

Sıçanlarda D-Galaktoz ile Uyarılmış Yaşlanma Modelinde Kefir'in Beyin Dokusundaki Oksidatif Stres Üzerine Etkisi

Emel SERDAROĞLU KAŞIKÇI*^{1,2}, Hatice Kübra GÖKALP¹

¹Üsküdar Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, 34662, İstanbul

²Üsküdar Üniversitesi, Nöropsikofarmakoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi, 34662, İstanbul

(Alınış / Received: 23.01.2018, Kabul / Accepted: 21.05.2018, Online Yayınlanma / Published Online: 11.06.2018)

Anahtar Kelimeler

D-Galaktoz,
Kefir,
Yaşlanma,
Sıçan

Özet: D-Galaktoz (D-GAL), oksidatif stresi arttırarak doğal yaşlanma sürecini uyaran bir monosakkarittir. Bu çalışmada, yaşlanma ile ilişkili hasarlı modelde oksidatif stres üzerine günlük kefir tüketiminin etkisi araştırıldı. Sıçanlara 8 hafta boyunca D-GAL (300 mg/kg/5 gün), Düşük doz Kefir (DKFR) (0.7 ml/kg/5 gün) ve Yüksek doz Kefir (YKFR) (3.5 ml/kg/5 gün) uygulandı. Bu süre sonunda elde edilen beyin dokusu örneklerinde Glutasyon (GSH) ve Lipid peroksidasyonu (LPO) düzeyleri ile Süperoksit dismutaz (SOD) ve Asetilkolin esteraz (AChE) aktiviteleri ölçüldü. Kontrol grubuna kıyasla D-GAL grubunda GSH düzeyleri ve SOD aktivitelerinde anlamlı bir azalma gözlemlendi, ancak LPO düzeyleri ve AChE aktiviteleri arttı ($p < 0.05$). Kefirin her iki dozunda da D-GAL verilen gruba kıyasla LPO düzeyleri azaldı ($p < 0.05$). D-GAL grubuna kıyasla, D-GAL verilen düşük doz kefir grubunda SOD aktivitesi arttı, AChE aktivitesi azaldı ($p < 0.05$). Aynı zamanda histopatolojik bulgular da kefirin taklitçi yaşlanma modelinde koruyucu bir etki göstererek oksidatif stresi azalttığını destekledi. Bu sonuçlar kefirin özellikle beyin dokusunda yaşlanma ile uyarılmış oksidatif streste faydalı etkilere sahip olabileceğini gösterdi.

The Effect of Kefir on Oxidative Stress in The Brain Tissue of Aging Modeled Rats by D-Galactose Inducement

Keywords

D-Galactose,
Kefir,
Aging,
Rat

Abstract: D-Galactose (D-GAL), is a monosaccharide that mimics the natural aging process in rodents by increasing the oxidative stress. We investigated the effect of daily kefir consumption on oxidative stress caused in aging related damage model. Rats received D-GAL (300 mg/kg/day, 5 days), low dose of kefir (0.7 ml/kg/day, 5 days) and high dose of kefir (3.5 ml/kg/day, 5 days) during 8 weeks. At the end of the 8 weeks period, obtained in brain tissue samples Glutathione (GSH) and Lipid peroxidation (LPO) levels, Superoxide dismutase (SOD) and Acetylcholinesterase (AChE) activities were measured. The control group was compared with the D-GAL group, a significant decrease in GSH levels and SOD activities were observed, but LPO levels and AChE activities were increased ($p < 0.05$). Both doses of kefir in D-GAL groups were decreased LPO levels as compared to D-GAL group ($p < 0.05$). The D-GAL group was compared with the D-GAL received low dose of kefir, a significant increase in SOD activity, a significant decrease in AChE activity were observed ($p < 0.05$). At the same time, in histopathological findings of kefir have supported the decline of oxidative stress by showing a protective effect on the mimetic aging model. These results indicated that kefir may have some favorable effects on aging-induced oxidative damages in especially brain tissue.

1. Giriş

Yaşlanmada mitokondriyal serbest radikal teorisi, ATP üretiminin bir sonucu olarak kaçınılmazdır ve

makromoleküler hasarın primer nedeni olarak görülmektedir [1]. Yaşlanma ile ilişkili hastalıklar öncelikle oksidatif protein hasarının bir sonucu olarak hidroksil radikali gibi reaktif oksijen türlerinin

aşırı üretimine neden olmaktadır [2, 3]. Diğer bir deyişle, şeker, protein ve lipid oksidasyon ürünleri proteinlerin sekonder hasarına yol açmaktadır. Okside proteinlerin birikimi, protein agregatları gibi sekonder ürünler ve protein çapraz-bağlarının çok çeşitli hastalıkların oluşumunu tetiklediği bildirilmektedir [4].

Yapılan çalışmalarda D-galaktozun (D-GAL) uzun süreli alımının hayvanlarda doğal yaşlanma sürecine benzeyen değişikliklere neden olduğu gösterilmektedir [5-7]. Hayvanlarda D-GAL normalde D-galaktokinaz ya da galaktoz-1-fosfat uridiltransferaz tarafından metabolize edilir, fakat D-GAL'ın aşırı miktarları anormal bir metabolizma ile sonuçlanmaktadır. Bu süreçte D-GAL hücrede reaktif oksijen türlerini üretebilen ve osmotik stresi uyartabilen aynı zamanda hücrede birikebilen, galaktitole dönüştürülmektedir [5-8]. Aşırı D-GAL galaktitol üreten aldoz redüktaz aktivitesini de tetiklemekte ve azalan NADPH glutatyon redüktaz aktivitesinde azalmaya yol açmaktadır. Bunun sonucunda da, hidrojen peroksit gibi farklı serbest radikal türleri ciddi oksidatif hasara neden olarak hücre içerisinde birikmektedirler [9]. Bundan başka, D-GAL'ın yüksek düzeylerinin varlığında, D-GAL galaktoz oksidazın katalizi sonucu süper oksit anyonu ve reaktif oksijen türlerinin oluşumu ile sonuçlanan aldoz hidroperoksitlere de dönüştürülebilmektedir [10]. Literatürde bahsedildiği gibi, D-GAL ileri glikasyon son ürünlerini oluşturmak için protein ve peptid aminoasitlerinin serbest amino grupları ile reaksiyona giren indirgen bir şekerdir. Bahsedilen bu biyokimyasal süreçler oksidatif stres ve hücrel hasara neden olmaktadır [7, 11].

Kefir, kefir granülleri kullanılarak kültüre edilmiş bir süt ürünüdür. Hafif asidik ve köpüklü bir içecektir. Kefir granülleri kazein ve şekerlerin bakteri-maya karışımı ile oluşturdukları yığınlardır. Kefirde etil alkol ve laktik asit fermantasyonu eş zamanlı olarak meydana gelmektedir [12, 13]. Yapılan çalışmalarda kefirin çok çeşitli biyolojik aktiviteye sahip olduğu rapor edilmektedir. Bu noktada kefirin ince bağırsak mikroflorasında maya ve asetik asit bakterilerine karşı antifungal ve antibiyotik aktiviteye sahip olduğu bilinmektedir [13-15]. Kefirin memelilerde anti-mutajenik, immün sistemi uyarıcı, anti-inflamatuvar, anti-oksidan aktivite ve anti-diyabetik etkilere sahip olduğu da bildirilmektedir [13, 16-19].

Çalışmamızda D-GAL verilerek yaşlanma modeli taklit edilen sıçanlarda kefirin oksidatif stres üzerine olan anti-oksidan etkilerinin araştırılması amaçlandı. Bu amaçla sıçan beyin dokusundan elde edilen homojenatlarda kefirin düşük ve yüksek dozunun GSH, SOD ve AChE aktiviteleri ve lipid peroksidasyon göstergesi olan Malondialdehit (MDA) düzeyleri üzerine olan etkileri ile beyin dokularında histopatolojik değerlendirilmesi hedeflendi.

2. Materyal ve Metot

2.1. Kimyasallar

D-GAL ve diğer kimyasallar yüksek saflıkta ve Sigma-Aldrich (St Louis, MO, USA) firmasından elde edildi.

2.2. Deneysel süreç

Çalışmamızda Üsküdar Üniversitesi Deneysel Araştırma Birimi (ÜSKÜDAB)'nden temin edilen 48 adet 3 aylık 200-250 g ağırlığında erkek Wistar-Albino türü sıçan kullanıldı. Sıçanlar *ad libitum* olarak beslendi, 12 saat aydınlık-karanlık periyoda uygun standart laboratuvar koşullarında (sıcaklık 22+/-2°C, nem %60+/- 5) 8 hafta süre ile muhafaza edildi, deney hayvanları her grupta 8 adet olmak üzere 6 gruba ayrıldı:

Grup 1: Kontrol (KONT) grubu (Serum fizyolojik (% 0.9 NaCl) subkutan olarak enjekte edildi).

Grup 2: D-GAL (300 mg/kg/gün subkutan olarak enjekte edildi).

Grup 3: KONT + Düşük doz Kefir (DKFR) (0.7 ml/kg/gün gavaj yolu ile verildi).

Grup 4: KONT + Yüksek doz Kefir (YKFR) (3.5 ml/kg/gün gavaj yolu ile verildi).

Grup 5: D-GAL (300 mg/kg/gün) + DKFR (0.7 ml/kg/gün)

Grup 6: D- GAL (300 mg/kg/gün) + YKFR (3.5 ml/kg/gün)

Sıçanlara verilmek üzere Ülker İçim marka kefir günlük olarak temin edildi. 1 kutu (275 ml) kefirdeki probiyotik mikroorganizma oranı en az $2,75 \times 10^8$ kob'dir (Tablo 1).

Tablo 1. Kefir içeriği

Enerji ve Maddeler	100 ml Kefir	Enerji ve Maddeler	100 ml Kefir
Enerji (kJ/kcal)	160.7/38.4	Karbonhidrat (g)	2.4
Yağ (g)	2	Şeker(g)	2.4
Doymuş yağ (g)	1.3	Tuz/ Sodyum (g)	0
Protein (g)	2.7	Kalsiyum (mg)	97

2.3. Doku örnekleri

8 haftalık deney süresi sonunda tüm sıçanlar ketamin HCl [80 mg/kg intraperitoneal (i.p.)] ve ksilezin (10 mg/kg i.p.) anestezisi altında sakrifiye edildi. Aynı zamanda beyin dokusu hızlı bir şekilde çıkarıldı, serum fizyolojik (% 0.9 NaCl) ile temizlendi ve -80°C'de muhafaza edildi. Beynin hipokampus bölgesi soğuk-buz altında 0.15 M KCl (% 10 w/v)'de homojenize edildikten sonra, elde edilen homojenatlar 10 dk 4°C'de 600 x g'de santrifüj edildi. Daha sonra süpernatantlar 10 000 x g'de 20 dk

santrifüj edildi. Elde edilen fraksiyonlarda GSH, LPO düzeyleri ile SOD ve AChE enzim aktiviteleri ölçüldü.

2.4. GSH düzeylerinin belirlenmesi

Beyin homojenatlarında GSH düzeyleri 5,5-ditiyobis-(2-nitrobenzoik asit) (DTNB) kullanılarak 412 nm'de spektrofotometrik olarak ölçüldü [20].

2.5. LPO düzeylerinin belirlenmesi

LPO; Tiyobarbiturik asit (TBA) kullanılarak Malondialdehit (MDA) düzeyleri ölçülerek 532 nm'de spektrofotometrik olarak değerlendirildi [21].

2.6. SOD aktivitesinin ölçümü

Süperoksit anyonunu hidrojen peroksit ve moleküler oksijene kataliz eden SOD en önemli antioksidan aktiviteye sahip enzimlerdendir. SOD aktivitesini belirlemek için bir takım direkt ve indirekt yöntemler geliştirilmiştir. Bu metotlar arasında kolay ve geleneksel olmasından dolayı en sık nitromavisi tetrazolium (NBT) kullanılan indirekt metottur. Bu amaçla çalışmamızda SOD aktivitesi SOD tayin kiti (Kat No 19160, Sigma-Aldrich) kullanılarak ölçülmüştür.

2.7. AChE aktivitesinin ölçümü

AChE; Asetil kolini asetat ve koline hidroliz eden bir nörotransmitterdir. AChE aktivitesi beyinde kolinerjik nöronların kaybında önemli bir belirteçtir. Bu aşamada AChE aktivitesi ticari kit (Kat No MAK 119, Sigma-Adrich) kullanılarak değerlendirilmiştir. Bu yöntem Ellman metodunun optimize edilmiş bir çeşididir. AChE tarafından oluşturulan tiyokolin kolorimetrik bir ürün oluşturmak için DTNB ile reaksiyona girer. Oluşan renkli bileşiğin absorbanısı 412 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülür.

2.8. Histopatolojik olarak inceleme

Beyin dokuları % 10 Formaldehitde 24 saat boyunca fikse edildi. Dokular doku takip cihazında takip edildi (Thermo Shandon Excelsior). Daha sonra dokular parafin bloklara gömülerek, histolojik inceleme için 2 µm kalınlıkta kesitler alındı. Bu kesitler hematoxilen ve eosin (H&E) boyası ile boyanarak nöronlar histopatolojik olarak ışık mikroskobu altında değerlendirildi.

2.9. İstatistiksel analiz

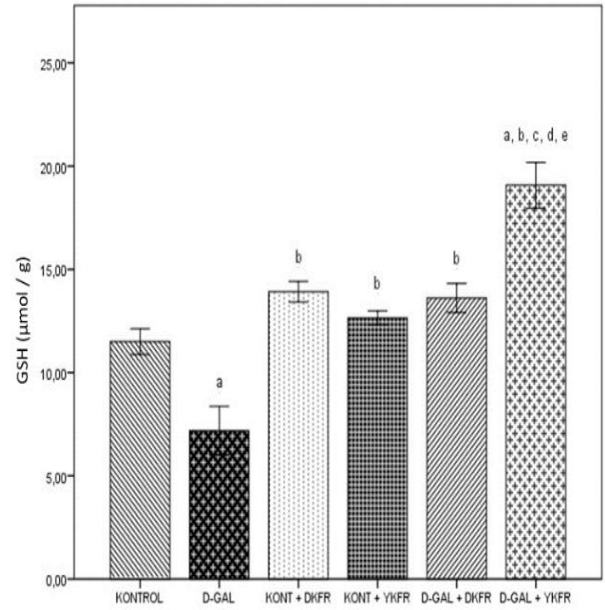
İstatistiksel analizlerde SPSS 20.0 (Statistical Package for Social Sciences Inc, IL, USA) versiyonu kullanıldı. Gruplar arasındaki istatistiksel farklar post-hoc Bonferroni testi uygulanarak tek-yönlü-varyans analizi (ANOVA) kullanılarak belirlendi. $p < 0.05$ anlamlı olarak kabul edildi.

2.10. Etik onamı

Çalışmamız Üsküdar Üniversitesi Deneysel Araştırma Birimi (ÜSKÜDAB) bünyesinde yer alan Üsküdar Üniversitesi Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulu (ÜÜ-HADYEK) tarafından incelenerek 2016-04 kurul toplantısı sonucu etik kurul onayı alınmıştır.

3. Bulgular

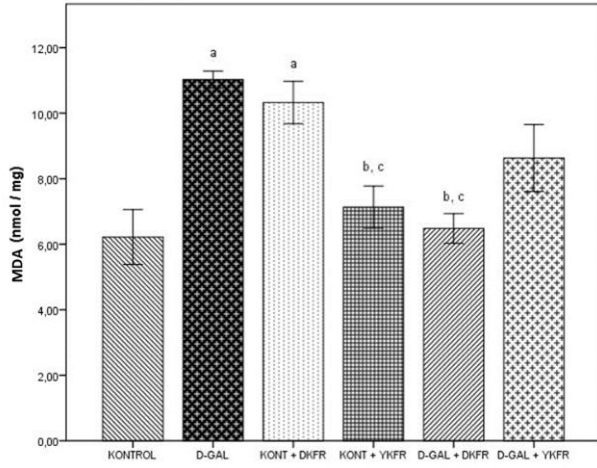
Kontrol grubuna kıyasla D-GAL verilen sıçanlarda GSH düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu gözlenmiştir ($p < 0.05$). Aynı zamanda düşük doz ve yüksek doz verilen kefir gruplarında D-GAL verilen gruba kıyasla anlamlı bir artış olduğu tespit edilmiştir. Gruplar arasında GSH düzeylerindeki en yüksek artışın ise yüksek doz kefir verilen kontrol grubunda olduğu görülmüştür ($p < 0.05$) (Şekil 1A).



Şekil 1A. Kontrol grubuna kıyasla D-GAL verilen grupta GSH düzeyleri daha düşük bulundu ($^a p < 0.05$). D-GAL verilen gruba kıyasla KONT + DKFR, KONT + YKFR ve D-GAL + DKFR gruplarında GSH düzeylerinde artış gözlendi ($^b p < 0.05$). D-GAL + YKFR grubundaki artış ise diğer gruplara kıyasla en yüksekti.

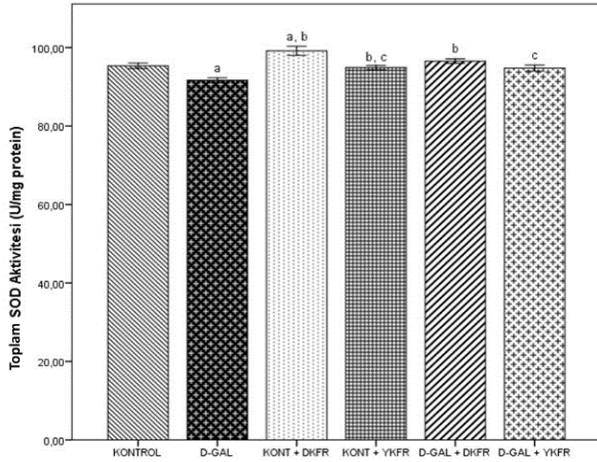
$^a p < 0.05$: Kontrol grubuna göre anlamlılığı; $^b p < 0.05$: D-GAL grubuna göre anlamlılığı; $^c p < 0.05$: KONT+DKFR grubuna göre anlamlılığı; $^d p < 0.05$: KONT+YKFR grubuna göre anlamlılığı; $^e p < 0.05$: D-GAL+DFKR grubuna göre anlamlılığı ifade eder.

Kontrol grubuna kıyasla D-GAL verilen sıçanlarda MDA düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu gözlenmiştir ($p < 0.05$). D-GAL verilen gruba kıyasla D-GAL +DKFR ve D-GAL + YKFR grubunda MDA düzeylerinde anlamlı bir azalma görülmüştür. Aynı zamanda KONT + DKFR grubuna kıyasla KONT + YKFR grubunda MDA düzeyleri de istatistiksel olarak anlamlı derecede azalmıştır ($p < 0.05$) (Şekil 1B).



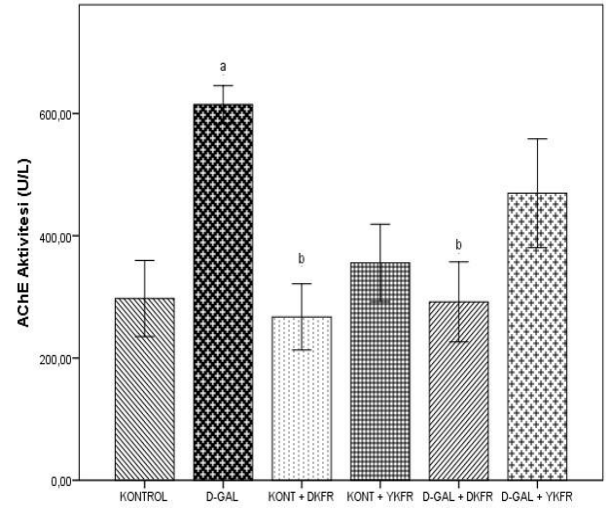
Şekil 1B. Kontrol grubuna kıyasla MDA düzeyleri D-GAL ve Kontrol+ DKFR gruplarında daha yüksekti (^a $p<0.05$). KONT + YKFR ve D-GAL + DKFR gruplarında MDA'nın D-GAL ve KONT + DKFR gruplarına kıyasla daha düşük olduğu gözlemlendi (^b $p<0.05$, ^c $p<0.05$).

Kontrol grubuna kıyasla D-GAL verilen sıçanlarda SOD aktivitesinin azaldığı, AChE aktivitesinin ise istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığı gözlemlenmiştir. Düşük doz kefir verilen D-GAL grubunda D-GAL grubuna kıyasla SOD aktivitesinin arttığı, AChE aktivitesinin ise azaldığı görülmüştür ($p<0.05$) (Şekil 1C, 1D).



Şekil 1C. Kontrol grubuna kıyasla SOD aktivitesi D-GAL verilen sıçanlarda daha düşüktür (^a $p<0.05$). SOD aktivitesi kontrol grubuna kıyasla KONT + DKFR grubunda daha yüksekti (^a $p<0.05$). KONT + YKFR ve D-GAL + DKFR gruplarında SOD aktivitesinin D-GAL grubuna kıyasla arttığı gözlemlendi (^b $p<0.05$). KONT + YKFR ve D-GAL + YKFR gruplarında ise SOD aktivitesinin KONT + DKFR grubuna kıyasla azaldığı gözlemlendi (^c $p<0.05$).

Şekil 2'de sıçanların hipokampus bölgelerinin histolojik özellikleri görülmektedir. Şekil 2A'da Kontrol grubuna kıyasla hipokampal bölgedeki nöronların tam bir görüntüsü görülmektedir. Şekil 2B'de D-GAL grubunda hipokampal bölgede yaygın nöronal dejenerasyon gözlemlenmiştir. Şekil 2C'de D-GAL+YKFR grubunda hipokampal bölgede nöronların tam bir görüntüsü gözlenirken, 2D'de D-GAL+DKFR grubunda hem tam hem de dejeneratif nöronlara rastlanılmıştır.



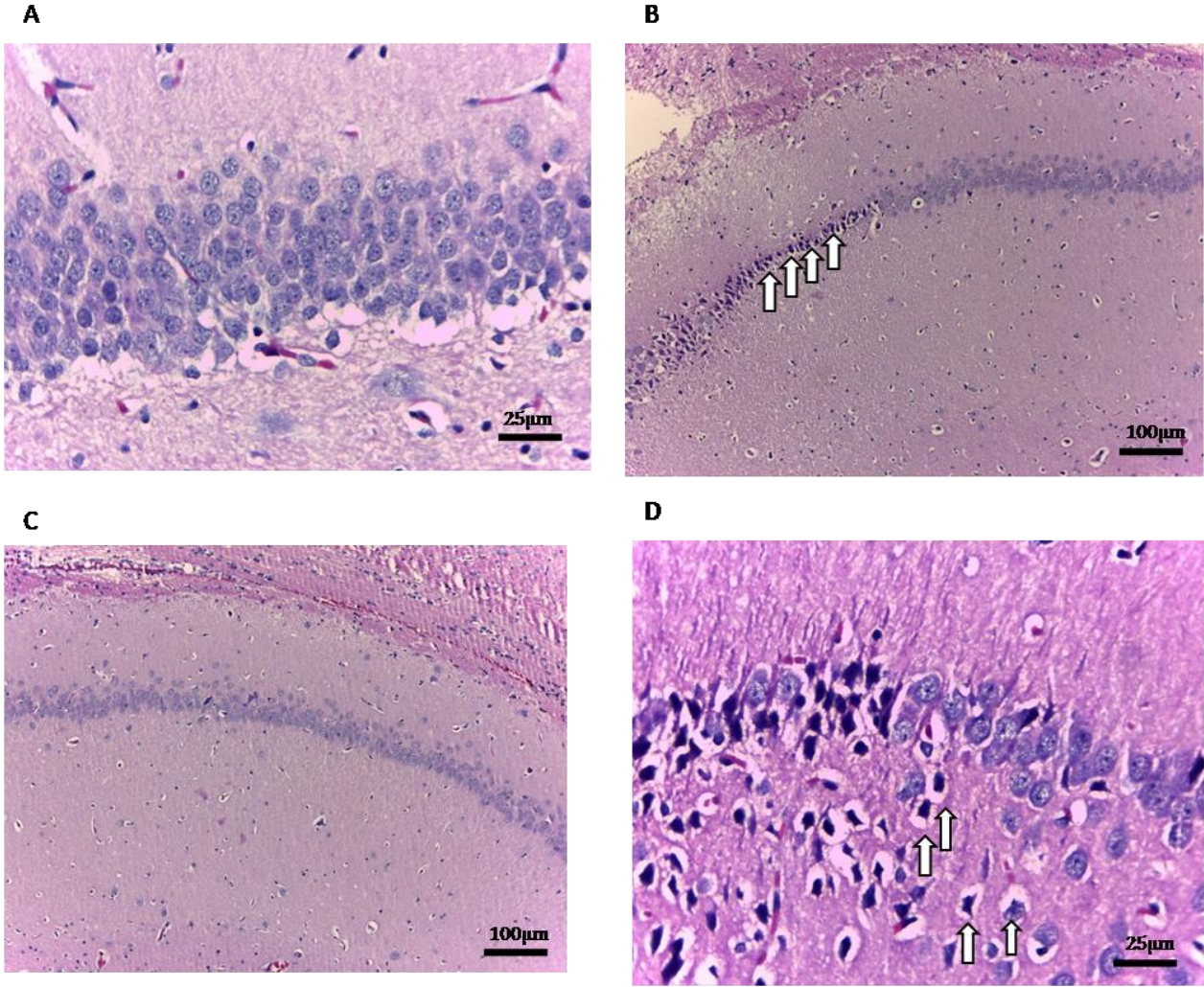
Şekil 1D. Kontrol grubuna kıyasla AChE aktivitesinde D-GAL verilen grupta artış gözlemlendi (^a $p<0.05$). Düşük doz kefir verilen grupta D-GAL verilen gruba kıyasla AChE aktivitesinin azaldığı gözlemlendi (^b $p<0.05$).

4. Tartışma ve Sonuç

Beyin; yüksek metabolik aktivite, yüksek lipid içeriği ve antioksidan savunma mekanizmalarının sınırlı olması nedeni ile oksidatif hasara çok duyarlı bir organdır [22]. D-GAL verilerek yapılan çalışmalarda beyin LPO seviyelerinin arttığı ve bu durumun antioksidan sistemlerdeki azalma ile birlikte DNA hasarına yol açtığı gösterilmiştir [22-26]. Normal fizyolojik koşullarda sağlıklı insanlarda ve diğer organizmalarda serbest radikal oluşumu ve antioksidanlar arasında bir denge vardır. Fakat yaşlanma sürecinde bu denge bozulur, serbest radikal oluşumu artabilir ve antioksidan savunma sistemi kademeli olarak etkinliğini kaybedebilir [27]. Yapılan çalışmalarda nöronlardaki oksidatif stresin Alzheimer hastalığının patogenezinde önemli olduğu belirtilmiş, antioksidanlar ve serbest radikallere karşı etkili bileşiklerin A β bağımlı nörotoksiteyi ve bilişsel fonksiyonları geliştirdiği gösterilmiştir [28, 29]. D-GAL ile işlem görmüş sıçanlarda hipokampusdaki astrositlerin ve kolinerjik nöronların yapısal ve biyokimyasal değişikliklere maruz kaldığı görülmüştür [30-33].

Çoban ve ark., (2014) [34] yaptığı çalışmaya benzer şekilde, bizim sonuçlarımız da D-GAL verilen grupta kontrol grubuna kıyasla beyin homojenatlarında GSH düzeyleri ve SOD aktivitelerinde istatistiksel olarak bir azalma, LPO düzeylerinde ve AChE aktivitelerinde ise bir artış olduğunu gösterdi (Şekil 1 A, B, C, D).

Sağlık üzerine olan faydalarından ve hastalıkları önleme özelliklerinden dolayı kefir oldukça önemli bir diyet ürünü haline gelmektedir [16, 18, 34, 35]. Bu gün kefir kolaylıkla marketlerden elde edilmekte ve insan diyetine kolayca adapte edilebilen çeşitli formlarda ticari olarak satılmaktadır. Kefirin hücrelerarası ve hücre içi iletişimde önemli biyoaktif moleküller olan peptitler, polisakkaritler ve sfingolipitler ile ilişkisinin keşfedilmesi; kefirin hücre



Şekil 2. Sıçanların beyin hipokampus bölgelerinin görüntüsü (H&E) **(A)** Kontrol grubunda hipokampal bölgedeki nöronların eksiksiz görüntüsü. **(B)** D-GAL verilen grupta, hipokampal bölgedeki nöronal dejenerasyon **(C)** D-GAL+YKFR grubunda, hipokampal bölgedeki nöronların tam, eksiksiz varlığı **(D)** D-GAL+DKFR grubunda, hipokampal bölgede tam ve dejeneratif nöronlar.

proliferasyonu ve apoptoz sürecinde koruyucu etki gösterdiği ve çeşitli kanser türlerinde anti-kanserojen etkileri bulunduğu saptanmıştır [36, 37].

Yapılan çalışmalar serotonin öncü molekülü olan ve 5-hidroksi triptamin (5-HT) sentezi için substrat özelliği gösteren triptofanın kefirdeki esas aminoasitlerden biri olduğunu göstermektedir. Aynı zamanda triptofanın hafızadan sorumlu olan nöronları koruduğu da bilinmektedir [34, 38-41]. Her ne kadar mekanizma tam olarak bilinmese de, günlük fermente süt ürünleri tüketiminin beyinde A β patolojisinin azalması ve mikroglyal aktivitelerin artmasına yönelik katkıları olduğu gösterilmektedir [41].

Bu çalışmada, Diniz ve ark., (2014) [35] referans alınarak, 8 hafta süre ile D-GAL ile uyarılmış sıçanlarda kefirin etkileri değerlendirildi. Bu aşamada 70 kg'lık bir insanın (erkek) günlük 200 ml (düşük doz) ve 1000 ml (5 kat yüksek doz) kefir tüketimine

denk gelen düşük doz (0.7 ml/gün) ve yüksek doz (3.5 ml/gün) olacak şekilde sıçanlara iki ayrı doz uygulandı. 8 hafta sonunda D-GAL grubuna kıyasla kefir gruplarında GSH düzeylerinde ve SOD aktivitelerinde artış, AChE aktiviteleri ve LPO düzeylerinde ise anlamlı bir azalma gözlemlendi. Daha önce yapılan çalışmalarda, Alzheimer hastalığının tedavisinde farmakoterapi amaçlı kullanılan ilaçlardan bir grup olan AChE inhibitörlerinin kolinerjik sinapslardaki asetilkolin miktarını artırarak kolinerjik nörotransmisyonu güçlendirdiği gösterilmiştir [42-45]. Çalışmamızda elde edilen verilere göre kefir verilen yaşlanma modelinin oluşturulduğu gruplarda yapılan çalışmaları destekler niteliktedir. Bu da kefirin AChE inhibitör benzeri bir etki gösterebileceğini düşündürmektedir.

Bununla beraber, kefirin anti-mutajenik, anti-inflamatuvar, anti-oksidan aktivite ve anti-diyabetik etkilerine ilişkin çok fazla çalışma yapılmasına rağmen, yaşlanma ve buna bağlı olarak gelişen

önemli bir halk sağlığı sorunu olan Alzheimer hastalığının tedavisini destekleyici yönde bir çalışma, bilginiz dâhilinde literatürde yer almamaktadır. Kefirin bu özelliği literatüre bu çalışma ile ilk kayıt olacaktır.

Ayrıca çalışmamızda KONT+DKFR grubunda MDA düzeylerindeki artışın literatürde kefirin beyin dokusu ve oksidatif stres ile ilişkisi üzerine bir çalışma yer almadığı ve mekanizmada tam olarak bilinmediği için DKFR'in sağlıklı bireylerde GSH düzeyleri üzerine olumlu etkiler göstermesine karşın lipid peroksidasyonunu düşürmek için yeterli gelemediği kanısındayız.

Çalışmamızda yaşlanma sürecinde görülen oksidatif stres üzerine kefirin her iki dozunun da olumlu etkileri olduğunu tespit edildi. Bu doğrultuda kefirin yaşlı bireylerde anti-oksidan ve sinir hücrelerini koruyucu yönde etkilerinin olduğu ve diyetle eklenmesinin faydalı olacağı düşünülmektedir.

Teşekkür

Üsküdar Üniversitesi Nöropsikofarmakoloji Merkezi ve Bahçeşehir Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Bölümü'ne katkılarından ötürü teşekkür ederim. Bu çalışma TÜBİTAK'ın 1919B011601462 no'lu projesi tarafından desteklenmiştir.

Kaynakça

- [1] Harman, D., 1972. The biologic clock: The mitochondria? *Journal of the American Geriatrics Society*, 20,(1972), 145-147.
- [2] Amaral, S. and Ramalho-Santos, J., 2009. Aging, mitochondria and male reproductive function. *Current Aging Sciences*, 2, (2009), 165-173.
- [3] Aoi, S. and Sakuma, K., 2011. Oxidative stress and skeletal muscle dysfunction with aging. *Current Aging Sciences*, 4, (2011), 101-109.
- [4] Çakatay, U., 2010. Protein redox-regulation mechanisms in aging. In: *Aging and Age-Related Disorders*. Eds. Bondy, S. C, Maise, K., Springer Science Business Media, (2010), 1-24.
- [5] Ruan, Q., Liu, F., Gao, Zhanjuan., Kong, D., Hu, X., Shi, D., Bao, Z., Yu, Z., 2013. The anti-inflammatory and hepatoprotective effects of huperzine A in D-galactose-treated rats. *Mechanisms of Ageing and Development*, (2013), <http://dx.doi.org/10.1016/j.mad.2012.12.005>
- [6] Zhang, Z. F., Fan, S. H., Zheng, Y. L., Lu, J., Wu, D. M., Shan, Q., Hu, B., 2009. Purple sweet potato color attenuates oxidative stress and inflammatory response induced by D-galactose in mouse liver. *Food and Chemical Toxicology*, 47(2), (2009), 58-64.

- [7] Kumar, A., Prakash, A., Dogra, S., 2010. Naringin alleviates cognitive impairment, mitochondrial dysfunction and oxidative stress induced by D-galactose in mice. *Food and Chemical Toxicology*, 48(2), (2010), 626-632.
- [8] Kumar, A., Prakash, A., Dogra, S., 2011. Centella asiatica attenuates D-galactose-induced cognitive impairment, oxidative and mitochondrial dysfunction in mice. *International Journal of Alzheimer's Disease*, (2011), doi.10.4061/2011/347569. Epub 2011 Apr 19.
- [9] Lai, K., Elsas, L. J., Wierenga, K. J., 2009. Galactose toxicity in animals. *International Union of Biochemistry and Molecular Biology Life*, 61, (2009), 1063-1074.
- [10] Zhong, S. Z., Ge, Q. H., Qu., R., Li, Q., Ma, S. P., 2009. Paeonol attenuates neuro-toxicity and ameliorates cognitive impairment induced by D-galactose in ICR mice. *Journal of the Neurological Sciences*, 277, (2009), 58-64.
- [11] Baynes, W. J., 2001. The role of AGEs in aging: causation or correlation. *Experimental Gerontology*, 36, (2001), 1527-1537.
- [12] Güven, M., Akman, T., Yener, A. U., Sehitoglu M. H., Yuksel, Y., Cosar, M., 2015. The neuroprotective effect of kefir on spinal cord ischemia/reperfusion injury in rats. *Journal of Korean Neurosurgical Society*, 57(5), (2015), 335-341.
- [13] Mainville, I., Robert, N., Lee, B., Farnworth, E. R., 2006. Polyphasic characterization of the lactic acid bacteria in kefir. *Systematic and Applied Microbiology*, 29, (2006), 59-68.
- [14] Chen, T. H., Wang, S. Y., Chen, K. N., Liu, J. R., Chen, M. J., 2009. Microbiological and chemical properties of kefir manufactured by entrapped microorganisms isolated from kefir grains. *Journal of Dairy Science*, 92, (2009), 3002-3013.
- [15] Rodrigues, K. L., Caputo, L. R., Carvalho, J. C., Evangelista, J., Schneedorf J. M., 2005. Antimicrobial and healing activity of kefir and kefir extract. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 25, (2005), 404-408.
- [16] Güzel-Seydim, Z. B., Kök-Taş, T., Greene, A. K., Seydim, A. C., 2011. Review: functional properties of kefir. *Critical Reviews Food Science and Nutrition*, 51, (2011), 261-268.
- [17] Kanbak, G., Uzuner, K., Kuşat, O. I. K., Oğlakçı, A., Kartkaya, K., Şentürk, H., 2014. Effect of kefir and low-dose aspirin on arterial blood pressure measurements and renal apoptosis in unihypertensive rats with 4 weeks salt diet. *Clinical and Experimental Hypertension*, 36, (2014), 1-8.

- [18] Liu, J. R., Chen, M. J., Lin, C. W., 2005. Antimutagenic and antioxidant properties of milk-kefir and soymilk-kefir. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, (2005), 2467-2474.
- [19] Punaro, G. R., Maciel, F. R., Rodrigues, A. M., Rogero, M. M., Bogsan, C. S., Oliveira, M. N., Ihara, S. S., Araujo, S. R., Sanches, T. R., Andrade, L. C., Higa, E. M., 2014. Kefir administration reduced progression of renal injury in STZ-diabetic rats by lowering oxidative stress. *Nitric Oxide*, 37, (2014), 53-60.
- [20] Beutler, E., Duron, O., Kelly, B. M., 1963. Improved method for the determination of blood glutathione. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 61, (1963), 882-888.
- [21] Yagi, K., 1984. Assay for blood plasma or serum. *Methods in Enzymology*, 105, (1984), 328-331.
- [22] Tsai, S. J., Yin, M. C., 2012. Anti-oxidative, anti-glycative and anti-apoptotic effects of oleanolic acid in brain of mice treated by D-galactose. *European Journal of Pharmacology*, 689, (2012), 81-88.
- [23] Banji, D., Banji, O. J. F., Dasaroju, S., Kumar, K., 2013. Curcumin and piperine abrogate lipid and protein oxidation induced by galactose in rat brain. *Brain Research*, 1515, (2013), 1-11.
- [24] Ho, S. C., Liu, J. H., Wu, R. Y., 2003. Establishment of the mimetic aging effect in mice caused by D-galactose. *Biogerontology*, 4, (2003), 15-18.
- [25] Navarro, A., Gomez, C., Lopez-Cepero, J. M., Boveris, A., 2004. Beneficial effects of moderate exercise on mice aging: survival, behavior, oxidative stress, and mitochondrial electron transfer. *American Journal of Physiology Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, 286(3), (2004), R505-511.
- [26] Dkhar, P., Sharma, R., 2010. Effect of dimethylsulphoxide and curcumin on protein carbonyls and reactive oxygen species of cerebral hemispheres of mice as a function of age. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 28, (2010), 351-357.
- [27] Agostinho, P., Cunha, R. A., Oliveira, C., 2010. Neuroinflammation, oxidative stress and the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Current Pharmaceutical Design*, 16, (2010), 2766-2778.
- [28] Kasapoglu, M. and Ozben, T., 2001. Alterations of antioxidant enzymes and oxidative stress markers in aging. *Experimental Gerontology*, 36, (2001), 209-220.
- [29] Avila, J., Insausti, R., 2010. Memory and neurogenesis in aging and Alzheimer's disease. *Aging and Disease*, 1(1), (2010), 30-36.
- [30] Fernández, P. L., Britton, G. B., Rao, K. S., 2013. Potential immunotargets for Alzheimer's disease treatment strategies. *Journal of Alzheimers Disease*, 33, (2013), 297-312.
- [31] Stewart, W. F., Kawas, C., Corrada, M., Meter, E. J., 1997. Risk of Alzheimer's disease and duration of NSAID use. *Neurobiology*, 48, (1997), 626-632.
- [32] Aguzzi, A., Barres, B. A., Bennett, M. L., 2013. Microglia: scapegoat, saboteur, or something else? *Science*, 339, (2013), 156-161.
- [33] Yasuhisa, A., Makiko, O., Toshiko, K., Shinya, S., Kazuyuki, U., Aruto, Y., Hiroyuki, N., 2015. Preventive effects of a fermented dairy product against Alzheimer's disease and identification of a novel oleamide with enhanced microglial phagocytosis and anti-inflammatory activity. *PLoS One*, 10(3), (2015), 1-16.
- [34] Çoban, J., Doğan-Ekici, I., Aydın A. F., Betül-Kalaz, E., Doğru- Abbasoğlu, S., Uysal M., 2014. Blueberry treatment decreased D- galactose-induced oxidative stress and brain damage in rats. *Metabolic Brain Disease*, 30, (2014), 793-802.
- [35] Diniz, R. D., Gouveia, P. M. C., Pérez, B. T., Vega, C. E., Sánchez, M. L., Mancebo, D. B., Chong, D. D., Espinosa, C. I., Marcin, G. K. L, Fortes, F. C. L., 2014. Evaluation of the subchronic toxicity of kefir by oral administration in Wistar rats. *Nutrition Hospital*, 29(6), (2014), 1352-1359.
- [36] Garrote, G. L., Abraham, A. G., De Antoni, G. L., 2001. Chemical and microbiological characterisation of kefir grains. *Journal of Dairy Research*, 68, (2001), 639-652.
- [37] Chen, C., Chan, H. M., Kubow, S., 2007. Kefir extracts suppress in vitro proliferation of estrogen-dependent human breast cancer cells but not normal mammary epithelial cells. *Journal of Medicinal Food*, 10(3), (2007), 416-422.
- [38] Ghoneum, M., Gimzewski, J., 2014. Apoptotic effect of a novel kefir product, PFT, on multidrug-resistant myeloid leukemia cells via a hole-piercing mechanism. *International Journal of Oncology*, 44, (2014), 830-837.
- [39] Otlés, S., Cagindi, O. E., 2003. Kefir: A probiotic dairy-composition, nutritional and therapeutic aspects. *Pakistan Journal of Nutrition*, 2, (2003), 54-59.
- [40] Noori, N., Bangash, M. Y., Motaghinejad, M., Hosseini, P., Noudoost, B., 2014. Kefir protective effects against nicotine cessation-induced anxiety and cognition impairments in rats. *Advanced Biomedical Research*, 3, (2014), 251.

- [41] Harvey, J. A., 2003. Role of serotonin 5-HT(2A) receptor learning. *Learning & Memory*, 10, (2003), 355-362.
- [42] Haider, S., Khaliq, S., Haleem, D. J., 2007. Enhanced serotonergic neurotransmission in the hippocampus following typtophan administration improves learning acquisition and memory consolidation in rats. *Pharmacology Reports*, 59, (2007), 53-57.
- [43] Özkay, Ü. D., Öztürk, Y., Can, Ö. D., 2011. Yaşlanan dünyanın hastalığı: Alzheimer hastalığı. *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 18(1), (2011), 35-42.
- [44] Lleo, A., Greenberg, S. M., Growdon, J. H., 2006. Current pharmacotherapy for Alzheimer's disease. *Annual Review of Medicine*, 57, (2006), 513-533.
- [45] Friedlander, A. H., Nerman, D. C., Mahler, M. E., Norman, K. M., Yagiela, J. A., 2006. Alzheimer's disease: psychopathology, medical management and dental implications. *Journal of the American Dental Association*, 137(9), (2006), 1240-1251.