



T.C.
MUŞ ALPARSLAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**GENÇ KAN PLAZMA UYGULAMASININ
ORTA YAŞLI RATLARDA DİSBIYOZİS ve
PATOJEN YANITTA ROL ALAN BAĞIRSAK
DOKUSU GEN EKSPRESYONU ÜZERİNDEKİ
ETKİSİ**

Aslıhan ZAVALLIOĞLU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyoloji Anabilim Dalı

Ekim-2023
MUŞ
Her Hakkı Saklıdır



T.C.
MUŞ ALPARSLAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GENÇ KAN PLAZMA UYGULAMASININ
ORTA YAŞLI RATLARDA DİSBIYOZİS ve
PATOJEN YANITTA ROL ALAN BAĞIRSAK
DOKUSU GEN EKSPRESYONU ÜZERİNDEKİ
ETKİSİ

Aslıhan ZAVALLIOĞLU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğretim Üyesi Taha CEYLANI

İkinci danışman: Dr. Öğr. Üyesi Hikmet Taner TEKER

Ekim-2023
MUŞ
Her Hakkı Saklıdır

TEZ KABUL ve ONAYI

Aslıhan ZAVALLIOĞLU tarafından hazırlanan “Genç Kan Plazma Uygulamasının Orta Yaşlı Ratlarda Disbiyozis ve Patojen Yanıtta Rol Alan Bağırsak Dokusu Gen Ekspresyonu Üzerindeki Etkisi ” adlı tez çalışması 23/10/2023 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Muş Alparslan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Başkan

Dr. Öğr. Üyesi Hüseyin ALLAHVERDİ
Muş Alparslan Üniversitesi, Fen Edebiyat
Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü

.....

Danışman

Dr. Öğretim Üyesi Taha CEYLANI
Muş Alparslan Üniversitesi, Teknik Bilimler
Meslek Yüksek Okulu, Gıda İşleme Bölümü

.....

Üye

Doç. Dr. Rafiq Gurbanov
Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi
Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü

.....

Yukarıdaki sonuç;
Enstitü Yönetim Kurulu/...../..... Tarih ve/..... nolu kararı
ile onaylanmıştır.

Doç. Dr. Selçuk SAĞIR
FBE Müdürü

Bu tez çalışması Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) birimi tarafından BAP-23TBMYO-4902-03 nolu proje ile desteklenmiştir.

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

İmza

Aslıhan ZAVALLIOĞLU

Tarih: 23/10/2023

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GENÇ KAN PLAZMA UYGULAMASININ ORTA YAŞLI RATLARDA DİSBIYOZİS ve PATOJEN YANITTA ROL ALAN BAĞIRSAK DOKUSU GEN EKSPRESYONU ÜZERİNDEKİ ETKİSİ

Aslıhan ZAVALLIOĞLU

Muş Alparslan Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğretim Üyesi Taha CEYLANI

Yaşlanmayla birlikte bağırsak mikrobiyotasında disbiyozis meydana gelmektedir. Ayrıca bağırsak dokusundaki deformasyonlar bağırsak epitel hücreleri tarafından patojen yanıtta rol alan genlerin ekspresyonunun azalmasına neden olmaktadır. Bu durum ise bağırsak geçirgenliği, enflamatuvar bağırsak hastalıkları, doku ve organlarda kronik iltihaplanmanın meydana gelmesi gibi birçok rahatsızlıkla birlikte davranışsal ve bilişsel durumlar üzerinde de etki gösterebilmektedir. Dolayısıyla özellikle yaşlanmayla birlikte meydana gelen disbiyozu geri çevirebilecek ve patojen yanıtta rol alan genlerin ifadesinin düzenlenmesinde rol alabilecek farklı biyolojik yaklaşımlar oldukça önem kazanmaktadır. Genç kan plazma uygulamasının işaret edilen sorunların giderilmesinde alternatif bir tedavi yöntemi olarak kullanılabilme potansiyeline sahip olduğu görülmektedir. Bu doğrultuda gerçekleştirilen bu tez çalışmasının amacı genç plazma transferinin yaşlı bağırsak mikrobiyotası ve patojen yanıtta rol alan gen ifadelerinin düzenlenmesi üzerine olan etkilerinin araştırılmasıdır. Bu amaç doğrultusunda 5 haftalık genç erkek Wistar ratlardan alınan kan plazması 12 aylık erkek orta yaşlı Wistar ratlara 30 gün boyunca her bir hayvana 05ml aktarıldı. Plazma transferi sonrasında Kontrol ve deney grubunda bulunan ratlar feda edildi. Feda edilen ratlardan alınan çekuç içeriğine metagenom uygulanarak bağırsak mikrobiyotası profilleri belirlendi. Bağırsak ileum dokularına gerçekleştirilen RNAseq analizi sonrasında önemli derecede arttığı görülen E3 ubiquitin-protein ligase TRIM56, CD209 antigen-like protein C, complement component C7 ve collectin-12 gen ekspresyonlarının arttığı syndecan-1 genlerin artan ve azalan değerleri RT-qPCR yöntemi ile belirlendi. Ayrıntılı metagenom analizi sonrasında, alfa çeşitlilik indeksleri, plazma uygulanan raların mikrobiyotasında kontrol grubuna göre daha fazla bakteri zenginliği göstermiştir. Ek olarak, Firmicutes/Bacteroidetes oranı plazma grubu mikrobiyotasında önemli derecede azalmıştır, bu da genç plazmanın olası gençleştirme özelliklerini doğrulamaktadır. Ayrıca, plazma uygulanan sıçanlarda *Bifidobacterium longum*, *Coprococcus catus* ve *Romboutsia ilealis* türlerinde artmış sayımlar ölçülmüştür. RT-qPCR ile elde sonuçlar RNAseq verileri ile uyumlu şekilde E3 ubiquitin-protein ligase TRIM56, CD209 antigen-like protein C, complement component C7 ve collectin-12 gen ekspresyonlarının öneli derecede arttığını syndecan-1 gen ifadesinin ise azaldığını bulmuştur. Çalışma sonuçları genç plazma transferinin yaşlı bağırsak mikrobiyotasında meydana gelen disbiyozisi geriye doğru çevirilmesinde ve bağırsak dokusunda patojen yanıtta rol alan genlerin düzenlenmesinde önemli derecede rol alabildiğini göstermektedir.

2023, 41 Sayfa

Anahtar Kelimeler: Bağırsak mikrobiyotası; Disbiyozis; Kan plazma değişimi; Antimikrobiyal peptitler.

ABSTRACT

MS THESIS

THE EFFECT OF YOUNG BLOOD PLASMA ADMINISTRATION ON DYSBIOSIS and INTESTINAL TISSUE GENE EXPRESSION INVOLVED IN PATHOGEN RESPONSE IN THE MIDDLE-AGED

Ashhan ZAVALLIOĞLU

**Muş Alparslan University
Natural and Applied Science
Department of Biology**

Advisor: Assist Prof. Taha CEYLANI

Second Advisor: Assist Prof. Taner TEKER

Aging is associated with dysbiosis of the gut microbiota. Additionally, deformations in the intestinal tissue cause a reduction in the expression of genes in intestinal epithelial cells, which play a role in the pathogen response. This situation can have various repercussions, such as increased gut permeability, inflammatory bowel diseases, and chronic inflammation in tissues and organs, and can also affect behavioral and cognitive states. Therefore, various biological approaches that can reverse dysbiosis, especially with aging, and regulate the expression of genes involved in pathogen response are becoming increasingly important. Young blood plasma treatment appears to have the potential to be an alternative treatment method for addressing these problems. The aim of this thesis was to investigate the effects of young plasma transfer on the gut microbiota of the elderly and the regulation of gene expression involved in the pathogen response. To this end, blood plasma taken from 5-week-old male Wistar rats was transferred to 12-month-old middle-aged male Wistar rats, with each animal receiving 0.5 ml over 30 days. After plasma transfer, the rats from both the control and test groups were sacrificed. The cecal contents of the sacrificed rats were subjected to metagenomic analysis to determine the gut microbiota profiles. After RNA-seq analysis of the ileum tissues of the intestines, significant increases in the expression of E3 ubiquitin-protein ligase TRIM56, CD209 antigen-like protein C, complement component C7, and collectin-12 genes, and the increased and decreased values of syndecan-1 genes were determined by RT-qPCR. After detailed metagenome analysis, alpha diversity indices showed greater bacterial richness in the microbiota of plasma-administered rats than in the control group. Additionally, the Firmicutes/Bacteroidetes ratio significantly decreased in the plasma group microbiota, confirming the possible rejuvenating properties of young plasma. Furthermore, increased counts of *Bifidobacterium longum*, *Coprococcus catus*, and *Romboutsia ilealis* were observed in plasma-administered rats. Results obtained from RT-qPCR, consistent with RNAseq data, showed a significant increase in the expression of E3 ubiquitin-protein ligase TRIM56, CD209 antigen-like protein C, complement component C7, and collectin-12 genes, and a decrease in the syndecan-1 gene expression. The study results indicate that young plasma transfer plays a significant role in reversing the dysbiosis that occurs in the gut microbiota of the elderly and in regulating the genes involved in the pathogenic response of intestinal tissue.

2023, 41 Pages

Keywords: Intestinal microbiota; Dysbiosis; Blood plasma exchange; Antimicrobial peptides.

TEŞEKKÜR

Çalışmamın her aşamasında destek olan, bilgi ve deneyimleriyle yol gsteren danışman Hocam Dr. Öğretim Üyesi Taha Ceylani'ye, öğrenim hayatım boyunca beni maddi ve manevi olarak destekleyen ve hep yanımda olan aileme teşekkür ederim.

Aslıhan ZAVALLIOĞLU
MUŞ-2023



İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER ve KISALTMALAR	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
TABLolar DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	2
2.1 Kan Plazması.....	2
2.1.1 Plazma değişimini konu alan ve hayvan modelleri ile yapılan önemli çalışmalar	3
2.2 Bağırsak Mikrobiyotası	13
2.3 Antimikrobiyal Peptitler.....	14
2.4 Bağırsak Epitel Dokusu	17
3. MATERYAL ve YÖNTEM	18
3.1 Hayvan çalışmaları.....	18
3.2 Plazma Toplama ve Hazırlama	18
3.3 Metagenom analizi	18
3.3.1 DNA İzolasyonu.....	18
3.3.2 16S rRNA V3-V4 bölgesinin amplifikasyonu	19
3.3.3 PCR koşulları	19
3.3.4 Kütüphane hazırlığı ve dizileme	19
3.3.5 Ham dizi verilerinin biyoenformatik analizi	19
3.3.6 Shannon ve Simpson çeşitlilik indeksleri	19
3.4 RNAseq analizi belirlenen ve patojen yanıtta rol alan gen ekspresyonların RT-qPCR ile belirlenmesi	20
3.4.1 RNA izolasyonu	20
3.4.2 cDNA sentezi	20
3.4.3 Primer sentezi.....	21
3.4.4 RT-qPCR analizi	21
3.4.5 İstatiksel analizler.....	22
4. BULGULAR	24
4.1 Metagenom analizi	24
4.1.1 Alfa çeşitlilik indeksleri ve Firmicutes/Bacteroidetes (F/B) oranı	24

4.1.2 Baskın bakteri aileleri ve cinslerinin incelenmesi.....	24
4.1.3 Baskın bakteri türlerinin incelenmesi	26
4.2 RT-qPCR analizi	27
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	29
6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER.....	34
KAYNAKLAR	35



SİMGELER ve KISALTMALAR

Simgeler

Ct : Döngü Eşığı (Treshold Cycle)

Kısaltmalar

AMP : Antimikrobiyal Peptit

cDNA : Komplementer DNA

EDTA : Etilen Diamin Tetraasetik

RNAseq : RNA Dizileme

RT-qPCR : Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1 Yaşlanmanın Sistemik Belirtileri (López-Otín ve ark., 2013)	1
Şekil 2.1 Parabiyo. Ortak bir kan akışını paylaşan iki fare birbirine dikilmiştir. İzokronik parabiyo genç-geç veya yaşlı-yaşlı hayvan çiftlerin birbirine bağlanması; heterokronik parabiyo, genç bir farenin cerrahi olarak yaşlı partnerlere bağlanmasıdır (Yacoub ve ark., 2015)	4
Şekil 2.3 Konak Savunma Peptitlerinin fonksiyonları (Raheem ve Straus, 2019).....	15
Şekil 2.4 Antimikrobiyal peptitlerin etki mekanizması(Kumar ve ark., 2018).	16
Şekil 2.5 Bağırsak epitel bariyeri (Schoultz ve Keita Å, 2020)	17
Şekil 4.1 Genç plazma transferinin yaşlı bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkisi. A) Shannon (H) ve B) Simpson (1-D) indeksleri, C) Firmicutes ile Bacteroidetes (F/B) oranı).....	24
Şekil 4.2 Genç plazma transferi sonrasında bağırsak mikrobiyotasında baskın duruma gelen ilk 20 bakteri ailesinin control grubu ile karşılaştırılmasının ısı haritası.	25
Şekil 4.3 Genç plazma transferi sonrasında bağırsak mikrobiyotasında baskın duruma gelen ilk 20 bakteri cinsinin control grubu ile karşılaştırılmasının ısı haritası.	26
Şekil 4.4 Genç plazma transferi sonrasında bağırsak mikrobiyotasında baskın duruma gelen ilk 20 bakteri türünün control grubu ile karşılaştırılmasının ısı haritası.	27
Şekil 4.5 Genç plazma transferi sonrasında E3 ubiquitin-protein ligase TRIM56, CD209 antigen-like protein C, complement component C7 ve collectin-12 ve syndecan-1genlerinin ifade düzeylerinde meydana gelen değişimlerin kontrol (0) ile karşılaştırılması. Plz 1-3 üç farklı tekrarı ifade etmektedir.	28

TABLULAR DİZİNİ

Tablo 3.4.3.1 Gen Bölgelerine Ait Primerler	21
--	----



1. GİRİŞ

Bağırsak mikrobiyotası, bireyin sağlığını ve hastalığını etkileyen, gastrointestinal sistemde bulunan çeşitli ve dinamik mikroorganizma popülasyonu olarak adlandırılabilir. Gastrointestinal sistemin bakteriyel kolonizasyonu doğumla başlar ve yaşam boyunca bakteriyel kolonizasyonun değişim süreci devam eder (Balogun ve ark., 2010). Yaşa bağlı hastalıklar da dahil olmak üzere bağırsak mikrobiyomu ile yaşlanma arasında dinamik ilişki vardır. Yaşlanma, konakçı ve bağırsak komensal mikrobiyotası arasındaki fizyolojik dengenin ilerleyici bir şekilde bozulmasıyla ilişkilidir ve disbiyozu yol açar (Duan ve ark., 2020). Bu bakımdan yaşlanmanın etkilerini tersine çevirebilecek, durdurabilecek veya geciktirebilecek farklı çözümlerin araştırılması önemli bir araştırma alanı olmuştur. Yapılan araştırmalara göre, genomik kararsızlık, telomer aşınması, epigenetik değişiklikler, kontrolsüz besin algılama, kusurlu mitokondriyal fonksiyon, hücresel yaşlanma, kök hücre potansiyeli kaybı ve çarpık hücreler arası sinyalleşmenin yaşlanmanın sistemik dokuz belirtisini ortaya koymuştur (López-Otín ve ark., 2013).



Şekil 1.1 Yaşlanmanın Sistemik Belirtileri (López-Otín ve ark., 2013)

Yapılan araştırmalar genç kan plazmasının yaşlanmaya bağlı gelişen hasarların giderilmesinde kullanılabilir tedavi edici etkiye sahip etkili bir yaklaşım olabileceğini ifade etmektedir. Kan plazması ve serumu, biyolojik ve klinik çalışmalarda yaygın olarak kullanılan matrislerdir (Pandika, 2019).

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1 Kan Plazması

Kan plazması, insan vücudundaki dolaşım sisteminin temel bileşenlerinden biridir ve yaşam için kritik öneme sahiptir. Renksiz ve hafif kırmızımsı-sarı bir sıvı olan plazma, kanın yaklaşık %55'ini oluşturur ve kan hücrelerinin içinde dolaştığı ortamdır (Hall, 2016). Kan plazması, esas olarak su, elektrolitler, proteinler ve çeşitli metabolik atıklar içerir. Su, plazmanın %90'undan fazlasını oluşturarak, diğer bileşenlerin taşınmasına ve vücuttaki kimyasal tepkimelere katılmasına olanak sağlar. Elektrolitler ise, vücudun asit-baz dengesini, osmotik basıncını ve hücreler arası sinyal iletimini düzenlemekte önemli rol oynar. Plazma proteinleri, albümin, globülin ve fibrinojen gibi farklı tiplerde bulunur ve vücudun bağışıklık, koagülasyon ve diğer biyolojik süreçlerinde işlev görür (Butina, 2019).

Kan plazmasının en önemli işlevlerinden biri, solunum, beslenme ve atık atılımı süreçlerine katılarak, vücuttaki hücrelere oksijen ve besin maddelerinin taşınması ve metabolik atıkların uzaklaştırılmasıdır (Hall, 2016). Plazma ayrıca, vücut sıcaklığının düzenlenmesine ve homeostazisin sürdürülmesine yardımcı olur. Hormonlar, enzimler ve diğer sinyal molekülleri gibi biyolojik habercilerin taşınmasında da önemli rol oynar (Barrett, 2019).

Tıbbi açıdan, kan plazması, plazma değişimi ve transfüzyon gibi prosedürlerde kullanılır. Plazma değişimi, hastanın kanının plazmasını, taze donmuş plazma (TDP) veya taze donmuş plazma ürünleri ile değiştirerek, belirli hastalıkların tedavisinde kullanılır (Balogun ve ark., 2010). Bu yöntem, otoimmün hastalıklar, kanama bozuklukları ve sepsis gibi durumlar için etkili olabilir (Zhao ve ark., 2020). Kan transfüzyonu ise, kan kaybı yaşayan veya kan hücrelerinin üretiminde sorunlar olan hastalara uygulanır (Perrotta ve ark., 2003).

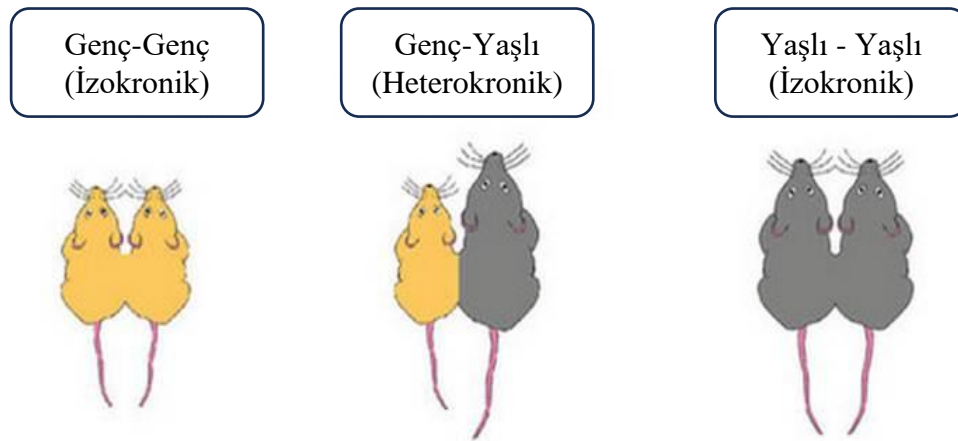
Kan plazması üzerine yapılan araştırmalar, bu bileşenin önemli tıbbi uygulamalara sahip olduğunu göstermektedir. Örneğin, COVID-19 pandemisi sırasında, bazı araştırmacılar, iyileşmiş hastaların kan plazmasının, hastalığa karşı antikolar içerdiği için, şiddetli COVID-19 vakalarını tedavi etmekte potansiyel bir yöntem olduğunu öne sürmüşlerdir (Duan ve ark., 2020). Bu tedavi, bağışıklık sistemi zayıf olan hastalar için özellikle yararlı olabilir (Li ve ark., 2020). Bu ve diğer plazma tedavileri hakkındaki araştırmalar devam etmekte olup, gelecekte daha fazla klinik uygulama ortaya çıkabilir (Bar ve ark., 2021). Kan plazması, aynı zamanda, biyolojik

olarak aktif bileşenlerin elde edilmesi için de kullanılır. Bu bileşenler, ilaç üretiminde, hücre ve doku kültürü uygulamalarında ve diğer biyoteknolojik süreçlerde kullanılır (Gstraunthaler, 2003). Örneğin, büyüme faktörleri, hücrelerin büyüme ve çoğalmasını düzenleyen proteinlerdir ve plazma kaynaklı bu faktörler, doku mühendisliği ve rejeneratif tıp alanlarında değerli materyaller olarak kabul edilir.

Sonuç olarak kan plazması ve plazma kaynaklı ürünler, tıbbi ve biyoteknolojik uygulamalar için değerli kaynaklar olarak kullanılabilir. Bu alanlarda yapılan araştırmalar, yeni ve etkili tedavilerin geliştirilmesine yol açabilir. Ancak, plazma ve plazma ürünlerinin kullanımının etik ve güvenlik endişeleri dikkate alınarak dikkatli bir şekilde yönetilmesi gerekmektedir. Bu, hem hastaların sağlığını korumak hem de yeni tedavilerin ve uygulamaların başarılı bir şekilde uygulanabilmesi için önemlidir.

2.1.1 Plazma değişimini konu alan ve hayvan modelleri ile yapılan önemli çalışmalar

Günümüzde kan plazma uygulaması ile yapılan çalışma sayısı sınırlı olmakla birlikte elde edilen sonuçlar oldukça dikkat çekicidir. Kan plazma uygulamasının ise ününü genç kan plazması uygulamasından aldığı görülmektedir. Özellikle genç kan plazması faktörlerinin yaşlanma üzerindeki etkileri yaşlanma karşıtı araştırmalar için son derece umut verici görünmektedir. Başlarda kan plazma transferinin iki canlı hayvanın dolaşım sisteminin aralarında kan transferi için cerrahi olarak birbirine bağlandığı parabiosis denilen uygulama ile yapılmıştır. Deneysel yaşlanma karşıtı müdahale stratejisi, genç kan kaynaklı faktörlerle uzun süreli tedavinin yaşlılarda gençleşmeyi desteklediği parabiyozy yaklaşımından geliştirilmiştir. Genç parabiyozydaki kan faktörleri, dokuların yenilenmesini artıran yaşlı bir organizmada kas, karaciğer ve/veya nöral kök hücrelerin hücresel yollarını uyarabilmektedir. Bu tarihsel metodoloji daha sonra bilinmeyen nedenlerle 1970'lerden beri terk edilmiştir. Gençleştirici faktörlerin dokuların hasarlarını onarmasına ve doku işlevini geri kazanmasına yardımcı olduğu tespit edilmiştir . Sonradan tamamlanan çalışmalar bu faktörlerin kısmı yaşlanma karşıtı özelliklere sahip olduğunu gösterse de kan plazmasının ilaç amaçlı olarak kullanılabilmesi için daha çok kapsamlı klinik öncesi araştırmaya ihtiyaç duymaktadır (Li ve ark., 2020). Fakat bu alanda tamamlanan önemli çalışmalar da bulunmaktadır;



Şekil 2.1 Parabiyozyun. Ortak bir kan akışını paylaşan iki fare birbirine dikilmiştir. İzokronik parabiyozyun genç-genç veya yaşlı-yaşlı hayvan çiftlerin birbirine bağlanması; heterokronik parabiyozyun, genç bir farenin cerrahi olarak yaşlı partnerlere bağlanmasıdır (Yacoub ve ark., 2015)

Bar ve ark. (2021) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, akut merkezi sinir sistemi iltihaplı demiyelinizan hastalığında plazma değişiminin etkisi incelenmiştir. Araştırmacılar, akut merkezi sinir sistemi iltihaplı demiyelinizan hastalığı olan hastalarda plazma değişiminin etkinliğini değerlendirmek için randomize bir klinik deney tasarlamışlardır. Bu çalışmanın amacı, plazma değişiminin bu hastalarda semptomların düzelmesine katkıda bulunup bulunmadığını ve bu tedavinin güvenli olup olmadığını belirlemektir. Çalışma sonucunda, plazma değişimi alan hastaların kısa vadeli iyileşme oranlarının, plazma değişimi almayanlara kıyasla anlamlı derecede daha yüksek olduğu bulunmuştur. Bununla birlikte, tedavinin uzun vadeli etkileri açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır. Bu çalışma, akut merkezi sinir sistemi iltihaplı demiyelinizan hastalığında plazma değişiminin kısa vadeli iyileşmeye katkıda bulunabileceğini göstermektedir. Ancak, bu tedavinin uzun vadeli etkileri hakkında daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir.

Conboy ve ark. (2005) tarafından yapılan çalışmada, yaşlanan dokuların rejeneratif potansiyelindeki azalmanın yaşa bağlı doku özgü kök hücrelerdeki değişiklikler nedeniyle olabileceğini öne sürmektedir. Bu bağlamda, araştırmacılar genç ve yaşlı fareler arasında heterokronik parabiyozyunlar (ortak bir dolaşım sistemi) oluşturarak, yaşlı fareleri genç serumdaki faktörlere maruz bıraktılar. Çalışma sonuçları, heterokronik parabiyozyunun yaşlı uydu hücrelerinde Notch sinyalleme aktivasyonunu, hücre çoğalmasını ve rejeneratif kapasiteyi önemli ölçüde iyileştirdiğini göstermektedir. Ayrıca, yaşlı farelerin uydu hücrelerine genç serumun etkisi, Notch bağlantılı (Delta) gen ekspresyonunu, Notch aktivasyonunu ve in vitro çoğalmayı artırdı. Bunun yanı sıra, heterokronik parabiyozyunun yaşlı hepatositlerin çoğalmasını artırdığı ve cEBP-alfa

kompleksini genç hayvanlarda görülen seviyelere geri getirdiği tespit edilmiştir. Bu bulgular, progenitör hücre aktivitesindeki yaşa bağlı düşüşün, yaşla değişen sistemik faktörlerle düzenlenebileceğini göstermektedir. Bu çalışma, yaşlanan dokuların fonksiyonlarını iyileştirme potansiyeline sahip genç plazma kullanımıyla ilgili önemli bir bilgi sağlamaktadır.

Liu ve ark. (2018) tarafından yapılan "The ageing systemic milieu negatively regulates neurogenesis and cognitive function" başlıklı bir çalışmada, yaşlanan sistemik ortamın sinir hücresi oluşumunu (neurogenesis) ve bilişsel işlevleri olumsuz yönde etkilediği incelenmiştir. Bu araştırmada, yazarlar yaşlı ve genç fareler arasında heterokronik parabiyoetik bağlantılar oluşturarak, yaşlanma sürecinde sistemik faktörlerin beyin fonksiyonları üzerindeki etkisini incelemiştir. Çalışmada, yaşlı farelerin genç farelerle birleştirilmesiyle, yaşlı farelerde sinir hücresi oluşumunun arttığı ve bilişsel işlevlerin iyileştiği gözlemlenmiştir. Öte yandan, genç farelerin yaşlı farelerle birleştirilmesi durumunda, genç farelerde sinir hücresi oluşumunun azaldığı ve bilişsel işlevlerin kötüleştiği bulunmuştur. Bu sonuçlar, yaşlanan sistemik ortamın beyin fonksiyonlarını olumsuz yönde etkileyebileceğini ve yaşlanma ile ilişkili bilişsel düşüşe katkıda bulunabileceğini göstermektedir.

Ding ve Kopchick (2011) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, yaşlanma sürecine ilişkin farelerde plazma biyobelirteçleri araştırılmıştır. Araştırmacılar, farklı yaşlardaki farelerin plazma örneklerini kullanarak, yaşlanma süreciyle ilişkili biyobelirteçlerin profilini çıkarmaya çalışmışlardır. Bu çalışma, yaşlanmanın moleküler mekanizmalarını anlamak ve yaşlanma sürecine ilişkin biyobelirteçlerin belirlenmesine yardımcı olmak amacıyla yapılmıştır. Çalışmada, yaşlanma sürecine ilişkin fare plazmasındaki potansiyel biyobelirteçler, oksidatif stres, inflamasyon, hormon düzeyleri ve metabolik süreçlerle ilişkilendirilmiştir. Ayrıca, bu biyobelirteçlerin yaşlanma sürecini anlamak ve yaşlanma ile ilişkili hastalıkların erken teşhis ve tedavisi için potansiyel araçlar olarak kullanılabilirliği belirtilmiştir.

Loffredo ve ark. (2013) tarafından yapılan bir çalışmada, büyüme diferansiyasyon faktörü 11'in (GDF-11) yaşla ilişkili kardiyak hipertrofiyi tersine çeviren dolaşımdaki bir faktör olduğu incelenmektedir. Araştırmacılar, yaşlanma sürecinde kalbin büyümesi ve fonksiyonlarının azalmasına yol açan kardiyak hipertrofinin, yaşlanan bireylerde kalp hastalığı riskini artıran önemli bir faktör olduğunu belirtmektedirler. Bu çalışmada, fare modellerinde genç ve yaşlı bireyler arasında parabiyoetik bağlantılar oluşturulmuştur. Bu bağlantılar sayesinde, genç ve yaşlı

farelerin dolaşım sistemleri ortak hale getirilmiştir. Araştırmacılar, yaşlı farelerin kalplerindeki hipertrofinin, genç farelerden alınan GDF-11 ile tedavi edildiğinde önemli ölçüde azaldığını tespit etmişlerdir. Bu bulgular, GDF-11'in yaşla ilişkili kardiyak hipertrofiyi tersine çevirebilecek potansiyel bir terapötik hedef olduğunu göstermektedir. Bu çalışma, yaşlanma süreci ve kalp hastalıklarıyla ilgili mekanizmaların daha iyi anlaşılmasına katkı sağlamaktadır.

Xu ve ark. (2019) tarafından yapılan bir çalışmada, hipotalamik programlamanın yaşlanmayı IKK- β , NF- κ B ve GnRH içeren mekanizmalar aracılığıyla nasıl etkilediği araştırılmıştır. Bu çalışma, yaşlanma sürecinin sistemik düzeyde düzenlenmesinde hipotalamusun kritik bir rol oynadığını öne sürmektedir. Araştırmacılar, fare modelleri kullanarak, hipotalamusta yaşlanma ile ilişkili inflamasyonun arttığını ve bu inflamasyonun IKK- β ve NF- κ B yollarını aktive ederek yaşlanma sürecini hızlandığını tespit etmişlerdir. Bu süreçte, gonadotropin salgılayan hormon (GnRH) seviyelerinde azalma gözlenmiştir. İlginç bir şekilde, yaşlanan farelere GnRH tedavisi uygulandığında, yaşlanma belirtileri azalmış ve yaşam süresi uzamıştır. Bu çalışma, yaşlanma sürecinin moleküler düzeyde nasıl düzenlendiğine dair önemli bilgiler sunmaktadır. Hipotalamusun yaşlanma sürecinde kilit bir rol oynadığı ve inflamasyonun bu süreci hızlandığı gösterilmiştir. Ayrıca, GnRH'nin yaşlanmayı tersine çevirebilecek potansiyel bir bileşen olduğu düşünülmektedir.

Elabd ve ark. (2014) tarafından yapılan bir çalışmada, oksitosin hormonunun yaşa bağlı olarak dolaşan bir hormon olduğu ve kasların korunması ve yeniden oluşumu için gerekli olduğu incelenmiştir. Bu çalışmada, yazarlar, yaşlanma süreci boyunca oksitosinin dolaşımdaki düzeylerinin azaldığını ve bu azalmanın kas fonksiyonlarında bozulmaya yol açabileceğini ortaya koymuştur. Bu bulgular, oksitosinin yaşlanan kasların rejenerasyon kapasitesini önemli ölçüde etkileyebileceğine işaret etmektedir. Ayrıca, çalışma, yaşlanan farelerde oksitosin tedavisi uygulandığında, kas fonksiyonlarında ve rejenerasyon kapasitesinde önemli iyileşmeler gözlemlendiğini göstermiştir. Bu sonuçlar, oksitosinin kas yaşlanması ve tedavisi üzerindeki etkilerini daha iyi anlamamıza yardımcı olabilir ve yaşlanmayı önlemeye veya tersine çevirmeye yönelik tedavilerin geliştirilmesine katkıda bulunabilir. Bu çalışma, oksitosinin yaşlanan kasların korunması ve yeniden oluşumu için önemli bir bileşen olduğunu göstererek, yaşlanma sürecinin daha iyi anlaşılmasına önemli bir katkı sağlamaktadır.

Villeda ve ark. (2014) tarafından yapılan bir çalışmada, genç kanın yaşla ilişkili bilişsel işlev bozukluklarını ve farelerdeki sinaptik plastisiteyi tersine çevirdiği

gösterilmiştir. Bu araştırmada, yazarlar yaşlı farelerin kan plazmasına genç farelerden alınan plazma enjekte ederek, yaşlı farelerde bilişsel işlevler ve sinaptik plastisite üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Çalışma sonucunda, yaşlı farelere genç plazmanın enjekte edilmesiyle bilişsel işlevlerde iyileşme ve sinaptik plastisitede artış gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar, genç kanın yaşlanma ile ilişkili bilişsel düşüşü ve sinaptik plastisite kaybını tersine çevirebileceğini göstermektedir. Bu çalışma, genç kanın yaşlanmayı önlemeye veya tersine çevirmeye yönelik tedavilerin geliştirilmesinde önemli bir rol oynayabileceğini göstermektedir.

Katsimpardi ve ark. (2014) tarafından yapılan çalışmada, genç sistemik faktörlerin yaşlı fare beyinlerinde vasküler ve nörojenik yeniden canlanmayı teşvik ettiği gösterilmiştir. Bu çalışmada, araştırmacılar genç ve yaşlı fareler arasında yapılan parabiyoetik eşleşmeler (ortak bir dolaşım sistemine sahip olma) sayesinde, yaşlı farelerin beyinlerindeki vasküler ve nörojenik yapıları incelemişlerdir. Genç farelerden alınan sistemik faktörlerin yaşlı farelerin beyinlerine uygulanması, yaşlı farelerde hem vasküler yapıda hem de nörojenik aktivitede belirgin bir iyileşmeye yol açmıştır. Bu sonuçlar, genç sistemik faktörlerin yaşlı fare beyinlerinde vasküler ve nörojenik yapıların iyileşmesine ve yeniden canlanmasına katkıda bulunduğunu göstermektedir. Bu tür faktörlerin yaşlanma sürecini tersine çevirme ve yaşlanma ile ilişkili beyin fonksiyonlarını iyileştirme potansiyeli, yaşlanma ile ilişkili nörodejeneratif hastalıkların tedavisine yönelik yeni stratejilerin geliştirilmesine önemli bir katkı sağlamaktadır.

Baht ve ark. (2015) tarafından yapılan çalışmada, genç kan dolaşımına maruz kalmanın, β -katenin modülasyonu aracılığıyla kemik onarımını yenilediği gösterilmiştir. Bu çalışma, yaşlı kemiklerin genç bir dolaşımına maruz kalmasının, kemik onarım sürecini iyileştirebileceği hipotezini incelemeyi amaçlamaktadır. Araştırmacılar, yaşlı ve genç fareler arasında parabiyoetik eşleşmeler (paylaşılan bir dolaşım sistemi) kurarak, yaşlı farelerin genç serumdaki faktörlerle maruz kalmasını sağlamışlardır. Bu maruziyetin sonucunda, yaşlı farelerde kemik onarımının önemli ölçüde iyileştiği ve bu süreçte β -katenin sinyal yolunun modüle edildiği gözlemlenmiştir. Sonuç olarak, bu çalışma, genç bir dolaşımına maruz kalmak suretiyle yaşlanan kemiklerdeki onarım süreçlerinin iyileştirilebileceğini ve bu etkinin β -katenin modülasyonu aracılığıyla gerçekleştiğini göstermektedir.

Smith ve ark. (2015) tarafından yapılan çalışmada, β 2-mikroglobulinin (β 2M) sistemik bir yaşlanma faktörü olduğu ve bilişsel işlev ile nörojenik üzerinde olumsuz etkiler yarattığı ortaya konulmuştur. Bu çalışma, yaşlanma sürecinde bilişsel işlev ve

nörogenez üzerinde olumsuz etkiler yaratan potansiyel faktörlerin incelenmesine odaklanmaktadır. Araştırmacılar, β 2M'nin yaşlanan farelerin dolaşımında yüksek düzeylerde bulunduğunu ve bu proteinin nörogenezdeki azalmaya ve bilişsel işlevdeki bozulmaya katkıda bulunduğunu göstermişlerdir. Bu etkiler, β 2M'nin yaşlı farelerin dolaşımından uzaklaştırılması veya genç farelerin dolaşımına eklenmesiyle tersine çevrilebilir olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak, bu çalışma β 2-mikroglobulinin yaşlanma süreci ile ilişkili olduğunu ve yaşlanan bireylerde bilişsel işlevler ile nörogenez üzerinde olumsuz etkiler yarattığını göstermektedir.

Rebo ve ark. (2016) tarafından yapılan çalışmada, yaşlı kanın genç ve yaşlı fareler arasında gerçekleştirilen tek bir heterokronik kan değişimi sonucunda, çoklu doku türlerinin hızlı bir şekilde inhibe olduğunu göstermektedir. Araştırmacılar, yaşlı ve genç fareler arasında gerçekleştirilen heterokronik kan değişiminin yaşlanma süreci üzerindeki etkilerini incelemek amacıyla bir dizi deney gerçekleştirmişlerdir. Bu deneyler, yaşlı kanın hızlı bir şekilde genç doku rejenerasyonunu ve fonksiyonunu inhibe ettiğini, buna karşılık genç kanın yaşlı doku rejenerasyonu ve fonksiyonunu geliştirdiğini göstermiştir. Özellikle, yaşlı kanın eklenmesi, genç farelerde karaciğer ve beyin fonksiyonlarında bozulmaya yol açarken, genç kanın eklenmesi yaşlı farelerde bu fonksiyonların iyileşmesine katkıda bulunmuştur. Bu bulgular, yaşlanma sürecinin ve yaşlı kanın genç doku üzerindeki olumsuz etkilerinin daha iyi anlaşılmasına katkıda bulunarak, yaşlanma ile ilişkili bozulmaların önlenmesi ve tedavisi için potansiyel hedefler sunmaktadır.

Middeldorp ve ark. (2016) tarafından çalışmada, Alzheimer hastalığı için genç kan plazmasının ön klinik değerlendirmesi yapılmaktadır. Bu çalışmada, araştırmacılar Alzheimer hastalığının ilerlemesini önlemeye veya yavaşlatmaya yönelik potansiyel bir tedavi olarak genç kan plazmasının etkilerini incelemiştir. Fare modelleri kullanarak, genç kan plazmasının yaşlı farelerde beyin fonksiyonu ve yapısal değişiklikler üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Deneyler, genç kan plazmasının, Alzheimer hastalığı ile ilişkili nöropatolojik belirtileri ve bilişsel işlev bozukluğunu hafifletebileceğini göstermiştir. Ayrıca, genç kan plazmasının yaşlı farelerde nöroinflamasyonu azalttığı, nöronal bağlantıları güçlendirdiği ve bilişsel fonksiyonların iyileşmesine katkıda bulunduğu gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar, genç kan plazmasının Alzheimer hastalığının ilerlemesine karşı potansiyel bir koruyucu etkiye sahip olabileceğini düşündürmektedir. Ancak, bu bulguların insanlara uygulanabilirliği ve

genç kan plazmasının Alzheimer hastalığı üzerindeki etkisinin tam olarak anlaşılması için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

Castellano ve ark. (2017) tarafından yapılan çalışmada, insan göbek kordonu plazma proteinlerinin yaşlı farelerde hipokampal fonksiyonu canlandırıcı etkisi incelenmiştir. Araştırmacılar, yaşlı farelerin beyin fonksiyonlarını ve öğrenme yeteneklerini iyileştirebilecek gençleştirici faktörlerin varlığını araştırmışlardır. Çalışmada, yaşlanan farelerin hipokampuslarına insan göbek kordonu plazması (HUCP) enjekte edilmiştir. Bu tedavi, yaşlı farelerin hipokampal fonksiyonlarında ve öğrenme yeteneklerinde önemli ölçüde iyileşme sağlamıştır. Ayrıca, HUCP tedavisi alan yaşlı fareler, öğrenme ve hafıza görevlerinde genç farelerle benzer performans sergilemişlerdir. Araştırmacılar, bu olumlu etkilerin, HUCP'de bulunan ve yaşlı farelerin beyinlerinde düşük seviyelerde bulunan "TIMP2" adlı bir proteinle ilişkili olduğunu öne sürmektedir. Bu çalışma, yaşlanan beyin fonksiyonlarının canlandırılmasında insan göbek kordonu plazması proteinlerinin potansiyel bir rolünü göstermektedir. Ancak, bu bulguların insanlar üzerindeki etkilerini anlamak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

Liu ve ark. (2018) tarafından yapılan çalışmada, genç plazmanın yaşlanan karaciğer fonksiyonları üzerindeki etkilerini incelemiştir. Bu çalışmada, araştırmacılar yaşlı farelerin karaciğer fonksiyonlarında yaşa bağlı değişikliklerin genç plazma enjeksiyonları ile tersine çevrilebileceğini gösterdiler. Genç plazmanın etkisi, otofajinin yeniden sağlanması yoluyla gerçekleşiyordu. Otofaji, hücrelerin kendi yapılarını ve moleküllerini parçalayarak enerji elde etme ve hasar görmüş yapıları ortadan kaldırma sürecidir. Çalışma, genç plazmanın yaşlanma ile ilişkili karaciğer fonksiyon bozukluklarını önlemek veya tersine çevirmek için potansiyel bir terapötik yaklaşım olabileceğini öne sürmektedir.

Aicardi (2018) tarafından yapılan çalışmada, genç kan plazmasının Alzheimer hastalığıyla savaşmada potansiyel bir tedavi olarak kullanılabilirliğini değerlendirmektedir. Bu çalışmada, Aicardi G, Alzheimer hastalığının patogenezindeki mekanizmaları ve genç kan plazması ile Alzheimer hastalığı arasındaki potansiyel etkileşimleri gözden geçirmektedir. Genç kan plazması, yaşlanma ile ilgili bilişsel bozukluklar ve nörodejeneratif hastalıklar üzerinde olumlu etkiler göstermiştir. Alzheimer hastalığı olan kişilere genç kan plazması uygulamanın, beyin fonksiyonlarını ve yapılarını yeniden canlandırarak hastalığın ilerlemesini yavaşlatma veya durdurma potansiyeline sahip olduğu düşünülmektedir. Bununla birlikte, bu çalışmada da

belirtildiği gibi, genç kan plazmasının Alzheimer hastalığı tedavisinde kullanılabilirliği ve etkinliği hakkında daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir. İleride yapılacak çalışmalar, genç kan plazması ve Alzheimer hastalığı arasındaki etkileşimleri daha iyi anlamamıza ve yeni terapötik yaklaşımlar geliştirmemize yardımcı olacaktır.

Lehallier ve ark. (2019) tarafından yapılan çalışmada, insan plazma proteom profillerinde yaşam süresi boyunca dalgalanan değişimler incelenmiştir. Bu çalışma, yaşla ilişkili biyolojik değişikliklerin daha iyi anlaşılmasına katkıda bulunmayı amaçlamıştır. Araştırmacılar, 4267 katılımcının plazma örneklerini analiz ederek, yaşam süresi boyunca plazma proteom profillerinde gözlemlenen dalgalanmaları değerlendirmişlerdir. Bu analizler sonucunda, 1300'den fazla proteinin yaşla birlikte düzenli olarak değiştiği tespit edilmiştir. Bu yaşa bağlı protein değişimlerinin, yaşlanma sürecine katkıda bulunan faktörleri ve hastalıkları daha iyi anlamamıza yardımcı olabileceği düşünülmektedir. Çalışma, yaşla bağlantılı plazma protein değişikliklerinin karmaşık bir yapıya sahip olduğunu ve bu değişikliklerin yaşam boyu sürekli olarak gerçekleştiğini ortaya koymaktadır. Bu bulgular, yaşlanma sürecini daha iyi anlamak için insan plazma proteom profillerinin analizinin önemini vurgulamaktadır.

Liu ve ark. (2019) tarafından yapılan bir çalışma, genç plazmanın yaşlılarda karaciğer iskemi-reperfüzyon hasarını azaltmada potansiyel faydalarını araştırmayı amaçlamıştır. Bu çalışmada, araştırmacılar, kan akışının geçici olarak durdurulduğu ve ardından geri kazanıldığı bir durum olan iskemi-reperfüzyon hasarı nedeniyle oluşan karaciğer hasarını yaşlı farelerde genç plazma ile hafifletebileceklerini ve bunun etkisini potansiyel altta yatan mekanizmaları incelediler. Çalışmanın sonuçları, genç plazmanın yaşlı farelerde karaciğer iskemi-reperfüzyon hasarını azalttığını ve bu süreçte antioksidan ve anti-inflamatuar etkiler gösterdiğini ortaya koymuştur. Bu bulgular, genç plazmanın yaşlanma ile ilişkili karaciğer hasarını hafifletme potansiyeline işaret etmektedir.

Wilmanski ve ark. (2019) tarafından yapılan çalışmada, insanlarda kan metabolomunun bağırsak mikrobiyomu α -çeşitliliğini öngördüğü ortaya konmuştur. Bu çalışma, insanlardaki bağırsak mikrobiyomu çeşitliliği ile kan metabolitlerinin ilişkisi arasındaki bağlantıları incelemiştir. Araştırmacılar, geniş bir katılımcı yelpazesinden toplanan kan örneklerini analiz ederek, bağırsak mikrobiyomunun α -çeşitliliğini tahmin etmekte kullanılabilen özel metabolitlere işaret eden bir model geliştirmişlerdir. Bu bulgular, metabolom ve mikrobiyom arasındaki etkileşimin daha iyi anlaşılmasına ve insan sağlığı için potansiyel uygulamalarına katkı sağlamaktadır.

Horowitz ve Fan (2020) tarafından yapılan çalışmada, egzersizle ilgili kan faktörlerinin yaşlı beyinde nörogenez ve bilişsel işlevler üzerinde olumlu etkileri transfer ettiği gösterilmiştir. Bu çalışmada, araştırmacılar yaşlı farelerin beyinlerinde nörogenez ve bilişsel işlevleri iyileştirmek için genç farelerden alınan egzersize bağlı kan faktörlerinin kullanılabilirliğini değerlendirmiştir. Egzersiz yapan genç farelerin kan plazmasının yaşlı farelere enjekte edilmesiyle, yaşlı farelerin beyinlerinde nörogenezde artış ve bilişsel işlevlerde iyileşme gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar, egzersizin yaşlanan beyinde nörogenez ve bilişsel işlevleri iyileştiren faktörler ürettiğini ve bu faktörlerin yaşlı beyinde benzer etkiler göstererek yaşlanma ile ilişkili bilişsel düşüşü ve nörogenez azalmasını hafifletebileceğini göstermektedir. Bu çalışma, yaşlanma sürecinde beyin sağlığını desteklemek için egzersiz ve kan faktörleri bazlı tedavi stratejilerinin geliştirilmesine katkı sağlamaktadır.

Tripathi ve ark. (2021) tarafından çalışmada, genç sıçanlardan alınan plazmanın yaşlı sıçanlara enjekte edilmesiyle yaşlanma karşıtı etkilerin gözlemlenip gözlemlenmediği araştırılmıştır. Araştırmacılar, genç sıçanların plazmasını yaşlı sıçanlara enjekte ettikten sonra yaşlanma ile ilişkili belirtilerin, biyokimyasal parametrelerin ve antioksidan savunma mekanizmalarının değişimlerini incelemiştir. Genç sıçan plazması enjekte edilen yaşlı sıçanlarda, antioksidan enzim aktivitelerinde ve protein karboksilasyon düzeylerinde önemli düzelme gözlenmiştir. Bu düzelmeler yaşlanma sürecine karşı koruyucu etkiler sağlamıştır. Sonuç olarak, bu çalışma, genç sıçan plazmasının yaşlı sıçanlara enjekte edilmesinin yaşlanma karşıtı etkilere sahip olduğunu göstermektedir.

Ma ve ark. (2022) tarafından yapılan çalışmada, yaşlı ve genç sıçanlar arasında heterokronik parabiyozun (farklı yaşlardaki bireylerin dolaşım sistemlerinin birleştirilmesi) yaşlanan dokularda kök hücre yeniden canlanması ve sistemik gençleşme sağlayıp sağlamadığı araştırılmıştır. Araştırmacılar, yaşlı sıçanlarla genç sıçanların dolaşım sistemlerini birleştirerek heterokronik parabiyozu uygulamış ve yaşlı sıçanlarda yaşlanma ile ilişkili biyolojik belirtiler ve kök hücre fonksiyonlarındaki değişimleri incelemiştir. Yaşlı sıçanların genç sıçanlarla parabiyozu sonrasında, yaşlanma belirtilerinde ve hücrelerde gençleşme gözlenmiştir. Yaşlı sıçanlarda, heterokronik parabiyozu, kalp, karaciğer, akciğer, kas ve beyinde kök hücre aktivasyonunu ve doku yeniden canlanmasını sağlamıştır. Bu süreç, kök hücrelerin yaşlanma sürecini tersine çevirerek, yaşlanan dokularda fonksiyonel yeniden canlanma ve sistemik gençleşme sağlamıştır. Sonuç olarak, bu çalışma, heterokronik parabiyozun

yaşlanan dokularda kök hücre yeniden canlanması ve sistemik gençleşme sağlayabileceğini göstermektedir.

Erdogan ve ark. (2023) tarafından yapılan çalışmada, yaşlı ratlarda sperm sayılarının azalması ve testis epigenetiğinde meydana gelen değişiklikler üzerinde genç plazma transferinin etkisini araştırmaktadır. Bu çalışmada, yaşlanma ile ilişkili testis fonksiyonlarındaki bozulmaları ve epigenetik değişiklikleri incelemek için yaşlı ratlar kullanılmıştır. Yaşlı ratlarda genç plazma transferi yapılarak, bu tedavinin yaşlı testislerde sperm sayılarını artırıp epigenetik değişiklikleri tersine çevirip çeviremeyeceği değerlendirilmiştir. Sonuçlar, genç plazma transferinin yaşlı testislerde sperm sayılarını önemli ölçüde iyileştirdiğini ve epigenetik değişiklikleri geri kazandırdığını göstermektedir. Bu bulgular, genç plazma transferinin yaşlı erkeklerde üreme yeteneğini ve genetik sağlığı iyileştirmeye yardımcı olabileceğini düşündürmektedir. Bununla birlikte, bu alandaki ileride yapılacak çalışmalar, genç plazma transferinin erkek üreme fonksiyonları ve epigenetiği üzerindeki etkilerini daha iyi anlamamıza ve bu tedavinin potansiyel uygulamalarını keşfetmemize yardımcı olacaktır.

Teker ve Ceylani (2023) tarafından yapılan çalışmada, yaşa bağlı farklılıkların erkek sıçan karaciğer dokularında plazma değişimi tedavisine yanıtını incelemektedir. Bu çalışma, yaşlanma sürecinin plazma değişimi tedavisine yanıt üzerindeki etkisini araştırmak amacıyla genç ve yaşlı erkek sıçanlar kullanılmaktadır. Karaciğer dokularında meydana gelen histopatolojik ve spektrokimyasal değişiklikler, yaşlanma süreci ve plazma değişimi tedavisinin etkilerini değerlendirmek için incelenmiştir. Ayrıca, makine öğrenimi destekli analizler, bu değişikliklerin tanı ve değerlendirilmesinde kullanılmıştır. Sonuçlar, yaşlanma sürecinin karaciğer dokusunda belirgin histopatolojik ve spektrokimyasal değişikliklere yol açtığını göstermektedir. Genç plazma değişimi tedavisinin ise yaşlı karaciğer dokularında bu değişiklikleri kısmen tersine çevirebildiği görülmüştür. Makine öğrenimi destekli analizlerin kullanımı, yaşlanma ve plazma değişimi tedavisinin etkilerini daha hassas ve doğru bir şekilde değerlendirmeye yardımcı olmuştur. Bu çalışma, yaşlanma süreci ve plazma değişimi tedavisinin karaciğer dokusunda meydana gelen değişiklikler üzerindeki etkisine dair önemli bilgiler sunmaktadır. Ayrıca, makine öğrenimi destekli analizlerin bu tür çalışmalarda değerli bir araç olduğunu göstermektedir. İleride yapılacak çalışmalar, yaşlanma sürecinin ve plazma değişimi tedavisinin karaciğer dokusu üzerindeki etkilerini daha iyi

anlamamıza ve yaşlanma sürecini yönetmek için potansiyel tedaviler geliştirmemize yardımcı olacaktır.

Ceylani ve ark. (2023) tarafından yapılan çalışmada, yaşa bağlı plazma değişikliklerinin bağırsak bakterileri çeşitliliği üzerindeki etkisini incelenmiştir. Araştırmacılar, yaşlı ve genç sıçanlar arasındaki plazma değişiminin bağırsak bakteri çeşitliliği üzerindeki etkisini değerlendirmişlerdir. Sonuçlar, yaşlanma sürecinin bağırsak mikrobiyotasındaki bakteri çeşitliliğini azaltabileceğini göstermiştir. Ayrıca, genç plazmanın yaşlı sıçanların bağırsak mikrobiyotasındaki bakteri çeşitliliğini ve bulunma oranlarını iyileştirebileceği bulunmuştur. Sonuçlar, yaşa bağlı plazma değişikliklerinin bağırsak bakteri çeşitliliği üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Bu çalışma, yaşlanma sürecinin bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkilerini ve genç plazmanın bu etkileri tersine çevirme potansiyelini inceleyerek, yaşlanma ve bağırsak sağlığı arasındaki ilişkiye dair önemli bilgiler sunmaktadır.

2.2 Bağırsak Mikrobiyotası

Mikrobiyota, belirli bir yeri kolonize eden tüm mikroorganizma popülasyonunu ifade eder ve sadece bakterileri değil, aynı zamanda mantarlar, arkeler, virüsler ve protozoanlar gibi diğer mikropları da içerir. Mukus içerisinde bulunan ve bağırsak duvarına tutunan için perietal mikrobiyotayı oluştururken, transit gıdalarda ve dışkıda yaşayan mikroplar ise lüminal mikrobiyotayı oluşturmaktadır (Nagpal ve ark., 2018; Xu ve ark., 2019). Dinamik bir yapıya sahip olan mikrobiyota kompozisyonu tercih edilen diyet türüne, probiyotik alımına, bağırsak içeriğinin çevresel şartları gibi faktörlerden etkilenmektedir (Xu ve ark., 2019). Bağırsak mikrobiyotası metabolik, immünolojik ve enfeksiyon kontrolü gibi birçok temel işlevi sağlamaktadır. Son yıllarda, konakçının genel sağlığı, bağırsıklığı ve ayrıca enerji dengesi için önemli bir faktör olarak kabul edilmiştir. Mikrobiyota popülasyonundaki değişiklikler, bakteri ve konakçı arasındaki ilişkinin modifikasyonuna bağlı olarak birçok metabolik hastalığın gelişmesine neden olabilmektedir. 100 trilyona kadar bakteri, insan genomundan 100 kat daha fazla gen (mikrobiyom) ile insan bağırsak mikrobiyotasını oluşturmaktadır. Bağırsak mikrobiyota bileşimindeki anormalliklerin yağ dokusu, kas ve karaciğerdeki metabolizma üzerinde birçok etkisi bulunmaktadır. Ayrıca, bağırsak mikrobiyotası, obezite, diyabet, kronik düşük dereceli inflamasyon ve kardiyovasküler hastalık gibi birçok metabolik hastalıkla ilişkilendirilmektedir (Elabd ve ark., 2014).

Mikrobiyotanın merkezi sinir sistemi üzerinde de pek çok eylemde bulunabildiği çok sayıdaki çalışmalar ile gösterilmiştir. Bağırsak mikrobiyotasının bağırsak-beyin eksenini modüle edebildiği doğrudan ve dolaylı yollar mevcuttur. Bunlar endokrin (kortizol), immün (sitokinler) ve nöral (vagus ve enterik sinir sistemi) yollarını içerir. Örneğin beyin stres koşulları altında bağırsak mikrobiyotasının bileşimini etkilemek için aynı mekanizmaları kullanır. Hipotalamus-hipofiz-adrenal eksen, kortizol sekresyonunu düzenler ve kortizol, hem bağırsakta lokal olarak hem de sistemik olarak bağışıklık hücrelerini (sitokin sekresyonu dahil) etkileyebilir. Kortizol ayrıca bağırsak geçirgenliğini ve bariyer işlevini değiştirebildiğinden bağırsak mikrobiyota bileşimini de değiştirebilir. Tersine, bağırsak mikrobiyotası ve probiyotik ajanlar, dolaşımdaki sitokin seviyelerini değiştirebildiğinden beyin fonksiyonu üzerinde belirgin bir etkisi olabilmektedir. Hem vagus siniri hem de sistemik triptofan seviyelerinin modülasyonu, bağırsak mikrobiyotasının etkisinin beyne iletilmesinde güçlü bir şekilde rol oynar. Ek olarak, kısa zincirli yağ asitleri (SCFA'lar), beyin ve davranışı da modüle edebilen diyet liflerinin nöroaktif bakteriyel metabolitleridir (Badal ve ark., 2020).

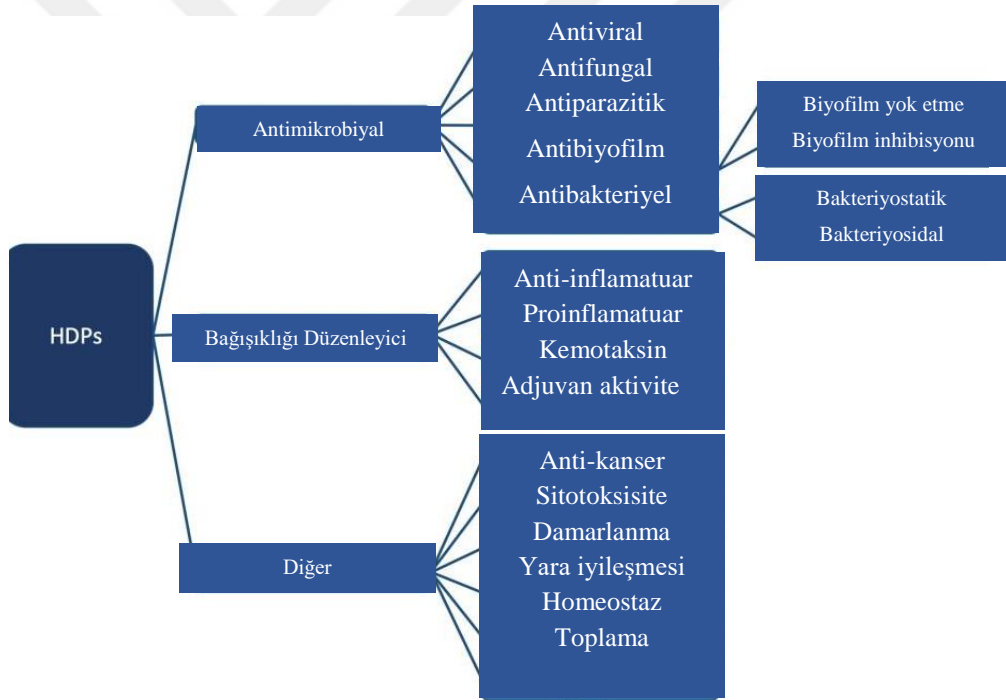
Bağırsak mikrobiyotası; nörotransmitter öncülleri üretebilir, nörotransmitterlerin sentezini katalize edebilir. Bazı bakteri taksonları, enteroendokrin hücreler tarafından nörotransmitterlerin sentezini ve salınımını teşvik etmek için metabolitleri aracılığıyla sinyal verebilir (örneğin, spor oluşturan bakteriler tarafından üretilen metabolitler, serotoninin hız sınırlayıcı geninin ekspresyonunu artırarak biyosentezini düzenlemek için sinyal molekülleri olarak hizmet eder). Bakteriler ve enteroendokrin hücreler tarafından sentezlenen nörotransmitterler kan dolaşımına girerek vücudun diğer bölgelerine taşınabilir. Bazı nörotransmitter öncülleri kan-beyin bariyerini geçebilir ve beyindeki nörotransmitterlerin sentez döngüsüne katılabilir. Ayrıca bağırsak epitelinde yer alan nöropod hücreleri, vagus siniri aracılığıyla duyuşal sinyalleri beyne milisaniyeler içinde iletebilen glutamat gibi nörotransmitterleri sentezler ve serbest bırakır (Kaelberer ve ark., 2018).

2.3 Antimikrobiyal Peptitler

Antimikrobiyal peptitler (AMP) insan, bitki ve hayvan hücrelerinin çeşitli doku ve hücre tipleri tarafından üretilen patojenik mikroplara karşı bir savunma mekanizması olarak görev yapan katyonik peptitlerdir (Fjell ve ark., 2012; Aşkar ve Aşkar, 2017).

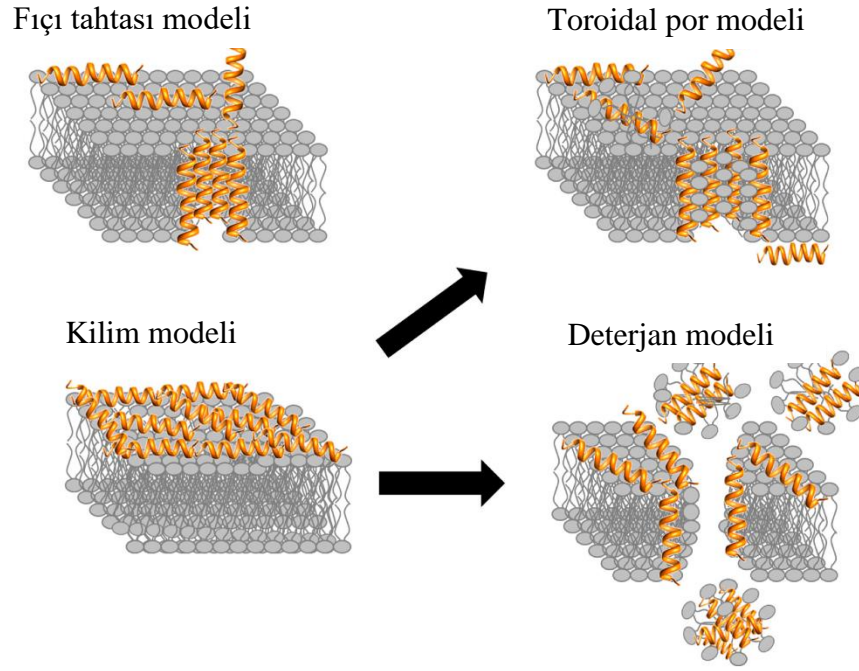
AMP'ler enfekte olmuş yara modellerinde, patojen yükünü ortadan kaldırarak steril bir yara ortamı sağlamak ve bu sayede yara iyileşme sürecini hızlandırmaktadır.

Enfekte olmamış bir yara modeli söz konusu olduğunda, dermal hücrelerin, proinflamatuvar hücrelerin yara bölgesine göçünü artırarak immünmodülatör ve kemotaktik bir etki göstererek yara iyileşme sürecini hızlandırmaktadır (RJ, 1939). Çok düşük konsantrasyonlarda etkili olabilmeleri, patojen proteinazları ile inaktive edilmeden önce çok hızlı şekilde etki gösterebilmeleri, bu hızlı etki sayesinde de yabancı mikroorganizmalar tarafından bir direnç geliştirilememesi gibi özellikleri sayesinde öne çıkmakta olan AMP'ler, günden güne artan bir popüleriteye sahip olmakla birlikte, günümüzde çalışılma alanları oldukça fazladır. Farmasötik olarak geliştirilen dozaj şekillerine uyumlu olarak AMP'lerin etken madde olarak kullanılmasına yönelik çalışmalar hızla devam etmektedir. Gelişen antibiyotik direnci de göz önüne alındığında AMP'ler sahip oldukları multifonksiyonel yapıları sayesinde pek çok konuda umut verici alternatifler olarak karşımıza çıkmaktadır (Balls ve ark., 1942).



Şekil 2.2 Konak Savunma Peptitlerinin fonksiyonları (Raheem ve Straus, 2019).

AMP'ler bağışıklık yanıtını modüle edebilir, kanser önleyici aktivite gösterebilir ve biyofilmleri inhibe edebilir veya yok edebilirler. Geniş bir bakteri yelpazesini hedefleyerek veya gram-pozitif veya Gram-negatif bakteriler için seçici olarak bakterileri doğrudan öldürebilirler. Konak savunma peptitleri ayrıca virüsler, mantarlar ve parazitler gibi patojenik türlere karşı da aktiftir(Hancock ve Falla, 1996; Travkova ve ark., 2017).



Şekil 2.3 Antimikrobiyal peptitlerin etki mekanizması(Kumar ve ark., 2018).

Antimikrobiyal peptitler fıçı tahtası modeli, toroidal gözenek modeli, kilim modeli ve deterjan modeli olmak üzere 4 etki mekanizmasına sahiptir.

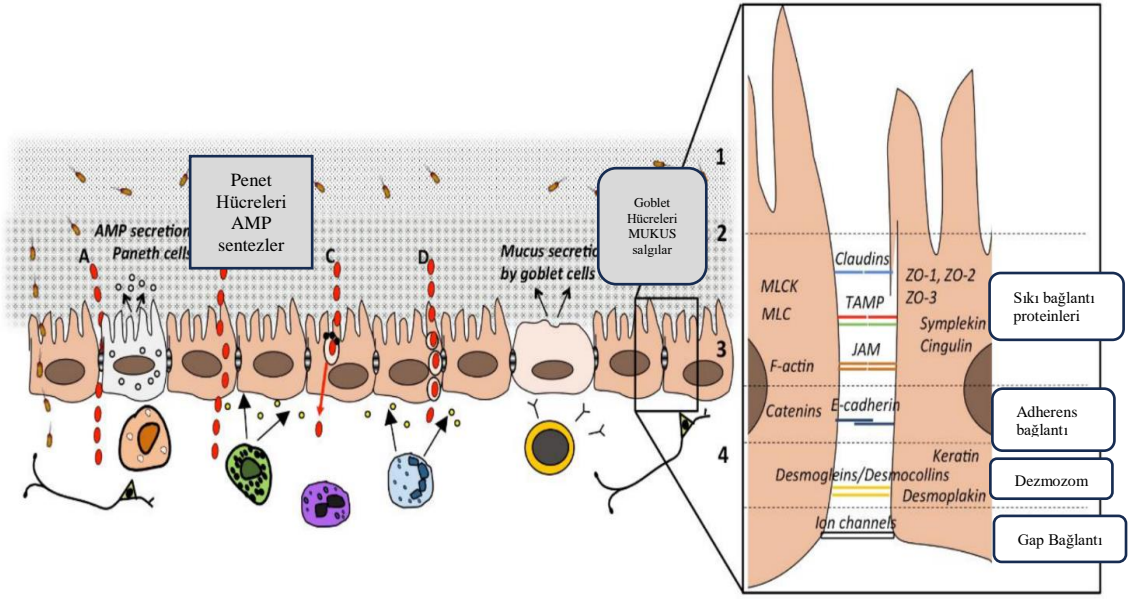
Fıçı tahtası modelinde peptitler, bir zar proteini iyon kanalını anımsatan spesifik bir yapı oluşturmak için birbirleriyle yanal olarak etkileşime girer.

Toroidal gözenek modelinde, peptitler ayrıca lipit çift tabakasına dik olarak girerler ancak spesifik peptit-peptit etkileşimleri mevcut değildir. Bunun yerine peptitler, kısmen peptitlerden ve kısmen de fosfolipid kafa grubundan oluşan gözeneklerle lipit çift tabakasının lokal bir eğrilğini indükler. Dinamik ve geçici lipid-peptit supramolekülü, "toroidal gözenek" olarak bilinir (Wimley, 2010).

AMP'ler lipit çift tabakasına paralel olarak adsorbe olur ve zarın yüzeyini kaplayacak bir eşik konsantrasyonuna ulaşmasına **kilim modeli** denir. Bu modelde zar bütünlüğü kaybolur (Shai, 2002).

Deterjan modeli moleküllerin çift katmana interkalasyonuna dayanmaktadır. Bu nedenle, yük ve hidrofobik hacim gibi moleküllerin doğası, gözlemlenen etkilerin çeşitliliğine ve indüklenen lipid polimorfizmine güçlü bir şekilde katkıda bulunur. Deterjanların lipit membranlarla etkileşimi, özellikle moleküllerin toplanmış, misel durumunda bulunduğu kritik misel konsantrasyonunun üzerinde oldukça karmaşıktır (Bechinger ve Lohner, 2006).

2.4 Bağırsak Epitel Dokusu



Şekil 2.4 Bağırsak epitel bariyeri (Schoultz ve Keita Å, 2020)

Bağırsak epiteli birkaç hücre soyundan oluşur. Enterositler, en bol bulunan epitel hücre tipini oluşturur ve rejenerasyon adacığından türetilen protein 3γ (REG3 γ) gibi birkaç antimikrobiyal protein (AMP) salgılar. Paneth hücreleri ince bağırsağa özgüdür ve a-defensinler gibi bol miktarda AMP salgılar. Son olarak goblet hücreleri, epitelin orten kalın bir mukus tabakası oluşturmak üzere bir araya gelen müsin glikoproteinleri salgılar (Darfeuille-Michaud ve ark., 2004). Mukus tabakasının, salgılanan AMP'leri epitel yüzeyi yakınında yoğunlaştırmada çok önemli bir rolü olduğu görülmektedir. Derinin epitel bariyeri, yüzeyde ve saç ünitesindeki keratinositleri ve sebosit ve ektrin bezleri gibi özelleşmiş salgı organlarını içerir. Katelisinler ve defensinler dahil olmak üzere birçok farklı AMP, kararlı durum ve/veya inflamatuvar koşullar altında bu hücreler tarafından üretilir. Cilt yüzeyinin sulu ve lipid bileşenleri, bariyer/koruyucu işlevi geliştirmek için mikroorganizmalar tarafından üretilen AMP'lerle birleşir. Sulu/lipid tabakası, AMP'leri epitel yüzeyinde yakalayarak bağırsak mukusununkine benzer bir işlev görebilir. Mast hücreleri gibi dermiste yerleşik kemik iliği kaynaklı hücreler, cilt yaralanmasından sonra veya enfeksiyonun erken evrelerinde gerekli ek AMP'leri sağlar (Salzman ve ark., 2010).

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1 Hayvan çalışmaları

Çalışmada, model organizma olarak Erkek Sprague Dawley sıçan türü kullanıldı. Orta yaşlı sıçanlar (12 ay, n = 7), genç (5 hafta, n = 45) sıçanlardan toplanan birleştirilmiş plazma (30 gün boyunca günde 0.5 ml, kuyruk damarına intravenöz olarak) ile transfer edildi. Kontrol grubundaki bireyler (n = 7) herhangi bir tedavi almadı. Uygulamanın bittikten bir gün sonra, deneysel ve kontrol gruplarındaki hayvanlar eter ile hafifçe uyuşturuldu ve feda edildi. Bağırsak dokusu çekum bölgeleri içeriğiyle birlikte kuru buzla şoklanarak alındı ve -80°C derin dondurucuda çalışma zamanına kadar saklandı. Metagenom analizi için deneysel ve kontrol gruplarındaki tüm çekum içeriği örnekleri kullanıldı. Bağırsak ileum dokuları kuru buzla şoklanarak alındı ve -80°C derin dondurucuda çalışma zamanına kadar saklandı. Tüm hayvanlar standart hayvan bakım koşullarında tutuldu, yiyecek ve suya erişimde herhangi bir kısıtlama olmadı. Çalışmamız, Kobay DHL A.Ş. Yerel Hayvan Deneyleti Etik Komitesi'nden (Onay numarası: 506-11/09/2020) onay alınarak yürütüldü.

3.2 Plazma Toplama ve Hazırlama

Hayvanlar kan örnekleri alınmadan önce kısa süreli eter tedavisiyle bayıltıldı. Eutanazi sırasında intrakardiyak kanama ile birleştirilmiş sıçan plazması toplandı. Plazma, EDTA ile toplanan kanlardan hazırlandı ve 1,000 g'de santrifüjasyon yapıldı. Plazma, 2-3 dakika boyunca 95 °C'de ısıtılarak denatüre edildi ve ardından 1,000 g'de kısa bir süre döndürüldü. Tüm plazma alikotları -80 °C'de kullanıma kadar saklandı. Verilmeden önce, plazmadaki EDTA, 3.5-kDa D-tube dializörleri (EMD Millipore) kullanılarak PBS içinde uzaklaştırıldı (Villeda ve ark., 2014).

3.3 Metagenom analizi

3.3.1 DNA İzolasyonu

Cecum içeriğinden izole edilen genomik DNA "Quick DNA TM Fecal/Soil Microbe Miniprep Kit, Katalog No: D6010" kullanılarak gerçekleştirildi. İzole edilen DNA'nın miktarı ve saflığı Qubit fluorometrik yöntemiyle belirlendi.

3.3.2 16S rRNA V3-V4 bölgesinin amplifikasyonu

Tür tespiti için kullanılacak olan 16S rRNA geninin V3-V4 bölgeleri, universal 341F (CCTACGGGNGGCWGCAG) ve 805R (GACTACHVGGGTATCTAATCC) primer dizileri kullanılarak SimpliAmp Termal Siklere ile amplifiye edildi.

3.3.3 PCR koşulları

95°C 10 dakika, ilk denatürasyon (HS enzimi kullanılacak), 35 döngü: 95°C 45 saniye - denatürasyon, 50-55°C 45 saniye - ekleme, 72°C 60 saniye - elongasyon, 72°C 3 dakika - final elongasyon, sıcaklık 4°C'ye düşürülerek PCR tamamlandı (Ilıkkan ve Bağdat 2021).

3.3.4 Kütüphane hazırlığı ve dizileme

Illumina'nın "Nextera XT DNA Library Prep Kit, Katalog No: FC-131-1096" kullanılarak 16S rRNA V3-V4 amplicon ürünleri için kütüphane hazırlığı yapıldı ve kütüphaneye indeksleme için "TG Nextera XT Index Kit v2 Set A (96 Indices, 384 Samples), Katalog No: TG-131-2001" kullanıldı. PCR arıtması için Beckman Coulter'in "AMPure XP beads" kullanıldı. Verilerin dizilenmesi için Illumina'nın Miseq teknolojisi kullanıldı ve veriler çift uçlu (PE) 2x150 baz okumaları olarak elde edildi. Her bir örneğin minimum 30.000 okuma içermesi gerekmektedir (Ceylani ve Teker, 2022).

3.3.5 Ham dizi verilerinin biyoformatik analizi

Ham dizi verileri (FastQ), mikrobiyal çeşitlilik tahmininin doğruluğunu artırmak ve düşük kaliteli okumalar ve kontamine okumalar gibi dizileme artefaktlarını filtrelemek için kalite kontrollerine tabi tutuldu ve ihtiyaç duyulması durumunda FastQC v0.10.1 kullanılarak kesim işlemi yapıldı. Dizi verileri, OTU (Operational Taxonomic Unit) gruplarına kümelemek için Kraken Metagenomic sisteminden yararlanıldı (Yang et al. 2015). Isı haritaları, GraphPad Prism 8.0.1 (GraphPad Software, USA) yazılımı kullanılarak oluşturuldu. Tüm örnek ham okumaları, BioProject ID PRJNA857892 altında NCBI'ye depolandı (Wood ve Salzberg, 2014).

3.3.6 Shannon ve Simpson çeşitlilik indeksleri

Çeşitlilik analizinde, Shannon çeşitlilik indeksleri tür düzeyinde belirlendi. Shannon Çeşitlilik İndeksi değeri, 1.5 ile 3.5 arasında değişir. Bu sayı ne kadar büyükse, dağılım o kadar dengeli demektir. Simpson indeksleri, OTU'ların bolluğu ve

eşitliği kullanılarak hesaplandı. Simpson Çeşitlilik İndeksi (1-D), 0 ile 1 arasında sayısal bir değerdir, 1 ise tam bir eşitlik anlamına gelir (Kalamaki ve Angelidis, 2020).

3.4 RNAseq analizi belirlenen ve patojen yanıtta rol alan gen ekspresyonların RT-qPCR ile belirlenmesi

Genç plazma transferinden sonra alınan ileum dokularına RNAseq analizi gerçekleştirildi. Bu tez kapsamında RNAseq analizi ile gen ekspresyonunun arttığı görülen E3 ubiquitin-protein ligase TRIM56, CD209 antigen-like protein C, complement component C7, collectin-12 ve azaldığı görülen syndecan-1 genlerin RT-qPCR ile miktar tayini yapıldı.

3.4.1 RNA izolasyonu

- RNA izolasyonunda doku örneklerinden 1 gram alınarak ilk önce homojenizatörle homojen hale getirildi.
- Homojen hale gelen kolonik dokudan (<30 mg) toplam RNA, RNeasy Plus Mini Kit (Qiagen, ABD) ile izole edildi.
- RNA'yı RNaz bakımından zengin dokulardan saflaştırmak için 10 µl β-merkaptotanol (β-ME) eklendi.

Üreticinin talimatları tüm adımlarda takip edilecektir.

- DNA eliminasyonu eliminatör döndürme kolonu ile elde gerçekleştirildi.
- RNA, 40 ul nükleaz içermeyen su ile ayrıştırıldı.
- RNA örneklerinin saflık derecesi Thermo Fisher Multiskan Spektrofotometre ile tespit edildi.
- RT-qPCR analizi için toplam RNA örnekleri kullanıldı.

3.4.2 cDNA sentezi

Üreticinin talimatlarına göre cDNA, Qiagen RT2 First Strand cDNA Sentez Kiti (Qiagen, ABD) aracılığıyla 100 ng RNA üzerinden sentezlendi. Aşağıdaki kit prosedürü basamakları takip edildi;

Her RNA örneği için genomik DNA Eliminasyon karışımı şu şekilde hazırlandı:

- Total RNA: 100.0 ng
- Tampon GE2 (gDNA eliminasyon tamponu): 6ul 14.0 µl'lik bir son hacme kadar RNaz içermeyen H₂O eklendi.

- 37°C'de 5 dakika inkübe edilecektir ve en az 1 dakika buz üzerinde bırakıldı.
- Her 14 µl Genomik DNA'ya 6 µl BC5 Ters Transkriptaz Karışımı eklenecektir. 20 µl'lik bir son hacim için Eliminasyon Karışımı hazırlandı.
- 42°C'de tam olarak 15 dakika inkübe edilecektir ve ardından reaksiyonu hemen durduruldu. 95°C'de 5 dakika.
- Gerçek zamanlı PCR için kullanıma hazır olana kadar bitmiş reaksiyonu buz üzerinde tutuldu.

Kantifikasyon, gerçek zamanlı bir PCR cihazında (CFX Connect Real-Time PCR Detection System/Life Science, Biorad, ABD) gerçekleştirildi.

3.4.3 Primer sentezi

Tez çalışması sırasında gerçekleştirilerek mRNA ekspresyon çalışmaları için E3 ubiquitin-protein ligase TRIM56, CD209 antigen-like protein C, complement component C7, collectin-12 ve azaldığı görülen syndecan-1 gen bölgelerine ait primerler Primer3 databazından faydalanılarak tasarlandı (**Tablo 3.4.3.1**).

Tablo 3.4.3.1 Gen Bölgelerine Ait Primerler

Primerler	Nükleotid dizileri (5'-3')
TRIM56 F	GCGGGTGTGGACAGTAATCT
TRIM56 R	AGTTGTCCCAACACCTCCTG
CD209 F	ATTACATTGGGTGGGGTCA
CD209 R	TGGAGTTCTTGGTGTTGCTG
CCC7 F	TTTCAGGTCAGTGCATCAGC
CCC7 R	TAACCGTTGCCGTAAGTTC
Col12 F	GAAGCTGGTTGACTCCAAGC
Col12 R	ACCAGGCTCTCCCTTCTCTC
Sdc1 F	ACACGCCATAGCACTTACCC
Sdc1 R	CTGCTGGGGCTCTAAAACAG

3.4.4 RT-qPCR analizi

Kantitatif PCR (qPCR), çok sayıda uygulama için nükleik asitleri tespit etmek, karakterize etmek ve ölçmek için kullanılır. Yaygın olarak, RT-qPCR'da, RNA transkriptleri, önce cDNA'ya ters kopyalanarak nicelendirilir ve ardından qPCR gerçekleştirilir. qPCR'da floresan etiketleme ile PCR ilerledikçe verilerin toplanması sağlanır.

- Toplam RNA, üreticinin talimatlarına göre toplam RNA izolasyon kiti (5 Prime) ile ekstrakte edildi.
- Tüm gruplarda RNA miktarı eşitlendikten daha sonra cDNA, cDNA sentez kiti (Qiagen, ABD) protokolüne göre sentezlendi.
- Gen ekspresyon analizi için RT-qPCR kiti (Qiagen, ABD) kullanılacaktır. cDNA örneklerine RT-qPCR karışımı eklendi.
- PCR tüpleri cihaza (CFX Connect Real-Time PCR Detection System/Life Science, Biorad, ABD) yerleştirildikten sonra RT-qPCR, 94°C'de 15 saniye, 61°C'de 30 saniye ve 72°C'de 30 saniye altında 40 döngüde yapıldı.
- MIQE yönergelerine uygun olacak şekilde veriler $2^{-\Delta\Delta Ct}$ yöntemi kullanılarak analiz edildi (Bustin ve ark., 2009).

3.4.4.1 Real-time PCR sonuçlarının ($2^{-\Delta\Delta Ct}$) yöntemi ile hesaplanması

Hedef genin göreceli ifade değişikliğinin belirlenmesi aşağıdaki adımlarla hesaplanır:

Ct Değerlerinin Hesaplanması: İlk olarak, her bir örnek için hedef genin ve referans genin Ct (döngü eşiği) değerleri belirlenir. Ct değeri, belirli bir DNA miktarının tespit edildiği PCR döngü sayısıdır.

ΔCt Değerlerinin Hesaplanması: Daha sonra, her bir örnek için ΔCt hesaplanır. Bu, hedef genin Ct değeri ile referans genin Ct değeri arasındaki farkı temsil eder.

$\Delta\Delta Ct$ Değerinin Hesaplanması: Daha sonra, belirli bir deney koşulu (örneğin, tedavi grubu) için hesaplanan ΔCt ile kontrol koşulu (örneğin, kontrol grubu) için hesaplanan ΔCt arasındaki fark olan $\Delta\Delta Ct$ hesaplanır.

Göreceli İfade Değişikliğinin Hesaplanması: Son olarak, ($2^{-\Delta\Delta Ct}$) formülü kullanılarak hedef genin göreceli ifade değişikliği hesaplanır.

3.4.5 İstatiksel analizler

İstatistiksel analizler ortalama \pm standart hata (SEM) kullanılarak gerçekleştirildi. Plazma (P) ve kontrol grupları arasında alfa çeşitlilikleri ve F/B oranı karşılaştırmaları için student t-testi kullanıldı. Gruplardaki bakteri aileleri, cinsleri ve türleri için metagenomik sayıların ısı haritası analizi gerçekleştirildi. RT-qPCR 3 teknik tekrarlamayla gerçekleştirildi. Her bir grup için katlama değişiklikleri $2^{-\Delta\Delta Ct}$ yöntemiyle hesaplandı ve istatistiksel farklılıklar student t-testi kullanılarak değerlendirildi.

İstatistiksel analizler GraphPad Prism 9.5 yazılımında (GraphPad Software, USA) gerçekleştirildi. Anlamlılık düzeyleri * $p < 0.05$ ve *** $p < 0.001$ olarak belirtildi.

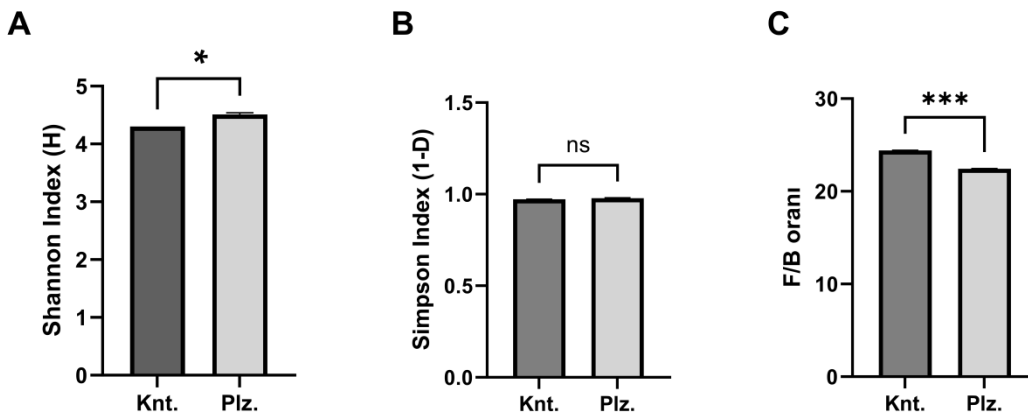


4. BULGULAR

4.1 Metagenom analizi

4.1.1 Alfa çeşitlilik indeksleri ve Firmicutes/Bacteroidetes (F/B) oranı

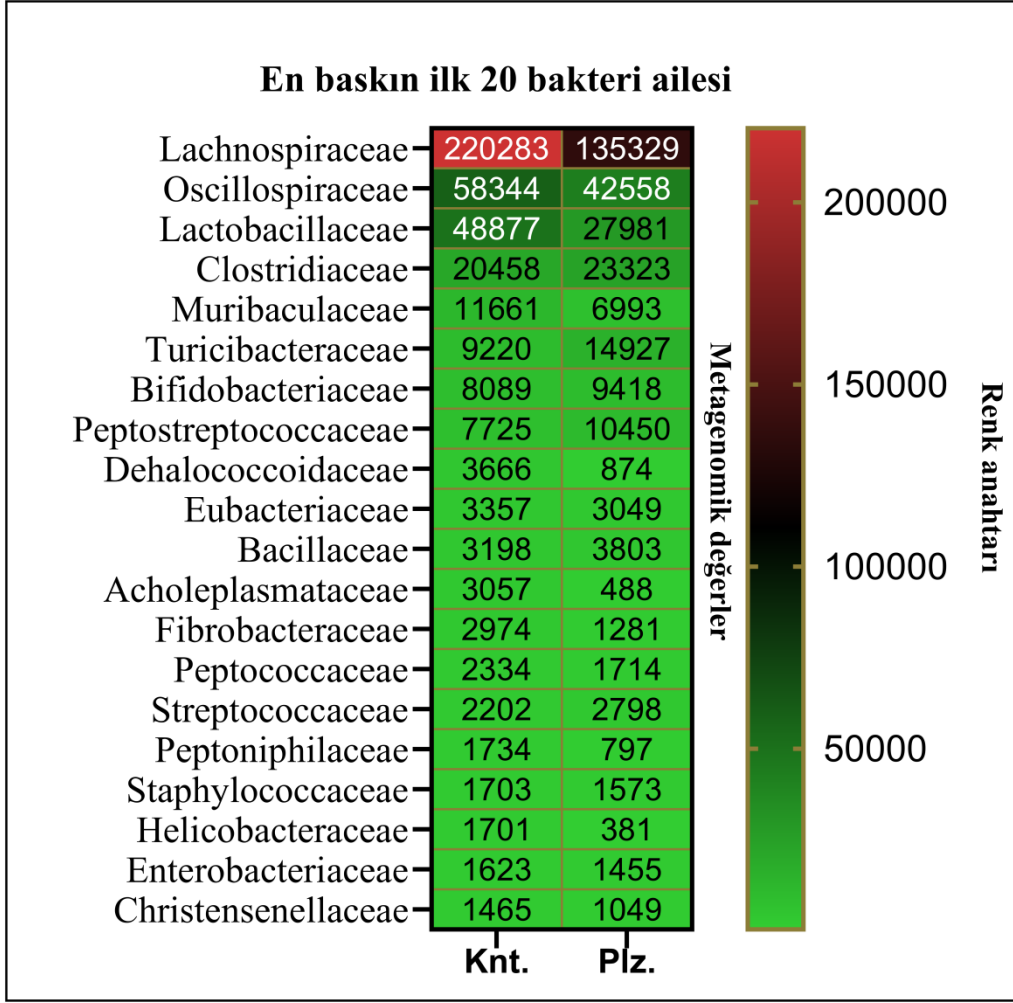
Alfa çeşitlilik sonuçlarına göre; Shannon indeksi (H) değeri, Plazma grubunun (310,610 okuma) bağırsak mikrobiyotasında Kontrol grubuna (207,742 okuma) kıyasla arttığı bulundu (Şekil 4.1A). Bununla birlikte, Simpson indeksi (1-D) adı verilen diğer bir alfa çeşitlilik indeksinde anlamlı bir değişiklik görülmedi (Şekil 4.1B). F/B oranı, genç plazmanın orta yaşlı hayvanlarda olası yenileyici özelliklerini doğrulayan şekilde Plazma grubu mikrobiyotasında belirgin bir şekilde azaldı (Şekil 4.1C).



Şekil 4.1 Genç plazma transferinin yaşlı bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkisi. A) Shannon (H) ve B) Simpson (1-D) indeksleri, C) Firmicutes ile Bacteroidetes (F/B) oranı).

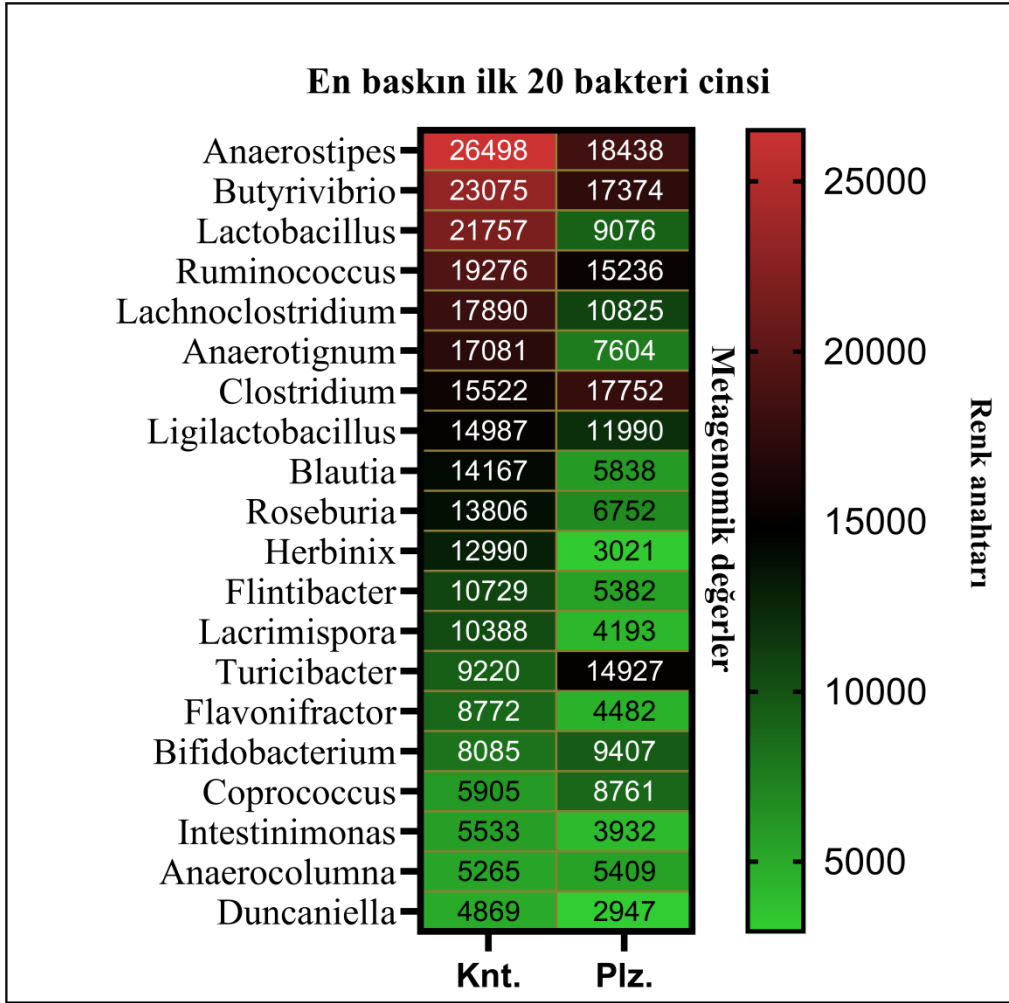
4.1.2 Baskın bakteri aileleri ve cinslerinin incelenmesi

Baskın bakteri aileleri, incelenen gruplar arasında ısı haritası görselleştirmeleri şeklinde sunulmuştur (Şekil 4.2). Kontrol grubu mikrobiyotası ile karşılaştırıldığında, Lachnospiraceae, Oscillospiraceae, Lactobacillaceae, Muribaculaceae ve Dehalococcoidaceae aileleri sırasıyla en çok azalan ailelerdir, Clostridiaceae, Turicibacteraceae, Bifidobacteriaceae, Peptostreptococcaceae ve Bacillaceae aileleri ise Plazma grubu mikrobiyotada en çok artan aileler oldu. Plasma uygulamasının mikrobiyotadaki birçok baskın ailenin miktarını ciddi şekilde etkilediği görüldü. Ancak, plazma kaynaklı dalgalanmaların mikrobiyotadaki açık bir şekilde belirlenmesi için cins ve özellikle tür düzeyinde yapılan incelemeler daha mantıklı ve açıklayıcı bulundu.



Şekil 4.2 Genç plazma transferi sonrasında bağırsak mikrobiyotasında baskın duruma gelen ilk 20 bakteri ailesinin kontrol grubu ile karşılaştırılmasının ısı haritası.

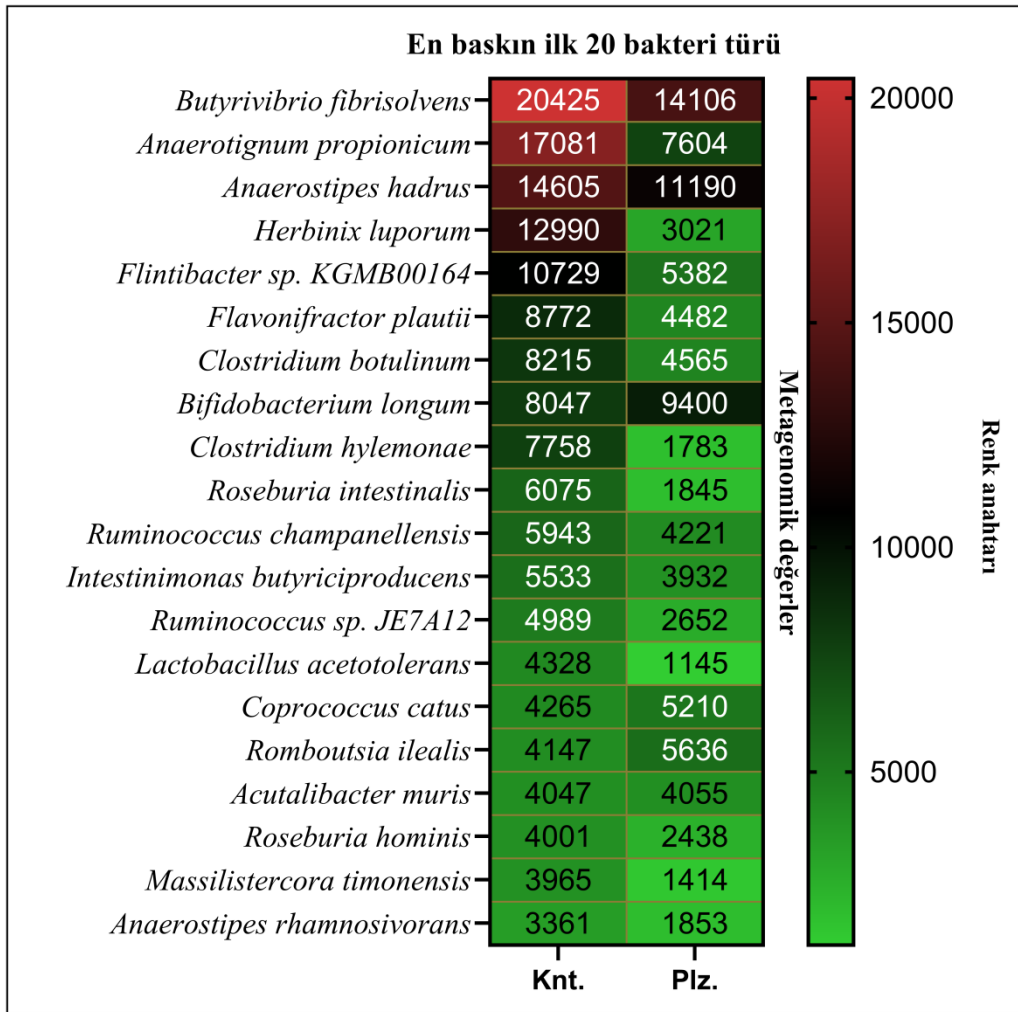
Her iki grup arasında baskın bakteri cinsleri ve türleri açısından mikrobiyotadaki dalgalanmaların ısı haritası belirlendi (Şekil 4.3). Plazma grubunda azalan cinsler, *Anaerostipes*, *Butyrivibrio*, *Lactobacillus*, *Ruminococcus*, *Lachnoclostridium*, *Anaerotignum*, *Ligilactobacillus*, *Blautia*, *Roseburia*, *Herbinix*, *Flintibacter*, *Lacrimispora*, *Intestinimonas* ve *Duncaniella* olarak belirlendi. Öte yandan, *Clostridium*, *Turicibacter*, *Bifidobacterium*, *Coprococcus* ve *Anaerocolumna* cinslerinin sayılarında artmanın olduğu görüldü (Şekil 4.3).



Şekil 4.3 Genç plazma transferi sonrasında bağırsak mikrobiyotasında baskın duruma gelen ilk 20 bakteri cinsinin control grubu ile karşılaştırılmasının ısı haritası.

4.1.3 Baskın bakteri türlerinin incelenmesi

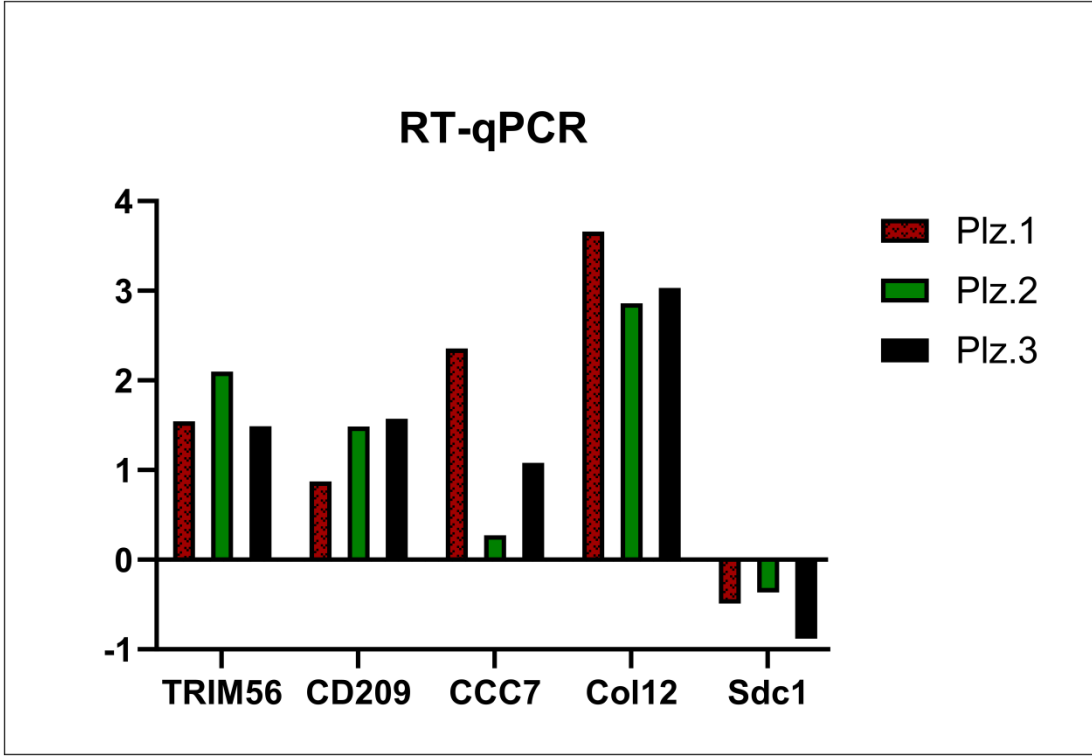
Tür düzeyindeki varyasyonlar açısından, *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Anaerotignum propionicum*, *Anaerostipes hadrus*, *Herbinix luporum*, *Flintibacter sp.* KGMB00164, *Flavonifractor plautii*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium hylemonae*, *Roseburia intestinalis*, *Ruminococcus champanellensis*, *Intestinimonas butyriciproducens*, *Ruminococcus sp.* JE7A12, *Lactobacillus acetotolerans*, *Roseburia hominis*, *Massilistercora timonensis* ve *Anaerostipes rhamnosivorans* türleri, plazma uygulaması nedeniyle azalmıştır. Plazma uygulanan farelerde *Bifidobacterium longum*, *Coprococcus catus* ve *Romboutsia ilealis* türlerinde artış gözlemlendi (Şekil 4.4).



Şekil 4.4 Genç plazma transferi sonrasında bağırsak mikrobiyotasında baskın duruma gelen ilk 20 bakteri türünün control grubu ile karşılaştırılmasının ısı haritası.

4.2 RT-qPCR analizi

RNAseq analizi, patojen yanıtta rol alan E3 ubiquitin-protein ligase TRIM56, CD209 antigen-like protein C, complement component C7 ve collectin-12 genlerinin ifade düzeylerinde önemli artışlar olduğunu; buna karşın syndecan-1 geninde ise azalış olduğunu ortaya koymuştur. Bu bulgular, tez kapsamında RT-qPCR ile de doğrulanmıştır (**Şekil 4.5**). RT-qPCR sonuçları, TRIM56 geninin Plz.1 grubunda 1,54, Plz.2 grubunda 2,1 ve Plz.3 grubunda 1,49 kat arttığını; CD209 geninin Plz.1 grubunda 0,873, Plz.2 grubunda 1,49 ve Plz.3 grubunda 1,57 kat arttığını göstermiştir. Aynı şekilde, complement component C7 geninin Plz.1 grubunda 2,36, Plz.2 grubunda 0,273 ve Plz.3 grubunda 1,08 kat; collectin-12 geninin Plz.1 grubunda 3,66, Plz.2 grubunda 2,86 ve Plz.3 grubunda 3,03 kat arttığını belirtmiştir. Öte yandan, syndecan-1 geni Plz.1 grubunda -0,49, Plz.2 grubunda -0,36 ve Plz.3 grubunda -0,88 kat azalmıştır.



Şekil 4.5 Genç plazma transferi sonrasında E3 ubiquitin-protein ligase TRIM56, CD209 antigen-like protein C, complement component C7 ve collectin-12 ve syndecan-1 genlerinin ifade düzeylerinde meydana gelen değişimlerin kontrol (0) ile karşılaştırılması. Plz 1-3 üç farklı tekrar ifade etmektedir.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Mikrobiyal ekoloji açısından, amplikon dizileme verilerinin alfa çeşitlilik analizi, mikrobiyal ortamlar arasındaki farklılıkları değerlendirmede yaygın olarak kullanılan ilk adımdır. Shannon ve Simpson indeksleri, mikrobiyal zenginlik ve eşitlik değerlendirmelerinde popüler parametrelerdir. İlk parametre, zenginlik ve eşitlik arttıkça yükselir ve zenginliğe eşitlikten daha fazla ağırlık verirken, Simpson indeksi zenginlikten daha çok eşitliğe etkilenir (Matthews, 2013). Plazma grubunda arttığı görülen Shannon değeri genç plazma transferinin mikrobiyotadaki tür çeşitliliğinin artmasında rol aldığını göstermektedir. Alfa çeşitliliğin azalması daha önce 40 yaş üzerindeki bireylerde bilişsel bozukluklar, tepki sürelerinin azalması ve konuşma akıcılığının bozulması ile ilişkilendirilmiştir (Verdi ve ark., 2018).

Firmicutes ve Bacteroidetes, insan mikrobiyomunda en yaygın bulunan iki bakteri filumu olduğundan, bu iki taksonomik gruptaki oransal bileşimin değişimi, konak sağlık durumu hakkında bilgi sağlayabilir (Razavi ve ark., 2019). F/B oranı, mikrobiyota çalışmalarında yaygın olarak kullanılan bir biyobelirteç olup, mikrobiyotanın sağlık durumu ve/veya farklı patolojik durumlarla ilişkisini önermekte kullanılır (Yang ve ark., 2015; Arias ve ark., 2019; Magne ve ark., 2020). Daha önce yüksek F/B oranları disbiyotik mikrobiyom ile ilişkilendirilmiş ve doğumdan yetişkinliğe kadar arttığı rapor edilmiştir (Mariat ve ark., 2009; Indiani ve ark., 2018). Bazı diğer çalışmalar, F/B oranı değişikliklerini yaşlanma ile ilişkilendirmektedir. Ancak, mikrobiyotanın dalgalanmalarının ev sahibi yaşlanmasıyla ilişkilendirilip ilişkilendirilemeyeceği hala tam olarak anlaşılamamıştır (Kim ve Benayoun, 2020). Ayrıca, fare çalışmalarında Alzheimer hastalığı (AH) patogenezi ile yaşla birlikte yüksek F/B oranları ilişkilendirilmiştir (Seo ve Holtzman, 2020). Bu çalışmada, F/B oranının Plazma grubunun mikrobiyotasında belirgin şekilde azalması, genç plazmanın orta yaşlı mikrobiyota üzerindeki gençleştirici etkisine işaret etmektedir .

Bağırsak mikrobiyotasının bağışıklık sistemi üzerindeki merkezi rolü nedeniyle bağışıklık sistemini güçlendirmek için yaşlanma sürecinin anlaşılması, ev sahibi-mikrop konsorsiyumundaki yaşlanma sürecinin anlaşılmasına kritik olarak bağlıdır (Bosco ve Noti, 2021). Kronolojik yaşlanma geri döndürülemediği için, sağlıklı yaşlanma süreçlerini ve bu fenomende dinamik mikrobiyotanın rolünü anlamak, yaşlanma karşıtı tedaviler geliştirmek için önemlidir. Bununla birlikte, hayvan modeli ve insan çalışmaları, yaşlanma ve uzun ömür arasındaki ilişki ile mikrobiyota arasında belirli

bakteri taksonomileri açısından çelişkili sonuçlar ortaya koymuştur (Badal ve ark., 2020). Son zamanlarda, Çinli yüz yaş üstü kişilerde *Lachnospiraceae* ve *Ruminococcaceae* ailelerinden *Coprococcus*, *Roseburia* ve *Faecalibacterium* cinslerinin bolluğu ile aşırı yaşlanma arasında negatif bir ilişki rapor edilmiştir. Laktat üreten olarak bilinen *Bifidobacteria* birimlerinin, yüz yaş üstü kişilerde ve yaşlılarda azalmış olduğu bildirilmiştir (Ragonnaud ve Biragyn, 2021). Disbiyozis veya mikrobiyal topluluk yapısındaki dengesizlik, yaşla ilişkili bozuklukların yaygın bir eşlikçisidir. İnsanlarda "mikrop yaşlanması" olarak adlandırılan yaşla ilişkili disbiyoz, *Clostridiales* ve *Bifidobacterium* kaybı ile *Proteobacteria*'nın zenginleşmesi ve *Enterobacteriaceae* gibi patobiyonların aşırı temsilidir (Bosco ve Noti, 2021). Yaşlanma, belirli *Lactobacillus* türlerinin varlığının artışı ile ilişkilendirilmiştir ve bu türler yaşlı yetişkinlerde baskın hale gelmiştir (Badal ve ark., 2020).

Bifidobacteriaceae familyasına ait *Bifidobacterium* cinsinden *B. longum* gibi bilinen probiyotikler, anksiyete, koordinasyon bozukluğu, bilişsel bozukluklar ve hipokampus yaşlanması gibi bozulmuş beyin fonksiyonlarını tersine çevirebilir ve d-gal tedavili farelerde yaşa bağlı bilişsel düşüşleri iyileştirebildiği bildirilmiştir (Xia ve ark., 2020). Bugüne kadar, asetat, propiyonat ve butirat gibi kısa zincirli yağ asitlerinin (SCFA'lar) 70'ten fazla bağırsak bakterisi tarafından sentezlendiği gösterilmiştir. SCFA'lar, insan sağlığı açısından en önemli olan asetat, propiyonat ve butirat içermektedir ve bu molekülleri üreten türler arasında *Coprococcus catus* (*Lachnospiraceae* familyası) özellikle dikkat çekmektedir (Xu ve ark., 2020). *Romboutsia ilealis* (*Peptostreptococcaceae* familyası) fonksiyonu hakkında pek bilgi bulunmamasıyla birlikte, diyabetle ilişkili potansiyel bir patobiont/metabolizma kötüleştirici ve obezite yatkınlığı ile ilişkilendirilmiştir (Wei ve ark., 2020; Rodrigues ve Gurung, 2021). Öte yandan, *Romboutsia sp.* sayılarının azalması, tümörjenik mukozaya ve adenomatöz poliplere bağlı kolorektal kanserin potansiyel bir belirteci olarak rapor edilmiştir (Mangifesta ve ark., 2018).

Genç kan plazma transferinin patojen yanıtta rol alan gen ifadelerinin de düzenlenmesinde önemli derecede rol aldığı bulundu. Elde edilen sonuçlar mikrobiyotada meydana gelen değişimler ile paralellik göstermektedir. Genç plazma transferi sonrasında E3 ubiquitin-protein ligase TRIM56, CD209 antigen-like protein C, complement component C7 ve collectin-12 gen ekspresyonlarının arttığı syndecan-1 gen ekspresyonunun ise azaldığı bulundu. E3 ubiquitin-protein ligase TRIM56, hücre içerisinde çeşitli fonksiyonları olan bir protein kodlar. TRIM56 geni, özellikle

hücrelerin viral enfeksiyonlara yanıtını düzenlemede önemli bir rol oynamaktadır. TRIM56, antiviral bağışıklık yanıtının bir parçası olarak hareket eder ve hücre içi patojenleri tanıyarak ve bunlara yanıt verir (Wang ve ark., 2011; Yang ve ark., 2019). TRIM56 proteininin, virüslere karşı konak hücre savunmalarını güçlendirdiği bilinmektedir. Bu protein, hücre içi virüs replikasyonunu inhibe edebilir ve interferon sinyal yollarını modüle eder, bu da vücudun virüslere karşı daha etkili bir şekilde savunma yapmasına yardımcı olmaktadır (Tian ve ark., 2022). Genel olarak, E3 ubiquitin ligase proteinleri, proteinleri ubiquitination adı verilen bir süreçle işaretleyerek, bu proteinlerin yıkımını veya işlevselliğini düzenler. Ubiquitination, proteinlerin hücre içinde nasıl taşınacağını, işlev göstereceğini ve ne zaman parçalanacağını belirleyen bir süreçtir (Zhao ve ark., 2018). TRIM56 geni ve kodladığı protein üzerine yapılan çalışmalar genellikle moleküler biyoloji, viroloji ve immünoloji alanlarına odaklanmaktadır ve bu alanlarda TRIM56'nın rolü hakkında daha fazla bilgi edinilmeye devam edilmektedir. Bu protein, antiviral yanıtta ve başka bağışıklık süreçlerinde oynadığı roller nedeniyle, enfeksiyon hastalıkları ve bağışıklık bozuklukları araştırmalarında özellikle önemli olabilir (Yang ve ark., 2022).

Genç plazma transferinden sonra gen ifadesinde önemli derecede artmanın meydana geldiği Complement component 7 (C7) tamamlayıcı sistem içerisinde yer alan proteinlerden biridir. Tamamlayıcı sistem, insanlar başta olmak üzere birçok türde esansiyel bağışıklık yanıtının kritik bir parçasıdır. Bu sistem, birbirini ardışık olarak aktive eden proteinlerin serisiyle işler; bu durum patojenlerin elimine edilmesiyle sonuçlanmaktadır (Shen ve ark., 2012). C7, tamamlayıcı kaskadının son aşamalarında, özellikle membran saldırı kompleksi (MAC) oluşumunda önemli bir role sahiptir. MAC, patojenik hücre zarlarında delikler oluşturarak bu hücrelerin lize olmasına yol açar. Bu lizis mekanizması, özellikle gram-negatif bakterilere karşı etkilidir. C7'nin bu kritik rolü, tamamlayıcı sistemin patojenlere karşı savunma mekanizmasının başarısında merkezi bir öneme sahiptir (Wang ve ark., 2022). C7 eksikliği veya fonksiyon bozukluğu olan bireyler, belirli enfeksiyonlara karşı daha savunmasız hale gelebilir. Bu, C7'nin bağışıklık yanıtındaki kritik rolünün bir göstergesidir (Ying ve ark., 2016; Zhang ve ark., 2021; Zhou ve Jia, 2023).

Önemli derecede artmanın meydana geldiği Collectin-12, kolektin ailesine ait Ca^{2+} -bağımlı C-tipi lektinlerden biridir. Bu proteinler, özellikle karbonhidrat yapılarını tanıma kapasiteleri ile bilinirler ve bu özellikleri sayesinde patojenlerin yüzeylerine spesifik olarak bağlanabilirler. Doğuştan gelen bağışıklık sistemi içerisinde, bu tür

moleküllerin varlığı, vücudu patojenik mikroorganizmalara karşı korumada kritik bir öneme sahiptir (Ma ve ark., 2015). Collectin-12 özellikle karaciğerde yüksek miktarda ifade edilmekte olup, kan dolaşımında sirküle eder. Bu da onun, sistemik enfeksiyonlara karşı vücudun ilk yanıt hattında aktif rol oynamasını sağlar. Patojenlerin yüzeylerinde bulunan spesifik karbonhidrat desenlerini tanıyarak, Collectin-12 bu mikroorganizmaları opsonize eder (yani fagosit hücreler tarafından yutulmaları için "işaretler") ve böylece onların hızla elimine edilmesini kolaylaştırır (Mori ve ark., 2014). Bunun yanı sıra, bu proteinin vücutta farklı hücre tipleri ve moleküllerle etkileşimde bulunarak diğer biyolojik süreçleri de modüle edebileceği düşünülmektedir. Özellikle inflamasyon, hücre adhezyonu ve hücreler arası sinyalleşme mekanizmalarında rol oynayabileceği üzerine araştırmalar mevcuttur. Collectin-12'nin eksikliği veya fonksiyonel bozuklukları, bireylerin enfeksiyonlara daha duyarlı hale gelmesine neden olabilir, bu nedenle bu proteinin sağlığımızdaki rolü hayati öneme sahiptir (Zhang ve ark., 2019; Zhang ve ark., 2020).

CD209 antijen benzeri protein ise, daha yaygın adıyla DC-SIGN (Dendritic Cell-Specific Intercellular adhesion molecule-3-Grabbing Non-integrin) olarak bilinen, C-tipi lektin reseptör ailesine ait bir transmembran proteinidir. Bu molekül, özellikle dendritik hücrelerin yüzeyinde yoğun bir şekilde ekspresyon gösterir ve birçok viral ve bakteriyel patojenin hücreye bağlanmasında ve hücre içine girişinde kilit bir role sahiptir. Özellikle, HIV-1 virüsünün zar proteini gp120 ile yüksek afiniteli bir bağlanma gerçekleştirir, bu da virüsün dendritik hücrelere bağlanarak vücutta daha derin bölgelere taşınmasını ve CD4+ T hücrelerine transferini kolaylaştırır (Xue ve ark., 2018; Wu ve ark., 2023). Aynı zamanda, DC-SIGN, Ebola virüsü, Dengue virüsü, SARS-CoV ve bazı Mycobacterium türleri gibi diğer birçok patojenle de etkileşime girebilir. Bu patojenlerin dendritik hücrelere bağlanması, onların bağışıklık sisteminden kaçmasını ve vücuda yayılmasını kolaylaştırabilir. Bunun yanı sıra, DC-SIGN'in bakteriyel patojenlerle olan etkileşimleri, bağışıklık yanıtının modülasyonunda ve enfeksiyonun seyrinde önemli bir role sahip olabilir. Bu etkileşimler, dendritik hücrelerin patojenleri tanımasında, fagosite etmesinde ve adaptif bağışıklık yanıtını başlatmasında merkezi bir role sahip olan Toll benzeri reseptörlerin (TLRs) aktivasyonu ile de sinerjistik bir etki yaratabilir (Xue ve ark., 2018; Wu ve ark., 2023).

Genç plazma transferine bağlı önemli derecede azalmanın olduğu görülen Syndecan-1, hücre yüzeyinde ekspresyon gösteren ve proteoglikan ailesinin bir üyesi olan transmembran bir protein olarak bilinir. Özellikle epitelyal hücrelerde zengin bir

şekilde bulunan bu molekül, heparan sülfat ve bazen kondroitin sülfat glikosaminoglukan zincirlerini taşıyan bir çekirdek proteine sahiptir (Bartlett ve ark., 2007). Syndecan-1, hücre-matriks etkileşimleri, hücre-hücre etkileşimleri, hücre proliferasyonu, göçü ve morfogenezi gibi bir dizi biyolojik süreci modüle eder. Ayrıca, bazı büyüme faktörlerinin, sitokinlerin ve adezyon moleküllerinin hücre yüzeyine bağlanmasını ve sinyal iletimini düzenler (Couchman, 2003; Zhang ve ark., 2017). Kanser biyolojisi bağlamında, Syndecan-1'in tümör mikroçevresi ile etkileşimleri ve tümör hücrelerinin invazyon ve metastaz kapasitesi üzerindeki etkileri, çeşitli çalışmalarda detaylı bir şekilde incelenmiştir. Özellikle bazı kanser türlerinde Syndecan-1 düzeylerinin, prognostik bir belirteç olarak klinik öneme sahip olduğu gösterilmiştir (Zhang ve ark., 2017).

Bununla birlikte Syndecan-1, bazı kanser türlerinde hücre yüzeyindeki ekspresyonunun arttığı veya azaldığı gözlemlenmiştir. Özellikle multiple myeloma (çoklu miyelom) hastalarında, Syndecan-1'in yüksek ekspresyonu, hastalığın ilerlemesi ve kötü bir prognoz ile ilişkilendirilmiştir. Bunun yanı sıra, bazı meme kanserlerinde, yüksek Syndecan-1 seviyelerinin tümör invazyonu, metastaz ve genel olarak kötü bir klinik sonuç ile bağlantılı olduğu tespit edilmiştir (Wei ve ark., 2015). Ancak, sindirim sistemi kanserlerinde (örneğin kolorektal kanser) Syndecan-1'in azalmış ekspresyonu, daha agresif bir tümör fenotipi ve kötü bir prognozla ilişkilendirilmiştir. Bu paradoks, Syndecan-1'in farklı tümör tiplerinde ve mikroçevresel koşullarda farklı işlevlere sahip olabileceğini göstermektedir (Kumar Katakam ve ark., 2021). Syndecan-1'in bu değişken ekspresyon profilinin nedeni ve sonucu hâlâ tam olarak anlaşılmamıştır. Ancak, bu proteinin tümör hücrelerinin ekstraselüler matriksi ile etkileşiminde, büyüme faktörlerine ve sitokinlere yanıtında ve tümör mikroçevresinin modülasyonunda kritik bir role sahip olabileceği düşünülmektedir (Zhang ve ark., 2017). Bu bilgilere dayanarak, Syndecan-1'in ekspresyon düzeylerinin bazı kanser türlerinde prognostik bir belirteç olarak kullanılabilmesi, ancak bu belirtecin evrenselliğinin ve spesifitesinin kanser tipine bağlı olarak değişebileceği sonucuna varılabilir. Bu nedenle, Syndecan-1'in klinik kullanımı hakkında daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir.

6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Yaşlanmayla birlikte meydana gelen bağırsak mikrobiyotasındaki disbiyoz, bireylerin genel sağlığını ve yaşam kalitesini olumsuz etkileyen önemli bir faktördür. Bu çalışmada, genç kan plazmasının bu disbiyozun geriye doğru düzeltilmesinde ve bağırsak epitel hücreleri tarafından patojen yanıtta rol alan gen ekspresyonlarının düzenlenmesinde etkili olup olmadığı incelenmiştir.

Elde edilen bulgular, genç kan plazmasının transferinin, yaşlı bağırsak mikrobiyotasındaki dengesizliği iyileştirme potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir. Metagenom analizi sonucunda, plazma transferi uygulanan sıçanların bağırsak mikrobiyotasında alfa çeşitlilik indeksinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu, bağırsak mikrobiyotasında daha fazla bakteri zenginliği olduğunu göstermektedir. Ayrıca, gençleştirme etkisi gösteren Firmicutes/Bacteroidetes oranındaki azalma ve *Bifidobacterium longum*, *Coprococcus catus*, ve *Romboutsia ilealis* türlerinde artan bakteri sayımları bu sonucu desteklemektedir.

Gen ekspresyon analizlerinde ise, genç plazma transferi sonrasında E3 ubiquitin-protein ligase TRIM56, CD209 antigen-like protein C, complement component C7 ve collectin-12 genlerinde artış, syndecan-1 geninde ise azalma gözlemlenmiştir. Bu bulgular, genç plazmanın bağırsak dokusunun gen ifadesini olumlu yönde modüle edebileceğini göstermektedir.

Sonuç olarak, genç kan plazma transferi, yaşlı bireylerde bağırsak mikrobiyotasının dengesizliğini ve bağırsak gen ekspresyonunu olumlu yönde etkileyebilmektedir. Bu bulgular, yaşlılıkla ilişkilendirilen bağırsakla ilgili sağlık sorunlarının önlenmesi veya tedavisinde genç kan plazmasının potansiyel bir tedavi yöntemi olarak değerlendirilmesi gerektiğini göstermektedir.

Genç kan plazma transferinin farklı yaş grupları, cinsiyetler ve farklı sağlık durumlarındaki bireyler üzerindeki etkisinin araştırılması, transferin optimal dozajının ve sıklığının belirlenmesi, ve bu tedavi yönteminin olası yan etkilerinin değerlendirilmesi gerekmektedir. Ayrıca, genç kan plazmanın bağırsak mikrobiyotası dışında diğer organ ve sistemler üzerindeki etkilerinin de detaylı olarak incelenmesi önerilmektedir. Bu çalışma, genç kan plazma transferinin potansiyel terapötik etkilerini göstermesi açısından önemli bir adım olmakla birlikte, bu yöntemin klinik uygulamalarda kullanılabilmesi için daha kapsamlı ve detaylı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

- Aicardi, G. 2018. Young Blood Plasma Administration to Fight Alzheimer's Disease?, *Rejuvenation Res*, 21 (2), 178-181.
- Arias, L., Goig, G.A., Cardona, P., Torres-Puente, M., Díaz, J., Rosales, Y., Garcia, E., Tapia, G., Comas, I., Vilaplana, C., Cardona, P.J. 2019. Influence of Gut Microbiota on Progression to Tuberculosis Generated by High Fat Diet-Induced Obesity in C3HeB/FeJ Mice, *Front Immunol*, 10, 2464.
- Aşkar, Ş., Aşkar, T.K. 2017. ANTİMİKROBİYEL PROTEİNLER VE BAĞIŞIKLIKTAKİ ÖNEMİ, *Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi*, 6 (2), 82-86.
- Badal, V.D., Vaccariello, E.D., Murray, E.R., Yu, K.E., Knight, R., Jeste, D.V., Nguyen, T.T. 2020. The Gut Microbiome, Aging, and Longevity: A Systematic Review, 12 (12).
- Baht, G.S., Silkstone, D., Vi, L., Nadesan, P., Amani, Y., Whetstone, H., Wei, Q., Alman, B.A. 2015. Exposure to a youthful circulator rejuvenates bone repair through modulation of β -catenin, *Nat Commun*, 6, 7131.
- Balls, A., Hale, W., Harris, T. 1942. A crystalline protein obtained from a lipoprotein of wheat flour, *Cereal Chem*, 19 (19), 279-288.
- Balogun, R.A., Kaplan, A., Ward, D.M., Okafor, C., Burns, T.M., Torloni, A.S., Macik, B.G., Abdel-Rahman, E.M. 2010. Clinical applications of therapeutic apheresis, *J Clin Apher*, 25 (5), 250-64.
- Bar, K.J., Shaw, P.A., Choi, G.H., Aqui, N., Fesnak, A., Yang, J.B., Soto-Calderon, H., Grajales, L., Starr, J., Andronov, M., Mastellone, M., Amonu, C., Feret, G., DeMarshall, M., Buchanan, M., Caturla, M., Gordon, J., Wanicur, A., Monroy, M.A., Mampe, F., Lindemuth, E., Gouma, S., Mullin, A.M., Barilla, H., Pronina, A., Irwin, L., Thomas, R., Eichinger, R.A., Demuth, F., Luning Prak, E.T., Pascual, J.L., Short, W.R., Elovitz, M.A., Baron, J., Meyer, N.J., Degnan, K.O., Frank, I., Hensley, S.E., Siegel, D.L., Tebas, P. 2021. A randomized controlled study of convalescent plasma for individuals hospitalized with COVID-19 pneumonia, *J Clin Invest*, 131 (24).
- Bartlett, A.H., Hayashida, K., Park, P.W. 2007. Molecular and cellular mechanisms of syndecans in tissue injury and inflammation, *Mol Cells*, 24 (2), 153-66.
- Barrett, K.E. 2019. *Ganong's review of medical physiology*.
- Bechinger, B., Lohner, K. 2006. Detergent-like actions of linear amphipathic cationic antimicrobial peptides, *Biochim Biophys Acta*, 1758 (9), 1529-39.
- Bosco, N., Noti, M. 2021. The aging gut microbiome and its impact on host immunity, 22 (5-6), 289-303.
- Bustin, S.A., Benes, V., Garson, J.A., Hellemans, J., Huggett, J., Kubista, M., Mueller, R., Nolan, T., Pfaffl, M.W., Shipley, G.L., Vandesompele, J., Wittwer, C.T. 2009. The MIQE guidelines: minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments, *Clin Chem*, 55 (4), 611-22.
- Butina, M. 2019. *Body fluid analysis in the hematology laboratory, Rodak's hematology-e-book: Clinical principles and applications*, 236.

- Castellano, J.M., Mosher, K.I., Abbey, R.J., McBride, A.A., James, M.L., Berdnik, D., Shen, J.C., Zou, B., Xie, X.S., Tingle, M., Hinkson, I.V., Angst, M.S., Wyss-Coray, T. 2017. Human umbilical cord plasma proteins revitalize hippocampal function in aged mice, *Nature*, 544 (7651), 488-492.
- Ceylani, T., Teker, H.T. 2022. The effect of young blood plasma administration on gut microbiota in middle-aged rats, *Arch Microbiol*, 204 (9), 541.
- Ceylani, T., Allahverdi, H., Teker, H.T. 2023. Role of age-related plasma in the diversity of gut bacteria, *Arch Gerontol Geriatr*, 111, 105003.
- Conboy, I.M., Conboy, M.J., Wagers, A.J., Girma, E.R., Weissman, I.L., Rando, T.A. 2005. Rejuvenation of aged progenitor cells by exposure to a young systemic environment, *Nature*, 433 (7027), 760-4.
- Couchman, J.R. 2003. Syndecans: proteoglycan regulators of cell-surface microdomains?, *Nat Rev Mol Cell Biol*, 4 (12), 926-37.
- Darfeuille-Michaud, A., Boudeau, J., Bulois, P., Neut, C., Glasser, A.L., Barnich, N., Bringer, M.A., Swidsinski, A., Beaugerie, L., Colombel, J.F. 2004. High prevalence of adherent-invasive *Escherichia coli* associated with ileal mucosa in Crohn's disease, *Gastroenterology*, 127 (2), 412-21.
- Ding, J., Kopchick, J.J. 2011. Plasma biomarkers of mouse aging, *Age (Dordr)*, 33 (3), 291-307.
- Duan, K., Liu, B., Li, C., Zhang, H. 2020. Effectiveness of convalescent plasma therapy in severe COVID-19 patients, 117 (17), 9490-9496.
- Elabd, C., Cousin, W., Upadhyayula, P., Chen, R.Y., Chooljian, M.S., Li, J., Kung, S., Jiang, K.P., Conboy, I.M. 2014. Oxytocin is an age-specific circulating hormone that is necessary for muscle maintenance and regeneration, *Nat Commun*, 5, 4082.
- Erdogan, K., Ceylani, T., Teker, H.T., Sengil, A.Z., Uysal, F. 2023. Young plasma transfer recovers decreased sperm counts and restores epigenetics in aged testis, *Exp Gerontol*, 172, 112042.
- Fjell, C.D., Hiss, J.A., Hancock, R.E.W., Schneider, G. 2012. Designing antimicrobial peptides: form follows function, *Nature Reviews Drug Discovery*, 11 (1), 37-51.
- Gstraunthaler, G. 2003. Alternatives to the use of fetal bovine serum: serum-free cell culture, *ALTEX-Alternatives to animal experimentation*, 20 (4), 275-281.
- Hall, J.E., 2016, *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology*, Jordanian Edition E-Book, *Elsevier Health Sciences*,
- Hancock, R.E., Falla, T.J. 1996. Antimicrobial peptides: broad-spectrum antibiotics from nature, *Clin Microbiol Infect*, 1 (4), 226-229.
- Horowitz, A.M., Fan, X. 2020. Blood factors transfer beneficial effects of exercise on neurogenesis and cognition to the aged brain, 369 (6500), 167-173.
- Indiani, C., Rizzardi, K.F., Castelo, P.M., Ferraz, L.F.C., Darrieux, M., Parisotto, T.M. 2018. Childhood Obesity and Firmicutes/Bacteroidetes Ratio in the Gut Microbiota: A Systematic Review, *Child Obes*, 14 (8), 501-509.

- Kaelberer, M.M., Buchanan, K.L., Klein, M.E., Barth, B.B., Montoya, M.M., Shen, X., Bohórquez, D.V. 2018. A gut-brain neural circuit for nutrient sensory transduction, *Science*, 361 (6408), eaat5236.
- Kalamaki, M.S., Angelidis, A.S. 2020. High-Throughput, Sequence-Based Analysis of the Microbiota of Greek Kefir Grains from Two Geographic Regions, *Food Technol Biotechnol*, 58 (2), 138-146.
- Katsimpardi, L., Litterman, N.K., Schein, P.A., Miller, C.M., Loffredo, F.S., Wojtkiewicz, G.R., Chen, J.W., Lee, R.T., Wagers, A.J., Rubin, L.L. 2014. Vascular and neurogenic rejuvenation of the aging mouse brain by young systemic factors, *Science*, 344 (6184), 630-4.
- Kim, M., Benayoun, B.A. 2020. The microbiome: an emerging key player in aging and longevity, *Transl Med Aging*, 4, 103-116.
- kinase-Wnt signaling axis, 288 (2), 486-506.
- Kumar, P., Kizhakkedathu, J.N., Straus, S.K. 2018. Antimicrobial Peptides: Diversity, Mechanism of Action and Strategies to Improve the Activity and Biocompatibility In Vivo, *Biomolecules*, 8 (1).
- Kumar Katakam, S., Tria, V., Sim, W.C., Yip, G.W., Molgora, S., Karnavas, T., Elghonaimy, E.A., Pelucchi, P., Piscitelli, E., Ibrahim, S.A., Zucchi, I., Reinbold, R., Greve, B., Götte, M. 2021. The heparan sulfate proteoglycan syndecan-1 regulates colon cancer stem cell function via a focal adhesion
- Lehallier, B., Gate, D., Schaum, N., Nanasi, T., Lee, S.E., Yousef, H., Moran Losada, P., Berdnik, D., Keller, A., Verghese, J., Sathyan, S., Franceschi, C., Milman, S., Barzilai, N., Wyss-Coray, T. 2019. Undulating changes in human plasma proteome profiles across the lifespan, *Nat Med*, 25 (12), 1843-1850.
- Li, L., Zhang, W., Hu, Y., Tong, X., Zheng, S., Yang, J., Kong, Y., Ren, L., Wei, Q., Mei, H., Hu, C., Tao, C., Yang, R., Wang, J., Yu, Y., Guo, Y., Wu, X., Xu, Z., Zeng, L., Xiong, N., Chen, L., Wang, J., Man, N., Liu, Y., Xu, H., Deng, E., Zhang, X., Li, C., Wang, C., Su, S., Zhang, L., Wang, J., Wu, Y., Liu, Z. 2020. Effect of Convalescent Plasma Therapy on Time to Clinical Improvement in Patients With Severe and Life-threatening COVID-19: A Randomized Clinical Trial, *Jama*, 324 (5), 460-470.
- Liu, A., Guo, E., Yang, J., Yang, Y., Liu, S., Jiang, X., Hu, Q., Dirsch, O., Dahmen, U., Zhang, C., Gewirtz, D.A., Fang, H. 2018. Young plasma reverses age-dependent alterations in hepatic function through the restoration of autophagy, *Aging Cell*, 17 (1).
- Liu, A., Yang, J., Hu, Q., Dirsch, O., Dahmen, U., Zhang, C., Gewirtz, D.A., Fang, H., Sun, J. 2019. Young plasma attenuates age-dependent liver ischemia reperfusion injury, *Faseb j*, 33 (2), 3063-3073.
- Loffredo, F.S., Steinhauser, M.L., Jay, S.M., Gannon, J., Pancoast, J.R., Yalamanchi, P., Sinha, M., Dall'Osso, C., Khong, D., Shadrach, J.L., Miller, C.M., Singer, B.S., Stewart, A., Psychogios, N., Gerszten, R.E., Hartigan, A.J., Kim, M.J., Serwold, T., Wagers, A.J., Lee, R.T. 2013. Growth differentiation factor 11 is a circulating factor that reverses age-related cardiac hypertrophy, *Cell*, 153 (4), 828-39.

- López-Otín, C., Blasco, M.A., Partridge, L., Serrano, M., Kroemer, G. 2013. The Hallmarks of Aging, *Cell*, 153 (6), 1194-1217.
- Ma, S., Wang, S., Ye, Y., Ren, J., Chen, R., Li, W., Li, J., Zhao, L., Zhao, Q., Sun, G., Jing, Y., Zuo, Y., Xiong, M., Yang, Y., Wang, Q., Lei, J., Sun, S., Long, X., Song, M., Yu, S., Chan, P., Wang, J., Zhou, Q., Belmonte, J.C.I., Qu, J., Zhang, W., Liu, G.H. 2022. Heterochronic parabiosis induces stem cell revitalization and systemic rejuvenation across aged tissues, *Cell Stem Cell*, 29 (6), 990-1005.e10.
- Ma, Y.J., Hein, E., Munthe-Fog, L., Skjoedt, M.O., Bayarri-Olmos, R., Romani, L., Garred, P. 2015. Soluble Collectin-12 (CL-12) Is a Pattern Recognition Molecule Initiating Complement Activation via the Alternative Pathway, *J Immunol*, 195 (7), 3365-73.
- Magne, F., Gotteland, M., Gauthier, L., Zazueta, A., Poeso, S., Navarrete, P. 2020. The Firmicutes/Bacteroidetes Ratio: A Relevant Marker of Gut Dysbiosis in Obese Patients?, *12* (5).
- Mangifesta, M., Mancabelli, L., Milani, C. 2018. Mucosal microbiota of intestinal polyps reveals putative biomarkers of colorectal cancer, *8* (1), 13974.
- Mariat, D., Firmesse, O., Levenez, F., Guimarães, V.D., Sokol, H., Doré, J., Corthier, G., Furet, J.P. 2009. The Firmicutes/Bacteroidetes ratio of the human microbiota changes with age, *BMC Microbiology*, 9 (1), 123.
- Matthews, J.A. 2013. *Encyclopedia of Environmental Change: Three Volume Set*, Encyclopedia of Environmental Change, 1-1496.
- Middeldorp, J., Lehallier, B., Villeda, S.A., Miedema, S.S., Evans, E., Czirr, E., Zhang, H., Luo, J., Stan, T., Mosher, K.I., Masliah, E., Wyss-Coray, T. 2016. Preclinical Assessment of Young Blood Plasma for Alzheimer Disease, *JAMA Neurol*, 73 (11), 1325-1333.
- Mori, K., Ohtani, K., Jang, S., Kim, Y., Hwang, I., Roy, N., Matsuda, Y., Suzuki, Y., Wakamiya, N. 2014. Scavenger receptor CL-P1 mainly utilizes a collagen-like domain to uptake microbes and modified LDL, *Biochim Biophys Acta*, 1840 (12), 3345-56.
- Nagpal, R., Mainali, R., Ahmadi, S., Wang, S., Singh, R., Kavanagh, K., Kitzman, D.W., Kushugulova, A., Marotta, F., Yadav, H. 2018. Gut microbiome and aging: Physiological and mechanistic insights, *Nutr Healthy Aging*, 4 (4), 267-285.
- Pandika, M. 2019. Looking to Young Blood to Treat the Diseases of Aging, *ACS Cent Sci*, 5 (9), 1481-1484.
- Perrotta, P., Pisciotto, P., Snyder, E., Hillyer, C., Silberstein, L., Ness, P., Anderson, K., Roush, K. 2003. *Blood Banking and Transfusion Medicine: Basic Principles and Practice*, Churchill Livingstone, Elsevier.
- Ragonnaud, E., Biragyn, A. 2021. Gut microbiota as the key controllers of “healthy” aging of elderly people, *Immunity & Ageing*, 18 (1), 2.
- Raheem, N., Straus, S.K. 2019. Mechanisms of Action for Antimicrobial Peptides With Antibacterial and Antibiofilm Functions, *Front Microbiol*, 10, 2866.

- Razavi, A.C., Potts, K.S., Kelly, T.N., Bazzano, L.A. 2019. Sex, gut microbiome, and cardiovascular disease risk, *Biol Sex Differ*, 10 (1), 29.
- Rebo, J., Mehdipour, M., Gathwala, R., Causey, K., Liu, Y., Conboy, M.J., Conboy, I.M. 2016. A single heterochronic blood exchange reveals rapid inhibition of multiple tissues by old blood, *Nat Commun*, 7, 13363.
- RJ, D. 1939. Studies on a bactericidal agent extracted from a soil bacillus: I. Preparation of the agent. Its activity in vitro, *J Exp Med*, 70 (1), 1.
- Rodrigues, R.R., Gurung, M. 2021. Transkingdom interactions between *Lactobacilli* and hepatic mitochondria attenuate western diet-induced diabetes, 12 (1), 101.
- Salzman, N.H., Hung, K., Haribhai, D., Chu, H., Karlsson-Sjöberg, J., Amir, E., Tegatz, P., Barman, M., Hayward, M., Eastwood, D., Stoel, M., Zhou, Y., Sodergren, E., Weinstock, G.M., Bevins, C.L., Williams, C.B., Bos, N.A. 2010. Enteric defensins are essential regulators of intestinal microbial ecology, *Nat Immunol*, 11 (1), 76-83.
- Schoultz, I., Keita Å, V. 2020. The Intestinal Barrier and Current Techniques for the Assessment of Gut Permeability, 9 (8).
- Seo, D.O., Holtzman, D.M. 2020. Gut Microbiota: From the Forgotten Organ to a Potential Key Player in the Pathology of Alzheimer's Disease, *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 75 (7), 1232-1241.
- Shai, Y. 2002. Mode of action of membrane active antimicrobial peptides, *Biopolymers*, 66 (4), 236-48.
- Shen, Y., Zhang, J., Xu, X., Fu, J., Li, J. 2012. Expression of complement component C7 and involvement in innate immune responses to bacteria in grass carp, *Fish Shellfish Immunol*, 33 (2), 448-54.
- Smith, L.K., He, Y., Park, J.S., Bieri, G., Sneath, C.E., Lin, K., Gontier, G., Wabl, R., Plambeck, K.E., Udeochu, J., Wheatley, E.G., Bouchard, J., Eggel, A., Narasimha, R., Grant, J.L., Luo, J. 2015. β 2-microglobulin is a systemic pro-aging factor that impairs cognitive function and neurogenesis, 21 (8), 932-7.
- Teker, H.T., Ceylani, T. 2023. Intermittent fasting supports the balance of the gut microbiota composition, *Int Microbiol*, 26 (1), 51-57.
- Tian, X., Dong, H., Lai, X., Ou, G., Cao, J., Shi, J., Xiang, C., Wang, L., Zhang, X., Zhang, K., Song, J., Deng, J., Deng, H., Lu, S., Zhuang, H., Li, T., Xiang, K. 2022. TRIM56 impairs HBV infection and replication by inhibiting HBV core promoter activity, *Antiviral Res*, 207, 105406.
- Travkova, O.G., Moehwald, H., Brezesinski, G. 2017. The interaction of antimicrobial peptides with membranes, *Adv Colloid Interface Sci*, 247, 521-532.
- Tripathi, S.S., Kumar, R., Arya, J.K., Rizvi, S.I. 2021. Plasma from Young Rats Injected into Old Rats Induce Antiaging Effects, *Rejuvenation Res*, 24 (3), 206-212.
- Verdi, S., Jackson, M.A., Beaumont, M., Bowyer, R.C.E., Bell, J.T., Spector, T.D., Steves, C.J. 2018. An Investigation Into Physical Frailty as a Link Between the Gut Microbiome and Cognitive Health, *Front Aging Neurosci*, 10, 398.

- Villeda, S.A., Plambeck, K.E., Middeldorp, J., Castellano, J.M., Mosher, K.I., Luo, J. 2014. Young blood reverses age-related impairments in cognitive function and synaptic plasticity in mice, *20* (6), 659-63.
- Wang, J., Liu, B., Wang, N., Lee, Y.M., Liu, C., Li, K. 2011. TRIM56 is a virus- and interferon-inducible E3 ubiquitin ligase that restricts pestivirus infection, *J Virol*, *85* (8), 3733-45.
- Wang, S., Hu, W., Xie, Y., Wu, H., Jia, Z., Zhang, Z., Zhang, X. 2022. Functional genetic variants in complement component 7 confer susceptibility to gastric cancer, *PeerJ*, *10*, e12816.
- Wei, H.T., Guo, E.N., Dong, B.G., Chen, L.S. 2015. Prognostic and clinical significance of syndecan-1 in colorectal cancer: a meta-analysis, *BMC Gastroenterol*, *15*, 152.
- Wei, M., Huang, F., Zhao, L., Zhang, Y., Yang, W., Wang, S., Li, M., Han, X., Ge, K., Qu, C., Rajani, C., Xie, G., Zheng, X., Zhao, A., Bian, Z., Jia, W. 2020. A dysregulated bile acid-gut microbiota axis contributes to obesity susceptibility, *EBioMedicine*, *55*, 102766.
- Wilmanski, T., Rappaport, N., Earls, J.C., Magis, A.T., Manor, O., Lovejoy, J., Omenn, G.S., Hood, L. 2019. Blood metabolome predicts gut microbiome α -diversity in humans, *37* (10), 1217-1228.
- Wimley, W.C. 2010. Describing the mechanism of antimicrobial peptide action with the interfacial activity model, *ACS Chem Biol*, *5* (10), 905-17.
- Wood, D.E., Salzberg, S.L. 2014. Kraken: ultrafast metagenomic sequence classification using exact alignments, *Genome biology*, *15* (3), 1-12.
- Wu, Y., Huang, M., Lu, Y., Huang, Y., Jian, J. 2023. Molecular characterization and functional analysis of CD209E from Nile Tilapia (*Oreochromis Niloticus*) involved in immune response to bacterial infection, *Fish Shellfish Immunol*, *136*, 108718.
- Xia, C., Cao, X., Cui, L., Liu, H., Wang, S., Chen, T. 2020. Anti-aging effect of the combination of *Bifidobacterium longum* and *B. animalis* in a d-galactose-treated mice, *Journal of Functional Foods*, *69*, 103938.
- Xu, C., Zhu, H., Qiu, P. 2019. Aging progression of human gut microbiota, *19* (1), 236.
- Xu, Y., Zhu, Y., Li, X., Sun, B. 2020. Dynamic balancing of intestinal short-chain fatty acids: The crucial role of bacterial metabolism, *Trends in Food Science & Technology*, *100*, 118-130.
- Xue, D., Guang-Hua, W., Yan-Li, S., Min, Z., Yong-Hua, H. 2018. Black rockfish C-type lectin, SsCTL4: A pattern recognition receptor that promotes bactericidal activity and virus escape from host immune defense, *Fish Shellfish Immunol*, *79*, 340-350.
- Yacoub, M., ElGuindy, A., ElGuindy, A. 2015. Towards 'Eternal Youth' of cardiac and skeletal muscle, *Glob Cardiol Sci Pract*, *2015*, 12.
- Yang, T., Santisteban, M.M., Rodriguez, V., Li, E., Ahmari, N., Carvajal, J.M., Zadeh, M., Gong, M., Qi, Y., Zubcevic, J., Sahay, B., Pepine, C.J., Raizada, M.K., Mohamadzadeh, M. 2015. Gut dysbiosis is linked to hypertension, *Hypertension*, *65* (6), 1331-40.

- Yang, D., Li, N.L., Wei, D., Liu, B. 2019. The E3 ligase TRIM56 is a host restriction factor of Zika virus and depends on its RNA-binding activity but not miRNA regulation, for antiviral function, 13 (6), e0007537.
- Yang, X., Zhang, Y., Xue, Z., Hu, Y., Zhou, W., Xue, Z., Liu, X., Liu, G., Li, W., Liu, X., Li, X., Han, M., Wang, J. 2022. TRIM56 promotes malignant progression of glioblastoma by stabilizing cIAP1 protein, *J Exp Clin Cancer Res*, 41 (1), 336.
- Ying, L., Zhang, F., Pan, X., Chen, K., Zhang, N., Jin, J., Wu, J., Feng, J., Yu, H., Jin, H., Su, D. 2016. Complement component 7 (C7), a potential tumor suppressor, is correlated with tumor progression and prognosis, *Oncotarget*, 7 (52), 86536-86546.
- Zhang, H., Zhao, Y., Liu, X., Fu, L., Gu, F., Ma, Y. 2021. High Expression of Complement Component C7 Indicates Poor Prognosis of Breast Cancer and Is Insensitive to Taxane-Anthracycline Chemotherapy, *Front Oncol*, 11, 724250.
- Zhang, J., Li, A., Yang, C.-q., Garred, P., Ma, Y.J. 2019. Rapid and efficient purification of functional Collectin-12 and its opsonic activity against fungal pathogens, *Journal of Immunology Research*, 2019.
- Zhang, J., Song, L., Pedersen, D.V., Li, A., Lambris, J.D., Andersen, G.R. 2020. Soluble collectin-12 mediates C3-independent docking of properdin that activates the alternative pathway of complement, 9.
- Zhang, Y., Wang, Z., Liu, J., Zhang, S., Fei, J., Li, J., Zhang, T., Wang, J., Park, P.W., Chen, Y. 2017. Cell surface-anchored syndecan-1 ameliorates intestinal inflammation and neutrophil transmigration in ulcerative colitis, *J Cell Mol Med*, 21 (1), 13-25.
- Zhao, L., Zhang, P., Su, X.J., Zhang, B. 2018. The ubiquitin ligase TRIM56 inhibits ovarian cancer progression by targeting vimentin, *J Cell Physiol*, 233 (3), 2420-2425.
- Zhao, Y., Qian, R., Zhang, J., Liu, F., Iqbal, K., Dai, C.-L., Gong, C.-X. 2020. Young blood plasma reduces Alzheimer's disease-like brain pathologies and ameliorates cognitive impairment in 3× Tg-AD mice, *Alzheimer's research & therapy*, 12 (1), 1-13.
- Zhou, Z., Jia, D. 2023. Androgen-regulated stromal complement component 7 (C7) suppresses prostate cancer growth, 42 (32), 2428-2438.