



**T.C.  
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ  
HAMİDİYE SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**LONG EVANS CİNSİ SIÇANLARDA  
MOTOR KOORDİNASYON, ANKSİYETE VE  
ÖĞRENME/BELLEK FONKSİYONLARININ  
YAŞA BAĞLI DEĞİŞİMLERİNİN  
İNCELENMESİ**

**Nurcan ALBAY**

**Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı  
Tıbbi Biyoloji Yüksek Lisans Programı**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**AĞUSTOS/2021**





**SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ**  
**HAMİDİYE SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**LONG-EVANS CİNSİ SIÇANLARDA MOTOR KOORDİNASYON,  
ANKSİYETE VE ÖĞRENME-BELLEK GİBİ DAVRANIŞSAL  
FONKSİYONLARIN YAŞA BAĞLI DEĞİŞİMLERİNİN İNCELENMESİ**

**Nurcan ALBAY**

**Tez Danışmanı**

**Prof. Dr. Ülkan KILIÇ**

**İkinci Tez Danışmanı**

**Doç. Dr. Birsen ELİBOL**

**Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı**

**Tıbbi Biyoloji Yüksek Lisans Programı**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**AĞUSTOS/2021**

## BEYAN

Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Hamidiye Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında;

- Mevcut tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu,
- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel, etik ve ahlâk kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Mevcut tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı, bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Nurcan ALBAY

11.08.2021

**LONG-EVANS CİNSİ SIÇANLARDA MOTOR KOORDİNASYON,  
ANKSİYETE VE ÖĞRENME-BELLEK GİBİ DAVRANIŞSAL  
FONKSİYONLARIN YAŞA BAĞLI DEĞİŞİMLERİNİN İNCELENMESİ**

**ÖZET**

**Amaç:** Literatürde bulunan mevcut araştırmalarda hayvan davranışlarının yaşla birlikte değiştiği yönünde veriler paylaşılmıştır. Buna karşın bu farklılıkların genç, orta ve ileri yaş grubundaki hayvanlarda ne yönde değiştiği hem fonksiyonel hem de moleküler olarak tam anlamıyla aydınlatılamamıştır. Bu nedenle, bu çalışmadaki amacımız üç farklı yaş grubundaki sıçanlarda motor fonksiyonları ve kognitif fonksiyonları çeşitli davranış deneyleri uygulayarak karşılaştırmak ve değişimlerin yaşa bağlı moleküler farklılıklarının tespit edilmesi yönündedir.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışmaya 1 aylık (genç), 4 aylık (orta yaşlı) ve 12 aylık (yaşlı) olmak üzere 3 farklı yaştaki *Long-Evans* cinsi sıçanlar dahil edilmiştir. Bu sıçanlara (i) Yükseltilmiş Artı-Labirent testi, (ii) Açık Alan testi, (iii) Zorunlu Yüzme testi, (iv) Rotarod testi, (v) Pasif Sakınma testi ve (vi) Morris Tipi Su Labirenti testi olmak üzere 6 farklı davranış testi uygulanarak yaşa bağımlı korku, motor koordinasyon, öğrenme ve hafıza değişiklikleri (kognitif) belirlenmiş ve Western blot tekniği ile hipokampal klotho, BACE, transtiretin ve p-Tau protein düzeylerindeki değişimler tespit edilmiştir.

**Bulgular:** Anksiyeteyi gösteren Yükseltilmiş Artı-Labirent testinde genç sıçanlar orta yaşlılara oranla açık kolda daha fazla vakit geçirmişlerdir. Ayrıca Açık Alan testinde de bunu destekler biçimde orta yaşlı sıçanların anksiyetelerinde genç sıçanlarınkine oranla anlamlı bir artış izlenmiştir. Zorunlu Yüzme testine bakıldığında, yaş ile birlikte depresyonun arttığı, Rotarod testinde ise yaşlılarda gençlere oranla motor koordinasyonun azaldığı tespit edilmiştir. Bunların yanında, Morris Tipi Su Labirenti testine göre, yaşlıların gençlere ve orta yaşlılara oranla daha yavaş öğrendikleri ve orta yaşlılarda gençlere oranla bellek yeteneklerinin azaldığı gösterilmiştir. Moleküler analizlerin istatistik sonuçları neticesinde ise Klotho ve Prealbümin protein miktarlarının yaşla birlikte azaldığı, BACE ve pTau proteini miktarlarının normal koşullarda değişmediği tespit edilmiştir.

**Sonuç:** Bu sonuçlar göstermektedir ki, yaşla birlikte artan anksiyete ve depresyon ilerleyen yaşlarda özellikle öğrenme güçlüklerinin oluşumuna katkıda bulunmaktadır. Ayrıca bu kognitif bozukların moleküler temelinde klotho ve prealbümin miktarındaki azalışların yatabileceği alınan sonuçlarda görülmektedir. Bu nedenle, sağlıklı ve kaliteli bir yaşlılık için orta yaşlarda anksiyete ve depresyondan uzak durulması gerekmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Davranış ve Davranış Mekanizmaları; Kognitif Yaşlanma, Sıçanlar.



**INVESTIGATION OF BEHAVIORAL FUNCTIONS OF AGE-RELATED  
CHANGES SUCH AS MOTOR COORDINATION, ANXIETY AND  
LEARNING-MEMORY IN LONG-EVANS RAT**

**ABSTRACT**

**Objective:** In the current literature, there are studies sharing the data reported that animal behavior changes with age. On the contrary to that, both the functional and molecular changes observed in young, middle-aged and older age groups have not been fully elucidated. Therefore, our aim in this study is to determine age-related changes in motor and cognitive functions of rats by applying some behavioral experiments and their underlying molecular parameters.

**Materials and Methods:** *Long-Evans* rats of 3 different ages including 1 month (young), 4 months (middle-aged) and 12 months (old) were included in the study. 6 different type of behavioral tests (i) Elevated Plus-Maze test, (ii) Open field test, (iii) Forced Swim test, (iv) Rotarod test, (v) Passive Avoidance test and (vi) Morris Type Water Maze test were applied to the rats to specify age-dependent changes in anxiety, depression, motor coordination, learning and memory. In addition, the molecular changes in the protein levels of hippocampal klotho, BACE, transthyretin and p-Tau were determined by Western blot technique.

**Results:** In the Elevated-Plus maze which shows the level of anxiety, young rats spent more time in the open arm than the middle-aged rats. Supporting this, in the Open Field test, a significant increase was observed in the anxiety level of middle-aged rats compared to that of young rats. The Forced Swimming test analysis results showed that depression increased with age whereas the Rotarod test analysis showed that motor coordination decreased with aging. Besides, in the Morris Water Maze, the learning capacity decreased in the older-aged rats compared to the young and middle-aged rats and the memory abilities of the middle-aged rats were low than that of the young ones. As a result of the molecular analysis, it was not determined that the amount of Klotho and Prealbumin protein decreased with age, and the amount of BACE and pTau protein did not change under normal conditions.

**Conclusion:** These results show that increase in the anxiety and depression with age contribute to the formation of learning difficulties in older ages. In addition, it is seen in the results that the molecular basis of these cognitive impairments may be due to decreases in the amount of klotho and prealbumin. Therefore, it is necessary to avoid anxiety and depression in middle ages for a healthy and qualified elderly.

**Keywords:** Behavior and Behavior Mechanisms; Cognitive Aging; Rats.



## TEŞEKKÜR

Yüksek lisansım boyunca bilgisini ve yardımlarını esirgemeyen, yetenek ve başarılarından etkilenererek kendime örnek aldığım, desteğini her zaman hissettiğim, danışman hocam ve aynı zamanda S.B.Ü Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı başkanımız olan sayın Prof. Dr. Ülkan KILIÇ'a

Proje sürecimde tüm sorularımı büyük sabır ve içtenlikle yanıtlayan, bu süreçte yardımını benden esirgemeyen ikinci tez danışmanım Bezmialem Üniversitesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'ndan sayın Dr. Öğr. Üyesi Birsen ELİBOL'a,

Engin bilgilerinin yanında her türlü yardımlarını esirgemeyen S.B.Ü Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'nda görev yapmakta olan öğretim üyesi hocalarıma,

Tezime yaptığı katkılardan dolayı S.B.Ü Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı doktora öğrencisi M.Sc. Rabia KALKAN'a ve her zaman yanımda bulunup hayatıma renk katan S.B.Ü Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı yüksek lisans ve doktora programında eğitim gören arkadaşlarıma,

Bugünümde olduğu gibi yarınımda da yanımda olacağını bildiğim, kardeşliğin kan bağıyla değil gönül bağıyla olduğunu gösteren S.B.Ü Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'nda doktora öğrencisi olan manevi kardeşim M.Sc. Halime YILDIRIM'a

Hayatımın her anında elimden tutarak, yürüdüğüm tüm yolları kalplerindeki sevgi ve şefkatle aydınlatan, dudaklarındaki tebessümü kalbimin derinliklerinde hissettiğim, yürüdüğüm bu yolda beni her zaman destekleyen ne olursa olsun bana sırtını dönmeyeceğini bildiğim; canım babam, rahmetli Zeki ALBAY'a, yol arkadaşım, annem Müjgan ALBAY'a ve hayattaki en büyük şansım, kardeşim Cannur ALBAY'a,

Sevgi, saygı ve teşekkürlerimi iletiyorum.

## İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	vi
TEŞEKKÜR.....	viii
İÇİNDEKİLER .....	ix
ÇİZELGE LİSTESİ.....	xii
ŞEKİL LİSTESİ.....	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xv
1. GİRİŞ VE AMAÇ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	3
2.1. YAŞLANMA .....	3
2.1.1. Tanımı.....	3
2.1.2. Biyolojik Yaşlanma Teorileri .....	3
2.1.2.1. Yaşlanma Enerjisi Teorisi.....	4
2.1.2.2. Oksidatif Stres Teorisi .....	5
2.1.2.3. Mitokondriyel Teori.....	6
2.1.2.4. Telomer Teorisi.....	8
2.1.2.5. İmmünite Teorisi: .....	8
2.1.2.6. Hormon Teorisi.....	10
2.2. YAŞLANMANIN DAVRANIŞ ÜZERİNE ETKİSİ.....	12
2.2.1. Yaşlanmanın Anksiyete ve Depresyon Üzerinde Etkileri .....	13
2.2.2. Yaşlanmanın Motor Koordinasyon Üzerinde Etkisi.....	16
2.2.3. Yaşlanmanın Öğrenme ve Bellek Fonksiyonları Üzerinde Etkisi .....	17
2.3. YAŞLANMA İLE ORTAYA ÇIKAN HASTALIKLAR.....	20
2.3.1. Nörodejeneratif Hastalıklar.....	20

2.3.2. Diğer Hastalıklar .....	21
3. GEREÇ VE YÖNTEM .....	23
3.1. GEREÇ .....	23
3.1.1. Çalışma İçin Belirlenen Örnekler ve Özellikleri .....	23
3.1.2. Tez Çalışması Dahilinde Kullanılan Bilgisayar Destekli Analiz Programları .....	24
3.1.3. Tez Çalışması Dahilinde Kullanılan Cihazlar.....	24
3.1.4. Tez Çalışması Dahilinde Kullanılan Kitler ve Kimyasallar .....	26
3.2. YÖNTEM .....	27
3.2.1. Davranış Deneyleri .....	27
3.2.1.1. Yükseltilmiş Artı-labirenti (Elevated Plus-Maze) .....	27
3.2.1.2. Açık Alan Testi (Open Field Area).....	28
3.2.1.3. Zorunlu Yüzme Testi (Forced Swimming Test).....	28
3.2.1.4. Rotarod (Rotorod) Motor Koordinasyon Testi .....	29
3.2.1.5. Pasif Sakınma Testi.....	30
3.2.1.6. Morris Tipi Su Labirenti (MWM) Testi.....	31
3.2.2. Moleküler Deneyler .....	32
3.2.2.1. Doku Örneklerinin Elde Edilmesi ve Homejenizasyon Süreci.....	32
3.2.2.2. Protein Konsantrasyonlarının Belirlenmesi ve Sodyum Dodesil Sülfat–Poliakrilamid Jel Elektroforez (SDS-PAGE).....	34
3.2.2.3. Blotlama İşlemi ve Antikor Muamelesi.....	38
3.2.2.4. Membran Görüntüleme .....	40
3.2.3. İstatiksel Analiz Çalışmaları .....	40
4. BULGULAR .....	41
4.1. DAVRANIŞ DENEYİ BULGULARI.....	41
4.1.1. Yükseltilmiş Artı-labirent Testi (Elevated Plus-Maze) Analizi.....	41

4.1.2. Açık Alan Testi Analizi .....	42
4.1.3. Zorunlu Yüzme Testi Analizi .....	46
4.1.4. Rotarod Motor Koordinasyon Testi Analizi .....	47
4.1.5. Pasif Sakınma Testi Analizi.....	48
4.1.6. Morris Tipi Su Labirenti (MWM) Testi Analizi.....	49
4.2. MOLEKÜLER ANALİZ BULGULARI .....	53
5. TARTIŞMA .....	57
SONUÇLAR .....	67
KAYNAKLAR .....	69
EKLER .....	80
EK1 .....	80

## ÇİZELGE LİSTESİ

<b>Çizelge 3. 1.</b> Tez Çalışması Sürecinde Kullanılan Cihazlar ve Kullanım Amaçları...24	24
<b>Çizelge 3.2.</b> Tez Çalışması Sürecinde Kullanılan Kit / Kimyasallar ve Kullanım Amaçları.....24	24
<b>Çizelge 3.3.</b> Tez Çalışması Dahilinde Kullanılan Bilgisayar Destekli Analiz Programları ve Kullanım Amaçları..... 25	25
<b>Çizelge 3.4.</b> Kullanılan Davranış Testleri ve İlişkilendirildikleri Davranışlar ..... 26	26
<b>Çizelge 3.5.</b> Sıçanların hipokampuslerinin ağırlıkları ..... 27	27
<b>Çizelge 3. 6.</b> Örneklerin Protein Konsantrasyonları .....33	33



## ŞEKİL LİSTESİ

<b>Şekil 2.1.</b> Ek yaşam süresinin yaşa göre evrimsel maliyeti/ faydası- Goldsmith (28)'den.....	4
<b>Şekil 2.2.</b> Mitokondriyel DNA hasarı ve yaşlanma- Trifunovic ve ark. (46)'dan.....	8
<b>Şekil 2.3.</b> Bildirici ve bildirimsel olmayan bellek ve öğrenme sistemlerinin tahmini yaşlanma çizelgesi- Rönnlund ve ark. (138)'den.....	19
<b>Şekil 3.1.</b> Yükseltilmiş Artı-Labirent Testi düzeneği ve Video İzleme Sistemindeki Görüntüsü.....	27
<b>Şekil 3.2.</b> Açık Alan Testi düzeneği .....	28
<b>Şekil 3.3.</b> Zorunlu Yüzme Test Düzeneği.....	29
<b>Şekil 3.4.</b> Rotarod Test Cihazı .....	30
<b>Şekil 3.5.</b> Pasif Sakınma Test Cihaz ve Yazılımının Görüntüsü .....	31
<b>Şekil 3.6.</b> Morris su labirentinde öğrenme deneyinde 1. gün ve 5. günde sıçanların izledikleri yolu gösteren temsili resim .....	31
<b>Şekil 3.7.</b> Morris su labirenti deneyi test denemesi gününde platformun yerini öğrenmiş ve öğrenememiş hayvanın izlediği yol ve A40= Annulus40; platformun önceden bulunduğu yerin 40 cm çapındaki dairesel alanı .....	32
<b>Şekil 3. 8.</b> BCA protein konsantrasyon kiti ile örneklerdeki proteinlerin belirlenmesi .....	35
<b>Şekil 3. 9.</b> Proteinlerin elektroforez için hazırlanması.....	37
<b>Şekil 3. 10.</b> Dikey elektroforez .....	38
<b>Şekil 4.1.</b> Gruplardaki bireylerin süre açısından değerlendirmesini gösteren Artı labirent testi analiz sonuç grafiği .....	41
<b>Şekil 4.2.</b> Gruplardaki bireylerin frekans açısından değerlendirmesini gösteren Artı labirent testi analiz sonuç grafiği .....	42
<b>Şekil 4.3.</b> Gruplardaki bireylerin orta alandaki geçirdikleri sürenin açık alan testi ile analiz sonuçları.....	43
<b>Şekil 4.4.</b> Gruplardaki bireylerin mesafeye bağlı lokomotor aktivitesinin açık alan testi ile analiz sonuçları.....	44
<b>Şekil 4.5.</b> Gruplardaki bireylerin aktiviteye bağlı açık alan testi ile analiz sonuçları 44	

<b>Şekil 4.6.</b> Gruplardaki bireylerin mobiliteye bağlı açık alan testi ile analiz sonuçları .....	45
<b>Şekil 4.7.</b> Gruplardaki bireylerin etrafa bakınmaya bağlı açık alan testi ile analiz sonuçları .....	46
<b>Şekil 4.8.</b> Zorunlu yüzme testi analiz sonuçları .....	47
<b>Şekil 4.9.</b> Rotorod motor koordinasyon testi analiz sonuçları .....	48
<b>Şekil 4.10.</b> Pasif sakınma testi analiz sonuçları .....	48
<b>Şekil 4.11.</b> Gruplardaki bireylerin günlere göre platforma ulaşma süresini gösteren morris su tankı testi öğrenmeye bağlı analiz sonuçları .....	49
<b>Şekil 4.12.</b> Gruplardaki bireylerin günlere göre platforma yüzme mesafesini gösteren morris su tankı testi öğrenmeye bağlı analiz sonuçları .....	50
<b>Şekil 4.13.</b> Gruplardaki bireylerin günlere göre platforma yüzme hızını gösteren morris su tankı testi öğrenmeye bağlı analiz sonuçları .....	51
<b>Şekil 4.14.</b> Gruplardaki bireylerin platform çeyreğinden geçen zamana bağlı morris su tankı testi hafızaya analiz sonuçları .....	52
<b>Şekil 4.15.</b> Gruplardaki bireylerin A40 bölgesinde geçirilen süreye bağlı morris su tankı testi hafızaya analiz sonuçları .....	52
<b>Şekil 4.16.</b> Grupların western-blot analiz ile yapılan BACE proteini kantitasyonu sonuçları .....	53
<b>Şekil 4.17.</b> Grupların western-blot analiz ile yapılan Klotho proteini kantitasyonu sonuçları .....	54
<b>Şekil 4.18.</b> Grupların western-blot analiz ile yapılan Prealbümin proteini kantitasyonu sonuçları .....	54
<b>Şekil 4.19.</b> Grupların western-blot analiz ile yapılan pTau proteini kantitasyonu sonuçları .....	55

## SİMGELER VE KISALTMALAR

- AH:** Alzheimer Hastalığı  
**ALS:** Amyotrofik Lateral Skleroz  
**ANOVA:** Varyans Analizi  
**BACE:**  $\beta$ -sekretaz  
**BH:** Büyüme Hormonu  
**BHSH:** BH veya BH salgılatıcı hormon  
**dH<sub>2</sub>O:** Distile Su  
**FTD:** Frontotemporal Demans  
**GHRH-1a:** Ghrelinin Bağlandığı BH Sekretagog Reseptör 1-a  
**HH:** Huntington Hastalığı  
**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>:** Hidrojen Peroksit  
**IGF-I:** İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü 1  
**LB:** Lizis Tamponu  
**LSD:** Least Significant Difference  
**MRI:** Manyetik Rezonans Görüntüleme  
**MtDNA:** Mitokondriyel DNA  
**MWM:** Morris Tipi Su Labirenti  
**NO:** Reaktif Nitrik Oksit  
**O<sub>2</sub>-:** Süperoksit  
**OH:** Hidroksil Radikali  
**ONOO-:** Peroksinitrit  
**PH:** Parkinson Hastalığı  
**PMSF:** Fenilmetansülfonil florür  
**Pol- $\gamma$ :** mtDNA Polimeraz  
**PTau:** Fosfo-Tau  
**RIPA:** Radioimmunoprecipitation  
**ROS:** Reaktif Oksijen Türevleri  
**SDS-PAGE:** Sodyum Dodesil Sülfat–Poliakrilamid Jel Elektroforez  
**SWS:** Yavaş Dalga Uykusu  
**TTR:** Transtiretin

**BOS:** Beyin Omirlilik Sıvısı

**CNS:** Santral Sinir Sistemi



## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Biyolojik yaşlanma, yaşa bağlı olarak bedenin canlılığını ve temel işlevlerini yerine getirme kapasitesini kaybettiği ve kaçınılmaz olarak ölümlü sonuçlanan bir süreçtir. Biyolojik açıdan yaşlılık, canlıda kademeli olarak hücresel ve moleküler düzeyde hasar artışı, rejenerasyonun azalması ve birikmiş aşınma sonucu vücut fonksiyonlarında azalma ve zayıflık durumu olarak tanımlanabilir. Bütün bu değişimler fonksiyonel kayıp, hareket kısıtlılığı, kas kuvveti azalması, nöromotor koordinasyon bozukluğu, öğrenme ve hafızanın azalması sonuçlarını doğurabilmektedir. Yaşlanma, biyolojik sistem içerisinde yer alan çeşitli biyokimyasal olaylarla bağlantılı doğal bir süreçtir (1).

Yaşlanma sürecini açıklamak için üretilen birçok teori tam olarak tatmin edici görünmemektedir (2). Modern yaşlanma teorilerinden, programlanmış teoriler, yaşlanmanın biyolojik bir zaman çizelgesini takip ettiğini, belki de çocukluktaki büyüme ve gelişimi düzenleyen sistemin bir devamı olduğunu söylerken, hasar veya hata teorileri, yaşlanmanın nedeni olarak canlı organizmalara çeşitli seviyelerde kümülatif hasara neden olan çevresel saldırıları vurgulamaktadır (3).

Bilişsel bozukluk ve hafıza defisitleri için hedeflerin belirlenmesi, yaşlanma ile oluşan hastalıklarda ilaç geliştirmenin odağıdır (4). Yaşlanmanın yanı sıra cinsiyet de bilişsel performansın önemli bir faktörüdür (5). Bu nedenle prelinik modellerde cinsiyete bağlı farklılıkları analiz etmek önemlidir. İnsanlarda (6), sıçanlarda (7,8) ve farelerde (9-12) yapılan çalışmalarda somatostatin, hipofiz adenilat siklaz aktive edici polipeptit, kortikotropin salgılayıcı faktör, insülin benzeri büyüme faktörü 1, büyüme hormonu (BH), nörotrofik faktör, bağ dokusu büyüme faktörü gibi peptid nörotransmitterlerin yaşlanma ile ilgili hastalıklarda düzenleyici rolleri olduğu ve beyindeki ve perifer dokulardaki konsantrasyonlarının yaşlanmayla değiştiği kaydedilmiştir. Ayrıca yapılan bazı çalışmalarda, nörodejeneratif hastalıklar, bilişsel hastalıklar, bunama, şizofreni, Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı, diyabet, kanser ve kardiyovasküler hastalıkların yaşlanma ile ilişkili olduğu görülmektedir (13,14,15).

Canlılarda duyuşsal, motor ve kognitif fonksiyonların yaşla birlikte değişiminin beyindeki birtakım ilerleyen veya değişen mekanizmalarla ilişkili olduğu bilinmektedir (16-19). Bu değişen mekanizmalardan birine dahil olan bir putatif

yaşlanma baskılayıcı gen tarafından kodlanan tip I transmembran Klotho proteinin nöroprotektif etkileri olduğu ve sağlıklı beyin yaşlanmasını desteklediği bilinmektedir (16). Klotho mutasyonlarının sistemik yaşlanmaya ve farelerde yaşam süresinin kısalmasına neden olduğu gösterilmiştir (17,20).  $\beta$ -sekretaz (BACE) aktivitesinin fare, maymun ve insan beyinlerinde, beyin bölgesinden bağımsız olarak yaşlanmayla birlikte arttığı ancak BACE protein düzeylerinin değişmediği belirlenmiştir (21). Tau proteinin transformasyonunun yaşlanmayla ilişkili post-translasyonel modifikasyonlar ile kontrol edildiği gösterilmiştir. Tau, izoform ekspresyonu ve fosforilasyon derecesi gelişimsel olarak düzenlenen bir fosfoproteindir. Yaşlanma ve nörodejeneratif hastalık durumunda, tau proteinin yeni bölgelerinde fosforilasyondan kaynaklanan önemli ölçüde yüksek fosfat içeriğine sahip olarak anormal hiperfosfatlandığı gösterilmiştir (22). Yaşlanan primatlarda hipokampüste ve kortekste p-Tau filamentlerine rastlanmıştır (23). Plazma ve serebrospinal sıvıda bulunan prealbumin olarak da bilinen transtiretinin, reaktif oksijen türleriyle ilişkili olduğu bilinmekte ve bir nöronal stres biyobelirteci olarak kullanılmaktadır (19). Ayrıca yaşlanan hayvanlarda transtiretinin hipokampal gen ekspresyonundaki değişimler ile bellek eksiklikleri arasında ilişki olduğu, bu geni olmayan farelerde yaşlanmayla birlikte ağır bellek kayıpları olduğu belirlenmiştir (18).

Literatürde hayvanların davranışlarında yaşla birlikte değişimlerin olduğuna dair birtakım veriler bulunmasına rağmen bu değişimlerin genç, orta ve ileri yaş değişimleri tam olarak incelenmemiştir. Diğer taraftan da yapılan bu çalışmalarda tek bir kognitif fonksiyon üzerinden ilerlenmiştir. Bu nedenle bu tez çalışmasında genç, orta yaşlı ve ileri yaşta sıçanlarda motor fonksiyonları ve kognitif fonksiyonları karşılaştırmak amacıyla davranış deneyleri uygulanarak yaşa bağlı değişen davranışların tespit edilmesi hedeflenmiştir. Bu amaçla 1 aylık (genç), 4 aylık (orta yaşlı) ve 12 aylık (yaşlı) olmak üzere 3 farklı yaştaki *Long-Evans* cinsi sıçanlara (i) Yükseltilmiş Artı-labirent testi, (ii) Açık alan testi, (iii) Zorunlu yüzme testi, (iv) Rotarod testi, (v) Pasif Sakınma testi ve (vi) Morris Tipi Su Labirenti testi olmak üzere 6 farklı davranış testi uygulanarak yaşa bağımlı korku, motor koordinasyon, öğrenme ve hafıza değişiklikleri (kognitif) belirlenmiş ve Western blot tekniği ile hipokampal klotho, BACE, transtiretin ve p-Tau protein düzeylerindeki yaşa bağlı değişimler tespit edilmiştir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. YAŞLANMA

#### 2.1.1. Tanımı

Yaşlılık yaşam sürecinin doğal ve zorunlu bir çağıdır. İnsanın doğumu ile başlayan yaşam sürecinde ölümden önce yaşanan ve kişinin gerek fiziksel gerekse zihinsel yönden, bağımsızlıktan bağımlılığa geçtiği, organizmada molekül, hücre, doku, organ ve sistemler düzeyinde zamanın ilerlemesiyle ortaya çıkan, geriye dönüşü olmayan yapısal ve fonksiyonel değişikliklerin tümüdür (24).

Bireylerin aynı hızda yaşlanmadığını gösteren gözlemler, fonksiyonel veya fizyolojik yaşlanma olarak da adlandırılan biyolojik yaşlanma kavramını ortaya çıkarmıştır. Kronolojik yaşlanma sadece zamanın geçişini ifade ederken, biyolojik yaşlanma işlevdeki düşüşlerle ilgilidir. Giderek yaşlanan dünya nüfusunda, sosyoekonomik ve sağlık bakım yükünü azaltmak için biyolojik yaşlanmayı düzenleyen mekanizmaları tanımlamak büyük önem taşımaktadır (25).

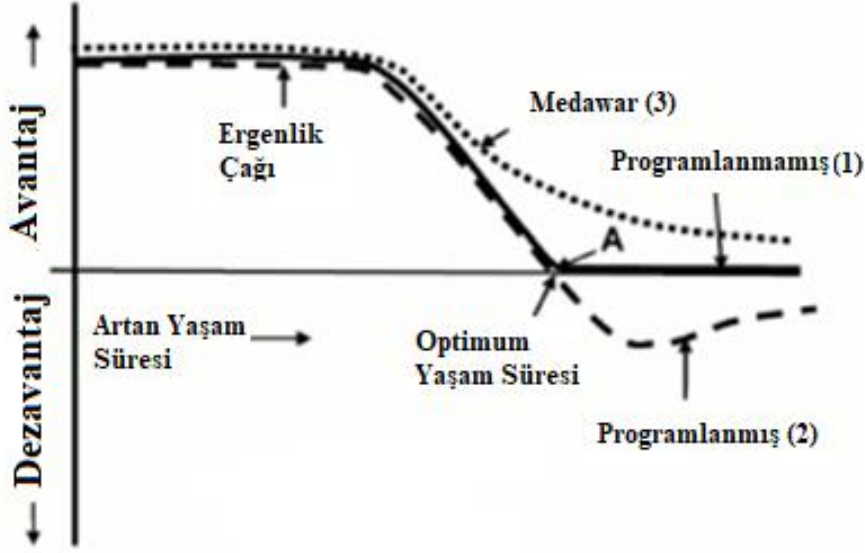
#### 2.1.2. Biyolojik Yaşlanma Teorileri

Biyolojik yaşlanma, ilerleyici hücre bozulmasına, bozulmuş doku fonksiyonuna, strese karşı savunmasızlığa ve azalmış fizyolojik rezervlere yol açan ve homeostazi koruma mekanizmalarını sınırlandıran genetik ve epigenetik modifikasyonların birikmesinden kaynaklanmaktadır (26).

İnsanlarda biyolojik yaşlanma için modern teoriler iki ana kategoriye ayrılır: programlanmış teoriler ve hasar veya hata teorileri. Programlanmış teoriler, yaşlanmanın biyolojik bir zaman çizelgesini takip ettiğini, büyüme ve gelişmeyi düzenleyen sistemin bir devamı olduğunu gösterir. Bu düzenleme, bakım, tamir ve savunma yanıtlarından sorumlu sistemleri etkileyen gen ekspresyonlarındaki değişikliklere bağlıdır. Hasar veya hata teorileri, yaşlanmanın nedeni olarak canlı organizmalarda çeşitli seviyelerde kümülatif hasara neden olan çevresel saldırıları ele alır (27).

Bu iki teori kategorisine evrimsel kavramlara dayalı programlanmamış yaşlanma teorileri ve programlanmış yaşlanma teorileri de denir (28). Programlanmamış yaşlanma, bir organizmanın kötüleşen süreçlerle daha iyi mücadele edememesinin doğal sonucu olduğu düşünülen yaşlanmadır. Programlanmış yaşlanma

ise türe özgü optimum yaşam süresinin ötesinde ömrü sınırlandırarak doğrudan evrimsel bir fayda elde etmek amacıyla bozulmaya ve ölüme neden olan bir biyolojik mekanizma ya da programın sonucu olabilmektedir (Şekil 2.1) (28).



Şekil 2.1. Ek yaşam süresinin yaşa göre evrimsel maliyeti/ faydası- Goldsmith (28)'den

### 2.1.2.1. Yaşlanma Enerjisi Teorisi

Bu yüzyılda birçok yaşlanma teorisi önerilmiştir ve çoğu zaman tüm karmaşık yaşlanma süreci tek bir teori olarak açıklanmaya çalışılmıştır. Bu girişimler başarısızlıkla sonuçlanmıştır çünkü yaşlanmanın çok nedenli veya çok faktörlü olduğu açık hale gelmiştir. Aslında, bireysel teorilerin genellikle bireysel bakım mekanizmaları ile yakından ilişkili olması oldukça dikkat çekicidir. Örneğin, popüler olan serbest radikal yaşlanma teorisi, oksijen serbest radikallerine karşı savunmaların başarısızlığı ile ilgilidir (29).

Somatik mutasyon teorisi, DNA onarımının başarısızlığı ile ilgilidir. Anormal protein teorilerinin çeşitli formları, protein moleküllerindeki hatalar veya kusurlar ve bu moleküllerin uzaklaştırılmasıyla bir şekilde ilgilidir. Otoimmün yaşlanma teorisi, bağışıklık sisteminin nihayetinde kendini, kendinden olmayan antijenlerden ayırt edemediğini önermektedir. Diğerleri epigenetik kontrollerin kaybı veya toksik kimyasalların zararlı etkileri vb. ile ilgilidir. Tüm bu teorilerde bazı gerçeklerin var olması ve karmaşık bir organizmada meydana gelebilecek tüm zararlı değişiklikler

hakkında daha geniş bir küresel görüşün alınması muhtemeldir. İdamenin başarısızlığı tüm mekanizmaları kapsar, ancak bazılarının diğerlerinden daha önemli olması beklenmektedir (29).

#### 2.1.2.2. Oksidatif Stres Teorisi

Oksidatif stres teorisi, aerobik metabolizma sırasında mitokondrideki elektron taşıma zincirinin sadece ATP kaynağı değil, aynı zamanda reaktif oksijen türevleri (ROS) için de kaynak olduğunu ortaya koymaktadır. Ortalama konsantrasyonda ROS, özellikle ventilasyon, sinir iletimi ve immün düzenleyici süreçlerin kontrolünde önemli hücre içi sinyalleşme fonksiyonları gösterebilmektedir (30). ROS ayrıca tümör nekroz faktörü (TNF) ve interlökin-1 (IL-1) aracılığıyla nükleer faktörü kappa B (NF-kB) aktivasyonunda (31) ve mitojenle aktive edilen protein kinaz (MAPK) yollarının aktivasyonunda (32) yer alan sekonder haberciler olarak kabul edilmektedir. Bu aktivasyonlar sayesinde, ROS hücre fonksiyonu, büyüme ve gelişmeyi etkiler ve bu nedenle “Metabolom düzenlenmesi için kesinlikle gerekli” kabul edilmektedir. (33).

Geleneksel bilginin aksine, ROS düzensiz bir şekilde üretilmez ve ani nötrleştirme gerektirir. Aksine ROS üretim oranları son derece düşüktür ( $-0,1 \text{ nM H}_2\text{O}_2$  oluşan  $\text{dk}^{-1} \text{ mg}^{-1}$  mitokondriyal protein, metabolik hızı %0,01) (34). Yüksek ROS seviyeleri, hücre içinde antioksidanlar tarafından tamamen nötralize edilmekte ve bu da hücre bileşenlere (lipitler, proteinler ve DNA) ayırım yapmadan zarar vermektedir. ROS seviyeleri hasarlı veya yaşlı mitokondrielerde artabilir ve fizyolojik seviyelerin üzerinde birikmesine neden olmaktadır (35).

Oksidatif hasar yetersiz şekilde onarılabilmektedir. Bu, yaşlılarda fizyolojik bozulmaya ve fenotipik değişikliklere ve yaşa bağlı hastalık ve ölüm sıklığının artmasına neden olabilmektedir. Bu nedenle oksidatif hasar canlı türünün maksimum ömrünün önemli bir belirleyicisi durumuna gelmektedir. Oksidatif stres aynı zamanda diğer “hasar” yaşlanma teorilerinin dayandığı bir mekanizmadır. Örnekler arasında DNA hasarının bir sonucu olarak genomik instabilite ve kardiyovasküler ve nörodejeneratif hastalık ile ilişkili patogenezle sonuçlanabilen protein hasarı sırasında glikatlı çapraz bağların birikmesi yer almaktadır. ROS üretimi, yaşlanma sürecinin tanımlanmasında kullanılan dört temel özelliği taşır: ROS, normal fizyolojik koşullar altında endojen olarak üretilir. Yaşam süresince sürekli üretilir ve biyolojik makromoleküller üzerindeki zararlı etkileri özellikle mitotik dokularda geri dönüşü

olmayan hasara neden olabilmektedir. Bu koşullar göz önüne alındığında, türler arasındaki farklı yaşlanma hızları, düşük ROS üretimi oranlarına yanıt olarak veya artmış antioksidan savunma yoluyla oksidatif hasar birikimindeki farklılıklardan kaynaklanabilmektedir. Bu teori için üretilen mantık ve kanıtlara rağmen (36,37,38) oksidatif stres ile yaşlanma oranı arasında nedensel bir bağlantı halen net olarak belirlenmemiştir. Mevcut tüm veriler, bu yaşlanma teorisinin aslında hala geçerli olup olmadığı sorusunu açıklamak için oksidatif stres hipotezini destekleyememektedir (39,40,41).

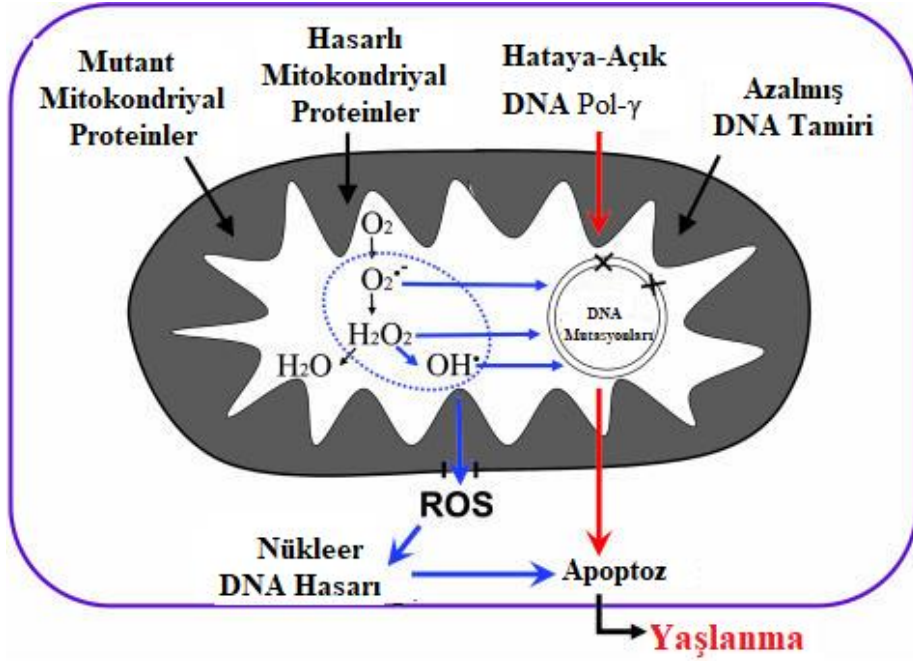
### 2.1.2.3. Mitokondriyel Teori

Mitokondri, hidrokarbonların oksijen ile reaksiyonu yoluyla ATP üreten hücresel enerji fabrikalarıdır. Her insan hücresi yüzlerce mitokondri içermektedir ve her mitokondri mitokondriyel DNA'nın (mtDNA) birden fazla kopyasına sahiptir. Mitokondriyel genomun soyu ilk öbakterilere kadar dayanabilmektedir ve bu nedenle bu organelin insan yaşlanmasının hızını yönetmede önemli bir rolü olabileceği beklendik bir durumdur. Son 20 yılda mtDNA mutasyon oranının hızlandırılmasının, prematür yaşlanmaya yol açabileceği ve mitokondriyal fonksiyon kaybının yaşlanmada büyük bir faktör olduğu rapor edilmiştir (42-44).

mtDNA polimeraz (Pol- $\gamma$ ), mitokondride bulunan ve mtDNA'yı hedeflediği bilinen tek DNA polimerazdır (45). Pol- $\gamma$ 'nın, mitokondriyal genomun replikasyonu ve DNA hasarının onarımı da dahil olmak üzere mtDNA sentezinin tüm aşamalarından sorumlu olduğu varsayılmaktadır. Diğer birçok DNA polimerazda olduğu gibi, Pol- $\gamma$ 'nin yüksek duyarlılığı hem gelen nükleotidin doğru seçiminden hem de yanlış eklenmiş nükleotitlerin 3'  $\rightarrow$  5' eksonükleolitik düzeltme aktivitesi ile eksizyonundan kaynaklanır. Eksonükleaz domainindeki kritik aspartik asit birimlerinin alanin ile değiştirilmesiyle gerçekleştirilen düzeltmenin ortadan kaldırılması, yanlış eklenme sıklığını artırır. *In vitro*'da bu yanlış eklenme, ağırlıklı olarak tek baz değişimleri olarak görülür (46,43). mtDNA'sında mutasyon olan fareler doğumda normal olmalarına rağmen, erken yaşta insan yaşlanmasının karakteristik (belki de murin yaşlanmasının karakteristiği olmayan) fenotiplerinin çoğunu sergilemiştir. Bu farelerde azalan ömür ve progeroid özelliklerinden Pol- $\gamma$ 'nın sorumlu olduğu açıkça gösterilmiştir (46,43). Tersine, Schriener ve arkadaşları (44), mitokondriyi hedef alan katalazın farelerde hem medyan hem de maksimum yaşam süresinin uzamasını

sağladığını göstermişlerdir (44). Yaşam süresinin uzatılması, mtDNA'ya daha az hasar verilmesi ve ekzojen ROS'a karşı artan mitokondriyel direnç ile ilişkili bulunmuştur (47).

Mutant farelerde artan ROS üretimi ve oksidatif hasar görmüş makromoleküllerin eksikliğini açıklayabilecek birkaç hipotez vardır. Birincisi, farelerde yaşlanmayı indüklemek için birlikte çalışan birçok yolak bulunmaktadır. Hata yapmaya yatkın bir Pol- $\gamma$ 'nın görev alması bunlardan biridir ve mutasyon oranı yapay olarak arttırıldığında ROS üretiminde değişme olmadan prematür yaşlanmaya sebep olmaktadır (Şekil 2.3) (46). Pol- $\gamma$ 'deki mutasyonlar, ROS üreten mekanizmalardan uzakta olması durumunda enzimi hataya yatkın hale getiren Pol- $\gamma$  hasarı, ROS'dan kaynaklanan protein hasarının sonucu olabilmektedir. Ayrıca, hataya eğilimli bir DNA polimerazın eklenmesi, mitokondriyal genom boyunca ROS oluşumunu önleyen geniş mutasyonlara neden olmaktadır (46). Her ne kadar bu önemli sonuçlar mtDNA bütünlüğü ve mitokondriyel fonksiyondaki kaybın yaşlanmanın merkezi faktörleri olduğunu doğrulasa da normal yaşlanma sürecinde mitokondriyel olarak üretilen ROS'ün rolünü mutlaka reddetmezler. Normatif yaşlanma sırasında, mtDNA mutasyonları, respiratuar fonksiyon bozukluğu, apoptoz aracılı mitokondriyel geçirgenlik geçiş poru (48), mitokondriyel makromoleküllere oksidatif hasardan kaynaklanabilmektedir (BK. Şekil 2.3) (47).



Şekil 2.2. Mitokondriyel DNA hasarı ve yaşlanma- Trifunovic ve ark. (46)'dan

#### 2.1.2.4. Telomer Teorisi

Bir canlı türünün ömrü, türlere özgü hücrelerin ömrü ile güçlü bir şekilde ilişkilidir. İnsan fibroblastları sürekli olarak pasajlandığında, hücre bölünmesinin ömrünün yaklaşık 50-100 kez olduğu tahmin edilmektedir. Bu nedenle, hücrelerin ömrü önceden programlanmış olarak kabul edilir ve bundan kromozomal uçlardaki kısalmış telomerlerin sorumlu olduğu bildirilmiştir (49).

Tekrarlayan DNA dizilerinden altı nükleotidli diziler (TTAGGG), tüm insan kromozomlarının uçlarında bulunmaktadır. Yaklaşık 12 kilo baz çifti uzunluğundadır ve yaklaşık 100 kez hücre bölünmesinden sonra kromozomlar telomerlerini kaybetmektedirler. Uzunlukları, kültür sırasında gözlenen hücrelerin yaşam süresine çok benzemektedir. Telomer kısalmasını önleyen telomeraz, immortalize hücrelerde ve çok yüksek aktiviteye sahip kanser hücrelerinde eksprese edilmektedir. Bu nedenle, telomer kısalması sürekli olarak enzim tarafından gerçekleştirilmektedir. Böylece kanser hücrelerinin ölümsüzleştirilmesi veya çoğalması devam etmektedir. (50).

#### 2.1.2.5. İmmünite Teorisi:

İmmün sistem diğer kompleks sistemlerle yakından ilişkili karmaşık bir fizyolojik sistemdir ve yaşlanmanın bir nedeni olabileceği düşünülmektedir. İmmün

değişiklikler, tek başına (timik involüsyon) veya kronik hastalıklar yoluyla düşük dereceli bir inflamasyonla (inflamasyon-yaşlanma) kombinasyon halinde hayatta kalmayı / mortaliteyi belirleyebilmektedir, ancak bunlar evrensel olarak yaşlanmanın tüm özelliklerini yansıtmadığı görülmektedir (51,52). Nöroendokrin sistemle ilişkili immün sisteminin etkili şekilde yaşlanmanın itici gücü olduğu düşünülmektedir (53). İnflamasyon evrim teorisi ve oksidatif yaşlanma teorisi ile ilişkili olarak yaşlanmanın itici gücü olarak görülürse immün sistem yaşlanmanın önde gelen nedeni olabilmektedir (54).

Yüzüncü yaşına gelen bireylerde immün sisteminin göreceli “uyumu”, immün sisteminin uzun ömürde rollerine ilişkin farklı fikirler vermektedir. Yüz yaşına gelmek için bir kişinin yetişkin bir immün sistemine sahip olması gerektiğinden immün sistemin bozulmasının (elbette diğer sistemlerle ilişkili olarak) çoğu bireyde yaşlanmanın nedeni olarak düşünülmektedir. Literatürdeki serbest radikal üretimi ve fagositoz gibi fagositik hücre fonksiyonları üzerine yapılan çalışmalar yaşlanmanın immün sistem teorisine işaret etmektedir. Aynı zamanda, proinflamatuvar IL-6 düzeylerinin yüz yaşında arttığı bildirilmiştir. Yüz yaşındaki birçok bireyin kronik inflamatuvar hastalıklardan şikayet etmelerine rağmen oldukça iyi durumda olduğu gözlenmiştir. Bu nedenle bu bireylerden elde edilen veriler immünite teorisini desteklemeye ya da çürütmeye yardımcı olamayabilmektedir. Yaşlanmanın immünite teorisinin tüm yaşlanma sürecini ve sonuç olarak uzun ömrü açıklayabileceği sonucuna varmak için yeterli deneysel veri bulunmamaktadır (55).

İmmünite teorisini kavramsallaştırmanın tek yolu, evrimsel ve serbest radikal yaşlanma teorileriyle ilişki kurulmasıdır (53,54,56). Evrim teorisi, gençler için faydalı olanın yaşlılar için zararlı olabileceğini belirtir. Bu bağlamda, inflamasyon-yaşlanma, evrimsel yaşlanma teorilerinin antagonistik pleiotropik genetik kavramı ile mükemmel bir uyum içindedir. Fakat bu hala yaşlanma sürecine immün tepkinin katkısını tam olarak açıklamamaktadır. Serbest radikallerin kontrolsüz üretiminin yaşlanmaya neden olabileceğini belirten serbest radikal teorisi ile immün teori arasında bir ilişki bulunmaktadır (56). Diğer bir ifadeyle, inflamasyon ile serbest radikal üretimi arasında çok yakın ve karşılıklı bir etkileşim olduğu iyi bilinmektedir. Serbest radikaller inflamatuvar yanıtı indükleyebilmekte, inflamasyon ise serbest radikal üretimini arttırmaktadır. Genel kavram, immün sisteminin değişimi durumunda bile başarılı bir

şekilde yaşlanmak üzerinedir veya immünolojik düzeydeki bir dengesizliğin, diğer sistemlerle etkileşiminde çok fazla bozulmaya ve değişikliğe yol açmamasıdır. Bunun aksi, hızlandırılmış kontrollü yaşlanma süreci olarak görülebilecek başarısız yaşlanmaya yol açacaktır. Hastalıkların ortaya çıkması, hızlandırılmış yaşlanmanın en iyi belirteçleri olabilmektedir.

Ateroskleroz ve nörodejeneratif hastalıkların yaşlanmayla ilişkisi oldukça iyi bilinmektedir. Zamanın fizyolojik ilerlemesi sırasında, iyi bir genetik ve çevresel geçmişe sahip immün sistem gibi sıkı kontrol edilen sistemler, inflamatuvar sürecin yan ürünlerini, yani serbest radikalleri ve proinflamatuvar molekülleri içermektedir (57). Herhangi bir nedenle antioksidan veya antiinflamatuvar savunma zayıflarsa, kontrolsüz ve yeni bir homeostatik durum ortaya çıkmakta ve bu durum fonksiyon kaybı ile sonuçlanmaktadır. Sonuçta bu durumların tekrarı, yaşlanmayı hızlandıran belirli hastalıkların yokluğunda bile yaşlanma süreciyle sonuçlanacaktır. Bu şekilde, immün sisteminin bozulması yaşlanmayı açıklayan süreçlerin bir parçası olabilmektedir (55).

#### **2.1.2.6. Hormon Teorisi**

Yaşlanma ile gözlenen BH salgılanmasındaki düşüş, BH eksikliği olan genç erişkin hastalarda görülenlere benzer şekilde, vücut kompozisyonundaki değişimler ve fiziksel ve psikolojik fonksiyondaki farklılıklarla ilişkilidir. Bu değişiklikler, yağsız vücut kitlesinde ve kas gücünde azalma ve özellikle visseral bölmedeki vücut yağında artışı içermektedir. Ayrıca, bellek ve bilişsel işlevin yaşla birlikte yavaş yavaş bozulması ve derin (yavaş dalga) uykunun yaşla birlikte önemli ölçüde azalması da BH salgılanmasındaki azalma ile oluşmakta beraberinde yaşlılıkta uyku bozukluklarını önemli bir klinik problem olarak karşımıza çıkarmaktadır (58).

Ergenlikte artan cinsiyete bağlı steroidler ve BH'dadakil trofik hormonların vücut kompozisyonu ve gücü üzerinde dramatik etkileri bulunmaktadır. Ergenlikten sonraki genç-yetişkin dönemdeki hormon seviyeleri yatay seyre geçmekte ve daha sonra kas kütlesi ve aerobik kapasite kaybı ve karın yağında artış ile birlikte giderek bu hormonlar azalmaktadır (59,60).

Yetişkin yaşamının her on yılında BH salgısının kademeli olarak yaklaşık %15 oranında azaldığı bilinmektedir. Günlük BH salgılanmasının entegre ölçümleri, salgının ergenlikte günlük yaklaşık 150 µg / kg miktarda zirve yaptığını, daha sonra 55 yaşına kadar günlük yaklaşık 25 µg / kg'a düştüğünü göstermektedir (61). BH

bağlayıcı protein, 60 yaşından itibaren azalmakta, teorik olarak biyoyararlanılabilir BH miktarını arttırmaktadır (62). Bu azalmanın yaşla birlikte BH reseptörlerindeki azalmaya paralel olduğu düşünülmektedir. Yavaş dalga uykusu (SWS) yaşla birlikte azalmasına rağmen yaşlılara BH veya BH salgılatıcı hormon (BHSH) uygulayan çoğu çalışmada SWS artmamıştır. Bu bulgu BH'nda yaşa bağlı düşüşün SWS'de azalmaya neden olmadığını düşündürmektedir.

BH'nun trofik etkilerinden sorumlu ana mediatör olan insülin benzeri büyüme faktörü 1'in (IGF-I) dolaşım seviyeleri yaşla birlikte azalmaktadır. Dolaşımdaki IGF-I'nin çoğunluğu, BH'nun kontrolü altında karaciğerde üretilmektedir. IGF-I üretimindeki yaşa bağlı düşüşün BH'daki azalmanın doğrudan bir sonucu olduğu düşünülmektedir ve "BH direncinin" arttığını gösteren bir kanıt olmadığı bilinmektedir. Aslında, hipofiz bozukluğu olan hastalarda BH replasman tedavisi çalışmaları ve doz-cevap çalışmaları, yaşlı kişilerde normal IGF-I konsantrasyonlarını korumak için gerekli BH dozunda bir azalma olduğunu göstermektedir (63).

BH salgısını düzenleyen üç hipotalamik faktör somatostatin (SRIF), BHSH ve ghrelindir (64). Somatostatin, diğer hormonların yanı sıra BH salgısının rekabetçi olmayan bir inhibitörüdür. BHSH'a karşı BH yanıtını ayarlamaktadır. BHSH, BH sentezi ve salımı için ana uyarıcıdır. Ghrelin öncelikle mide tarafından salgılanmakta ve BH salgılanması üzerindeki etkisinden ayrı olarak iştah açıcı aktiviteye de sahiptir (65). Asillenmiş ghrelin seviyeleri yaşla birlikte azalmaktadır (66). BH sekresyonunda yaşa bağlı azalmayı açıklayabilecek çeşitli mekanizmalar arasında BHSH veya ghrelin salgısının azalması, somatostatin ile inhibisyon artışı, IGF-I'nin negatif geri besleme inhibisyonuna karşı artan somatotrof duyarlılığı, BHSH'e karşı hipofiz yanıtında azalma ve ghreline karşı hipofiz yanıtında azalma yer almaktadır. Yaşlanan hipofizin BHSH ve ghrelin'e normal olarak yanıt verip vermediği hala tartışma konusudur. BH'nin BHSH ve ghrelin'e duyarlılığında cinsiyetten bağımsız, yaşa bağlı bir düşüş olduğu gösterilmiştir (67). IGF-1'e karşı BH duyarlılığında yaşa bağlı artış görülmemiştir (68) fakat yaşlı bireylerde BHSH ve ghrelin salgılanmasında kısmen düşüş olabileceği rapor edilmiştir (69). Hipotalamusta ghrelinin bağlandığı BH sekreatog reseptör 1-a (GHRH-1a) reseptörlerinin yoğunluğu yaşlanma ile azalmakta ve bunun yaşa bağlı azalmış yanıtta sorumlu olduğu düşünülmektedir (70). Yaşlanan hipofiz ayrıca egzersiz, uyku ve diğer fizyolojik uyaranlara daha az duyarlıdır. Bu

gözlemlere dayanarak, BH sekresyonundaki yaşa bağlı değişikliğin etiyojide çok faktörlü olması ve hipofiz seviyesindeki değişikliklerden kaynaklanması muhtemeldir (71).

Yaşlanma bir hastalık olmamakla birlikte, vücut kompozisyonunda değişikliklere ve ardından zayıflık ve bağımsızlık kaybı ile fonksiyonel düşüşe neden olmaktadır. Bu düşüşü yavaşlatan müdahaleler, bağımsız yaşam kapasitesini uzatabilir ve yaşam kalitesini artırabilir, ancak bu henüz kanıtlanmamıştır. Yaşlanma ile ortaya çıkan trofik hormonlardaki azalmanın adaptif veya patolojik bir süreci gösterip göstermediği bilinmemektedir. Yaşlı insanlar BH'ye daha duyarlıdır ve bu nedenle hormon replasmanın yan etkilerine de daha duyarlıdır. Bugüne kadar, genç sağlıklı bireylerin BH düzeylerini artırmayı amaçlayan tedavilerin normal yaşlanmadaki fonksiyonel etkilerine ilişkin kesin sonuçlar elde edilememiştir. Normal yaşlanmada BH tedavisinin rolünün belirlenmesi için düşme ve kırık oranları, fonksiyon ölçümleri, yaşam kalitesi ve vasküler hastalıktan kaynaklanan morbidite ve mortalitenin azalması gibi kesin klinik sonuçlar üzerine uzun süreli çalışmaların yapılması gerekmektedir (72,73).

## **2.2. YAŞLANMANIN DAVRANIŞ ÜZERİNE ETKİSİ**

Yaşlanma davranışları kontrol edebilecek türden bir olaydır ve kilit faktör, bireyin yaşamı boyunca başına gelen olayların potansiyel olarak manipüle edilebilirliğidir (74). Ancak pratikte bu tür etkilerin karmaşıklığı ve uzun süreli seyri, etkili bir çalışmanın yapılmasını zorlaştırmaktadır. Gerontolojide kronolojik yaşın gelişimsel durumu, kişinin "fonksiyonel yaşı" olarak adlandırılan fizyolojik veya davranışsal süreçlerinin etkinliği ile karakterizedir (75). Ne yazık ki, insanları işlevsel yaşlarına göre sınıflandırma çabaları, genel olarak kabul edilmiş davranışsal verimlilik standartlarının olduğu noktaya kadar ilerlememiştir. Dahası, bireylerin kronolojik yaştan ziyade fonksiyonel temelde farklılaşması, sadece seçimle hedeflenebilecek değişkenleri içeren problemleri çözememektedir. Sonuç olarak, yaşlanma sürecinin kapsamlı bir analizinin yaşlı yetişkinlerin performanslarının incelenmesinden daha fazlasını gerektirdiği kaçınılmaz görünmektedir. Bir bireyin yaşının performansa katkısını belirlemek için kullanılacak deneysel yöntemin mantığı, bulguların gelişimsel bir başlangıca göre değerlendirilmesini gerektirmektedir (76).

Yaşlı bireylerin sağlık durumu genellikle davranışsal açıdan değil biyomedikal olarak değerlendirilir. Bununla birlikte, davranış süreçlerinin yaşlılığa eşlik eden değişikliklere önemli katkılarda bulunduğu bulgular artmaktadır. Davranışsal teknikler sadece yetersiz işlevselliği rehabilite etmek için kullanılamaz, aynı zamanda yaşlanma süreci de uzun ömürle ilişkili risk faktörlerinin birçoğunun davranışsal kökenleri olduğu için davranış kontrolü altındadır (77). Bu risk faktörleri arasında ileri yaştaki psikiyatrik hastalıklar da yer almaktadır. Depresyon ve anksiyete yaşlı yetişkinler arasında en sık görülen psikiyatrik sorunlardandır ve sıklıkla birlikte ortaya çıkmaktadır (78). Depresyon ve anksiyetesi olan geriatric hastalar arasında artan tıbbi komorbidite ve bilişsel durumdaki değişiklikler tanıyı zorlaştırmaktadır (79).

### **2.2.1. Yaşlanmanın Anksiyete ve Depresyon Üzerinde Etkileri**

Depresyon yaşlı yetişkinler arasında yaygın bir hastalık nedenidir, ancak depresyon yaygınlığı genç yetişkinlere göre daha düşüktür (80). Bununla birlikte, yaşlı erişkinlerde depresyonun az tanınabileceği ve tedavi edilemediği ileri sürülmüştür (81). Çalışmalarda anksiyeteye kıyasla depresyonla ilişkili nispeten yüksek komorbidite oranları bulunmuştur (82). Mevcut tanı ölçütlerinin ve yaş stereotiplerinin yaşlı popülasyonlarda depresyon ve anksiyete için gerçek prevalans oranlarını düşük göstermesi mümkündür. Örneğin, yaşlı yetişkinlerin üzücü veya duygusal semptomları kabul etme olasılıkları gençlere göre daha azdır (83,84). Araştırmalar ayrıca yaşlı yetişkinlerde görülen endişelerin içeriğinin (örneğin sağlıkla ilgili endişeler) genç yetişkinlerden farklı olabileceğini bulmuştur (85). Depresyon ve anksiyete ile ilişkili semptomlar, fiziksel sağlığın azalması, yaş ve sosyal destekte azalma gibi ileri yaşamda zorluklarla ortaya çıkan tipik duyguların temsilcisi olarak yanlış yorumlanabilmektedir. Yaşlı yetişkinler arasındaki depresyon ve kaygı, halk sağlığıyla ilgili önemli endişelerdendir, çünkü yaşlı yetişkinlerin ek rahatsızlıkları da bulunmaktadır. Örneğin, depresyonu olan yaşlı yetişkinlerde vasküler demans ve Alzheimer hastalığı (86) ve tekrarlayan düşme riskleri artmaktadır (87). Depresyon ile komorbid anksiyete, yaşlı yetişkinlerin hafızalarında daha büyük bir düşüş ile ilişkilidir (88) ve anksiyete bozuklukları demansla ilişkilendirilmiştir (89). Bu kötü sağlık sonuçları, yaşlı popülasyonlarda depresyon ve anksiyete için etkili tedaviler oluşturmanın önemini altını çizmektedir (90).

Genç erişkinlerde olduğu gibi, anksiyete genellikle depresyondan önce gelmektedir (91), bu da anksiyete bozukluklarının ileri yaşam depresyonu için bir risk faktörü olabileceğini düşündürmektedir (92). Depresyonu olan yaşlı erişkinlerde anksiyete bozuklukları prevalansı ile ilgili oranlar %50'e kadar yükselmektedir (82). Anksiyete bozukluğu olan yaşlı erişkinlerde depresyon yaygınlığı ise %25 ila %80 arasında değişmektedir (93).

İleri yaşam depresyonu, anksiyete ile birleştiğinde daha şiddetli, kalıcı ve tedavisi zor hale gelmektedir (93). Somatik semptomlar, özürülük ve intihar oranları, depresyonla birlikte anksiyetesi olan yaşlı erişkinlerde, sadece depresyonu olanlara göre daha yüksektir (93,94). Anksiyete, depresyonu olan ve tedavi edilen yaşlı yetişkinlerde bilişsel gerileme riskini de artırabilmektedir (88). Depresyon tedavisinden önce veya bununla eş zamanlı olarak anksiyete tedavisinin etkisi araştırılmamıştır (90).

İleri yaşamda depresyon riskini artıran psikolojik faktörler, yaşamın erken dönemlerinde depresyonla ilişkili özelliklerin çoğunu kapsamaktadır. Nörotizmi ölçen kişilik ölçeklerinden elde edilen yüksek puanlar, ileri yaşamdaki depresyonla güçlü bir şekilde ilişkilidir. Orta yaşlı ve yaşlı erişkinlerde nevroitiklik ve depresyon arasındaki ilişkinin büyük bir kısmının, genetik yatkınlığın ortak bir işlevi olduğu gösterilmiştir. Bu da nevroitikliğin, depresyon için genetik riskin yanı sıra psikolojik bir risk olarak da görülebileceğini düşündürmektedir (95).

Hem ruminasyon hem de kaçınma yaşam boyu depresyon ile ilişkilidir. Ruminasyon, kişinin sıkıntısını tekrar tekrar ama pasif olarak düşünmeyi içeren etkisiz bir başa çıkma stildir. Yaşlı erişkinlerde ruminatif başa çıkma tarzı depresyonla ilişkilendirilmiştir (96). Son zamanlarda anksiyete ile ilgili olarak incelenen kaçınma, depresyonda bir başa çıkma tarzı olarak rol oynamaktadır. Yaşlı yetişkin örneklemini içeren bir çalışmada, kötü sağlığın depresyon üzerindeki etkisi, deneyimsel kaçınma ölçütünde daha yüksek skorları olanlarda daha güçlü olmuştur (97).

Bir kişinin yaşadığı stresli yaşam olaylarının sayısı, diğer yaşlarda olduğu gibi ileri yaştaki depresyonla ilişkilendirilmiştir (98). Emeklilik çoğu yaşlı yetişkinde depresyon ile ilişkili değildir, ancak erken emekli olan erkekler için risk artabilmektedir (99). Son olayları inceleyen çalışmalar, en büyük etkinin 6 ay içinde

gerçekleştiğini ve çoğu kişinin oldukça esnek olduğunu düşündürmektedir. Bununla birlikte, geçmişte yaşanan olaylar bile bu riske katkıda bulunmaktadır (83).

Uzun süredir devam eden kırılmalıkların, stresli olayların yaşlı erişkinlerde depresyon üzerindeki etkilerini değiştirdiği görülmektedir. Örneğin, serotonin taşıyıcı gen promotör bölgesinin bir varyantı (5-HTTLPR'nin aleli), kalça kırığı sonrası artan depresyon riski ile ilişkilidir (100). Bilişsel tarz, bir kişinin stresli olaylara verdiği yanıtı da etkilemekte ve yanıt bilişsel tarz ile olay türü arasındaki etkileşime bağlı olarak değişmektedir. Bir sosyotropi ölçeğinde yüksek puanlara sahip yaşlı yetişkinler arasında (yakın ilişkiler ihtiyacı, kişilerarası bağımlılık ve onay hakkında bir endişe) kişilerarası stresli olaylar depresyonla yakından ilişkili iken, özerklik ölçeğinde yüksek puanlara sahip yaşlı yetişkinler arasında (kişisel kontrol ve başarıya yönelik) başarıya dair olumsuz olaylar (örneğin, uzun süreli ikamet kaybı) depresyonla daha güçlü şekilde ilişkili bulunmuştur (101).

Yaşlı yetişkinlerde stresli yaşam olayları ve depresif belirtiler arasında bir ilişki olduğu da gösterilmiştir (102). Bu ilişki, depresyondaki bireylerin gelecekteki stresli olayların olasılığını artıracak şekilde davrandığı düşüncesi ile uyumludur. Depresif yaşlı yetişkinlerin, depresif genç bireylerde gözlemlendiği gibi, kendileri için gelecekte kişilerarası problemler (örneğin bakıcıları soğutma) yaratması muhtemeldir. Sosyal desteğin azalmasıyla bağlantılı olan ruminasyon bu süreçte rol oynayabilmektedir (83).

50 yaş ve üzerindeki erişkinlerde depresif belirtiler ve bozukluklarla ilgili prospektif çalışmaların bir meta-analizi, incelenen diğer risk faktörleri arasında en büyük etki büyüklüğüne sahip matem depresyon riskini üç kattan fazla artırdığını bulmuştur (103). Buna rağmen matem, yaşlı yetişkinler arasında orta yaşlılardan daha az depresyon riskine yol açmaktadır. Yaşlı yetişkinlerin, kayıpla ilişkili pişmanlıkları çözme olasılığı genç yetişkinlerden daha fazladır ve bu çözüm, kayıptan sonra daha iyi adaptasyon ile ilişkilendirilmiştir (104). Kadınlara kıyasla, erkeklerin bir eş kaybindan sonra depresyona girmesi ve uzun süre depresyonda kalması daha olasıdır (105).

Hasta veya özürlü bir akrabaya bakım sağlamak, ileri yaşamda daha sık görülen ve bazı bireyleri depresyon riski altına sokabilecek bir stresördür. Bakım sağlayanlar arasında yüksek depresyon oranları bildirilmesine rağmen, tahminler büyük ölçüde

değişmektedir. Popülasyon temelli bir çalışmada, etnik köken, cinsiyet ve yaş açısından eşleşen bakıcılar ile bakıcı olmayanların depresyonlarında hiçbir fark bulunamamıştır (106). Bakım alanın hastalığının boyutları, bakıcıdaki depresyonla ilişkili bulunmuştur. Demansı olan bir kişiyi önemseyen bireyler arasında fiziksel engelli bir kişiyi önemseyenlerden daha fazla depresyon riski vardır ve bakım alan bireylerde daha büyük davranış problemleri ve sıkıntısı, bakıcıdaki depresyonu da öngörmektedir (107). Bazı kanıtlar, bakım alan kişinin hastalığının şiddeti ile bakıcıdaki depresyon arasındaki ilişkinin, bakıcının normal faaliyetlerinin kısıtlanmasıyla açıklanabileceğini göstermektedir (108).

### **2.2.2. Yaşlanmanın Motor Koordinasyon Üzerinde Etkisi**

Yaşlı yetişkinler için motor performans eksiklikleri, merkezi ve periferik sinir sistemlerinin yanı sıra nöromusküler sistemin işlev bozukluğundan kaynaklanabilmektedir. Motor performans açıları arasında koordinasyon zorluğu (109), artan hareket değişkenliği (110), hareket yavaşlaması (111), denge ve yürüyüş ile ilgili zorluklar (112) bulunmaktadır. Bu zorluklar, yaşlı yetişkinlerin günlük yaşamda fonksiyonel aktivitelerini gerçekleştirme yeteneği üzerinde olumsuz bir etkiye sahiptir. Yürüme ve denge sorunları özellikle ilgi çekmektedir çünkü düşmeler yaşlı yetişkinlerde önemli yaralanma ve morbidite kaynağıdır. Düşen yaşlı yetişkinlerin %20-30'u hareketliliği kısıtlayan ve yaşam kalitesini azaltan orta ila şiddetli yaralanmalara maruz kalmaktadır (113).

Çeşitli görevlerde yaşla birlikte hareket süresinde belirgin bir artış görülmektedir. Hareket yaşla birlikte %15-30 kadar yavaşlamaktadır (111). Bu yavaşlama yaşlı yetişkinlerin hareket hızına göre hareket doğruluğunu vurgulamaları nedeniyle kısmen stratejik görünmektedir (114). Yavaş bilgi işleme, nöral gürültü ve diğer sinaptik değişikliklerin artması nedeniyle spesifik olmayan, genel bir tarzda motor performansı etkileyebilmektedir (115).

Yaşlı yetişkinlerde bimanüel ve çok eklemli hareketlerin koordinasyonunda eksiklikler görülmektedir. Örneğin, yaşlı yetişkinler tek eklem eylemlerinin aksine omuz ve dirsek eklemlerini aynı anda hareket ettirdiklerinde hareketler yavaşlamakta ve kusurlu hale gelmektedir (109). Deafferent hastalar ile yapılan araştırmalar, proprioepsiyonun bu tür çok eklemli eylemlerin zamanlamasını kontrol etmek için kritik olduğunu göstermiştir (116). Serebellar hastalar benzer eksiklikler göstermiştir

(117), bu da serebellumun (118) ve propriyoseptif sistemin (119), yaşa bağlı dejenerasyonunun yaşlı yetişkinlerde çoklu eklem koordinasyonundaki eksikliklere katkıda bulunabileceğini düşündürmüştür. Bimanuel görevler sırasında yaşlı yetişkinler, genç yetişkinlere kıyasla hem zamansal hem de mekansal koordinasyonda performans açıkları göstermiştir (120). Genç ve yaşlı yetişkinler, çeşitli sıklıktaki faz içi bimanüel hareketler sırasında neredeyse aynı performansı göstermişlerdir. Bununla birlikte, yaşlı yetişkinler, artan frekanslarda faz karşıtı hareketler sırasında genç bireylere göre daha fazla hareket değişkenliği sergilemiştir (120).

Yaşlı yetişkinler, daha büyük uzamsal ve zamansal hareket değişkenliği sergilemekte, bu da genç yetişkinlere kıyasla daha az tutarlı eylemlerle sonuçlanmaktadır (110). Bu değişkenlik nöromüsküler sistemdeki periferik değişikliklerden (121) veya merkezi sinir sistemi seviyesinde artan nöral gürültüden kaynaklanabilmektedir. Postüral kontrol, duyuusal ve motor sistemler arasında karmaşık bir etkileşimi temsil etmekte ve çevresel uyaranları algılamayı, vücudun çevre içindeki yönelimindeki değişikliklere yanıt vermeyi ve vücudun ağırlık merkezini destek tabanı içinde tutmayı içermektedir. Postüral stabilite, genellikle ilerleyen yaşla uzlaşmaktadır (112) Bireyler normal sessiz duruşu korumak için öncelikle propriyoseptif ve kutanöz girdilere dayanmaktadır, ancak görev karmaşıklığı arttıkça çoklu duyu sistemlerinden gelen bilgileri entegre etmelidir (122). Denge bozuklukları düşme ve buna bağlı morbidite, mortalite ve sağlık maliyetleri riskini artırmaktadır (123). Yaşlı yetişkinler genç yetişkinlerle karşılaştırıldığında sabit duruşta artan postür sallanması, etkili adımlama tepkileri gerçekleştirememe ve kütle merkezinin ve basınç merkezinin yer değiştirmelerini stabilite sınırlarına göre kontrol etmede güçlük göstermektedirler (112).

### **2.2.3. Yaşlanmanın Öğrenme ve Bellek Fonksiyonları Üzerinde Etkisi**

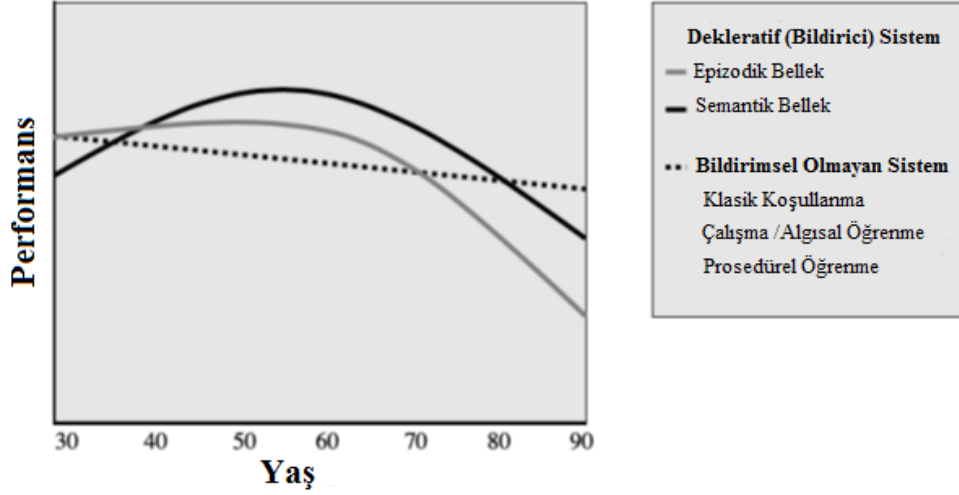
İnsan hafızası üniter bir organ değildir. Daha ziyade, her biri bilginin edinilmesine, saklanmasına ve daha sonra alınmasına benzersiz yollarla katkıda bulunan farklı öğrenme ve bellek sistemlerinden oluşmaktadır. Uzun süreli bellek genellikle bildirici belleğe (bilginin elde edilmesi ve elde tutulması) ve bildirimsiz belleğe (performansta deneyim kaynaklı değişikliklere) ayrılmaktadır. Bildirici bellek epizodik ve semantik bellek olmak üzere ikiye ayrılmaktadır (124).

Epizodik bellek, bireylerin bilinçli deneyimlerini kişisel geçmişlerinden hatırlamalarını (örneğin, dün öğle yemeği için ne yediğinizi hatırlamak) sağlamaktadır. Hatırlama / bilme paradigmasını kullanan veya yaşlanmada anımsama ve tanıdıklık durumunu değerlendiren bilişsel yaşlanma çalışmaları (125,126) yaşlı yetişkinlerin epizodik hafıza testlerinde genç yetişkinler kadar performans sergilemediklerini göstermiştir. Genel yavaşlama (127), engelleyici süreçlerin işlev bozukluğu (128) ve duyuşsal ve algısal yeteneklerdeki değışiklikler de (129) dahil, yaşa bağılı epizodik hafıza düşüşlerini açıklamak için bazı teoriler önerilmiştir. Bu etkili teoriler spesifik olarak, yaşlı yetişkinlerin bir epizodun ayrı öğelerini bağlama veya entegre etme konusunda temel bir eksikliği olduğunu öne sürmüştür (130,131). Yaşlı yetişkinlerin, kavramsal özelliklerin stratejik manipülasyonu, organizasyonu veya değerlendirilmesi ve ilişkisel bilgilerin kasıtlı olarak geri çağırılması gibi bilişsel kontrol süreçlerinde (132) daha genel düşüşler yaşadığı gösterilmiştir. (133).

Epizodik hafızadaki yaşa bağılı düşüşlerin prefrontal korteksteki yapısal ve fonksiyonel değışikliklerle bağlantılı olduğunu gösteren kanıtlar vardır. Frontal yaşlanma hipotezi yaşa bağılı epizodik bellek değışikliklerinin esas olarak prefrontal korteksteki işlev bozukluğundan kaynaklandığını öne sürmektedir (134). Bu görüşü desteklemek amacıyla, yaşlanan beynin yapısal manyetik rezonans görüntüleme (MRI) çalışmaları frontal atrofiyi göstermektedir (135). Frontal loblar, yaşa bağılı atrofiyi en yüksek oranda göstermektedir (118) ve kritik olarak bu atrofının bilişsel değışikliklere karşılık geldiği gösterilmiştir (136,137). Prefrontal korteks aktivitesinde yaşla ilişkili düşüşler, epizodik bilgilerin kodlanması ve geri çağırılması sırasında gözlemlenmiştir.

Semantik bellek, dünya hakkındaki gerçekler, kelime ve kavramların anlamları ve insanlara ve nesnelere verilen isimler dahil olmak üzere çok çeşitli bilgileri kapsamaktadır. Çalışmalar, semantik bellekte epizodik belleğe kıyasla daha az yaşa bağılı düşüş olduğunu göstermiştir (138) (Bkz. Şekil 2.3). İşleme düzeyinde, semantik bellek epizodik bellekten farklıdır, çünkü öğrenilen kavram hakkında ilişkili bilgiler olmadan çağırılabilir. Önemli olarak, tüm semantik bilgi biçimleri aynı özellikleri paylaşmamaktadır. Bazı bilgi formları tek bir maruziyetten sonra (örneğin Boston'un Massachusetts'in başkenti olduğu bilgisi) edinilebilirken, diğer formlar

kademeli olarak birden fazla tekrardan edinilebilmektedir (örneğin, kavram web sitesini anlamak) (124).



**Şekil 2.3.** Bildirici ve bildirimsel olmayan bellek ve öğrenme sistemlerinin tahmini yaşlanma çizelgesi- Rönnlund ve ark. (138)'den

Davranışsal yaşlanma çalışmaları öncelikle resim adlandırma, kelime bilgisi ve metin anlama testlerini kullanarak anlamsal bilgilerin elde edilmesine odaklanmıştır (139). Kelime bilgisi ve metin anlamadaki değişiklikleri araştıran çalışmalar, bu süreçlerin yaşlanmada iyi korunduğunu ve kelime bilgisi durumunun yetişkin yaşam süresi boyunca iyileştiğini bildirmiştir (140,141). Ayrıca, semantik yargılarda (142) ve semantik hazırlamada (143) yaşlı erişkinlerde semantik işlevlerin korunduğu bildirilmiştir. Buna karşılık, yaşlı yetişkinler arasında en sık görülen bilişsel şikayetlerden biri kelime bulmakta güçlük çekmektir (144). Araştırmacılar, 50'li yaşlarındaki bireylerin, adlandırma performansında düşüş gösterdiğini, 60'lı yaşlarındaki ve 70'li yaşlarındaki yetişkinlerin hem kelime doğruluğunda hem de adlandırmada gecikme süresinde artış gösterdiğini bildirmiştir (145).

Bildirimsiz bellek sistemiyle en sık ilişkili olan beyin bölgeleri, prosedürel ve güçlendirici öğrenme için striatum, hazırlama ve algısal öğrenme için uyararla ilgili neokortikal alanlar ve koşullandırma için amigdala ve serebellumu içermektedir (146,147). Daha spesifik olarak, beceri ve ödül temelli öğrenme, işlevsel olarak farklı alt bölgelere ayrılan orta beyinden (örneğin, substantia nigra ve ventral tegmental alandan) striatuma (148) kadar sinyallerinin dopamin projeksiyonlarına bağlıdır (149).

Ventral striatum (örn., Nükleus accumbens, ventral kaudat nükleus ve putamen), prefrontal korteksin medial bölgeleri ile birlikte erken öğrenme ve değerlendirme işlemiyle ilişkiliyken, dorsal striatum (örn., Dorsal kaudat nükleus ve putamen), prefrontal korteksin dorsal bölgesi ve motor bölgeleri (150,151) ile ilişkili olarak ileri öğrenme davranışlarını desteklemektedir. Yapılan nörogörüntülemeler bu beyin bölgelerinde yaşa bağlı önemli heterojen değişimlerle birlikte hacim kayıplarını göstermiştir ve bunlar bildirici bellek sistemindeki yaşlanmaya benzer özellikler taşımaktadır. Örneğin, amigdala ve hipokampusda yaşa bağlı benzer etkiler gözlenmiştir (152,153). 18 ila 93 yaşları arasındaki yetişkinler ile yapılan bir analizde, striatum ve hipokampus yaşının aynı oranda olduğu, striatum içinde bazı yapıların (Putamen, pallidum, accumbens) diğerlerine (kaudat) göre daha hızlı yaşlandığı gösterilmiştir. Hipokampus ve kaudat doğrusal olmayan değişikliklerle de ilişkili bulunmuştur, ancak hipokampusün küçülmesinin ileri yaşamda hızlandığı görülürken, kaudatın küçülmesi yavaşlamış görülmektedir (152-154).

Beyin bölgelerinde, serebral korteks yetişkinlikte en büyük gri madde kaybını göstermektedir ve daha sonraki yaşamda beyaz madde kaybı da hızlanmaktadır (153). Bununla birlikte, oksipital lobdaki gri madde hacmi (algısal hazırlamada yer alan) yaşla birlikte kısmen stabil görünmektedir (152,154,155). Bu nedenle makro yapıda yaşa bağlı değişiklikler, tüm öğrenme ve bellek biçimlerinin yaş etkilerine maruz kaldığını ve işlemedeki değişikliklerin, yaşa bağlı düşüşe en yatkın olan bellek sistemlerindeki alt bölgeler tarafından yönlendirilebileceğini göstermektedir (156).

## **2.3. YAŞLANMA İLE ORTAYA ÇIKAN HASTALIKLAR**

Yaşlanma ile ilişkili hastalıklar arasında ateroskleroz ve kardiyovasküler hastalıklar, kanser, artrit, katarakt, osteoporoz, tip 2 diyabet, hipertansiyon ve nörodejeneratif hastalıklar yer alır. Tüm bu hastalıkların görülme sıklığı yaşla birlikte katlanarak artmaktadır (157).

### **2.3.1. Nörodejeneratif Hastalıklar**

Nörodejeneratif hastalıklar geniş şekilde klinik semptomlarıyla sınıflandırılabilir. Ekstrapiramidal ve piramidal hareket bozuklukları ve bilişsel veya davranışsal bozukluklar en yaygın olanlarıdır. Çok az sayıda hastada kendine has saflıkta sendromlar vardır ve bunların çoğu karmaşık klinik özelliklere sahiptir. Tanıda

mevcut altın standart, otopside nöropatolojik değerlendirmedir. Nörodejeneratif hastalıklar tipik olarak spesifik protein birikimleri ve anatomik hassasiyet ile tanımlansa da bu hastalıklar, proteotoksik stres ve ubiquitin-proteazomal ve otozomal/lizozomal sistemlerde anomaliler, oksidatif stres, programlanmış hücre ölümü ve nöroinflamasyon gibi ilerleyici nöronal disfonksiyon ve ölüm ile ilişkili birçok temel süreci paylaşmaktadır. Ayrıca, nörodejeneratif hastalıkları tanımlayan protein anomalileri, klinik özelliklerin başlamasından önce ortaya çıkabilmektedir (158-160) ve bir kişide birden fazla nörodejeneratif hastalık bulunabilmektedir (161,162). Günümüzde, bir genetik mutasyonun bu hastalıklara neden olduğunu gösterilebilecek nadir durumlar dışında tanı amaçlı genel bir biyobelirteç bulunmamaktadır (163-165). Bu nedenle moleküler görüntüleme belirteçleri dahil olmak üzere spesifik *in vivo* biyobelirteçlerin bulunması önem arz etmektedir (166).

Birçok nörodejeneratif bozukluk tanımlanmasına rağmen, dikkatlerin çoğu Alzheimer Hastalığı (AH), Parkinson Hastalığı (PH), Huntington Hastalığı (HH) ve Amyotrofik Lateral Skleroz (ALS) üzerine odaklanmıştır. Diğerleri arasında yer alan frontotemporal demans (FTD), neredeyse HH ve ALS kadar sık görülmektedir (167). AH, PH ve ALS için, hastalığın hem genetik hem de sporadik formları bulunmasının yanı sıra üçünün de büyük çoğunluğu sporadiktir. Aksine, FTD daha güçlü bir genetik bileşene sahiptir (167) ve hemen hemen tüm HH vakaları baskın olarak kalıtsaldır. Tüm bu hastalıkların gelişiminde nedenine bakılmaksızın en güçlü risk faktörü yaşın artmasıdır. Yaşlanan beyinde meydana gelen değişiklikler, nörodejeneratif bir hastalığın gelişimi için kendisini daha fazla riske sokmaktadır ve dolayısıyla bu değişikliklerin tanımlanması, hastalığı önlemese de en azından gelişiminde veya ilerlemesinde etkili olabilmektedir (168).

### 2.3.2. Diğer Hastalıklar

Kronik inflamasyonun ateroskleroz, artrit, kanser, diyabet, osteoporoz, vasküler hastalıklar, obezite ve metabolik sendrom gibi yaşa bağlı birçok hastalığın altında yatan bir sebep olduğu kabul edilmektedir (169). Bununla birlikte, inflamasyonun yaşlanma sürecine katılımı henüz tam olarak bilinmemektedir. Yaşlanmaya ilişkin bir moleküler inflamasyon hipotezine göre; kronik ve düşük dereceli bir inflamasyon durumu normal yaşlanmayı ve yaşla ilgili hastalıkların patogenezi birbirine bağlayan bir süreçtir. Yaşlanmanın moleküler

inflamasyon hipotezi, yaşlanma ile ilgili fizyolojik değişimler ve yaşla ilgili birçok hastalığın patogenezi arasındaki etkileşimlere ilişkin moleküler bilgiler vermektedir (170).

Yaşa bağlı inflamatuvar hipotezin başlangıcı, tanımlanan iki bulguya dayanmaktadır:

- 1) Bağışıklık sisteminin yaşla birlikte disregölasyonu
- 2) Yaşlanma sırasında değişen redoks durumu

Her iki süreç de esas olarak oksidatif stres kaynaklı redoks dengesizliğine bağlı olarak çok çeşitli inflamatuvar mediatörlerin aktivasyonu nedeniyle sistemik inflamatuvar durumda artışlara yol açmaktadır. Yaşa bağlı redoks dengesizliği, muhtemelen zayıflamış anti-oksidatif savunma sistemlerinin etkisinden ve süperoksit ( $O_2^-$ ), hidroksil radikali ( $\cdot OH$ ), hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), reaktif nitrik oksit (NO), peroksinitrit ( $ONOO^-$ ) ve reaktif lipid aldehitler gibi reaktif türlerin üretiminin sürekli artmasından kaynaklanmaktadır (171). Yaşlanma sırasında aşırı üretilen ve düzenlenmesi bozulmuş reaktif türler, inflamatuvar süreçte aşırı reaktif makrofajlarda görüldüğü gibi bağışıklık sisteminin aktivasyonunda önemli nedensel faktörlerdir (172). Moleküler inflamasyon hipotezinin belirgin noktası, yaşlanma sırasında tedavi edilmemiş kronik inflamasyonun, normal fonksiyonel değişiklikleri yaşa bağlı dejeneratif hastalıklara yönlendiren patofizyolojik bağlantı olmasıdır (173).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. GEREÇ

Araştırmanın etik onayı 29/04/2020 tarihinde Sağlık Bilimleri Üniversitesi Hamidiye Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulunun “46418926-605.02” sayılı kararıyla alınmıştır (Bkz. EK 1). Deney hayvanlarının bakım ve kullanımı ile ilgili DSÖ (Dünya Sağlık Örgütü)’nün ilgili rehberi çalışma süresince takip edilmiş ve çalışmalar bu rehber doğrultusunda uygulanmıştır (174). Laboratuvar hayvanlarıyla yapılan çalışmalar Avrupa Konseyi’nin önerdiği standartlara (European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes) (ETS 123) uygun şekilde gerçekleştirilmiştir. Çalışma EQUATOR (Enhancing the Quality and Transparency of Research)’da yer alan Animal Pre-clinical Research kılavuzuna uygun olarak tasarlanmıştır (Stroke. 2009;40(6):2244-2250. PubMed ID: 19246690).

##### 3.1.1. Çalışma İçin Belirlenen Örnekler ve Özellikleri

Çalışma için günümüzde bilimsel alanlarda sıklıkla kullanılan *Long-Evans* Hooded sıçanları tercih edilmiş ve sıçanların cinsiyeti erkek olarak belirlenmiştir. Long-Evans Hooded sıçanları Bezmialem Vakıf Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Laboratuvarından temin edilmiş olup çalışmalar, Sağlık Bilimleri Üniversitesi Hamidiye Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Laboratuvarında çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Çalışmada yer alan moleküler uygulamalar Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir.

Çalışma için genç (1 aylık), orta yaşlı (4 aylık) ve yaşlı (12 aylık) olmak üzere 3 farklı yaş grubu belirlenmiştir. Bugüne kadar yapılmış birçok çalışma hayvan deneylerinde istatistik olarak grup başına 5-7 hayvanın yeterli olduğu gösterildiğinden (175,176) her grupta bu sayı aralığında hayvan ile çalışılmıştır (Çizelge 3.1).

Çalışma süresince sıçanlara motor fonksiyonlarını ve anksiyete, depresyon, öğrenme ve bellek gibi kognitif fonksiyonlarını değerlendirmek amacıyla davranış deneyleri yapılmıştır. Herhangi bir yem ve su kısıtlaması yapılmamıştır. Hayvanların 1 ay boyunca bakımları aynı kişi tarafından yapılmıştır. Tüm hayvanlar aynı tip kafese konulup aynı koşullarda barındırılmıştır. Kendilerinde çalışmalar öncesi stres

yaratabilecek tüm davranışlardan kaçınılmıştır. Çalışma süresince yapılan tüm uygulamalar bir veteriner hekim tarafından izlenmiştir.

Davranış deneylerinin ardından sıçanlar anestezi altında sakrifiye edilmiş ve beyin dokuları alınmıştır. Yaşla birlikte değiştiği düşünülen proteinlerin analizi Western-Blot tekniği ile incelenmiştir.

**Çizelge 3.1.** Deney Hayvanları ile Oluşturulan Çalışma Grupları ve Özellikleri

DENEY GRUPLARI	CANLI TÜRÜ	CİNSİYET	ADET
1 Aylık	Long-Evas Hooded Sıçanı	Erkek	7
4 Aylık	Long-Evas Hooded Sıçanı	Erkek	7
12 Aylık	Long-Evas Hooded Sıçanı	Erkek	5

### 3.1.2. Tez Çalışması Dahilinde Kullanılan Bilgisayar Destekli Analiz Programları

Tez projesi kapsamında uygulanan bilgisayar destekli analiz programları ve kullanım amaçları Çizelge 3.2.'te belirtilmiştir.

**Çizelge 3.2.** Tez Çalışması Dahilinde Kullanılan Bilgisayar Destekli Analiz Programları ve Kullanım Amaçları

Analiz Programı	Kullanım Amacı
Ethovision XT video izleme düzeneği (Noldus Technology)	Davranış deneylerinde otomatik kayıt almak için kullanıldı
IBM SPSS 22.0	Verilerin istatistiksel anlamlılığını belirlemek için kullanılmıştır.

### 3.1.3. Tez Çalışması Dahilinde Kullanılan Cihazlar

Araştırma kapsamında kullanılan cihaz ve ekipmanların kullanım amaçları Çizelge 3.3.'de belirtilmiştir.

**Çizelge 3. 3. Tez Çalışması Sürecinde Kullanılan Cihazlar ve Kullanım Amaçları.**

<b>Kullanılacak Mevcut/Ekipman Türü, Modeli (Araç, Makine-Teçhizat Vb.)</b>	<b>Tezdeki Kullanım Amacı</b>
Beko Buzdolabı	+2-8 °C arasında tutulması gereken örneklerin saklanması için kullanılmıştır.
Uğur Derin Dondurucu	-20 °C de tutulması gereken numunelerin saklanması için kullanılmıştır.
Nüve EN120 Model İnkübatör	Western blot deneyinde inkübasyon aşamalarında kullanılmıştır.
Ugo Basile Rota-Rod Rotarod Test Cihazı, Cat No: 47600	Hayvanlarda motor koordinasyonu belirlemek için kullanılmıştır.
Pasif Sakınma Kutusu, May-Pa Passive Avoidance System, Cat No: 1014	Hayvanlarda korku belleğini belirlemek için kullanılmıştır.
Açık Alan Labirent Düzenegi	Hayvanlarda anksiyete ve lokomotor aktiviteyi belirlemek için kullanılmıştır.
Morris Su Labirent Düzenegi	Hayvanlarda öğrenme ve bellek düzeylerinin belirlenmesinde kullanılmıştır.
Hettich Zentrifugen Mikro 120	Mikrosentrifüj işlemlerinde kullanılmıştır.
Denville Isı Bloğu	Protein örneği hazırlama aşamasında örnekleri ısıtmak için kullanıldı
Labnet Mini Spin Down	Protein örneklerini çöktürmek için kullanılmıştır.
Hanna HI 2211 Model Ph/PRP Metre	Kullanılacak solüsyonların pH ölçümlerinde kullanılmıştır.
Thermo Scientific 1300 Series A2 Class I, Type A2 Biological Safety Cabinet Cat No: 51032334	Western blot uygulaması için steril kabin olarak kullanılmıştır.
Precisa XB220A model hassas terazi	Katı materyallerin tartılmasında kullanılmıştır.
Nüve 1200R Model Soğutmalı Sentrifüj	Protein örneklerinin eldesi için gerekli çöktürme aşamalarında yararlanılmıştır.
Nüve Steamart T06 Model Otoklav Makinası	Malzemelerin sterilizasyonu için kullanılmıştır.
Sartorius Stedium Ultra Saf Su Cihazı	Kullanılacak solüsyonların hazırlanması için gerekli saf su ihtiyacını karşılamıştır.
Sartorius stedium distile su cihazı	Kullanılacak solüsyonların hazırlanması için gerekli distile su ihtiyacını karşıladı
Kuru Buz Makinası	Örnek dondurmak için kullanıldı
Beadli Homojenizatör	Dokuları homojenize etmek için kullanıldı
Thermo Scientific™ Multiskan™ Go Microplate Spectrophotometer , Cat No: 51119300	Proteinlerin konsantrasyonlarının ölçümünde kullanılmıştır.
Bio-Rad SDS-PAGE Gel Electrophoresis Tank, Mini-PROTEAN® Tetra Vertical Electrophoresis Cell For Mini Precast Gels, Cat No: 1658004	Protein ifade seviyesini belirlemek için kullanılan Western Blot tekniğinde protein elektroforezi işlemini gerçekleştirmek için kullanılmıştır.
Bio-Rad Trans Blot Turbo Transfer System, Cat No: 1704157	Proteinlerin jelden membrana blotlanması için kullanılmıştır.
Fusion Fx7 görüntüleme Sistemi	Membrana blotlanmış proteinlerin kemülimünensans deteksiyonu için kullanılmıştır.

### 3.1.4. Tez Çalışması Dahilinde Kullanılan Kitler ve Kimyasallar

Araştırma sürecinde kullanılan kit ve kimyasalların kullanım amaçları Çizelge 3.4.'de belirtilmiştir.

**Çizelge 3.4.** Tez Çalışması Sürecinde Kullanılan Kit / Kimyasallar ve Kullanım Amaçları

Kit/Kimyasal	Kullanım Amacı
Santa Cruz, RIPA Lysis Buffer System, Cat No: sc-24948	Homojenizasyon ve protein ölçüm sürecinde kullanılmıştır
Thermo Scientifi Pierce, BCA Protein Assay, Cat No: 23227	Protein Konsantrasyon Ölçümü için kullanılmıştır
Bio-Rad 10X Tris-Glycine SDS Buffer, Cat No: 1610732	SDS-PAGE'de proteinlerin yürütülmesinde kullanılmıştır
RIPA lizis tamponu (Santa Cruz Tech., sc-24948)	Dokuların homojenizasyonu
Thermo Phospho-Tau (Thr231) Monoclonal Antibody, Cat No: MN1040	Western blot uygulamasında fosfo-tau (pTau) protein deteksiyonu
ABCAM Anti-Klotho antibody, Cat No: ab203576	Western blot uygulamasında Klotho protein deteksiyonu
ABCAM Anti-Prealbumin antibody, Cat No: ab9015	Western blot uygulamasında Prealbumin (Transtiretin) protein deteksiyonu
Thermo beta Tubulin Loading Control Monoclonal Antibody, Cat No: MA5-16308	Western blot uygulamasında $\beta$ -Tübülün protein deteksiyonu
Cell Signaling Technology BACE (D10E5) Rabbit Monoclonal Antibody, Cat No:5606	Western blot uygulamasında BACE (beta sekretaz) protein deteksiyonu
Bio-Rad Laemmli Sample Buffer, Cat No: 160737	Jel Elektrofrezinde proteinlerin denatürasyonu için Sample Buffer hazırlanmasında kullanılmıştır.
Sigma Aldrich 2-Mercaptoethanol, Cat No: M6250	Jel Elektrofrezinde proteinlerin denatürasyonu için Sample Buffer hazırlanmasında kullanılmıştır.
Mini-PROTEAN TGX Prekast Protein Gels, Cat No: 4561086	Proteinlerin yürütülmesi için kullanılmıştır.
Bio-Rad Trans-Blot Turbo RTA Midi PVDF Transfer Kit, Cat No: 1704273	Proteinlerin jelden membrana blotlanması için kullanılmıştır.
IsoLab metanol, Cat No: 947-046	Western blot işleminde jelin inkübasyonunda kullanılmıştır.
Sigma Aldrich Sodium chloride solution 2M, Cat No: 16818	TBST solüsyonunun hazırlanmasında kullanılmıştır.
Sigma Aldrich Tris Base, Molecular Biology Grade, Cat No: 648310-M	TBST solüsyonunun hazırlanmasında kullanılmıştır.
Sigma Aldrich TWEEN® 20, Cat No: P9416	TBST solüsyonunun hazırlanmasında kullanılmıştır.
ChemCruz Skim Milk Powder, Cat No: Sc-2325	TBST solüsyonunun hazırlanmasında kullanılmıştır.
ECL solüsyonu (Elabscience, E-IR-R301)	Membranda protein miktarının görüntülenmesi
Cell Signalling Anti-rabbit IgG, HRP-linked Antibody, Cat No: 7074S	Klotho, BACE ve $\beta$ -tübülün proteini deteksiyonu için ikincil antikor olarak kullanılmıştır.
Cell Signalling Anti-mouse IgG, HRP-linked Antibody, Cat No: 7076P2	pTau proteini deteksiyonu için ikincil antikor olarak kullanılmıştır.
Thermo Fisher Scientific Invitrogen Donkey anti-Sheep IgG (H+L) HRP-linked Secondary Antibody, Cat No: A16041	Prealbumin proteini deteksiyonu için kullanılmıştır.

## 3.2. YÖNTEM

### 3.2.1. Davranış Deneyleri

Bu çalışmada sırasıyla anksiyete, lokomotor aktivite/motor koordinasyon, öğrenme/bellek ve depresyon testleri uygulanmıştır (177).

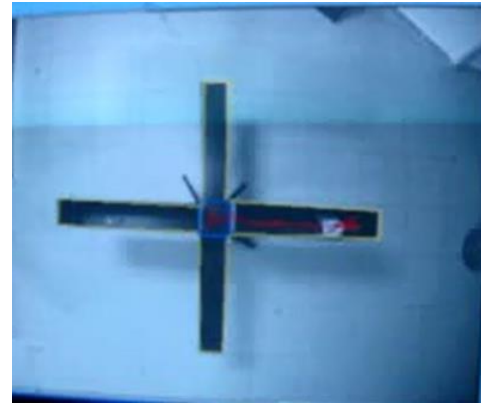
**Çizelge 3.5.** Kullanılan Davranış Testleri ve İlişkilendirildikleri Davranışlar

ANKSİYETE	DEPRESYON	MOTOR KOORDİNASYON	ÖĞRENME VE BELLEK
<b>Yükseltilmiş Artı Labirent</b>	Zorunlu Yüzme	Rotarod	Pasif Sakınma
<b>Açık Alan</b>	-	Açık Alan	Morris su Tankı

#### 3.2.1.1. Yükseltilmiş Artı-labirenti (Elevated Plus-Maze)

File ve arkadaşları (178) tarafından geliştirilmiş olan Yükseltilmiş Artı Labirent Testi deney hayvanlarında çevre değişikliğine bağlı olarak gelişen anksiyeteyi belirlemek amacıyla kullanılmaktadır.

Bu test için, yerden 50 cm yükseklikte, Artı (+) şeklinde bir platform oluşturulmuş ve kollarının uzunluğu 50 cm ve genişliği 10 cm olarak ayarlanmıştır. Birbirine karşılıklı 90°lik açıyla bakan 2 kol, 15 cm'lik yükseltiyle örülmüş ve kapalı alan oluşturulmuştur. Düzenekte karşılıklı olan diğer 2 kol açık bırakılarak açık alan olarak adlandırılmıştır (Şekil 3.1).

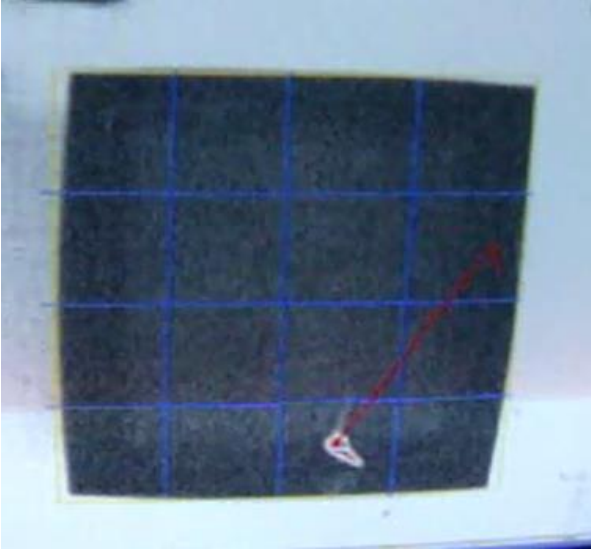


**Şekil 3.1.** Yükseltilmiş Artı-Labirent Testi düzeneği ve Video İzleme Sistemindeki Görüntüsü

### 3.2.1.2. Açık Alan Testi (Open Field Area)

Hall (180) tarafından deney hayvanlarının duygusallığını ölçmek için bildirilen yuvarlak platformlu bu davranış testi daha sonraki çalışmalarda gözlemlenmeler ile deney hayvanlarındaki anksiyete davranışları ile ilişkilendirilip bu alanda kare platform ile kullanılmaya başlamıştır.

Çalışmamızda, 120 cm x 120 cm taban ölçüleri olan, 15 cm yüksekliğinde, bir ucu kapatılmış kare şeklinde bir davranış ünitesi kullanılmıştır (Şekil 3.2). Oluşturulan alan gözlemcinin değerlendirebilmesi için Ethovision XT adlı program aracılığıyla sanal olarak orta ve kenar kısımlara ayrılmıştır ve sıçanların bu alanlar içerisindeki davranışları düzeneğin tepesine yerleştirilen bir kamera ile izlenmiştir. Her bir sıçan deney düzeneğine yüzü duvar tarafına bakacak şekilde yerleştirilmiş ve açık alan test düzeneğinde 10 dk. zaman geçirmiştir. Sıçanların test süresince hareketleri gözlenerek orta alan ve kenar alanda geçirdikleri süre ve kat ettikleri mesafe hesaplanmış ve anksiyete ve lokomotor aktiviteleri hakkında veriler elde edilmiştir (179,181).

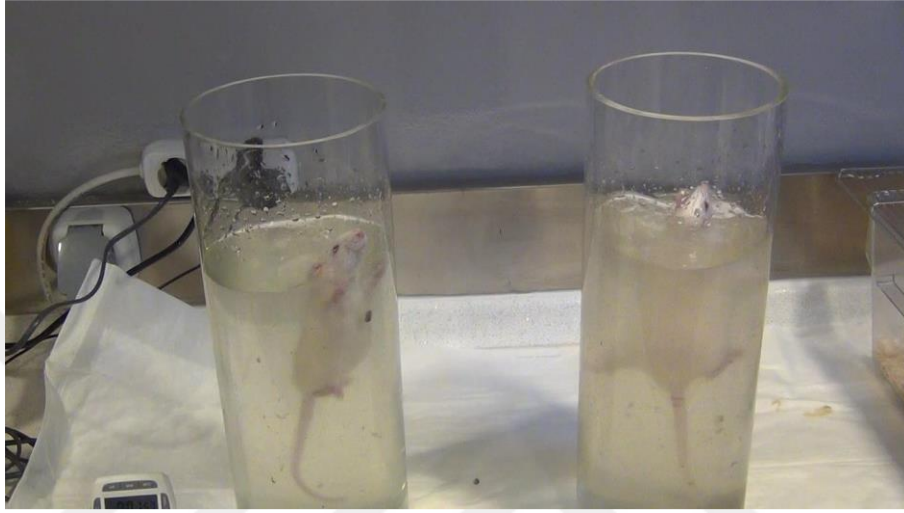


Şekil 3.2. Açık Alan Testi düzeneği

### 3.2.1.3. Zorunlu Yüzme Testi (Forced Swimming Test)

Porsolt ve arkadaşları (182) tarafından depresif ruh halinin sıçanlarda yarattığı çekilme ve teslimiyet belirtilerinden yola çıkılarak geliştirilmiş olan zorunlu yüzme testi, hayvanın kaçamayacağı büyüklükte ve hayvanın ekstremiteleri yardımıyla herhangi bir yüzeye sabit tutunamayacağı genişliğe sahip, yüksekliği 23,5 cm ve çapı

9 cm olan silindir bir cam şişede uygulanmıştır (Şekil 3.3). Sıçanlar önce kuyruk kısmı suya girecek şekilde sıcaklığı 20-25°C olan cam silindir şişede bulunan suya bırakılıp 5 dk. boyunca davranışları izlenmiştir. Hareketsizlik durumları, çırpınışları ve hareket etmeden sadece nefes alarak su üzerinde kaldığı süreler gözlemci tarafından depresyon açısından değerlendirilmek üzere kaydedilmiştir (183).



Şekil 3.3. Zorunlu Yüzme Test Düzenegi

#### 3.2.1.4. Rotarod (Rotorod) Motor Koordinasyon Testi

Sıçanlarda motor koordinasyonun belirlenmesinde Rotorod testi kullanılmıştır. Bu davranış testi için kullanılan Ugo Basile Rota-Rod 47600 cihazının ortasında 245 saniyede 4 rpm'den 40 rpm'e giderek hızlanan bir mil bulunmaktadır (Şekil 3.4). Hızlanan mil üzerine bırakılan sıçanların bu mil üzerindeki durma süreleri hesaplanarak hayvanların motor koordinasyonları değerlendirilmiştir (184).

Cihazın başlangıç ayarında, hızlandırma seviyesi 0'dayken hayvan cihaza bırakılmış ve 6 saniyelik aralıklarla dakikadaki dönüş sayısı 40 oluncaya kadar hız otomatik olarak arttırılmıştır. Bir sıçan en fazla 300 saniye boyunca bu cihaz üzerinde kalmıştır. Her sıçan aynı günde 5 kere bu teste tabii tutulmuştur ve her bir sıçan her bir uygulama sonrasında en az yarım saat dinlendirilerek diğer uygulamaya alınmıştır. Uygulanan 5 tekrardan sonra sıçanların motor koordinasyonlarını değerlendirmek için 5 uygulamanın ortalamaları hesaplanmıştır.

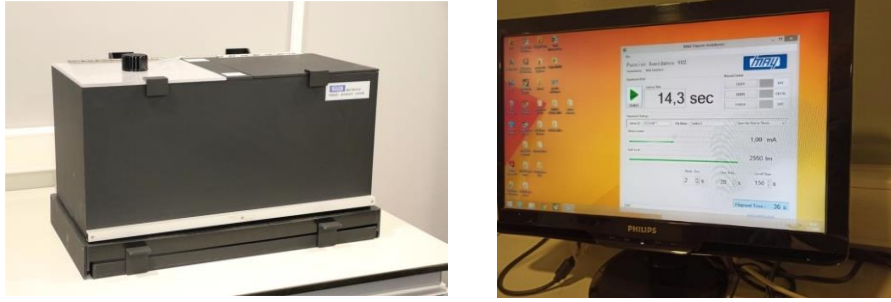


**Şekil 3.4.** Rotarod Test Cihazı

### **3.2.1.5. Pasif Sakınma Testi**

Deney düzeneği (MAY-PA 1014 Passive Avoidance System) paslanmaz çelik ızgara tabanlı elektrik şoku verilmeyen aydınlık oda 20x30x26 cm ebatlarında (2000 lümen aydınlatmalı) ve hafif düzeyde elektrik şoku verilebilecek düzenekte hazırlanmış, karanlık oda (20x30x26 cm) olmak üzere iki bölümden oluşmakta ve bölmeler arası bir geçiş kapısı (8x4,5 cm) bulunmaktadır (Şekil 3.5). Sıçanlar aydınlık odaya yerleştirilmiştir ve ortamı keşfetmeleri amacıyla aydınlık ortamdan karanlık ortama geçiş kapısı 20 sn boyunca kapalı bırakılmıştır. 20 saniye sonunda kapı açılmış ve aydınlık odadan karanlık odaya geçen sıçanlara karanlık odada yerdeki ızgaralardan 2 saniye boyunca 1 mA elektrik şoku verilmiştir. Hayvanlar karanlık odadan tekrar aydınlık odaya geçtiklerinde deney bilgisayar yazılımı ile otomatik olarak sonlandırılmıştır. Ertesi gün (24 saat sonra), sıçanlar tekrar beyaz ışıklı bölmeye yerleştirilerek “tutma (test) oturumu” gerçekleştirilmiştir. 20 saniyelik bir beklemeden sonra kapı açılmış ve siyah kapalı bölmeye girmek için geçme gecikme süresi ölçülmüştür. Bu test oturumunda, maksimum kesme süresi 150 saniye olarak belirlenmiştir.

Uygulanan tüm tekrarlar bittikten sonra her bir sıçan için ortalama süre hesaplanmıştır ve böylece öğrenme ve bellek düzeyleri ile ilgili değerlendirilmiştir (185).

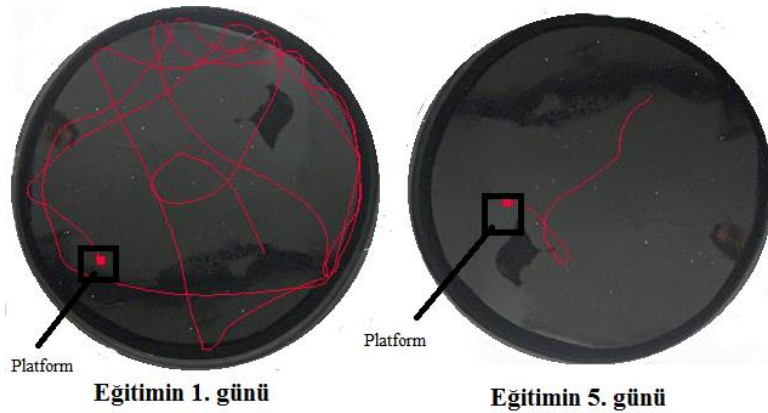


Şekil 3.5. Pasif Sakınma Test Cihaz ve Yazılımının Görüntüsü

### 3.2.1.6. Morris Tipi Su Labirenti (MWM) Testi

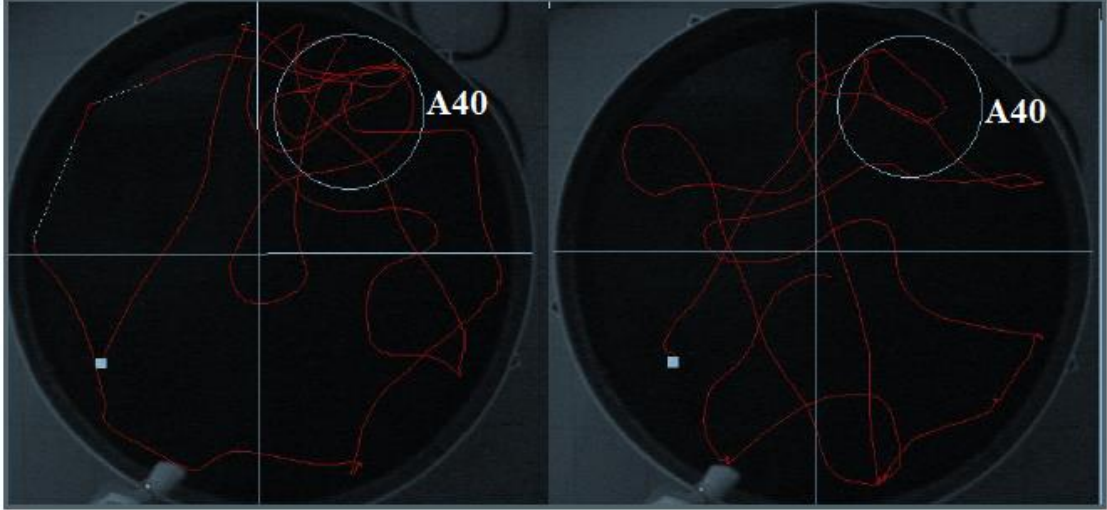
Öğrenme düzeylerini ve bellek kapasitelerini değerlendirmek için, çapı 125 cm yüksekliği 60 cm olan bir su tankı düzeneği kullanılmıştır (Şekil 3.6). Düzenek içerisinde gizlenmiş bir platformla sıçanların öğrenme düzeyleri değerlendirilmiş olup, daha sonra kaldırılmış olan bu platformla bellek düzeyleri değerlendirilmiştir (185). Aynı zamanda suyun ısısı sıcaklık geri bildirim mekanizmasıyla  $22^{\circ}\text{C} \pm 1$  aralığında tutulmuştur.

Öğrenme deneylerinde, her bir sıçan 5 gün boyunca günde 4 deneme olacak şekilde, sudaki yeri 5 gün boyunca sabit olan gizli platformun yerini mekânsal verileri kullanarak bulmaya çalışmıştır. Sıçanların gizli platformu bulma süreleri 5. günün sonunda 10 sn'nin altına düştüğünde platformun yeri öğrenilmiş olarak kabul edilmiştir. Testler süresince sıçanların tüm hareketleri gerçek zamanlı olarak kaydedilip Ethovision XT bilgisayar programı vasıtasıyla analiz edilmiştir. Sıçanların gizli platformu bulmak için harcadıkları süre ve kat ettikleri mesafe öğrenme düzeyleri ile ilişkilendirilmiştir.



Şekil 3.6. Morris su labirentinde öğrenme deneyinde 1. gün ve 5. günde sıçanların izledikleri yolu gösteren temsili resim

Öğrenme denemeleri bittikten sonra düzeneğin içerisindeki gizli platform kaldırılmıştır. Sıçanların 6. günde boş düzeneğe alındığında çıkartılmış olan platformun olduğu bölümde geçirdikleri süre hesaplanmıştır ve böylece mekânsal hafızaları hakkında bilgi edinilmiştir (Şekil 3.7).



**Şekil 3.7.** Morris su labirenti deneyi test denemesi gününde platformun yerini öğrenmiş ve öğrenememiş hayvanın izlediği yol ve A40= Annulus40; platformun önceden bulunduğu yerin 40 cm çapındaki dairesel alanı

### 3.2.2. Moleküler Deneyler

Davranış testlerinin tamamlanmasının ardından, sıçanlar anestezi altında hiçbir acı hissettirilmeden sakrifiye edilerek beyinlerinden hipokampus bölgesi çıkartılmıştır. Farklı yaş gruplarındaki sıçanlarda yaşlanma ile miktarlarında değişimin olduğu düşünülen fosfo-tau (pTau), Klotho, Prealbümin (Transtiretin), BACE (beta sekretaz) proteinleri Western-Blot tekniği ile incelenmiştir.

#### 3.2.2.1. Doku Örneklerinin Elde Edilmesi ve Homejenizasyon Süreci

Sıçanların sakrifiye edilmesinden sonra beyinlerinden hipokampusleri kurubuz üzerinde hızlıca çıkarılmıştır. Soğuk zincir bozulmadan çıkarılan hipokampusler hassas tartı ile tartılıp not edilmiştir. Hipokampus dokuları teker teker tüplere koyulmuştur ve üzerlerine ait oldukları sıçanların isimleri ve ağırlıkları Çizelge 3.6. da sınıflandırıldığı gibi yazılmıştır.

**Çizelge 3.1.** Şıçanların hipokampuslerinin ağırlıkları

<b>Genç Şıçan Grubu</b>	<b>Genç Şıçan Grubu Ağırlıkları (mg)</b>	<b>Orta-Yaşlı Şıçan Grubu</b>	<b>Ora-Yaşlı Şıçan Grubu Ağırlıkları (mg)</b>	<b>Yaşlı Şıçan Grubu</b>	<b>Yaşlı Şıçan Grubu Ağırlıkları (mg)</b>
<b>Genç 1</b>	214 mg	<b>Orta-Yaşlı 1</b>	302 mg	<b>Yaşlı 1</b>	206 mg
<b>Genç 2</b>	276 mg	<b>Orta-Yaşlı 2</b>	221 mg	<b>Yaşlı 2</b>	252 mg
<b>Genç 3</b>	251 mg	<b>Orta-Yaşlı 3</b>	240 mg	<b>Yaşlı 3</b>	273 mg
<b>Genç 4</b>	241 mg	<b>Orta-Yaşlı 4</b>	282 mg	<b>Yaşlı 4</b>	205 mg
<b>Genç 5</b>	112 mg	<b>Orta-Yaşlı 5</b>	248 mg	<b>Yaşlı 5</b>	184 mg
<b>Genç 6</b>	201 mg	<b>Orta-Yaşlı 6</b>	184 mg		
<b>Genç 7</b>	126 mg	<b>Orta-Yaşlı 7</b>	247 mg		

Dokuların homejenizasyonunda doku homojenizatörü kullanılarak proteinler elde edilmiştir. Homojenizatör 50 rpm'de 3,5 dk.'ya ayarlanarak dokuların tamamının parçalanması sağlanmıştır.

Bu aşamada kullanılacak olan Radioimmunoprecipitation (RIPA) solüsyonu santa-cruz sc-24948 RIPA Lysis Buffer System Kit protokolüne göre aşağıdaki gibi hazırlanmıştır.

1X molar RIPA solüsyonu hazırlamak için ml başına 10 µl Fenilmetansülfonil florür (PMSF) çözeltisi, 10 µl sodyum ortovanadat çözeltisi ve 10-20 µl proteaz inhibitörü kullanılarak 2 ml RIPA solüsyonu hazırlanmıştır.

Her bir örnek için kullanılacak olan RIPA miktarı, santa-cruz sc-24948 RIPA Lysis Buffer System Kit protokolüne göre 1 gr doku için 3 ml RIPA solüsyon kullanımı gerektirdiğinden, her örnek için 200 µl RIPA olarak belirlenmiştir.

Homojenizasyon süreci, aşağıda belirtilen süreci takiben uygulanmıştır.

- Dokuların içerisinde bulunduğu her bir ependorfa 200 µl RIPA koyulmuştur.
- Daha sonra bu ependorflara 3'er adet manyetik bilyeler eklenmiştir.
- Ependorflar bilye sistemi ile çalışan homojenizasyon cihazına yerleştirilip 1 dk boyunca doku parçalanması işlemi için beklenmiştir.
- 1 dk sonunda cihazdan alınan ependorflar 20 dk. boyunca buz üzerinde inkübe edilmiştir.
- Daha sonra 14.000 rpm de +4° C'da 15 dk santrifüj edilmiştir.
- Süpernatant kısımları atılıp pellet ile devam edilmek üzere homojenizasyon işlemi sonlandırılmıştır.

### **3.2.2.2. Protein Konsantrasyonlarının Belirlenmesi ve Sodyum Dodesil Sülfat–Poliakrilamid Jel Elektroforez (SDS-PAGE)**

İncelenecek olan proteinlerin tayininde kullanılacak olan örnek miktarlarının ayarlanması için, her bir sıçana ait homojenize edilmiş dokulardaki total protein konsantrasyonu belirlenmiştir.

Protein konsantrasyon ölçümünde sağlıklı bir sonuç almak adına homojenize edilmiş örnekler 1/10 oranında seyreltilmiştir.

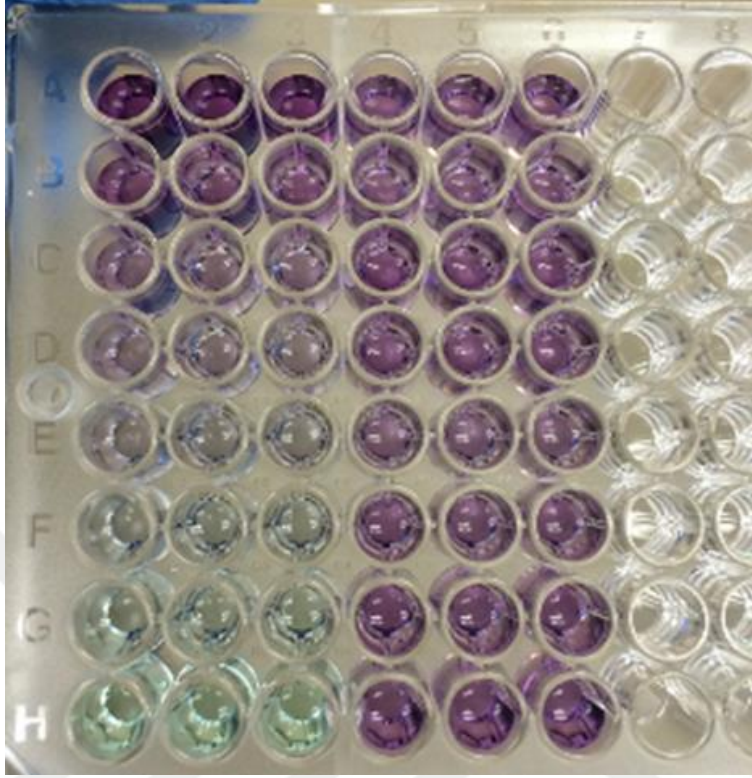
Seyreltme uygulaması için RIPA Lysis Buffer System Kit içeriğindeki PMSF solüsyonundan 5 µl, sodyum ortovanadat solüsyonundan 5 µl alınarak toplamda 500 µl Lizis Tamponu (LB) hazırlanmıştır. Her örnek için 9 µl LB, blank için ise (içerisinde örnek olmadığından) 10 µl LB kullanılmıştır.

Ölçüm sürecinde kullanılacak diğer bir solüsyon olan Çalışma Solüsyonu Thermo Scientific Pierce BCA Protein Assay PI 23227 kullanılarak hazırlanmıştır. Kit içerisinde bulunan A solüsyonundan 50 µl, B solüsyonundan 1 µl alınarak çalışma solüsyonu hazırlanmıştır.

96 kuyucuklu plaka ilk kuyu blank sonraki 6 kuyu standartlar ve sonrasında sırasıyla örnekler olacak şekilde etiketlenmiştir.

Her kuyucuğa 1 µl ilgili seyreltilmiş örnekten, 200 µl WS ve 9 µl LB koyulmuştur. Blank için 200 µl WS ve 10 µl LB koyulmuştur. 96 kuyucuklu plaka elde sallararak kuyucukların içinin homojen olması sağlanmış ve önceden 37° C'ye

ayarlanmış olan etüv cihazına yerleştirilerek 30 dk inkübe edilmiştir. Ayarlanmış olan etüv cihazına yerleştirilerek 30 dk inkübe edilmiştir.



Şekil 3. 8. BCA protein konsantrasyon kiti ile örneklerdeki proteinlerin belirlenmesi

İnkübasyon sonrasında Thermo Multiskan Go spektrofotometre cihazına 96 kuyucuklu plaka yerleştirilmiş ve örneklerin 562 nm’de absorbansları ölçülmüştür. Standartların absorbanslarından elde edilen grafiğe göre her bir örneğin konsantrasyonu belirlenmiş ve seyreltme faktörü olan 10 ile çarpılmıştır.

**Çizelge 3. 2.** Örneklerin Protein Konsantrasyonları

Genç Sıçan Grubu	Genç Sıçan Grubu Protein Konsantrasyonu ( $\mu\text{g/ml}$ )	Orta-Yaşlı Sıçan Grubu	Orta-Yaşlı Sıçan Grubu Protein Konsantrasyonları ( $\mu\text{g/ml}$ )	Yaşlı Sıçan Grubu	Yaşlı Sıçan Grubu Protein Konsantrasyonu ( $\mu\text{g/ml}$ )
Genç 1	6020 $\mu\text{g/ml}$	Orta-Yaşlı 1	8510 $\mu\text{g/ml}$	Yaşlı Sıçan 1	8620 $\mu\text{g/ml}$
Genç 2	5460 $\mu\text{g/ml}$	Orta-Yaşlı 2	14100 $\mu\text{g/ml}$	Yaşlı Sıçan 2	13513 $\mu\text{g/ml}$
Genç 3	10200 $\mu\text{g/ml}$	Orta-Yaşlı 3	6810 $\mu\text{g/ml}$	Yaşlı Sıçan 3	6079 $\mu\text{g/ml}$
Genç 4	8830 $\mu\text{g/ml}$	Orta-Yaşlı 4	10100 $\mu\text{g/ml}$	Yaşlı Sıçan 4	6779 $\mu\text{g/ml}$
Genç 5	7100 $\mu\text{g/ml}$	Orta-Yaşlı 5	7790 $\mu\text{g/ml}$	Yaşlı Sıçan 5	6430 $\mu\text{g/ml}$
Genç 6	7170 $\mu\text{g/ml}$	Orta-Yaşlı 6	5710 $\mu\text{g/ml}$		
Genç 7	5580 $\mu\text{g/ml}$	Orta-Yaşlı 7	6970 $\mu\text{g/ml}$		

Proteinlerin ağırlıklarına göre yürütülüp birbirinden ayırmamızı sağlayacak olan Jel Elektroforezi işlemi öncesi örnekler jele yüklemeye hazır hale getirilmiştir. Bu amaçla belirlenen protein miktarlarına göre her örnekten 20  $\mu\text{g/ml}$  olacak şekilde alınması gereken örnek miktarı hesaplanmıştır.

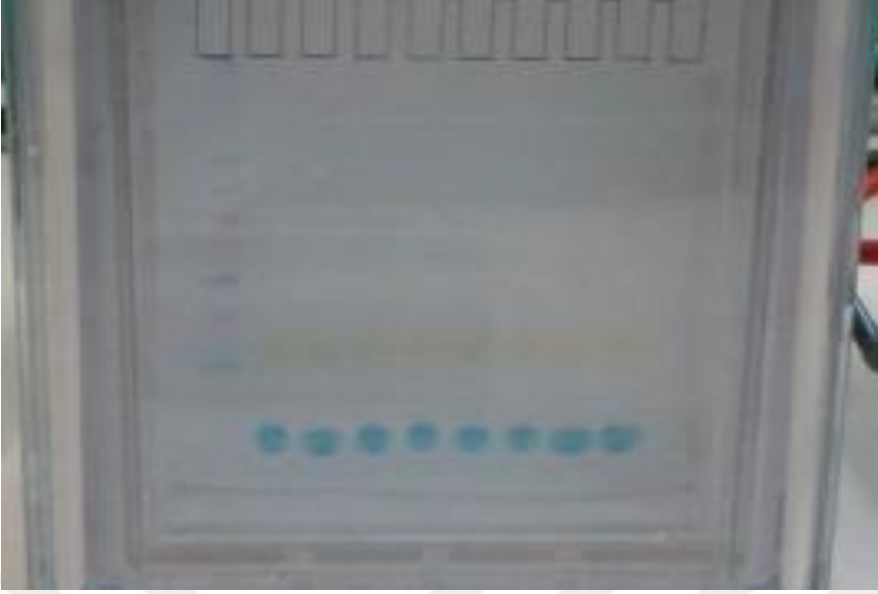
Proteinlerin jel üzerinde yürümesini sağlamak için öncelikli olarak proteinler lineer hale getirilmiştir. Proteinleri lineer hale getirmek için Bio Rad Laemmli Sample Buffer (SP) (cat.160737) ve Sigma M6250 2-Merkaptoetanol kullanılarak bir solüsyon hazırlanmıştır.

Her bir örneği lineer hale getirmek için örneklere göre etiketlenen tüplere SP, ilgili örnek ve distile su ( $\text{dH}_2\text{O}$ ) eklenmiştir. Bu tüpler daha sonra  $95^\circ\text{C}$ 'de 5 dk boyunca inkübe edilerek proteinler denatüre edilmiş ve 3 boyutlu yapılarından arındırılarak jelde yürüyecek hale getirilmiştir. 5 dk sonunda tüpler buz üzerine alınmıştır (Şekil 3.9).



Şekil 3. 9. Proteinlerin elektroforez için hazırlanması

Elektroforez işleminde kullanmak için yürütme solüsyonu hazırlanmıştır. Solüsyonu hazırlamak için 1 Bio Rad cat. 1610732 10X Tris-Glycine SDS Buffer ve dH<sub>2</sub>O su kullanılmıştır. SDS-PAGE jel elektroforezi için Bio Rad cat. 4561086 %4-15 Mini-PROTEAN TGX Prekast Protein Jeller'e ait jeller çıkarılıp dH<sub>2</sub>O ile yıkanmış ve Bio Rad SDS-PAGE Elektroforez Jel Tankı'na yerleştirilmiştir. Tankın içerisine, jellerin arasına daha önceden hazırlanan yürütme solüsyonu eklenmiştir. İnkübasyondan alıp buz üzerinde beklettiğimiz örneklerimizden 14 µl belirli bir sırayla jele yüklenmiştir. Marker yüklemesi 4 µl olarak yapılmıştır. Elektroforez jel tankının kapağı kapatılmış akım kabloları yerleştirilmiştir. Yürütme işlemi 120 voltta 1 saat boyunca gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.10).



Şekil 3. 10. Dikey elektroforez

### 3.2.2.3. Blotlama İşlemi ve Antikor Muamelesi

Proteinlerin membran üzerinde immobilize edilmesidir. SDS-PAGE Jel Elektroforezinde yürütme işi tamamlandıktan sonra, jel, istenilen proteinlerin deteksiyonunu ve nicel ölçümlerinin yapılabilmesi için PVDF membrana aktarılmıştır.

Bio Rad Trans-Blot Turbo RTA Midi PVDF Transfer Kit (Cat. 1704273) içerisinde bulunan transfer solüsyonundan etanol ve dH<sub>2</sub>O ile karıştırılmıştır ve kullanılacak olan yeni transfer solüsyonu oluşturulmuştur.

Jel elektroforez tankından çıkarılan jeller yayık bir kap içerisindeki dH<sub>2</sub>O içerisine konmuştur. PVDF membran 3 dk boyunca metanol içerisinde bekletilmiştir. Bio Rad Trans-Blot Turbo RTA Midi PVDF Transfer Kit içerisindeki transfer stack ve PVDF membranı çıkartılmıştır. Stacklar ve Membran ıslatılmak amaçlı hazırlanan transfer solüsyonunun içerisinde 3 dk bekletilmiştir.

Trans-Blot Turbo RTA Midi PVDF Transfer Kit içerisinde bulunan filtrenin üzerine membran, membranın üzerine jel, jelin üzerine de tekrar filtre konulmuştur. Bu şekilde Bio Rad Trans Blot Turbo Transfer System adlı cihaza bu kompleks yerleştirilmiştir. Transfer işlemi cihazda 25 V, 2.5 A'de 7 dk boyunca gerçekleştirilmiştir.

Transfer işlemi bittikten sonra membranlar alınıp 5 dk boyunca 137 mM NaCl, 20 mM Tris, %0,1 Tween-20 ile hazırlanmış bir miktar TBST içerisinde bekletilmiştir (Şekil 3.11).

Antikor muamelesi sürecinde membrana aktardığımız örneklerimizde ilgilendiğimiz proteinler; pTau, Klotho, Prealbümin (Transtiretin), BACE (beta sekretaz), ilgili antikorlar yardımıyla ağırlıklarına göre ayrılarak analiz edilmiştir. Kontrol için beta-tubulin proteinine bakılmıştır.

137 mM NaCl, 20 mM Tris, %0,1 Tween-20 kullanılarak 300 ml TBST hazırlanmıştır. Antikor muamelesi öncesinde spesifik olmayan bağlanmaları önlemek amacıyla membranlar bloklama işlemine tabi tutulmuştur. Her Bloklama işlemi öncesinde cat. Sc-2325 ChemCruz Süt tozu kullanılarak %5'lik süt tozu içeren TBST solüsyonu hazırlanmıştır. Her bir membrane oda sıcaklığında hazırlanan bloklama solüsyonu içerisinde 1 saat çalkalanarak inkübe edilmiştir.

<sup>1</sup>Ab'lerin seyreltme işlemi %5'lik süt tozu içeren TBST solüsyonu ile yapılmıştır.

pTau proteini için, 1:1000 seyreltilmiş, cat. MN1040, Thermo Phospho-Tau (Thr231) Monoclonal Antibody, Klotho proteini için, 1:1000 seyreltilmiş, ABCAM Anti-Klotho antibody (cat. ab203576), Prealbümin proteini için, 1:1000 seyreltilmiş, ABCAM Anti-Prealbumin antibody (cat.ab9015), BACE proteini için, 1:1000 seyreltilmiş Cell Signaling Technology,  $\beta$ -tübülün proteini için (cat. 5606), 1:500 seyreltilmiş, Thermo beta Tubulin Loading Control Monoclonal Antibody (cat. MA5-16308) kullanılmıştır.

Hazırlanan antikorlar ilgili membranların üzerine eklenmiş ve membranlar 4 °C'de gece boyunca çalkalanarak inkübe edilmiştir. Ertesi gün bağlanmayan birincil antikorları uzaklaştırmak amacıyla membranlar TBST ile yıkanmış ve sonrasında ikincil antikor muamelesine hazır hale getirilmiştir.

Birincil antikora uygun olan ikincil antikorlar bloklama solüsyonu ile 1:5000 olacak şekilde seyreltilerek hazırlanmıştır. Klotho proteini, BACE proteini ve  $\beta$ -tübülün proteini için Cell Signalling Anti-rabbit IgG (cat. 7074S), HRP-linked Antibody, pTau proteini için, Cell Signalling Anti-mouse IgG (cat. 7076P2), HRP-linked Antibody, Prealbümin proteini için, Thermo Fisher Scientific Invitrogen Donkey anti-Sheep IgG (H+L) HRP-linked Secondary Antibody (cat. A16041) kullanılmıştır.

$2^{\circ}\text{Ab}$  membranların üzerine eklenmiştir ve oda sıcaklığında çalkalayıcı üzerinde mebranlarla birlikte 1 saat inkübe edilmiştir.  $2^{\circ}\text{Ab}$  muamelesinden sonra kaptaki sıvı boşaltılmış ve membranlar 3 defa TBST ile yıkanmıştır.

#### **3.2.2.4. Membran Görüntüleme**

Tüm bu işlemlerin ardından membrandaki proteinlerin görüntüleme aşamasında ECL solüsyonu ile 3 dakika inkübe edilmiştir. Proteinlerden elde edilen sinyaller ise Fusion FX7 (Vilber Lourmat) sisteminde CCD kamera altında işlenmiş ve her bir proteine ait bantlar kaydedilmiştir.

#### **3.2.3. İstatiksel Analiz Çalışmaları**

Elde edilen tüm verilerden grup ortalaması  $\pm$  SEM (ortalamanın standart hatası) hesaplanmıştır. Tek yönlü varyans analizi (One-way ANOVA) ile farklı yaş grupları arasındaki istatistiksel farklılıklar belirlenmiştir. Ayrıca, iki yönlü tekrarlı varyans analizi (ANOVA) (gün X grup) ile Morris su tankı öğrenme deneyinde gün ve yaştan kaynaklanan farklılıklar belirlenmiştir. Varyans analizinden sonra çoklu karşılaştırma ve ikili gruplar arasındaki farklılıkları karşılaştırmak amacıyla Fisher's least significant difference (LSD) testi uygulanmıştır. Davranış test verilerinin ve moleküler verilerin analizi IBM SPSS 22.0 istatistik programıyla yapılmıştır ve  $p \leq 0.05$  olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

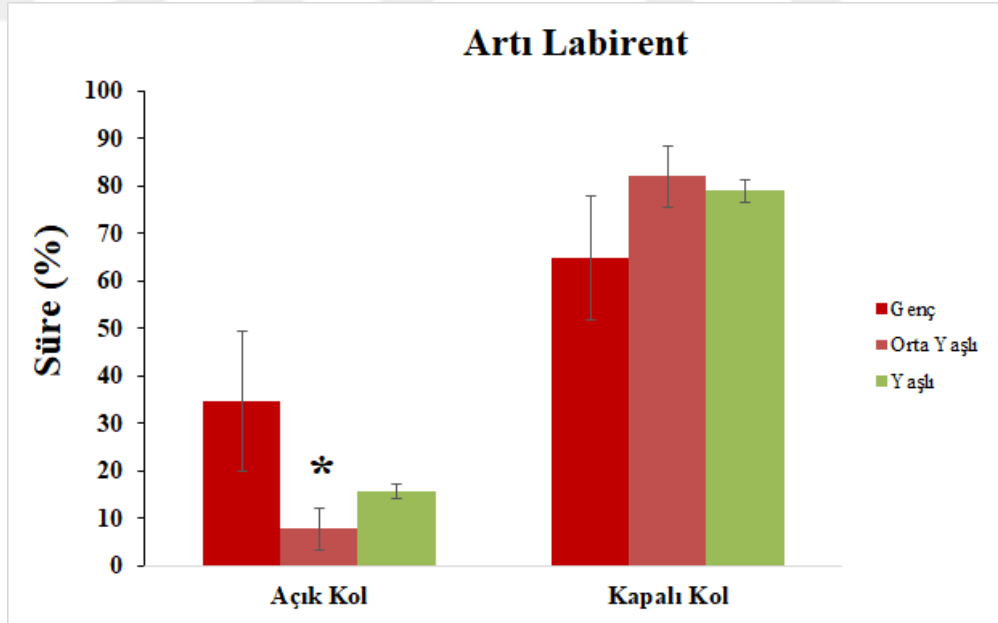
## 4. BULGULAR

Projede yapılan davranış deneyleri ve moleküler analiz bulgularının istatistiksel açıdan değerlendirilmesinde üç grubun karşılaştırılması için tek yönlü ANOVA analizi kullanılırken ikili grup karşılaştırmaları ise post hoc LSD analizi kullanılmıştır.

### 4.1. DAVRANIŞ DENEYİ BULGULARI

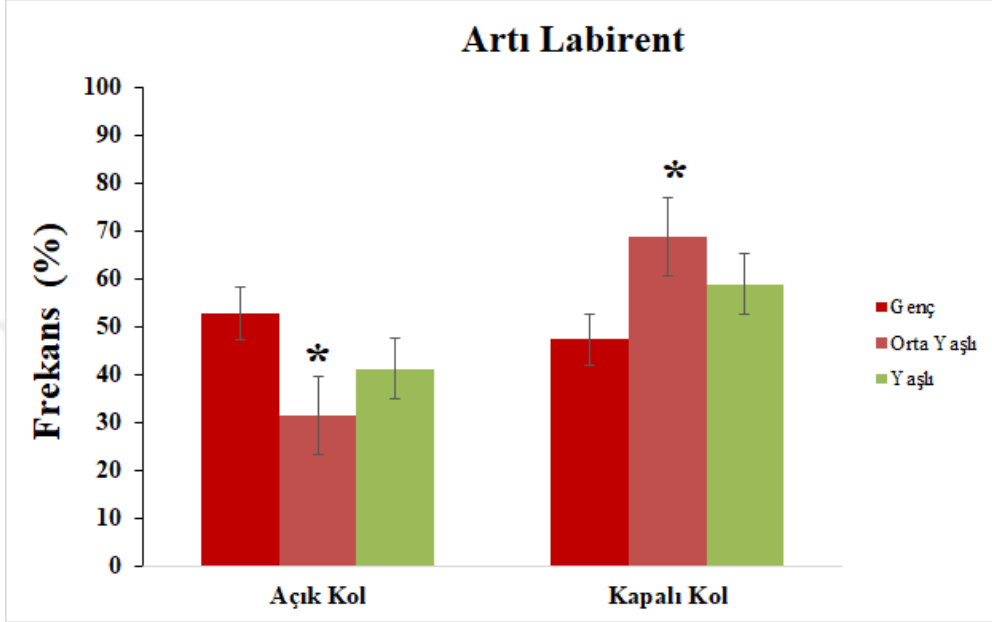
#### 4.1.1. Yükseltilmiş Artı-labirent Testi (Elevated Plus-Maze) Analizi

Long-Evans sıçanlarda açık ve kapalı kollarda geçirdikleri süre açısından yapılan analizlerde yaş grupları arasında kapalı kolda ( $F(2,15)=0,886$   $p=0,433$ ) ve açık kolda ( $F(2,15)=2,707$   $p=0,104$ ) istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunmamıştır. Bunun yanında post hoc LSD analiz sonuçları incelendiğinde açık kolda genç ve orta yaşlı bireyler arasında anlamlı farklılık görülürken ( $p=0,040$ ), kapalı kolda farklı yaş grupları arasında herhangi bir istatistiksel açıdan farklılık görülmemiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Gruplardaki bireylerin süre açısından değerlendirmesini gösteren Artı labirent testi analiz sonuç grafiği

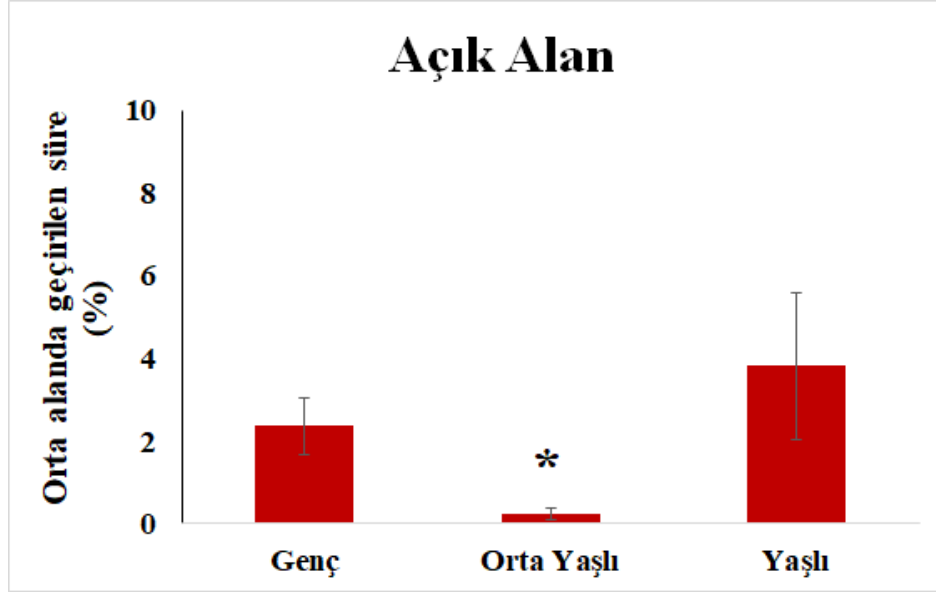
Gruplardaki bireylerin artı labirent testi için frekans sonuçları incelendiğinde ise kapalı kol ve açık kolda ( $F(2,15)=2,465$   $p=0,119$ ) istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunmazken genç ve orta yaşlı bireylerin frekans karşılaştırmalarının post hoc LSD analiz sonuçları neticesinde istatistik anlamlılık tespit edilmiştir ( $p=0,042$ ) (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Gruplardaki bireylerin frekans açısından değerlendirmesini gösteren Artı labirent testi analiz sonuç grafiği

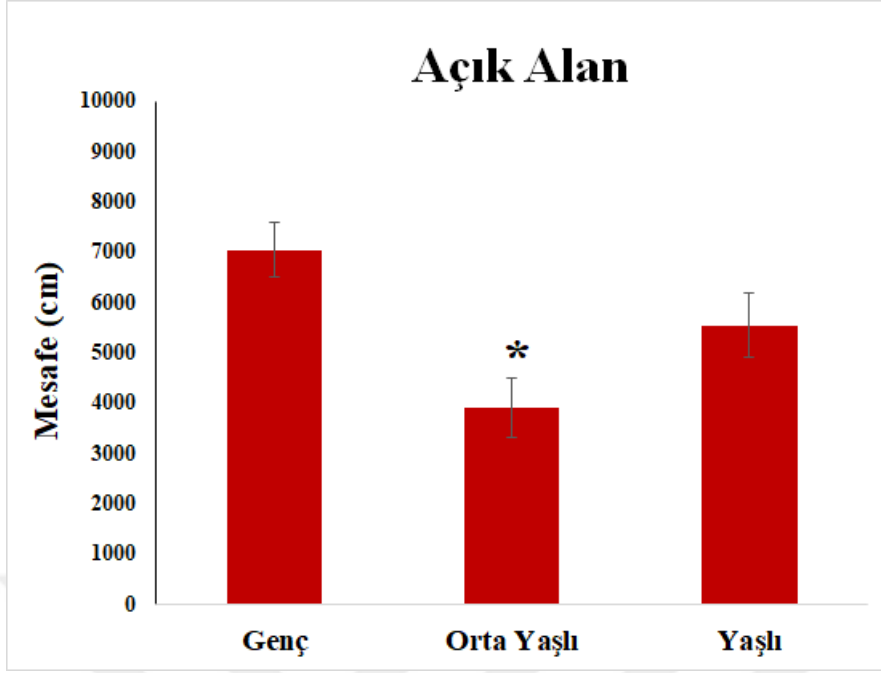
#### 4.1.2. Açık Alan Testi Analizi

Gruplardaki bireylerin açık alan testi sonuçlarından orta alanda geçirilen süre yüzde olarak değerlendirildiğinde istatistik anlamlılık görülmemiş ( $F(2,16)=3,395$   $p=0,068$ ), ancak post hoc LSD analizi açısından orta yaşlı ve yaşlı grup karşılaştırması sonucunda iki grup arasında  $p=0,025$  olarak bulunmuştur (Şekil 4.3). Sonuç olarak orta alanda orta yaşlıların yaşlılara oranları daha az vakit geçirmeleri artı labirent testini desteklemektedir. Yani yaşla birlikte orta yaşta artan anksiyetik durum azalmakta ve bireyler daha sakin olmaktadır.



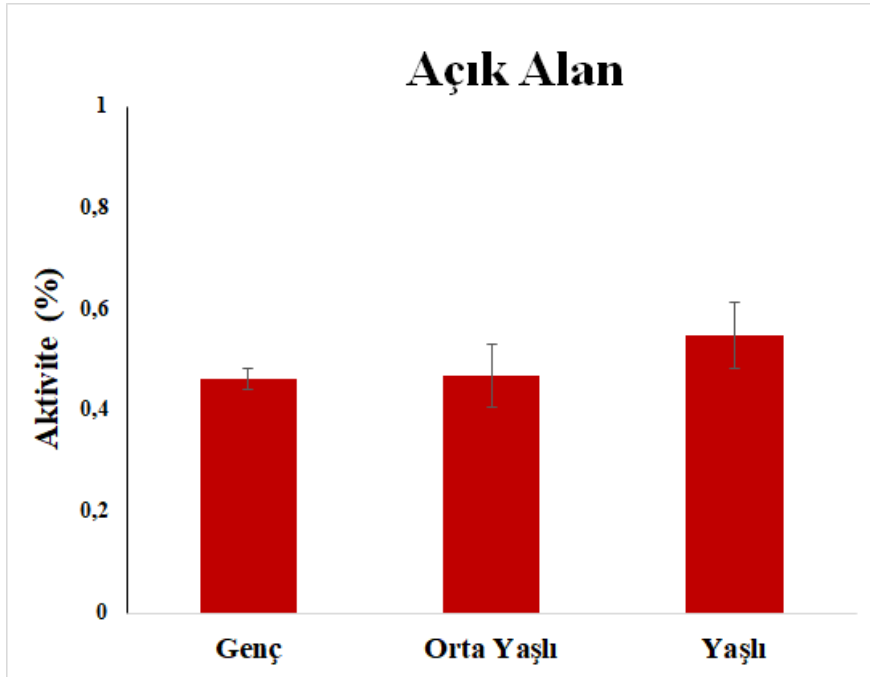
Şekil 4.3. Gruplardaki bireylerin orta alandaki geçirdikleri sürenin açık alan testi ile analiz sonuçları

Açık alan testinde mesafe açısından sonuçlar araştırıldığında ise gruplar arasında istatistiksel anlamlılık görülürken ( $F(2,16)=7,535$   $p=0,006$ ), genç ve orta yaşlı bireyleri içeren iki grup karşılaştırıldığında  $p=0,002$  değeri bulunarak anlamlılık tespit edilmiş, ancak orta yaşlı ve yaşlı bireyler arasında böyle bir sonuç bulunmamıştır ( $p=0,072$ ). Açık alanda mesafe lokomotor aktiviteyi göstermektedir. Şekil 4.4'te gençlere oranla orta yaşlı bireylerin lokomotor aktivitelerinde bir azalmanın olduğu açık alan testi sonucu ortaya konmuştur. Yaşlı ile orta yaşlı bireyler arasında fark bulunmaması da lokomotor aktivitedeki azalmanın orta yaşta başladığına dair bize bilgi vermektedir.



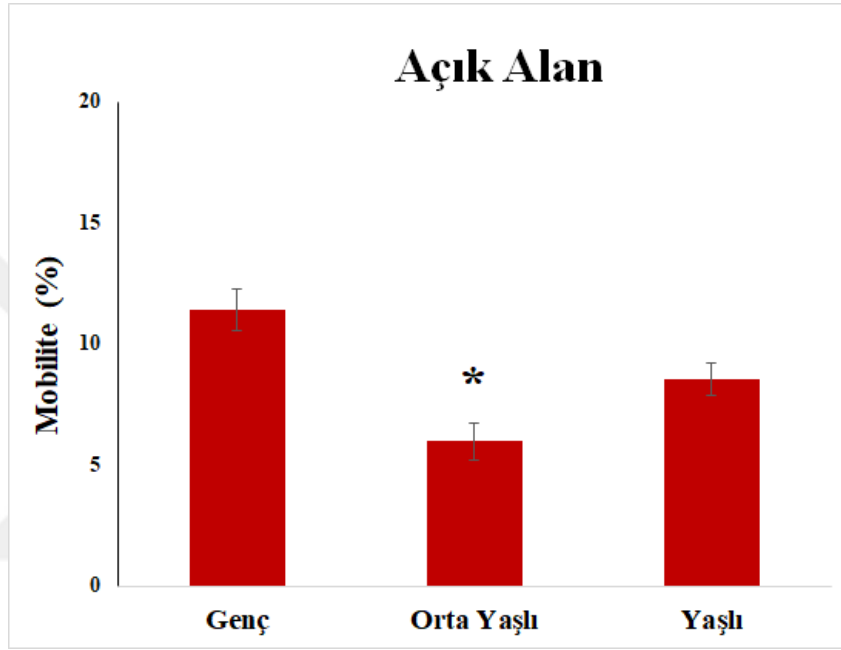
Şekil 4.4. Gruplardaki bireylerin mesafeye bağlı lokomotor aktivitesinin açık alan testi ile analiz sonuçları

Açık alan testinde aktivite açısından sonuçlar değerlendirildiğinde anlamlı bir fark bulunmazken ( $F(2,16)=1,247$   $p=0,317$ ), post hoc LSD sonuçlarında da gruplar arası farklılık görülmemiştir (Şekil 4.5).



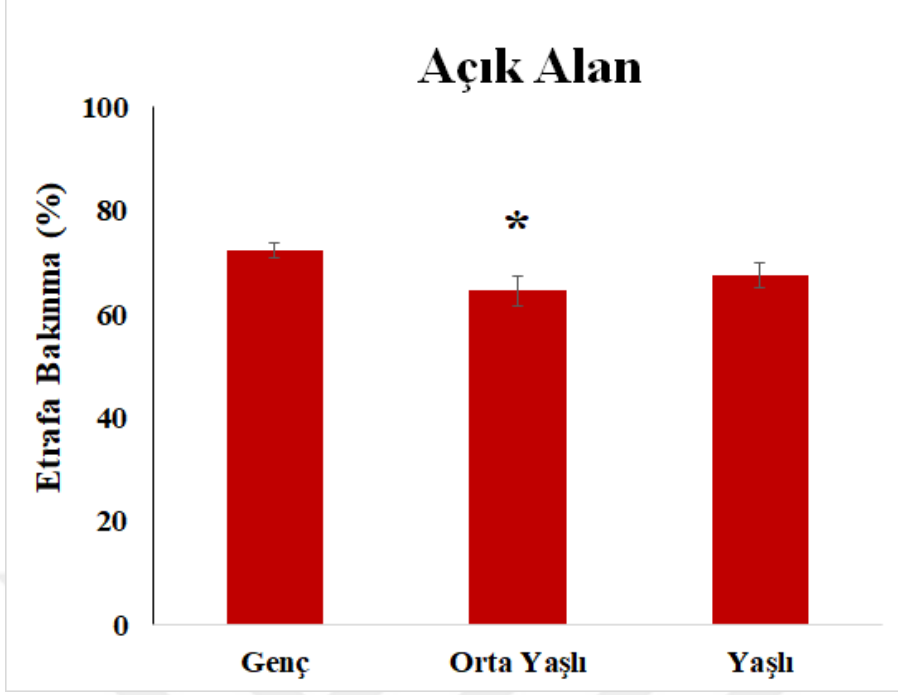
Şekil 4.5. Gruplardaki bireylerin aktiviteye bağlı açık alan testi ile analiz sonuçları

Gruplardaki bireylerin mobilite yüzdelere bakıldığında ise  $F(2,16)=12,310$   $p=0,001$  değerleri bulunmuş ve gruplar arası anlamlı farklılıktan söz edilirken, post hoc LSD analiziyle genç ve orta yaşlı grubun karşılaştırılması sonucu  $p<0,001$ , genç ve yaşlı grubun sonucu  $p=0,026$  ve orta yaşlı ve yaşlı grubun sonucu ise  $p=0,042$  şeklinde bulunarak gruplar arası anlamlılık belirlenmiştir (Şekil 4.6). Elde edilen sonuçlara göre, aktivite açısından yaşla birlikte bir değişim görülmezken mobilitede yaşla birlikte bir azalmanın olduğu söylenebilmektedir (Şekil 4.5 ve 4.6).



Şekil 4.6. Gruplardaki bireylerin mobiliteye bağlı açık alan testi ile analiz sonuçları

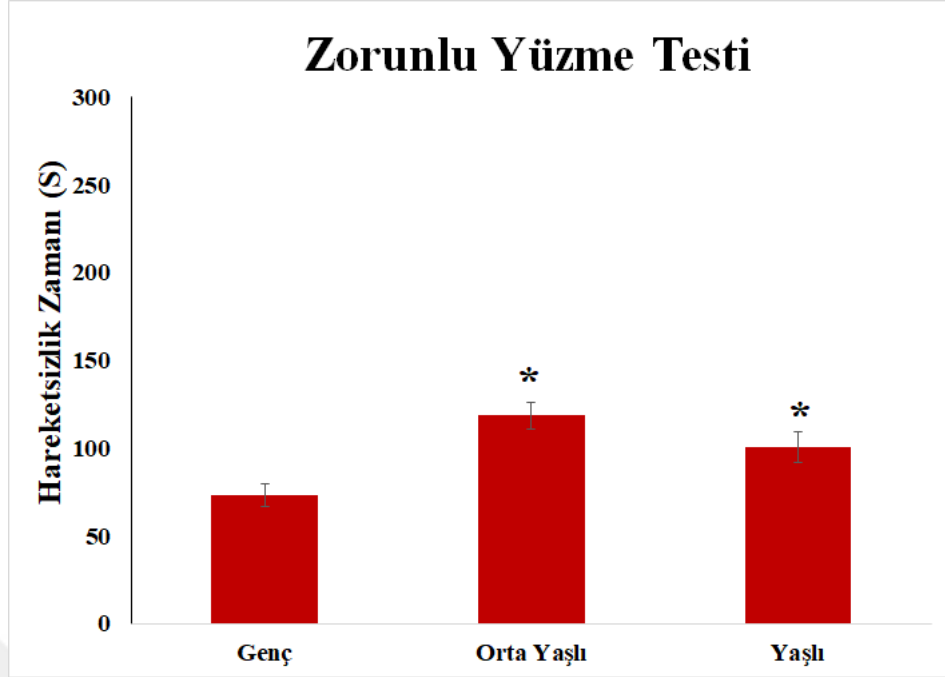
Son olarak bireylerin etrafa bakınma değerleri yüzde olarak ortaya konmuş ve bunun sonucunda gruplardaki bireylerin istatistiksel değerleri  $F(2,16)=4,616$   $p=0,029$  olarak tespit edilmiştir. Gruplar arası karşılaştırmaya göre ise genç ve orta yaşlı (Post hoc LSD;  $p=0,009$ ) grup için istatistik anlamlılıktan söz edilmektedir. Şekil 4.7'deki grafiğe göre de etrafa bakınmadaki azalmanı yani ortam keşfinin azalmasının orta yaşlı bireylerde anksiyetenin artışı ile bağlantılı olabileceği anlaşılmaktadır. Anksiyete azaldıkça yaşlı bireylerde olduğu gibi etrafa bakınma yani merak duygusu yaşlılıkta yine artmaktadır.



Şekil 4.7. Gruplardaki bireylerin etrafa bakınmaya bağlı açık alan testi ile analiz sonuçları

#### 4.1.3. Zorunlu Yüzme Testi Analizi

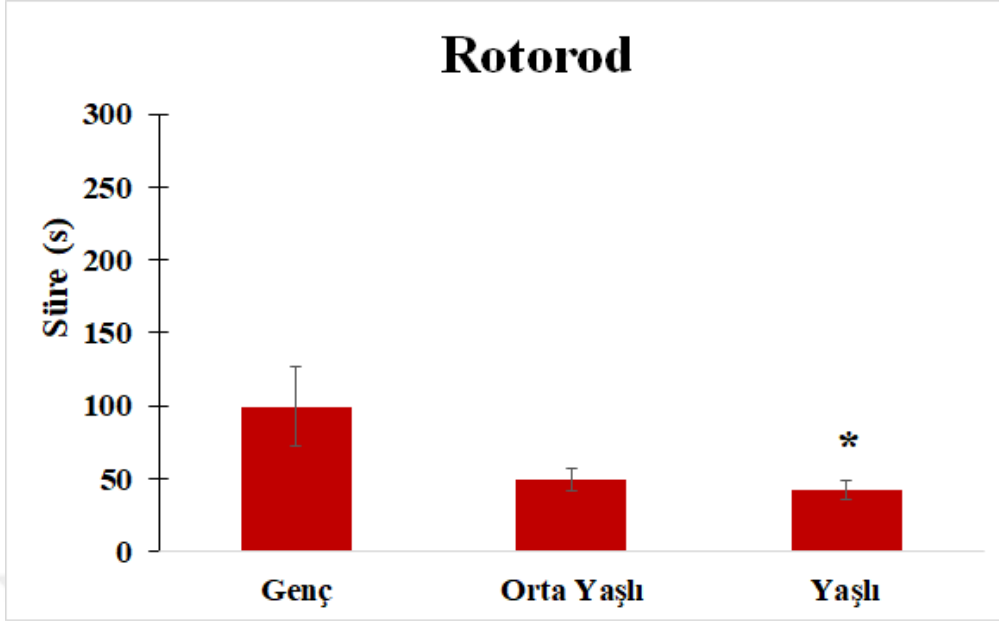
Gruplara ayrılan bireylerin depresyon açısından davranışlarının incelendiği bir test olan zorunlu yüzme testi sonuçlarına göre istatistiksel değerlendirme sonuçları  $F(2,17)=9,791$   $p=0,002$  olarak anlamlılığı ortaya koymuştur. Bununla birlikte Post hoc LSD analiziyle genç grubun orta yaşlı ve ( $p=0,001$ ) yaşlı grup ile ( $p=0,027$ ) karşılaştırılmasından da istatistiksel anlamlılık elde edilmiştir (Şekil 4.8).



Şekil 4.8. Zorunlu yüzme testi analiz sonuçları

#### 4.1.4. Rotarod Motor Koordinasyon Testi Analizi

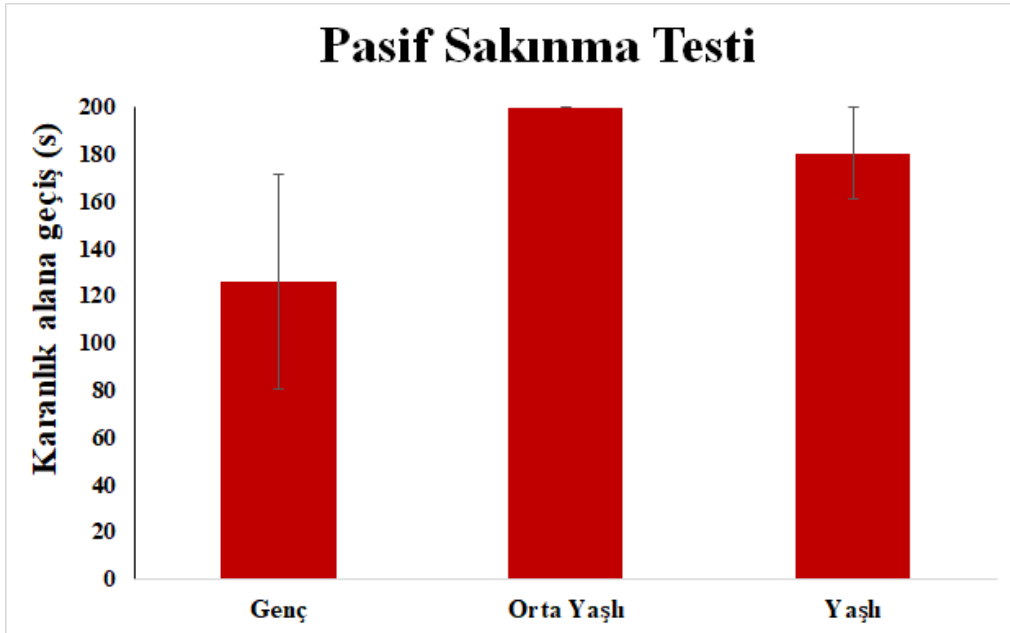
Motor koordinasyon testinin analizi için tek yönlü ANOVA yöntemi kullanılmış ve bunun sonucunda herhangi bir anlamlılık bulunmamıştır ( $F(2,18)=2,869$   $p=0,086$ ). İkili gruplar arasındaki karşılaştırma yapıldığında ise (post hoc LSD) genç ve orta yaşlı grup arasında anlamlılık görülmezken ( $p=0,063$ ) genç ve yaşlı grup arasında anlamlılık tespit edilmiştir ( $p=0,053$ ). Bu testin sonuçları yorumlandığında, yaşlılıkla motor koordinasyonun azaldığı söylenebilmektedir (Şekil 4.9).



Şekil 4.9. Rotorod motor koordinasyon testi analiz sonuçları

#### 4.1.5. Pasif Sakınma Testi Analizi

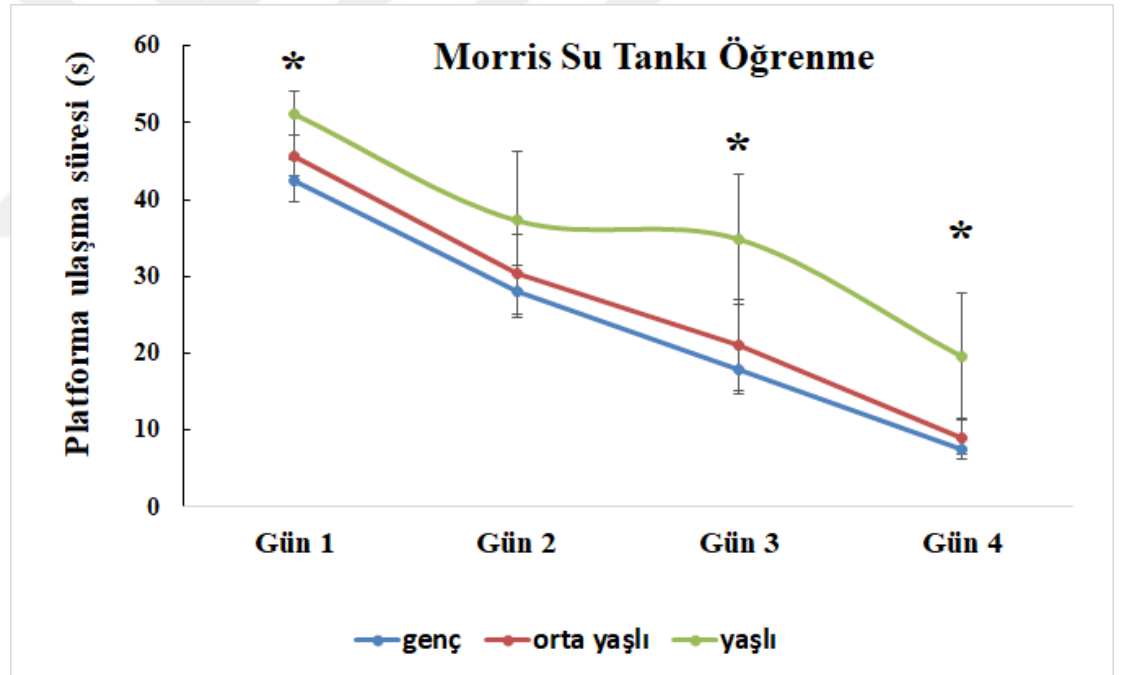
Deneklerin öğrenme ve bellek düzeylerinin incelendiği pasif sakınma testi için gruplar arası anlamlılık incelendiğinde üç grubun birbiri arasında ( $F(2,16)=2,359$   $p=0,131$ ) ve ikili grupların karşılaştırılmasında herhangi bir farklılık görülmemiştir (Şekil 4.10).



Şekil 4.10. Pasif sakınma testi analiz sonuçları

#### 4.1.6. Morris Tipi Su Labirenti (MWM) Testi Analizi

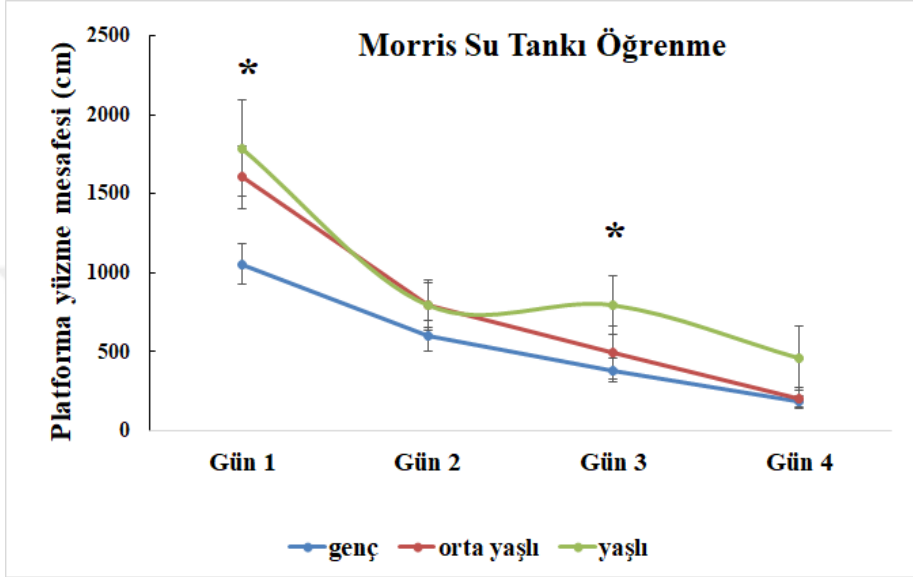
Hipokampüse bağlı öğrenme ve bellek parametrelerini ölçen Morris su labirenti deneyinde tekrarlı ölçüm ANOVA verilerine göre günler arasında platforma ulaşma süresinde anlamlı bir fark var iken ( $F(3,45)=33,480$   $p<0,001$ ) gün X grup etkileşiminde ( $F(6,45)=0,247$   $p=0,958$ ) herhangi bir farklılık gözlenmemiştir. Gruplar arasında yapılan analizde anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ( $F(2,15)=3,098$   $p=0,075$ ). Her gün için yapılan tek yönlü ANOVA testine göre ise birinci günde genç ve yaşlı gruplar arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir. Gençlere oranla yaşlılarda görülen öğrenme gecikmesi üçüncü ve dördüncü günde de devam etmiştir (Gün 1:  $F(2,18)=2,359$   $p=0,127$  genç vs yaşlı  $p=0,045$ ; Gün 2:  $F(2,18)=0,661$   $p=0,530$ ; Gün 3:  $F(2,18)=2,193$   $p=0,144$  genç vs yaşlı  $p=0,061$ ; Gün 4:  $F(2,18)=2,228$   $p=0,142$  genç vs yaşlı  $p=0,070$ ) (Şekil 4.11).



Şekil 4.11. Gruplardaki bireylerin günlere göre platforma ulaşma süresini gösteren morris su tankı testi öğrenmeye bağlı analiz sonuçları

Şekil 4.12'de görüldüğü üzere ve tekrarlı ölçüm ANOVA verilerine göre platforma yüzülen mesafede de günler arasında anlamlı bir fark bulunmuştur ( $F(3,45)=38,412$   $p<0,001$ ). Bunun yanı sıra grup X gün etkileşimi anlamsız iken ( $F(6,45)=1,509$   $p=0,197$ ) gruplar arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir ( $F(2,15)=3,726$   $p=0,049$ ). Her gün için yapılan tek yönlü ANOVA testine göre ise

platforma yüzülen mesafede birinci günde genç ve yaşlı gruplar arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir. Gençlere oranla yaşlılarda görülen öğrenme gecikmesi üçüncü günde de devam etmiştir (Gün 1:  $F(2,18)= 3,471$   $p=0,056$  genç vs. yaşlı  $p=0,027$ ; Gün 2:  $F(2,18)= 0,739$   $p=0,493$ ; Gün 3:  $F(2,18)= 1,964$   $p=0,173$  genç vs yaşlı  $p=0,069$ ; Gün 4:  $F(2,18)= 1,775$   $p=0,203$  ).

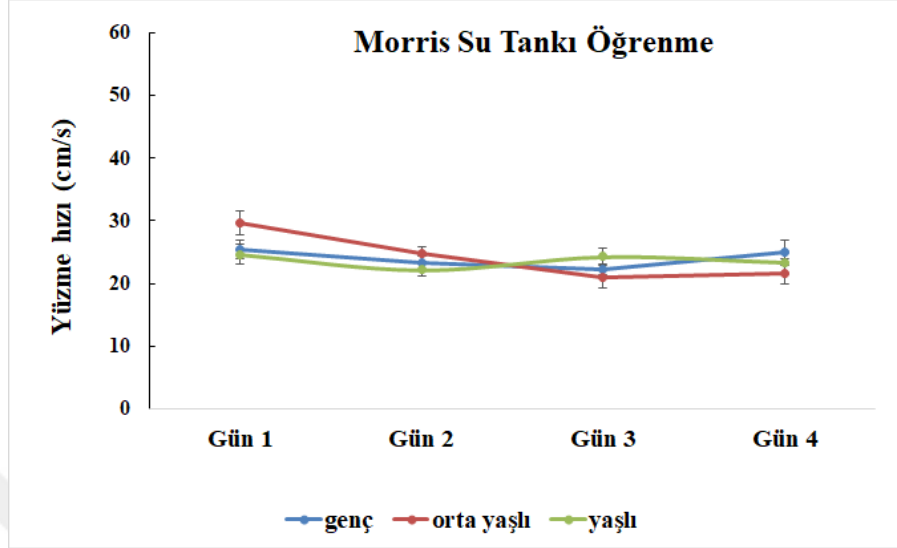


Şekil 4.12. Gruplardaki bireylerin günlere göre platforma yüzme mesafesini gösteren morris su tankı testi öğrenmeye bağlı analiz sonuçları

Son olarak yüzme hızı kullanılarak yapılan analizde ise tekrarlı ölçüm ANOVA verilerine göre günler arasında anlamlı bir fark bulunmuştur ( $F(3,45)=5,339$   $p=0,003$ ). Bunun yanı sıra grup X gün etkileşiminde de anlamlı bir farklılık bulunmuştur ( $F(6,45)=2,748$  ( $p=0,022$ )). Gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmemiştir  $F(2,15)=0,107$   $p=0,899$ .

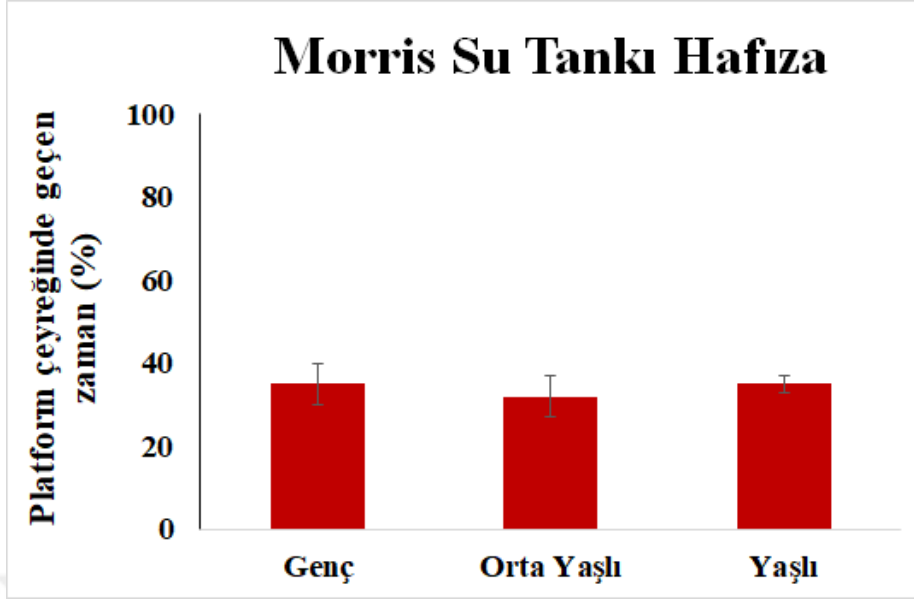
Her gün için yapılan tek yönlü ANOVA testine göre anlamlı olmasa da yaşlı grubun yüzme hızında gençlere oranla bir azalmanın olduğu tespit edilmiştir (Gün 1:  $F(2,18)= 2,459$   $p=0,117$  genç vs orta yaşlı  $p=0,086$  orta yaşlı vs yaşlı  $p=0,069$ ; Gün 2:

$F(2,18)=1,345$   $p=0,289$ ;  $Gün 3: F(2,18)= 1,677$   $p=0,218$  orta yaşlı vs yaşlı  $p=0,086$ ;  
 $Gün 4: F(2,18)= 1,252$   $p=0,313$ ) (Şekil 4.13).



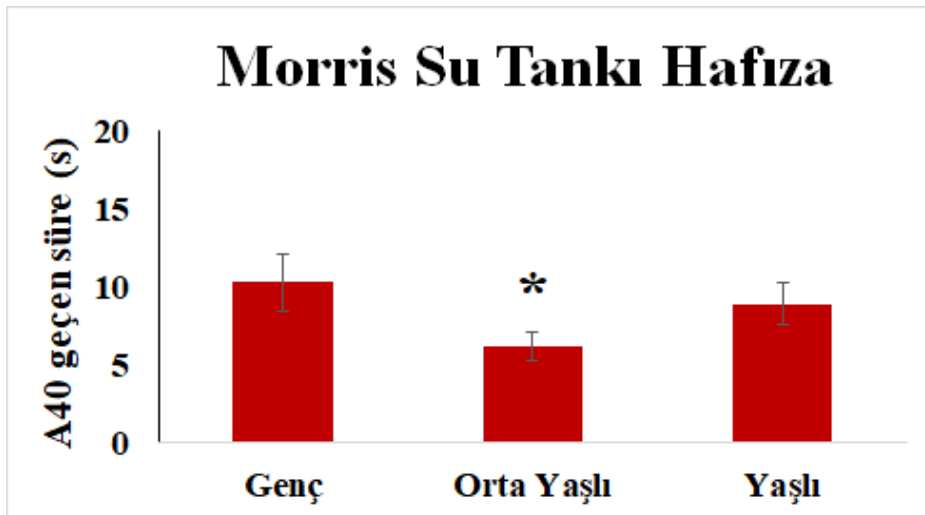
**Şekil 4.13.** Gruplardaki bireylerin günlere göre platforma yüzme hızını gösteren morris su tankı testi öğrenmeye bağlı analiz sonuçları

Morris su tankından platform çıkartılarak yapılan test denemesi deneylerinde hayvanların platform kadranında ve platform alanında geçirdikleri süre bilgisayar yardımıyla hesaplanmıştır. Morris su labirenti test denemesinde hayvanların platform kadranında geçirdikleri süreye bakılarak yapılan tek yönlü ANOVA testinde gruplar arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ( $F(2,16)=0,061$   $p=0,941$ ) (Şekil 4.14).



Şekil 4.14. Gruplardaki bireylerin platform çeyreğinden geçen zamana bağlı morris su tankı testi hafızaya analiz sonuçları

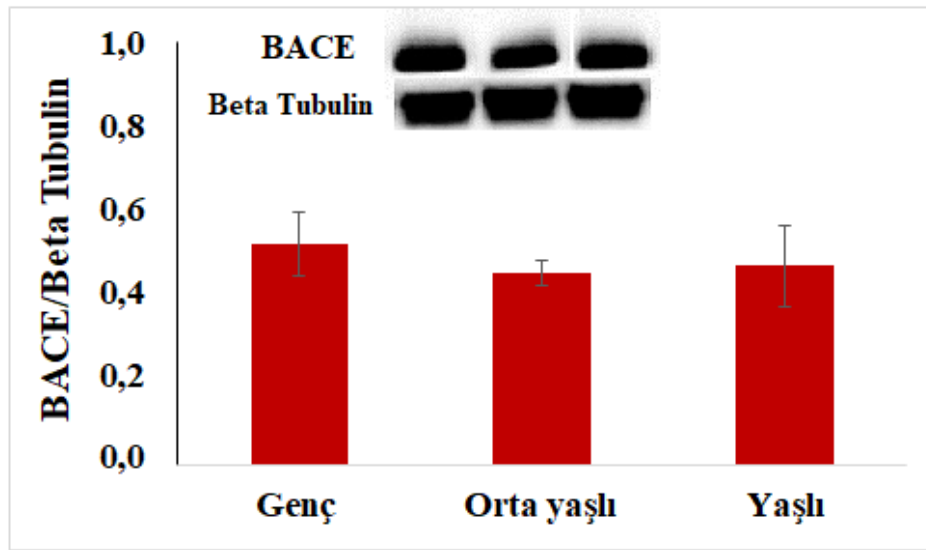
Platformun bulunduğu çeyrekte hayali olarak 40 cm çapında çizilen ve hafızanın keskinliğinin daha iyi belirlendiği A40 bölgesinde geçirilen süre için gruplar karşılaştırıldığında, üç grubun karşılaştırma sonucunun tek yönlü ANOVA'ya göre anlamlı olmadığı ( $F(2,16)=2,486$   $p=0,122$ ) fakat post hoc testine göre orta yaşlı grubun genç gruba oranla bu bölgede istatistiksel olarak anlamlı derecede daha az vakit geçirdiği gözlenmiştir ( $p=0,049$ ) (Şekil 4.15).



Şekil 4.15. Gruplardaki bireylerin A40 bölgesinde geçirilen süreye bağlı morris su tankı testi hafızaya analiz sonuçları

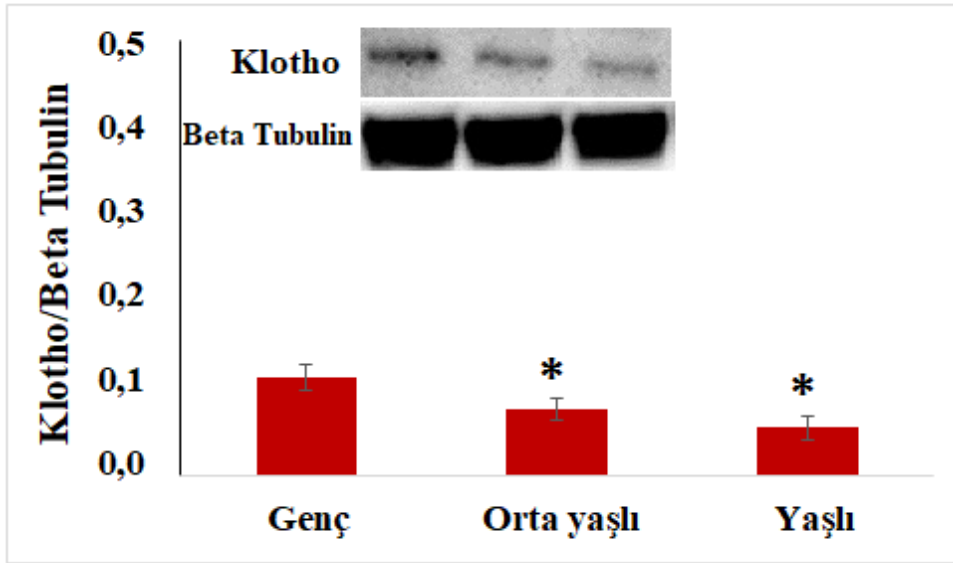
## 4.2. MOLEKÜLER ANALİZ BULGULARI

Üç yaş grubu arasında BACE, Klotho, Prealbümin ve pTau proteinlerinin kontrol için  $\beta$ -tübulin proteini kullanılarak western-blot tekniğiyle ölçüm yapılarak sonuçlar elde edilmiştir. İstatistiksel sonuçlar incelendiğinde BACE proteini açısından anlamlı bir farklılık bulunamamıştır ( $F(2,16)=0,324$   $p=0,728$ ). Post hoc analiziyle yapılan ikili gruplar arası karşılaştırmalar sonucunda da aynı şekilde anlamlı bir sonuç elde edilmemiştir (Şekil 4.16).



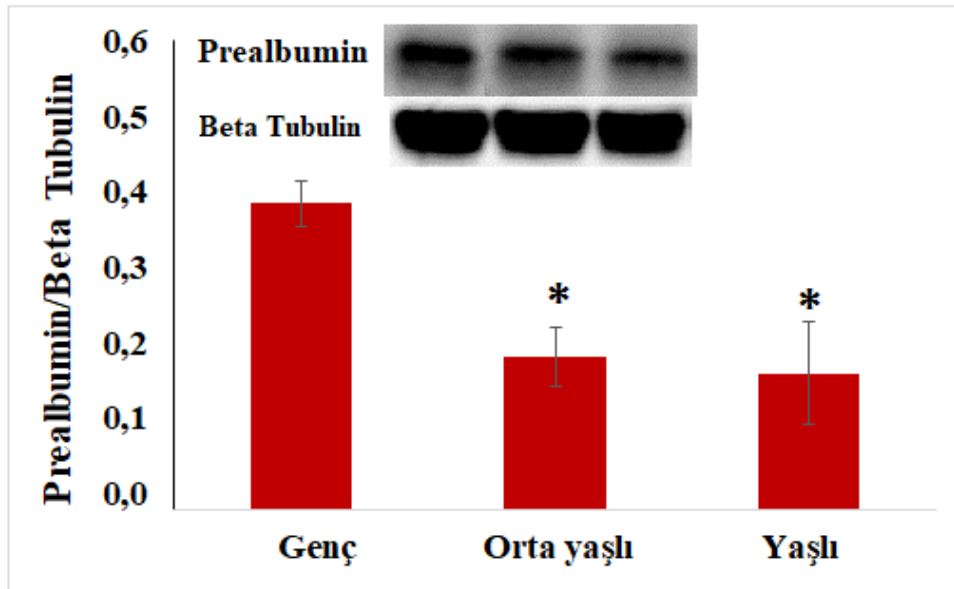
Şekil 4.16. Grupların western-blot analiz ile yapılan BACE proteini kantitasyonu sonuçları

Gruplar arasında Klotho miktarı bakımından farklılık incelendiğinde ise gruplar arasında anlamlı bir fark ( $F(2,16)=5,403$   $p=0,017$ ) bulunmuştur. İkili gruplar arası karşılaştırma yapıldığında, gençlere oranla Klotho protein miktarında hem orta yaşlı grupta ( $p=0,025$ ) hem de yaşlı grupta ( $p=0,009$ ) anlamlı bir azalma tespit edilmiştir (Şekil 4.17).



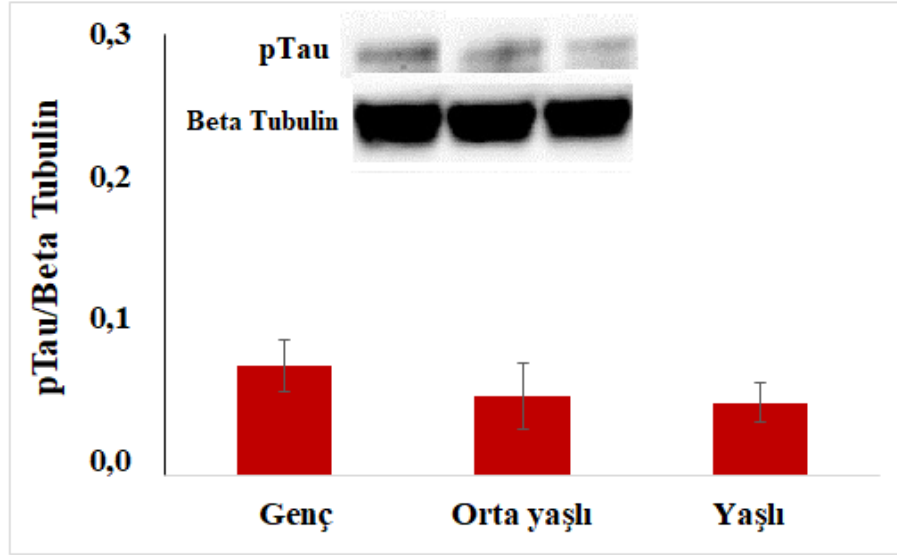
Şekil 4.17. Grupların western-blot analiz ile yapılan Klotho proteini kantitasyonu sonuçları

Prealbümin seviyelerine bakıldığında ise üç grup arasında anlamlı farklılık görülürken ( $F(2,16)=4,122$   $p=0,043$ ), ikili gruplar arası karşılaştırma sonuçlarına göre hem genç ve orta yaşlı grup ( $p=0,025$ ) hem de genç ve yaşlı grup ( $p=0,009$ ) arasında anlamlı farklılık görülmüştür. Prealbümin seviyesi yaşla birlikte anlamlı derecede azalmıştır (Şekil 4.18).



Şekil 4.18. Grupların western-blot analiz ile yapılan Prealbümin proteini kantitasyonu sonuçları

Moleküler analiz sonucu pTau proteini için inceleme yapıldığında, üçlü gruplar arası ( $F(2,16)=0,484$   $p=0,629$ ) ve ikili gruplar arası karşılaştırma sonuçları değerlendirmelerine göre anlamlı farklılık bulunmamıştır (Şekil 4.19).



Şekil 4.19. Grupların western-blot analiz ile yapılan pTau proteini kantitasyonu sonuçları

Sonuç olarak moleküler analizlerin istatistiksel incelemesinde Klotho ve Prealbümin protein miktarları açısından üç grup arasında ve ikili grup karşılaştırmaları sonucunda anlamlı farklılık belirlenirken, BACE ve pTau proteini açısından herhangi bir farklılık tespit edilmemiştir.



## 5. TARTIŞMA

Canlılar için normal olan yaşlanma, henüz tam anlaşılmamış olmakla beraber fizyolojik işlevlerde meydana gelen fiziksel ve kognitif kayıplar ile sonuçlanan, hücresel ve moleküler açıdan karmaşık bir biyokimyasal süreçtir.

Fonksiyonel azalma ile karakterize olan yaşlanmanın ilginç yönlerinden biri de farklı hızlarda ortaya çıkmasıdır. Yavaş yaşlanan bireylerde, hastalık geliştirme eğilimi olmadığından sağlıklı ve uzun bir yaşam sürüldüğü, hızlı yaşlanan bireylerde ise erken yaşlarda ortaya çıkan Alzheimer Hastalığı, Parkinson Hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıklar ve kardiyovasküler hastalıklar gibi sebepler ile sağlıklı ve kısa bir yaşam sürüldüğü düşünülmektedir (186). Bu yaklaşım doğrultusunda canlılarda kognitif ve fizyolojik değişimlerin nedenlerinin anlaşılması, yaşlanma ile meydana gelen hastalıkların mekanizmalarının anlaşılması ve geciktirilmesi adına önemlidir.

Yaşlanma, sinir sistemindeki değişikliklerle ilişkilidir ve sinir sisteminin bazı yönleri diğerlerinden daha savunmasızdır. Yaşlı sağlıklı bireylerde bile genç sağlıklı bireylere kıyasla daha fazla nöron kaybı daha fazla vasküler patoloji ve hücre bazında çok sayıda değişiklikler bulunmaktadır (187).

Yaşlanma çalışmalarındaki önemli bir nokta da patolojik birikimlerdir. Yaşlanma sürecinde birçok patolojik birikim söz konusudur. Fakat, yaşlanma süreçlerinde nörodejenerasyonun da ortaya çıkması ile doğal yaşlanma ve patoloji ile ilişkili belirtiler örtüşebilmektedir (188). Nörodejeneratif hastalıklar için hastalığı modifiye eden tedaviler kullanıma sunulduğunda, spesifik patolojilerin varlığını belirlemede kullanılan biyobelirteçler, hem söz konusu patolojiye sahip semptomatik bireylere tedavinin verilmesini sağlamak hem de tedaviden en çok fayda görebilen normal yaşlanma sürecindeki presemptomatik yaşlı bireyleri belirlemede giderek daha önemli hale gelmektedir (188,189).

Genel olarak, 'birey içi' değişimler, muhtemelen bireyler arasındaki karşılaştırmalardan daha güçlüdür ve ayrıntılı klinik fenotipleme ve biyobelirteçler ile yaşam seyri verilerini birleştiren uzun araştırma çalışmaları, yaşlanma sürecinin karmaşıklığını anlamak için güçlü bir paradigma sağlamaktadır (190). Deney hayvanları üzerinde yapılan çoğu davranış çalışmaları, genç fareler (1-3aylık) yaşlı

fareler (24 aylık) olarak 2 farklı gruplandırılma üzerinedir (191). Bununla birlikte, genç yetişkinlikten orta yaşa kadar davranış değişiklikleri hakkında nispeten daha az şey bilinmektedir ve yaşın, yaşamın erken dönemlerindeki davranış üzerindeki etkisi anlaşılmayı beklemektedir (191).

Bu bilgiler doğrultusunda, davranış değişimlerinin başlama aralıkları çok geniş olduğundan, çalışmamızda canlı davranışı üzerindeki değişimlerin meydana geldiği dönemi anlamak ve canlılarda meydana gelen patolojik yaşlanmayı normal yaşlanmadan ayırmak amacıyla üç farklı yaş grubu üzerinde gerçekleştirdiğimiz davranış deneyleri ve aynı canlılara ait dokular üzerinde gerçekleştirdiğimiz protein analizleri, klinik tablo ile klinik tablonun altında yatan moleküler mekanizmaya daha geniş açıdan bakabilmeyi sağlamıştır.

Shoji ve arkadaşlarının (191) farklı yaş gruplarına sahip fareler üzerinde yaptıkları bir çalışmada, yükseltilmiş art labirent testi sonucunda 4-5 aylık fare grubu ile 1-3 aylık fare grubu arasında, aydınlık alana geçiş sayısı ve aydınlık alanda vakit geçirme süreleri arasında anlamlı farklılıklar gözlemlenmiştir. 4-5 aylık fare grubunun aydınlık alanda geçirdikleri süre ve aydınlık alan geçiş sayısı, daha genç olan 1-3 aylık fare grubuna göre anlamlı bir farklılıkla ( $p<0,001$ ) azalmıştır. Çalışmada 8-12 aylık fare grubu, 1-3 aylık grup ile karşılaştırıldığında anksiyete benzeri davranışların arttığını gösteren anlamlı veriler ( $p<0,005$ ) elde edilmiş olsa da 4-5 aylık grup ile karşılaştırıldığında anksiyete benzeri davranışların arttığını gösteren bir sonuç gözlemlenmemiştir. Yani yaşlı fareler genç farelere göre daha fazla anksiyete benzeri davranış sergiler iken orta yaşlı farelere göre daha az anksiyete benzeri davranış sergilemektedir (191).

Daha önceki çalışmalara paralel olarak, çalışmamızdaki veriler göz önüne alındığında, orta-yaşlı sıçanların (4 aylık), genç sıçanlara (1 aylık) göre aydınlık alanlarda geçirdikleri süre ve bu alanlara geçiş sayıları arasında anlamlı bir azalma ( $p<0,040$ ) vardır. Bu veriler neticesinde orta yaşlı sıçan grubunda, anksiyete benzeri davranışların arttığı gösterilmiştir. Önceki çalışmaların tersine, çalışmamızdaki yaşlı sıçanlar (12 aylık) ile diğer gruplar arasında karşılaştırmalar yapıldığında, diğer iki grup ile aralarında anlamlı farklılıklar bulunmamıştır.

Literatürde yapılan bazı çalışmalar incelendiğinde, çalışmamızda olduğu gibi istatistiksel açıdan anlamlı veriler elde edilmemiş olsa da deney sürelerince sıçanların açık

alanlarda geçirdikleri sürelerinin, hesaplanan verilerine ait yüzdelerinin, yaşlı farelerde orta yaşlı farelere göre arttığı gösterilmiştir. Bu yüzdelerdeki artış, anksiyete benzeri davranışlarda azalma olarak yorumlanabilir. Bazı çalışmalar, yaşlı farelerin aydınlık alandaki hareket durumlarının çok daha fazla stres durumu göstergesi olabileceğini, bu davranışların panik durumla ya da plazmadaki yüksek kortikosteron seviyesi ile ilişkilendirilebileceğini söylemiştir (191,192). Bazı çalışmalar ise bu durumu olumsuz duygulara karşı duyarlılığın yaşla birlikte azalabilmesi, depresyona bağlı yaşlı canlılarda endişe duygusunun yerini rahatlık duygusunun alabilmesi, yine artan yaşla birlikte azalmış duygusal tepki artan duygusal kontrol durumu, stresli deneyimlere karşı gelişmiş psikolojik bağışıklanma, yaşlı bireylerin daha az olumsuz duygu deneyimi geliştirmesi ve duyguya özgü otonom sinir sistemi aktivitesinde azalma olması gibi durumlar ile açıklayarak, yaşlılıkta azalan anksiyeteyi açıklamışlardır (192-195). Literatürdeki çalışmalar ve kendi çalışmamızda ki bu bulgular, yeni / stresli bir ortama yanıt olarak anksiyete ve panik benzeri davranışların genç yetişkinlikten orta yaşa kadar yaşla birlikte arttığını göstermektedir.

3-, 11-, 17- ve 22 aylık saf dişi NMRI farelerinin spontan davranışları, sensorimotor refleksleri ve öğrenmelerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada, açık alan aktivitesi, delik tahtası keşfi, ayrıca Y labirentinde ve artı labirentte aktivitenin 11 aylıktan itibaren azaldığı bildirilmiştir. Açık alan testi sonuçları incelendiğinde, 3 ardışık 2 dakikalık periyotta kümülatif skorlar üzerinde gerçekleştirilen, ilk 2 dakika boyunca aktivitede yaşa bağlı istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmemiştir. Ancak 11-, 17 ve 22 aylık gruplar arasında istatistik anlamlılık görülmezken, 11, 17 ve 22 aylık farelerin aktivitesinin 3 aylık farelere kıyasla 4 ve 6 dakika sonra önemli ölçüde azaldığı görülmüştür. Sonuç olarak, NMRI farelerinde yaşlanmanın belirli davranışsal göstergelerinin başlangıcının 9 ila 11 ay arasında olduğu düşünülmektedir. Bunun yanında, yaşlı farelerin davranış değişkenleri arasında benzer derecelerde bozulma göstermediğini ve belirli bir kronolojik yaş için, bozulma derecesinin heterojen olduğu bu çalışmada gösterilmiştir (196). Sıçanlarda yaş ve kaygının davranış, öğrenme ve hafıza üzerindeki etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada ise anksiyete ve öğrenme testlerinden önce ve sonra sıçanların (3 ve 18 aylık deney ve kontrol grubu) lokomotor aktivitesi, keşif aktivitesi ve otonomik fonksiyonları açık alan testi uygulanarak gözlemlenmiştir. Locomotor aktivite, alandaki geçiş sayısı ile

ölçülmüş ve şahlanma sıklığı tüm gruplarda perifer kısımlarda geçilen kare sayısında önemli bir artış olduğunu göstermiştir. Anksiyete görevlerinden sonra açık alan testine yeniden maruz kalmanın etkileri, zamanla tüm gruplar için çizgi geçişlerinde ve şahlanmalarında önemli farklılıklar göstermiştir. Otonom fonksiyonları yansıtan tımar, oturma ve dışkılama sıklığı ve sayısının test döneminde arttığı da belirlenmiştir. Çalışma sonucunda yaşlı sıçanlarda, yükseltilmiş T-labirenti ve kedi kokusunun yarattığı ve 5-hidroksi-indoleasetik asit ve serum kortikosteron ile desteklenen anksiyetenin duygusal ve mekansal öğrenmede güçlük yarattığı ortaya konulmuştur (197). Siwak ve arkadaşlarının (198) köpeklerde motor aktivitenin araştırıldığı bir çalışmada, 9-16 yaş arası 36 yaşlı ve 16 genç köpek araştırmada kullanılmış, genç ve yaşlı köpeklerin lokomotor aktivitesi hem açık alan hem de ev-kafes ortamlarında incelenmiştir. Açık alan hareketi için genç ve yaşlı köpekler arasında önemli bir fark olmadığı ortaya konulmuştur. Köpek açık alan testinde harekette yaşa bağlı önemli bir değişiklik bulunmazken, ev-kafes ortamından aktivite kaydedildiğinde, yaşlı hayvanlar genç köpeklerden önemli ölçüde daha az aktivite göstermiş ve bu etki, ölçümler sabah yerine öğleden sonra alındığında artmıştır. Bu araştırmalar, davranışsal aktivitenin birçok temel faktörün karmaşık bir manifestasyonu olduğunu düşündürmektedir (198). Bunun yanında keşif davranışının, motor aktivite ve duygusallığın yaşla birlikte azaldığını gösteren çalışmaların yanında, cinsiyete aktivite ve duygusallığın değişimini gösteren çalışmalar da yaş ile gözlemlenen değişimleri konfirme etmektedir (199). Genç yetişkin ve orta yaşlı farelerin (2-3-, 4-5-, 6-7- ve 8-12 aylık gruplar) davranışlarının incelendiği bir çalışmada ise Aydınlik/karanlık geçişi, açık alan, yükseltilmiş artı labirent, rotarod, sosyal etkileşim, ön uyarıcı aracılıklı inhibisyon, Porsolt zorla yüzme, kuyruk süspansiyonu, Barnes labirenti ve korku koşullandırma ve sıcak plaka testleri incelenmiş, sıcak plaka dışındaki testlerde tüm yaş grupları arasında davranış açısından anlamlı farklılık tespit edilmiştir. Açık alan testi sonuçları ise, yaşlanmanın lokomotor aktiviteyi azalttığı ve anksiyete benzeri davranışları arttırdığını göstermiştir. Çalışmada özellikle yaşın davranışsal deneyleri tasarlar ve deneysel manipülasyonlar tarafından tetiklenebilecek davranışsal farklılıkları yorumlarken dikkate alınması gereken davranışları etkileyen kritik faktörlerden biri olduğu vurgulanmıştır (191).

Bizim çalışmamızda, orta alanda orta yaşlıların yaşlılara oranları daha az vakit geçirmeleri artı labirent testini desteklemekte, yaşlılıkta orta yaşta artan anksiyetik durum azalmakta ve bireyler daha sakin olmaktadır. Açık alanda mesafe, lokomotor aktiviteyi göstermektedir. Çalışma bulgularımıza göre, gençlere oranla orta yaşlı bireylerin lokomotor aktivitelerinde de bir azalmanın olduğu tespit edilmiştir. Yaşlı ile orta yaşlı bireyler arasında fark bulunmaması da lokomotor aktivitedeki azalmanın orta yaşta başladığına dair bize bilgi vermektedir. Aktivite açısından yaşla birlikte bir değişim görülmezken, mobilitede yaşla birlikte bir azalmanın olduğu da bu çalışmamızda gözlenmiştir. Etrafa bakımadaki azalmanın, yani ortam keşfinin azalmasının ise orta yaşlı bireylerde azalmasının anksiyetenin artışı ile bağlantılı olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca, anksiyete azaldıkça etrafa bakınma yani merak duygusunun yaşlılıkta yine arttığı gözlemlenmiştir.

Sıçan ve farelerde gerçekleştirilen birçok depresyon düzeyi belirleme çalışmasında, genç, orta-yaşlı ve yaşlı hayvanlar arasında gerçekleştirilen zorunlu yüzme testinde, hayvanların su üzerinde hareketsiz kaldıkları süreler arasında anlamlı bir farklılık olmadığı gösterilmiştir (191). Shoji ve arkadaşlarının (191) bu konu üzerine yaptığı çalışma, bu gözlemin dışında olmasına rağmen, daha sonra yaptıkları benzer bir çalışma ile bizim çalışmamızı da destekleyen, orta-yaşlı sıçanlarda ve yaşlı sıçanlarda hareketsizlik sürelerinde anlamlı artışlar gözlemlenen verileri, elde etmişlerdir (201).

Yaşlanmayla beraber en gözle görülebilir değişim, canlılardaki motor koordinasyon ve beceri durumlarındaki fonksiyonel azalmadır (202). Literatürde yer alan çalışmalara bakıldığında, yaşlanma ile gittikçe azalan motor koordinasyon becerileri gözlemlenmiştir (203-205). Çalışmamızda da yer alan rotarod testi sonuçlarına bakıldığında, yaşlılığa bağlı olarak farklı yaş grupları arasındaki becerilerde azalma olduğu, istatistiksel açıdan ise genç ve yaşlı fare grupları karşılaştırıldığında aralarında motor koordinasyon becerilerinde anlamlı bir azalma olduğu söylenilebilmektedir.

Çalışmamızda öğrenme ve bellek düzeylerini incelemek için uyguladığımız pasif sakınma testi sonuçları göz önüne alındığında, üç grubun birbiri arasında ve ikili grupların birbirleri arasında öğrenme ve bellek düzeylerinde yaş ile ilişkilendirilebilecek bir değişime rastlanmamıştır. Farklı sıçan gruplarında yapılan

çalışmalar, genç ve yaşlı gruplar arasında, canlıların karanlık alanda maruz kaldıkları şoku unutup ertesini gün yeniden düzeneğe bırakıldıklarında, karanlık alana geçiş sürelerinin genç gruplara göre anlamlı derecede hızlı olduğunu, artan yaş ile canlılarda hafıza ve öğrenme yetisinin azaldığını söylemiştir (206,207).

Hayvanların yaşı arttıkça MWM performansının düştüğü iyi bilinmektedir (208,209). Bu düşüşün en azından bir kısmı, yüzme becerilerindeki, hareket kabiliyetindeki ve keşiflerdeki yaşa bağlı değişikliklerden kaynaklanıyor olabileceği iddia edilmiş ve aynı zamanda hayvanlarda yapılan birçok çalışma mekânsal öğrenmede; yetersiz beslenme, stres ve yaşlılığının olumsuz etkileri olduğunu göstermiştir (209).

Van ve arkadaşlarının (210) yaptığı çalışmada, MWM testinde en yaşlı sıçan grubunun tüm yaş gruplarına göre platforma ulaşma sürelerinde, platforma yüzülen mesafelerinde, anlamlı bir artış ve yüzme hızlarında anlamlı bir azalma gözlemlenmiştir. Platformda hafızayı değerlendirmek amacıyla, yaşlı grupların tüm gruplara oranla belirlenen çeyrekte, geçirdikleri süre daha az olarak belirlenmiştir. Literatürdeki bu veriler, yaşlanma ile öğrenme ve bellek yetilerinde gerileme olduğunu söylemektedir (210). Hafıza, duygulanım, konumlama ve yön bulma da önemli rolü olan hipokampus, özellikle yeni bilgilerin depolanma kapasitesi olarak ifade edilen öğrenmeye bağlı kısa süreli hafıza ile ilişkilendirilmiştir (211). Yapılan MR çalışmaları yaşlanma ile canlılarda hipokampus ve amigdalada küçülmeler olduğunu göstermiştir (152,153).

Farklı yaş grubundaki sıçanlarda, hipokampüse bağlı öğrenme ve bellek düzeylerinin belirleneceği Morris Su tankı testinde, testin tekrarlandığı günler arasında, platforma ulaşma süresinde anlamlı bir fark var olmakla beraber, yaşlı sıçanların platforma ulaşma süreleri göze alındığında, her ayrı gün içinde genç sıçanlara göre sürelerde anlamlı bir artış izlenmiştir. Test düzeninde platforma yüzülen mesafede de günler arasında anlamlı bir fark bulunmasıyla beraber, platforma yüzülen mesafede birinci günde yaşlı sıçanların genç sıçanlara göre mesafelerde anlamlı bir artış izlenmiştir. Gençlere oranla yaşlılarda görülen öğrenme gecikmesi, üçüncü günde de devam etmiştir. Sürelerdeki bu artış yaşlı sıçanların, genç sıçanlara oranla öğrenme becerisinin daha az olduğu, öğrenme gecikmesinin yaşlanmayla arttığı kanısını

desteklemektedir. Bu sonuçlar, öğrenme ve hafıza becerilerinin yaşlanma ile azalması konusunda literatürü desteklemektedir.

Son olarak çalışılan test düzeneğinde, hafızanın keskinliğinin belirlenmesinde daha etkili olacağını düşündüğümüz A40 bölgesinde, orta yaşlı grubun genç gruba göre daha az vakit geçirmesi, hafızanın orta yaştan itibaren azalmaya başladığı düşüncesini desteklemektedir.

Bu davranışsal değişimlerin altında yatan moleküler mekanizmalar araştırıldığında ilk etapta öğrenme ve hafıza patolojisinde sıklıkla bakılan proteinlerin bu değişimleri tetikleyip tetiklemediğine bakıldı. Bu nedenle ilk olarak  $\beta$ -sekretaz (BACE) proteinin ve Tau proteinin öğrenmedeki ve hafızadaki bozulmalardan sorumlu olup olmadığı araştırıldı. Bu protein, Amiloidojenik  $\alpha\beta$  üretiminde rol oynayan enzimlerden biridir. Tau proteini ise akson fizyolojisinin sürdürülmesi için gerekli olmakla birlikte, enflamatuvar süreç nedeniyle hiper-fosforile hale gelmekte ve nörofibriler yumaklar oluşturmakta, bu da nöronal süreçlerin yapısını bozarak önce sinapsların bozulmasına ve dolayısıyla nöron ölümüne yol açmaktadır (212).  $\beta$ - ve  $\alpha$ -sekretazlar (BACE ve TACE) ile temsil edilen amiloidojenik ve non-amiloidojenik yolların amiloid prekürsör proteinin (APP) bölünmesinden sorumlu olduğu bilinmektedir. Yaşlanma süreci ve egzersizin kortikal ve hipokampal BACE ve TACE aktiviteleri ve caydırıcı bellek performansı üzerindeki etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, genç yetişkin ve yaşlı wistar sıçanları kullanılmış, sıçanlar bir egzersiz protokolüne (2 hafta süreyle 20 dakika / gün) ve inhibe edici kaçınma görevine tabi tutulmuştur. Çalışma sonucunda egzersiz ve yaşlanma sürecinin hipokampal BACE aktivitesinde değişikliklere neden olmadığı gözlenirken, kortikal BACE aktivitesinin 26 aylık sıçanlarda öğleden sonra diğer testlere göre anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bunların yanında, yaşlı beyinde TACE ve BACE aktiviteleri arasında BACE aktivitesi lehine bir dengesizlik gözlenmiştir (213). Normal yaşlanmanın yanı sıra, BACE aktivitesinin Alzheimer hastalarında kontrollere göre daha yüksek olduğu gösterilmiş ve ayrıca transgenik Alzheimer farelerinde BACE aktivitesinde yaşa bağlı bir artış fark edilmiştir (21,214). Yaşlı beynin Alzheimer patogenezinde etkileri olabilecek değişen amiloid beta proteini (Ab42) metabolizmasını araştırmak için bir araç olarak kullanılabileceği bildirilmiştir. Sinha ve arkadaşlarının (215) genç (4-6 aylık) ve yaşlı (22-24 aylık) sıçanlarla yürüttüğü bir

çalışmada, genç sıçanlara (4-6 ay) kıyasla yaşlı sıçanların beyin korteksinde BACE aktivitesinin yükseldiği (yaklaşık %55) bildirilmiştir ( $p < 0.05$ ) (215). Tau, tübülün mikrotübüllere birleştirilmesi ve aksonların yapısal bütünlüğünün korunması için gerekli olan mikrotübül ile ilişkili önemli bir proteindir. Tau fosforilasyonu, tau'nun mikrotübüllere bağlanmasını kontrol etmede kritiktir olan normal bir metabolik süreçtir ve beyinde sürekli olarak devam etmektedir. Tau hem yaşlanmada hem de nörodejeneratif bir hastalıkta hiperfosforile olarak dokularda saptanabilmekte ve fibriller birikintiler olarak toplanabilmektedir (216). Head ve arkadaşlarının (217) yürüttüğü bir çalışmada, genç (<4 yaş) ve yaşlı (16-21 yaş) kedilerin beyinlerinde A $\beta$  ve tau seviyeleri ölçülmüştür. Western blot analizi ile pTau tespitinde, tau'nun yaşlı kedide hiperfosforile olduğunu ve AH beyininde bulunan aynı epitoplardan çoğunu içerdiğini göstermiştir. Ayrıca çalışmada yaşlı kedi beyininin insan beynine kıyasla önemli morfolojik ve biyokimyasal farklılıklara sahip Alzheimer ile ilişkili lezyonlar geliştirdiği belirtilmiştir (217). Klinik çalışmalar, AH beyin omurilik sıvısı (BOS) biyobelirteçleri olan Amiloid-beta (A $\beta$ 42), toplam tau (T-tau) ve pTau'nun AH patofizyolojisinin temel unsurlarını yansıttığını desteklemekte, pTau seviyesinin AH'li serebrospinal sıvıda arttığı ve hastalığın progresyonu ile ilişkisi ortaya konmuştur (218). Bizim araştırma sonuçlarımız neticesinde ise BACE ve pTau proteini açısından herhangi bir farklılık tespit edilmemiştir. Bu durum, patolojinin gelişmediğine ve öğrenme ve hafızadaki gerilemenin patolojik boyutta olmadığına işaret etmektedir.

Plazma ve beyin omurilik sıvısındaki (BOS) normal beyin gelişimi için gerekli olan tiroksin ve retinol ana taşıyıcısı olarak tanımlanan transtiretin (TTR), (Prealbumin), Alzheimer beta peptidini bağlayıp, beta peptidlerin temizlenmesini gerçekleştirerek nörodejenerasyona karşı koruma sağlayabilmektedir (219-221).

Yapılan çalışmalarda, psikiyatrik bozukluğu olan hastaların BOS'unda değişen TTR seviyeleri tanımlanmış, değişen bu TTR seviyeleri depresyon ve bir dizi nöronal disfonksiyonla ilişkilendirilmiştir (222). CNS'de azalan TTR proteini hem insan hem de hayvan modellerinde Alzheimer hastalığı ile ilişkilendirilmiş ancak hastalıkla ilişkili TTR mutasyonları tanımlanmamıştır (219). TTR proteinin CNS'de (Santral Sinir Sistemi) fonksiyonu hala net bir şekilde açıklanamamıştır.

Çalışmamızda Prealbumin seviyelerinde genç sıçanlara oranla orta-yaşlı ve yaşlı sıçanlarda anlamlı azalmaların olduğu gözlenmiştir. Yaşla birlikte düşen prealbumin seviyesinin ilerleyen yaşlarda AH benzeri nörodejenerasyonun gelişimine katkıda bulunabileceği düşünülmektedir.

Sousa ve arkadaşları (219) TTR alleli bulunmayan ve wild type farelerde yapmış oldukları davranış çalışmasında, TTR alleli bulunmayan farelerde, wild-type farelere göre zorunlu yüzme testinde azalmış hareketsizlik ve açık alan testinde artan keşif aktivitesi sergilediğini göstermiştir. Meydana gelen her iki değişikliğin, stresle beraber artan davranış tepkiselliği ya da davranış engellenmesi ile açıklandığını ifade etmişlerdir ve TTR allel ifadesi bulunmayan farelerde depresyona yatkınlığında fazla olduğunu söylemişlerdir. (191,192, 219). Bu durum bizim çalışmamızda da depresif duygudurumunun prealbumin seviyesindeki azalma ile bağlantılı olabileceği kanısını oluşturmuştur.

Dogguital ve arkadaşları (223) çalışmalarında hipokampuse bağlı hafıza sorunu yaşayan farelerde hafızasal problemi olmayan farelere göre TTR proteinin daha düşük olduğunu söylemişlerdir. TTR proteinindeki bu değişimler, bu proteinin hem yaşlanmayla birlikte artan depresyonda hem de öğrenme ve bellek bozukluklarında yer alabileceğini göstermektedir.

Stein ve arkadaşlarının (221) Amiloid precursor proteininin (APP) TTR ile ilişkisini anlamak için gerçekleştirdikleri bir transgenik fare çalışmasında, APP<sup>Sw</sup> transgenik farelerin hipokampuslerinde TTR mRNA'sının hipokampusta 29,5 kat ve serebellumda 3,2 kat arttığını gözlemlenmişlerdir. Ayrıca yapılan immunohistokimyasal incelemeler ile hipokampüste belirgin şekilde artan TTR proteinine rastlamışlardır. Hastalık bulunmayan farklı yaşlardaki insanlar ile AH'li uygun yaşlar karşılaştırıldıklarında TTR proteinin daha az miktarda olduğu söylenmiştir. Bu sonuçlar, TTR proteinin Alzheimer Hastalığında amiloid beta koruyucu bir rol üstlendiğini düşündürmektedir. Araştırmacılar, APP'yi aşırı ifade eden farelerde, fareler 12 aylık olana kadar fazla amiloid beta plaklarının görülmemesinin nedeninin TTR proteininin yeterliliği olduğunu öne sürmüşlerdir ve artan yaş ile TTR azaldığı ve bu nedenle 12 aydan sonra plakların görünümünün başladığını ifade etmişlerdir (221).

Hipokampus, doğal yaşlanma ve nörodejeneratif hastalıkların neden olduğu işlevsel bozukluğa duyarlılığı nedeniyle Klotho proteinin fonksiyonunu anlamak, biliş ve hafıza fonksiyonunu geliştirme potansiyelini belirlemek için önemli bir bölgedir (224). Hipokampüste, Klotho proteinini azalmasıyla oksidatif stresin, apoptoz belirtilerinin ve sitokastik nöron ölümünün arttığı görülmüştür (17,225).

Literatürdeki çalışmalar, Klotho'nun yaşlanma karşıtı işlevinin, insan yaşlanmasında ve yaşa bağlı hastalıklarda önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Klotho protein eksikliği, kanser, kronik böbrek hastalığı, ataksi, diyabet ve cilt atrofisi gibi yaşlanmayla ilgili insan hastalıkları ile güçlü bir şekilde ilişkilidir (226).

Hipokampüse bağlı öğrenme ve bellek performanslarını inceleyen çalışmalar, Klotho proteinin eksikliğinde, gelişimin 6. ve 7. haftaları arasında bilişsel bozulmanın hızlı bir şekilde başladığını (225), 7. hafta ile terminal döneme girildiğini ve 8 ile 12 haftalar arasında canlıların öldüğünü göstermiştir (227). Klotho protein eksikliğinde gözlenen bu sonuçların herhangi bir periferik sorunla alakası olup olmadığı netleşmemek ile beraber Klotho'nun fazla ifade edildiği beyinlerde, canlı ömrünü uzattığı ve hipokampüse bağlı bilişsel hafızayı yaşa bağlı gerilemelerden koruduğu öne sürülmüştür (227).

Gwendalyn ve arkadaşlarının (228), normal yaşlanma sürecinde Rhesus maymunları ve kemirgenler üzerinde yaptıkları çalışmada, hayvanların ak maddelerinde, Klotho'nun hem mRNA hem de protein düzeylerinde yaşlı canlılarda, genç canlılara oranla %20 azalma gözlemlenmiştir. Yaşlı canlılarda artan metilasyon ile Klotho geninin downregule edildiği gösterilmiştir (228).

Çalışmamızda gençlere oranla Klotho protein miktarında hem orta yaşlı grupta hem de yaşlı grupta anlamlı bir azalma tespit edilmiştir. Bu veriler göz önüne alındığında, literatür eşliğinde yaşlanma ile beraber Klotho protein seviyesinde azalma olduğunu söylemek mümkündür.

## SONUÇLAR

Sonuç olarak, sağlıkta ilerleyen gelişimler nedeniyle yaşam süreleri uzamakta ve “sağlıklı yaşlanma” kavramının önemi artmaktadır. Bildiğimiz üzere yaşlandıkça hastalıklara yakalanma olasılığımız yükselmekte ve yaşlılığa has birtakım hastalıklar ortaya çıkmaktadır. Sağlıklı yaşlanma kavramı tam da bu sırada devreye girmekte ve hastalık riskinin nasıl düşürüleceğine dair çalışmalar gündeme gelmektedir. Bu süreçte, yaşlanma ile değişen parametrelerin iyi belirlenmesi ve bu parametrelerden özellikle yaşla birlikte ortaya çıkan kognitif bozuklukların temelinde yatanların tespit edilmesi büyük önem arz etmektedir.

Biz de bu çalışmada yaşla birlikte oluşan kognitif bozuklukların nasıl bir süreç izlediğini davranışsal birtakım deneylerle tespit ettik ve bunların altında yatabilecek birtakım moleküler mekanizmaları araştırdık. Bu çalışmanın sonunda ise özellikle orta yaşta anksiyetenin arttığını yaş ilerledikçe anksiyetenin yanında depresyon parametrelerinde de bir artışın olduğunu tespit edildi. Orta yaşta artan bu anksiyetik sürecin aynı zamanda lokomotor aktivitede de birtakım azalmalara sebep olduğu ve bu nedenle sıçanların merak duygularını ve hareketliliklerini kaybettiği görülmektedir. Orta yaşta görülen mobilitadaki azalmanın yaşlılarda motor koordinasyon bozukluğu şeklinde seyrettiği ayrıca artan anksiyetenin ve depresyonun yaşlılarda öğrenmede bozulmalara sebep olabileceğini göstermektedir.

Bu sürecin işleyişindeki moleküler mekanizma açısından bakılan parametrelerde, özellikle yaşla birlikte Klotho ve Prealbuminin azalması, doğal yaşlanma sürecinde patolojilerin çıkması konusunda fikir vermektedir. Bu iki protein beyni nörodejenerasyona karşı korumaktadır. Prealbuminin duygudurum ile olan ilişkisi anksiyetik durumlarda bu proteinin daha da azalmasına bu nedenle nörodejenerasyonun artıp ilerleyen yaşlarda nörodejeneratif hastalıklara yakalanma riskine işaret etmektedir. Bununla paralel olarak Klotho proteininin miktarındaki azalma ile koruyuculuğunu yitirip yaşla birlikte beyinde oksidatif stresin artmasıyla nöron ölümlerine ve sonuçta yine nörodejeneratif hastalıkların gelişmesine işaret etmektedir.

Sonuç olarak diyebiliriz ki; orta yaşta görülen anksiyete beyinde koruyucu görev yapan birtakım proteinlerin azalmasını tetikleyebilmekte, bu da ilerleyen yaşlarda nörodejeneratif hastalıkların temelinde yatan kognitif bozukluklara sebep

olabilmektedir. Bu nedenle, daha sağlıklı ve kaliteli bir yaşlılık için daha genç yaşlarda beynimizin korunması açısından stresten ve anksiyeteden uzak durulması ve daha pozitif bir hayat felsefesine sahip olunması gerekmektedir.



## KAYNAKLAR

1. Panda, S.S., Girgis, A.S., Prakash, A., Khanna, L., Khanna, P., Shalaby, E.M. et al. (2018). Protective effects of Aporosaoctandra bark extract against D-galactoseinduced cognitive impairment and oxidative stress in mice, *Heliyon*, 4, e00951.
2. Davidovic, M., Sevo, G., Svorcan, P., Milosevic, D.P., Despotovic, N. and Erceg, P. (2010). Old age as a privilege of the “selfish ones”. *Aging and disease*, 1, 139.
3. Jin, K. (2010). Modern biological theories of aging. *Aging and disease*, 1(2), 72.
4. Martel, G., Dutar, P., Epelbaum, J. and Viollet, C. (2012). Somatostatinergic systems: an update on brain functions in normal and pathological aging. *Frontiers in endocrinology*, 3, 154.
5. Ruan, Q., D’Onofrio, G., Sancarolo, D., Greco, A., Lozupone, M., Seripa, D. et al. (2017). Emerging biomarkers and screening for cognitive frailty. *Aging clinical and experimental research*, 29, 1075-1086.
6. Vedovelli, K., Giacobbo, B.L., Corrêa, M.S., Wieck, A., de Lima Argimon, I.I., and Bromberg, E. (2017). Multimodal physical activity increases brain-derived neurotrophic factor levels and improves cognition in institutionalized older women. *Geroscience*, 39, 407-417.
7. Casad RC (1990) Studies with somatostatin and aging. *Dissertation*, Jr University of Michigan
8. Tenk, J., Rostás, I., Füredi, N., Mikó, A., Solymár, M., Soós, S. et al. (2017). Age-related changes in central effects of corticotropin-releasing factor (CRF) suggest a role for this mediator in aging anorexia and cachexia. *Geroscience*, 39, 61-72.
9. Ashpole, N.M., Logan, S., Yabluchanskiy, A., Mitschelen, M.C., Yan, H., Farley, J.A. et al. (2017). IGF-1 has sexually dimorphic, pleiotropic, and time-dependent effects on healthspan, pathology, and lifespan. *Geroscience*, 39, 129-145.
10. Fang, Y., McFadden, S., Darcy, J., Hill, C.M., Huber, J.A., Verhulst, S. et al. (2017). Differential effects of early-life nutrient restriction in long-lived GHR-KO and normal mice. *Geroscience*, 39, 347-356.
11. Reglodi, D., Atlasz, T., Szabo, E., Jungling, A., Tamas, A., Juhasz, T. et al. (2018). PACAP deficiency as a model of aging. *Geroscience* 40, 437–452. Accessed 11.11.2020, <https://link.springer.com/article/10.1007/s11357-018-0045-8>.
12. Ungvari, Z., Valcarcel-Ares, M.N., Tarantini, S., Yabluchanskiy, A., Fülöp, G.A., Kiss, T. et al. (2017). Connective tissue growth factor (CTGF) in age-related vascular pathologies. *Geroscience*, 39, 491-498.
13. Mattson, M.P., Chan, S.L., and Duan, W. (2002). Modification of brain aging and neurodegenerative disorders by genes, diet, and behavior. *Physiological reviews*, 82, 637-672.
14. Burke, S.N., and Barnes, C.A. (2006). Neural plasticity in the ageing brain. *Nature reviews neuroscience*, 7, 30-40.
15. Bishop, N.A., Lu, T., and Yankner, B.A. (2010). Neural mechanisms of ageing and cognitive decline. *Nature*, 464(7288), 529-535.
16. Cararo-Lopes, M.M., Mazucanti, C.H.Y., Scavone, C., Kawamoto, E.M., and Berwick, D.C. (2017). The relevance of  $\alpha$ -KLOTHO to the central nervous system: some key questions. *Ageing Research Reviews*, 36, 137-148.
17. Shiozaki, M., Yoshimura, K., Shibata, M., Koike, M., Matsuura, N., Uchiyama, Y. et al. (2008). Morphological and biochemical signs of age-related neurodegenerative changes in klotho mutant mice. *Neuroscience*, 152(4), 924-941.
18. Brouillette, J. and Quirion, R. (2008). Transthyretin: a key gene involved in the maintenance of memory capacities during aging. *Neurobiology of aging*, 29, 1721-1732.
19. Sharma, M., Khan, S., Rahman, S. And Singh, L.R. (2019). The extracellular protein, transthyretin is an oxidative stress biomarker. *Frontiers in physiology*, 10, 5.
20. Bloch, L., Sineshchekova, O., Reichenbach, D., Reiss, K., Saftig, P., Kuro-o, M. et al. (2009). Klotho is a substrate for  $\alpha$ -,  $\beta$ -and  $\gamma$ -secretase. *FEBS letters*, 583(19), 3221-3224.
21. Fukumoto, H., Rosene, D.L., Moss, M.B., Raju, S., Hyman, B.T. and Irizarry, M.C. (2004).  $\beta$ -secretase activity increases with aging in human, monkey, and mouse brain. *The American journal of pathology*, 164(2), 719-725.
22. Köpke, E., Tung, Y. C., Shaikh, S., Alonso, A. C., Iqbal, K. and Grundke-Iqbal, I. (1993). Microtubule-associated protein tau. Abnormal phosphorylation of a non-paired helical

- filament pool in Alzheimer disease. *The Journal of biological chemistry*, 268(32), 24374–24384.
23. Darusman, H.S., Gjedde, A., Sajuthi, D., Schapiro, S.J., Kalliokoski, O., Kristianingrum, Y.P. et al. (2014). Amyloid Beta1–42 and the Phosphorylated Tau Threonine 231 in Brains of Aged Cynomolgus Monkeys (*Macaca fascicularis*). *Frontiers in aging neuroscience*, 6, 313.
  24. Koldaş, Z.L. (2017). Yaşlılık ve kardiyovasküler yaşlanma nedir? *Türk Kardiyoloji Dernek Arsivi*, 45(5), 1-4.
  25. Hamczyk, M.R., Nevado, R.M., Baretino, A., Fuster, V. and Andrés, V. (2020). Biological versus chronological aging: JACC focus seminar. *Journal of the American College of Cardiology*, 75(8), 919-930.
  26. Burton, D.G.A. (2009). Cellular senescence, ageing and disease. *Age*, 31(1), 1-9.
  27. Jin, K. (2010). Modern biological theories of aging. *Aging and disease*, 1(2), 72. Accessed 11.11.2020, <http://www.aginganddisease.org/EN/Y2010/V1/I2/72>.
  28. Goldsmith, T.C. (2014). Modern evolutionary mechanics theories and resolving the programmed/non-programmed aging controversy. *Biochemistry (Moscow)*, 79(10), 1049-1055.
  29. Holliday, R. (1997). Understanding ageing. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 352(1363), 1793-1797.
  30. Chung, H.Y., Sung, B., Jung, K. J., Zou, Y. and Yu, B.P. (2006). The molecular inflammatory process in aging. *Antioxidants & redox signaling*, 8(3-4), 572-581.
  31. Baud, V. and Karin, M. (2001). Signal transduction by tumor necrosis factor and its relatives. *Trends in cell biology*, 11(9), 372-377.
  32. Sun, Y.I. and Oberley, L.W. (1996). Redox regulation of transcriptional activators. *Free Radical Biology and Medicine*, 21(3), 335-348.
  33. Linnane, A.W., Kios, M. and Vitetta, L. (2007). The essential requirement for superoxide radical and nitric oxide formation for normal physiological function and healthy aging. *Mitochondrion*, 7(1-2), 1-5.
  34. St-Pierre, J., Buckingham, J.A., Roebuck, S.J. and Brand, M.D. (2002). Topology of superoxide production from different sites in the mitochondrial electron transport chain. *Journal of Biological Chemistry*, 277(47), 44784-44790.
  35. Buffenstein, R., Edrey, Y.H., Yang, T. and Mele, J. (2008). The oxidative stress theory of aging: embattled or invincible? Insights from non-traditional model organisms. *Age*, 30(2-3), 99-109.
  36. Beckman, K.B. and Ames, B. N. (1998). The free radical theory of aging matures. *Physiological reviews*, 78, 547–581.
  37. Dröge, W. and Schipper, H.M. (2007). Oxidative stress and aberrant signaling in aging and cognitive decline. *Aging cell*, 6(3), 361-370.
  38. Sohal, R.S., Mockett, R.J. and Orr, W.C. (2002). Mechanisms of aging: an appraisal of the oxidative stress hypothesis. *Free Radical Biology and Medicine*, 33(5), 575-586.
  39. Kregel, K.C. and Zhang, H.J. (2007). An integrated view of oxidative stress in aging: basic mechanisms, functional effects, and pathological considerations. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 292(1), R18-R36.
  40. Muller, F.L., Lustgarten, M.S., Jang, Y., Richardson, A. and Van Remmen, H. (2007). Trends in oxidative aging theories. *Free Radical Biology and Medicine*, 43(4), 477-503.
  41. Sanz, A., Pamplona, R. and Barja, G. (2006). Is the mitochondrial free radical theory of aging intact?. *Antioxidants & redox signaling*, 8(3-4), 582-599.
  42. Trifunovic, A., Wredenberg, A., Falkenberg, M., Spelbrink, J.N., Rovio, A.T., Bruder, C.E. et al. (2004). Premature ageing in mice expressing defective mitochondrial DNA polymerase. *Nature*, 429(6990), 417-423.
  43. Kujoth, G.C., Hiona, A., Pugh, T.D., Someya, S., Panzer, K., Wohlgemuth, S.E. et al. (2005). Mitochondrial DNA mutations, oxidative stress, and apoptosis in mammalian aging. *Science*, 309(5733), 481-484.
  44. Schriner, S.E., Linford, N.J., Martin, G.M., Treuting, P., Ogburn, C.E., Emond, M. et al. (2005). Extension of murine life span by overexpression of catalase targeted to mitochondria. *Science*, 308(5730), 1909-1911.
  45. Hansen, A.B., Griner, N.B., Anderson, J.P., Kujoth, G.C., Prolla, T.A., Loeb, L.A. et al. (2006). Mitochondrial DNA integrity is not dependent on DNA polymerase- $\beta$  activity. *DNA repair*, 5(1), 71-79.

46. Trifunovic, A., Hansson, A., Wredenberg, A., Rovio, A.T., Dufour, E., Khvorostov, I. et al. (2005). Somatic mtDNA mutations cause aging phenotypes without affecting reactive oxygen species production. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(50), 17993-17998.
47. Loeb, L.A., Wallace, D.C. and Martin, G.M. (2005). The mitochondrial theory of aging and its relationship to reactive oxygen species damage and somatic mtDNA mutations. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(52), 18769-18770.
48. Wallace, D.C. (2005). A mitochondrial paradigm of metabolic and degenerative diseases, aging, and cancer: a dawn for evolutionary medicine. *Annual Review of Genetics*, 39, 359-407.
49. Park, D.C., Yeo, S.G. (2013) Aging. *Korean Journal of Audiology*, 17(2), 39-44.
50. Wong, J.M. and Collins, K. (2003). Telomere maintenance and disease. *The Lancet*, 362(9388), 983-988.
51. Pawelec, G., McElhaney, J.E., Aiello, A. E. and Derhovanessian, E. (2012). The impact of CMV infection on survival in older humans. *Current Opinion in Immunology*, 24(4), 507-511.
52. Ferrando-Martínez, S., Romero-Sánchez, M.C., Solana, R., Delgado, J., de la Rosa, R., Muñoz-Fernández, M. Á. et al. (2013). Thymic function failure and C-reactive protein levels are independent predictors of all-cause mortality in healthy elderly humans. *Age*, 35(1), 251-259.
53. Alonso-Fernández, P. and De la Fuente, M. (2011). Role of the immune system in aging and longevity. *Current Aging Science*, 4(2), 78-100.
54. Goto, M. (2008). Inflammaging (inflammation+ aging): a driving force for human aging based on an evolutionarily antagonistic pleiotropy theory? *Bioscience Trends*, 2(6).
55. Fulop, T., Witkowski, J.M., Pawelec, G., Alan, C. and Larbi, A. (2014). On the immunological theory of aging. *Aging*, 39, 163-176.
56. Oliveira, B.F., Nogueira-Machado, J.A. and Chaves, M.M. (2010). The role of oxidative stress in the aging process. *The Scientific World Journal*, 10, 1121-1128.
57. De la Fuente, M., Cruces, J., Hernandez, O. and Ortega, E. (2011). Strategies to improve the functions and redox state of the immune system in aged subjects. *Current Pharmaceutical Design*, 17(36), 3966-3993.
58. Sattler, F.R. (2013). Growth hormone in the aging male. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, 27(4), 541-555.
59. Anawalt, B.D. and Merriam, G.R. (2001). Neuroendocrine aging in men: andropause and somatopause. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, 30(3), 647-669.
60. Hersch, E.C. and Merriam, G.R. (2008). Growth hormone (GH)-releasing hormone and GH secretagogues in normal aging: Fountain of Youth or Pool of Tantalus?. *Clinical Interventions in Aging*, 3(1), 121.
61. Maheshwari, H.I.R.A.L.A.L., Sharma, L. and Baumann, G.E.R.H.A.R.D. (1996). Decline of plasma growth hormone binding protein in old age. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 81(3), 995-997.
62. Moller, J., Jorgensen, J.O., Lauersen, T., Frystyk, J., Næraa, R.W., Osrskov, H. and Christiansen, J.S. (1993). Growth hormone dose regimens in adult GH deficiency: effects on biochemical growth markers and metabolic parameters. *Clinical Endocrinology*, 39(4), 403-408.
63. Veldhuis, J.D. and Bowers, C.Y. (2003). Human GH pulsatility: an ensemble property regulated by age and gender. *Journal of Endocrinological Investigation*, 26(9), 799-813.
64. Chen, J.A., Splenser, A., Guillory, B., Luo, J., Mendiratta, M., Belinova, B. et al. (2015). Ghrelin prevents tumour-and cisplatin-induced muscle wasting: characterization of multiple mechanisms involved. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*, 6(2), 132-143.
65. Di Francesco, V., Fantin, F., Residori, L., Bissoli, L., Micciolo, R., Zivelonghi, A. et al. (2008). Effect of age on the dynamics of acylated ghrelin in fasting conditions and in response to a meal. *Journal of the American Geriatrics Society*, 56(7), 1369-1370.
66. Broglio, F., Benso, A., Castiglioni, C., Gottero, C., Prodam, F., Destefanis, S. et al. (2003). The endocrine response to ghrelin as a function of gender in humans in young and elderly subjects. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 88(4), 1537-1542.
67. Chapman, I.M., Hartman, M.L., Pezzoli, S.S., Harrell Jr, F.E., Hintz, R.L., Alberti, K.G.M.M. et al. (1997). Effect of aging on the sensitivity of growth hormone secretion to insulin-like growth factor-I negative feedback. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 82(9), 2996-3004.
68. Russell-Aulet, M., Jaffe, C.A., DeMott-Friberg, R. and Barkan, A.L. (1999). In vivo semiquantification of hypothalamic growth hormone-releasing hormone (GHRH) output in

- humans: evidence for relative GHRH deficiency in aging. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 84(10), 3490-3497.
69. Ghigo, E., Arvat, E., Giordano, R., Broglio, F., Gianotti, L., Maccario, M. et al. (2001). Biologic activities of growth hormone secretagogues in humans. *Endocrine*, 14(1), 87-93.
  70. Garcia, J.M., Biller, B.M., Korbonits, M., Popovic, V., Luger, A., Strasburger, C. J. et al. (2018). Macimorelin as a diagnostic test for adult GH deficiency. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 103(8), 3083-3093.
  71. Perls, T.T., Reisman, N.R. and Olshansky, S.J. (2005). Provision or distribution of growth hormone for “antiaging”: clinical and legal issues. *The Journal of the American Medical Association*, 294(16), 2086-2090.
  72. Sonksen, P. (2013). Idiopathic growth hormone deficiency in adults, Ben Johnson and the somatopause. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 98 (6), 2270.
  73. Sidman, M. (1990). Tactics of scientific research: Evaluating experimental data in psychology: Reply. *The Behavior Analyst*, 13,187-197.
  74. Liu Z, Chen X, Gill TM, Ma C, Crimmins EM, et al. (2019) Associations of genetics, behaviors, and life course circumstances with a novel aging and healthspan measure: Evidence from the Health and Retirement Study. *PLOS Medicine* 16(6): e1002827
  75. Kausler, D.H. (1982). *Experimental Psychology and Human Aging*. New York: Wiley.
  76. Derenne, A. and Baron, A. (2002). Behavior analysis and the study of human aging. *The Behavior Analyst*, 25(2), 151-160.
  77. Rowe, J.W. and Kahn, R. (1998). *Successful Aging*. New York: Pantheon Books.
  78. Lenze, E.J., Mulsant, B.H., Shear, M.K., Alexopoulos, G.S., Frank, E. and Reynolds, C.F. (2001). Comorbidity of depression and anxiety disorders in later life. *Depression and Anxiety*, 14(2), 86-93.
  79. Wetherell, J.L., Gatz, M. and Craske, M.G. (2003). Treatment of generalized anxiety disorder in older adults. *Journal of Consulting and Clinical Psychology*, 71(1), 31.
  80. Hasin, D.S., Goodwin, R.D., Stinson, F.S. and Grant, B.F. (2005). Epidemiology of major depressive disorder: results from the National Epidemiologic Survey on Alcoholism and Related Conditions. *Archives of General Psychiatry*, 62(10), 1097-1106.
  81. Djernes, J.K. (2006). Prevalence and predictors of depression in populations of elderly: a review. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 113(5), 372-387.
  82. Lenze, E.J., Mulsant, B.H., Shear, M.K., Schulberg, H.C., Dew, M.A., Begley, A. E. et al. (2000). Comorbid anxiety disorders in depressed elderly patients. *American Journal of Psychiatry*, 157(5), 722-728.
  83. Fiske, A., Wetherell, J.L. and Gatz, M. (2009). Depression in older adults. *Annual Review of Clinical Psychology*, 5, 363-389.
  84. Gallo, J.J., Rabins, P.V. and Anthony, J.C. (1999). Sadness in older persons: 13-year follow-up of a community sample in Baltimore, Maryland. *Psychological Medicine*, 29(2), 341-350.
  85. Lindesay, J., Baillon, S., Brugha, T.S., Dennis, M., Stewart, R., Araya, R. and Meltzer, H. (2006). Worry content across the lifespan: An analysis of 16-74 year old participants in the British National Survey of Psychiatric Morbidity 2000. *International Psychogeriatrics*, 36, 1625–1633.
  86. Steffens, D.C., Otey, E., Alexopoulos, G.S., Butters, M.A., Cuthbert, B., Ganguli, M. et al. (2006). Perspectives on depression, mild cognitive impairment, and cognitive decline. *Archives of General Psychiatry*, 63(2), 130-138.
  87. Gostynski, M., Ajdacic-Gross, V., Heusser-Gretler, R., Gutzwiller, F., Michel, J.P. and Herrmann, F. (2001). Demenz, Depressionen und Aktivitäten des täglichen Lebens als Risikofaktoren von Stürzen bei Betagten. *Sozial-und Präventivmedizin*, 46(2), 123-130.
  88. DeLuca, A.K., Lenze, E.J., Mulsant, B.H., Butters, M.A., Karp, J.F., Dew, M.A. et al. (2005). Comorbid anxiety disorder in late life depression: association with memory decline over four years. *International Journal of Geriatric Psychiatry: A Journal of the Psychiatry of Late Life and Allied Sciences*, 20(9), 848-854.
  89. Gellis, Z.D. (2006). *Older adults with mental and emotional problems. Handbook of social work in health and aging*, New York, NY: Oxford University Press; 129–139.
  90. Knight, B.G. and Durbin, K. (2015). Aging and the effects of emotion on cognition: Implications for psychological interventions for depression and anxiety. *PsyCh Journal*, 4(1), 11-19.

91. Wetherell, J.L., Gatz, M. and Pedersen, N.L. (2001). A longitudinal analysis of anxiety and depressive symptoms. *Psychology and Aging*, 16(2), 187.
92. Hettema, J.M., Kuhn, J.W., Prescott, C.A. and Kendler, K.S. (2006). The impact of generalized anxiety disorder and stressful life events on risk for major depressive episodes. *Psychological Medicine*, 36(6), 789.
93. Schoevers, R.A., Beekman, A.T.F., Deeg, D.J.H., Jonker, C. and Tilburg, W.V. (2003). Comorbidity and risk-patterns of depression, generalised anxiety disorder and mixed anxiety-depression in later life: results from the AMSTEL study. *International Journal of Geriatric Psychiatry*, 18(11), 994-1001.
94. Jeste, N.D., Hays, J. C. and Steffens, D.C. (2006). Clinical correlates of anxious depression among elderly patients with depression. *Journal of Affective Disorders*, 90(1), 37-41.
95. Kendler, K.S., Gatz, M., Gardner, C.O. and Pedersen, N.L. (2006). Personality and major depression: a Swedish longitudinal, population-based twin study. *Archives of General Psychiatry*, 63(10), 1113-1120.
96. Garnefski, N. and Kraaij, V. (2006). Relationships between cognitive emotion regulation strategies and depressive symptoms: A comparative study of five specific samples. *Personality and Individual Differences*, 40(8), 1659-1669.
97. Andrew, D.H. and Dulin, P.L. (2007). The relationship between self-reported health and mental health problems among older adults in New Zealand: Experiential avoidance as a moderator. *Aging and Mental Health*, 11(5), 596-603.
98. Nolen-Hoeksema, S. and Ahrens, C. (2002). Age differences and similarities in the correlates of depressive symptoms. *Psychology and Aging*, 17(1), 116.
99. Butterworth, P., Gill, S.C., Rodgers, B., Anstey, K.J., Villamil, E. and Melzer, D. (2006). Retirement and mental health: analysis of the Australian national survey of mental health and well-being. *Social Science & Medicine*, 62(5), 1179-1191.
100. Lenze, E.J., Munin, M.C., Ferrell, R.E., Pollock, B.G., Skidmore, E., Lotrich, F. Et al. (2005). Association of the serotonin transporter gene-linked polymorphic region (5-HTTLPR) genotype with depression in elderly persons after hip fracture. *The American Journal of Geriatric Psychiatry*, 13(5), 428-432.
101. Mazure, C.M., Maciejewski, P.K., Jacobs, S.C. and Bruce, M.L. (2002). Stressful life events interacting with cognitive/personality styles to predict late-onset major depression. *The American Journal of Geriatric Psychiatry*, 10(3), 297-304.
102. Fiske, A., Gatz, M. and Pedersen, N.L. (2003). Depressive symptoms and aging: the effects of illness and non-health-related events. *The Journals of Gerontology Series B: Psychological Sciences and Social Sciences*, 58(6), P320-P328.
103. Cole, M.G. and Dendukuri, N. (2003). Risk factors for depression among elderly community subjects: a systematic review and meta-analysis. *American Journal of Psychiatry*, 160(6), 1147-1156.
104. Torges, C. M., Stewart, A. J., & Nolen-Hoeksema, S. (2008). Regret resolution, aging, and adapting to loss. *Psychology and Aging*, 23(1), 169.
105. Umberson, D., Wortman, C.B. and Kessler, R.C. (1992). Widowhood and depression: Explaining long-term gender differences in vulnerability. *Journal of Health and Social Behavior*, 33, 10-24.
106. Knight, B.G., Longmire, C.F., Dave, J., Kim, J.H. and David, S. (2007). Mental health and physical health of family caregivers for persons with dementia: A comparison of African American and white caregivers. *Aging and Mental Health*, 11(5), 538-546.
107. Schulz, R., McGinnis, K.A., Zhang, S., Martire, L.M., Hebert, R.S., Beach, S.R. et al. (2008). Dementia patient suffering and caregiver depression. *Alzheimer Disease and Associated Disorders*, 22(2), 170.
108. Williamson, G.M. and Shaffer, D.R. (2002). The activity restriction model of depressed affect. In *Physical Illness and Depression in Older Adults*. Springer, Boston, MA; 173-200.
109. Seidler, R.D., Alberts, J.L. and Stelmach, G.E. (2002). Changes in multi-joint performance with age. *Motor Control*, 6(1), 19-31.
110. Contreras-Vidal, J.L., Teulings, H. and Stelmach, G. (1998). Elderly subjects are impaired in spatial coordination in fine motor control. *Acta Psychologica*, 100(1-2), 25-35.
111. Buckles, V. D. (1993). Age-related slowing. In *Sensorimotor impairment in the elderly*. Springer, Dordrecht; 73-87.

112. Woollacott, M. H., & Tang, P. F. (1997). Balance control during walking in the older adult: research and its implications. *Physical therapy*, 77(6), 646–660.
113. Alexander, B.H., Rivara, F.P. and Wolf, M.E. (1992). The cost and frequency of hospitalization for fall-related injuries in older adults. *American Journal of Public Health*, 82(7), 1020-1023.
114. Seidler-Dobrin, R.D. and Stelmach, G.E. (1998). Coactivation to reduce variability in the elderly. *Motor Control*, 2(4), 314-330.
115. Salthouse, T.A. (1993). Attentional blocks are not responsible for age-related slowing. *Journal of Gerontology*, 48(6), P263-P270.
116. Sainburg, R.L., Ghilardi, M.F., Poizner, H.O.W.A.R.D. and Ghez, C.L.A.U.D.E. (1995). Control of limb dynamics in normal subjects and patients without proprioception. *Journal of Neurophysiology*, 73(2), 820-835.
117. Bastian, A.J., Martin, T.A., Keating, J.G. and Thach, W.T. (1996). Cerebellar ataxia: abnormal control of interaction torques across multiple joints. *Journal of Neurophysiology*, 76(1), 492-509.
118. Raz, N., Lindenberger, U., Rodrigue, K.M., Kennedy, K.M., Head, D., Williamson, A. et al. (2005). Regional brain changes in aging healthy adults: general trends, individual differences and modifiers. *Cerebral Cortex*, 15(11), 1676-1689.
119. Goble, D.J., Coxon, J.P., Wenderoth, N., Van Impe, A. and Swinnen, S.P. (2009). Proprioceptive sensibility in the elderly: degeneration, functional consequences and plastic-adaptive processes. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 33(3), 271-278.
120. Wishart, L.R., Lee, T.D., Murdoch, J.E. and Hodges, N.J. (2000). Effects of aging on automatic and effortful processes in bimanual coordination. *The Journals of Gerontology Series B: Psychological Sciences and Social Sciences*, 55(2), P85-P94.
121. Faulkner, J.A., Larkin, L.M., Claflin, D.R. and Brooks, S.V. (2007). Age-related changes in the structure and function of skeletal muscles. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 34(11), 1091-1096.
122. Bacsí, A.M. and Colebatch, J.G. (2005). Evidence for reflex and perceptual vestibular contributions to postural control. *Experimental Brain Research*, 160(1), 22-28.
123. Englander, F., Hodson, T.J. and Terregrossa, R.A. (1996). Economic dimensions of slip and fall injuries. *Journal of Forensic Science*, 41(5), 733-746.
124. Lightball, N.R., Conner, L.B. and Giovanello, K.S. (2019) Chapter 3: Learning and Memory in the Aging Brain: The Function of Declarative and Nondeclarative Memory Over the Life Span. G.R. Samanez-Larkin (Ed.), In: *The Aging Brain: Functional Adaptation Across Adulthood*, The American Psychological Association, 73-111
125. Anderson, N.D., Ebert, P.L., Jennings, J.M., Grady, C.L., Cabeza, R. and Graham, S.J. (2008). Recollection-and familiarity-based memory in healthy aging and amnesic mild cognitive impairment. *Neuropsychology*, 22(2), 177.
126. Naveh-Benjamin, M., Shing, Y.L., Kilb, A., Werkle-Bergner, M., Lindenberger, U. and Li, S.C. (2009). Adult age differences in memory for name–face associations: The effects of intentional and incidental learning. *Memory*, 17(2), 220-232.
127. Salthouse, T.A. (1996). The processing-speed theory of adult age differences in cognition. *Psychological Review*, 103(3), 403.
128. Hasher, L., Lustig, C. and Zacks, R.T. (2007). Inhibitory mechanisms and the control of attention. In A.R.A. Conway, C. Jarrold, M.J. Kane, A. Miyake, and J.N. Towes (Eds.), *Variation in working memory*. New York, NY: Oxford University Press; 227-249
129. Lindenberger, U. and Baltes, P.B. (1994). Sensory functioning and intelligence in old age: a strong connection. *Psychology and Aging*, 9(3), 339.
130. Lyle, K.B., Bloise, S.M. and Johnson, M.K. (2006). Age-related binding deficits and the content of false memories. *Psychology and Aging*, 21(1), 86.
131. Ryan, J.D., Leung, G., Turk-Browne, N.B. and Hasher, L. (2007). Assessment of age-related changes in inhibition and binding using eye movement monitoring. *Psychology and Aging*, 22(2), 239.
132. Anderson, N.D. and Craik, F.I.M. (2000). Memory in the aging brain. In E. Tulving and F.I.M. Craik (Eds.). *The Oxford handbook of memory*. New York, NY: Oxford University Press; 411-425.
133. Dew, I.T. and Giovanello, K.S. (2010). Differential age effects for implicit and explicit conceptual associative memory. *Psychology and Aging*, 25(4), 911.

134. West, R.L. (1996). An application of prefrontal cortex function theory to cognitive aging. *Psychological Bulletin*, 120(2), 272.
135. Convit, A., Wolf, O.T., de Leon, M.J., Patalinjug, M., Kandil, E., Caraos, C. et al. (2001). Volumetric analysis of the pre-frontal regions: findings in aging and schizophrenia. *Psychiatry Research: Neuroimaging*, 107(2), 61-73.
136. Gunning-Dixon, F.M. and Raz, N. (2003). Neuroanatomical correlates of selected executive functions in middle-aged and older adults: a prospective MRI study. *Neuropsychologia*, 41(14), 1929-1941.
137. Maillet, D. and Rajah, M.N. (2013). Association between prefrontal activity and volume change in prefrontal and medial temporal lobes in aging and dementia: a review. *Ageing Research Reviews*, 12(2), 479-489.
138. Rönnlund, M., Nyberg, L., Bäckman, L. and Nilsson, L.G. (2005). Stability, growth, and decline in adult life span development of declarative memory: cross-sectional and longitudinal data from a population-based study. *Psychology and Aging*, 20(1), 3.
139. Burke, D.M. and Shafto, M.A. Language and aging. In F.I.M. Craik and T.A. Salthouse (Eds.), 2008, *The Handbook of Aging and Cognition* (3rd ed.). New York, NY: Psychology Press; 373-443.
140. Alwin, D.F. and McCammon, R.J. (2001). Aging, cohorts, and verbal ability. *The Journals of Gerontology Series B: Psychological Sciences and Social Sciences*, 56(3), S151-S161.
141. Verhaeghen, P. Aging and vocabulary score: A meta-analysis. *Psychology and Aging*, 2003, 18, 332-339.
142. Little, D.M., Prentice, K.J. and Wingfield, A. (2004). Adult age differences in judgments of semantic fit. *Applied Psycholinguistics*, 25(1), 135.
143. Madden, D.J., Pierce, T.W. and Allen, P.A. (1993). Age-related slowing and the time course of semantic priming in visual word identification. *Psychology and Aging*, 8(4), 490.
144. Albert, M.L., Spiro III, A., Sayers, K.J., Cohen, J.A., Brady, C.B., Goral, M. and Obler, L.K. (2009). Effects of health status on word finding in aging. *Journal of the American Geriatrics Society*, 57(12), 2300-2305.
145. Verhaegen, C. and Poncelet, M. (2013). Changes in naming and semantic abilities with aging from 50-90 years. *Journal of the International Neuropsychological Society*, 19, 119-126.
146. Squire, L. R. and Zola-Morgan, M. (1991). Memory, brain and memory systems. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 7(3), 1-14. Accessed 12.11.2020.
147. Squire, L.R. (2004). Memory systems of the brain: a brief history and current perspective. *Neurobiology of Learning and Memory*, 82(3), 171-177.
148. Schultz, W. (2013). Updating dopamine reward signals. *Current Opinion in Neurobiology*, 23(2), 229-238.
149. Smith, K.S. and Graybiel, A. M. (2013). A dual operator view of habitual behavior reflecting cortical and striatal dynamics. *Neuron*, 79(2), 361-374.
150. Haber, S.N. and Knutson, B. (2010). The reward circuit: Linking primate anatomy and human imaging. *Neuropsychopharmacology*, 35(1), 4-26.
151. Hiebert, N.M., Vo, A., Hampshire, A., Owen, A.M., Seergobin, K.N. and MacDonald, P.A. (2014). Striatum in stimulus-response learning via feedback and in decision making. *Neuroimage*, 101, 448-457.
152. Fjell, A.M. and Walhovd, K.B. (2010). Structural brain changes in aging: Courses, causes and cognitive consequences. *Reviews in the Neurosciences*, 21(3), 187-222.
153. Walhovd, K. B., Westlye, L. T., Amlien, I., Espeseth, T., Reinvang, I. et al. (2011). Consistent neuroanatomical age-related volume differences across multiple samples. *Neurobiology of Aging*, 32(5), 916-932.
154. Raz, N., Ghisletta, P., Rodrigue, K.M., Kennedy, K.M. and Lindenberger, U. (2010). Trajectories of brain aging in middle-aged and older adults: Regional and individual differences. *Neuroimage*, 51(2), 501-511.
155. Driscoll, I., Davatzikos, C., An, Y., Wu, X., Shen, D., Kraut, M. and Resnick, S.M. (2009). Longitudinal pattern of regional brain volume change differentiates normal aging from MCI. *Neurology*, 72(22), 1906-1913.
156. Lighthall, N., Conner, L. and Giovanello, K.S. (2018). Learning and memory in the aging brain: The function of declarative and nondeclarative memory over the life span. PsyArXiv.
157. Belikov, A.V. (2019). Age-related diseases as vicious cycles. *Ageing Research Reviews*, 49, 11-26.

158. Frigerio, R., Fujishiro, H., Ahn, T.B., Josephs, K.A., Maraganore, D.M., DelleDonne, A. et al. (2011). Incidental Lewy body disease: do some cases represent a preclinical stage of dementia with Lewy bodies?. *Neurobiology of Aging*, 32(5), 857-863.
159. Milenkovic, I. and Kovacs, G.G. (2013). Incidental corticobasal degeneration in a 76-year-old woman. *Clinical Neuropathology*, 32(1), 69.
160. Dugger, B.N., Hentz, J.G., Adler, C.H., Sabbagh, M.N., Shill, H.A., Jacobson, S. et al. (2014). Clinicopathological outcomes of prospectively followed normal elderly brain bank volunteers. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 73(3), 244-252.
161. Uchikado, H., DelleDonne, A., Ahmed, Z. and Dickson, D.W. (2006). Lewy bodies in progressive supranuclear palsy represent an independent disease process. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 65(4), 387-395.
162. Dugger, B.N., Adler, C.H., Shill, H.A., Caviness, J., Jacobson, S., Driver-Dunckley, E. et al. (2014). Concomitant pathologies among a spectrum of parkinsonian disorders. *Parkinsonism & Related Disorders*, 20(5), 525-529.
163. Ghasemi, M. and Brown, R.H. (2018). Genetics of amyotrophic lateral sclerosis. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 8(5), a024125.
164. Gijssels, I., Cruts, M. and Van Broeckhoven, C. (2018). The genetics of C9orf72 expansions. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 8(4), a026757.
165. Hinz, F.I. and Geschwind, D.H. (2017). Molecular genetics of neurodegenerative dementias. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 9(4), a023705.
166. Kolb, H.C. and Andrés, J.I. (2017). Tau positron emission tomography imaging. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 9(5), a023721.
167. Young, J.J., Lavakumar, M., Tampi, D., Balachandran, S. and Tampi, R.R. (2018). Frontotemporal dementia: latest evidence and clinical implications. *Therapeutic Advances in Psychopharmacology*, 8(1), 33-48.
168. Maher, P. (2019). The potential of flavonoids for the treatment of neurodegenerative diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(12), 3056.
169. Yu, B.P. and Chung, H.Y. (2006). Adaptive mechanisms to oxidative stress during aging. *Mechanisms of Ageing and Development*, 127(5), 436-443.
170. Chung, H.Y., Sung, B., Jung, K.J., Zou, Y. and Yu, B.P. (2006). The molecular inflammatory process in aging. *Antioxidants & Redox Signaling*, 8(3-4), 572-581.
171. Chung, H.Y., Cesari, M., Anton, S., Marzetti, E., Giovannini, S., Seo, A.Y. et al. (2009). Molecular inflammation: underpinnings of aging and age-related diseases. *Ageing Research Reviews*, 8(1), 18-30.
172. Brod, S.A. (2000). Unregulated inflammation shortens human functional longevity. *Inflammation Research*, 49(11), 561-570.
173. Chung, H.Y., Kim, H.J., Kim, K.W., Choi, J.S. and Yu, B.P. (2002). Molecular inflammation hypothesis of aging based on the anti-aging mechanism of calorie restriction. *Microscopy Research and Technique*, 59(4), 264-272.
174. Dünya Sağlık Örgütü, Yayın No: 85-23, 1996
175. Sakul, A., Ozansoy, M., Elibol, B., Ayla, Ş., Günel, M.Y., Yozgat, Y. et al. (2019). Squalene attenuates the oxidative stress and activates AKT/mTOR pathway against cisplatin-induced kidney damage in mice. *Turkish Journal of Biology*, 43(3), 179.
176. Beker, M.C., Caglayan, B., Yalcin, E., Caglayan, A.B., Turkseven, S., Gurel, B. et al. (2018). Time-of-day dependent neuronal injury after ischemic stroke: implication of circadian clock transcriptional factor bmal1 and survival kinase AKT. *Molecular Neurobiology*, 55(3), 2565-2576.
177. Nazeri, M., Shabani, M., Ravandi, S.G., Aghaei, I., Nozari, M. and Mazhari, S. (2015). Psychological or physical prenatal stress differentially affects cognition behaviors. *Physiology & Behavior*, 142, 155-160.
178. File, S.E. (1985). Animal models for predicting clinical efficacy of anxiolytic drugs: social behaviour. *Neuropsychobiology*, 13(1-2), 55-62.
179. Turner, K.M. and Burne, T.H. (2014). Comprehensive behavioural analysis of Long Evans and Sprague-Dawley rats reveals differential effects of housing conditions on tests relevant to neuropsychiatric disorders. *PLoS One*, 9(3), e93411.
180. Hall, C.S. (1934). Emotional behavior in the rat. I. Defecation and urination as measures of individual differences in emotionality. *Journal of Comparative Psychology*, 18(3), 385.

181. Prut, L. and Belzung, C. (2003). The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. *European Journal of Pharmacology*, 463(1-3), 3-33.
182. Porsolt, R.D., Anton, G., Blavet, N. and Jalfre, M. (1978). Behavioural despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatments. *European Journal of Pharmacology*, 47(4), 379-391.
183. Yankelevitch-Yahav, R., Franko, M., Huly, A. and Doron, R. (2015). The forced swim test as a model of depressive-like behavior. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, 97, e52587.
184. Buitrago, M.M., Schulz, J.B., Dichgans, J. and Luft, A.R. (2004). Short and long-term motor skill learning in an accelerated rotarod training paradigm. *Neurobiology of Learning and Memory*, 81(3), 211-216.
185. Andrews, J.S., Jansen, J.H.M., Linders, S., Princen, A. and Broekkamp, C.L.E. (1995). Performance of four different rat strains in the autoshaping, two-object discrimination, and swim maze tests of learning and memory. *Physiology & Behavior*, 57(4), 785-790.
186. Berridge M. J. (2017). Vitamin D deficiency accelerates ageing and age-related diseases: a novel hypothesis. *The Journal of physiology*, 595(22), 6825–6836.
187. McDonald I. (2006). Short memoir of Dr MacDonald Critchley. *Cortex*, 42:782–3
188. Critchley M. (1931). The neurology of old age. *The Lancet*, 217:1221–31.
189. Schott J. M. (2017). The neurology of ageing: what is normal? *Practical neurology*, 17(3), 172–182.
190. Lane, C. A., Parker, T. D., Cash, D. M., Macpherson, K., Donnachie, E., Murray-Smith, H. et al. (2017). Study protocol: Insight 46- a neuroscience sub-study of the MRC *National Survey of Health and Development*. *BMC neurology*, 17(1).
191. Shoji H, Takao K, Hattori S, Miyakawa T. (2016). Age-related changes in behavior in C57BL/6J mice from young adulthood to middle age. *Molecular brain*, 9, 11.
192. Takao K, Kobayashi K, Hagihara H, Ohira K, Shoji H, Hattori S, et al. (2013). Deficiency of Schnurri-2, an MHC enhancer binding protein, induces mild chronic inflammation in the brain and confers molecular, neuronal, and behavioral phenotypes related to schizophrenia. *Neuropsychopharmacology*, 38:1409–25.
193. Jorm A. F. (2000). Does old age reduce the risk of anxiety and depression? A review of epidemiological studies across the adult life span. *Psychological medicine*, 30(1), 11–22.
194. Gross, J. J., Carstensen, L. L., Tsai, J., Skorpen, C. G. & Hsu, A. Y.C. (1997). Emotion and aging: Experience, expression, and control. *Psychology and Aging* 12, 590–599.
195. Levinson, R. W., Carstensen, L. L., Friesen, W. V. & Ekman, P. (1991). Emotion, physiology, and expression in old age. *Psychology and Aging* 6, 28–35.
196. Lamberty, Y. and Gower, A.J. (1992). Age-related changes in spontaneous behavior and learning in NMRI mice from middle to old age. *Physiology & Behavior*, 51(1), 81–88.
197. Küçük, A., Gölğeli, A., Saraymen, R. and Koç, N. (2008). Effects of age and anxiety on learning and memory. *Behavioural Brain Research*, 195(1), 147–152.
198. Siwak, C.T., Murphey, H.L., Muggenburg, B.A. and Milgram, N.W. (2002). Age-dependent decline in locomotor activity in dogs is environment specific. *Physiology & behavior*, 75(1-2), 65-70.
199. Werboff, J. and Havlena, J. (1962). Effects of Aging on Open Field Behavior. *Psychological Reports*, 10(2), 395–398.
200. Sprott, R.L. and Eleftheriou, B.E. (1974). Open-field behavior in aging inbred mice. *Gerontology*, 20(3), 155-162.
201. Shoji, H., and Miyakawa, T. (2019). Age-related behavioral changes from young to old age in male mice of a C57BL/6J strain maintained under a genetic stability program. *Neuropsychopharmacology reports*, 39(2), 100–118.
202. Forster MJ, Dubey A, Dawson KM, Stutts WA, Lal H, Sohal RS. (1996). Age-related losses of cognitive function and motor skills in mice are associated with oxidative protein damage in the brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93(10), 4765–4769.
203. Ingram DK, London ED, Reynolds MA, Waller SB, Goodrick CL. (1981). Differential effects of age on motor performance in two mouse strains. *Neurobiology of aging*, 2:221–7.
204. McFadyen MP, Kusek G, Bolivar VJ, Flaherty L. (2003). Differences among eight inbred strains of mice in motor ability and motor learning on a rotorod. *Genes, brain, and behavior*, 2:214–9.

205. Janicke, B., Schulze, G., & Coper, H. (1983). Motor performance achievements in rats of different ages. *Experimental Gerontology*, 18(5), 393–407.
206. Spangler, E. L., Patel, N., Speer, D., Hyman, M., Hengemihle, J., Markowska, A. (2002). Passive avoidance and complex maze learning in the senescence accelerated mouse (SAM): age and strain comparisons of SAM P8 and R1. *The journals of gerontology. Series A, Biological sciences and medical sciences*, 57(2), B61–B68.
207. Miyamoto M. (1997). Characteristics of age-related behavioral changes in senescence-accelerated mouse SAMP8 and SAMP10. *Experimental gerontology*, 32(1-2):139–148.
208. Brandeis, R., Brandys, Y., and Yehuda, S. (1989). The use of the Morris Water Maze in the study of memory and learning. *The International journal of neuroscience*, 48(1-2), 29–69.
209. D'Hooge, R. and De Deyn, P. P. (2001). Applications of the Morris water maze in the study of learning and memory. *Brain research. Brain research reviews*, 36(1), 60–90.
210. Van Praag, H., Shubert, T., Zhao, C. and Gage, F. H. (2005). Exercise enhances learning and hippocampal neurogenesis in aged mice. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 25(38), 8680–8685.
211. Juan, S. and Adlard, P. A. (2019). Ageing and Cognition. *Sub-cellular biochemistry*, 91, 107–122.
212. Fulop, T., Witkowski, J.M., Bourgade, K., Khalil, A., Zerif, E., Larbi, A. et al. (2018). Can an infection hypothesis explain the beta amyloid hypothesis of Alzheimer's disease? *Frontiers in Aging Neuroscience*, 10, 224.
213. Bertoldi, K., Cechinel, L.R., Schallenger, B., Meireles, L., Basso, C., Lovatel, G. A. et al. (2017). Aging process alters hippocampal and cortical secretase activities of Wistar rats. *Behavioural Brain Research*, 317, 374–381.
214. Apelt, J., Bigl, M., Wunderlich, P. and Schliebs, R. (2004). Aging-related increase in oxidative stress correlates with developmental pattern of beta-secretase activity and beta-amyloid plaque formation in transgenic Tg2576 mice with Alzheimer-like pathology. *International Journal of Developmental Neuroscience*. 22, 475e484.
215. Sinha, M., Bir, A., Banerjee, A., Bhowmick, P. and Chakrabarti, S. (2016). Multiple mechanisms of age-dependent accumulation of amyloid beta protein in rat brain: Prevention by dietary supplementation with N-acetylcysteine,  $\alpha$ -lipoic acid and  $\alpha$ -tocopherol. *Neurochemistry International*, 95, 92–99.
216. Castellani, R.J. and Perry, G. (2019). Tau biology, tauopathy, traumatic brain injury, and diagnostic challenges. *Journal of Alzheimer's Disease*, 67(2), 447–467.
217. Head, E., Moffat, K., Das, P., Sarsoza, F., Poon, W.W., Landsberg, G. et al. (2005).  $\beta$ -Amyloid deposition and tau phosphorylation in clinically characterized aged cats. *Neurobiology of aging*, 26(5), 749–763.
218. Blennow, K. and Zetterberg, H. (2018). Biomarkers for Alzheimer's disease: current status and prospects for the future. *Journal of Internal Medicine*, 284(6), 643–663.
219. Sousa, J. C., Grandela, C., Fernández-Ruiz, J., de Miguel, R., de Sousa, L., Magalhães, A. I., Saraiva, M. J., Sousa, N. and Palha, J. A. (2004). Transthyretin is involved in depression-like behaviour and exploratory activity. *Journal of neurochemistry*, 88(5), 1052–1058.
220. Carro, E., Trejo, J. L., Gomez-Isla, T., LeRoith, D. and Torres-Aleman, I. (2002). Serum insulin-like growth factor I regulates brain amyloid-beta levels. *Nature medicine*, 8(12), 1390–1397.
221. Stein, T. D. and Johnson, J. A. (2002). Lack of neurodegeneration in transgenic mice overexpressing mutant amyloid precursor protein is associated with increased levels of transthyretin and the activation of cell survival pathways. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 22(17), 7380–7388.
222. Palha, J. A., Moreira, P., Wisniewski, T., Frangione, B. and Saraiva, M. J. (1996). Transthyretin gene in Alzheimer's disease patients. *Neuroscience letters*, 204(3), 212–214.
223. Doggui, S., Brouillette, J., Chabot, J. G., Farso, M. and Quirion, R. (2010). Possible involvement of transthyretin in hippocampal beta-amyloid burden and learning behaviors in a mouse model of Alzheimer's disease (TgCRND8). *Neuro-degenerative diseases*, 7(1-3), 88–95.
224. Vo, H. T., Laszczyk, A. M. and King, G. D. (2018). Klotho, the Key to Healthy Brain Aging. *Brain plasticity (Amsterdam, Netherlands)*, 3(2), 183–194.

225. Nagai T, Yamada K, Kim H-C, Kim Y-S, Noda Y, Imura A, et al. (2003). Cognition impairment in the genetic model of aging klotho gene mutant mice: A role of oxidative stress. *FASEB J*, 17(1):50-2.
226. Kim, J. H., Hwang, K. H., Park, K. S., Kong, I. D. and Cha, S. K. (2015). Biological Role of Anti-aging Protein Klotho. *Journal of lifestyle medicine*, 5(1), 1–6.
227. Dubal, D. B., Yokoyama, J. S., Zhu, L., Broestl, L., Worden, K., Wang, D. et al. (2014). Life extension factor klotho enhances cognition. *Cell reports*, 7(4), 1065–1076.
228. King, G. D., Rosene, D. L. and Abraham, C. R. (2012). Promoter methylation and age-related downregulation of Klotho in rhesus monkey. *Age*, 34(6), 1405–1419.



**EKLER****EK1****HAYVAN DENEYLERİ ETİK KURUL KARARI**

Evrak Tarih ve Sayısı: 30/04/2020-E.14050



T.C.  
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ  
Hamidiye Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu



Sayı : 46418926-605.02  
Konu : Etik Kurul Kararı (2020-02/02)

Sayın Prof. Dr. Ülkan KILIÇ  
(SBÜ Hamidiye Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı Öğretim Üyesi)

Yürütücüsü olduğunuz "**Long-Evans cinsi sıçanlarda motor koordinasyon, anksiyete ve öğrenme-bellek gibi davranışsal fonksiyonların yaşa bağlı değişimlerinin incelenmesi**" başlıklı bilimsel çalışma önerisi, SBÜ Hamidiye Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 29.04.2020 tarih ve **2020- 02/02** sayılı toplantısında görüşülerek, çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde ve sunulan prosedürlere uygun olarak, 3 yıllık bir süre içerisinde gerçekleştirilmesinin etik açıdan "**uygun**" olduğuna karar verilmiştir.  
Bilgilerinize rica ederim.

**e-imzalıdır**  
Prof. Dr. Ülkan KILIÇ  
HADYEK Başkanı