

## Metformin Yaşlanma Sürecini Yavaşlatabilir mi?

Tuğba SOYDAŞ<sup>1</sup>, Gönül KANIGÜR<sup>2</sup>

### Öz

Diyabete bağlı hipergliseminin oksidatif strese yol açarak yaşlanma sürecini hızlandırdığı bilinmektedir. Diyabette hiperglisemin yol açtığı protein glikasyonu mevcut kollajeni çapraz bağlarla bozarak cildin yaşlanmasına neden olmaktadır. Yaşlanma sürecinde AGE'nin progresif olarak artması yalnızca DNA protein lipid karbonhidrat gibi hücrel makromoleküllere hasar vermekle kalmaz aynı zamanda hücre apoptozu hücre proliferasyonu ve farklılaşmasında etkin transkripsiyon faktörü nükleer faktör kappa-B'nin (NF-kB) aktivasyonunda da değişikliğe neden olur.

Dünyada en yaygın kullanılan anti-diyabetik ilaç olan metformin yüksek glukoz koşullarında ileri glikasyon son ürünleri olan AGE'leri tetikleyen ROS üretimini azaltır. Ayrıca Metformin AGE'nin yol açtığı hasarı antioksidan sistemini güçlendirerek engeller. Metforminin yaşlanmayı yavaşlatma etkisinin mekanizması tam olarak açıklanabilmiş değildir. Metforminin hücre proliferasyonu üzerindeki baskılayıcı etkiyi ve apoptozu azaltarak etkisini gösterdiği ayrıca kollajen üretiminin artışına yol açarak cildin yaşlanmasını engellediği ve bunu da NF-kB aktivitesi üzerinden düzenlediğini çalışmamızda gösterilmiş olmasına karşın metforminin yaşlanma üzerindeki etkisinin ortaya çıkarılması için mekanizmayı daha iyi açıklayacak çalışmalara ihtiyaç vardır.

### Can Metformin Slow Down the Aging Process?

#### Abstract

Hyperglycemia-related to diabetes is known to cause oxidative stress and thus accelerate aging process. Metformin is the most widely used anti-diabetic drug in the world. It reduces advanced glycation end products (AGEs)-induced ROS generation in high glucose condition. Protein glycation contributes to skin aging as it deteriorates the existing collagen by crosslinking. The progressive increase in AGE during aging not only causes oxidative damage to cellular macromolecules but also modulates the activation of transcription factors nuclear factor kappa-B (NF-kB). However, it is still unclear whether metformin can change collagen production and NF-kB activity induced by hyperglycemia. Previously, our studies show that the metformin exposure leads to decreased apoptosis and increased proliferation of cells in high glucose condition. Metformin exposure also leads to increased production of collagen and decreased activation of NF-kB(p65) activity. Metformin has a protective effect of skin aging under high glucose conditions inducing cell proliferation collagen I and III production protection from apoptosis and reducing NF-kB(p65) activity.

**Keywords:** metformin, nuclear factor kappa B, collagen

<sup>1</sup> Dr. Tuğba SOYDAŞ, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı Kocamustafapaşa/İstanbul

<sup>2</sup> Dr. Gönül KANIGÜR, İstanbul Aydın Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Yazışma Adresi: İstanbul Aydın Üniversitesi, Beşyol Mahallesi İnönü Cad. No:38 34295 Küçükçekmece/İstanbul. Tel: 444 1 428 e-posta: gonulkanigur@aydin.edu.tr

## Giriş

Yaşlanma süreci kimyasal biyolojik ya da fiziksel ajanlardan kaynaklanan endojen ve ekzojen streslere karşı sistemin yanıt verme yeteneğindeki azalmayla karakterizedir. Deri yaşlanması ise moleküler ve yapısal bozulma ile birlikte derinin görüntüsünü ve fonksiyonunu etkileyen kompleks bir süreçtir ve patogenezi henüz tam olarak açıklanabilmiş değildir (1). Deri yaşlanması iki şekilde gerçekleşir: Zamana bağlı olarak gelişen intrinsek yaşlanma (kronolojik spontan yaşlanma), diğeri ise ekstrinsek yaşlanmadır. Ekstrinsek yaşlanma çoğunlukla sigara aşırı alkol kullanımı yetersiz beslenme ve uzun süre güneşte kalma gibi olumsuz çevresel koşullara bağlı olarak gelişir. Derideki değişikliklerin % 90'ından fazlası ultraviyole ışınlarına uzun süreli olarak maruz kalma sonucunda ortaya çıkar (2,3). Bu yüzden ekstrinsek yaşlanmaya fotoyaşlanma da denilmektedir (3). Moleküler ve hücresele seviyede kronolojik yaşlanma ile fotoyaşlanma arasında farklılıklar olduğu gösterilmiştir (2). Fotoyaşlanma epidermin kalınlaşması elastozis ve düzensiz pigmentasyon nedeniyle ortaya çıkarken; kronolojik yaşlanma ise elastik doku kaybı deri atrofisi ve metabolik hızın düşmesi nedeniyle meydana gelmektedir (4).

## Kronolojik Yaşlanma

Elastin ve kollajendeki biyokimyasal değişikliklere bağlı olan kronolojik yaşlanma genetik yapıya da bağlı olduğundan bireysel farklılıklar gösterir. Klinik açıdan deri görünümü soluk pürüzlü gevşek olup düzenli pigmentasyon gösterir. Ayrıca deri atrofik ve ince olup benign tümör oluşumunda artış görülmektedir (4,5). Yağ ve ter bezlerinin işlevleri azaldığı için deri yıkanmadan sonra kuruluğa meyilli hale gelir (1). Kronolojik yaşlanmaya neden olan önemli faktörlerden biri (OH süperoksit radikalleri hidrojen peroksit gibi) serbest radikallerdir.



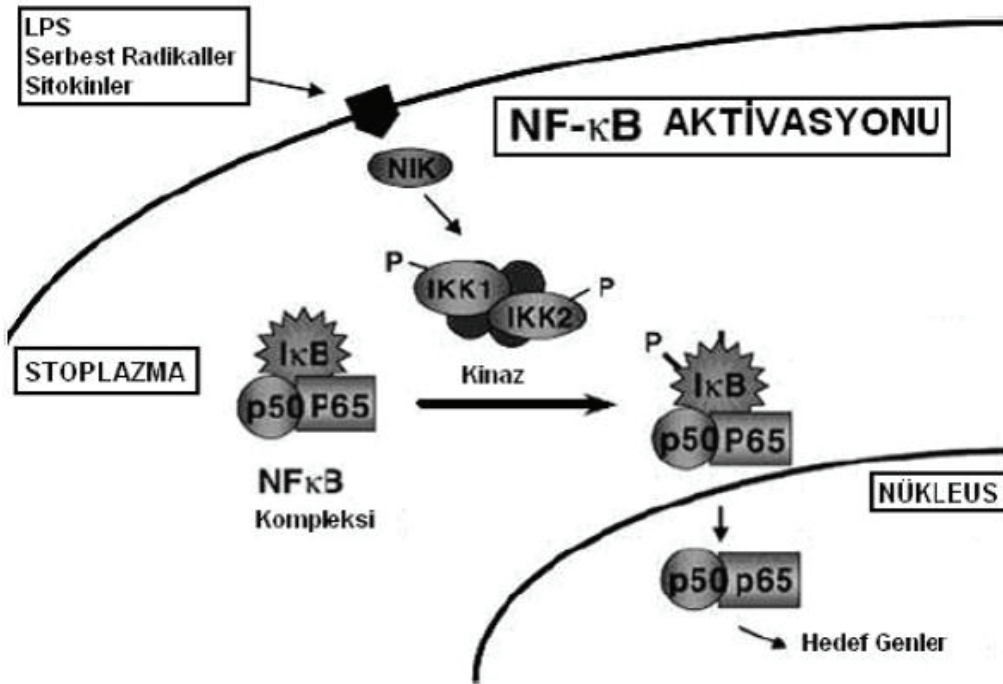
Şekil 1: Oksidatif stres ve yaşlanma

Serbest radikal teorisine göre intrasellüler metabolik yollarda ortaya çıkan serbest radikaller hücrelerin ve dokuların fonksiyonunu etkilemektedir. Örneğin derinin bağ dokusunda artan reaktif oksijen türleri DNA'da mutasyonlara ve kırıklara yol açarken lipid peroksidasyonuna ve proteinlerde çapraz bağlara da neden olur. Ayrıca aşırı serbest radikal birikimi antioksidan enzimlerin inaktivasyonuna polisakkaritlerin polimerizasyonuna proteaz kollajenaz elastazların salgınımına sebep olarak deri yaşlanmasının hızlanmasına neden olur (6). Kronolojik yaşlanma sürecinde dermise gerilme özelliğini veren kollajenler deriye elastisite kazandıran elastin derinin hidrasyonunu koruyan glikozaminoglikanlarda da farklılıklar gözlenmiştir (7). Elastik ağıdaki ve kollajen değişiklikler ve dermal hücrelerin proliferatif kapasitesindeki azalmayla bağlantılı olarak dermis kalınlığı da azalır.

İntrensek yaşlanmada dermal hücrelerin çoğalma kapasitesinde ve dermiste matriks sentezinde azalma ile beraber kollajen matriks bozulmasına neden olan enzimlerin salınımında artış olur. Yaşlı fibroblastlardaki bazı biyokimyasal değişiklikler matriks üretimini matriks parçalanması yönüne çevirerek dermal bozulmaya neden olan kollajen azalmasına sebep olur (8). Matriks parçalanmasına neden olan metaloproteinaz (MMP) enzimlerin aktivitesindeki artış intrensek yaşlanmadan sorumludur. Serbest radikaller fibroblastlardaki büyüme faktörlerini ve sitokin reseptörlerin aktivasyonuna uyararak sinyal ileti kaskadını başlatırlar (9). Bu arada AP-1 ve NF- $\kappa$ B; kollajenaz (MMP-1) 92 kd jelatinaz (MMP-2) üretimini artırır (10,11). MMP'lerdeki bu artış da kollajende bozulmaya yol açar (10).

Hücre proliferasyonu apoptozu düzenleyen ve oksidatif strese karşı yanıt oluşturan bir transkripsiyon faktörü olan NF- $\kappa$ B Ranjan Sen ve David Baltimore tarafından 1986'da tanımlanmıştır (12). NF- $\kappa$ B ailesi; NF $\kappa$ B1 (p50/p105) NF $\kappa$ B2 (p52/p100) p65 (RelA) RelB ve cRel olmak üzere 5 üyeden oluşmaktadır. Bu birimler hücrede

heterodimer veya homodimer kompleks halde bulunmaktadır (13,14). NF- $\kappa$ B1 105 kDa'luk uzun prokürsör molekülü olarak sentezlendikten sonra işlenerek p65 altbirimi p50 ile birlikte p50/p65 heterodimer yapısını oluşturur. p50 altbirimi DNA'ya bağlanırken p65 altbirimi ise transkripsiyonel aktivasyonu gerçekleştirir (15). Hücrede stres yokluğunda NF- $\kappa$ B dimerleri I $\kappa$ B olarak tanımlanan inhibitör proteinleriyle kompleks oluşturarak sitoplazmada inaktif formda bulunur (16). NF- $\kappa$ B'nin aktivitesini kontrol eden en az 6 I $\kappa$ B protein saptanmıştır. NF- $\kappa$ B'nin uyarı algılayıcı proteinleri olan I $\kappa$ B ve I $\kappa$ B'nin N-terminallerindeki serin kalıntıları çeşitli uyarılarla fosforilize olurlar. Fosforilizasyon sonrasında ise I $\kappa$ B proteinleri proteolitik yolla yıkıma uğrar. Bu yıkım işlemi NF- $\kappa$ B'yi aktive eder ve aktive olan NF- $\kappa$ B'nin nükleer translokasyonu gerçekleşir. NF- $\kappa$ B kendisine spesifik genlerin arttırıcı (enhancer) veya başlatıcı (promoter) bölgelerine bağlanarak inflamasyon yolağıyla ilişkili genlerin transkripsiyonunu başlatır (Şekil 2) (16). NF- $\kappa$ B (nükleer faktör kappa B) hücre proliferasyonu farklılaşması ve apoptozda etkin olan pleotropik bir transkripsiyon faktörüdür.

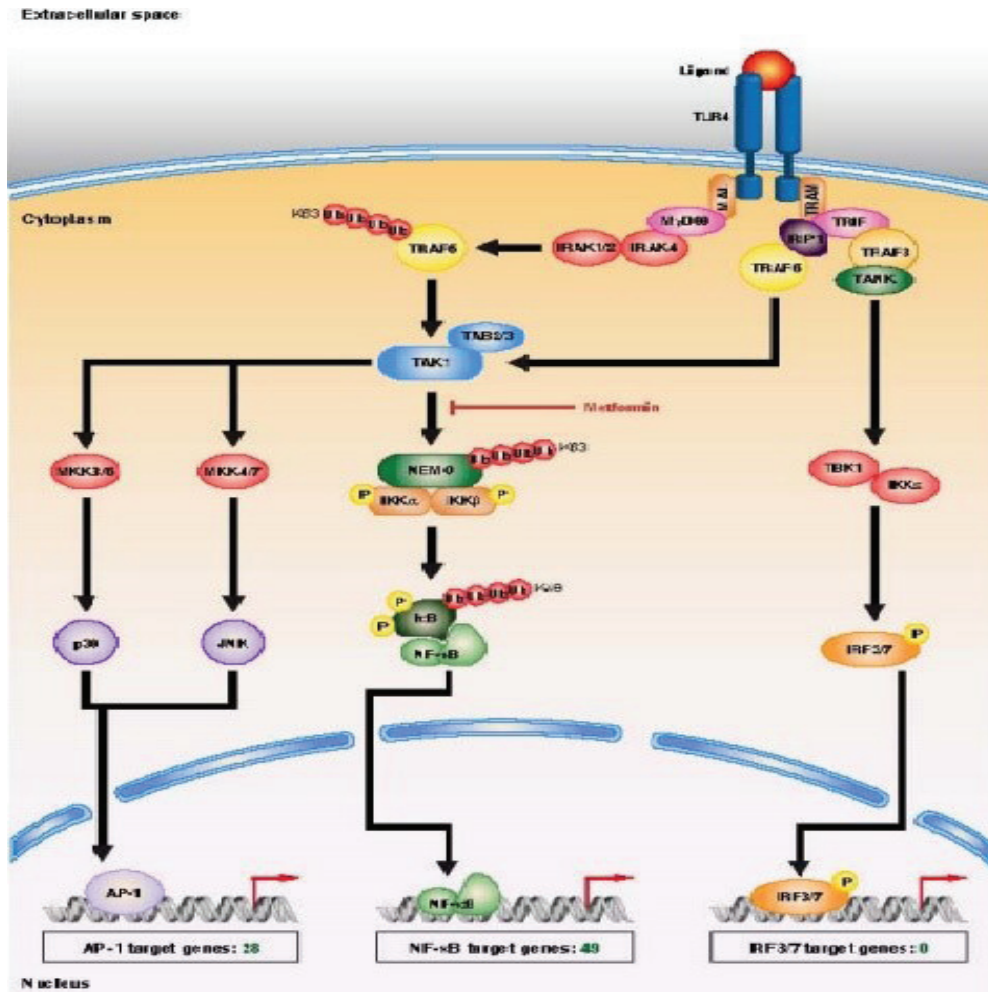


Şekil 2: NF- $\kappa$ B'nin aktivasyonu

### NF-kB' nin apoptoz ve hücre proliferasyonu yolağındaki rolü:

Deri yaşlanması hücre proliferasyonu ile hücre apoptozu arasındaki dengenin bozulmasıyla birlikte ortaya çıkar. İn vitro ve in vivo çalışmalarda NF-kB aktivitesinin deri yaşlanma sürecinde arttığı gözlenmiştir. Oksidatif stresin progresif olarak artmasıyla sadece NFkB'nin değil; ATF-6 STAT-3 p53 ve kaspazlar gibi birçok mekanizmanın da aktive olabileceğini böylece artan oksidatif stresle beraber inflamasyon apoptoz gibi klinik sonuçların gelişebileceğine dikkat çeken çalışmalar mevcuttur (17). Hiperglisemik şartlarda, yüksek glukoza bağlı oksidatif stres DNA hasarına yol açarak p53'le ilişkili apoptoz yolagını uyarır (18). Normalde inaktif formda bulunan p53 geni DNA hasarı meydana geldiğinde aktifleşir ve p53 proteini DNA'ya bağlanarak hasarı tanır. Böylece hücre siklusunun G1 evresinde durmasını sağlayarak hücreye DNA tamiri için

gerekli zamanı sağlar veya hasar tamir edilemeyecek kadar fazlaysa Fas, Bax ve Apaf-1 oluşumunu artırıp Bcl-xL ve Bcl-2'yi baskılar ve apoptozu indükler (20). NF-kB aktivasyonu inflamasyon sırasında artar ve hücre ölüm yolaklarını aktive eder. İnflamasyon belirteci olan NF-kB TNF- $\alpha$  bağlı apoptoz yolağında etkisini gösterir. NF-kB'nin hücrede sağkalım faktörü olduğunu gösteren çalışmalar da bulunmaktadır (21-23). NF-kB'nin sağkalım yolağındaki etkisi antiapoptotik faktörlerin uyarılması ile olmaktadır (21,24). X-linked apoptosis protein inhibitör (XIAP) ve inhibitör apoptozis protein-1 (IAP-1) gibi proteinlerin genlerin regülasyonu NF-kB ile gerçekleşmektedir (23,25). NF-kB aktivasyonu IAP-1 ve XIAP genlerin ekspresyonuna sebep olmakta bu genlerin proteinleri apoptozda rol alan kaspaz enzimlerini inhibe etmekte ve aynı zamanda NF-kB antiapoptotik faktör Bcl-2'nin upregülasyonuna sebep olmaktadır (26).



Şekil 3: NF-kB sinyal yolağıının metforminle inaktivasyonu

**NF-kB nin yaşlanmadaki rolü:**

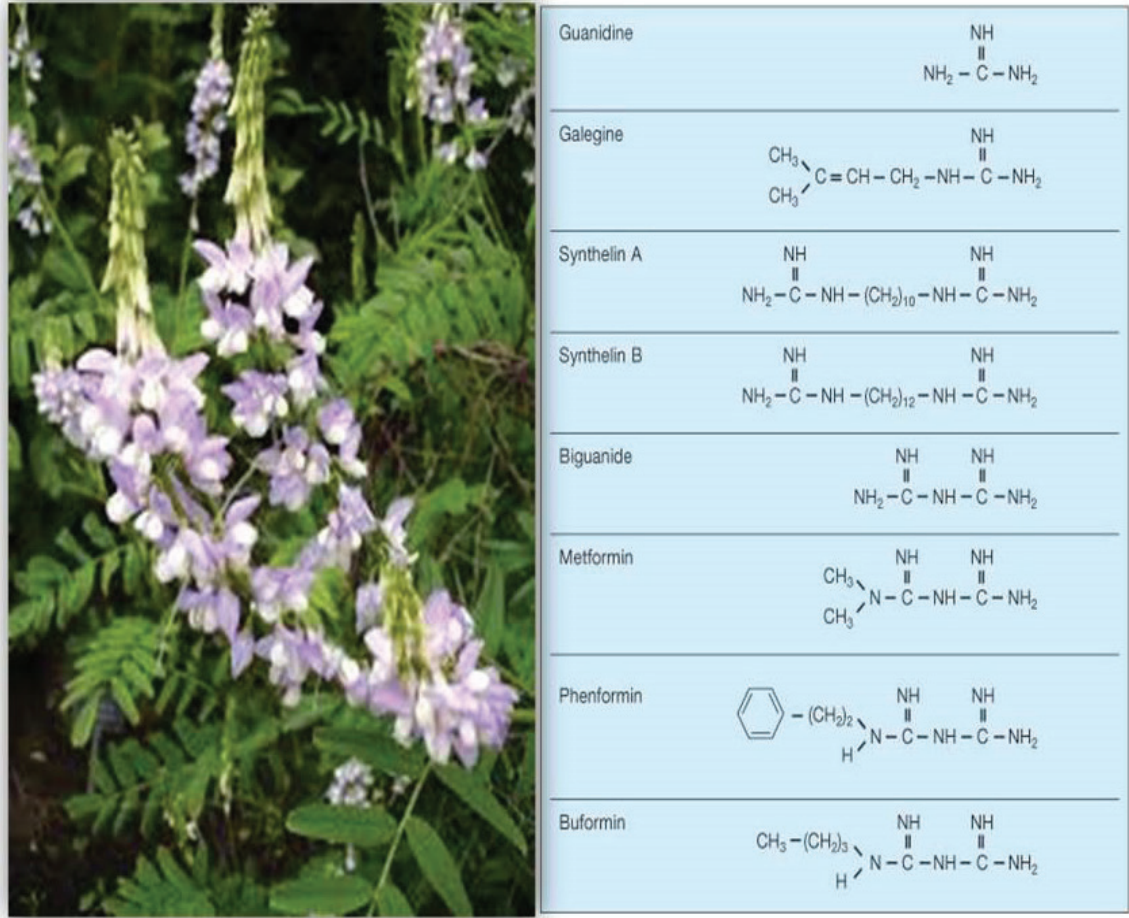
Deri yaşlanması ekstrasellüler matriksin önemli elemanları olan kollajen ve elastindeki değişimlerden kaynaklanır. Yaşlanmada ortaya çıkan serbest radikaller fibroblastlardaki büyüme faktörlerini ve sitokin reseptörlerini aktive eder. Aktive olan reseptörler sinyal ileti kaskadını uyarırlar (9). Sonuçta c-jun ve fos proteinlerinden oluşan aktivatör protein 1 (AP-1) ve proinflamatuvar sitokinlerin transkripsiyonunu düzenleyen nükleer faktör kappa B (NF-kB) aktive olur. Aktive olan AP-1 ve NF-kB; kollajenaz (MMP-1) 92 kd jelatinaz (MMP-2) üretimini uyarır (10,11). Yaşlı fibroblastlardaki MMP enzimindeki artış ekstrasellüler matriks parçalanmasına yol açarak dermal bozulmaya neden olan kollajen azalmasına sebep olur (4). Dermal fibroblastlarda bulunan matriks metalloproteinazlar (MMP); ekstrasellüler matriks ile bazal membran bileşenlerini parçalama yeteneğine sahip olan ve aktif bölgesinde çinko içeren kalsiyum bağımlı bir enzim ailesidir (29). MMP'lar; proteinazların 5 alt sınıfından biri olan metalloproteinazlar enzim ailesindedir. Büyük çoğunluğu bağ dokusu hücreleri tarafından salınmaktadır. MMP'lar deri yaşlanması morfogenezis yara iyileşmesi ve dokunun yeniden yapılanması gibi fizyolojik durumlarda önemli rol oynadıkları gibi tümör hücresi invazyonu anjiyogenezis ve metastaz gibi patolojik süreçlerde de yer alırlar (29-31). MMP ailesi 26 üyeden oluşur ve MMP-1 MMP-2 matriks parçalanmasında önemli fonksiyona sahiptir MMP-1 (kollajenaz) kollajen tip I'e MMP-2 (92 kd jelatinaz) kollajen tip 3 4 7' yi içeren bazal membran bileşenlerine ve elastine spesifiktir. MMP1 fibriler kollajeni hidrolize ederek üçlü helikal yapıda açılmaya neden olur ve denatüre kollajen MMP-2 tarafından daha küçük parçalara ayrılıp kollajen yapısının bozulmasına yol açar. Tip I kollajen kollajenazlar tarafından devamlı yıkılır ve yenileri sentezlenir (7). NF-kB'nin kollajen oluşumuyla bire bir ilişkisi gösterilmiştir. Yaşlı bireylerin deri fibroblastlarında NF-kB aktivesinin arttığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır (32,33). NF-kB'nin yaşlı fare derisinde ekspresyonunun düşürülmesi ile yaşa bağlı patolojiyi tersine çevirmesi NF-kB'nin inhibe edilmesinin yaşlanmaya bağlı dejenerasyonu tersine çevirmede faydalı bir rolü olduğunu kanıtıdır (33).

Metforminle yapılan son çalışmalar; Metforminin yaşlanma ile ilişkili potansiyel bir biyomarker olan NF-kB'nin aktivitesini inhibe ettiğini göstermektedir. Bu da deri yaşlanmasının önlenmesi açısından metforminin etkin olduğu fikrini vermektedir. Olga ve ark. tarafından Metforminin NF-kB yolağının inaktivasyonunu IκB ve IKK α/β fosforilasyonunu baskılayarak NF-kB'nin nükleusa translokasyonunu engelleyerek gerçekleştirdiğini ortaya koymuştur (34) (Şekil 3).

**Yaşlanma yavaşlatılabilir mi?**

Yaşlanma sürecini yavaşlatabilmek durdurabilmek geriye döndürmek ile ölümsüzlük farklı terimlerdir. Tıbbi anlamda antiaging bir taraftan koruyucu hekimlik uygulamaları eğitim ve hijyen yaşam tarzı değişiklikleri modern ve alternatif tıbbı ait ürün ve yöntemlerle ortalama yaşam süresini ve insanın yaşam kalitesini artırmayı hedeflerken; bir yandan da genetik ve moleküler anlamda araştırmalarla kişinin ortalama yaşam süresinin uzatılması ile ilgili çalışmaları amaçlar. Temel anlamda az kalori alarak böylece serbest radikalleri azaltarak maksimum yaşam süresi uzatılabilir fakat bu bilgiye dair kanıtlar yeterli değildir. Meyve sebze tüketmek yeterince antioksidan almamızı sağlarken dışarıdan ilave olarak ilaç ya da vitamin antioksidan olarak alma konusu tartışmalıdır. Düzenli spor aktiviteleri aslında bir antiaging yöntemidir (35). Anti-aging tedavi farmakolojik ve nonfarmakolojik olarak ikiye ayrılır. Nonfarmakolojik tedavide yoga, hipnoz, masaj, aromaterapi, akupunktur, müzik tedavisi, ışık tedavisi, enerji tedavisi en çok kullanılan yöntemlerdir. Farmakolojik tedavide modern tıp koruyucu hekimlik uygulamaları hormon tedavisi gibi uygulamalar kullanılırken; günümüzde kullanılan antiaging tedavi ilaçları kapsamında vitamin C ve E selenyum beta karoten koenzim Q10 krom ginseng sarmısak resveratrol ginkgo insan büyüme hormonu testosteron östrojen bulunmaktadır (35,36,37).

### Metforminin yaşlanma üzerine etkisi?



Şekil4: Galega officinalis -metformin

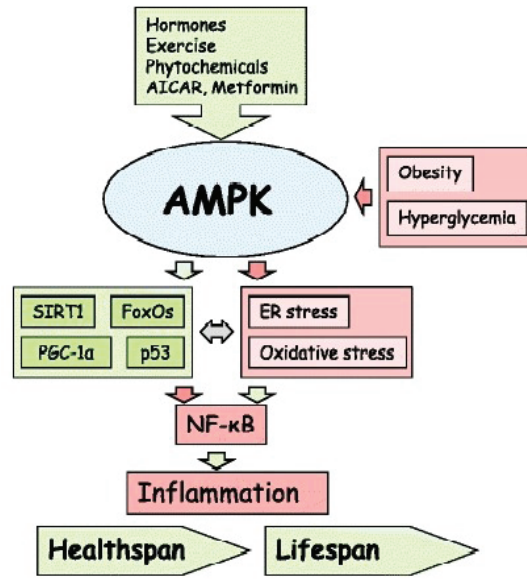
Metformin [1- (diaminomethylidene) -3,3-dimethylguanidine] tip 2 diyabet tedavisinde yaygın olarak kullanılan antihiperglisemik ilaçlardan biridir. Metformin Leguminosae familyasından bir bitki olan Galega officinalis (goat's rue French liliac) (Şekil 4) elde edilir (38). Ortaçağ Avrupasında bitki antihiperglisemik bir madde olan “guanidin” bakımından zengin olmasından dolayı kullanılmıştır. 1920'li yıllarda guanidinin fazla toksik olduğunun tespit edilmesiyle daha etkili ve iyi tolere edilebilen sentetik biguanidler “Sitalin A ve Sitalin B” (Şekil 4) kullanılmaya başlanmıştır (39). 1929 yılında ise metforminin de içinde bulunduğu biguanidler sentezlenmiş ve deney hayvanları üzerinde yapılan

çalışmalarla hipoglisemik etkileri bildirilmiştir (40). 1957 yılında Fransız doktor Jean Sterne'nin metformini glukoz yiyici anlamına gelmekte olan “Glucophage” olarak adlandırılmıştır (41). Fenformin ve buformin adlı diğer biguanidler sırasıyla 1957 ve 1958'de bulunmuş olsa da bu maddelerin sebep olduğu laktik asidoz vakaları birçok ülkede kullanımlarının bırakılmasına yol açmıştır. Kilo almaya ve hipoglisemiye neden olmaması ve diğerlerine kıyasla daha az laktik asidoza yol açması nedeniyle metformin daha çok tercih edilmeye başlanmıştır (38). 1958'de İngilterede 1995 yılıyla beraber ise ABD dünya ülkelerinin tümünde diyabet tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır (42). Bu arada diyabete

bağlı hipergliseminin oksidatif strese yol açarak yaşlanma sürecini hızlandığı tespit edilmiştir (43). Son senelerde yapılan çalışmalar metforminin hüresel yaşlanma sürecinde aktifleşen birçok genin ekspresyonunu inhibe ettiğini göstermiştir (34). Biz de daha önceki çalışmalarımızda metforminin çeşitli dokularda antioksidan aktiviteyi güçlendirdiği ve lipid peroksidasyonunu azalttığını gösterdik (44-46). Literatürde metforminin diyabetik hastalarda terapötik etkileri ve anti-kanserojen etkileriyle ilgili birçok çalışmada yer almakta fakat metforminin diyabete bağlı oluşan yaşlanma üzerine etkileri ortadan kaldıran mekanizmalarını ortaya koyan invitro bir araştırma bulunmamaktadır (47,48).

2018 yılında yayınlanan çalışmamızda 3T3 fare fibroblast hücre soyu ile oluşturduğumuz yaşlanma modelinde yüksek glukozun fibroblast hücrelerinin üzerindeki sitotoksik etkisinin metformin tarafından ortadan kaldırıldığı metforminin NF- $\kappa$ B(p65) transkripsiyon faktörünün aktivitesini düşürerek hücre proliferasyonunu artırdığı apoptoz seviyesinde düşüşe yol açtığı ve ekstrasellüler matriks proteinlerinden kollajen I ve III protein miktarlarını artırdığı gösterilmiştir (49).

Metforminin yaşam süresi üzerindeki etkisinin mekanizması uzun süre çözülememesine rağmen 2001 yılındaki yayımla Zhou ve ark. AMPK kinaz (5'-AMP-activated protein kinaz) aktivasyonunun metforminin ile ilişkili olduğunu tespit etmişlerdir (50). AMPK sağlıklı yaşamla ilişkili bir enzimdir. AMPK; etkisini SIRT1 PGC-1 $\alpha$  p53 ve FoxO gibi faktörler üzerinden etki gösterir (Salminen ve diğerleri 2011). AMPK bu faktörlerin aktivasyonu ile NF- $\kappa$ B aktivitesini değiştirmektedir. Böylece NF- $\kappa$ B transkripsiyon faktörünün inhibisyonu ile inflamasyon azalmakta ve ortalama yaşam süresini artmaktadır (51-53). Şekil 5'te görüldüğü gibi; metformin AICAR gibi ilaçlar ve bazı hormonlar tarafından AMPK enzimi aktive olmaktadır diğer taraftan obezite ve hiperglisemi gibi faktörler ile AMPK'nın ekspresyonunu inhibe edmektedir.



Şekil 5: Metforminin yaşam süresi ile ilişkili etki mekanizması

Sonuç olarak metformin NF- $\kappa$ B inaktivasyonu üzerinden hücre proliferasyonunda artış apoptozda azalmaya yol açarak ve kollajen oluşumunu indükleyerek oksidatif stresin yol açtığı deri yaşlanması üzerindeki etkisini gerçekleştirmektedir. Mekanizmanın tam olarak açıklanması için daha ileri araştırmalara ihtiyaç duyulur.

## KAYNAKLAR

1. Tüzün Y Dolar N. Fotoyaşlanma ve kronolojik yaşlanma arasındaki farklar. T Klin J Int Med Sci 2005;1: 1-6.
2. Dönderici L Taşpınar A. Deri yaşlanması. T Klin Dermatol 1994;456: 61.
3. Palalı Z. Deri yaşlanması ve koruma yöntemleri. XII. Prof. Dr. A. Lütfü Tat Sempozyumu 1995;139-47.
4. Hadshiew IM Eller M.S Gilchrest B.A. Skin aging and photoaging: the role of DNA damage and repair. Am J Contact Dermat 2000;11: 19-25.
5. Alı N. Deri yaşlanmasında hücrel ve moleküler mekanizmalar. T Klin Kozmetol 1998;1: 10-6.
6. Kasper M Funk R. H. W. Age-related changes in cells and tissues due to advanced glycation end products (AGEs). Archives of Gerontology and Geriatrics 2000;32: 233-43.
7. Jenkins G. Molecular mechanisms of skin ageing. Mechanisms of Ageing and Development 2002; 123: 801-10.
8. Hadshiew IM Eller M.S Gilchrest B.A. Skin aging and photoaging: the role of DNA damage and repair. American Journal of Contact Dermatitis 2000; 11: 19-25.
9. Tekin N.S. Deri yaşlanmasının biyolojik mekanizmaları. Türkiye Klinikleri Journal of Internal Medical Sciences 2005;1: 170-5.
10. Chung J.H Hanft V.N Kang S. Aging and photoaging. Journal of the American Academy of Dermatology 2003; 49(4): 690-7
11. Fisher G.J Kang S Varani J Bata-Csorgo Z Wan Y Datta S Voorhees J.J. Mechanisms of photoaging and chronological skin aging. Archives of Dermatology 2002; 138: 1462-70.
12. Sen R Baltimore D. Inducibility of kappa immunoglobulin enhancerbinding protein Nf-kappa B by a posttranslational mechanism. Cell 1986; 47: 921-928.
13. Kierszenbaum A.L. Histology and Cell Biology An Introduction to Pathology. 2nd edition. Canada: Elsevier 2007. pp. 85-104.
14. Shishodia S. ve Aggarwal B.B. Nuclear Factor-kB activation: A question of life and death. Journal of Biochemistry and Molecular Biology 2002; 35(1): 28-40.
15. Bakkar N Guttridge D.C. NF-kappaB signaling: A tale of two pathways in skeletal myogenesis. Physiological Reviews 2010; 90(2): 495-511.
16. Ling L Cao Z Goeddel D.V. NF-kappaB-inducing kinase activates IKKalpha by phosphorylation of Ser-176. Proc Natl Acad Sci USA. 1998; 95: 3792-3797.
17. Mcmillian M Nie A Parker J.B Leone A Kemmerer M Bryant S ve ark. Drug-induced oxidative stress in rat liver from a toxicogenomics perspective Toxicology and Applied Pharmacology 2005; 207: 171-178
18. Allen D Yaqoob M.M Harwood S.M. Mechanisms of high glucose-induced apoptosis and its relationship to diabetic complications. Journal of Nutritional Biochemistry 2005;16: . 705-713
19. Vousden K.H Lu X.. Live or let die: the cells response to p53. Nat Rev Cancer 2002;2: 594- 604.
20. Israels L.G Israels E.D. Apoptosis. The Oncologist 1999; 4: 332-9.
21. Lawrence R Chang L Siebenlist U. ve ark. Vascular smooth muscle cells express a constitutive NF-kappa B-like activity. J Biol Chem 1994;269: 28913-8.
22. Beg AA Baltimore D. An essential role for NF-kB in preventing TNF- $\alpha$  induced cell death. Science 1996;274: 782-4.
23. Stehlik C de Martin R Kumabashiri I Schmid J Binder B Lipp J. Nuclear factor-kappa-B-regulated X-chromosome-linked iap gene expression protects endothelial cells from tumor necrosis factor-alpha-induced apoptosis. J Exp Med. 1998;188: 211-6.



24. Maulik N Goswami S Galang N Das D.K. Differential regulation of Bcl-2 AP-1 and NF- $\kappa$ B on cardiomyocyte apoptosis during myocardial ischemic stress adaptation. *FEBS Lett.* 1999;443: 331-6.
25. Moissac D Zheng H Kirschenbaum L. Linkage of the BH4 domain of Bcl-2 and the nuclear factor- $\kappa$ B signaling pathway for suppression of apoptosis. *J Biol Chem.* 1999; 274: 29505-9.
26. Schneider A Martin-Villalba A Weih F. NF- $\kappa$ B is activated and promotes cell death in focal cerebral ischemia. *Nat Med.* 1999;5: 554-9.
27. Hadshiew I.M Eller M.S Gilchrest B.A. Skin aging and photoaging: the role of DNA damage and repair. *Am J Contact Dermat* 2000;11: 19-25.
28. Soydas T Sarac EY Cinar S Dogan S Solakoglu S Tuncdemir M Kanigur-Sultuybek G. The protective effects of metformin in an invitro model of aging 3T3 fibroblast under the high glucose conditions. *Journal of physiology and Biochemistry*,2018.
29. Rundhaug J.E. Matrix metalloproteinases and angiogenesis. *Journal of cellular and molecular medicine* 2005;9(2): 267-85.
30. Wiseman B.S Sternlicht M.D Lund L.R Alexander C.M Mott J Bissell M.J. Site-specific inductive and inhibitory activities of MMP-2 and MMP-3 orchestrate mammary gland branching morphogenesis. *Journal of Cell Biology* 2003; 162(6): 1123-33.
31. Maskos K. Crystal structures of MMPs in complex with physiological and pharmacological inhibitors. *Biochimie* 2005; 87: 249–63.
32. Kriete A Mayo K.L Yalamanchili N Beggs W Bender P Kari C Rodeck U. Cell autonomous expression of inflammatory genes in biologically aged fibroblasts associated with elevated NF- $\kappa$ B activity. *Immunity & Ageing* 2008;16: 5-5.
33. Adler A Sinha S Kawahara T.L.A Zhang J.Y Segal E Chang H.Y. Motif module map reveals enforcement of aging by continual NF- $\kappa$ B activity. *Genes & Development* 2007;21 (24): 3244-57.
34. Moiseeva O Deschênes-Simard X St-Germain E Igelmann S Huot G Cadar A.E ve ark. Metformin inhibits the senescence-associated secretory phenotype by interfering with IKK/NF- $\kappa$ B activation. *Aging Cell* 2013;12(3): 489-98.
35. Masoro E.J. Caloric restriction and aging: an update. *Exp Gerontol.* 2000;35(3): 299-305.
36. Makrantonaki E Zouboulis C.C. Molecular mechanisms of skin aging: state of the art. *Ann N Y Acad Sci* 2007; 1119: 40-50.
37. Bailey C.J Day C. Metformin: its botanical background. *Practical Diabetes Int* 2004; 21: 115.
38. Bailey C.J Day C. Traditional plant medicines as treatments for diabetes. *Diabetes Care* 1989; 12: 553–564.
39. Gottlieb B, Auld WHR. Metformin In Treatment Of Diabetes Mellitus. *The British Medical Journal* 1962; 1: 5279-680.
40. Gottlieb,B Auld W. H. R. Metformin In Treatment Of Diabetes Mellitus. *The British Medical Journal* 1962; 1: 5279-680.
41. Sterne J. Du nouveau dans les antidiabetiques. La NN dimethylamine guanil guanide. *Maroc Med* 1957;36(388): 873-884.
42. Patade G.R Marita A.R. Metformin: A Journey from countryside to the bedside. *J Obes Metab Res* 2014; 1(2),127-130.
43. Morley J.E. The elderly Type 2 diabetic patient: special considerations. *Diabetic medicine* 1998; 15(4): 41-6.
44. Kanigur-Sultuybek G Güven M Onaran I. The effect of metformin on insulin receptors and lipid peroxidation in alloxan and streptozotocin induced diabetes. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology* 1995; 6: 271–80.
45. Kanigür-Sultuybek G Ozdas S.B Curgunlu A. et al. Does metformin prevent short-term oxidant-induced dna damage? In vitro study on lymphocytes from aged subjects. *J Basic Clin Physiol Pharmacol* 2007; 18: 129-40

46. Onaran I Guven G.S Ozdaş S.B. Kanıgür-Sultuybek G. Metformin does not prevent DNA damage in lymphocytes despite its antioxidant properties against cumene hydroperoxide-induced oxidative stress. *Mutat Res* 2006; 611: 1–8
47. Fu Y.L Zhang Q.H Wang X.W ve He H. Antidiabetic drug metformin mitigates ovarian cancer SKOV3 cell growth by triggering G2/M cell cycle arrest and inhibition of m-TOR/PI3K/Akt signaling pathway. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2017;21(5): 1169-1175.
48. Sacco F Calderone A Castagnoli L Cesareni G. The cell-autonomous mechanisms underlying the activity of metformin as an anticancer drug. *Br J Cancer*. 2016;115(12): 1451-1456.
49. Rowe D.W Starman B.J Fujimoto W.Y Williams R.H. Abnormalities in proliferation and protein synthesis in skin fibroblast cultures from patients with diabetes mellitus. *Diabetes* 1977;26: 284–90.
50. Zhou G Myers R Li Y Chen Y Shen X Fenyk-Melody J Wu M Ventre J Doebber T Fujii N Musi N Hirshman M.F Goodyear L.J Moller D.E. Role of AMP-activated protein kinase in mechanism of metformin action. *J Clin Invest* 2001; 108: 1167–1174.
51. Salminen A Hyttinen J.M Kaarniranta K. AMP-activated protein kinase inhibits NF- $\kappa$ B signaling and inflammation: impact on healthspan and lifespan. *J Mol Med* 2011;89(7): 667-76.
52. Yeung F Hoberg J.E Ramsey C.S Keller M.D Jones D.R Frye R.A ve ark. Modulation of NF- $\kappa$ B-dependent transcription and cell survival by the SIRT1 deacetylation. *EMBO J* 2004; 23: 2369–2380 53.
53. Yang X.D Tajkhorshid E Chen L.F. Functional interplay between acetylation and methylation of RelA subunit of NF- $\kappa$ B. *Mol Cell Biol* 2010; 30: 2170–2180.