

I

T.C.
Süleyman Demirel Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Biyokimya Anabilim Dalı

**BAZI YAĞ DİYETLERİNİN SIÇAN HİPOKAMPUS
DOKUSUNUN YAĞ ASİTİ KOMPOZİSYONU VE NMDA
RESEPTÖR ALTBİRİMLERİ ÜZERİNE ETKİSİ**

Dr. Hilmi DEMİRİN

DOKTORA TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Fatih GÜLTEKİN

**Bu tez Süleyman Demirel Üniversitesi Araştırma Projeleri Yönetim Birimi
tarafından 1521D-07 proje numarası ile desteklenmiştir.**

2008-İSPARTA

KABUL ve ONAY SAYFASI**Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne****Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalı Başkanlığı doktora programı çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından doktora tezi olarak kabul edilmiştir.****Doktora Tez Savunma Tarihi: 07.03.2008****Tez Danışmanı: Prof. Dr. Fatih GÜLTEKİN**
(SDÜ Tıp Fak. Biyokimya A.D.)**Üye: Prof. Dr. Namık DELİBAŞ**
(SDÜ Tıp Fak. Biyokimya A.D.)**Üye: Prof. Dr. Hüseyin VURAL**
(SDÜ Tıp Fak. Biyokimya A.D.)**Üye: Prof. Dr. Halis KÖYLÜ**
(SDÜ Tıp Fak. Fizyoloji A.D.)**Üye: Prof. Dr. Bünyamin KAPTANOĞLU**
(Pamukkale Üniv. Tıp Fak. Biyokimya A.D.)**ONAY: Bu doktora tezi, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu Kararıyla kabul edilmiştir.****Prof. Dr. Halis KÖYLÜ**
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Kaliteli ve iyi donanımlı bir laboratuvarın üniversitemiz bünyesinde kurulmasında büyük emeği geçen, yüksek standartlarda hasta hizmeti sunularak tıpta uzmanlık ve doktora eğitimi verilmesinde örnek teşkil eden Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Namık DELİBAŞ, doktora eğitimim boyunca bilgi ve tecrübeleriyle bana yol gösteren, doktora tezimin hazırlanması sürecinde de katkılarını esirgememiş olan tez danışmanım Prof. Dr. Fatih GÜLTEKİN, destekleriyle her zaman yanımda olan değerli hocalarım Prof. Dr. Hüseyin VURAL, Doç. Dr. İrfan ALTUNTAŞ, Doç. Dr. Recep SÜTÇÜ, Yrd. Doç. Dr. Mehmet AKDOĞAN ve Yrd. Doç. Dr. Duygu Kumbul DOĞUÇ'a teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Laboratuvar içerisinde beraber çalışmaktan mutlu olduğum araştırma görevlisi arkadaşlarım Dr. Onur AKTÜRK, Dr. Yusuf KARA, Dr. Medine Cumhuri CÜRE, Dr. Betül MERMİ, Dr. Hicran HİÇYILMAZ, Dr. Havva KOÇAK, Dr. Süheyla ÇELİK, Dr. Hayati GÜNEŞ, Dr. Tekin TAŞ, Dr. Halil KARAKOÇ; teknisyen arkadaşlarım ve bana verdikleri emek ve gösterdikleri sevgileri ile her zaman yanımda olan annem, babam, eşim ve çocuklarıma teşekkürlerimi borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

KABUL ve ONAY SAYFASI	i
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER	iii
KISALTMALAR	v
ŞEKİL ve TABLO LİSTESİ	vi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Sinir Sistemi ve Yağ Asitleri	2
2.1.1. ÇDYA ve Hafıza	10
2.2. Hipokampus	11
2.2.1. Hipokampusun Yapısı ve Fonksiyonları	11
2.2.2. Hipokampusun Patolojileri	14
2.3. N-Metil D-Aspartat (NMDA) Reseptörleri.....	15
2.3.1. Glutamat reseptörleri.....	15
2.3.2. NMDA'nın Yapısı.....	17
2.3.3. NMDA'nın Fizyolojisi	20
2.3.4. NMDA'nın Lokalizasyonu	22
2.3.5. NMDA'nın Öğrenme ve Hafızadaki Rolü	23
2.3.6. Nörolojik Hastalıklar.....	24
3. MATERYAL ve METOD	26
3.1. Materyal	26
3.1.1. Deney Hayvanları.....	26
3.1.2. Sıçan Yemi Besin İçeriği	28
3.1.3. Sıçan Yemi Ve Diyetlerin Yağ Asiti Yüzdeleri.....	28
3.1.4. Kullanılan Malzemeler ve Aletler	29
3.1.5. Kullanılan Kimyasal Maddeler	29
3.1.6. Kullanılan Çözeltiler	31
3.2. Metod	33
3.2.1. Hipokampus Örneklerinin Homojenizasyonu.....	33
3.2.2. Lipit Peroksidasyonunun Tayini	34

3.2.3. SDS-PAGE Yöntemi.....	35
3.2.4. Western Blot Yöntemi	35
3.2.5. Yağ Asiti Tayini.....	35
3.2.6. Protein Tayini.....	36
3.2.7. İstatiksel Analiz.....	36
4. SONUÇLAR	37
4.1. NR2A ve NR2B Reseptör Düzeyleri	37
4.2. Hipokampus Yağ Asidi Kompozisyon Yüzdeleri.....	40
4.2.1. DYA, TDYA ve ÇDYA.....	40
4.2.2. DHA, AA ve Oleik Asit	43
4.3 Hipokampus MDA Düzeyleri	48
5. TARTIŞMA	49
ÖZET.....	61
SUMMARY	62
KAYNAKLAR	63

KISALTMALAR

AA	: (Araşidonik asit)
ALA	: (α -Linoleik Asit, $\omega(n)$ -6)
LNA	: (Linolenik Asit, n-3)
AMPA	: (α -amino 3 hidroksi 5 metil 4 izoksozol propionat)
BHT	: (Butylated Hydroxytoluene)
CAMK II	: (Ca ²⁺ / kalmodulin bağımlı protein kinaz II)
C-FOS	: (Hüresel Onkojenik Gen)
cGMP	: (Siklik GMP)
ÇDYA	: (Çoklu Doymamış Yağ Asitleri)
DHA	: (Dokzaheksaenoik Asit)
DNA	: (Deoksiribonükleik Asit)
DYA	: (Doymuş Yağ Asitleri)
EEG	: (Elektroensefalografi)
EPA	: (Eikosapentaenoik Asit)
EPSP	: (Eksitator Postsinaptik Potansiyel)
HDL	: (Yüksek Dansiteli Lipoprotein)
iGluR	: (İyonotropik Glutamat Reseptör)
GluRs	: (Glutamat Reseptörleri)
GluR1, GluR2, GluR3, GluR4	: (AMPA Reseptör Altbirimi),
GluR5, GluR6, GluR7, KA1, KA2	: (Kainat Reseptör Altbirimi)
GPR	: (G-Protein İlişkili Reseptörler)
LA	: (Linoleik asit, n-6)
LDL	: (Düşük dansiteli lipoprotein)
LTD	: (Long Term Depression)
LTP	: (Long Term Potentiation)
MDA	: (Malondialdehid)
NMDA	: (N-Metil-D-Aspartat)
NOS	: (Nitrikoksitsentaz)
NR1, NR2A, NR2B, NR2C, NR2D, NR3A, NR3B	: (NMDA Reseptör Altbirimi)
PKC	: (Protein Kinaz-C)
ROS	: (Reaktif Oksijen Türleri)
SDS-PAGE	: (Sodyum Dodesil Sülfat-Poliakrilamid Jel Elektroforezi)
TDYA	: (Tekli Doymamış Yağ Asitleri)

ŞEKİL ve TABLO LİSTESİ

Şekil 1. LA ve LNA için metabolik yollar

Şekil 2. ÇDYA'nın GPR40 ile bağlanıp hafıza formasyonuna etkisi

Şekil 3. Hipokampus ve uyumlu bölgenin MRI sagittal kesisi

Şekil 4. NR2B'ye ait Western Blot örneği

Şekil 5. NR2A'ya ait Western Blot örneği

Şekil 6. NR2A Ekspresyon Düzeyi

Şekil 7. NR2B'ye ait Western Blot örneği.

Şekil 8. NR2B Ekspresyon Düzeyi

Şekil 9. ÇDYA % Konsantrasyon Değerleri

Şekil 10. TDYA % Konsantrasyon Değerleri

Şekil 11. DYA % Konsantrasyon Değerleri

Şekil 12. DHA % Konsantrasyon Değerleri

Şekil 13. AA % Konsantrasyon Değerleri

Şekil 14. Oleik asit % Konsantrasyon Değerleri

Şekil 15. MDA Konsantrasyon Değerleri

Tablo 1. Kullanılan kontrol sıçan yem içeriği

Tablo 2. Kontrol sıçan yemi ve diyetlerin yağ asidi yüzdeleri

Tablo 3. Tüm gruplarda NR2A, NR2B reseptörlerinin yüzde cinsinden yoğunlukları

Tablo 4. Çeşitli diyet gruplarına ait sıçanların hipokampuslarındaki yağ asit yüzdeleri (1)

Tablo 5. Çeşitli diyet gruplarına ait sıçanların hipokampuslarındaki yağ asit yüzdeleri (2)

Tablo 6. Çeşitli diyet gruplarına ait sıçanların hipokampuslarındaki MDA düzeyleri

1. GİRİŞ

Beslenme tüm organizmalarda beyin kimyası üzerinde etkili bir faktördür. Son yüzyılda özellikle nörolojik hastalıkların aydınlanmasıyla birlikte besin zincirindeki yağların beyin fonksiyonunu kısa dönemde nörotransmitterleri ve nöronal ateşlemeyi etkileyerek, uzun süreçte ise hücre membran yapısını değiştirerek etkileyebildiği gözlenmiştir. Beslenmenin bilişsel gelişim ve fonksiyonlara etkisi konusunda yapılan çalışmalar incelendiğinde diyetle yeterli miktar ve dengeli oranda yağ alınmasının bilişsel gelişim ve fonksiyonları olumlu yönde etkilediği görülmüştür. Aksi halde ya da yağ metabolizmasının bozulması durumlarında beyin gelişim ve işlevselliği açısından bir takım bozukluklar meydana geldiği bilinmektedir. Özellikle insanda sentezi olmayan esansiyel yağ asitlerinin, beyin gelişimi ve hafıza fonksiyonlarında hayati önem arz eden yağ asitlerinin diyetle bulunması güncel konular arasındadır.

Günlük hayatta diyetle en sık tüketilen besinlerden ayçiçek yağı, zeytinyağı, deniz ürünleri, tereyağı ve margarin besin zincirinde temel yağ kaynakları olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu besinlerin tüketim sıklığı ve oranları bölgesel olarak çok değişiklik gösterse de nöron gelişimi ve işlevselliğinin idamesi için gerekli olan esansiyel yağlar bu kaynaklardan alınmaktadır.

Nöral dokuların yağ asit kompozisyonu ve glutamat reseptörleri hafıza ve öğrenmede önemli yer teşkil etmektedir. Özellikle hipokampusun hafıza ve öğrenme ile olan vazgeçilmez rolü gereği yağ asidi kompozisyonunun ve NMDA (N-metil-D-aspartat) reseptör ekspresyonunun diyetle alınan yağlardan etkileneceği düşünülmüştür. Son zamanlarda gıdalara esansiyel yağ asitleri ya da omega-3 gibi önemli bileşiklerin katkı olarak konması gündemde olmasına rağmen bu çok yaygınlaşan ya da rutine giren bir uygulama olmadığı için hipokampus nörobiyokimyasının sadece gündelik besinlerle alınan yağlardan etkilenmesi aşıkardır.

Bu bağlamda sıçanlarda ayçiçek yağı, zeytinyağı, balık yağı, tereyağı ve margarin diyetinin kısa sürede (4 hafta) hipokampus yağ asidi kompozisyonu ve hipokampusta yoğun bulunan NMDA reseptörlerinin NR2A ve NR2B altbirimleri ekspresyonunun ne derecede etkilendiğini araştırmak amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Sınır Sistemi ve Yağ Asitleri

Diyetteki yağın esansiyel olduğu, ilk defa 1929'da yağsız diyetle beslenen farelerde gelişime geriliğinin saptandığı bir çalışmada gösterilmiştir (1). Yağ, insan yaşamı için gerekli olan temel besin maddelerinden biridir. Besinlerin doğal bileşiminde bulunur ve insanda *de novo* sentezinin özellikle az olduğu ÇDYA ancak besinlerle alınabilmektedir.

Doymuş yağ asitleri (DYA), tekli doymamış yağ asitleri (TDYA) ve çoklu doymamış yağ asitleri (ÇDYA)'ni kapsamaktadır (2). TDYA bir adet çift bağ içerirken ÇDYA birden fazla çift bağ içerir. Yağ asitlerinin adlandırmasına göre ilk rakam karbon zincirinin uzunluğunu, ikinci rakam çift bağ sayısını, "n" (ω)'dan sonraki üçüncü rakam da molekülün metil ucundan ilk çift bağa kadar olan karbon sayısını göstermektedir (3). ÇDYA'ların iki alt grubu olan n-6 ve n-3 yağ asidi aileleri sırasıyla esansiyel yağ asitleri olan linoleik asit (LA, 18:2n-6) ve linolenik asit (LNA, 18:3n-3)'den sentezlenirler (4). Hem LA hem de LNA büyük oranda karaciğerde olmak üzere uzun zincirli yağ asitlerinin sentezinde kullanılırlar. LNA, eikozapentaenoik asite (EPA) ve daha sonra da dokozaheksaenoik asit (DHA)'ya dönüşür. Bu dönüşümün bebeklerde daha fazla olduğu düşünülmektedir. LA ise araşidonik asitin (AA) prekürsörüdür. LNA ve LA yağ asitleri arasında δ -4 ve δ -6 desaturazlar için bir yarışma söz konusudur ve n-3 yağ asitlerinin bu enzimlere ilgisi daha fazladır (3).

Diyet olarak en fazla yağ alımı ayçiçek yağı, margarin yağı ve tereyağı ile olmaktadır. Balık ve zeytinyağı tüketimi ise genellikle yöreye bağlı değişiklik göstermektedir.

Ayçiçek yağı LNA'in en önemli besinsel kaynaklarından biridir. Diğer bazı tohum yağları (soya yağı, keten tohumu yağı, ceviz yağı vs.) ve fındık ve ceviz gibi sert kabuklu yemişler, et ve sebzelerde de bulunmaktadır. LNA'in uzun zincirli türevleri olan EPA ve DHA ise baslıca balık yağı ve somon, uskumru, sardalya ve çiroz gibi yağlı balıkların etlerinde bulunur (4). Türkiye'de yetişen ve DHA içeriği en yüksek olan balık türü sardalyadır.

Margarin yağları ise belki de son yüzyılda değişime uğrayan besin alışkanlıklarının en başında gelir. Margarin yağları hem yöreye hem de üretici firmaya göre büyük değişiklikler göstermekle beraber temelde *trans*-yağ asitlerini yüksek seviyede içermektedir. Genelde ayçiçek yağının hidrojenasyonu ile elde edilen margarinlerdeki *trans*-yağ asitleri oda sıcaklığında katıdır ve oksidasyona daha dayanıklıdır. Bu sebeple raf ömürleri en uzun yağlardır. Fakat işlemler esnasında doğal yağlarda bulunabilen fenolik antioksidan bileşikler de aynı zeytinyağındaki gibi kaybolmakta, bu da yağın besin değerini düşürmektedir.

Zeytinyağı büyük oranda trigliserid ve az miktarda da serbest yağ asitlerinden meydana gelen doğal bir besin maddesidir. Serbest asitlerin oranı lezzette acılaşmaya sebep olduğundan rafinerizasyon işlemlerine tabi tutulan zeytinyağındaki yağ asiti oranları yöreye göre değişiklik gösterse de bu değişim büyük oranda olmamakta, belki antioksidan özellikler de gösteren fenolik bileşiklerin oranları değişmektedir. Zeytinyağında 100'ün üzerinde antioksidan madde bulunur. En bilineni E vitamini'dir. Genelde zeytinyağının (serbest yağ asitlerinden gelen acılığı hariç) lezzet farklılıkları bu fenolik bileşiklerden kaynaklanmaktadır. Ne yazık ki rafinerizasyon işlemlerinde bu antioksidan maddeler serbest yağ asitleri ve orijinal lezzetle beraber kaybolmaktadır.

Sinir sistemi yağ dokusu haricinde lipit konsantrasyonunun en yüksek olduğu ikinci organdır. Erişkin beyin ağırlığının yaklaşık %50-60'ını fosfolipitler oluşturur. Beyin fosfolipitlerinin yaklaşık %35'ini kısa zincirli ÇDYA oluşturur. Bu fraksiyonda yüzde olarak en çok araşidonik asit ve DHA bulunur (5, 6).

Beynin hipokampus, frontal ve oksipital korteks bölgelerindeki SFA oranları orta beyin, pons ve medulladan daha yüksek, TDYA oranları ise tam aksine serebellumda daha fazladır (7). Bu farklılığın sebebi gri-beyaz cevher ayrımıdır. Zira beynin beyaz cevherinin DYA ve özellikle de (n-9) TDYA'ca zengin olduğu, ve ÇDYA'ca fakir olduğu bilinmektedir (62). (n-6) ÇDYA seviyeleri ise pituiter bezde oldukça yüksek seviyededir (63). DHA açısından en zengin bölge frontal kortektir(7, 64).

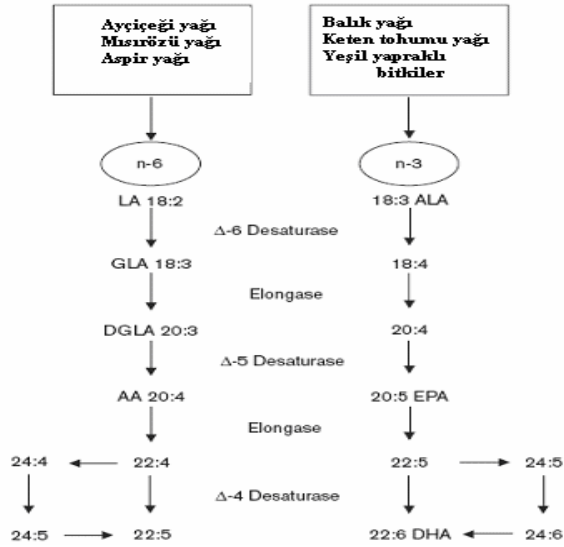
Membran yapısına direkt katılan lipitler diyetle oldukça duyarlı olup reseptörler ve enzimlerin aktivitelerini etkilerler. Sinir hücrelerinin diferansiyasyonu

ve çoğalmasında yeterli miktarda esansiyel yağların bu hücrelerce alınımının sağlanması gereklidir. Beynin gelişimi esnasında diyetdeki n-3 ve beyindeki n-3 içeriği arasında doğrusal bir ilişki olduğu kabul edilir. n-3 içeriğindeki değişiklik, enzimlerin ve membranların özelliklerini değiştirebilmektedir. n-3 den fakir diyetin motor fonksiyon ve aktivite üzerine etkisi az olmakla birlikte, öğrenme üzerinde yaptığı zarar çarpıcı bir şekilde belirtilmiştir (5). DHA'nın hafıza ve görme fonksiyonuyla ilgili olduğu daha önceki pek çok çalışmayla kanıtlanmıştır (65). İnsan ve sıçan hipokampusunda ve beynin gri maddesindeki başlıca n-3 ÇDYA DHA (22:6 n-3)'dir (8,19) ve membran fosfolipitlerinin esas bileşeni olduğundan nöronal fonksiyonların devamlılığı için gereklidir (10). Hafızayla ilişki hipokampus CA1 bölgesindeki terminallerin sinaptik veziküllerin ortalama yoğunluğunun yaklaşık %30 azalmasıyla ilişkili bulunmuştur. n-6'dan zengin diyet ve ya yüksek n-6/n-3 oranı sinaptozomal kolesterol, total lipit ya da fosfolipit kompozisyonu değiştirmeyip belli fosfolipitlerdeki yağ asiti kompozisyonuna etki edebilmektedir. Özellikle diyetdeki DHA oranı %10-20 ye çıkarıldığında önbeyindeki fosfatidiletanolamindeki %20, fosfatidilserindeki %25 ve fosfatidilkolindeki %3 olan DHA oranları sırasıyla %25, %30 ve %3'ün üzerine çıktığı saptanmıştır. Bjerve ve ark. beyinde yeterli miktarda DHA ve EPA sentezlenebilmesi için diyetle alınan LNA'nın toplam yağ miktarının %0.5-1'i kadar olması gerektiğini saptamışlarsa da beyin fonksiyonları için önemli olan DHA ve EPA'nın balık yağında bol bulunması sebebiyle balık diyetinin önemli olduğunu da vurgulamışlardır (11).

Diğer yandan bu diyet sinaptozomal yağ asit kompozisyonunu da etkilemektedir. Bu bilgilerin ışığı altında LA diyetinde ve/veya n-6/ n-3 oranındaki artış, beyin sinaptozomal membranların fizik özelliklerini ve normal yağ asit gelişimini tehlikeye sokmaktadır. Sonuçta diyetin beyin fosfolipitlerindeki yağ asit kompozisyonunu değiştirdiği kesinlik kazanmıştır.

Diyetteki LNA içeriğinin değişmesi de membran fosfolipit yağ asit kompozisyonunu etkilemektedir. Böylece önemli fonksiyonel değişimler olan membran akışkanlığı değişebilir, hücre cevabı ve iyon transportu ve prostaglandin ile lökotrienlerin sentezi etkilenebilmektedir. LNA ve LA enzimatik dönüşüm için birbirleriyle yarıştığından bu iki yağ asidi tipinin diyetsetel alımlarındaki oran onların beyin üzerine olan biyolojik etkilerini belirleyen bir faktördür (9,12). Doymuş yağ

asitlerinden zengin diyetle beslenme nörotransmitter reseptörlerin cevabını değiştirmekte ve plazma membran yağ asit kompozisyonunu değiştirmek suretiyle membran akışkanlığını artırmaktadır. İnsan beyinde uzun zincirli ÇDYA'ları doğrudan diyetten sağlayabileceği gibi prekürsörleri olan LA ve LNA'ten de %1 oranında bile olsa sentezleyebilir (13). Keza uzun zincirli ÇDYA'lara duyulan yüksek orandaki ihtiyaca karşın, beyin sentez yeteneğinin sınırlı olması nedeniyle bu uzun zincirli ÇDYA'ların plazmadan transportu önemli rol oynamaktadır (14). İleride bahsedileceği gibi trans yağ asitleri (TFA)'nın LNA'nın %1 oranında DHA'ya ve LA'nın AA'ya desatürasyonunu ve elongasyonunu bozabileceği gözlenmiştir. Bu sebeple mevcut günlük diyetle, özellikle bisküvi ve kraker gibi yaygınca tüketilen gıdaların yapımında kullanılan TFA beyin gelişimi açısından olumsuz üne sahiptir.



Şekil 1. LA ve LNA için metabolik yollar. Bu çevrimler esas olarak karaciğer mikrozomal sistemi ve beyin endoteliumunda gerçekleşir. AA: araşidonik asit; ALA: linolenik asit; DHA: dokozaheksaenoik asit; EPA: eikozapentaenoik asit; GLA: gamma-linolenik asit; LA: linoleik asit.

Subsellüler fraksiyonlar olan sinaptozomlar, sinaptik veziküller, mitokondri ve mikrozomlarda da yüksek düzeylerde DHA bulunduğu çeşitli çalışmalarda rapor edilmiştir (15). n-3 ÇDYA'lardan zengin ya da yoksun olan diyetlerin nöral etkilerini araştıran çalışmalarda beyin tarafından diğer yağ asitlerine tercihen alınan ve çok hızlı bir döngüsü olan DHA'ya özellikle dikkat çekilmiştir. DHA nöronları apoptotik hücre ölümünden korur, beyinde gen ekspresyonunu kontrol eder ve nöral membranların yapısal bütünlüğünün devamlılığını sağlar (10).

Genel olarak ÇDYA'ların beyin üzerine olan etkileri incelenirken kabaca altı kategoriden bahsedilir:

- (a) İyon kanallarının fonksiyonları üzerine olan etkileri,
- (b) Reseptörlerin sayı ve afiniteleri üzerine olan etkileri,
- (c) Membran akışkanlığı üzerine olan etkileri,
- (d) Membrana bağlı enzimlerin aktiviteleri üzerine olan etkileri,
- (e) Nörotransmitterlerin yapımı ve aktiviteleri üzerine olan etkileri,

(f) Nörotransmitterlerin aktivitelerini ve nöral büyüme faktörlerini kontrol eden sinyal iletimi üzerine olan etkileri (16).

İyon değişiminin maksimum etkinlikte gerçekleşmesi için iyon membranın fiziksel durumunun optimal düzeyde olması gerekmektedir (ne çok sıkı, ne de çok akışkan).

Esansiyel yağ asitlerinin kolinerjik, nikotinik, muskarinik, dopaminerjik ve NMDA reseptörleri gibi bazı reseptörlerin fonksiyonlarını modifiye ettikleri rapor edilmiştir (17). Esansiyel yağ asitleri ve iyon kanalları arasındaki ilişkinin detaylı bir şekilde ortaya konması için daha fazla sayıda çalışmaya ihtiyaç olmasına rağmen birkaç çalışmada esansiyel yağ asitlerinin kalsiyum, klor ve potasyum iyon kanallarını etkileyebildikleri rapor edilmiştir (14). Esansiyel yağ asitleri kan beyin bariyerinin fonksiyonunu bazı proteinlerin bağlanma hızlarını etkileyerek modifiye edebilirler.

Enzim aktiviteleri ile diyetdeki lipitler ya da esansiyel yağ asitleri ile arasındaki ilişki kısmen araştırılmış olmasına rağmen lipitlerin ve esansiyel yağ asitlerinin membrana bağlı bazı enzimlerin aktivitelerini düzenledikleri dikkate değer bir bulgudur (14). Örneğin esansiyel yağ asitlerinin fosfolipaz A2 ve protein kinaz C (PKC)'nin aktivitelerini etkilediği bazı çalışmalarda rapor edilmiştir (14,16). Yine bir çalışmada n-6 ve n-3 yağ asitleri arasındaki oranın oksidatif enzimler üzerine olan etkisi incelenmiştir (14). Yaşlanmada gözlenen NMDA reseptörlerindeki gerilemeyi oksidatif stresi azaltan yaklaşımlar düzeltir (19). Bu da antioksidan seviyeler ve yeterli reseptör yazılımı fonksiyonunun korunması arasında bir bağlılık gösterir.

Membranın fiziksel durumu, iyonların, membranın ilave dış duvarları arasındaki değişimine bağlı olan nöral bilginin transferinin kontrolünde kritik bir rol oynamaktadır.

Beyinde membran akışkanlığını modifiye eden faktörler diyetel yağ asitleri özellikle de ÇDYA'lardır. ÇDYA'lar sinaptosomal membranların akışkanlığını belirler, bu sayede de nöral iletiyi düzenlerler.

DHA eksikliğinin nörolojik, psikiyatrik kardiyovasküler ve immünolojik hastalıklar yanında kanser ve diyabette de etkili olduğu bilinmektedir.

Çok sayıda doymamış bağ içerdiğinden DHA lipit peroksidasyonunun hasar verici etkilerine oldukça açıktır. Beyin, antioksidan enzimlerden ve glutatyon (GSH) gibi antioksidanlardan fakirdir (20). Bu yüzden zararlı etkiler hücrel peroksidasyon işlemiyle antioksidan savunma arasındaki dengeye bağlıdır. Yapılan bazı çalışmalarda ise etki mekanizması açık olmamakla birlikte DHA'nın beyinde antioksidan etki gösterdiğine dikkat inanılmaktadır (18).

Beynin büyümesi ve fonksiyonel gelişimi için DHA infantlarda esansiyel olduğu gibi aynı zamanda yetişkinlerde de normal beyin fonksiyonunun sağlanması için gereklidir. Diyete yüksek miktarda DHA eklenmesi öğrenme ve görme yeteneğini arttırırken DHA eksikliği tersiyle ilişkilidir (12).

Korteksteki NMDA cevapları gibi hipokampustaki sinaptik ileti ve uzun dönemli potensiyasyon (LTP) da DHA tarafından medüle edilir. Fakat DHA'nın ve analoglarının bu etkilerinin *in vivo* şartlarda geçerli olup olmadığı açık değildir (21). AA'nın tersine DHA nöral membranlardan kolayca salıverilmez, bunun yerine membran fosfolipidleri tarafından alıkoşulur. Bu da, DHA'in trofik bir faktör olarak rol oynayabileceğini ve nöral membranların bu yağ asidinden zenginleştirilmesinin nöral canlılık için önemli olabileceğini düşündürmektedir.

Hipokampus nöral membranlarında en fazla bulunan fosfolipit fosfatidilkolindir. Sonra sırasıyla fosfatidiletanolamin, fosfatidilinositol, fosfatidilserin ve sfingomiyelin gelir (22). Özellikle fosfatidilserinde DHA yüzdesi oldukça yüksektir. Pek çok memeli hücre membranında, fosfatidilserinin majör negatif yüklü fosfolipit sınıfı olduğu ve protein kinazlar gibi pek çok sinyal proteininin fosfatidilserinden etkilendiği göze alınırsa, fosfatidilserin içeriğindeki

değişikliklerin hücrel fonksiyon için önemli olabileceği düşünülür. DHA'nın birçok araştırmada gösterilmiş apoptotik etkilerine karşın, sadece birkaç çalışma bu yağ asidinin antiapoptotik fonksiyonu olabileceğine işaret etmektedir. Her durumda, sadece DHA ile preinkübasyonun ardından apoptozun indüksiyonundan önce bir antiapoptotik etki gözlenmiştir. İnkübasyon süreci boyunca DHA oksidasyona açık olduğu ve apoptotik etkinin büyük kısmı oksidatif stres aracılığıyla ortaya çıktığı için hücrelere eşlik eden lipid peroksidasyonu olmaksızın DHA'dan zenginleştirmek zordur. Bu yüzden DHA'nın antiapoptotik etkisini gözlemlemek için, kültür ortamına DHA ile birlikte vitamin E gibi bir antioksidan eklemek çok önemlidir. DHA'nın koruyucu etkisi sadece uzun bir inkübasyonun ardından ortaya çıkmaktadır. Nöro-2A hücrelerinde koruyucu etkinin ortaya çıkması en az 24 saat inkübasyona ihtiyaç duymaktadır ve inkübasyon süresinin uzaması DHA'nın koruyucu etkisini arttırmaktadır. İnkübasyon süresi boyunca, DHA devamlı olarak fosfatidilserin ile birleşir ve toplam hücrel fosfatidilserin düzeyi artar. Koruyucu etki, hücrel PS birikiminin düzeyi ile ilişkilidir (20). Hücreler, serin aminoasiti olmayan bir ortamda DHA ile inkübe edildiklerinde, PS düzeyi anlamlı derecede artmaz ve antiapoptotik etki azalır. DHA'ca zenginleştirmenin antiapoptotik etkisi DHA'nın beyindeki yüksek düzeyinin nedenlerinden birinin nöronal hücrelerin canlılığını sağlamak olduğunu düşündürmektedir. Membran PS içeriğinde DHA tarafından meydana getirilen değişiklikler; sadece reseptör aktivitelerini değil, aynı zamanda değişik sinyal proteinlerinin aktivasyonlarını ve translokasyonlarını da etkilemektedir. Nöronlarda DHA salımı minimal olmasına rağmen, transkripsiyonel aktivitede rol alan, nükleer reseptörleri aktive etmeye yetecek düzeyde hücre içi lokal DHA konsantrasyonuna ulaşmak mümkündür. DHA'nın antiapoptotik etkisi muhtemelen plazma membranından nükleer olaylara kadar olan çeşitli sinyal basamaklarındaki çok sayıda regülasyonların bir sonucudur (17).

Beyin fosfolipitlerinin %20-30'unu DHA ve AA teşkil eder. Sıçan beyinde replasmandan sonra kayba bağlı günlük turnover hızı DHA için %2-8 iken AA için %3-5 dir (23). Yarılanma zamanları da sırasıyla 7-34 gün ve 12-23 gün kadardır (24). fosfolipitlerde AA'nın DHA'ya olan oranı fosfolipit çeşidine göre değişmektedir. DHA sinaptik membranlarda yoğunken AA tüm beyaz ve gri cevherde diffüz olarak dağılmıştır. Bu iki yağ asiti memelilerde 2 karbonlu bileşiklerden *de novo* üretilemez,

sırasıyla LnA ve LA prekürsördür. Beyinde n-3 ve n-6 arasındaki oranın değişmesi sonucu kognitif ve davranışsal süreçlerin bozulduğu genel olarak kabul görmektedir. Beyinde apoptosis, gen transkripsiyonu, nöral büyüme, membran eksitabilitesi, prostaglandin formasyonu, desatürasyon-elongasyon, membran akışkanlığı ve plastisite gibi işlevlerin normal gidişatı aynen bu iki yağ asiti grubu gibi DHA ve AA'nın da spesifik olarak dengeli bir şekilde bulunması dayanmaktadır (24, 25).

DHA beyinde yoğun şekilde bulunmasına rağmen nöronlara serebrovasküler endotel ve astrositlerce sağlanmalıdır (26). Dolayısıyla astrositler nöronlara DHA sağlamada çok önemli bir fonksiyon görür. Beyinde DHA sentezindeki son basamaklar da astrositlerde meydana gelmektedir (24). DHA nöronlardaki fosfolipaz A2 etkinliğine karşı dirençlidir (28).

AA infant beyin gelişiminde önemli rol oynar (29). Hücre membranlarının ana komponentlerinden biridir ve erişkinde de hem fizyolojik hem de patolojik süreçlerde önemli rol üstlenir. Membran fosfolipidlerinden AA salımı hücreler arası bir "messenger" olarak gerçekleşir öyle ki protein kinaz C aktive olur; iyon kanallarını transport moleküllerini, reseptörlerini ve sinaptogenesi de modüle eder (32, 31). ÇDYA'nın beyinde iskemik strok ve epileptik nöbete eğilimle ilgili pozitif ünü olmasına rağmen AA'nın nöron hayatıyetine dair katkıları kesin değildir (23). AA pro-enflamatuvar eikozanoid ve sitokinlere dönüşmektedir. DHA'nın, bu çevrimi sikloksijenaz üzerinden engellediği bildirilmiştir (66). Aksi bir bulgu olarak AA'nın hipokampus nöronlarını glutamatla ya da H₂O₂ ile tetiklenen oksidatif strese karşı antioksidan enzim aktivitelerini artırarak koruduğu da mevcuttur (32).

Beyinde AA fofatidilinositol ve fosfatidilserinin *sn-2* pozisyonlarına esterifiye olur. Fosfolipitlerden fosfolipaz A2 aracılığıyla salındıktan sonra esas olarak sinapslarda bulunan non-esterifiye beyin havuzuna dahil olur (24). Bu endojen AA prostaglandinler, lökotrienler, tromboksanlar ve hidroksieikozatetraenoik asit gibi eikozanoidlere dönüşüm için bir prekürsör havuz teşkil eder ve plazmadaki AA ile direkt ilişkisi yoktur. Aksine plazmadaki non-esterifiye AA eikozanoidlere dönüşmez, yağ asiti bağlayıcı proteinlere (FABP) bağlanarak endoplazmik retikulumdaki havuza difüze olur. Bu havuzdan plazmadaki AA ile değişim sağlanır (24).

Yağ asidi bağlayan proteinler intrasellüler moleküllerdir ve multigenik kontrolü vardır. Memeli hücrelerinde yaygın bir şekilde bulunur. ÇDYA'ların hücresel alımı ve transportu, bunların özgün metabolik yollara sevki, gen ekspresyonu ve hücre büyümesinin regülasyonunda görev alırlar. Pek çok FABP'nin hücre farklılaşmasından çok büyümesinde etkili olduğu kabul edilmektedir (23). Beyin tipi FABP tipi FABP7 olarak bilinir ve hem beyinde hem de retinada bulunur. Bu tipin n-3 ÇDYA'ya, özellikle de DHA'ya karşı afinitesi çok fazladır (67). FABP7 embriyonal nöral büyüme için önem teşkil eder. Sinir sisteminde kök hücre gibi davranan 'radial glial hücreler' içinde yoğun bir şekilde eksprese olur (23). Pax6 hipokampusta progenitör hücrelerin akıbetini kontrol eden bir transkripsiyon faktörüdür. Arai ve arkadaşları FABP7'nin Pax6 için bir "downstream geni" teşkil ettiğini ifade eder (68).

2.1.1. ÇDYA ve Hafıza

Beyinde yağ asidi kompozisyonunun hafıza işlemiyle, özellikle LTP ile yakından ilişkili olduğu bilinmektedir. Fakat bunun mekanizması bir şekilde tam olarak ortaya konamamıştır. Erişkinlerde n-3 ÇDYA'nın n-6'ya nazaran daha düşük oranlarda tüketilmesi sonucu Alzheimer hastalığı ve yaşla bağlantılı kognitif bozukluğa benzer klinik tablo verdiği gözlenmiştir (69). Diyetteki bu dengesizlik yenidoğan hipokampus nöronunda daha belirgin olabilir. Günlük diyet alışkanlıkları içinde olağan sayılan bu dengesizliğin yaşlılar yanında gençlerde de hafıza, kognitif süreç ve/ve ya emosyonel durum bozuklukları yapıp yapmadığı tartışma konusudur.



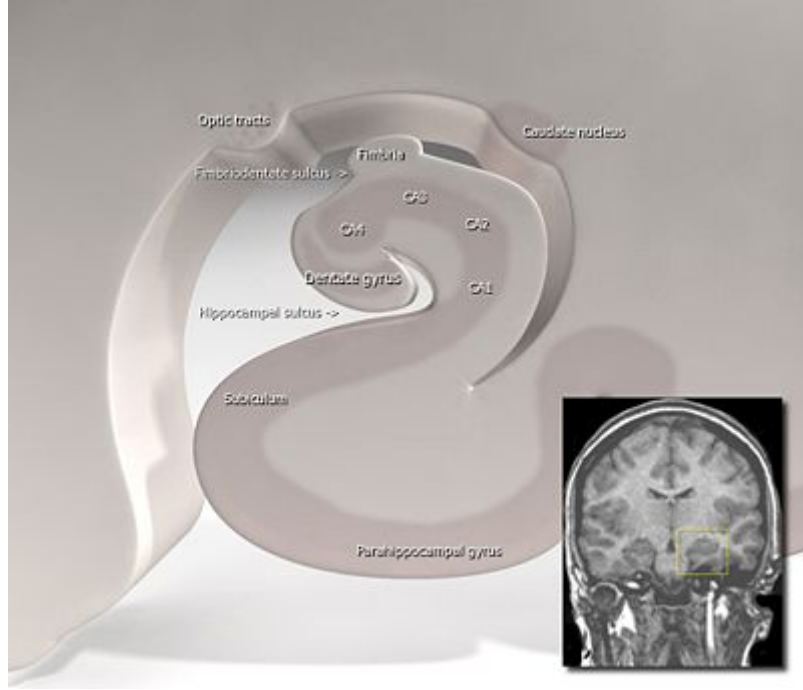
Şekil 2. Çoklu doymamış yağ asitlerinin hipokampusta GPR40 ile bağlanıp hafıza formasyonuna etkisi. ÇDYA: Çoklu doymamış yağ asitleri; GPR40: G Protein bağlı reseptör-40

Geçtiğimiz son 10 yılda “G Protein coupled” reseptörler (GPR) adlı ligandsız görünen bir grup reseptör ailesi tanımlanmıştır. GPR'nin inorganik iyonlardan peptidlere kadar pek çok moleküle cevap verdiği saptanmıştır. GPR40 ise prostaglandinler ve lökotrienler gibi bazı yağ asidi türevlerine cevap vermektedir. Bunun yanında yağ asidi hücre yüzeyi reseptörü gibi davrandığı da bulunmuştur. Briscoe ve arkadaşları orta ve uzun zincirli doymuş e doymamış yağ asitlerinin doza bağımlı olarak GPR40'ı aktive ettiğini tespit etmiştir (33). ÇDYA bu bağlamda ekstrasellüler sinyal molekülü gibi davranarak membrandaki GPR40 üzerine etkili oluyor olabilir (23). GPR40 pankreas adacıklarındaki β -hücrelerinden insülin salgılanmasıyla bağıntılıdır, fakat GPR40'ın beyindeki fonksiyonu net olarak bilinmemektedir. Yamashima (2007) özellikle DHA ve AA gibi ÇDYA'ların hipokampusta GPR40 üzerinden sinyalizasyonla Ca^{2+} mobilizasyonunu sağlayıp nöron büyümesinde etkili olarak hafıza ve öğrenmeyi modüle ettiğini iddia eder (23).

2.2. Hipokampus

2.2.1. Hipokampusun Yapısı ve Fonksiyonları

Hipokampus, ön beynin yapısına katılan, gri cevher yapısında olan ve temporal korteks lateral ventrikülünün alt boynuzunun tabanı boyunca uzanan, C şeklinde kıvrılmış bir gri cevher kabartısıdır (Şekil 3). Denizatına benzediği için bu isim verilmiştir (Yunanca *hippos = at, kampi = kıvrım*). “Ammon boynuzu” olarak da adlandırılır. Limbik sistemin bir parçasıdır, aynı zamanda uzun dönemli hafıza (long term memory) ve spasyal (mekansal) navigasyonda da rol alır.



Şekil 3. Hipokampus ve uyumlu bölgenin MRI sagittal kesisi

Hipokampus genelde hipokampal formasyon içerisinde zikredilir. Bu yapıda gyrus dentatus, *Cornu Ammonis* bölgeleri olan CA1, CA2 ve CA3 (CA4 genellikle hilus olarak geçer ve gyrus dentatusun bir parçası olarak düşünülür), ve “subiculum”. Esas sınırlı anatomiye CA1, CA2 ve CA3 bölgeleri oluşturur.

Hipokampusa tüm duyularla alakalı, doğrudan veya dolaylı çok sayıda afferent lif gelir. İlk giriş CA3 bölgesinden CA1'e, oradan da subiculuma olur. CA2 bölgesi hipokampusun sadece çok küçük bir parçasını teşkil eder ve fonksiyonu genelde göz ardı edilir. Fakat aslında bu alan diğerlerine nazaran epilepsi gibi durumlarda büyük oranlarda hücresel hasara karşı oldukça dirençlidir.

Entorinal ve peririnal korteksten bilgi getiren perforan yol hipokampusa ana bilgi girdisini oluşturur. Entorinal korteksin 2. tabakası gyrus dentatusa ve CA3 bölgesine bilgi getirirken 3. tabaka CA1 ve subiculuma afferent sağlar. Hipokampustan ana çıktı ise CA1 ve subiculumdan kaynaklanan cingulum demeti ve fimbria/fornikstir. Duyuların hipokampusu terki fornix yoluyla olur. Miyelinli liflerden meydana gelen fornix; talamus, hipotalamus ve septal sahada sonlanır. Bu da hipokampus ile subkortikal alanlar arasındaki çeşitli devrelerin varlığını gösterir. Yine subkortikal alanlar aracılığı ile hipokampus, beyinde birçok bölge ile iletişim halindedir. Bu bağlantıların çokluğu; elli yıl öncesine kadar sadece koku ile ilgili

olduğu sanılan hipokampusun, tek bir fonksiyon yerine, birçok beyin fonksiyonunda rol aldığını göstermektedir. Hareketlerin davranış biçimine dönüşmesinde önemli role sahip bulunan Limbik Sistem, çok sayıda sinyali hipokampustan alır. Yine hafıza ve özellikle de kısa süreli hafıza üzerinde rolü olan hipokampusün yokluğunda, verbal veya sembolik anıların saklanması mümkün olmayacaktır. insanlık tarihinde daha birçok sorunun cevabı aranırken hipokampus fonksiyonları ihmal edilmeyecek kadar önemlidir. Belki de her beyin hastalığının altında, hipokampusa ait bir fonksiyon yatmaktadır (34).

Uykunun REM safhasında yakın hafıza olarak tutulan bilgilerin sağlamaştırılması meydana gelir. Bu safhada, hipokampusa işaret eden serotonerjik rafe nukleusları aktiftir. Derin uykuda neokorteksteki elektroensefalografi (EEG) kayıtları düzenli ve senkronize ritim gösterir iken, hipokampal EEG kayıtları desenkronizedir. Uyanıklık durumunda ise neokortikal kayıtlar desenkronize olmasına rağmen; hipokampus yavaş ve düzenli bir ritim gösterir. Hipokampusün EEG dalgaları ritmik sinüzoidal tipteki teta dalgalarıdır. Bu durum yapının spontan aktivitesini ve bilincin değişik devrelerle ilişkili olduğunu göstermektedir (34).

Hipokampus; uzun süreli bir sinaptik ilişki türü olan long term potentiation (LTP) ve iskemiye seçici duyarlılık gibi konularda oldukça dikkat çeken bir yapıdır. Ayrıca hipokampusün bir diğer özelliği ise hipereksitabilitesidir. Örneğın hafif elektriksel uyarılar, hipokampus bölgelerinde uyarı kesildikten sonra saniyeler süren lokal epileptik nöbetlere sebep olur. Bu da hipokampusün normal koşullarda bile uzun süren sinyaller yaydığını gösterir (35, 36).

Hipokampusün hem yapısının karmaşıklığı, hem de beyindeki bir çok bölge ile yakın ilişkisi, fonksiyonunun açıklanmasını güçleştirmektedir. Bu nedenle, hipokampusün tek başına yaptığı fonksiyonları tanımlamak yerine, karmaşık fonksiyonlardaki rolü üzerinde durmak doğru olacaktır. Hipokampusün, 1948 yılına kadar sadece koku ile ilgili olduğu sanılıyordu (37). Hipokampusün hafıza, özellikle de kısa süreli hafıza ile ilgili olduğu bilinmektedir (38).

Yeni bilgilerin depolanma kapasitesi kısa süreli hafızada işlenmektedir. Bu nedenle mekanizma ne olursa olsun sağ ve sol hipokampus olmadan verbal veya sembolik uzun süreli anıların kalıcı olması mümkün değildir (40). Diğer yandan, sağ

hipokampus görsel, sol hipokampus ise sözel hafıza ile ilgili fonksiyonlarda daha fazla aktivite göstermekte ve bu bölgelerin lezyonlarında da ilgili hafızalarda kayıp gelişmektedir (39).

2.2.2. Hipokampusun Patolojileri

Hipokampusun genel olarak uyarılması ile kızgınlık, sakinlik veya hiperseksualitenin herhangi biri ortaya çıkar. Hafif uyarılmasında ise, uyarım bittikten sonra bile saniyelerce süren bir epileptik nöbet görülür. Bu nöbetler sırasında birey koku, görme, işitme, dokunma ve benzeri tarzda hallusinyasyonlar tanımlar. Birey bilinçlidir ve hallusinyasyonların gerçek olmadığını bilir (41).

Enfarktüs, kanama veya cerrahi gibi mekanik ya da alkolizm, kronik malnutrisyon veya tiamin eksikliği gibi metabolik nedenlerden dolayı hipokampusun iki taraflı lezyonu sonucu yeni hatıraların kaydedilememesi ile ilgili bir amnezi durumu vardır ki buna Korsakoff Sendromu (Dismnezik Sendrom) adı verilir. Bu hastalar rahatsızlanmadan önce öğrendiği karmaşık işleri başarabilirler. Fakat bundan çok daha basit, ancak yeni öğrenilmiş becerileri uygulayamazlar. Ayrıca geçmiş ile ilgili konfabulasyon adı verilen hayal veya konfüzyon tarzı saçma deneyimler anlatır veya cevap verirler, hatta buna kendileri de inanırlar (42). Yakın zamana kadar yaşlanma sürecinde, hipokampusdeki hücre sayısının önemli ölçüde azaldığı, bunun da yaşlılıkta görülen bunamaya sebep olabileceği düşünülüyordu. Fakat, son zamanlarda yapılan çalışmalar sonucu, yaşlanma ile hipokampusteki hücre kaybı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon bulunmadığı anlaşılmıştır. Yalnız, Alzheimer Hastalığına yakalanmış insanların hipokampal CA1, CA2 ve CA3 alanlarına ait piramidal hücre sayısında bir azalma tespit edilmiştir (43). Hipokampus lezyonları sonucu ortaya çıkan davranış değişikliklerinden, kortikal ve duyuşal uyaranlardan gelen bilgiyi kodlayamaması sorumlu tutulmuştur (43).

İnhibitör GABAerjik nöronların ölümü inhibisyonda azalmaya sebep olur. Bu azalma, özellikle CA3 alanındaki piramidal ve dentat granül hücrelerinde patolojik hiperseksitabiliteye yol açar (44, 45). Ayrıca hipokampusta nöbetlere bağılı olarak oluşun hücre ölümlerinin altında yatan moleküler mekanizmada, glutamat reseptör alt tipi NMDA ve intraselüler haberleşme ile nöron ölümüne sebep olan eksitotoksik mekanizma en kuvvetli muhtemel mekanizma olmakla birlikte, yine de nöron ölümü

tam olarak aydınlatılamamıştır. Nöbetler, çoğu hipokampal nöronda hücrenel onkojenik gen (c-fos) gibi bir erken genin ekspresyonuna sebep olur ve c-fos tekrarlayan şiddetli nöbetlerle, ölmek üzere olan bazı hipokampal nöronlarda gecikmeli olarak uyarılır. Bu son görüş, c-fos geni ekspresyonunun nöron ölümüne katkıda bulunabileceğini ileri sürmektedir (46). Bazı araştırmalar B vitamini eksikliği ve alkolün, hipokampusteki nöronlarda hasar meydana getirdiğini göstermiştir (47).

2.3. N-Metil D-Aspartat (NMDA) Reseptörleri

2.3.1. Glutamat reseptörleri

Aspartat ve glutamat ve gibi eksitator aminoasitler memeli santral sinir sisteminin ana nörotransmitterleridir. Beyinde oldukça yüksek konsantrasyonlarda bulunurlar (glutamat 10 mmol/L ve aspartat 4 mmol/L). Sinir terminallerindeki sinaptik geçişi yönlendirir ve nöron içine iyon geçişini kontrol ederler.

Glutamat ve aspartat postsinaptik hücre yüzeyindeki etkilerini belirli reseptörlerle etkileşime girerek oluştururlar (48). Spinal motor nöronların kortikospinal motor nöronlara yaptığı sinapslarda major nörotransmitter glutamattır. Üst motor nöron eksitasyonu ile glutamat molekülleri sinaptik aralığa düşerler ve spinal motor nöronlardaki (postsinaptik) reseptör yerlerine giderek spinal motor nöronları depolarize ederler.

Memeli sinir sistemindeki eksitator nörotransmisyonun sorumlu başlıca reseptörler Glutamat reseptörleridir. Aynı zamanda öğrenme ve hafızanın temelinde yatan sinaptik iletinin verimliliğindeki plastik değişikliklerde ve büyüme esnasında sinir ağının oluşmasında da rol oynarlar. Glutamat reseptörlerinin aşırı aktivasyonları ise santral nöronların ölümüyle sonuçlanır. Glutamat nörotoksitesisi değişik nörodejeneratif hastalıkların meydana gelmesinde de rol oynar. Bu yüzden Glutamat reseptörlerinin beyin fonksiyonlarının hem fizyolojisinde hem de patolojisinde yer aldığı söylenebilir.

Glutamat ailesinin amino asit dizilişi, Asetilkolin (Ach), GABA, ve glisin reseptörlerine benzerliği azdır. Glutamat ayrı bir ailenin üyesidir. Glutamat kontrollü

kanallar dört alt üiteden oluşurlar. Her kanal alt ünitesi üç transmembran α -heliksinden oluşmaktadır (49).

Glutamat reseptörleri, temelde postsinaptik membranda lokalizedir. Başlıca 2 tipi vardır.

I- İyotropik glutamat reseptörleri (iGluRs): Doğrudan iyon kanallarını kontrol eder.

II- Metabotropik glutamat reseptörleri (mGluRs): İkinci haberciler üzerinden dolaylı olarak iyon kanallarını kontrol eder.

Presinaptik sinir terminallerinden salınan glutamat molekülleri iGluRs'e bağlandığında bir elektriksel olaya döndürülen kısa bir kimyasal sinyal meydana getirir. Postsinaptik depolarizasyonla sonuçlanan net bir iç akıma izin veren bir integral katyon seçici kanal içeren iGluRs 3 geniş gruba ayrılır :

1. α -amino-3-hidroksi-5-metil izoksozole propionat tercih eden reseptörler (AMPA)

2. Kainat tercih eden reseptörler (KAR)

3. N-metil D-aspartat tercih eden reseptörler (NMDAR)

Glutamat reseptör ailesinin iki üyesi olan AMPAR ve KAR özellikleri bakımından çok yakındırlar. NMDA reseptörü, diğer iki glutamat reseptörüne biraz daha farklıdır.

II- Metabotropik glutamat reseptörleri

Trans-(1S, 3R) -1-amino-1,3-cyclopentanedicarboxylic asit (ACPD) ile selektif olarak aktive olurlar. Glutamat, iGluRs'i üzerinden eksitasyon yaparken, metabotropik reseptörler üzerinden eksitasyon veya inhibisyon oluşturabilmektedir. İyotropik glutamat reseptörlerinin çeşitliliği, elektrofizyolojik ve farmakolojik çalışmalarda umulandan daha da geniştir. Bugüne kadar memeli santral sinir sisteminde 16 adet iGluRs cDNA'sı ve 8 adet mGluRs cDNA'sı tanımlanmıştır.

Şimdiye kadar izole edilen 16 adet iGluRs cDNA'sının;

- a. 4 tanesi AMPA reseptör altbirimi (GluR1, GluR2, GluR3, GluR4),
- b. 5 tanesi kainat reseptör altbirimi (GluR5, GluR6, GluR7, KA1, KA2)
- c. 7 tanesi NMDA reseptör altbirimidir (NR1, NR2A, NR2B, NR2C, NR2D, NR3A, NR3B)

Glutamat reseptör genlerinin ekspresyonunu değiştirici birçok değişik teknik kullanılarak glutamat reseptörlerinin tüm fizyolojisi ve patolojisi son yıllarda geniş bir şekilde araştırılmaktadır (50).

2.3.2. NMDA'nın Yapısı

İyonotropik glutamat reseptörleri üzerinde en çok çalışılan ve bilgi sahibi olunan reseptör kompleksi NMDA reseptörleridir. Monovalan katyonlara ek olarak, Ca^{+2} iyonunun da hücre membranından geçişini sağlar. Diğer iyonotropik reseptörlere kıyasla Ca^{+2} 'a karşı en az 5 kez daha fazla geçirgen olduğu gösterilmiştir(51).

Santral sinir sistemine yaygın olarak dağılmıştır. Duysal ileti ve iletinin integrasyonu ile motor fonksiyon ve aktivitenin koordinasyonu ve programlamasında yer alır (52). Bu reseptör başlıca 6 bölge içerir:

1. NMDA ve diğer agonist tanıma bölgesi: NMDA, glutamat ve diğer agonistler ile reaksiyona girer. Reseptör içindeki iyon kanalının açılmasını sağlayarak normal eksitatör etkinin oluşmasını sağlar. Stimülasyonun sürmesi halinde ise patolojik eksitotoksik etki ortaya çıkar. Kompetitif eksitatör aminoasid antagonistleri buraya yapışmak için glutamatla yarışır (53).

2. Katyon bağlanma bölgesi: Kanal içinde yer alır, buraya Mg^{+2} bağlanır ve membran boyunca olan iyon akımını bloke eder. Mg^{+2} 'un etkisi agonist ve voltaj bağımlıdır. Yani iyon kapısı olarak işleyen reseptörü istirahat membran potansiyeli (-70mV) durumunda bloke eder. Reseptörün tekrarlayan, uzun süreli uyarılarca (NMDA tanıma bölgesine sürekli bağlanan agonistlerin varlığında) depolarize edilmeye başladığı ve membran potansiyeli -30 mV düzeylerine ulaştığı zaman Mg^{+2} 'un etkisi kaybolarak iyon kapısı açılır (53).

3. Glisin bağlanma bölgesi; Santral sinir sisteminde inhibitör nörotransmitter olarak çalışan glisin, paradoksal olarak NMDA reseptörünün etkinliğini, dolayısıyla da eksitator iletiyi güçlendirir (53).

4. Poliamin bağlanma bölgesi; endojen poliaminlerden spermin ve spermidinin bağlanma yeri olan bu bölgenin işlevi, glisin gibi reseptörün aracılık ettiği yanıtı arttırmaktır. Buna karşılık her iki bölge de normal durumlarda tam olarak aktif değildir (53).

5. Çinko bağlanma bölgesi; Bu bölge inhibitör etki gösterir. Zn^{+2} blokajı da voltaj bağımlıdır (54).

6. Kanal antagonist bağlanma bölgesi; Reseptör kanal kompleksinin alt bölümünde yer alır. Eksitotoksik etkiyi antagonize edebilecek farmakolojik manüplasyonlara açık bir bölgedir. Bu bölgeye bağlanacak antagonistin bağlanma yerine ulaşabilmesi için kanalın açık olması, yani reseptörün NMDA, glutamat veya benzeri agonistlerce uyarılmış ve magnezyumun kanal kapatıcı etkisinin ortadan kaldırılmış olması gerekmektedir. Bu etki agonist bağımlı olmakla birlikte non-kompetitifdir. Yani bağlanma yeri için agonistlerle yarışmaz, aksine onların açtığı kanala girerek kanalın kapanmasını sağlar. Postsinaptik membran reseptörünün uyarılması arttıkça bu bölgeye yapışan non-kompetitif antagonistlerin etkinliği de artar (55). NMDA reseptörleri üzerindeki yoğun çalışmalar yakın zamanda birçok altbirimin de ortaya konulmasını sağlamıştır. Bu altbirimler değişik beyin bölgelerinde daha yoğun konsantrasyonlarda yer almakta ve canlının gelişim evresine göre de farklılıklar gösterebilmektedir. Birçok olguda iGluRs altbirimleri değişik laboratuvarlar tarafından ayrı ayrı ve de eş zamanlı olarak klonlandığı için benzer altbiremlere her biri farklı isimler vermişler.

NR1: Glisin bağlayıcı bölgeyi içerir. 938 aminoasitten'ten meydana gelmiştir. 105,5 kDA ağırlığındadır. NR1 reseptör subtip ekspresyonu Merkezi sinir sisteminde hemen hemen her yerde bulunur.

NR2: Glutamat bağlayıcı bölgeyi içerir. 4 grubu bulunur:

-NR2A: Beyinde postnatal eksprese edilir. 1464 aminoasitten meydana gelir ve 165,5 kDA ağırlığındadır. Ekspresyonu için yüzeyde NR1 N-terminalinin bulunması gereklidir.

-NR2B: Tüm embriyonik beyinde eksprese edilir. Ayrıca embriyonik ve neonatal kardiyak myositlerde eksprese edilir. Postnatal olarak yalnız ön beyinde eksprese edilir. 1482 aminoasitten oluşur ve ağırlığı 165,9 kDA'dır.

-NR2C: Postnatal olarak serebellumda eksprese edilir. 1239 aminoasitten oluşur ve 135,4 kDA ağırlığındadır.

-NR2D: Diencephalon ve beyinsapında embriyonal ve neonatal olarak eksprese edilir. 1323 aminoasitten oluşup 142,9 kDA ağırlığındadır. NR2D'nin ekspresyonu ortabeyin ve arkabeyinde yüksek, fakat önbeyinde düşük miktardadır. NR2A ekspresyonunununa tamamlayıcıdır.

NR3: Silik fonksiyon gösterir. NR3A ve NR3B olarak iki tiptir. Ca^{+2} permeabilitesi yavaş ve uzun sürer. NR3A; Serebellum hariç korteks, hipokampus (CA1), ortabeyin, arkabeyin ve spinal kordda eksprese edilir. Neonatal ekspresyonları çok güçlüdür, sonra azalmaya başlarlar (56).

Moriyoshi tarafından ekspresyon klonlama tekniğini kullanarak sıçan beyininden ana NMDA reseptör altbirimi klonlanmıştır, NMDA1R (NR1) (57). Daha sonraları *Xenopus* oositiyle yapılan çalışmalarda bu altbiriminin homomerik reseptör kanalları oluşturabildiği görüldü, bunlar da NMDAR'nin karakteristik özelliklerini sergilemektedirler. Bununla birlikte oositlerdeki homomerik NR1 reseptörlerinden elde edilen yanıtların amplitüdü, beyindeki mRNA'lardan elde edilebilenlerden çok daha küçüktür. Bu durum, heteromerik reseptörleri oluşturan ek altbirimlerin varlığını göstermiştir. Daha sonradan 4 reseptör altbirimi NMDAR 2A (NR2A) – NMDAR 2D (NR2D), PCR ve kros-hibridizasyon teknikleriyle laboratuvarlarda klonlanmıştır.

NR2 altbirimi tek başına fonksiyonel NMDA reseptör kanallarını oluşturamaz, NR1 ile birlikte eksprese edildiğinde heteromerik reseptörlerden yanıtlar artmaya başlar. Rekombinant heteromerik NMDA reseptörlerinin, NR1 ile birlikte olabilen 4 farklı NR2 altbirimine bağlı olarak değişik özellikler göstermesinden dolayı, NR2 altbirimleri düzenleyici altbirimler olarak tarif edilmiştir. NR1'ler ise heteromerik NMDA reseptörünü oluşturan temel altbirimler olarak ortaya konulmuştur.

NMDAR, AMPAR ve KAR alt üniteleri membrana uzanan 3 birim içerir (M1, M3 ve M4). M2 birimi membrana sitoplazmik kenardan daldırılmış şekilde bir geri giriş bükümünü oluşturur. Her NMDAR alt ünitesi geniş bir ekstrasellüler N-terminal birimi ve intrasellüler C-terminali sergiler. Genelde postsinaptik bölgeler hem AMPA reseptörü AMPAR hem de NMDAR içerirken; bazı bölgelerde sadece NMDAR'leri bulunur.

Sinapslar gelişimin erken evresinde sadece NMDAR'leri içerirler (57). Birçok sinapsta AMPAR'leri eksitatuvar transmisyon sırasında ana başlangıç şarj taşıyıcısı gibi etki etmektedir. Bu sırada NMDAR'leri, intrasellüler enzimler ve ikinci mesajcıların aktivelere modüle edebilen katı bir Ca^{+2} komponenti ile birlikte daha yavaş bir akım üretir.

2.3.3. NMDA'nın Fizyolojisi

NMDA reseptör kanallarının üç özelliği vardır:

1- Yüksek iletkenliğe sahip iyon kanallarını kontrol ederler (50 pS) ve Na^{+} ile K^{+} 'un yanısıra Ca^{+2} 'a da geçirgendirler.

2- Kanalın açılması, ko-faktör olarak glisin ekstrasellüler olarak bulunmasına bağlıdır. Kanal sadece glisin varlığında çalışır. Normal koşullarda ekstrasellüler glisin yoğunluğu NMDAR kanalının çalışabileceği miktarlarda bulunmaktadır.

3- Açılması kimyasal haberciye bağlı olduğu kadar membran potansiyeline de bağlıdır. Bu, NMDAR'nü diğer voltaj kontrollü kanallardan ayıran bir özelliktir.

Voltaja bağımlılık diğer kanallarda olmayan farklı bir mekanizmadan kaynaklanmaktadır. Diğer kanallarda membran potansiyelindeki değişiklikler, intrinsek voltaj sensörü sayesinde kanalda konformasyonel değişikliklere neden olurken, NMDA ile aktive olan kanalda ekstresek bloker olan Mg^{+2} (ekstrasellüler Mg^{+2}) açık olan kanalı kapayan bir tıkaç gibi davranır ve iyon akışına engel olur. Mg^{2+} istirahat membran potansiyelinde (-65 mV) de kanala sıkıca bağlanır. Ancak membran depolarize olduğunda (sözgelimi, non-NMDA reseptörleri glutamat ile aktive olduğunda), Mg^{+2} elektrostatik etkiyle kanaldan uzaklaştırılır ve Na^{+} ile Ca^{+2}

un geçişine izin verir. Bu nedenle NMDA reseptörlerinde en yüksek iyon akımı her iki koşulun da gerçekleştiği zaman ortaya çıkar.

Birçok hücrede hem non-NMDA hem de NMDA reseptörü bulunmaktadır. Mg^{+2} istirahat membran potansiyelinde NMDA reseptör kanalını bloke ettiği için eksitator post-sinaptik potansiyelin (EPSP) oluşmasında önemli bir katkısı yoktur.

Bu nedenle istirahat durumunda oluşan EPSP'lerde büyük oranlarda non-NMDA reseptörlerinin katkısı bulunmaktadır. Depolarizasyon arttıkça Mg^{+2} NMDA reseptör kanalından uzaklaşır ve daha çok NMDA reseptörü açılarak bu kanallardan iyon akışı gerçekleşir.

NMDA reseptör kanalının diğer bir farkı, göreceli olarak daha yavaş açılıp daha yavaş kapanması ve bu özelliği nedeniyle EPSP'lerin geç fazına katkıda bulunmalarıdır. EPSP'nin geç fazı, Mg^{+2} 'un kanalı bloke etmesi nedeniyle tek bir presinaptik sinyalden sonra zayıf bir yanıt olarak karşımıza çıkar. Oysa presinaptik nöron ard arda sinyaller gönderirse postsinaptik hücrede EPSP'ler toplanarak 20 mV veya daha fazla bir depolarizasyon oluşturur. Bu durumda NMDA reseptörü büyük ölçüde Ca^{+2} 'un katkısı ile daha büyük akımlara yol açar. NMDA reseptörünün aktivasyonu sonucu post-sinaptik hücrelerde, kalsiyuma bağımlı enzimler ve bazı ikinci haberciler devreye girer. Bu biyokimyasal reaksiyonlar, sinapta bazı uzun vadeli modifikasyonlara katkıda bulunan sinyal yollarını tetikler. Öğrenme ve bellekte, sinapta gerçekleşen değişikliklerin önemli olduğu düşünülmektedir.

NMDA reseptörünün aktivasyonu presinaptik aktiviteye bağlı olduğu ve uzun süreli sinaptik modifikasyonlar ile ortaya çıktığı için, çoğu kez bu duruma aktiviteye bağımlı sinaptik modifikasyonlar denilmektedir (58).

Bazı koşullar altında glutamat gibi eksitator transmitterlerin dengesizliği, hastalıkların ortaya çıkmasına neden olabilmektedir. Yüksek miktarlarda glutamat nöronlar için toksiktir. Beyindeki birçok hücrede L-glutamata yanıt veren reseptörler bulunmaktadır. Doku kültürlerinde ortama yüksek düzeyde glutamat eklenmesi bir çok nöronu öldürmektedir, buna glutamat eksitotoksitesi adı verilmektedir. Bir çok hücrede bu tür toksisitede, NMDA reseptörlerinden Ca^{+2} 'un hücre içine girişi sorumlu tutulmaktadır. Yüksek intraselüler Ca^{+2} , kalsiyuma bağlı proteazları ve fosfolipazları aktive ederek hücreye toksik olan serbest radikallerin oluşmasına yol

açmaktadır. İnme sonrası hücre hasarından, status epilepsisinde tekrarlayan episodlarda ortaya çıkan hücre ölümünden, Huntington hastalığı gibi dejeneratif hastalıklarda glutamat toksisitesinin payı olduğu düşünülmektedir. Spesifik NMDA reseptör blokerleri, glutamatın toksik etkisini engelleyebilmesi nedeniyle bugün kliniklerde kullanılmaya başlanmıştır.

2.3.4. NMDA'nın Lokalizasyonu

NMDA reseptör dağılımını saptamak için bir dizi değişik radyoligandlar kullanılarak ligand bağlama çalışmaları yapılmıştır. Bu çalışmalarda; NMDA reseptörlerinin tüm beyinde yaygın bulunurken, dominant olarak ön beyinde bulunduğu gösterilmiştir. Tüm beyindeki en yüksek düzeyler ise hipokampusdaki CA1 bölgesindedir. Değişik ligandların bağlanma bölgelerinin saptanmasıyla yapılan NMDA reseptör dağılımının kantitatif kıyaslaması, NMDA reseptörlerinin birçok farklı farmakolojik tiplerinin varlığını işaret etmiştir. NMDA reseptör altbirimlerinin moleküler klonlamasını takiben her bir altbirimin dağılımı, insitu hibridizasyon histokimyasıyla test edilmiştir. Erişkin kemirgenlerde NR1 mRNA tüm beyinde yaygın olarak dağılmış bir şekilde bulunmuştur. Zıt olarak 4 NR2 altbirimi farklı yerleşim paterni izler. NR2A mRNA tüm beyinde yaygın olarak bulunur; fakat serebral korteks, hipokampus ve serebellumda daha yoğun olarak bulunur. NR2B altbirimi önbeyinde, serebral korteks, hipokampus, septum, kaudat ve putamende seçici olarak yüksek düzeyde bulunur. NR2C mRNA serebellumda dominant olarak bulunurken, talamusda ve olfaktör bulbusda daha az olarak bulunur. NR2D'nin ekspresyonu ortabeyin ve arkabeyinde yüksek iken; düşük düzeyleri talamusda, olfaktör bulbusda ve beyin sapında bulunur. NR2C ve NR2D altbirimleri hipokampal nöronlarda, özellikle nöronlar arasında bulunurlar. NR3A; serebellum hariç korteks, hipokampus (CA1), ortabeyin, arkabeyin ve spinal kortda eksprese edilir (118). Kemirgenlerin beyinlerindeki NR2 altbirimlerinin ekspresyon paternleri gelişim sırasında düzenlenmektedir. NR2B ve NR2D mRNA'ları prenatal dönemde ortaya çıkarlar, halbuki NR2A ve NR2C mRNA'larının ilk tespiti doğum zamanına yakındır. En önemli değişiklik olarak saptanan bulgu, serebellar granül hücrelerinde ekspresyonun NR2B'den NR2C'ye geçişidir. NR2B mRNA'sı serebellar granüler hücrelerde embriyonik dönemde en çok 7. günde eksprese edilirken, daha sonradan

neredeşeyse tamamen kaybolup NR2C mRNA'sı ile yer değiştirir. NMDA reseptör kanallarının fonksiyonel özellikleri, 4 farklı NR2 tipine göre değişmektedir. Embriyonik ve erişkin beyinlerindeki NR2 genlerinin farklı zamansal ve lokalizasyon ekspresyon paternlerinin, NMDA reseptörlerinin en ahenkli şekilde çalışmasını sağlamak üzere tasarlandığı düşünölmektedir (59).

Halihazırda genel itibariyle hem fikir olunan nokta NMDAR'lerinin NR1 altbirimleri ve beraberinde NR2 altbirimlerinin en azından bir tipinden oluşan heteromerik yapılar olduğudur. NR2 altbirimlerinden gelen domainler glisin bağlanma bölgesini oluşturur. Membrana doğru dizilmiş her glutamat reseptör altbirimi farklı yaklaşımların bir bileşkesinden ortaya çıkarılmıştır. Bu çalışmalar kaçınılmaz bir kanıt ortaya koymuştur: NMDAR, AMPAR ve KAR altbirimleri 3 adet membrana uzanan domain içerir (M1, M3 ve M4). M2 birimi membrana stoplazmik kenardan daldırılmış şekilde bir büklüm oluşturur. Her NMDAR alt ünitesi geniş bir extrasellöler N-terminal domaini ve intrasellöler C- terminali sergiler. NMDAR poru Ca^{+2} , a yüksek derecede geçirgenlik sağlar ve Mg^{+2} ile bloke olur.

Voltaja bağımlı tek iyonotropik reseptör NMDAR'dir. Normal miktarlarda Ca^{+2} bazı bellek tiplerinin oluşmasında gerekli sinyal yollarını tetiklemektedir. NMDAR'lerinin aktivitesi Mg^{+2} ile voltaja hassas blokajı ve Ca^{+2} , a geğirgenliği pora uzanmış olan M2 segmentindeki aminoasit rezidülerine dayanmaktadır. Katyon seğiciliği M2 segmentinin kritik bir alanına (N alanı) dayanır, bu alan NR1 ve NR2 alt ünitelerinde bulunan bir asparajin rezidüsü tarafından oluşturulur. NR2 alt ünitesi, membranın extrasellöler yüzünden gelen Mg^{+2} iyonları için temel bağlanma bölgesini içerir. Yani Mg^{+2} blokları M2'deki kritik asparajin rezidüleri veya onlara çok yakın olan aminoasit rezidülerinin etkileşimine dayanır. Bu bağlanma bölgesi; N bölgesi, yüksek Ca^{+2} geğirgenliği için kritiktir. NR1 rezidüleri kanalın dış vestibölünü oluşturur. Bu vestiböl M3 (C-terminal ucunda) ve M4 (N-terminal ucunda) segmentlerinin M1'den önce gelen parçaları tarafından oluşturulmuştur.

2.3.5. NMDA'nın Öğrenme ve Hafızadaki Rolü

Beynin hippocampus olarak adlandırılan bölgesinde, sinapslar yüksek frekanslı elektrik sinyalleriyle uyarılınca sinaptik bağlantılar güçlenir. Düşük

frekanslı elektrik sinyalleriyle uyarılırsa sinaptik bağlantılar zayıflar. Sinaptik bağlantının artması ya da azalması, beyinde bilgilerin nasıl depolandığı ve silindiğini açıklayan en geçerli mekânizma olarak kabul edilmektedir.

80'li ve 90'lı yıllarda nörobiyologlar sinaptik bağlantıların güçlenmesi ve zayıflaması gibi hâdiselerin, sinir hücresi zarında bulunan, NMDA molekülü reseptörlerine bağlı olduğunu gösterdiler. 1996 yılında Princeton Üniversitesi'nden Jeo Tsien NMDA alıcılarının hafıza ve öğrenme ile alâkalı rollerini araştırmak için deney farelerinin beyinlerinin hippocampus bölgesinde bulunan NMDA reseptörlerinin NR1 altünitesini bir metotla baskıladılar. Bu fareler boyut ve yön gibi mekânla alâkalı hâdiseleri anormal şekilde algılamış ve buna bağlı olarak mekânla ilgili hafıza kaybına uğramışlardır (60). Jeo Tsien ve ekibi NMDA reseptörlerinin NR2A ve NR2B adlı diğer alt üniteleriyle de ilgilenmişlerdir. Kuş, kemirici gibi bazı hayvanların gençlerinde, NMDA reseptörlerinin yaşlı fertlerdekilere nisbetle daha uzun süre aktif veya açık kaldığını bulmuşlardır. Bu farklılık genç hayvanların öğrenme ve hafıza kapasitelerinin niçin daha iyi olduğunu açıklamaktadır. Çünkü hayvanlar yaşlandığında, daha uzun süre aktif olan NR2A alt ünitesince zengin NMDA reseptörleri artar, daha uzun süre aktif olan NR2B ünitesince zengin olanlar ise azalır. Jeo Tsien ve ekibi, döllenmiş fare yumurtalarına NR2B altbirimini kodlayan geni taşıyan bir DNA parçası enjekte ettiler. Bu yumurtalardan doğan farelerde NMDA reseptörleri normal farelere göre iki kat daha fazla açık kalmıştır. Üstelik bunların yetişkinliklerinin hipokampusundaki nöronların sinaptik, bağlantıları aynı yaştaki normal farelere göre daha fazladır ve genç farelerinkine benzerlikler taşımaktadır.

2.3.6. Nörolojik Hastalıklar

Glutamat gibi eksitatör nörotransmitterlerin dengesizliği bazı koşullar altında bazı hastalıkların ortaya çıkmasına neden olabilmektedir. Yüksek miktarlarda glutamat nöronlar için toksiktir. Beyindeki birçok hücrede L-glutamata yanıt veren reseptörler bulunmaktadır. Doku kültürlerinde ortama yüksek düzeyde glutamat eklenmesi bir çok nöronu öldürmektedir, buna glutamat eksitotoksitesisi adı verilmektedir. Bir çok hücrede bu tür toksisite NMDA tipi reseptörlerden Ca^{+2} 'un hücre içine girişi sorumlu tutulmaktadır. Yüksek intrasellüler Ca^{+2} , kalsiyuma bağlı

proteazları ve fosfolipazları aktive ederek hücreye toksik olan serbest radikallerin oluşmasına yol açmaktadır. İnme sonrası hücre hasarından, status epilepsisinde tekrarlayan episodlarında ortaya çıkan hücre ölümünden, Huntington hastalığı, ALS'de olivopontocerebellar atrofi gibi dejeneratif hastalıklarda kronik glutamat reseptör aktivasyonu ve glutamat toksisitesinin payı olduğu düşünülmektedir. Spesifik NMDAR blokerleri, glutamatın toksik etkisini engelleyebilmesi nedeniyle bugün kliniklerde kullanılmaya başlanmıştır.

Glutamat ve aspartat enerji metabolizması ile özellikle uyduğu zaman ekzotoksin olabilir. Dikkate değer olarak hipotalamusun arkuat nükleusunda kan-beyin bariyeriyle iyi korunmayan alanlarda akut nörodejenerasyon gösterilmiştir. İyonotropik glutamat reseptörlerinin çoğunun aktivasyonu çeşitli nörodejenerasyon mekanizmalarını içine alır. Örneğin nörodejenerasyonu iskemik olay izler ve LTP benzeri fenomenin patolojik aşırılığı bağlanma mekanizmalarına benzeyebilir. Ca^{+2} girişi ve eşlik eden NMDAR ilgisi ile özellikle AMPAR aktivasyonundan nöronal hasar ortaya çıkar.

Glutamat aracılı nörotoksisitede predispoze nöronlarda bozulmuş ATP üretimi metabolik inhibisyonuna yol açar. Hasarın şiddetlenmesi ile serbest O_2 radikalleri ortaya çıkar. Bozulmuş Ca^{+2} hemostazı ile sonuçta enerji metabolizması hasar görür ve bazı kronik nörodejeneratif hastalıklar belirginleşebilir.

3. MATERYAL ve METOD

Bu çalışma Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Laboratuvarı ve Biyokimya Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir.

3.1. Materyal

3.1.1. Deney Hayvanları

Bu çalışmada Wistar-Albino cinsi toplam 36 adet erkek sıçan kullanıldı. Deneyde kullanılan sıçanlar, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Laboratuvarı'ndan temin edildi. Sıçanlar standart ışık (12 saat gün ışığı /12 saat karanlık), ısı (25°C)'da yeteri kadar (*ad libitum*) su ve yem ile toplam 4 hafta süreyle beslendiler.

Sıçanlar Kontrol Diyeti Grubu (n=6), Ayçiçek Yağı Diyeti Grubu (n=6), Zeytinyağı Diyeti Grubu (n=6), Balık Yağı Diyeti Grubu (n=6), Tere Yağı Diyeti Grubu (n=6) ve Margarin Diyeti Grubu (n=6) olmak üzere toplam 36 hayvan altı gruba ayrılarak özel olarak hazırlanmış kafeslerde dörderli gruplar halinde tutuldular.

Tüm hayvanlar *ad libitum* bırakıldıkları halde deney hayvanlarına ek olarak oral gavajla günlük 2mL sıvı yağ verildi. Sıçanlar bir seferde 2 mL'den fazla sıvı aldıklarında regürjitasyon saptandığı için maksimum doz 2 mL olarak alındı.

Kontrol Diyeti Grubu ağırlıkları 200,5±26,5 gr olan 12 aylık 6 adet sıçandan oluşturuldu. Bu gruptaki hayvanlara diğer gruptakilerle aynı evsafa standart sıçan yemi yanında oral gavajla günlük 2 mL distile su verildi.

Ayçiçek Yağı Diyeti Grubu (AY), ağırlıkları 187±13 gr olan 12 aylık 6 adet sıçandan oluşturuldu. Bu gruptaki hayvanlar standart yeme serbest bırakıldılar, ek olarak oral gavajla günlük 2 mL saf ayçiçek yağı uygulandı.

Zeytinyağı Diyeti Grubu (ZY), ağırlıkları 191±18 gr olan 12 aylık 6 adet sıçandan oluşturuldu. Bu gruptaki hayvanlar da standart yeme serbest bırakıldılar, ek olarak oral gavajla günlük 2 mL saf zeytinyağı uygulandı.

Balık Yağı Diyeti Grubu (BY), ağırlıkları $189,5 \pm 27,5$ gr olan 12 aylık 6 adet sıçandan oluşturuldu. Bu gruptaki hayvanlar da standart yeme serbest bırakıldılar, ek olarak oral gavajla günlük 2 mL saf balık yağı uygulandı.

Tereyağı Diyeti Grubu (TY), ağırlıkları $190,5 \pm 20,5$ gr olan 12 aylık 6 adet sıçandan oluşturuldu. Bu gruptaki hayvanlar da standart yeme serbest bırakıldılar, ek olarak oral gavajla günlük 2 mL katı tereyağı uygulandı. Tereyağı 40°C 'de günlük eritilip soğutulduktan sonra verildi.

Margarin Diyeti Grubu (MY), ağırlıkları $189,5 \pm 27,5$ gr olan 12 aylık 6 adet sıçandan oluşturuldu. Bu gruptaki hayvanlar da standart yeme serbest bırakıldılar, ek olarak oral gavajla günlük 2 mL katı margarin uygulandı. Yağ 40°C 'de günlük eritilip soğutulduktan sonra verildi.

Sıçanlar enjeksiyon uygulanmasını takiben 4. haftanın sonunda im. olarak uygulanan % 10'luk ketamin (Alfamin, Alfasan IBV.)-% 2'lik ksilazin (Alfazin, Alfasan IBV) anestezisi altında dekapite edilerek deney sonlandırıldı.

Sıçanlar dekpote edildikten hemen sonra beyinleri alındı. Filtre kağıtları soğuk fosfat tamponuyla ıslatılıp -30°C 'lik buz paketleri üzerine konarak hipokampus çıkartma düzeneği oluşturuldu. Dekapitasyondan hemen sonra bu düzenek üzerinde hipokampuslar çıkarılarak önceden hazırlanmış içi 50 mM fosfat tamponu dolu plastik Eppendorf® tüplerine konuldu ve toplanan tüm numuneler analizin yapıldığı tarihe kadar -80°C 'de muhafaza edildi.

Deney süreci boyunca hayvanların davranış ve genel durumları gözlemlendi. Yağ diyeti uygulanan sıçan gruplarında bazen oral travmatizasyon bulgularına (hemoraji) rastlansa da ölen olmadı.

3.1.2. Sıçan Yemi Besin İçeriği

Toplam enerji: 2600 Kcal/kg

Kuru Madde	En az	%	88
Ham Protein	En az	%	23
Ham Selüloz	En çok	%	7
Ham Kül	En çok	%	8
HCl'de Çözünmeyen Kül	En çok	%	2
Kalsiyum	En az-en çok	%	1-1,80
Fosfor	En az	%	0,90
Sodyum	En az en çok	%	0,5-0,80
NaCl	En çok	%	1
Methionin	En az	%	0,3
Lizin	En az	%	1

Tablo 1. Kullanılan sıçan yem içeriği

3.1.3. Sıçan Yemi Ve Diyetlerin Yağ Asiti Yüzdeleri

	Standart Yem	Ayçiçek Yağı	Zeytinyağı	Balık Yağı	Tereyağı	Margarin
Yağ asit %'si						
Bütirik asit					25	
Kaprilik asit	1,56					18,92
Kaproik asit					14,33	
Kaprik asit	0,22				4,40	0,09
Laurik asit	0,18				2,34	21,14
Undekanoik asit	0,20					
Miristik asit	1,86			9,38		
cis-10pentadek.	0,65					
Palmitik asit	35,13	24,74	14,08	21,87	8,8	13,27
Palmitoleik asit	2,42			14,38		
Elaidik asit	1,98					
cis10 Heptadek.	2,40					
Stearik asit	1,31	4,79	1,61	4,37	0,81	0,93
Oleik asit	26,10	44,59	77,79	10,63	31,71	22,17
Linoleik asit	15,18	25,88	6,52	2,50	11,75	23,33
Linolenik asit				2,50		
Araşidonik asit	5,48			2,50		
EPA				15,80		
DHA	5,30			16,58		

Tablo 2. Sıçan Yemi Ve Diyetlerin Yağ Asiti Yüzdeleri

3.1.4. Kullanılan Malzemeler ve Aletler

- | | |
|-------------------------------|---|
| 1- Soğutmalı santrifüj | : Eppendorf MR5415 (Almanya) |
| 2- Santrifüj | : Jouan B4İ (Fransa) |
| 3- Derin dondurucu | : Uğur (Türkiye) |
| 4- Hassas terazi | : Scaltec SPB 33 (İsviçre) |
| 5- Vorteks | : Nüve NM 100 (Türkiye) |
| 6- Otomatik pipetler | : Eppendorf (Almanya), Gilson (Fransa) |
| 7- Gaz Kromatografisi Cihazı: | Shimadzu GC 2010 (Japonya) |
| 8- Sonikatör | : Bandelin Sonoplus (Almanya) |
| 9- pHmetre | : Hanna Instruments (Portekiz) |
| 10- Manyetik Karıştırıcı | : Nüve (Türkiye) |
| 11- Elektroforez cihazı | : EC Apparatus Corporation 250-90 (ABD) |
| 12- Homojenizör | : Ultra Turrax T25 (Almanya) |
| 13- Biyokimya Analizörü | : Aeroset Abbott (A.B.D.) |
| 14- Görüntüleme Cihazı | : Kodak Image Station 2000 MM (Japonya) |
| 15- HPLC Chazı | : Thermo Finnigan Spectra (ABD) |
| 16- Su Banyosu | : Nüve NM 302 (Türkiye) |
| 17- Bidistile Su Cihazı | : Barnstead NANOpure Diamond (ABD) |
| 18- Teflon homojenizör | |

3.1.5. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Lipit Peroksidasyonu (MDA) İçin Kullanılanlar:

- Butylated hydroxy toluene (BHT), Merck (Almanya)
- NaOH, Merck (Almanya)
- Perklorik Asit, Merck (Almanya)
- Dinitrofenilhidrazin (DNPH), Merck (Almanya)
- HCl, Merck (Almanya)
- H₂SO₄, Merck (Almanya)
- Malondialdehid (MDA), Merck (Almanya)

- NaH₂PO₄, Merck (Almanya)
- K₂HPO₄, Merck (Almanya)
- Asetonitril (GC grade), Sigma-aldrich (ABD)
- Metanol (GC grade), Sigma-aldrich (ABD)

SDS-PAGE ve Western Blot İçin Kullanılanlar:

- Akrilamid: bisakrilamid % 30 T, % 2.6 C; Sigma (Almanya)
- Tris, Merck (Almanya)
- Glisin, Merck (Almanya)
- SDS, Merck (Almanya)
- APS, Merck (Almanya)
- TEMED, Merck (Almanya)
- 2-Merkaptoetanol, Merck (Almanya)
- Brom Fenol Blue, Merck (Almanya)
- Sodyum Klorür, Merck (Almanya)
- Tween 20, Merck (Almanya)
- Bovin Serum Albumin, Merck (Almanya)
- EDTA, Merck (Almanya)
- EGTA, Merck (Almanya)
- Leupeptin, Sigma (Almanya)
- Aprotinin, Sigma (Almanya)
- Benzamidin, Sigma (Almanya)
- Triton X-100, Sigma (Almanya)
- Immobilon-P, Sigma (Almanya)
- Kromotografi filtre kağıdı, Whattman (İngiltere)
- Metanol, Merck (Almanya)

- Hidroklorik Asit, Merck (Almanya)
- Anti NR2A, Sigma (ABD)
- Anti NR2B, Sigma (ABD)
- Monoklonal anti-rabbit IgG, Sigma (ABD)
- Pierce ECL Western Blotting Substrate (ABD)
- Prestained Molecular Weight Marker, Sigma (ABD)

Yağ Asiti Analizi İçin Kullanılanlar:

- Hekzan, Sigma (Amerika)
- Aseton, Sigma (Amerika)
- Metanol, Sigma (Amerika)
- Hidroklorik Asit, Merck (Almanya)
- NaOH, Merck (Almanya)

3.1.6. Kullanılan Çözeltiler

MDA Tayini İçin Kullanılanlar:

- 1- PBS : pH:7,4
- 2- BHT : 500 ppm (5 mg BHT 10 mL Metanoldeki çözeltisi)
- 3- NaOH : 6 M (12 gr NaOH 50 mL bidistile sudaki çözeltisi)
- 4- Perklorik Asid : 35% (v/v)
- 5- HCl : 2 M (37% HCl'den 1,658 mL, 10 ml bidistile suda)
- 6- DNPH : 2M HCl'de 5 mM çözeltisi (9,91 mg in 10 ml)
- 7- HCl : 2 M sudaki çözeltisi
- 8- H₂SO₄ : %1 için %98lik çözeltiden 0,14 mL alıp 10 mL bidistile suya tamamlanır.

SDS-PAGE ve Western-Blot İçin Kullanılanlar:

1- 4 x Alt Tampon: 1,5 M Tris HCl, pH: 8,8

36,3 g Tris 170 ml'ye distile su ile tamamlanıp pH'ı 8,8'e ayarlanır. Soğutulup pH'ı tekrar 8,8'e ayarlanır. 200 ml'ye distile suyla tamamlanır.

2- 14 x Üst Tampon: 0,5 M Tris HCl, pH: 6.8

12,1 g Tris, 170 ml'ye distile su ile tamamlanıp pH'ı 6,8'e ayarlanır. Soğutulup pH'ı yeniden 6,8'e ayarlanır. 200 ml'ye distile suyla tamamlanır.

Alt jel: (% 7.5'lük)

Bidistile su	4450 µl
Akril : bisakril % 30 T, % 2,6 C	2500 µl
4xlower buffer (tris HCl, pH: 8.8)	2500 µl
% 10 SDS	100 µl
% 10 APS	450 µl
TEMED	10 µl

Üst jel: (% 4'lük)

Distile su	2920 µl
Acril : bisacril % 30 T, % 2,6 C	670 µl
4 × Upper buffer (tris-HCl, pH: 6,8)	1250 µl
% 10 SDS	50 µl
% 10 APS	200 µl
TEMED	10 µl

3- Homojenizasyon Tamponu: 50 mM Tris-HCl pH: 7.5, 0,15 M NaCl, 1 mM EDTA, 2 mM EGTA, 25 µg/ml Leupeptin, 25 µg/ml Aprotinin, 10 µM benzamidin ve % 1'lik Triton X-100 bulunacak şekilde total hacim 30 ml'ye tamamlandı.

4- Numune Tamponu:

Upper buffer (0,5 M Tris-HCl, pH: 6,8)	2,0 ml
Gliserol	1,6 ml
% 10 SDS	3,2 ml
2-Merkaptoetanol	0,8 ml
% 0,1(w/v) Brom fenol blue	0,4 ml

5- Yürütme Tamponu: 15 gr Tris, 72 gr Glisin, 5 gr SDS, pH 8,3'e ayarlanıp distile su ile 1 lt'ye tamamlanır. 5 kat sulandırılarak kullanılır.

6- Transfer Tamponu: 0,606 gr Tris, 2.882 gr Glisin ve 1 ml % 10 SDS, distile su ile 160 ml'ye pH: 8,2-8,4 olacak şekilde tamamlanır. 40 ml metanol eklenir.

7- TTBS (Tris-Tween-Buffer Saline): 12,1 gr Tris, 17,5 gr NaCl, 2 ml Tween 20 (pipetle yavaşça çekilir, yoğun bir madde olduğu için) pH: 7,5 olarak ayarlanıp 2 litreye distile suyla tamamlanır.

8- Primer antikorlar: NR2A 1/3000 ve NR2B 1/5000 oranında, taze % 1 BSA-TTBS ile dilüe edilerek hazırlandı.

9- Sekonder antikor: Antirabbit IgG (Alkalen foDYAtaz konjuge) 1:10.000 oranında, taze % 1 BSA-TTBS ile dilüe edilerek hazırlandı.

3.2. Metod

3.2.1. Hipokampus Örneklerinin Homojenizasyonu

Dokular tartılıp MDA, SDS-PAGE ve Western Blot prosedürü uygulanmak üzere ayrıldı. Aynı gruptaki farklı sıçanlara ait doku örnekleri tartıldıktan sonra ikişer ikişer birleştirildi ve ilk adımda 1/5 oranında homojenizasyon tamponu ile karıştırılarak buz üzerinde teflon-cam homojenizatör ile 18-20 darbeye homojenizasyon yapıldı. Ardından bu karışım ikiye ayrılarak ilk kısım MDA analizi için, ikinci kısım ise SDS-PAGE ve Western Blot prosedürü için saklandı. MDA için ayrılan dokular ve ½ (v/v) oranında 500 ppm BHT ilavesinden sonra 1/5 oranında pH:7.14 fosfat tamponu eklenerek UltraTurraxT25 Homogenizer ile 2.500 rpm'de ve hemen sonra sonikatörle 30 sn boyunca +4°C sıcaklıkta homojenize edilerek

homojenatlar 10.000 X g'de santrifüj edildi ve elde edilen süpernatantlardan HPLC ile MDA çalışıldı.

SDS-PAGE ve Western Blot prosedürü için ayrılan ilk kısım numuneler Ultra Turrax T25 Homogenizer ile 2500 rpm'de ve hemen sonra sonikatörle 30 sn boyunca +4°C sıcaklıkta homojenize edilerdi. Homojenatlar 13.000 X g'de santrifüj edildi ve elde edilen süpernatantlardan SDS-PAGE ve Western Blot prosedürü ile NMDA reseptörleri çalışıldı.

3.2.2. Lipit Peroksidasyonunun Tayini

Lipit peroksidasyon ürünlerinden olan MDA, Mateos ve arkadaşlarının DNPH ile türevlenme esasına dayanan yüksek performanslı sıvı kromatografi (Thermo Finnigan Spectra HPLC, A.B.D.) metodu kullanarak ölçüldü (70).

Lipid peroksidasyonunda ortaya çıkan maddelerden biri de malondialdehid (MDA)'dir. MDA manuel spektrofotometrik yöntemlerle genelde tiyobarbitürk asit (TBA) ile türevlenme esasına dayanarak tayin edilir. Bu yöntemde TBA MDA'dan başka diğer aldehit türevlerini de bağladığı için yöntem çok hassas değildir. Burada kullanılan HPLC yönteminde ise türevlenme hem MDA'ya daha spesifik olan DNPH ile olmakta, hem de kromatografinin düz spektrofotometrik yöntemine göre çok daha fazla olan ayırım gücünden dolayı analiz yüksek sensitivite ve spesifitelere çıkmaktadır.

Deneyin prensibi: Yağ asidi peroksidasyonunun son ürünü olan MDA, DNPH ile reaksiyona girerek, 310 nm'de maksimum absorbanı veren renkli bir kompleks oluşturur.

Deneyin yapılışı: Süpernatantlardan 250 µL eppendorf tüplere alındıktan sonra üzerine 6M 50 µL NaOH solüsyonu eklenerek final hacim 300 µL'ye çıkarıldı. Alkali süpernatantlar daha sonra 60°C su banyosunda 30 dakika inkübe edildi (proteine bağlı MDA'nın hidrolizi). Numuneler soğutulduktan sonra %35'lik (v/v) perklorik asit ilavesiyle proteinlerin presipitasyonu sağlandı. Karışım 2800 X g'de 10 dakika santrifüj edilip süpernatantlardan 250 µL eppendorf tüplere aktarıldı ve üzerine 25 µL DNPH (5mM) eklenerek vortekslendi. 30 dakika karanlıkta

türevlenmeye bırakılan numunelerden 50 µL HPLC sistemine enjekte edildi. Sonuçlar cihazın otomatik integrasyonu ile mmol/g protein olarak hesaplandı.

Kromatografik koşullar

Kolon : 5µm, 125x4mm Nucleosil 100C18 RP

Mobil Faz (İzokratik) : Asetonitril/ H₂O / Asetoasetik Asit (38 / 62 / 0,2 –
v/v/v)

Akım Hızı : 0.6 mL/min

Kolon Sıcaklığı : 23°C

UV λ : 310 nm

3.2.3. SDS-PAGE Yöntemi

Laemmli'nin yöntemi esas alınarak çalışıldı (71). % 7,5'lik alt jel ve % 4'lük üst jel hazırlanıp, kuyucuk başına son konsantrasyonu 56,75 µgr protein olacak şekilde, doku homojenatı numune tamponuyla 1/1 oranında karıştırılarak uygulandı.

3.2.4. Western Blot Yöntemi

SDS-PAGE prosedürü ile örnekler jel üzerinde proteinlerine ayrıldı ve daha sonra poliviniliden difluorid (PVDF) membrana (Imobilon-P) transfer edilmek üzere transfer tankına alındı. Transfer prosedürü sonrası anti-NR2A ve anti-NR2B içeren solüsyonlarda bir gece boyunca bekletildi. Daha sonra sekonder antikorla 1 saat süre ile inkübe edilen membranlar, taze hazırlanan elektrokemilüminesans için birer mL'lik solüsyonlarda karıştırılarak 1 dakika beklemesi sağladı ve ivedilikle görüntüleme cihazında okutuldu. Oluşan bantlar Kodak Image Station 2000 MM görüntüleme cihazı kullanılarak tarandı. Elde edilen bant yoğunlukları her bir reseptör altbirimi için kendi arasında karşılaştırıldı.

3.2.5. Yağ Asiti Tayini

Yağ asitlerinin ekstraksiyon ve türevlenmesi için Folch ve arkadaşlarının çalışmasından yararlanılmıştır (72). Bunun için 500 µL 1.5 M HCl (Metanol içinde) içine 50 µL numune vortekslenildi. Daha sonra 2 saat 80°C'de türevlenme için inkübe edildi. Türevlenme sonrası hemen üzerine 100 µL bidisitile su katıldı. Buna 500 µL

Hekzan katarak hekzan fazından gaz kromatografi (Shimadzu GC 2010-A, Japonya) cihazında analiz için uygun miktar vialde alındı.

3.2.6. Protein Tayini

Otoanalizör ile Lowry (73) Metoduna göre ticari kitle (DC Protein Assay, Bio-Rad Laboratories, California, USA) otoanalizörde (Aeroset, Abbott, A.B.D.) çalışılmıştır.

3.2.7. İstatiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirmeler “SPSS 15.0 for Windows®” programı kullanılarak yapıldı. Genel olarak gruplar arasında anlamlı bir fark olup olmadığı Kruskal-Wallis Varyans Analiziyle değerlendirildi. Grupların birbiriyle karşılaştırılması için Mann-Whitney U testi kullanıldı. Yağ asiti yüzdeleri, Western Blot sonuçları ve MDA değerleri ortanca (minimum-maksimum) olarak verildi. *P* değerinin 0,05’den küçük olması anlamlı olarak kabul edildi.

4. SONUÇLAR

4.1. NR2A ve NR2B Reseptör Düzeyleri

NR2A reseptör yoğunlukları değerlendirildiğinde; Ayçiçek yağı diyeti grubundaki değerler Kontrol, Tereyağı ve Margarin diyeti gruplarına göre istatistiksel olarak düşük bulunmuştur ($p<0,05$). Diğer gruplardaki değişimler anlamlı değildir ($p>0,05$).

NR2B reseptör yoğunlukları analizinde; Balık yağı diyeti grubunda Kontrol grubuna göre anlamlı artış olduğu ($p<0,05$) ancak diğer gruplarla olan ve aralarındaki değişimlerin anlamlı olmadığı saptanmıştır ($p>0,05$). (Sonuçlar Tablo 3, Şekil 5 ve şekil 7 de gösterilmektedir).

Diyet Grupları	NR2A (optik dansite)	NR2B (optik dansite)
Kontrol	100	100
Ayçiçek Yağı	68.5 (65.8-68.5) ^a	100.6 (65.8-85.0)
Zeytinyağı	71.1 (58.6-103)	87.1 (64.2-113.1)
Balık Yağı	84.3 (76.7-114.9)	135.7 (112.9-155.5) ^b
Tereyağı	108.1 (97.3-131.9) ^b	149.2 (89.9-180.7)
Margarin	134.1 (98.6-175.5) ^b	212.3 (78.9-228.1)

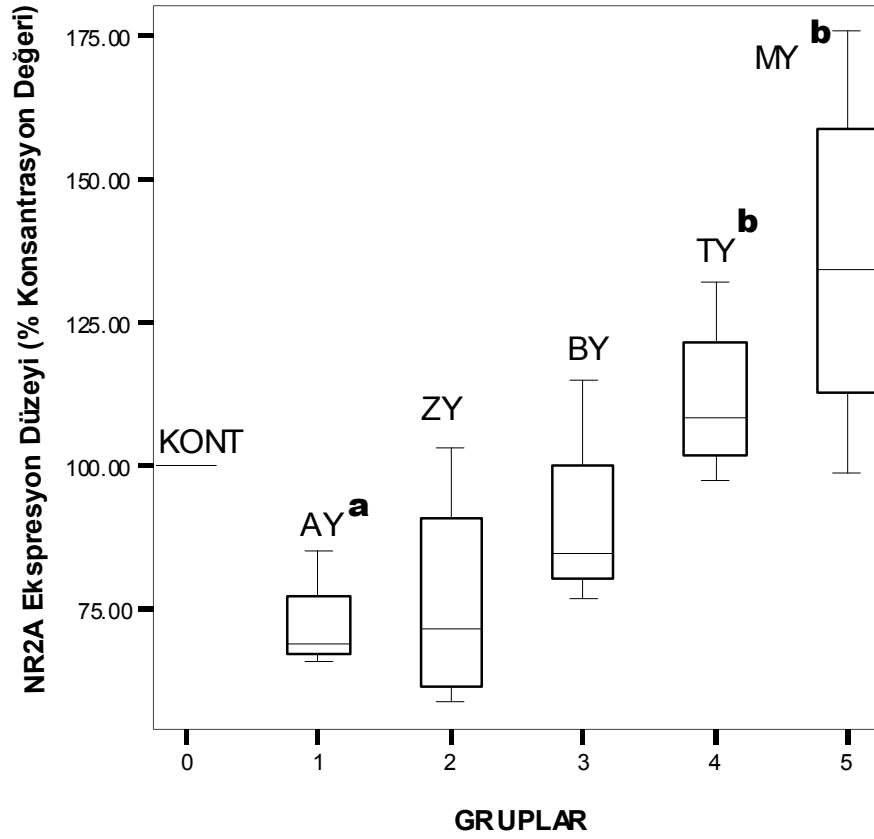
Tablo 3. Tüm gruplarda NR2A, NR2B reseptörlerinin yüzelik cinsinden yoğunlukları. Ortanca (minimum-maksimum) değerleri, a: Kontrol Grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı gruplar ($p< 0,05$), b: Ayçiçek Yağı Diyeti grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı gruplar ($p< 0,05$). Grafikte kutuların içindeki yatay çizgi ortancaya, kutular ikinci ve üçüncü çeyreği, kutuların üstündeki çizgiler ise minimum ve maksimum değerleri göstermektedir.

NR2A



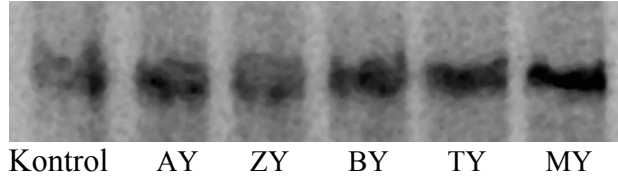
Şekil 5. NR2A'ya ait Western Blot örneği

NR2BA: NMDA Reseptörü A-Altıtipi, AY: Ayçiçek Yağı Diyeti Grubu, ZY: Zeytinyağı Diyeti Grubu, BY: Balık Yağı Diyeti Grubu, TY: Tereyağı Diyeti Grubu, MY: Margarin Diyeti Grubu.



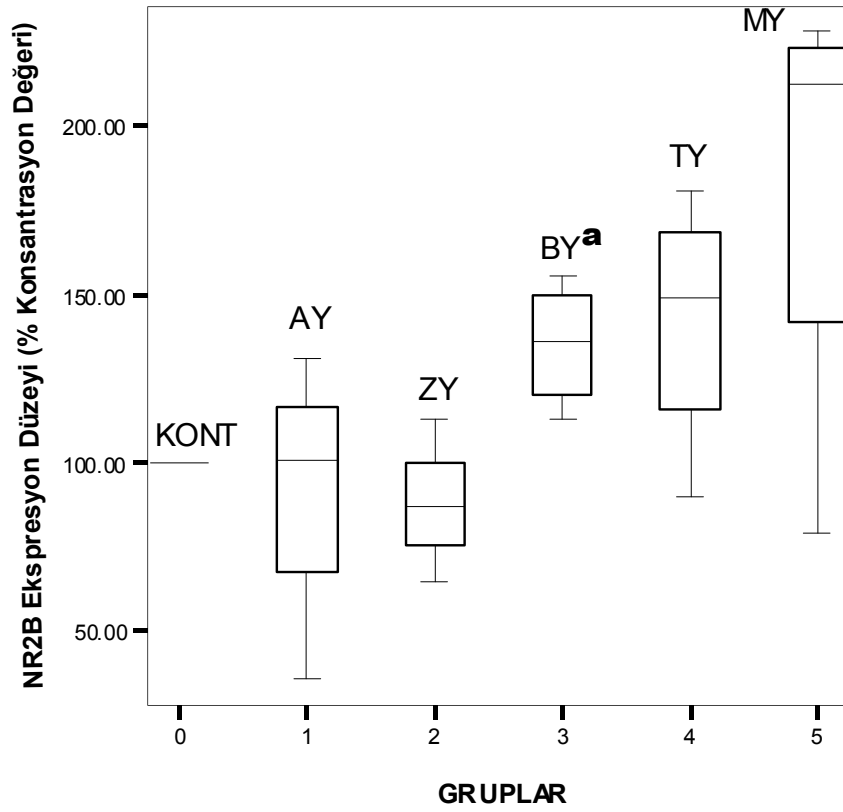
Şekil 6. Sonuçlar Mann Whitney-U testiyle yapılmış olup kontrol grubu 100 kabul edilerek kontrole göre % konsantrasyon değeri olarak verilmiştir. NR2A: NMDA Reseptörü A-Altıtipi AY: Ayçiçek Yağı Diyeti Grubu, ZY: Zeytinyağı Diyeti Grubu, BY: Balık Yağı Diyeti Grubu, TY: Tereyağı Diyeti Grubu, MY: Margarin Diyeti Grubu a: Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı gruplar ($p < 0,05$) b: Ayçiçek Yağı grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı gruplar ($p < 0,05$). Grafikte kutuların içindeki yatay çizgi ortancaya, kutular ikinci ve üçüncü çeyreği, kutuların üstündeki çizgiler ise minimum ve maksimum değerleri göstermektedir.

NR2B



Şekil 7. NR2B'ye ait Western Blot örneği.

NR2B: NMDA Reseptörü B-Altıtipi AY: Ayçiçek Yağı Diyeti Grubu, ZY: Zeytinyağı Diyeti Grubu, BY: Balık Yağı Diyeti Grubu, TY: Tereyağı Diyeti Grubu, MY: Margarin Diyeti Grubu.



Şekil 8. Sonuçlar Mann Whitney-U testiyle yapılmış olup kontrol grubu 100 kabul edilerek kontrole göre % konsantrasyon değeri olarak verilmiştir. NR2A: NMDA Reseptörü A-Altıtipi AY: Ayçiçek Yağı Diyeti Grubu, ZY: Zeytinyağı Diyeti Grubu, BY: Balık Yağı Diyeti Grubu, TY: Tereyağı Diyeti Grubu, MY: Margarin Diyeti Grubu ^a: Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı gruplar ($p < 0,05$). Grafikte kutuların içindeki yatay çizgi ortancaya, kutular ikinci ve üçüncü çeyreği, kutuların üstündeki çizgiler ise minimum ve maksimum değerleri göstermektedir.

4.2. Hipokampus Yağ Asidi Kompozisyon Yüzdeleri

4.2.1. DYA, TDYA ve ÇDYA

ÇDYA dikkate alındığında Kontrol Diyeti ve AY Grubuna göre sadece TY grubu hipokampus yağ asidi kompozisyonunda azalma gözlenmiştir (her ikisi için $p<0,01$) (Tablo 4). BY ve TY grubunda ZY grubuna göre azalma saptanmıştır (sırasıyla $p<0,05$ ve $p<0,01$). TY grubunda DYA BY grubuna göre azalma göstermiş olup ($p<0,01$) MY grubunda ise BY ve TY grubuna göre artma saptanmıştır (her ikisi için $p<0,01$).

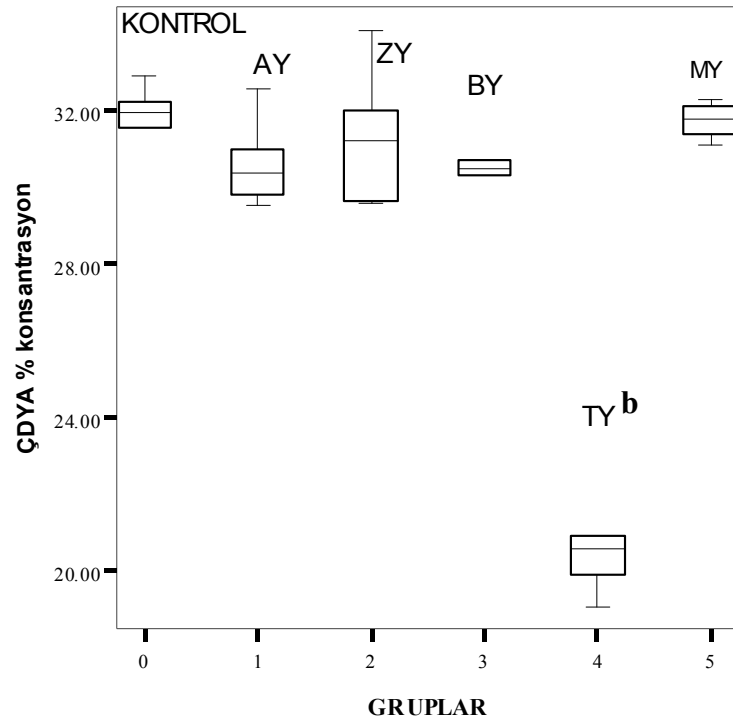
TDYA dikkate alındığında Kontrol Diyeti Grubuna göre ZY, BY ve TY grupları hipokampus yağ asidi kompozisyonlarında hepsinde artma gözlenmiştir ($p<0,01$) (Tablo 5). Diğer gruplar ele alındığında ZY, BY ve TY grubunda AY grubuna göre artma saptanmıştır ($p<0,01$). ZY grubuna göre ise BY, TY ve MY gruplarında sırasıyla azalma, artma ve azalma saptanmıştır (sırasıyla $p<0,05$, $p<0,01$, $p<0,01$). TY grubunda DYA BY grubuna göre artış göstermiş olup ($p<0,01$) MY grubunda ise BY ve MY grubuna göre azalma saptanmıştır ($p<0,01$).

DYA dikkate alındığında Kontrol Diyeti Grubuna göre AY, ZY ve TY grupları hipokampus yağ asidi kompozisyonlarında sırasıyla artma, azalma ve artma gözlenmiştir (hepsi için $p<0,01$) (Tablo 6). BY grubunda ise $p<0,05$ düzeyinde azalma gözlenmiştir. Diğer gruplar ele alındığında ZY, BY ve MY grubunda AY grubuna göre anlamlı derecede azalma saptanmıştır ($p<0,01$). ZY grubuna göre ise BY, TY ve MY gruplarında anlamlı derecede artış saptanmıştır ($p<0,001$). TY grubunda DYA BY grubuna göre anlamlı derecede artış göstermiş olup ($p<0,01$) MY grubunda ise TY grubuna göre anlamlı derecede azalma saptanmıştır ($p<0,01$).

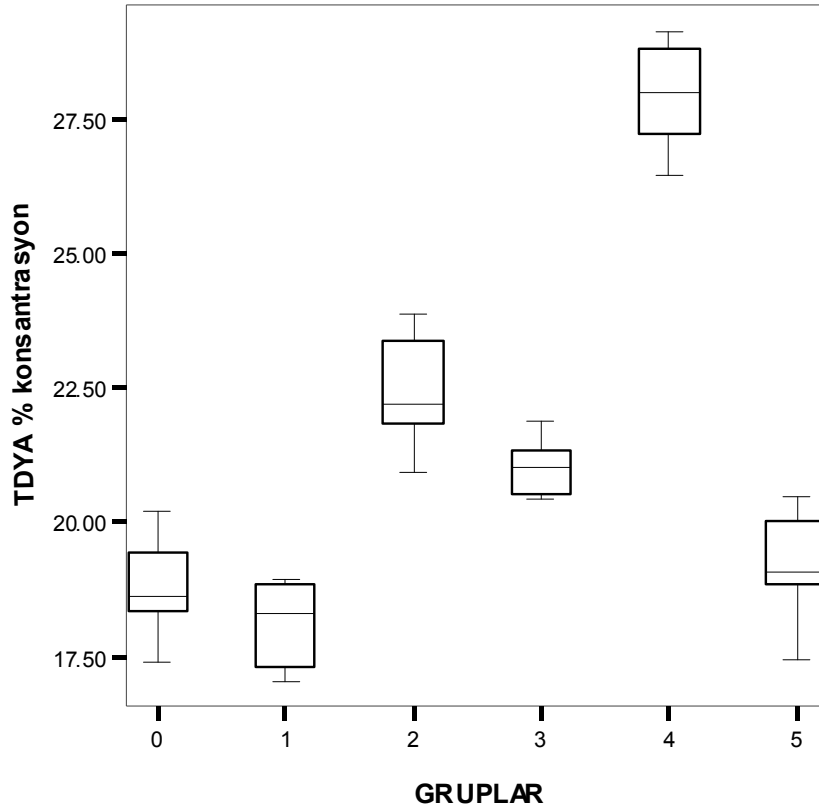
Tablo 4. Çeşitli diyet gruplarına ait ratların hipokampuslarındaki yağ asit yüzdeleri ^a

Yağ asitleri	K	AY	ZY	BY	TY	MY
DYA	49,49 (48,46-50,37)	51,68** (50,04-51,89)	46,46** (44,98-47,13)	48,42* (47,44-49,23)	51,18** (50,42-52,17)	49,18 (47,24-50,47)
TDYA	18,63 (17,38-20,19)	18,30 (17,04-18,93)	22,19** (20,92-23,85)	21,03** (20,41-21,87)	27,98** (26,45-29,11)	19,08 (17,42-20,48)
ÇDYA	31,99 (29,91-32,95)	30,38 (29,52-32,59)	31,22 (29,63-31,10)	30,49 (29,45-31,68)	20,61** (19,08-23,13)	31,80 (31,12-32,28)

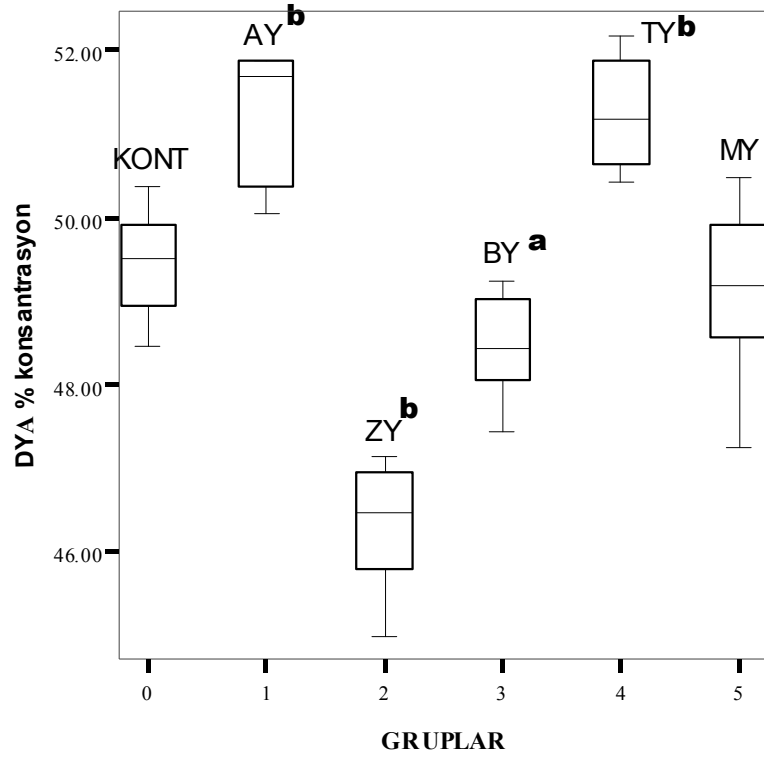
^aTüm gruplarda 6 sıçan vardır. Ortanca (minimum-maksimum) değerleri gösterilmiştir; K: Kontrol Diyeti Grubu, AY: Ayçiçek Yağı Diyeti Grubu, ZY: Zeytinyağı Diyeti Grubu, BY: Balık Yağı Diyeti Grubu, TY: Tereyağı Diyeti Grubu, MY: Margarin Diyeti Grubu. *Kontrol grubuna göre anlamlılık düzeyi $p<0,05$, **Kontrol grubuna göre anlamlılık düzeyi $p<0,01$.



Şekil 9. Sonuçlar Mann Whitney-U testiyle yapılmış olup kontrol grubu 100 kabul edilerek kontrole göre % konsantrasyon değeri olarak verilmiştir. ÇDYA: Çoklu Doymamış Yağ Asiti. KONT: Kontrol grubu, AY: Ayçiçek Yağı Diyeti Grubu, ZY: Zeytinyağı Diyeti Grubu, BY: Balık Yağı Diyeti Grubu, TY:Tereyağı Diyeti Grubu, MY:Margarin Diyeti Grubu. **a:**Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı gruplar ($p<0,05$) **b:**Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı gruplar ($p<0,01$). Grafikte kutuların içindeki yatay çizgi ortancaya, kutular ikinci ve üçüncü çeyreği, kutuların üstündeki çizgiler ise minimum ve maksimum değerleri göstermektedir.



Şekil 10. Sonuçlar Mann Whitney-U testiyle yapılmış olup kontrol grubu 100 kabul edilerek kontrole göre % konsantrasyon değeri olarak verilmiştir. TDYA: Tekli Doymamış Yağ Asiti. KONT: Kontrol grubu, AY: Ayçiçek Yağı Diyeti Grubu, ZY: Zeytinyağı Diyeti Grubu, BY: Balık Yağı Diyeti Grubu, TY: Tereyağı Diyeti Grubu, MY:Margarin Diyeti Grubu. **a:**Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı gruplar ($p<0,05$) **b:**Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı gruplar ($p<0,01$). Grafikte kutuların içindeki yatay çizgi ortancaya, kutular ikinci ve üçüncü çeyreği, kutuların üstündeki çizgiler ise minimum ve maksimum değerleri göstermektedir.



Şekil 11. Sonuçlar Mann Whitney-U testiyle yapılmış olup kontrol grubu 100 kabul edilerek kontrole göre % konsantrasyon değeri olarak verilmiştir. DYA: Doymuş Yağ Asiti. KONT: Kontrol grubu, AY: Ayçiçek Yağı Diyeti Grubu, ZY: Zeytinyağı Diyeti Grubu, BY: Balık Yağı Diyeti Grubu, TY:Tereyağı Diyeti Grubu, MY:Margarin Diyeti Grubu. **a:**Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı gruplar ($p<0,05$) **b:**Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı gruplar ($p<0,01$). Grafikte kutuların içindeki yatay çizgi ortancaya, kutular ikinci ve üçüncü çeyreği, kutuların üstündeki çizgiler ise minimum ve maksimum değerleri göstermektedir.

4.2.2. DHA, AA ve Oleik Asit

DHA dikkate alındığında Kontrol Diyeti Grubuna göre tüm diğer gruplarda hipokampus yağ asidi kompozisyonlarında anlamlı düzeyde azalma gözlenmiştir (tümü için $p<0,01$) (Tablo 5). Yine AY grubuna göre diğer diyet gruplarında, ZY grubuna göre ise TY ve MY gruplarında anlamlı düzeyde azalma gözlenmiştir ($p<0,01$). TY grubunda DHA BY grubuna göre anlamlı derecede azalma göstermiş olup ($p<0,01$) MY grubunda ise TY grubuna göre anlamlı derecede artış saptanmıştır ($p<0,01$).

AA dikkate alındığında Kontrol Diyeti Grubuna göre AY ve TY gruplarında hipokampus yağ asidi kompozisyonlarında anlamlı düzeyde azalma gözlenmiştir (tümü için $p<0,01$) (Tablo 6). ZY grubuna göre TY ve BY gruplarında $p<0,05$

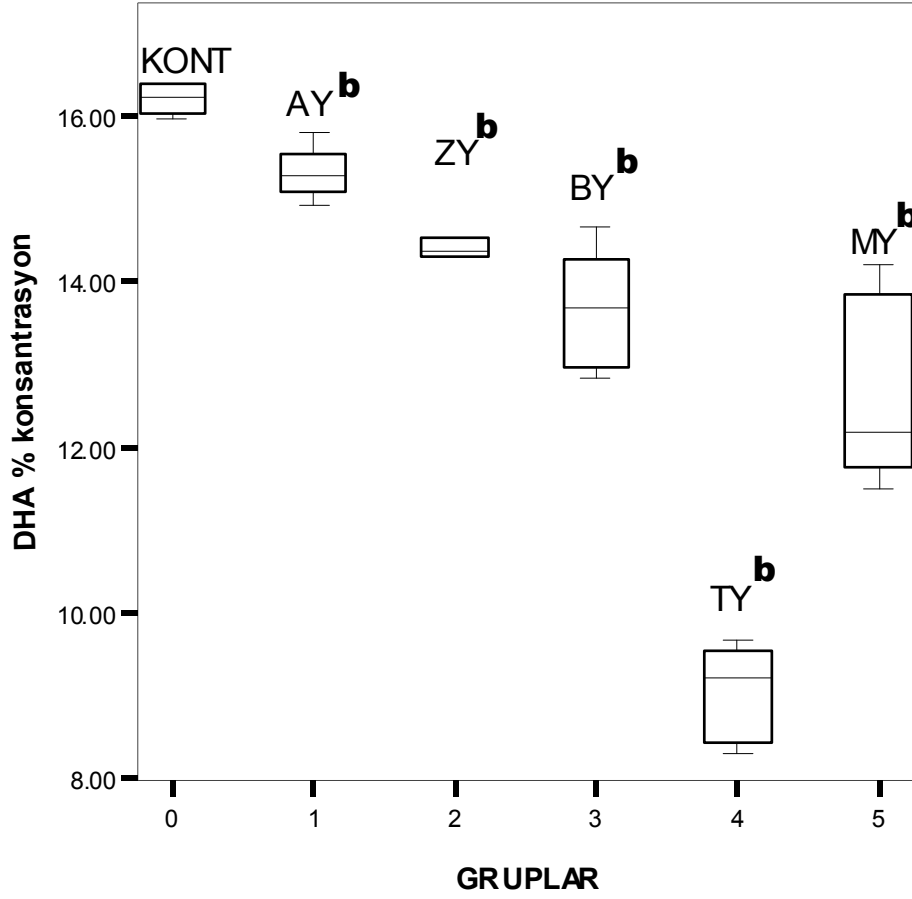
düzeyinde azalma gözlenmiştir. MY grubunda ise TY grubuna göre anlamlı derecede artış saptanmıştır ($p<0,05$).

Oleik Asit dikkate alındığında Kontrol Diyeti Grubuna göre AY hariç tüm diğer gruplarda hipokampus yağ asidi kompozisyonlarında anlamlı düzeyde artma gözlenmiştir (tümü için $p<0,01$) (Tablo 5). Yine AY grubuna göre ZY, BY, TY ve MY gruplarında artış gözlenmiştir ($p<0,01$). MY grubunda da ZY grubuna göre; TY grubunda BY grubuna göre anlamlı artış saptanmıştır ($p<0,05$).

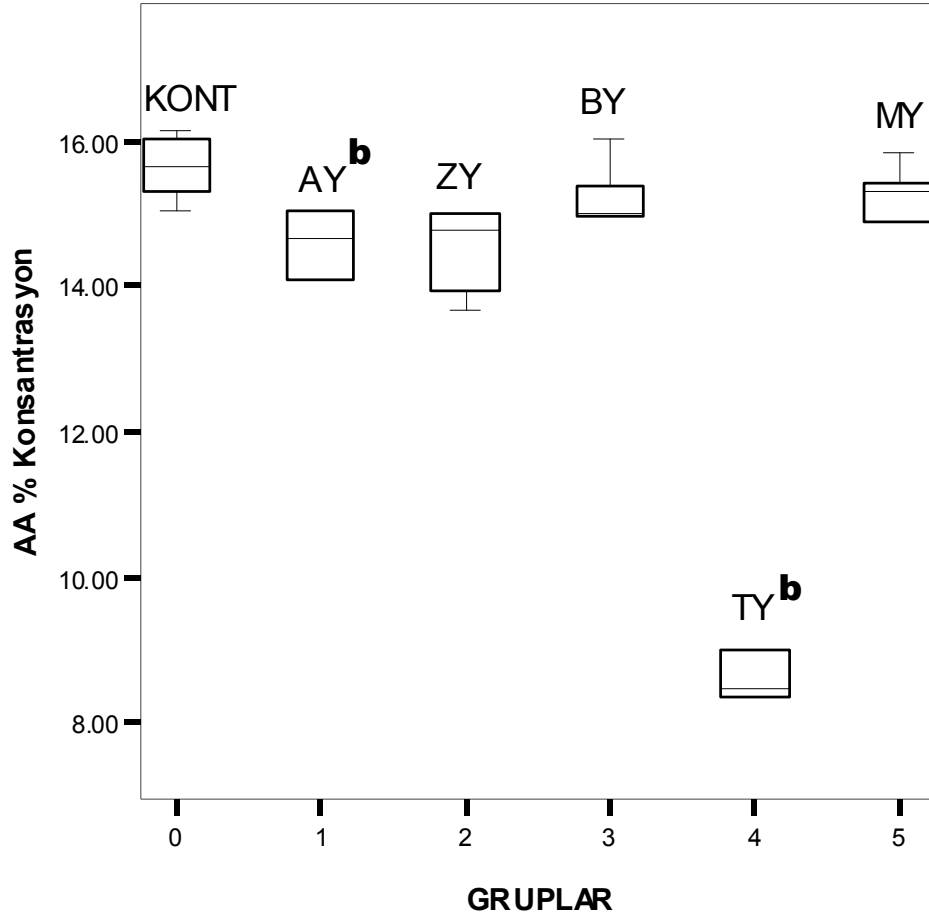
Tablo 5. Çeşitli diyet gruplarına ait sıçanların hipokampuslarındaki yağ asit yüzdeleri ^a

Yağ asitleri	K	AY	ZY	BY	TY	MY
DHA	16,24 (15,98-17,01)	15,29** (14,94-15,81)	14,38** (13,73-15,04)	13,68** (12,84-14,66)	9,22** (8,30-9,67)	12,19** (11,50-14,20)
AA	15,66 (15,04-16,12)	14,64** (12,37-15,03)	14,76 (13,68-17,46)	15,00 (14,33-16,02)	8,46** (7,34-15,49)	15,28 (9,91-15,83)
Oleik A.	17,27 (16,73-17,65)	17,26 (16,38-17,97)	18,81** (18,34-19,83)	19,92** (18,84-20,89)	23,34** (20,42-27,19)	21,49** (19,20-3,49)

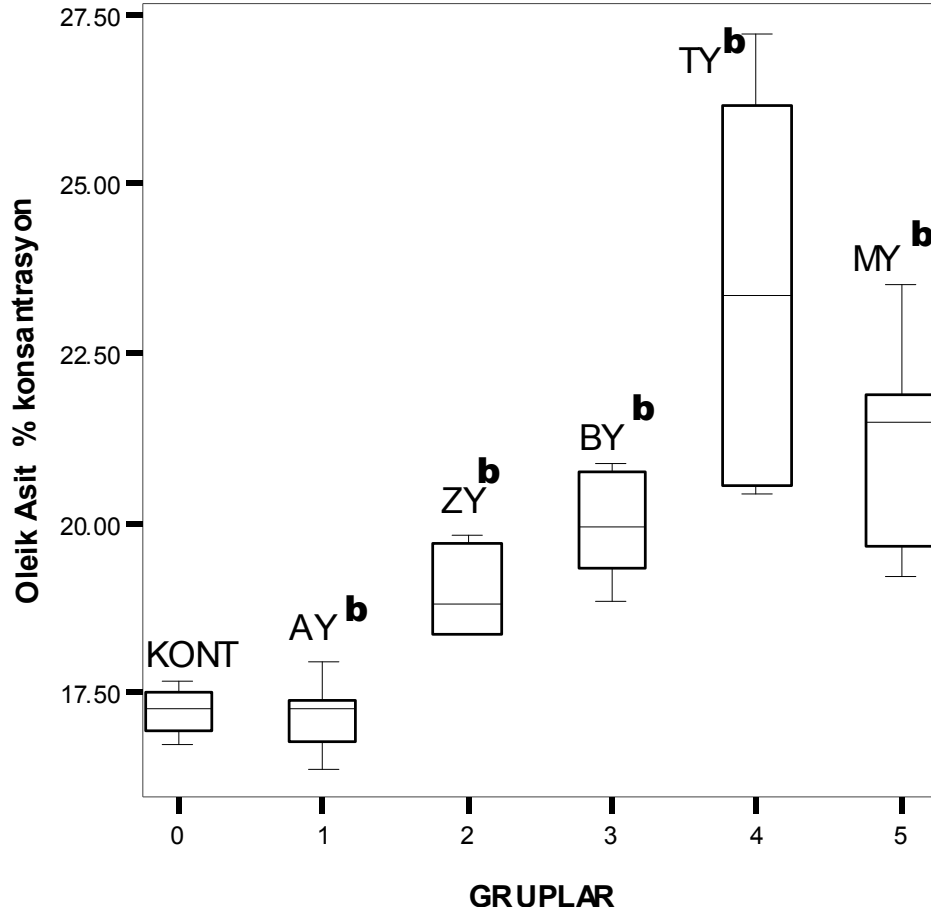
^aTüm gruplarda 6 sıçan vardır. Veriler ortanca (minimum-maksimum) olarak ifade edilmiştir; K: Kontrol Diyeti Grubu, AY: Ayçiçek Yağı Diyeti Grubu, ZY: Zeytinyağı Diyeti Grubu, BY: Balık Yağı Diyeti Grubu, TY: Tereyağı Diyeti Grubu, MY: Margarin Diyeti Grubu. DHA: Dokozahekzaenoik asit, AA: Araşidonik asit, Oleik A.:Oleik Asit, ** $p<0,01$ Kontrole göre diğer gruplar.



Şekil 12. Sonuçlar Mann Whitney-U testiyle yapılmış olup kontrol grubu 100 kabul edilerek kontrole göre % konsantrasyon değeri olarak verilmiştir. DHA: Dokozahekzaenoik Asit. KONT: Kontrol grubu, AY: Ayçiçek Yağı Diyeti Grubu, ZY: Zeytinyağı Diyeti Grubu, BY: Balık Yağı Diyeti Grubu, TY: Tereyağı Diyeti Grubu, MY: Margarin Diyeti Grubu. **b**: Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı gruplar ($p < 0,01$). Grafikte kutuların içindeki yatay çizgi ortancaya, kutular ikinci ve üçüncü çeyreği, kutuların üstündeki çizgiler ise minimum ve maksimum değerleri göstermektedir.



Şekil 13. Sonuçlar Mann Whitney-U testiyle yapılmış olup kontrol grubu 100 kabul edilerek kontrole göre % konsantrasyon değeri olarak verilmiştir. ArA: Araşidonik Asit. KONT: Kontrol grubu, AY: Ayçiçek Yağı Diyeti Grubu, ZY: Zeytinyağı Diyeti Grubu, BY: Balık Yağı Diyeti Grubu, TY:Tereyağı Diyeti Grubu, MY:Margarin Diyeti Grubu. **b:** Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı gruplar ($p<0,01$). Grafikte kutuların içindeki yatay çizgi ortancaya, kutular ikinci ve üçüncü çeyreği, kutuların üstündeki çizgiler ise minimum ve maksimum değerleri göstermektedir.



Şekil 14. Sonuçlar Mann Whitney-U testiyle yapılmış olup kontrol grubu 100 kabul edilerek kontrole göre % konsantrasyon değeri olarak verilmiştir. KONT: Kontrol grubu, AY: Ayçiçek Yağı Diyeti Grubu, ZY: Zeytinyağı Diyeti Grubu, BY: Balık Yağı Diyeti Grubu, TY: Tereyağı Diyeti Grubu, MY:Margarin Diyeti Grubu. **b**: Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı gruplar ($p<0,01$). Grafikte kutuların içindeki yatay çizgi ortancaya, kutular ikinci ve üçüncü çeyreği, kutuların üstündeki çizgiler ise minimum ve maksimum değerleri göstermektedir.

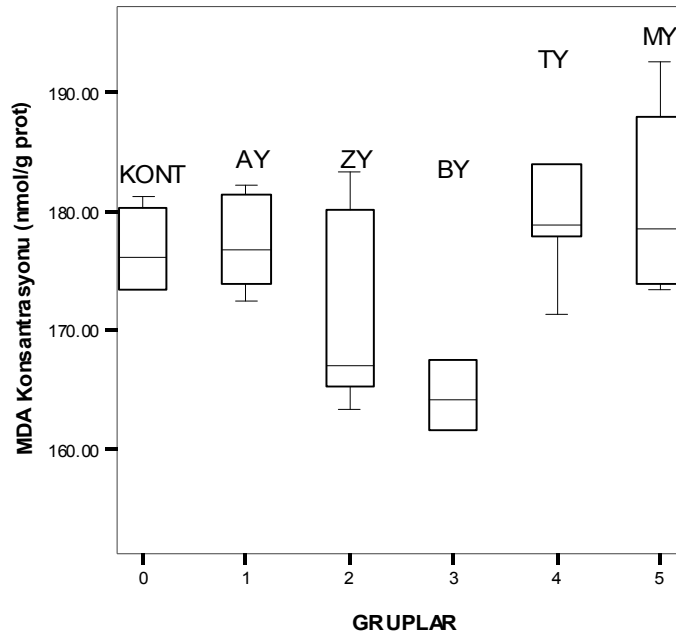
4.3 Hipokampus MDA Düzeyleri

Kontrol Grubuna göre hiçbir grupta anlamlı düzeyde değişme olmamıştır. Buna rağmen istatistiksel anlamlı olmayan düzeylerde AY, ZY ve BY grubunda kontrole göre azalma, TY ve MY grubunda ise artma saptanmıştır (Tablo 6). BY grubu ise AY grubuna göre azalma göstermiş ($p<0,05$), TY ve MY gruplarında ise AY grubuna göre artma saptanmıştır ($p<0,05$).

Tablo 6. Çeşitli diyet (Kontrol, Ayçiçek Yağı, Zeytinyağı, Balık Yağı, Tereyağı ve Margarın) gruplarına ait sıçanların hipokampuslarındaki MDA (mmol/g prot) düzeyleri^a

	K	AY	ZY	BY	TY	MY
MDA						
(mmol/gprot)	176,17	176,7	167,05	164,21	178,87	178,53
	(160,91-181,23)	(172,45-182,2)	(163,39-183,24)	(152,96-180,12)	(171,3-195,52)	(173,44-192,56)

^a Tüm gruplarda 6 sıçan vardır. Ortanca (minimum-maksimum) değerleri gösterilmiştir; K: Kontrol Diyeti Grubu, AY: Ayçiçek Yağı Diyeti Grubu, ZY: Zeytinyağı Diyeti Grubu, BY: Balık Yağı Diyeti Grubu, TY: Tereyağı Diyeti Grubu, MY: Margarın Diyeti Grubu.



Şekil 15. Sonuçlar Mann Whitney-U testiyle yapılmış olup mmol/g protein değeri olarak verilmiştir. MDA:Malondialdehit KONT: Kontrol Diyeti Grubu, AY: Ayçiçek Yağı Diyeti Grubu, ZY: Zeytinyağı Diyeti Grubu, BY: Balık Yağı Diyeti Grubu, TY: Tereyağı Diyeti Grubu, MY: Margarın Diyeti Grubu. Grafikte kutuların içindeki yatay çizgi ortancaya, kutular ikinci ve üçüncü çeyreği, kutular üstündeki çizgiler ise minimum ve maksimum değerleri göstermektedir.

5. TARTIŞMA

Son yıllarda yapılan çalışmalarda besinlerle alınan yağ türlerinin önemli olduğunu vurgulamaktadır. Diyetteki ÇDYA yüzdesi, yağ asitlerinin doymuş/doymamış oranı ve yağ n-6/n-3 oranı özellikle normal beyin gelişimi ve fonksiyonları için hayati önem taşımaktadır. Tüm beyin gelişimde serebral korteks yanında özellikle hafıza işleminde hipokampusun da gelişimsel ve fonksiyonel olarak diyetten etkilendiği sanılmaktadır.

Çalışmalarda hipokampusdaki NMDA reseptörünün hipokampusa bağımlı düzlemsel ve düzlemsel olmayan hafızaların oluşması için gerekli olduğu ortaya konmuştur. Glutamat beyindeki eksitatör geçişlerin çoğunluğunu düzenler ve NMDA ile AMPA reseptörleri gibi iyonotropik reseptörler glutamaterjik sinyalizasyonda önemli rol oynarlar. NMDA reseptörleri NR1 ve NR2A-NR2D alt ünitelerinin bir kombinasyonudur. Bu kombinasyonlar eşsiz iyon geçirgenlik özellikleri ve duyarsızlaşma özelliği sağlar. Öğrenme ve hafızadaki muhtemel rolü sebebiyle NR2B daha fazla ilgi çekmiştir (74).

Çoğu rat çalışmasında diyetle yüksek oranda doymuş yağ alımının öğrenmede negatif bir etkisi olduğu gösterilmiştir. Örneğin yüksek DYA içeren diyet ile beslenen ratlar TDYA ve ÇDYA'den zengin diyet ile beslenen ratlar ile karşılaştırıldığında bilişsel bozukluklar gösterdikleri saptanmıştır (75, 76, 77).

Diyetin yağ içeriğinin değiştirilmesi farelerde de davranış gelişimi ve performansı etkilemiştir. Ayrıca farelerin yüksek ÇDYA içeren diyetle ve yağ özel olarak n-3 zengin diyetlerle beslendikleri bazı çalışmalarda labirente öğrenmenin ve konum anlamının daha iyi olduğu, kas fonksiyonları ve nöromusküler koordinasyonda ise küçük farklılıklar gerçekleştiği belirtilmektedir (78, 79, 80). n-3 yağ asitleriyle n-6 yağ asitlerinin ayrı ayrı etkilerini araştırmak için düzenlenen bir çalışmada fareler üç jenerasyon boyunca hem n-6 hem de n-3 dan zengin bir diyetle beslenmişlerdir (82). Diyetinde yüksek n-3 bulunan fareler yüksek oranda n-6 ile beslenenlere göre öğrenme ve parlaklık ayrımı işlerinde anlamlı derecede daha iyi performans göstermişlerdir. Ayrıca diyetteki n-3 yetersizliğinin negatif etkileri farelerin son jenerasyonunda n-3'den zengin bir diyetle beslenmesiyle ortadan kalkmıştır. Bu sonuçlarla esansiyel yağ asitlerinin eksikliğinin giderilmesiyle labirent

performansı eksikliğinin üstesinden gelinebileceğini öne sürmüşlerdir. Sıçanların n-3 yağ asitlerinden fakir diyetle beslendiği diğer bir çalışmada mekansal öğrenme ve kavramsal kapasitenin göstergesi olan bazı testlerde düşük performans saptanmıştır. Bu sıçanlar n-3 yağ asitlerinden zengin beslenen sıçanlar ile karşılaştırıldığında motor aktivitelerinde artış saptanmıştır (82, 83). Bu çalışmanın sonuçları esansiyel yağ asitlerinin öğrenme üzerine etkili olduğu kadar motor aktivite üzerine de etkileri olduğunu göstermektedir.

Yine, diyetle yüksek oranda n-6 yağ asidi olan farelerin yüksek n-3 diyetiyle beslenen farelere oranla fiziksel olarak daha aktif oldukları ancak ayrımsal öğrenmede daha az doğruluğa ulaşabildikleri saptanmıştır (84). Jensen'in, 1996 da yaptığı bir çalışmada yağlı diyetle beslenen her iki grupta da kontrol grubuna göre mekansal öğrenme testi daha iyi bulunmuş, ama bu çalışmada beyindeki uzun zincirli ÇDYA seviyeleri ile öğrenme arasında herhangi bir ilişki kurulamamıştır (85). Yine başka bir çalışmada beyindeki DHA miktarı, n-3 ve n-6 yağ asidi oranı ve öğrenme performansı arasında direk bir ilişki rapor edilmiştir. Bu çalışmada n -3 yağ asidinden zengin diyet grubunda ratların serebral korteks ve hipokampusunda n-3 ve n-6 ilişkisi artmış, bu oran labirent öğrenme testlerinde hata sayısı ile uyumlu bulunmuştur (86).

Moriguchi ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada benzer bulgular frontal kortekste n-6'nın n-3'e oranı için de rapor edilmiştir. Frontal kortekste DHA yüzdesi ve maze öğrenme performansı n-3 yağ asidinden eksik veya yetersiz bir diyetle ilişkili bulunmuştur (87). 1996 da yapılan başka bir çalışmada n-3'den zengin bir diyet beyin DHA yüzdesini artırmıştır (88).

Suzuki ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada uzun zincirli ÇDYA'lerinin düşük olduğu palm yağ diyetiyle beslenmeyle karşılaştırıldığında sıçanlar n-3'ten zengin sardalya yağıyla beslendiğinde sıçanların beyin sapında DHA seviyeleri yükselmiş, sinaptik plazmanın mikrovizkositesi daha düşük bulunmuş ve sıçan testleri daha hızlı bulunmuştur (89).

Bir başka çalışmada beslenme diyetlerindeki n-3 ve n-6'daki değişim kollikulus superior ve inferiora 5-Hidroksiindolasetikasit ve dopamin seviyelerin etkilemiştir (91). Bu bölgeler işitme ve görme integrasyon işlemlerini ve nörotransmitter metabolizmasını etkilemektedir.

Yoshida ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada n-3'dan düşük bir diyet sonrası test performansı düşmüş ve sinaptik vezikül dansitesinde %30 azalma görülmüştür. Dansite değişikliği görülmesinin ardından test performansının etkilendiği bulunmuştur. (92).

Bu çalışmalarda uzun zincirli ÇDYA'lerinin diyetle alımı ile uzun zincirli ÇDYA'lerinin beyindekimiktarlarının direkt ilişkili olduğu görülmüştür. Ancak yapılan çalışmalarda bizim çalışmamızdan farklı olarak diyet süreleri genelde 2 ay ya da daha uzun tutulmuş, diyetteki oranlar da daha yüksek belirlenmiştir.

Hipokampustaki sinaptik veziküllerin turnover oranı öğrenme performansını etkileyen önemli bir faktördür. Diyet lipitleri myelin gelişiminde önemli bir rol oynayabilir (93). Bebeklerin beyin gelişimindeki myelinizasyonda özellikle zeytinyağının önemi vurgulanmaktadır. Bu sebeple DYA yönünden zengin olan besinlerin tüketilmesi önemlidir. Çünkü n-3 yağ asitlerinin vücutta biyokimyasal ve fizyolojik aktivitelerde önemli görevler üstlendiği artık kesin olarak tespit edilmiştir. Bu yağ asitleri insan vücudunda beyin, göz, testis ve plasenta da bol bulunmaktadır. Gözlerin uygun şekilde çalışmasına ve beynin fonksiyonlarını eksiksiz olarak yerine getirmesine yardımcı olmaktadır. Ayrıca bu yağ asitleri kandaki yağ konsantrasyonunu da düzenlemektedir. Zeytinyağının serum lipitlerinde kardiyovasküler risk faktörlerini azaltıcı yönde değişiklik yaptığı bilinmektedir.

En çok DYA yüzdesi hipokampusta mevcuttur. Diyetteki yağ oranlarıyla beynin herhangi bir bölümünün DYA yüzdesinin değişmediği daha önceki çalışmalarda da belirtilmiştir. Carrié ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada 2 ay boyunca verilen n-3'den fakir ve zengin diyetlerle kontrol grubu arasında ne hipokampus ne de beynin diğer bölgelerindeki DYA yüzdesi açısından fark saptanmıştır (7). Burada n-3'den zengin diyetdeki DYA oranı en yüksek olmasına rağmen DYA yüzdeleri hipokampus ya da diğer nöral yapılara yansımamıştır. Bizim çalışmamızda ise diyetler 4 hafta verilmiş, hipokampus DYA oranları MY grubu hariç diğer diyet gruplarında kontrole nazaran anlamlı düzeyde değişmiştir. DYA, AY ve TY grubunda artarken ($p<0,01$) BY ve ZY grubunda ise azalmıştır ($p<0,05$ ve $p<0,01$). Süre nisbeten kısa olmasına rağmen ayçiçek yağının %29 ve tereyağının %46 civarında olan DYA oranları bu değişimde etkili olmuş olabilir. Balık yağı ve

zeytinyağındaki DYA düşüklüğü de hipokampusu yansımıştır. Bu son bulgunun ilgili literatürle tezatlığı çalışmamızda kullanılan sıçan cinsinin farklılığı, standart yemdeki total yağ oranının (<4%) çok düşük olması, hatta yemdeki yağ yanında diğer besin öğelerinin de katkısının olabileceğini akla getirmektedir. Zira kontrol yemlerinde genellikle yağ yüzdesi 4-7 arasında değişmektedir.

Beynin değişik bölgelerinde TDYA oranları da değişmektedir. En yoğun bulunduğu yerler pons-medulla, orta beyin ve cerebellumdur. Bu anlamlı farka en büyük katkı oleik asitten kaynaklanmaktadır. Diyetteki oleik asitin de erişkinlerde nöral yapılara yansımadığı bazı yayınlarda rapor edilmektedir (7). Bunu yanında n-9 yağ asitleri, özellikle oleik asit, beyinde birikmekte; sinir sistemi oluşumunun en aktif olduğu erken postnatal dönemde miyelin yapısında yer almaktadır. Anne sütünde bulunan oleik asit seviyesi, diğer bütün yağ asitlerinden yüksek olup sütteki toplam yağ asiti seviyesinin 1/3'üne eşittir. Bu nedenle, bebek beslenmesinde kullanılan mamaların içerikleri anne sütünün özelliklerine en yakın hale getirilmeye çalışılmaktadır. Örneğin, anne sütünün yağ asiti içeriğinin %95,0'i ticari formülalarda üç sebze yağının (hindistan cevizi, soya ve ayçiçek yağı) bileşimi ile elde edilmeye çalışılmaktadır.

“Lorenzo'nun Yağı” olarak geçen içeriği TDYA (Oleik asit [C18:1] ve Erukik asit [C22:1]) olan diyetin çok uzun zincirli yağ asitleri olan Lignoserik asit (C24:O) ve Hekzakozanoik asit (C26:O)'in serumdaki yüksek seviyelerini düşürdüğü bilinmektedir. Bu yağ asitlerinin birikimi nörodejeneratif hastalıklar oluşumunda rol oynamaktadır. Fakat bu oranların beyne nasıl yansıdığı ile ilgili insan çalışması mevcut değildir.

Bir çalışmada 6-21 aylık diyet tabi tutulan sıçanlarda kullanılan kontrol diyetinde trans-yağ asidi bulunmamasına karşın deney diyetlerine %0,7 oranında konmuş, ek olarak 3. diyet Linolenik asitçe zenginleştirilmiştir. Bu çalışmada beyin diğer bölgelerine nazaran frontal korteks ve hipokampusdaki DYA ve total TDYA kompozisyonu etkilenmemiştir (93).

Bizim çalışmamızda TDYA oranları kontrole nazaran AY ve MY grubu hariç diğer 3 grupta anlamlı derecede artmıştır ($p<0,01$). Bundaki en fazla katkı muhtemelen oleik asite aittir. Çünkü oleik asit yüzdeleri bu gruplarda TDYA ile

benzer şekilde değişim göstermiştir. Oleik asit oranları en düşük AY grubunda gözlemlenmiştir. En yüksek seviyeler ise enteresan bir şekilde TY grubunda saptanmıştır. Tereyağındaki oleik asit oranı (%31 civarında) zeytinyağındakinden (yaklaşık %78) çok daha düşük olmasına rağmen bu düşüklüğün hipokampusu yansıması beklenirdi. Tam aksi bir sonucun kullanılan tereyağı kompozisyonunun margarine benzemesi sebebiyle tereyağındaki %25 olan bütirik asit katkısından mı, tereyağındaki analiz edilmeyen *trans*-oleik asit varlığından mı, ya da zeytinyağında eser (%0-1) miktarda da olsa olması gereken Linolenik asit seviyesinin saptanamayacak kadar düşük olmasından mı kaynakladığı meçhuldür.

Hipokampus diyetteki α -Linolenik asit eksikliğine frontal korteksten daha duyarsızdır (93, 94). Öyle ki, diyete bu yağ asitinin eklenmesiyle frontal korteksteki yüzdesi artırılabilir. Bu fenomen hipokampusta geçerli değildir. Bu bilgiyle birlikte yorum açısından faydalı olabilecek bir bulgu çalışmamızda kullanılan zeytinyağındaki linoleik asit seviyesinin normalden düşük saptanmış olmasıdır (%6 civarı). Bu ikisi esansiyel yağ asidi olduğundan zeytinyağındaki eksikliği etkili olmuş olabilir. Tereyağındaki linolenik asit miktarı 0'dır ama linoleik asit %11 civarında tesbit edilmiştir. Bunun yanında diyetle olduğu zaman nöral dokulara yansıdığı iyi bilinen ve çalışmamıza dahil olmayan *trans*-yağ asitlerinden dolayı tereyağındaki bilinmeyen katkının da etkisi düşünülebilir. Yani tereyağındaki *trans*-LnA ve *trans*-LA esansiyel etkisini gösteriyor olabilir. Benzer bir sonuç BY grubunda da saptanmıştır. Balıkyağındaki esansiyel yağ asitlerinin %5 düzeyinde olması bunu desteklemektedir. Yine de diyetle oleik asidin beyne esansiyellerden gelecek olan metabolik katkıdan daha direkt etkiyle nüfuz edeceği mantıklı görünmektedir. İleriki çalışmalarda frontal korteksle hipokampusun karşılaştırılması da faydalı görünmektedir.

ÇDYA yüzdelerine bakıldığında TY grubunda hem kontrole hem de AY grubuna göre anlamlı ($p<0,01$) düşüş olmasına rağmen DHA oranları tüm gruplarda değişim göstermiştir. Kullanılan tereyağında DHA, AA, EPA ya da diğer *cis*-ÇDYA ailesine ait yağ asidi tesbit edilmemiştir. İstatistiksel anlamlı farkın buradan kaynaklandığı öngörülse bile benzer yağ asidi kompozisyonunun margarine de bulunması fakat genel ÇDYA yüzdesinin bu diyetle değişmemesi başka faktörler olabileceğini akla getirmektedir. Tereyağındaki muhtemel *trans*-yağ asitlerinin

varlığı *trans*-ÇDYA bulunma ihtimalini artırmamaktadır, zira hidrojenasyon esnasında *cis*- ya da *trans*- formlar neredeyse eşit oranda hidrojenleneceği için analizde *cis*-formlar da görülmeliydi. Bu sebeple yine metabolik bir etkiyle tereyağındaki muhtemel katkı olan bütirik asit ya da DYA'deki yüzde farklılıkları ya da linoleik asit oranının (%11,75) margarinden hayli düşük olması (%23,33) esansiyel olması cihetiyle de faktör olarak düşünülebilir. Zira diyetteki yağın %0,5-1 kadarının Linolenik asit olması DHA ve EPA için şarttır (5, 11).

İlk defa Caldwell and Churchill (1966) esansiyel yağ asitlerinin olmadığı diyetin bilişsel kaybı önlediği ve oksidatif strese bağlı hippokampal lezyonları engellediği saptanmıştır (10). Diyetle DHA olması beyin fonksiyonları için önemli görünmektedir. Çalışmamızda DHA bir şekilde kontrole nazaran tüm gruplarda anlamlı düşme göstermiştir. Kalori kısıtlanması hipokampusta AA ya da DHA oranlarını değiştirmemektedir. Yine de normalde beklenen, kontrol yeminde zaten düşük olan yağ oranından dolayı DHA'nın göreceli olarak artması iken tüm gruplarda düşmesi yağca zengin beslenmenin sıçanlarda kısa sürede hipokampus yağ asit yüzdesinde olumsuz etki yaptığı yönünde sonuca götürmektedir.

Bunun yanında diyetle normalden fazla oranda AA olması hipokampus DHA'sını azaltmaktadır. EPA için de aynı şeyler söylenebilir. Fakat burada balık yağı (%2,50) hariç diğer diyetlerdeki AA oranlarının kontrol yemine nazaran (%5,48) tesbit etme sınırının altında olması, EPA'nın da sadece balık yağında olması bu ihtimalden uzaklaştırmaktadır.

Nöral yapılardaki, özellikle hipokampustaki fosfolipitlerde AA ve DHA yüksek düzeyde doymamışlık içerdiklerinden dolayı oksidasyona çok duyarlıdır. Hayvanlara her gün oral gavajla 2 mL kadar yağı stres altında uygulanmış olması beyinde bir şekilde oksidatif stresin yaşanabileceğini akla getirmektedir. Bu sebeple ÇDYA ve DHA kompozisyonu değişmiş olabilir.

En ilginç sonuçlardan biri de BY grubunda DHA'nın azalmasıdır. Literatüre bakıldığında bir aydan daha uzun sürede direkt DHA ya da balık yağı verilmesi sıçanlarda DHA seviyelerini artırmaktadır (124). Bizim çalışmamızda DHA'nın tam aksine düşmesi farklı faktörleri akla getirmektedir. Dahası n-3 ile zengin beslenen rat frontal kortekslerindeki n-3 düzeylerini artırırken n-6 seviyelerini düşürmektedir.

Bizim çalışmamızda hipokampusta yüksek düzeyde EPA miktarı saptanamamış olması bu bilgiye destek sağlamamaktadır, zira kontrol hipokampuslarında da EPA piklerinin görülememiş olması metoda ilgili geliştirmelere ihtiyaç olduğunu düşündürmektedir.

Diyetteki *trans*-yağ asitlerinin fazla miktarda bulunması hipokampus DHA yüzdelerini değiştirmektedir. Bu özellikle 6 ay gibi uzun süreli diyetlerde saptanmıştır (93). Bu bulgu bizim çalışmamızla da uyumludur. Benzer değişiklikler korteks için de geçerlidir (93).

Carrie ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada n-3 ÇDYA'ce fakir diyet hipokampusta EPA seviyelerini yükseltmiş, DHA seviyelerini düşürmüştür. Ama bu azalma beynin diğer bölgelerinde daha bariz olmuştur (7). Hatta çalışılan tüm nöral dokular arasında EPA yükselmesi ve DHA azalması arasında korelasyon da bulunamamıştır.

Literatürde DHA diyetli hayvan çalışmaları çoktur. Fakat sonuçlar oldukça değişkendir, zira hem türler hem de yöntemler arasında farklılıklar mevcuttur. Sıçanlar ve diğer hayvanlar insan besinsel defekt modellemeleri için çok uygun değildir (5). Primatlar bu hususta insana daha yakın bir yapıda olduğundan daha iyi sonuçlar verecektir.

ÇDYA'lerinin beynin fonksiyonları üzerindeki etkilerinden birinin de nörotransmitterler üzerine olan etkileri olduğu düşünülmektedir. n-3 uzun zincirli yağ asitleri *in vitro* ve *in vivo* olarak dopaminerjik, serotoninerjik, noradrenerjik ve GABAerjik nörotransmisyonu değişik düzeylerde etkiler (94). n-3 ÇDYA eksikliği hipokampusta kolinerjik nörotransmisyonu değiştirirken yüksek düzeydeki NMDA tetikli nörotoksositeye karşı DHA önbeyin kolinerjik nöron rezistansını destekler. DHA K^+ , Ca^{+2} ve Na^+ gibi iyon kanalları ile etkileşime girerek nöronların uyarılabilmesi ve membranın elektriksel karakteristiğini değiştirebilir. Yine tüm bilinenlere rağmen yağ asitleriyle iyon kanalları arasındaki etkileşim tam olarak çözülmemiştir.

1996'da yapılan bir çalışmada ratlar n-3 yağ asitlerinden eksik bir diyetle beslendiklerinde frontal kortekste serotonin reseptör dansitesinin %18-46 arttığını, dopaminerjik reseptörlerin dansitesinin %10 azaldığını, endojen dopamin

seviyelerinin de %40-70 düştüğünü göstermiştir (94). AA seviyeleri dopamin ve serotonin gibi nörotransmitterlerin salınımını etkilerken, bazı nörotransmitterlerin salınımı ise AA dönüşümünü etkilemektedir. Fernstrom bir makalesinde n-6/n-3 yağ asitlerinin oranının nöronal bilginin transmisyonunda önemi olabileceğini göstermiştir (95, 96).

NR2B ve AMPA reseptör subtiplerinden GluR2'nin beraber ikisinin de kaybı sinerjik etki gösterebilir ve bu durum yaşlanmış beyinde kognitif gerileme ve sensorimotor disfonksiyona giden, plastisite kaybına sebep olabilir. Yaşlı primatlarda NR2B ve GluR2 deki azalmalar gösterilmiştir. Öğrenme ve hafızadaki muhtemel rolü sebebiyle NR2B daha fazla ilginin odağı olmuştur (96,97) .

LTP ve LTD aktiviteye bağımlı sinaptik plastisitenin deneysel olarak indüklenen iki formudur. Hafıza ve öğrenmenin nöronal temelini sinaptik kuvvetteki plastisite değişikliklerinin oluşturduğu düşünülmektedir (98). LTP'de kısa süreli yüksek frekanslı aferent aktivite sinaptik iletinin kuvvetinde uzun süreli bir artışa neden olmaktadır. LTD'de ise sürekli düşük frekanslı afferent aktivite sinaptik kuvvette devamlı bir azalmayla sonuçlanmaktadır. NMDA reseptörleri, LTP ve LTD gibi öğrenme bellek sinaptik mekanizmalarında önemli bir role sahiptir. (99).

Diyette DHA, EPA ve ya AA ile 8 hafta boyunca zenginleştirilmesinin ardından yaşlı fare dentat girusunda LTP'deki yaşla ilintili bozulmaların etkisinin tersine çevrildiği görülmüştür. Bu diyetsel ilavenin LTP ve LTD'yi iyileştirmesinin yanında aynı zamanda membranın DHA ve AA'nın içeriğini de artırdığı tespit edilmiştir (100-102). Bunun yanında öğrenme için optimum n-3/n-6 oranının 1/4 olduğu ileri sürülmüştür (103).

NR2B ekspresyonu Alzheimer beyinlerinde anlamlı ölçüde azalmıştır (136). Alzheimerli transgenik fare modeliyle yapılan bir çalışmada diyetsel n-3 eksikliğinin NR2B de anlamlı derecede kayba neden olduğu ve bu kaybın DHA zenginleştirilmiş diyet ile kısmen tersine çevrilebildiği gösterilmiştir (96, 97).

Yine sıçanlarda yapılan bir çalışmada yetişkin beyninde azalmış NR2B tablosu diabet oluşturulmuş ratlarda da gösterilmiştir. n -3 ÇDYA'nın NR2B alt ünitesine etkisi yine olumlu yönde olmuştur (96,105). n-3 ÇDYA'nın NR2B üzerindeki etkisi muhtemelen değişik mekanizmalar yoluyla gerçekleşmektedir.

Mekanizmalardan biri gen transkripsiyonu kontrolü olabilir (106). Reseptör gen yazılımındaki direkt etkisine ilave olarak ayrıca glutamaterjik sinyalizasyonu düzenleyebilir ya da NMDA kanal aktivitesini doğrudan artırabilir (104).

Nishikawa ve arkadaşları kortekste DHA'nın NMDA ile uyarıya cevabı arttırdığını rapor etmişlerdir. Bu artışın ise DHA'nın NMDA reseptörüne direk olarak bağlanmasının bir sonucu olabileceğini ileri sürmüşlerdir (107).

Farkas ve arkadaşları 2002'de deneysel bir beyin hipoperfüzyon modelinde n-3 ÇDYA'ca zenginleştirilmiş diyetlerin kronik olarak uygulanmasının hipokampus nörotransmitter reseptörlerine etkilerini inceledikleri çalışmalarında, hipokampus NMDA reseptör ekspresyonunun etkilenmediğini bildirmişlerdir (108). Amamoto ve arkadaşlarının çalışması da kronik DHA alımının NMDA cevabını etkilemediği yönündedir (109).

Biz de çalışmamızda 4 hafta süren diyetlerin sonunda AY grubunda kontrol grubuna göre NR2A ve BY grubunda NR2B reseptör düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptadık (sırasıyla $p<0,05$; $p<0,05$).

Hipokampus NMDA reseptör ekspresyonunun n-3 ÇDYA diyetinden etkilenmediğini bildiren çalışmalar değişik faktörlerden etkilenmiş olabilir (129). Bu altbirimleri kontrol eden farklı düzenleyici mekanizmalar olabilir. Ayrıca Western Blot analizi için kullanılan tampon postsinaptik yoğunluğa sıkıca bağlanmış reseptör alt ünitelerinin eksik ayrıştırılmasına sebep olmuş olabilir. Gelecek çalışmalarda spesifik reseptör havuzlarındaki değişiklikleri ve postsinaptik yoğunluktaki bağlanmış reseptör altbirimlerinin ekspresyonundaki değişiklikleri incelemek yararlı olacaktır. Bununla beraber, son yıllarda NMDA reseptör kompleksini oluşturan altbirimler konusunda yapılan, dokudan reseptör ayırma çalışmalarıyla da doğrulanmıştır ki yaşlılarda NR2B alt ünitesinde azalma olmaktadır. ÇDYA tedavisi bu değişiklikleri bir miktar tersine çevirir (96). Bu tespit bizim çalışmamızla da uyumlu gözükmektedir.

Alzheimer hastalığından etkilenmiş beyinlerde NR2B ifadesi anlamlı ölçüde azaldığı bilinmektedir (110). Bir çalışmada Alzheimer hastalarının 4/1 oranına sahip zenginleştirilmiş n-6 ve n-3 bileşiği ile tedavisi sonucu, duyu durumları,

kooperasyon iştah uyku evdeki iyi hal ve kısa dđnem belleklerinde iyileşme gđrđlmüřtür (111). Bu daha ۆnceki ۆđrenme ile ilgiliolan 4/1 oranıyla uyumluluk gđstermektedir. Optimum glutamaterjik sinyalizasyonun korunması ve eksitotoksitenin sınırlandırılması demansta ۆnemli tedavi prensipleridir. n-3 ÇDYA'nın iyi belirlenmiş gđvenilirliđi ve tolerabilitesi bu bileşikleri yaşla ilişkili nđrodejenerasyonun tedavisinde ilginç terapötik ajanlar haline getirmiştir. Dolayısıyla optimum oranı muhafaza etmek için n-3 tđketimi artmalıdır.

Sonuç olarak; yukarıda tartışılan değişik çalışmalarda ileri yaştaki ratlarda n-3 ÇDYA diyeti NR2B alt ünite azalmalarını gidermiş ve fosfolipit ve yağ asidi profilindeki yaşla ilişkili değişiklikleri tersine çevirmiştir. Daha ileri alışmalar EPA ve DHA'nın bu etkilerdeki ۆnemini ortaya koyacaktır.

Çalışmamızda gđnlük hayatta tđketilen ayçiçek yağı, zeytinyağı, balık, tereyağı ve margarin içeren diyet tđketimi sonucunda sıçanlarda NMDA reseptörlerinin NR2A ve NR2B altbirimlerinde kontrol grubuna gđre anlamlı değişiklikler saptadık. ۆzellikle NR2B reseptörünün hipokampusu bağımlı mekansal ve mekansal olmayan hafızaların oluşması için gerekli olduğu gerçeğinden yola çıkararak balık yağındaki anlamlı artışım literatürleuyumlu olduğu, ek olarak NR2A ekspresyon seviyelerinde de anlamlı azalma olduğu dikkate şayandır.

Zeytinyağındaki E ve A vitaminlerinin NMDA reseptörlerindeki DHA içeriğinin korunması ya da artması lehine etki gđsterebileceđi akla gelmektedir. NO'nun ۆđrenme ve bellekte ۆnemli rol oynayan LTP ve LTD'ye neden olduğu gđsterilmiřtir. Glutamat, NMDA reseptörlerini aktive ederek ۆđrenme ve belleğin temeli olan LTP'yi NO üreterek oluşturur. Ancak glutamat reseptörlerinin aşırı uyarılması sonucunda fazla miktarda oluşturulan NO'nun nđrodejeneratif hasarlanmalara neden olduğu ileri sürđlmektedir. Antioksidanlar bu yolla da destek veriyor olabilir. Bu bağlamda tereyağındaki E vitamini rol alabilir. Yine zeytinyağıyla ilgili olarak linoleik asitin metabolik yolla n-3 oluşumuna destek verebileceği de dđřünülebilir. Ama çalışmada zeytinyağı ya da tereyağından beklenen NMDA reseptör ekspresyon artışı gözlenmemiştir. Bunun çeşitli sebepleri olabilir. En ۆnemlisi sıçanların erişkin ve diyetin de 4 hafta gibi nispeten kısa

olmasıdır. Kullandığımız tereyağında varolduğunu tahmin ettiğimiz *trans*-yağ asitleri de olumsuz etkilemiş olabilir.

Oksidatif stresi azaltan yaklaşımlar yaşlanmada NMDA reseptörlerindeki gerilemeyi düzeltmiştir (112, 113). Bu da antioksidan seviyeler ve yeterli reseptör yazılımı fonksiyonunun korunması arasında bir bağlantı gösterir. DHA ilavesi antioksidan sistemleri çoğaltmış, beyin lipid peroksidasyonunu azaltmıştır.(114). Bazı çalışmalarda DHA, fosfatidilserin ve α -lipoik asit gibi antioksidanların verilmesi yaşlı kemirgenlerde NMDA reseptör agonist bağlanımını anlamlı biçimde arttırmış ve yaşlı farelerin diyetlerine vitamin C ve E ya da α -lipoik asit ilavesi LTP deki yaşla ilintili bozulmaları tersine çevirmiştir (115-118). Bu bulgular rafine olmayan zeytinyağı lehinedir. Zira rafinerizasyon işlemleri esnasında antioksidan fenolik maddeler kaybolmaktadır. E, C ve A vitamininin öğrenme üzerindeki etkilerini araştıran çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Ancak, öğrenme bozulmadan yapılan antioksidan vitamin uygulamasının öğrenmeye olan etkisini araştıran az sayıda çalışma yer almaktadır ve bu konu ile ilgili literatür bilgilerinde özellikle yaş grupları arasındaki fark açısından bazı çelişkiler bulunmaktadır. Bu bağlamda, zeytinyağındaki antioksidan kapasite ve yağ asiti içeriği açısından günlük zeytinyağı tüketiminin artması durumunda öğrenmenin ne kadar etkileneceği konusu ileriki araştırmalara matuftur.

MDA lipid peroksidasyonunu göstermesi açısından oldukça hassas bir belirteçtir. İstatistiksel olarak anlamlı olmasa da hipokampus dokularından elde edilen MDA analizlerinde kontrole göre en düşük seviyeler BY ve ZY grubundan elde edilmiştir. Yine BY grubunda AY, TY ve MY grubuna göre MDA seviyeleri anlamlı olarak azalma göstermiştir ($p<0,05$). Balık yağı burada sadece zeytinyağının antioksidan etkilerine karşı kendini gösterememiştir. Bunun muhtemel bir sebebi balık yağındaki n-3 ve n-6 ÇDYA'ya rağmen zeytinyağındaki yüksek antioksidan kapasite olabilir.

Yapılan bir çalışmada DHA verilen hayvanların beyinlerinde lipid peroksid düzeylerinin azaldığını ve DHA'in lipid peroksidasyonuna karşı olan koruyucu etkisinin dokudan dokuya farklılık gösterdiğini bildirilmiştir (119). Gamoh ve arkadaşları ise kronik olarak DHA alan ratların hipokampuslarında lipid peroksid

düzeylerinin azaldığını bulmuşlar ve bu azalmanın mekansal öğrenme yeteneğinin artmasıyla ilişkili olduğunu ileri sürmüşlerdir (8).

Biz de bu çalışmalarla uyumlu olarak balık yağı ve zeytinyağı diyetinde kontrol grubuna göre hipokampus MDA düzeylerinde anlamlı olmayan bir azalma saptadık. Buna rağmen tereyağı ve margarin diyetlerinde ise anlamlı olmasa da MDA seviyeleri artış gösterdi ($p>0,05$).

ÖZET

Bazı Yağ Diyetlerinin Sıçan Hipokampus Dokusunun Yağ Asidi Kompozisyonu ve NMDA Reseptör Altbirimleri Üzerine Etkisi

Bu çalışmada erkek Wistar-Albino cinsi erişkin sıçanların 4 hafta süren çeşitli diyetler sonucu hipokampus yağ asidi kompozisyonları, NMDA reseptör NR2A ve NR2B altbirimleri ve hipokampus lipit peroksidasyonu ürünü düzeyleri üzerine olan etkisi araştırıldı. Sonuç olarak çeşitli yağ diyetlerinin 4 hafta sonunda sıçan hipokampusunda DYA, TDYA ve ÇDYA oranlarını değiştirdiği saptandı, NR2A seviyelerinin ayçiçek diyetiyle anlamlı derecede azaldığı ve NR2B ekspresyonunun da balık yağı diyetinden olumlu bir şekilde etkilenmiş olduğu gözlemlendi. Özellikle yağ asidi kompozisyonu ve antioksidan kapasite açısından diyetlerin hipokampus etkileri sonucu MDA düzeyleri değişim gösterdi. Bu diyetlerin daha uzun süre kullanımının özellikle hipokampusta hem NMDA reseptör regülasyonu hem de lipid peroksid düzeyleri üzerinde koruyucu etkisi olabileceği düşünülebilir. Yağ asidi kompozisyon değişikliğini daha net izleyebilmek için uzun süreli ve kapsamlı metodlarla çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar kelimeler: Ayçiçek yağı, zeytinyağı, balık yağı, tereyağı, margarin, hipokampus, yağ asidi kompozisyonu, NMDA, NR2A, NR2B, lipit peroksidasyonu

SUMMARY

The Effects of Some Fat Diets On Rat Fatty Acid Composition and Expression of NMDA Receptors of Rat Hippocampus.

In this study, the effects of sunflower oil, olive oil, fish oil, butter and margarine diets on rat fatty acid composition, expression of NR2A and NR2B subunits of NMDA receptors, and a lipid peroxidation product of rat hippocampus were investigated. It was concluded that different fat diets altered the saturated, monounsaturated and polyunsaturated fatty acid compositions of the rat hippocampus after 4 weeks of treatment. Secondly, it was determined that expression levels of NR2A decreased significantly with the sunflower oil diet, and that fish oil affected the expression of NR2B in a positive manner. MDA levels changed especially according to the fatty acid composition and antioxidant capacity of some diets. It can be assumed that usage of these diets could have some protective effects on the NMDA receptor regulation and lipid peroxide levels especially in hippocampus. Longer period studies with more detailed methods are needed to determine thoroughly the change in the fatty acid composition.

Key words: Sunflower oil, olive oil, fish oil, butter, margarine, hippocampus, fatty acid composition, NMDA, NR2A, NR2B, lipid peroxidation

KAYNAKLAR

1. Burr G, Burr M. A new deficiency disease produced by the rigid exclusion of fat from the diet. *J Biol Chem* 1929; 82:345–367.
2. Rose DP, Connolly JM. Omega-3 fatty acids as cancer chemopreventive agents. *Pharmacol Therapeut* 1999;83:217-244.
3. Wainwright PE. The role of nutritional factors in behavioural development in laboratory mice. *Behav Brain Res* 2001;125:75-80.
4. Stanner S. N-3 fatty acids and health. British Nutrition Foundation, *Nutr Bull* 2000;25: 81-84.
5. Assisi A, Banzia R, Buonocore C, Capasso F, DiMuzio V, Michelaccia F, Renzo D, Tafuria G, Trotta F, Vitacolonna M, Garattini S. Fish oil and mental health: the role of n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids in cognitive development and neurological disorders. *Int Clin Psychopharmacol* 2006; 21(6) 319-336.
6. Qi K, Hall M, Deckelbaum R. Long chain polyunsaturated fatty acid accretion in brain. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2002;5: 133-8.
7. Carrié I, Clément M, Javel D, Francès H, Bourre JM. Specific phospholipid fatty acid composition of brain regions in mice: effects of n-3 polyunsaturated fatty acid deficiency and phospholipid supplementation. *J Lipid Res* 2000; 41: 465-72.
8. Gamoh S, Hashimoto M, Hossain S. Chronic administration of docosahexaenoic acid improves the performance of radial arm maze task in aged rats. *Clin Exp Pharmacol* 2001;38: 266-70.
9. Farkas E, Wilde MC, Kiliaan AM. Dietary long chain PUFAs differentially affect hippocampal muscarinic 1 and serotonin 1A receptors in experimental cerebral hypoperfusion. *Brain Res* 2002;954: 32-41.
10. Bas O, Songur A, Sahin O, Mollaoglu H, Ozen OA, Yaman M, Eser O, Fidan H, Yagmurca M. The protective effect of fish n-3 fatty acids on cerebral ischemia in rat hippocampus. *Neurochem Int* 2007; 50: 548–54.
11. Bjerve KS. Omega 3 fatty acid deficiency in man: implications for the requirement of alpha-linolenic acid and long-chain omega 3 fatty acids. *World Rev Nutr Diet* 1991;66:133–42.
12. Horrocks LA, Yeo YK. Health benefits of docosahexaenoic acid (DHA). *Pharmacol Res* 1999; 40: 211-25.

13. Burdge, G.C, Finnegan YE, Minihane AM, Williams CM, Wootton SA. Effect of altered dietary n-3 fatty acid intake upon plasma lipid fatty acid composition, conversion of [¹³C]alpha-linolenic acid to longer-chain fatty acids and partitioning towards beta-oxidation in older men. *Br J Nutr* 2003; 90: 311–21.
14. Yehuda S, Rabinovitz S, Mostofsky DI. Essential fatty acids are mediators of brain biochemistry and cognitive functions. *J Neurosci Res* 1999;56:565-70.
15. Youdim KA, Martin A, Joseph JA. Essential fatty acids and the brain:possible healthimplications. *Int J Devl Neurosci* 2000;18:383-99.
16. Yehuda S, Rabinovitz S, Carasso RL. The role of polyunsaturated fatty acids in restoring the aging neuronal membrane. *Neurobiol Aging* 2002; 23:843-53
17. Salem N, Litman B, Kim HY, Gawrisch K. Mechanism of action of docosahexaenoic acid in the nervous system. *Lipids* 2001; 3:945-59.
18. Connor WE, Endres S, Hornstra G, Saito Y. *Polyunsaturated fatty acids in nutrition and disease prevention*. 2000;4:3-4.
19. Castorina M, Ambrosini AM, Pacific L, Ramacci MT, Angelucci L. Age-dependent loss ofNMDA receptors in hippocampus, striatum, and frontal cortex of the rat: prevention by acetyl-l-carnitine. *Neurochem Res* 1994;19(7):795–8.
20. Hossain MS, Hashimoto M, Gamoh S, Masumara S. Antioxidative effects of decosahexaenoic acid in the cerebrum versus cerebellum and brainstem of aged hypercholesterolemic rats. *J Neurochem* 1999; 72:1133-8.
21. Gamoh S, Hashimoto M, Sugioka K. Chronic administration of docosahexaenoic acid improves reference memory related learning ability in young rats. *Neurosci* 1999; 93:237-41.
22. S.C. Dyall, G.J. Michael, R. Whelpton, A.G. Scott, A.T. Michael-Titus. Dietary enrichment with omega-3 polyunsaturated fatty acids reverses age-related decreases in the GluR2 and NR2Bglutamate receptor subunits in rat forebrain. *Neurobiol Aging* 2007; (28) 424–39.
23. Yamashima T. A putative link of PUFA, GPR40 and adult-born hippocampal neurons for memory. *Progress Neurobiol* 2008; 84:105–15.
24. Rapoport, S.I In vivo approaches to quantifying and imaging brain arachidonic and docosahexaenoic acid metabolism. *J Pediatr* 2003;143: 26–34.
25. Contreras, M.A., Rapoport, S.I., Recent studies on interactions between n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids in brain and other tissues. *Curr Opin Lipidol* 2002;13: 267–72.
26. Moore, S.A. Polyunsaturated fatty acid synthesis and release by brain-derived cells in vitro. *J Mol Neurosci* 2001;16:195–200.

27. Moore, S. Astrocytes, not neurons, produce docosahexaenoic acid (22:6 omega-3) and arachidonic acid (20:4 omega-6). *J Neurochem* 1991;56:518–24.
28. Kim HY, Edsall L, Garcia M, Zhang HJ. The release of polyunsaturated fatty acids and their lipoxygenation in the brain. *Adv Exp Med Biol* 1999; 447:75–85.
29. Crawford MA, Golfetto I, Ghebremeskel K, Min Y, Moodley T, Poston L, Phylactos A, Cunnane S, Schmidt W. The potential role for arachidonic and docosahexaenoic acids in protection against some central nervous system injuries in preterm infants. *Lipids* 2003;38: 303–15.
30. Kawasaki, A. Protective effect of arachidonic acid on glutamate neurotoxicity in rat retinal ganglion cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002;43:1835–42.
31. Hama H, Hara C, Yamaguchi K, Miyawaki A. PKC signaling mediates global enhancement of excitatory synaptogenesis in neurons triggered by local contact with astrocytes. *Neuron* 2004;41:405–15.
32. Wang ZJ, Liang CL, Li GM, Yu CY, Yin M. Neuroprotective effects of arachidonic acid against oxidative stress on rat hippocampal slices. *Chem Biol Interact* 2006; 163:207–17.
33. Briscoe CP, Tadayyon M, Andrews JL, Benson WG, Chambers JK, Eilert MM, Ellis C, Elshourbagy NA, Goetz AS, Minnick DT, Murdock PR, Sauls HR, Shabon U, Spinage LD, Strum JC, Szekeres PG, Tan KB, Way JM, Ignar DM, Wilson S, Muir AI. The orphan G protein-coupled receptor GPR40 is activated by medium and long chain fatty acids. *J Biol Chem* 2003; 278:11303–11.
34. Ahmet Songur, Oğuz Aslan Özen, Mustafa Sarsılmaz. *Hipokampus T. Klinik Tıp Bilimleri*. 2001;21:427-31
35. Guyton AC. *Textbook of Medical Physiology* (Türkçe 1. baskı). İstanbul: Merck Yayıncılık. 1987; 980-1.
36. Cizkova D, Vonicky I, Gottlieb M, Marsala J. Ischemic damage in the hippocampus: a silver impregnation and immunocytochemical study in the rat. *Archives Italiennes de Biologie*. 1996; 134: 279-90.
37. Arıncı K, Elhan A. *Anatomi* Ankara: Güne Kitabevi, 1995: 2 :403-4.
38. Green JD. The Hippocampus. In: Field J. editor. *Handbook of Physiology* (1st Ed). Vol. 2. Washington: American Physiological Society. 1960; 1373-89.
39. Kandel ER, Schwartz JH, Jessel TM. *Principles of Neural Science* 4th ed. New York: Mc Graww-Hill Comp. 2000; 1233.
40. Serrano CP, Sanches AJC, Garcia GT. Mesial temporal sclerosis (I):histological data, physiopathological hypothesis end etiological factors. *Rev Neurol* 1997; 25 (140): 584-9.

41. Dere F. *Nöroanatomi Adana: Nobel Tıp Kitabevi*, 2000; 3: 428.
42. Barr ML, Klernam JA. *The Human Nervous System* 5th ed. Philadelphia: JB Lippincott Comp, 1988: 266
43. Selkoe DJ. Physiological production of the beta-amyloid protein and the mechanism of the alzheimer's disease. *Trends Neurosci* 1993; 16: 403- 9.
44. Serrano CP, Sanches AJC, Garcia GT. Mesial temporal sclerosis (I):histological data, physiopathological hypothesis end etiological factors. *Rev Neurol* 1997; 25 (140): 584-9.
45. Sloviter RS. Decreased hippocampal inhibition and a selective loss of interneurons. In experimental epilepsy. *Science* 1987; 235: 73-6.
46. Smeyne RJ, Vendrell M, Hayward M, Baker SJ, GG, Schilling K, LM, Curran T, Morgan JI. Continous C-fos expression precedes programmed cell death in vivo. *Nature* 1993; 363: 166-9.
47. Aktan ZA. Limbik Sistem. *Sendrom* 1997; 9 (1): 65-9.430
48. Jennifer A., Court and Ekine K., Perry. CNS Nicotine receptors. *Pharmacol Pathophysiol* 1994;2: 216.
49. Barret JE: Interrelationships between behaviour and pharmacology as factors determinig the effects of nicotine. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1993; 19:1027
50. Ozawa S, Haruyuki K. Glutamate receptors in the mammalian central nervous system. *Progress Neurobiol* 1987;54: 581-618.
51. Schneggenburger R, Zhou Z, Konnerth A, Neher E: Fractional contribution of calcium to the cation current through glutamate receptor channels. *Neuron* 1993;11: 133-43.
52. Coyle IT, Bird SI, Evans RH, Gulley RL, Nadler JV, Nicklas WJ, Olney JW: Excitatory amino acid neurotoxins: selectivity, specificity, and mechanism of action. *Neurosci Res Prog Bull* 1981;19: 331-427.
53. Scatton B, Carter C, Benavides J: N-metyl-D-aspartate receptor antagonists: A novel therapeutic perspective for the treatment of ischemic brain injury. *Cerebrovasc Dis.*1999 1: 121-4.
54. McMillan M, Pritchard GA, Miller LG: Characterisation of Ca⁺⁺-mobilizing excitatory amino acid receptors in cultured chick cortical cells. *Eur J Pharmacol.* 1990;189: 253-66.
55. Wong EHF, Kemp JA: Sites for antagonism on the N-methyl-D-aspartate receptor channel complex. *Ann Rev Pharmacol Toxicol.* 1991;31: 401-25.

56. Cull-Candy S, Brickley SG. NMDA receptors. *Encyclopedia of Life Sciences*.2001.
57. Masu M, Nakajima Y, Moriyoshi K, Ishii T, Akazawa C, Nakanashi S. Molecular characterization of NMDA and metabotropic glutamate receptors. *Ann N Y Acad Sci*. 1993 Dec 20;707:153-64.
58. Candy S, Brickley SG. NMDA receptors. *Encyclopedia of Life Sciences* 2001.
59. Ozawa S, Kamiya H and Tsuzuki K. Glutamate receptors in the mammalian centralnervous system. *Neurobiol* 1998;54: 581-618.
60. McHugh TJ, Blum KI, Tsien JZ, Tonegawa S, Wilson MA. Impaired hippocampal representation of space in CA1-specific NMDAR1 knockout mice. 1996 *J Neurochem* 27;87(7):1147-51.
61. Umezawa, M., Kogishi, K., Tojo, H., Yoshimura, S., Seriu, N., Ohta, A., Takeda, T., and Hosokawa, M. High-linoleate and high-alpha-linolenate diets affect learning ability and natural behavior in SAMRI mice. *J Nutr* 1999;129: (2), 431-7.
62. Kishimoto Y, Agranoff BW, Radin NS, Burton RM.. Comparison of the fatty acids of lipids of subcellular brain fractions. *J Neurochem* 1969;16: 397–404.
63. Marteinsdottir I., Horrobin DF, Stenfors C, Theodorsson E, Mathé AA. Changes in dietary fatty acids alter phospholipid fatty acid composition in selected regions of rat brain. *Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatry* 1998; (22): 1007–21.
64. Delion S, Chalon S, He´rault J, Guilloteau D, Besnard JC, Durand G.. Chronic dietary α -linolenic acid deficiency alters dopaminergic and serotonergic neurotransmission in rats. *J Nutr* 1994;124: 2466-76.
65. Carlson SE, Cooke RJ, Werkman SH, Tolley EA. Effect of long-chain n-3 fatty acid supplementation on visual acuity and growth of preterm infants with and without bronchopulmonary dysplasia. *Am J Clin Nutr* 1996;63:687–97.
66. Calder FC. Polyunsaturated fatty acids and inflammation. *Biochem Soc Trans*. 2005;33: 423–7.
67. Haunerland NH, Spener F.. Fatty acid-binding proteins—insights from genetic manipulations. *Prog Lipid Res* 2004;43: 328–49.
68. Arai Y, Funatsu N, Numayama-Tsuruta K, Nomura T, Nakamura S, Osumi N. Role of Fabp7, a downstream gene of Pax6, in the maintenance of neuroepithelial cells during early embryonic development of the rat cortex. *J Neurosci* 2005;25: 9752–61.

69. Conquer JA, Tierney MC, Zecevic J, Bettger WJ, Fisher RH. Fatty acid analysis of blood plasma of patients with Alzheimer's disease, other types of dementia, and cognitive impairment. *Lipids* 2000; 35:1305–12.
70. Mateos R, Lecumberri E, Ramos S, Goya L, Bravo L. Determination of malondialdehyde (MDA) by high-performance liquid chromatography in serum and liver as a biomarker for oxidative stress, Application to a rat model for hypercholesterolemia and evaluation of the effect of diets rich in phenolic antioxidants from fruits. *J Chromatog B* 827 (2005) 76–82.
71. Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 1970;227: 680-94.
72. Folch, J.; Lees, M.; Stanley, G. H. S. A simple method for the isolation and purification of lipids from animal tissue. *J Biol Chem* 1957, 226, 497-509.
73. Lowry, O.H., Rosenbrough, N.J., Farr, A.L., and Randall,R.J. Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent. *J Biol Chem*1951;193:265-75.
74. S.C. Dyall, G.J. Michael, R. Whelpton, A.G. Scott, A.T. Michael-Titus. Dietary enrichment with omega-3 polyunsaturated fatty acids reverses age-related decreases in the GluR2 and NR2Bglutamate receptor subunits in rat forebrain. *Neurobiol Aging* 28 .2007; 424–39.
75. Margaret Lahey, Bamford- Lahey Children's Foundation. 2002;110, (3), 451-9.
76. Suzuki, H., Park, S.J., Tamura, M., Ando, S. Effect of the long termfeeding of dietary lipids on the learning ability, fatty acid composition of brain stem phospholipids and synaptic membrane fluidity in adult mice: a comparison of sardine oil diet with palm oil diet. *Mech Ageing Development*1998; 101, (1-2), 119-128.
77. Winocur, G. and Greenwood, C. The effects of high fat diets and environmental influences on cognitive performance in rats. *Behavior and Brain Research*. 1999;101, (2), 153-163.
78. Frances, H., Monier, C., Bourre, J.M. Effects of dietary alpha-linolenic acid deficiency on neuromuscular and cognitive functions in mice. *Life Science*1995;57, (21), 1934-47.
79. Frances, H., Monier, C., Clement, M., Lecorsier, A., Debray, M., Bourre, J.M. Effect of dietary alpha-linolenic acid deficiency on habituation. *Life Science* 1996; 58, (21) 1805-16.
80. Lim, S.Y., and Suzuki, H. Intakes of dietary docosahexoenic acid, ethyl ester, and egg phosphatidylcholine improve maze-learning ability in young and old mice. *J Nutr* 2000;130, (6), 1629-32.

81. Okaniwa, Y., Yuasa, S., Yamamoto, N., Watanabe, S., Kobayashi, T., Okuyama, H., Nomura, M., and Nagata, Y. A high linoleate and a high alpha-linolenate diet induced changes in learning behavior of rats. Effects of a shift in diets and reversal of training stimuli. *Biol Pharm Bul* 1996; 19, (4), 536-60.
82. Carrie, E., Clement, M., de Javel, D., Francis, H., and Bourre, J. Phospholipid supplementation reverses behavioral and biochemical alterations induced by n-3 polyunsaturated fatty acid deficiency in mice. *J Lip Res* 2000; 41, 473-80.
83. Moriguchi, T., Greiner, R.S., and Salem, N. Behavioral deficits associated with dietary induction of decreased brain docosahexaenoic acid concentration. *J Neurochem* 2000;75, (6), 2563-73.
84. Umezawa, M., Kogishi, K., Tojo, H., Yoshimura, S., Seriu, N., Ohta, A., Takeda, T., and Hosokawa, M. High-linoleate and high-alpha-linolenate diets affect learning ability and natural behavior in SAMRI mice. *J Nutr* 1999;129, (2), 431-7.
85. Jensen, M., Skarsfeldt, T., and Hoy, C.E. Correlation between level of (n-3) polyunsaturated fatty acids in brain phospholipids and learning ability in rats. A multiple generation study. *Biochemistry Biophysics Acta* 1996; 1300, (3), 203-9.
86. Gamoh, S., Hashimoto, M., Sugioka, K., Shahdat, Hossain, M., Hata, N., Misawa, Y., and Masumura, S. Chronic administration of docosahexaenoic acid improves reference memory-related learning ability in young rats. *Neuroscience* 1999; 93, 237-41.
87. Moriguchi, T., Greiner, R.S., and Salem, N. Behavioral deficits associated with dietary induction of decreased brain docosahexaenoic acid concentration. *Journal of Neurochem* 2000; 75, (6), 2563-73.
88. Okaniwa, Y., Yuasa, S., Yamamoto, N., Watanabe, S., Kobayashi, T., Okuyama, H., Nomura, M., and Nagata, Y. A high linoleate and a high alpha-linolenate diet induced changes in learning behavior of rats. Effects of a shift in diets and reversal of training stimuli. *Biol Pharm Bulletin* 1996; 19, (4), 536-60.
89. Suzuki, H., Park, S.J., Tamura, M., Ando, S. Effect of the long-term feeding of dietary lipids on the learning ability, fatty acid composition of brain stem phospholipids and synaptic membrane fluidity in adult mice: a comparison of sardine oil diet with palm oil diet. *Mech Ageing Development* 1998; 101, (1-2), 119-28.
90. Innis, S.M. The role of dietary n-6 and n-3 fatty acids in the developing brain. *Dev Neurosci* 2000; 22, 474-80.

91. Yoshida, S., Yasuda, A., Kawazato, H., Sakai, K., Shimada, T., Takeshita, M., Yuasa, S., and Kobayashi, T. Synaptic vesicle ultrastructural changes in the rat hippocampus induced by a combination of alpha-linolenate deficiency and a learning task. *J Neurochem* 1997; 68 (3), 1261-8.
92. McKenna, M.C. and Campagnoni, A.T. Effect of pre- and postnatal essential fatty acid deficiency on brain development and myelination. *J Nutr* 1979; 109, 1195-204.
93. Acar N, Chardigny JM, Darbois M, Pasquis B, Se'be'dio JL. Modification of the dopaminergic neurotransmitters in striatum, frontal cortex and hippocampus of rats fed for 21 months with trans isomers of a-linolenic acid. *Neuroscience Res* 2003; 45:375-82.
94. Delion, S., Chalon, S., Guilloteau, D., Bresnard, J.C., and Durand, G. Alpha-Linolenic acid dietary deficiency alters age-related changes of dopaminergic and serotonergic neurotransmission in the rat frontal cortex. *J Neurochem* 1996; 66, 1582-91.
95. J.D. Effects of dietary polyunsaturated fatty acids on neurona function. *Lipids* 1999;34, 161-9.
96. Dyall SC, Michael GJ, Whelpton R, Scott AG, Michael-Titus AT. Dietary enrichment with omega-3 polyunsaturated fatty acids reverses age-related decreases in the GluR2 and NR2Bglutamate receptor subunits in rat forebrain. *Neurobiol Aging* 28 .2007; 424–39.
97. Hof PR, Duan HL, Page TL, Einstein M, Wicinski B, He Y, Erwin JM, Morrison JH. Age-related changes in GluR2 and NMDAR1 glutamate receptor subunit protein immunoreactivity in corticocortically projecting neurons in macaque and patas monkeys. *Brain Res*. 2002;928(1–2): 175–86.
98. Bliss TVP, Collingridge GL. A synaptic model of memory: long term potentiation in the hippocampus. *Nature*. 1993;361:31-39.
99. Lynch MA. Long-term potentiation and memory. *Physiol Rev*. 2004;84(1):87–136.
100. Martin DS, Spencer P, HorrobinDF, LynchMA. Long-term potentiation in aged rats is restored when the age-related decrease in polyunsaturated fatty acid concentration is reversed. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2002;67(2–3):121–30.
101. McGahon B, Clements MP, Lynch MA. The ability of aged rats to sustain long-term potentiation is restored when the age-related decrease in membrane arachidonic acid concentration is reversed. *Neurosci* 1997;81(1):9–16.

102. McGahon BM, Martin DS, Horrobin DF, Lynch MA. Age-related changes in synaptic function: analysis of the effect of dietary supplementation with omega-3 fatty acids. *Neurosci* 1999;94(1):305–14.
103. Yehuda S, Carasso RL. Modulation of learning, pain thresholds, and thermoregulation in the rat by preparations of free purified alpha-linolenic and linoleic acids: determination of the optimal omega 3-to-omega 6 ratio. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993;90(21):10345–9.
104. Nishikawa M, Kimura S, Akaike N. Facilitatory effect of docosahexaenoic acid on N-methyl-d-aspartate response in pyramidal neurones of rat cerebral cortex. *J Physiol* 1994;475(1):83–93.
105. Delibas N, Altuntas I, Sutcu R, Yonden Z, Koylu H. Effects of dietary long chain PUFAs on hippocampal lipid peroxidation and NMDA receptor subunits A and B concentration in streptozotocin-diabetic rats. *Int J Neurosci* 2004;114(10):1353–64.
106. Jump DB. The biochemistry of n-3 polyunsaturated fatty acids. *J Biol Chem*. 2002;277(March (15)):8755–8.
107. Nishikawa M, Kimura S, Akaike N. Facilitory effect of docosahexaenoic acid on Nmethyl-D-aspartate response in pyramidal neurones of rat cerebral cortex. *J Physiol* 1994; 15:83-93.
108. Farkas E, Wilde MC, Kiliaan AM. Dietary long chain PUFAs differentially affect hippocampal muscarinic 1 and serotonergic 1A receptors in experimental cerebral hypoperfusion. *Brain Res* 2002; 954: 32-41.
109. Amamoto T, Okada M, Kawachi A. Relationship between hippocampal arachidonic acid content and induction of LTP in aged rats. *Nihon Shinkei Seishin Yakurigaku Zasshi* 1999;19:273-7.
110. Hynd MR, Scott HL, Dodd PR. Differential expression of N-methyl-d-aspartate receptor NR2 isoforms in Alzheimer's disease. *J Neurochem* 2004;90:913–9.
111. Yehuda, S., Rabinovitz, S., Carasso, R.L., and Mostofsky, D.I. Essential fatty acids preparation (SR-3) improves Alzheimer's patients' quality of life. *Int J Neurosci* 1996; 87, 141-9.
112. Castorina M, Ambrosini AM, Pacific L, Ramacci MT, Angelucci L. Age-dependent loss of NMDA receptors in hippocampus, striatum, and frontal cortex of the rat: prevention by acetyl-l-carnitine. *Neurochem Res* 1994;19(7):795–8.
113. Mesches MH, Gemma C, Veng LM, Allgeier C, Young DA, Browning MD, Bickford PC. Sulindac improves memory and increases NMDA receptor subunits in aged Fischer 344 rats. *Neurobiol Aging* 2004;25(3):315–24.

114. Sarsilmaz M, Songur A, Ozyurt H, Kus I, Ozen OA, Ozyurt B, Sogut S, Akyol O. Potential role of dietary omega-3 essential fatty acids on some oxidant/antioxidant parameters in rats' corpus striatum. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2003;69(4):253–9.
115. Cohen SA, Muller WE. Age-related alterations of NMDA-receptor properties in mouse forebrain: partial restoration by chronic phosphatidylserine treatment. *Brain Res* 1992;584:174–80.
116. Stoll AL, Hartmann H, Cohen SA, Muller WE. The potent free radical scavenger alpha-lipoic acid improves memory in aged mice: putative relationship to NMDA receptor deficits. *Pharmacol Biochem Behav* 1993;46:799–805.
117. Murray CA, Lynch MA. Dietary supplementation with vitamin E reverses the age-related deficit in long term potentiation in dentate gyrus. *J Biol Chem* 1998;273(20):12161–8.
118. McGahon BM, Martin DS, Horrobin DF, Lynch MA. Age-related changes in LTP and antioxidant defenses are reversed by an alphas-lipoic acid-enriched diet. *Neurobiol Aging* 1999;20(6):655–64.
119. Kubo K, Saito M, Tadokoro T. Dietary docosahexaenoic acid dose not promote lipid peroxidation in rat tissue to the extent expected from peroxidizability index of the lipids. *Biosci Biotechnol Biochem* 1998;62:1698-706.