

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ (TIP) ANABİLİM DALI



**DENEYSEL ALZHEİMER HASTALIĞI MODELİNDE ÇİYA (*Salvia
hispanica* L.) TOHUMUNUN ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Yasemin BİLGİÇ

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Enver Ahmet DEMİR

HATAY - 2018

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ (TIP) ANABİLİM DALI

**DENEYSEL ALZHEİMER HASTALIĞI MODELİNDE ÇİYA (*Salvia
hispanica* L.) TOHUMUNUN ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Yasemin BİLGİÇ

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Enver Ahmet DEMİR

HATAY - 2018

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ (TIP) ANABİLİM DALI

**DENEYSEL ALZHEİMER HASTALIĞI MODELİNDE ÇİYA (*Salvia
hispanica* L.) TOHUMUNUN ETKİSİ**

Yüksek Lisans Tezi

Yasemin BİLGİÇ

Bu tez aşağıda isimleri yazılı tez jürisi tarafından 16/08/2018 günü sözlü olarak yapılan tez savunma sınavında oyçokluğu/oybirliği ile kabul edilmiştir.

Tez Jürisi: Jüri başkanı: Prof. Dr. Hüda DİKEN OFLAZOĞLU

Üye: Prof. Dr. Cemil TÜMER

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Enver Ahmet DEMİR

Bu tez, Enstitümüz Fizyoloji (Tıp) Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

...../...../.....

Prof. Dr. İbrahim Halil ÇERÇİ

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Bu araştırmanın gerçekleşmesinde yol gösteren, bilimsel desteklerinin yanı sıra yardımlarını esirgemeyen çok değerli danışmanım Sayın Dr. Öğr. Üyesi Enver Ahmet Demir'e,

Eğitimimiz için tüm gayreti ile uğraşan bilgi ve tecrübeleriyle destek olan Fizyoloji Ana Bilim Dalı başkanı çok kıymetli hocam Sayın Prof. Dr. Cemil Tümer'e,

Yüksel lisans eğitimim süresince her zaman destek olan ve yardımlarını esirgemeyen değerli araştırma görevlileri Hatice Doğan'a ve Okan Tutuk'a, değerli arkadaşlarım Özlem Kutlu İshakoğlu'na ve Ünal Kahraman'a,

Çalışmamda yardımları bulunan tıp fakültesi öğrencileri; Almira Ağgöl'e, Ezgi Yalçındağ'a, Erman Kalelioğlu'na, Faruk Arslan'a, Mert Duman'a ve Okan Gönder'e,

Mustafa Kemal Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi çalışanlarına,

Laboratuarlar çalışmamızdaki yardım ve katkılarından dolayı Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı öğretim üyeleri Doç. Dr. Meral Urhan Küçük'e ve Dr. Öğr. Üyesi Gülay Gülbol Duran'a,

Her zaman olduğu gibi tez çalışmam boyunca da büyük desteğiyle ve yardımlarıyla yanımda olan canım ikizim Nilüfer Bilgiç'e,

Her daim yanımda olan ve beni destekleyen canım babam, annem ve ağabeylerime

Teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
Kabul ve Onay	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ	VII
ÇİZELGELER DİZİNİ	IX
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	X
ÖZET	XI
ABSTRACT.....	XII
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	4
2.1. Alzheimer Hastalığı Tanımı.....	4
2.2. Alzheimer Hastalığı Tarihiçesi	5
2.3. Alzheimer Hastalığının Epidemiyolojisi	7
2.4. Alzheimer Hastalığının Tanı Kriterleri	7
2.5. Alzheimer Hastalığının Fizyopatolojisi	8
2.5.1. Amiloid Plakları ve Nörofibriller Yumaklar	10
2.6. Alzheimer Hastalığının Tedavisi	11
2.6.1. Asetilkolinesteraz İnhibitörleri	12
2.6.2. N-Metil-D-Aspartat Reseptör (NMDA) Antagonisti.....	12
2.7. Alzheimer Hastalığının Risk Faktörleri.....	13
2.8. Alzheimer Hastalığı ve Beslenme.....	15
2.9. Çiya Tohumu	16
2.10. Asetilkolinesteraz.....	20
2.11. Kolin Asetiltransferaz	21

2.12. Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör.....	21
2.13. Alzheimer Hastalığı ve Alüminyum İlişkisi	22
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	23
3.1. Deney Grupları ve Çalışma Planı	23
3.2. Model Tesisi İçin Uygulanan Maddelerin Hazırlanması.....	26
3.3. Çiya Tohumu İçeren Yemin Hazırlanması	26
3.4. Mortalite ve İnsani Hariç Bırakma	27
3.5. Davranış Deneyleri	27
3.5.1. Morris Su Labirenti Testi.....	27
3.5.2. Açık Alan Testi	28
3.5.3. Yükseltmiş Artı Labirent Testi	29
3.5.4. Zorlu Yüzme Testi	29
3.6. Dokuların Homojenizasyonu	30
3.7. Protein Tayini	31
3.8. Enzyme Linked Immunosorbent Assay Testi (ELISA).....	31
3.9. İstatistiksel Analizler	32
4. BULGULAR.....	33
4.1. Vücut Ağırlığı ve Besin Tüketimi Takibi	33
4.2. Öğrenme ve Bellek Analizleri	35
4.3. Açık Alan Testi Analizleri	42
4.4. Yükseltmiş Artı Labirent Testi Analizleri	45
4.5. Zorlu Yüzme Testi Analizleri	47
4.6. Protein Analizleri	49
5. TARTIŞMA	52
6. SONUÇ.....	56
7. KAYNAKLAR	57

EKLER.....	62
EK 1	62
EK 2	64
ÖZGEÇMİŞ	65



ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 2. 1. Alzheimer hastalığının yayılımı	5
Şekil 2. 2. A) Alois Alzheimer B) Auguste Deter Fotoğraf tarihi Kasım, 1902.....	6
Şekil 2. 3. Nörofibriler yumaklar	6
Şekil 2. 4. Nöronların mikroskop görüntüsü.....	9
Şekil 2. 5. Alzheimer hastalığında beyinde gözlenen değişiklikler	9
Şekil 2. 6. Amiloid plakların oluşumu	10
Şekil 2. 7. Sağlıklı ve hastalıklı nöronlarda Tau proteini	11
Şekil 2. 8. Alzheimer hastalığının risk faktörleri.....	13
Şekil 2. 9. A) Çiya bitkisi (<i>Salvia hispanica</i> L.) B) Çiya tohumu	16
Şekil 3. 1. Gruplandırılmış hayvanlar	23
Şekil 3. 2. Çiya tohumu içeren yem.....	26
Şekil 3. 3. Morris su labirenti deneyleri.....	28
Şekil 3. 4. Yükseltilmiş artı labirent testi.....	29
Şekil 3. 5. Zorlu yüzme testi	30
Şekil 3. 6. Eksize edilmiş sıçan beyni ve hipokampus	31
Şekil 4. 1. Vücut ağırlığı takibi.....	33
Şekil 4. 2. Yem tüketimi	34
Şekil 4. 3. Morris su labirenti testinde kaçış platformunu bulma süreleri	35
Şekil 4. 4. Morris su labirenti testinde toplam yüzme mesafesi	37
Şekil 4. 5. Morris su labirenti testinde sürat analizi.....	38
Şekil 4. 6. Morris su labirenti testinde hedef kadranda geçirilen süre.....	39
Şekil 4. 7. Morris su labirenti testinde kümülatif yüzme süresi	40
Şekil 4. 8. Morris su labirenti testinde platform alanına mesafe	41
Şekil 4. 9. Açık alan testinde toplam kat edilen mesafe	42
Şekil 4. 10. Açık alan testinde sürat.....	43
Şekil 4. 11. Açık alan testinde merkez alanda geçirilen süre	44
Şekil 4. 12. Yükselmiş artı labirent testinde açık alanda geçirilen süre	45
Şekil 4. 13. Yükselmiş artı labirent testinde ayağa kalkma sayısı	46
Şekil 4. 14. Zorlu yüzme testinde mobilite süresi.....	47

Şekil 4. 15. Zorlu yüzme testinde baş sallama.....	48
Şekil 4. 16. A β (1-42) protein düzeyleri	49
Şekil 4. 17. Toplam tau protein düzeyleri.....	50
Şekil 4. 18. Amiloid prekürsör protein düzeyleri	51



ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa No
Çizelge 2. 1. Asetilkolinesteraz inhibitörlerinin endikasyon durumu	12
Çizelge 2. 2. Öğütülmüş çiya tohumunun besin değeri	17
Çizelge 2. 2. Devam 100 gr öğütülmüş çiya tohumunun besin değeri	18
Çizelge 2. 3. Çiya Tohumunda tanımlanan aktif bileşikler ve kimyasal yapıları	19
Çizelge 2. 3. Devam Çiya Tohumunda tanımlanan aktif bileşikler ve kimyasal yapıları ..	20
Çizelge 3. 1. Deney grupları	25



SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

A β (1-42)	: Amyloid-beta protein (1-42)
ACh	: Asetilkolin
AChE	: Asetilkolinesteraz
AH	: Alzheimer hastalığı
Al	: Alüminyum
AlCl ₃	: Alüminyum klorür
APP	: Amiloid prekürsör protein
BDNF	: Beyin kaynaklı nörotrofik faktör
ChAT	: Kolinasetiltransferaz
D-gal	: D-galaktoz
DHA	: Dokosaheksaenoik asit
ELISA	: Enzyme linked immunosorbent assay testi
EPA	: Eikosapentaenoik asit
FDA	: Amerikan gıda ve ilaç dairesi
LTP	: Uzun süreli potansiyelizasyon
NFT	: Nörofibriller yumaklar
NMDA	: N-metil-D-aspartat
Omega-3	: Alfa linolenik asit
Omega-6	: Alfa linoleik asitler
PUFA	: Çoklu doymamış yağ asitleri

ÖZET

Deneysel Alzheimer Hastalığı Modelinde Çiya (*Salvia hispanica* L.) Tohumunun Etkisi

Alzheimer hastalığı bireylerin yaşam kalitelerinde ihmal edilemez hasara yol açmaktadır. Ortalama yaşam süresinin uzamasıyla orantılı şekilde artan insidansı bakım ve tedavi maliyetlerini de arttırmaktadır. Bu sebeple Alzheimer hastalığı toplumun genelini ilgilendiren bir sağlık sorunu olarak görünmektedir. Çiya tohumu besinsel değeri ve anti-enflamasyon, kardiyoproteksiyon gibi etkileriyle fonksiyonel bir besindir.

Çalışmamızda, deneysel Alzheimer hastalığı modeli oluşturmak adına Alzheimer, ön Tedavi ve tedavi gruplarındaki erişkin Wistar albino sıçanlara 21 gün boyunca intraperitoneal Alüminyum klorür+D-galaktoz (10 ve 150 mg/kg/gün) uygulandı. Kontrol grubundakilere ise fizyolojik salin uygulandı. Ön Tedavi (model sırasında) ve tedavi (model sonrasında) gruplarının yemlerine çiya tohumu [%36,2 (w/w)] ilave edildi. Tüm hayvanlar Morris su labirenti testi, açık alan testi, yükseltilmiş artı labirent testi ve zorlu yüzme testlerine tabi tutularak öğrenme/bellek, depresyon ve anksiyete benzeri davranışları değerlendirildi. Beyin dokusunda immünokimyasal yolla amiloid prekürsör protein (APP), amiloid-beta protein (1-42) [A β (1-42)] ve total tau protein düzeyleri incelendi.

Alzheimer hastalığı modeli öğrenme/belleği bozarken (p=0.01) depresyon (p<0.01) ve anksiyete benzeri (p=0.04) davranışa sebep oldu. Tedavi grubunda model oluştuktan sonra verilen çiya desteği bozulmuş olan öğrenme/bellekte değişikliğe yol açmazken (p>0.05) ön tedavi grubunda model oluşturma esnasında verilen çiya desteğinin öğrenme/belleği herhangi bir tedavi verilmemiş olan hayvanlardan bile daha fazla bozduğu (p=0.04) görüldü. Çiya, Alzheimer hastalığı modelinde ortaya çıkan anksiyete benzeri davranış üzerine etkisizdi (p>0.05). Hem tedavi (p=0.01) hem ön tedavi (p=0.03) gruplarında depresyon benzeri davranışta iyileşme gözlemlendi. Kontrol grubuna kıyasla Alzheimer, ön tedavi ve tedavi gruplarında APP, A β (1-42) ve total tau protein düzeylerinin anlamlı şekilde arttığı gözlemlendi (p<0.05). Çiya tohumu tüketen gruplarda ise A β (1-42), total tau ve APP düzeylerinde birbirlerine göre fark bulunamadı (p>0.05).

Mevcut çalışma çiyanın Alzheimer hastalığında, hastalık prognozunu kötüleştirebileceğini ortaya koymuştur. Bu sonuçlara dayanarak Alzheimer hastalarında çiyanın dikkat ve tedbirle tüketilmesi önerilmelidir.

Anahtar Kelimeler: Alzheimer, anksiyete, çiya tohumu, depresyon, öğrenme ve bellek

ABSTRACT

The Effect of Chia (*Salvia hispanica* L.) Seed in an Experimental Alzheimer's Disease Model

Alzheimer's disease diminishes the life quality. The increasing incidence of the disease proportional to the prolonging life expectancy escalates the care and treatment expenses. Thereby, Alzheimer's disease is considered to be a public health problem. Chia seed is a functional food with its nutritive value and health benefits such as anti-inflammation and cardioprotection.

To generate the Alzheimer's disease model, aluminum chloride+D-galactose (10 and 150 mg/kg/day) was intraperitoneally administered for 21 days to adult Wistar albino rats in Alzheimer, pretreatment and treatment groups in the present study. The controls meanwhile received physiological saline. Chia seeds were added to rations [36.2%(w/w)] of pretreatment (during the model induction) and treatment (after the model induction) groups. All animals put through the Morris' water maze, open field, elevated plus maze and forced swim tests to evaluate learning/memory, and depression- and anxiety-like behaviors. The concentrations of amyloid precursor protein (APP), amyloid-beta protein (1-42) [A β (1-42)], and total tau protein were immunochemically measured in the brain tissue.

The disease model resulted in a disturbance in learning/memory ($p=0.01$), and provoked depression and anxiety-like behaviors ($p<0.001$ and $p=0.04$, respectively). The supplementation following the model induction in Treatment group did not alter the disturbed learning/memory ($p>0.05$) whereas the supplementation during the model induction in Pretreatment group worsened learning/memory more than that seen in the animals that not received any treatment ($p=0.04$). Chia was ineffective against model-induced anxiety-like behaviors ($p=0.05$). An improvement in depression-like behaviors was found in both Treatment ($p=0.01$) and Pretreatment ($p=0.03$) groups. The concentrations of APP, A β (1-42) and total tau protein significantly increased in Alzheimer, Pretreatment, and Treatment groups as compared to the controls ($p<0.05$). No difference was found between the chia-supplemented groups in the levels of APP, A β (1-42) and total tau protein ($p>0.05$).

The present study demonstrated that the chia-supplementation may exacerbate the prognosis of Alzheimer's disease. According to these results, Alzheimer's patients should consume chia with caution and awareness.

Keywords: Alzheimer, anxiety, chia seed, depression, learning and memory

1.GİRİŞ

Alzheimer hastalığı (AH), geri dönüşümsüz ve ilerleyici bir nörodejeneratif bozukluktur (Zhang 2017). AH, Alois Alzheimer tarafından tanımlanmıştır ve demansın en yaygın nedenidir. Her ne kadar senilite tek başına demans sebebi olmasa da yaşlı popülasyonda AH insidansının yüksekliği dikkat çekmekte ve uzayan yaşam süresiyle birlikte bu patolojinin prevalansının arttığı görülmektedir. Dolayısıyla senilite AH için en önemli risk faktörü olarak kabul edilmektedir (Parihar ve Brewer 2010). AH, hücre dışı amiloid-beta ($A\beta$) plakları ve nörofibriller yumakların (NFT) intranöronal birikimiyle karakterizedir. Amiloid plakların sinaptik hasara yol açmak suretiyle AH'yi başlattığı ve ilerleyici nöral kaybın izlendiği düşünülmektedir. Söz konusu amiloid hipotezi hastalık fizyopatogenezinin izahı açısından genel kabul görmüş ve AH'ye karşı öncelikli tedavi hedefi haline gelmiştir (Kang ve ark. 2017). Amiloid-beta protein ($A\beta$), fizyolojik koşullarda merkezi sinir sisteminde sinaps oluşumuyla ve böylece bellek süreçleriyle ilişkilirken AH'de izlendiği üzere birikime uğraması nöral hücre ölümü ve bellek kaybıyla sonuçlanmaktadır. Bir diğer deyişle nöral metabolizmanın doğal bir ürünü olan $A\beta$ sinaptik plastisite ve nöral sağ kalım için gerekliken birikime uğraması AH ile ilişkilidir (Parihar ve Brewer 2010). İntraserebroventriküler $A\beta$ (1-42) enjeksiyonunun bilişsel fonksiyonlarda bozulmaya yol açtığı görülmektedir (Balducci ve ark. 2010). AH'nin erken döneminde sinaptik kayıp ortaya çıkabilmekle birlikte genellikle amiloidopati sonrasında aşık hale gelen tau protein hiperfosforilasyonu uzun süreli hastalığa işaret etmektedir (Parihar ve Brewer 2010). Bir integral membran proteini olan *amiloid prekürsör protein* (APP), amiloid plakların ana protein bileşeni olan $A\beta$ öncüsüdür (Dawkins ve Small 2014). APP'nin β - ve γ -sekretazlar marifetiyle proteolizi neticesinde açığa çıkan $A\beta$ 'nin nöral doku düzeyi bu öncü proteinin ekspresyonunda artışla korelasyon sergilediğinden APP düzeyleri AH fizyopatogenezinde kilit role sahiptir (Tyan ve ark. 2012). Buna karşın APP de, öncüsü olduğu $A\beta$ gibi fizyolojik göreve haiz bir proteindir. APP'nin nörogenez, sinaptogenez ve nöral sağ kalımda fonksiyon gösteren nörotrofik bir protein olduğu anlaşılmaktadır. Anılan fonksiyonlarından hareketle, sinir sistemi gelişiminin erken dönemlerinde etkinliği önem taşıyan APP'nin erişkin merkezi sinir sisteminde geri dönüşümlü nöral hasarın tamirinde katkısı olduğu fark edilmiştir (Dawkins ve Small 2014).

Asetilkolin (ACh) periferel sinir sisteminde başlica motor n6ronların n6rotransmitteri olmakla birlikte otonom sinir sisteminin t6m pregangliyonik ve bir kısıml postgangliyonik n6ronlarında aracı g6rev 6stlenmektedir. ACh, asetilkolinesteraz (AChE) adı verilen bir enzim tarafından metabolize edilir (Neely ve Kohli 2017). Merkezi sinir sisteminde ise ACh'nin hipokampal 6ğrenme ve bellek fonksiyonunda, bilhassa uzun s6reli potansiyelizasyonun (LTP) reg6lasyonunda rol6 bulunmaktadır. Dolayısıyla metabolik ACh bozuklukları bilişsel gerilemeye neden olabilmektedir. Aynı minvalde, kolinerjik n6ron kaybı ve kolinerjik transmisyonun AH'de izlenen bilişsel performans kaybıyla ilişkili olduğu d6ř6n6lmektedir. ACh'nin hidrolize olması AChE'ye bağlı olduğundan Alzheimer hastalığı semptomlarının AChE aktivitesinin inhibisyonu suretiyle hafifletilebileceği kabul edilmektedir (Ouyang ve ark. 2017). Kolin asetiltransferaz (ChAT), ACh sentezinden sorumlu bir enzim olup kolinerjik n6ronlar i7in kesin bir belirte7tir. Bu enzim aktivitesinin stim6lasyonu hem hipokampal hasara dayanan deneysel AH modelinde hem de senil hayvanların beyinlerinde ACh d6zeyini arttırmak suretiyle bilişsel fonksiyonu iyileştirmektedir (Shin ve ark. 2016, Frilling ve ark. 2017). N6ral vitalitenin korunması gayesiyle tedavi aracılarının keşfi hedefine d6n6k incelenen bir diğer aracı beyin kaynaklı n6rotrofik fakt6r'd6r (BDNF). BDNF, sinaptik plastisite, n6ronal sağ kalım ve farklılaşmanın ana d6zenleyicisidir. BDNF d6zeylerindeki azalma sinaptik plastisite ve LTP bozukluğu yoluyla bellek oluşumu ve konsolidasyonunu kısıtlamaktadır (Benussi ve ark. 2017).

Halk sağlığı bilincinin d6nya 7apında artmasıyla birlikte sağlık i7in birden fazla yarar sağlayan fonksiyonel besin talebi de artmıştır. *Salvia hispanica* L. veya daha yaygın adıyla "7iya" olarak bilinen bitkinin tohumu Orta ve G6ney Amerika'da geleneksel bir besindir (Luo ve ark. 2009). Bu antik tahıl pek 7ok modern toplumun beslenme rejiminde pop6lerlik kazanmıştır. İnsan i7in esansiyel omega-3 yağ asitlerinden olan alfa-linolenik asit (omega-3) a7ısından zengin i7eriği (toplam yağ i7eriğinin yaklaşık % 60'ı) 7iyanın besinsel değerini arttırmaktadır. 7iya, kardiyak ve hepatik koruyucu etkilerle yaşlanma karştıdır ve anti-kanserojenik 6zelliklere sahip olduğuna inanılan klorojenik asit, kafeik asit, mirisetin, kuersetin ve kaempferol gibi flavonoidlerin varlığı sayesinde değerli bir antioksidan kaynağıdır. 7iyanın antidiyabetik, antihiperlipidemik, antihipertansif, antienflamatuar, antioksidan, antikoag6lan, laksatif, antidepresan, anksiyolitik ve analjezik etkileri tıbbi kıymeti bulunan bitkiler arasında yer almasını sağlamaktadır (Mohd Ali ve

ark. 2012). Mevcut çalışmada, deneysel Alzheimer hastalığı modelinde çiya tohumunun bilişsel, duygudurumsal ve Alzheimer ilişkili moleküler parametreler üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu bağlamda, deneysel Alzheimer hastalığı modeli oluşturulması amacıyla deney hayvanlarına alüminyum klorür ($AlCl_3$) ve D-galaktoz (D-gal) çözeltisi enjeksiyonu gerçekleştirilmiştir. D-gal enjeksiyonu senilite benzeri bilişsel değişikliklerin indüklenmesi amacıyla Alzheimer hastalığı araştırmacıları tarafından yaygın şekilde tercih edilmektedir (Ullah ve ark. 2016). $AlCl_3$ uygulaması ise Alzheimer hastalığı fizyopatogenezinde izlenen amiloidopati, taupati ve kolinerjik iletim bozukluğu gibi patolojilerin deneysel şartlarda oluşturulmasını sağlaması nedeniyle kullanışlı bir non-transgenik model oluşturur. Mevcut çalışmada kullanıldığı üzere, $AlCl_3$ ve D-gal'ı birlikte içeren çözeltinin tatbiki Alzheimer hastalığı benzeri patolojiye ilaveten senilite benzeri nöral değişiklikleri birlikte sunması nedeniyle Alzheimer hastalığıyla ilişkili mekanizmaların araştırılması açısından uygun bir model teşkil eder (Zhang ve ark. 2005, Yang ve ark. 2014).

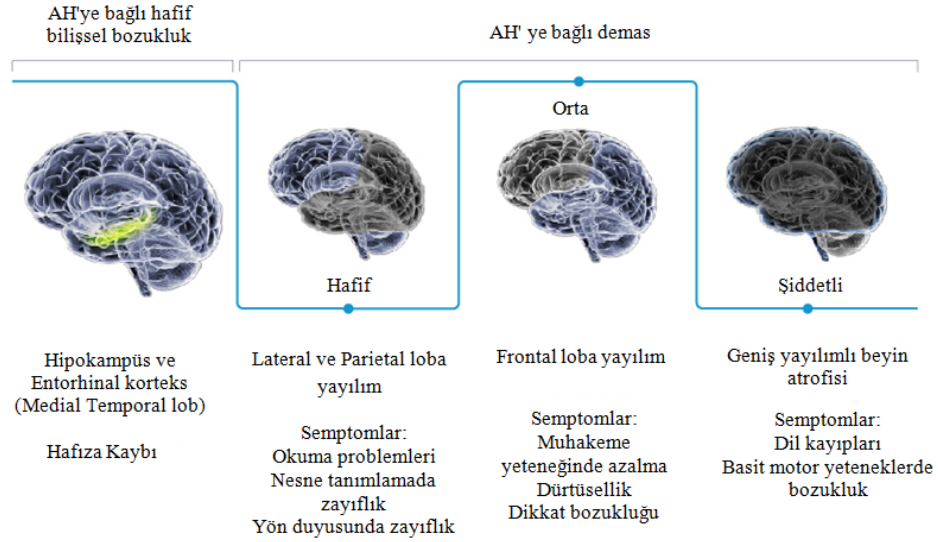
2.GENEL BİLGİLER

2.1. Alzheimer Hastalığı Tanımı

Alzheimer hastalığı (AH) merkezi sinir sisteminin dejeneratif demansının en yaygın şeklidir. Orta ve geç erişkinlik döneminde bilişsel işlevlerde ilerleyici bozulma ile karakterize olmakla birlikte ilk belirtiler tipik olarak belirli bellek ve dil kayıpları biçimindedir (Auld ve ark. 2002).

Klinik olarak AH ciddi bilişsel bozukluk, hafıza kaybı, anosmi, apraksi, anosognozi ve kişilik değişiklikleri (örneğin güvensizlik, saldırganlık gibi) ile karakterizedir (Hooijmans ve Kiliaan 2008).

Alzheimer hastalığı, demansın en yaygın nedenidir ve vakaların %60 ila %80'ini oluşturmaktadır. Otopsi çalışmaları, bu vakaların yaklaşık yarısının yalnızca Alzheimer patolojisini içerdiğini göstermekle birlikte kalan olguların çoğunda diğer demanslarla ilişkili ek patolojik değişiklikler izlenmektedir. Bu duruma “karışık patoloji” denilmektedir ve yaşam sırasında fark edilirse “karışık bunama” adını alır. Genellikle bu duruma sahip kişilerde gözlenen erken klinik semptomlar; ilgisizlik, depresyon ve son görüşmeleri, isimleri ve olayları hatırlamakta güçlük çekme şeklindedir. Sonraki semptomlar ise iletişim bozukluğu, oryantasyon bozukluğu, zihin bulanıklığı, davranış değişiklikleri ve en son aşamada konuşma, yutma ve yürüyüş zorluklarını içermektedir (Şekil 2.1) (Alzheimer's 2017).

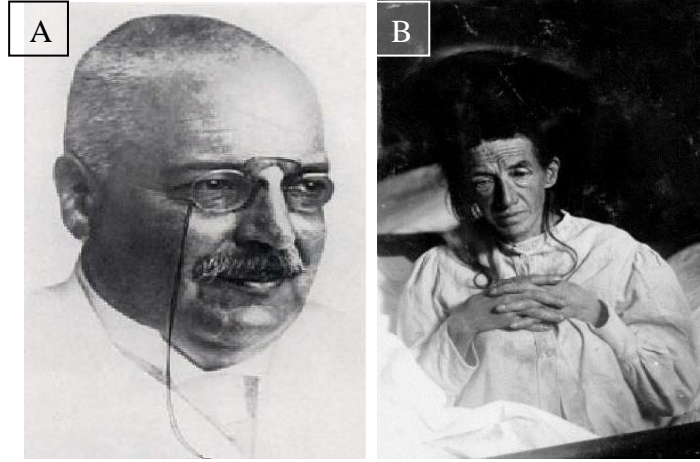


Şekil 2. 1. Alzheimer hastalığının yayılımı (<http://www.agenebio.com/pipeline/about-amci-and-alzheimers-dementia/>)

Alzheimer'in en belirgin patolojik özellikleri ekstranöral beta-amiloid ve intranöral tau protein birikimidir. Bu değişikliklerin sonunda nöron hasarı ve nihayetinde ölümü gerçekleşir (Alzheimer's 2017).

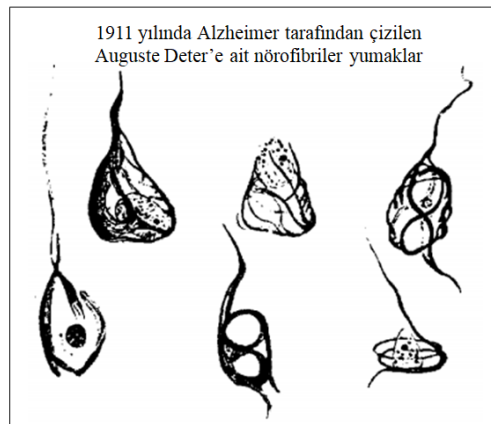
2.2. Alzheimer Hastalığı Tarihçesi

Alzheimer hastalığının tarihi serüveni 1906'da Alman nöropatolog ve psikiyatrist Alois Alzheimer (1864-1915) tarafından hazırlanan bir vaka raporuyla başlamaktadır (Şekil2.2) (Pantel 2017). Alois Alzheimer tanımladığı histopatolojik teknikler ve klinik psikiyatride ayırıcı tanı metodolojisine katkılarıyla tanınmıştır (Keuck 2017). AH başlangıçta nadir görülen bir presenil demans tipi olarak düşünülmüş ve 1970'li yıllara kadar net şekilde tanımlanamamıştır. Yeni araştırma yöntemlerinin gelişmesi, AH'nin yaşlılık demansı kavramıyla birleşmesini sağlamış ve AH araştırmalarında küresel artışa yol açmıştır (Pantel 2017).



Şekil 2. 2. A) Alois Alzheimer https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Alois_Alzheimer_003.jpg B) Auguste Deter Fotoğraf tarihi Kasım, 1902 (Yayıncı izniyle-Ek-2) (Maurer ve ark. 1997)

Alois Alzheimer'ın vaka raporuna konu olan 51 yaşındaki Auguste Deter, Alman hekimle tanıştıktan 4 sene sonra (1906) hayatını kaybetmiştir. Alzheimer, Auguste Deter'in beyin otopsisinde sayısız amiloid plak ve nörofibriller yumak bulmuştur (Şekil 2.3). Aynı yılın Kasım ayında Tübingen'deki 37. Güney Batı Alman Psikiyatrları Konferansı'nda Auguste'nin bulgularına ilişkin sunduğu ön vaka raporu pek ilgi görmemişse de Kraepelin'in 1910 tarihli, Psikiyatri El Kitabı'nın 8. baskısında ilk kez "Alzheimer Hastalığı" adıyla Auguste'nin sahip olduğu hastalıktan bahsedilmiştir (Ramirez-Bermudez 2012).



Şekil 2. 3. Nörofibriler yumaklar (Yayıncı izniyle, Ek-2) (Maurer ve ark. 1997)

2.3. Alzheimer Hastalığının Epidemiyolojisi

Alzheimer hastalığı, genellikle unutkanlık ile başlayan ilerleyici bilişsel gerileme ile karakterize bir hastalıktır. Tüm entelektüel işlevleri kaçınılmaz olarak etkilemekte, günlük faaliyetlerde tam bağımlılığa yol açabilmekte ve erken ölüme sonuçlanabilmektedir (Mayeux ve Stern 2012).

Alzheimer hastalığı, Batı toplumlarında demansın en sık nedenidir ve Amerika Birleşik Devletleri'nde yaklaşık 5,5 milyon kişiyi etkilemektedir. Dünya genelinde ise 24 milyondan fazla vaka bulunduğu tahmin edilmektedir. Dünya nüfusunun yaşlandığı göz önüne alındığında 2040 yılına kadar vaka sayısının iki katına çıkması beklenmektedir. AH insidansı 65 yaş sonrasında belirgin artış göstermektedir (Mayeux ve Stern 2012). Alzheimer hastalarının yaklaşık %40'ı evde bakıma ihtiyaç duymakta ve sağlık hizmetleri açısından büyük maddi yük oluşturmaktadır (Hooijmans ve Kiliaan 2008).

2.4. Alzheimer Hastalığının Tanı Kriterleri

Ulusal Nörolojik ve İletişimsel Bozukluklar ile İnme Enstitüsü (NINCDS) ve Alzheimer Hastalığı ve İlişkili Hastalıklar Derneği (ADRDA) kriterlerine göre AH'nin kesin tanısı klinik değerlendirme ve histolojik doğrulamayı içermektedir. Olası tanı ise histolojik doğrulama yapılmaksızın tipik veya atipik klinik özellikleri içermektedir. Bu sınıflandırmaya göre, klinisyenler AH'yi tipik olarak sosyal işlev ve günlük yaşam aktivitelerini bozan bilişsel ve nöropsikiyatrik değişikliklere ek karakteristik ilerleyici amnestik bozukluk ile izlenen klinik demans olarak adlandırmaktadırlar (Sarazin ve ark. 2012). NINCDS-ADRDA kriterlerine göre biyolojik araştırma (kan ve beyin omurilik sıvısı) ve nörogörüntüleme (bilgisayarlı tomografi taraması veya manyetik rezonans görüntüleme) demans sendromuna sebebiyet verebilen diğer faktörleri (örneğin; vasküler lezyonlar, tümörler, enfeksiyöz veya enflamatuvar süreçler) ayırt etmek için önerilmektedir (Sarazin ve ark. 2012).

Alzheimer hastalığının en belirgin özelliği bilişsel işlevde azalmadır. AH'nin erken dönemlerinde epizodik bellek için kritik alan olan medial temporal bölgede (hipokampal formasyon, parahipokampal girus ve entorinal korteks) nöropatolojik değişiklikler söz

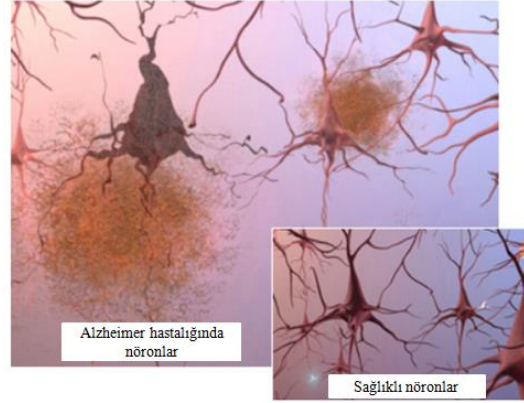
konusudur. Sonuç olarak AH'nin ilk ve güvenilir nöropsikolojik belirteci epizodik bellek bozukluğudur (Sarazin ve ark. 2012).

2.5. Alzheimer Hastalığının Fizyopatolojisi

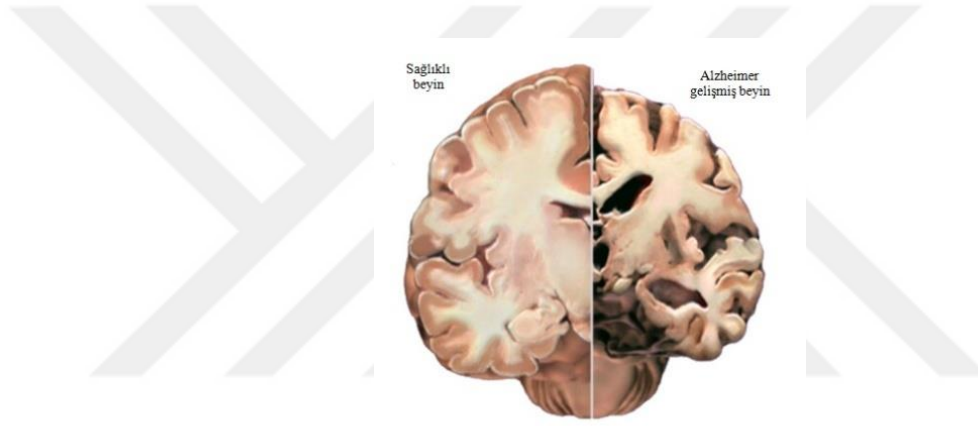
Sağlıklı bir yetişkin beyinde yaklaşık 86 milyar nöron vardır (Herculano-Houzel 2009). Bu nöronların her biri dallanmış uzantılar şeklindedir. Bu uzantılar bireysel nöronların diğer nöronlar ile bağlantı kurmasını sağlar. Sinapslar olarak adlandırılan bu tür bağlantılarda bilgi akışları, küçük kimyasal iletiler sayesinde bir nörondan diğer bir nörona salınır. Sinapslar, oluşan sinyallerin beyin nöronal devreleri boyunca hızla ilerlemesini sağlayarak anıların, düşüncelerin, hislerin, duyguların, hareketlerin ve becerilerin hücresel temelini oluştururlar (Alzheimer's 2017).

Alzheimer ile ilişkili en önemli fizyopatolojik değişiklikler ekstranöral beta-amiloid ve intranöral tau protein birikimidir. Beta-amiloid plakların nöronlar arası iletişimi bozarak hücre ölümüne sebebiyet verdiği, tau yumaklarının ise hücre içi taşımayı bloke ettiği düşünülmektedir (Alzheimer's 2017).

Alzheimer hastalığında, özellikle hipokampusta görülen nöronal kayıp, nörodejenerasyon süreciyle yakından ilişkili görünmektedir (Şekil 2.4) (Cao ve ark. 2017). AH'de aynı zamanda talamusta çok miktarda amiloid birikimi meydana gelmektedir. Bu tutulumun limbik devreler yoluyla bilgi aktarımını engellediği düşünülmektedir (Braak ve Braak 1991). Genetik ve çevresel faktörler ile birlikte yaşlılık APP'nin amiloidojenik metabolizasyonuna katkıda bulunur (De-Paula ve ark. 2012). İlerlemiş AH'si olan insanların beyinlerinde enflamasyon ve hücre ölümüne bağlı hacim kaybı izlenir (Şekil 2.5). Alzheimer ilişkili beyin değişiklikleri semptomlar ortaya çıkmadan 20 yıl veya daha uzun süre öncesinden başlayabilmektedir. Erken dönemde gerçekleşen nöronal değişiklikler bireylerin yaşam kalitesinde belirgin bozulmaya sebep olmazken nöronal hasar arttıkça bilişsel gerileme gözlenir. Nöronal hasar hafıza kaybı, yer ve zaman karışıklıkları gibi belirtiler ile kendisini gösterir. Hastalığın ilerleyen dönemlerinde yutma gibi temel bedensel fonksiyonlar bozulur ve en nihayetinde ölümle sonuçlanır (Alzheimer's 2017).



Şekil 2. 4. Nöronların mikroskop görüntüsü (https://www.alz.org/braintour/plaques_tangles.asp)



Şekil 2. 5. Alzheimer hastalığında beyinde gözlenen değişiklikler (https://www.alz.org/braintour/healthy_vs_alzheimers.asp)

Amiloid prekürsör proteinin (APP) bozulmuş proteolizi neticesinde gelişen kontrolsüz beta-amiloid üretimi Alzheimer hastalığının “amiloid hipotezi” olarak bilinir (De-Paula ve ark. 2012).

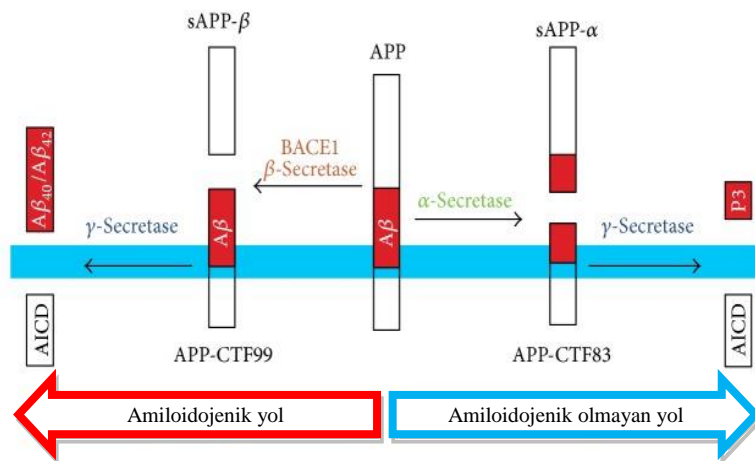
Fizyolojik koşullarda beta-amiloid nöral fonksiyonları düzenleyen bir proteindir. Beta-amiloid sentezinin deneysel olarak durdurulması nöral ölümle sonuçlanır (Pearson ve Peers 2006). Düşük miktarları kolonerjik iletiyi destekleyerek öğrenme ve belleği güçlendirir (Morley ve ark. 2010). Dolayısıyla nöroenflamasyona, sinaptik iletimin bozulmasına ve oksidatif strese yol açan beta-amiloidin varlığı değil kontrolsüz şekilde üretilmesidir (Bane ve Cole 2015). Birbirleriyle ilişkileri henüz net şekilde aydınlatılmamış olmasına karşın tau proteini birikimi (nörofibriler yumaklar) beta-amiloide kıyasla nörodejenerasyonun daha güçlü belirteçleridir. Aynen beta-amiloid gibi esasında fizyolojik

görevi bulunan tau protein (mikrotübül ilişkili protein) hatalı katlanarak birikime uğrar ve APP'nin amiloidojenik proteolizini hızlandırır. Nihayetinde beta-amiloid ve tau birikimi birbirlerinin varlığını destekleyen bir döngü oluştururlar (Bloom 2014).

2.5.1. Amiloid Plakları ve Nörofibriller Yumaklar

1906'da amiloid plaklar ilk defa tanımlandıktan sonra 80'li yıllarda plakların, A β adı verilen 0,8 nm'lik proteolitik fragmanlardan oluştuğu keşfedildi. 1980'lerin sonunda ise Alzheimer tarafından tanımlanan ikinci lezyonun yani nörofibriller yumakların özellikle aksonal tutulum gösteren hiperfosforile tau proteini agregatlarından oluştuğu fark edildi (Hooijmans ve Kiliaan 2008).

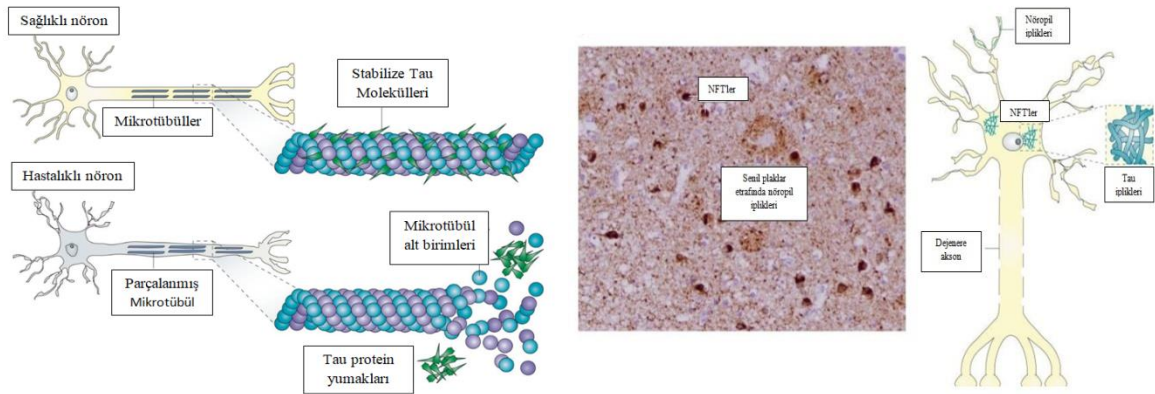
Amiloid plakların temel bileşeni olan A β , APP'nin parçalanması sonucu oluşan 36-43 amino asitlik bir proteindir (Sennvik ve ark. 2000). α -, β - ve γ -sekretaz olarak adlandırılan proteazlar tarafından farklı APP deriveleri üretilir (Hooper ve ark. 1997). α -sekretaz aktivitesiyle oluşturulan "solubl APP- α " (sAPP α) nöroprotektif özelliğe sahipken β -sekretaz aktivitesiyle oluşturulan sAPP β 'nin sinaptik budamaya (pruning) katkısıyla santral ve periferel nörogenezde rolü olduğu bilinmektedir. γ -sekretaz aktivitesi ise AH ile ilişkili APP fragmanı olan A β 'nin oluşumundan sorumludur (Şekil 2.6) (Sennvik ve ark. 2000).



Şekil 2. 6. Amiloid plakların oluşumu (Pajak ve ark. 2016)

A β 'nin iki ana formu sırasıyla 40 ve 42 amino asit uzunluğundaki peptidlere karşılık gelen A β (1-40) ve A β (1-42)'dir. A β (1-40) erken sekretuar ve endositik hücresel yollarda sentezlenirken, A β (1-42) esas olarak sekretuar yolda üretilir. Bu peptidler amiloid plakları üretmek üzere çözünmeyen fibriller halinde toplanır. Daha hidrofobik olması nedeniyle A β (1-42)'nin amiloidojenik potansiyeli daha fazladır (Martins ve ark. 2006).

Nörofibriler değişikliklerin derecesi AH'deki demansın şiddeti ile korelasyon gösterir (Uematsu ve ark. 2018). NFT'lerin ana bileşeni hiperfosforile tau proteinleridir. Bu birikim mikrotübüllerin stabilize edilmesini ve aksonal taşınmayı bozar (Frozza ve ark. 2018). Mikrotübüller, nöronların uzun aksonal projeksiyonları boyunca hücresel yüklerin taşınmasını sağlar. AH'de izlenen taupati mikrotübül instabilitesine ve böylece bozulmuş aksonal transport ile sonuçlanır (Şekil 2.7) (Brunden ve ark. 2009).



Şekil 2. 7. Sağlıklı ve hastalıklı nöronlarda Tau proteini (Brunden ve ark. 2009)

2.6. Alzheimer Hastalığının Tedavisi

Günümüzde AH için tam kür sağlayan onaylanmış bir tedavi yöntemi bulunmamaktadır. Mevcut tedaviler hastalığın ilerleyişini yavaşlatmayı hedeflemektedir. Tedaviyle demansın bir aşamasından diğerine geçiş 6 ile 12 ay kadar geciktirilebilmektedir. Günümüzde kullanılan AH ilaçları AChE inhibitörleri ve N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptör antagonisti olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır (Bane ve Cole 2015).

2.6.1. Asetilkolinesteraz İnhibitörleri

Alzheimer hastalığında beyinde ACh nörotransmitteri azalmaktadır. AChE inhibitörü ilaçların amacı, ACh parçalanmasını yavaşlatmaktır (Bane ve Cole 2015). AChE inhibitörleri, AChE'nin tersinir bağlanma suretiyle etkisiz hale getirilmesi ile etkinlik gösterir ve sonuç olarak asetilkolinin sinaptik aralıkta kaldığı süreyi artırır. FDA (Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi) onaylı üç AChE inhibitörü vardır. Bunlar; donepezil, rivastigmin ve galantamin'dir (Çizelge 2.1) (Kim ve Factora 2018). Onaylanmış ilk AChE inhibitörü olan Takrin, şiddetli hepatik toksisite raporlarından sonra piyasadan çekilmiştir (Kim ve Factora 2018).

Çizelge 2. 1. Asetilkolinesteraz inhibitörlerinin endikasyon durumu (Bane ve Cole 2015)

Asetilkolinesteraz İnhibitörlerinin Endikasyon Durumu			
	Hafif AH	Orta AH	Şiddetli AH
Donepezil	✓	✓	✓
Rivastigmin	✓	✓	-
Galantamin	✓	✓	-

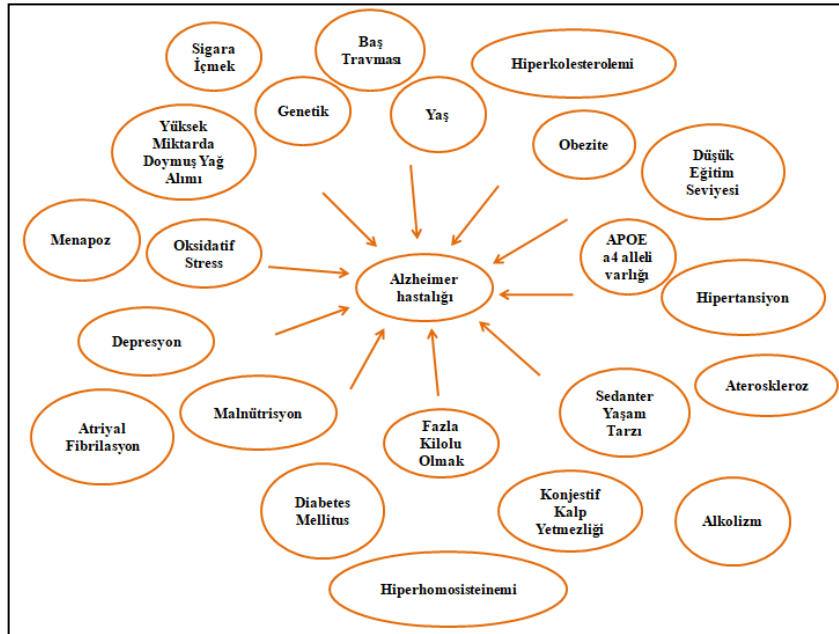
AChE inhibitörlerinin kognitif fonksiyonları iyileştirmedeki klinik etkinliği, çeşitli randomize kontrollü çalışmalarda gösterilmiştir. Bu ilaç grubunun gösterdiği fayda genellikle sınırlıdır (Kim ve Factora 2018).

2.6.2. N-Metil-D-Aspartat Reseptör (NMDA) Antagonisti

Memantin, günümüzde AH tedavisinde FDA onaylı yegane NMDA antagonisti ilaçtır. Nöronal kalsiyum iyon akışını ve böylece eksitotoksisiteyi azaltarak etki eder. Memantin, orta ve şiddetli Alzheimer hastalığında endikedir (Bane ve Cole 2015, Kim ve Factora 2018).

2.7. Alzheimer Hastalığının Risk Faktörleri

Yaş, genetik, hiperkolesterolemi, hipertansiyon (Bane ve Cole 2015), obezite (Kivipelto ve ark. 2005, Bane ve Cole 2015), fazla kilolu olmak (Gunstad ve ark. 2007, Hooijmans ve Kiliaan 2008), oksidatif stress, malnütrisyon (Von Arnim ve ark. 2010), hiperhomosisteinemi (Seshadri ve ark. 2002, Hooijmans ve Kiliaan 2008, Von Arnim ve ark. 2010), diabetes mellitus, sedanter yaşam tarzı, APOE a4 alleli varlığı (Martins ve ark. 2006, Hooijmans ve Kiliaan 2008), konjestif kalp yetmezliği (Breteler 2000, Hooijmans ve Kiliaan 2008), yüksek doymuş yağ alımı (Kalmijn ve ark. 1997, Hooijmans ve Kiliaan 2008), depresyon (Potter ve Steffens 2007, Hooijmans ve Kiliaan 2008), sigara içmek (Kivipelto ve ark. 2005, Hooijmans ve Kiliaan 2008), baş travması, menopoz, düşük eğitim seviyesi, atriyal fibrilasyon, ateroskleroz, alkolizm AH'nin risk faktörleri arasında yer almaktadır (Şekil 2.8) (Hooijmans ve Kiliaan 2008). AH için etkili tedavilerin olmayışı ve bu hastalığın yüksek maliyeti nedeniyle, birincil korunma son derece önemlidir (Bane ve Cole 2015).



Şekil 2. 8. Alzheimer hastalığının risk faktörleri

Hiperkolesterolemi, artmış beta-amiloid üretimi ve birikimiyle bağlantılıdır ve kolesterol seviyelerinde düşüş sağlandığında A β birikiminin azaldığı gösterilmiştir (Bane ve Cole 2015).

Tip 2 diyabetes mellitus'un AH dahil olmak üzere demans riskini artırdığı bildirilmiştir. Bozulmuş insülin sinyalizasyonunun, AH'de nörodejenerasyona katkıda bulunabileceğini düşünülmektedir (Liu ve ark. 2011).

Alzheimer hastalığında beyindeki normal glikoz metabolizması bozulur. Bu bozulmanın fizyopatolojik temelleri tam olarak anlaşılmamasına rağmen diyabetle ortaya çıkan anormal insülin sinyalizasyonunun AH'de izlenen taupati ile bağlantılı olduğu düşünülmektedir (Bane ve Cole 2015).

Ateroskleroz, orta büyük arterleri etkiler ve benzer hastalık süreçleri de beyin daha küçük arterlerini etkileyebilir. Dolaşımdaki lipidler ve lipoproteinler serebral vaskülatür ile etkileşime girerek vasküler endotel hücreler ve nörovasküler ünitenin bileşenleri olan astrositler üzerinde önemli etkilere sebep olabilir (Altman ve Rutledge 2010).

Periferik ve kardiyak vasküler endoteli ilgilendiren hastalıkların hasar verici özellikleri nörovasküler sistem içinde geçerlidir. Hassas nöronları etkileyen aterosklerotik hastalıkların önlenmesi AH gelişme riskini azalttığı için önem arz etmektedir (Bane ve Cole 2015).

Alzheimer hastalığında çevresel faktörlerin etkisi birçok çalışmanın odak noktası olmuştur. Amerika Birleşik Devletleri ve Batı Avrupa'ya (2500-3000 kalori/gün) kıyasla daha düşük miktarda yağ ve kalori alımına sahip olan Çin, Japonya ve Nijerya (1600-2000 kalori/gün) gibi ülkelerde AH insidansının yaklaşık %50 oranında daha düşük olduğu saptanmıştır (Steele ve ark. 2007). Bu ülkelerdeki yaşam süreleri de dikkate alındığında tek başına yaşam süresinin etken olmadığı açıktır (Muramatsu ve Akiyama 2011).

Alzheimer hastalığına sebep olan risk faktörlerinin bir kısmı beslenme stratejileri ile önlenir. Hiperkolesterolemi, hipertansiyon, aterosklerotik hastalıklar, obezite ve diyabet için güncel uygulama kılavuzları, hastalıkların önlenmesi ve tedavisinin bir parçası olarak beslenme için büyük destek sağlamaktadır (Bane ve Cole 2015).

2.8. Alzheimer Hastalığı ve Beslenme

Beslenme risk faktörlerini azaltarak AH'nin önlenmesinde rol oynar. Sağlıklı beslenmeyle AH için potansiyel risk oluşturan faktörlerin ve A β üretim/birikiminin azaltılması sağlanarak bilişsel işlevler ve hafızanın korunmasına yardımcı olunabilir. Beslenme yoluyla vitamin eksikliklerini ve oksidatif stresi önleyerek, vasküler ve nöronal koruma sağlamak uygun bir koruyucu tedavi yöntemidir (Bane ve Cole 2015).

Zhuo ve Pratico'nun 2010 tarihli transgenik AH modeli uyguladıkları çalışmalarında folat, B6 ve B12'den yoksun bir diyetin farelerde hiperhomosisteinemiye yol açtığı ve amiloid beta düzeylerinde belirgin artışa sebep olduğu rapor edilmiştir (Zhuo ve Pratico 2010).

Alzheimer hastalığıyla birlikte diğer nörodejeneratif hastalıkların önlenmesi açısından yeterli miktarda yağlı balık (omega-3 yağ asitlerinden zengindir), taze meyve ve sebze tüketiminin önemi vurgulanmaktadır (Bane ve Cole 2015). Omega-3 yağ asitleri; glutatyon peroksidaz, katalaz ve süperoksit dismutaz gibi endojen antioksidan enzimlerin aktivitesini arttırarak serbest radikallerin etkisini zayıflatır, serbest radikallere karşı direnci arttırır ve lipid peroksidasyonunu azaltır (Erdogan ve ark. 2004, Steele ve ark. 2007).

Çoklu doymamış omega-3 yağ asitleri olan, EPA (eikosapentaenoik asit) ve DHA'nın (dokosaheksanoik asit) anti-inflamatuar, antioksidan özellikleriyle AH'de faydalı olabileceği düşünülmektedir (Altman ve Rutledge 2010).

Diyet ile alınan omega-3 yağ asitlerinin zar akışkanlığındaki rolleri nedeniyle amiloid prekürsör proteinin işlenmesinde görev alan sekretaz enzimlerinin aktivitesini değiştirebilecekleri ön görülmektedir (Kamphuis ve Wurtman 2009). Lim ve ark. APP transgenik farelerde diyetle DHA takviyesi gerçekleştirdikleri çalışmalarında hipokampus ve paryetal kortekste amiloid plak yükünün %40 oranında azaldığı ve aynı zamanda hipokampüste aktive edilmiş mikroglia sayısının düştüğü rapor edilmiştir (Lim ve ark. 2005).

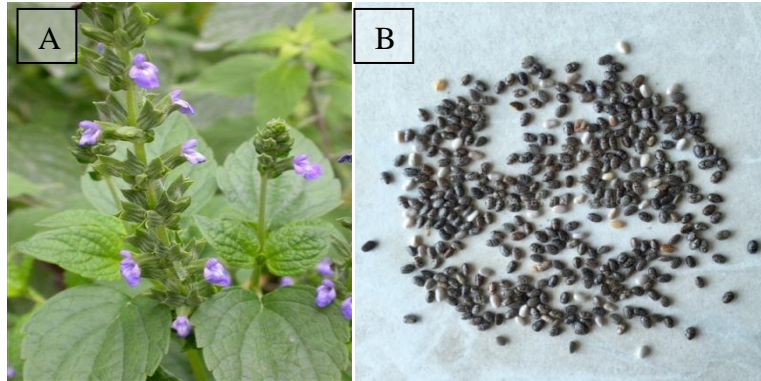
Öğrenme ve hafıza, sinaptik sonlanmanın amoeboid hareketleriyle ilişkilidir. DHA, sinaptik teminallerin önemli bir lipit bileşenidir. Fosfolipid membranların akışkanlığındaki küçük değişiklikler, membran akışkanlığının nörotransmitter reseptör aktivitesini etkileyebilmesi sebebiyle sinaptik fonksiyon üzerinde önemli etkiye sahiptir. AH'den

etkilenen hastaların beyin ve plazmasında DHA içeriğinin azaldığı gösterilmiştir. DHA'nın besinlerle yeterli miktarda alınması AH'nin ilerlemesini yavaşlatabilir (Pomponi ve ark. 2008).

Kanıtlar AH'yi önlemek adına makro ve mikro besin öğelerinden, antioksidandan ve omega-3 yağ asitlerinden zengin olan Akdeniz tipi beslenmeyi önermektedir. Bu doğrultuda yağlı balık, tam tahıl ürünleri, taze sebze ve meyve tüketimi öngörülmektedir (Bane ve Cole 2015).

2.9. Çiya Tohumu

Çiya (*Salvia hispanica* L.), tropik ve subtropikal iklimlerde yetişen, Güney Meksika ve Kuzey Guatemala menşeli “Lamiaceae” ailesine ait yıllık otsu bir bitkidir (Ixtaina ve ark. 2008, Imran ve ark. 2016). Bitkinin optimum gelişimi için ılıman iklim, yüksek yağış ve 15-30 °C sıcaklıklar gerekmektedir. Bitkinin maksimum yüksekliği 1 m'dir. Zıt yaprakları vardır. Bunlar 4-8 cm uzunluğunda ve 3-6 cm genişliğindedir (Marcinek ve Krejpcio 2017). Bitkinin tohumları sonbaharda olgunlaşır (Coates 1996). Çiçekler mor veya beyaz renkte olup 3-4 mm boyundadır ve sürgünlerin üstünde toplanırlar. Çiya tohumları yaklaşık 2 mm uzunluğunda, 1-1.4 mm genişliğinde ve 0.8-1 mm çapında olup beyaz, kırmızımsı, gri, siyah veya koyu kahverengi renkte oval şekillidir (Şekil 2.9). Tadları nötrdür (Ixtaina ve ark. 2008, Mohd Ali ve ark. 2012, Imran ve ark. 2016). “Çiya” kelimesi, Aztek dilinde (Náhuatl) “yağlı” anlamına gelmektedir (Marcinek ve Krejpcio 2017).



Şekil 2. 9. A) Çiya bitkisi (*Salvia hispanica* L.) <http://www.robinssalvias.com/h.htm> B) Çiya tohumu

5.500 yıldan uzun bir süredir bilinmekte olan çiya tohumu yüksek besleyiciliğe ve terapötik potansiyele sahiptir (Marcinek ve Krejpcio 2017).

Çiya tohumları, çoğu omega-3 alfa-linolenik asit ve omega-6 alfa-linoleik asit gibi çoklu doymamış yağ asitleri formunda olan %25-40 yağ içerir (Mohd Ali ve ark. 2012). Desaturasyon ve uzama işlemlerinin bir sonucu olarak bu asitler eikosapentaenoik asit (EPA) ve dokosaheksaenoik asit (DHA) gibi uzun zincirli polienoik asitlere dönüştürülür. Dolayısıyla çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) olan omega-3 için iyi bir kaynaktır ve çözünebilir lif açısından zengindir (Marcinek ve Krejpcio 2017). Bugüne kadar bilinen diğer doğal kaynaklara kıyasla en yüksek omega-3 oranını (~% 60) içermektedir (Coates 1996, Ixtaina ve ark. 2008). Ayrıca önemli miktarda fitoprotein ve fitokimyasal madde içerir (Marcinek ve Krejpcio 2017).

Buğday (*Triticum aestivum* L.), mısır (*Zea mays* L.), pirinç (*Oryza sativa* L.), yulaf gibi geleneksel hububatlarla kıyasla daha yüksek protein seviyelerine sahiptir (Ixtaina ve ark. 2008). Çiya tohumunun diyeteye eklenmesi plazma EPA ve DHA düzeylerini artırır (Vuksan ve ark. 2007, Jin ve ark. 2012)

Çiya tohumu B vitaminlerinden; tiamin (0.62 mg / 100 g), riboflavin (0.17 mg / 100 g), niacin (883 mg / 100 g) ve folik asit (49 mg / 100 g) içerir. Minerallerden ise kalsiyum, fosfor, potasyum, magnezyum, demir, çinko ve selenyum barındırır (Çizelge 2.2) (Marcinek ve Krejpcio 2017).

Antioksidanlardan; polifenoller, klorojenik asiti, kafeik asiti, rosmarinik asit, myricetin, tokoferol kuersetini ve kaempferolu içerir. Çoklu doymamış yağ asitleri, bitkisel protein, diyet lifi, vitamin, mineral ve biyoaktif bileşenler açısından zengin çiya tohumunun terapötik özelliklerini kanıtlamak için birçok çalışma bulunmaktadır (Ixtaina ve ark. 2011, Martinez-Cruz ve Paredes-Lopez 2014, Marcinek ve Krejpcio 2017)

Çizelge 2. 2. Öğütülmüş çiya tohumunun besin değeri (Jin ve ark. 2012)

Enerji ve Besin Öğeleri	Birimler	Miktar (100 gr)
Su	g	4.43
Enerji	kcal	562
Protein	g	24.2
Total lipit (yağ)	g	40.2
Kül	g	4.77

Çizelge 2. 3. Devam 100 gr öğütülmüş çiya tohumunun besin değeri (Jin ve ark. 2012)

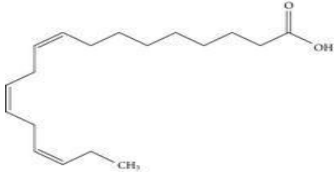

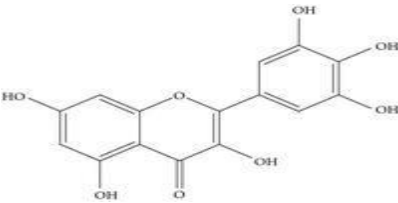
Karbonhidrat	g	26.9
Lif	g	30.2
Mineraller		
Kalsiyum	mg	456
Fosfor	mg	919
Potasyum	mg	726
Sodyum	mg	0.26
Çinko	mg	6.47
Bakır	mg	1.86
Manganez	mg	3.79
Demir	mg	9.18
Sülfür	mg	304
Magnezyum	mg	449
Selenyum	mg	0.04
Lipitler		
Total doymuş yağ asitleri	g	5.00
Total tekli doymamış yağ asitleri	g	2.96
Total çoklu doymamış yağ miktarları	g	22.8
18:2 linoleik	g	6.16
18:3 alfa-linolenik	g	16.4
Polifenoller		
Protokateşik asit	µg	87.1
Gallik asit	µg	5.05
Epikateşin	µg	2.90
Kaempferol	µg	1.30
Kaempferol 3-O-glucoside	µg	2.88
Rutin	µg	22.3
p-Kumarik asit	µg	23.9
Apigenin	µg	0.56

Doymuş yağ asitlerinin (palmitik ve stearik asitler) düşük içeriği, linoleik asitlerin yeterli konsantrasyonu (% 18-20) ve daha yüksek alfa-linolenik yağ asiti içeriği (% 55-60), çiyayı esansiyel yağlar açısından değerli kılmakta ve sağlıklı besin olarak tercih

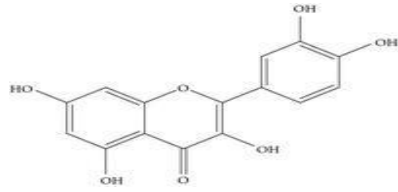
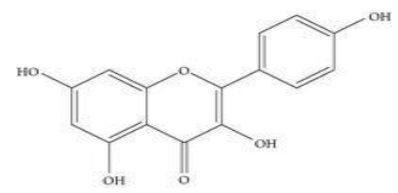
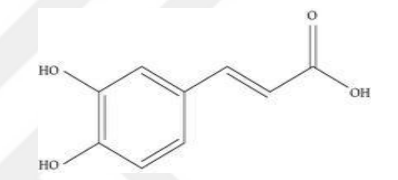
edilebilirliğini artırmaktadır (Imran ve ark. 2016). Omega-3 yağ asitleri antitrombotik, antiinflamatuvar, antiaritmik ve plak stabilizasyonunu sağlayıcı etkilerinin yanı sıra özellikle de fetüs ve bebeğin gelişimi açısından esansiyel rol oynamaktadır (Galli ve Marangoni 2006).

Çiya tohumlarının içerdiği biyokimyasal bileşenler (Çizelge 2.3) sayesinde serum lipid düzeylerini koruduğu ve tokluk indeksini arttırdığı bildirilmiştir. Bu özelliklerin yanı sıra inflamasyon, diyabetes mellitus ve sinir sistemi bozuklukları gibi patolojileri önlemeye yardımcı olduğu bildirmiştir (Guevara-Cruz ve ark. 2012, Jin ve ark. 2012, Imran ve ark. 2016). Ayrıca çiya tohumu; antioksidan, hipotansif, antineoplastik, laksatif ve analjezik özellikler gösterdiği gibi kardiyovasküler sistemi korumakta ve lipid metabolizmasını düzenlemektedir. Yüksek besin değeri sayesinde atletlerin performansını arttırabilmektedir (Vuksan ve ark. 2007, Brenna ve ark. 2009, Chicco ve ark. 2009, Ulbricht ve ark. 2009, Marcinek ve Krejpcio 2017).

Çizelge 2. 4. Çiya Tohumunda tanımlanan aktif bileşikler ve kimyasal yapıları (Mohd Ali ve ark. 2012)

Çiya Tohumundaki Aktif Bileşenler	Kimyasal Yapısı
Omega-3 alfa-linolenik asit; n-3 ALA (18: 3) (PUFA yağ asitleri)	
Omega-6 linoleik asit; n-6 LA (18: 2) (PUFA yağ asitleri)	
Mirisetin (flavonoller ve fenolik asitler)	

Çizelge 2. 5. Devam Çiya Tohumunda tanımlanan aktif bileşikler ve kimyasal yapıları (Mohd Ali ve ark. 2012)

<p>Kuersetin (flavonoller ve fenolik asitler)</p>	
<p>Kaempferol (flavonoller ve fenolik asitler)</p>	
<p>Kafeik asit (flavonoller ve fenolik asitler)</p>	

2.10. Asetilkolinesteraz

Serin amino asitinin hidrolazı olan AChE, üstün hidrolizasyon yeteneği sayesinde kolinerjik sistemdeki sinyal iletiminin sonlandırılmasından sorumludur. Substratı olan ACh kolinerjik sistemin nörotransmitteridir ve bellek oluşumunda rol oynayan nöronlar üzerinde baskın bir etkiye sahiptir. Bu nedenle AChE'ye spesifik inhibitörler kullanılarak enzim aktivitesini azaltmak suretiyle Alzheimer hastalığında yavaşlama ve kısmi semptomatik iyileşme sağlayabilmektedir (Khan ve ark. 2018).

Substantia nigra, serebellum, globus pallidus ve hipotalamus gibi bazı beyin bölgelerinde az miktarda kolinerjik sinaps ve düşük düzeyde ChAT bulunurken AChE seviyeleri yüksektir. Serebellar korteks içerisinde, özellikle erken serebellar gelişim sırasında AChE seviyeleri yüksek iken ACh ve ChAT miktarı çok azdır ve kolinerjik iletim için yeterli elektrofizyolojik yanıt yoktur. Substantia nigra'da AChE, nonkolinerjik dopaminerjik nöronların dendritlerinden salgılanır (Grisaru ve ark. 1999).

Asetilkolinesteraz esas olarak beyinde, kaslarda, eritrositlerde ve kolinerjik nöronlarda bulunan membrana bağlı bir enzimdir. Kolinerjik sinapslarda nörotransmitter ACh'yi hidrolize ederek çeşitli fizyolojik olayların düzenlenmesinde önemli bir rol oynar (Ahmed ve ark. 2006, Kaizer ve ark. 2008). Sağlıklı bir beyinde AChE baskındır. AChE seviyelerinde meydana gelen değişikliklerin birçok nörodejeneratif hastalık ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Grisaru ve ark. 1999). AH'de AChE aktivitesi değişmez veya azalır. Bu nedenle AChE'yi inhibe eden ilaçlar potansiyel terapötik faydalara sahiptir (Ahmed ve ark. 2006).

2.11. Kolin Asetiltransferaz

Asetilkolinin biyosentezinden sorumlu enzim olan kolin asetiltransferaz (ChAT), santral ve periferik sinir sistemlerinde kolinerjik nöronların fonksiyonel durumunu izlemek için kullanılan en spesifik göstergedir (Oda 1999). Hipokampal ChAT'ın artmış ekspresyon ve aktivitesi hipokampus tabanlı öğrenme ve hafıza görevlerinde daha iyi performans ile ilişkilidir (Hawley ve ark. 2015). ChAT'ı eksprese eden nöronlar kolinerjik nöronlar olarak adlandırılır. AH'de azalmış ChAT ekspresyonu ve aktivitesi olduğu gözlenmiştir. Bu nedenle ChAT, AH ve diğer nörodejeneratif demans hastalıklarının erken tespiti için önemli bir biyobelirteç olarak görülmektedir (Kumar ve ark. 2017).

2.12. Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör

Beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF), merkezi sinir sisteminin çeşitli yapılarında farklı görevler üstlenen nörotrofinler ailesinin önemli bir üyesidir. BDNF, prenatal dönemde nöronal ağ oluşumunun tüm aşamalarında yer alır. Postnatal dönemde ise temel olarak nöroprotektif fonksiyonlarda etkindir ve nörogenez sürecine katkı sağlamaktadır. BDNF, öğrenme ve bellek organizasyonu ile motor davranışlarda önemli rol oynamaktadır. Hücresel sağ kalım ve sinirsel gelişimdeki öneminin yanı sıra sinaptik plastisitenin moleküler mekanizmaları için de elzem görülmektedir. BDNF, aktiviteye bağlı sinaptik plastisiteyle ilişkili olduğu için öğrenme ve bellek üzerinde etkin bir role sahiptir. Özellikle hipokampus ve neokortekste sinaptik iletimin BDNF modifikasyonuna bağlı olduğu düşünülmektedir (Binder ve Scharfman 2004).

Beyindeki ekspresyonu yaşla ilintili olup dejeneratif ve vasküler demans, anksiyete ve afektif bozukluklar gibi durumlarda azalmaktadır. Azalmış BDNF plazma seviyeleri serebral ekspresyondaki azalmayı yansıtır ve bu durum patolojik süreçlerin nörobiyolojik bir belirteci olarak kullanılabilir. Tam aksine, artmış konsantrasyonu ise tedavi etkinliğini gösterebilir (Levada ve Cherednichenko 2015).

2.13. Alzheimer Hastalığı ve Alüminyum İlişkisi

Alüminyum (Al) yeryüzünde en fazla bulunan üçüncü elementtir ve içme suları, gıdalar, farmasötikler, aşılar gibi yollarla insan vücuduna girer (Willhite ve ark. 2014). Al güçlü bir nörotoksiktir (Flaten ve ark. 1996). İlk kez hemodiyaliz hastalarında nörodejeneratif sendroma (dializ ensefalopatisi) yol açmasıyla tanımlanmıştır. (Yokel ve O'Callaghan 1998). Al kan beyin bariyerini geçebilir ve başlıca hipokampal bölgelerde birikebilir. Epidemiyolojik olarak, kronik alüminyum maruziyetinin kognitif bozukluk ve nörolojik toksisite ile sonuçlandığı ve insanlarda bilişsel bozukluğa yol açtığı bildirilmektedir. Uzun süreli alüminyum maruziyetinin hafıza bozukluğu ve lokomotor bozukluklara neden olabileceği de gösterilmiştir (Ravi ve ark. 2018). Ayrıca AH'nin etiyolojisine katkıda bulunuyor olabileceği düşünülmektedir (Yokel ve O'Callaghan 1998). Al maruziyeti merkezi sinir sisteminde kolinerjik disfonksiyon ile ilişkilendirilmiştir. Al'nin, AH'ye sahip bireylerin beyinlerindeki senil plaklar ve nörofibriler yumaklarda ve kolinerjik alanlarda bol miktarda bulunduğu tespit edilmiştir. İlâveten uzun süreli alüminyum maruziyetinin serebellum, hipokampus ve serebral kortekste AChE aktivitesini anlamlı düzeyde azalttığı saptanmıştır (Kaizer ve ark. 2008).

Alüminyum AH hayvan modeli oluşturmak için kullanılmaktadır. AH'de senil plakların oluştuğu beyin bölgelerinde yüksek düzeyde Al tespit edilmektedir. Klinik raporlar yaşlanma ve bazı nöropatolojiler sırasında alüminyum emiliminde artış olduğunu ve vücutta alüminyum biriktiğini göstermiştir (Kaizer ve ark. 2008).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

“Deneysel Alzheimer Hastalığı Modelinde Çiya (*Salvia Hispanica* L.) Tohumunun Etkisi” başlıklı çalışmanın Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulu'ndan onayı alındı (2017/4-1 değ. 2018/6-3 numaralı karar. Ek-1).

3.1. Deney Grupları ve Çalışma Planı

Standart laboratuvar koşullarında ($22\pm 2^{\circ}\text{C}$, $\%55\pm 10$ bağıl nem), 12:12 saat (aydınlık:karanlık döngüsü) tutulan 46 adet erişkin erkek Wistar albino cinsi sıçan kontrol (Kont), Alzheimer grubu (Alz), ön tedavi grubu (Ön Tdv) ve tedavi grubu (Tdv) olmak üzere rastgele şekilde 4 gruba ayrıldı. Kontrol grubundakiler 5'erli kafeslere konulurken Alzheimer, ön tedavi ve tedavi grubundakiler 4'erli kafeslere konuldu (Şekil 3.1). Bütün sıçanlara çalışma başlangıcında, sonunda ve her hafta başında ağırlık ölçümü yapıldı. Madde uygulamaları ve davranış deneyleeri her gün aynı zaman diliminde yapıldı.



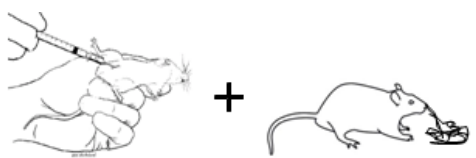
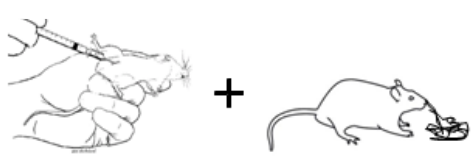
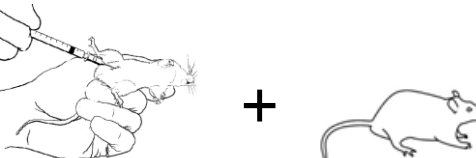
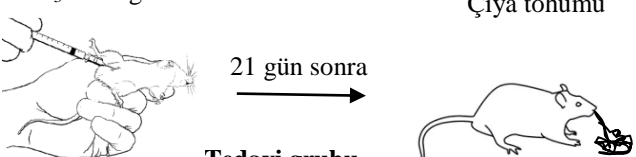
Şekil 3. 1. Gruplandırılmış hayvanlar

1. Kontrol grubu (Kont; n=10): 21 gün boyunca intraperitoneal salin solüsyonu uygulandı ve standart sıçan yemi ile beslendi.
2. Alzheimer grubu (Alz; n=12): 21 gün boyunca intraperitoneal yoldan 10 mg/kg/gün $AlCl_3$ ve 150 mg/kg/gün D-galaktoz çözeltisi uygulandı ve standart sıçan yemi ile beslendi.
3. Ön tedavi grubu (Ön Tdv; n=12): 21 gün boyunca çiya tohumu içeren [%36.2 (w/w)] diyetle beslenirken aynı süre boyunca intraperitoneal yoldan 10 mg/kg/gün $AlCl_3$ ve 150 mg/kg/gün D-galaktoz çözeltisi uygulandı.
4. Tedavi grubu (Tdv; n=12): 21 gün boyunca intraperitoneal yoldan 10 mg/kg/gün $AlCl_3$ ve 150 mg/kg/gün D-galaktoz çözeltisi uygulandı ve bu süre sonunda başlanmak üzere 21 gün boyunca çiya tohumu içeren [%36.2 (w/w)] diyetle beslendi (Çizelge 3.1).

Alüminyum klorür ve D-galaktozun kombine maruziyetinin öğrenme ve bellek fonksiyonlarına hasara verdiği, aynı zamanda korteks ve hipokampüste $A\beta(1-42)$ seviyelerinde artışa sebep olduğu gösterilmiştir (Yang ve ark. 2014). Sıçanlarda kronik alüminyum maruziyeti hipokampus dahil olmak üzere tüm beyin bölgelerinde Al birikimine yol açmaktadır (Khan ve ark. 2013).

Uygulamalara müteakip tüm hayvanlar öğrenme bellek ve depresyon/anksiyete benzeri davranışları değerlendirmek amacıyla Morris su labirenti testi (uzaysal bellek), açık alan testi, yükseltilmiş artı labirent testi ve zorlu yüzme testi ile değerlendirildi. Davranış deneylerinin ardından ketamin/ksilazin (80/12 mg/kg) anestezisi altında kardiyak kan ponksiyonu gerçekleştirildi ve buz üstünde beyin dokusu eksize edildi. İmmünokimyasal analizler için kullanılacak örnekler analizler gerçekleştirilene kadar derin dondurucuda ($-80^{\circ}C$) saklandı. Beyin dokularından ELISA yöntemiyle APP, $A\beta(1-42)$ ve total tau protein düzeyleri belirlendi.

Çizelge 3. 1. Deney grupları

Grup	Hayvan Sayısı	Uygulama
I (Kont; n=10)	10	<p>Salin + Standart sıçan yemi</p>  <p>Kontrol grubu 21 gün boyunca intraperitoneal salin solüsyonu uygulandı ve standart sıçan yemi ile beslendi</p>
II (Alz; n=12)	12	<p>AlCl₃ ve D-galaktoz + Standart sıçan yemi</p>  <p>Hastalık grubu 21 gün boyunca intraperitoneal yoldan 10 mg/kg/gün AlCl₃ ve 150 mg/kg/gün D-galaktoz çözeltisi uygulandı ve standart sıçan yemi ile beslendi</p>
III (Ön Tdv; n=12)	12	<p>AlCl₃ ve D-galaktoz + Çiya tohumu</p>  <p>Ön tedavi grubu 21 gün boyunca çiya tohumu içeren [%36.2 (w/w)] diyetle beslenirken aynı süre boyunca intraperitoneal yoldan 10 mg/kg/gün AlCl₃ ve 150 mg/kg/gün D-galaktoz çözeltisi uygulandı</p>
IV (Tdv; n=12)	12	<p>AlCl₃ ve D-galaktoz + Çiya tohumu</p>  <p>Tedavi grubu 21 gün boyunca intraperitoneal yoldan 10 mg/kg/gün AlCl₃ ve 150 mg/kg/gün D-galaktoz çözeltisi uygulandı ve bu süre sonunda başlanmak üzere 21 gün boyunca çiya tohumu içeren [%36.2 (w/w)] diyetle beslendi</p>

3.2. Model Tesisi İçin Uygulanan Maddelerin Hazırlanması

Model tesisi için öncelikle tüm sıçanların ağırlıkları not edildi ve ağırlıklarına göre enjekte edilecek çözeltiler hazırlandı. Uygulamada kullanılacak maddeler $AlCl_3$ (Merck, Almanya) ve D-galaktoz (Sigma, Almanya) miktarları hassas terazide tartılarak serum fizyolojik içerisinde manyetik karıştırıcı marifetiyle çözüldü. Haftalık hazırlanan çözeltiler $+4^{\circ}C$ sıcaklıkta muhafaza edildi ve uygulama sırasında oda sıcaklığına getirildi. İntraperitoneal uygulama bölgesi her gün değiştirildi.

3.3. Çiye Tohumu İçeren Yemin Hazırlanması

Çiye tohumu (Great Mountain, Arjantin) içeren yem ile beslenen gruplar için yemler 2 günlük taze olarak hazırlandı. Karışımın hazırlanmasında standart toz yem ve öğütülmüş çiye tohumları kullanıldı. Grupların yem tüketimi günlük olarak takip edildi. Şekil 3.2'de standart pelet yem ve özel hazırlanmış çiye tohumu içeren [%36,2 (w/w)] yem gösterilmektedir.



Şekil 3. 2. Çiye tohumu içeren yem

3.4. Mortalite ve İnsani Hariç Bırakma

Tüm hayvanların genel iyilik durumları vücut kondisyon skorlaması (Ullman-Culleré ve Foltz 1999) yoluyla takip edildi. Toplam 46 adet hayvan ile başlatılan çalışma ölüm, insani hariç bırakma ve davranış testlerinde eylemsiz (non-performer) hayvanlar neticesinde 38 denek ile tamamlandı. Çalışma sürecinde; Kontrol grubundan 2 hayvan yüzmeye dayanan testlerde boğulma, Alzheimer grubunda 1 hayvan model tesisi esnasında ölüm ve 1 hayvan $\geq 20\%$ ağırlık kaybının eşlik ettiği düşük vücut kondisyon skoru, Ön tedavi grubundan 1 hayvan model tesisi esnasında ölüm ve 1 hayvan eylemsizlik, Tedavi grubundan 1 hayvan yüzmeye dayanan testlerde boğulma ve 1 hayvan $\geq 20\%$ ağırlık kaybının eşlik ettiği düşük vücut kondisyon skoru sebebiyle çalışma dışı kaldı.

3.5. Davranış Deneyleri

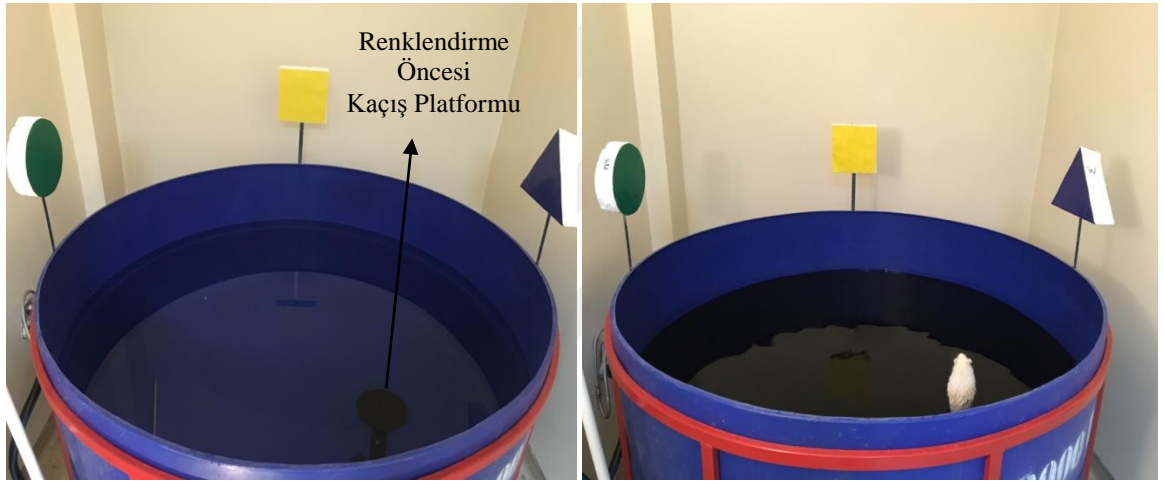
Model tesisi sonrasında hayvanlar bilişsel performansı değerlendirmek amacıyla davranış testlerine tabi tutuldu.

3.5.1. Morris Su Labirenti Testi

Morris su labirenti testi uzaysal belleğin değerlendirilmesi amacıyla uygulanan ve "öğrenme" ile "probe" fazlarından oluşan iki aşamalı bir testtir. 5 gün süren testin ilk aşaması olan "öğrenme fazı" 4 ardışık günde 4'er seansa ayrılarak gerçekleştirilirken, testin son günü "probe" fazından oluşmaktadır.

150 cm çapında havuz sanal olarak 4 kadrana ayrılarak, havuzun bir kadrana su yüzeyinin 1-2 cm altında kalacak şekilde bir kaçış platformu (48 cm) yerleştirildi. Siyah gıda boyası (KRK Gıda) ile su opaklaştırıldı ve ısısı $25 \pm 1^\circ\text{C}$ sıcaklıkta sabit tutuldu. Havuzun üç ayrı bölümüne farklı renk ve şekilde görsel ipuçları yerleştirildi. "Öğrenme fazı"nda 90 saniye boyunca hayvanlar serbestçe yüzdürüldü. Süre sonunda kaçış platformunu seans süresi (90 saniye) içerisinde bulamayan hayvanlar platforma bırakıldı ve platformda 30 saniye boyunca görsel ipuçlarını gözlemlemelerine izin verildi. Platformu

bulmayı başaran hayvanlar ise sıradaki seansa geçilmeden önce 30 saniye boyunca görsel ipuçlarını gözlemlemek üzere platformda bırakıldı. Her seans sonunda kaçış platformunu bulma süresi (sn), yüzme hızı (cm/sn) ve yüzme yolu uzunluğu (cm) kaydedildi. Testin 5. günü olan "Probe fazı"nda ise kaçış platformu havuzdan çıkartılarak hayvanların 90 saniye süreyle havuzda serbest şekilde yüzmelerine izin verildi. Bu fazda hayvanların hedef kadranda harcadıkları süre (sn), yüzme hızları (cm/sn), yüzme yolu uzunluğu (cm) ve platform alanına ortalama mesafe (cm) belirlendi. Test süreci video kamera ile kayıt edildi. Planlanan parametrelerin ölçümü için bilgisayar programı (EthoVision XT) kullanıldı (Şekil 3.3) (Oz ve ark. 2017).



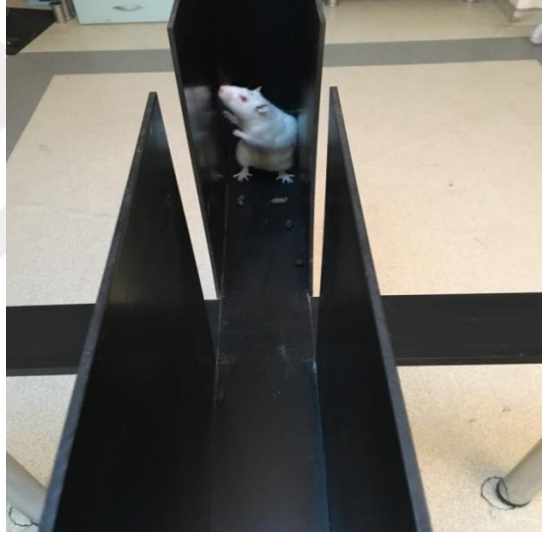
Şekil 3. 3. Morris su labirenti deneyleri

3.5.2. Açık Alan Testi

Açık alan testi lokomotor aktiviteyi belirlemek için yaygın olarak kullanılmaktadır. Açık alan testi için siyah renkli tavanı açık 70 x 70 cm'lik bir küp içerisinde 5 dakika boyunca hayvanların serbest hareketlerine izin verildi. Hayvanların davranışları bu süre zarfında video kamera ile kaydedildi. Her hayvan sonrasında aparat %70 etanol ile temizlendi. Elde edilen kayıtlar üzerinden kat edilen toplam mesafe (cm), sürat (cm/sn), merkezde bulunma süresi (sn) ve ayağa kalkma sayısı belirlendi (Zadubrovskiy ve ark. 2017).

3.5.3. Yükseltilmiş Artı Labirent Testi

Anksiyete benzeri davranışların tespitinde kullanılan yükseltilmiş artı labirent testi yerden 70 cm yüksekte, bir merkez (10 x 10 cm), iki açık (50 x 10 cm) ve iki kapalı alana (50 x 10 x 40 cm) sahip olan bir ayardır. Test başlangıcında hayvanlar yüzü açık alana bakacak şekilde merkeze yerleştirildi ve 5 dakika boyunca video kamera ile kayıt alındı. Test süresince açık/kapalı kollarda geçirilen süre (sn), aparat dışına sarkma sayısı ve ayağa kalkma sayısı belirlendi. Her hayvan sonrasında olfaktör ipuçlarını ortadan kaldırmak için aparat %70 etanol ile temizlendi (Şekil 3.4) (Rodgers ve Johnson 1995).



Şekil 3. 4. Yükseltilmiş artı labirent testi

3.5.4. Zorlu Yüzme Testi

Antidepresan benzeri etkiyi ölçmek için kullanılan zorlu yüzme testi (Porsolt testi) “alıştırma” ve “test” seansları olmak üzere iki aşamadan oluşmaktadır. Alıştırma seansında hayvanlar yüksekliği 50 cm çapı 25 cm olan ve kaçış yolu bulunmayan silindirik havuzda 15 dakika boyunca serbestçe yüzdürüldü. 24 saat sonra gerçekleştirilen test seansında ise 5 dakika süreyle yüzdürülen hayvanların eylemleri değerlendirildi. Analizler için video kamera ile kaydedilen seanslarda hayvanların davranışları aktif (yüzme ve tırmanma) ve

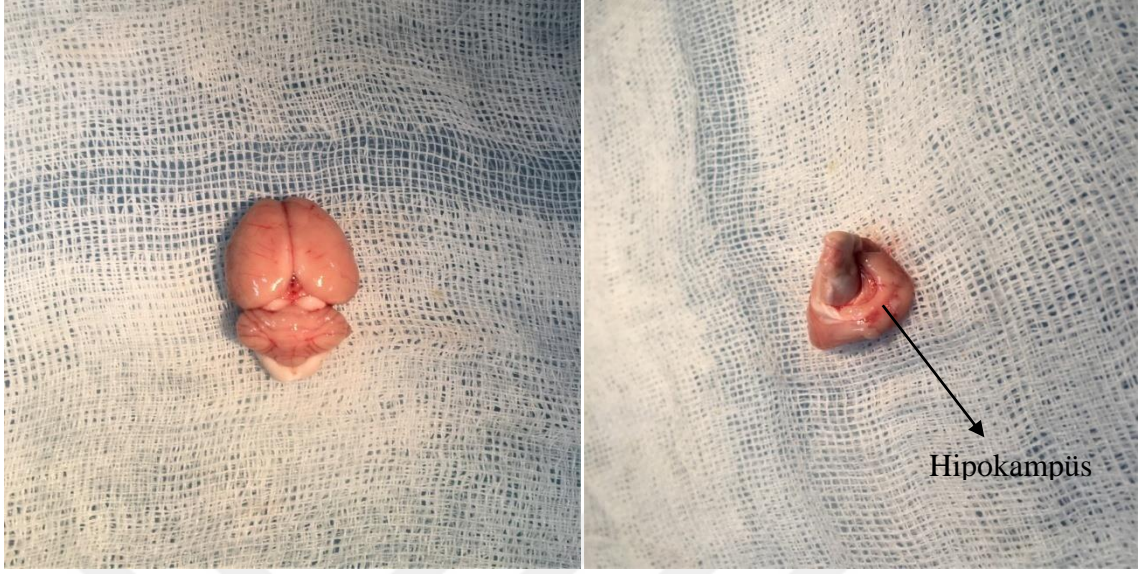
pasif (hareketsizlik) puanlamayla saptandı. Tecrübeli bir gözlemci tarafından gerçekleştirilen skorlamada gözlemcinin deney gruplarına kör kalması sağlandı. Test süresince su sıcaklığı $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de sabit tutuldu ve havuzun suyu her iki hayvanda bir yenilendi (Şekil 3.5) (Slattery ve Cryan 2012).



Şekil 3. 5. Zorlu yüzme testi

3.6. Dokuların Homojenizasyonu

Hayvanlardan eksize edilen hipokampus dokuları (Şekil 3.6) ıslak ağırlıkları tartıldıktan sonra 1:1 (mg/ml) oranında lizis reaktanı (T-PER, Tissue Protein Extraction Reagent, Thermo Fisher Scientific, USA) kullanılmak suretiyle boncuklu homojenizatör yardımı ile homojenize edildi. 9000 g hızla 10 dk soğuk santrifüj (4°C) edilen örneklerden supernatan toplandı ve mikro hacim tüplere aktarıldı. Supernatanlar analizler gerçekleştirilene kadar derin dondurucuda (-80°C) saklandı.



Şekil 3. 6. Eksize edilmiş sıçan beyni ve hipokampüs

3.7. Protein Tayini

Protein tayini için ardışık dilüsyonları hazırlanan BSA (Bovine Serum Albumin; sığır serum albümin, VWR Life Science) standart olarak kullanıldı. Microassay yöntemiyle gerçekleştirilen ölçüm için 96 kuyucuklu mikro plakanın kör haricindeki her kuyucuğuna 250 µl Coomassie solüsyonu (Coomassie Plus-The Better Bradford Assay Reagen, ThermoFisher Scientific, USA) eklendi ve 10'ar µl standart ya da örnek yüklendi. Oda sıcaklığında çalkalamak suretiyle gerçekleştirilen inkübasyonu takiben bir mikropilaka okuyucu (MultiskanGo, Thermo Scientific) kullanılarak 590 nm dalga boyunda absorbans ölçüldü. Örneklerin protein konsantrasyonları standartlardan elde edilen lineer eğri yardımıyla belirlendi.

3.8. Enzyme Linked Immunosorbent Assay Testi (ELISA)

Amiloid prekürsör protein (APP), amiloid-Beta protein (1-42) [$A\beta(1-42)$] ve total tau protein seviyelerinin belirlenmesinde standart sandviç prensibine dayanan ELISA metodu kullanıldı. Homojenize edilen hipokampüs dokularından sıçan APP (Amyloid

Precursor Protein) ELISA Kit, A β 1-42 (Amyloid Beta 1-42) ELISA Kit ve MAPT (Microtubule Associated Protein Tau/Tau Protein) ELISA Kit (Elabscience, USA) ile üretici firmanın protokolüne uygun olarak ELISA testi gerçekleştirildi. Buna göre antiprotein yakalama antikoru ile kaplı plaka kuyucuklarına örnek eklenerek 90 dk, 37°C'de inkübe edildi. Biotin ile işaretlenmiş antiprotein antikor ilave edildi. 1 saat 37°C'de inkübasyon sonrasında 3 kere yıkandı. HRP-streptavidin konjüгатı eklendi ve 30 dk, 37°C'de inkübe edildi. Ardından 5 kere yıkandı ve substrat reaktanı eklendi. 15 dk, 37°C'de inkübasyon sonrasında stop solüsyonu eklendi ve MultiskanGo (Thermo Scientific) cihazı kullanılarak 450 nm'de absorbansta okuması gerçekleştirildi.

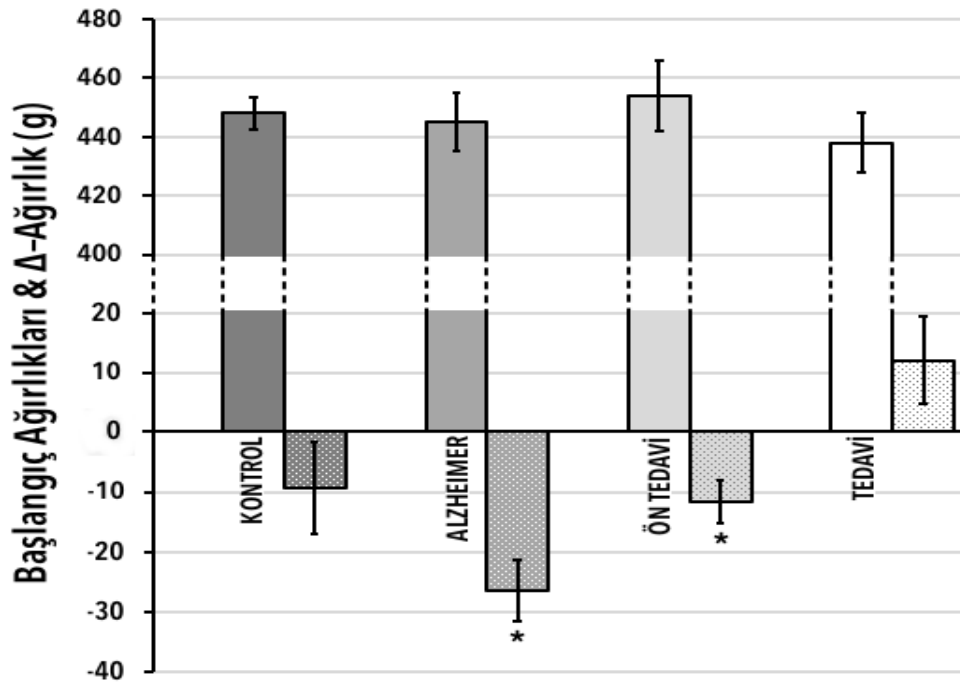
3.9. İstatistiksel Analizler

Çalışma sonucunda elde edilen davranışsal ve moleküler verilerin analizi GraphPad Prism programı kullanılarak yapıldı. Verilerin istatistiki anlamlılıkları çoklu karşılaştırma yoluyla araştırıldı. Bu bağlamda parametrik olmayan veriler için Kruskal-Wallis ve post hoc Mann-Whitney U testi, parametrik veriler için tekrarlı tek yönlü, tek yönlü ANOVA ve post hoc Tukey testi kullanıldı. Parametrik veriler ortalama \pm standart hata ve parametrik olmayan veriler ortanca ve interpersentil aralık (%25, %75) şeklinde ifade edildi. İstatistiki anlamlılık için $p < 0.05$ kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Vücut Ağırlığı ve Besin Tüketimi Takibi

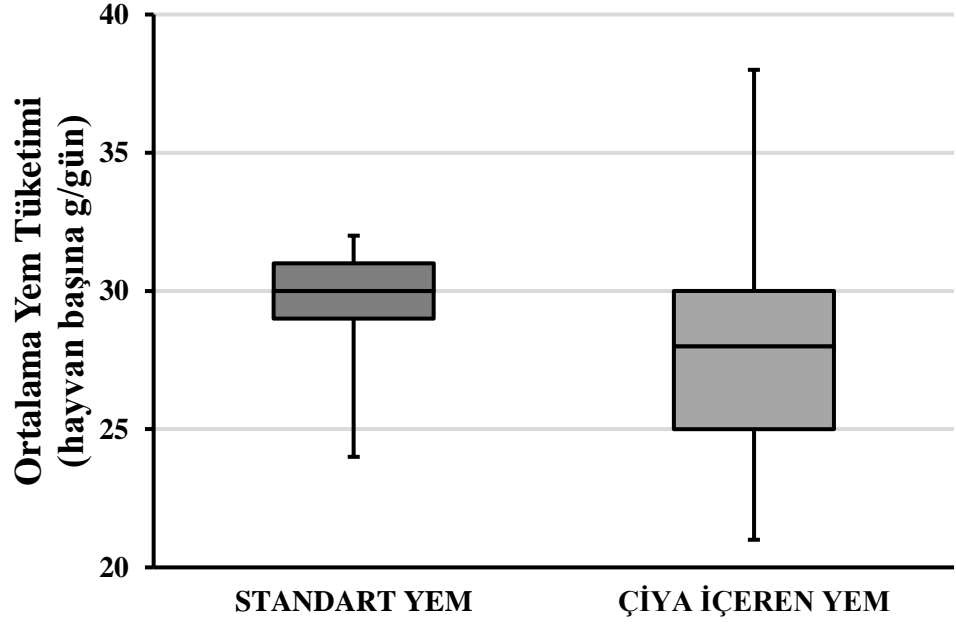
Grupların başlangıç ağırlıkları benzerdir ($p>0.05$). Başlangıç ve bitiş ağırlıkları arasında fark olmamasına rağmen ($p>0.05$) Alzheimer ve ön tedavi gruplarının vücut ağırlıkları değişimi tedaviye göre anlamlıdır (Şekil 4.1).



Ortalama ± Std. Hata (g)	Başlangıç	Bitiş
Kontrol	448 ± 5.3	439 ± 4.4
Alzheimer	445 ± 10	418 ± 10
Ön Tedavi	454 ± 12	442 ± 11
Tedavi	438 ± 10	450 ± 12

Şekil 4. 1. Vücut ağırlığı takibi (Tek Yönlü Anova testi. Başlangıçtaki vücut ağırlıkları düz çubuklarla gösterilirken, kümülatif vücut ağırlığı değişikliği (Δ – Ağırlık) desenli çubuklarla gösterilmiştir. Tedaviye göre istatistiksel anlamlılık ($p < 0.05$) yıldız (*) ile gösterilmiştir.

Deneysel AH modeli oluşturulmuş sıçanlarda standart yem ve çiya içeren yem tüketimi analizinde gruplar arasında fark bulunmamıştır ($p>0.05$) (Şekil 4.2).

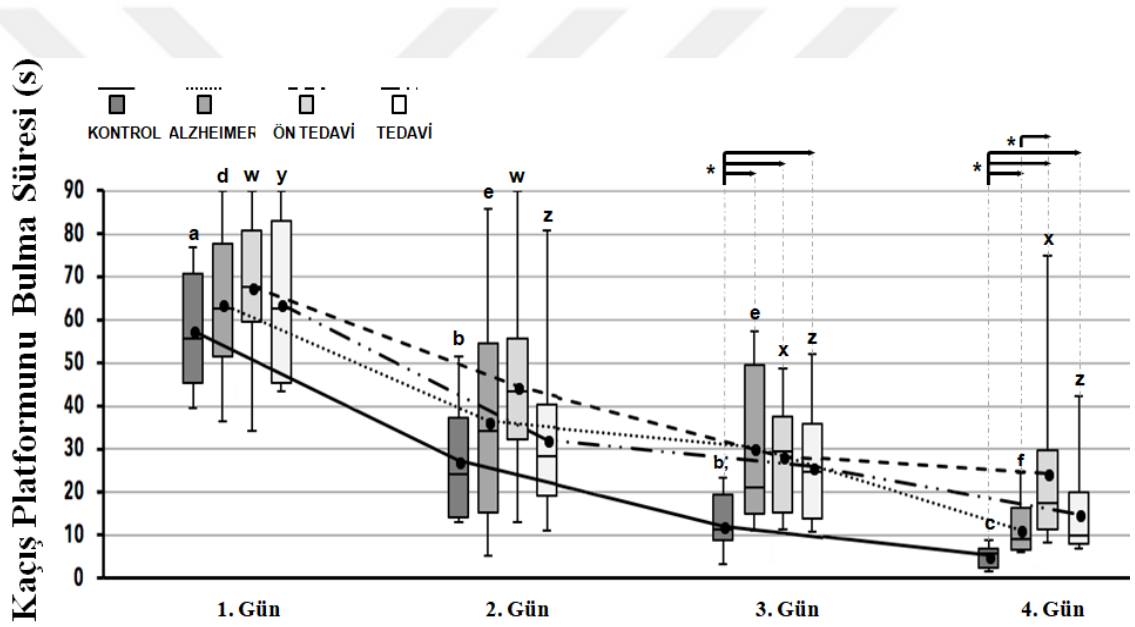


Hayvan başına g/gün	Median	25-75 Persentil	Min. - Maks.
Standart Yem	30	29-31	24 - 32
Çiya İçeren Yem	28	25-30	21 - 38

Şekil 4. 2. Yem tüketimi (Mann-Whitney U testi kullanılmıştır)

4.2. Öğrenme ve Bellek Analizleri

Morris su labirenti testinin öğrenme fazında tüm grupların kendi içerisinde 1. gün ile 4. gün kaçış platformunu bulma süreleri kıyaslandığında sürenin azaldığı gözlemlendi. 1. ve 2. günde gruplar arası kaçış platformunu bulma süreleri karşılaştırıldığında, fark bulunmamıştır. 3. ve 4. günde kontrol grubunun kaçış platformunu bulma süresi diğer gruplara kıyasla daha azdır. 4. günde ön tedavi grubunun kaçış platformunu bulma süreleri Alzheimer grubuna göre anlamlı şekilde artmıştır (Şekil 4.3).



Ortalama ± Std. Hata [Median (25-75%)]	1. Gün	2. Gün	3. Gün	4. Gün
Kontrol	58 ± 4.8 [56 (46-71)]	28 ± 5.2 [25 (15-38)]	13 ± 2.4 [12 (9.5-20)]	6.1 ± 0.9 [6.8 (3.3-7.8)]
Alzheimer	64 ± 5.2 [63 (52-78)]	37 ± 8.1 [35 (16-55)]	31 ± 5.7 [22 (16-50)]	12 ± 2 [9.8 (7.1-17)]
Ön Tedavi	68 ± 4.9 [68 (60-81)]	45 ± 6.7 [44 (33-56)]	29 ± 3.8 [30 (16-38)]	25 ± 6.2 [18 (12-30)]
Tedavi	64 ± 5.6 [63 (46-83)]	33 ± 6.3 [29 (20-41)]	27 ± 4.4 [26 (15-37)]	16 ± 3.6 [11 (9.1-21)]

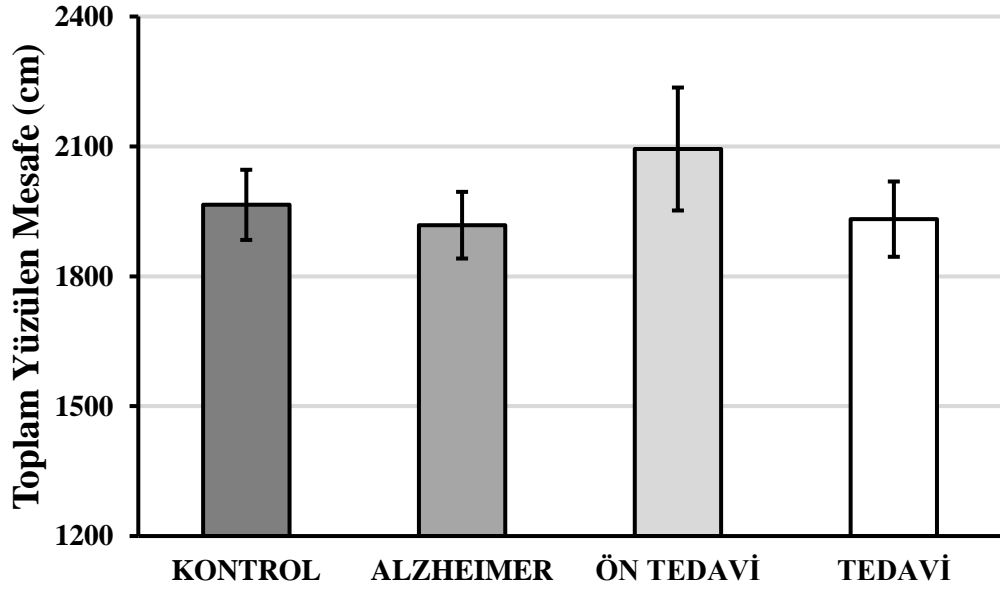
Şekil 4. 3. Morris su labirenti testinde kaçış platformunu bulma süreleri

Grup İçi İstatistiksel Anlamlılıklar	RM-ANOVA	Post-hoc (Tukey testi)	Anlamlılık Düzeyi
Kontrol	F(2.05,14.3)=44.8 p<0.001	1. Gün vs 2. Gün	p = 0.001
		1. Gün vs 3. Gün	p < 0.001
		1. Gün vs 4. Gün	p < 0.001
		2. Gün vs 4. Gün	p = 0.32
Alzheimer	F(1.5,13.5)=25.6 p<0.001	1. Gün vs 2. Gün	p < 0.001
		1. Gün vs 3. Gün	p = 0.001
		1. Gün vs 4. Gün	p < 0.001
		2. Gün vs 4. Gün	p = 0.009
Ön Tedavi	F(2.14,19.2)=23.1 p<0.001	1. Gün vs 3. Gün	p < 0.001
		1. Gün vs 4. Gün	p < 0.002
		2. Gün vs 3. Gün	p = 0.046
		2. Gün vs 4. Gün	p = 0.005
Tedavi	F(1.81,16.3)=31.1 p<0.001	1. Gün vs 2. Gün	p < 0.001
		1. Gün vs 3. Gün	p < 0.001
		1. Gün vs 4. Gün	p < 0.001

Gruplar Arası İstatistiksel Anlamlılıklar (Kruskal-Wallis Testi)	Post-hoc (Dunn testi)	Anlamlılık Düzeyi
3. Gün (p = 0.026)	Kontrol vs Alzheimer	p = 0.008
	vs Ön Tedavi	p = 0.008
	vs Tedavi	p = 0.023
4. Gün (p < 0.001)	Kontrol vs Alzheimer	p = 0.037
	vs Ön Tedavi	p < 0.001
	vs Tedavi	p = 0.003
	Alzheimer vs Ön Tedavi	p = 0.036

Şekil 4. 3. Devam Morris su labirenti testinde kaçış platformunu bulma süreleri (Tekrarlı Tek Yönlü Varyans Analizi, post-hoc Tukey testi, Kruskal-Wallis ve post-hoc Dunn testi. Her grup için aynı harfi barındırmayan değerler istatistiksel anlamlılığı (p<0.05) göstermektedir. Yıldız (*) takip eden ok, ilgili gruplar arasında istatistiksel anlamlılığı (p<0.05) göstermektedir)

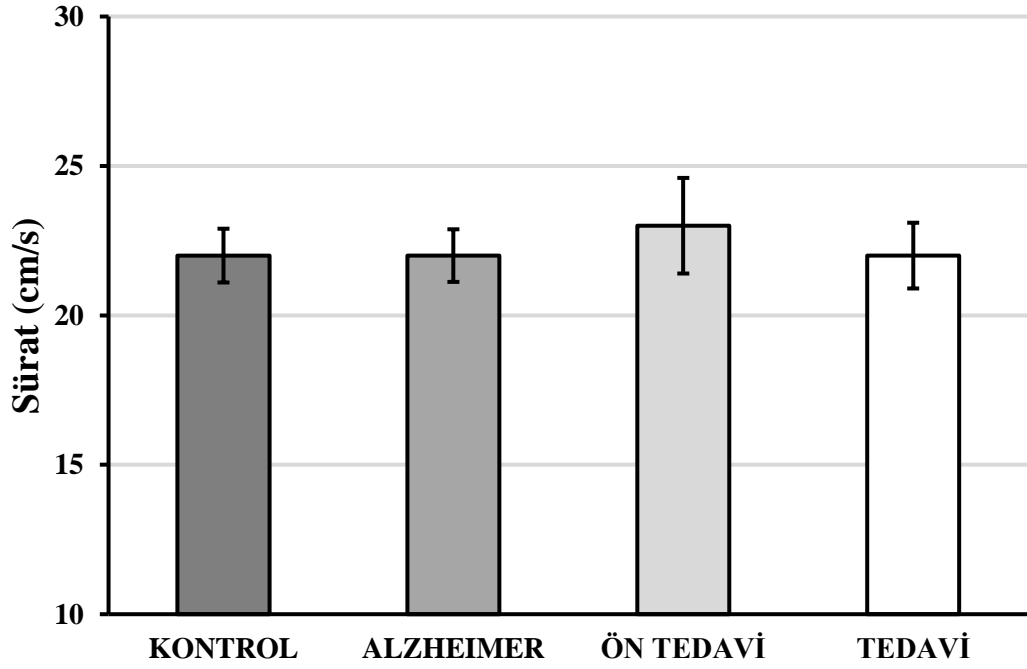
Morris su labirenti testinin son günü olan bellek fazında toplam yüzme mesafesi için gruplar arasında fark bulunmamıştır ($p>0.05$) (Şekil 4.4).



	KONTROL	ALZHEIMER	ÖN TEDAVİ	TEDAVİ
Ortalama	1965	1918	2094	1932
Std. Hata	81	77	142	87

Şekil 4. 4. Morris su labirenti testinde toplam yüzme mesafesi (Tek Yönlü Varyans Analizi ve post-hoc Tukey testi)

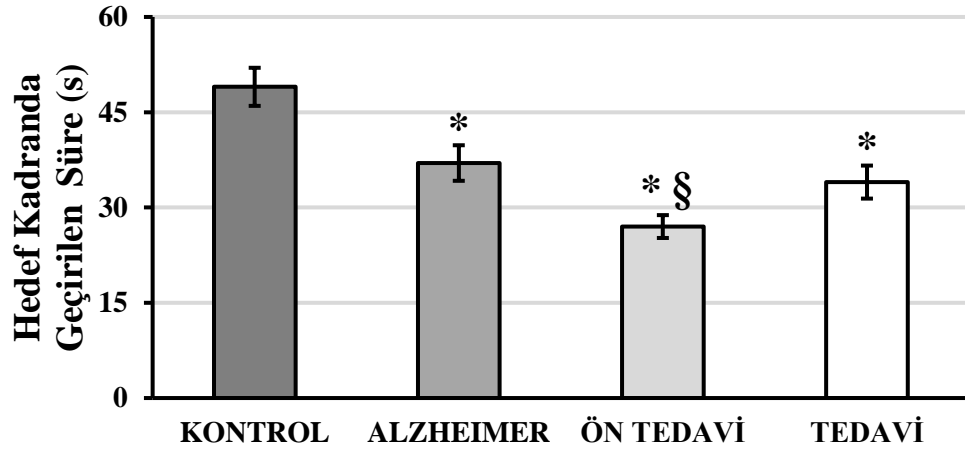
Morris su labirenti testinin son günü olan bellek fazında sürat açısından gruplar arasında fark bulunmamıştır ($p>0.05$) (Şekil 4.5).



	KONTROL	ALZHEIMER	ÖN TEDAVİ	TEDAVİ
Ortalama	22	22	23	22
Std. Hata	0,9	0,88	1,6	1,1

Şekil 4. 5. Morris su labirenti testinde sürat analizi (Tek Yönlü Varyans Analizi ve post-hoc Tukey testi)

Morris su labirenti testinin son günü olan bellek fazında Alzheimer, ön tedavi ve tedavi gruplarının hedef kadranda geçirdiği süre kontrol grubuna göre daha azdır ve anlamlıdır. Ön tedavi grubunun hedef kadranda geçirdiği süre Alzheimer grubuna kıyasla anlamlı şekilde düşüktür (Şekil 4.6).

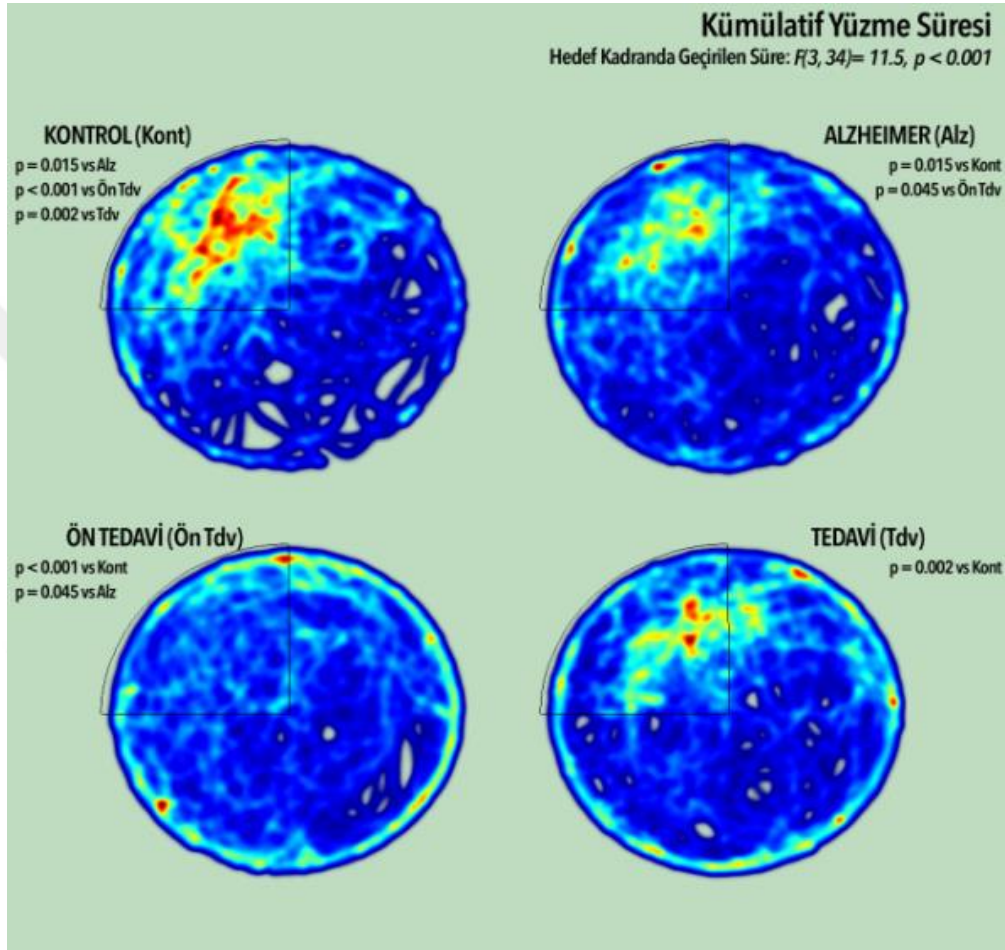


	KONTROL	ALZHEIMER	ÖN TEDAVİ	TEDAVİ
Ortalama	49	37	27	34
Std. Hata	3	2,8	1,8	2,6

Gruplar Arası İstatistiksel Anlamlılıklar (OW-ANOVA Testi)	Post-hoc (Tukey testi)	Anlamlılık Düzeyi
F(3,34)=11.5 p < 0.001	Kontrol vs Alzheimer	p = 0.015
	vs Ön Tedavi	p < 0.001
	vs Tedavi	p = 0.002
	Alzheimer vs Ön Tedavi	p = 0.046

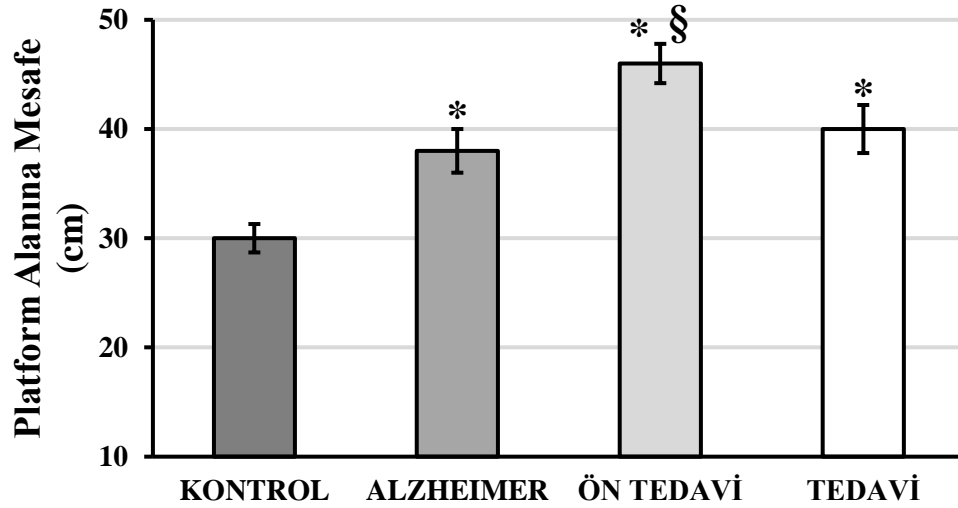
Şekil 4. 6. Morris su labirenti testinde hedef kadranda geçirilen süre (Tek Yönlü Varyans Analizi ve post-hoc Tukey testi. Kontrol'e göre istatistiki anlamlılık (p<0.05) yıldız (*), Alzheimer'a göre istatistiki anlamlılık (p<0.05) bölüm işareti (§) ile gösterilmiştir)

Morris su labirenti testinin son günü olan bellek fazı sonucunda Alzheimer, ön tedavi ve tedavi gruplarının kümülatif yüzme süreleri daha azdır ve kontrol grubuna göre anlamlıdır. Ön tedavi grubu, kontrol ve Alzheimer grubu ile kıyaslandığında platformun bulunduğu hedef kadranda geçirilen süre anlamlı şekilde düşük bulunmuştur (Şekil 4.7).



Şekil 4. 7. Morris su labirenti testinde kümülatif yüzme süresi (Tek Yönlü Varyans Analizi ve post-hoc Tukey testi)

Morris su labirenti testinin son günü olan bellek fazında platform alanına en uzak gruplar Alzheimer, ön tedavi ve tedavi grupları olup kontrol grubuna göre anlamlılık ifade eder. Ön tedavi grubu, Alzheimer grubu ile kıyaslandığında platform alanına uzaklığı anlamlı şekilde artmıştır (Şekil 4.8).



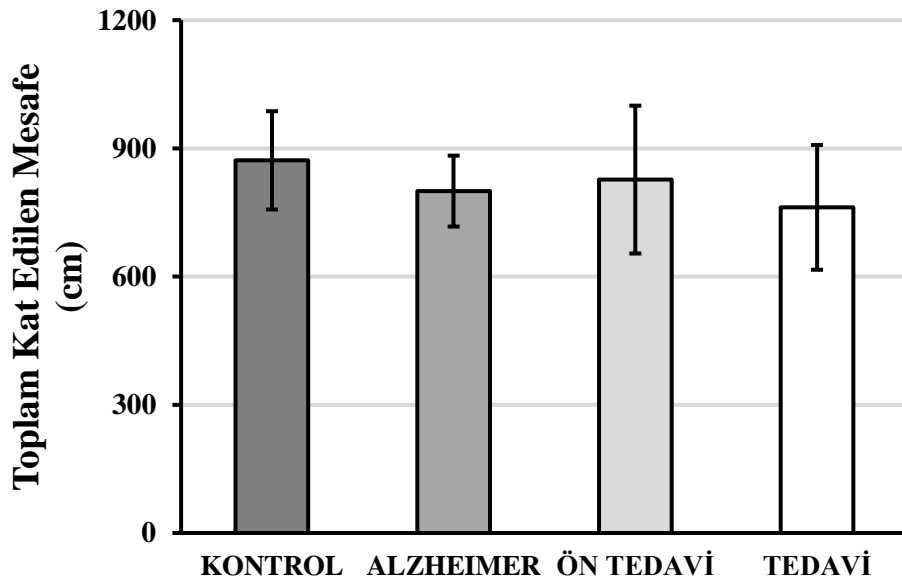
	KONTROL	ALZHEIMER	ÖN TEDAVİ	TEDAVİ
Ortalama	30	38	46	40
Std. Hata	1,3	2	1,8	2,2

Gruplar Arası İstatistiksel Anlamlılıklar (OW-ANOVA Testi)	Post-hoc (Tukey testi)	Anlamlılık Düzeyi
F(3,34)=11 p < 0.001	Kontrol vs Alzheimer	p = 0.049
	vs Ön Tedavi	p < 0.001
	vs Tedavi	p = 0.009
	Alzheimer vs Ön Tedavi	p = 0.016

Şekil 4. 8. Morris su labirenti testinde platform alanına mesafe (Tek Yönlü Varyans Analizi ve post-hoc Tukey testi. Kontrol'e göre istatistiki anlamlılık (p<0.05) yıldız (*), Alzheimer'a göre istatistiki anlamlılık (p<0.05) bölüm işareti (§) ile gösterilmiştir)

4.3. Açık Alan Testi Analizleri

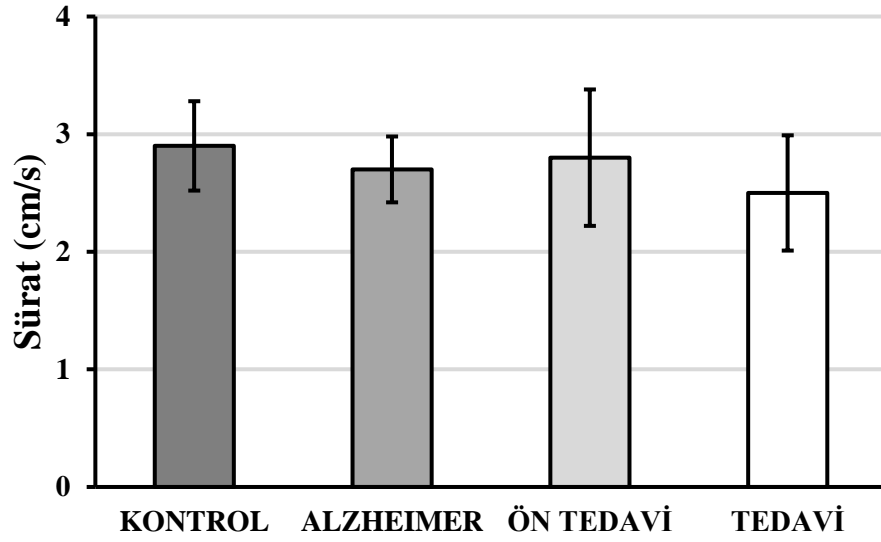
Lokomotor aktiviteyi belirlemek için yapılan açık alan testi sonuçlarına göre, toplam kat edilen mesafe açısından gruplar arasında fark bulunmamıştır ($p>0.05$) (Şekil 4.9).



	KONTROL	ALZHEIMER	ÖN TEDAVİ	TEDAVİ
Ortalama	872	800	827	762
Std. Hata	115	83	173	146

Şekil 4. 9. Açık alan testinde toplam kat edilen mesafe (Tek Yönlü Varyans Analizi ve post-hoc Tukey testi. Kontrol'e göre istatistiki anlamlılık ($p<0.05$) yıldız (*) ile gösterilmiştir)

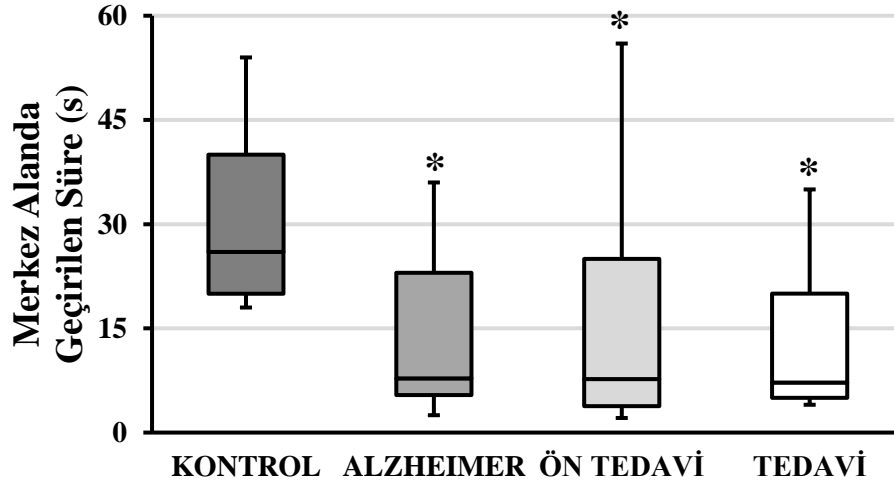
Açık alan testinde sürat açısından gruplar arasında fark yoktur ($p>0.05$) (Şekil 4.10).



	KONTROL	ALZHEIMER	ÖN TEDAVİ	TEDAVİ
Ortalama	2,9	2,7	2,8	2,5
Std. Hata	0,38	0,28	0,58	0,49

Şekil 4. 10. Açık alan testinde sürat (Tek Yönlü Varyans Analizi ve post-hoc Tukey testi. Kontrol'e göre istatistiki anlamlılık ($p<0.05$) yıldız (*) ile gösterilmiştir)

Açık alan testinde Alzheimer, ön tedavi ve tedavi gruplarının merkez alanda geçirdikleri süre azalmış olup kontrol grubuna göre anlamlılık ifade etmektedir (Şekil 4.11).



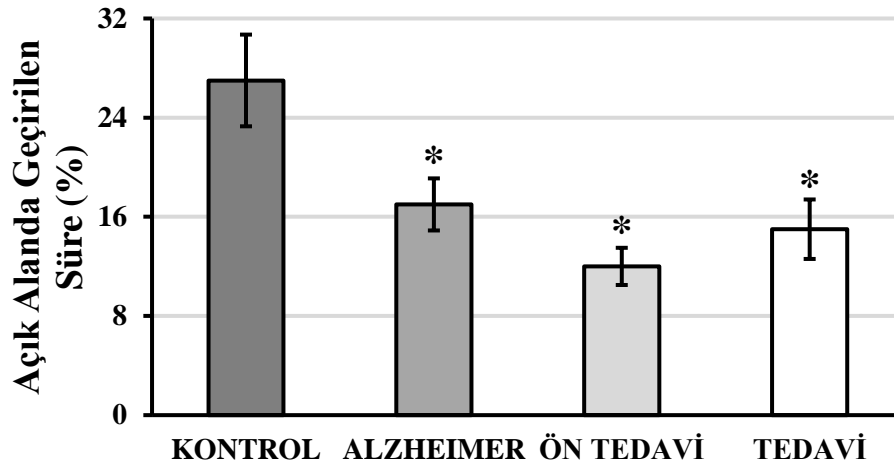
Merkez Alanda Geçirilen Süre (s)	Median	25-75 Persentil	Min. - Maks.
Kontrol	26	20-40	18-54
Alzheimer	7,8	5.4-23	2.5-36
Ön Tedavi	7,7	3.8-25	2.1-56
Tedavi	7,2	5-35	4-35

Gruplar Arası İstatistiksel Anlamlılıklar (Kruskal-Wallis Testi)	Post-hoc (Dunn testi)	Anlamlılık Düzeyi
p = 0.037	Kontrol vs Alzheimer	p = 0.023
	vs Ön Tedavi	p = 0.014
	vs Tedavi	p = 0.011

Şekil 4. 11. Açık alan testinde merkez alanda geçirilen süre (Gruplar arası karşılaştırmalarda Merkez Alanda Geçirilen Süre için Kruskal-Wallis testi ve post-hoc Dunn testi. Kontrol'e göre istatistiksel anlamlılık ($p < 0.05$) yıldız (*) ile gösterilmiştir)

4.4. Yükseltmiş Artı Labirent Testi Analizleri

Yükseltmiş artı labirent testinde Alzheimer, ön tedavi ve tedavi gruplarının açık alanda geçirdikleri süre azalmış olup kontrol grubuna göre anlamlılık ifade etmektedir (Şekil 4.12).

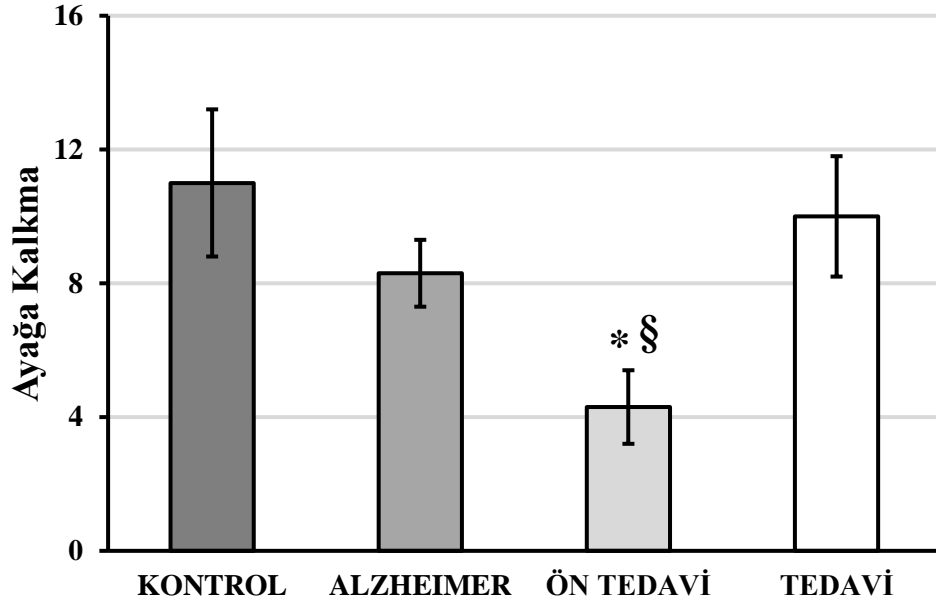


	KONTROL	ALZHEIMER	ÖN TEDAVİ	TEDAVİ
Ortalama	27	17	12	15
Std. Hata	3,7	2,1	1,5	2,4

Gruplar Arası İstatistiksel Anlamlılıklar (OW-ANOVA Testi)	Post-hoc (Tukey testi)	Anlamlılık Düzeyi
F(3,34)=6.9 p < 0.001	Kontrol vs Alzheimer	p = 0.037
	vs Ön Tedavi	p < 0.001
	vs Tedavi	p = 0.006

Şekil 4. 12. Yükseltmiş artı labirent testinde açık alanda geçirilen süre (Tek Yönlü Varyans Analizi ve post-hoc Tukey testi Kontrol'e göre istatistiksel anlamlılık (p<0.05) yıldız (*) ile gösterilmiştir)

Yükseltilmiş artı labirenti testinde ayağa kalkma hareketi en az ön tedavi grubunda gözlenmiş olup kontrol ve tedavi grubuna göre anlamlıdır (Şekil 4.13).



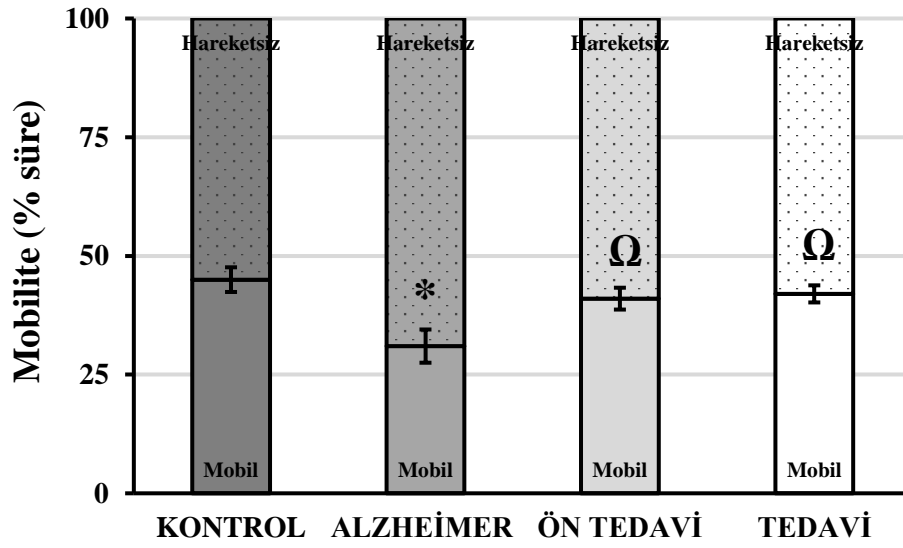
	KONTROL	ALZHEIMER	ÖN TEDAVİ	TEDAVİ
Ortalama	11	8,3	4,3	10
Std. Hata	2,2	1	1,1	1,8

Gruplar Arası İstatistiksel Anlamlılıklar (OW-ANOVA Testi)	Post-hoc (Tukey testi)	Anlamlılık Düzeyi
F(3,34)=3.92 p = 0.017	Kontrol vs Ön Tedavi	p = 0.025
	Tedavi vs Ön Tedavi	p = 0.032

Şekil 4. 13. Yükselmiş artı labirent testinde ayağa kalkma sayısı (Tek Yönlü Varyans Analizi ve post-hoc Tukey testi. Kontrol'e göre istatistiki anlamlılık ($p < 0.05$) yıldız (*), Tedavi'ye göre istatistiki anlamlılık ($p < 0.05$) bölüm işareti (§) ile gösterilmiştir)

4.5. Zorlu Yüzme Testi Analizleri

Zorlu yüzme testinde hareketsiz geçirilen zaman en yüksek Alzheimer grubunda görülmüş olup kontrole göre anlamlılık ifade etmektedir. Ön tedavi ve tedavi grubunun hareketli oldukları süre Alzheimer grubuna göre anlamlı şekilde fazladır (Şekil 4.14).

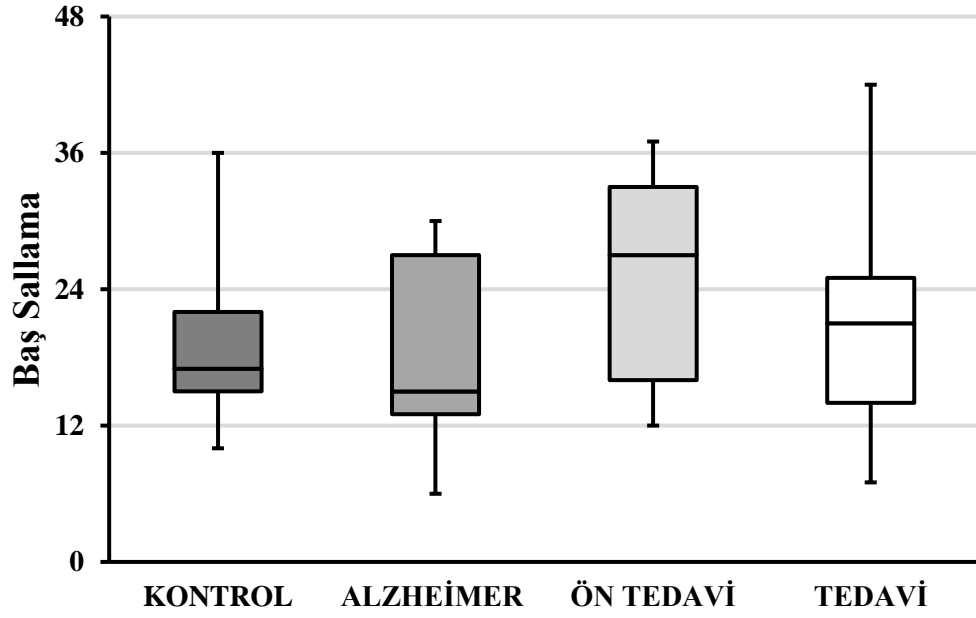


	KONTROL	ALZHEİMER	ÖN TEDAVİ	TEDAVİ
Ortalama	45	31	41	42
Std. Hata	2,6	3,5	2,3	1,8

Gruplar Arası İstatistiksel Anlamlılıklar (OW-ANOVA Testi)	Post-hoc (Tukey testi)	Anlamlılık Düzeyi
F(3,34)=5.6 p=0.003	Kontrol vs Alzheimer	p = 0.004
	Alzheimer vs Ön Tedavi	p = 0.032
	vs Tedavi	p = 0.019

Şekil 4. 14. Zorlu yüzme testinde mobilite süresi (Tek Yönlü Varyans Analizi testi. Kontrol'e göre istatistiki anlamlılık ($p < 0.05$) yıldız (*), Alzheimer'a göre istatistiki anlamlılık ($p < 0.05$) ohm işareti (Ω) ile gösterilmiştir)

Zorlu yüzme testinde baş sallama açısından gruplar arasında fark bulunmamıştır ($p>0.05$) (Şekil 4.15).

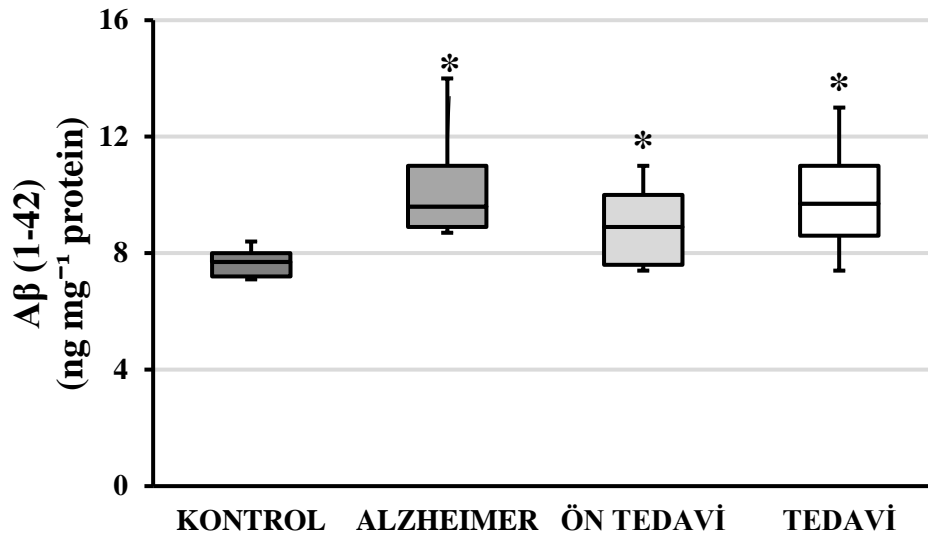


Baş Sallama	Median	25-75 Persentil	Min. - Maks.
Kontrol	17	15-22	10-36
Alzheimer	15	13-27	6-30
Ön Tedavi	27	16-33	12-37
Tedavi	21	14-25	7-42

Şekil 4. 15. Zorlu yüzme testinde baş sallama (Kruskal-Wallis testi ve post-hoc Dunn testi)

4.6. Protein Analizleri

A β (1-42) protein analizi sonucunda Alzheimer, ön tedavi ve tedavi gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı artış vardır (Şekil 4.16).

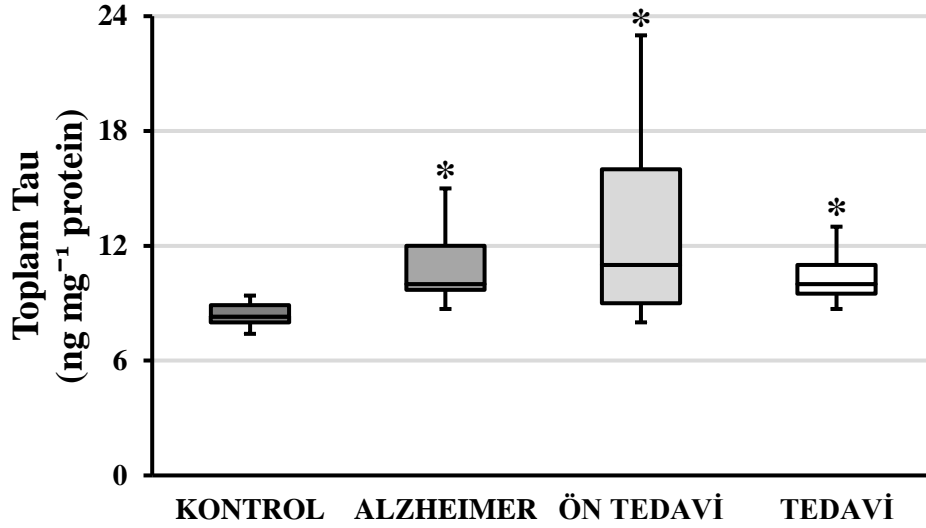


A β (1-42) (ng mg ⁻¹ protein)	Median	25-75 Percentil	Min. - Maks.
Kontrol	7,7	7.2-8	7.1-8.4
Alzheimer	9,6	8.9-11	8.7-14
Ön Tedavi	8,9	7.6-10	7.4-11
Tedavi	9,7	8.6-11	7.4-13

Gruplar Arası İstatistiksel Anlamlılıklar (Kruskal-Wallis Testi)	Post-hoc (Dunn testi)	Anlamlılık Düzeyi
p = 0.002	Kontrol vs Alzheimer	p < 0.001
	vs Ön Tedavi	p = 0.017
	vs Tedavi	p = 0.002

Şekil 4. 16. A β (1-42) protein düzeyleri (Kruskal-Wallis testi ve post-hoc Dunn testi. Kontrol'e göre istatistiki anlamlılık (p<0.05) yıldız (*) ile gösterilmiştir)

Toplam tau protein analizi sonucunda Alzheimer, ön tedavi ve tedavi gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı artış vardır (Şekil 4.17).

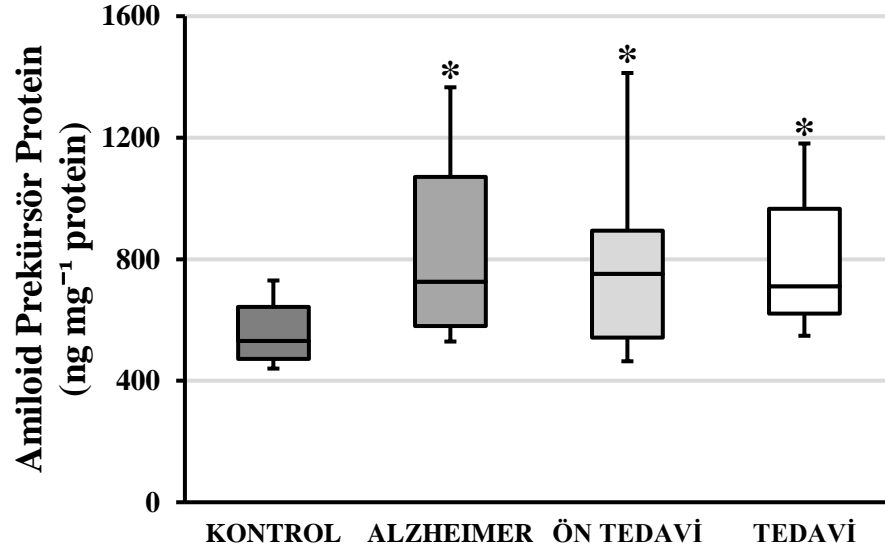


Toplam Tau (ng mg ⁻¹ protein)	Median	25-75 Percentil	Min. - Maks.
Kontrol	8,3	8-8.9	7.4-9.4
Alzheimer	10	9.7-12	8.7-15
Ön Tedavi	11	9-16	8-23
Tedavi	10	9.5-11	8.7-13

Gruplar Arası İstatistiksel Anlamlılıklar (Kruskal-Wallis Testi)	Post-hoc (Dunn testi)	Anlamlılık Düzeyi
p = 0.002	Kontrol vs Alzheimer	p = 0.001
	vs Ön Tedavi	p < 0.001
	vs Tedavi	p = 0.007

Şekil 4. 17. Toplam tau protein düzeyleri (Kruskal-Wallis testi ve post-hoc Dunn testi. Kontrol'e göre istatistiki anlamlılık (p<0.05) yıldız (*) ile gösterilmiştir)

Amiloid prekürsör protein analizi sonucunda Alzheimer, ön tedavi ve tedavi gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı artış vardır (Şekil 4.18).



APP (ng mg ⁻¹ protein)	Median	25-75 Persentil	Min. - Maks.
Kontrol	531	472-643	440-730
Alzheimer	726	580-1071	529-1366
Ön Tedavi	752	542-894	464-1413
Tedavi	711	621-966	548-1181

Gruplar Arası İstatistiksel Anlamlılıklar (Kruskal-Wallis Testi)	Post-hoc (Dunn testi)	Anlamlılık Düzeyi
p = 0.038	Kontrol vs Alzheimer	p = 0.012
	vs Ön Tedavi	p = 0.031
	vs Tedavi	p = 0.011

Şekil 4. 18. Amiloid prekürsör protein düzeyleri (Kruskal-Wallis testi ve post-hoc Dunn testi. Kontrol'e göre istatistiki anlamlılık (p<0.05) yıldız (*) ile gösterilmiştir)

5. TARTIŞMA

Alzheimer hastalığı merkezi sinir sisteminin dejeneratif demansının en yaygın şekli olup ilerleyici bilişsel gerileme ile karakterize bir hastalıktır. Günlük yaşamsal faaliyetlerde bağımlılığa sebep olabilmekte ve erken ölümle son bulabilmektedir. Yaşlanan nüfusun nihai sonuçları ve AH'nin yaygınlığının artması büyük önem taşımaktadır. Nitekim gelecek yıllar için halk sağlığı açısından dikkat çekilmesi gereken mühim konulardandır (Auld ve ark. 2002, Mayeux ve Stern 2012).

5.500 yıldan uzun bir süredir bilinmekte olan çiya tohumu, kimyasal bileşimi ve teknolojik özellikleri sayesinde sağladığı yararlar ile yüksek besleyiciliğe ve terapötik potansiyele sahip fonksiyonel besinler sınıfındadır. Omega-3, omega-6 ve çözünebilir lif açısından zengindir. Ayrıca önemli miktarda protein ve fitokimyasal madde içerir (Marcinek ve Krejpcio 2017).

Bu çalışmada deneysel Alzheimer hastalığı modeli oluşturulan sıçanlarda çiya tohumunun öğrenme bellek, anksiyete/depresyon benzeri davranış ve Alzheimer ilişkili moleküler parametreler üzerine etkileri araştırıldı. Bu amaçla; Morris su labirenti testi (uzaysal bellek) ile öğrenme/bellek, açık alan testi ve yükseltilmiş artı labirent testi ile anksiyete benzeri davranış, zorlu yüzme testi ile de depresyon benzeri davranış değerlendirildi. Daha sonra eksize edilen beyin dokularından ELISA yöntemiyle APP, A β (1-42) ve total tau protein düzeyleri belirlendi.

Uzun süreli D-gal maruziyeti reaktif oksijen türlerinin (ROS) artışıyla sonuçlanır. ROS tarafından indüklenen nörotoksisite, doğal yaşlanma sürecini şiddetlendirir ve kognitif bozuklukları sebep olur (Liaquat ve ark. 2017). Alüminyum kan beyin bariyerini geçebilir ve hipokampal bölgelerde birikerek nörotoksik etki gösterir (Ravi ve ark. 2018). Çalışmamızda AH modelinin öğrenme/bellek bozukluklarına yol açtığını gözlemledik. Sonuçlarımıza benzer olarak, Gong ve ark. (2006) da çalışmalarında sıçanlarda AlCl₃ maruziyetinin (gastrogavaj+içme suyu) öğrenme/bellek bozukluklarına sebep olduğunu gözlemlemişler. Abdel-Aal ve ark. (2011) da sıçanlarda alüminyum maruziyetinin (i.p) Morris su labirenti testi sonucunda hayvanların bilişsel performansında bozukluğa sebep olduğunu gözlemlemişler. Thippeswamy ve ark. (2013) da sıçanlarda oral AlCl₃ uygulaması sonucu benzer sonuçları gözlemlemişler. Chiroma ve ark. (2018) ise çalışmamızla aynı modeli uyguladıkları sıçanlarda hipokampüste nöronal kayıpların

varlığını ve belirgin öğrenme/bellek bozukluklarını gözlemlemiştir. Çalışmamızda kontrol grubu ile Alzheimer grubu karşılaştırıldığında, Morris su labirenti testinde Alzheimer grubunun gizli platformu bulma süresinin uzadığı gözlenmiştir. Barai ve ark. (2018) sıçanlarda streptozotosin ile indükledikleri AH modelinde, öğrenme/bellek bozukluklarının olduğunu, oksidatif stres ve kolinerjik azalmanın anlamlı olduğu sonucuna varmışlardır. Bavarsad ve ark. (2018) da yaptıkları benzer bir çalışmada da aynı bulgulara rastlamışlardır. Liaquat ve ark. (2017) çalışmamızla aynı şekilde oluşturdukları Alzheimer modelinde sıçanların Morris su labirenti testinde kontrol grubuna kıyasla gizli platformu bulma süresinin uzadığını gözlemlemiştir. Çalışmamızda AH modeli oluşturulurken yemlerine omega-3 açısından zengin çiya tohumu eklenen ön tedavi grubunda öğrenme/belleğin kötüleştiğini, model oluştuktan sonra çiya tohumu alan tedavi grubunda ise öğrenme/belleğin etkilenmediğini gözlemledik. Çalışmamızdaki sonuçlara benzer olarak, Arendash ve ark. (2007) da transgenik AH farelerde yaptıkları çalışma sonucunda uzun süreli yüksek omega-3 yağ asidi takviyesinin standart bir diyetle karşılaştırıldığında bilişsel işlevlerde koruma ya da fayda sağlamadığını gözlemlemiştir. Laurin ve ark. (2003) Kanada'da 65 yaş üstü bireylerde yaptıkları taramada omega-3 çoklu doymamış yağ asitlerinin bilişsel işlevlerde ve demansta fayda sağlamadığını saptamışlardır. Bulgularımızın aksine Wu ve ark. (2016) APP/fat-1 fareleri ile yaptıkları çalışmada, beyinde zenginleştirilmiş omega-3 PUFA'ların varlığının bilişsel gerilemeyi yavaşlattığını ve AH'de nöropsikolojik bozukluğu önleyebileceği sonucuna varmışlardır.

Çalışmamızda AH modeli geliştirdiğimiz hayvanlarda açık alan testi ve yükseltilmiş artı labirent testi sonucunda anksiyete benzeri davranışın varlığını gözlemledik. Çalışmamıza benzer olarak Zhang ve ark. (2016) da üçlü transgenik farede oluşturdukları AH modelinde anksiyete benzeri davranışların varlığını gözlemlemiştir. Zare ve ark. (2015) da sıçanlarda hipokampus içerisine (CA1) A β enjeksiyonu uyguladıkları çalışmalarında, yükseltilmiş artı labirenti ve zorlu yüzme testi sonuçlarına göre sıçanlarda anksiyete ve depresyon benzeri davranışların varlığını saptamışlardır. Çalışmamızda omega-3 açısından zengin çiya tohumu tüketiminin anksiyete benzeri davranışa herhangi bir etkisi gözlenmemiştir. Chalon ve ark. (1998) da sıçanlarda, çiya tohumu gibi omega-3 açısından zengin balık yağı içeren diyetin yükseltilmiş artı labirent testi ölçümlerinde fark sağlamadığını gözlemlemiştir. Bulgularımızın aksine Vinot ve ark. (2011) yetişkin fare lemurlarında (insan olmayan primat türleri) yürüttükleri

çalışmada, 5 ay boyunca ton balığı yağından elde edikleri omega-3 PUFA desteğinin anksiyete ve spontan lokomotor aktiviteyi azalttığı, bilişsel performansta iyileşme sağladığını gözlemlemişlerdir. Nemeth ve ark. (2015) yaptıkları çalışmada 40 adet erkek ve 40 adet dişi kobay (guinea pigs) da sosyal stres oluşturmuş ve diyetlerine omega-3 ve omega-9 açısından zengin chia tohumu, ceviz ve yer fıstığı eklemişlerdir. Kobayların plazma yağ asiti düzeylerinde önemli ölçüde artış saptamalarına rağmen sosyal stres üzerine etkisiz olduğunu gözlemlemişlerdir.

Zorlu yüzme testi, antidepresan benzeri etkiyi değerlendirmek için en sık kullanılan modellerden biridir. Pasif davranışlarda azalma antidepresan benzeri bir etki olarak yorumlanmaktadır (Slattery ve Cryan 2012). Çalışmamızda AH modeli geliştirilmiş hayvanlarda zorlu yüzme testi sonuçlarına göre depresyon benzeri davranışın geliştiğini gözlemledik. Çalışmamıza benzer olarak, Liaquat ve ark. (2017) da AH modeli geliştirdikleri sıçanların zorlu yüzme testinde kontrol grubuna kıyasla hareketsizlik sürelerinin anlamlı şekilde arttığını yani depresyon benzeri davranışın varlığını gözlemlemişlerdir. Çalışmamızda yemlerine omega-3 ve polifenoller açısından zengin çiya tohumu eklenen ön tedavi ve tedavi gruplarının zorlu yüzme testinde hareketsiz geçirdikleri sürenin azaldığını yani antidepresan benzeri etkinin geliştiğini gözlemledik. Takeda ve ark (2002) da farelerde yaptıkları çalışmada çiya tohumunda da fazlaca bulunan rosmarinik asit ve kafeik asit gibi polifenollerin antidepresan benzeri etki gösterdiğini saptamışlardır. Dang ve ark. (2018) da sıçanlarda çiya gibi omega-3 açısından zengin balık yağı tüketiminin depresyon benzeri davranışı iyileştirdiğini gözlemlemişlerdir. Tang ve ark. (2015) sıçanlarda oluşturdukları depresyon modelinde omega-3 yağ asitlerinin antidepresan etkisini gözlemlemiştir.

Amiloid-beta AH'nın fizyopatolojisinde yer alan en önemli bileşenlerdendir (Cao ve ark. 2017). Sinyal iletim yollarını bozması nedeniyle nörotoksiktir (Small 2008). A β (1-42)'nin amiloidojenik potansiyeli yüksektir ve sinaptik disfonksiyon, nöronal kayıp ve nörotransmitter bozukluklarına yol açar. Bu durum bilişsel bozukluklarla ve hafıza kaybıyla ilişkilendirilir (Cao ve ark. 2017). Ayrıca A β reaktif oksijen türlerinin düzeylerini artırabilir, endoplazmik retikulum stresini indükleyebilir (Small 2008).

Çalışmamızda AH modeli oluşturduğumuz hayvanlarda öğrenme ve bellek bozukluklarını hem davranış deneyleriyle hem de hipokampüsten moleküler düzeyde A β

(1-42), total tau ve APP düzeylerinde ki artış ile gözlemledik. Çiya tohumu tüketen gruplarda ise A β (1-42), total tau ve APP düzeylerinde birbirlerine göre fark olmadığını saptadık. Sonuçlarımıza benzer olarak, Teng ve ark. (2015) da transgenik AH modeline sahip sıçanlarda omega-3 (DHA) takviyesinin hipokampüste A β (1-42) ve APP düzeylerinde değişiklik oluşturmadığını gözlemlemişlerdir.

Omega 3 yağ asitleri, serebral membran bileşiminde bulunur ve membran akışkanlığı, enzimatik aktivitelerin gerçekleşmesi, hücreler arası etkileşimler ve besin maddelerinin taşınması gibi işlevlerde rol alır. Çoklu doymamış yağ asitleri kan beyin bariyerini geçebilmektedir (Bourre 2004). Alüminyum nöral hücrelerde reaktif oksijen türlerinin oluşumunu uyarmakta ve beyinde lipit peroksidasyonunu arttırmaktadır. Ayrıca, alüminyum demir ile uyarılmış lipit peroksidasyonunu da arttırmaktadır. Demir, serbest radikal oluşumu için katalizör roldedir. Yüksek demir düzeyleri, alüminyum varlığında AH'de serbest radikal oluşumunu ve lipit peroksidasyonunu arttıracak potansiyele sahiptir (Markesbery 1997). Fenolik bileşikler güçlü antioksidanlar iken yüksek demir ve alüminyum varlığında prooksidanlara dönüşürler (Zhang ve Tsao 2016). AH modeli uygulanmış hayvanlarda yüksek antioksidan ve omega 3 içeren çiya tohumunun olumlu etkisinin görülmemesinde bahsedilen prooksidan dönüşümün katkısının olabileceğini sebebi olarak oksidatif düzeyde değişimlere yol açmış olabileceğini düşünmekteyiz.

6. SONUÇ

Alüminyum klorür+D-galaktoz ile oluşturulan deneysel Alzheimer hastalığı modeli öğrenme/belleği bozarken depresyon ve anksiyete benzeri davranışa sebep oldu. Model oluştuktan sonra çiya tohumu alınması öğrenme ve belleği etkilemezken model oluşturulurken alınan çiya tohumu öğrenme ve belleği daha da kötüleştirdi. AH modelinde çiya tohumunun, anksiyete benzeri davranış üzerine etkisi gözlemlenmedi. Hem ön tedavi hem tedavi gruplarında AH ilişkili depresyon benzeri davranışta iyileşme gözlemlendi. Kontrol grubuna kıyasla Alzheimer, ön tedavi ve tedavi gruplarında A β (1-42), total tau ve APP protein düzeylerinin anlamlı şekilde arttığı gözlemlendi. Çiya tohumu tüketen gruplarda ise A β (1-42), total tau ve APP düzeylerinde birbirlerine göre fark bulunamadı.

Sonuç olarak, çiyanın Alzheimer hastalığında hastalık prognozunu kötüleştirebileceği ortaya konulmuştur. Bu sonuçlara dayanarak Alzheimer hastalığında çiyanın dikkat ve tedbirle tüketilmesi önerilmelidir.

7. KAYNAKLAR

1. **Abdel-Aal RA, Assi AA, Kostandy BB.** Memantine Prevents Aluminum-Induced Cognitive Deficit in Rats. *Behav Brain Res*, **2011**, 225(1): p. 31-8.
2. **Ahmed M, Rocha JB, Correa M, Mazzanti CM, Zanin RF ve ark.** Inhibition of Two Different Cholinesterases by Tacrine. *Chem Biol Interact*, **2006**, 162(2): p. 165-71.
3. **Altman R, Rutledge JC.** The Vascular Contribution to Alzheimer's Disease. *Clin Sci (Lond)*, **2010**, 119(10): p. 407-21.
4. **Arendash GW, Jensen MT, Salem N, Jr., Hussein N, Cracchiolo J ve ark.** A Diet High in Omega-3 Fatty Acids Does Not Improve or Protect Cognitive Performance in Alzheimer's Transgenic Mice. *Neuroscience*, **2007**, 149(2): p. 286-302.
5. **Alzheimer's Association.** 2017 Alzheimer's Disease Facts and Figures. *Alzheimer's & Dementia*, **2017**, 13(4): p. 325-373.
6. **Auld DS, Kornecook TJ, Bastianetto S, Quirion R.** Alzheimer's Disease and the Basal Forebrain Cholinergic System: Relations to Beta-Amyloid Peptides, Cognition, and Treatment Strategies. *Prog Neurobiol*, **2002**, 68(3): p. 209-45.
7. **Balducci C, Beeg M, Stravalaci M, Bastone A, Scip A ve ark.** Synthetic Amyloid-Beta Oligomers Impair Long-Term Memory Independently of Cellular Prion Protein. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **2010**, 107(5): p. 2295-300.
8. **Bane TJ, Cole C.** Prevention of Alzheimer Disease: The Roles of Nutrition and Primary Care. *Nurse Pract*, **2015**, 40(5): p. 30-5; quiz 35-6.
9. **Barai P, Raval N, Acharya S, Acharya N.** Bergenia Ciliata Ameliorates Streptozotocin-Induced Spatial Memory Deficits through Dual Cholinesterase Inhibition and Attenuation of Oxidative Stress in Rats. *Biomed Pharmacother*, **2018**, 102: p. 966-980.
10. **Bavarsad K, Hadjzadeh MA, Hosseini M, Pakdel R, Beheshti F ve ark.** Effects of Levothyroxine on Learning and Memory Deficits in a Rat Model of Alzheimer's Disease: The Role of Bdnf and Oxidative Stress. *Drug Chem Toxicol*, **2018**: p. 1-7.
11. **Benussi L, Binetti G, Ghidoni R.** Loss of Neuroprotective Factors in Neurodegenerative Dementias: The End or the Starting Point? *Front Neurosci*, **2017**, 11: p. 672.
12. **Binder DK, Scharfman HE.** Brain-Derived Neurotrophic Factor. *Growth Factors*, **2004**, 22(3): p. 123-31.
13. **Bloom GS.** Amyloid-Beta and Tau: The Trigger and Bullet in Alzheimer Disease Pathogenesis. *JAMA Neurol*, **2014**, 71(4): p. 505-8.
14. **Bourre J.** Roles of Unsaturated Fatty Acids (Especially Omega-3 Fatty Acids) in the Brain at Various Ages and During Ageing. *J Nutr*, **2004**, 8: p. 163-174.
15. **Braak H, Braak E.** Alzheimer's Disease Affects Limbic Nuclei of the Thalamus. *Acta Neuropathol*, **1991**, 81(3): p. 261-8.
16. **Brenna JT, Salem N, Jr., Sinclair AJ, Cunnane SC, International Society for the Study of Fatty A ve ark.** Alpha-Linolenic Acid Supplementation and Conversion to N-3 Long-Chain Polyunsaturated Fatty Acids in Humans. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, **2009**, 80(2-3): p. 85-91.
17. **Breteler MM.** Vascular Risk Factors for Alzheimer's Disease: An Epidemiologic Perspective. *Neurobiol Aging*, **2000**, 21(2): p. 153-60.
18. **Brunden KR, Trojanowski JQ, Lee VM.** Advances in Tau-Focused Drug Discovery for Alzheimer's Disease and Related Tauopathies. *Nat Rev Drug Discov*, **2009**, 8(10): p. 783-93.
19. **Cao Z, Wang F, Xiu C, Zhang J, Li Y.** Hypericum Perforatum Extract Attenuates Behavioral, Biochemical, and Neurochemical Abnormalities in Aluminum Chloride-Induced Alzheimer's Disease Rats. *Biomed Pharmacother*, **2017**, 91: p. 931-937.
20. **Chalon S, Delion-Vancassel S, Belzung C, Guilloteau D, Leguisquet AM ve ark.** Dietary Fish Oil Affects Monoaminergic Neurotransmission and Behavior in Rats. *J Nutr*, **1998**, 128(12): p. 2512-9.
21. **Chicco AG, D'Alessandro ME, Hein GJ, Oliva ME, Lombardo YB.** Dietary Chia Seed (*Salvia Hispanica* L.) Rich in Alpha-Linolenic Acid Improves Adiposity and Normalises Hypertriacylglycerolaemia and Insulin Resistance in Dyslipaemic Rats. *Br J Nutr*, **2009**, 101(1): p. 41-50.

22. **Chiroma SM, Mohd Moklas MA, Mat Taib CN, Baharuldin MTH, Amon Z.** D-Galactose and Aluminium Chloride Induced Rat Model with Cognitive Impairments. *Biomed Pharmacother*, **2018**, 103: p. 1602-1608.
23. **Coates W.** Production Potential of Chia in Northwestern Argentina. *Industrial Crops and Products*, **1996**, 5(3): p. 229-233.
24. **Dang R, Zhou X, Tang M, Xu P, Gong X ve ark.** Fish Oil Supplementation Attenuates Neuroinflammation and Alleviates Depressive-Like Behavior in Rats Submitted to Repeated Lipopolysaccharide. *Eur J Nutr*, **2018**, 57(3): p. 893-906.
25. **Dawkins E, Small DH.** Insights into the Physiological Function of the Beta-Amyloid Precursor Protein: Beyond Alzheimer's Disease. *J Neurochem*, **2014**, 129(5): p. 756-69.
26. **De-Paula VJ, Radanovic M, Diniz BS, Forlenza OV.** Alzheimer's Disease. *Subcell Biochem*, **2012**, 65: p. 329-52.
27. **Erdogan H, Fadillioglu E, Ozgocmen S, Sogut S, Ozyurt B ve ark.** Effect of Fish Oil Supplementation on Plasma Oxidant/Antioxidant Status in Rats. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, **2004**, 71(3): p. 149-52.
28. **Flaten TP, Alfrey AC, Birchall JD, Savory J, Yokel RA.** Status and Future Concerns of Clinical and Environmental Aluminum Toxicology. *J Toxicol Environ Health*, **1996**, 48(6): p. 527-41.
29. **Frilling MJ, Wiet GJ, Godfrey DA, Parli JA, Dunn JD ve ark.** Effects of Surgical Lesions on Choline Acetyltransferase Activity in the Cat Cochlea. *Hear Res*, **2017**, 356: p. 16-24.
30. **Frezza RL, Lourenco MV, De Felice FG.** Challenges for Alzheimer's Disease Therapy: Insights from Novel Mechanisms Beyond Memory Defects. *Front Neurosci*, **2018**, 12: p. 37.
31. **Galli C, Marangoni F.** N-3 Fatty Acids in the Mediterranean Diet. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential fatty acids*, **2006**, 75(3): p. 129-133.
32. **Gong QH, Wu Q, Huang XN, Sun AS, Nie J ve ark.** Protective Effect of Ginkgo Biloba Leaf Extract on Learning and Memory Deficit Induced by Aluminum in Model Rats. *Chin J Integr Med*, **2006**, 12(1): p. 37-41.
33. **Grisaru D, Sternfeld M, Eldor A, Glick D, Soreq H.** Structural Roles of Acetylcholinesterase Variants in Biology and Pathology. *Eur J Biochem*, **1999**, 264(3): p. 672-86.
34. **Guevara-Cruz M, Tovar AR, Aguilar-Salinas CA, Medina-Vera I, Gil-Zenteno L ve ark.** A Dietary Pattern Including Nopal, Chia Seed, Soy Protein, and Oat Reduces Serum Triglycerides and Glucose Intolerance in Patients with Metabolic Syndrome. *J Nutr*, **2012**, 142(1): p. 64-9.
35. **Gunstad J, Paul RH, Cohen RA, Tate DF, Spitznagel MB ve ark.** Elevated Body Mass Index Is Associated with Executive Dysfunction in Otherwise Healthy Adults. *Compr Psychiatry*, **2007**, 48(1): p. 57-61.
36. **Hawley WR, Witty CF, Daniel JM, Dohanich GP.** Choline Acetyltransferase in the Hippocampus Is Associated with Learning Strategy Preference in Adult Male Rats. *Behav Brain Res*, **2015**, 289: p. 118-24.
37. **Herculano-Houzel S.** The Human Brain in Numbers: A Linearly Scaled-up Primate Brain. *Front Hum Neurosci*, **2009**, 3: p. 31.
38. **Hooijmans CR, Kiliaan AJ.** Fatty Acids, Lipid Metabolism and Alzheimer Pathology. *Eur J Pharmacol*, **2008**, 585(1): p. 176-96.
39. **Hooper NM, Karran EH, Turner AJ.** Membrane Protein Secretases. *Biochem J*, **1997**, 321 (Pt 2): p. 265-79.
40. **Imran M, Nadeem M, Manzoor MF, Javed A, Ali Z ve ark.** Fatty Acids Characterization, Oxidative Perspectives and Consumer Acceptability of Oil Extracted from Pre-Treated Chia (*Salvia Hispanica L.*) Seeds. *Lipids Health Dis*, **2016**, 15(1): p. 162.
41. **Ixtaina VY, Martínez ML, Spotorno V, Mateo CM, Maestri DM ve ark.** Characterization of Chia Seed Oils Obtained by Pressing and Solvent Extraction. *Journal of Food Composition and Analysis*, **2011**, 24(2): p. 166-174.
42. **Ixtaina VY, Nolasco SM, Tomas MC.** Physical Properties of Chia (*Salvia Hispanica L.*) Seeds. *Industrial crops and products*, **2008**, 28(3): p. 286-293.
43. **Jin F, Nieman DC, Sha W, Xie G, Qiu Y ve ark.** Supplementation of Milled Chia Seeds Increases Plasma Ala and Epa in Postmenopausal Women. *Plant Foods Hum Nutr*, **2012**, 67(2): p. 105-10.
44. **Kaizer RR, Correa MC, Gris LR, da Rosa CS, Bohrer D ve ark.** Effect of Long-Term Exposure to Aluminum on the Acetylcholinesterase Activity in the Central Nervous System and Erythrocytes. *Neurochem Res*, **2008**, 33(11): p. 2294-301.
45. **Kalmijn S, Launer LJ, Ott A, Witteman JC, Hofman A ve ark.** Dietary Fat Intake and the Risk of Incident Dementia in the Rotterdam Study. *Ann Neurol*, **1997**, 42(5): p. 776-82.

46. **Kamphuis P, Wurtman R.** Nutrition and Alzheimer's Disease: Pre- Clinical Concepts. *European journal of neurology*, **2009**, 16(s1): p. 12-18.
47. **Kang S, Lee YH, Lee JE.** Metabolism-Centric Overview of the Pathogenesis of Alzheimer's Disease. *Yonsei Med J*, **2017**, 58(3): p. 479-488.
48. **Keuck L.** Slicing the Cortex to Study Mental Illness: Alois Alzheimer's Pictures of Equivalence. *Prog Brain Res*, **2017**, 233: p. 25-51.
49. **Khan H, Marya, Amin S, Kamal MA, Patel S.** Flavonoids as Acetylcholinesterase Inhibitors: Current Therapeutic Standing and Future Prospects. *Biomed Pharmacother*, **2018**, 101: p. 860-870.
50. **Khan KA, Kumar N, Nayak PG, Nampoothiri M, Shenoy RR ve ark.** Impact of Caffeic Acid on Aluminium Chloride- Induced Dementia in Rats. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, **2013**, 65(12): p. 1745-1752.
51. **Kim LD, Factora RM.** Alzheimer Dementia: Starting, Stopping Drug Therapy. *Cleve Clin J Med*, **2018**, 85(3): p. 209-214.
52. **Kivipelto M, Ngandu T, Fratiglioni L, Viitanen M, Kareholt I ve ark.** Obesity and Vascular Risk Factors at Midlife and the Risk of Dementia and Alzheimer Disease. *Arch Neurol*, **2005**, 62(10): p. 1556-60.
53. **Kumar R, Kumar A, Langstrom B, Darreh-Shori T.** Discovery of Novel Choline Acetyltransferase Inhibitors Using Structure-Based Virtual Screening. *Sci Rep*, **2017**, 7(1): p. 16287.
54. **Laurin D, Verreault R, Lindsay J, Dewailly E, Holub BJ.** Omega-3 Fatty Acids and Risk of Cognitive Impairment and Dementia. *J Alzheimers Dis*, **2003**, 5(4): p. 315-22.
55. **Levada OA, Cherednichenko NV.** [Brain-Derived Neurotrophic Factor (Bdnf): Neurobiology and Marker Value in Neuropsychiatry]. *Lik Sprava*, **2015**(3-4): p. 15-25.
56. **Liaquat L, Ahmad S, Sadir S, Batool Z, Khaliq S ve ark.** Development of Ad Like Symptoms Following Co-Administration of Alcl3 and D-Gal in Rats: A Neurochemical, Biochemical and Behavioural Study. *Pak J Pharm Sci*, **2017**, 30(2(Suppl.)): p. 647-653.
57. **Lim GP, Calon F, Morihara T, Yang F, Teter B ve ark.** A Diet Enriched with the Omega-3 Fatty Acid Docosahexaenoic Acid Reduces Amyloid Burden in an Aged Alzheimer Mouse Model. *Journal of Neuroscience*, **2005**, 25(12): p. 3032-3040.
58. **Liu Y, Liu F, Grundke-Iqbal I, Iqbal K, Gong CX.** Deficient Brain Insulin Signalling Pathway in Alzheimer's Disease and Diabetes. *J Pathol*, **2011**, 225(1): p. 54-62.
59. **Luo Y, Niu F, Sun Z, Cao W, Zhang X ve ark.** Altered Expression of Abeta Metabolism-Associated Molecules from D-Galactose/Alcl(3) Induced Mouse Brain. *Mech Ageing Dev*, **2009**, 130(4): p. 248-52.
60. **Marcinek K, Krejpcio Z.** Chia Seeds (Salvia Hispanica): Health Promoting Properties and Therapeutic Applications - a Review. *Rocz Panstw Zakl Hig*, **2017**, 68(2): p. 123-129.
61. **Marksbery WR.** Oxidative Stress Hypothesis in Alzheimer's Disease. *Free Radical Biology and Medicine*, **1997**, 23(1): p. 134-147.
62. **Martinez-Cruz O, Paredes-Lopez O.** Phytochemical Profile and Nutraceutical Potential of Chia Seeds (Salvia Hispanica L.) by Ultra High Performance Liquid Chromatography. *J Chromatogr A*, **2014**, 1346: p. 43-8.
63. **Martins IJ, Hone E, Foster JK, Sunram-Lea SI, Gnjec A ve ark.** Apolipoprotein E, Cholesterol Metabolism, Diabetes, and the Convergence of Risk Factors for Alzheimer's Disease and Cardiovascular Disease. *Mol Psychiatry*, **2006**, 11(8): p. 721-36.
64. **Maurer K, Volk S, Gerbaldo H.** Auguste D and Alzheimer's Disease. *Lancet*, **1997**, 349(9064): p. 1546-9.
65. **Mayeux R, Stern Y.** Epidemiology of Alzheimer Disease. *Cold Spring Harb Perspect Med*, **2012**, 2(8).
66. **Mohd Ali N, Yeap SK, Ho WY, Beh BK, Tan SW ve ark.** The Promising Future of Chia, Salvia Hispanica L. *J Biomed Biotechnol*, **2012**, 2012: p. 171956.
67. **Morley JE, Farr SA, Banks WA, Johnson SN, Yamada KA ve ark.** A Physiological Role for Amyloid-Beta Protein: Enhancement of Learning and Memory. *J Alzheimers Dis*, **2010**, 19(2): p. 441-9.
68. **Muramatsu N, Akiyama H.** Japan: Super-Aging Society Preparing for the Future. *The Gerontologist*, **2011**, 51(4): p. 425-432.
69. **Nemeth M, Millesi E, Wagner KH, Wallner B.** Sex-Specific Effects of Diets High in Unsaturated Fatty Acids on Spatial Learning and Memory in Guinea Pigs. *PLoS One*, **2015**, 10(10): p. e0140485.
70. **Oda Y.** Choline Acetyltransferase: The Structure, Distribution and Pathologic Changes in the Central Nervous System. *Pathol Int*, **1999**, 49(11): p. 921-37.
71. **Ouyang QQ, Zhao S, Li SD, Song C.** Application of Chitosan, Chitooligosaccharide, and Their Derivatives in the Treatment of Alzheimer's Disease. *Mar Drugs*, **2017**, 15(11).

72. **Oz M, Demir EA, Caliskan M, Mogulkoc R, Baltaci AK ve ark.** 3', 4'-Dihydroxyflavonol Attenuates Spatial Learning and Memory Impairments in Global Cerebral Ischemia. *Nutritional neuroscience*, **2017**, 20(2): p. 119-126.
73. **Pajak B, Kania E, Orzechowski A.** Killing Me Softly: Connotations to Unfolded Protein Response and Oxidative Stress in Alzheimer's Disease. *Oxid Med Cell Longev*, **2016**, 2016: p. 1805304.
74. **Pantel J.** [Alzheimer's Disease from Auguste Deter to the Present : Progress, Disappointments and Open Questions]. *Z Gerontol Geriatr*, **2017**, 50(7): p. 576-587.
75. **Parihar MS, Brewer GJ.** Amyloid-Beta as a Modulator of Synaptic Plasticity. *J Alzheimers Dis*, **2010**, 22(3): p. 741-63.
76. **Pearson HA, Peers C.** Physiological Roles for Amyloid Beta Peptides. *J Physiol*, **2006**, 575(Pt 1): p. 5-10.
77. **Pomponi M, Bria P, Pomponi M.** Is Alzheimer's Disease a Synaptic Disorder? *J Alzheimers Dis*, **2008**, 13(1): p. 39-47.
78. **Potter GG, Steffens DC.** Contribution of Depression to Cognitive Impairment and Dementia in Older Adults. *Neurologist*, **2007**, 13(3): p. 105-17.
79. **Ramirez-Bermudez J.** Alzheimer's Disease: Critical Notes on the History of a Medical Concept. *Arch Med Res*, **2012**, 43(8): p. 595-9.
80. **Ravi SK, Ramesh BN, Mundugaru R, Vincent B.** Multiple Pharmacological Activities of Caesalpinia Crista against Aluminium-Induced Neurodegeneration in Rats: Relevance for Alzheimer's Disease. *Environ Toxicol Pharmacol*, **2018**, 58: p. 202-211.
81. **Rodgers R, Johnson N.** Factor Analysis of Spatiotemporal and Ethological Measures in the Murine Elevated Plus-Maze Test of Anxiety. *Pharmacology biochemistry and behavior*, **1995**, 52(2): p. 297-303.
82. **Sarazin M, de Souza LC, Lehericy S, Dubois B.** Clinical and Research Diagnostic Criteria for Alzheimer's Disease. *Neuroimaging Clin N Am*, **2012**, 22(1): p. 23-32.
83. **Sennvik K, Fastbom J, Blomberg M, Wahlund LO, Winblad B ve ark.** Levels of Alpha- and Beta-Secretase Cleaved Amyloid Precursor Protein in the Cerebrospinal Fluid of Alzheimer's Disease Patients. *Neurosci Lett*, **2000**, 278(3): p. 169-72.
84. **Seshadri S, Beiser A, Selhub J, Jacques PF, Rosenberg IH ve ark.** Plasma Homocysteine as a Risk Factor for Dementia and Alzheimer's Disease. *N Engl J Med*, **2002**, 346(7): p. 476-83.
85. **Shin K, Cha Y, Kim KS, Choi EK, Choi Y ve ark.** Human Neural Stem Cells Overexpressing Choline Acetyltransferase Restore Unconditioned Fear in Rats with Amygdala Injury. *Behav Neurol*, **2016**, 2016: p. 8521297.
86. **Slattery DA, Cryan JF.** Using the Rat Forced Swim Test to Assess Antidepressant-Like Activity in Rodents. *Nature protocols*, **2012**, 7(6): p. 1009.
87. **Small DH.** Network Dysfunction in Alzheimer's Disease: Does Synaptic Scaling Drive Disease Progression? *Trends Mol Med*, **2008**, 14(3): p. 103-8.
88. **Steele M, Stuchbury G, Munch G.** The Molecular Basis of the Prevention of Alzheimer's Disease through Healthy Nutrition. *Exp Gerontol*, **2007**, 42(1-2): p. 28-36.
89. **Takeda H, Tsuji M, Inazu M, Egashira T, Matsumiya T.** Rosmarinic Acid and Caffeic Acid Produce Antidepressant-Like Effect in the Forced Swimming Test in Mice. *Eur J Pharmacol*, **2002**, 449(3): p. 261-7.
90. **Tang M, Jiang P, Li H, Cai H, Liu Y ve ark.** Antidepressant-Like Effect of N-3 Pufas in Cums Rats: Role of Tpa/Pai-1 System. *Physiol Behav*, **2015**, 139: p. 210-5.
91. **Teng E, Taylor K, Bilousova T, Weiland D, Pham T ve ark.** Dietary Dha Supplementation in an App/Ps1 Transgenic Rat Model of Ad Reduces Behavioral and Abeta Pathology and Modulates Abeta Oligomerization. *Neurobiol Dis*, **2015**, 82: p. 552-560.
92. **Thippeswamy AH, Rafiq M, Viswantha GL, Kavya KJ, Anturlikar SD ve ark.** Evaluation of Bacopa Monniera for Its Synergistic Activity with Rivastigmine in Reversing Aluminum-Induced Memory Loss and Learning Deficit in Rats. *J Acupunct Meridian Stud*, **2013**, 6(4): p. 208-13.
93. **Tyan SH, Shih AY, Walsh JJ, Maruyama H, Sarsoza F ve ark.** Amyloid Precursor Protein (App) Regulates Synaptic Structure and Function. *Mol Cell Neurosci*, **2012**, 51(1-2): p. 43-52.
94. **Uematsu M, Nakamura A, Ebashi M, Hirokawa K, Takahashi R ve ark.** Brainstem Tau Pathology in Alzheimer's Disease Is Characterized by Increase of Three Repeat Tau and Independent of Amyloid Beta. *Acta Neuropathol Commun*, **2018**, 6(1): p. 1.
95. **Ulbricht C, Chao W, Nummy K, Rusie E, Tanguay-Colucci S ve ark.** Chia (Salvia Hispanica): A Systematic Review by the Natural Standard Research Collaboration. *Rev Recent Clin Trials*, **2009**, 4(3): p. 168-74.

96. **Ullah R, Nadeem M, Khalique A, Imran M, Mehmood S ve ark.** Nutritional and Therapeutic Perspectives of Chia (*Salvia Hispanica L.*): A Review. *J Food Sci Technol*, **2016**, 53(4): p. 1750-8.
97. **Ullman-Culleré MH, Foltz CJ.** Body Condition Scoring: A Rapid and Accurate Method for Assessing Health Status in Mice. *Comparative Medicine*, **1999**, 49(3): p. 319-323.
98. **Vinot N, Jouin M, Lhomme-Duchadeuil A, Guesnet P, Alessandri JM ve ark.** Omega-3 Fatty Acids from Fish Oil Lower Anxiety, Improve Cognitive Functions and Reduce Spontaneous Locomotor Activity in a Non-Human Primate. *PLoS One*, **2011**, 6(6): p. e20491.
99. **Von Arnim CA, Gola U, Biesalski HK.** More Than the Sum of Its Parts? Nutrition in Alzheimer's Disease. *Nutrition*, **2010**, 26(7-8): p. 694-700.
100. **Vuksan V, Whitham D, Sievenpiper JL, Jenkins AL, Rogovik AL ve ark.** Supplementation of Conventional Therapy with the Novel Grain Salba (*Salvia Hispanica L.*) Improves Major and Emerging Cardiovascular Risk Factors in Type 2 Diabetes: Results of a Randomized Controlled Trial. *Diabetes Care*, **2007**, 30(11): p. 2804-10.
101. **Willhite CC, Karyakina NA, Yokel RA, Yenugadhathi N, Wisniewski TM ve ark.** Systematic Review of Potential Health Risks Posed by Pharmaceutical, Occupational and Consumer Exposures to Metallic and Nanoscale Aluminum, Aluminum Oxides, Aluminum Hydroxide and Its Soluble Salts. *Crit Rev Toxicol*, **2014**, 44 Suppl 4: p. 1-80.
102. **Wu K, Gao X, Shi B, Chen S, Zhou X ve ark.** Enriched Endogenous N-3 Polyunsaturated Fatty Acids Alleviate Cognitive and Behavioral Deficits in a Mice Model of Alzheimer's Disease. *Neuroscience*, **2016**, 333: p. 345-55.
103. **Yang W, Shi L, Chen L, Zhang B, Ma K ve ark.** Protective Effects of Perindopril on D-Galactose and Aluminum Trichloride Induced Neurotoxicity Via the Apoptosis of Mitochondria-Mediated Intrinsic Pathway in the Hippocampus of Mice. *Brain Res Bull*, **2014**, 109: p. 46-53.
104. **Yang W, Shi L, Chen L, Zhang B, Ma K ve ark.** Protective Effects of Perindopril on D-Galactose and Aluminum Trichloride Induced Neurotoxicity Via the Apoptosis of Mitochondria-Mediated Intrinsic Pathway in the Hippocampus of Mice. *Brain research bulletin*, **2014**, 109: p. 46-53.
105. **Yokel RA, O'Callaghan JP.** An Aluminum-Induced Increase in Gfap Is Attenuated by Some Chelators. *Neurotoxicol Teratol*, **1998**, 20(1): p. 55-60.
106. **Zadubrovskiy P, Stepanova A, Lopatina N, Litvinov YN.** Behavior of Subadult Mountain Voles of Two Species (*Alticola Strelzowi* and *A. Tuvnicus*) in the Open Field Test. *Contemporary Problems of Ecology*, **2017**, 10(3): p. 224-229.
107. **Zare N, Khalifeh S, Khodaghali F, Shahamati SZ, Motamedi F ve ark.** Geldanamycin Reduces Abeta-Associated Anxiety and Depression, Concurrent with Autophagy Provocation. *J Mol Neurosci*, **2015**, 57(3): p. 317-24.
108. **Zhang C.** Developing Effective Therapeutics for Alzheimer's Disease -- Emerging Mechanisms and Actions in Translational Medicine. *Discov Med*, **2017**, 23(125): p. 105-111.
109. **Zhang H, Tsao R.** Dietary Polyphenols, Oxidative Stress and Antioxidant and Anti-Inflammatory Effects. *Current Opinion in Food Science*, **2016**, 8: p. 33-42.
110. **Zhang Q, Li X, Cui X, Zuo P.** D-Galactose Injured Neurogenesis in the Hippocampus of Adult Mice. *Neurol Res*, **2005**, 27(5): p. 552-6.
111. **Zhang YL, Xing RZ, Luo XB, Xu H, Chang RC ve ark.** Anxiety-Like Behavior and Dysregulation of Mir-34a in Triple Transgenic Mice of Alzheimer's Disease. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, **2016**, 20(13): p. 2853-62.
112. **Zhuo JM, Pratico D.** Acceleration of Brain Amyloidosis in an Alzheimer's Disease Mouse Model by a Folate, Vitamin B6 and B12-Deficient Diet. *Exp Gerontol*, **2010**, 45(3): p. 195-201.

EKLER

EK 1

ETİK KURUL ONAY FORMU

Evrak Tarih ve Sayısı: 09/05/2017-E.27875

GİZLİ



T.C.
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

Sayı :40595970-050.99/
Konu :Yrd. Doç. Dr. Enver Ahmet
DEMİR

SAYIN YRD.DOÇ.DR. ENVER AHMET DEMİR
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI ÖĞRETİM ÜYESİ

İlgi :19/04/2017 tarihli 32849964-604.01.01-23990 sayılı yazı,

Kurulumuzun 27/04/2017 tarihli toplantısında almış olduğu 2017/4-1 numaralı karar aşağıda sunulmuştur.
Bilgilerinize rica ederim

Prof.Dr. Muhammed Enes ALTUĞ
Başkan

KARAR 2017/4-1 Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Enver Ahmet DEMİR'in (Fizyoloji AD) yürütücüsü olduğu ve Yüksek Lisans Öğrencisi Yasemin BİLGİÇ'in ortak çalışmaları "*DeneySEL Alzheimer Hastalığı Modelinde Çiya (Salvia Hispanica L.) Tohumunun Etkisi*" adlı proje önerisi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesine uygun bulunarak onaylanmasına oybirliğiyle karar verilmiştir

Mevcut Elektronik İmzalar

MUHAMMED ENES ALTUĞ (Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu - Başkan) 09/05/2017 11:08

GİZLİ

T: F:
E-Posta : Web:
İletişim: Hükümet Ardılı (Dahili: 3262433845)



Bu belge 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. Maddesi gereğince güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

ETİK KURUL ONAY FORMU

Evrak Tarih ve Sayısı: 02/07/2018-E.38038

GİZLİ



T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

Sayı :40595970-604.01.01-
Konu :Dr. Öğretim Üyesi Enver
Ahmet DEMİR

SAYIN DR. ÖĞR. ÜYESİ ENVER AHMET DEMİR
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI ÖĞRETİM ÜYESİ

İlgi : 21/06/2018 tarihli 32849964-604.01.01-35976 sayılı yazı.

Kurulumuzun 29/06/2018 tarihli toplantısında almış olduğu 2018/6-3 numaralı karar aşağıda sunulmuştur.

Bilgilerinize rica ederim.

Prof.Dr. Muhammed Enes ALTUĞ
Başkan

KARAR 2018/6-3 Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Enver Ahmet DEMİR'in (Fizyoloji AD) yürütücüsü olduğu ve Yüksek Lisans Öğrencisi Yasemin BİLGİÇ'in ortak çalışmaları "*Deneyel Alzheimer Hastalığı Modelinde Çiya (Salvia Hispanica L.) Tohumunun Etkisi*" başlıklı projesi 27/04/2017 tarih ve 2017/4-1 sayılı karar ile HADYEK onayı almış olup, Proje başlığı ve içerikte hiçbir değişiklik yapılmaksızın materyal metoda Zorlu Yüzme Testi ve Yükseltilmiş Artı Labirent Testi yöntemlerinin eklenmesi hakkındaki dilekçesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesine uygun bulunarak onaylanmasına oybirliğiyle karar verilmiştir.

Mevcut Elektronik İmzalar

MUHAMMED ENES ALTUĞ (Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu - Başkan) 02/07/2018 15:51

GİZLİ

T: F:
E-Posta: Web:
İletişim: Hükümet Ardılı (Dahili: 3262455845)



Bu belge 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. Maddesi gereğince güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

ÖZGEÇMİŞ

1990 yılında Gaziantep'de doğdu. İlk, orta ve lise eğitimini Gaziantep'de tamamladı. 2008 yılında Yakın Doğu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümünde lisans eğitimine başladı. 2013 yılında mezun oldu. 2014 yılından beri Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Hastanesi'nde diyetisyen olarak görev yapmaktadır. 2015 yılında Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıp Fizyoloji Ana Bilim Dalında yüksek lisans eğitimine başladı.

