

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

**RATLARDA DİYETER CEVİZ ALIMININ HİPOKAMPÜS
NMDA RESEPTÖR SUBÜNİT KONSANTRASYONLARI
ÜZERİNE ETKİSİ**

DR. HİCRAN HİÇYILMAZ

TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

PROF. DR. HÜSEYİN VURAL

Bu tez Süleyman Demirel Üniversitesi Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından 1340TU-06 proje numarası ile desteklenmiştir. ISPARTA - 2007

2007-ISPARTA

KABUL VE ONAY SAYFASI

Tıp Fakültesi Dekanlığına

Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fak Biyokimya Anabilim Dalı Başkanlığı çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Uzmanlık tezi olarak kabul edilmiştir.

Uzmanlık Tez Savunma Tarihi: 10.01.2008

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Hüseyin Vural (SDÜ Tıp Fak.Biyokimya ABD.)

Üye : Prof. Dr. Namık Delibaş (SDÜ Tıp Fak.Biyokimya ABD.)

Üye : Prof. Dr. Oya Bayındır (Ege Ün. Tıp Fak.Biyokimya ABD.)

Üye : Prof. Dr. Fatih Gültekin (SDÜ Tıp Fak.Biyokimya ABD.)

Üye : Doç. Dr. İrfan Altuntaş(SDÜ Tıp Fak.Biyokimya ABD.)

ONAY: Bu uzmanlık tezi, Fakülte Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Fakülte Yönetim Kurulu Kararıyla kabul edilmiştir

**Prof.Dr. Yıldırım SONGÜR
Dekan**

TEŐEKKÜR

Üniversitemiz bünyesinde kaliteli ve iyi donanımlı bir laboratuvarın kurulmasında, yüksek standartlarda hasta hizmeti ve uzmanlık eğitimi verilmesinde büyük emeği geçen, Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Namık Delibaş'a,

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve tecrübeleriyle bana yol gösteren, uzmanlık tezimin hazırlanması sürecinde de katkılarını esirgememiş olan tez danışmanım Prof.. Dr Hüseyin Vural'a

Destekleriyle her zaman yanımda olan değerli hocalarım;Prof.. Dr. Fatih Gültekin'e, Doç. Dr. İrfan Altuntaş'a, Doç. Dr. Recep Sütçü'ye, Yrd. Doç. Dr. Mehmet Akdoğan'a ,Yrd. Doç. Dr. Duygu Kumbul Doğuç'a sonsuz Őükran ve saygılarımı sunarım.

Laboratuvar içerisinde beraber çalışmaktan mutlu olduğum araştırma görevlisi ve teknisyen arkadaşlarıma,

Bana verdikleri emek ve gösterdikleri sevgileri ile her zaman yanımda olan annem, babam ve eşim ve çocuklarıma teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER	
Kabul ve Onay Sayfası	ii
Teşekkürler	iii
İçindekiler	iv
Kısaltmalar	v
Şekil ve Tablo Listesi	vi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Besin öğeleri ve beyin	2
2.1.1. Çoklu doymamış yağ asitleri ve beyin	3
2.1.2. Vitaminler ve Beyin	7
2.1.3. Mineraller ve beyin	8
2.1.3.a. Demir ve beyin	9
2.1.3.b. Çinko ve beyin	10
2.1.3.c. Selenyum ve beyin	11
2.1.3.d. İyot ve beyin	11
2.1.3.e. Mağnezyum ve beyin	13
2.2. Ceviz	15
2.3. Hipokampus	21
2.3.1. Hipokampusün yapısı ve fonksiyonları	21
2.3.2. Hipokampusün Lezyonları	23
2.4. NMDA	24
2.4.1. Glutamat reseptörleri	24
2.4.2. NMDA'nın yapısı	26
2.4.3. NMDA'nın fizyolojisi	29
2.4.4. NMDA'nın lokalizasyonu	31
2.4.5. NMDA , hafıza ve öğrenmedeki rolü	32
2.4.6. Nörolojik Hastalıklar ve Glutamat Reseptör Aktivasyonunda artış	33
3. MATERYAL METOD	35
3.1. Materyal	35
3.1.1. Deney Hayvanları	35
3.1.2. Kullanılan kontrol rat yem içeriği	35
3.1.3. Ratlara verilen ceviz yağ asit içeriği	36
3.1.4. Kullanılan Malzemeler ve Aletler	36
3.1.5. Kullanılan Kimyasal Maddeler	36
3.1.6. Kullanılan Çözeltiler	37
3.2. METOD	40
3.2.1. Ratlara cevizin verilmesi	40
3.2.2. Anestezi ve Gerekli Materyallerin Alınması	40
3.2.3. Hipokampus Örneklerinin Homojenizasyonu	40
3.2.4. Lipit Peroksidasyonunun Tayini	40
3.2.5. SDS-PAGE Yöntemi:	41
3.2.6. Western Blot Yöntemi	41
3.2.8. İstatistiksel Analiz	42
4. SONUÇLAR	43
4.1 Western Blot Analizi ile Saptanan NR2A, NR2B Reseptör Düzeyleri	43
5. TARTIŞMA	46
ÖZET	55
SUMMARY	56
KAYNAKLAR	57

KISALTMALAR

AA (Araşidonik asit)
ACTH (Adrenokortikotropik hormon)
ALNA (Alfa linolenik asit)
AMPA (α -amino 3 hidroksi 5 metil 4 izoksozol propionat)
CAMK II (Ca²⁺/ kalmodulin bağımlı protein kinaz II)
c-fos (hücre sel onkojenik gen)
c GMP (Siklik GMP)
DHA (Docosaheksaenoik asit)
DNA (Deoksiribonükleik asit)
EEG (Elektroensefalografi)
EFA (Esansiyel yağ asidi)
EPA (Eicosapentaenoik asit)
EPSP (Eksitatör postsinaptik potansiyel)
HDL (Yüksek dansiteli lipoprotein)
iGluR (iyonotropik glutamat reseptör)
GluRs (Glutamat reseptörleri)
GluR1, GluR2, GluR3, GluR4 (AMPA reseptör subüniti),
GluR5, GluR6, GluR7, KA1, KA2 (kainat reseptör subüniti)
LA (Linoleik asit, ω -6, omega-6)
LNA (Linolenik asit, ω -3, omega-3)
LC PUFA (Uzun zincirli çoklu doymamış yağ asidi)
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 subüniti)
PKC (Protein kinaz C)
PS (Fosfatidilserin)
PUFA (Çoklu doymamış yağ asidi)
PUFAs (Çoklu doymamış yağ asitleri)
ROS (Reaktif oksijen türleri)
SDS-PAGE (Sodyum dodesil sülfat-poliakrilamid jel elektroforezi)
WHO (World Health Organizati)

ŞEKİL ve TABLO LİSTESİ

Şekil 1. Limbik sistemi oluşturan yapılar ve aralarındaki bağlantılar

Şekil 2. NR2A'ya ait Western Blot örneği

Şekil 3. Sonuçlar kontrol grubu 100 kabul edilip kontrole göre % konsantrasyon değeri olarak belirtilen NR2A düzeyleri

Şekil4. NR2B'ye ait Western Blot örneği

Şekil 5. Sonuçlar kontrol grubu 100 kabul edilip kontrole göre % konsantrasyon değeri olarak belirtilen NR2B düzeyleri

Şekil 6. MDA düzeyleri

Tablo1. Cevizdeki yağ asitleri Tablo 2 .Cevizdeki aminoasitler

Tablo 3. Kullanılan kontrol rat yem içeriği

Tablo 4. Ratlara verilen ceviz yağ asit içeriği

Tablo 5. Lower jel (% 7.5'lük) içeriği

Tablo 6. Upper jel (% 4'lük) içeriği

Tablo 7. Sample buffer içeriği

Tablo8.Ceviz grubunda NR2A, NR2B reseptörlerinin yüzdeler cinsinden yoğunlukları ortalama ve \pm SD değerleri

Tablo 9.Hipokampus kontrol grubu ve ceviz grubu arasındaki anlamlılık düze

1. GİRİŞ

Beslenme insan ve hayvanlarda beyin kimyası üzerinde etkili bir faktördür. Beslenme, beyin fonksiyonunu kısa dönemde nörotransmitterleri ve nöronal ateşlemeyi etkileyerek, uzun süreçte ise hücre membran yapısını değiştirerek etkileyebilir. Beslenmenin bilişsel gelişim ve fonksiyonlara etkisi konusunda yapılan çalışmalar incelendiğinde, diyetle yeterli miktarlarda enerji, protein, çoklu doymamış yağ asitleri, antioksidan vitaminler, demir, iyot ve çinko gibi besin öğelerinin alınmasının bilişsel gelişim ve fonksiyonları olumlu yönde etkilediği görülmüştür. Memeli sistemler tarafından sentezlenemeyen, esansiyel bileşikler ise diyetle karşılanmak zorundadır (1).

Ceviz sert kabuklu meyvelerdendir. Besleyici, lezzetli ve sağlıklı bir besin olarak bilinmektedir. Ceviz altmışa yakın bileşen içermektedir. Cevizi diğer sert kabuklu meyveler arasından öne çıkaran özellikleri, omega-3(ω -3) ve omega-3(ω -6) gibi çoklu doymamış yağ asitlerini yüksek oranda içermesidir. Ceviz, diğer sert kabuklu meyvelerle kıyaslandığında en yüksek ω -3 yağ asidi miktarına sahiptir. Bu yağ asitlerinin, vücut tarafından sentezlenmemesi nedeniyle gıdalarla alınması zorunludur. Sahip olduğu bu özellik, cevizin tüketimini vazgeçilmez kılmıştır. Ceviz bol miktarda C, B1, B2, A ve E vitaminlerini içermektedir. Bu içerik cevizin antioksidan etkisini artırmaktadır. Ayrıca içinde beyin fonksiyonları için gerekli uygun miktarda mineraller (Mg, Zn vb) ve melatonin gibi maddeleri de içermektedir. Görüntü olarak da beyni andıran bir biçim taşıması dikkat çekicidir. Hafıza üzerine olumlu etkileri olabileceği düşünülmektedir.

NMDA (N-metil-D-aspartat) reseptörleri NR1 ve NR2A-NR2D alt ünitelerinin bir kombinasyonudur. Bu kombinasyonlar eşsiz iyon permeabilite özellikleri ve desensitizasyon kinetiği sağlar. Öğrenme ve hafızadaki muhtemel rolü sebebiyle NMDA reseptörleri ilginin odağı olmuştur(2).

Biz çalışmamızda genç ratlara diyet ile ceviz vererek, hipokampüste NMDA reseptör subunit düzeylerine etkisini ve dolayısıyla öğrenme ile ilişkisini araştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Besin öğeleri ve beyin

2.1.1. Çoklu Doymamış Yağ Asitleri ve Beyin

Yağ, insan yaşamı için gerekli olan temel besin öğelerinden biridir. Besinlerin doğal bileşiminde bulunur. İnsan vücudunda yapılamayan çoklu doymamış yağ asitlerinin vücuda alınımını sağlar.

Doymamış yağ asitleri tekli doymamış yağ asitleri ve çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA)'ni kapsamaktadır (3). Tekli doymamış yağ asitleri bir adet çift bağ içerirken, PUFA'lar birden fazla çift bağ içermektedirler Yağ asitlerinin adlandırmasına göre ilk rakam karbon zincirinin uzunluğunu, ikinci rakam çift bağ sayısını, n-'den sonraki üçüncü rakam da molekülün metil ucundan ilk çift bağa kadar olan karbon sayısını göstermektedir (4).

PUFA'ların iki alt grubu olan ω -6 ve ω -3 yağ asidi aileleri sırasıyla esansiyel yağ asitleri olan linoleik asit (LA,18:2, ω -6, omega-6) ve linolenik asit (LNA,18:3, ω -3,omega-3)'den sentezlenirler (5). 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. LA ise araşidonik asitin (AA) öncülüdür. LNA ve LA yağ asitleri arasında delta 4 ve delta 6 desaturazlar için bir yarışma söz konusudur ve ω -3 yağ asitlerinin bu enzimlere ilgisi daha fazladır(3,4).

LNA'in en önemli besinsel kaynağı bazı tohum yağları (soya yağı, keten tohumu yağı, ceviz yağı vs.) ve fındık ve ceviz gibi sert kabuklu yemişlerdir. Ayrıca ot yiyen hayvanların etleri (sığır vs) ve yeşil yapraklı sebzelerde de bulunmaktadır. LNA'in uzun zincirli türevleri olan EPA ve DHA ise başlıca balık yağı ve somon, uskumru, sardalye ve çiroz gibi yağlı balıkların etlerinde bulunur (5).

Sinir sistemi, adipoz dokudan sonra lipid konsantrasyonunun en yüksek olduğu ikinci dokudur. Erişkin beyninin kuru ağırlığının yaklaşık %50-60'ı lipittir. Beyin lipitlerinin yaklaşık %35'ini PUFA oluşturur. Beyin yapısal ve biyolojik

fonksiyonlarda rol oynayan PUFA'lerden özellikle ω -6 derivesi AA ve ω -3 derivesi DHA yönünden zengindir (6).

Beyin lipidleri diyetle çok duyarlıdır. Bu lipidler membran yapısına direkt katılırlar, reseptörler ve enzimlerin aktivitelerini etkilerler. Sinir hücrelerinin farklılaşması ve çoğalması esnasında yeterli miktarda esansiyel lipidlerin bu hücrelerce alınımının sağlanması gereklidir.

Beynin gelişimi sürecinde, diyetdeki ω -3 ve beyindeki ω -3 içeriği arasında doğrusal bir ilişki vardır. ω -3 içeriğindeki değişiklik, enzimlerin ve membranların özelliklerini değiştirebilmektedir.

ω -3 den fakir diyetin motor fonksiyon ve aktivite üzerine etkisi az olmakla birlikte, öğrenme üzerinde yaptığı zarar çarpıcı bir şekilde belirtilmiştir. ω -3 eksikliği olanlarda inferior öğrenme performansı azalmıştır. Bu durum hipokampal CA1 bölgesindeki terminallerin sinaptik veziküllerin ortalama yoğunluğunun yaklaşık %30 azalmasıyla ilişkili bulunmuştur.

ω -6'dan zengin diyet ve ω -6 / ω -3 oranı sinaptozomal kolesterol, total lipid ya da fosfolipid kompozisyonu değiştirmemektedir. Diğer yandan bu diyet sinaptozomal yağ asit kompozisyonunu etkilemektedir. Bu bilgilerin ışığı altında LA düzeyinde ve/veya ω -6/ ω -3 oranındaki artış, beyin sinaptozomal membranların fizik özelliklerini ve normal yağ asit gelişimini tehlikeye sokmaktadır. Diyet yoluyla beyin fosfolipidlerinin şahıslardaki yağ asit içeriği değiştirilebilir..

Sinir dokusunda diyetdeki LNA yağ asit içeriğinin değişimi membran fosfolipid kompozisyonundaki yağ asitlerini etkilemektedir. Bu etkiler önemli fonksiyonel değişimlere yol açabilir; membran akışkanlığını değiştirebilir, hücre cevabını ve iyon transportunu ve prostaglandin ile lökotrienlerin sentezini etkileyebilmektedir. Doymuş yağ asitlerinden zengin diyetle beslenme nörotransmitter reseptörlerin cevabını değiştirmekte ve plazma membran yağ asit kompozisyonunu değiştirmek suretiyle membran akışkanlığını azaltmaktadır.

Beyin uzun zincirli PUFA'ları doğrudan diyetten sağlayabileceği gibi öncülleri olan LA ve LNA den de sentezleyebilir (6,7) Keza uzun zincirli PUFA'lara duyulan yüksek orandaki ihtiyaca karşın, beyin sentez yeteneğinin sınırlı olması nedeniyle bu uzun zincirli PUFAların plazmadan transportu önemli rol

oynamaktadır (8). Çoğu memeli türlerinde beyin gri maddesindeki başlıca ω -3 PUFA DHA (22:6 ω -3)'dir (9,10).

Yine sinaptozomlar, sinaptik veziküller, mitokondri, mikrozomlar ve sinir büyüme konileri gibi subseleler fraksiyonlarda da yüksek düzeylerde DHA bulunduğu çeşitli çalışmalarda rapor edilmiştir (11). ω -3 PUFA'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. Santral sinir sisteminde fonksiyonel önemi olan bir diğer PUFA ise ω -6'dan sentezlenen AA (20:4, ω -6)'dır. LNA ve LA lar enzimatik dönüşüm için birbirleriyle yarıştığından bu iki yağ asidi tipinin diyetel alımlarındaki oran onların beyin üzerine olan biyolojik etkilerini belirleyen bir faktördür (10,12).

Genel olarak genç hayvanların gelişmekte olan beyinleri diyetel yağ asidi ilavesiyle birkaç hafta gibi kısa bir sürede modüle edilebilirken, yaşla birlikte beyin membran yağ asidi kompozisyonunun diyetel yağ asidi alımıyla modülasyonu daha uzun zaman almaktadır. Pek çok çalışmada yaşlı hayvanlar en az 8 hafta beslenmişlerdir. Ancak bu çalışmaların pek çoğunda yağ asidi kompozisyonundaki değişikliklerin yağ asidi ilavesinden ne kadar süre sonra ortaya çıktığı tam araştırılmamıştır. Beyin yağ asidi kompozisyonunu değiştirmek için gereken zaman araştırılırken dikkate alınması gereken bir diğer faktör de kullanılan yağ asidi kaynağının konsantrasyonudur ki diyetin %5-%20'si arasında değişmektedir (11).

PUFA'ların beyin üzerine olan etkileri incelenirken en az altı kategoriden bahsedilir:

- (a) membran akışkanlığı üzerine olan etkileri,
- (b) membrana bağlı enzimlerin aktiviteleri üzerine olan etkileri,
- (c) reseptörlerin sayı ve afiniteleri üzerine olan etkileri,
- (d) iyon kanallarının fonksiyonları üzerine olan etkileri,
- (e) nörotransmitterlerin yapımı ve aktiviteleri üzerine olan etkileri ve
- (f) nörotransmitterlerin aktivitelerini ve nöronal büyüme faktörlerini kontrol eden sinyal iletimi üzerine olan etkileri (7).

Nöronal membranın fiziksel durumu, iyonların, membranın iç ve dış duvarları arasındaki değişimine bağlı olan nöronal bilginin transferinin kontrolünde kritik bir rol oynamaktadır. İyon değişiminin maksimum etkinlikte olması için membranın fiziksel durumunun optimal düzeyde olması gerekmektedir (ne çok sıkı ne de çok

akışkan). Beyinde membran akışkanlığını modifiye eden faktörler diyetsel yağ asitleri özellikle de PUFA'lardır. PUFA'lar sinaptosomal membranların akışkanlığını belirler, bu sayede de nöronal iletiyi düzenlerler.

Diyetsel lipidler ya da esansiyel yağ asitleri ile hücrel enzim aktiviteleri arasındaki ilişki kısmen araştırılmış olmasına rağmen lipidlerin ve esansiyel yağ asitlerinin membrana bağlı bazı enzimlerin aktivitelerini düzenledikleri dikkate değer bir bulgudur (8). Örneğin esansiyel yağ asitlerinin fosfolipaz A2 ve protein kinaz C (PKC)'nin aktivitelerini etkilediği bazı çalışmalarda rapor edilmiştir (8,13). Yine bir çalışmada ω -6 ve ω -3 yağ asitleri arasındaki oranın oksidatif enzimler üzerine olan etkisi incelenmiştir (14). Yaşlanmada oksidatif stresi azaltan yaklaşımlar NMDA reseptörlerindeki gerilemeyi düzeltir (15). Bu da antioksidan seviyeler ve yeterli reseptör yazılımı fonksiyonunun korunması arasında bir bağlılık gösterir.

Az sayıda çalışmada da esansiyel yağ asitlerinin kolinerjik, nikotink, muskarinik, dopaminerjik ve NMDA reseptörleri gibi bazı nörotransmitter reseptörlerinin fonksiyonlarını modifiye ettikleri rapor edilmiştir (16).

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 (17).

Esansiyel yağ asitleri kan beyin bariyerinin fonksiyonunu bazı proteinlerin bağlanma hızlarını etkileyerek modifiye edebilirler.

DHA yüksek düzeyde doymamış olduğu için lipid peroksidasyonunun hasar verici etkilerine açıktır. Beyin, antioksidan enzimlerden ve glutatyon (GSH) gibi antioksidanlardan fakirdir (18). Bu yüzden zararlı etkiler hücrel peroksidasyon prosesiyle antioksidan savunma arasındaki dengeye bağlıdır. Yapılan bazı çalışmalarda ise etki mekanizması açık olmamakla birlikte DHA'nın beyinde antioksidan etki gösterdiğine dikkat çekilmiştir (19).

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

Serebral korteksteki NMDA cevapları gibi, hipokampustaki sinaptik ileti ve long term potentiation (LTP) da DHA tarafından değiştirilir. Ancak açıklanamayan DHA'nın ve analoglarının bu etkilerinin in vivo şartlarda geçerli olup olmadığıdır (19). AA'nın tersine, DHA nöronal membranlardan kolayca salıverilmez, bunun yerine membran fosfolipidleri tarafından alıkoyulur. Bu da, DHA'in trofik bir faktör olarak rol oynayabileceğini ve nöronal membranların bu yağ asidinden zenginleştirilmesinin nöronal canlılık için önemli olabileceğini düşündürmektedir.

Nöronal membranlarda, aminofosfolipidlerde DHA oldukça yüksektir (özellikle de fosfatidilserin (PS) de). Pek çok memeli hücre membranında, PS'in majör negatif yüklü fosfolipid sınıfı olduğu ve protein kinazlar gibi pek çok sinyal proteininin PS'den etkilendiği göz önüne alınırsa, PS içeriğindeki değişikliklerin hücre 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 için ve apoptotik etkinin büyük kısmı oksidatif stres aracılığıyla ortaya çıktığı için, kültür edilmiş hücreleri 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 PS ile birleşir ve toplam hücresel PS düzeyi artar. Koruyucu etki, hücresel PS birikiminin düzeyi ile ilişkilidir (18). Hücreler, serin aminoasidi olmayan bir ortamda DHA ile inkübe edildiklerinde, PS düzeyi anlamlı derecede artmaz ve antiapoptotik etki anlamlı derecede azalır. DHA'dan 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. Nöronal hücrelerde DHA salınımı 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 (16).

2.1.2. Vitaminler ve Beyin

Beyinde oksidatif stres, beyin dokusuna zarar vererek Parkinson, Alzheimer hastalığı gibi çeşitli sinir sistemi ile ilgili hastalıkların oluşmasına neden olabilmektedir. Dünyada yaşlı (65 yaş ve üstü) bireylerin sayısı hızla artmaktadır. Amerika'da 2020 yılında elli milyondan fazla yaşlı birey olması beklenirken, yaşlılarda bilişsel fonksiyonlarda görülen azalmalar ürkütücüdür. Yaşın ilerlemesiyle birlikte azalan bilişsel fonksiyonların en önemli nedeninin, oksidatif stres ve antioksidan kapasitedeki azalma olduğu, bu nedenle yaşlılarda hafıza ve bilişsel fonksiyonlar ile ilişkili olarak antioksidan durumunun değerlendirilmesi gerekmektedir (20).

Özellikle koruyucu özellik gösteren antioksidanların yetersizliği durumunda oksidatif stres metabolizmaya daha fazla zarar vermektedir (21). Normal metabolizma sonucu serbest radikallerin ortaya çıkması olarak bilinen oksidatif stres, özellikle antioksidan yetersizliği de mevcutsa zararlı moleküllerin oluşması ile organizmaya hasar verir. Beyin belli miktarda koruyucu özellikte antioksidan içerse de yüksek miktarda içerdiği çoklu doymamış yağ asitleri nedeniyle oksidasyona karşı oldukça hassas bir organdır. Antioksidan kapasitenin artması ve oksidatif stresin azalması kanser, diyabet, katarakt, kardiyovasküler ve serebrovasküler hastalıklar gibi pek çok hastalığın görülme sıklığını azaltırken, bilişsel fonksiyonlardaki azalmayı yavaşlatır ya da önler.

E vitamini insan vücudu için önemli bir vitamin olup hücre membranında bulunarak serbest radikalleri yakalaması, doymamış yağ asitlerini lipit peroksidasyonundan koruması, doğal bir antioksidan olması gibi fonksiyonlara sahiptir (21). Beslenmeyle yetersiz alındığında özellikle, merkezi sinir sisteminde bazı bozukluklara sebep olduğu gösterilmiştir (24). E vitamini ve diğer

antioksidanların Alzheimer oluşturulmuş hayvan modellerinde oksidatif zararı önlediği ve yaşlı hayvanlardaki bilişsel performansı etkili şekilde geliştirdiği bildirilmiştir (21).

B grubu vitaminler başlığı altında birçok B vitamini vardır. B grubu vitaminler, karbonhidrat, protein ve yağların vücutta kullanılabilmesi için gereklidir. Tahıllar, kuru baklagiller ve hayvansal kaynaklı besinlerde B grubu vitaminler belli oranlarda bulunurlar.

Vitamin B6, santral sinir sisteminin gelişiminde önemli bir kofaktördür. Bu nedenle beyin gelişimini ve bilişsel fonksiyonları etkileyebilir. Yakın zamanda hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda gebelik ve emzicilik dönemlerindeki vitamin B6 yetersizliğinin NMDA reseptörlerinin fonksiyonunu değiştirdiği bulunmuştur. NMDA reseptörü öğrenme ve hafızaya almada önemli rol oynayan glutamaterjik nörotransmitter sistemin alt reseptör türünü oluşturmaktadır (22).

B vitamini seratonin, melatonin ve dopamin gibi beyindeki üç önemli kimyasalın üretimi için gereklidir. Bu üç madde, RNA ve DNA nükleik asitleri gibi tüm hücrelerin yeniden üretimi ve büyümesi için gerekli genetik bilgiyi içerirler. Literatürde antioksidan vitaminlerin (β -Karoten, E ve C vitamini) öğrenme üzerindeki etkilerini araştıran çok sayıda çalışma yer almaktadır. 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 (23-25).

Vitamin yetersizliği bilişsel fonksiyon kaybına neden olan esas etmen olmasa da, aralarında kuvvetli bir ilişki olduğu kesindir. Ceviz antioksidan vitaminler açısından zengin bir besindir.

2.1.3. Mineraller ve beyin

Mineraller; vücutta belli bir oranda bulunan, büyüme, gelişme ve sağlıklı bir yaşam için pek çok önemli görevleri olan besin öğeleridir. Vücudumuzda çok az oranda bulunmalarına rağmen, görevleri oldukça önemlidir. Demir, çinko ve iyot gibi bir çok mineral bilişsel gelişim üzerinde etkilidir.

2.1.3.a. Demir ve beyin

Gelişmekte olan ülkelerde sıklıkla görülen beslenme sorunlarından biri olan demir eksikliği anemisi, çocuklarda dikkat, öğrenme ve okul başarısını olumsuz yönde etkilemektedir. Demir eksikliği anemisi olan çocukların dikkatlerinin azaldığı, bunun da öğrenmeyi etkileyebileceği belirtilmiştir. Anemi, yaşamın ilk 2 yılı boyunca zeka testlerinde performans düşüklüğüne, okul çocuklarında da algılama güçlüğüne neden olmaktadır.

Beyinde demir alımı mikrodamarların endotelial yüzeylerindeki transferin reseptörleri ile olmaktadır. Bu alım, hızlı beyin büyümesi ve miyelogenenezin doruğa ulaştığı dönemlerde artmaktadır ve hayat boyu da sürmektedir (20,26).

Beyindeki demir dağılımının manyetik rezonans ile incelenmesi en yüksek konsantrasyonların globus pallidus, kaudat nukleus, putamen ve substansiya nigra'da olduğunu, öte yandan korteks ve serebellumda içeriğin daha az olduğunu göstermiştir. Demir, dopamin, serotonin, katekolamin ve muhtemelen γ -aminobütirik asit sentezi ile birlikte myelin oluşumundan sorumlu pek çok hücrel ve metabolik fonksiyon için gerekli bir kofaktördür (27). Dopamin metabolizmasının ise dikkat, algı, hafıza, motivasyon ve motor kontrol üzerinde etkisi vardır (28).

Öte yandan bebeklerde fazla demir de oksidatif hasarı artırarak beyin gelişimi için risk oluşturmaktadır (29).

Hayvan deneyleri yaşamın erken döneminde demirden yoksun olan sıçanlarda total beyin miktarın %27 azaldığını ve daha sonra verilen demir tedavisine de dirençli olduğunu göstermiştir (30). Devam eden demir eksikliği sıçanlarda kalıcı davranış ve öğrenme bozukluklarına neden olmaktadır. Bu bulgular erken beyin gelişimi sırasında kritik fazlarda normal beyin demir düzeylerinin, normal gelişme, fonksiyon ve davranış için hayati olduğu hipotezini desteklemektedir. Çocuklarda yapılan çalışmalarda da demir eksikliğinden kaynaklanan aneminin dikkat bozukluğu, IQ düşüklüğü, algı ve duygusal davranış bozukluklarına yol açtığı gösterilmiştir (31-32). Hemoglobindeki bir birim azalma hafif-orta mental retardasyon riskini 1.28 kat artırmaktadır (33). Bu çocuklar tedavi edilseler bile on yıl sonra dahi skorları düşük

bulunmaktadır. Anemi olmaksızın sadece demir eksikliği olmasının da çocukların okul başarısını olumsuz etkilediği gösterilmiştir (34).

2.1.3.b. Çinko ve beyin

Literatürde çinkonun santral sinir sistemi üzerinde etkisi 1940 yıllarından itibaren tartışılmıştır. Son yıllarda yapılan araştırmalarda çinkonun, santral sinir sistemi gelişimi ve fonksiyonları üzerinde etkili olduğu gösterilmiştir (20,35).

In vitro çalışmalarda, insan beyninde gri cevher ve hipokampusun çinkodan zengin olduğu 1968 de Hu ve Friede tarafından gösterilmiştir (36). Daha sonra yapılan çalışmalarda; çinkonun özellikle hipokampusta sinaptik cevabı etkilediği ortaya konmuştur. In vitro çalışmalarda; çinkonun, insan ve hayvan beyninde, özellikle hipokampus, serebral korteks, serebellum ve frontal bölgede tutulduğu gösterilmiştir. Çinkonun beyinde yapısal, düzenleyici ve katalitik pek çok proteinin yapısında kritik rol üstlendiği bilinmektedir. Çinkonun, beyinde yağ asidi metabolizması ve eksitator amino asit cevabında rol aldığı, tiroid hormonlarının santral sinir sistemine transport ve reseptör cevabını etkilediğini gösteren çok sayıda çalışma literatürde yer almaktadır (37).

Hayvan çalışmalarında çinko eksikliğinin nörolojik ve davranışsal etkileri incelenmiştir. Gebelik döneminde, annedeki çinko eksikliğinin bebeğin, prenatal ve postnatal davranışlarına etkisi olduğu primatlarda yapılan çalışmalarda da gösterilmiştir (38).

Orta ve ağır derecede çinko eksikliğinin etkileri sıçan ve şempanzelerde araştırılmış; çinko eksikliğinin büyümeyi etkilemeden önce, davranış ve nöropsikolojik performansı olumsuz yönde etkilediği gösterilmiştir. Ergen maymunlarda, orta ve ağır derece çinko eksikliğinin 3-4 hafta sonunda, bellek, dikkat bozukluğu ve davranış değişikliğine neden olduğu saptanmıştır (39). Hayvanlarda ciddi çinko eksikliğinde, organogenez sırasında beyin DNA konsantrasyonunun azaldığı ve malformasyonların görüldüğü yönünde pek çok çalışma bulunmaktadır. Çinkonun nöronal gelişim, sinaptogenez ve sinaptik iletimde rol aldığı bilinmektedir (40). Gebelik döneminde annenin çinko düzeyinin, fetal gelişim, doğum ağırlığı, doğum komplikasyonlarını etkilediği 30 yıl önce gösterilmiştir (41).

Çinkonun santral sinir sistemi üzerindeki etkilerinin gözlenmesi, çinko eksikliğinin, vaka-kontrol çalışmalarında büyüme ve gelişme bozukluğuna eşlik ettiğinin gösterilmesinden sonra, insanlarda, risk gruplarına çinko suplementasyonu verilerek, kognitif gelişimi araştıran kısıtlı sayıda çalışma yapılmıştır. Yapılan çalışmalarda çinko suplementasyonunun bebeklerde motor aktiviteyi artırdığı gösterilmiştir (42,43). Öte yandan bebeklerin kognitif fonksiyonlarında bir farklılık gösterilememiştir (44-46). Aksine Bangladeş de yakında yapılmış iki çalışmada kognitif skorlar suplementasyon yapılan bebeklerde daha düşük bulunmuştur (47,48). Okul çağı çocuklarında yapılan çalışmalarda ise çinko suplementasyonunun okul başarısı ve nöropsikolojik performans artırdığı gösterilmiştir (49-50). Çinko suplementasyonunun kognitif fonksiyonlar üzerine etkisi ile ilgili çelişkili sonuçlar mevcuttur. Bu konu ile ilgili daha çok sayıda çalışmaya ihtiyaç vardır. İlkokula devam eden çocuklarda saç çinko düzeyi ile okuma kabiliyeti arasında pozitif korelasyonlar saptanmıştır (51).

2.1.3.c. Selenyum ve beyin

Selenyum eksikliğinin tiroid hormon sentezinde oluşturduğu bozukluk nedeni ile beyin gelişimini etkilemesinin dışında da etkileri vardır. Selenyumdan fakir diyet ile beslenen farelerin yavrularında da selenyum düzeyleri düşmektedir. Bununla birlikte selenyum eksikliği olan bu yavrularda beyin selenyum düzeyi karaciğer selenyum düzeyinden yüksek bulunurken, normal yavrularda karaciğer selenyum düzeyi on kat daha fazladır. Bu durum dokuya özgül selenyum metabolizmasının yenidoğan döneminden itibaren işlediğini göstermektedir. Yine bu yavruların yürümeleleri biraz daha geç olmuş ve değişik davranış şekilleri göstermişlerdir(52). In vitro yapılan bir çalışmada ise selenyumun nöral kök hücre gelişimi ve diferensiyasyonunda rol aldığı gösterilmiştir(53).

2.1.3.d. İyot ve beyin

İyot tiroid hormonlarının sentezinde gereklidir. Tiroid hormonları dendritik ve aksonal büyüme, sinaptogenez, nöronal migrasyon, miyelinizasyon ve beyin

gelişiminde gecikme, periferik ve santral aksonal nöronal yapılarda küçüklük, sinaptogenez bozukluğu, myelinizasyonda azalma, belli enzimlerin ekspresyonunda gecikme saptanmıştır. Bunlar özellikle serebral korteks, vizüel ve oditer korteks, hipokampus ve serebellumda saptanmıştır (54-57). Tiroid hormon eksikliği serebellumda granül hücrelerinin eksternal tabakadan internal tabakaya migrasyonlarında ve proliferasyonlarında gecikmeye neden olmaktadır(58-60).

Gelişmekte olan rat beyinlerindeki tiroid hormon eksikliğinin etkileri belirli bir zamana ve dereceye kadar geri dönüşümlü olabilmektedir. Bu da beyin gelişiminde tiroid hormonlarının etkilediği duyarlı bir dönem olduğu sonucunu ortaya çıkarmaktadır (56). Annede İyot eksikliğinin ciddiyeti ve geri dönüşümsüz beyin zedelenmesi oluşturma potansiyeli, sadece iyot eksikliğinin ciddiyeti ile değil, aynı zamanda da kişinin hayatının hangi döneminde karşılaştığı ile de ilgilidir. Çok ciddi iyot eksikliği bölgelerinde görülen ve işitme konuşma sorunları, mental ve motor gerilik ile giden kretenizm annenin iyot eksikliği nedeni ile gebeliği sırasında dolaşımdaki tiroksin düzeylerini artıramamasından kaynaklanmaktadır(61).

Son zamanlarda yapılan çalışmalar maternal hipotiroksinemisinin sadece kretenizm ile sonuçlanmadığını, kretenizm dışı mental ve psikomotor geriliğe de yol açtığını ortaya koymaktadır (59). Kretenizm sadece ciddi iyot eksikliği bölgelerinde görülürken, hafif ve orta eksiklik bölgelerinde toplumun tümü mental olarak etkilenmektedir (60).

Klinik olarak hipotiroidisi olmayan, fakat iyot eksikliği oluşturulmuş annelerde yapılan bir hayvan çalışmasında yavruların somatosensori korteksleri ve hipokampüsteki migrasyon ve hücre yapısı incelenmiştir. Buna göre önemli bir çoğunluğu nöron olan bu hücre popülasyonunun yavruların yaşlarına göre aberan ve uygun olmayan yerleşimde olduğu saptanmıştır. Bunun dışında somatosensori korteks ve hipokampusta hücre tabakalarının bulandığı ve korteks yapısında bozulmalar olduğu görülmüştür (61). Yakın zamanda yapılan bir metaanaliz çalışmasında iyot eksikliği toplumlarında diğer benzer, fakat eksikliğin olmadığı toplumlara göre ortalama zeka puanlarında 13.5 fark olduğu belirtilmiştir (62).

İyot yetersizliği tiroid hormonu yetersizliğine neden olarak, beyin ve sinir sisteminin normal gelişimini etkiler. Bunun sonucunda da yaşam boyu özürlü

kalmaya mahkum bir bebek dünyaya gelecektir Yaşamın ilk yıllarındaki yetersizlik troid fonksiyonları normal olsa bile bireyin beyin gelişimini etkilemektedir.

2.1.3.e. Mağnezyum ve beyin

Klorofilin temel maddesi olduğu için rengi koyu yeşil sebzeler, tahıl ürünleri, balık, badem, fındık, fıstık, ceviz, soya fasulyesi, kuşkonmaz, soğan, domates, havuç, kereviz, pırasa, gravyer peyniri, hurma, kara turp, ayçiçeği, kakao, muz, dil balığı ve sert sular magnezyumdan zengindir.

Magnezyum adenozin trifosfat ihtiva eden üçbinden fazla enzimin, özellikle de fosfat transferi yapan enzimlerin kofaktörü olarak görev alır (63). Magnezyum bağımlı enzim sistemlerinden bir tanesi, hücre membranları arasındaki elektriksel gradienti düzenleyen membran pompasıdır. Bu nedenle magnezyum, elektriksel olarak uyarılabilen dokuların aktivitesinde önemli rol oynar (64-67).

Sinirsel uyarıların transmisyonda önemli rol oynayan tiamin pirofosfat kofaktör aktivitesi için magnezyum gereklidir ve bu da makromoleküler yapıyı stabilize eder (68).

Düşük Mg seviyelerinin beyinde ağır metallerin birikmesine neden olarak Parkinson, Multipl skleroz ve Alzheimer hastalıklarına yol açabileceğine dair deliller vardır. Yine ağır metallere maruz kalan ve total vücut magnezyumu düşük olan çocuklarda ağır metal toksisitesi yaparak öğrenme bozukluklarının etyolojisinde rol alır (69,70).

Magnezyum, hormonların (insülin, tiroid hormonları, östrojen, testosteron, DHEA), nörotransmitterlerin (dopamin, katekolamin, serotonin, GABA, mineral ve elektrolitlerin iletilmesinde rol oynar (71).

Hücre membran potansiyelini değiştirerek birçok hormonun, gıdanın ve nörotransmitterin alımını ve salınımını kontrol eder. Magnezyum, vücuttaki kalsiyum ve potasyumun akıbetini belirler.

Hücre içi magnezyum eksikliğinin nörolojik fonksiyon bozukluğu yaptığı ve sıçanlarda beyin hasarının ardından ölüm oranını artırdığı ortaya konmuştur. Mg, hem kalsiyum kanal blokeri hem de NMDA reseptör antagonisti olarak görev almaktadır. MgSO₄'ın iskemi ve travma nedeniyle oluşan nöronal hasarı önlediği

gösterilmiştir (72,73). Deneysel omurilik iskemisinden sonra da Mg tedavisi nörolojik disfonksiyonu iyileştirmiştir (73). Mg'un nöroprotektif etkisi vazodilatasyon yaparak kan akımının artışı sağlaması, hücre içi Ca birikimini önleyerek hücre ölümünü önlemesi ile ve hiperglisemik etkisiyle nöronları koruması ile açıklanmaktadır .

Deneysel çalışmalar, hücre yoğunluğunda ortalama % 16'lık artış sağlayan magnezyumun, glutamatın neden olduğu glial hücre ölümünü tam olarak önleyememekle birlikte olayı etkileyen çok sayıda faktörden biri olabileceğini ortaya koymaktadır (74).

2.2.Ceviz

Ceviz sert kabuklu meyvelerdendir.Besleyici, lezzetli ve sağlıklı bir besin olarak bilinmektedir. Çin tıbbında ve batı folklorik tıbbında cevizin tedavi edici ve hastalıkları önleyici özellikleri dökumante edilmiştir. Aşağıdaki listede cevizin bilinen 60 bileşeni sunulmuştur (75).

A. Su (total ağırlığının %4'üdür.)

B. Makro besin öğeleri (total ağırlığının %94'üdür.)

1.Yağ (LNA ve LA gibi esansiyel yağ asitlerini de içeren altı değişik yağ asidinin bileşimidir.

Yağ asidi	Toplam yağ asidinin yüzde dağılımı
Doymuş yağ asitleri, total	%8.67
Palmitik asid	%6.52
Stearik asid	%2.15
Tekli Doymamış Yağ Asidi, total	%20.28
Gadoleik asid	%0.12
Oleik asid	%20.16
Çoklu Doymamış Yağ Asidi(PUFA), total	%71.05
Linoleik asid	%62.99
Linolenik asid	%8.05

Tablo1. Cevizdeki yağ asitleri

2. Protein (18 değişik aminoasidden oluşur)

Amino Asidler	Cevizin 100 gramındaki miktar
Isolösin*	566 mg
Lösin*	922 mg
Lizin*	388 mg
Metionin*	280 mg
Sistin*	345 mg
Fenilalanin*	628 mg
Tirozin*	439 mg
Treonin*	488 mg
Triptofan*	139 mg
Valin*	723 mg
Arjinin*	2103 mg
Histidin*	359 mg
Alanin	609 mg
Aspartik Asid	1475 mg
Glutamik Asid	2809 mg
Glisin	755 mg
Prolin	553 mg
Serin	782 mg
Total Esansiyel Amino Asidler	6676 mg
Total esansiyel olmayan Amino Asidler	7767 mg
Total Amino Asidler	14443 mg

Tablo 2 .Cevizdeki aminoasitler

3. Karbonhidrat (şekerlerin 3 değişik tipinden meydana gelir)

4. Diyet ile alınan lifler

C. Mikro besin öğeleri – Mineraller (Toplam ağırlığın1%'i)

- Kalsiyum
- Demir
- Magnezyum
- Fosfor
- Potasyum
- Sodyum
- Çinko
- Bakır
- Manganez
- Selenyum

D. Mikro besin öğeleri – Vitaminler (total ağırlığın%0.3'üdür.)

- Vitamin C
- Tiamin
- Riboflavin
- Niasin
- Pantotenik Asid
- Vitamin B6
- Folik Asid
- Vitamin A
- Vitamin E (alpha-tocopherol)
- Vitamin E (delta-tocopherol)
- Vitamin E (gamma-tocopherol)
- Vitamin K

E. Bitki Sterolleri (Total ağırlığın %0.6 'ıdır.)

- Stigmasterol
- Campesterol

- Beta-sitosterol

F. Diğer maddeler (Total ağırlığın %0.1'dir.)

- Melatonin
- Beta-karoten
- Lutein
- Zeaksantin
- Ellagik Asid
- Gallik Asid

Bir cevizi elimize alınca, en dışında bir yeşil kabuk, sonra tahta bir yapı, daha sonra ince bir zar ve en ite de tartışmasız şekilde insan beynini hatırlatan beyaz bir yapıyla karşılaşırız. Ceviz, dışındaki yeşil kabuğu ile kafa derisine, sert kabuğu ile kafatasına, içindeki zarı ile beyin zarına, asıl meyvesi ile de beyine benzeyen harika bir gıdadır.

Ceviz mükemmel bir ω -3 kaynağıdır. Vücutumuz bu yağ asidini kendisi üretemediği için dışarıdan besinlerimizle almak zorundayız. Günde 25 gram (yaklaşık 3-4 adet) ceviz yendiğinde, ω -3 günlük ihtiyacımızın %90 'ını karşılamış oluruz. Ceviz aynı zamanda çok iyi bir magnezyum, çinko, bakır, mangan ve triptofan (serotonin öncüsü bir amino asit) kaynağıdır. Günde 3-4 adet ceviz yendiğinde günlük mangan ihtiyacının %43'ü, bakır ihtiyacının %20'si, triptofan ihtiyacının ise %16'sı karşılanmış olur. Ceviz kalorisi yüksek bir besindir, 25gr ceviz yaklaşık olarak 164 kaloridir. Kalorisinin yüksek olması sebebiyle aşırıya kaçmadan tüketilmesi gerekir.

İnsan beyninin büyük bir kısmı yağdan oluşur. Beynimizin fonksiyonlarını yerine getirebilmesi için yapısal önemi büyük olan ω -3 burada devreye girer. Hücre membranında görev alan ω -3, beyin hücrelerimizin işlevini yerine getirebilmesi, ihtiyaçlarını alıp, metabolizma sonucu hücre dışına atılması gerekenleri atabilmesi için membrana daha esnek ve sıvı bir ortam sağlar, böylece beyin hücre fonksiyonları yerine getirilmiş olur.

Beslenmemize cevizi eklemek kalp ve damar sağlığımız açısından önemlidir. Düzenli ceviz tüketildiğinde; kandaki total kolestrol, LDL ve lipoprotein a düzeylerinin düştüğü gözlenmiştir. HDL ve LDL oranını kalp sağlığı yönünde iyileştirir. Omega 3'n aynı zamanda kanda kolestroln damarlarda plak oluşturma sebeplerinden olan inflamasyonu engellediği saptanmıştır. İçerdiği bitki sterolleri ile kolesterolün emilimini azaltırlar

Ceviz, protein yapı taşlarından biri olan L-arginin adlı amino asidi bulundurur. L-argininden NOS enzimiyle NO sentezlenir. NOS enziminin serebellum, hipotalamus, orta beyin, striatum ve hipokampüste yüksek düzeyde bulunduğu saptanmıştır. NOS'nun kaynağı nöron ve endotel hücreleridir. NO'nun öğrenme ve bellekte önemli rol oynayan LTP (hipokampüste) ve long term desensitizasyon (LTD)'ye neden olduğu gösterilmiştir. Glutamat, NMDA reseptörlerini aktive ederek öğrenme ve belleğin temeli olan LTP'yi NO üreterek oluşturur. Ancak glutamat reseptörlerinin aşırı stimülasyonu sonucunda fazla miktarda oluşturulan NO'nun nörodejeneratif hasarlanmalara neden olduğu ileri sürülmektedir. Detaylı çalışmaların sonucu beyinde eksitator aminoasitlerin beyin gelişimi, öğrenme ve hafıza üzerine olan etkilerine NO'nun önemli lde aracılık ettiğini göstermiştir. Ceviz içerdiği bol miktardaki arginin sayesinde, argininden üretilen NO mekanizması yolu ile de NMDA reseptörlerini artırarak öğrenme ve hafızayı artırıyor olabilir.

Polifenoller açısından da oldukça değerli bulunan ceviz bu yönüyle de kalp dostudur. Özellikle ellagic ve gallic asit antioksidantları LDL kolestroln zararlarını engellemektedir.

Uykuya dalmada ve uykunun düzenlenmesinde önemli bir görevi olan melatonin cevizde bolca bulunur. Melatoninin en zararlı serbest radikal olan Hidroksil radikalini ortadan kaldıran çok güçlü bir antioksidandır, günümüze kadar bilinen antioksidanların en güçlüsü olarak kabul edilmektedir. Hidroksil radikalini nötralize etme özelliği glutatyondan 5 kat, mannitolden 15 kat, peroksit radikal tutucu özelliği ise E vitamininden 2 kat daha güçlü olduğu gösterilmiştir (76).

Melatoninin antioksidan olarak diğer bir özelliği lipofilik olmasıdır. Hücrenin hemen hemen bütün organellerine ve hücre çekirdeğine ulaşabilir. Böylece çok geniş bir dağılımda antioksidan aktivite gösterebilir

Yaşlanma olgusunun odak noktası ilerleyici hücre bozulmasıdır. Bunun sinir sistemindeki karşılığı ise ilerleyici sinir hücresi kaybıdır ve hafıza bozukluğudur. Bu bağlamda, melatonin ve eksitatör amino asitler karşıt patofizyolojik etkiye sahip mediatörlerdir. Yaşlanma, bu teoriye göre, pineal bezin yaşlanmasına bağlı serotoninden melatonin sentezinin ve melatonin /serotonin oranının azalması sonucu ikincil olarak gelişen bir sendrom olarak da tanımlanabilmektedir. Ek olarak, yaşlıların, eksitatör amino asitler, serbest radikaller ve aşırı nöronal kalsiyum yüklenmesi triadı ile oluşan hücre hasarına daha yatkın olması da önemli bir veridir. Melatoninin gün içi ritmik salınımı yaşlanma ile bozulmakta, demans gibi nörodejeneratif hastalıklarda ise tamamen kaybolmaktadır. Ancak, dışarıdan farmakolojik dozlarda melatonin uygulaması ve gıda kısıtlaması veya diğer besinsel ve farmakolojik yaklaşımlar ile melatoninin gün içi ritmi korunabilmekte, yaşam kalitesi arttırılabilmekte, yaşam süresi uzatılabilmekte, erken yaşlanma önlenabilmekte ve çeşitli nörodejeneratif hastalıkların ortaya çıkma yaşı geciktirilebilmektedir (77).

Yaşlanmanın temel parametresi olan genel nöronal plastisitenin kaybı melatonin ile önlenabilmektedir (78,79).

Yapılan çalışmalar, yaşlanma ile hipotalamik katekolaminerjik nöronal girişlerin ve dolayısıyla nöroendokrin düzenleyici işlevlerin anlamlı olarak azaldığını göstermektedir. Büyük oranda bu nöronal eksitatör etki, glutamat aracılığı ile oluşmaktadır. Bu ise, üreme fonksiyonunun ve immün fonksiyonun azalmasına, kanser oluşum oranının artmasına, kardiyovasküler fizyolojinin düzenlenme bozukluklarına yol açmaktadır. Hipotalamik katekolamin düzeylerini yükselten farmakolojik ajanların yanı sıra, melatonin tedavisinin de hipotalamik hücre mimarisinde bir yeniden yapılanmayı tetikleyebildiği bildirilmiştir. Melatonin ve glutamat arasındaki fizyolojik antagonizma, hipotalamik nöronal ağın fonksiyonel idamesinde çok kritik bir rol oynamaktadır.

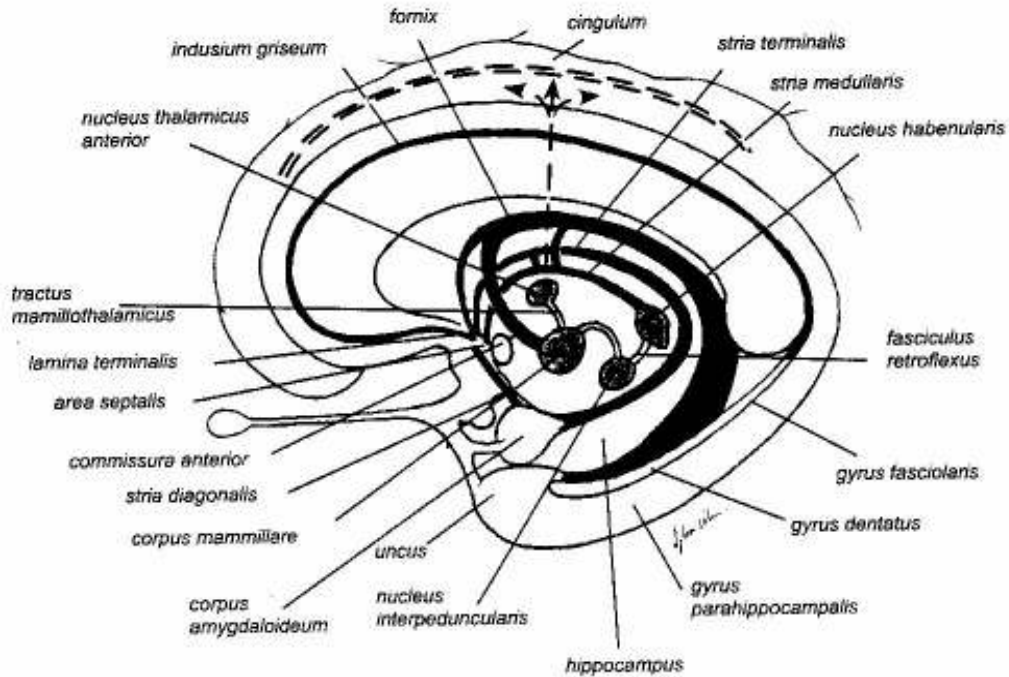
Glutamat tek başına, erken yaşlanmanın belirtileri olan üreme fonksiyonunda yavaşlama, davranışsal fonksiyon bozuklukları, nöronal hücre dejenerasyonu ve ölümüne yol açabilmektedir. Yaşlılıkta, nöronal plastisitenin korunması için melatonin uygulanmasının başarılı olduğu kanıtlanmıştır. Ceviz alımının hafıza üzerine etkisi içerdiği melatonin ile de ilişkilendirilebilir (80).

Ceviz yukarıdaki tabloda görüldüğü gibi esansiyel yağ asitlerini, antioksidan maddeleri, arginin, melatonin gibi maddeleri ve değişik oranlarda mineralleri de içermektedir. Bu mineraller beyin fonksiyonlarında ve özellikle NMDA reseptör fonksiyonlarında önemli görevlere sahiptir.

2.3. Hipokampüs

2.3.1. Hipokampüsün yapısı ve fonksiyonları

Hipokampüs, temporal korteksin lateral ventrikülünün alt boynuzunun tabanı boyunca uzanan, kıvrılmış bir gri cevher kabartısıdır (şekil 3).



Şekil 1. Limbik sistemi oluşturan yapılar ve aralarındaki bağlantılar

Filogenetik olarak en eski beyin kısımlarındandır. Hipokampüsa tüm duyuyla alakalı, doğrudan veya dolaylı çok sayıda afferent lif gelir. Bu duyuvarın hipokampusu terki forniks yoluyla olur. Miyelinli liflerden meydana gelen forniks;

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, bir çok beyin fonksiyonunda rol aldığını göstermektedir. Hareketlerin davranış biçimine dönüşmesinde önemli role sahip bulunan Limbik Sistem, çok sayıda sinyali hipokampüstan 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, hipokampüsa ait bir fonksiyon yatmaktadır (81).

Yakın hafıza olarak tutulan bilgilerin sağlamlaştırılması uykunun REM safhasında meydana gelir. Bu safhada, hipokampüsa işaret eden serotonerjik rafe nükleusları 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 (81).

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. Örneğin 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 (82-83).

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 (84).

Hipokampüsün hafıza, özellikle de kısa süreli hafıza ile ilgili olduğu bilinmektedir (85)

Kısa süreli hafıza, yeni bilgilerin depolanma kapasitesini ifade etmektedir. Bu nedenle mekanizma ne olursa olsun sağ ve sol hipokampüs olmadan verbal veya sembolik uzun süreli anıların kalıcı olması mümkün değildir (90). Diğer yandan, sağ hipokampüs görsel, sol hipokampüs ise sözel hafıza ile ilgili fonksiyonlarda daha fazla aktivite göstermekte ve bu bölgelerin lezyonlarında da ilgili hafızalarda kayıp gelişmektedir (86).

2.3.2. Hipokampüsün Lezyonları

Genel olarak hipokampüsün 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 (87).

Metabolik (alkolizm, kronik malnutrisyon veya tiamin eksikliği gibi) veya mekanik (enfarktüs, kanama veya cerrahi gibi) nedenlerden dolayı, hipokampüsün 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 (88). Yakın zamana kadar yaşlanma sürecinde, hipokampüsdeki hücre sayısının önemli ölçüde azaldığı, bunun da yaşlılıkta görülen bunamaya sebep olabileceği düşünülüyordu. Fakat, son zamanlarda yapılan çalışmalar sonucu, yaşlanma ile hipokampüsteki 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 (89).

Hipokampus lezyonları sonucu ortaya çıkan davranış değişikliklerinden, kortikal ve duysal uyarılardan gelen bilgiyi kodlayamaması sorumlu tutulmuştur (89).

GABAerjik inhibitör nöronların ölümü, inhibisyonda azalmaya sebep olur. Bu azalma, özellikle CA3 alanındaki piramidal ve dentat granül hücrelerinde patolojik hipereksitabiliteye yol açar (90,91). Ayrıca hipokampusta nöbetlere bağlı olarak oluşan 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 hücrel 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 (92). Bazı araştırmalar B vitamini eksikliği ve alkolün, hipokampusteki nöronlarda hasar meydana getirdiğini göstermiştir (93).

2.4. NMDA

2.4.1- Glutamat reseptörleri

Glutamat ve aspartat 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 (94).

Kortikospinal motor nöronların spinal 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.

Glutamat reseptörleri(GluRs) memeli sinir sistemindeki eksitator nörotransmisyondan sorumlu başlıca reseptörlerdir. Aynı zamanda öğrenme ve hafızanın temelinde yatan sinaptik iletinin verimliliğindeki plastik değişikliklerde ve büyüme esnasında sinir ağının oluşmasında da rol oynarlar. GluRs'nin aşırı aktivasyonları ise santral nöronların ölümüyle sonuçlanır. Glutamat nörotoksitesisi değişik nörodejeneratif hastalıkların meydana gelmesinde de rol oynar. Bu yüzden GluRs'nin 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 üniteden oluşurlar. Her kanal alt ünitesi üç transmembran α -heliksinden oluşmaktadır (95).

GluRs, temelde postsinaptik membranda lokalizedir. Başlıca 2 tipi vardır.

I- İyonotropik 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.

İyonotropik 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 subüniti (GluR1, GluR2, GluR3, GluR4),

b. 5 tanesi kainat reseptör subüniti (GluR5, GluR6, GluR7, KA1, KA2) ve

c. 7 tanesi NMDA reseptör subünitidir (NR1, NR2A, NR2B, NR2C, NR2D, NR3A, NR3B)

Son yıllarda, glutamat reseptör genlerinin ekspresyonunu manipüle edici birçok değişik teknik kullanılarak, glutamat reseptörlerinin tüm fizyolojisi ve patolojisi geniş bir şekilde araştırılmaktadır (96) .

2.4.2.NMDA'nın yapısı ve subünitleri

NMDA reseptörleri iGluRs üzerinde en çok çalışılan ve bilgi sahibi olunan reseptör kompleksidir. 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 (97).

Santral sinir sistemine yaygın olarak dağılmıştır. Duysal ileti ve iletinin integrasyonu ile motor fonksiyon ve aktivitenin koordinasyonu ve programlamasında yer alır (98). 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 eksitator etkinin oluşmasını sağlar. Stimülasyonun sürmesi halinde ise patolojik eksitotoksik etki ortaya çıkar. Kompetitif eksitator aminoasid antagonistleri buraya yapışmak için glutamatla yarışır (99).

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 uyarılarda (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 (99).

3. Glisin bağlanma bölgesi; Santral sinir sisteminde inhibitör nörotransmitter olarak çalışan glisin, paradoksal olarak NMDA reseptörünün etkinliğini, dolayısıyla da eksitatör iletiyi güçlendirir (99).

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 (99).

5. Çinko bağlanma bölgesi; Bu bölge inhibitör etki gösterir. Zn^{+2} blokajı da voltaj bağımlıdır (100).

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 (101).

NMDA reseptörleri üzerindeki yoğun çalışmalar yakın zamanda birçok subünitinin de ortaya konulmasını sağlamıştır. Bu subünitler değişik beyin bölgelerinde daha yoğun konsantrasyonlarda yer almakta ve canlılığın gelişim evresine göre de farklılıklar gösterebilmektedir.

Birçok organda iGluRs subünitleri değişik laboratuvarlar tarafından ayrı ayrı ve de eş zamanlı olarak klonlandığı için benzer subünitlere 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 ekspresyonunun 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 (102).

Ekspresyon klonlama tekniğini kullanarak Moriyoshi tarafından sıçan beyininden ana NMDA reseptör subüniti klonlanmıştır, NMDA1R (NR1) (103). Daha sonraları *Xenopus* oositiyle yapılan çalışmalarda bu subünitinin 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 subünitlerin varlığını göstermiştir. Daha sonradan 4 reseptör subüniti NMDAR 2A (NR2A) – NMDAR 2D (NR2D), PCR ve kros-hibridizasyon teknikleriyle laboratuvarlarda klonlanmıştır.

NR2 subüniti 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 subünitine bağlı olarak değişik özellikler göstermesinden dolayı, NR2

subünitleri düzenleyici subünitler olarak tarif edilmiştir. NR1'ler ise heteromerik NMDA reseptörünü oluşturan temel subünitler 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 büklümü 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.

Gelişimin erken evresinde sinapslar sadece NMDAR'leri içerirler (103). Birçok sinapta AMPAR'leri eksitatuvar transmisyon sırasında ana başlangıç şarj taşıyıcısı gibi etki etmektedir. Bu sırada NMDAR'leri, intrasellüler enzimler ve ikinci mesajcıların aktiverlerini modüle edebilen katı bir Ca^{+2} komponenti ile birlikte daha yavaş bir akım üretir.

2.4.3.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 geçirirler.
- 2- Kanalin 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'ni 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 ekstrinsek 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 (sözelimi, 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 (104).

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. Strok (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.

2.4.4. 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 subünitlerinin moleküler klonlamasını takiben her bir subünitin dağılımı, insitu hibridizasyon histokimyasıyla test edilmiştir. Erişkin kemirgenlerde NR1 mRNA tüm beyinde yaygın olarak dağılmış bir şekilde bulunmuştur. Zıt olarak 4 NR2 subüniti farklı yerleşim paterni izler. NR2A mRNA tüm beyinde yaygın olarak bulunur; fakat serebral korteks, hipokampus ve serebellumda daha yoğun olarak bulunur. NR2B subüniti 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 subünitleri hipokampal nöronlarda, özellikle nöronlar arasında bulunurlar. NR3A; serebellum hariç korteks, hipokampus (CA1), ortabeyin, arkabeyin ve spinal kortda eksprese edilir (118). Kemirgenlerin beyinlerindeki NR2 subünitlerinin 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

neredeysi 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 (105).

řu anda genellikle hem fikir olunan nokta; NMDAR'lerinin NR1 subüniteleri ve beraberinde NR2 subünitelerinin en azından bir tipinden oluşan heteromerik yapılar olduğudur. NR2 subünitelerinden gelen domainler glisin bağlanma bölgesini oluşturur. Membrana doğru dizilmiş her glutamat reseptör subünitesi, farklı yaklaşımların bir bileşkesinden ortaya çıkarılmıştır. Bu çalışmalar kaçınılmaz bir kanıt ortaya koymuştur : NMDAR, AMPAR ve KAR subüniteleri 3 adet membrana uzanan domain içerir (M1, M3 ve M4). M2 domaini membrana stoplazmik kenardan daldırılmış şekilde bir büküm 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:

NMDAR'ü voltaja bağımlı tek iyonotropik reseptördür. 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 geçirgenliği 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} geçirgenliği 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 .

2.4.5.NMDA , hafıza ve öğrenmedeki 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(106). 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 altünitesini 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 hippocampusundaki nöronların sinaptik, bağlantıları aynı yaştaki normal farelere göre daha fazladır ve genç farelerinkine benzerlikler taşımaktadır.

2.4.6.Nörolojik Hastalıklar ve Glutamat Reseptör Aktivasyonunda artış:

Bazı koşullar altında glutamat gibi eksitator nörotransmitterlerin dengesizliği, 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 eksitotoksitesi 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. Stroke (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.

Enerji metabolizması ile özellikle uyduğu zaman glutamat ve aspartat exotoksin olabilir. Dikkate değer olarak hipotalamusun arcuate 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 nörotoxisitede 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 METOD

3.1. Materyal

3.1.1. Deney Hayvanları

Bu çalışmada ortalama ağırlıkları 230 ± 10 gr olan Spraque Dawley cinsi toplam 24 adet erkek rat kullanıldı. Tüm ratlar 24-28 hafta arasındaydı. Ratlar ışığın özel olarak ayarlanmadığı normal gün ışığı normal karanlık ve ısı (25°C)’da yem ile suyun kısıtlanmadığı koşullarda 8 hafta süre ile beslendiler. Deney sürecinin başlangıcında ve sonunda olmak üzere toplam iki kez tüm ratların ağırlıkları ölçüldü. Ratlar kontrol grubu ($n=12$) ve ceviz ile beslenen grup ($n=12$) olmak üzere toplam iki gruba ayrıldı. Her kafeste tek rat bulunacak şekilde kafeslere alındı.

3.1.2. Kullanılan kontrol rat yem içeriği: 2600 Kcal/kg (Korkutelim Yem Sanayi):

Tablo 3. Kullanılan kontrol rat yem içeriği

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

3.1.3. Ratlara verilen ceviz yağ asit içeriği

Tablo 4. Ratlara verilen ceviz yağ asit içeriği

	Palmitik asit	Stearik asit	Oleik asit	ω -6	ω -3
Ceviz %	7,50	3,11	22,26	55,30	11,83

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- Spektrofotometre : Shimadzu UV 1601 (Japonya)
- 8- Cam-Teflon homojenizatör
- 9- Sonikatör : Bandelin Sonoplus (Almanya)
- 10- pH metre : Hanna Instruments (Portekiz)
- 11- Manyetik karıştırıcı : Nüve (Türkiye)
- 12- Elektroforez cihazı : EC Apparatus Corporation 250-90 (ABD)
- 13- Homojenizatör : Ultra Turrax T25 (Almanya)
- 14- Biyokimya analizörü : Abbott/Aeroset (Almanya)
- 15- Tarama cihazı: Kodak Image Station 2000 MM

3.1.5. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Lipit Peroksidasyonu İçin Kullanılanlar:

- Trikloroasetik asit (TCA), Merck (Almanya)
- Tiyobarbitürik asit (TBA), Merck (Almanya)

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, Whatman (İngiltere)
- Metanol, Merck (Almanya)
- Hidroklorik Asit, Merck (Almanya)
- Anti NR2A, Sigma (Amerika)
- Anti NR2B, Sigma (Amerika)
- Monoklonal anti-rabbit IgG, Sigma (Amerika)
- BCIP/NBT Phosphatase Substrate, Sigma (Almanya)
- Prestained Molecular Weight Marker, Sigma (Amerika)

3.1.6. Kullanılan Çözeltiler

Lipit Peroksidasyonu Tayini İçin Kullanılanlar:

1- TCA çözeltisi (% 10): 10 gr TCA tartılıp, bir miktar distile suda eritilir ve son hacim 100 ml'ye tamamlanır.

2- TBA çözeltisi (% 0.67): 0.67 gr TBA tartılıp, bir miktar distile suda eritilir ve son hacim 100 ml'ye tamamlanır.

SDS-PAGE ve Western-Blot İçin Kullanılanlar:

1. 4 x Lower Buffer: 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- 4 x Upper Buffer: 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.

Lower jel (% 7.5'lük) içeriği:

Distile su	4450 µl
Acril : bisacril % 30 T, % 2.6 C	2500 µl
4 × lower buffer (tris HCl, pH: 8.8)	2500 µl
% 10 SDS	100 µl
% 10 APS	450 µl
TEMED	10 µl

Tablo 5. Lower jel (% 7.5'lük) içeriği

Upper jel (% 4'lük) içeriği:

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

Tablo 6. Upper jel (% 4'lük) içeriği:

3- Homojenizasyon buffer: 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- Sample buffer içeriği

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

Tablo 7. Sample buffer içeriği

5- Running buffer: 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 buffer: 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 antikolar: NR2A 1/3000 ve NR2B 1/5000 oranında, taze % 1 BSATTBS ile dilüe edilerek hazırlandı.

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

3.2. METOD

3.2.1. Ratlara cevizin verilmesi: Rat kilosunun %10 kadarını yiyebilmektedir .Kilosuna göre alması gereken günlük yeme cevizden zengin beslenme grubuna yağ konsantrasyonu diyetin %20' si olacak şekilde ceviz eklenmiştir.

Ceviz yağ asit içeriği tayini: SDÜ Deneysel ve Gözlemsel Araştırma ve Uygulama Merkezi Müdürlüğünde GC/MS (QP5050 GC/MS) ile yapılmıştır.

3.2.2. Anestezi ve Gerekli Materyallerin Alınması

Xylol anestezisi altında ratlar dekapite edilerek doku örnekleri alındı. Beyin doku örneklerinin soğuk zincir koşullarında, uygun bir düzenekle hipokampusları çıkarıldı. Hipokampuslar 50mM fosfat tamponu içeren 2 ml'lik kapaklı tüplere konularak -20°C lik derin dondurucuda muhafaza edildi.

3.2.3. Hipokampus Örneklerinin Homojenizasyonu:

Hipokampuslar tartılıp, SDS-PAGE ve Western Blot prosedürü uygulanmak üzere ayrıldı. Aynı gruptaki farklı sıçanlara ait hipokampus örnekleri tartıldıktan sonra 2'şer 2'şer birleştirildi ve ardından 1/5 oranında homojenizasyon tamponu ile karıştırılarak homojenize edildi. İlk adımda buz üzerinde teflon-cam homojenizatör ile 18-20 darbeye homojenizasyon yapıldı. İkinci adımda 30 sn buz üzerinde sonike edilerek homojenizasyon tamamlandı. Homojenize edilen örnekler 5000 g'de +4°C'da soğutmalı santrifüjde 5 dakika süreyle santrifüj edildi. Daha sonra süpernatlarda SDS-PAGE , Western Blot ve MDA düzeyleri çalışıldı.

3.2.4. Lipit Peroksidasyonunun Tayini:

Lipit peroksidasyon ürünlerinden olan MDA, Draper ve Hadley'in çift kaynatmalı tiyobarbitürik asit reaktivitesi metodu kullanarak ölçüldü (107).

Deneyin prensibi: Yağ asidi peroksidasyonunun son ürünü olan MDA, TBA ile reaksiyona girerek, 532 nm'de maksimum absorbans veren renkli bir kompleks oluşturur.

Deneyin yapılışı: 0.5 ml serum, üzerine 2.5 ml % 10'luk TCA eklenerek karıştırıldı. 15 dakika kaynatılıp soğutuldu. 5000 devir/dk'da 10 dakika santrifüj edildi. 2 ml süpernatant alınıp, üzerine 1ml % 0.67'lik TBA eklendi. Tüpler karıştırıldıktan sonra 15 dakika kaynatıldı ve hemen soğutuldu. 532 nm'de absorbansları, numune yerine distile su konularak hazırlanan köre karşı okundu.

Sonuçlar, MDA-TBA kompleksinin 532 nm'deki ekstinksiyon katsayısından ($1.56 \times 10^5 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$) yararlanılarak nanomol/mg protein olarak hesaplanıp, $\mu\text{mol/gr}$ protein olarak ifade edildi.

Sonuçlar aşağıdaki şekilde hesaplandı:

$$A = a \times b \times c$$

$$c = A / a \times b$$

$$c = (A \text{ mol cm}^{-1} \times 10^9 \text{ nmol} \times \text{L}) / (1.56 \times 10^5 \text{ L cm mol} \times 10^3 \text{ ml})$$

$$c \text{ (nmol/ml)} = A \times 57.69$$

A = absorbans

a = ekstinksiyon katsayısı

b = ışık yolu

c = konsantrasyon

3.2.5. SDS-PAGE Yöntemi:

Laemmli'nin yöntemi esas alınarak çalışıldı (107). % 7.5'lik lower jel ve % 4'lük upper jel hazırlanıp, kuyucuk başına son konsantrasyonu 50 μgr protein olacak şekilde, doku homojenatı sample buffer'la 1/1 oranında karıştırılarak uygulandı.

3.2.7. Western Blot Yöntemi:

SDS-PAGE prosedürü ile örnekler jel üzerinde proteinlerine ayrıldı ve daha

sonra polyvinylidene difluorid (PVDF) membrana (immobilon-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 BCIP/NBT solüsyonunda yeterli boyanma sağlanana kadar bekletildi. Oluşan bantlar Kodak Image Station 2000 MM cihazı kullanılarak tarandı. Elde edilen bant yoğunlukları her bir reseptör subüniti için kendi arasında karşılaştırıldı.

3.3. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirmeler “SPSS 13.0 for Windows” paket programı kullanılarak yapıldı. NR2A ve NR2B reseptör düzeyleri ve MDA düzeyleri için grupların birbiriyle karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi kullanıldı. Western Blot sonuçları yüzde ortalama \pm SD olarak verildi. p değerinin 0.05’den küçük olması anlamlı olarak kabul edildi.

4. SONUÇLAR

4.1. Western Blot Analizi ile Saptanan NR2A, NR2B Reseptör Düzeyleri

NR2A reseptör yoğunlukları değerlendirildiğinde; ceviz grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı değişim gözlenmiştir ($p < 0.05$).

NR2B reseptör yoğunlukları analizinde; ceviz grubunda kontrol grubuna göre anlamlı artış olduğu ($p < 0.05$) saptanmıştır (Sonuçlar tablo 1 ve şekil 5 ve şekil 7 de gösterilmektedir).

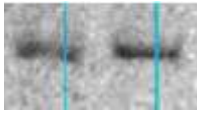
Gruplar	NR2A (optik dansite)	NR2B (optik dansite)
Kontrol n=6	100	100
ceviz n=6	212,11±14,20 ^a	258,75 ±29,41 ^a

Not: Hipokampusler ikişerli birleştirilip çalışıldığı için n:6

Tablo 8.Ceviz grubunda NR2A, NR2B reseptörlerinin yüzdeler cinsinden yoğunlukları ortalama ve \pm SD değerleri

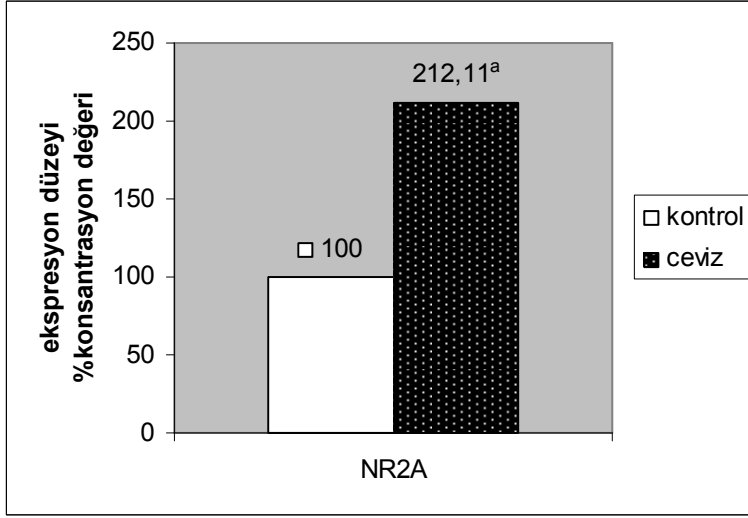
a : Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı grup ($p < 0.05$)

NR2A



kontrol ceviz

Şekil 3. NR2A'ya ait Western Blot örneği



Şekil 4. Sonuç kontrol grubu 100 kabul edilip kontrole göre % konsantrasyon değeri olarak verilmiştir.

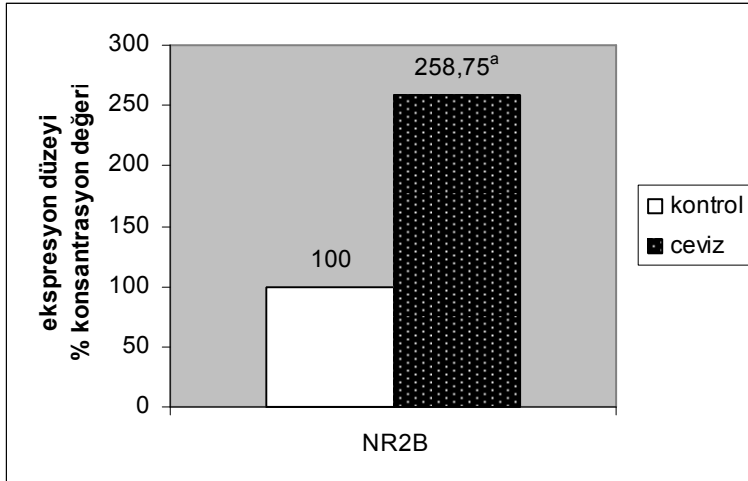
a : Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı grup ($p < 0.05$)

NR2B



kontrol ceviz

Şekil 5. NR2B'ye ait Western Blot örneği.



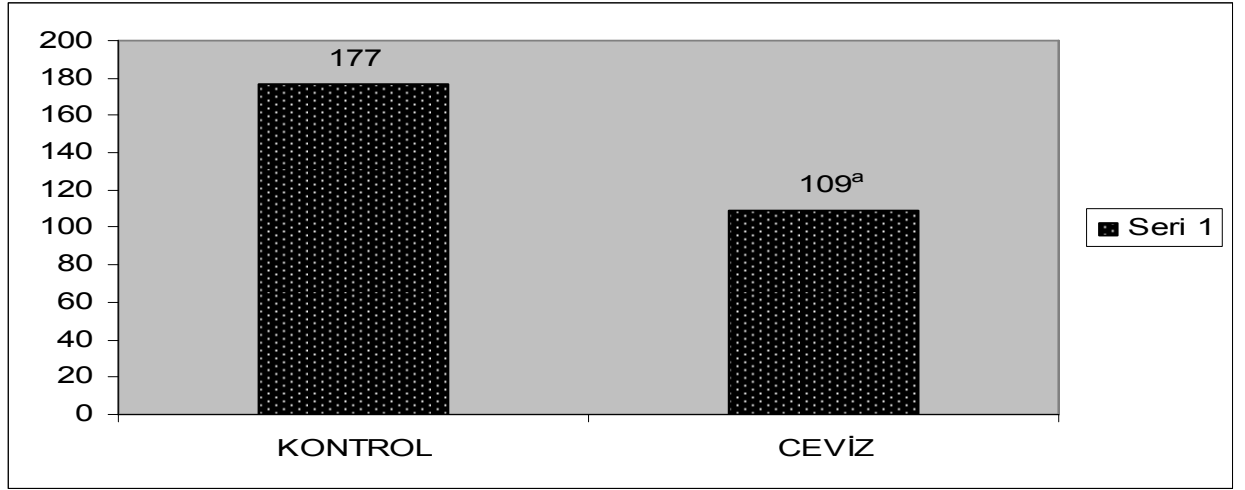
Şekil 6. Sonuç kontrol grubu 100 kabul edilip kontrole göre % konsantrasyon değeri olarak verilmiştir.

a : Kontrole grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı grup ($p < 0.05$)

	kontrol	ceviz	p
MDA (nmol/mgr protein)	177±18,69046	109±18,2913 ^a	0,020

Tablo 9: Hipokampus kontrol grubu ve ceviz grubu arasındaki anlamlılık düzeyleri

a : Kontrole grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı grup ($p < 0.05$)



Şekil7. MDA düzeyleri

5. TARTIŞMA

Beslenmenin bilişsel gelişim ve fonksiyonlarına etkisi konusunda yapılan çalışmalar irdelendiğinde, diyetle yeterli miktarlarda enerji, protein, çoklu doymamış yağ asitleri, antioksidan vitaminler, demir, iyot ve çinko gibi besin öğelerinin alınmasının bilişsel gelişim ve fonksiyonlarını olumlu yönde etkilediği görülmüştür.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda hipokampal NMDA reseptörünün hipokampusa bağımlı spatial va non-spatial hafızaların oluşması için gerekli olduğu ortaya konmuştur.

Glutamat beyindeki eksitator geçişlerin çoğunluğunu düzenler ve NMDA ile AMPA reseptörleri gibi ionotropik reseptörler glutamaterjik işaret vermede esaslı bir rol oynarlar. NMDA reseptörleri NR1 ve NR2A-NR2D alt ünitelerinin bir kombinasyonudur. Bu kombinasyonlar eşsiz iyon permeabilite özellikleri ve desensitizasyon kinetiği sağlar. Öğrenme ve hafızadaki muhtemel rolü sebebiyle NR2B daha fazla ilginin odağı olmuştur (108).

Deney hayvanlarının kullanıldığı pek çok çalışmada diyetle yüksek oranda satüre yağ alımının öğrenmede negatif bir etkisi olduğu gösterilmiştir. Örneğin yüksek oranda satüre edilmiş yağ içeren diyet ile beslenen ratlar mono ve poliansatüre yağdan zengin diyet ile beslenen ratlar ile karşılaştırıldığında kognitif bozukluklar gösterdikleri saptanmıştır (109-111).

Farelerde diyetin lipit içeriğinin değiştirilmesi davranış gelişimi ve performansı etkilemiştir.

Ayrıca farelerin yüksek poliansatüre yağ içeren diyetle veya özel olarak ω -3 zengin diyetlerle beslendikleri bazı çalışmalarda ω -3 zengin diyetlerin öğrenmenin, konum anlamının daha iyi olduğu, kas fonksiyonları ve nöromusküler koordinasyonda ise küçük farklılıklar gerçekleştiği belirtilmektedir (112-114). ω -3 'yağ asitleriyle ω -6 yağ asitlerinin ayrı ayrı etkilerini araştırmak için düzenlenen bir çalışmada fareler 3 jenerasyon boyunca hem ω -6 hem de ω -3 dan zengin bir diyetle beslenmişlerdir (115). Diyetinde yüksek ω -3 bulunan fareler yüksek oranda ω -6 ile beslenenlere göre öğrenme ve parlaklık ayrımı işlerinde anlamlı derecede daha iyi performans göstermişlerdir.. Ayrıca diyetteki ω -3 yetersizliğinin negatif etkileri farelerin son jenerasyonunda ω -3'den zengin bir diyetle beslenmesiyle ortadan kalkmıştır. Bu da

esansiyel yağ asidi (EFA) eksikliğinin suplementasyonla üstesinden gelinebileceğini gösteriyor. Ratların ω -3 yağ asit fakir diyetle beslendiği diğer bir çalışmada spatial (mekansal) öğrenme ve kavramsal kapasitenin göstergesi olan bazı testlerde düşük performans saptandı. Bu ratlar ω -3 ten zengin beslenen ratlar ile karşılaştırıldığında motor aktivitelerinde artış saptanmıştır (116,117).

Bu sonuçlar EFA' ların öğrenme üzerine olduğu kadar motor aktivite üzerine de etkileri olduğunu gösteriyor.

Bu bulguları destekleyen diğer bir çalışmada diyetinde yüksek oranda ω -6 yağ asidi olan farelerin yüksek ω -3 diyetiyle beslenen farelere oranla fiziksel olarak daha aktif oldukları ancak ayrımsal öğrenmede daha az doğruluğa ulaşabildikleri saptanmıştır (118).

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 LCPUFA seviyeleri ile öğrenme arasında herhangi bir ilişki kurulamamıştır (119).

Yine başka bir çalışmada beyindeki DHA miktarı, ω -3 ve ω -6 yağ asidi oranı ve öğrenme performansı arasında direk bir ilişki rapor edilmiştir. Bu çalışmada ω -3 yağ asidinden zengin diyet grubunda ratların serebral korteks ve hipokampusünde ω -3 ve ω -6 ilişkisi artmıştır, bu oran maze öğrenme testlerinde hata sayısı ile koreledir (120).

Benzer bulgular frontal kortekste ω -6 nın ω -3'e oranı için de rapor edilmiştir. Moriguchi ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada frontal kortekste DHA nın durumu ve maze öğrenme performansı ω -3 yağ asidinden eksik veya yetersiz bir diyetle ilişkili bulunmuştur (121).

1996 da yapılan başka bir çalışmada ω -3 'den zengin bir diyetle suplementasyon beyin DHA sını artırmıştır (122).

Böylece hayvan çalışmalarında LC PUFA 'nın diyetel alımı ile LC PUFA 'nın beyin seviyelerinin direkt ilişkili olduğu görülmüştür. LC PUFA ların diyetel alımı sadece beyin seviyelerini etkilemez, ayrıca beyinde başka değişiklikler de yapar.

2000'de yapılan bir çalışmada beslenme diyetlerindeki ω -3 ve ω -6 daki değişim superior ve inferior kollikulusta 5 hidroksiindolasetikasit ve dopamin

seviyelerin etkilemiştir. Bu bölgeler işitme ve görme integrasyon işlemlerini ve nörotransmitter metabolizmasını etkilemektedir (123).

Suzuki ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada LC PUFA 'nın düşük olduğu (palm yağ) bir diyetle beslenmeye karşı ratlar ω -3 ten zengin sardunya yağından bir diyetle beslendiğinde beyin sapında DHA seviyeleri yükselmiş, sinaptik plazmanın mikrovizkositesi daha düşük ve maze testleri daha hızlı bulunmuştur (124).

Yoshida'nın çalışmasında ω -3 'dan düşük bir diyet sonrası test performansı düşmüş ve sinaptik vezikül dansitesinde %30 azalma görülmüştür (125).

Dansite değişikliği görülmesinin ardından test performansının etkilendiği bulunmuştur. Hipokampüsteki sinaptik veziküllerin turnover oranı öğrenme performansını etkileyen önemli bir faktördür. Diyeter lipitler sinirlerin çevresini saran myelin gelişiminde önemli bir rol oynayabilir (126).

Bunun için doymamış yağ asitleri yönünden zengin olan besinlerin tüketilmesi gerekmektedir. Çünkü ω -3 yağ asitlerinin vücutta biyokimyasal ve fizyolojik aktivitelerde önemli görevler üstlendiği artık kesin olarak tespit edilmiştir. Bu yağ asitleri insan vücudunda göz, beyin, testis ve plenta 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. Hayvan çalışmalarından elde edilen veriler şimdiden ikna edicidir: örneğin, çoklu doymamış DHA, hayvan modelinde kognitif kaybı önler ve oksidatif strese bağlı hippocampal lezyonları engeller .

PUFAs'nin beynin fonksiyonları üzerindeki etkilerinden birinin de nörotransmitterlerin reseptörlerinin sayısı ve affiniteleri üzerine olan etkileri olduğu düşünülmektedir. Biz de çalışmamızda 8 hafta süren diyet ile ceviz alımının sonunda ceviz grubunda kontrol grubuna göre NR2A ve NR2B reseptör düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı anlamlı bir artış saptadık.(sırasıyla (p=0.014), (p=0.014))

Delion,1996 da yaptığı bir çalışmada ratlar ω -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 (127).

AA seviyeleri dopamin ve seratonin gibi nörotransmitterlerin salınımını etkilerken, bazı nörotransmitterlerin salınımı ise AA dönüşümünü etkiler. Fernstrom bir

makalesinde ω -6/ ω -3 yağ asitlerinin oranının nöronal bilginin transmisyonunda önemi olabileceğini göstermiştir (128).

Yukarıdaki çalışmalar beyinde özellikle nöronal aktivitede LC PUFA ların etkisini tamamen anlamak için daha çok araştırmaya ihtiyaç olduğunu gösterir. Öğrenme ve hafızadaki muhtemel rolü sebebiyle NR2B daha fazla ilginin odağı olmuştur (129).

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 (129,130) .

Öğrenme ve hafızanın nöronal temelini sinaptik kuvvetteki plastik değişikliklerin oluşturduğu düşünülmektedir (131). LTP ve LTD aktiviteye bağımlı sinaptik plastisitenin deneysel olarak indüklenen iki formudur. LTP'da kısa süreli yüksek frekanslı aferent aktivite sinaptik iletinin kuvvetinde uzun süreli bir artışa neden olmaktadır. LTD'da 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. (132).

Bazı çalışmalarda yaşlı farelerin diyetlerinin DHA, EPA, veya AA ve ile 8 hafta boyunca zenginleştirilmesinin ardından dentat girusta LTP deki yaşla ilintili bozulmaların etkisinin tersine çevrildiği görülmüştür. Bu diyetset ilavenin LTP ve LTD'yi iyileştirmesinin yanında aynı zamanda membranın DHA ve AA'nın içeriğini de artırdığı tesbit edilmiştir (133-135).

Alzheimer hastalığından etkilenmiş beyinlerde NR2B ifadesi anlamlı ölçüde azalmıştır (136). Alzheimer hastalığı oluşturulmuş transgenik fare modeliyle yapılan bir çalışmada diyetset ω -3 eksikliğinin NR2B de anlamlı derecede kayba neden olduğu ve bu kaybın DHA zenginleştirilmiş diyet ile kısmen tersine çevrilebildiği gösterilmiştir (129,136).

2004 teki bir çalışmada yaşlı beyinde görülen azalmış NR2B tablosu diabet oluşturulmuş ratlarda yetişkin beyinde de gösterilmiştir. ω -3 PUFA'nın NR2B alt ünitesine etkisi yine olumlu yönde olmuştur (129,137). ω -3 PUFA'nın NR2B üzerindeki etkisi muhtemelen değişik mekanizmalar yoluyla gerçekleşmektedir. Mekanizmalardan biri gen transkripsiyonu kontrolü olabilir (138). Reseptör gen

yazılımındaki direkt etkisine ilave olarak ayrıca glutamaterjik signalizasyonu düzenleyebilir ya da NMDA kanal aktivitesini doğrudan artırabilir (139) .

Nishikawa ve arkadaşları serebral kortexte DHA'in NMDA ile stimülasyona cevabı arttırdığını rapor etmişlerdir. Bu artışın ise DHA'nın NMDA reseptörüne direk olarak bağlanmasının bir sonucu olabileceğini ileri sürmüşlerdir (140).

2002'de Farkas ve arkadaşları deneysel bir beyin hipoperfüzyon modelinde ω -3 PUFAs'nden zenginleştirilmiş diyetlerin kronik olarak uygulanmasının hipokampal nörotransmitter reseptörlerine etkilerini inceledikleri çalışmalarında, hipokampal NMDA reseptör dansitelerinin etkilenmediğini bildirmişlerdir (141). Amamoto ve arkadaşlarının çalışması da kronik DHA alımının NMDA cevabını etkilemediği yönündedir (142).

Diyeter ceviz alımı bizim çalışmamızda NMDA cevabını NR2A ve NR2B subünitlerinde istatistiksel olarak anlamlı şekilde artırmıştır. ω -3 PUFA takviyesi ile hipokampal NMDA reseptör dansitelerinin etkilenmediğini bildiren çalışmalar değişik faktörlerden etkilenmiş olabilir (129). Bu subüniteleri kontrol eden farklı regülatuar mekanizmalar olabilir. Ayrıca western blot analizi için kullanılan çözünürlük tamponu, postsinaptik yoğunluğa sıkıca bağlanmış reseptör alt ünitelerinin eksik ayrıştırılmasına sebep olmuş olabilir. Gelecek çalışmalarda spesifik reseptör havuzlarındaki değişiklikleri ve postsinaptik yoğunluktaki bağlanmış reseptör altünitelerinin popülasyonundaki değişiklikleri incelemek ilginç olacaktır. Bununla beraber,son yıllarda NMDA reseptör kompleksini oluşturan alt üniteler konusunda yapılan, dokudan reseptör ayırma işlemine dayanmayan bir teknik olan NR2B reseptörlerinin immünohistokimyasal yazılımı çalışmasıyla da doğrulanmıştır ki yaşlanma NR2B alt ünitesinde azalma ile birliktedir. PUFA tedavisi bu değişiklikleri tersine çevirir (129). Bu tesbit bizim çalışmamızla da uyumludur.

Değişik çalışmalarda öğrenme için optimum ω -6/ ω -3 oranının 4/1 olduğu ileri sürülmüştür (143).

Bizim kullandığımız ceviz Shimadzu QP 5050 GC/MS cihazı ile analiz edilmiş ve ω -6/ ω -3 oranı 4,67/1 olarak bulunmuştur. Alzheimer hastalığından etkilenmiş beyinlerde NR2B ifadesi anlamlı ölçüde azaldığı bilinmektedir (145). Bir çalışmada, Alzheimer hastalarının, 4/1 oranına sahip zenginleştirilmiş ω -6 ve ω -3 bileşiği ile

tedavisi sonucu, duygu durumları, kooperasyon iştah uyku evdeki iyi hal ve kısa dönem belleklerinde iyileşme görülmüştür (146). Optimum glutamaterjik signalizasyonun korunması ve eksitotoksitenin sınırlandırılması, demanstaki önemli terapötik prensiplerdir. ω -3 PUFA' nın iyi belirlenmiş güvenilirliği ve tolerabilitesi bu bileşikler yaşıla ilişkili nörodejenerasyonun tedavisinde ilginç terapötik ajanlar haline getirmiştir. Dolayısıyla optimum oranı muhafaza etmek için ω -3 tüketimi artmalıdır.

Sonuç olarak; yukarıda tartışılan değişik çalışmalarda yaşlı hayvanların diyetine yapılan ω -3 PUFA takviyesi NR2B alt ünite zararlarını gidermiş ve fosfolipit ve yağ asidi profilindeki yaşla ilişkili değişiklikleri tersine çevirmiştir.. Daha ileri çalışmalar EPA ve DHA 'nın bu etkilerdeki önemini ortaya koymalıdır. Bu çalışmalar SSS'deki yaşlanma sırasındaki glutamaterjik nakildeki değişikliklerde ω -3 PUFA 'nın takviyesinin nöron koruyucu etkiler oluşturduğunu göstermektedir.

Biz de yukarıdaki çalışmalarla uyumlu olarak çalışmamızda öğrenme için uygun oranda yani 4/1 (ω -6/ ω -3) oranında yağ asidi içeren cevizin diyet ile alımı sonucunda ratlarda NMDA reseptörlerinin NR2A ve NR2B subünitlerinde kontrol grubuna göre anlamlı artışları saptadık. Hipokampal NMDA reseptörünün hipokampusa bağımlı spatial ve non-spatial hafızaların oluşması için gerekli olduğu gerçeğinden yola çıkarak cevizin öğrenme için uygun oranda içerdiği ω -6/ ω -3 içeriğinin öğrenme ve hafıza üzerinde olumlu etki yapabileceği sonucuna ulaşabiliriz. Tabi ki bu sonuç ileride değişik öğrenme testlerinin yapılması ve beyinde lipit analizini de içeren çalışmalarla desteklenmelidir.

Cevizin 60 bileşeni içinde önemli miktarda protein de vardır. Ceviz, protein yapı taşlarından biri olan L-arginin yönünden zengindir. NO, L-arginin aminoasidinden sentezlenmektedir. NO'nun öğrenme ve bellekte önemli rol oynayan LTP (hipokampüste) ve LTD'ye neden olduğu gösterilmiştir. Glutamat, NMDA reseptörlerini aktive ederek öğrenme ve belleğin temeli olan LTP'yi NO üreterek oluşturur. Ancak glutamat reseptörlerinin aşırı sitümlasyonu sonucunda fazla miktarda oluşturulan NO'nun nörodejeneratif hasarlanmalara neden olduğu ileri sürülmektedir. Detaylı çalışmaların sonucu beyinde eksitator aminoasitlerin beyin gelişimi, öğrenme ve hafıza üzerine olan etkilerine NO'nun önemli ölçüde aracılık ettiğini göstermiştir. Ceviz içerdiği bol miktardaki arginin sayesinde , argininden

üretilen NO mekanizması yolu ile de NMDA reseptörlerini artırarak öğrenme ve hafıza üzerine olumlu etki gösterebilir.

Yaşlanmada oksidatif stresi azaltan yaklaşımlar NMDA reseptörlerindeki gerilemeyi düzeltmiştir (147,148). Bu da antioksidan seviyeler ve yeterli reseptör yazılımı fonksiyonunun korunması arasında bir bağıllık gösterir. DHA ilavesi antioksidan sistemleri çoğaltmış, beyin lipit peroksidasyonunu azaltmıştır.(149). 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 yada α lipoik asit ilavesi LTP deki yaşla ilintili bozulmaları tersine çevirmiştir (150-153).

Cevizdeki ω -3, DHA ya çevrildikten sonra antioksidan sistemleri çoğaltmak yolu ile de lipit peroksidasyonunu azaltabilir. Cevizde bol miktarda antioksidan olan E vitamini bulunmaktadır.

Ayrıca uykuya dalmada ve uykunun düzenlenmesinde önemli bir görevi olan melatonin de cevizde bol bulunur. Melatonin en zararlı serbest radikal olan hidroksil radikalini ortadan kaldıran çok güçlü bir antioksidandır, günümüze kadar bilinen antioksidanların en güçlüsü olarak kabul edilmektedir. Antioksidan vitaminlerin (β -Karoten, E ve C vitamini) 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.

Ceviz içinde β -Karoten, E ve C vitamini, melatonin, polifenoller ellagic ve gallic asit vb gibi antioksidanları bol miktarda içermektedir. Bizim çalışmamızdaki NR2A ve NR2B deki anlamlı artışlar ile MDA düzeyindeki anlamlı düşüş cevizin bu antioksidan etkisine bağlı olabilir. Hipokampal NMDA reseptörünün hipokampusa bağımlı spatial ve non-spatial hafızaların oluşması için gerekli olduğu gerçeğinden yola çıkarak cevizin antioksidan içeriğinin öğrenme ve hafıza üzerinde olumlu etki yapabileceği sonucuna ulaşabiliriz.

Yaşlanma olgusunun odak noktası ilerleyici hücre bozulmasıdır. Bunun sinir sistemindeki karşılığı ise ilerleyici sinir hücresi kaybıdır ve hafıza bozukluğudur. Glutamat tek başına, erken yaşlanmanın belirtileri olan üreme fonksiyonunda

yavaşlama, davranışsal fonksiyon bozuklukları, nöronal hücre dejenerasyonu ve ölümüne yol açabilmektedir. NMDA reseptörü hipokampusa bağımlı spatial ve non-spatial hafızaların oluşması için gereklidir.fakat bu düzey glutamat aracılı nörotoxisite yapacak düzeye de gelmemelidir. Ceviz NMDAr için agonist ve antogonist olabilecek değişik maddeleri içermektedir. Bu bağlamda, melatonin ve eksitator amino asitler karşıt patofizyolojik etkiye sahip mediatörler gibi görünmektedir. Ama melatonin ve glutamat arasındaki fizyolojik antagonizma, aslında glutamat nörotoksitesini önleyerek hipotalamik nöronal ağın fonksiyonel idamesinde çok kritik ve faydalı bir rol oynamaktadır. Glutamat aracılı nörotoxisitede yaşlanmanın temel parametresi olan genel nöronal plastisitenin kaybı melatonin ile önlenmektedir (154-155). Yaşlılıkta, nöronal plastisitenin korunması için melatonin uygulanmasının başarılı olduğu kanıtlanmıştır.

Bu çalışmada biz ceviz alan grupta, kontrol grubuna göre NR2A ve NR2B reseptör ekspresyonlarının anlamlı olarak arttığını saptadık. Hipokampal NMDA reseptörünün hipokampusa bağımlı spatial ve non-spatial hafızaların oluşması için gerekli olduğu gerçeğinden yola çıkarak cevizin melatonin içeriğinin glutamat eksitotoksitesini önleme vasıtasıyla öğrenme ve hafıza üzerinde olumlu etki yapabileceği sonucuna ulaşabiliriz.

Kubo ve arkadaşları DHA verilen hayvanların beyinlerinde lipid peroksid düzeylerinin azaldığını ve DHA'in lipid peroksidasyonuna karşı olan koruyucu etkisinin dokudan dokuya farklılık gösterdiğini bildirmişlerdir (156).

Gamoh ve arkadaşları ise kronik olarak DHA alan ratların hipokampuslarında lipid peroksid düzeylerinin azaldığını bulmuşlar ve bu azalmanın spatial öğrenme yeteneğinin artmasıyla ilişkili olduğunu ileri sürmüşlerdir (157).

Biz de bu çalışmalarla uyumlu olarak diyet ile ceviz alan grupta kontrol grubuna göre hipokampus MDA düzeylerinin anlamlı olarak ($p=0,002$) azaldığını saptadık.

Sonuç olarak diyet ile ceviz alımı sonucunda cevizdeki zengin bileşenler yukarıda tartışılan değişik yollar vasıtasıyla NMDA reseptör subünitlerinden NR2A ve NR2B'yi istatistiksel olarak anlamlı şekilde artırmış, MDA düzeylerini anlamlı olarak düşürmüştür. Diyet ile ceviz alımının özellikle hipokampusta, hem NMDA reseptör regülasyonu hem de lipid peroksid düzeyleri üzerinde koruyucu etkisi

olabileceğini düşünüyorum. Son yıllarda yapılan çalışmalarda hipokampal NMDA reseptörünün hipokampusa bağımlı spatial va non-spatial hafızaların oluşması için gerekli olduğu ortaya konmuştur. Diyet ile ceviz alımı öğrenme ve hafıza üzerine olumlu etkiler yapabilir.

ÖZET

Ratlarda Diyeter Ceviz Alımının Hipokampus NMDA Reseptör Subünit Konsantrasyonları Üzerine Etkisi

Bu çalışmada erkek Spraque Dawley genç ratların diyetlerine ceviz eklenmesinin hipokampus NMDA reseptör NR2A ve NR2B subtipleri ve hipokampus lipid peroksid düzeyleri üzerine olan etkisi araştırıldı.

Bu amaçla ratlar 8 hafta süreyle ceviz içeren diyetle beslendiler. 8 hafta sonra ratların hipokampuslarında NR2A ve NR2B reseptör ve MDA düzeyleri çalışıldı.

Ceviz alımının, NMDA reseptörü üzerine olan etkisi hakkındaki başlıca bulgumuz; ratların diyetlerine ceviz eklenmesinin, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında NR2A ve NR2B subünitlerini istatistiksel olarak anlamlı şekilde sırası ile ($p=0.014$), ($p=0.014$) olmak üzere belirgin olarak arttırırken MDA düzeylerini de istatistiksel olarak anlamlı şekilde ($p=0,002$) belirgin olarak azaltmıştır. Sonuç olarak, ratların diyetlerine ceviz eklenmesi NMDA reseptör subünitlerini etkilemektedir.

Biz ceviz alımının özellikle hipokampüste, NMDA reseptör düzeyleri üzerinde koruyucu etkisi olabileceğini düşünüyoruz.

Anahtar kelimeler: ceviz, NMDA, NR2A, NR2B

SUMMARY

The effects of walnut supplementation on hippocampal NMDA receptor subunits NR2A, NR2B of rats

In this study, the effects of walnut supplementation on expression of hippocampal NMDA receptor subunits NR2A, NR2B, and product levels of lipid peroxidation of male Sprague Dowley rats were investigated. For this purpose rats were fed a walnut diet *ad libitum* for eight weeks. After this period the NR2A and NR2B receptor expressions and the levels of MDA were studied in the hippocampi of rats. NR2A and NR2B expressions were found elevated in walnut rats compared with the control group ($p < 0.05$). In addition, the levels of MDA in the walnut group were significantly decreased compared to the control groups.

In conclusion NMDA receptor subunits are elevated, and the levels of lipid peroxide is reduced in walnut diet rats. We suggest that walnut supplementation may have protective effects especially in the NMDA receptor regulation and lipid peroxide levels in hippocampus.

Key words: walnut, NMDA, NR2A, NR2B

KAYNAKLAR

1. Basic Neurochemistry
2. Xu SJ, Chen Z, Zhu LJ, Shen HQ, Luo JH. Visual recognition memory is related to basic expression level of NMDA receptor NR1/NR2B subtype in hippocampus and striatum of rats. *Acta Pharmacol Sin* 2005;26(2):177-80
3. Rose DP, Connolly JM. Omega-3 fatty acids as cancer chemopreventive agents. *Pharmacology and Therapeutics*. 1999;83:217-244
4. Wainwright PE. The role of nutritional factors in behavioural development in laboratory mice. *Behav Brain Res*. 2001;125:75-80
5. Stanner S. N-3 fatty acids and health. British Nutrition Foundation, *Nutrition Bulletin*. 2000;25:81-84
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. Yehuda S, Rabinovitz S, Carasso RL. The role of polyunsaturated fatty acids in restoring the aging neuronal membrane. *Neurobiology of Aging*. 2002; 23:843-53
8. Yehuda S, Rabinovitz S, Mostofsky DI. Essential fatty acids are mediators of brain biochemistry and cognitive functions. *Journal of Neuroscience Research*. 1999;56:565-70
9. Gamoh S, Hashimoto M, Hossain S. Chronic administration of docosahexaenoic acid improves the performance of radial arm maze task in aged rats. *Clinical and experimental pharmacology*. 2001;38:266-70
10. Farkas E, Wilde MC, Kiliaan AM. Dietary long chain PUFAs differentially affect hippocampal muscarinic 1 and serotonergic 1A receptors in experimental cerebral hypoperfusion. *Brain Research*. 2002;954: 32-41
11. Youdim KA, Martin A, Joseph JA. Essential fatty acids and the brain: possible health implications. *Int. J. Devl Neuroscience*. 2000;18:383-399
12. Horrocks LA, Yeo YK. Health benefits of docosahexaenoic acid (DHA). *Pharmacological Research*. 1999; 40: 211-25
13. Connor WE, Endres S, Hornstra G, Saito Y. Polyunsaturated fatty acids in nutrition and disease prevention. 2000;4:3-4
14. Yehuda S, Rabinovitz S, Mostofsky DI. *Handbook of essential fatty acids biology: biochemistry, physiology and behavioral neurobiology* Yehuda S, Mostofsky DI, editors. Totowa, New Jersey: Humana press, 1997;56:565-570

15. 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.
16. Salem N, Litman B, Kim HY, Gawrisch K. Mechanism of action of docosahexaenoic acid in the nervous system. *Lipids*. 2001; 3:945-959
17. Yehuda S, Rabinovitz S, Mostofsky DI. Essential fatty acids are mediators of brain *biochemistry and cognitive functions*. *Journal of Neuroscience Research*. 1999; 56, 565-570.
18. Hossain MS, Hashimoto M, Gamoh S, Masumara S. Antioxidative effects of docosahexaenoic acid in the cerebrum versus cerebellum and brainstem of aged hypercholesterolemic rats. *Journal of Neurochemistry*. 1999; 72:1133-1138
19. Gamoh S, Hashimoto M, Sugioka K. Chronic administration of docosahexaenoic acid improves reference memory related learning ability in young rats. *Neuroscience*. 1999; 93:237-41
20. Yasemin Demircioğlu, Nurcan Yabancı. Beslenmenin bilişsel gelişim ve fonksiyonları ile ilişkisi. *Hacettepe Üniversitesi Eğitim Fakültesi Dergisi*. 2003,24:170-179
21. Eidi A, Eidi M, Mahmoodi G, et al. Effect of vitamin E on memory retention in rats: possible involvement of cholinergic system. *Eur Neuropsychopharmacol* 2006;16(2):101-6
22. Guilarte TR. Vitamin B6 and cognitive development: Recent research findings from human and animal studies. *Nutrition Review*. 1993;51(7):193-198.
23. Sumien N, Heinrich KR, Sohal RS, et al. Short-term vitamin E intake fails to improve cognitive or psychomotor performance of aged mice. *Free Radic Biol Med*. 2004; 36:1424–1433
24. Bickford PC Ph D, Gould T Ph D, Briederick L, et al. Antioxidant-rich diets improve cerebellar physiology and motor learning in aged rats. *Brain Res* .2000; 866(1-2):211-217
25. Socci DJ, Crandall BM, Arendash GW. Chronic antioxidant treatment improves the cognitive performance of aged rats. *Brain Res*: 1995;693:88–94
26. Taylor EM, Morgan EH. Developmental changes in transferrin and iron uptake by the brain in the rat. *Dev Brain Res* 1990; 55: 35-42.
27. Kretchmer N, Beard JL, Carlson SE. The role of nutrition in the development of normal cognition. *Am J Clin Nutr* 1996; 63: 997S-1001S.
28. Beard JL. Iron deficiency alters brain development and functioning. *J Nutr* 2003; 133: 1468S-1472S.
29. Rassin DK, Smith KE. Nutritional approaches to improve cognitive development during infancy: antioxidant compounds. *Acta Paediatr* 2003; 442 (Suppl): 34-41.

30. Dallman PR, Spirito RA. Brain iron in the rat: extremely slow turnover in normal rat may explain the long-lasting effects of early iron deficiency. *J Nutr.* 1977; 107: 1075-1081.
31. Pollitt E. Iron deficiency and cognitive function. *Ann Rev Nutr* 1993; 13: 521-537.
32. Beard JL, Connor JR, Jones BC. Iron in the brain. *Nutr Rev* 1993; 51: 157-170. 38. Hurtado EK, Cluussen AH, Scott KG. Early childhood anemia and mild or moderate mental retardation. *Am J Clin Nutr* 1999; 69: 115-119.
33. Halterman JS, Kaczorowski JM, Aligne CA, Aigner P, Szilagyi PG. Iron deficiency and cognitive achievement among school aged children and adolescents in the United States. *Pediatrics.* 2001; 107: 1381-1386
34. Lozoff B, Jimenez E, Wolf WA. Long-term developmental outcome of infants with iron deficiency. *N Engl J Med.* 1991; 325: 687-694.
35. Sandstead HH, Frederickson CJ, Penland JG. History of zinc as related to brain function. *J Nutr* 2000; 130 (Suppl): 496S-502S.
36. Hu KH, Friede RL. Topographic determination of zinc in human brain by atomic absorption spectrophotometry. *J Neuro Chem* 1968; 15: 677-685.
37. Hu KH, Friede RL. Topographic determination of zinc in human brain by atomic absorption spectrophotometry. *J Neuro Chem* 1968; 15: 677-685.
38. Halas ES, Reynolds GM, Sandstead HH, et al. Intra- uterine nutrition and effects on aggression. *Physiol Behav* 1977; 19: 653-661.
39. Golub MS, Takeuchi PT, Keen CL, et al. Modulation of behavioral performance of prepubertal monkeys by moderate dietary zinc deprivation. *Am J Clin Nutr* 1994; 60: 238-243.
40. Black MM. The evidence linking zinc deficiency with children's cognitive and motor functioning. *J Nutr* 2003; 133(Suppl): 1473-1476.
41. Meadows NJ, Ruse W, Smith MF, et al. Zinc and small babies. *Lancet* 1981; 2: 1135-48. Wachs T, Bishry Z, Moussa W, et al. Nutritional intake and context as predictors of cognition and adaptive behaviours of Egyptian school-aged children. *Int J Behav Dev.* 1995; 18: 425-450.
42. Friel JK, Andrews WL, Matthew JD, et al. Zinc supplementation in very-low birth weight infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1993; 17: 97-104.
43. Meraldi M, Caulfield LE, Zavaleta N, Figueroa A, DiPetro JA. Adding zinc to prenatal iron and folate tablets improves fetal neurobehavioral development. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 180: 483-490.

44. Sazawal S, Bentley M, Black RE, Dhingra P, George S, Bhan MK. Effect of zinc supplementation on observed activity in preschool children in an urban slum population. *Pediatrics*. 1996; 98: 1132-1137.
45. Bentley ME, Caulfield LE, Ram M, et al. Zinc supplementation affects the activity patterns of rural Guatemalan infants. *J Nutr*. 1997; 127: 1333-1338
46. Castillo-Duran C, Perales CG, Hertrampf ED, Marin VB, Rivera FA, Icaza G. Effect of zinc supplementation on development and growth of Chilean infants. *J Pediatr* 2001; 138: 229-235.: 238-243.
47. Hamadani JD, Fuchs GJ, Osendarp SJM, Khatun F, Huda SN, Grantham-McGregor SM. Randomized controlled trial of the effect of zinc supplementation on the mental development of Bangladeshi infants. *Am J Clin Nutr*. 2001; 74: 381-386.
48. Hamadani JD, Fuchs GJ, Osendarp SJM, Huda SN, Grantham-McGregor SM. Zinc supplementation during pregnancy and effects on mental development and behaviour of infants: a follow-up study. *Lancet*. 2002; 360: 290-294.
49. Penland J, Sanstead H, Egger N, et al. Zinc, iron and micronutrient supplementation effects on cognitive and psychomotor function of Mexican-American school children. *FASEB J* 1999; 13: A921.
50. Sanstead HH, Penland JG, Alcock NW, et al. Effects of repletion with zinc and other micronutrients on neuropsychologic performance and growth of Chinese children. *Am J Clin Nutr* .1998; 68: 470S-475S
51. Penland JG. Behavioural data and methodology issues in studies of zinc nutrition in humans. *Journal of Nutrition*.2000;130; 361-364
52. Watanabe C, Satoh H. Brain selenium status and behavioral development in selenium-deficient preweanling mice. *Physiol Behav* 1994; 56: 927-932
53. Tian D-P, Su M, Wu X-Y, Huang H-H, Wang Y-K. The primary study of selenium-methyl-cysteine on differentiation of neural stem cell in vitro. *International Symposium on Predictive Oncology and Intervention Strategies; Nice, France; February 7 - 10, 2004; in poster session 793 (Dietary Influences)*.
54. Eayrs JT, Taylor SH. The effect of thyroid deficiency induced by methylthiouracil on the maturation of the central nervous system. *J Anat*. 1951; 92: 599-607.
55. Balazs R, Kovacs S, Cocks WA, Johnson AL, Eayrs JT. Effect of thyroid hormone on the biochemical maturation of rat brain: postnatal cell formation. *Brain Res* 1971; 25: 555-570.
56. Rosman NP, Malone MJ, Helfenstein M, Kraft E. The effect of thyroid deficiency on myelination of brain. *Neurology* 1972; 22: 99-106.

57. Garcia Argiz CA, Pasquini JM, Kaplun B, Gomez CJ. Hormonal regulation of brain development. II. Effect of neonatal thyroidectomy on succinate dehydrogenase and other enzymes in developing cerebral cortex and cerebellum of the rat. *Brain Res* 1967; 6: 635-646.
58. Nicholson JL, Altman J. The effects of early hypo- and hyperthyroidism on the development of the rat cerebellar cortex. I. Cell proliferation and differentiation. *Brain Res* 1972; 44: 13-23.
59. Balazs R, Brookesbank BW, Patel A, Johnson A, Wilson DA. Incorporation of [35 S] sulfate into brain constituents during development and effects of thyroid hormone on myelination. *Brain Res* 1971; 30: 273-293.
60. Delange F. Iodine deficiency as a cause of brain damage. *Postgrad Med J* 2001; 77: 217-220.
61. Lavado-Autric R, Auso E, Garcia-Velasco JV, et al. Early maternal hypothyroxinemia alters histogenesis and cerebral cortex cytoarchitecture of the progeny. *J Clin Invest.* 2003; 111: 1073-1082.
62. Hetzel BS. Iodine and neuropsychological development. *J Nutr.* 2000; 130: 493S-495S.
63. McLean RM. Magnesium and its therapeutic uses: A review. *Am J Med.* 1994;96:63-76.
64. McLean RM. Magnesium and its therapeutic uses: A review. *Am J Med.* 1994;96:63-76.
65. Elin RJ. Magnesium metabolism in health and disease. *Dis Mon.* 1988;34:161-219.
66. White RE, Hartzell HO. Magnesium ions in cardiac function. *Biochem Pharmacol.* 1989;38:859-67.
67. Marino PL. Calcium and magnesium in critical illness: A practical approach. In: Sivak ED, Higgins TL, Seiver A, eds. *The high risk patient: Management of the critically ill.* Baltimore: Williams and Wilkins. 1995;1183-95.
68. Reinhart RA. Magnesium metabolism: A review with a special reference to the relationship between intracellular content and serum levels. *Arch Intern Med.* 1988;148:2415-20.
69. Whang R. Magnesium deficiency: Pathogenesis, prevalence, and clinical implications. *Am J Med.* 1987;82:24-39.
70. Sawka MN, Montain SJ. Fluid and electrolyte supplementation for exercise heat stress. *Am J Clin Nutr.* 2000;72:564-572.
71. Alvarez-Lefmans FJ, Giraldez F, Gamino SM. Intracellular free magnesium in excitable cells: Its measurement and its biologic significance. *Can J Physiol Pharmacol.* 1987;65:915-916

72. Marinov MB, Harbaugh KS, Hoopes PJ, Pikus HJ, Harbaugh RE. Neuroprotective effects of preischemia intraarterial magnesium sulfate irreversible focal cerebral ischemia. *J Neurosurg* .1996;85:117-124.
73. Lee EJ, Ayoub IA, Harris FB, Hassan M, Ogilvy CS, Maynard KI. Mexiletine and magnesium independently, but not combined, protect against permanent focal cerebral ischemia in Wistar rats. *J Neurosci Res*. 1999;58:442-448.
74. Kabadere S, Öztöpcü P, Uyar R. Glutamat toksisitesi oluşturulmuş glioma hücre dizilerinde magnezyum sülfat ve lazardoid U-83836E'nin hücre yaşamı oranına etkisi. 1. Ulusal Sinirbilimleri Kongresi. 16-20 Mart 2002, Eskişehir.
75. USDA Nutrient Database. 1987, Handbook 8
76. Reiter RJ: Functional diversity of the pineal hormone melatonin its role as an antioxidant. *Exp clin endocrinol*, 1996; 104: 10-16.
77. Reiter RJ: Pineal function during aging: Attenuation of the melatonin rhythm and its neurobiological consequences. *Acta Neurobiol exp*.1994; 54: 31-39.
78. Pierpaoli W, Maestroni GJM: melatonin: a principal neuroimmunoregulatory and anti-stress hormone: its anti-aging effects. *Immunol lett*. 1987; 16: 355-362.
79. Pierpaoli W, Yi C: The involvement of pineal gland and melatonin in immunity and aging. I. Thymus-Mediated, immunoreconstituting and antiviral activity of TRH. *J Neuroimmunol*. 1990; 27: 99-109.
80. Dr. Ö. Selçuk Palaoglu ,Dr. Etem Beşkonaklı, Pineal Bez ve yaşlanma. *Turkish Journal of Geriatrics* .1998; Geriatri 1 (1): 13-18,
81. Ahmet Songur, Oğuz Aslan Özen, Mustafa Sarsılmaz. Hipokampus. *T. Klinik Tıp Bilimleri*. 2001;21:427-431
82. Guyton AC. *Textbook of Medical Physiology* (Türkçe 1. baskı). İstanbul: Merck Yayıncılık. 1987; 980-1.
91. Wieraszko A, Ball GF. Long-term potentiation in the avian hippocampus does not require activation of the n-methyl-d-aspartate (NMDA) receptor. *Synapse*. 1993; 13: 173-8.
83. 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.
84. Arıncı K, Elhan A. *Anatomi Ankara: Güne Kitabevi*, 1995: 2 :403-4.
85. Green JD. The Hippocampus. In: Field J. editor. *Handbook of Physiology* (1st Ed). Vol. 2. Washington: American Physiological Society. 1960; 1373-89.
86. Kandel ER, Schwartz JH, Jessel TM. *Principles of Neural Science* 4th ed. New York: McGraw-Hill Comp. 2000; 1233.

87. Dere F. Nöroanatomi Adana: Nobel Tıp Kitabevi, 2000; 3: 428.
88. Barr ML, Klernam JA. The Human Nervous System. 5th ed. Philadelphia: JB Lippincott Comp, 1988: 266
89. Selkoe DJ. Physiological production of the beta-amyloid protein and the mechanism of the alzheimer's disease. Trends Neurosci 1993; 16: 403-9.
90. Serrano CP, Sanches AJC, Garcia GT. Mesial temporal sclerosis (I): histological data, physiopathological hypothesis and etiological factors. Rev Neurol 1997; 25 (140): 584-9.
91. Sloviter RS. Decreased hippocampal inhibition and a selective loss of interneurons. In experimental epilepsy. Science 1987; 235: 73-6.
92. Smeyne RJ, Vendell M, Hayward M et al. Continuous C-fos expression precedes programmed cell death in vivo. Nature 1993; 363: 166-9.
93. Aktan ZA. Limbik Sistem. Sendrom 1997; 9 (1): 65-9.430
94. Jennifer A., Court and Ekine K., Perry. CNS Nicotine receptors. Pharmacol Pathophysiol 1994;2: 216
95. Barret JE: Interrelationships between behaviour and pharmacology as factors determining the effects of nicotine. Pharmacol. Biochem. Behav. 1993; 19:1027
96. Ozawa S, Haruyuki K. Glutamate receptors in the mammalian central nervous system. Progress in Neurobiology. 1987;54: 581-618
97. Schneggenburger R, Zhou Z, Konnerth A, Neher E: Fractional contribution of calcium to the cation current through glutamate receptor channels. Neuron .1993;11: 133-143
98. 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
99. Scatton B, Carter C, Benavides J: N-methyl-D-aspartate receptor antagonists: A novel therapeutic perspective for the treatment of ischemic brain injury. Cerebrovasc Dis.1999 1: 121-
100. McMillan M, Pritchard GA, Miller LG: Characterisation of Ca⁺⁺-mobilizing excitatory amino acid receptors in cultured chick cortical cells. Eur J Pharmacol. 1990;189: 253-266
101. Wong EHF, Kemp JA: Sites for antagonism on the N-methyl-D-aspartate receptor channel complex. Ann Rev Pharmacol Toxicol. 1991;31: 401-425
102. Cull-Candy S, Brickley SG. NMDA receptors. Encyclopedia of Life Sciences. 2001.
103. 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.
104. Candy S, Brickley SG. NMDA receptors. Encyclopedia of Life Sciences, 2001.

105. Ozawa S, Kamiya H and Tsuzuki K. Glutamate receptors in the mammalian centralnervous system. *Neurobiology*. 1998;54: 581-618
106. McHugh TJ, Blum KI, Tsien JZ, Tonegawa S, Wilson MA. Impaired hippocampal representation of space in CA1-specific NMDAR1 knockout mice. 1996 ;27;87(7):1147-8.107.
107. Williams TI, Combs JC, Thakur AP, Strobel HJ, Lynn BC. A novel Bicine running buffer system for doubled sodium dodecyl sulfate - polyacrylamide gel electrophoresis of membrane proteins. *Electrophoresis*. 2006;27(14):2984-95
108. S.C. Dyall a, □, G.J. Michael a, R. Whelpton b, A.G. Scott b, 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. *Neurobiology of Aging* 28 .2007; 424–439
109. Margaret Lahey, Bamford- Lahey Children's Foundation. 2002;110, (3), 451-459. A
110. 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), 119-128. A
111. 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), 153-1639
112. 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), 1934-1947. A
113. 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) 1805-1816. A
114. Lim, S.Y., and Suzuki, H. Intakes of dietary docosahexenoic acid, ethyl ester, and egg phosphatidylcholine improve maze-learning ability in young and old mice. *Journal of Nutrition*. 2000;130, (6), 1629-1632. A
115. 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), 536-560. A
116. Carrie, E., Clement, M., de Javel, D., Francis, H., and Bourre, J. Pholpholipid supplementation reverses behavioral and biochemical alterations induced by n-3 polyunsaturated fatty acid deficiency in mice. *Journal of Lipid research*. 2000; 41, 473-480.

117. Moriguchi, T., Greiner, R.S., and Salem, N. Behavioral deficits associated with dietary induction of decreased brain docosahexaenoic acid concentration. *Journal of Neurochemistry*. 2000;75, (6), 2563-2573.
118. 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. *Journal of Nutrition*. 1999;129, (2), 431-437.A
119. 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), 203-209.
120. Gamoh, S., Hashimoto, M., Sugioka, K., Shahdat, Hossaim, 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, 237-241. A
121. Moriguchi, T., Greiner, R.S., and Salem, N. Behavioral deficits associated with dietary induction of decreased brain docosahexaenoic acid concentration. *Journal of Neurochemistry*. 2000; 75, (6), 2563-2573.
122. 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), 536-560. A
123. Innis, S.M. The role of dietary n-6 and n-3 fatty acids in the developing brain. *Developmental Neuroscience*. 2000; 22, 474-480.
124. 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), 119-128.A
125. 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. *Journal of Neurochemistry*. 1997; 68 (3), 1261-1268.A
126. McKenna, M.C. and Campagnoni, A.T. Effect of pre- and postnatal essential fatty acid deficiency on brain development and myelination. *Journal of Nutrition*, 1979; 109, 1195-1204.A
127. 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, 1582-1591.A

128. J.D. Effects of dietary polyunsaturated fatty acids on neuronal function. *Lipids*. 1999;34, 161-169.
129. S.C. Dyall a, □, G.J. Michael a, R. Whelpton b, A.G. Scott b, A.T. Michael-Titus .Dietary enrichment with omega-3 polyunsaturated fatty acids reverses age-related decreases in the GluR2 and NR2B glutamate receptor subunits in rat forebrain. *Neurobiology of Aging* 28 .2007; 424–439
130. Hof PR, Duan H, Page TL, Einstein M, Wicinski B, He Y, et al. 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.
131. Bliss TVP, Collingridge GL. A synaptic model of memory: long term potentiation in the hippocampus. *Nature*. 1993;361:31-39
132. Lynch MA. Long-term potentiation and memory. *Physiol Rev*. 2004;84(1):87–136.
133. Martin DS, Spencer P, Horrobin DF, Lynch MA. 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.
134. 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. *Neuroscience*. 1997;81(1):9–16.
135. 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. *Neuroscience* .1999;94(1):305–14.
136. 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.
137. 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.
138. Jump DB. The biochemistry of n-3 polyunsaturated fatty acids. *J Biol Chem*. 2002;277(March (15)):8755–8.
139. 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.
140. 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.

141. Farkas E, Wilde MC, Kiliaan AM. Dietary long chain PUFAs differentially affect hippocampal muscarinic 1 and serotonin 1A receptors in experimental cerebral hypoperfusion. *Brain Research*. 2002; 954: 32-41
142. 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;19:273-277
143. 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.
144. Simopoulos AP. Evolutionary aspects of omega-3 fatty acids in the food supply. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 1999;60(5-6):421-9
145. 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.
146. 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, 141-149
147. 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.
148. Mesches MH, Gemma C, Veng LM, Allgeier C, Young DA, Browning MD, et al. Sulindac improves memory and increases NMDA receptor subunits in aged Fischer 344 rats. *Neurobiol Aging* 2004;25(3):315-24.
149. Sarsilmaz M, Songur A, Ozyurt H, Kus I, Ozen OA, Ozyurt B, et al. 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
150. 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.
151. 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.
152. 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.

153. McGahon BM, Martin DS, Horrobin DF, Lynch MA. Age-related changes in LTP and antioxidant defenses are reversed by an alpha-lipoic acid-enriched diet. *Neurobiol Aging* 1999;20(6):655-64.
154. Pierpaoli W, Maestroni GJM: melatonin: a principal neuroimmunoregulatory and anti-stress hormone: its anti-aging effects. *Immunol Lett*, 1987; 16: 355-362.
155. Pierpaoli W, Yi C: The involvement of pineal gland and melatonin in immunity and aging. I. Thymus-Mediated, immunoreconstituting and antiviral activity of TRH. *J Neuroimmunol*. 1990; 27: 99-109.
156. Kubo K, Saito M, Tadokoro T. Dietary docosahexaenoic acid does not promote lipid peroxidation in rat tissue to the extent expected from peroxidizability index of the lipids. *Biosci Biotechnol Biochem*. 1998;62:1698-1706
157. Gamoh S, Hashimoto M, Hossain S. Chronic administration of docosahexaenoic acid improves the performance of radial arm maze task in aged rats. *Clinical and experimental pharmacology*. 2001;38:266-70,