

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ANATOMİ ANABİLİM DALI

AMYLOİD İNDÜKLENEREK OLUŞTURULAN RAT
ALZHEİMER MODELİNDE, TAURİN VE B6
VİTAMİNİNİN RAT HİPOCAMPUS'UNDA OLUŞACAK
HASARI ÖNLEYİCİ ROLÜNÜN ARAŞTIRILMASI

Melike ÇETİN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

2021-ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ANATOMİ ANABİLİM DALI

AMYLOİD İNDÜKLENEREK OLUŞTURULAN RAT
ALZHEİMER MODELİNDE, TAURİN VE B6
VİTAMİNİNİN RAT HİPPOCAMPUS’UNDA OLUŞACAK
HASARI ÖNLEYİCİ ROLÜNÜN ARAŞTIRILMASI

Melike ÇETİN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Nurettin OĞUZ

Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TYL-2019-4820 proje numarası ile desteklenmiştir

“Kaynakça gösterilerek tezinden yararlanılabilir”

2021-ANTALYA

TEŐEKKÜR

Yüksek lisans eğitiminin boyunca bilgi birikimini, deneyimlerini benimle paylaşan ve destekleyen; tezin yürütülmesinde ve çalışmalarım süresince yardım, destek ve ilgisini esirgemeyen çok değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Nurettin OĞUZ'a,

Yüksek lisans eğitiminin boyunca bilgi ve tecrübelerini aktaran Anatomi Anabilim Dalı'nın değerli hocalarına,

Tez çalışmamda bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım Sayın Doç. Dr. Güzide Ayşe OCAK'a, Sayın Öğretim Görevlisi Dr. Deniz KANTAR'a,

Tez çalışmamda emeği geçen Sayın Prof. Dr. Gökhan AKKOYUNLU'ya, Sayın Arş. Gör. Alev Duygu ACUN'a Sayın Biyolog Sibel ÖZER'e Sayın Biyolog Arife Demirtop'a, Sayın Dr. Öğretim Üyesi Hakan ER'e ve Sayın Biyolog Murat BİLLOR'a,

Tez çalışmalarım süresince yardımlarını esirgemeyen sevgili arkadaşlarım Dr. Arş. Gör. Gökçe AKYOL ve Arş. Gör. Merve ÖNDER'e ve diğer bölüm arkadaşlarıma, Sağlık Bilimleri Enstitüsü akademik ve idari personeline, Akdeniz Üniversitesi Deneysel Hayvanları Ünitesi çalışanlarına,

Beni bugünlere getiren, hayatım boyunca tüm kararlarımda beni destekleyen varlıkları bana güç veren sevgili annem Emine ÇETİN ve babam Osman ÇETİN'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Amaç: Çalışmadaki amacımız; A β (1-42) indüklenerek oluşturulan rat alzheimer modelinde, rat hipokampusunda oluşacak hasara karşı taurin ve B6 vitamini uygulamasının önleyici rolünün olup olmadığını histolojik, ultrastrüktürel ve biyokimyasal düzeyde araştırmak.

Yöntem: Çalışmamızda 250-350 gr ağırlığında 72 adet erkek rat kullanılmıştır. Ratlar 9 gruba ayrılmıştır. Alzheimer gruplarına intraserebroventriküler A β (1-42) enjeksiyonu yapılarak Alzheimer modeli oluşturulmuştur. Gruplara 3 hafta boyunca enjeksiyonları yapılmıştır. Hippocampus'taki hasar, Morris water maze öğrenme deneyi, biyokimyasal testler, histolojik boyamalar ve elektron mikroskopik inceleme ile analiz edilmiştir.

Bulgular: Yapmış olduğumuz morris water maze deneyi sonucunda kombine tedavi uyguladığımız Alzheimer grubunda öğrenmenin diğer Alzheimer gruplarına göre daha iyi olduğu tespit edildi. Histolojik ve ultrastrüktürel değerlendirmede Alzheimer'lı grupta nöron kaybı, nöron dejenerasyonu ve amyloid birikim ciddi derecede gözlenirken; Alzheimer ve taurin, B6 kombine tedavisi uyguladığımız grubun bu etkileri önemli ölçüde azalttığını gözlemlendi. Biyokimyasal olarakta kombine tedavi uygulanan grupta MDA değeri azalırken; SOD değerinin arttığını tespit edildi.

Sonuç: Sonuç olarak taurin ve B6 kombine uygulamasının Alzheimer'da hippocampus'ta oluşacak hasara karşı önleyici bir etkisinin olduğunu tespit ettik. Bu bulgumuzun Alzheimer hastalığının tedavisinde literature katkı sağlayacağını düşünüyoruz.

Anahtar Kelimeler: alzheimer, hippocampus, taurin, B6 vitamini

ABSTRACT

Objective: The aim of our study is to investigate histological, ultrastructural, biochemical levels whether taurine and vitamin B6 administration have a preventive role against damage to the rat hippocampus in the rat Alzheimer's model induced by A β (1-42)

Method: In our study, 72 male Wistar rats weighing 250-350 gr were used. The rats were divided into 9 groups. Alzheimer's model was created by injecting intracerebroventricular A β (1-42). Groups were given injections for 3 weeks. Damage of the hippocampus was analyzed by the Morris water maze learning experiment, biochemical tests, histological staining, and electron microscopic examination.

Results: As a result of the Morris water maze experiment we conducted, it was found that learning was better in the Alzheimer group, where we applied combined therapy, compared to other Alzheimer groups. In histological and ultrastructural evaluation, while neuron loss, neuron degeneration and amyloid accumulation were observed in the Alzheimer's group; We observed that the group in which we applied taurine-B6 combined therapy significantly reduced these effects.

Conclusion: As a result, we found that the combined application of taurine and B6 has a preventive effect against damage to the hippocampus in Alzheimer's disease. We think that this finding will contribute to the literature in the treatment of Alzheimer's disease.

Key words: Alzheimer, hippocampus, taurine, vit B6

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
TABLolar DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
SİMGELER ve KISALTMALAR	viii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Alzheimer Hastalığı	3
2.1.1. Alzheimer Hastalığı'nın Epidemiyolojisi	3
2.1.2. Risk Faktörleri	3
2.1.3. Alzheimer Hastalığı'nın Fizyopatolojisi	4
2.2. Hippocampus (cornu Ammosis)	6
2.2.1. Hippocampus Anatomisi	6
2.2.2. Hippocampus'un Fonksiyonları	7
2.3. Taurin	8
2.3.1. Taurin'in Biyolojik Fonksiyonları	9
2.4. B6 Vitamini (Pridoksin)	10
2.5. Serbest Radikaller	11
2.6. Antioksidan Savunma Sistemleri	11
2.6.1. Antioksidanların Sınıflandırması	12

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Denekler	13
3.2. Deney Gruplarının Oluşturulması	13
3.3. Alzheimer Modeli Oluşturma	16
3.4. Taurin Uygulaması	17
3.5. B6 vitamini Uygulaması	17
3.6. Morris Water Maze Deneyinin Yapılması	17
3.7. Hippocampus Dokusunun Diseksiyonu	19
3.8. Işık Mikroskopi İncelemesi	20
3.9. Elektron Mikroskopi İncelemesi	22
3.10. Biyokimyasal Analiz	23
3.11. İstatistiksel Analiz	25

4. BULGULAR

4.1. Morris Water Maze deneyi bulguları	26
4.2. Işık Mikroskobik İnceleme Bulguları	29
4.2.1. Hemotoksilen & eosin boyama değerlendirme	29
4.2.2. İmmünohistokimyasal boyamalar	34
4.3. Ultrastrüktürel Değerlendirme Bulguları	35
4.4. Biyokimyasal Analiz Bulguları	38
4.4.1. Lipid peroksidasyon seviyeleri	38
4.4.2. Hippocampus dokusu SOD enzim düzeyi	39

5. TARTIŞMA	41
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	46
KAYNAKLAR	48
ÖZGEÇMİŞ	61

TABLolar DİZİNİ

Tablo 3.2. Deney gruplarının sayısal dağılımı	14
Tablo 4.1.1. Grupların deneyin ilk 5 günü platformu bulma sürelerinin karşılaştırılması	26
Tablo 4.1.2. Gruplara göre probe trial gününde hedef kadranda geçirilen süre, hedef kadrana girme sıklığının karşılaştırılması	28

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.3. Taurin'in kimyasal formülü	9
Şekil 2.4. Pridoksin' in kimyasal formülü	11
Şekil3.3. İntraserebroventriküler A β (1-42) enjeksiyonu	17
Şekil 3.6. Morris su tankında yüzdürme seansı	19
Şekil 3.7. Hipocampus dokusunun diseksiyonu	20
Şekil 4.1.1 Gruplara göre platformu bulma sürelerindeki değişim	27
Şekil 4.1.2. Gruplara göre probe trial gününde hedef kadranda geçirilen süre	29
Şekil 4.2.1. Hematoksilen&eosin boyaması	30
Şekil 4.2.2. CA1 nöron sayısı/uzunluk	33
Şekil 4.2.3. Anti-beta amyloid antikoru ile yapılan boyamalar	34
Şekil 4.3. Elektron mikroskopi bulguları	36
Şekil 4.4.1. MDA değerleri	39
Şekil 4.4.2. SOD enzim aktivitesi	40
Şekil 4.4.3. Oksidatif stres indeksi	40

SİMGELER ve KISALTMALAR

AB	: Amyloid- β
AH	: Alzheimer hastalığı
Alz	: Alzheimer
CY212	: Araldite
GABA	: Gamma- aminobütirik asit
ISV	: İntraserebroventriküler
IP	: İntraperitoneal
LTP	: Uzun süreli potansiasyon
MAP	: Mikrotübül asosiye proteinler
MDA	: Malonaldehit
NFT	: Nörofibriler yumak
NMDA	: N-metil-D-aspartat
ROS	: Reaktif oksijen türleri
SFT	: Sörensen Fosfat Tamponu
SOD	: Superoksit dismutaz
TAAB	: Propilen oksit
TBARS	: Tiyobarbitürat reaktif maddeler
TNF	: % 100 tamponlu nöral formaldehit

1. GİRİŞ

Alzheimer hastalığı, demansın en sık rastlanan formu olup ilerleyici, geri dönüşümsüz nörodejeneratif bir hastalıktır. Hafıza kaybı, davranış bozuklukları ve mental beceri eksikliğiyle karakterizedir (Dos Santos Picanco ve ark., 2018; Gol ve ark., 2019). Alzheimer hastalığı'nda, Amyloid β ($A\beta$) peptitleri kaynaklı amyloid (senile) plaklar ve tau proteini içeren nörofibriller yumaklar, dejenerasyon ve nöron kaybı görülür (Collin ve ark., 2018; Baluchnejadmojarad ve ark., 2019).

Alzheimer hastalığı demans'ın % 70 sebebidir. (Plassman ve ark., 2007). 2018 Dünya Alzheimer Rapor'una göre 50 milyon kişi demans'tan muzdariptir. Bu sayıların artıp 2030 yılında 82 milyon, 2050 yılında ise 152 milyon kişi olacağı tahmin edilmektedir.

Çeşitli çalışmalarda $A\beta$ oligomerlerinin oldukça toksik ve oksidatif stresle ilgili olduğu, sinaps kaybına neden olduğu gösterilmiştir (Shahidi ve ark., 2017). $A\beta$ birikimi öğrenme ve hafıza problemlerine sebep olmaktadır (Shankar ve Walsh, 2009). Ratlarda Alzheimer modeli oluşturmak için çeşitli yollar vardır. $A\beta(1-42)$ 'nin intraserebroventriküler enjeksiyonu bunlardan biridir (Orbán ve ark., 2010; Zhang ve ark., 2015) (Zhu ve ark., 2016). $A\beta$ 'nin intraserebroventriküler enjeksiyonu sonrası $A\beta$, serebrospinal sıvı vasıtasıyla perivasküler ve lenfatik yollardan beyin hücrelerine etki etmektedir (Tarasoff-Conway ve ark., 2015; Kasza ve ark., 2017).

Oksidatif stres, mitokondriyal anormallikleri de indükleyerek Alzheimer gibi nörodejeneratif hastalıkların oluşmasında önemli rol oynamaktadır. Antioksidanlar ROS' u elimine etmede koruyucu rol oynayan önemli bir komponenttir ve ROS' tan kaynaklanan nöronal hasardan korumaktadır. Antioksidanlar, serbest radikallerin hasarına karşı ilk hatta savunma sağlar ve optimum sağlık ve iyilik halini sağlamada kritiktir (Gol ve ark., 2019).

Sülfür içeren diğer aminoasitler gibi taurinin de antioksidan özelliği olduğu çalışmalar sonucu bulunmuştur. Taurin direkt antioksidan etkisiyle membran fosfolipitleri ile

etkileşerek lipit peroksidasyonunu engeller ve lipit peroksidasyonun son ürünü olan malonaldehit (MDA) düzeyini azaltır. Taurin sülfonik asit grubuyla serbest metal iyonları ve oksidan metallere bağlanarak indirekt antioksidan bir etkisinin olduğu bildirilmiştir (Huxtable, 1992).

B6 vitamini, çoğu aminoasit biyosentezi ile ilgili olan 140'dan fazla biyokimyasal reaksiyonu katalizleyen bir ko-faktördür (Hellmann ve Mooney, 2010). Nöronal uyarılma ve inhibisyonda görev alan B6 vitamini serotonin, dopamin, epinefrin, nörepinefrin, GABA gibi nörotransmitterlerin sentezi için gereklidir (Stover ve Field, 2015). Antioksidant ve antiinflamatuvar özellikler gösteren B6 vitamini reaktif oksijen ürünleri (ROS)' u azaltır (Havaux ve ark., 2009; Mooney ve ark., 2009; Midttun ve ark., 2011).

Bu çalışmada amacımız intraserebroventriküler olarak verilen A β (1-42) yoluyla oluşturulan rat alzheimer modelinde, rat hippocampus'unda oluşacak hasara karşı taurin ve B6 vitamini uygulamasının önleyici rolünün olup olmadığını histolojik, ultrastrüktürel ve biyokimyasal düzeyde araştırmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Alzheimer Hastalığı

Alzheimer hastalığı (AH) merkezi sinir sisteminin çeşitli kısımlarında nöron ve sinaps kayıpları ile ortaya çıkan; bilişsel işlevlerde azalma, öz bakım yetersizlikleri çeşitli nöropsikiyatrik ve davranışsal bozukluklar ile karakterize olan progresif nörodejeneratif bir hastalıktır (Gilman, 1997; Lleo ve ark., 2006). Alzheimer hastalığı, ilk kez 1906 yılında Alman fizyiatrist Alois Alzheimer tarafından tanımlanmıştır (Maurer ve ark., 1997).

2.1.1. Alzheimer Hastalığı'nın Epidemiyolojisi

Alzheimer'ın görülme sıklığı yaşla beraber artmaktadır. Yaygınlığı 60-65 yaş arasında yaklaşık %1 iken 80-85 yaş aralığında %20-%50' ye çıkmaktadır. Alzheimer hastalığı tek başına demansın %50-%75 sebebidir. Prevelansı 65 yaşından sonra her 5 yılda 2 katına çıkmaktadır. Şu anda 20-30 milyon insanı etkilemektedir. Kadınlar uzun yaşam süreleri ve östrojen eksikliği nedeniyle daha büyük risk taşımaktadır (Knopman DS, 2003). Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'ya göre küresel dünya nüfusunda önümüzdeki on yıllarda Alzheimer hastası sayısı dört kat artarak, 2050 yılında 114 milyon hastaya ulaşacağını öngörmektedir ("2015 alzheimer's disease facts and figures," 2015). Bu durum büyük bir sosyal etkiye sahip olmasının yanı sıra dünya çapında sağlık sistemi üzerinde büyük bir ekonomik yükün oluşmasına neden olacaktır (Chiang ve Koo, 2014; Santana ve ark., 2015)

2.1.2 Risk Faktörleri

Alzheimer hastalığı multifaktörlü bir hastalıktır ve bilinen tek bir sebebi yoktur. Hastalığın progresyonu ve gelişimi ile ilgili modifiye edilebilir ve modifiye edilemez risk faktörleri içermektedir.

Gelişen Alzheimer için en önemli risk faktörü yaştır. 65 yaşından sonra ortalama olarak her 5 yılda bir iki katına çıkmaktadır (Ott ve ark., 1995; Querfurth ve LaFerla, 2010) Alzheimer'dan muzdarip olan bireylerin çoğu 65 yaşında veya 65 yaşından büyük olanlar 'geç başlangıçlı' veya 'sporadik' Alzheimer hastalığı olarak tanımlanır. Tüm

vakaların %95'nden fazlası bu şekildedir. Az rastlanan genetik mutasyonlarla ilgili olan ve 65 yaşından önce gelişen Alzheimer hastalıkları ise "erken başlangıçlı" veya "ailesel" Alzheimer hastalığı olarak tanımlanır. Tüm vakaların %5'nden azı bu şekildedir (Holtzman ve ark., 2011). Ailesel Alzheimer formu olan bireylerde; 1 ve 14. kromozomda lokalize olan presenil genlerde otozomal dominant mutasyon olması ya da amyloid prekürsür protein (APP) geninin 21. kromozomda lokalizedir. Ek olarak Down sendromu (trisomi 21) olan bireyler erken başlangıçlı Alzheimer hastalığı için artan bir risk faktörüdür.

Sporadik AH daha komplekstir ve daha az anlaşılmıştır. Bilinen apolipoprotein E (APOE) geninin epsilon 4 alleli 19. Kromozomda lokalizedir ve sporadik Alzheimer hastalığı gelişmesi için bir risk faktörüdür (Reiman ve ark., 2005).

Alzheimer hastalığının prevalansı kadınlarda uzun yaşam sürelerinden dolayı daha fazladır (Hebert ve ark., 2001). Düşük eğitim düzeyi Alzheimer'ın oluşması için önemli bir risk faktörüdür (Ott ve ark., 1995). Eğitimin bir kişinin bilişsel birikimini arttırdığı ve Alzheimer patolojisine karşı hizmet ettiği fikri yaygındır. Serebrovasküler risk faktörlerinin Alzheimer'ın gelişmesinde ve ilerlemesinde önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Diyabet, hipertansiyon, obezite, sigara içme geçmişi olan bireyler Alzheimer hastalığı için önemli risk faktörü kategorisindedir (Barnes ve Yaffe, 2011). Aile öyküsünde birinci derecede yakınlarında Alzheimerlı birey olanlar, geçirdiği beyin sarsıntısı ile bilinç kaybı olan kişiler de Alzheimer oluşması için risk faktörü içeren gruptadırlar (Gilman S, 2010).

2.1.3 Alzheimer Hastalığı'nın Fiziopatolojisi

Alzheimer hastalığında makroskobik bulgu olarak beyinde atrofi, giruslarda daralma, sulkuslarda ve ventriküllerde genişleme gözlenir. Mikroskobik olarak ise intraselüler birikim gösteren amiloid plaklar, ekstraselüler birikim gösteren nörofibriler yumaklar(NFY'lar) ve nöron kayıpları gözlenmektedir (Dos Santos Picanco ve ark., 2018).

Amyloid (senil) Plaklar

Amyloid plakların ana bileşeni Amyloid β (A β) peptitleridir (Masters ve ark., 1985). A β peptitleri 39-43 aminoasitten oluşur. A β , transmembran bir protein olan Amyloid prekürsör protein (APP)'den preteolitik yolla oluşmaktadır. APP'den beta sekretaz ve gama sekretaz enzimleri aracılığıyla Amyloid β (1-40) ve Amyloid β (1-42) metabolizma ürünü olarak oluşur (Kang ve ark., 1987; Coulson ve ark., 2000). Amyloid β 'nin büyük çoğunluğunu A β (1-40) oluşturur. A β (1-42) ise hidrofobik olup daha hızlı agregasyon olmaktadır (Walsh ve Selkoe, 2007; Perl, 2010). A β (1-42) isoformu nörodejenerasyon süreciyle ilgili sitotoksik ürünler içerir ve oksiradikal formasyonlarını uyarır (Dos Santos Picanco ve ark., 2018). A β diffüz plaklar halinde agregasyon olmakta bunlarda yoğun nöritik plaklara dönüşmektedir (Cummings, 2004). Amyloid β depolanması ve diffüz plak formasyonu mikroglyal aktivasyona, sitokin salınımına ve reaktif astrositlere ve multiprotein inflamatuvar cevaba yol açmaktadır. Akson dentrit ve nöronal hücre gövdelerinin etrafındaki biyokimyasal ve yapısal değişiklikler Alzheimer hastalığı'ndaki sinaps kaybı, nöron kaybı ve geniş serebral atrofi ile karakterizedir (Barage ve Sonawane, 2015). Çözünebilen A β oligomerlerinin Alzheimer'ın erken evrelerinde hippocampus ve entorhinal kortekste saptanır (Moodley ve Chan, 2014). A β indirekt olarak reaktif oksijen ürünleri (ROS)'u üretir (Akiyama ve ark., 2000).

Nörofibriler Yumaklar

Nöropatolojik olarak Alzheimer hastalığı'ndaki nörofibriler yumaklar (NFY) tau proteinleri tarafından oluşmaktadır (Trojanowski ve Mattson, 2003). Tau proteinleri ana olarak nöronlarda bulunmaktadır ve mikrotübül asosiyasyon proteinler (MAP) ailesine dahildir (Tucker, 1990). Yetişkin beyinde 6 isoformu bulunan tau proteini 17. kromozomun uzun kolunda lokalize olarak bulunmaktadır. Mikrotübüllerin stabilizasyonu, hücre iskeletinin bütünlüğü ve aksonal transportta önemli rol oynamaktadır (Barage ve Sonawane, 2015). Tau proteinin nöronlarda ve diğer hücre nükleuslarında DNA ve RNA ile etkileşime girdiği ve nükleolar yapının oluşmasında işlev gördüğü düşünülmektedir (Sjoberg ve ark., 2006). AH'de hiperaktif kinazlar ve hipoaktif fosfatazlar tau proteinin hiperfosforilasyonuna yol açarak mikrotübüllerin bağlanma yeteneklerini bozarlar. Bağlanmamış fosforolize tau çözünemeyen çift sarmallı filamanlara polimerize olur. Zamanla intranöral nörofibriler yumaklar haline gelirler.

Nörofibriler yumaklar sonunda hücre iskeletinin bütünlüğünü, aksonal transportu bozar ve nöron ölümüne neden olur. Hücrenin ölümüyle birlikte ortaya çıkan extraselüler nörofibriler yumağa "hayalet yumak" denir (Grober ve ark., 1999; Bennett ve ark., 2004). Alzheimer'daki nörofibriler yumaklar hippokampal formasyon, parahippokampal girus, amigdala, entorhinal korteks ve kortikal asosiasyon alanları'nda bulunmaktadır (Braak ve Braak, 1991).

2.2. Hippocampus (Cornu Ammosis)

2.2.1. Hippocampus Anatomisi

"Hippocampus lateral ventriküllerin cornu temporalesi'nin tabanında bulunur. Ortalama 5 cm uzunluğundaki bu yapıya coronal kesitte deniz atına benzemesi sebebiyle hippocampus (deniz atı) denilmiştir. Pes hippocampi denilen geniş ön kısmında 3-4 yuvarlak çıkıntı bulunur. Bu çıkıntılara digitationes hippocampi denilir. Hippocampus'un coronal kesiti C harfi şeklindedir. Hippocampus'un ventrikül boşluğu'ndaki konveks yüzü alveus denilen ince bir beyaz cevher tabakasıyla kaplıdır. Alveus'u oluşturan myelinli lifler, hippocampus'ta bulunan sinir hücrelerinin aksonlarıdır. Bu lifler hippocampus'un medial kenarına doğru uzanarak fimbria hippocampi'yi oluşturur. Gyrus dentatus ve hippocampus arasında bulunan fimbria hippocampi, arkada crus fornicis olarak uzanır." (Arıncı ve Elhan 2014).

"Hippocampus alt mediale doğru subikulum ve gyrus parahippocampalis ile devam eder. Gyrus parahippocampalis'in öne doğru uzanan kısmına uncus denir. Hippocampus arkada corpus callosum'un splenium kısmının altına kadar uzanır. Gyrus dentatus, hippocampus'un medialinde, fimbria hippocampi ile subiculum arasında yer alır. Ön tarafta uncus'a karışan gyrus dentatus, arka tarafta gyrus fasciolaris ile; gyrus fasciolaris ise corpus callosum'un üzerindeki ince bir gri cevher tabakası olan indesium griseum ile devam eder" (Yıldırım, 2000).

"Hippocampus formasyonu: Hippocampus, gyrus dentatus ve bunlara ait beyaz cevherler olan alveus ve fimbria hippocampi'den oluşur" (Arıncı ve Elhan, 2014).

Hippocampus'un dış yüzü koç boynuzu'na benzediği için "cornu ammosis" olarak da anılmaktadır. Ammon koçbaşı Mısır tanrısına verilen isimdir. Hippocampus bölümleri bu nedenle hücresel özellikleri de göz önünde bulundurularak CA1, CA2, CA3, CA4 olarak isimlendirilmiştir. CA1 subikulumu CA4 ise dentat girusa en yakın alandır. (İzci ve Erbaş, 2015).

"Hippocampus'u oluşturan ana eksitator hücre tipi piramidal nöronlardır. Bu nöronların bazal dentritleri ventriküler yüzeye doğru lateral yönde uzanırlar, apikal dentritleri ise ventriküler yüzeyin tersi yönünde gyrus dentatus'a doğru seyrederek. Bazal dentritler komşu piramidal hücrelerden, septal liflerden ve komissural lifler aracılığıyla karşı taraftan özellikle CA2 ve CA3 bölgelerinden, gelen afferentler alır. Piramidal hücrelerin aksonları hippocampus'un başlıca efferentleridir ve hippocampus'un yüzeyel tabakasını

geçtikten sonra alveus adını alan bir lif tabakasını oluştururlar. Alveus içinde seyreden lifler fimbria hippocampi veya entorhinal kortekse iletilirler” (Erzurumlu ve ark., 2019).

Hippocampus’un Tabakaları

“Hippocampus evrimsel açıdan korteksin en eski (archiocortex) kısımlarından biri olarak kabul edilir. Histolojik olarak ventriküle yüzeyden gyrus dentatus’a doğru sıralanan tabakalardan oluşur.

1. Stratum plexiforme externum (alveus): Lateral ventriküllerin cornu inferius’una komşu olarak seyreden piramidal hücre aksonlarından oluşan en derin tabakadır. Bu tabakada entorhinal korteksten alvear yolak aracılığıyla hippocampus’a gelen lifler de bulunur.

2. Stratum Oriens: Esas olarak piramidal hücrelerin bazal dentritleri ile inhibitör tipteki internöronların (sepet hücreleri) ve horizontal trilaminar hücrelerin bulunduğu tabakadır.

3. Stratum pyramidalis: Bu tabakada yerleşen piramidal hücrelerin dizilimi hippocampus’a çıplak gözle de fark edilebilen “C” harfine benzer kıvrımlı şeklini verir. Üçgen şeklindeki hücre gövdelerinin taban kısmı ventriküler yüzeye dönüktür, aksonları ise stratum oriens’ten geçerek alveus içerisinde seyreder. Bu tabaka CA3 bölgesinde birçok internöron tipine ait hücre gövdelerini ve yosunsu lifler ile oluşturulan sinapsları içerir.

4. Stratum lucidum: İnsanda diğer primatlara göre daha belirgindir ve sadece CA3 alanında bulunur; hippocampus’un en ince tabakasıdır. Gyrus dentatus ve granüler hücrelerden gelen yosunsu lifler içerir.

5. Stratum radiatum: Septal, komissural, bellek ve emosyonel bağlantı ağının temel unsuru olan CA3’dan CA1’e giden Schaffer kollateral liflerini içeren bölgede aynı zamanda yüzeyel yerleşimli internöronlar da (sepet hücreleri, radial trilaminar hücreler) bulunur.

6. Stratum lacunosum moleculare: Bu son iki tabaka piramidal hücrelerinin apikal hücrelerinin apikal dentritleri tarafından oluşturulan tek bir tabaka gibi de kabul edilir. Schaffer kollateral liflerine ek olarak entorhinal korteksin yüzeyel tabakalarından hippocampus’a gelen perforan yolak liflerini de içerir “ (Erzurumlu ve ark., 2019).

2.2.2. Hippocampus’un Fonksiyonları

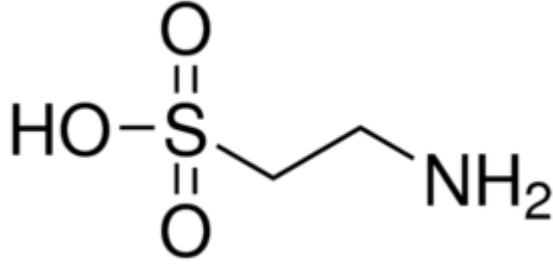
“Hippocampus hareketlerin davranışa dönüştürülmesinde, uzaysal hafıza ve yön bulmada önemli bir rolü vardır. Yakın hafıza ve öğrenme önemli işlevlerinden olup, kısa süreli belleği uzun süreli belleğe dönüştürülmesi için sinyaller göndermek diğer limbik sistem bölgeleri ile bağlantı sağlamaktır. Uyarıldığında öfke, aşırı seks dürtüsü gibi davranışlar oluşur. Aşırı uyarılırsa epileptik nöbetlere neden olur. Hippocampus bölgesinde oluşan bilgilerin sürekli kalması için cortex’teki üst merkezlere birbiri ardına uyarılar gönderilir.” (Arifoğlu, 2019)

Hippocampus hareketlerin davranış biçimine dönüşmesinde önemli rol oynayan limbik sistemde yer alır. Alzheimer hastalığında hippocampus ilk etkilenen bölgelerden biridir (Padurariu ve ark., 2012). Bu sebeple hafıza ve oryantasyon bozuklukları Alzheimer hastalığının ilk belirtilerindendir (Kaiboriboon ve Hogan, 2002).

Sağ hippocampus görsel, sol hippocampus ise sözel hafıza ile ilgili olan fonksiyonlarda daha aktiftir. Hippocampus nörofizyoloji çalışmalarında da kullanılmaktadır. Uzun süreli potansiyasyon (LTP) olarak bilinen ‘‘nöral plastite’’ öncelikle burada rastlanmıştır. Hafıza oluşumunda temel nöral mekanizma olduğu düşünülmektedir (İzci ve Erbaş, 2015). Hippocampus hipotalamik fonksiyonları düzenlemektedir (Koehl ve Abrous, 2011). Alzheimer hastalığında hippocampus’taki CA1, CA2, CA3 bölgelerinde piramidal hücrelerinde azalma olduğu gözlenmiştir. CA3 ve gyrus dentatus’taki hasarlarda bilinen objelerin yer değiştirmesi sonucu yeni konumlarının bulunmasında problemler ortaya çıkmaktayken, CA1 bölgesinin hasarında böyle bir durum gözlenmez (Moser ve ark., 2015).

2.3. Taurin

Hücre içindeki en fazla bulunan aminoasitlerden biri olan taurin (2-aminoetan sülfonik asit) (Şekil 2.3.); 125 kDa molekül ağırlığında, renksiz, suda çözünebilen, sülfür içeren, memelilerde bulunan bir aminoasittir. Gelişim süreçlerinde önemli rol oynar (Chesney, 1985; Jakaria ve ark., 2019). Serbest bir aminoasit olan taurin ilk kez 1827 yılında sığır safrasından Fredrich Tiedemann ve Leopold Gmelin tarafından elde edilmiştir (Chen ve ark., 2019). Taurin hayvanlar aleminde bulunmaktadır ve az miktarda alglerde bulunur. Yine az miktarda bazı bitkilerde, mantarlarda ve bakterilerde bulunur. Memelilerde, etçil ve otçullarda ve insanlarda yüksek konsantrasyonlarda bulunur. 70 kg’lık yetişkin bir erkekte 70 gr taurin bulunmaktadır (Marles ve ark., 2010). Sülfürlü bir aminoasit olan sistenin karboksilsizleşmesi sonucu meydana gelir. Diğer aminoasitlerden farklı olarak karboksil grubu (-COOH) yerine sülfonik grubu (-SO₃H) bulunur (Olmez ve Polat, 2010). Bir B-aminoasit olan taurin en çok karaciğer ve böbrekten üretilir fakat diğer birçok hücre ve dokularda; beyin, retina, kalp, placenta, lökosit, kasta bulunur (Park ve ark., 2014). Esansiyel bir aminoasit olmayan taurin karaciğerde sistin ve methionin’den sentezlenmektedir. Taurin sentezi için bilinen üçyol bulunmaktadır. Bütün bu yollar bir kofaktör olan B6 vitamininin aktif formu pridoksal -5’-fosfata (P5P) gereksinim duyar. B6 vitamini eksikliği taurin sentezini bozmakta ve endojen taurin düzeylerinde azalmaya neden olmaktadır (Birdsall, 1998; Redmond ve ark., 1998; Olmez ve Polat, 2010).



Şekil 2.3. Taurin'in kimyasal formülü

2.3.1. Taurin'in Biyolojik Fonksiyonları

Taurin'in birçok biyolojik fonksiyonu bulunmaktadır. Bunlar; safra tuzu üretimi, ozmoregülasyon, membran stabilizasyonu, detoksifikasyon, kalsiyum regülasyonu, antioksidant ve antiinflamatuvar etkileridir (Redmond ve ark., 1998; Murakami, 2015; Chen ve ark., 2019). Yapılan birçok çalışma taurin'in değişik organ ve sistemler üzerine etkisi olduğunu göstermektedir. Bunlar; kardiyovasküler sistem, iskelet kasları, retina, böbrek, karaciğer ve sinir sistemi üzerine etkileri vardır. En iyi bilinen karaciğerdeki safra asitlerini konjuge eder böylece normal safra salınımına katkı sağlar (Chen ve ark., 2019). Başka bir çalışmaya göre mitokondriden tRNA sentezini sağlamaktır (Suzuki ve ark., 2002). İskelet kaslarında ise taurin kalsiyum iyonuna bağlı kasılma kontraksiyonuna katkı yapar, antioksidant defans sağlayarak normal iskelet kası fonksiyonuna katkı yapar ve iskelet kasının büyümesini sağlar (Miyazaki ve ark., 2013; Spriet ve Whitfield, 2015). Hücre volümünü düzenler. Kardiyovasküler sistemde ateroskleroza ve koronar kalp hastalıklarını apolipoprotein B100 seviyelerini azaltarak veya kardiyak kontraksiyonu arttırarak azaltır. Son zamanlarda bir meta -analiz taurinin insanda antihipertensiv etkisi olduğunu önermektedir (Miyazaki ve ark., 2013; Chen ve ark., 2019). Taurin osmoliti, hücre döngüsünü ve apoptozisi düzenleyerek normal böbrek fonksiyonunu sağlar (Chesney ve ark., 2010). Taurin ayrıca göz sağlığı için önemlidir. Retinal gelişim için hayati önem taşır (Froger ve ark., 2014).

Taurin'in Merkezi Sinir Sistemi Üzerine Etkisi

Taurin'in gelişimsel süreçte bütün beyin bölgelerinde önemli miktarda olduğu bilinmektedir. Taurin'in beyin gelişimi esnasında hücre göçünü engellediği sinirsel iletimi düzenleyip beyin gelişimini hızlandırdığı bildirilmiştir (Lourenco ve Camilo,

2002). Taurin, merkezi sinir sisteminde hem nöronlarda hem glialarda bulunur ve kan beyin bariyerini geçebilir (Chesney, 1985). Beyin hücrelerinin artmasını desteklediği ve toksik ajanların zararlarından koruduğu görülmüştür. Taurin uygulamasının çeşitli sinir sistemi hastalıklarını; Alzheimer, Parkinson, Huntington hastalığı gibi hafifletebilir. Sinir sisteminde belirli reseptörlerin eksikliği sonucu taurin üç hedef reseptör: GABA, glisin ve N-methyl -D-aspartate (NMDA) reseptörleri yoluyla sıklıkla önemli fizyolojik rol oynar. Hücre düzeyinde taurin ozmoregülatör olarak hücre volümünü düzenler. Mitokondri disfonksiyonundan korur (Chen ve ark., 2019).

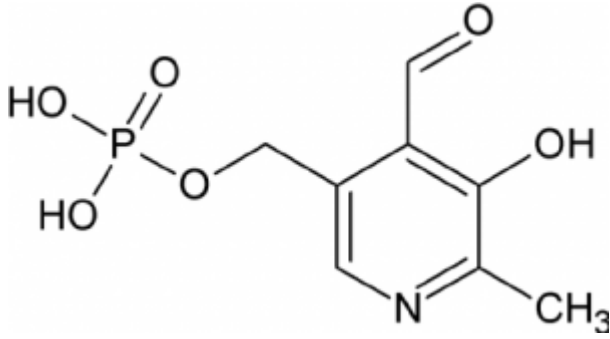
Taurin'in Antioksidan Özelliği

Sülfür içeren diğer aminoasitler gibi taurinin de antioksidan özelliği olduğu çalışmalar sonucu bulunmuştur. Taurin direkt antioksidan etkisiyle membran fosfolipitleri ile etkileşerek lipid peroksidasyonunu engeller ve lipid peroksidasyonun son ürünü olan malonaldehit (MDA) düzeyini azaltır. Taurin sülfonik asit grubuyla serbest metal iyonları ve oksidan metallere bağlanarak indirekt antioksidan bir etkisi olduğu bildirilmiştir. (Huxtable, 1992)

2.4. B6 Vitamini (Pridoksin)

B6 vitamini (pridoksin), protein, lipid ve karbonhidrat metabolizmasına dahil olan eşsiz bir vitamindir. B6 vitamini Paul Gregory tarafında 1934 yılı'nda ratlardaki dermatitte tedavi edici bir faktör olarak keşfedilmiştir. B6 vitamini suda çözünebilir bir vitamindir. Kimyasal olarak 3-hydroxy-4, 5 hydroxymethyl- 2-methylpyridine (Şekil 2.4.) tanımlanmaktadır (Ahmad ve ark., 2013; Stover ve Field, 2015). B6 vitamini 3-hydroxy-2-methyl-pyrimidine'den türetilen 3 tane gruptan oluşur. Bunlar; pridoksin (PN) bir alkol, pridoksal (PL) bir aldehit, pridoksamin (PM) bir amino grubu içeren gruptan oluşmaktadır. Biyolojik olarak aktif ko-enzim formları olan 5'fosfat esterleri ise: pridoksin-5'-fosfat, pridoksal-5'fosfat, pridoksamin-5'fosfat'tır. Pridoksal-5'-fosfat biyolojik olarak en aktif formudur (Spinneker ve ark., 2007; Mooney ve ark., 2009). Vitamin B6 doğal olarak tahıllarda, baklagillerde muz ve avokado gibi meyvelerde, ıspanak ve patates gibi sebzelerde, süt, peynir, yumurta kırmızı et, karaciğer ve balıklarda bulunur (Aspy ve ark., 2018). B6 vitamini jejenum'un üst kısmı ve biraz da ileum'dan emilir (Spinneker ve ark., 2007). B6 vitaminin en aktif formu olan pridoksal-

5'fosfat (PLP) bir ko-enzim olarak 140'a yakın biyokimyasal reaksiyona katılıp, reaksiyonu katalizler. B6 vitamini beyinde seratonin, epinefrin, nörepinefrin, GABA gibi nörotransmitterlerin sentezi için gereklidir. Nöronal uyarılma ve inhibisyonda da görev alır. PLP'ye bağlı enzimler aminoasit metabolizmasında, glikoliz, glikogeneosis, poliamin biyosentezi, taurin ve sfingolipid sentezinde önemli rol oynar. B6 vitamini yağ asitlerinin sentezine katkı sağlar (Stover ve Field, 2015; Parra ve ark., 2018). Pridoksin aynı zamanda reaktif oksijen ürünlerini (ROS)'u azaltır (Ueland ve ark., 2017; Parra ve ark., 2018).



Şekil 2.4. Pridoksin'in kimyasal formülü

2.5. Serbest Radikaller

‘Serbest radikaller eşlenmemiş bir elektron içeren yüksek düzeyde reaktif olan türlerdir; bunlar bir başka molekül ile çakışmadan önce çok kısa bir süre kalıcıdırlar. Kararlılığa ulaşabilmeleri için ya bir elektron çıkarırlar ya da verirler. Bu şekilde çakışan molekülden yeni bir radikal oluşumu gerçekleşir. Zincir reaksiyonu olarak tanımlanan bir radikalın bastırıldığı tek yol, ancak iki radikalın birbiri ile reaksiyona girerek moleküllerden biri ya da diğerindeki eşlenmemiş elektronun eşlenmesi ile sonuçlanır. Tek bir radikalın yarılanma ömrü çok kısa ve radikallerin dokudaki konsantrasyonları çok düşük olduğu için bu olay seyrek meydana gelir. Biyolojik sistemlerde en fazla hasar oluşturan radikaller özellikle süperoksit, O₂, hidroksil, OH ve peroksil, O₂ gibi oksijen radikalleridir (bazen reaktif oksijen türleri olarak da adlandırılırlar). Oksijen radikallerinin oluşturduğu doku hasarı oksidatif hasar, oksijen radikallerinin oluşturduğu hasara karşı koruyucu olan faktörler ise antioksidanlar olarak adlandırılır’ (Murray ve ark., 2015).

2.6. Antioksidan Savunma Sistemleri

Reaktif oksijen türlerinin oluşumunu engellemek, reaktif oksijen türlerinin oluşturduğu hasarları önlemek ve detoksifikasyonu sağlamak amacıyla görev yapan savunma sistemlerine ‘antioksidan savunma sistemleri’ denir (Karabulut ve Gülay, 2016).

Antioksidan bazı mekanizmalar ile etkilerini gösterirler. Bunlar:

1. Radikal oluşumunun sınıflandırılması

2. Tetiklenen biyokimyasal reaksiyonların durdurulması
3. Radikal reaksiyonlarının sonlandırılması
4. Oluşan radikallerin detoksifikasyonu
5. Hasarlı moleküllerin ortadan kaldırılması (Konukoğlu, 1997).

2.6.1. Antioksidanların Sınıflandırması

Antioksidanlar endojen ve eksojen antioksidanlar olmak üzere 2 gruba ayrılır.

Endojen antioksidanlar, enzimatik ve nonenzimatik olarak 2 grupta incelenirler.

Enzim olan antioksidanlar: Superoksit dismutaz (SOD), Katalaz (CAT), Glutatyon peroksidaz (GPx), Glutatyon reduktaz (Gr)'dir.

Nonenzimatik antioksidanlar: Glutatyon, melatonin, ürik asit, bilirubin, albümin, selenyum, koenzim Q10, a-lipoik asit, seruloplazmin ve transferrin sayılabilir.

Eksojen antioksidanlar ise; vitaminler, ilaçlardaki antioksidanlar olarak sınıflandırılabilir.

Vitamin eksojen antioksidanlar: a-tokoferol (Vitamin E), β -karoten (Vitamin A), askorbik asit (Vitamin C) ve folik asit (Vitamin B9)'tir.

İlaç olarak kullanılan eksojen antioksidanlar: Ksantin oksidaz inhibitörleri (allopürinal, oksipürinol, pterin aldehit, tungsten), NADPH oksidaz inhibitörleri (adenozin, lokal anestezipler, kalsiyum kanal blokerleri, nonsteroid antiinflatuar ilaçlar), rekombinant superoksit dismutaz, trolox-C, GPX ativitesini arttıran abselen ve asetilsistein, non enzimatik serbest radikal toplayıcılar (mannitol, albümin), demir redoks döngüsü inhibitörleri (desferroksamin), nötrofil adezyon inhibitörleri, sitokinler (TNF ve IL-1), barbirütler, demir şelatörleri (Karabulut ve Gülay, 2016).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Denekler

Çalışmamızda, Akdeniz Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edilen yaklaşık 250-350 gr ağırlığında *Rattus norvegicus* türü toplam 72 adet, erişkin Wistar albino rat kullanıldı. Denekler 12 saat gece, 12 saat gündüz siklusunda tutuldu. Her kafeste 5 hayvan olacak şekilde ve ad libitum yem ve musluk suyuna ulaşabilecek şekilde barındırılmıştır. Denekler üzerine yapılacak tüm işlemler Akdeniz Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun değerlendirilmesine sunulurak etik kurul kararı ile onay alındı. (Protokol no: 2019.01.11)

3.2. Deney Gruplarının Oluşturulması

Çalışmamızdaki *Rattus norvegicus* türü 250-350 gr ağırlığında 72 adet erişkin erkek Wistar albino rat kullanıldı. Hayvanlar rastgele seçilerek toplam 9 gruba ayrıldı (Tablo: 3.1).

Tablo 3.2. Deney gruplarının sayısal dağılımı

Gruplar	Denek Sayısı	A β (1-42)	Taurin	B6 Vitamini	Serum fizyolojik
Grup 1 (Kontrol)	n=8	-	-	-	-
Grup 2 (Alzheimer)	n=8	+	-	-	-
Grup 3 (Alzheimer + Taurin)	n=8	+	+	-	-
Grup 4 (Alzheimer + B6)	n=8	+	-	+	-
Grup 5 (Alzheimer + Taurin+B6)	n=8	+	+	+	-
Grup 6 (Taurin)	n=8	-	+	-	-
Grup 7 (B6 vitamini)	n=8	-	-	+	-
Grup 8 (İp. serum fizyolojik)	n=8	-	-	-	+
Grup 9 (İsv. serum fizyolojik)	n=8	-	-	-	+

Deney Grupları

Grup 1 (Kontrol): Bu grupta herhangi bir işlem yapılmadı. Deneyin 16 ve 21. günleri arasında Morris water maze deneyi yapılmıştır.

Grup 2 (Alzheimer Grubu): Bilateral olarak intraserebroventriküler A β (1-42) enjeksiyonu yapılmıştır. Deneyin 16 ve 21. günleri arasında Morris water maze deneyi yapılmıştır.

Grup 3 (Alzheimer + Taurin Grubu): Bilateral olarak intraserebroventriküler A β (1-42) enjeksiyonu yapılmış ve taurin 21 gün boyunca intraperitoneal olarak uygulanmıştır. Deneyin 16 ve 21. Günleri arasında Morris water maze deneyi yapılmıştır.

Grup 4 (Alzheimer + B6 vit Grubu): Bilateral olarak intraserebroventriküler A β (1-42) enjeksiyonu yapılmış ve B6 vitamini 21 gün boyunca intraperitoneal olarak uygulanmıştır. Deneyin 16 ve 21. günleri arasında Morris water maze deneyi yapılmıştır.

Grup 5 (Alzheimer + Taurin + B6 vit): Bilateral olarak intraserebroventriküler A β (1-42) enjeksiyonu yapılmış ve taurin ve B6 vitamini 21 gün boyunca intraperitoneal olarak uygulanmıştır. Deneyin 16 ve 21. günleri arasında Morris water maze deneyi yapılmıştır.

Grup 6 (Taurin Grubu): Taurin 21 gün boyunca intraperitoneal olarak uygulanmıştır. Deneyin 16 ve 21. günleri arasında Morris water maze deneyi yapılmıştır.

Grup 7 (B6 vit Grubu): B6 vitamini 21 gün boyunca intraperitoneal olarak uygulanmıştır. Deneyin 16 ve 21. günleri arasında Morris water maze deneyi yapılmıştır.

Grup 8 (Serum fizyolojik/intraperitoneal(sham)): Serum fizyolojik 21 gün boyunca intraperitoneal olarak verilmiştir. Deneyin 16 ve 21. günleri arasında Morris water maze deneyi yapılmıştır.

Grup 9 (Serum fizyolojik/intraserebroventriküler(sham)): Serum fizyolojik bilateral intraserebroventriküler olarak enjekte edilmiştir. Deneyin 16 ve 21. Günleri arasında Morris water maze deneyi yapılmıştır.

3.3. Alzheimer Modeli Oluşturma

Alzheimer modeli oluşturulacak gruplara; Grup 2, grup 3, grup 4, grup 5'e ait ratlara deneyin 1. günü bilateral intraserebroventriküler A β (1-42) enjeksiyonu yapılmıştır. A β (1-42) (Sigma; SCP0038) deneyden 3 gün önce 1000 ml serum fizyolojikte üzülerek hazırlanmıştır. Hazırlanan zlti stoklara ayrılarak kullanılacağı zamana kadar -20°C de muhafaza edilmiştir. lilecek parametrelerde A β (1-42)'yi zdğmz serum fizyolojik'e bağımlı olabilecek olası değişiklikleri bertaraf etmek için, Grup 9'a serum fizyolojik aynı miktarda olacak şekilde bilateral intraserebroventriküler olarak uygulanmıştır. Ratlar 15 mg/kg XylazinHCl (Rompun®) ve 100 mg/kg Ketamin'in (Ketalar®) intraperitoneal enjeksiyonu uygulanarak yeterli anestezi sağlandıktan sonra ratların başı traşlanmıştır. Ratlar kulaklarından ve ağzından sabitlenerek sterotaksik çerçeveye yerleştirilmiştir. Anesteziden sonra vücut sıcaklığını 36-37°C sabit tutmak için ratların altına elektrikli ısıtıcı ped konulmuştur. Ratların başlarına subkutan olarak 10 mg/kg Lidocaine ampul uygulanarak insizyon yapılacak bölgenin yeterince uyuşması sağlanmıştır. Mitsagittal bir insizyon yapılarak derinleştirilmiş ve bregma noktası bulunana kadar bir pamuk yardımıyla bölgede biriken kan temizlenmiştir. Bregma noktası belirlendikten sonra sterotaksik koordinatlara göre lateral ventriküllerin yerleri belirlenip buralara sterotaksik çerçevenin ucuyla birer delik açılmıştır. Lateral ventriküllerin sterotaksik koordinatları: 0,8 mm bregmanın posteriorunda, 1,4 mm sagittal suturun lateralinde, dura mater'den 4 mm aşağıdadır. zlti Hamilton enjektörüne (26G) ektirilip, lateral ventrikül için açılan deliklerden sırasıyla 5.0 μ l miktarında bilateral enjekte edilmiştir. Enjeksiyon 5 dk boyunca sürmüş, 2 dakika boyunca da enjektörü içeride tutup tüm zltinin boşaltılması için bekletilip yavaş yavaş çıkartılmıştır. Enjeksiyondan sonra insizyon sutur atıp kapatılmıştır. Cerrahi yapılan bölgenin enfeksiyonu önlemek amacıyla ratların başlarına antibiyotikli krem srlmştir. Cerrahiden sonra ratlara oral 200 mg/kg parasetamol uygulanmıştır. İşlem sonrası ratlar yem ve suya rahat ulaşabilecekleri şekilde kafeslerine konulmuştur.



Şekil 3.3 İntraserebroventriküler A β (1-42) enjeksiyonu

3.4. Taurin Uygulaması

Taurin uygulaması Grup 3, grup 5 ve grup 6'ya 50 mg/kg dozda 21 gün boyunca (cumartesi ve pazar dahil) saat 10.00-17.00 saatleri arasında günde bir kez intraperitoneal olarak enjekte edilmiştir. Taurin (Sigma; T0625) serum fizyolojik içerisinde çözülerek hazırlanmıştır. Ölçülecek parametrelerde taurini çözdüğümüz serum fizyolojiğe bağlı değişiklikleri bertaraf etmek için, Grup 8'e serum fizyolojik aynı miktarda olacak şekilde verilmiştir (Javed ve ark., 2013).

3.5. B6 Vitamini Uygulaması

B6 vitamini uygulaması Grup 4, grup 5 ve grup 7'e 21 gün boyunca (cumartesi ve pazar dahil) 10.00-17.00 saatleri arasında 50 mg/kg dozda intraperitoneal olarak enjekte edilmiştir. B6 vitamini (Sigma; P5669) serum fizyolojikte çözülerek hazırlanmıştır.

3.6. Morris Water Maze Deneyinin Yapılması (MWM)

Deneyin 17. ve 22. günleri arasında deneklerin öğrenmelerini değerlendirmek için Morris water maze (MWM) öğrenme deneyi yapılmıştır. Mwm deneyi için 150 cm

çapında, 45 cm yüksekliğinde dairesel çapta siyah renkli bir tank kullanılmıştır. Tank suyla doldurulup hayali bir şekilde kesişen 2 çap ile 4 kadrana ayrılmıştır. Kadranların her biri isimlendirilmiştir. Kadranlar NE, NW, SE, SW olarak isimlendirilmiştir. Denekler tanka N, E, SE, NW yönlerinden bırakılmıştır. Deneklerin havuza bırakılma yönleri ilk 5 gün değiştirilmiştir. Havuzdaki suyun sıcaklığı 22 ± 1 °C'dir. Havuzun hemen üzerinde Noldus Ethovision XT kayıt ve izleme sistemi ile deneyler kayıt altına alınmıştır. Deney 6 gün sürmüştür. Deneyin 6. ve son günü probe trial günüdür. Dairesel bir kaçış platformunun olduğu hedef kadran SW' dir. 9 cm çapında olan demirden yapıli platform havuzun tabanına bantlarla sabitlenmiştir. Havuz doldurulduktan sonra havuzun 2-3 cm altında kalacak ve görünmeyecek bir şekilde bulunur. Platformun tepesi ratların ayaklarının kaymaması için kaymaz bir örtüyle kaplanmıştır. Her kadranın ortasına gelen duvar ve perdeler çeşitli renk ve şekillerdeki göstergelerle işaretlenmiştir. Ratlar deneyin ilk 5 günü tüm yönlerden 120 sn yüzdürülmüştür. Her bir yönden yüzmesine trial denilmektedir. Günde 4 trial yapılmıştır. Her bir trial arasında en az 5 dk olacak şekilde denekler havuza bırakılmıştır. Ratlar suya yüzleri tanka bakacak şekilde bırakılırlar. Ratlara 120 sn serbest bir şekilde yüzdürüldükten sonra platformun üzerinde 10 sn bekletilmiştir. Böylece ratlara platformun yeri öğreilmeye çalışılmıştır. Ratlar platformu 120 sn'den daha kısa sürede bulduklarında da yine 10 sn platformun üzerinde bekletilmiştir. Süre sonunda ratlar platformun yerini bulamazsa platformun üzerine bırakılıp 10 sn boyunca gözlem yaptırılmıştır. Her gün ratlar havuza bir başka yönden atılarak başlatılmıştır. Deneyin ilerleyen günlerinde ratlar platformu ne zaman bulduysa Noldus sistemi trial'ı durdurup platformu bulma süresini kayıt altına almıştır. Ratlar her trial'dan sonra havlu ile kurulanıp kuru bir kafese konulmuştur. Noldus sistemi aynı zamanda ratın hızını da kayıt altına almaktadır. Probe trial gününde ise havuzun tabanına sabitlenmiş ve SW kadranında olan platform kaldırılmıştır. Deneyin son günü ratlar yalnızca NE yönünden havuza bırakılmış ve 30 sn serbestçe yüzdürülmüştür. Ratların hedef kadranı bulma süreleri ve hedef kadranda geçirdiği süreler hesaplanmıştır.



Şekil 3.6. Morris su tankında ratların serbest yüzdürülme seansı

Deneklerin Sakrifikasyonu

Morris water maze deneyinin bitiminde 22. Günde deneklerin 15 mg/kg XylazinHCl (Rompun®) ve 100 mg/kg Ketamin'in (Ketalar®) intraperitoneal enjeksiyonu ile yeterli anestezi sağlandıktan sonra göğüs bölgesi açılarak kalbe ulaşıldı. Transkardiyal perfüzyon işlemi için, kalbin son ventrikülüne bir kanül yardımıyla girilip sağ atrium'a bir delik açıldı. Transkardiyal perfüzyon işlemi için kalbin sol ventrikülüne bir kanül yardımıyla girilip sağ atrium'a bir delik açıldı. Transkardiyal perfüzyon için 250 ml heparinize serum fizyolojik ile vasküler yatak yıkanarak temizlendikten sonra aynı yolla tespit solüsyonu verildi. Fiksasyon basamağında her bir hayvan için 250 ml serum fizyolojik kullanıldı.

3.7. Hippocampus Dokusunun Diseksiyonu

Sakrifiye edilen hayvanların atlantookspital eklemine bir makas veya bistüri yardımıyla kesilip aralandıktan sonra orta hattan bistüri yardımıyla kafatasına diklemesine kesitler atılıp foramen occipitale magnum'dan başlayarak kafa kemikleri kırılmış ve beyin çıkarılmıştır. Buz üzerinde bir süre bekletilen beyinlerden cerebellum kesilip

uzaklaştırılmıştır. Oksipital bölgeden orta hattan başlayıp korteks aralanarak hippocampus'a ulaşılır. Bilateral bir şekilde alınan hippocampus dokuları ayrılarak % 10 formalin, % 4 gluteraldehit ve PBS fiksatiflerinin içine koyuldu. Sağ ve sol her 2 hippocampus, ışık mikroskobu, elektron mikroskobu ve biyokimyasal analizler için kullanıldı. Dokular, elektron mikroskopisi için % 4 gluteraldehit, ışık mikroskobu için % 10'luk formaldehit, biyokimyasal analizler için ise PBS çözeltisine konulmuştur.



Şekil 3.7. Hippocampus dokusunun diseksiyonu, A) Total beyin, B) Cerebellumun uzaklaştırılması, C) Korteksin aralanması, D) Sağ ve sol hippocampus'un çıkarılması

3.8. Işık Mikroskobu İncelemesi

Işık mikroskobunda inceleme yapmak için alınan hippocampus dokuları doku takibi yapılanaya kadar %10'luk formaldehit fiksatifinde tutulmuştur. Doku takibi prosedürü için Akdeniz Üniversitesi Patoloji Anabilim Dalı'nda bulunan otomatik doku takip cihazı kullanılmıştır. Kasetlere konulan dokuların doku takip protokolü basamakları sırasıyla aşağıda belirtildiği şekilde uygulanmıştır: Formaldehitte (TNF) 2 saat, formaldehitte (TNF) 2 saat, %70' lik etilalkolde 30 dakika, %80' lik etilalkolde 30 dakika,

%96' lık etilalkolde 1 saat, % 100' lük etilalkol absölüt 1 saat, % 100' lük etilalkolde 1 saat, ksilende 1 saat, ksilende 1 saat, parafin I' de 1 saat, parafin II' de 1 saat, parafin III' de 1 saat bekletildikten sonra dokular temiz parafine alınarak bloklama işlemi gerçekleştirilmiştir.

Alınan parafin bloklardan 5 mikrometre kalınlığında kesitler alınarak Hematoksilen & eosin boya ile boyanmıştır. Hemotoksilen & eosin boyama yöntemi için sırasıyla aşağıdaki prosedür basamakları uygulanmıştır: Kesitler 1 saat 60 °C sıcaklığındaki etüvde 1 saat tutulmuştur, ksilol I' de 10 dakika, % 100 alkolde 3 dakika, % 90'lık alkolde 3 dakika, % 80'lik alkolde 3 dakika, % 70'lik alkolde 3 dakika, çeşme suyunda yıkanmıştır. 30 saniye Hemotoksilen solüsyonunda bekletilmiş ve ardından yıkama işlemi yapılmıştır. 15 saniye eosin solüsyonunda tutulmuş ve yıkama işlemi gerçekleştirilmiştir. % 70' lik alkolden hızlıca geçirilmiştir, % 80' lik alkolde 30 saniye, % 90' lık alkolde 1 dakika, % 100' lük alkolde 2 dakika, ksilol I' de 10 dakika tutulmuştur. Ksilol aşamasından sonra kesitler lam ile kapatılarak kurumaya bırakılmıştır.

İmmünohistokimyasal Boyama

İmmünohistokimya yöntemi için yapılan denemeler sonucunda primer antikorunun konsantrasyonunun belirlenmesinin ardından sırasıyla aşağıdaki basamaklar uygulanmıştır: Parafin bloklara gömülen ve mikrotomla 5 mikron kalınlığında alınan kesitler, 56 °C' lik etüvde 1 gece bekletilerek kesitteki dokuların lam yüzeyine iyi bir şekilde yapışması sağlanmıştır. Daha sonra kesitler 10' ar dakikalık ksilol I ve ksilol II aşamalarından geçirilmiştir. Kesitler, azalan alkol serilerinde (% 100, % 90, % 80, % 70 alkolden) 1x5 dakika bekletilmiş ve sonra 5 dakika distile suya alınmıştır. Antijenik bölgelerin açılması için kesitler, 450 ml distile suda 1.05 gr citric asit (1.00165, Merck) çözdürülüp Ph:6 olacak şekilde NaOH çözdürülmüştür. Hazırlanan citric asit çözeltilisinde 7 dk 700 watta mikrodalga fırında kaynatılmıştır. Daha sonra 20 dakika soğumaya bırakılmıştır. Süre sonunda, kesitler Phosphate buffered saline (PBS, pH 7.2) içerisine alınmış ve 3x5 dakika oda ısısında bekletilmiştir. Daha sonra kesitler, metanol içinde hazırlanacak olan % 3' lük hidrojen peroksit (H₂O₂) (1.07209, Merck) içinde 10 dakika oda sıcaklığında bekletilerek, endojen peroksidaz aktivitesi bloklanmıştır. Süre sonunda, lam üzerindeki kesitlerin etrafı hidrofobik kalem (Vector Lab. H-4000) ile

çizilip, PBS içerisine alınmış ve 3x5 dakika olacak şekilde bekletilmiştir. Yıkama sonrası, preparatlar sekonder antikorun özgül olmayan bağlanmalarını önlemek amacıyla UV bloklama solüsyonunda (ScyTek Lab. 35560), 7 dakika inkübe edilmiştir. Bloklama sonrası preparatlar, yıkama yapılmadan üzerlerindeki UV bloklama solüsyonu dökülüp, primer antikor (abcam: ab201060) mikropipetle kesitlerin üzerine damlatılmıştır. Primer antikor damlatılan preparatlar, gece boyu +4 °C' de inkübe edilmiştir. Her immünohistokimya boyamasında kesitlerden biri negatif kontrol için kullanılmıştır. Süre sonunda, preparatların üzerindeki primer antikor damlaları dökülerek, PBS'de 3x5 dakika yıkanmıştır. Daha sonra kesitlerin üzerine sekonder antikor (Vectorlab: BA-1000) PBS içerisine hazırlanıp damlatılmış ve preparatlar oda ısısında 20 dakika inkübe edilmiştir. Kesitler, sekonder aşamasından sonra PBS içinde 3x5 dakika yıkanmıştır. Kesitlere streptavidin damlatılarak, oda ısısında 30 dakika inkübasyonu gerçekleştirilmiştir. Sonra kesitler 3x5 dakika PBS içerisinde yıkanmıştır. Yıkama sonrası kesitlerin üzerine DAB (SIGMA; D4293) damlatılarak, reaksiyon gelişimi için ışık mikroskopunda kontrol edilmiştir. Reaksiyon gelişimi yeterli düzeye ulaştığında, reaksiyon durdurulmuştur. Hematoksilinle zıt boyama uygulamasından sonra çeşme suyunda yıkanan kesitler artan alkol serilerinden geçirilerek dehidrate edildi ve ksilolden geçirildikten sonra entellanla lamel kullanılarak kapatılmıştır. Kapatılan preparatlar ışık mikroskopunda analiz edilerek amyloid peptidinin doku düzeyinde birikimleri belirlenmiştir.

3.9. Elektron Mikroskopi İncelemesi

Doku Takibi Aşamaları

Deneklerin hippocampus dokusuna zarar vermeden diseke edilerek çıkarılan dokular, -80°C 'de doku takip işlemleri başlatılana kadar falkonlar içerisindeki serum fizyolojik içerisinde muhafaza edilmiştir. Dokular güvenli bir şekilde +4°C 'de 5 saat bekletilerek çözdürülmüştür. Çözölmüş dokular, hazırlanmış gluteraldehit (0.1 M Sörensens fosfat tamponunda (SFT) hazırlanmış) solüsyonunda +4 °C de 2 saat bekletildi. 0.1 M SFT'yle hazırlanan % 6.5'lük Sakkaroz çözeltisinden 3x10 dakikalık süreyle geçirildi. Her 10 dakika da bir yıkama işlemi gerçekleştirildi. 0,1 M SFT'de hazırlanmış OsO4 solüsyonunda rotatorda 2 saat tutularak postfiksasyonu sağlandı. Daha sonra 0,1 M SFT'de hazırlanmış % 6.5' luk sükröz çözeltisinde 3x10 dakikalık süre ve her 10

dakikada bir rotatordan geçirilerek yıkama işlemi yapılmıştır. Son yıkamada şişeler değiştirilmiştir. Dokular +4 °C’ de 3x 10 dakikalık süreler ile % 30, % 50, % 70 etil alkol serilerinden geçirildi ve dehidratasyonları sağlandı. Dehidratasyonlarından sonra % 75’ lik etanol solüsyonunda hazırlanmış % 1’ lik uranil asetat solüsyonunda +4 °C’ de 1 saat tutulmuştur. Dokular +4 °C’ de 3x10 dakikalık süreler ile sırasıyla % 80, % 90, % 96 ve % 100’ lük alkol serilerinden geçirilerek son dehidratasyonları sağlanmıştır.

Sonrasında + 4 °C’ de 10x2 dakikalık süreler ile propilen oksitten geçirilmiştir. +4 °C’ de (1:1) oranında I. Araldite-propilen oksit karışımı hazırlanır ve oda ısısında 1 gece rotatorda tutulur. I. Araldite karışımı ise 50 ml’lik araldite ana karışımına 1 ml’ lik hızlandırıcı (BDMA-DY-062) eklenerek oluşturulmuştur. Dokular 20 dakika ara çözeltide bırakıldıktan sonra 4 saat rotatora bırakıldı. Gömme işlemine geçmeden önce parçalar kürdan yardımıyla şişelerden çıkarılır ve süzgeç kağıdı üzerinde yuvarlanarak fazla araldite alınır. I. Araldite karışımında parçalar 25 °C’de 4 saat rotatorda bırakılır. Gömme işlemi I. Araldite içine gömülerek bloklama yapıldı ve 60 °C ayarlı etüvde polimerizasyon için 2 gün süre ile bırakıldı. Elde edilen bloklardan 300 nm’ lik yarı ince kesitler toluidine mavisi ile boyanarak ışık mikroskopta ince kesitler almak için daha spesifik trimleme yapıldı ve ultramikrotomda 70 nm’lik ince kesitler alındı. Kontrastlama işlemine uranil asetatla başlandı ve kesitler uranil asetatla 5 dakika bekletildi. Önce distile su ile yıkandı, ardından kurşun sitrata alınmıştır. Kurşun sitrat damlaları üzerinde 5 dakika bekletilen kesitler tekrar distile su ile yıkandı. Suya alınan kesitler gri renkli kartondan saklama kutusuna alınmıştır ve mikroskop için uygun hale getirildi. Elde edilen 40-60 nanometre kalınlığındaki ince kesitler kontrastlanarak Tıp Fakültesi Elektron Mikroskopik Görüntü Analiz Ünitesinde bulunan elektron mikroskobu (Zeiss LEO 906 EM) ile incelenmiş ve fotoğraflandırılmıştır.

3.10. Biyokimyasal Analiz

Lipid Peroksidaz Seviyelerinin Ölçümü

Biyokimyasal analiz için alınan hippocampus dokuları PBS içerisinde ölçümler yapılana kadar -80 °C’de saklanmıştır. Dokular güvenli bir şekilde çözdürülmüştür. Araştırmamızda lipid peroksidaz seviyelerini değerlendirmek için, tiyobarbitürik asit reaktif ürünleri (TBARS) oluşumuna bakıldı. Çalışmamızda OxiSelect TBARS Assay

Kit (STA-330) kullanıldı. Tiyobarbitürik asit lipid peroksidasyon son ürünü olan malondialdehit (MDA) ile etkileşime girmektedir.

Prensip

Metodun temel prensibi, lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA'nın, 2-tiyobarbitürik asit (TBA) ile reaksiyona girmesi ve oluşan bileşiğin butanol fazına ekstrakte edilerek ölçülmesi esasına dayanmaktadır. Tiyobarbitürik asit reaktif substrat (TBARS), MDA'nın biyolojik örneklerle ölçülmesi için bir araçtır. Standartlar ve MDA'nın biyolojik örneklerle ölçülmesi için bir araçtır. Standartlar ve MDA içeriği bilinmeyen örnekler TBA ile +95 °C' de inkübe edilmekte ve inkübasyondan sonra 532 nm' de spektrofotometrik ölçüm yapılır. MDA standart eğrisi kullanılarak MDA miktarı hesaplandı.

Kit Bileşenleri

1. MDA Standart
2. Tiyobarbitürik asit (TBA)
3. SDS Lysis Solüsyonu
4. Sodyum Hidroksit Solüsyonu
5. 2x TBA Asit Diluenti
6. 100x BHT (Butylated hidroksitoluen)

Yapılan İşlemler

Hippocampus dokusu homojinatör ile homojenize edildi. Doku PBS ile yıkandı (PBS + Heparin). 1x BHT içeren PBS' de 50-100 mg civarı doku süspansiyonu edildi. 10.000 x G' de 5 dakika + 4 °C' de santrifüj yapıldı ve süpernatanı alındı. Protokol basamaklarını izleyerek deney sonlandırılmıştır.

TBARS Düzeylerinin Hesaplanması

Standardı numune gibi çalışmış ve standart grafiği oluşturulmuştur. Doku ve plazma TBARS miktarı bu grafik yardımıyla hesaplandıktan sonra nmol / g protein olarak rapor edildi.

Antioksidan Tayini

Tüm deney gruplarından deney bitiminde hippocampus dokusu analiz edilmek üzere alınmıştır. PBS çözeltisi içerisinde -80 C' de muhafaza edilen dokular güvenli bir şekilde çözdürülmüştür. Bu numuneler aşağıda belirtilen şekilde antioksidan enzimlerin ölçümü yapılmıştır. Hippocampus dokusunda antioksidanların ölçümü öncesinde numuneler homojenatör ile homojenize edildi. Elde edilen homojenatlar 10000 x G'de 15 dakika santrifüj edildi ve elde edilen süpernatantlarda antioksidan enzimler analiz edildi.

Süperoksit Dismutaz Enzim Aktivite Tayini

Deneklerden alınan hippocampus dokuları PBS (pH: 7.4) ile yıkandı ve 20 mm HEPES tamponundan (Ph 7.2) 5-10 ml ile homojenize edildi 1500 x G' de 5 dakika boyunca +4 °C' de santrifüj edildi. Süpernatanı ayrıldı ve protokol basamaklarını izleyerek deney sonlandırıldı. Çalışmamızda Süperoxide Dismutaz Assay Kit (Cayman 706002) kullanılmıştır.

3.11. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler için SPSS 23.0 (IBM Corp., Armonk, NY) paket programı kullanılmıştır. Tanımlayıcı istatistikler ortalama±standart sapma (SS) ile sunulmuştur. Grupların CA1 nöron sayılarının karşılaştırmasında Kruskal Wallis testi, anlamlı çıkan durumlar için post-hoc test olarak Bonferroni-Dunn testi kullanılmıştır. Grupların ölçüm değerlerinin karşılaştırılmasında ANOVA testi ve ikili karşılaştırmalar için varyans homojenliği sağlandığında Tukey HSD testi sağlanmadığında Dunnett T3 testi kullanılmıştır. Ölçümlerin günlere göre değişimlerinin analizinde tekrarlı ölçümlerde ANOVA testi kullanılmıştır. 0,05'den küçük p değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Biyokimyasal analizde normallik varsayımı Saphiro-Wilk testiyle kontrol edilmiş veriler normal dağılım varsayımını sağlamadığı için 2 grubun ölçüm değerleri arasındaki farkın Mann-Whitney U testi, 2' den fazla sayıda grubun karşılaştırılmasında Kruskal Wallis testi kullanılmış ve anlamlı çıkan durumlar için post-hoc test olarak Bonforreni Dunn testi uygulanmıştır.

4. BULGULAR

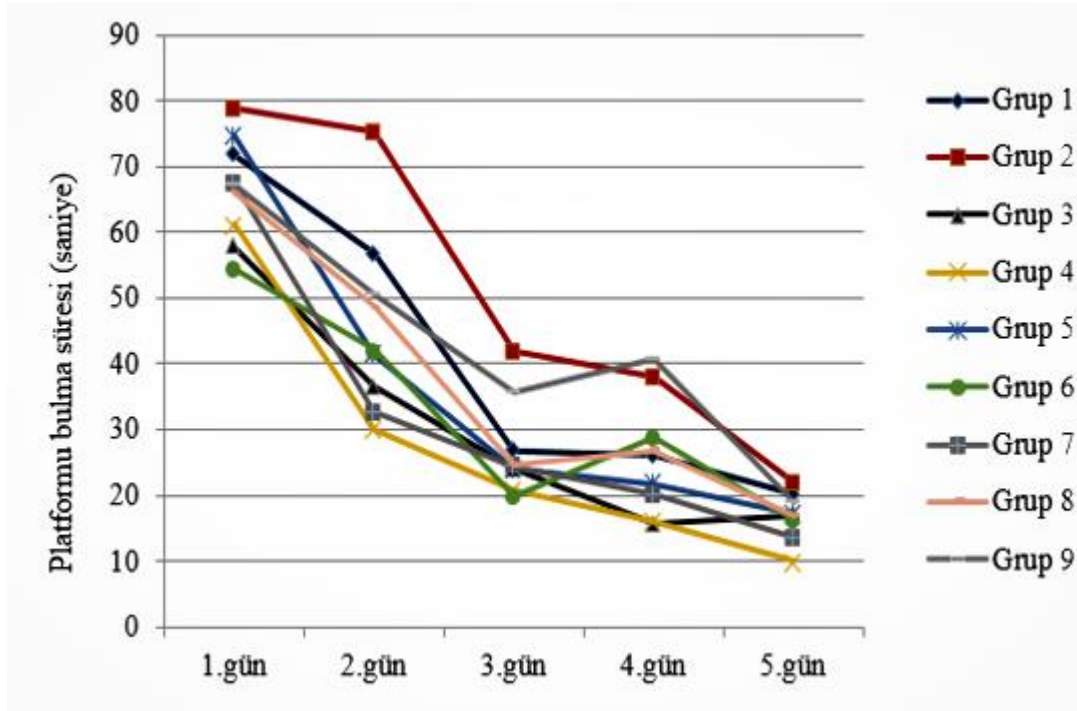
72 hayvanla yürüttüğümüz çalışmamız sonucunda fizyolojik, histolojik, ultrastrüktürel, biyokimyasal düzeyde bulgular elde ettik.

4.1. Morris Water Maze Deneyi Bulguları

Tablo 4.1.1. Grupların deneyin ilk 5 günü platformu bulma sürelerinin karşılaştırılması

	1.gün	2.gün	3.gün	4.gün	5.gün	p	Anlamlı Fark
Grup 1	71,71±28,28	56,74±26,98	26,83±15,3	26,02±10,48	20,16±12,99	p=<0,001	1-3, 1-4, 1-5, 2-5
Grup 2	78,86±22,65	75,16±36,53	42,03±25,16	37,91±14,81	21,82±12,43	p=0,002	1-3, 1-4, 1-5, 2-3, 2-4, 2-5
Grup 3	57,79±17,16	36,56±27,74	23,92±16,13	15,58±5,6	16,99±12,48	p<0,001	1-3, 1-4, 1-5
Grup 4	61,14±22,8	29,95±17,08	20,72±8,95	15,93±11,02	9,9±3,29	p<0,001	1-2, 1-3, 1-4, 1-5
Grup 5	74,58±24,18	41,45±18,32	24,13±14,66	21,68±10,63	17,05±13,58	p<0,001	1-2, 1-3, 1-4, 1-5
Grup 6	54,41±22,04	42,11±23,6	19,86±11,51	28,87±12,61	16,24±6,48	p=0,001	1-3, 1-5
Grup 7	67,66±11,91	32,66±18,21	24,45±14,71	20,15±13,88	13,65±6,29	p<0,001	1-2, 1-3, 1-4, 1-5
Grup 8	65,98±23,98	48,64±26,21	24,51±12,59	26,84±14,69	16,78±5,52	p<0,001	1-3, 1-4, 1-5
Grup 9	67,13±15,99	50,53±32,57	35,77±10,67	40,64±18,65	18,93±10,91	p<0,001	1-3, 1-5
p	p=0,421	p=0,035	p=0,083	p=0,002	p=0,441		
Anlamlı Fark	-	2-4, 2-7	-	2-3, 2-4, 3-9, 4-9	-		

Bulgular ort±SS değerler ile gösterilmiştir. ANOVA, Tekrarlı ölçümlerde ANOVA.



Şekil 4.1.1. Gruplara göre platformu bulma sürelerindeki değişim

Öğrenme performansını değerlendirmede kullanılan platformu bulma süresi gruplara göre Tablo 4.1.1.' de Şekil 4.1.1.' de gösterilmektedir. Tekrarlayan ölçümlerle ANOVA testi yapıp gün değişkenine bakıldığında tüm gruplarda 1.-5. günler arasında istatistiki düzeyde anlamlı bir fark olduğu saptanmıştır. Grup 1 de $p < 0,001$ ' dir. Grup 2' de $p = 0,002$ ' dir. Grup 3' te $p < 0,0012$ dir. Grup 4' te de $p < 0,001$ ' dir. Grup 5' te $p < 0,001$ ' dir. Grup 6' da $p = 0,001$ ' dir. Grup 7' de $p < 0,001$ ' dir. Grup 8' de $p < 0,001$ ' dir. Grup 9' da $p < 0,001$ olduğu saptanmıştır. Bu da tüm gruplarda gün bazında öğrenmenin gerçekleştiğini göstermektedir.

Tekrarlayan ölçümlerle ANOVA testi yapıp grup değişkenine bakıldığında grup 2- grup 4 ve grup 2- grup 7 arasında 2. günde istatistiksel düzeyde anlamlı bir farklılık olduğu tespit edilmiştir. ($p = 0,035$). Deneyin 4. gününde platformu bulma süresinde grup 2- grup 3, grup 2 - grup 4, grup 3 - grup 9, grup 4 - grup 9 arasında istatistiksel düzeyde anlamlı gözükten bir fark tespit edilmiştir ($p < 0,002$). Diğer gruplar arasında anlamlı bir fark saptanılmamıştır.

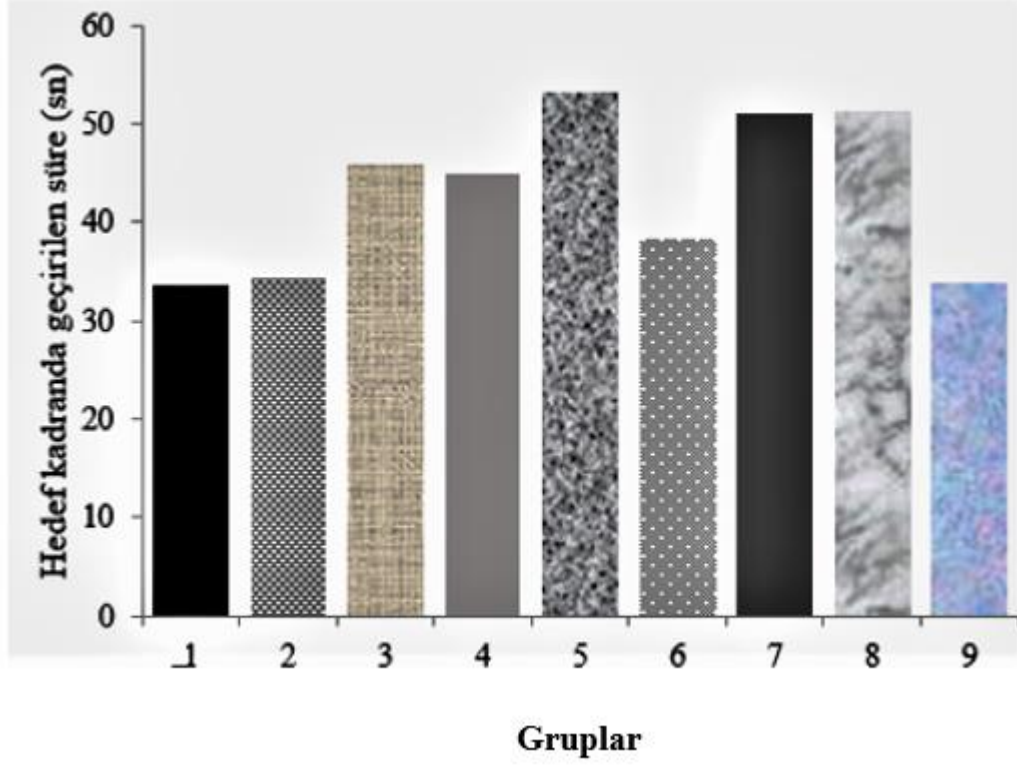
Probe Trial Günü Analizleri

Tablo 4.1.2. Gruplara göre probe trial gününde hedef kadranda geçirilen süre, hedef kadrana girme sıklığının karşılaştırılması

	Geçirilen süre	Girme sıklığı
Grup 1	33,64±18,62	32,07±7,34
Grup 2	34,42±8,61	26,71±7,49
Grup 3	45,95±15,42	27,57±1,92
Grup 4	44,97±10,67	32,98±5,58
Grup 5	53,31±20,3	33,33±9,75
Grup 6	38,43±17,34	30,79±9,18
Grup 7	51,04±13,98	29,49±12,19
Grup 8	51,3±10,69	31,9±8,23
Grup 9	33,95±15,28	23,37±5,18
p	p=0,035	p=0,228
Anlamlı fark	1-5, 2-5, 9-5	-

Bulgular ort ± SS değerler ile gösterilmiştir. ANOVA.

Bellek performansını değerlendirmek için kullanılan probe trial gününde hedef kadranda geçirilen sürenin gruplara göre değerleri Tablo 4.1.2. ve Şekil 4.1.2.'te gösterilmiştir. Probe trial gününde Grup 2 ile Grup 5 grubunda istatistiki olarak anlamlı kabul edilen bir farklılık tespit edilmiştir. (p=0,035). Alzheimer grubuna kıyasla tedavi edici ajanları verdiğimiz grup 3, grup 4, grup 5'in hedef kadranda geçirdiği sürelerinin daha fazla olduğu saptanmıştır. Bu da bize verdiğimiz tedavi edici ajanların pozitif etkisini göstermiştir. Probe trial gününde hedef kadranda geçirilen sürenin en yüksek olduğu grup ikili enjeksiyon yaptığımız grup 5'tir. Hedef kadrana girme sıklıklarında ise gruplar arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır.

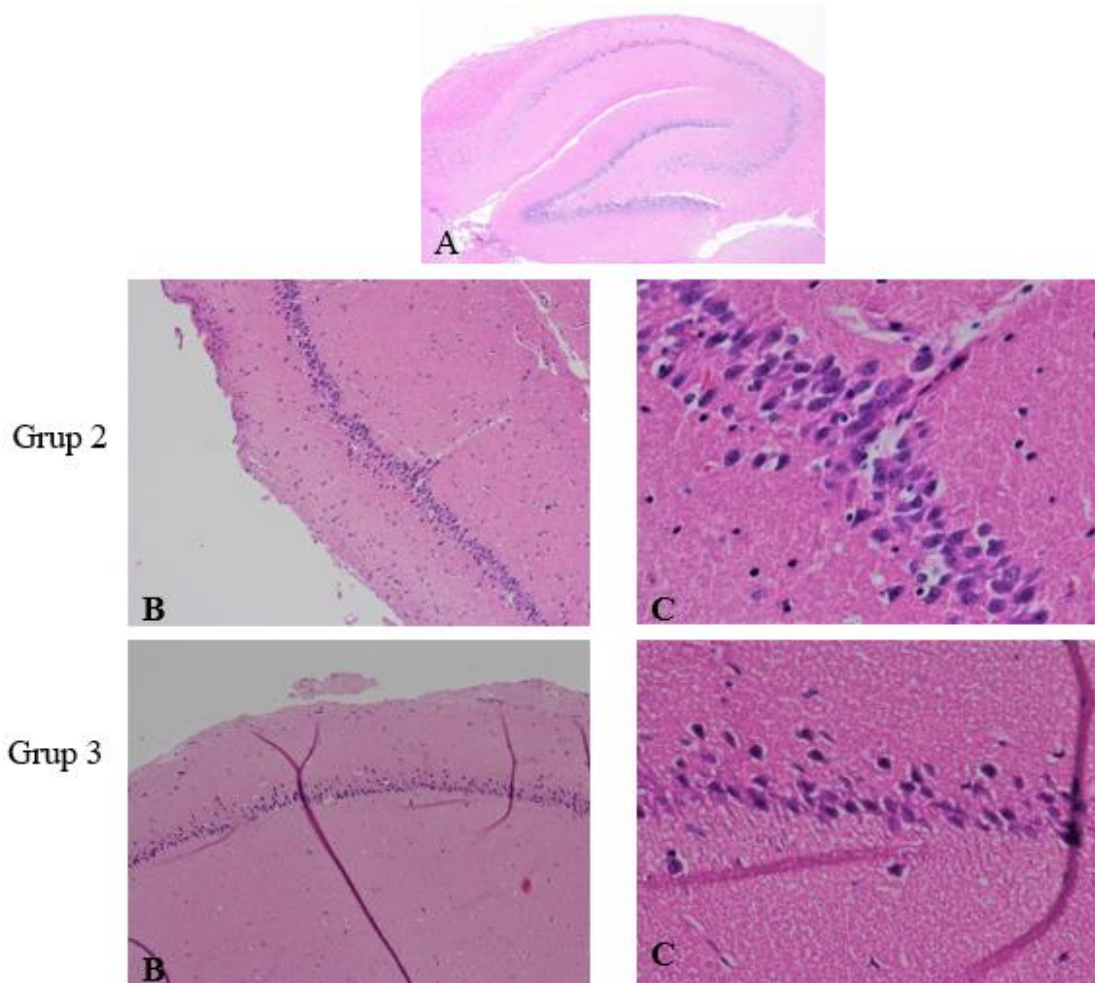


Şekil 4.1.2. Gruplara göre probe trial gününde hedef kadranda geçirilen süre

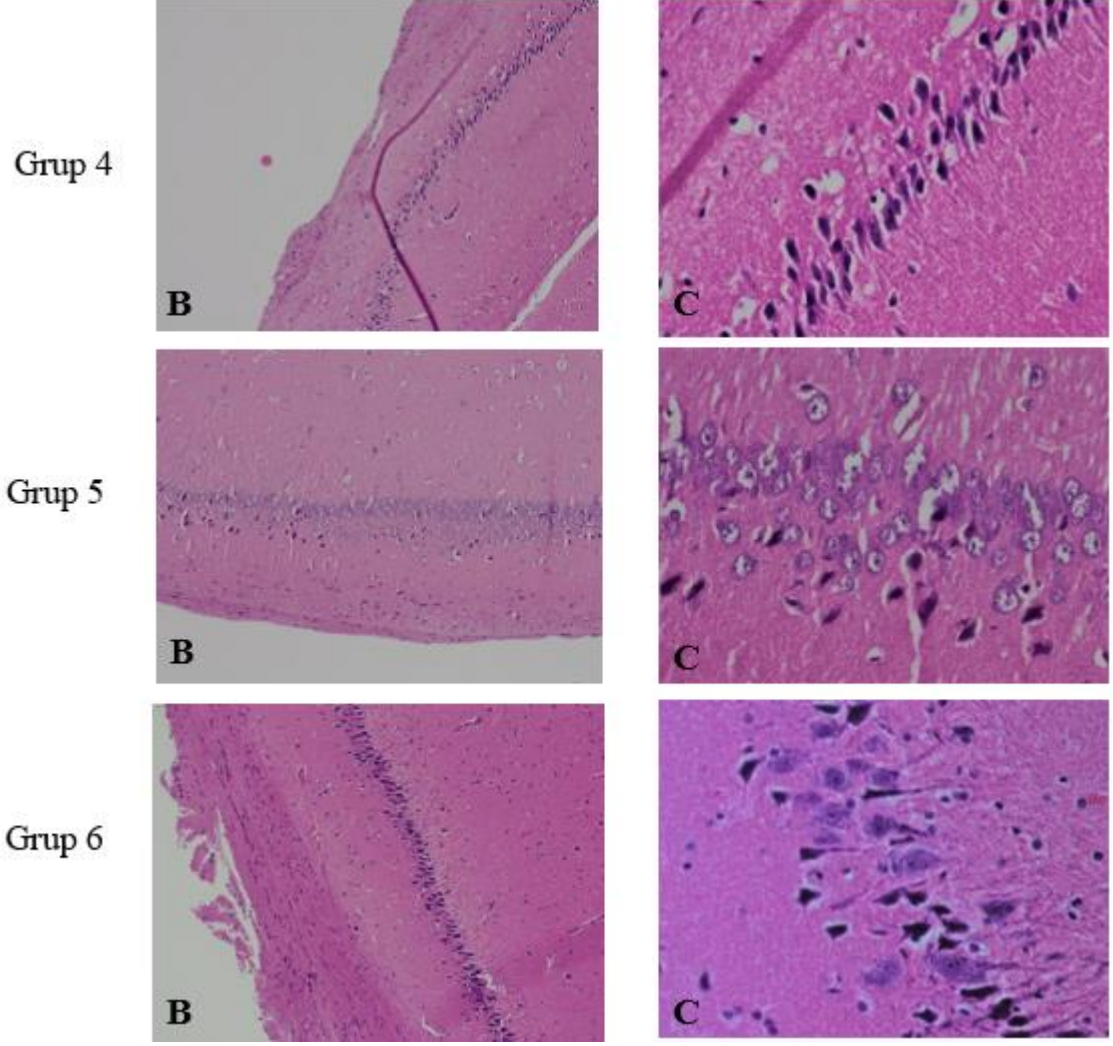
4.2. Işık Mikroskopik İnceleme Bulguları

4.2.1. Hemotoksilen & Eosin Boyama Değerlendirmesi

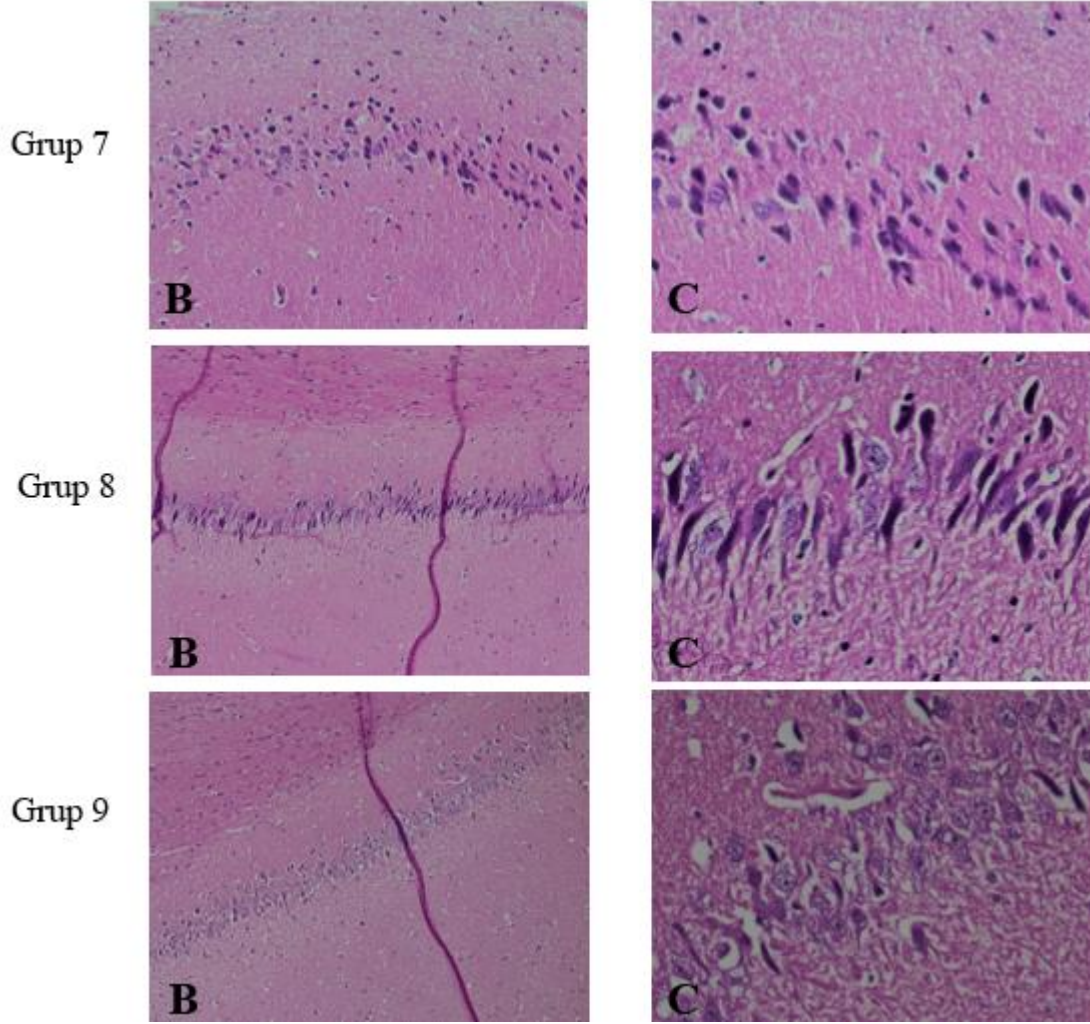
Hippocampus örneklerinde CA1 bölgesinde; Grup 2 ve grup 4'te nöron dejenerasyonu nöron kaybı ve gliosis olduğu saptanmıştır. Grup 3'te nöron kaybı grup 2 ve Grup 4'e göre daha az olduğu tespit edilmiştir. Grup 6, grup 7 grubu, grup 8, Grup 9'un CA1 alanının normal olduğu tespit edilmiştir (Şekil. 4.2.1).



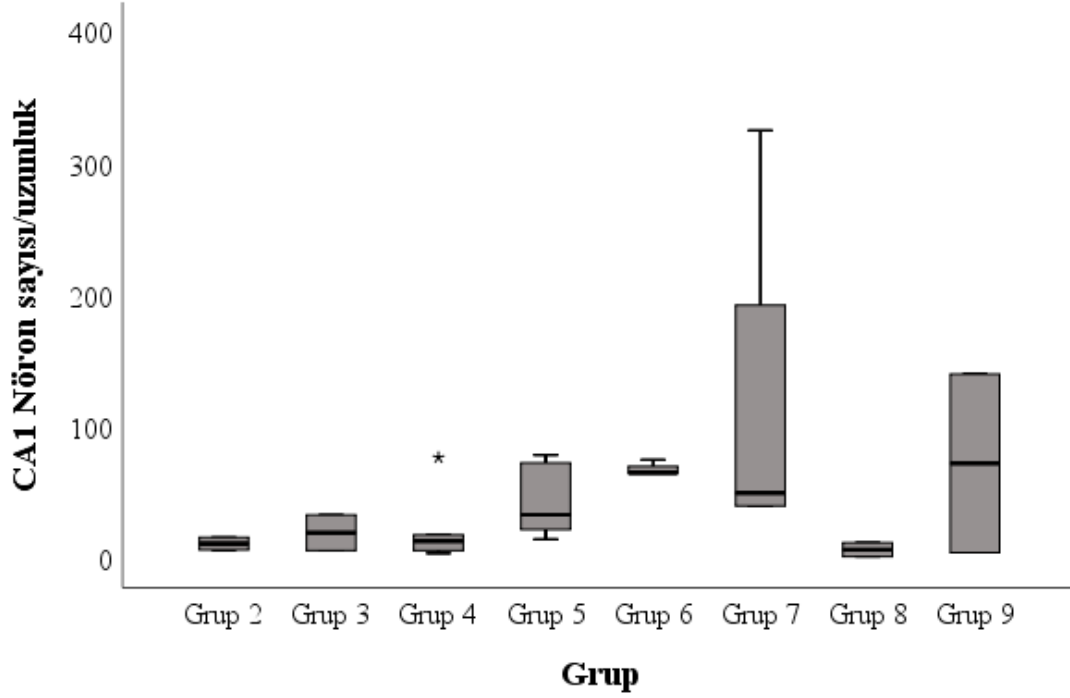
Şekil 4.2.1. **A:** Hippocampus koronal kesiti 5X20, **B:** Hippocampus CA1 10X20, **C:** Hippocampus CA1 40X20



Şekil 4.2.1. **B:** Hippocampus CA1 bölgesi 10X20, **C:** Hippocampus CA1 bölgesi 40X20



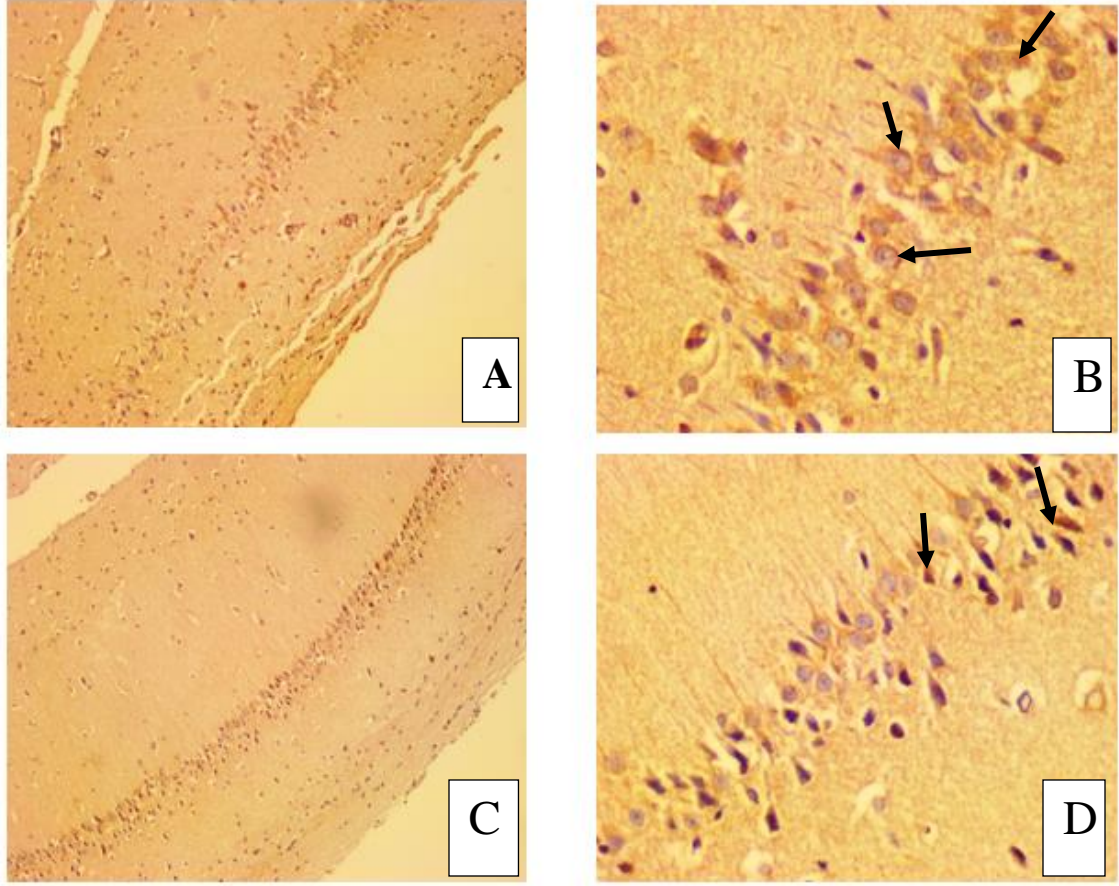
Şekil. 4.2.1. **B:** Hippocampus CA1 bölgesi 10X20, **C:** Hippocampus CA1 bölgesi 40X20



Şekil 4.2.2. CA1 nöron sayısı/uzunluk

Hippocampus'un CA1 bölgesindeki 1 mm²'ye düşen sağlam piramidal nöronları sayılmıştır. Gruplar arasındaki istatistiksel farklılıkları Kruskal-Wallis testi ile değerlendirilmiştir. Grup 2'de 1 mm²'ye düşen sağlam piramidal hücre sayısı grup 9 ve Alzheimer+koruyucu ajan verdiğimiz gruplar olan grup 3, grup 4, grup 5'ten istatistiksel olarak daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Grup 5'te sağlam piramidal hücre sayısının grup 3, grup 4'ten istatistiksel olarak daha yüksek olduğu saptanmıştır (Şekil 4.2.2).

4.2.2. İmmünohistokimyasal Boyamalar

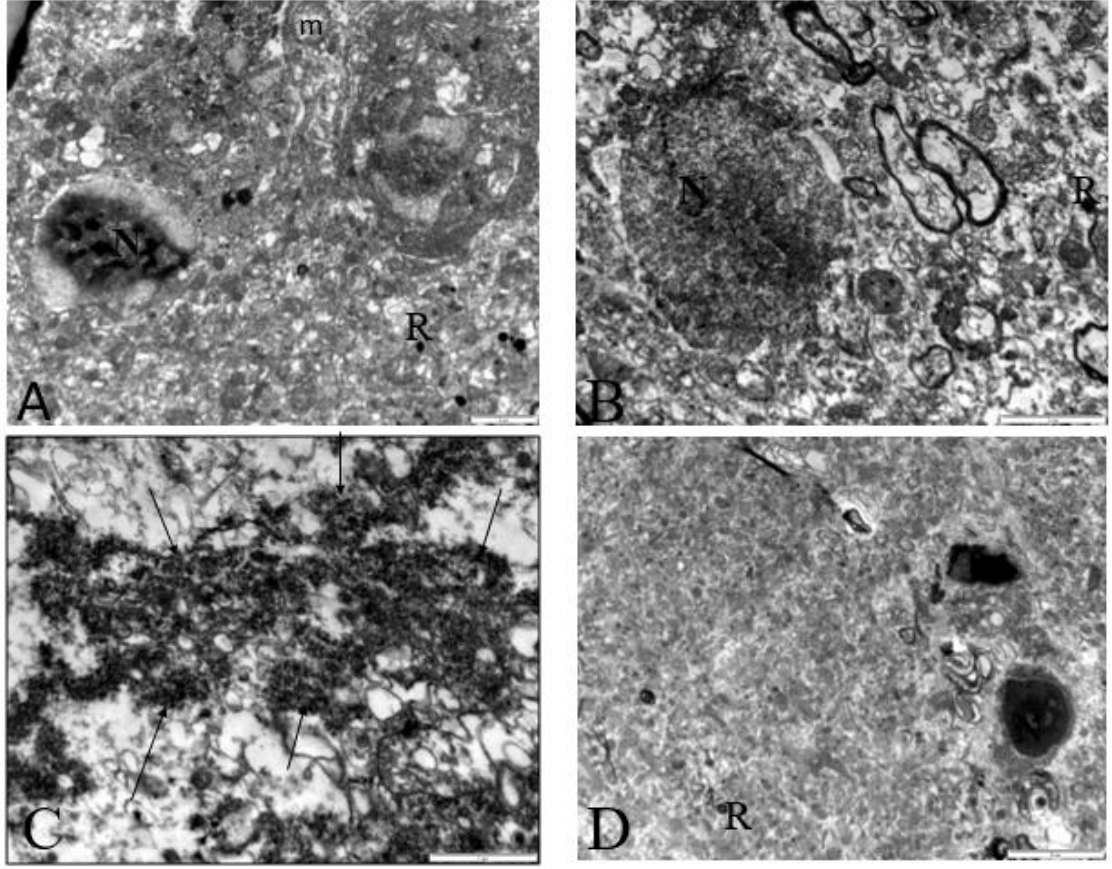


Şekil 4.2.3. Anti-beta amyloid antikoruna ile yapılan boyamalar. **A:** Grup 2 hippocampus CA1 bölgesi 10X20, **B:** Grup 2 hippocampus CA1 bölgesi 40X20, **C:** Grup 5 hippocampus CA1 bölgesi 10X20, **D:** Grup 5 hippocampus CA1 bölgesi 40X20. Okun ucuyla ekstraselüler amiloid- β peptidinin birikimi gösterilmektedir.

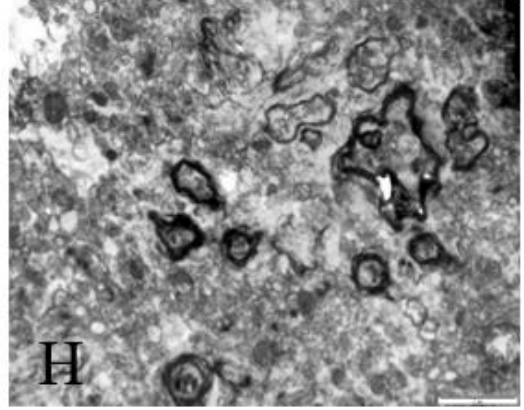
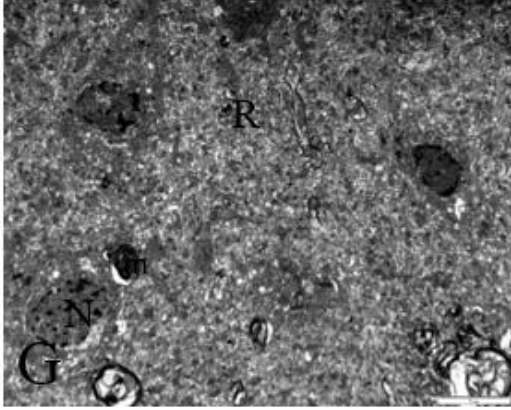
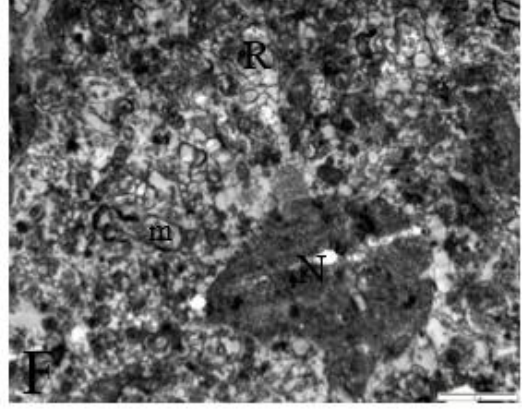
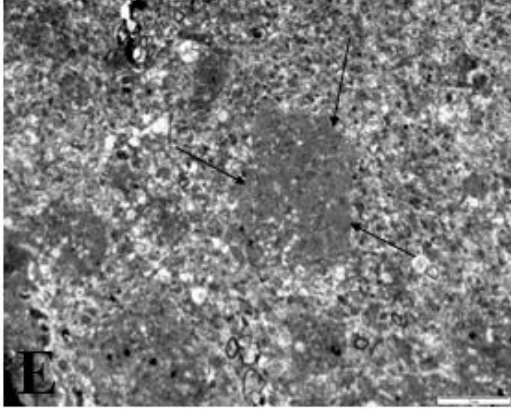
Anti- beta amyloid antikoruna ile immünohistokimyasal boyama yapılmıştır. Grup 2 ve Grup 5'te hippocampus'un CA1 bölgesine bakılmıştır. CA1 bölgesinde ekstraselüler alanda Alzheimer hastalığının belirteçlerinden biri olan amyloid- β peptidinin ekstraselüler birikimi gözlemlenmiştir (Şekil 4.2.3). Bu birikimin Alzheimer'lı grupta daha fazla iken; kombine tedavi uyguladığımız grup 5'te daha az olduğu tespit edilmiştir. Çalışmamızda yalnız 2 grubu başarılı bir şekilde boyayabildik. Önce antikorun dilüsyonunda hata yapmamız daha sonra ise antikordaki bozulma sebebiyle diğer 7 grubu başarılı bir şekilde boyanamamıştır.

4.3. Ultrastrüktürel Değerlendirme Bulguları

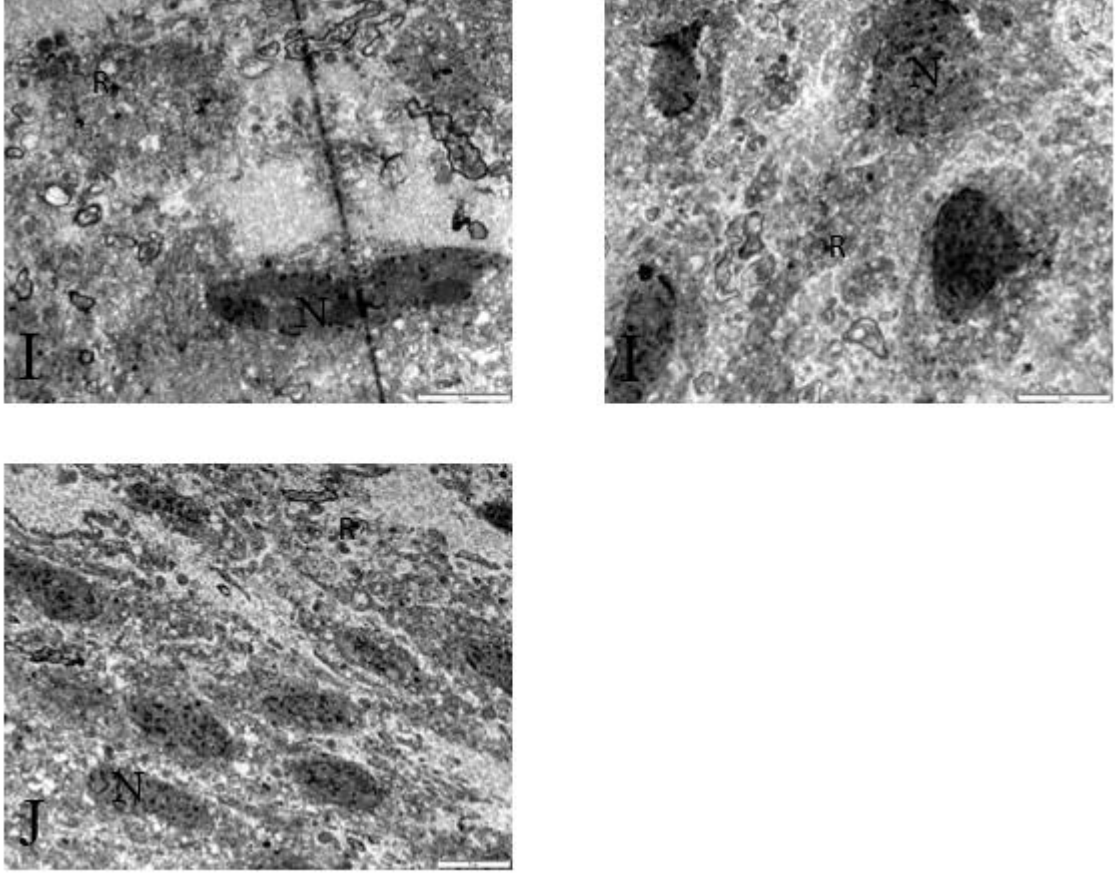
Elektron mikroskopik incelemede grup 1'in normal nükleusa sahip olduğu tespit edilmiştir. Grup 2'de nükleus denenerasyonu ve piknotik nükleus, vakuolleşme ve sitoplazmik yoğunluğunda azalma ve ribozom sayısında azalma saptanılmıştır. Yine grup 2'de (C) panelinde ekstraselüler amiloid birikim tespit edilmiştir. Grup 3 ve grup 5'in normal bir hücre nükleusuna sahip olduğu saptandı. Grup 3'te organlarda kontrol grubuna göre sitoplazmik yoğunluğunda azalma, organlarda dejenerasyon olduğu saptanmıştır. Grup 4'te (E) panelinde ekstraselüler amyloid birikim tespit edilmiştir. Grup 5'te sitoplazmik yoğunlukta bozulma olmadığı saptanılmıştır. Grup 6 ve grup 7'de kontrol benzeri nükleus, sitoplazmik yoğunluklarının normal sınırlar içerisinde ribozomda dejenerasyon olmadığı tespit edildi. Grup 8 ve grup 9'un nükleuslarının normal olduğu, ribosomal yoğunluklarının bir miktar azaldığı tespit edilmiştir. Grup 9'un sitoplazmik yoğunluğunda bir miktar azalma olduğu saptandı (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. Elektron mikroskopi bulguları, **A:** Grup 1, **B:** Grup 2, **C:** Grup 2, **D:** Grup 3 N(Nukleus), m(Mitokondri), R(Ribozom). Okun ucuyla ekstraselüler amyloid birikim gösterilmektedir.



Şekil 4.3. Elektron mikroskopi bulguları, **E:** Grup 4, **F:** Grup 4, **G:** Grup 5, **H:** Grup 6 N(Nukleus), m(Mitokondri), R(Ribozom). Okun ucuyla ekstraselüler amyloid birikim gösterilmektedir.



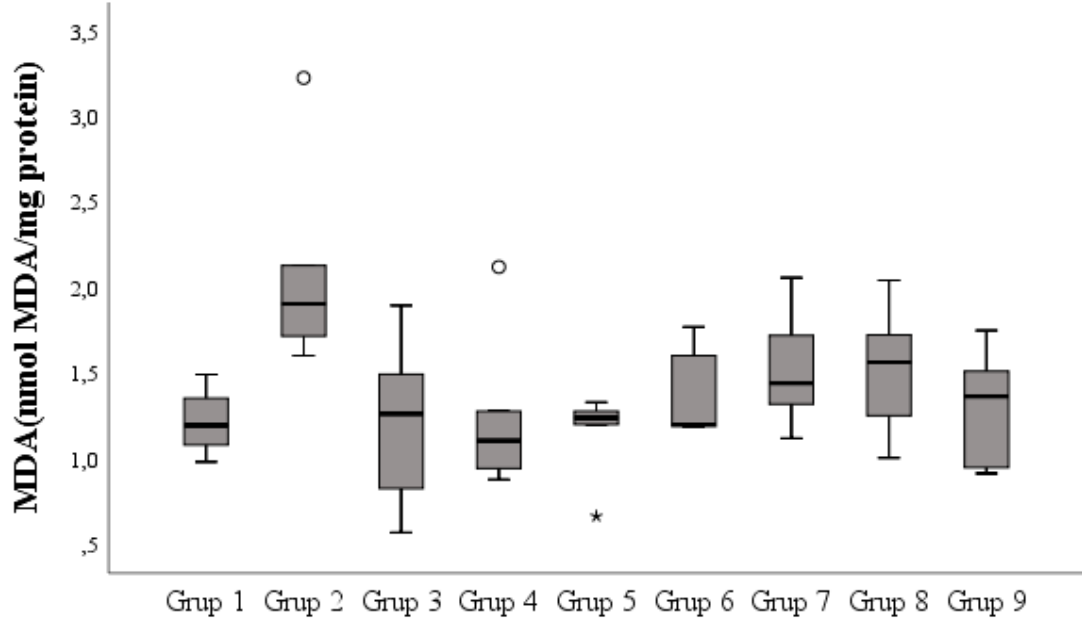
Şekil 4.3. I: Grup 7, İ: Grup 8, J: Grup 9 N(Nukleus), m(Mitokondri), R(Ribozom)

4.4. Biyokimyasal Analiz Bulguları

4.4.1. Lipid Peroksidasyon Seviyeleri

Hippocampus dokusu TBARS değerlendirilmesi

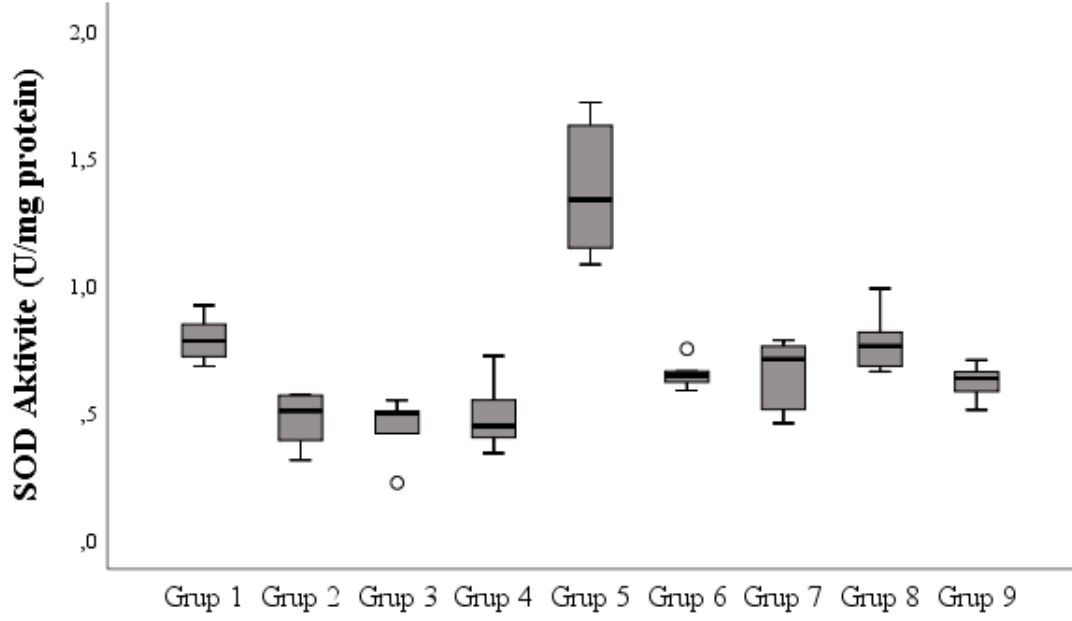
Amyloid B indüklenerek Alzheimer oluşturulan rat grubunun (grup 2) MDA değerleri grup 3, grup 4, grup 5'e göre istatistiksel olarak daha yüksek olduğu saptandı. Kontrol grubunun ve sham gruplarının TBARS düzeylerinin Alzheimer'lı gruba (grup 2) göre daha düşük olduğu istatistiksel olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.4.1).



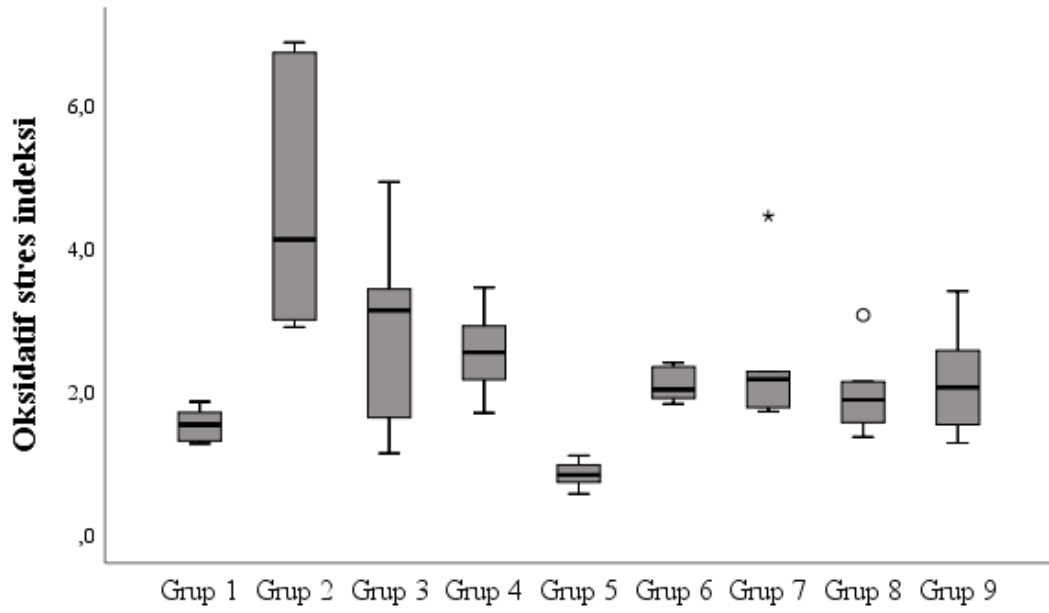
Şekil 4.4.1. MDA değerleri

4.4.2. Hippocampus Dokusu SOD Enzim Miktarı

Amyloid B indüklenerek oluşturulan rat Alzheimer grubunda (grup 2) ve grup 3'te SOD değerinin istatistiksel olarak daha az olduğu tespit edildi. Antioksidan madde verdiğimiz gruplarda (grup 4, grup 5) ise SOD enzim aktivite değerlerinin daha yüksek olduğu istatistiksel olarak saptanılmıştır. Kombine tedavi uyguladığımız grupta (grup 5) SOD enzim miktarının istatistiksel olarak en yüksek değerde olduğu görülmüştür (Şekil 4.4.2.). Kombine tedavi uyguladığımız grupta verdiğimiz antioksidanların sinerjistik bir etkisi olduğunu saptanıldı.



Şekil.4.4.2. SOD enzim aktivitesi



Şekil 4.4.3. Oksidatif stres indeksi (MDA/SOD)

5.TARTIŞMA

Demansın en büyük sebebi olan Alzheimer hastalığı'nın 2050 yılında yaklaşık 152 milyon kişide görüleceği öngörülmektedir (Vasic ve ark., 2019).

Literatürde Alzheimer modeli oluşturmak için çeşitli yöntemler kullanılmıştır. Bunlar; genellikle farelerde oluşturulan transgenik Alzheimer modeli (Jang ve ark., 2017), intraserebroventriküler ve intrahipokampal streptozotosin enjeksiyonu (Javed ve ark., 2013), intraserebroventriküler ve intrahipokampal A β (39-40), A β (1-40), A β (1-42) enjeksiyonu (Turunc Bayrakdar ve ark., 2014; Sharma ve ark., 2016) ve Alimünyum toksitesi yoluyla oluşturulabilmektedir (Sreekumaran ve ark., 2003; Gol ve ark., 2019). Çalışmamızda A β (1-42) nörotoksitesi yoluyla oluşturulan Alzheimer modeli kullanımı tercih edilmiştir. Bu model çok kullanılan ve ratlarda Alzheimer oluşturmak için uygun bir model olduğu için tercih edildi.

A β (1-42) amyloid (senil) plakların ana maddelerinden biridir ve Alzheimer hastalığının patogenezinde önemli rol oynar. Yapılan çalışmalar sonucu birçok veri oksidatif stres ve inflamasyonun Alzheimer'ın oluşumuna sebep olduğunu göstermiştir (Butterfield ve Boyd-Kimball, 2004). A β reaktif oksijen türlerinin üretimini indüklemektedir. İntraserebroventriküler A β (1-42) enjeksiyonunun oksidatif protein hasarına, artan astrosit aktivasyonuna ve antioksidant enzim aktivite seviyelerinin ve lipid peroksidasyonun değişimine sebep olduğu bildirilmiştir (Liu ve ark., 1999; Boyd-Kimball ve ark., 2005). A β (1-42) enjeksiyonu rat beynindeki inflamatuvar cevabı arttırmaktadır. Yine bu yolla nöronal disfonksiyona, hücre ölümüne ve demansa sebep olmaktadır (Rojo ve ark., 2008) (Colton ve ark., 2006). Çalışmamızda yalnız A β (1-42) enjeksiyonu yaptığımız grup 2'de lipid peroksidasyonun son ürünü MDA seviyesinin en yüksek, SOD enzim aktivite seviyesinin de diğer gruplara göre düşük düzeyde olduğunu tespit edildi. Elektron mikroskopi incelemesinde grup 2'de nükleusta ve organellerde dejenerasyon ve vakuollenme olduğunu tespit edildi. Grup 2'nin probe trial gününde hedef kadranda geçirdiği sürenin en düşük olduğunu saptandı.

A β agregasyonu nörotoksitite, oksidatif stres ve nöranal inflamasyonla ilişkili olduğu için önleyici stratejilerden biri oksidatif stres hasarını azaltmaktır (Jia ve ark., 2016).

Literatürde Alzheimer modeli oluşturulan ratlarda önleyici olarak çeşitli antioksidanların kullanımı (kurkumin, melatonin, resveretrol, koenzim-Q10, hesperetin, C vitamini, apelin-13) bildirilmiştir.(T. C. Huang ve ark., 2011; Rudnitskaya ve ark., 2015; Sil ve ark., 2016; Kheradmand ve ark., 2018; Gol ve ark., 2019; Komaki ve ark., 2019; Luo ve ark., 2019) (H. C. Huang ve ark., 2016) (Yamada ve ark., 1999; Jhoo ve ark., 2004).

Çalışmamızda önleyici kombine antioksidanlar olarak taurin ve B6 vitamini uygulaması yapılmıştır.

Farelerde antioksidant içeriklerle tedavinin bilişi arttırdığı ve lipid peroksidasyonun seviyesini azalttığı bildirilmiştir (Yamada ve ark., 1999; Jhoo ve ark., 2004)

Taurinin alkol, sodyum nitrit, pentobarbital tarafından indüklenen farelerin hafıza bozukluklarını motor fonksiyon, keşif faaliyeti, lokomotor aktivitelerini düzelttiği, bir osmoregülatör, nöromodülatör, kalsiyum regülatör, antioksidant ve nöroprotektif özellikler gösterdiği bildirilmiştir (Messina ve Dawson, 2000; Schaffer ve ark., 2000; El Idrissi, 2008).

Taurin birçok sistemik inflamasyonla ilgili modelde antiinlamatuvar etki göstermektedir. Spinal kord yaralanması, iskemik stroke, hepatik iskemi reperfüzyonu gibi. Travmatik beyin hasarı geçiren ratlarda taurinin inflamatur sitokinlerin ekspresyonunu ve reaktif astrogliazisi azalttığı ve nörolojik fonksiyonu arttırdığını göstermişlerdir (Su ve ark., 2014).

Taurinin uzun süreli manganez maruziyetine bağlı oluşan öğrenme bozukluğunun düzelmesine ve hafızaya katkı sağladığı bildirilmiştir (Lu ve ark., 2014). Transgenik alzheimer model farelerde oral taurin alımı sonucu kognitif defisitlerin azalma gösterdiğini ve oral olarak alınan taurinin direkt olarak oligomerik A β bağlandığını bildirmişlerdir (Jang ve ark., 2017).

B6 vitamini antioksidan özelliği göstermektedir. Yapılan çalışmalar B6 vitaminin serbest radikal üretimini inhibe ettiğini göstermektedir (Yokochi ve ark., 2003). Vitamin B6 'nın deneysel menenjit modelinde hippokampal apoptozisi azalttığını bildirmişlerdir (Zysset-Burri ve ark., 2013). Alüminyum toksitesi olan ratlarda, B6 vitamininin hippocampus'un CA1, CA2, CA3 bölgesindeki nöronların dentrit uzantılarında ciddi bir artış olduğunu bildirmişlerdir (Sreekumaran ve ark., 2003).

Ratlarda yapılan çalışmalar, A β 'nın hafıza fonksiyonunu bozduğunu özellikle uzaysal hafızayı bozduğunu göstermişlerdir. İntraserebroventriküler ve intrahippokampal A β enjeksiyonu yapılan ratlarda hippokampal öğrenme ve hafıza için morris water maze testi yapıldığında saklı olan platformu bulma süresinin A β enjeksiyonu yapılan ratlarda daha uzun olduğu gösterilmiştir. Probe trial gününde de A β enjeksiyonu yapılan grubun hedef kadranda geçirdiği sürenin kontrol ve sham gruplarına göre daha az olduğu bildirilmiştir (Quan ve ark., 2013; Sharma ve ark., 2016; Kasza ve ark., 2017; Wang ve ark., 2018). Bizim çalışmamızda probe trial gününde Alzheimer'lı grubun hedef kadranda geçirdiği sürenin sham ve Alzheimer+ önleyici ajan gruplarına göre daha az olduğunu istatistiki olarak tespit edilmiştir. Grup 5'in probe trial gününde hedef kadranda geçirdiği sürenin istatistiki olarak en yüksek olduğu saptanmıştır. Bu da uygulamış olduğumuz kombine ajanların öğrenmede pozitif bir etki yaptığını göstermektedir.

Alzheimer hastalığında hematoksilen&eosin boyaması sonrası histolojik olarak hippocampal nöron kaybı gözleendiği bildirilmiştir. CA1 bölgesindeki nöronların kontrol grubuna göre normal olmayan düzende, hücre morfolojisinin anormal ve çok sayıda astrosit ve mikroglia içerdiğini bildirmişlerdir (Zhang ve ark., 2014). Bizde çalışmamızda hematoksilen & eosin boyaması sonucunda CA1 bölgesindeki histolojik değerlendirmemizde Grup 2 ve Grup 4'te nöron dejenerasyonu, nöron kaybı ve bu alanlarda gliosis olduğunu saptadık. Grup 5 ve grup 3'te ise nöron kaybının diğer gruplara göre daha az olduğu tespit edilmiştir.

Ratlarda yapılan çalışmalarda elektron mikroskobu değerlendirmesinde, Alzheimer grubunda büzüşmüş nükleus, organel kaybı, vakuollenme gözleendiği bildirilmiştir (Zhang ve ark., 2014; Wang ve ark., 2018). Çalışmamızda Alzheimer grubumuz olan

grup 2’de nükleus denenerasyonu ve piknotik nükleus, vakuolleşme ve sitoplazmik yoğunlukta azalma ve ribozom sayısında azalma olduğu tespit edildi. Yine grup 2’de ekstraselüler amyloid birikim olduğu saptanılmıştır. Grup 3 ve grup 5’in normal bir hücre nükleusuna sahip olduğu tespit edildi. Grup 3’te organlarda kontrol grubuna göre sitoplazmik yoğunluğunda azalma, organlarda dejenerasyon varlığı saptandı. Grup 4’te ekstraselüler amyloid birikim gözlendiği tespit edilmiştir. Grup 5’te ise sitoplazmik yoğunlukta bozulma olmadığı ve nükleusunun kontrol grubuna benzer bir görünümde olduğu saptanılmıştır. Bu da bize kombine tedavi uyguladığımızda hücresel düzeydeki iyileşmeye olan pozitif etkisini göstermiştir.

Süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz serbest radikallerin hasarına karşı hücre korumasına dahil olan iki ana antioksidan enzimdir. SOD ve glutatyon peroksidaz değerlerinin Alzheimer’lı bireylerin beyninde azaldığı bildirilmiştir (Cardoso ve Oliveira, 2003; Chauhan ve Chauhan, 2006; Muxika ve ark., 2017).

Streptozotosin indüklenerek oluşturulan sporadik Alzheimer modeli rat türlerinde kognitif bozukluk ve anormal asetilkolinesteraz aktivitesi taurin tarafından azaltıldığı bildirilmiştir. Yine bu çalışmada Alzheimer+taurin verilen grupta glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, glutatyon-S-transferaz, katalaz, süperoksit dismutaz gibi antioksidan enzim seviyelerini arttırdığı ve TBARS düzeyinin Alzheimer’lı grupta sham ve Alzheimer+taurin grubuna göre fazla olduğu bildirilmiştir (Javed ve ark., 2013). Çalışmamızda kombine antioksidan madde verdiğimiz grup 5’te diğer gruplar ile istatistiki olarak karşılaştırıldığında SOD enzim değerinin en yüksek olduğunu saptandı. Kontrol grubu ile karşılaştırdığımız zaman Alzheimer grubunun (grup 2) ve grup 3’ n düşük SOD değerine sahip olduğunu tespit edildi. Bu sonuçlar bizim sonuçlarımızın literature uyumlu bir şekilde olduğunu göstermektedir.

İntraserebroventriküler Aβ (1-42) enjeksiyonu yapılan ratlarda hippocampus ve kortikal doku örneklerinde lipid peroksidasyon ve protein oksidasyon seviyesinin arttığı gösterilmiştir (Turunc Bayrakdar ve ark., 2014; Kantar Gok ve ark., 2018). Bizde alışmamızda Alzheimer’lı grupta (grup 2) MDA değerinin diğer gruplara göre çok yüksek çıkararak literature uyumlu bir sonuç gösterdiğini saptandı. Kontrol grubu ve

koruyucu ajan verdiğimiz gruplar; grup 3, grup 4, grup 5'te ise MDA değerlerinin Alzheimer'lı gruba gore daha duşuk olduğunu tespit edildi (şekil 4.4.1).

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

1. Yapmış olduğumuz morris water maze öğrenme deneyi ile grup 2'nin probe trial gününde hedef kadranda geçirdiği sürenin sham grubu ve diğer gruplara göre daha az olduğu saptandı. Grup 3, grup 4, grup 5'in hedef kadranda geçirdiği sürelerin daha fazla olduğu tespit edildi. Grup 5'in ise probe trial gününde hedef kadranda en çok vakit geçiren grup olduğu saptanılmıştır.

2. Histolojik olarak grup 2 ve grup 4'te nöron kaybı, nöron dejenerasyonu ve gliozis olduğu saptanmıştır. Grup 3'teki nöron kaybının grup 2 ve grup 4'e göre daha az olduğu saptanılmıştır. Grup 5'teki sağlam piramidal hücre sayısının grup 3 ve grup 4'ten yüksek olduğu tespit edilmiştir. Amiloid- β peptidinin birikiminin Alzheimer' lı grupta daha fazla iken; kombine ajan uyguladığımız grup 5'te daha az olduğu tespit edilmiştir.

3. Ultrastrüktürel olarak incelediğimizde; grup 2'de nükleus denenerasyonu ve piknotik nükleus, vakuolleşme, sitoplazmik yoğunluğunda azalma ve ribozom sayısında azalma gözlemlenilmiştir. Grup 2 ve grup 4'te ekstraselüler amiloid birikim varlığı tespit edilmiştir. Grup 3 ve grup 5'in normal bir hücre nükleusuna sahip olduğu tespit edilmiştir. Grup 3'te kontrol grubuna göre sitoplazmik yoğunluğunda azalma, organlarda dejenerasyon olduğu tespit edilmiştir. Grup 4'te nükleusta büyüme, sitoplazmik yoğunluğunda azalma, ribozomlarında azalma meydana geldiği tespit edilmiştir. Grup 5'in sitoplazmik yoğunluğunda bozulma olmadığı saptanılmıştır. Grup 6, grup 7'de kontrol benzeri nükleus, sitoplazmik yoğunlukları normal sınırlar içerisinde, ribozomda dejenerasyon olmadığı tespit edilmiştir. Grup 8, grup 9'un nükleuslarının normal olduğu, ribosomal yoğunluklarının bir miktar azaldığı, grup 9' da sitoplazmik yoğunlukta bir miktar azalma olduğu tespit edilmiştir.

4. Biyokimyasal analizlere göre; grup 2'nin MDA değerleri grup 3, grup 4, grup 5'e göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Grup 2'nin SOD değerinin, grup 3, grup 4 ve grup 5'e göre daha düşük olduğu tespit edilmiştir.

5. Oluşturduğumuz Alzheimer modelinde, taurin ve B6 vitamini kombine uygulamasının fizyolojik olarak öğrenmede ve hücresel düzeyde hasarı azaltıcı ve koruyucu etkisinin

olduğu yapılan analizlerle tespit edilmiştir. Kombine uygulamada bu maddelerin birbirinin etkilerini ne şekilde arttırdığı ve hangi yollarla etki ettiğinin ileriki çalışmalarda araştırılıp, Alzheimer hastalığı'nda koruyucu stratejilerin geliştirilmesine katkı sağlayabileceğini dűřünmekteyiz.

KAYNAKLAR

2015 alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's & dementia: the journal of the Alzheimer's Association*. 2015; 11 (3): 332-384.

Ahmad, I., Mirza, T., Qadeer, K., Nazim, U., & Vaid, F. H. Vitamin b6: Deficiency diseases and methods of analysis. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*. 2013; 26 (5): 1057-1069.

Akiyama, H., Barger, S., Barnum, S., Bradt, B., Bauer, J., Cole, G. M., . . . Wyss-Coray, T. Inflammation and alzheimer's disease. *Neurobiology of aging*. 2000; 21 (3): 383-421.

Arıncı K., Elhan A. *Anatomi 2. cilt, Güneş Tıp Kitabevleri., Ankara; 2014.*

Arifoğlu Y. *Her Yönüyle Anatomi. 2. basım, İstanbul Tıp Kitabevleri., İstanbul; 2019.*

Aspy, D. J., Madden, N. A., & Delfabbro, P. Effects of vitamin b6 (pyridoxine) and a b complex preparation on dreaming and sleep. *Perceptual and motor skills*. 2018; 125 (3): 451-462.

Baluchnejadmojarad, T., Mohamadi-Zarch, S.-M., & Roghani, M. Safranal, an active ingredient of saffron, attenuates cognitive deficits in amyloid β -induced rat model of alzheimer's disease: Underlying mechanisms. *Metabolic Brain Disease*. 2019; 34 (6): 1747-1759.

Barage, S. H., & Sonawane, K. D. Amyloid cascade hypothesis: Pathogenesis and therapeutic strategies in alzheimer's disease. *Neuropeptides*. 2015; 52: 1-18.

Barnes, D., & Yaffe, K. The projected effect of risk factor reduction on alzheimer's disease prevalence. *The Lancet. Neurology*. 2011; 10 (9): 819-828.

Bennett, D. A., Schneider, J. A., Wilson, R. S., Bienias, J. L., & Arnold, S. E. Neurofibrillary tangles mediate the association of amyloid load with clinical alzheimer disease and level of cognitive function. *Archives of neurology*. 2004; 61 (3): 378-384.

Birdsall, T. C. Therapeutic applications of taurine. *Alternative medicine review: a journal of clinical therapeutic*. 1998; 3 (2): 128-136.

Boyd-Kimball, D., Sultana, R., Poon, H. F., Lynn, B. C., Casamenti, F., Pepeu, G., . . . Butterfield, D. A. Proteomic identification of proteins specifically oxidized by intracerebral injection of amyloid beta-peptide (1-42) into rat brain: Implications for alzheimer's disease. *Neuroscience*. 2005; 132 (2): 313-324.

Braak, H., & Braak, E. Neuropathological staging of alzheimer-related changes. *Acta neuropathologica*. 1991; 82 (4): 239-259.

Butterfield, D. A., & Boyd-Kimball, D. Amyloid beta-peptide(1-42) contributes to the oxidative stress and neurodegeneration found in alzheimer disease brain. *Brain pathology (Zurich, Switzerland)*. 2004; 14 (4): 426-432.

Cardoso, S. M., & Oliveira, C. R. Glutathione cycle impairment mediates a beta-induced cell toxicity. *Free radical research*. 2003; 37 (3): 241-250.

Chauhan, V., & Chauhan, A. Oxidative stress in alzheimer's disease. *Pathophysiology: the official journal of the International Society for Pathophysiology*. 2006; 13 (3): 195-208.

Chen, C., Xia, S., He, J., Lu, G., Xie, Z., & Han, H. Roles of taurine in cognitive function of physiology, pathologies and toxication. *Life sciences*. 2019; 231: 116584.

Chesney, R. W. Taurine: Its biological role and clinical implications. *Advances in pediatrics*. 1985; 32: 1-42.

Chesney, R. W., Han, X., & Patters, A. B. Taurine and the renal system. *Journal of biomedical science*. 2010; 17 Suppl 1: S4.

Chiang, K., & Koo, E. H. Emerging therapeutics for alzheimer's disease. *Annual review of pharmacology and toxicology*. 2014; 54: 381-405.

Collin, F., Cheignon, C., & Hureau, C. Oxidative stress as a biomarker for alzheimer's disease. *Biomarkers in medicine*. 2018; 12 (3): 201-203.

Colton, C. A., Mott, R. T., Sharpe, H., Xu, Q., Van Nostrand, W. E., & Vitek, M. P. Expression profiles for macrophage alternative activation genes in ad and in mouse models of ad. *Journal of neuroinflammation*. 2006; 3: 27.

Coulson, E. J., Paliga, K., Beyreuther, K., & Masters, C. L. What the evolution of the amyloid protein precursor supergene family tells us about its function. *Neurochemistry international*. 2000; 36 (3): 175-184.

Cummings, J. L. Alzheimer's disease. *The New England journal of medicine*. 2004; 351 (1): 56-67.

Dos Santos Picanco, L. C., Ozela, P. F., de Fatima de Brito Brito, M., Pinheiro, A. A., Padilha, E. C., Braga, F. S., . . . da Silva Hage-Melim, L. I. Alzheimer's disease: A review from the pathophysiology to diagnosis, new perspectives for pharmacological treatment. *Current medicinal chemistry*. 2018; 25 (26): 3141-3159.

El Idrissi, A. Taurine increases mitochondrial buffering of calcium: Role in neuroprotection. *Amino acids*. 2008; 34 (2): 321-328.

Erzurumlu R, Şengül G, Ulupınar E. *Nöroanatomi. Güneş Tıp Kitabevleri, Ankara; 2019.*

Froger, N., Moutsimilli, L., Cadetti, L., Jammoul, F., Wang, Q. P., Fan, Y., . . . Picaud, S. Taurine: The comeback of a nutraceutical in the prevention of retinal degenerations. *Progress in retinal and eye research*. 2014; 41: 44-63.

Gilman, S. Alzheimer's disease. *Perspect Biol Med*. 1997; 40 (2): 230-245.

Gilman S. *Oxford American handbook of neurology*. Oxford University Press, Oxford, UK, 2010.

Gol, M., Ghorbanian, D., Soltanpour, N., Faraji, J., & Pourghasem, M. Protective effect of raisin (currant) against spatial memory impairment and oxidative stress in alzheimer disease model. *Nutritional neuroscience*. 2019; 22 (2): 110-118.

Grober, E., Dickson, D., Sliwinski, M. J., Buschke, H., Katz, M., Crystal, H., & Lipton, R. B. Memory and mental status correlates of modified braak staging. *Neurobiology of aging*. 1999; 20 (6): 573-579.

Havaux, M., Ksas, B., Szewczyk, A., Rumeau, D., Franck, F., Caffarri, S., & Triantaphylidès, C. Vitamin b6 deficient plants display increased sensitivity to high light and photo-oxidative stress. *BMC Plant Biology*. 2009; 9 (1): 130.

Hebert, L. E., Scherr, P. A., McCann, J. J., Beckett, L. A., & Evans, D. A. Is the risk of developing alzheimer's disease greater for women than for men? *American journal of epidemiology*. 2001; 153 (2): 132-136.

Hellmann, H., & Mooney, S. Vitamin b6: A molecule for human health? *Molecules (Basel, Switzerland)*. 2010; 15 (1): 442-459.

Holtzman, D. M., Morris, J. C., & Goate, A. M. Alzheimer's disease: The challenge of the second century. *Science translational medicine*. 2011; 3 (77): 77sr71.

Huang, H. C., Zheng, B. W., Guo, Y., Zhao, J., Zhao, J. Y., Ma, X. W., & Jiang, Z. F. Antioxidative and neuroprotective effects of curcumin in an alzheimer's disease rat model co-treated with intracerebroventricular streptozotocin and subcutaneous d-galactose. *Journal of Alzheimer's disease: JAD*. 2016; 52 (3): 899-911.

Huang, T. C., Lu, K. T., Wo, Y. Y., Wu, Y. J., & Yang, Y. L. Resveratrol protects rats from $\alpha\beta$ -induced neurotoxicity by the reduction of inos expression and lipid peroxidation. *PloS one*. 2011; 6 (12): e29102.

Huxtable, R. J. Physiological actions of taurine. *Physiological reviews*. 1992; 72 (1): 101-163.

Jakaria, M., Azam, S., Haque, M. E., Jo, S. H., Uddin, M. S., Kim, I. S., & Choi, D. K. Taurine and its analogs in neurological disorders: Focus on therapeutic potential and molecular mechanisms. *Redox biology*. 2019; 24: 101223.

Jang, H., Lee, S., Choi, S. L., Kim, H. Y., Baek, S., & Kim, Y. Taurine directly binds to oligomeric amyloid- β and recovers cognitive deficits in alzheimer model mice. *Advances in experimental medicine and biology*. 2017; 975 Pt 1: 233-241.

Javed, H., Khan, A., Vaibhav, K., Moshahid Khan, M., Ahmad, A., Ejaz Ahmad, M., . . . Islam, F. Taurine ameliorates neurobehavioral, neurochemical and immunohistochemical changes in sporadic dementia of alzheimer's type (sdad) caused by intracerebroventricular streptozotocin in rats. *Neurological sciences: official journal of the Italian Neurological Society and of the Italian Society of Clinical Neurophysiology*. 2013; 34 (12): 2181-2192.

Jhoo, J. H., Kim, H. C., Nabeshima, T., Yamada, K., Shin, E. J., Jhoo, W. K., . . . Woo, J. I. Beta-amyloid (1-42)-induced learning and memory deficits in mice: Involvement of oxidative burdens in the hippocampus and cerebral cortex. *Behavioural brain research*. 2004; 155 (2): 185-196.

Jia, S., Lu, Z., Gao, Z., An, J., Wu, X., Li, X., . . . Sun, Y. Chitosan oligosaccharides alleviate cognitive deficits in an amyloid- β 1-42-induced rat model of alzheimer's disease. *International journal of biological macromolecules*. 2016; 83: 416-425.

Kaiboriboon, K., & Hogan, R. E. Hippocampal shape analysis in status epilepticus associated with acute encephalitis. *AJNR. American journal of neuroradiology*. 2002; 23 (6): 1003-1006.

Kang, J., Lemaire, H. G., Unterbeck, A., Salbaum, J. M., Masters, C. L., Grzeschik, K. H., . . . Muller-Hill, B. The precursor of alzheimer's disease amyloid a4 protein resembles a cell-surface receptor. *Nature*. 1987; 325 (6106): 733-736.

Kantar Gok, D., Hidisoglu, E., Ocak, G. A., Er, H., Acun, A. D., & Yargıoğlu, P. Protective role of rosmarinic acid on amyloid beta 42-induced echoic memory decline:

Implication of oxidative stress and cholinergic impairment. *Neurochemistry international*. 2018; 118: 1-13.

Kasza, Á., Penke, B., Frank, Z., Bozsó, Z., & Szegedi, V. Studies for improving a rat model of alzheimer's disease: Icv administration of well-characterized β -amyloid 1-42 oligomers induce dysfunction in spatial memory. 2017; 22 (11).

Kheradmand, E., Hajizadeh Moghaddam, A., & Zare, M. Neuroprotective effect of hesperetin and nano-hesperetin on recognition memory impairment and the elevated oxygen stress in rat model of alzheimer's disease. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*. 2018; 97: 1096-1101.

Knopman DS. Alzheimer type dementia. *In* "Neurodegeneration: The Molecular Pathology of Dementia and Movement Disorders" (Dickson DW, ed.). ISN Neuropath Press. Basel, 2003; pp. 24–39.

Koehl, M., & Abrous, D. N. A new chapter in the field of memory: Adult hippocampal neurogenesis. *The European journal of neuroscience*. 2011; 33 (6): 1101-1114.

Komaki, H., Faraji, N., Komaki, A., Shahidi, S., Etaee, F., Raoufi, S., & Mirzaei, F. Investigation of protective effects of coenzyme q10 on impaired synaptic plasticity in a male rat model of alzheimer's disease. *Brain research bulletin*. 2019; 147: 14-21.

Liu, R. Y., Zhou, J. N., van Heerikhuize, J., Hofman, M. A., & Swaab, D. F. Decreased melatonin levels in postmortem cerebrospinal fluid in relation to aging, alzheimer's disease, and apolipoprotein e-epsilon4/4 genotype. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 1999; 84 (1): 323-327.

Lleo, A., Greenberg, S. M., & Growdon, J. H. Current pharmacotherapy for alzheimer's disease. *Annu Rev Med*. 2006; 57: 513-533.

Lourenco, R., & Camilo, M. E. Taurine: A conditionally essential amino acid in humans? An overview in health and disease. *Nutricion hospitalaria*. 2002; 17 (6): 262-270.

Lu, C. L., Tang, S., Meng, Z. J., He, Y. Y., Song, L. Y., Liu, Y. P., . . . Guo, S. C. Taurine improves the spatial learning and memory ability impaired by sub-chronic manganese exposure. *Journal of biomedical science*. 2014; 21 (1): 51.

Luo, H., Xiang, Y., Qu, X., Liu, H., Liu, C., Li, G., . . . Qin, X. Apelin-13 suppresses neuroinflammation against cognitive deficit in a streptozotocin-induced rat model of alzheimer's disease through activation of bdnf-trkb signaling pathway. *Frontiers in pharmacology*. 2019; 10: 395.

Marles, R., Assinewe, V., Fogg, J., Kaczmarek, M., & Sek, M. (2010). Taurine. In (pp. 738-747).

Masters, C. L., Simms, G., Weinman, N. A., Multhaup, G., McDonald, B. L., & Beyreuther, K. Amyloid plaque core protein in alzheimer disease and down syndrome. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1985; 82 (12): 4245-4249.

Maurer, K., Volk, S., & Gerbaldo, H. Auguste d and alzheimer's disease. *Lancet (London, England)*. 1997; 349 (9064): 1546-1549.

Messina, S. A., & Dawson, R., Jr. Attenuation of oxidative damage to DNA by taurine and taurine analogs. *Advances in experimental medicine and biology*. 2000; 483: 355-367.

Midttun, Ø., Ulvik, A., Pedersen, E., Ebbing, M., Bleie, Ø., Schartum-Hansen, H., . . . Ueland, P. Low plasma vitamin b-6 status affects metabolism through the kynurenine pathway in cardiovascular patients with systemic inflammation. *The Journal of nutrition*. 2011; 141: 611-617.

Miyazaki, T., Honda, A., Ikegami, T., & Matsuzaki, Y. The role of taurine on skeletal muscle cell differentiation. *Advances in experimental medicine and biology*. 2013; 776: 321-328.

Moodley, K. K., & Chan, D. The hippocampus in neurodegenerative disease. *Frontiers of neurology and neuroscience*. 2014; 34: 95-108.

Mooney, S., Leuendorf, J. E., Hendrickson, C., & Hellmann, H. Vitamin b6: A long known compound of surprising complexity. *Molecules* (Basel, Switzerland). 2009; 14 (1): 329-351.

Moser, M. B., Rowland, D. C., & Moser, E. I. Place cells, grid cells, and memory. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*. 2015; 7 (2): a021808.

Murakami, S. Role of taurine in the pathogenesis of obesity. *Molecular nutrition & food research*. 2015; 59 (7): 1353-1363.

Muxika, A., Etxabide, A., Uranga, J., Guerrero, P., & de la Caba, K. Chitosan as a bioactive polymer: Processing, properties and applications. *International journal of biological macromolecules*. 2017; 105 (Pt 2): 1358-1368.

Olmez, M., & Polat, F. Beslenmede taurinin onemi. *Ziraat Muhendisligi Dergisi*. 2010; 354: 34.

Orbán, G., Völgyi, K., Juhász, G., Penke, B., Kékesi, K. A., Kardos, J., & Czurkó, A. Different electrophysiological actions of 24- and 72-hour aggregated amyloid-beta oligomers on hippocampal field population spike in both anesthetized and awake rats. *Brain research*. 2010; 1354: 227-235.

Ott, A., Breteler, M. M., van Harskamp, F., Claus, J. J., van der Cammen, T. J., Grobbee, D. E., & Hofman, A. Prevalence of alzheimer's disease and vascular dementia: Association with education. The rotterdam study. *BMJ (Clinical research ed.)*. 1995; 310 (6985): 970-973.

Padurariu, M., Ciobica, A., Mavroudis, I., Fotiou, D., & Baloyannis, S. Hippocampal neuronal loss in the ca1 and ca3 areas of alzheimer's disease patients. *Psychiatria Danubina*. 2012; 24 (2): 152-158.

Park, E., Park, S. Y., & Dobkin, C. Development of a novel cysteine sulfinic acid decarboxylase knockout mouse: Dietary taurine reduces neonatal mortality. 2014; 2014: 346809.

Parra, M., Stahl, S., & Hellmann, H. Vitamin b₆ and its role in cell metabolism and physiology. *Cells*. 2018; 7 (7).

Perl, D. P. Neuropathology of alzheimer's disease. *The Mount Sinai journal of medicine, New York*. 2010; 77 (1): 32-42.

Pilipenko, V., Narbute, K., Beitnere, U., Rumaks, J., Pupure, J., Jansone, B., & Klusa, V. Very low doses of muscimol and baclofen ameliorate cognitive deficits and regulate protein expression in the brain of a rat model of streptozocin-induced alzheimer's disease. *European journal of pharmacology*. 2018; 818: 381-399.

Plassman, B. L., Langa, K. M., Fisher, G. G., Heeringa, S. G., Weir, D. R., Ofstedal, M. B., . . . Wallace, R. B. Prevalence of dementia in the united states: The aging, demographics, and memory study. *Neuroepidemiology*. 2007; 29 (1-2): 125-132.

Quan, Q., Wang, J., Li, X., & Wang, Y. Ginsenoside rg1 decreases a β (1-42) level by upregulating ppar γ and ide expression in the hippocampus of a rat model of alzheimer's disease. *PloS one*. 2013; 8 (3): e59155.

Querfurth, H. W., & LaFerla, F. M. Alzheimer's disease. *The New England journal of medicine*. 2010; 362 (4): 329-344.

Redmond, H. P., Stapleton, P. P., Neary, P., & Bouchier-Hayes, D. Immunonutrition: The role of taurine. *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)*. 1998; 14 (7-8): 599-604.

Reiman, E. M., Chen, K., Alexander, G. E., Caselli, R. J., Bandy, D., Osborne, D., . . . Hardy, J. Correlations between apolipoprotein e epsilon4 gene dose and brain-imaging measurements of regional hypometabolism. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2005; 102 (23): 8299-8302.

Rojo, L. E., Fernández, J. A., Maccioni, A. A., Jimenez, J. M., & Maccioni, R. B. Neuroinflammation: Implications for the pathogenesis and molecular diagnosis of alzheimer's disease. *Archives of medical research*. 2008; 39 (1): 1-16.

Rudnitskaya, E. A., Maksimova, K. Y., Muraleva, N. A., Logvinov, S. V., Yanshole, L. V., Kolosova, N. G., & Stefanova, N. A. Beneficial effects of melatonin in a rat model of sporadic alzheimer's disease. *Biogerontology*. 2015; 16 (3): 303-316.

Santana, I., Farinha, F., Freitas, S., Rodrigues, V., & Carvalho, A. [the epidemiology of dementia and alzheimer disease in portugal: Estimations of prevalence and treatment-costs]. *Acta medica portuguesa*. 2015; 28 (2): 182-188.

Schaffer, S., Takahashi, K., & Azuma, J. Role of osmoregulation in the actions of taurine. *Amino acids*. 2000; 19 (3-4): 527-546.

Shahidi, S., Zargooshnia, S., Asl, S. S., Komaki, A., & Sarihi, A. Influence of n-acetyl cysteine on beta-amyloid-induced alzheimer's disease in a rat model: A behavioral and electrophysiological study. *Brain research bulletin*. 2017; 131: 142-149.

Shankar, G. M., & Walsh, D. M. Alzheimer's disease: Synaptic dysfunction and abeta. *Molecular neurodegeneration*. 2009; 4: 48.

Sharma, S., Verma, S., Kapoor, M., Saini, A., & Nehru, B. Alzheimer's disease like pathology induced six weeks after aggregated amyloid-beta injection in rats: Increased oxidative stress and impaired long-term memory with anxiety-like behavior. *Neurological research*. 2016; 38 (9): 838-850.

Sil, S., Ghosh, T., Gupta, P., Ghosh, R., Kabir, S. N., & Roy, A. Dual role of vitamin c on the neuroinflammation mediated neurodegeneration and memory impairments in colchicine induced rat model of alzheimer disease. *Journal of molecular neuroscience : MN*. 2016; 60 (4): 421-435.

Sjoberg, M. K., Shestakova, E., Mansuroglu, Z., Maccioni, R. B., & Bonnefoy, E. Tau protein binds to pericentromeric DNA: A putative role for nuclear tau in nucleolar organization. *Journal of cell science*. 2006; 119 (Pt 10): 2025-2034.

Spinneker, A., Sola, R., Lemmen, V., Castillo, M. J., Pietrzik, K., & González-Gross, M. Vitamin b6 status, deficiency and its consequences--an overview. *Nutricion hospitalaria*. 2007; 22 (1): 7-24.

Spriet, L. L., & Whitfield, J. Taurine and skeletal muscle function. *Current opinion in clinical nutrition and metabolic care*. 2015; 18 (1): 96-101.

Sreekumaran, E., Ramakrishna, T., Madhav, T. R., Anandh, D., Prabhu, B. M., Sulekha, S., . . . Raju, T. R. Loss of dendritic connectivity in ca1, ca2, and ca3 neurons in hippocampus in rat under aluminum toxicity: Antidotal effect of pyridoxine. *Brain research bulletin*. 2003; 59 (6): 421-427.

Stover, P. J., & Field, M. S. Vitamin b-6. *Advances in nutrition (Bethesda, Md.)*. 2015; 6 (1): 132-133.

Su, Y., Fan, W., Ma, Z., Wen, X., Wang, W., Wu, Q., & Huang, H. Taurine improves functional and histological outcomes and reduces inflammation in traumatic brain injury. *Neuroscience*. 2014; 266: 56-65.

Suzuki, T., Suzuki, T., Wada, T., Saigo, K., & Watanabe, K. Taurine as a constituent of mitochondrial trnas: New insights into the functions of taurine and human mitochondrial diseases. *EMBO J*. 2002; 21 (23): 6581-6589.

Tarasoff-Conway, J. M., Carare, R. O., Osorio, R. S., Glodzik, L., Butler, T., Fieremans, E., . . . de Leon, M. J. Clearance systems in the brain-implications for alzheimer disease. *Nature reviews. Neurology*. 2015; 11 (8): 457-470.

Trojanowski, J. Q., & Mattson, M. P. Overview of protein aggregation in single, double, and triple neurodegenerative brain amyloidoses. *Neuromolecular medicine*. 2003; 4 (1-2): 1-6.

Tucker, R. P. The roles of microtubule-associated proteins in brain morphogenesis: A review. *Brain research. Brain research reviews*. 1990; 15 (2): 101-120.

Turunc Bayrakdar, E., Uyanikgil, Y., Kanit, L., Koylu, E., & Yalcin, A. Nicotinamide treatment reduces the levels of oxidative stress, apoptosis, and parp-1 activity in a β (1-42)-induced rat model of alzheimer's disease. *Free radical research*. 2014; 48 (2): 146-158.

Ueland, P. M., McCann, A., Midttun, Ø., & Ulvik, A. Inflammation, vitamin b6 and related pathways. *Molecular Aspects of Medicine*. 2017; 53: 10-27.

Walsh, D. M., & Selkoe, D. J. A beta oligomers - a decade of discovery. *Journal of neurochemistry*. 2007; 101 (5): 1172-1184.

Wang, K., Sun, W., Zhang, L., Guo, W., Xu, J., Liu, S., . . . Zhang, Y. Oleanolic acid ameliorates a β 25-35 injection-induced memory deficit in alzheimer's disease model rats by maintaining synaptic plasticity. *CNS & neurological disorders drug targets*. 2018; 17 (5): 389-399.

Yamada, K., Tanaka, T., Han, D., Senzaki, K., Kameyama, T., & Nabeshima, T. Protective effects of idebenone and alpha-tocopherol on beta-amyloid-(1-42)-induced learning and memory deficits in rats: Implication of oxidative stress in beta-amyloid-induced neurotoxicity in vivo. *The European journal of neuroscience*. 1999; 11 (1): 83-90.

Yıldırım M. Temel Nöroanatomi. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul; 2000.

Yokochi, N., Morita, T., & Yagi, T. Inhibition of diphenolase activity of tyrosinase by vitamin b(6) compounds. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2003; 51 (9): 2733-2736.

Zhang, L., Dong, S., Zhao, G., & Ma, Y. 7.0t nuclear magnetic resonance evaluation of the amyloid beta (1-40) animal model of alzheimer's disease: Comparison of cytology verification. *Neural regeneration research*. 2014; 9 (4): 430-435.

Zhang, L., Fang, Y., Lian, Y., Chen, Y., Wu, T., Zheng, Y., . . . Xu, Y. Brain-derived neurotrophic factor ameliorates learning deficits in a rat model of alzheimer's disease induced by a β 1-42. *PloS one*. 2015; 10 (4): e0122415.

Zhu, D., Yang, N., Liu, Y. Y., Zheng, J., Ji, C., & Zuo, P. P. M2 macrophage transplantation ameliorates cognitive dysfunction in amyloid- β -treated rats through regulation of microglial polarization. *Journal of Alzheimer's disease: JAD*. 2016; 52 (2): 483-495.

Zysset-Burri, D. C., Bellac, C. L., Leib, S. L., & Wittwer, M. Vitamin b6 reduces hippocampal apoptosis in experimental pneumococcal meningitis. *BMC infectious diseases*. 2013; 13: 393.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Melike	Uyruğu	T.C
Soyadı	ÇETİN	Tel no	0 538 702 9958
Doğum tarihi	04.02.1993	E-posta	melike.cetinn07@gmail.com

Eğitim Bilgileri

	Mezun olduğu kurum	Mezuniyet yılı
Lise	Hacı Malike Mehmet Bileydi Anadolu Lisesi	2011
Lisans	İstanbul Gelişim Üniversitesi	2017
Yüksek Lisans	Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü	2021
Doktora		

İş Deneyimi

Görevi	Kurum	Süre (yıl-yıl)

Yabancı Dilleri	Sınav türü	Puanı
İngilizce	Yökdil	81.25

Proje Deneyimi

Proje Adı	Destekleyen kurum	Süre (Yıl-Yıl)
Amyloid indüklenerek oluşturulan rat Alzheimer modelinde, taurin ve B6 vitamininin rat hippocampus'unda oluşacak hasarı önleyici rolünün araştırılması	BAP	16 ay (2019-2021)

Burslar-Ödüller:

Yayınlar ve Bildiriler:

Bildiriler:

- 1- Gediz T, Önder M, Çetin M, Sindel M, Yolcular OB, Oğuz N. Morfology and morpfometric measurements of interlaminar distance of the lumbel region. 19.Ulusal Anatomi Kongresi ve Uluslararası Akdeniz Anatomi Kongresi, Konya, 6-9 Eylül 2018
- 2- Gediz T, Önder M, Çetin M, Sindel M, Yolcular OB, Oğuz N. Morfology and morpfometric measurements of interlaminar distance of the lomber region. 19.Ulusal Anatomi Kongresi ve Uluslararası Akdeniz Anatomi Kongresi, Konya, 6-9 Eylül 2018
- 3- Çetin M, Süzen LB. İncisura scapulae'nın Morfolojik ve Morfometrik Değerlendirilmesi. 19.Ulusal Anatomi Kongresi ve Uluslararası Akdeniz Anatomi Kongresi, Konya, 6-9 Eylül 2018
- 4- Akyol G, Önder M, Çetin M, Oğuz N. Kadavra Boyun Bölgesindeki Aksesuar Kas. 20. Ulusal Anatomi Kongresi, İstanbul, 27-31 Ağustos 2019