fokal ve yaygın olarak gözlenmiştir. DY+E grubunda bu genişleme daha dağınık olarak izlendi (Şekil 20. C ve D). DY grubunda yer yer konjestif alanlar izlenirken DY+E grubunda bu yapı gözlenmedi. D-Gal grubunda minimal bağdoku genişlemeleri yanı sıra konjestif alanların DY grubuna kıyasla daha yaygın olduğu gözlemlendi (Şekil 20. E). D-Gal+E grubunda konjesyonun ve bağ doku genişlemelerinin D-Gal grubuna oranla azaldığı izlendi (Şekil 20. F).



Şekil 20. Kalp kası hematoksilin eozin boyamaları. A) Genç-sedanter; Düzgün morfolojiye sahip kalp kas demetleri, aradaki bağ dokusu (→) ve düzgün hücre nükleusu (►), B) Genç-egzersiz; Genç-sedanter grup ile benzer morfolojiye sahip kas demetleri ve bağ dokusu (→), düzgün hücre nükleusu (►), C) DY-sedanter; Belirli bölgelerde yoğunlaşmış bağ dokusu genişlemeleri (→), konjesyon (*) ve hücre nükleusları (►), D) DY-egzersiz; dağınık olarak gözlenen bağ dokusu genişlemeleri (→) ve hücre nükleusu (►), E) D-Gal sedanter; minimal düzeyde bağ dokusu açılması (→) yanı sıra orta düzeyde gözlenen konjestif alanlar (*), hücre nükleusu (►), F) D-Gal egzersiz; azalmış bağ dokusu açılması (→) ve minimal konjestif alanlar (*), hücre nükleusları (►)

7.2. Aort morfolojisinin Hematoksilen Eozin boyama prosedürü ile değerlendirilmesi

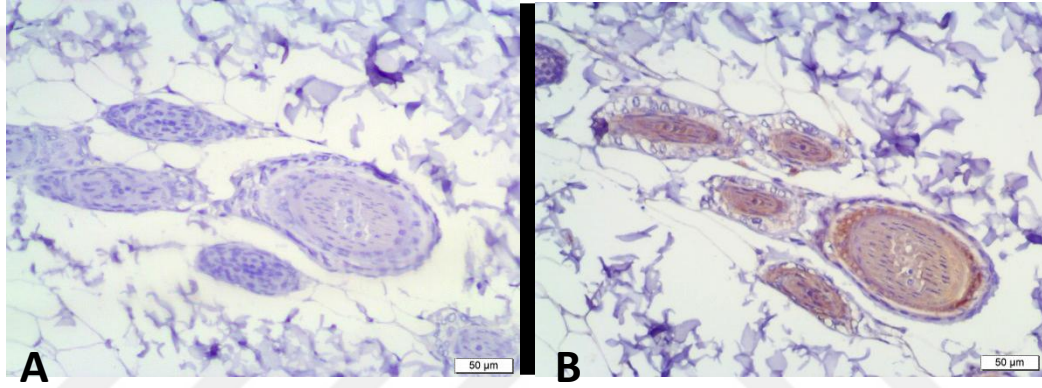
Genç gruplarda düzgün endotel yapısı izlenirken Genç+E grubunda sedanter grubuna oranla KYD’nda artış gözlemlendi (Şekil 21. A ve B). DY grupta endotelde yer yer minimal bozulmalar izlenirken DY+E grubunda bu bozulma gözlenmedi. Genç-sedanter gruba kıyasla DY grupta BYD hakim olarak gözlenirken DY+E grubunda KYD’nda artış gözlemlendi (Şekil 21. C ve D). D-Gal gruplarında düzgün morfolojide endotel yapıları gözlenirken KYD’larının genç gruplara benzer olduğu izlendi (Şekil 21. E ve F).



Şekil 21. Aorta hemotaksilen eosin boyamaları. A) Genç-sedanter; düzgün gözlenen endotel yapısı (►) yanı sıra BYD (*) ve KYD (→), B) Genç-egzersiz; düzgün endotel yapısı yanı sıra (►) artmış KYD (→) ve azalmış BYD (*), C) DY-sedanter; endotel morfolojisinde minimal bozulmalar (►) ve BYD hakimiyeti (*), D) DY-egzersiz; endotelde minimal bozulmaların gerilediği gözlenmekle birlikte (►) KYD da artış (→), BYD (*), E) D-Gal sedanter ve f: D-Gal egzersiz gruplarında düzgün morfolojide endotel yapıları (►) ve benzer KYD (→) ve BYD (*)

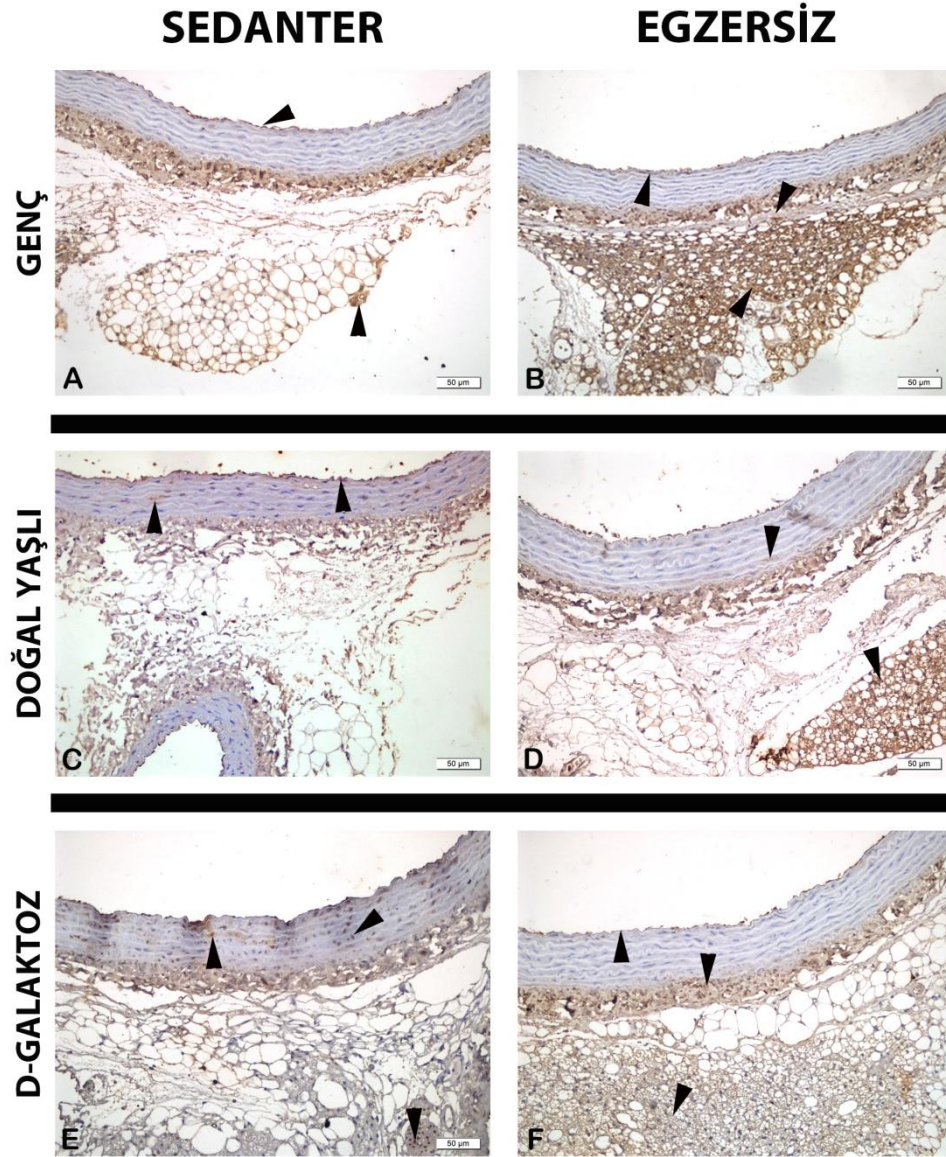
7.3. Aort dokusunda immünohistokimyasal yöntem ile İrisin ekspresyonunun değerlendirilmesi

İrisin immünohistokimya ekspresyonunun ışık mikroskobu değerlendirmesinde pozitif ve negatif kontrol dokularındaki boyanma referans alındı. Negatif kontrol olarak kullanılan deri dokusunda herhangi bir immünreaktivite izlenmezken (Şekil 22. A) pozitif kontrol olarak kullanılan deri dokusundaki kahverengi sitoplazmik boyanma spesifik olarak kabul edildi (Şekil 22. B).



Şekil 22. **İrisin kontrol immünohistokimya boyamaları.** **A)** Negatif kontrol dokusunda immün reaktivite izlenmemektedir. **B)** Pozitif kontrol dokusunda (deri) irisin immün ekspresyonu (*).

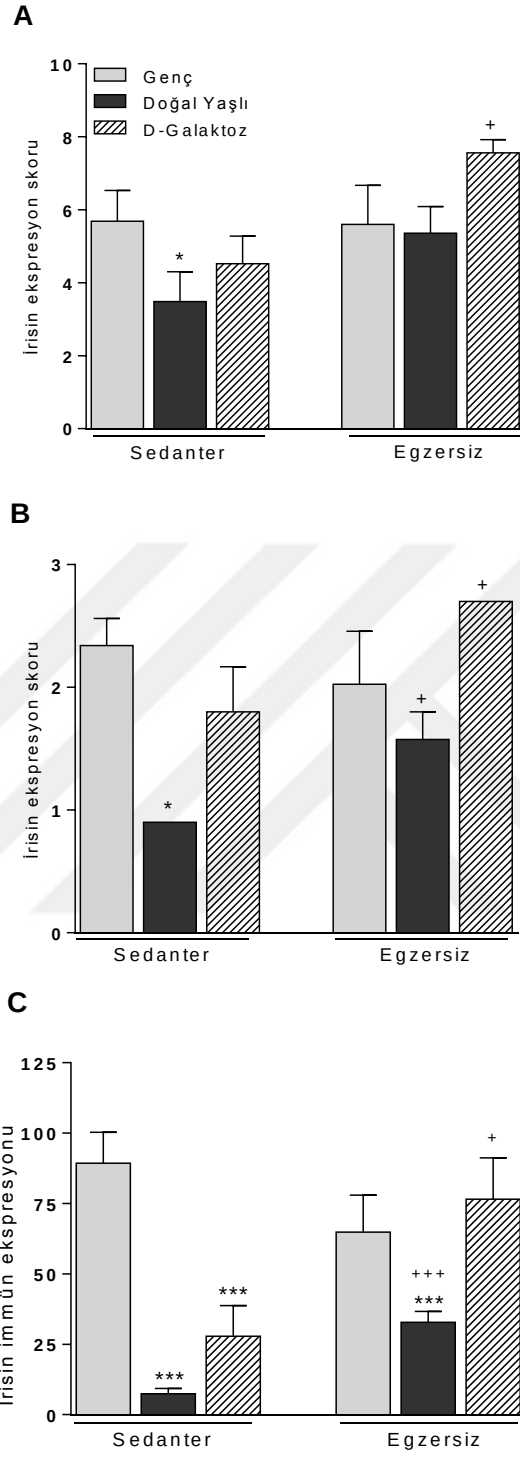
Genç sedanter grupta endotel ve gözlenen minimal KYD’nda tespit edilen irisin immün ekspresyonun (Şekil 23. A) Genç+E grubunda tunika mediyada düz kas hücrelerinde, KYD’nda ve endotelde de yaygın olduğu (Şekil 23. B) tespit edildi. DY grubunda endotel hücrelerinde immün boyanma gözlenirken (Şekil 23. C) DY+E grubunda artan KYD ile birlikte bu dokuda da immün ekspresyon (Şekil 23. D) tespit edildi. D-Gal grubuna ait dokuların endotelinde yoğun immün ekspresyonu görülürken (Şekil 23. E) D-Gal+E grubunda endotelin yanı sıra düz kas hücrelerinde de immün ekspresyon (Şekil 23. F) tespit edildi.



Şekil 23. Aort dokusunda irisin immunekspresyonu gösterimi A) Genç-sedanter; endotelde ve minimal KYD'nda (►) gözlenen immün ekspresyon, B) Genç-egzersiz; endotel ve tunika medyadaki düz kas hücrelerinde (►) gözlenen immün ekspresyon, C) DY-sedanter; endotelde irisin ekspresyonu (►), D) DY-egzersiz endotelde ve PVAD'daki KYD'nda irisin ekspresyonu (►), E) D-Gal sedanter aort endotelinde kuvvetli irisin ekspresyonu (►), F) D-Gal egzersiz grubunda endotel (►) ve düz kas hücrelerinde (►)gözlenen immün ekspresyon.

İrisin immünohistokimyasal boyama görüntülerinde aort dokusunda 3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride (DAB) boyası kaynaklı kahverengi boyanmış alanların yoğunluğunun değerlendirilmesi hem PVAD'da hem de endotel tabakasında ayrı ayrı yapılmıştır. Sedanter Genç gruba göre DY grubunda boyanmanın belirgin şekilde azaldığı ($p<0,05$) görülürken D-Gal grubunda böyle bir fark oluşmadığı gözlemlendi (Şekil 24. A ve B). Egzersiz ile birlikte DY grubunda azalmış olan bu boyanmanın endotel tabakasında DY+E grubunda artış eğiliminde olduğu gözlenirken PVAD'da bu artışın anlamlı olduğu izlendi ($p<0,05$, A). D-Gal grubunda her iki tabakada da genç gruba göre boyanmada bir azalma görülmezken D-Gal+E grubunun her iki tabakasında immün ekspresyonun anlamlı şekilde arttığı ($p<0,05$) gözlemlendi (Şekil 24. A ve B).

Belli alanın işaretlenerek (Endotel + PVAD) Image J programı ile boyanma değerlerinin kantitatif ifadesi ile istatistik yapıldığında sedanter genç gruba kıyasla DY ve D-Gal gruplarında immün ekspresyonda anlamlı ($p<0,001$) azalma olduğu ve egzersiz ile birlikte bu azalmanın DY+E grubunda ($p<0,001$) ve D-Gal+E ($p<0,05$) gruplarında anlamlı şekilde artırıldığı gözlemlendi ($p<0,05$, Şekil 24. C).



Şekil 24. Genç, doğal yaşlı ve D-Galaktoz ile yaşlandırılmış grupların irisin immunekspresyon skorları A) Endotel, B) PVAD örneklerinde irisin immün ekspresyon skoru, C) Endotel + PVAD Image J ölçümü. * $p < 0,05$, * $p < 0,001$ Genç-sedanter gruba göre, + $p < 0,05$, +++ $p < 0,001$ kendi sedanter grubuna göre anlamlılık değeridir.**

8. TARTIŞMA

Yaşlanma ve yaşlılıkta ortaya çıkan moleküler hasar, kronik bir inflamatuvar yanıtın sonucudur. Çevresel ve genetik etkenleri içerisinde barındıran bu süreç birçok teori ile açıklanmaya çalışılmıştır. Oksidatif stres ve mitokondriyal hasar teorisi aslında bütün teorilerin ortak paydasını oluşturmaktadır. Doğal yaşlanma sürecinde ya da D-Galaktoz ile oksidatif hasarın indüklenerek yaşlanmanın taklit edildiği modelde; egzersizin torasik aortada endotelial fonksiyon üzerindeki rolünü incelemenin yanı sıra yaşlanmada ortaya çıkan olası vasküler bozukluklarda egzersizin etkisiyle irisine verilen yanıtların değişimini göstermeyi hedefledik. Çalışmamızda kalp dokusunda hem DY hem de D-Gal yaşlanma modellerinde artan oksidatif hasara ilaveten azalan antioksidan kapasite gösterilmiştir. Bu çalışmanın can alıcı bulgusu; yaşa bağlı ortaya çıkan vasküler disfonksiyonun irisinin vazorelaksan yanıtlarına da etkili olduğunun gösterilmesidir. Ayrıca yaşa bağlı bozulan iris yanıtlarının düzenli egzersiz ile düzelebileceği ortaya konmuş, PVAD nun irisine bağlı gevşeme yanıtlarında ki etkisi ilk defa vurgulanmıştır.

Doğal yaşlanma sürecinde vücut genelinde meydana gelen bir hasar söz konusu olmakla birlikte her hücrenin bu süreçten etkilenme derecesinin farklı olduğu da bilinmektedir. Wang ve ark.'larının çalışmasında farelerin 2-20 ay arasında kan şekeri düzeyleri takip edildiğinde 14 aylık farelerde açlık kan şekerinin anlamlı şekilde yükseldiği ve pankreatik adacık hücrelerinden insülin salgılanmasının anlamlı olarak düştüğü gösterilmiştir (Wang ve ark., 2013). Yaşlanma sürecinde metabolik sendromun yaygın olarak karşılaşılan bir tablo olduğunu belirten bir derlemede artmış yağ kütlesi (adipokinlerin salgı miktarını etkiler) ve lipolitik

kapasite ile ilişkili olarak bozulmuş glikoz toleransının varlığı vurgulanmaktadır (Carrascosa ve ark., 2011). Çalışmamızda daha önceden ortaya konmuş bu verilerle tutarlı bir şekilde hem doğal yaşlı grupta hem de D-Galaktoz ile modellendirilmiş grupta açlık kan glikoz düzeylerinin arttığı tespit edilmiştir. Ayrıca, DY grubunda trigliserit düzeylerinde de anlamlı bir artış gösterildi.

Dolaşımdaki birçok biyolojik belirteç yaşla birlikte hastalıktan bağımsız olarak değişmektedir (Sebastiani ve ark., 2016). Yaşlanma ile ilgili öne sürülen birçok hipotez içerisinde en kapsamlı olanı kronik sistemik inflamasyon hipotezi olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu hipotez tüm kronik hastalıklar ve geriatric komorbiditeler (kardiyovasküler hastalıklar ve nörodejeneratif hastalıklar, kanser, tip 2 diabetes mellitus, artrit, kronik obstrüktif akciğer hastalığı, sarkopeni, halsizlik) ile de yakından ilişkilidir. Birçok epidemiyolojik ve biyolojik demografik çalışma, inflamasyonun biyolojik belirteçlerinin, yaşlı insanlardaki morbiditenin (kronik hastalıklar) ve mortalitenin güçlü ön göstergesi olduğunu bildirmektedir (Kubota ve ark., 2012). Son yıllarda Claudio Francesch ve ark. yaşla birlikte gelişen ve yaşla ilişkili patolojilere duyarlılığı öngören, kronik, düşük dereceli inflamasyonu tanımlamak için inflammaging terimini kullanmıştır (Franceschi ve ark., 2000). Birçok araştırmada, yaşlılarda inflamasyonun değerlendirilmesi kişilerin serumlarında sınırlı sayıda inflamatuvar molekülün -sitokin, kemokin ve akut faz proteinleri- ölçülmesi yoluyla test edilmiştir (Franceschi ve ark., 2007). Bu ölçümler sonucunda yüksek duyarlılık C reaktif protein (hs-CRP), IL-1, interleukin-6 ve -1 (IL-6, IL-1) düzeyleri ile, çözünebilir tümör nekroz faktörü (TNF) reseptörleri ekspresyonunun yaşla birlikte arttığı gösterilmiştir (Gerli ve ark., 2000). Bu çalışmaları destekler şekilde çalışmamızda da gerek DY grubunda gerekse D-Gal

grubunda artmış TNF- α düzeyleri gösterilmiştir. Yaşlanma ile birlikte artmış olan bu TNF- α düzeylerinin ve diğer birçok sitokinin genel olarak dokularda inflamasyona ve özellikle de nöroinflamasyona yol açtığı (Bruunsgaard & Pedersen, 2003, Schuitemaker *ve ark.*, 2009), kognitif fonksiyonlarda azalmaya neden olduğu gösterilmiştir (Medeiros *ve ark.*, 2010). Yaşlanma ile birlikte intramusküler yağlanmanın arttığı ve bu yağ depolarından TNF- α üretimi gerçekleştiği raporlanmıştır (Manini *ve ark.*, 2007, Marcus *ve ark.*, 2012). Çalışmamızda TNF- α düzeyleri sadece serumda değil paralel şekilde hem vücut yağ oranında hem de PVAD'da anlamlı olarak artmıştır. Ayrıca kan biyokimyasındaki yaşa bağlı beklenen bozukluklar DY grubunda daha belirgin olmak üzere D-Gal grubunda da gözlenmiş, trigliserid ve kolesterol düzeyleri anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Yaşlanma sırasında sarkopeni ile karakterize yağsız vücut kütle kaybı ve azalan bazal metabolik hız, enerji dengesinin düzensizleşmesine (St-Onge & Gallagher, 2010) ve azalmış fiziksel uyum ile daha düşük yaşam kalitesine neden olabilmektedir (Herring *ve ark.*, 2014, Roberts & Rosenberg, 2006), (Williams & Wood, 2006). Yağ dokusu, çeşitli adipokinleri salgılayan bir endokrin organ olarak tanımlandığından beri, bu faktörlerin yaşlanmaya bağlı dolaşımdaki konsantrasyonlarının incelenmesi önem kazanmıştır (Ahima & Flier, 2000, Fruhbeck *ve ark.*, 2001). Yaşlanma ile birlikte cinsiyet ayrımı olmaksızın vücut yağ miktarında, oksidatif hasarda, Lee indeksinde ve viseral yağ yüzdesinde artış olduğu daha önce gösterilmiştir (Guevara, Santandreu, Valle, Gianotti, Oliver, & Roca, 2009, Harding *ve ark.*, 1993). Yağ dokusunun insülin duyarlılığını azaltıcı etkisi F344 / Brown Norveç sıçanlarında yapılan bir çalışmada gösterilmiş, 15 aylık hayvanlarda viseral yağın alınması insülin

duyarlılığında düzelmeye neden olmuştur (Escriva ve ark., 2007, Gabriely ve ark., 2002, Perez ve ark., 2008).

Vücut ağırlığı, kompozisyonu ve enerji metabolizmasında cinsiyet farklılıkları hem insanlarda hem de kemirgenlerde mevcuttur. İnsanlarda ve kemirgenlerde dişiler beyaz yağ dokusunu korumaya ve bu enerji depolarının kaybına direnmeye eğilimlidir. Dişiler erkeklere göre daha fazla beyaz ve kahverengi yağ doku kütesine, farklı bölgelere depolanmış yağlara, daha düşük yağsız kütlelere ve dolaşımda daha fazla serbest yağ asitlerine (FFA) sahiptirler. Çalışmamızda doğal yaşlı grubu için; kemirgenler için yaşlı sayılan 18 aylık ve benzer çalışmalarda olduğu gibi östrojen düzeylerinin genç gruplara göre en anlamlı düşük bulunduğu dönem seçilmiştir (Wei ve ark., 2016). DY grubunda yağ dokusu artışına paralel olarak gözlenen ağırlık artışı D-Gal grubunda gözlenmemiştir. Egzersiz ile birlikte DY grubunda artan vücut yağ oranında anlamlı bir düşüş kaydedilirken bu düşüş PVAD'da görülmemiştir (Şekil 5). Yaşlanma ile birlikte adipoz dokuda meydana gelen morfolojik ve fizyolojik değişikliklerin metabolizmada çeşitli yanıtlar doğurduğu bilinmekle birlikte literatürde irisin düzeylerinde yaşlılık ile ilişkili bulunan değişiklikler (Rana ve ark., 2014) çalışmamızda da ELİSA yöntemi ile hem dolaşımda hem de PVAD'da ortaya konmuştur. Doğal yaşlanmada olduğu gibi D-Galaktoz verilmesini takiben de irisinde azalma olduğu tespit edilmiştir. Çalışmamızda her iki yaşlanma modelinde elde edilen azalmış irisin düzeyleri bu değişiklikler altında yatan mekanizmalardan bir tanesinin de oksidatif stres olduğunu düşündürüp desteklemektedir.

İrisinin serum ve doku düzeyleri araştırılmış olmakla beraber PVAD da irisin düzeyini gösteren bir çalışma literatürde bulunmamaktadır. Kronik inflamasyonla

karakterize metabolik hastalıklarda, egzersizin faydalı etkilerinde irisinin olası koruyucu rolü ilgi çekmekle birlikte yaşlanmada egzersizin koruyucu rolünde irisinin olası etkileri daha önce araştırılmamıştır. Bu nedenle yaşlı PVAD dokusundaki irisin düzeylerinin tespiti egzersiz uygulaması yapılan ve yapılmayan yaşlılık modellerinde önem taşır. Çalışmamızda yaşlanma modelleri sadece serumda değil PVAD da da irisinin azalmasına neden olmuş, egzersiz uygulaması sonucunda serum ve PVAD irisin düzeyleri özellikle DY grubunda artmış bulunmuştur. Egzersize bağlı PVAD daki artışlar hem ELİSA yöntemiyle hem de immünohistokimyasal boyama yöntemi ile tespit edilmiştir (Şekil 17). İlginç olarak yaşa bağlı artan PVAD daki BYD artışı egzersiz sonrasında KYD ye dönüşme eğilimi göstermiştir (Şekil 16). PVAD da artan irisin düzeylerinin ağırlıklı olarak KYD de tespit edilmesi egzersiz sonucunda artan KYD da irisinin rolünü düşündürmektedir.

Çalışmamızda literatürde ilk defa D-Gal uygulaması ile sedanter sıçanlarda kalp dokusunda lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA düzeylerinin DY ve D-Gal gruplarında yüksek olduğu gösterilmiştir. Her iki yaşlanma modelinde de arttığı gösterilen MDA düzeylerinin ise egzersiz ile birlikte DY grubunda azalırken, D-Gal de ise kontrol grubundan farklı olmayan bir şekilde düştüğü de gözlenmiştir.

Egzersizin insan (Ogasawara ve ark., 2015) ve kemirgenlerde (Greenstein ve ark., 2009, Withers ve ark., 2011) kalp fonksiyonu endekslerini geliştirdiği bilinmektedir. Yaşlanmada egzersizin kalbin metabolik fenotipini değiştirebileceğini öne süren bazı kanıtlar vardır. Yaşlı Wistar sıçanlarda egzersizin AMPK etkinliği, PPAR γ mRNA düzeyleri ve protein içeriğini artırdığı ve yaşlılarda azalan yağ asidi oksidasyonuna katılan proteinlerin miktarının egzersiz ile arttığı gösterilmiştir.

Canlı organizmada iyi halin korunması için oksidan hasar ve antioksidan parametrelerin denge halinde olması gerekmektedir. Yaşlanma ile birlikte bu dengenin bozulduğu ve kardiyovasküler sistemde inflamatuvar ve antioksidan parametrelerin arttığı gösterilmiştir. Antioksidan mekanizmalarda dokularda meydana gelen farklı yanıtlar gösterilmiştir; örneğin kalp dokusunda yaşlanma ile birlikte SOD aktivitesinde bir azalma görülürken KAT aktivitesinde bir artış kaydedilmiştir (Finkel & Holbrook, 2000, Roberts & Sindhu, 2009, Tsutsui *ve ark.*, 2011). Song *ve ark.* kemirgenlere D-Galaktoz uygulayarak yaşlanma gerçekleştirdiği bir çalışmada serum SOD düzeylerini 5 aylık genç kontrol grubuna kıyasla anlamlı şekilde düşük kaydetmiştir ve elde ettiği bu düzeyler yine aynı çalışmadaki 18 aylık doğal yaşlandırılmış sıçanların SOD düzeylerinden farklı bulunmamıştır (Song, Bao, Li, & Li, 1999b). Yapılan birçok çalışmada artan yaşla birlikte azalan mitokondriyal fonksiyonu ortaya koymaktadır (Ozawa, 1997, Trounce *ve ark.*, 1989). Çalışmamızda yaşlanma modellerinin kardiyovasküler sistemde mevcut antioksidan kapasiteler üzerindeki etkilerini görmek üzere SOD ve CAT düzeyleri tayini yapılmıştır. Sonuçlarımız hem kalp hem de torasik aortada doğal yaşlanma ve D-Galaktoz uygulamalarının benzer şekillerde genç sedanter gruba göre SOD ve CAT seviyelerini azalttığını ortaya koymuştur. Bu verilere ilaveten kalp dokusunda glutatyon düzeyleri tespiti de gerçekleştirilmiş ve sadece doğal yaşlı grubunda anlamlı şekilde bir tükenme gösterilmiştir (Şekil 7). Egzersizin genel sağlık durumu üzerine antioksidan kapasiteyi arttırarak oksidatif hasarı azalttığını gösteren birçok çalışma vardır (Ristow *ve ark.*, 2009). Hücrel homeostazdaki değişiklikler oksidasyon ürünlerinde yaşa bağlı bir yükselmeye yol açabilir, lipid peroksidasyonun son ürünü olan malondialdehit de bunlardan biridir ve egzersizin bu yolda azaltıcı

yönde etkili olduğu gösterilmiştir (Polidori ve ark., 2000, Radak ve ark., 1996, Tung ve ark., 2015, Warburton ve ark., 2006). Çalışmamızda seçilen orta şiddette egzersiz ile birlikte hem kalp hem de aorta dokusunda kendi sedanter gruplarına göre anlamlı şekilde artmış antioksidan kapasiteler tespit edilmiştir. D-Galaktoz uygulaması ile oluşan oksidatif stres ile ilgili parametreler DY grubuna benzerlik göstermekle birlikte egzersizin oksidan stresi azaltıcı etkisi D-Gal grubunda daha geri planda kalmıştır.

Egzersizin vasküler koruyucu etkilerine neden olan mekanizmalar arasında, oksidatif stresin azalması (Tanaka ve ark., 2015), anti-oksidan kapasitenin artması (Huertas ve ark., 2017; Kumral ve ark., 2016), yağ dokusu miktarında azalma (Batacan ve ark., 2016) ve ilgili sitokin ve adipokin düzeylerinin dengelenmesi (Csiszar ve ark., 2002), nitrik oksit biyoyararlanımında artış (Macedo ve ark., 2016), kardiyak otonomik reflekslerde iyileşme (Hsu ve ark. 2016; Masson ve ark., 2015) sayılmaktadır. Reaktif oksijen metabolitlerinin önemli kaynaklarından biri sayılan lökositler aktive olduktan sonra salgıladıkları MPO enzimi aracılığıyla süperoksit radikali aracılı stabil olan/olmayan ROM türlerini açığa çıkarmaktadır (Bradley ve ark., 1982). Yaşlanmanın kalpte nötrofil düzeyini arttırması yaşa bağlı myokardiyal yeniden modellenme ve proinflamatuvar mekanizmaların aktivasyonu ile ilgili olabilir. İlginç olarak çalışmamızda her iki yaşlanma modeli de kalp kasında ölçülen MPO düzeylerini arttırmıştır. Bunun yanı sıra sedanter DY grubunda daha belirgin olmak üzere kalp kas demetleri arasında bağ doku genişlemesi gözlenmiş, yer yer konjestif alanlara rastlanmıştır (Şekil 20). Egzersiz sonrası ise bağ dokusu genişlemesi ve konjestif alanlarda azalma gözlenmiştir. Dokuda artan MPO düzeyinin egzersiz ile azalması sırasında morfolojik değişikliklerde de düzelme

gözlenmesi PMN infiltrasyonu ve aracılı olası ROM stresi ile morfolojik değişiklikler arasındaki ilişkiyi düşündürmektedir. Kalp morfolojisinde yaşlanma modelleri ile ilişkili değişiklikler aort da ise daha hafif düzeyde gözlenmiş (minimal endotelial bozulma, BYD artışı), DY grubunda daha belirgin olmak üzere egzersiz sonrası mevcut bozulmalarda azalma gözlenmiştir (Şekil 21).

Buraya kadar olan sonuçları özetleyecek olursak; çalışmamızda uygulanan her iki yaşlanma modeli de yaşlanma fenotipini taklit etmekte etkili olmuştur. Her iki modelde de kan biyokimyasında, pro-inflamatuvar sitokin düzeyinde, oksidan stres göstergelerinde insandaki yaşlanmaya benzer bozulmalar gözlenmiştir. Genel olarak, gerek morfolojik, gerek kan biokimyası, gerekse vücut kompozisyonu değişiklikleri açısından incelendiğinde doğal yaşılanan sıçanlar tahmin edilebileceği gibi daha belirgin bir fenotip göstermişlerdir. Egzersiz her iki modelde de etkili olmakla birlikte D-Gal grubundaki göreceli yüzeyel iyileşmeye kıyasla DY grubu üzerindeki etkileri daha dramatik gerçekleşmiş ve literatür ile benzerlikler göstermiştir. Bu sonuçlar yaşlanma modeli ile gelecekte yapılacak çalışmalarda yol gösterici olacaktır.

Yaşla beraber KVS hastalıklarında gözlenen artış damar duvar intima-media kalınlaşması, düz kas hücresi hiperplazisi, endotel hücre disfonksiyonu, artmış oksidatif stres, azalmış nitrik oksit biyoyararlanımı, değişen lökosit-trombosit hücre ilişkileri gibi morfolojik ve moleküler değişiklikler sonucunda ortaya çıkmaktadır (Virmani ve ark., 1991). Intima-media-kalınlığında ve vasküler sertlikte meydana gelen artışa yalnızca sağlıklı yaşlanma sırasında rastlanmamakta, yaşlılığa ilave çeşitli komorbid durumlarda bu değişiklikler daha belirginleşmektedir (Lakatta & Levy, 2003a). Yaşlanmaya bağlı KVS değişiklikler hem insan hem de deney

hayvanlarında iki ölçülebilir fonksiyonel mekanizma ile değerlendirilmektedir 1; arterial kalınlaşma ve buna bağlı akım basınç değişikliklerinde ortaya çıkan bozukluklar 2- endotelial disfonksiyon. Endotelial disfonksiyon patogeneizde merkezi bir rol oynamakla birlikte, damar bir bütün olarak incelendiğinde diğer tabakalarda meydana gelen fonksiyonel değişiklikler de önemlidir. Bizim çalışmamızda sadece karbakol ve SNP ile indüklenen gevşeme yanıtları değil damarın fenilefrine kasılma yanıtları da araştırılarak vasküler fonksiyon bir bütün olarak değerlendirilmiştir.

Çalışmamızda yaşlanma ile gelişen endotel kaynaklı bir hasar olup olmadığını belirlemek amacıyla gruplardan izole edilerek doku banyolarına asılan aortlarda kümülatif dozlarda FE ($\alpha 1$ -adrenoseptör agonisti) ilavesi ile düz kas kasılma yanıtları ve sonrasında karbakol ile gevşeme yanıtları değerlendirildi. Literatürde yaşlanma ile birlikte aortada azalan FE yanıtları raporlanmıştır (Takanayagi ve ark., 1991). Çalışmamızda ilk defa D-Gal grubunda da FE yanıtlarının bozulduğu gösterilmiştir ve bu bulgu düz kasta da fonksiyonel bir yetersizlik geliştiğini ortaya koymaktadır. Her iki grupta da bozulan kasılma yanıtları egzersiz ile birlikte sadece DY grubunda düzelmeye göstermiştir. Uzun egzersiz antrenmanlarının vasküler kontrol mekanizmaları üzerine etkili olup endotel hücrelerinin adrenerjik-reseptör aktivasyonuna duyarlılıklarındaki adaptif değişiklikleri modifiye ettiği gösterilmiştir (Weigman ve ark., 1981). Örneğin düzenli egzersiz antrenmanından sonra endotel kaynaklı NO'nin daha fazla salınması noradrenalinin $\alpha 2$ -adrenerjik reseptörler aracılığı etkilerini modifiye etmektedir (Spier ve ark., 1999). Çalışmamızda da yaşlanma ile birlikte ortaya çıkan bozulmuş FE yanıtının egzersiz ile düzeldiğinin gösterilmiş

olması literatür ile uyumlu olmakla beraber DY tipi yaşlanma modelinde ilk kez gösterilmiştir.

Kroner arter hastalıklarının tedavisinde sıklıkla kullanılan nitrovazodilatörler NO aracılığı ile vazodilatasyona neden olurlar. Doğrudan bir oksidasyon durumunda (+2) azot içeren SNP enzime ihtiyaç duymadan NO açığa çıkarır. Kan damarlarının düz kas hücrelerinde enzim guanilat siklazın çözünebilir halini uyaran NO, GTP'den cGMP'yi üretir ve cGMP hücre içi kalsiyum düzeylerini düşürmede rol oynayan çeşitli proteinleri fosforile eden sıklık nükleotid bağımlı protein kinaz G'yi aktive eder. Böylece kas hücrelerinin gevşemesi ile kan damarlarında dilatasyon meydana gelir. Nitrovazodilatörlerin uzun süre kullanımı zamanla etkinliğinde azalma meydana getirmekte, azalan damar yanıtları kullanılan dozun arttırılmasını gerektirmektedir. Klinikte gözlenen bu durum damar hastalıklarının sadece endotel tabakayı ilgilendirmediğini damar hastalığının bir bütün olarak fonksiyonel değişimlere yol açtığını göstermektedir. Ayrıca ilerleyen yaş toleransın gelişmesini arttırmaktadır (Dobrzyn ve ark., 2013, Egashira ve ark. 1993, Trounce, Byrne, ve Marzuki, 1989). Tolerans gelişiminde oksidatif stresin yaşla artması, NO'nin peroksinitrite dönüştürülmesi, gevşeme dengesinin anjiyotensin II ve endotelin gibi konstriktörler tarafından bozulması öne sürülmektedir (Hezel ve ark., 2016). Çalışmamızda PVAD farkı olmaksızın SNP aracılı ortama NO sunulması DY grubunda gevşeme yanıtlarında anlamlı bir azalmaya neden olmuş, D-Gal grubunda böyle bir etki görülmemiştir. Bu bulgular FE yanıtlarıyla birlikte değerlendirildiğinde doğal yaşlanmanın sadece endotel tabaka üzerinden damar fonksiyonunu bozmadığını düz kas dokusunu da içerecek şekilde tüm damarda anlamlı değişikliklere yol açtığını göstermektedir. Yaşlanma modelinde aortada ilk gösterilen

bu bulgular damar gevşeme yanıtlarının ele alındığı gelecekteki çalışmalarda sadece endotele değil tüm kasa odaklanması gerektiğini göstermektedir. Egzersiz ise DY grubunda bozulmuş düz kas yanıtlarında iyileştirici bir etki göstermemiştir. Bu bulgular egzersizin yaşlanmadaki olası faydalı etkilerini damarın endotel tabakası üzerinden gösterdiğini vurgulamaktadır.

Yaşlanma sürecinde endotel eNOS gen ekspresyonunun veya eNOS protein seviyesinin azaldığını (Csiszar ve ark., 2002), değişmediğini (Smith ve ark., 2006) veya arttığını (van der Loo ve ark., 2000) gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Yaşla birlikte sıçanların serebral arteriollerinde ve aortalarında asetilkolin ve bradikinin ajanlarına verilmiş vazodilatasyon cevaplarının azaltıldığı gösterilmiş (Delp ve ark., 1995; Egashira ve ark. 1993; Gerhard ve ark., 1996), insan çalışmalarında ise asetilkoline yanıt olarak ölçülen önkol kan akımının yaşlı bireylerde azaldığı ve egzersizle bu azalmanın önlendiği bildirilmiştir (Desouza ve ark., 2000). Çalışmamızdan DY grubunda, karbakol ile indüklenen endotele bağlı vazodilatör yanıtların bozulduğu ortaya konmuş olmakla birlikte aynı etki D-Gal grubunda gösterilememiştir. Karbakol damar endotelindeki muskarinik reseptöre bağlanarak eNOS tarafından sentezlenen NO'nın salıverilmesine neden olur ve damar düz kas hücrelerine geçen NO, guanilat siklazı aktive ederek cGMP'yi artırır ve gevşeme gerçekleşir. Çalışmada DY grubunda egzersiz ile birlikte artan SOD ve KAT düzeyleri genel oksidan stresde azalma olduğunu düşündürmekte, bu da vasküler yanıtlarda alınan iyileşmiş cevapları desteklemektedir. Sun ve ark. da yaşlanma ile birlikte SOD-1 ekspresyonunun mezenter arterlerde azaldığını göstermişlerdir (Sun ve ark., 2004). Rush ve ark. ise egzersizin büyük arterlerde SOD ekspresyonunda artışa neden olduğunu bildirilmiştir (Rush ve ark., 2000). Bu bilgilere ilaveten

aslında literatürde fazlaca yer verilmeyen PVAD'nun da elde edilen yanıtlara katkısı olduğu vurgulanmakla beraber deneysel yaşlanma modellerinde PVAD'ın rolü araştırılmamıştır. Yaşlılıkta PVAD'nun vasküler yanıtlar üzerindeki önemini vurgulayan çalışmaları göz önüne alarak çalışmamızda PVAD'dan salınan lokal adipokinlerin de etkisini araştırmak adına PVAD'da irisin immünekspresyonu tespiti yaptık ve yaşlanma ile birlikte azalan irisin düzeylerinin damar yanıtlarındaki bozulmaya eşlik ettiğini ortaya koyduk. Damar etrafından PVAD'nun sıyrılmasının FE'e alınan kasılma yanıtlarında ilave bir bozulmaya neden olmadığını gördük. PVAD olmadığında D-Gal grubunda FE ve karbakol yanıtları değişmemiş, DY grubunda ise sadece yüksek doz karbakol yanıtları PVAD suz banyolarda daha az gevşeme yanıtı vermiştir. Daha önceki çalışmalar deney hayvanlarında yaşla birlikte büyük arterlerde dilatasyondaki bozulmada heterojenlik bildirilmiştir ve bu farklılıklar eNOS ve SOD dahil olmak üzere endoteli modüle eden faktörlerin üretilmesinde rol oynayan enzimlerin damara spesifik farklılıklarıyla ilişkili olabileceği vurgulanmıştır (Barton ve ark., 1997). Kemirgenlerde, dilatasyondaki yaşla ilgili bozuklukların damar oksidatif kapasitesi ve bazal kan akışları arasındaki farklılığın bir sonucu olarak aynı doku veya organ arteriollerinde arasında farklılık gösterdiği de raporlanmıştır ve bu farklılıkların bir diğer nedeni olarak da PVAD işaret edilmiştir (Muller-Delp ve ark, 2002). Artmış vücut yağlanması, özellikle de yağın abdominal birikimi ve obezite, genellikle azalmış dilatasyon ile ilişkilidir. Toplam ve abdominal yağlanma / obezite prevalansı yaşla birlikte arttığı için vücut yağındaki morfolojik veya yağın dağılımındaki değişikliklerin yaşlanmaya bağlı dilatasyondaki azalmaya katkıda bulunması mümkündür. Çalışmamızda yaşlanma ile birlikte artan VYO'da egzersizle anlamlı azalma kaydedilirken PVAD'da da

morfolojik olarak farklılaşmalar gözlenmiştir. Egzersiz ile indüklenen bu farklılaşmalardan kaynaklı hem PVAD irisin ekspresyonunda artış hem de dolaşımda artan irisin düzeylerinin damar yanıtları üzerine iyileştirici etkisi çalışmamızda vurgulanmıştır. Çalışmamızda izole damar preparatlarında irisin'e alınan yanıtlar değerlendirildiğinde genç grupta alınan gevşeme yanıtlarına kıyasla doğal yaşlı grupta anlamlı şekilde düşüklük tespit edilmiştir. Damarlardan PVAD'nun çıkarılması irisin yanıtlarında ilave bir bozulmaya neden olmazken benzer profil çizen D-gal grubunda PVAD sıyrıldığında alınan gevşeme yanıtlarının anlamlı şekilde düşük olduğu tespit edilmiştir.

Genel olarak, sağlıklı erişkinlerde yapılan araştırmalardan elde edilen bulgular, NO donörü verilen bireylerde vazodilatör yanıtların yaşla değişmediğini gösterirken (DeSouza ve ark., 2000) bir kısım çalışma da endotel-bağımlı yanıtlar için gözlemlenmediği halde, yaşla birlikte endotelden bağımsız seyreden dilatasyonda azalmayı göstermiştir (Taddei ve ark., 2000). Yaşlı damarlarında sürtünme stresindeki artışa yanıt olarak NO üretimi azalmıştır ve böylece bozulmuş NO aracılı endotel bağımlı dilatasyona katkıda bulunulmuş olur.

PVAD nun sağlıklı hayvanlarda damar yanıtlarını düzeltici ve anti-kontraktıl etkisi endotele bağımlı ve bağımsız şekilde gösterilmiştir (Hou ve ark., 2016). Ancak bu etkiler diyetle indüklenen obezite, tip-2 diabet gibi metabolik durumlarda sistemik olarak gelişen adipoz doku disfonksiyonuna ilave PVAD'da meydana gelen fonksiyonel değişiklikler nedeniyle farklılaşma göstermektedir (Boa ve ark., 2017). Metabolizma, insülin hassasiyeti, hormonlar, sitokinler ve ROM'nin lokal olarak salınması yoluyla inflamatuvar cevaplar üzerinde düzenleyici bir etkisi olabileceği öne sürülen PVAD'nun damar üzerindeki etkilerinin NO salınımı ve alternatif olarak

da hidrojen peroksit vasıtasıyla endotel bağımlı olduğu rapor edilmiştir (Gao ve ark. 2007). Obezite ve ona eşlik eden faktörlerin PVAD'da inflamasyona neden olup TNF α ve interlökin-6 (IL6) meydana getirip gevşetici etkinliğine zarar verdiğini ortaya koyan çalışmalar da vardır (Chou ve ark., 2008). Çalışmamızda ilginç bir şekilde yaşlı hayvanlarda PVAD yokluğunun, FE ve SNP yanıtlarını anlamlı bir şekilde değiştirmemesi organ banyosuna eklenen bu mediatörlerin etkilerinin PVAD dan bağımsız bir şekilde gerçekleştirdiğini, PVAD'dan damar fonksiyonunu etkileyen bir salınımaya yol açmadığını düşündürmektedir. Adipokinlerin PVAD'dan da salındığı bilirse de plazma adipokin konsantrasyonları genel olarak sistemik vasküler etkileri kışkırtmaya yeterlidir. Yapılan çalışmalarla PVAD dan vasküler gevşemeye aracılık eden ATP'ye bağımlı K⁺ kanalları vasıtasıyla vasküler düz kas hücrelerine etki eden bir vazoaktif faktör salındığı raporlanmıştır (Gao ve ark., 2007).

Yaşlanma ile birlikte PVAD'da artış kaydedilmektedir (Tchkonian ve ark., 2010). Çalışmamızda da PVAD, DY grubunda anlamlı artış göstermiş (Şekil 5), histolojik olarak aorta çevresinde artmış BYD tespit edilmiştir (Şekil 21). Egzersiz ise DY grubunda, PVAD miktarını değiştirmemekle birlikte yaşa bağlı azalan serum ve PVAD iris düzeylerini arttırmıştır. Ayrıca aorta çevresinde hematoksilen eozin boyamasında daha önce artmış gözlenen BYD yerine KYD da artış tespit edilmiştir (Şekil 21). Böylelikle literatürde ilk defa PVAD'da iris düzeylerinin deney hayvanı yaşlanma modellerinde azaldığı gösterilmiş ve egzersizin bu azalmayı önlediği ortaya konmuştur. Yağ dokusundaki BYD/KYD dönüşümünde etkisi olduğu ileri sürülen irisinin egzersiz ile PVAD'da artış göstermesi, diğer bulgularla beraber

değerlendirildiğinde irisinin vasküler yanıtlardaki olası direk etkisini düşündürmüştür.

Bu bulgular doğrultusunda yaşlı damarların irisine nasıl yanıt vereceği ilgi çekmektedir. Ayrıca egzersiz ile irisine verilen yanıtların değişip değişmediğinin gösterilmesi egzersizin yaşlanmada ki faydalı etkilerinde irisinin rolünü ortaya koyacaktır. Zhu ve arkadaşları diyet ile indüklenen diyabetik farelerde irisin ön tedavisinin endotel disfonksiyonunu geliştirdiğini gösterirlerken, Hou ve arkadaşları obez ve obez olmayan kişilerde serum irisin düzeylerini karşılaştırdıkları bir çalışmada irisin düzeylerinin obez bireylerde düştüğünü (Hou ve ark., 2015) ve bir başka çalışmalarında obez farelerin irisin ile tedavilerinin AMP kinaz yoluğ üzerinden endotel disfonksiyonunu geliştirdiğini göstermişlerdir (Hou ve ark., 2016.). Her ne kadar dışarıdan irisin verilmesi fare modellerinde oluşturulan diabet ve obezite gibi kronik inflamasyon modellerinde damar yanıtlarını iyileştirmişse de (Han ve ark., 2015), irisinin damar üzerindeki direk etkisi yaşlanma modellerinde çalışılmamıştır ve uzun süreli egzersiz sonrası irisinin damar yanıtlarını nasıl değiştirdiğı bilinmemektedir. Damar yanıtlarında dikkat çeken bir diğerk etken PVAD'dur ve bu dokunun diyetle indüklenen obez fare modelinden elde edilen torakal aortta irisin uygulaması yapıldığında; PVAD disfonksiyonunun HO¹/adiponektin yoluğının upregölasyonu ve PVAD'nun kahverengileşmesini uyarma yoluyla iyileştirdiğı gösterilmiştir. Bu sonuçlar, irisin'in obezitedeki PVAD işlevini düzenleyerek vasküler koruyucu etkilere sahip olduğunu göstermektedir. Çalışmamızda aortanın kümülatif irisin dozlarına tabi tutulması hem genç hem de yaşlı modellerinde PVAD varlığından bağımsız olarak gevşeme yanıtlarına neden olmuştur ve bu yanıtlar DY modelinde genç kontrollere göre anlamlı olarak bozulma

göstermiştir. Yapılan bir çalışmada mezenterik arterlerde irisine verilen yanıtlar direk olarak değerlendirilmiş, irisinin vazodilatör etkisini endotele bağımlı (NO-cGMP yolağı) ve endotelden bağımsız şekilde (Ca^{+2} akışını değiştirerek) meydana getirdiği ileri sürülmüştür ve irisinin gevşetici etkisi AMPK-eNOS yolağı ile de ilişkili bulunmuştur (Jiang ve ark., 2015). Çalışmamızda benzer şekilde organ banyolarının NOS inhibitörü L-NAME ile inkübasyonu irisin ile indüklenen gevşeme yanıtlarını anlamlı şekilde azaldığı gösterilmiştir. Bu bulgular literatürdeki mevcut bilgilerle uyumludur. Yakın zamanda obez farelerde yapılmış bir çalışmada PVAD'nun kahverengileşmesinde daha önceden etkili olduğu ortaya koyulmuş HO^{-1} /adiponektin aksinin irisin'ini de teşvik ederek bu dokunun gevşetici özelliklerini geliştirdiği ortaya konmuştur (Hou ve ark., 2017). Çalışmamızda böyle bir olası etkide direkt olarak irisinin PVAD'dan eksprese edildiği ve egzersiz ile birlikte yaşlılıkta bu ekspresyonun arttığı ilk defa gösterilmiştir. Diğer taraftan yine PVAD'nun varlığından bağımsız bir şekilde egzersiz DY'da irisin yanıtlarını anlamlı olarak düzeltmiş, egzersiz yapan yaşlı aortalarının irisine daha güçlü bir şekilde gevşetici yanıt vermesini sağlamıştır. Vasküler tonusu etkilemekten sorumlu maddeleri saldığı bildirilen PVAD'nun bu etkilerinde egzersizin de katkıda bulunduğu bilinmektedir. Yaşlanma ile benzer şekilde metabolik sendrom semptomlarını gösteren obez deneklerde artmış adiposit boyutunun PVAD'nin antikontraktıl etkisini kaybedilmesine eşlik ettiği egzersizin vücut yağını düşürürken (PVAD depolarını azaltır ve/veya morfolojik yapısında değişikliğe neden olur) aynı zamanda PVAD inflamasyonunu azalttığı, kronik egzersizin ise adiposit boyutlarını sınırlarken mezenterik yağ dokusuna inflamatuvar hücre göçünü azalttığı gösterilmiştir (Lee ve ark., 2016; Haczeyni ve ark., 2015). Yaşlanmada PVAD'nun

mikromimarisi değiştirilir ve bu nedenle damar duvarına vazodilatatör sinyallerinin salgılanması da değişime uğrar. Egzersiz ile düzelen irisin cevaplarının spesifik olarak irisin biyolojisinin henüz tanımlanmamış reseptör-ligant aracılı mekanizmalarını mı içerdiği, yoksa egzersizin NO yolağı, antioksidan yollar vb. gibi tanımlanmış iyileştirici mekanizmalar üzerinden mi etkili olduğu bilinmemektedir. Literatürde irisin ile ilgili şu ana kadar yapılmış olan çalışmalarda insanlardaki serum konsantrasyonları ile ilgili tutarsız veriler ve kemirgenlerden elde edilen verilerdeki uyumsuzluk olması irisinin fizyolojik rolünü aydınlatmaya ihtiyaç doğurmaktadır. Çalışmamızda literatürde ilk defa irisin'in serum düzeylerine denk gelebilecek şekilde damar preparatları üzerine ilavesi sonucu yaşlılarda egzersiz ile birlikte ortaya çıkan değişiklikler değerlendirilmiştir. Hou ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada obez farelerde irisin ön tedavisi uygulaması sonucu kan glikoz ve lipid metabolizmasında iyileşme ile birlikte serum MDA düzeylerinde azalma da tespit edilirken obez deneklerde bozulan PVAD kaynaklı gevşetici aktivitenin irisin tedavisi ile adiponektin aracılı bir mekanizma ile iyileştirildiği gösterilmiştir. Aynı çalışmada KCl yanıtları değerlendirildiğinde PVAD olmasının gruplar arasında bir fark doğurmadığı ve PVAD içeren aort halkalarının obez grupta maksimal vazokonstriksiyonun kontrol grubuna kıyasla belirgin olarak arttığı gösterilirken irisin ile inkübe edilen obez denek aortalarında vazokonstriksiyonda azalma tespit edilmiştir. Bu azalmada PVAD'nun bir fark oluşturmadığı da belirtilmiştir. Çalışmamızda da daha önce yayınlanmış sonuçlarla uyumlu olarak PVAD yokluğunda grup yanıtlarında herhangi bir fark tespit edilmemiştir ve çalışmamızda literatürde ilk defa yaşlılarda PVAD'nin antikontraktil etkisinin azaldığı ve aynı zamanda irisine verilen yanıtlarda da yaşlanma ile birlikte azalma olduğu

gösterilmiştir. Tespit edilen bu etki azalmasında egzersizin önleyici rolü ve irisine verilen cevaptaki iyileşmede önemi vurgulanmıştır.

Egzersiz ile birlikte L-NAME ön koşullaması altında alınan yanıtların sedanter gruba kıyasla iyileştiği ortaya konmuştur. Bu da egzersizin gerek damar gerekse PVAD içerisinde henüz tanımlanmamış bir irisin reseptörü artışına neden olabileceğini düşündürmektedir.

Sonuç olarak, bu çalışmada hızlı yaşlanma modeli olarak uygun olduğu düşünülen D-Gal modelinin aslında yaşlanmanın belirgin fenotipik özelliği olan damar yanıtlarındaki bozulmaya fazlaca etki etmediği vurgulanmıştır. Doğal yaşlanma ile oksidan hasar ve azalan antioksidan kapasite açısından uyuşmalar yakalansa da damar yatağında hasar oluşması için geçen süre ve etki mekanizması farklı ve yeterli olmamıştır. Her iki yaşlanma modeli literatürde ilk defa karşılaştırmalı olarak damar kasılma ve gevşeme yanıtları açısından incelenmiştir. Bu çalışmayla ilk kez yaşlı PVAD’da irisin düzeylerinin azaldığı hem immunohistokimyasal hem de biyokimyasal yöntemlerle gösterilmiştir. Egzersiz ile yaşlı aorta PVAD’unda irisin düzeylerinin artması ve yağ dokusu karakterinin KYD fenotipine dönüşmesi de daha önce gösterilmemiştir. Çalışmanın öne çıkan diğer bulgusu da irisinin aorta üzerindeki direk gevşetici etkisinin yaşa bağlı azalma göstermesidir. Bu azalmanın egzersiz ile düzelmesi irisinin egzersiz ve kardiyovasküler hastalıklar arasındaki negatif ilişkideki rolünü göstermektedir. PVAD miktarında herhangi bir değişim olmamasının da aslında egzersiz ile birlikte ortaya çıkacak iyileşme yanıtlarının güçlendirilmesine katkısı olabilir.

Bu çalışma ile birlikte yaşlanma sürecinde egzersiz ile irisin etkileşimi ve kardiyovasküler yapılarda meydana gelen değişiklikler değerlendirilmiş ve yaşlı modelleri ile ileride yapılacak çalışmalara ışık tutulmuştur.



9. KAYNAKLAR

- Abarbanell AM, Coffey AC, Fehrenbacher JW, Beckman DJ, Herrmann JL, Weil B, Meldrum DR. Proinflammatory cytokine effects on mesenchymal stem cell therapy for the ischemic heart. *Ann.Thorac.Surg.* 2009; 88:1036-1043
- Acosta JJ, Mayer L, Talboom JS, Tsang CW, Smith CJ, Enders CK, Bimonte-Nelson HA. Transitional versus surgical menopause in a rodent model: etiology of ovarian hormone loss impacts memory and the acetylcholine system. *Endocrinology* 2009; 150:4248-4259
- Aebi H. Catalase in vitro. *Methods Enzymol.* 1984; 105:121-126
- Ahima RS, Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ. *Trends Endocrinol.Metab* 2000; 11:327-332
- Alessio HM, Hagerman AE, Fulkerson BK, Ambrose J, Rice RE, Wiley RL. Generation of reactive oxygen species after exhaustive aerobic and isometric exercise. *Med.Sci.Sports Exerc.* 2000; 32:1576-1581
- Almabrouk TA, Ewart MA, Salt IP, Kennedy S. Perivascular fat, AMP-activated protein kinase and vascular diseases. *Br.J.Pharmacol.* 2014; 171:595-617
- Andreollo NA, Santos EF, Araujo MR, Lopes LR. Rat's age versus human's age: what is the relationship? *Arq Bras.Cir.Dig.* 2012; 25:49-51
- Araujo HN, Valgas da Silva CP, Sponton AC, Clerici SP, Davel AP, Antunes E, Zanesco A, Delbin MA. Perivascular adipose tissue and vascular responses in healthy trained rats. *Life Sci.* 2015; 125:79-87
- Arbeev KG, Ukraintseva SV, Akushevich I, Kulminski AM, Arbeeva LS, Akushevich L, Culminskaya IV, Yashin AI. Age trajectories of physiological indices in relation to healthy life course. *Mech.Ageing Dev.* 2011; 132:93-102
- Asghar M, George L, Lokhandwala MF. Exercise decreases oxidative stress and inflammation and restores renal dopamine D1 receptor function in old rats. *Am.J.Physiol Renal Physiol* 2007; 293:F914-F919
- Aydin S, Kuloglu T, Aydin S, Eren MN, Celik A, Yilmaz M, Kalayci M, Sahin I, Gungor O, Gurel A, Ogeturk M, Dabak O. Cardiac, skeletal muscle and serum irisin responses to with or without water exercise in young and old male rats: cardiac muscle produces more irisin than skeletal muscle. *Peptides* 2014; 52:68-73
- Aydin S, Yanar K, Atukeren P, Dalo E, Sitar ME, Uslu E, Caf N, Cakatay U. Comparison of oxidative stress biomarkers in renal tissues of D-galactose induced, naturally aged and young rats. *Biogerontology.* 2012; 13:251-260

- Aykac G, Uysal M, Yalcin AS, Kocak-Toker N, Sivas A, Oz H. The effect of chronic ethanol ingestion on hepatic lipid peroxide, glutathione, glutathione peroxidase and glutathione transferase in rats. *Toxicology* 1985; 36:71-76
- Bartelt A, Heeren J. Adipose tissue browning and metabolic health. *Nat.Rev.Endocrinol.* 2014; 10:24-36
- Barton M, Cosentino F, Brandes RP, Moreau P, Shaw S, Lüscher TF. Anatomic heterogeneity of vascular aging: role of nitric oxide and endothelin. *Hypertension.* 1997 Oct;30(4):817-24.
- Batacan RB Jr, Duncan MJ, Dalbo VJ, Connolly KJ, Fenning AS. Light-intensity and high-intensity interval training improve cardiometabolic health in rats. *Appl Physiol Nutr Metab.* 2016 Sep;41(9):945-52.
- Batra A, Siegmund B. The role of visceral fat. *Dig.Dis.* 2012; 30:70-74
- Bhavnani BR. Estrogens and menopause: pharmacology of conjugated equine estrogens and their potential role in the prevention of neurodegenerative diseases such as Alzheimer's. *J.Steroid Biochem.Mol.Biol.* 2003; 85:473-482
- Bi J, Zhang H, Lu J, Lei W. Nobiletin ameliorates isoflurane-induced cognitive impairment via antioxidant, anti-inflammatory and anti-apoptotic effects in aging rats. *Mol.Med.Rep.* 2016; 14:5408-5414
- Blagosklonny MV. Cell senescence and hypermitogenic arrest. *EMBO Rep.* 2003; 4:358-362
- Blankenberg S, Luc G, Ducimetiere P, Arveiler D, Ferrieres J, Amouyel P, Evans A, Cambien F, Tiret L. Interleukin-18 and the risk of coronary heart disease in European men: the Prospective Epidemiological Study of Myocardial Infarction (PRIME). *Circulation* 2003; 108:2453-2459
- Boa BC, Yudkin JS, van Hinsbergh VW, Bouskela E, Eringa EC. Exercise effects on perivascular adipose tissue: endocrine and paracrine determinants of vascular function. *Br J Pharmacol.* 2017 Feb 1.
- Bostrom P, Wu J, Jedrychowski MP, Korde A, Ye L, Lo JC, Rasbach KA, Bostrom EA, Choi JH, Long JZ, Kajimura S, Zingaretti MC, Vind BF, Tu H, Cinti S, Hojlund K, Gygi SP, Spiegelman BM. A PGC1-alpha-dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. *Nature* 2012; 481:463-468
- Bostrom PA, Graham EL, Georgiadi A, Ma X. Impact of exercise on muscle and nonmuscle organs. *IUBMB.Life* 2013; 65:845-850
- Bradley PP, Priebat DA, Christensen RD, Rothstein G. Measurement of cutaneous inflammation: estimation of neutrophil content with an enzyme marker. *J Invest Dermatol.* 1982 Mar;78(3):206-9

- Brandes RP, Fleming I, Busse R. Endothelial aging. *Cardiovasc.Res.* 2005; 66:286-294
- Brod SA. Unregulated inflammation shortens human functional longevity. *Inflamm.Res.* 2000; 49:561-570
- Bruunsgaard H. Physical activity and modulation of systemic low-level inflammation. *J.Leukoc.Biol.* 2005; 78:819-835
- Bruunsgaard H, Pedersen BK. Age-related inflammatory cytokines and disease. *Immunol.Allergy Clin.North Am.* 2003; 23:15-39
- Bucala R, Cerami A. Advanced glycosylation: chemistry, biology, and implications for diabetes and aging. *Adv.Pharmacol.* 1992; 23:1-34
- Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol.* 1978; 52:302-310
- Cadenas E, Davies KJ. Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging. *Free Radic.Biol.Med.* 2000; 29:222-230
- Cakatay U, Aydin S, Yanar K, Uzun H. Gender-dependent variations in systemic biomarkers of oxidative protein, DNA, and lipid damage in aged rats. *Aging Male.* 2010; 13:51-58
- Calles-Escandon J, Cipolla M. Diabetes and endothelial dysfunction: a clinical perspective. *Endocr.Rev.* 2001; 22:36-52
- Campisi J. Aging, cellular senescence, and cancer. *Annu.Rev.Physiol* 2013; 75:685-705
- Cand F, Verdeti J. Superoxide dismutase, glutathione peroxidase, catalase, and lipid peroxidation in the major organs of the aging rats. *Free Radic.Biol.Med.* 1989; 7:59-63
- Carrascosa JM, Andres A, Ros M, Bogonez E, Arribas C, Fernandez-Agullo T, de Solis AJ, Gallardo N, Martinez C. Development of insulin resistance during aging: involvement of central processes and role of adipokines. *Curr.Protein Pept.Sci.* 2011; 12:305-315
- Carriere A, Jeanson Y, Cousin B, Arnaud E, Casteilla L. [Recruitment and activation of brown and/or BRITE adipocytes : potential therapeutic against metabolic diseases]. *Med.Sci.(Paris)* 2013; 29:729-735
- Castillo-Quan JI. From white to brown fat through the PGC-1alpha-dependent myokine irisin: implications for diabetes and obesity. *Dis.Model.Mech.* 2012; 5:293-295
- Chance B, Sies H, Boveris A. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiol Rev.* 1979; 59:527-605

- Chou MY, Hartvigsen K, Hansen LF, Fogelstrand L, Shaw PX, Boullier A, Binder CJ, Witztum JL. Oxidation-specific epitopes are important targets of innate immunity. *J.Intern.Med.* 2008; 263:479-488
- Chou TC, Yen MH, Li CY, Ding YA. Alterations of nitric oxide synthase expression with aging and hypertension in rats. *Hypertension* 1998; 31:643-648
- Chung HY, Sung B, Jung KJ, Zou Y, Yu BP. The molecular inflammatory process in aging. *Antioxid.Redox.Signal.* 2006; 8:572-581
- Commoner B, TOWNSEND J, PAKE GE. Free radicals in biological materials. *Nature* 1954; 174:689-691
- Csiszar A, Ungvari Z, Edwards JG, Kaminski P, Wolin MS, Koller A, Kaley G. Aging-induced phenotypic changes and oxidative stress impair coronary arteriolar function. *Circ.Res.* 2002; 90:1159-1166
- Cuddy ML. Treatment of hypertension: guidelines from JNC 7 (the seventh report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure 1). *J.Pract.Nurs.* 2005; 55:17-21
- Czypiorski P, Rabanier LL, Altschmied J, Haendeler J. Redox balance in the aged endothelium. *Z.Gerontol.Geriatri.* 2013; 46:635-638
- Dai DF, Rabinovitch PS. Cardiac aging in mice and humans: the role of mitochondrial oxidative stress. *Trends Cardiovasc.Med.* 2009; 19:213-220
- Dart AM, Du XJ, Kingwell BA. Gender, sex hormones and autonomic nervous control of the cardiovascular system. *Cardiovasc.Res.* 2002; 53:678-687
- Delp MD, Brown M, Laughlin MH, Hasser EM. Rat aortic vasoreactivity is altered by old age and hindlimb unloading. *J Appl Physiol* (1985). 1995 Jun;78(6):2079-86.
- Desouza CA, Shapiro LF, Clevenger CM, Dinunno FA, Monahan KD, Tanaka H, Seals DR. Regular aerobic exercise prevents and restores age-related declines in endothelium-dependent vasodilation in healthy men. *Circulation* 2000; 102:1351-1357
- Despres JP. Cardiovascular disease under the influence of excess visceral fat. *Crit Pathw.Cardiol.* 2007; 6:51-59
- DeVan AE, Eskurza I, Pierce GL, Walker AE, Jablonski KL, Kaplon RE, Seals DR. Regular aerobic exercise protects against impaired fasting plasma glucose-associated vascular endothelial dysfunction with aging. *Clin.Sci.(Lond)* 2013; 124:325-331
- Dkhar P, Sharma R. Attenuation of age-related increase of protein carbonylation in the liver of mice by melatonin and curcumin. *Mol.Cell Biochem.* 2013; 380:153-160
- Dobrzyn P, Pyrkowska A, Duda MK, Bednarski T, Maczewski M, Langfort J, Dobrzyn A. Expression of lipogenic genes is upregulated in the heart with exercise

training-induced but not pressure overload-induced left ventricular hypertrophy. *Am.J.Physiol Endocrinol.Metab* 2013; 304:E1348-E1358

Durrant JR, Seals DR, Connell ML, Russell MJ, Lawson BR, Folian BJ, Donato AJ, Lesniewski LA. Voluntary wheel running restores endothelial function in conduit arteries of old mice: direct evidence for reduced oxidative stress, increased superoxide dismutase activity and down-regulation of NADPH oxidase. *J.Physiol* 2009; 587:3271-3285

Egashira K, Inou T, Hirooka Y, Kai H, Sugimachi M, Suzuki S, Kuga T, Urabe Y, Takeshita A. Effects of age on endothelium-dependent vasodilation of resistance coronary artery by acetylcholine in humans. *Circulation*. 1993 Jul;88(1):77-81.

El AM, Angulo J, Vallejo S, Peiro C, Sanchez-Ferrer CF, Rodriguez-Manas L. Mechanisms involved in the aging-induced vascular dysfunction. *Front Physiol* 2012; 3:132

Elahi MM, Kong YX, Matata BM. Oxidative stress as a mediator of cardiovascular disease. *Oxid.Med.Cell Longev*. 2009; 2:259-269

Escriva F, Gavete ML, Fermin Y, Perez C, Gallardo N, Alvarez C, Andres A, Ros M, Carrascosa JM. Effect of age and moderate food restriction on insulin sensitivity in Wistar rats: role of adiposity. *J.Endocrinol*. 2007; 194:131-141

Fain JN, Company JM, Booth FW, Laughlin MH, Padilla J, Jenkins NT, Bahouth SW, Sacks HS. Exercise training does not increase muscle FNDC5 protein or mRNA expression in pigs. *Metabolism* 2013; 62:1503-1511

Farrokhfall K, Hashtroudi MS, Ghasemi A, Mehrani H. Comparison of inducible nitric oxide synthase activity in pancreatic islets of young and aged rats. *Iran J.Basic Med.Sci*. 2015; 18:115-121

Ferrucci L, Corsi A, Lauretani F, Bandinelli S, Bartali B, Taub DD, Guralnik JM, Longo DL. The origins of age-related proinflammatory state. *Blood* 2005; 105:2294-2299

Fesus G, Dubrovskaya G, Gorzelniak K, Kluge R, Huang Y, Luft FC, Gollasch M. Adiponectin is a novel humoral vasodilator. *Cardiovasc.Res*. 2007; 75:719-727

Findeisen HM, Pearson KJ, Gizard F, Zhao Y, Qing H, Jones KL, Cohn D, Heywood EB, de CR, Bruemmer D. Oxidative stress accumulates in adipose tissue during aging and inhibits adipogenesis. *PLoS.One*. 2011; 6:e18532

Finkel T, Holbrook NJ. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature* 2000; 408:239-247

Fitzgibbons TP, Kogan S, Aouadi M, Hendricks GM, Straubhaar J, Czech MP. Similarity of mouse perivascular and brown adipose tissues and their resistance to

diet-induced inflammation. *Am.J.Physiol Heart Circ.Physiol* 2011; 301:H1425-H1437

Fleenor BS. Large elastic artery stiffness with aging: novel translational mechanisms and interventions. *Aging Dis.* 2013; 4:76-83

Fleenor BS, Marshall KD, Durrant JR, Lesniewski LA, Seals DR. Arterial stiffening with ageing is associated with transforming growth factor-beta1-related changes in adventitial collagen: reversal by aerobic exercise. *J.Physiol* 2010; 588:3971-3982

Franceschi C, Bonafe M, Valensin S, Olivieri F, De LM, Ottaviani E, De BG. Inflamm-aging. An evolutionary perspective on immunosenescence. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 2000; 908:244-254

Franceschi C, Capri M, Monti D, Giunta S, Olivieri F, Sevini F, Panourgia MP, Invidia L, Celani L, Scurti M, Cevenini E, Castellani GC, Salvioli S. Inflammaging and anti-inflammaging: a systemic perspective on aging and longevity emerged from studies in humans. *Mech.Ageing Dev.* 2007; 128:92-105

Fruhbeck G, Gomez-Ambrosi J, Muruzabal FJ, Burrell MA. The adipocyte: a model for integration of endocrine and metabolic signaling in energy metabolism regulation. *Am.J.Physiol Endocrinol.Metab* 2001; 280:E827-E847

Gabriely I, Ma XH, Yang XM, Atzmon G, Rajala MW, Berg AH, Scherer P, Rossetti L, Barzilai N. Removal of visceral fat prevents insulin resistance and glucose intolerance of aging: an adipokine-mediated process? *Diabetes* 2002; 51:2951-2958

Galvez-Prieto B, Somoza B, Gil-Ortega M, Garcia-Prieto CF, de Las Heras AI, Gonzalez MC, Arribas S, Aranguez I, Bolbrinker J, Kreutz R, Ruiz-Gayo M, Fernandez-Alfonso MS. Anticontractile Effect of Perivascular Adipose Tissue and Leptin are Reduced in Hypertension. *Front Pharmacol.* 2012; 3:103

Gao YJ, Lu C, Su LY, Sharma AM, Lee RM. Modulation of vascular function by perivascular adipose tissue: the role of endothelium and hydrogen peroxide. *Br.J.Pharmacol.* 2007; 151:323-331

Gaziano JM, Hennekens CH, O'Donnell CJ, Breslow JL, Buring JE. Fasting triglycerides, high-density lipoprotein, and risk of myocardial infarction. *Circulation* 1997; 96:2520-2525

Gerhard GS, Styer AM, Strodel WE, Roesch SL, Yavorek A, Carey DJ, Wood GC, Petrick AT, Gabrielsen J, Ibele A, Benotti P, Rolston DD, Still CD, Argyropoulos G. Gene expression profiling in subcutaneous, visceral and epigastric adipose tissues of patients with extreme obesity. *Int.J.Obes.(Lond)* 2014; 38:371-378

Gerhard M, Roddy MA, Creager SJ, Creager MA. Aging progressively impairs endothelium-dependent vasodilation in forearm resistance vessels of humans. *Hypertension* 1996; 27:849-853

- Gerli R, Monti D, Bistoni O, Mazzone AM, Peri G, Cossarizza A, Di GM, Cesarotti ME, Doni A, Mantovani A, Franceschi C, Paganelli R. Chemokines, sTNF-Rs and sCD30 serum levels in healthy aged people and centenarians. *Mech.Ageing Dev.* 2000; 121:37-46
- Gilca M, Stoian I, Atanasiu V, Virgolici B. The oxidative hypothesis of senescence. *J.Postgrad.Med.* 2007; 53:207-213
- Giralt M, Villarroya F. White, brown, beige/brite: different adipose cells for different functions? *Endocrinology* 2013; 154:2992-3000
- Girerd X, Mourad JJ, Boutouyrie P, Benetos A, Laurent S, Safar M. [Effects of aging on arterial function in man]. *Presse Med.* 1992; 21:1204-1209
- Gocmez SS, Scarpace PJ, Whidden MA, Erdos B, Kirichenko N, Sakarya Y, Utkan T, Tumer N. Age Impaired endothelium-dependent vasodilation is improved by resveratrol in rat mesenteric arteries. *J.Exerc.Nutrition Biochem.* 2016; 20:41-48
- Golbidi S, Laher I. Exercise and the aging endothelium. *J.Diabetes Res.* 2013; 2013:789607
- Gollasch M. Vasodilator signals from perivascular adipose tissue. *Br.J.Pharmacol.* 2012; 165:633-642
- Gomez-Zamudio JH, Garcia-Macedo R, Lazaro-Suarez M, Ibarra-Barajas M, Kumate J, Cruz M. Vascular endothelial function is improved by oral glycine treatment in aged rats. *Can.J.Physiol Pharmacol.* 2015; 93:465-473
- Goto S, Radak Z, Nyakas C, Chung HY, Naito H, Takahashi R, Nakamoto H, Abea R. Regular exercise: an effective means to reduce oxidative stress in old rats. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 2004; 1019:471-474
- Greenstein AS, Khavandi K, Withers SB, Sonoyama K, Clancy O, Jeziorska M, Laing I, Yates AP, Pemberton PW, Malik RA, Heagerty AM. Local inflammation and hypoxia abolish the protective anticontractile properties of perivascular fat in obese patients. *Circulation* 2009; 119:1661-1670
- Gu Q, Wang B, Zhang XF, Ma YP, Liu JD, Wang XZ. Chronic aerobic exercise training attenuates aortic stiffening and endothelial dysfunction through preserving aortic mitochondrial function in aged rats. *Exp.Gerontol.* 2014; 56:37-44
- Guevara R, Santandreu FM, Valle A, Gianotti M, Oliver J, Roca P. Sex-dependent differences in aged rat brain mitochondrial function and oxidative stress. *Free Radic.Biol.Med.* 2009; 46:169-175
- Guo Y, Jiang X, Zhou Z, Chen S, Zhao H, Li F. Relationship between levels of serum C-reactive protein, leucocyte count and carotid plaque in patients with ischemic stroke. *J.Huazhong.Univ Sci.Technolog.Med.Sci.* 2003; 23:263-265

- Haczeyni F, Barn V, Mridha AR, YehMM, Estevez E, FebbraioMA ve ark. Exercise improves adipose function and inflammation and ameliorates fatty liver disease in obese diabetic mice. *Obesity (Silver Spring)* 2015; 23: 1845–1855.
- Hadzi-Petrushev N, Stojkovski V, Mitrov D, Mladenov M. D-galactose induced inflammation lipid peroxidation and platelet activation in rats. *Cytokine* 2014; 69:150-153
- Han F, Zhang S, Hou N, Wang D, Sun X. Irisin improves endothelial function in obese mice through the AMPK-eNOS pathway. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2015 Nov;309(9):H1501-8.
- Harding M, Bahr W, Walters M. Effect of aging on body fat. *J.Am.Geriatr.Soc*. 1993; 41:1274
- Harris MB, Slack KN, Prestosa DT, Hryvniak DJ. Resistance training improves femoral artery endothelial dysfunction in aged rats. *Eur.J.Appl.Physiol* 2010; 108:533-540
- Hayflick L. The limited in vitro lifetime of human diploid cell strains. *Exp.Cell Res*. 1965; 37:614-636
- Hayflick L, Moorhead PS. The serial cultivation of human diploid cell strains. *Exp.Cell Res*. 1961; 25:585-621
- Hayward CS, Kelly RP, Collins P. The roles of gender, the menopause and hormone replacement on cardiovascular function. *Cardiovasc.Res*. 2000; 46:28-49
- Heinemann JC, Duerr GD, Keppel K, Breitbach M, Fleischmann BK, Zimmer A, Wehner S, Welz A, Dewald O. CB2 receptor-mediated effects of pro-inflammatory macrophages influence survival of cardiomyocytes. *Life Sci*. 2015; 138:18-28
- Helman A, Avrahami D, Klochendler A, Glaser B, Kaestner KH, Ben-Porath I, Dor Y. Effects of ageing and senescence on pancreatic beta-cell function. *Diabetes Obes.Metab* 2016; 18 Suppl 1:58-62
- Henriques CM, Ferreira MG. Consequences of telomere shortening during lifespan. *Curr.Opin.Cell Biol*. 2012; 24:804-808
- Herring MP, Sailors MH, Bray MS. Genetic factors in exercise adoption, adherence and obesity. *Obes.Rev*. 2014; 15:29-39
- Hezel M, Peleli M, Liu M, Zollbrecht C, Jensen BL, Checa A, Giulietti A, Wheelock CE, Lundberg JO, Weitzberg E, Carlström M. Dietary nitrate improves age-related hypertension and metabolic abnormalities in rats via modulation of angiotensin II receptor signaling and inhibition of superoxide generation. *Free Radic Biol Med*. 2016 Oct;99:87-98.
- Ho SC, Liu JH, Wu RY. Establishment of the mimetic aging effect in mice caused by D-galactose. *Biogerontology*. 2003; 4:15-18

Horai Y, Kakimoto T, Takemoto K, Tanaka M. Quantitative analysis of histopathological findings using image processing software. *J Toxicol Pathol*. 2017 Oct;30(4):351-358.

Hou N, Han F, Sun X. The relationship between circulating irisin levels and endothelial function in lean and obese subjects. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2015 Sep;83(3):339-43.

Hou N, Liu Y, Han F, Wang D, Hou X, Hou S, Sun X. Irisin improves perivascular adipose tissue dysfunction via regulation of the heme oxygenase-1/adiponectin axis in diet-induced obese mice. *J.Mol.Cell Cardiol*. 2016; 99:188-196

Hou N, Du G, Han F, Zhang J, Jiao X, Sun X. Irisin Regulates Heme Oxygenase-1/Adiponectin Axis in Perivascular Adipose Tissue and Improves Endothelial Dysfunction in Diet-Induced Obese Mice. *Cell Physiol Biochem*. 2017;42(2):603-614.

Hsieh HM, Wu WM, Hu ML. Soy isoflavones attenuate oxidative stress and improve parameters related to aging and Alzheimer's disease in C57BL/6J mice treated with D-galactose. *Food Chem.Toxicol*. 2009; 47:625-632

Hsu YC, Tsai SF, Yu L, Chuang JI, Wu FS, Jen CJ, Kuo YM. Long-term moderate exercise accelerates the recovery of stress-evoked cardiovascular responses. *Stress*. 2016;19(1):125-32

Huertas JR, Al Fazazi S, Hidalgo-Gutierrez A, López LC, Casuso RA. Antioxidant effect of exercise: Exploring the role of the mitochondrial complex I superassembly. *Redox Biol*. 2017 Jul 11;13:477-481

Huh JY, Mougios V, Kabasakalis A, Fatouros I, Siopi A, Douroudos II, Filippaios A, Panagiotou G, Park KH, Mantzoros CS. Exercise-induced irisin secretion is independent of age or fitness level and increased irisin may directly modulate muscle metabolism through AMPK activation. *J.Clin.Endocrinol.Metab* 2014; 99:E2154-E2161

Irving BA, Still CD, Argyropoulos G. Does IRISIN Have a BRITE Future as a Therapeutic Agent in Humans? *Curr.Obes.Rep*. 2014; 3:235-241

Jak AJ. The impact of physical and mental activity on cognitive aging. *Curr.Top.Behav.Neurosci*. 2012; 10:273-291

Jialal I, Devaraj S. Inflammation and atherosclerosis: the value of the high-sensitivity C-reactive protein assay as a risk marker. *Am.J.Clin.Pathol*. 2001; 116 Suppl:S108-S115

Jiang M, Wan F, Wang F, Wu Q. Irisin relaxes mouse mesenteric arteries through endothelium-dependent and endothelium-independent mechanisms. *Biochem.Biophys.Res.Commun*. 2015; 468:832-836

- Jousilahti P, Vartiainen E, Tuomilehto J, Puska P. Sex, age, cardiovascular risk factors, and coronary heart disease: a prospective follow-up study of 14 786 middle-aged men and women in Finland. *Circulation* 1999; 99:1165-1172
- Kafonek SD. Postmenopausal hormone replacement therapy and cardiovascular risk reduction. A review. *Drugs* 1994; 47 Suppl 2:16-24
- Kelly DP. Cell biology: Ageing theories unified. *Nature* 2011; 470:342-343
- Kim B, Lee H, Kawata K, Park JY. Exercise-mediated wall shear stress increases mitochondrial biogenesis in vascular endothelium. *PLoS.One.* 2014; 9:e111409
- King GL, Feener EP. The biochemical and physiological characteristics of receptors. *Adv.Drug Deliv.Rev.* 1998; 29:197-213
- Kregel KC, Zhang HJ. An integrated view of oxidative stress in aging: basic mechanisms, functional effects, and pathological considerations. *Am.J.Physiol Regul.Integr.Comp Physiol* 2007; 292:R18-R36
- Kremsky I, Morgan TE, Hou X, Li L, Finch CE. Age-changes in gene expression in primary mixed glia cultures from young vs. old rat cerebral cortex are modified by interactions with neurons. *Brain Behav.Immun.* 2012; 26:797-802
- Kubota K, Kadomura T, Ohta K, Koyama K, Okuda H, Kobayashi M, Ishii C, Fujiwara Y, Nishiora T, Ohmae Y, Ohmae T, Kitajima M. Analyses of laboratory data and establishment of reference values and intervals for healthy elderly people. *J.Nutr.Health Aging* 2012; 16:412-416
- Kuk JL, Saunders TJ, Davidson LE, Ross R. Age-related changes in total and regional fat distribution. *Ageing Res.Rev.* 2009; 8:339-348
- Kumral ZN, Sener G, Ozgur S, Koc M, Suleymanoglu S, Hurdag C, Yegen BC. Regular exercise alleviates renovascular hypertension-induced cardiac/endothelial dysfunction and oxidative injury in rats. *J.Physiol Pharmacol.* 2016; 67:45-55
- Lacolley P, Regnault V, Nicoletti A, Li Z, Michel JB. The vascular smooth muscle cell in arterial pathology: a cell that can take on multiple roles. *Cardiovasc.Res.* 2012; 95:194-204
- Lakatta EG. Arterial and cardiac aging: major shareholders in cardiovascular disease enterprises: Part III: cellular and molecular clues to heart and arterial aging. *Circulation* 2003; 107:490-497
- Lakatta EG, Levy D. Arterial and cardiac aging: major shareholders in cardiovascular disease enterprises: Part I: aging arteries: a "set up" for vascular disease. *Circulation* 2003; 107:139-146
- Lakatta EG, Levy D. Arterial and cardiac aging: major shareholders in cardiovascular disease enterprises: Part II: the aging heart in health: links to heart disease. *Circulation* 2003; 107:346-354

- Lam CS, Borlaug BA, Kane GC, Enders FT, Rodeheffer RJ, Redfield MM. Age-associated increases in pulmonary artery systolic pressure in the general population. *Circulation* 2009; 119:2663-2670
- Lamberts SW, van den Beld AW, van der Lely AJ. The endocrinology of aging. *Science* 1997; 278:419-424
- Lee BY, Han JA, Im JS, Morrone A, Johung K, Goodwin EC, Kleijer WJ, DiMaio D, Hwang ES. Senescence-associated beta-galactosidase is lysosomal beta-galactosidase. *Aging Cell* 2006; 5:187-195
- Lee JC, Greenberg WA, Wong CH. Programmable reactivity-based one-pot oligosaccharide synthesis. *Nat.Protoc.* 2006; 1:3143-3152
- Lee MH, Chen SJ, Tsao CM, Wu CC. Perivascular adipose tissue inhibits endothelial function of rat aortas via caveolin-1. *PLoS.One.* 2014; 9:e99947
- Lee RM, Lu C, Su LY, Gao YJ. Endothelium-dependent relaxation factor released by perivascular adipose tissue. *J.Hypertens.* 2009; 27:782-790
- Lee S, Norheim F, Langleite TM, Noreng HJ, Storås TH, Afman LA ve ark. Effect of energy restriction and physical exercise intervention on phenotypic flexibility as examined by transcriptomics analyses of mRNA from adipose tissue and whole body magnetic resonance imaging. 2016; *Physiol Rep* 4: e13019
- Lei M, Hua X, Xiao M, Ding J, Han Q, Hu G. Impairments of astrocytes are involved in the d-galactose-induced brain aging. *Biochem.Biophys.Res.Commun.* 2008; 369:1082-1087
- Lesniewski LA, Durrant JR, Connell ML, Henson GD, Black AD, Donato AJ, Seals DR. Aerobic exercise reverses arterial inflammation with aging in mice. *Am.J.Physiol Heart Circ.Physiol* 2011; 301:H1025-H1032
- Liao PH, Hsieh DJ, Kuo CH, Day CH, Shen CY, Lai CH, Chen RJ, Padma VV, Kuo WW, Huang CY. Moderate exercise training attenuates aging-induced cardiac inflammation, hypertrophy and fibrosis injuries of rat hearts. *Oncotarget.* 2015; 6:35383-35394
- Linge HM, Lee JY, Ochani K, Koga K, Kohn N, Ojamaa K, Powell SR, Miller EJ. Age influences inflammatory responses, hemodynamics, and cardiac proteasome activation during acute lung injury. *Exp.Lung Res.* 2015; 41:216-227
- Linton PJ, Gurney M, Sengstock D, Mentzer RM, Jr., Gottlieb RA. This old heart: Cardiac aging and autophagy. *J.Mol.Cell Cardiol.* 2015; 83:44-54
- Lira FS, Koyama CH, Yamashita AS, Rosa JC, Zanchi NE, Batista ML, Jr., Seelaender MC. Chronic exercise decreases cytokine production in healthy rat skeletal muscle. *Cell Biochem.Funct.* 2009; 27:458-461

- Lira FS, Rosa Neto JC, Antunes BM, Fernandes RA. The relationship between inflammation, dyslipidemia and physical exercise: from the epidemiological to molecular approach. *Curr.Diabetes Rev.* 2014; 10:391-396
- Lira FS, Rosa JC, Zanchi NE, Yamashita AS, Lopes RD, Lopes AC, Batista ML, Jr., Seelaender M. Regulation of inflammation in the adipose tissue in cancer cachexia: effect of exercise. *Cell Biochem.Funct.* 2009; 27:71-75
- Liu A, Ma Y, Zhu Z. Protective effect of selenoarginine against oxidative stress in D-galactose-induced aging mice. *Biosci.Biotechnol.Biochem.* 2009; 73:1461-1464
- Liu J, Sui X, Lavie CJ, Zhou H, Park YM, Cai B, Liu J, Blair SN. Effects of cardiorespiratory fitness on blood pressure trajectory with aging in a cohort of healthy men. *J.Am.Coll.Cardiol.* 2014; 64:1245-1253
- Liu R, Pulliam DA, Liu Y, Salmon AB. Dynamic differences in oxidative stress and the regulation of metabolism with age in visceral versus subcutaneous adipose. *Redox.Biol.* 2015; 6:401-408
- Lohn M, Dubrovskaja G, Lauterbach B, Luft FC, Gollasch M, Sharma AM. Periadventitial fat releases a vascular relaxing factor. *FASEB J.* 2002; 16:1057-1063
- Lowe G, Woodward M, Hillis G, Rumley A, Li Q, Harrap S, Marre M, Hamet P, Patel A, Poulter N, Chalmers J. Circulating inflammatory markers and the risk of vascular complications and mortality in people with type 2 diabetes and cardiovascular disease or risk factors: the ADVANCE study. *Diabetes* 2014; 63:1115-1123
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J.Biol.Chem.* 1951; 193:265-275
- Lu KH, Hopper BR, Vargo TM, Yen SS. Chronological changes in sex steroid, gonadotropin and prolactin secretions in aging female rats displaying different reproductive states. *Biol.Reprod.* 1979; 21:193-203
- Luc G, Bard JM, Juhan-Vague I, Ferrieres J, Evans A, Amouyel P, Arveiler D, Fruchart JC, Ducimetiere P. C-reactive protein, interleukin-6, and fibrinogen as predictors of coronary heart disease: the PRIME Study. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* 2003; 23:1255-1261
- Luc G, Ferri rJ, Evans A, Amouyel P, Arveiler D, Cambien F, Fruchart JC, Ducimetiere P. [Biological banks of the prospective cohort PRIME Study]. *Rev.Epidemiol.Sante Publique* 2003; 51:159-166
- Luttrell MJ, Seawright JW, Wilson E, Woodman CR. Effect of age and exercise training on protein:protein interactions among eNOS and its regulatory proteins in rat aortas. *Eur.J.Appl.Physiol* 2013; 113:2761-2768

Macedo FN, Mesquita TR, Melo VU, Mota MM, Silva TL, Santana MN, Oliveira LR, Santos RV, Miguel Dos Santos R, Lauton-Santos S, Santos MR, Barreto AS, Santana-Filho VJ. Increased Nitric Oxide Bioavailability and Decreased Sympathetic Modulation Are Involved in Vascular Adjustments Induced by Low-Intensity Resistance Training. *Front Physiol.* 2016 Jun 28;7:265

Manini TM, Clark BC, Nalls MA, Goodpaster BH, Ploutz-Snyder LL, Harris TB. Reduced physical activity increases intermuscular adipose tissue in healthy young adults. *Am.J.Clin.Nutr.* 2007; 85:377-384

Marcus RL, Addison O, Dibble LE, Foreman KB, Morrell G, Lastayo P. Intramuscular adipose tissue, sarcopenia, and mobility function in older individuals. *J.Aging Res.* 2012; 2012:629637

Masson GS, Nair AR, Silva Soares PP, Michelini LC, Francis J. Aerobic training normalizes autonomic dysfunction, HMGB1 content, microglia activation and inflammation in hypothalamic paraventricular nucleus of SHR. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2015 Oct;309(7):H1115-22

Mathieu P, Battista D, Depino A, Roca V, Graciarena M, Pitossi F. The more you have, the less you get: the functional role of inflammation on neuronal differentiation of endogenous and transplanted neural stem cells in the adult brain. *J.Neurochem.* 2010; 112:1368-1385

Mathur N, Pedersen BK. Exercise as a mean to control low-grade systemic inflammation. *Mediators.Inflamm.* 2008; 2008:109502

Matoba T, Shimokawa H. Hydrogen peroxide is an endothelium-derived hyperpolarizing factor in animals and humans. *J.Pharmacol.Sci.* 2003; 92:1-6

Mauvais-Jarvis F. Sex differences in metabolic homeostasis, diabetes, and obesity. *Biol.Sex Differ.* 2015; 6:14

Mazzocchi G, Tevy MF, Borghesan M, Delle Vergini MR, Vinciguerra M. Caloric restriction and aging stem cells: the stick and the carrot? *Exp.Gerontol.* 2014; 50:137-148

McCord JM, Fridovich I. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte (hemocuprein). *J.Biol.Chem.* 1969; 244:6049-6055

McGrath BP, Liang YL, Teede H, Shiel LM, Cameron JD, Dart A. Age-related deterioration in arterial structure and function in postmenopausal women: impact of hormone replacement therapy. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* 1998; 18:1149-1156

Medeiros R, Figueiredo CP, Pandolfo P, Duarte FS, Prediger RD, Passos GF, Calixto JB. The role of TNF-alpha signaling pathway on COX-2 upregulation and cognitive decline induced by beta-amyloid peptide. *Behav.Brain Res.* 2010; 209:165-173

- Melrose H, Edwards G, Heagerty AH, Austin C. LB03.05: The anti-contractile effects of PVAT are modulated by age. The role of nitric oxide. *J.Hypertens.* 2015; 33 Suppl 1:e127
- Michaud M, Balardy L, Moulis G, Gaudin C, Peyrot C, Vellas B, Cesari M, Nourhashemi F. Proinflammatory cytokines, aging, and age-related diseases. *J.Am.Med.Dir.Assoc.* 2013; 14:877-882
- Minamino T, Orimo M, Shimizu I, Kunieda T, Yokoyama M, Ito T, Nojima A, Nabetani A, Oike Y, Matsubara H, Ishikawa F, Komuro I. A crucial role for adipose tissue p53 in the regulation of insulin resistance. *Nat.Med.* 2009; 15:1082-1087
- Mistry Y, Poolman T, Williams B, Herbert KE. A role for mitochondrial oxidants in stress-induced premature senescence of human vascular smooth muscle cells. *Redox.Biol.* 2013; 1:411-417
- Moiseeva O, Mallette FA, Mukhopadhyay UK, Moores A, Ferbeyre G. DNA damage signaling and p53-dependent senescence after prolonged beta-interferon stimulation. *Mol.Biol.Cell* 2006; 17:1583-1592
- Mooradian AD, Wong NC. Molecular biology of aging, Part I: An introduction to laboratory techniques of molecular biology. *J.Am.Geriatr.Soc.* 1991; 39:611-619
- Mooradian AD, Wong NC. Molecular biology of aging. Part II: A synopsis of current research. *J.Am.Geriatr.Soc.* 1991; 39:717-723
- Morgan TE, Wong AM, Finch CE. Anti-inflammatory mechanisms of dietary restriction in slowing aging processes. *Interdiscip.Top.Gerontol.* 2007; 35:83-97
- Muller-Delp JM, Gurovich AN, Christou DD, Leeuwenburgh C. Redox balance in the aging microcirculation: new friends, new foes, and new clinical directions. *Microcirculation.* 2012; 19:19-28
- Muller-Delp JM, Spier SA, Ramsey MW, Delp MD. Aging impairs endothelium-dependent vasodilation in rat skeletal muscle arterioles. *Am.J.Physiol Heart Circ.Physiol* 2002; 283:H1662-H1672
- Myloie AA, Collins H, Umbles C, Kyle J. Erythrocyte superoxide dismutase activity and other parameters of copper status in rats ingesting lead acetate. *Toxicol.Appl.Pharmacol.* 1986; 82:512-520
- Nguyen PK, Terashima M, Fair JM, Varady A, Taylor-Piliae RE, Iribarren C, Go AS, Haskell WL, Hlatky MA, Fortmann SP, McConnell MV. Physical activity in older subjects is associated with increased coronary vasodilation: the ADVANCE study. *JACC.Cardiovasc.Imaging* 2011; 4:622-629
- Nied RJ, Franklin B. Promoting and prescribing exercise for the elderly. *Am.Fam.Physician* 2002; 65:419-426

- Novelle MG, Contreras C, Romero-Pico A, Lopez M, Dieguez C. Irisin, two years later. *Int.J.Endocrinol.* 2013; 2013:746281
- Nuutila P. Brown adipose tissue thermogenesis in humans. *Diabetologia* 2013; 56:2110-2112
- Oeppen J, Vaupel JW. Demography. Broken limits to life expectancy. *Science* 2002; 296:1029-1031
- Ogasawara J, Izawa T, Sakurai T, Sakurai T, Shirato K, Ishibashi Y, Ishida H, Ohno H, Kizaki T. The Molecular Mechanism Underlying Continuous Exercise Training-Induced Adaptive Changes of Lipolysis in White Adipose Cells. *J.Obes.* 2015; 2015:473430
- Ohta Y, Kinugawa S, Matsushima S, Ono T, Sobirin MA, Inoue N, Yokota T, Hirabayashi K, Tsutsui H. Oxidative stress impairs insulin signal in skeletal muscle and causes insulin resistance in postinfarct heart failure. *Am.J.Physiol Heart Circ.Physiol* 2011; 300:H1637-H1644
- Okudan N, Belviranli M. Effects of exercise training on hepatic oxidative stress and antioxidant status in aged rats. *Arch.Physiol Biochem.* 2016; 122:180-185
- Orallo F. Trans-resveratrol: a magical elixir of eternal youth? *Curr.Med.Chem.* 2008; 15:1887-1898
- Osthus IB, Sgura A, Berardinelli F, Alsnes IV, Bronstad E, Rehn T, Stobakk PK, Hatle H, Wisloff U, Nauman J. Telomere length and long-term endurance exercise: does exercise training affect biological age? A pilot study. *PLoS.One.* 2012; 7:e52769
- Padilla J, Jenkins NT, Vieira-Potter VJ, Laughlin MH. Divergent phenotype of rat thoracic and abdominal perivascular adipose tissues. *Am.J.Physiol Regul.Integr.Comp Physiol* 2013; 304:R543-R552
- Panda A, Arjona A, Sapey E, Bai F, Fikrig E, Montgomery RR, Lord JM, Shaw AC. Human innate immunosenescence: causes and consequences for immunity in old age. *Trends Immunol.* 2009; 30:325-333
- Pang CY, Ma YS, Wei YU. MtDNA mutations, functional decline and turnover of mitochondria in aging. *Front Biosci.* 2008; 13:3661-3675
- Parameshwaran K, Irwin MH, Steliou K, Pinkert CA. D-galactose effectiveness in modeling aging and therapeutic antioxidant treatment in mice. *Rejuvenation.Res.* 2010; 13:729-735
- Pararasa C, Bailey CJ, Griffiths HR. Ageing, adipose tissue, fatty acids and inflammation. *Biogerontology.* 2015; 16:235-248

Park SK, Kim K, Page GP, Allison DB, Weindruch R, Prolla TA. Gene expression profiling of aging in multiple mouse strains: identification of aging biomarkers and impact of dietary antioxidants. *Aging Cell* 2009; 8:484-495

Patel NV, Finch CE. The glucocorticoid paradox of caloric restriction in slowing brain aging. *Neurobiol.Aging* 2002; 23:707-717

Patel RS, Al M, I, Morris AA, Ahmed Y, Kavtaradze N, Ali S, Dabhadkar K, Brigham K, Hooper WC, Alexander RW, Jones DP, Quyyumi AA. Oxidative stress is associated with impaired arterial elasticity. *Atherosclerosis* 2011; 218:90-95

Pawelec G, Larbi A, Derhovanessian E. Senescence of the human immune system. *J.Comp Pathol.* 2010; 142 Suppl 1:S39-S44

Perez C, Fernandez-Agullo T, de Solis AJ, Ros M, Andres A, Carrascosa JM. Effects of chronic acarbose treatment on adipocyte insulin responsiveness, serum levels of leptin and adiponectin and hypothalamic NPY expression in obese diabetic Wistar rats. *Clin.Exp.Pharmacol.Physiol* 2008; 35:256-261

Petersen AM, Pedersen BK. The anti-inflammatory effect of exercise. *J.Appl.Physiol* (1985.) 2005; 98:1154-1162

Petralia RS, Mattson MP, Yao PJ. Aging and longevity in the simplest animals and the quest for immortality. *Ageing Res.Rev.* 2014; 16:66-82

Podolskiy DI, Gladyshev VN. Intrinsic Versus Extrinsic Cancer Risk Factors and Aging. *Trends Mol.Med.* 2016; 22:833-834

Police SB, Thatcher SE, Charnigo R, Daugherty A, Cassis LA. Obesity promotes inflammation in periaortic adipose tissue and angiotensin II-induced abdominal aortic aneurysm formation. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* 2009; 29:1458-1464

Polidori MC, Mecocci P, Cherubini A, Senin U. Physical activity and oxidative stress during aging. *Int.J.Sports Med.* 2000; 21:154-157

Port S, Cobb FR, Coleman RE, Jones RH. Effect of age on the response of the left ventricular ejection fraction to exercise. *N.Engl.J.Med.* 1980; 303:1133-1137

Quan T, Little E, Quan H, Qin Z, Voorhees JJ, Fisher GJ. Elevated matrix metalloproteinases and collagen fragmentation in photodamaged human skin: impact of altered extracellular matrix microenvironment on dermal fibroblast function. *J.Invest Dermatol.* 2013; 133:1362-1366

Rackley CE. Hormones and coronary atherosclerosis in women. *Endocrine.* 2004; 24:245-250

Radak Z, Asano K, Inoue M, Kizaki T, Oh-Ishi S, Suzuki K, Taniguchi N, Ohno H. Superoxide dismutase derivative prevents oxidative damage in liver and kidney of rats induced by exhausting exercise. *Eur.J.Appl.Physiol Occup.Physiol* 1996; 72:189-194

- Radak Z, Chung HY, Naito H, Takahashi R, Jung KJ, Kim HJ, Goto S. Age-associated increase in oxidative stress and nuclear factor kappaB activation are attenuated in rat liver by regular exercise. *FASEB J.* 2004; 18:749-750
- Ralston SH, Russell RG, Gowen M. Estrogen inhibits release of tumor necrosis factor from peripheral blood mononuclear cells in postmenopausal women. *J.Bone Miner.Res.* 1990; 5:983-988
- Rana KS, Arif M, Hill EJ, Aldred S, Nagel DA, Nevill A, Randeva HS, Bailey CJ, Bellary S, Brown JE. Plasma irisin levels predict telomere length in healthy adults. *Age (Dordr.)* 2014; 36:995-1001
- Rattan SI. Theories of biological aging: genes, proteins, and free radicals. *Free Radic.Res.* 2006; 40:1230-1238
- Ridker PM, Danielson E, Fonseca FA, Genest J, Gotto AM, Jr., Kastelein JJ, Koenig W, Libby P, Lorenzatti AJ, MacFadyen JG, Nordestgaard BG, Shepherd J, Willerson JT, Glynn RJ. Reduction in C-reactive protein and LDL cholesterol and cardiovascular event rates after initiation of rosuvastatin: a prospective study of the JUPITER trial. *Lancet* 2009; 373:1175-1182
- Ristow M, Zarse K, Oberbach A, Klötting N, Birringer M, Kiehntopf M, Stumvoll M, Kahn CR, Bluher M. Antioxidants prevent health-promoting effects of physical exercise in humans. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 2009; 106:8665-8670
- Ritchie RH, Leo CH, Qin C, Stephenson EJ, Bowden MA, Buxton KD, Lessard SJ, Rivas DA, Koch LG, Britton SL, Hawley JA, Woodman OL. Low intrinsic exercise capacity in rats predisposes to age-dependent cardiac remodeling independent of macrovascular function. *Am.J.Physiol Heart Circ.Physiol* 2013; 304:H729-H739
- Roberts CK, Sindhu KK. Oxidative stress and metabolic syndrome. *Life Sci.* 2009; 84:705-712
- Roberts SB, Rosenberg I. Nutrition and aging: changes in the regulation of energy metabolism with aging. *Physiol Rev.* 2006; 86:651-667
- Roca-Rivada A, Castela C, Senin LL, Landrove MO, Baltar J, Belen CA, Seoane LM, Casanueva FF, Pardo M. FNDC5/irisin is not only a myokine but also an adipokine. *PLoS.One.* 2013; 8:e60563
- Rodier F, Campisi J. Four faces of cellular senescence. *J.Cell Biol.* 2011; 192:547-556
- Rojkind M, Dominguez-Rosales JA, Nieto N, Greenwel P. Role of hydrogen peroxide and oxidative stress in healing responses. *Cell Mol.Life Sci.* 2002; 59:1872-1891

- Roman S, Agil A, Peran M, Alvaro-Galve E, Ruiz-Ojeda FJ, Fernandez-Vazquez G, Marchal JA. Brown adipose tissue and novel therapeutic approaches to treat metabolic disorders. *Transl.Res.* 2015; 165:464-479
- Romijn JA, Coyle EF, Sidossis LS, Gastaldelli A, Horowitz JF, Endert E, Wolfe RR. Regulation of endogenous fat and carbohydrate metabolism in relation to exercise intensity and duration. *Am.J.Physiol* 1993; 265:E380-E391
- Roxburgh CS, McMillan DC. Role of systemic inflammatory response in predicting survival in patients with primary operable cancer. *Future.Oncol.* 2010; 6:149-163
- Rush JW, Laughlin MH, Woodman CR, Price EM. SOD-1 expression in pig coronary arterioles is increased by exercise training. *Am.J.Physiol Heart Circ.Physiol* 2000; 279:H2068-H2076
- Safar ME, Boudier HS. Vascular development, pulse pressure, and the mechanisms of hypertension. *Hypertension* 2005; 46:205-209
- Santos-Parker JR, LaRocca TJ, Seals DR. Aerobic exercise and other healthy lifestyle factors that influence vascular aging. *Adv.Physiol Educ.* 2014; 38:296-307
- Sastre J, Pallardo FV, Garcia dIA, Vina J. Mitochondria, oxidative stress and aging. *Free Radic.Res.* 2000; 32:189-198
- Schaap LA, Pluijm SM, Deeg DJ, Harris TB, Kritchevsky SB, Newman AB, Colbert LH, Pahor M, Rubin SM, Tylavsky FA, Visser M. Higher inflammatory marker levels in older persons: associations with 5-year change in muscle mass and muscle strength. *J.Gerontol.A Biol.Sci.Med.Sci.* 2009; 64:1183-1189
- Schleifenbaum J, Kohn C, Voblova N, Dubrovskaya G, Zavarirskaya O, Gloe T, Crean CS, Luft FC, Huang Y, Schubert R, Gollasch M. Systemic peripheral artery relaxation by KCNQ channel openers and hydrogen sulfide. *J.Hypertens.* 2010; 28:1875-1882
- Schuitmaker A, Dik MG, Veerhuis R, Scheltens P, Schoonenboom NS, Hack CE, Blankenstein MA, Jonker C. Inflammatory markers in AD and MCI patients with different biomarker profiles. *Neurobiol.Aging* 2009; 30:1885-1889
- Seals DR, Desouza CA, Donato AJ, Tanaka H. Habitual exercise and arterial aging. *J.Appl.Physiol (1985.)* 2008; 105:1323-1332
- Seals DR, Hagberg JM, Spina RJ, Rogers MA, Schechtman KB, Ehsani AA. Enhanced left ventricular performance in endurance trained older men. *Circulation* 1994; 89:198-205
- Seals DR, Jablonski KL, Donato AJ. Aging and vascular endothelial function in humans. *Clin.Sci.(Lond)* 2011; 120:357-375
- Seals DR, Walker AE, Pierce GL, Lesniewski LA. Habitual exercise and vascular ageing. *J.Physiol* 2009; 587:5541-5549

Sebastiani P, Thyagarajan B, Sun F, Honig LS, Schupf N, Cosentino S, Feitosa MF, Wojczynski M, Newman AB, Montano M, Perls TT. Age and Sex Distributions of Age-Related Biomarker Values in Healthy Older Adults from the Long Life Family Study. *J.Am.Geriatr.Soc.* 2016; 64:e189-e194

Sen CK. Oxidants and antioxidants in exercise. *J.Appl.Physiol* (1985.) 1995; 79:675-686

Sen P, Dang W, Donahue G, Dai J, Dorsey J, Cao X, Liu W, Cao K, Perry R, Lee JY, Wasko BM, Carr DT, He C, Robison B, Wagner J, Gregory BD, Kaeberlein M, Kennedy BK, Boeke JD, Berger SL. H3K36 methylation promotes longevity by enhancing transcriptional fidelity. *Genes Dev.* 2015; 29:1362-1376

Seo AY, Hofer T, Sung B, Judge S, Chung HY, Leeuwenburgh C. Hepatic oxidative stress during aging: effects of 8% long-term calorie restriction and lifelong exercise. *Antioxid.Redox.Signal.* 2006; 8:529-538

Shay JW, Wright WE, Werbin H. Defining the molecular mechanisms of human cell immortalization. *Biochim.Biophys.Acta* 1991; 1072:1-7

Shephard RJ, Balady GJ. Exercise as cardiovascular therapy. *Circulation* 1999; 99:963-972

Shulman GI. Cellular mechanisms of insulin resistance. *J.Clin.Invest* 2000; 106:171-176

Sies H. Role of metabolic H₂O₂ generation: redox signaling and oxidative stress. *J.Biol.Chem.* 2014; 289:8735-8741

Simon T, Mary-Krause M, Funck-Brentano C, Jaillon P. Sex differences in the prognosis of congestive heart failure: results from the Cardiac Insufficiency Bisoprolol Study (CIBIS II). *Circulation* 2001; 103:375-380

Sindler AL, Fleenor BS, Calvert JW, Marshall KD, Zigler ML, Lefer DJ, Seals DR. Nitrite supplementation reverses vascular endothelial dysfunction and large elastic artery stiffness with aging. *Aging Cell* 2011; 10:429-437

Sindler AL, Reyes R, Chen B, Ghosh P, Gurovich AN, Kang LS, Cardounel AJ, Delp MD, Muller-Delp JM. Age and exercise training alter signaling through reactive oxygen species in the endothelium of skeletal muscle arterioles. *J.Appl.Physiol* (1985.) 2013; 114:681-693

Singh T, Newman AB. Inflammatory markers in population studies of aging. *Ageing Res.Rev.* 2011; 10:319-329

Smith AR, Visioli F, Hagen TM. Plasma membrane-associated endothelial nitric oxide synthase and activity in aging rat aortic vascular endothelia markedly decline with age. *Arch Biochem Biophys.* 2006 Oct 1;454(1):100-5.

- Soltis EE, Cassis LA. Influence of perivascular adipose tissue on rat aortic smooth muscle responsiveness. *Clin.Exp.Hypertens.A* 1991; 13:277-296
- Song X, Bao M, Li D, Li YM. Advanced glycation in D-galactose induced mouse aging model. *Mech.Ageing Dev.* 1999; 108:239-251
- Spier SA, Laughlin MH, Delp MD. Effects of acute and chronic exercise on vasoconstrictor responsiveness of rat abdominal aorta. *J Appl Physiol* (1985). 1999 Nov;87(5):1752-7.
- Spurgeon HA, Steinbach MF, Lakatta EG. Chronic exercise prevents characteristic age-related changes in rat cardiac contraction. *Am.J.Physiol* 1983; 244:H513-H518
- St-Onge MP, Gallagher D. Body composition changes with aging: the cause or the result of alterations in metabolic rate and macronutrient oxidation? *Nutrition* 2010; 26:152-155
- Sun D, Huang A, Yan EH, Wu Z, Yan C, Kaminski PM, Oury TD, Wolin MS, Kaley G. Reduced release of nitric oxide to shear stress in mesenteric arteries of aged rats. *Am.J.Physiol Heart Circ.Physiol* 2004; 286:H2249-H2256
- Szasz T, Webb RC. Perivascular adipose tissue: more than just structural support. *Clin.Sci.(Lond)* 2012; 122:1-12
- Taddei S, Galetta F, Virdis A, Ghiadoni L, Salvetti G, Franzoni F, Giusti C, Salvetti A. Physical activity prevents age-related impairment in nitric oxide availability in elderly athletes. *Circulation.* 2000 Jun 27;101(25):2896-901.
- Takayanagi I, Onozuka S, Ohtsuki H, Shinkai M. Contractile responses of rat aorta to phenylephrine and serotonin, and aging. *Gen Pharmacol.* 1991;22(1):77-82.
- Takaoka M, Suzuki H, Shioda S, Sekikawa K, Saito Y, Nagai R, Sata M. Endovascular injury induces rapid phenotypic changes in perivascular adipose tissue. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* 2010; 30:1576-1582
- Tanaka LY, Bechara LR, dos Santos AM, Jordão CP, de Sousa LG, Bartholomeu T, Ventura LI, Laurindo FR, Ramires PR. Exercise improves endothelial function: a local analysis of production of nitric oxide and reactive oxygen species. *Nitric Oxide.* 2015 Feb 15;45:7-14
- Tattersall MC, Gangnon RE, Karmali KN, Keevil JG. Women up, men down: the clinical impact of replacing the Framingham Risk Score with the Reynolds Risk Score in the United States population. *PLoS.One.* 2012; 7:e44347
- Tchkonia T, Morbeck DE, Von Zglinicki T, Van Deursen J, Lustgarten J, Scrable H, Khosla S, Jensen MD, Kirkland JL. Fat tissue, aging, and cellular senescence. *Aging Cell* 9: 667–684, 2010
- Thompson SL, Compton DA. Proliferation of aneuploid human cells is limited by a p53-dependent mechanism. *J.Cell Biol.* 2010; 188:369-381

- Tikhonova MA, Yu CH, Kolosova NG, Gerlinskaya LA, Maslennikova SO, Yudina AV, Amstislavskaya TG, Ho YJ. Comparison of behavioral and biochemical deficits in rats with hereditary defined or D-galactose-induced accelerated senescence: evaluating the protective effects of diosgenin. *Pharmacol.Biochem.Behav.* 2014; 120:7-16
- Tosato M, Zamboni V, Ferrini A, Cesari M. The aging process and potential interventions to extend life expectancy. *Clin.Interv.Aging* 2007; 2:401-412
- Trott DW, Gunduz F, Laughlin MH, Woodman CR. Exercise training reverses age-related decrements in endothelium-dependent dilation in skeletal muscle feed arteries. *J.Appl.Physiol* (1985.) 2009; 106:1925-1934
- Trounce I, Byrne E, Marzuki S. Decline in skeletal muscle mitochondrial respiratory chain function: possible factor in ageing. *Lancet* 1989; 1:637-639
- Tsutsui H, Kinugawa S, Matsushima S. Oxidative stress and heart failure. *Am.J.Physiol Heart Circ.Physiol* 2011; 301:H2181-H2190
- Tumer N, Toklu HZ, Muller-Delp JM, Oktay S, Ghosh P, Strang K, Delp MD, Scarpace PJ. The effects of aging on the functional and structural properties of the rat basilar artery. *Physiol Rep.* 2014; 2
- Tung BT, Rodriguez-Bies E, Thanh HN, Le-Thi-Thu H, Navas P, Sanchez VM, Lopez-Lluch G. Organ and tissue-dependent effect of resveratrol and exercise on antioxidant defenses of old mice. *Aging Clin.Exp.Res.* 2015; 27:775-783
- Tunstall-Pedoe H, Kuulasmaa K, Amouyel P, Arveiler D, Rajakangas AM, Pajak A. Myocardial infarction and coronary deaths in the World Health Organization MONICA Project. Registration procedures, event rates, and case-fatality rates in 38 populations from 21 countries in four continents. *Circulation* 1994; 90:583-612
- Ullah F, Ali T, Ullah N, Kim MO. Caffeine prevents d-galactose-induced cognitive deficits, oxidative stress, neuroinflammation and neurodegeneration in the adult rat brain. *Neurochem.Int.* 2015; 90:114-124
- Ulrich P, Cerami A. Protein glycation, diabetes, and aging. *Recent Prog.Horm.Res.* 2001; 56:1-21
- Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem.Biol.Interact.* 2006; 160:1-40
- van der Loo B, Labugger R, Skepper JN, Bachschmid M, Kilo J, Powell JM, Palacios-Callender M, Erusalimsky JD, Quaschnig T, Malinski T, Gygi D, Ullrich V, Luscher TF. Enhanced peroxynitrite formation is associated with vascular aging. *J.Exp.Med.* 2000; 192:1731-1744
- Van RH, Richardson A. Oxidative damage to mitochondria and aging. *Exp.Gerontol.* 2001; 36:957-968

- Vaupel JW. Biodemography of human ageing. *Nature* 2010; 464:536-542
- vB HJ, Iachine I, Skyttte A, Vaupel JW, McGue M, Koskenvuo M, Kaprio J, Pedersen NL, Christensen K. Genetic influence on human lifespan and longevity. *Hum.Genet.* 2006; 119:312-321
- Victorio JA, Fontes MT, Rossoni LV, Davel AP. Different Anti-Contractile Function and Nitric Oxide Production of Thoracic and Abdominal Perivascular Adipose Tissues. *Front Physiol* 2016; 7:295
- Virmani R, Avolio AP, Mergner WJ, Robinowitz M, Herderick EE, Cornhill JF, Guo SY, Liu TH, Ou DY, O'Rourke M. Effect of aging on aortic morphology in populations with high and low prevalence of hypertension and atherosclerosis. Comparison between occidental and Chinese communities. *Am.J.Pathol.* 1991; 139:1119-1129
- Visser M, Pahor M, Taaffe DR, Goodpaster BH, Simonsick EM, Newman AB, Nevitt M, Harris TB. Relationship of interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha with muscle mass and muscle strength in elderly men and women: the Health ABC Study. *J.Gerontol.A Biol.Sci.Med.Sci.* 2002; 57:M326-M332
- Vlassara H, Striker LJ, Teichberg S, Fuh H, Li YM, Steffes M. Advanced glycation end products induce glomerular sclerosis and albuminuria in normal rats. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 1994; 91:11704-11708
- Wang H, da SJ, Alencar A, Zapata-Sudo G, Lin MR, Sun X, Ahmad S, Ferrario CM, Groban L. Mast Cell Inhibition Attenuates Cardiac Remodeling and Diastolic Dysfunction in Middle-aged, Ovariectomized Fischer 344 x Brown Norway Rats. *J.Cardiovasc.Pharmacol.* 2016; 68:49-57
- Wang M, Shah AM. Age-associated pro-inflammatory remodeling and functional phenotype in the heart and large arteries. *J.Mol.Cell Cardiol.* 2015; 83:101-111
- Wang S, Sun QQ, Xiang B, Li XJ. Pancreatic islet cell autophagy during aging in rats. *Clin.Invest Med.* 2013; 36:E72-E80
- Warburton DE, Nicol CW, Bredin SS. Health benefits of physical activity: the evidence. *CMAJ.* 2006; 174:801-809
- Watts SW, Shaw S, Burnett R, Dorrance AM. Indoleamine 2,3-dioxygenase in periaortic fat: mechanisms of inhibition of contraction. *Am.J.Physiol Heart Circ.Physiol* 2011; 301:H1236-H1247
- Wei M, Mahady GB, Liu D, Zheng ZS, Lu Y. Astragalin, a Flavonoid from *Morus alba* (Mulberry) Increases Endogenous Estrogen and Progesterone by Inhibiting Ovarian Granulosa Cell Apoptosis in an Aged Rat Model of Menopause. *Molecules.* 2016; 21

Wiegman DL, Harris PD, Joshua IG, Miller FN. Decreased vascular sensitivity to norepinephrine following exercise training. *J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol.* 1981 Aug;51(2):282-7.

Wenzel P, Schuhmacher S, Kienhofer J, Muller J, Hortmann M, Oelze M, Schulz E, Treiber N, Kawamoto T, Scharffetter-Kochanek K, Munzel T, Burkle A, Bachschmid MM, Daiber A. Manganese superoxide dismutase and aldehyde dehydrogenase deficiency increase mitochondrial oxidative stress and aggravate age-dependent vascular dysfunction. *Cardiovasc.Res.* 2008; 80:280-289

White RR, Milholland B, de BA, Curran S, Laberge RM, van SH, Campisi J, Maslov AY, Vijg J. Controlled induction of DNA double-strand breaks in the mouse liver induces features of tissue ageing. *Nat.Comm.* 2015; 6:6790

Williams PT, Wood PD. The effects of changing exercise levels on weight and age-related weight gain. *Int.J.Obes.(Lond)* 2006; 30:543-551

Withers SB, Agabiti-Rosei C, Livingstone DM, Little MC, Aslam R, Malik RA, Heagerty AM. Macrophage activation is responsible for loss of anticontractile function in inflamed perivascular fat. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* 2011; 31:908-913

Wong YT, Ruan R, Tay FE. Relationship between levels of oxidative DNA damage, lipid peroxidation and mitochondrial membrane potential in young and old F344 rats. *Free Radic.Res.* 2006; 40:393-402

Woods JA, Vieira VJ, Keylock KT. Exercise, inflammation, and innate immunity. *Immunol.Allergy Clin.North Am.* 2009; 29:381-393

Wrann CD, White JP, Salogiannis J, Laznik-Bogoslavski D, Wu J, Ma D, Lin JD, Greenberg ME, Spiegelman BM. Exercise induces hippocampal BDNF through a PGC-1alpha/FNDC5 pathway. *Cell Metab* 2013; 18:649-659

Xia N, Horke S, Habermeyer A, Closs EI, Reifenberg G, Gericke A, Mikhed Y, Munzel T, Daiber A, Forstermann U, Li H. Uncoupling of Endothelial Nitric Oxide Synthase in Perivascular Adipose Tissue of Diet-Induced Obese Mice. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* 2016; 36:78-85

Xia N, Li H. The role of perivascular adipose tissue in obesity-induced vascular dysfunction. *Br.J.Pharmacol.* 2016;

Xu W, Chen J, Lin J, Liu D, Mo L, Pan W, Feng J, Wu W, Zheng D. Exogenous H₂S protects H9c2 cardiac cells against high glucose-induced injury and inflammation by inhibiting the activation of the NF-kappaB and IL-1beta pathways. *Int.J.Mol.Med.* 2015; 35:177-186

Yang H, Qu Z, Zhang J, Huo L, Gao J, Gao W. Ferulic acid ameliorates memory impairment in d-galactose-induced aging mouse model. *Int.J.Food Sci.Nutr.* 2016; 67:806-817

Yashin AI, Arbeev KG, Akushevich I, Ukraintseva SV, Kulminski A, Arbeeva LS, Culminskaya I. Exceptional survivors have lower age trajectories of blood glucose: lessons from longitudinal data. *Biogerontology*. 2010; 11:257-265

Yazdanyar A, Newman AB. The burden of cardiovascular disease in the elderly: morbidity, mortality, and costs. *Clin.Geriatr.Med*. 2009; 25:563-77, vii

Yudkin JS, Eringa E, Stehouwer CD. "Vasocrine" signalling from perivascular fat: a mechanism linking insulin resistance to vascular disease. *Lancet* 2005; 365:1817-1820

Zhen J, Lu H, Wang XQ, Vaziri ND, Zhou XJ. Upregulation of endothelial and inducible nitric oxide synthase expression by reactive oxygen species. *Am.J.Hypertens*. 2008; 21:28-34

Zhuang Y, Lyga J. Inflammaging in skin and other tissues - the roles of complement system and macrophage. *Inflamm.Allergy Drug Targets*. 2014; 13:153-161

Ziegler DV, Wiley CD, Velarde MC. Mitochondrial effectors of cellular senescence: beyond the free radical theory of aging. *Aging Cell* 2015; 14:1-7

10. ÖZGEÇMİŞ

Adı	Zarife Nigâr	Soyadı	Özdemir Kumral
Doğum Yeri	Üsküdar	Doğum Tarihi	11.08.1984
Uyruğu	TC	Tel	+90 505 800 70 88
E-mail	zarifeozdemir@gmail.com		

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Doktora/Uzmanlık		
Yüksek Lisans	Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı	2010
Lisans	Selçuk Üniversitesi Eğitim Fakültesi Biyoloji Öğretmenliği	2007
Lise	Ümraniye Anadolu Lisesi	2002

İş Deneyimi

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
	Araştırma Görevlisi	Marmara Üniversitesi	2009- devam ediyor

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*
İngilizce	Çok iyi	İyi	İyi

Yabancı Dil Sınav Notu #								
YÖKDİL	ÜDS	IELTS	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CPE
83,750	67,5							

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı	75	75	75
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Windows programları	Çok iyi

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendiriniz.

EK :

Ödüller

- 1) **2010**, The effect of nicotine consumption and deprivation on damage of multi-organ failure caused by sepsis: Role of Neutrophils. 3. International Congress on Cell Membranes and Oxidative Stress: Focus on Calcium Signaling and TRP Channels- **Third prize for poster presentation.**
- 2) **2010**, Anjiyotensin II-bağımlı renovasküler hipertansiyon modelinde orta derecede egzersizin kalp ve böbrek dokularında antioksidan etkisi. 36th Turkish Society of Physiological Sciences Congress **Third prize for oral presentation.**
- 3) **2011**, Nesfatin-1 ameliorates sepsis-induced remote organ injury: the role of oxidant- antioxidant status and neutrophils. European (FEPS)-Türk Fizyoloji (TFBD) Kongresi – **European Young Physiologist Symposium. Second prize for oral presentation.**
- 4) **2011**, Sıçanlarda çeşitli kemoterapi rejimlerinin hepatotoksitesitesi üzerine atorvastatin ve *Ginkgo biloba*'nın etkileri. XXIII. Ulusal Biyokimya Kongresi
- 5) **2011**, The anti-inflammatory and neuroprotective effects of ghrelin in subarachnoid hemorrhage-induced oxidative brain damage in rats. **Turkish Neurosurgical Society. Scientific research prize**

- 6) **2012**, Nesfatin-1 Sıçanda İndometazine bağlı mide ülserinde antioksidan etkisi aracılığıyla ülser hasarını hafifletir. MarmaraTıbbi Hizmetleri Geliştirme ve Yardım Derneği **Scientific research prize**
- 7) **2015** Estrogen alleviates acetic acid-induced gastric or colonic damage via both ER α - and ER β -mediated and direct antioxidant mechanisms in rats. Inflammation. 2014 Jun;37(3):694-705. MarmaraTıbbi Hizmetleri Geliştirme ve Yardım Derneği **Scientific research prize**

SCI, SSCI, AHCI indekslerine giren dergilerde yayınlanan makaleler

- 1) Erşahin M, Toklu HZ, Erzik C, Cetinel S, Akakin D, Velioğlu-Oğünç A, Tetik S, **Ozdemir ZN**, Sener G, Yeğen BC. The anti-inflammatory and neuroprotective effects of ghrelin in subarachnoid hemorrhage-induced oxidative brain damage in rats. J Neurotrauma. 2010 Jun;27(6):1143-55. doi: 10.1089/neu.2009.1210.
- 2) Erşahin M, **Özdemir Z**, Özşavcı D, Akakin D, Yeğen BÇ, Reiter RJ, Sener G. Melatonin treatment protects against spinal cord injury induced functional and biochemical changes in rat urinary bladder. J Pineal Res. 2012 Apr;52(3):340-8.
- 3) Cevik O, Sener A, **Kumral-Ozdemir ZN**, Cetinel S, Altintas A, Yegen BC, Yarat A. Protective and Therapeutic Effects of Polygonum cognatum Meissn Aqueous Extract in Experimental Colitis. Journal of Ethnopharmacology, JEP-S-12-01549-4, 2012 (Submitted)
- 4) Duman DG, **Kumral ZN**, Ercan F, Deniz M, Can G, Çağlayan Yeğen B. *Saccharomyces boulardii* ameliorates clarithromycin- and methotrexate-induced intestinal and hepatic injury in rats. Br J Nutr. 2013 Jan 2:1-7.
- 5) Pamukcu O, **Kumral ZN**, Ercan F, Yegen BC, Ertem D. Anti-inflammatory effect of obestatin and ghrelin in dextran sulfate sodium-induced colitis in rats. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2013 Aug;57(2):211-8. doi: 10.1097/MPG.0b013e318294711e.
- 6) Akakin D, Kiran D, Ozkan N, Erşahin M, **Ozdemir-Kumral ZN**, Yeğen B, Sener G. Protective effects of melatonin against spinal cord injury induced oxidative damage in rat kidney: A morphological and biochemical study. Acta Histochem. 2013 Oct;115(8):827-34.
- 7) **Kumral ZN**, Memi G, Ercan F, Yeğen BC. Estrogen alleviates acetic acid-induced gastric or colonic damage via both ER α - and ER β -mediated and direct antioxidant mechanisms in rats. Inflammation. 2014 Jun;37(3):694-705.
- 8) Koç M, **Kumral ZN**, Özkan N, Memi G, Kaçar Ö, Bilsel S, Çetinel Ş, Yeğen BÇ. Obestatin improves ischemia/reperfusion-induced renal injury in rats via its antioxidant and anti-apoptotic effects: role of the nitric oxide. Peptides. 2014 Oct;60:23-31.

- 9) Kolgazi M, Cantali-Ozturk C, Deniz R, **Ozdemir-Kumral ZN**, Yuksel M, Sirvanci S, Yeğen BC. Nesfatin-1 alleviates gastric damage via direct antioxidant mechanisms. J Surg Res. 2015 Jan;193(1):111-8.
- 10) Yıldız N, Alpay H, Tuğtepe H, **Özdemir Kumral ZN**, Akakın D, İlki A, Şener G, Ç Yeğen B. Intravesical hyaluronic acid treatment improves bacterial cystitis and reduces cystitis-induced hypercontractility in rats. Int J Urol. 2015 Jun;22(6):598-603.
- 11) Kerimoğlu O, Şahbaz S, Şehirli Ö, **Ozdemir ZN**, Çetinel Ş, Dortunç B, Şener G. Pharmacodynamical Evaluation Of Matrix Type Transdermal Therapeutic Systems Containing Captopril. Acta Pol Pharm. 2015 Jul-Aug;72(4):799-806.
- 12) **Kumral ZN**, Sener G, Ozgur S, Koc M, Suleymanoglu S, Hurdag C, Yegen BC. Regular exercise alleviates renovascular hypertension-induced cardiac/endothelial dysfunction and oxidative injury in rats. J Physiol Pharmacol. 2016 Feb;67(1):45-55.

Uluslararası kongrelerde sunumlar

- 1) **Özdemir ZN**, Memi G, Ercan F, Yeğen BÇ. Estrogens possess anti-inflammatory effect in ulcer and colitis via both estrogen receptor (ER)-alpha and ER-beta. XXXVI. International Congress of Physiological Sciences (IUPS2009), Kyoto, JAPAN, 2009 (The Journal of Physiological Sciences, vol 59, Suppl. 1, sayfa 227)
- 2) Cevik O, Sener A, **Ozdemir ZN**, Altintas A, Yegen BC, Yarat A. Polygonum cognatum meissn extract prevents oxidative damage in colonic tissue of rats with ulcerative colitis. 3. International Meeting on Pharmacy Pharmaceutical Sciences, İstanbul, 2010, TURKEY
- 3) Cevik O, Sener A, Cetinel S, **Ozdemir ZN**, Tuzlaci E, Yegen BC, Yarat A. Anti-inflammatory effects of polygonum cognatum meissn extract treatment in rats with ulcerative colitis. 3. International Meeting on Pharmacy Pharmaceutical Sciences, İstanbul, TURKEY, 2010
- 4) Yavuz Y, Memi G, **Özdemir Z N**, Yeğen C, Yeğen B. Effect of intragastric prostheses on gastric emptying and motility. Surgery for obesity and related disease congress. Lasvegas, USA (**Surgery for Obesity and related Diseases**, Volume 6 (3) **Elsevier** – May 1, 2010)
- 5) **Özdemir ZN**, Özbeyli D, Özdemir AF, Karaaslan MB, Kaytaz K, Kara MF, Tok OE, Ercan F, Yeğen BÇ. The effect of nicotine consumption and deprivation on damage of multi-organ failure caused by sepsis: Role of Neutrophils. 3. International Congress on Cell Membranes and Oxidative Stress: Focus on Calcium Signaling and TRP Channels, 22-27 Haziran 2010, Isparta, TURKEY

- 6) **Özdemir ZN**, Şener G, Özgür S, Koç M, Süleymanoğlu S, Yeğen BÇ. Regular swimming exercise alleviates renal oxidative injury induced by angiotensin II-dependent hypertension in rats. 48. European Renal Association- European Dialysis and Transplant Association Congress, 23-26 Haziran 2011, Prague, CZECH REPUBLIC
- 7) **Özdemir ZN**, Şener G, Hürdağ C, Yeğen BÇ. Angiotensin II-dependent renovascular hypertension and endothelial dysfunction are improved by regular swimming exercise. British Society for Neuroendocrinology Annual Meeting, 2011, Cambridge, UK
- 8) **Özdemir ZN**, Özgür S, Koç M, Şener G, Yeğen BÇ. Angiotensin II-dependent renovascular hypertension and cardiac dysfunction are improved by regular swimming exercise: role of the oxidant-antioxidant balance. Physiology 2011, Oxford, UK
- 9) **Özdemir ZN**, Cumhur A, Oluk Aİ, Hoşcan A, Önem İ, Contuk G, Ercan F, Yeğen BÇ. Nesfatin-1 ameliorates sepsis-induced remote organ injury: the role of oxidant- antioxidant status and neutrophils. Avrupa Fizyoloji Kongresi, FEPS ve Türk Fizyolojik Bilimler Derneği ortak düzenleme, 3-7 Eylül 2011, İstanbul, TURKEY
- 10) Memi G, Şen LS, **Özdemir ZN**, Kıran D, Ercan F, Yeğen BÇ, Yeğen C. Obestatin alleviates indomethacin-induced gastric mucosal injury via the inhibition of neutrophil recruitment. Avrupa Fizyoloji Kongresi, FEPS ve Türk Fizyolojik Bilimler Derneği ortak düzenleme, 3-7 Eylül 2011, İstanbul, TURKEY
- 11) Memi G, Dağdeviren Ö, **Özdemir ZN**, Yeğen C, Yeğen BÇ, Yavuz Y. The effects of intragastric prosthesis placement and roux-en-y gastric bypass surgery on postprandial plasma levels of ghrelin, leptin and obestatin. Avrupa Fizyoloji Kongresi, FEPS ve Türk Fizyolojik Bilimler Derneği ortak düzenleme, 3-7 Eylül 2011, İstanbul, TURKEY
- 12) Koç M, **Ozdemir Z**, Ozkan N, Cetinel Ş, Yeğen B. Apelin Ameliorates Renal Ischemia/Reperfusion Injury in Rats. ASN Kidney Week, 8-13 Kasım 2011, Philadelphia, PA, USA (*Journal of the American Society of Nephrology*, 2011;22;375A)
- 13) Koc M, **Ozdemir Z**, Memi G, Ozkan N, Cetinel S, Yeğen B. Obestatin Improves Renal Function and Ameliorates Renal Ischemia/Reperfusion Injury in Rats Via Neutrophil-Dependent Mechanism. ASN Kidney Week, 8-13 Kasım 2011, Philadelphia, PA, USA (*Journal of the American Society of Nephrology*, 2011;22;340A)
- 14) **Özdemir ZN**, Ozdemir AF, Karaaslan MB, Ozbeyli D, Yeğen BÇ. Chronic nicotine intake ameliorates sepsis-induced multi-organ failure in rats. Euroanaesthesia 2012, 9-12 Haziran 2012, Paris, FRANCE
- 15) **Özdemir ZN**, Cumhur A, Oluk Aİ, Hoşcan A, Önem İ, Contuk G, Ercan F, Yeğen BÇ. Nesfatin-1 ameliorates sepsis-induced cerebral and renal damage:

The role of oxidant-antioxidant status and neutrophils. 44. Annual Scientific Meeting of the European Society for Paediatric Nephrology 14-17 Eylül 2011, Dubrovnik, CROATIA (Journal of the International Pediatric Nephrology Association, special edition on renal developments, vol 26,Suppl. 9, sayfa 1622).

- 16) Yildiz N, Tuğtepe H, **Özdemir ZN**, Akakın D, İlki A, Sener G, Yeğen BÇ, Alpay H. Intravesical hyaluronic acid treatment improves bacterial cystitis and reduces cystitis-induced hypercontractility in rats. 44. Annual Scientific Meeting of the European Society for Paediatric Nephrology 14-17 Eylül 2011, Dubrovnik, CROATIA (Journal of the International Pediatric Nephrology Association, special edition on renal developments, vol 26,Suppl. 9, sayfa 1704).
- 17) Kolgazi M, C Cantali, Ozcelik R, Deniz R, **Ozdemir Kumral ZN**, Yuksel M, Sirvanci S, Yegen B. Nesfatin-1 ameliorates indomethacin-induced gastric damage in rats via its antioxidant effects. Joint FEPS and Spanish Physiological Society Scientific Congress 2012, 8-12 Eylül 2012.Santiago De Compostela, SPAIN
- 18) Altuntas U, Alpay H, Yildiz N, Tugtepe H, Dede F, Filinte D, Baykan O, **Kumral ZNO**, Erzik C, Okkabaz N. Protective Effect Of Aliskiren On Renal Scar Formation In Experimentally Induced Acute Pyelonephritis, ESPN, 2014, PEDIATRIC NEPHROLOGY, Porto, PORTUGAL
- 19) **Zarife N. Özdemir Kumral**, Cigdem Cantali Ozturk, Meltem Kolgazi, Meral Yuksel, Berrak C Yegen. Nesfatin-1 alleviates acetic acid-induced gastric ulcer healing via the activation of cyclooxygenase (COX) pathway. Physiology 2015, Cardiff, UK

Ulusal dergilerde yayınlar

- 1) Memi G, **Özdemir ZN**, Darıcı F, Azizoğlu I, Kaya T, Özdil T, Ercan F, Yeğen BÇ. Sıçanlarda yanıkla indüklenen anksiyete artışına ve ağrı algısına santral ve periferik uygulanan oksitosinin etkisi. Marmara Pharmaceutical Journal, 2011, 15;2: 084-088
- 2) Okuyan B, İzzettin FV, Bingöl-Özakpınar Ö, Turan P, **Ozdemir ZN**, Sancar M, Çiraklı Z, Clark PM, Ercan F. The effects of *Ginkgo biloba* on nephrotoxicity induced by cisplatin-based chemotherapy protocols in rats. IUFs Journal of Biology, 2012, 71;2: 103-111
- 3) **Özdemir ZN**, Tazegül G, Kuru P, Bilgin S, Menteşe T, Erzik C, Şirvancı S, Yeğen B Nicotine alleviates colitis-induced damage in rats via its anti-oxidative activity. Marmara Medical Journal Date accepted Feb 19, 2014

Ulusal kongrelerde sunumlar

- 1) **Özdemir ZN**, Memi G, Ercan F, Yeğen BÇ. Mide ülserinde östrojenin anti-inflamatuvar etkisinin araştırılması: östrojen-beta reseptörlerinin rolü. 34. Ulusal Fizyoloji Kongresi, Palandöken, Erzurum, 6-10 Ekim 2008.
- 2) Memi G, **Özdemir ZN**, Ercan F, Yeğen BÇ. Östrojenin deneysel kolit modelindeki anti-inflamatuvar etkisinde ER-beta reseptörlerinin rolü. 34. Ulusal Fizyoloji Kongresi, Palandöken, Erzurum, 6-10 Ekim 2008.
- 3) **Özdemir ZN**, Memi G, Ercan F, Yeğen BÇ. Östrojen reseptörlerinin kolit ve ülser patogeneziindeki rolünün araştırılması. Türk Fizyolojik Bilimler Derneği 35. Ulusal Fizyoloji Kongresi, Ankara, 30 Eylül – 3 Ekim 2009
- 4) **Özdemir ZN**, Turan N, Novruzov E, Yeğen BÇ. Oksitosinin sıçanda mide boşalma hızı üzerine etkisi ve kolesistokin reseptörlerinin rolü. Türk Fizyolojik Bilimler Derneği 35. Ulusal Fizyoloji Kongresi, Ankara, 30 Eylül – 3 Ekim 2009
- 5) Toklu HZ, Erşahin M, Erzik C, Çetinel Ş, Velioğlu-Öğünç A, Tetik Ş, **Özdemir ZN**, Şener G, Yeğen BÇ. Ghrelin subaraknoid kanamalı sıçanlarda oksidatif stresi ve kan- beyin bariyeri geçirgenliğini azaltır. Türk Fizyolojik Bilimler Derneği 35. Ulusal Fizyoloji Kongresi, Ankara, 30 Eylül – 3 Ekim 2009
- 6) Memi G, **Özdemir ZN**, Yeğen C, Yeğen BÇ, Yavuz Y. İntragastrik balon uygulamasının mide boşalma hızı ve mide motilitesini düzenleyen mekanizmalar üzerine etkisi. Türk Fizyolojik Bilimler Derneği 35. Ulusal Fizyoloji Kongresi, Ankara, 30 Eylül – 3 Ekim 2009
- 7) Kocakaya O, Deniz M, **Özdemir ZN**, Memi G, Baş E, Çelikel Ç, Eren F, Koç M, Yeğen B, Çonturk G, Ercan F, İmeryüz N. Glukagon benzeri peptid-2'nin (GLP-2) deneysel artrit modelinde intestinal permeabilite ve gastrointestinal inflamasyon üzerindeki etkileri. 26. Ulusal Gastroenteroloji Haftası, Ankara, 14-18 Ekim 2009
- 8) **Özdemir ZN**, Erzik C, Tazegül G, Kuru P, Bilgin S, Menteşe T, Şirvancı S, Yeğen BÇ. Nikotinin deneysel kolit modelindeki olası koruyucu rolünün oksidan hasar parametreleri açısından değerlendirilmesi. XI. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi, Bodrum, 28-31 Ekim 2009
- 9) **Özdemir ZN**, Şener G, Yeğen BÇ. Anjiyotensin-II bağımlı renovasküler hipertansiyon (RVH) modelinde orta derecede egzersizin kalp ve böbrek dokularında antioksidan etkisi. 36. Ulusal Fizyoloji Kongresi, Edirne, 14-17 Eylül 2010
- 10) Ekiz A, Toklu HZ, **Özdemir ZN**, Erşahin M, Tuğtepe H, Demirören E, Özsavcı D, Velioğlu-Öğünç A, Akakın D, Kıran D, Yeğen B. Omurilik yaralanmasına bağlı olarak mesanede oluşan değişikliklere alfa lipoik asidin etkisi. 10. Ulusal Sinirbilim kongresi, İstanbul, 9-12 Nisan 2011
- 11) **Özdemir ZN**, Özdemir AF, Karaaslan MB, Kaytaş K, Kara MF, Tok OE, Ercan F, Özbeyli D, Yeğen BÇ. Kronik nikotin alımının ve yoksunluğunun

- sıçanlarda sepsise bağlı ileum ve karaciğer hasarına etkisi: Nötrofillerin rolü. 28. Türk Gastroenteroloji Haftası, Antalya, 16-20 Kasım 2011 (The Turkish Journal of Gastroenterology vol 22, sup 1, sf 281)
- 12) Okuyan B, İzzettin FV, Bingöl-Özakpınar Ö, Turan P, **Özdemir ZN**, Sancar M, Çıraklı Z, Clark PM, Ercan F. Sıçanlarda çeşitli kemoterapi rejimlerinin hepatotoksitesi üzerine atorvastatin ve ginkgo biloba'nın etkileri. 23. Ulusal Biyokimya Kongresi, Adana, 29 Kasım-2 Aralık 2011 (Turkish Journal of Biochemistry vol 36, special Issue 1)
- 13) Memi G, **Özdemir-Kumral ZN**, Şen LS, Kıran D, Ercan F, Yeğen BÇ, Yeğen C. Obestatin İndometazin ile İndüklenen Mide Hasarında Artmış Mide Kan Akımını Azaltıp Dokuya Nötrofil Göçünü İnhibe Ederek Koruyucu Rol Oynar. 6. Cerrahi Araştırma kongresi, Ankara, 8-10 Aralık 2011
- 14) Çantalı Ç, Kolgazi M, Özçelik R, Deniz R, Yüksel M, **Özdemir-Kumral ZN**, Şirvancı S, Yeğen BÇ. Nesfatin-1 Sıçanda İndometazine Bağlı Mide Ülserinde Antioksidan Etkisi Aracılığıyla Ülser Hasarını Hafifletir. 6. Cerrahi Araştırma kongresi, Ankara, 8-10 Aralık 2011
- 15) **Özdemir-Kumral ZN**, Cumhuriyet A, Hoşcan A, Oluk Aİ, Önem İ, Çonturk G, Ercan F, Yeğen BÇ. Nesfatin-1 Oksidan-Antioksidan Dengesini Koruyarak Sepsiste Uzak Organ Hasarını Hafifletici Rol Oynar. 6. Cerrahi Araştırma kongresi, Ankara, 8-10 Aralık 2011
- 16) **Özdemir ZN**, Özdemir AF, Karaaslan MB, Kaytaş K, Kara MF, Tok OE, Ercan F, Özbeyli D, Koç M, Yeğen BÇ. Sıçanlarda Sepsisle İndüklenen Kardiyopulmoner ve Renal Hasara Nikotin Tedavisinin veya Nikotin Yoksunluğunun Etkileri. 6. Cerrahi Araştırma kongresi, Ankara, 8-10 Aralık 2011
- 17) Çantalı Ç, Kolgazi M, **Özdemir-Kumral ZN**, Deniz R, Yüksel M, Şirvancı S, yeğen BÇ. Sıçanda İndometazinle Oluşturulan Mide Ülseri Modelinde Nesfatin-1'in Koruyucu Etkisinin Araştırılması. 38.Ulusal Fizyoloji Kongresi, Trabzon, 25-29 Eylül 2012
- 18) Memi G, **Özdemir-Kumral ZN**, Şen LS, Kıran D, Ercan F, Yeğen CŞ, Yeğen BÇ. İndometazine bağlı artmış mide mukozal kan akımı ve oksidan hasarında obestatinin etkisi: Vagusun rolü. 38.Ulusal Fizyoloji Kongresi, Trabzon, 25-29 Eylül 2012
- 19) **Özdemir-Kumral ZN**, Güney Duman D, Ercan F, Deniz M, Can G, Yeğen BÇ. Metotreksata bağlı gelişen ince bağırsak ve karaciğer hasarında *Saccharomyces boulardii*'nin iyileştirici etkisi. 38.Ulusal Fizyoloji Kongresi, Trabzon, 25-29 Eylül 2012
- 20) Altıntaş U, Alpay H, Yıldız N, Tugtepe H, Dede F, Filinte D, Baykan O, **Kumral ZNO**, Erzik C, Okkabaz N. Deneysel Piylonefrit modelinde aliskiren kullanımının böbrek skarı gelişimine karşı koruyucu etkisinin araştırılması. 8. Ulusal Çocuk Nefroloji Kongresi (29 Ekim- 1 Kasım 2014, Antalya)



MARMARA ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
PROJE ONAY FORMU

BAŞVURU BİLGİLERİ	PROTOKOL KODU	07 2015 mar	Çalışma Doktora	
	PROJE ADI	Yüzme Egzersizi ve Yaşlanmaya Bağlı Vasküler Disfonksiyon:İrisin Peptidinin Rolü		
	SORUMLU ARAŞTIRICI ÜNVANI/ADI	Prof.Dr.Hızır KURTEL		
	ARAŞTIRMA MERKEZİ	DEHAMER		
	DESTEKLEYİCİ			

KARAR BİLGİLERİ	Tarih	10.03.2015
	Yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve gerçekleştirilmesinde sakınca bulunmadığı için Kurulumuzca onaylanmasına oy birliği ile karar verilmiştir. Onay sonrasında yapılacak her türlü proje değişiklikleri (katılımcılar, başlık vb.) veya protokol değişikliklerinin Etik Kurula bildirilerek proje onayının yenilenmesi gerekmektedir.	

ETİK KURUL BİLGİLERİ					
ÇALIŞMA ESASI	Deney hayvanları ile yapılacak olan bilimsel araştırma, test, sağlık hizmetleri uygulamaları ve eğitim-öğretim gibi temel etkinliklerde kullanılan yöntem ve materyaller ile ilgili etik standartları gözetmek, etik ilkeler doğrultusunda görüş bildirmek, araştırma önerilerini incelemek ve sertifikası olmayanların deney hayvanı kullanmalarını engellemektir.				

ÜYELER					
Unvanı / Adı / Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu / EK Üyeligi	Onaylanan Proje ile İlişkisi		Toplantıya katılım
Prof. Dr. Gökseil ŞENER	Farmakoloji	M.Ü. Tıp Fakültesi ve Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi Müdürü	Var	Yok	Evet Hayır
Prof. Dr. İnci ALICAN	Fizyoloji	Yürütücü Sekreteri	Var	Yok	Evet Hayır
Prof. Dr. Ayşen YARAT	Biyokimya	M.Ü. Dış Hekimliği Fakültesi	Var	Yok	Evet Hayır
Doç. Dr. Serap ŞIRVanci	Histoloji Embriyoloji ABD	M.Ü. Tıp Fakültesi	Var	Yok	Evet Hayır
Doç. Dr. Rezzan AKER	Farmakoloji	M.Ü. Tıp Fakültesi	Var	Yok	Evet Hayır
Doç. Dr. Gürkan SERT	Tıp Tarihi ve Etik	M.Ü. Tıp Fakültesi	Var	Yok	Evet Hayır
Vet. Hek. Dilek ÖZBEYLİ	Veteriner Hekim	M.Ü. Tıp Fakültesi ve Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi Sorumlu Veterineri	Var	Yok	Evet Hayır
Bio. Arif GÜMÜŞ	Biyoloji	İstanbul Hıfzıssıhha Enstitüsü Müdürlüğü, Kurumla ilişkisi olmayan TC vatandaşı üye	Var	Yok	Evet Hayır
Bilal AYĞOR	Emekli Memur	Kurumla ilişkisi olmayan TC vatandaşı üye	Var	Yok	Evet Hayır

References

Abarbanell, A. M., Coffey, A. C., Fehrenbacher, J. W., Beckman, D. J., Herrmann, J. L., Weil, B., & Meldrum, D. R. (2009). Proinflammatory cytokine effects on mesenchymal stem cell therapy for the ischemic heart. *Ann. Thorac. Surg.* 88, 1036-1043, doi:S0003-4975(09)00383-X [pii];10.1016/j.athoracsur.2009.02.093 [doi].

Acosta, J. I., Mayer, L., Talboom, J. S., Tsang, C. W., Smith, C. J., Enders, C. K., & Bimonte-Nelson, H. A. (2009). Transitional versus surgical menopause in a rodent model: etiology of ovarian hormone loss impacts memory and the acetylcholine system. *Endocrinology* 150, 4248-4259, doi:en.2008-1802 [pii];10.1210/en.2008-1802 [doi].

Ahima, R. S. & Flier, J. S. (2000). Adipose tissue as an endocrine organ. *Trends Endocrinol. Metab* 11, 327-332, doi:S1043-2760(00)00301-5 [pii].

Araujo, H. N., Valgas da Silva, C. P., Sponton, A. C., Clerici, S. P., Davel, A. P., Antunes, E., Zanesco, A., & Delbin, M. A. (2015). Perivascular adipose tissue and vascular responses in healthy trained rats. *Life Sci.* 125, 79-87, doi:S0024-3205(15)00058-2 [pii];10.1016/j.lfs.2014.12.032 [doi].

Asghar, M., George, L., & Lokhandwala, M. F. (2007). Exercise decreases oxidative stress and inflammation and restores renal dopamine D1 receptor function in old rats. *Am. J. Physiol Renal Physiol* 293, F914-F919, doi:00272.2007 [pii];10.1152/ajprenal.00272.2007 [doi].

Aydin, S., Yanar, K., Atukeren, P., Dalo, E., Sitar, M. E., Uslu, E., Caf, N., & Cakatay, U. (2012). Comparison of oxidative stress biomarkers in renal tissues of D-galactose induced, naturally aged and young rats. *Biogerontology.* 13, 251-260, doi:10.1007/s10522-011-9370-3 [doi].

Bartelt, A. & Heeren, J. (2014). Adipose tissue browning and metabolic health. *Nat. Rev. Endocrinol.* 10, 24-36, doi:nrendo.2013.204 [pii];10.1038/nrendo.2013.204 [doi].

Batra, A. & Siegmund, B. (2012a). The role of visceral fat. *Dig. Dis.* 30, 70-74, doi:000335722 [pii];10.1159/000335722 [doi].

Batra, A. & Siegmund, B. (2012b). The role of visceral fat. *Dig. Dis.* 30, 70-74, doi:000335722 [pii];10.1159/000335722 [doi].

Bhavnani, B. R. (2003). Estrogens and menopause: pharmacology of conjugated equine estrogens and their potential role in the prevention of neurodegenerative diseases such as Alzheimer's. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 85, 473-482, doi:S0960076003002206 [pii].

Blagosklonny, M. V. (2003). Cell senescence and hypermitogenic arrest. *EMBO Rep.* 4, 358-362, doi:10.1038/sj.embor.embor806 [doi];embor806 [pii].

- Blankenberg, S., Luc, G., Ducimetiere, P., Arveiler, D., Ferrieres, J., Amouyel, P., Evans, A., Cambien, F., & Tiret, L. (2003). Interleukin-18 and the risk of coronary heart disease in European men: the Prospective Epidemiological Study of Myocardial Infarction (PRIME). *Circulation* 108, 2453-2459, doi:10.1161/01.CIR.0000099509.76044.A2 [doi];01.CIR.0000099509.76044.A2 [pii].
- Bostrom, P., Wu, J., Jedrychowski, M. P., Korde, A., Ye, L., Lo, J. C., Rasbach, K. A., Bostrom, E. A., Choi, J. H., Long, J. Z., Kajimura, S., Zingaretti, M. C., Vind, B. F., Tu, H., Cinti, S., Hojlund, K., Gygi, S. P., & Spiegelman, B. M. (2012). A PGC1-alpha-dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. *Nature* 481, 463-468, doi:nature10777 [pii];10.1038/nature10777 [doi].
- Bostrom, P. A., Graham, E. L., Georgiadi, A., & Ma, X. (2013). Impact of exercise on muscle and nonmuscle organs. *IUBMB. Life* 65, 845-850, doi:10.1002/iub.1209 [doi].
- Brandes, R. P., Fleming, I., & Busse, R. (2005). Endothelial aging. *Cardiovasc. Res.* 66, 286-294, doi:S0008-6363(05)00017-9 [pii];10.1016/j.cardiores.2004.12.027 [doi].
- Brod, S. A. (2000). Unregulated inflammation shortens human functional longevity. *Inflamm. Res.* 49, 561-570, doi:10.1007/s000110050632 [pii];10.1007/s000110050632 [doi].
- Bruunsgaard, H. (2005). Physical activity and modulation of systemic low-level inflammation. *J. Leukoc. Biol.* 78, 819-835, doi:jl.b.0505247 [pii];10.1189/jlb.0505247 [doi].
- Bruunsgaard, H. & Pedersen, B. K. (2003). Age-related inflammatory cytokines and disease. *Immunol. Allergy Clin. North Am.* 23, 15-39.
- Cakatay, U., Aydin, S., Yanar, K., & Uzun, H. (2010). Gender-dependent variations in systemic biomarkers of oxidative protein, DNA, and lipid damage in aged rats. *Aging Male.* 13, 51-58, doi:10.3109/13685530903236470 [pii];10.3109/13685530903236470 [doi].
- Calles-Escandon, J. & Cipolla, M. (2001). Diabetes and endothelial dysfunction: a clinical perspective. *Endocr. Rev.* 22, 36-52, doi:10.1210/edrv.22.1.0417 [doi].
- Campisi, J. (2013). Aging, cellular senescence, and cancer. *Annu. Rev. Physiol* 75, 685-705, doi:10.1146/annurev-physiol-030212-183653 [doi].
- Cand, F. & Verdeti, J. (1989). Superoxide dismutase, glutathione peroxidase, catalase, and lipid peroxidation in the major organs of the aging rats. *Free Radic. Biol. Med.* 7, 59-63.

- Carrascosa, J. M., Andres, A., Ros, M., Bogonez, E., Arribas, C., Fernandez-Agullo, T., de Solis, A. J., Gallardo, N., & Martinez, C. (2011). Development of insulin resistance during aging: involvement of central processes and role of adipokines. *Curr. Protein Pept. Sci.* 12, 305-315, doi:CPPS-132 [pii].
- Carriere, A., Jeanson, Y., Cousin, B., Arnaud, E., & Casteilla, L. (2013). [Recruitment and activation of brown and/or BRITE adipocytes : potential therapeutic against metabolic diseases]. *Med. Sci. (Paris)* 29, 729-735, doi:10.1051/medsci/2013298011 [doi];medsci2013298-9p729 [pii].
- Castillo-Quan, J. I. (2012). From white to brown fat through the PGC-1alpha-dependent myokine irisin: implications for diabetes and obesity. *Dis. Model. Mech.* 5, 293-295, doi:5/3/293 [pii];10.1242/dmm.009894 [doi].
- Chance, B., Sies, H., & Boveris, A. (1979). Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiol Rev.* 59, 527-605.
- Chou, M. Y., Hartvigsen, K., Hansen, L. F., Fogelstrand, L., Shaw, P. X., Boullier, A., Binder, C. J., & Witztum, J. L. (2008). Oxidation-specific epitopes are important targets of innate immunity. *J. Intern. Med.* 263, 479-488, doi:JIM1968 [pii];10.1111/j.1365-2796.2008.01968.x [doi].
- Chung, H. Y., Sung, B., Jung, K. J., Zou, Y., & Yu, B. P. (2006). The molecular inflammatory process in aging. *Antioxid. Redox. Signal.* 8, 572-581, doi:10.1089/ars.2006.8.572 [doi].
- Commoner, B., TOWNSEND, J., & PAKE, G. E. (1954). Free radicals in biological materials. *Nature* 174, 689-691.
- Cuddy, M. L. (2005). Treatment of hypertension: guidelines from JNC 7 (the seventh report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure 1). *J. Pract. Nurs.* 55, 17-21.
- Czypiorski, P., Rabanter, L. L., Altschmied, J., & Haendeler, J. (2013). Redox balance in the aged endothelium. *Z. Gerontol. Geriatr.* 46, 635-638, doi:10.1007/s00391-013-0536-2 [doi].
- Dai, D. F. & Rabinovitch, P. S. (2009). Cardiac aging in mice and humans: the role of mitochondrial oxidative stress. *Trends Cardiovasc. Med.* 19, 213-220, doi:S1050-1738(09)00182-0 [pii];10.1016/j.tcm.2009.12.004 [doi].
- Dart, A. M., Du, X. J., & Kingwell, B. A. (2002). Gender, sex hormones and autonomic nervous control of the cardiovascular system. *Cardiovasc. Res.* 53, 678-687, doi:S0008636301005089 [pii].
- Despres, J. P. (2007). Cardiovascular disease under the influence of excess visceral fat. *Crit Pathw. Cardiol.* 6, 51-59, doi:10.1097/HPC.0b013e318057d4c9 [doi];00132577-200706000-00003 [pii].

DeVan, A. E., Eskurza, I., Pierce, G. L., Walker, A. E., Jablonski, K. L., Kaplon, R. E., & Seals, D. R. (2013). Regular aerobic exercise protects against impaired fasting plasma glucose-associated vascular endothelial dysfunction with aging. *Clin. Sci. (Lond)* 124, 325-331, doi:CS20120291 [pii];10.1042/CS20120291 [doi].

Durrant, J. R., Seals, D. R., Connell, M. L., Russell, M. J., Lawson, B. R., Folian, B. J., Donato, A. J., & Lesniewski, L. A. (2009). Voluntary wheel running restores endothelial function in conduit arteries of old mice: direct evidence for reduced oxidative stress, increased superoxide dismutase activity and down-regulation of NADPH oxidase. *J. Physiol* 587, 3271-3285, doi:jphysiol.2009.169771 [pii];10.1113/jphysiol.2009.169771 [doi].

El, A. M., Angulo, J., Vallejo, S., Peiro, C., Sanchez-Ferrer, C. F., & Rodriguez-Manas, L. (2012). Mechanisms involved in the aging-induced vascular dysfunction. *Front Physiol* 3, 132, doi:10.3389/fphys.2012.00132 [doi].

Elahi, M. M., Kong, Y. X., & Matata, B. M. (2009). Oxidative stress as a mediator of cardiovascular disease. *Oxid. Med. Cell Longev.* 2, 259-269, doi:9441 [pii];10.4161/oxim.2.5.9441 [doi].

Escriva, F., Gavete, M. L., Fermin, Y., Perez, C., Gallardo, N., Alvarez, C., Andres, A., Ros, M., & Carrascosa, J. M. (2007). Effect of age and moderate food restriction on insulin sensitivity in Wistar rats: role of adiposity. *J. Endocrinol.* 194, 131-141, doi:194/1/131 [pii];10.1677/joe.1.07043 [doi].

Ferrucci, L., Corsi, A., Lauretani, F., Bandinelli, S., Bartali, B., Taub, D. D., Guralnik, J. M., & Longo, D. L. (2005). The origins of age-related proinflammatory state. *Blood* 105, 2294-2299, doi:2004-07-2599 [pii];10.1182/blood-2004-07-2599 [doi].

Fesus, G., Dubrovskaya, G., Gorzelniak, K., Kluge, R., Huang, Y., Luft, F. C., & Gollasch, M. (2007a). Adiponectin is a novel humoral vasodilator. *Cardiovasc. Res.* 75, 719-727, doi:S0008-6363(07)00257-X [pii];10.1016/j.cardiores.2007.05.025 [doi].

Fesus, G., Dubrovskaya, G., Gorzelniak, K., Kluge, R., Huang, Y., Luft, F. C., & Gollasch, M. (2007b). Adiponectin is a novel humoral vasodilator. *Cardiovasc. Res.* 75, 719-727, doi:S0008-6363(07)00257-X [pii];10.1016/j.cardiores.2007.05.025 [doi].

Finkel, T. & Holbrook, N. J. (2000). Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature* 408, 239-247, doi:10.1038/35041687 [doi].

Fitzgibbons, T. P., Kogan, S., Aouadi, M., Hendricks, G. M., Straubhaar, J., & Czech, M. P. (2011). Similarity of mouse perivascular and brown adipose tissues and their resistance to diet-induced inflammation. *Am. J. Physiol Heart Circ. Physiol* 301, H1425-H1437, doi:ajpheart.00376.2011 [pii];10.1152/ajpheart.00376.2011 [doi].

Fleenor, B. S. (2013). Large elastic artery stiffness with aging: novel translational mechanisms and interventions. *Aging Dis.* 4, 76-83.

Fleenor, B. S., Marshall, K. D., Durrant, J. R., Lesniewski, L. A., & Seals, D. R. (2010). Arterial stiffening with ageing is associated with transforming growth factor-beta1-related changes in adventitial collagen: reversal by aerobic exercise. *J. Physiol* 588, 3971-3982, doi:jphysiol.2010.194753 [pii];10.1113/jphysiol.2010.194753 [doi].

Franceschi, C., Bonafe, M., Valensin, S., Olivieri, F., De, L. M., Ottaviani, E., & De, B. G. (2000). Inflamm-aging. An evolutionary perspective on immunosenescence. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 908, 244-254.

Franceschi, C., Capri, M., Monti, D., Giunta, S., Olivieri, F., Sevini, F., Panourgia, M. P., Invidia, L., Celani, L., Scurti, M., Cevenini, E., Castellani, G. C., & Salvioli, S. (2007). Inflammaging and anti-inflammaging: a systemic perspective on aging and longevity emerged from studies in humans. *Mech. Ageing Dev.* 128, 92-105, doi:S0047-6374(06)00249-1 [pii];10.1016/j.mad.2006.11.016 [doi].

Fruhbeck, G., Gomez-Ambrosi, J., Muruzabal, F. J., & Burrell, M. A. (2001). The adipocyte: a model for integration of endocrine and metabolic signaling in energy metabolism regulation. *Am. J. Physiol Endocrinol. Metab* 280, E827-E847.

Gabriely, I., Ma, X. H., Yang, X. M., Atzmon, G., Rajala, M. W., Berg, A. H., Scherer, P., Rossetti, L., & Barzilai, N. (2002). Removal of visceral fat prevents insulin resistance and glucose intolerance of aging: an adipokine-mediated process? *Diabetes* 51, 2951-2958.

Galvez-Prieto, B., Somoza, B., Gil-Ortega, M., Garcia-Prieto, C. F., de Las Heras, A. I., Gonzalez, M. C., Arribas, S., Aranguez, I., Bolbrinker, J., Kreutz, R., Ruiz-Gayo, M., & Fernandez-Alfonso, M. S. (2012a). Anticontractile Effect of Perivascular Adipose Tissue and Leptin are Reduced in Hypertension. *Front Pharmacol.* 3, 103, doi:10.3389/fphar.2012.00103 [doi].

Galvez-Prieto, B., Somoza, B., Gil-Ortega, M., Garcia-Prieto, C. F., de Las Heras, A. I., Gonzalez, M. C., Arribas, S., Aranguez, I., Bolbrinker, J., Kreutz, R., Ruiz-Gayo, M., & Fernandez-Alfonso, M. S. (2012b). Anticontractile Effect of Perivascular Adipose Tissue and Leptin are Reduced in Hypertension. *Front Pharmacol.* 3, 103, doi:10.3389/fphar.2012.00103 [doi].

Gao, Y. J., Lu, C., Su, L. Y., Sharma, A. M., & Lee, R. M. (2007). Modulation of vascular function by perivascular adipose tissue: the role of endothelium and hydrogen peroxide. *Br. J. Pharmacol.* 151, 323-331, doi:0707228 [pii];10.1038/sj.bjp.0707228 [doi].

Gaziano, J. M., Hennekens, C. H., O'Donnell, C. J., Breslow, J. L., & Buring, J. E. (1997). Fasting triglycerides, high-density lipoprotein, and risk of myocardial infarction. *Circulation* 96, 2520-2525.

Gerhard, G. S., Styer, A. M., Strodel, W. E., Roesch, S. L., Yavorek, A., Carey, D. J., Wood, G. C., Petrick, A. T., Gabrielsen, J., Ibele, A., Benotti, P., Rolston, D. D., Still, C. D., & Argyropoulos, G. (2014). Gene expression profiling in subcutaneous, visceral and epigastric adipose tissues of patients with extreme obesity. *Int. J. Obes. (Lond)* 38, 371-378, doi:ijo2013152 [pii];10.1038/ijo.2013.152 [doi].

Gerhard, M., Roddy, M. A., Creager, S. J., & Creager, M. A. (1996). Aging progressively impairs endothelium-dependent vasodilation in forearm resistance vessels of humans. *Hypertension* 27, 849-853.

Gerli, R., Monti, D., Bistoni, O., Mazzone, A. M., Peri, G., Cossarizza, A., Di, G. M., Cesarotti, M. E., Doni, A., Mantovani, A., Franceschi, C., & Paganelli, R. (2000). Chemokines, sTNF-Rs and sCD30 serum levels in healthy aged people and centenarians. *Mech. Ageing Dev.* 121, 37-46, doi:S0047637400001950 [pii].

Gilca, M., Stoian, I., Atanasiu, V., & Virgolici, B. (2007). The oxidative hypothesis of senescence. *J. Postgrad. Med.* 53, 207-213.

Giralt, M. & Villarroya, F. (2013). White, brown, beige/brite: different adipose cells for different functions? *Endocrinology* 154, 2992-3000, doi:en.2013-1403 [pii];10.1210/en.2013-1403 [doi].

Girerd, X., Mourad, J. J., Boutouyrie, P., Benetos, A., Laurent, S., & Safar, M. (1992). [Effects of aging on arterial function in man]. *Presse Med.* 21, 1204-1209.

Golbidi, S. & Laher, I. (2013a). Exercise and the aging endothelium. *J. Diabetes Res.* 2013, 789607, doi:10.1155/2013/789607 [doi].

Golbidi, S. & Laher, I. (2013b). Exercise and the aging endothelium. *J. Diabetes Res.* 2013, 789607, doi:10.1155/2013/789607 [doi].

Gollasch, M. (2012). Vasodilator signals from perivascular adipose tissue. *Br. J. Pharmacol.* 165, 633-642, doi:10.1111/j.1476-5381.2011.01430.x [doi].

Goto, S., Radak, Z., Nyakas, C., Chung, H. Y., Naito, H., Takahashi, R., Nakamoto, H., & Abea, R. (2004). Regular exercise: an effective means to reduce oxidative stress in old rats. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1019, 471-474, doi:10.1196/annals.1297.085 [doi];1019/1/471 [pii].

Greenstein, A. S., Khavandi, K., Withers, S. B., Sonoyama, K., Clancy, O., Jeziorska, M., Laing, I., Yates, A. P., Pemberton, P. W., Malik, R. A., & Heagerty, A. M. (2009). Local inflammation and hypoxia abolish the protective anticontractile properties of perivascular fat in obese patients. *Circulation* 119,

1661-1670, doi:CIRCULATIONAHA.108.821181 [pii];10.1161/CIRCULATIONAHA.108.821181 [doi].

Gu, Q., Wang, B., Zhang, X. F., Ma, Y. P., Liu, J. D., & Wang, X. Z. (2014). Chronic aerobic exercise training attenuates aortic stiffening and endothelial dysfunction through preserving aortic mitochondrial function in aged rats. *Exp. Gerontol.* 56, 37-44, doi:S0531-5565(14)00071-0 [pii];10.1016/j.exger.2014.02.014 [doi].

Guevara, R., Santandreu, F. M., Valle, A., Gianotti, M., Oliver, J., & Roca, P. (2009). Sex-dependent differences in aged rat brain mitochondrial function and oxidative stress. *Free Radic. Biol. Med.* 46, 169-175, doi:S0891-5849(08)00582-0 [pii];10.1016/j.freeradbiomed.2008.09.035 [doi].

Guo, Y., Jiang, X., Zhou, Z., Chen, S., Zhao, H., & Li, F. (2003). Relationship between levels of serum C-reactive protein, leucocyte count and carotid plaque in patients with ischemic stroke. *J. Huazhong. Univ Sci. Technolog. Med. Sci.* 23, 263-265.

Harding, M., Bahr, W., & Walters, M. (1993). Effect of aging on body fat. *J. Am. Geriatr. Soc.* 41, 1274.

Harris, M. B., Slack, K. N., Prestosa, D. T., & Hryvniak, D. J. (2010). Resistance training improves femoral artery endothelial dysfunction in aged rats. *Eur. J. Appl. Physiol* 108, 533-540, doi:10.1007/s00421-009-1250-z [doi].

Hayflick, L. (1965). THE LIMITED IN VITRO LIFETIME OF HUMAN DIPLOID CELL STRAINS. *Exp. Cell Res.* 37, 614-636.

Hayflick, L. & MOORHEAD, P. S. (1961). The serial cultivation of human diploid cell strains. *Exp. Cell Res.* 25, 585-621.

Hayward, C. S., Kelly, R. P., & Collins, P. (2000). The roles of gender, the menopause and hormone replacement on cardiovascular function. *Cardiovasc. Res.* 46, 28-49, doi:S0008-6363(00)00005-5 [pii].

Henriques, C. M. & Ferreira, M. G. (2012). Consequences of telomere shortening during lifespan. *Curr. Opin. Cell Biol.* 24, 804-808, doi:S0955-0674(12)00155-X [pii];10.1016/j.ceb.2012.09.007 [doi].

Herring, M. P., Sailors, M. H., & Bray, M. S. (2014). Genetic factors in exercise adoption, adherence and obesity. *Obes. Rev.* 15, 29-39, doi:10.1111/obr.12089 [doi].

Ho, S. C., Liu, J. H., & Wu, R. Y. (2003). Establishment of the mimetic aging effect in mice caused by D-galactose. *Biogerontology.* 4, 15-18, doi:5107897 [pii].

Hsieh, H. M., Wu, W. M., & Hu, M. L. (2009). Soy isoflavones attenuate oxidative stress and improve parameters related to aging and Alzheimer's disease in C57BL/6J mice treated with D-galactose. *Food Chem. Toxicol.* 47, 625-632, doi:S0278-6915(08)00717-5 [pii];10.1016/j.fct.2008.12.026 [doi].

Huh, J. Y., Mougios, V., Kabasakalis, A., Fatouros, I., Siopi, A., Douroudos, I. I., Filippaios, A., Panagiotou, G., Park, K. H., & Mantzoros, C. S. (2014). Exercise-induced irisin secretion is independent of age or fitness level and increased irisin may directly modulate muscle metabolism through AMPK activation. *J. Clin. Endocrinol. Metab* 99, E2154-E2161, doi:10.1210/jc.2014-1437 [doi].

Irving, B. A., Still, C. D., & Argyropoulos, G. (2014). Does IRISIN Have a BRITE Future as a Therapeutic Agent in Humans? *Curr. Obes. Rep.* 3, 235-241, doi:10.1007/s13679-014-0091-1 [doi];91 [pii].

Jak, A. J. (2012). The impact of physical and mental activity on cognitive aging. *Curr. Top. Behav. Neurosci.* 10, 273-291, doi:10.1007/7854_2011_141 [doi].

Jialal, I. & Devaraj, S. (2001). Inflammation and atherosclerosis: the value of the high-sensitivity C-reactive protein assay as a risk marker. *Am. J. Clin. Pathol.* 116 Suppl, S108-S115.

Jousilahti, P., Vartiainen, E., Tuomilehto, J., & Puska, P. (1999). Sex, age, cardiovascular risk factors, and coronary heart disease: a prospective follow-up study of 14 786 middle-aged men and women in Finland. *Circulation* 99, 1165-1172.

Kafonek, S. D. (1994). Postmenopausal hormone replacement therapy and cardiovascular risk reduction. A review. *Drugs* 47 Suppl 2, 16-24.

Kelly, D. P. (2011). Cell biology: Ageing theories unified. *Nature* 470, 342-343, doi:nature09896 [pii];10.1038/nature09896 [doi].

Kim, B., Lee, H., Kawata, K., & Park, J. Y. (2014). Exercise-mediated wall shear stress increases mitochondrial biogenesis in vascular endothelium. *PLoS. One.* 9, e111409, doi:10.1371/journal.pone.0111409 [doi];PONE-D-14-32316 [pii].

Kregel, K. C. & Zhang, H. J. (2007). An integrated view of oxidative stress in aging: basic mechanisms, functional effects, and pathological considerations. *Am. J. Physiol Regul. Integr. Comp Physiol* 292, R18-R36, doi:00327.2006 [pii];10.1152/ajpregu.00327.2006 [doi].

Kremsky, I., Morgan, T. E., Hou, X., Li, L., & Finch, C. E. (2012). Age-changes in gene expression in primary mixed glia cultures from young vs. old rat cerebral cortex are modified by interactions with neurons. *Brain Behav. Immun.* 26, 797-802, doi:S0889-1591(11)00609-X [pii];10.1016/j.bbi.2011.12.008 [doi].

Kubota, K., Kadomura, T., Ohta, K., Koyama, K., Okuda, H., Kobayashi, M., Ishii, C., Fujiwara, Y., Nishiora, T., Ohmae, Y., Ohmae, T., & Kitajima, M. (2012). Analyses of laboratory data and establishment of reference values and intervals for healthy elderly people. *J. Nutr. Health Aging* 16, 412-416.

Lakatta, E. G. (2003). Arterial and cardiac aging: major shareholders in cardiovascular disease enterprises: Part III: cellular and molecular clues to heart and arterial aging. *Circulation* 107, 490-497.

Lakatta, E. G. & Levy, D. (2003a). Arterial and cardiac aging: major shareholders in cardiovascular disease enterprises: Part I: aging arteries: a "set up" for vascular disease. *Circulation* 107, 139-146.

Lakatta, E. G. & Levy, D. (2003b). Arterial and cardiac aging: major shareholders in cardiovascular disease enterprises: Part II: the aging heart in health: links to heart disease. *Circulation* 107, 346-354.

Lakatta, E. G. & Levy, D. (2003c). Arterial and cardiac aging: major shareholders in cardiovascular disease enterprises: Part II: the aging heart in health: links to heart disease. *Circulation* 107, 346-354.

Lam, C. S., Borlaug, B. A., Kane, G. C., Enders, F. T., Rodeheffer, R. J., & Redfield, M. M. (2009). Age-associated increases in pulmonary artery systolic pressure in the general population. *Circulation* 119, 2663-2670, doi:CIRCULATIONAHA.108.838698 [pii];10.1161/CIRCULATIONAHA.108.838698 [doi].

Lamberts, S. W., van den Beld, A. W., & van der Lely, A. J. (1997). The endocrinology of aging. *Science* 278, 419-424.

Lee, B. Y., Han, J. A., Im, J. S., Morrone, A., Johung, K., Goodwin, E. C., Kleijer, W. J., DiMaio, D., & Hwang, E. S. (2006a). Senescence-associated beta-galactosidase is lysosomal beta-galactosidase. *Aging Cell* 5, 187-195, doi:ACE199 [pii];10.1111/j.1474-9726.2006.00199.x [doi].

Lee, J. C., Greenberg, W. A., & Wong, C. H. (2006b). Programmable reactivity-based one-pot oligosaccharide synthesis. *Nat. Protoc.* 1, 3143-3152, doi:nprot.2006.489 [pii];10.1038/nprot.2006.489 [doi].

Lee, R. M., Lu, C., Su, L. Y., & Gao, Y. J. (2009). Endothelium-dependent relaxation factor released by perivascular adipose tissue. *J. Hypertens.* 27, 782-790, doi:10.1097/HJH.0b013e328324ed86 [doi];00004872-200904000-00018 [pii].

Lei, M., Hua, X., Xiao, M., Ding, J., Han, Q., & Hu, G. (2008). Impairments of astrocytes are involved in the d-galactose-induced brain aging. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 369, 1082-1087, doi:S0006-291X(08)00439-7 [pii];10.1016/j.bbrc.2008.02.151 [doi].

- Lesniewski, L. A., Durrant, J. R., Connell, M. L., Henson, G. D., Black, A. D., Donato, A. J., & Seals, D. R. (2011). Aerobic exercise reverses arterial inflammation with aging in mice. *Am. J. Physiol Heart Circ. Physiol* 301, H1025-H1032, doi:ajpheart.01276.2010 [pii];10.1152/ajpheart.01276.2010 [doi].
- Linton, P. J., Gurney, M., Sengstock, D., Mentzer, R. M., Jr., & Gottlieb, R. A. (2015). This old heart: Cardiac aging and autophagy. *J. Mol. Cell Cardiol.* 83, 44-54, doi:S0022-2828(14)00429-5 [pii];10.1016/j.yjmcc.2014.12.017 [doi].
- Lira, F. S., Koyama, C. H., Yamashita, A. S., Rosa, J. C., Zanchi, N. E., Batista, M. L., Jr., & Seelaender, M. C. (2009a). Chronic exercise decreases cytokine production in healthy rat skeletal muscle. *Cell Biochem. Funct.* 27, 458-461, doi:10.1002/cbf.1594 [doi].
- Lira, F. S., Rosa Neto, J. C., Antunes, B. M., & Fernandes, R. A. (2014). The relationship between inflammation, dyslipidemia and physical exercise: from the epidemiological to molecular approach. *Curr. Diabetes Rev.* 10, 391-396, doi:CDR-EPUB-63526 [pii].
- Lira, F. S., Rosa, J. C., Zanchi, N. E., Yamashita, A. S., Lopes, R. D., Lopes, A. C., Batista, M. L., Jr., & Seelaender, M. (2009b). Regulation of inflammation in the adipose tissue in cancer cachexia: effect of exercise. *Cell Biochem. Funct.* 27, 71-75, doi:10.1002/cbf.1540 [doi].
- Liu, A., Ma, Y., & Zhu, Z. (2009). Protective effect of selenoarginine against oxidative stress in D-galactose-induced aging mice. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 73, 1461-1464, doi:JST.JSTAGE/bbb/80558 [pii];10.1271/bbb.80558 [doi].
- Liu, J., Sui, X., Lavie, C. J., Zhou, H., Park, Y. M., Cai, B., Liu, J., & Blair, S. N. (2014). Effects of cardiorespiratory fitness on blood pressure trajectory with aging in a cohort of healthy men. *J. Am. Coll. Cardiol.* 64, 1245-1253, doi:S0735-1097(14)04545-8 [pii];10.1016/j.jacc.2014.06.1184 [doi].
- Lowe, G., Woodward, M., Hillis, G., Rumley, A., Li, Q., Harrap, S., Marre, M., Hamet, P., Patel, A., Poulter, N., & Chalmers, J. (2014). Circulating inflammatory markers and the risk of vascular complications and mortality in people with type 2 diabetes and cardiovascular disease or risk factors: the ADVANCE study. *Diabetes* 63, 1115-1123, doi:db12-1625 [pii];10.2337/db12-1625 [doi].
- Lu, K. H., Hopper, B. R., Vargo, T. M., & Yen, S. S. (1979). Chronological changes in sex steroid, gonadotropin and prolactin secretions in aging female rats displaying different reproductive states. *Biol. Reprod.* 21, 193-203.
- Luc, G., Bard, J. M., Juhan-Vague, I., Ferrieres, J., Evans, A., Amouyel, P., Arveiler, D., Fruchart, J. C., & Ducimetiere, P. (2003a). C-reactive protein, interleukin-6, and fibrinogen as predictors of coronary heart disease: the PRIME Study. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 23, 1255-1261,

doi:10.1161/01.ATV.0000079512.66448.1D [doi];01.ATV.0000079512.66448.1D [pii].

Luc, G., Ferri, r. J., Evans, A., Amouyel, P., Arveiler, D., Cambien, F., Fruchart, J. C., & Ducimetiere, P. (2003b). [Biological banks of the prospective cohort PRIME Study]. *Rev. Epidemiol. Sante Publique* 51, 159-166, doi:MDOI-RESP-02-2003-51-1-C2-0398-7620-101019-ART11 [pii].

Luttrell, M. J., Seawright, J. W., Wilson, E., & Woodman, C. R. (2013). Effect of age and exercise training on protein:protein interactions among eNOS and its regulatory proteins in rat aortas. *Eur. J. Appl. Physiol* 113, 2761-2768, doi:10.1007/s00421-013-2715-7 [doi].

Manini, T. M., Clark, B. C., Nalls, M. A., Goodpaster, B. H., Ploutz-Snyder, L. L., & Harris, T. B. (2007). Reduced physical activity increases intermuscular adipose tissue in healthy young adults. *Am. J. Clin. Nutr.* 85, 377-384, doi:85/2/377 [pii].

Marcus, R. L., Addison, O., Dibble, L. E., Foreman, K. B., Morrell, G., & Lastayo, P. (2012). Intramuscular adipose tissue, sarcopenia, and mobility function in older individuals. *J. Aging Res.* 2012, 629637, doi:10.1155/2012/629637 [doi].

Mathieu, P., Battista, D., Depino, A., Roca, V., Graciarena, M., & Pitossi, F. (2010). The more you have, the less you get: the functional role of inflammation on neuronal differentiation of endogenous and transplanted neural stem cells in the adult brain. *J. Neurochem.* 112, 1368-1385, doi:JNC6548 [pii];10.1111/j.1471-4159.2009.06548.x [doi].

Mathur, N. & Pedersen, B. K. (2008a). Exercise as a mean to control low-grade systemic inflammation. *Mediators. Inflamm.* 2008, 109502, doi:10.1155/2008/109502 [doi].

Mathur, N. & Pedersen, B. K. (2008b). Exercise as a mean to control low-grade systemic inflammation. *Mediators. Inflamm.* 2008, 109502, doi:10.1155/2008/109502 [doi].

Mazzocchi, G., Tevy, M. F., Borghesan, M., Delle Vergini, M. R., & Vinciguerra, M. (2014). Caloric restriction and aging stem cells: the stick and the carrot? *Exp. Gerontol.* 50, 137-148, doi:S0531-5565(13)00318-5 [pii];10.1016/j.exger.2013.10.014 [doi].

McCord, J. M. & Fridovich, I. (1969). Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte hemocuprein (hemocuprein). *J. Biol. Chem.* 244, 6049-6055.

McGrath, B. P., Liang, Y. L., Teede, H., Shiel, L. M., Cameron, J. D., & Dart, A. (1998). Age-related deterioration in arterial structure and function in postmenopausal women: impact of hormone replacement therapy. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 18, 1149-1156.

Medeiros, R., Figueiredo, C. P., Pandolfo, P., Duarte, F. S., Prediger, R. D., Passos, G. F., & Calixto, J. B. (2010). The role of TNF-alpha signaling pathway on COX-2 upregulation and cognitive decline induced by beta-amyloid peptide. *Behav. Brain Res.* 209, 165-173, doi:S0166-4328(10)00073-2 [pii];10.1016/j.bbr.2010.01.040 [doi].

Michaud, M., Balardy, L., Moulis, G., Gaudin, C., Peyrot, C., Vellas, B., Cesari, M., & Nourhashemi, F. (2013). Proinflammatory cytokines, aging, and age-related diseases. *J. Am. Med. Dir. Assoc.* 14, 877-882, doi:S1525-8610(13)00280-6 [pii];10.1016/j.jamda.2013.05.009 [doi].

Minamino, T., Orimo, M., Shimizu, I., Kunieda, T., Yokoyama, M., Ito, T., Nojima, A., Nabetani, A., Oike, Y., Matsubara, H., Ishikawa, F., & Komuro, I. (2009). A crucial role for adipose tissue p53 in the regulation of insulin resistance. *Nat. Med.* 15, 1082-1087, doi:nm.2014 [pii];10.1038/nm.2014 [doi].

Moiseeva, O., Mallette, F. A., Mukhopadhyay, U. K., Moores, A., & Ferbeyre, G. (2006). DNA damage signaling and p53-dependent senescence after prolonged beta-interferon stimulation. *Mol. Biol. Cell* 17, 1583-1592, doi:E05-09-0858 [pii];10.1091/mbc.E05-09-0858 [doi].

Mooradian, A. D. & Wong, N. C. (1991a). Molecular biology of aging, Part I: An introduction to laboratory techniques of molecular biology. *J. Am. Geriatr. Soc.* 39, 611-619.

Mooradian, A. D. & Wong, N. C. (1991b). Molecular biology of aging. Part II: A synopsis of current research. *J. Am. Geriatr. Soc.* 39, 717-723.

Morgan, T. E., Wong, A. M., & Finch, C. E. (2007). Anti-inflammatory mechanisms of dietary restriction in slowing aging processes. *Interdiscip. Top. Gerontol.* 35, 83-97, doi:96557 [pii];10.1159/000096557 [doi].

Muller-Delp, J. M., Gurovich, A. N., Christou, D. D., & Leeuwenburgh, C. (2012). Redox balance in the aging microcirculation: new friends, new foes, and new clinical directions. *Microcirculation.* 19, 19-28, doi:10.1111/j.1549-8719.2011.00139.x [doi].

Nguyen, P. K., Terashima, M., Fair, J. M., Varady, A., Taylor-Piliae, R. E., Iribarren, C., Go, A. S., Haskell, W. L., Hlatky, M. A., Fortmann, S. P., & McConnell, M. V. (2011). Physical activity in older subjects is associated with increased coronary vasodilation: the ADVANCE study. *JACC. Cardiovasc. Imaging* 4, 622-629, doi:S1936-878X(11)00306-8 [pii];10.1016/j.jcmg.2011.05.001 [doi].

Novelle, M. G., Contreras, C., Romero-Pico, A., Lopez, M., & Dieguez, C. (2013). Irisin, two years later. *Int. J. Endocrinol.* 2013, 746281, doi:10.1155/2013/746281 [doi].

Nuutila, P. (2013). Brown adipose tissue thermogenesis in humans. *Diabetologia* 56, 2110-2112, doi:10.1007/s00125-013-3005-y [doi].

Oeppen, J. & Vaupel, J. W. (2002). Demography. Broken limits to life expectancy. *Science* 296, 1029-1031, doi:10.1126/science.1069675 [doi];296/5570/1029 [pii].

Ogasawara, J., Izawa, T., Sakurai, T., Sakurai, T., Shirato, K., Ishibashi, Y., Ishida, H., Ohno, H., & Kizaki, T. (2015). The Molecular Mechanism Underlying Continuous Exercise Training-Induced Adaptive Changes of Lipolysis in White Adipose Cells. *J. Obes.* 2015, 473430, doi:10.1155/2015/473430 [doi].

Olivares-Nazario M, Fernández-Guasti A, Martínez-Mota L. Age-related changes in the antidepressant-like effect of desipramine and fluoxetine in the rat forced-swim test. *Behav Pharmacol.* 2016 Feb;27(1):22-8.

Orallo, F. (2008). Trans-resveratrol: a magical elixir of eternal youth? *Curr. Med. Chem.* 15, 1887-1898.

Osthus, I. B., Sgura, A., Berardinelli, F., Alsnes, I. V., Bronstad, E., Rehn, T., Stobakk, P. K., Hatle, H., Wisloff, U., & Nauman, J. (2012). Telomere length and long-term endurance exercise: does exercise training affect biological age? A pilot study. *PLoS. One.* 7, e52769, doi:10.1371/journal.pone.0052769 [doi];PONE-D-12-17829 [pii].

Ozawa, T. (1997). Genetic and functional changes in mitochondria associated with aging. *Physiol Rev.* 77, 425-464.

Padilla, J., Jenkins, N. T., Vieira-Potter, V. J., & Laughlin, M. H. (2013). Divergent phenotype of rat thoracic and abdominal perivascular adipose tissues. *Am. J. Physiol Regul. Integr. Comp Physiol* 304, R543-R552, doi:ajpregu.00567.2012 [pii];10.1152/ajpregu.00567.2012 [doi].

Panda, A., Arjona, A., Sapey, E., Bai, F., Fikrig, E., Montgomery, R. R., Lord, J. M., & Shaw, A. C. (2009). Human innate immunosenescence: causes and consequences for immunity in old age. *Trends Immunol.* 30, 325-333, doi:S1471-4906(09)00108-2 [pii];10.1016/j.it.2009.05.004 [doi].

Pang, C. Y., Ma, Y. S., & Wei, Y. U. (2008). MtDNA mutations, functional decline and turnover of mitochondria in aging. *Front Biosci.* 13, 3661-3675, doi:2957 [pii].

Parameshwaran, K., Irwin, M. H., Steliou, K., & Pinkert, C. A. (2010). D-galactose effectiveness in modeling aging and therapeutic antioxidant treatment in mice. *Rejuvenation. Res.* 13, 729-735, doi:10.1089/rej.2010.1020 [doi].

- Park, S. K., Kim, K., Page, G. P., Allison, D. B., Weindruch, R., & Prolla, T. A. (2009). Gene expression profiling of aging in multiple mouse strains: identification of aging biomarkers and impact of dietary antioxidants. *Aging Cell* 8, 484-495, doi:ACE496 [pii];10.1111/j.1474-9726.2009.00496.x [doi].
- Patel, N. V. & Finch, C. E. (2002). The glucocorticoid paradox of caloric restriction in slowing brain aging. *Neurobiol. Aging* 23, 707-717, doi:S0197458002000179 [pii].
- Patel, R. S., Al, M., I, Morris, A. A., Ahmed, Y., Kavtaradze, N., Ali, S., Dabhadkar, K., Brigham, K., Hooper, W. C., Alexander, R. W., Jones, D. P., & Quyyumi, A. A. (2011). Oxidative stress is associated with impaired arterial elasticity. *Atherosclerosis* 218, 90-95, doi:S0021-9150(11)00379-0 [pii];10.1016/j.atherosclerosis.2011.04.033 [doi].
- Pawelec, G., Larbi, A., & Derhovanessian, E. (2010). Senescence of the human immune system. *J. Comp Pathol.* 142 Suppl 1, S39-S44, doi:S0021-9975(09)00320-X [pii];10.1016/j.jcpa.2009.09.005 [doi].
- Perez, C., Fernandez-Agullo, T., de Solis, A. J., Ros, M., Andres, A., & Carrascosa, J. M. (2008). Effects of chronic acarbose treatment on adipocyte insulin responsiveness, serum levels of leptin and adiponectin and hypothalamic NPY expression in obese diabetic Wistar rats. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol* 35, 256-261, doi:CEP4809 [pii];10.1111/j.1440-1681.2007.04809.x [doi].
- Petersen, A. M. & Pedersen, B. K. (2005). The anti-inflammatory effect of exercise. *J. Appl. Physiol* (1985.) 98, 1154-1162, doi:98/4/1154 [pii];10.1152/japplphysiol.00164.2004 [doi].
- Petralia, R. S., Mattson, M. P., & Yao, P. J. (2014). Aging and longevity in the simplest animals and the quest for immortality. *Ageing Res. Rev.* 16, 66-82, doi:S1568-1637(14)00062-2 [pii];10.1016/j.arr.2014.05.003 [doi].
- Podolskiy, D. I. & Gladyshev, V. N. (2016). Intrinsic Versus Extrinsic Cancer Risk Factors and Aging. *Trends Mol. Med.* 22, 833-834, doi:S1471-4914(16)30097-1 [pii];10.1016/j.molmed.2016.08.001 [doi].
- Police, S. B., Thatcher, S. E., Charnigo, R., Daugherty, A., & Cassis, L. A. (2009). Obesity promotes inflammation in periaortic adipose tissue and angiotensin II-induced abdominal aortic aneurysm formation. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 29, 1458-1464, doi:ATVBAHA.109.192658 [pii];10.1161/ATVBAHA.109.192658 [doi].
- Polidori, M. C., Mecocci, P., Cherubini, A., & Senin, U. (2000). Physical activity and oxidative stress during aging. *Int. J. Sports Med.* 21, 154-157, doi:10.1055/s-2000-8881 [doi].

Port, S., Cobb, F. R., Coleman, R. E., & Jones, R. H. (1980). Effect of age on the response of the left ventricular ejection fraction to exercise. *N. Engl. J. Med.* 303, 1133-1137, doi:10.1056/NEJM198011133032001 [doi].

Quan, T., Little, E., Quan, H., Qin, Z., Voorhees, J. J., & Fisher, G. J. (2013). Elevated matrix metalloproteinases and collagen fragmentation in photodamaged human skin: impact of altered extracellular matrix microenvironment on dermal fibroblast function. *J. Invest Dermatol.* 133, 1362-1366, doi:S0022-202X(15)36237-0 [pii];10.1038/jid.2012.509 [doi].

Rackley, C. E. (2004). Hormones and coronary atherosclerosis in women. *Endocrine.* 24, 245-250, doi:ENDO:24:3:245 [pii];10.1385/ENDO:24:3:245 [doi].

Radak, Z., Asano, K., Inoue, M., Kizaki, T., Oh-Ishi, S., Suzuki, K., Taniguchi, N., & Ohno, H. (1996). Superoxide dismutase derivative prevents oxidative damage in liver and kidney of rats induced by exhausting exercise. *Eur. J. Appl. Physiol Occup. Physiol* 72, 189-194.

Radak, Z., Chung, H. Y., Naito, H., Takahashi, R., Jung, K. J., Kim, H. J., & Goto, S. (2004). Age-associated increase in oxidative stress and nuclear factor kappaB activation are attenuated in rat liver by regular exercise. *FASEB J.* 18, 749-750, doi:10.1096/fj.03-0509fje [doi];03-0509fje [pii].

Rana, K. S., Arif, M., Hill, E. J., Aldred, S., Nagel, D. A., Nevill, A., Randeva, H. S., Bailey, C. J., Bellary, S., & Brown, J. E. (2014). Plasma irisin levels predict telomere length in healthy adults. *Age (Dordr.)* 36, 995-1001, doi:10.1007/s11357-014-9620-9 [doi].

Rattan, S. I. (2006). Theories of biological aging: genes, proteins, and free radicals. *Free Radic. Res.* 40, 1230-1238, doi:U612176808538538 [pii];10.1080/10715760600911303 [doi].

Ridker, P. M., Danielson, E., Fonseca, F. A., Genest, J., Gotto, A. M., Jr., Kastelein, J. J., Koenig, W., Libby, P., Lorenzatti, A. J., MacFadyen, J. G., Nordestgaard, B. G., Shepherd, J., Willerson, J. T., & Glynn, R. J. (2009). Reduction in C-reactive protein and LDL cholesterol and cardiovascular event rates after initiation of rosuvastatin: a prospective study of the JUPITER trial. *Lancet* 373, 1175-1182, doi:S0140-6736(09)60447-5 [pii];10.1016/S0140-6736(09)60447-5 [doi].

Ristow, M., Zarse, K., Oberbach, A., Kloting, N., Birringer, M., Kiehntopf, M., Stumvoll, M., Kahn, C. R., & Bluher, M. (2009). Antioxidants prevent health-promoting effects of physical exercise in humans. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 106, 8665-8670, doi:0903485106 [pii];10.1073/pnas.0903485106 [doi].

Ritchie, R. H., Leo, C. H., Qin, C., Stephenson, E. J., Bowden, M. A., Buxton, K. D., Lessard, S. J., Rivas, D. A., Koch, L. G., Britton, S. L., Hawley, J. A., & Woodman, O. L. (2013). Low intrinsic exercise capacity in rats predisposes to age-dependent cardiac remodeling independent of macrovascular function. *Am.*

J. Physiol Heart Circ. Physiol 304, H729-H739, doi:ajpheart.00638.2012 [pii];10.1152/ajpheart.00638.2012 [doi].

Roberts, C. K. & Sindhu, K. K. (2009). Oxidative stress and metabolic syndrome. *Life Sci.* 84, 705-712, doi:S0024-3205(09)00100-3 [pii];10.1016/j.lfs.2009.02.026 [doi].

Roberts, S. B. & Rosenberg, I. (2006). Nutrition and aging: changes in the regulation of energy metabolism with aging. *Physiol Rev.* 86, 651-667, doi:86/2/651 [pii];10.1152/physrev.00019.2005 [doi].

Roca-Rivada, A., Castela, C., Senin, L. L., Landrove, M. O., Baltar, J., Belen, C. A., Seoane, L. M., Casanueva, F. F., & Pardo, M. (2013). FNDC5/irisin is not only a myokine but also an adipokine. *PLoS. One.* 8, e60563, doi:10.1371/journal.pone.0060563 [doi];PONE-D-12-34751 [pii].

Rodier, F. & Campisi, J. (2011). Four faces of cellular senescence. *J. Cell Biol.* 192, 547-556, doi:jcb.201009094 [pii];10.1083/jcb.201009094 [doi].

Rojkind, M., Dominguez-Rosales, J. A., Nieto, N., & Greenwel, P. (2002). Role of hydrogen peroxide and oxidative stress in healing responses. *Cell Mol. Life Sci.* 59, 1872-1891.

Roman, S., Agil, A., Peran, M., Alvaro-Galue, E., Ruiz-Ojeda, F. J., Fernandez-Vazquez, G., & Marchal, J. A. (2015). Brown adipose tissue and novel therapeutic approaches to treat metabolic disorders. *Transl. Res.* 165, 464-479, doi:S1931-5244(14)00407-1 [pii];10.1016/j.trsl.2014.11.002 [doi].

Romijn, J. A., Coyle, E. F., Sidossis, L. S., Gastaldelli, A., Horowitz, J. F., Endert, E., & Wolfe, R. R. (1993). Regulation of endogenous fat and carbohydrate metabolism in relation to exercise intensity and duration. *Am. J. Physiol* 265, E380-E391.

Safar, M. E. & Boudier, H. S. (2005). Vascular development, pulse pressure, and the mechanisms of hypertension. *Hypertension* 46, 205-209, doi:01.HYP.0000167992.80876.26 [pii];10.1161/01.HYP.0000167992.80876.26 [doi].

Santos-Parker, J. R., LaRocca, T. J., & Seals, D. R. (2014). Aerobic exercise and other healthy lifestyle factors that influence vascular aging. *Adv. Physiol Educ.* 38, 296-307, doi:38/4/296 [pii];10.1152/advan.00088.2014 [doi].

Sastre, J., Pallardo, F. V., Garcia, d. I. A., & Vina, J. (2000). Mitochondria, oxidative stress and aging. *Free Radic. Res.* 32, 189-198.

Schleifenbaum, J., Kohn, C., Voblova, N., Dubrovskaya, G., Zavarinskaya, O., Gloe, T., Crean, C. S., Luft, F. C., Huang, Y., Schubert, R., & Gollasch, M. (2010). Systemic peripheral artery relaxation by KCNQ channel openers and

hydrogen sulfide. *J. Hypertens.* 28, 1875-1882, doi:10.1097/HJH.0b013e32833c20d5 [doi].

Schuitemaker, A., Dik, M. G., Veerhuis, R., Scheltens, P., Schoonenboom, N. S., Hack, C. E., Blankenstein, M. A., & Jonker, C. (2009). Inflammatory markers in AD and MCI patients with different biomarker profiles. *Neurobiol. Aging* 30, 1885-1889, doi:S0197-4580(08)00033-X [pii];10.1016/j.neurobiolaging.2008.01.014 [doi].

Seals, D. R., Desouza, C. A., Donato, A. J., & Tanaka, H. (2008). Habitual exercise and arterial aging. *J. Appl. Physiol* (1985.) 105, 1323-1332, doi:90553.2008 [pii];10.1152/japplphysiol.90553.2008 [doi].

Seals, D. R., Jablonski, K. L., & Donato, A. J. (2011). Aging and vascular endothelial function in humans. *Clin. Sci. (Lond)* 120, 357-375, doi:CS20100476 [pii];10.1042/CS20100476 [doi].

Seals, D. R., Walker, A. E., Pierce, G. L., & Lesniewski, L. A. (2009). Habitual exercise and vascular ageing. *J. Physiol* 587, 5541-5549, doi:jphysiol.2009.178822 [pii];10.1113/jphysiol.2009.178822 [doi].

Sebastiani, P., Thyagarajan, B., Sun, F., Honig, L. S., Schupf, N., Cosentino, S., Feitosa, M. F., Wojczynski, M., Newman, A. B., Montano, M., & Perls, T. T. (2016). Age and Sex Distributions of Age-Related Biomarker Values in Healthy Older Adults from the Long Life Family Study. *J. Am. Geriatr. Soc.* 64, e189-e194, doi:10.1111/jgs.14522 [doi].

Sen, C. K. (1995). Oxidants and antioxidants in exercise. *J. Appl. Physiol* (1985.) 79, 675-686.

Sen, P., Dang, W., Donahue, G., Dai, J., Dorsey, J., Cao, X., Liu, W., Cao, K., Perry, R., Lee, J. Y., Wasko, B. M., Carr, D. T., He, C., Robison, B., Wagner, J., Gregory, B. D., Kaeberlein, M., Kennedy, B. K., Boeke, J. D., & Berger, S. L. (2015). H3K36 methylation promotes longevity by enhancing transcriptional fidelity. *Genes Dev.* 29, 1362-1376, doi:29/13/1362 [pii];10.1101/gad.263707.115 [doi].

Seo, A. Y., Hofer, T., Sung, B., Judge, S., Chung, H. Y., & Leeuwenburgh, C. (2006). Hepatic oxidative stress during aging: effects of 8% long-term calorie restriction and lifelong exercise. *Antioxid. Redox. Signal.* 8, 529-538, doi:10.1089/ars.2006.8.529 [doi].

Shay, J. W., Wright, W. E., & Werbin, H. (1991). Defining the molecular mechanisms of human cell immortalization. *Biochim. Biophys. Acta* 1072, 1-7, doi:0304-419X(91)90003-4 [pii].

Shephard, R. J. & Balady, G. J. (1999). Exercise as cardiovascular therapy. *Circulation* 99, 963-972.

Sies, H. (2014). Role of metabolic H₂O₂ generation: redox signaling and oxidative stress. *J. Biol. Chem.* 289, 8735-8741, doi:R113.544635 [pii];10.1074/jbc.R113.544635 [doi].

Simon, T., Mary-Krause, M., Funck-Brentano, C., & Jaillon, P. (2001). Sex differences in the prognosis of congestive heart failure: results from the Cardiac Insufficiency Bisoprolol Study (CIBIS II). *Circulation* 103, 375-380.

Sindler, A. L., Fleenor, B. S., Calvert, J. W., Marshall, K. D., Zigler, M. L., Lefer, D. J., & Seals, D. R. (2011). Nitrite supplementation reverses vascular endothelial dysfunction and large elastic artery stiffness with aging. *Aging Cell* 10, 429-437, doi:10.1111/j.1474-9726.2011.00679.x [doi].

Song, X., Bao, M., Li, D., & Li, Y. M. (1999a). Advanced glycation in D-galactose induced mouse aging model. *Mech. Ageing Dev.* 108, 239-251, doi:S0047637499000226 [pii].

Song, X., Bao, M., Li, D., & Li, Y. M. (1999b). Advanced glycation in D-galactose induced mouse aging model. *Mech. Ageing Dev.* 108, 239-251, doi:S0047637499000226 [pii].

St-Onge, M. P. & Gallagher, D. (2010). Body composition changes with aging: the cause or the result of alterations in metabolic rate and macronutrient oxidation? *Nutrition* 26, 152-155, doi:S0899-9007(09)00296-2 [pii];10.1016/j.nut.2009.07.004 [doi].

Szasz, T. & Webb, R. C. (2012). Perivascular adipose tissue: more than just structural support. *Clin. Sci. (Lond)* 122, 1-12, doi:CS20110151 [pii];10.1042/CS20110151 [doi].

Takaoka, M., Suzuki, H., Shioda, S., Sekikawa, K., Saito, Y., Nagai, R., & Sata, M. (2010). Endovascular injury induces rapid phenotypic changes in perivascular adipose tissue. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 30, 1576-1582, doi:ATVBAHA.110.207175 [pii];10.1161/ATVBAHA.110.207175 [doi].

Thompson, S. L. & Compton, D. A. (2010). Proliferation of aneuploid human cells is limited by a p53-dependent mechanism. *J. Cell Biol.* 188, 369-381, doi:jcb.200905057 [pii];10.1083/jcb.200905057 [doi].

Tosato, M., Zamboni, V., Ferrini, A., & Cesari, M. (2007). The aging process and potential interventions to extend life expectancy. *Clin. Interv. Aging* 2, 401-412.

Trott, D. W., Gunduz, F., Laughlin, M. H., & Woodman, C. R. (2009). Exercise training reverses age-related decrements in endothelium-dependent dilation in skeletal muscle feed arteries. *J. Appl. Physiol* (1985.) 106, 1925-1934, doi:91232.2008 [pii];10.1152/japplphysiol.91232.2008 [doi].

Trounce, I., Byrne, E., & Marzuki, S. (1989). Decline in skeletal muscle mitochondrial respiratory chain function: possible factor in ageing. *Lancet* 1, 637-639, doi:S0140-6736(89)92143-0 [pii].

Tsutsui, H., Kinugawa, S., & Matsushima, S. (2011). Oxidative stress and heart failure. *Am. J. Physiol Heart Circ. Physiol* 301, H2181-H2190, doi:ajpheart.00554.2011 [pii];10.1152/ajpheart.00554.2011 [doi].

Tung, B. T., Rodriguez-Bies, E., Thanh, H. N., Le-Thi-Thu, H., Navas, P., Sanchez, V. M., & Lopez-Lluch, G. (2015). Organ and tissue-dependent effect of resveratrol and exercise on antioxidant defenses of old mice. *Aging Clin. Exp. Res.* 27, 775-783, doi:10.1007/s40520-015-0366-8 [doi];10.1007/s40520-015-0366-8 [pii].

Tunstall-Pedoe, H., Kuulasmaa, K., Amouyel, P., Arveiler, D., Rajakangas, A. M., & Pajak, A. (1994). Myocardial infarction and coronary deaths in the World Health Organization MONICA Project. Registration procedures, event rates, and case-fatality rates in 38 populations from 21 countries in four continents. *Circulation* 90, 583-612.

Ulrich, P. & Cerami, A. (2001). Protein glycation, diabetes, and aging. *Recent Prog. Horm. Res.* 56, 1-21.

Valko, M., Rhodes, C. J., Moncol, J., Izakovic, M., & Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem. Biol. Interact.* 160, 1-40, doi:S0009-2797(05)00433-3 [pii];10.1016/j.cbi.2005.12.009 [doi].

Van, R. H. & Richardson, A. (2001). Oxidative damage to mitochondria and aging. *Exp. Gerontol.* 36, 957-968, doi:S0531556501000936 [pii].

Vaupel, J. W. (2010). Biodemography of human ageing. *Nature* 464, 536-542, doi:nature08984 [pii];10.1038/nature08984 [doi].

vB, H. J., Iachine, I., Skytthe, A., Vaupel, J. W., McGue, M., Koskenvuo, M., Kaprio, J., Pedersen, N. L., & Christensen, K. (2006). Genetic influence on human lifespan and longevity. *Hum. Genet.* 119, 312-321, doi:10.1007/s00439-006-0144-y [doi].

Victorio, J. A., Fontes, M. T., Rossoni, L. V., & Davel, A. P. (2016). Different Anti-Contractile Function and Nitric Oxide Production of Thoracic and Abdominal Perivascular Adipose Tissues. *Front Physiol* 7, 295, doi:10.3389/fphys.2016.00295 [doi].

Virmani, R., Avolio, A. P., Mergner, W. J., Robinowitz, M., Herderick, E. E., Cornhill, J. F., Guo, S. Y., Liu, T. H., Ou, D. Y., & O'Rourke, M. (1991). Effect of aging on aortic morphology in populations with high and low prevalence of hypertension and atherosclerosis. Comparison between occidental and Chinese communities. *Am. J. Pathol.* 139, 1119-1129.

Wang, S., Sun, Q. Q., Xiang, B., & Li, X. J. (2013). Pancreatic islet cell autophagy during aging in rats. *Clin. Invest Med.* 36, E72-E80.

Warburton, D. E., Nicol, C. W., & Bredin, S. S. (2006). Health benefits of physical activity: the evidence. *CMAJ.* 174, 801-809, doi:174/6/801 [pii];10.1503/cmaj.051351 [doi].

Watts, S. W., Shaw, S., Burnett, R., & Dorrance, A. M. (2011). Indoleamine 2,3-dioxygenase in periaortic fat: mechanisms of inhibition of contraction. *Am. J. Physiol Heart Circ. Physiol* 301, H1236-H1247, doi:ajpheart.00384.2011 [pii];10.1152/ajpheart.00384.2011 [doi].

Wei, M., Mahady, G. B., Liu, D., Zheng, Z. S., & Lu, Y. (2016). Astragalin, a Flavonoid from *Morus alba* (Mulberry) Increases Endogenous Estrogen and Progesterone by Inhibiting Ovarian Granulosa Cell Apoptosis in an Aged Rat Model of Menopause. *Molecules.* 21, doi:molecules21050675 [pii];10.3390/molecules21050675 [doi].

Wenzel, P., Schuhmacher, S., Kienhofer, J., Muller, J., Hortmann, M., Oelze, M., Schulz, E., Treiber, N., Kawamoto, T., Scharffetter-Kochanek, K., Munzel, T., Burkle, A., Bachschmid, M. M., & Daiber, A. (2008). Manganese superoxide dismutase and aldehyde dehydrogenase deficiency increase mitochondrial oxidative stress and aggravate age-dependent vascular dysfunction. *Cardiovasc. Res.* 80, 280-289, doi:cvn182 [pii];10.1093/cvr/cvn182 [doi].

White, R. R., Milholland, B., de, B. A., Curran, S., Laberge, R. M., van, S. H., Campisi, J., Maslov, A. Y., & Vijg, J. (2015). Controlled induction of DNA double-strand breaks in the mouse liver induces features of tissue ageing. *Nat. Commun.* 6, 6790, doi:ncomms7790 [pii];10.1038/ncomms7790 [doi].

Williams, P. T. & Wood, P. D. (2006). The effects of changing exercise levels on weight and age-related weight gain. *Int. J. Obes. (Lond)* 30, 543-551, doi:0803172 [pii];10.1038/sj.ijo.0803172 [doi].

Withers, S. B., Agabiti-Rosei, C., Livingstone, D. M., Little, M. C., Aslam, R., Malik, R. A., & Heagerty, A. M. (2011). Macrophage activation is responsible for loss of anticontractile function in inflamed perivascular fat. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 31, 908-913, doi:ATVBAHA.110.221705 [pii];10.1161/ATVBAHA.110.221705 [doi].

Woods, J. A., Vieira, V. J., & Keylock, K. T. (2009). Exercise, inflammation, and innate immunity. *Immunol. Allergy Clin. North Am.* 29, 381-393, doi:S0889-8561(09)00012-5 [pii];10.1016/j.iac.2009.02.011 [doi].

Wrann, C. D., White, J. P., Salogiannis, J., Laznik-Bogoslavski, D., Wu, J., Ma, D., Lin, J. D., Greenberg, M. E., & Spiegelman, B. M. (2013). Exercise induces hippocampal BDNF through a PGC-1alpha/FNDC5 pathway. *Cell Metab* 18, 649-659, doi:S1550-4131(13)00377-X [pii];10.1016/j.cmet.2013.09.008 [doi].

Xia, N., Horke, S., Habermeier, A., Closs, E. I., Reifenberg, G., Gericke, A., Mikhed, Y., Munzel, T., Daiber, A., Forstermann, U., & Li, H. (2016). Uncoupling of Endothelial Nitric Oxide Synthase in Perivascular Adipose Tissue of Diet-Induced Obese Mice. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 36, 78-85, doi:ATVBAHA.115.306263 [pii];10.1161/ATVBAHA.115.306263 [doi].

Xia, N. & Li, H. (2016). The role of perivascular adipose tissue in obesity-induced vascular dysfunction. *Br. J. Pharmacol.*, doi:10.1111/bph.13650 [doi].

Yashin, A. I., Arbeev, K. G., Akushevich, I., Ukraintseva, S. V., Kulminski, A., Arbeeveva, L. S., & Culminskaya, I. (2010). Exceptional survivors have lower age trajectories of blood glucose: lessons from longitudinal data. *Biogerontology*. 11, 257-265, doi:10.1007/s10522-009-9243-1 [doi].

Yazdanyar, A. & Newman, A. B. (2009). The burden of cardiovascular disease in the elderly: morbidity, mortality, and costs. *Clin. Geriatr. Med.* 25, 563-77, vii, doi:S0749-0690(09)00051-2 [pii];10.1016/j.cger.2009.07.007 [doi].

Zhuang, Y. & Lyga, J. (2014). Inflammaging in skin and other tissues - the roles of complement system and macrophage. *Inflamm. Allergy Drug Targets*. 13, 153-161, doi:IADT-EPUB-60630 [pii].

Ziegler, D. V., Wiley, C. D., & Velarde, M. C. (2015). Mitochondrial effectors of cellular senescence: beyond the free radical theory of aging. *Aging Cell* 14, 1-7, doi:10.1111/acel.12287 [doi].