

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

RATLARDA KALORİ KISITLAMASININ NMDA RESEPTÖR SUBÜNİT KONSANTRASYONLARI ÜZERİNE ETKİSİ

Dr. Nigar Yılmaz

TIPTA UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

Prof Dr. Hüseyin VURAL

Bu tez Süleyman Demirel Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından
1367-TU proje numarası ile desteklenmiştir.

2007- ISPARTA

TEŞEKKÜR

Üniversitemiz bünyesinde kaliteli ve iyi donanımlı bir laboratuvarın kurulmasında, yüksek standartlarda hasta hizmeti ve uzmanlık eğitimi verilmesinde büyük emeği geçen, iyi bir yönetici ve örnek bir bilim adamı olan Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Namık Delibaő'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 Altuntaő'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,

Hayatım boyunca tüm desteklerini yanımda hissettiğim annem, babam ve kardeşlerime minnet dolu duygularımı sunuyorum.

Gerek iş gerekse özel hayatımdaki en büyük desteğim olan eşim Dr. Mustafa Yılmaz'a, tüm uğraşları için sonsuz teşekkür ediyorum. Biricik kızım Feyza, varlığıyla motivasyonumu arttırdığı için sevgilerimi sunuyorum.

İÇİNDEKİLER

| | |
|--------------------------------------------------------|----------|
| TEŞEKKÜR | i |
| İÇİNDEKİLER | ii |
| ŞEKİL ve TABLO LİSTESİ | iv |
| SİMGELER ve KISALTMALAR | v |
| 1. GİRİŞ | 1 |
| 2. GENEL BİLGİLER..... | 3 |
| 2.1. Beslenme Biyokimyası | 3 |
| 2.1.1. Günlük Enerji Tüketimi | 3 |
| 2.1.2. Günlük Enerji Harcamasının Hesaplanması | 3 |
| 2.2. Diyetel İhtiyaçlar | 4 |
| 2.2.1. Karbonhidratlar | 4 |
| 2.2.2. Yağlar | 5 |
| 2.2.3. Proteinler | 6 |
| 2.2.4. Vitaminler | 7 |
| 2.2.5. Mineraller | 7 |
| 2.2.6. Su | 8 |
| 2.3. Obezite | 8 |
| 2.3.1. Obezitenin Epidemiyolojisi | 10 |
| 2.3.2. Obezitenin Etyolojisi | 11 |
| 2.3.3. Obezitenin Patolojisi | 12 |
| 2.3.4. Obezitede Diyetel Öneriler | 12 |
| 2.4. Alzheimer Hastalığı (AH)..... | 14 |
| 2.4.1. Obezite ve Alzheimer Hastalığı İlişkisi | 17 |
| 2.5. Kalori Kısıtlaması | 19 |
| 2.5.1. Metabolik Etkileri | 19 |
| 2.5.2. Sistemik Hastalıklara Etkisi | 21 |
| 2.5.3. İmmunolojik Etkileri | 22 |
| 2.5.4. Oksidatif Stresle İlişkisi | 22 |
| 2.5.5. Gen Düzeyinde Etkileri | 23 |
| 2.5.6. Yaşlanma ve Kalori kısıtlaması İlişkisi | 24 |
| 2.5.7. Kalori Kısıtlaması ve Alzheimer hastalığı | 25 |

| | |
|------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 2.5.8. Kalori Kısıtlamasının Muhtemel Nöroprotektif Etkileri | 27 |
| 2.5.9. Çocukluk Çağı Etkileri | 30 |
| 2.6. Hipokampus | 31 |
| 2.6.1. Anatomisi | 31 |
| 2.6.2. Hipokampusün Yapısı ve Fonksiyonları | 31 |
| 2.6.3. Glutamat Reseptörleri | 32 |
| 2.6.4. NMDA Reseptörleri | 34 |
| 2.6.5. NMDA Reseptör Tipleri | 37 |
| 2.6.6. NMDA Reseptörünün Yapısı | 38 |
| 2.6.7. Nörolojik Hastalıklar ve Glutamat Reseptör Aktivasyonunda Artış | 39 |
| 3. MATERYAL ve METOD | 40 |
| 3.1. Materyal | 40 |
| 3.1.1. Deney Hayvanları | 40 |
| 3.1.2. Kullanılan Malzemeler ve Aletler | 41 |
| 3.1.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler | 42 |
| 3.1.4. Kullanılan Çözeltiler | 43 |
| 3.2. Metod | 45 |
| 3.2.1. Hipokampus Örneklerinin Homojenizasyonu | 45 |
| 3.2.2. SDS-PAGE Yöntemi | 45 |
| 3.2.3. Western Blot Yöntemi | 45 |
| 3.2.4. Lipit Peroksidasyonunun Tayini | 46 |
| 3.2.5. İstatistiksel Analiz | 46 |
| 4. SONUÇLAR | 47 |
| 4.1. Ratlarda Kilo Takibi | 47 |
| 4.2. Western Blot Analizi ile Saptanan NR2A, NR2B Reseptör Düzeyleri | 47 |
| 4.3. Hipokampus MDA Düzeyleri | 51 |
| 5. TARTIŞMA | 52 |
| ÖZET | 63 |
| SUMMARY | 64 |
| KAYNAKLAR | 65 |

ŞEKİL ve TABLO LİSTESİ

- Şekil 1. Yaşlanmayla ilişkili nörodejeneratif hastalıklarda KK'sının etkileri.
- Şekil 2. Limbik sistemi oluşturan yapılar ve aralarındaki bağlantılar
- Şekil 3. NR2A'ya ait Western Blot örneği
- Şekil 4. Kontrol grubu 100 kabul edilip kontrole göre % konsantrasyon değeri olarak belirtilen NR2A düzeyleri.
- Şekil 5. NR2B'ye ait Western Blot örneği.
- Şekil 6. Kontrol grubu 100 kabul edilip kontrole göre % konsantrasyon değeri olarak belirtilen NR2B düzeyleri.
- Tablo 1. BMI değerlerine göre fazla kilolu ve obezite sınıflandırma.
- Tablo 2. Obezitenin etyolojisi.
- Tablo 3. Besinlerdeki yağ, protein, karbonhidratların özellikleri.
- Tablo 4. Besinlerin önerilen alımları.
- Tablo 5. Ratlara verilen yem içeriği.
- Tablo 6. Tüm gruplarda NR2A, NR2B reseptörlerinin yüzdelik cinsinden yoğunlukları ortalama ve \pm SD değerleri.
- Tablo 7. Hipokampüsde MDA düzeylerinin ortalamaları ve standart sapmaları.
- Tablo 8. Ratların haftalık kilo takipleri
- Tablo 9. Başlangıç kiloları ve 10 haftalık kalori kısıtlaması sonunda kiloları.

SİMGELER ve KISALTMALAR

| | |
|---------------------------------|----------------------------------------------------------------|
| AA | : Araşidonik asit |
| Ach | : Asetilkolin reseptör |
| ADP | : Adenozin difosfat |
| AH | : Alzheimer Hastalığı |
| Aβ | : Amiloid β protein |
| AMPA | : Alfa-amino-3-hidroksi-5-metil-4-isoksazolpropionat |
| AMPAR | : Alfa-amino-3-hidroksi-5-metil-4-isoksazolpropionat reseptörü |
| APP | : Amiloid Prekürsör Protein |
| APS | : Amonyum peroksodisulfat |
| ATP | : Adenozin trifosfat |
| DEE | : Günlük enerji tüketimi |
| DHA | : Dokzoheksaenoik asit |
| EGTA | : Etilen glikol-bis tetraasetik asit |
| EPA | : Eikzopentaenoik asit |
| LRP | : Reseptör ilişkili protein |
| LTP | : Long term potansiyalizasyon |
| NMDA | : N-metil-D-aspartat |
| NMDAR | : N-metil-D-aspartat reseptörü |
| NR 2A | : NMDAR 2A subuniti |
| NR 2B | : NMDAR 2B subuniti |
| NR1 | : NMDAR 1 subuniti |
| mRNA | : mesenger ribonükleik asit |
| MSB | : Multiple spine bouton synapses |
| Pi | : İnorganik fosfat |
| PH | : Parkinson hastalığı |
| RDA | : Diyetle alınması önerilen miktar |
| RMR | : Dinlenme metabolizma hızı |
| SDS | : Sodyum dodesil sülfat |
| MSS | : Merkezi Sinir Sistemi |
| TCA | : Trikarboksilik asit |
| TEMED | : N, N, N ¹ , N ¹ - Tetrametilen-diamin |
| TrkB | : Tirozin kinaz B |
| TTBS | : Tris-Tween-Buffer Saline |
| TNF- α | : Tümör nekroz faktör- α |

1. GİRİŞ

Organizmanın sağlıklı bir şekilde hayatini sürdürebilmesi için dengeli beslenme gereklidir. Alınan besinlerin ihtiyaç kadar olup olmadığı ise tartışmalıdır (1). Enerji alınması ve harcanması arasındaki dengenin bozulmasından kaynaklanan ihtiyaç fazlası kalorinin organizmada depolanmasının sonucu meydana gelen obezitenin etyolojisinde daha çok yüksek kalorili diyet ve /veya hareket azlığı gibi çevresel faktörler rol oynamaktadır (2). Gelişmiş toplumlarda hızla artan obezite oranı insan vücudundaki sistemlerin bir çoğunu olumsuz yönde etkiler (3,4,5). Obezite, hipertansiyon (HT), diabet mellitus (DM), hiperlipidemi, koroner kalp hastalığı, safra kesesi hastalıkları gibi birçok hastalık açısından riskler taşımaktadır (6). Obezite, çocuklarda ve gençlerde başlayarak erişkin hayatta da devam etmektedir. Obez erişkinlerin üçte birinin çocukluk çağından itibaren kilolu oldukları bilinmektedir (7). Türkiye’de obezite sıklığı yaklaşık ortalama % 29 iken 50-59 yaşlarında % 45’e yükselmektedir (8,9). Erişkin ve gençlerde obezite tedavisi çok yönlü olup yüz güldürücü cevap almak güçtür. Bu nedenlerle obeziteyi önleme çalışmaları çocukluk çağından başlamalıdır.

Obezitenin vücutta tam olarak açıklanamamış mekanizmalarla Alzheimer Hastalığı (AH)’na neden olabileceği düşünülmektedir. AH, en sık görülen nörodejeneratif hastalıktır. Alzheimer tipi demans için bilinen en önemli risk faktörü yaştır ve bu hastalığın görülme sıklığı 65 ile 95 yaş arasındaki bireylerde her geçen beş yıl içinde ikiye katlanmaktadır. Dünya nüfusunun hızla yaşlanması ve ortalama yaşam beklentisinin artması demansın ve onun en sık sebebi olan AH’nın gerçek bir halk sağlığı ve ekonomik sorun olarak algılanmasına yol açmıştır (10,11). AH’nın obeziteyle ilişkisini araştıran birçok epidemiyolojik çalışma yapılmıştır. Obezitenin beyin fonksiyonlarını normal kilolulara göre %35’e varan oranda azalttığı bildirilmiştir. Ayrıca obez kadınların AH’a yakalanma riskinin normal kilolu erkeklere göre iki kat fazla olduğu tespit edilmiştir. Obeziteye yol açan risk faktörleri konusunda erken önlemler alınmasının veya gerekli ilaç tedavilerine başvurulmasının ilerleyen yıllarda demans riskini azaltabileceği belirtilmiştir (12). Suzanne Craft yaptıkları prospektif çalışmada obezitede artan insülin regülasyon bozukluğunun kognitif fonksiyonları etkilediği ve AH patogenezinde rol aldığını bildirmiştir. Obezitenin ileri yaş hastalığı

demansın en sık sebebi olan AH için bir risk faktörü olması, obezite üzerine olan tedavi edici ve önleyici çalışmalara ve etkilerine dikkati çekmektedir (13).

İnsanlarda ve diğer canlı türlerinde vücut homeostazını bozmadan alınan kalori miktarı kısılabılır. Kalori kısıtlamasının birçok hastalığa karşı koruyucu etkisi olduğu düşünülmektedir. Obezite, kardiyovasküler hastalıklar, DM, HT, kanser, otoimmün hastalıklar gibi hastalıkların ortaya çıkmasını engellediği bildirilmiştir. Kalori kısıtlanmasının, obeziteyi önlemenin yanısıra yaşlanmanın gecikmesi ve yaşlanmaya bağlı çeşitli patolojilerin önlenmesi gibi etkilerinin olduğu görülmüştür (14,15,16). Akut veya kronik kalori kısıtlamasının yaşla ilişkili nörodejeneratif süreci azalttığı vurgulanmıştır (17,18,19,20). Yaşlanmayla prevalansı artan AH'lığının epidemiyolojik çalışmalarda kalori kısıtlamasıyla engellenebileceği düşünülmektedir. Kalori kısıtlamasının davranış, öğrenme ve hafıza üzerine olan etkileriyle ilgili olarak yapılmış bir dizi çalışma bulunmaktadır. Kalori kısıtlamasının akut ve kronik dönemde sıçanlarda hafızayı etkilediği, yaşla kaybolmuş kognitif ve motor fonksiyon kayıplarında düzelmeye getirdiği bildirilmiştir. İyonotropik glutamat reseptörleri olan N-metil D-aspartat (NMDA) reseptörlerinin öğrenme ve bellek oluşumuna aracılık ettikleri, ayrıca demans ve AH patogeneziyle ilişkilerinin olduğu belirtilmektedir (21). Çeşitli veriler NMDA reseptörlerinin AH etyopatogeneziinde rol oynayabileceğini ve ayrıca hastalık progresyonu sırasında etkilenen beyin bölgelerinde reseptör düzeyi ve aktivitesinin değişebileceğini düşündürmektedir. AH'nın oluşumuyla ilgili etyopatoloji henüz açık değildir ve uygulanan tedaviler hastalığı ortadan kaldıramayıp ancak semptomların gerilemesini sağlamaktadır. Yakın zamanda tartışılmaya başlanılan AH için kalori kısıtlamasının oluşturduğu nöroprotektif etkilerinin mekanizması kesin sonuca vardırılmamıştır (22).

NMDA reseptörü eksitotoksisite, nörodejeneratif hastalıklar ve yaşlanma gibi MSS'i etkileyen birçok süreçte yer almaktadır. Bu nedenle bu süreçlerin fizyoloji ve patofizyolojisinin anlaşılması açısından, bu reseptörün modulasyonunun belirlenmesi büyük önem taşır (23).

Biz çalışmamızda; normal kilolu ve obez ratlarda oluşturulan kalori kısıtlamasının NMDA reseptör subünit düzeylerine etkisini ve MSS'deki muhtemel nöroprotektif etkilerinin NMDA reseptör subünitleriyle ilişkili olup olmadığını araştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Beslenme Biyokimyası

Diyetle alınan major yakıtlar karbonhidrat, protein ve yağlardır. Bu yakıtlar hücrelerde CO₂ ve suya okside edildiğinde elektronların O₂'e aktarılması ile enerji açığa çıkar. Bu oksidasyon işleminden açığa çıkan enerji ısı ve adenzin trifosfat (ATP) üretir. CO₂ kanda akciğere taşınıp solunum yoluyla atılırken su, idrar, ter ve diğer vücut sıvılarıyla atılır. Yakıt oksidasyonu ile açığa çıkan ısı her ne kadar vücut ısısını korumak için kullanılırsa da yakıt oksidasyonunun esas amacı ATP üretmektir. ATP hücrede, biyosentetik reaksiyonlar, kas kasılması ve zarlar üzerinden aktif taşıma dahil enerji kullanan işlemlerin çoğunun yürümesi için gereken enerjiyi sağlar. Bu işlemler enerji kullandıkça ATP adenzin difosfat (ADP) ve inorganik fosfata (Pi) dönüşür. ATP'nin üretim ve kullanımına ATP-ADP döngüsü denir. Yakıtların ATP üretmek amacıyla oksidasyonlarına solunum denir. Oksidasyon öncesi karbonhidratlar esas olarak glukozu, yağlar yağ asitlerine ve proteinler aminoasitlere çevrilir. Glukoz, yağ asitleri ve aminoasitleri okside etmekte kullanılan yolların birçok nitelikleri ortaktır. Bu yollarda yakıtlar önce trikarboksilik asit (TCA) döngüsünün bir öncülü olan asetil KoA'ya oksitlenir. TCA döngüsü yakıtların tümüyle CO₂'e yıkılmasını tamamlayan bir dizi reaksiyondur. Oksidatif reaksiyonlar esnasında yakıtlardan kaybolan elektronlar, elektron taşıma zincirindeki bir dizi protein tarafından O₂'e aktarılır. Elektron transferine ait enerji oksidatif fosforilasyon adı verilen bir olayla ADP ve Pi'yi ATP'ye çevirmek için kullanılır (24).

2.1.1. Günlük Enerji Tüketimi

Kilo almadan veya vermeden enerji yönünden dengede kalmak istiyorsak ortalama olarak günlük enerji tüketimimize denk miktarda besin almak zorundayız. Günlük enerji tüketimi (DEE), baza1 metabolizma (bazal metabolik hız veya dinlenme metabolizma hızı) ve fizik aktiviteyi desteklemek için gereken enerji yanında yenilen yemekleri işlemek için gereken enerjiyi (diyetin indüklediği termogenez) kapsar (25).

2.1.2. Günlük Enerji Harcamasının Hesaplanması

Günlük total enerji harcaması mutad olarak RMR (istiharat metabolizma hızı, kcal/gün) artı çeşitli tipte fizik aktivitenin her biri için kullanılan zaman süresi için

gereken enerji şeklinde hesaplanır. Günlük enerji harcamasına ait yaklaşık bir değer RMR ve fizik aktivite için gereken RMR'nin uygun yüzdesi kullanılarak elde edilebilir(25).

2.2. Diyetel İhtiyaçlar

Diyetimiz bize yakıt ve biyosentez reaksiyonları için genel yapı taşlarını sağlamaya ek olarak sağlıklı kalmamıza yardım edecek spesifik besinleri de sağlar. Diyetle düzenli şekilde vitaminler ve mineralleri, esansiyel yağ asitleri ve esansiyel aminoasitleri almak zorundayız. "Esansiyel" terimi bu bileşiklerin diyet için esansiyel oldukları anlamına gelir; vücut bu bileşikleri diğer moleküllerden sentez edemez ve dolayısı ile diyetle alınmaları zorunludur. Sadece belli şartlarda vücudun diyetle almaya ihtiyaç duyduğu besinlere "koşullu esansiyel" adı verilir (24).

Diyetle Alınması Önerilen Miktar (RDA) ve Yeterli Alım (AI) besinsel ihtiyaçların nicel olarak belirlenmesine olanak sağlar. Bir besin için RDA, belli bir cinsiyet ve yaşam evresi grubundaki sağlıklı bireylerin hemen tümünde (%97-98) bunların gereksinimlerini karşılamak için hergün diyetle almaları gereken ortalama miktardır. Yaşam evresi grubunun anlamı belli bir yaş aralığı veya fizyolojik durumdur (örneğin, gebelik veya emzirme). RDA'nın hedefi bireylere alım için bir rehber sağlamaktır. AI ise RDA'yı kesinleştirmek için elimizde yeterli bilginin bulunmaması halinde önerilen alım miktarını belirtmek için kullanılır (25).

2.2.1. Karbonhidratlar

İnsan diyetindeki majör karbonhidratlar nişasta, sükröz, laktoz, fruktoz ve glukozdur. Büyük karbonhidratlar sindirimle kana emilebilecekleri monosakkaridlere dönüştürülür. Bir monosakkarid olan glukoz kandaki basit şekerdir. Karbonhidratların vücutta C_0_2 ve H_2O 'ya oksidasyonu yaklaşık 4 kcal/g enerji üretir. Karbonhidrat molekülleri önemli miktarda oksijen içerir ve bunlar daha vücuda girmeden önce kısmen okside edilmiştir. Diyetle alınması zaruri olan hiçbir karbonhidrat belirlenmemiştir. Karbonhidratlar aminoasitlerden sentezlenebilir ve bir tip karbonhidrat başka bir tip karbonhidrata dönüştürülebilir (25).

Öte yandan, diyetten karbonhidratlar tamamen çıkartıldığında sağlık sorunları ile karşılaşmış olup bu olayın nedeni kısmen, karbonhidrattan fakir bir diyetin ihtiyaç

duyduğumuz enerjiyi sağlamak için daha yüksek miktarda yağ içermesinin zorunlu oluşudur. Yağdan zengin diyetlere şişmanlık, ateroskleroz ve diğer sağlık sorunları eşlik etmektedir (26).

2.2.2. Yağlar

Bir triaçilgliserol molekülü, bir gliserol molekülü ile esterleşmiş 3 yağ asidinden meydana gelir. Yağlar karbonhidrat ve proteinlere göre çok daha az oksijen içerir. Bu nedenle yağlar okside edildiklerinde daha fazla indirgenir ve daha fazla enerji üretir. Triaçilgliserollerin vücutta CO_2 ve H_2O 'ya tamamen okside edilmesi yaklaşık 9 kcal/g enerji vermekte olup bu rakam eşdeğer miktarda karbonhidrat veya proteinin verdiği enerjinin iki katından fazladır. Ana yakıt depomuz, daha ziyade yağ olarak bilinen adipöz triaçilgliseroldür. 70 kg ağırlıkta ortalama bir erkekte yaklaşık 15kg depolanmış triaçilgliserol bulunmakta olup bu depo bu kişinin depolanmış toplam kalorilerinin yaklaşık %85'inden sorumludur. İki temel özellik adipöz triaçilgliserolu çok etkili bir yakıt deposu yapmakta olup bu özellikler yağların birim ağırlık başına karbonhidrat veya proteinden daha fazla kalori içermesi (9 kcal/g'a karşılık 4 kcal/g) ve adipöz dokunun fazla su içermemesidir. Adipöz doku sadece %15 kadar su içerirken kas gibi dokular % 80 kadar su içerir. Yani 15 kg depolanmış triaçilgliserole sahip 70 kg ağırlıkta bir kişide sadece 18 kg kadar adipöz doku mevcuttur. Hücrenin yapısı, yakıt depolanması veya hormon sentezi için gereken lipidlerin çoğunun karbonhidrat veya proteinlerden sentez edilebilmesine karşın optimum sağlık için diyetle bazı lipidlerin asgari bir düzeyde bulunmasına ihtiyaç duyarız. Esansiyel yağ asitleri olarak bilinen bu lipidlerin diyetle bulunmasına duyulan ihtiyacın nedeni çift bağların özel bir düzenleniş biçimine sahip olan bu yağ asitlerini sentez edemeyişimizdir. Esansiyel yağ asitleri olan α -linoleik ve α -linolenik asit diyetdeki bitkisel yağlarda, eikozapentaenoik asit (EPA) ve dokzaheksaenoik asit (DHA) balık yağında bulunur. Bunlar eikozanoidlerin (hücreler tarafından küçük miktarlarda salgılanan ve komşu hücreler üzerine çok sayıda önemli etkiler yapan hormona benzer bir molekül takımıdır) öncülleridir. Eikozanoidler prostaglandinler, tromboksanlar, lökotrienler ve bunlarla akraba diğer bileşikleri içerir(27).

2.2.3. Proteinler

Proteinler düz bir zincir yapacak şekilde birbirlerine bağlanmış amino asitlerden oluşur. Karbon, hidrojen ve oksijene ek olarak proteinler ağırlıklarının yaklaşık %16'sı kadar azot içerir. Sindirim işlemi ile proteinler, dolaşıma salınan yapıtaşları olan aminoasitlere çevrilir. Proteinlerin vücutta CO_2 , H_2O ve NH_4^+ tam oksidasyonu yaklaşık 4 kcal/g enerji sağlar. Vücutta protein pek çok önemli rol üstlenir; yağ ve glikojenden farklı olarak protein sadece bir yakıt deposu değildir. Vücut hareketleri için kas proteininin varlığı zorunludur. Diğer proteinler enzimler (biyokimyasal reaksiyonların katalizörleri) veya hücre ve dokuların yapı bileşenleri olarak görev yapar. Vücut fonksiyonlarını zora sokmadan yıkılabilecek vücut protein miktarı çok sınırlı olup 70 kg ağırlıkta ortalama bir erkekte yaklaşık 6 kg kadardır (27).

Proteine ait RDA, ideal vücut ağırlığının kilosu başına yaklaşık 0,8 g yüksek kaliteli protein veya erkek için yaklaşık 60 g/gün, kadın için 50 g/gün'dür. "Yüksek kaliteli" protein esansiyel aminoasitlerin tümünü yeterli miktarda içerir. Hayvansal kaynaklı proteinler (süt, yumurta ve et proteinleri) yüksek kalitelidir. Bitkisel besinlerdeki proteinler genellikle daha düşük kaliteli olup bunun anlamı bunlarda bir veya daha fazla sayıda esansiyel aminoasitin düşük miktarda bulunmasıdır. Vejetaryenler, aminoasit bileşimi yönünden birbirlerini tamamlayan sebze karışımlarını yiyerek esansiyel aminoasitleri yeterli miktarda alabilirler (27).

Proteinler ve diğer azot içeren bileşiklerin sentezinde öncül olarak vücutta farklı aminoasitler kullanılır. Protein ve diğer bileşiklerin sentezi için vücutta genellikle gereksinim duyulan 20 aminoasitten sekiz tanesi, bunların vücutta sentez edilemeyişleri nedeniyle erişkin insan diyeti için esansiyeldir. Bunlar lizin, lösin, izölösin, treonin, valin, triptofan, fenilalanin, metiyonindir. Bazı aminoasitler koşullu esansiyeldir, yani sadece belli koşullarda bunların diyetle bulunması gerekir. Çocuklar ve gebeler büyümeyi desteklemek açısından daha yüksek hızda protein sentezi yaparlar ve, vücutlarında sentezleyebilmelerine karşın gene de diyetle bir miktar arginin ve histidin almayı gereksinirler. Erişkinlerin histidini etkili biçimde geri dönüştürebilmesi nedeniyle bunların diyetinde esansiyel histidin miktarı çok düşüktür. Dolayısı ile çocuklar ve gebelerde histidine duyulan ihtiyacın artışı bunların diğer esansiyel aminoasitlere olan ihtiyaçlarındaki artıştan çok daha fazladır. Tirozin ve sistein koşullu esansiyel

olarak kabul edilir. Tirozin fenilalanininden sentez edilmekte olup diyetle fenilalanin alımının yetersiz olması halinde veya fenilalanini tirozine çevirmek için gereken enzimin doğmalık eksikliğinin bulunması halinde (doğmalık bir hastalık olan fenilketonüri) bunun diyetle alınması gerekir. Sistein, metiyoninden gelen kükürtün kullanılması ile sentez edilir ve bazı koşullarda bunun da diyetle alınması gerekebilir(26).

2.2.4. Vitaminler

Vitaminler sağlık, gelişme ve hayatta kalma için diyetle çok küçük miktarda alınmalarına gerek duyulan birbirlerinden farklı bir grup organik moleküldür. Latince *vita* yaşam demektir. Diyetle bir vitaminin olmayışı veya bunun diyetle yetersiz miktarda alınması karakteristik yoksunluk bulguları ve en sonunda ölümle sonuçlanır. Esansiyel aminoasit ihtiyaçlarıyla kıyaslandığında (gram ölçeğinde) diyetle vitaminlere duyulan ihtiyaç miktarları oldukça küçüktür (mikrogram veya miligram ölçeğinde). Vitaminler sıklıkla yağda ve suda çözünebilen vitaminler olmak üzere iki sınıfa ayrılır. Bu sınıflamanın vitaminlerin fonksiyonlarıyla pek az ilgili olmasına karşın bunların yağda çözünür vitaminlerin emilimi ve lipidlerle birlikte taşınması ile ilişkisi vardır. Vitaminlerin çoğu biyokimyasal reaksiyonları katalizleyen enzimlere yardım eden karmaşık organik moleküller olan koenzimlerin sentezi için kullanılır ve yoksunluk semptomları, hücrenin belli bazı reaksiyonları yürütemeyişini yansıtır. Öte yandan bazı vitaminler hormonlar olarak da etki gösterir (27).

2.2.5. Mineraller

Diyette pek çok minerale ihtiyaç duyulur. Mineraller genellikle elektrolitler (vücuttaki sıvı bölüklerinde çözünen inorganik iyonlar), mineraller (nispeten büyük miktarda gerekir), eser mineraller (daha küçük miktarlarda gerekir) ve ultraeser mineraller diye sınıflandırılır. Sodyum (Na^+), potasyum (K^+) ve klor (Cl^-) vücuttaki majör elektrolitlerdir (iyonlar). Bunlar zarlar üzerinde iyon gradiyentleri kurar, su dengesini sürdürür ve proteinlerle diğer moleküller üzerindeki pozitif ve negatif yükleri nötralize eder. Kalsiyum ve fosfor kemik ve dişlerin yapısal bileşeni olduğundan nispeten büyük miktarlarına gerek vardır. Kalsiyum (Ca^{+2}) vücutta daha pek çok rol oynar; örneğin, hormonların etki mekanizması ve pıhtılaşma olayına katılır. Fosfor, ATP oluşumu ve metabolizmadaki fosforlanmış ara ürünlerin üretilmesi için gereklidir.

Magnezyum pek çok enzimi aktivite eder ve keza ATP ile bir kompleks de oluşturur. Demir, hemoglobinin (kandaki oksijen taşıyan protein) bir bileşeni olarak işlev görmesi ve birçok enzimin yapısına girmesi nedeniyle özellikle önemli bir mineraldir. Çinko ve molibden gibi diğer minerallere çok küçük miktarlarda (eser ve ultra eser miktarlar) ihtiyaç duyulur. Kükürt esas olarak sistein ve metiyonin aminoasitleri içinde yer alır. Bağ dokuda ve özellikle kıkırdak ve deride bulunur (27).

2.2.6. Su

Su, insan vücut ağırlığının 1/2 ila 4/5'ini oluşturur. Her gün alınması gereken su miktarı vücut metabolizması tarafından üretilen miktar ile deri, solunan hava ve idrar ve dışkıyla atılan miktarlar arasındaki dengeye bağlıdır (27).

2.3. Obezite

Obezite, genetik- çevresel faktörlerin rol aldığı multifaktöriyel ve kompleks bir hastalıktır. Genel olarak vücuttaki yağ oranının anormal artışı olduğundan sadece vücut ağırlığının artışı obezite anlamına gelmez (28).

Yirmi birinci yüzyılda elde edilen veriler, hem gelişmiş, hem de gelişmekte olan ülkelerde, obezite prevalansının çok tehlikeli boyutta arttığını göstermektedir. Günümüzde obezite, beslenme yetersizliği ve infeksiyon hastalıkları gibi klasik halk sorunlarının önünde bir halk sorunu haline gelmiştir (29). Obezitenin etiolojisinde genetik, çevresel, nörolojik, fizyolojik, biyokimyasal, kültürel ve psikolojik pek çok faktörün etkili olması, hastalığın önlenmesini ve tedavisini son derecede güç hale getirmektedir.

Günümüzde obezitenin saptanmasında en sık kullanılan yöntem Beden Kitle İndeksi (BMI)'dir. Quetelet tarafından 1835 yılında tanımlanan BMI, bir asırdan fazla süredir kullanılmaktadır ve direkt dansitometreyle ölçülmüş vücut yağı miktarıyla korelasyonu iyidir (30, 31). Boy ve ağırlık ölçümlerinden yararlanılarak hesaplanan bir parametredir.

BMI = Ağırlık (kg) / boy (m)² formülü ile hesaplanır. Genel olarak BMI'nin 30 kg/m²'in üzerinde olması obezite kriteri olarak kabul edilmektedir (32).

BMI'ne göre sınıflandırılma Tablo-1'de gösterilmiştir. Hazır BMI cetvellerinin bulunması hesaplama işlerini ortadan kaldırmaktadır. Obezite dışında aşırı adale kitlesi bulunanlarda (örneğin sporcularda) yüksek BMI değerlerine rastlanabilir (33). BMI, vücuttaki yağ oranından daha çok vücut yağ miktarıyla ilişkili gözükmektedir. Aralarındaki korelasyon katsayısı 0.7-0.8 arasında değişmektedir (34).

BMI'den vücut yağını çıkaran formüller vardır (35). Bunlar:

$$\text{Vücut yağı \% (erkekler)} = [1.33 \times \text{BMI (kg/m}^2\text{)}] + [0.236 \times \text{Yaş(yıl)}] - 20.2$$

$$\text{Vücut yağı \% (kadınlar)} = [1.21 \times \text{BMI (kg/m}^2\text{)}] + [0.262 \times \text{Yaş(yıl)}] - 6.7$$

Şiddetli veya morbid obezite ile mortalite arasındaki ilişki kesindir, bununla beraber hafif ve orta derecede şişmanlık ile sağlık sorunları arasındaki ilişkiler ihtilaflıdır.

BMI ile birçok hastalığın risk faktörü açısından ilişkisi belirlenir. En düşük risk BMI 19'un altında görülür ve normal sınırlardaki BMI hafif ve istatistiksel olarak anlamsız bir mortalite artışı gösterir. Hiç sigara içmemiş kadınlarda yapılan analizlerde BMI ile kardiyovasküler hastalıklar, kanser ve diğer nedenlerle ölüm riski direkt ilişkilidir (36).

WHO (Dünya Sağlık Örgütü), çeşitli Avrupa epidemiyolojistlerince ufak değişiklikler dışında kabul edilen bir uluslararası sınıflandırma geliştirmiştir(40, 41). BMI; kg/m²; 25-29,9 arası fazla kilolu, 30.0-39.9 arası obez, 40 ve daha üstü ise morbid obeziteyi yansıtmaktadır (Tablo-1).

Tablo-1: BMI değerlerine göre fazla kilolu ve obezite sınıflandırması

| BMI (kg/m²) | WHO Sınıflandırması | Genel tanım |
|-------------------------------|----------------------------|--------------------|
| <18.5 | Düşük kilo | Zayıf |
| 18.5-24.9 | Sağlıklı, normal | Normal |
| 25.0-29.9 | Pre-obez | Fazla kilolu |
| 30.0-39.9 | Obez | Şişman(Obez) |
| >40 | Aşırı obez | Aşırı kilolu |

Aşırı kilo ve obezitenin neden olduğu sağlık riskleri BMI 25'in üzerinde progresif olarak artıyor gözükmektedir ve en azından endüstrileşmiş ülkelerde 20-22 arası değerin alınmasının yararlı olacağı kanıtlanmıştır (42).

2.3.1. Obezitenin Epidemiyolojisi

Obezite epidemiyolojisinin incelenmesi zordur. Çünkü birçok ülke vücut ağırlığının derecelendirilmesinde farklı kriterler kullanmaktadır. Obezite prevalansı, başta gelişmiş ülkelerde olmak üzere tüm dünyada hızla artmaktadır. Dünya sağlık örgütü verilerine göre obezite prevalansı 1995 -2005 yılları arası tüm dünyada % 50 artarak 300 milyona ulaşmıştır. Obezitenin tüm dünyadaki prevalansı %8.2 olarak hesaplanmıştır ve bu durum zayıflık prevalansından daha yüksektir (40).

Obezite herhangi bir yaşta başlayabilir. Çocukluk çağındaki obezite ile ileri yaşta obez olma arasında sıkı bir ilişki bulunamamıştır (47). Yaşa göre BMI infant döneminden yetişkin çağa kadar bir J-şekli oluşturur. Bu eğrinin tepe noktası genellikle 5-7 yaştır. Bu tepe noktası daha erken yaşta olursa (erken rebound obezite) yetişkin dönemde obezite şansı daha yüksektir (48, 49).

Çocukluk çağında başlayan obezite genel olarak yağ hücrelerinin sayısında artma ile karakterizedir. Erişkin çağda başlayan obezite ise hipertrofik tiptedir (50). Çoğu vakada obezite puberteden sonra gelişmektedir. Erişkin hayatın ilk yıllarında obezite gelişme sıklığı her iki cinsten de fazladır. Erişkinlerde en sık neden sedanter yaşamdır (51). Kadınlarda hamilelik de etkindir. Erişkin yaş grubunda obezitenin meydana gelmesi 60 yaşına kadar mutad iken, bu yaştan sonra mutad değildir (50). 20-74 yaşları arasındaki erişkinlerde kilo fazlalığı insidansının %24.2 olduğu bulunmuştur. Kilo fazlalığının prevalansı hem erkeklerde hem de kadınlarda yaş ile artmaktadır (52). Obezitenin başlama yaşı hastalık için risk faktörüdür. 40 yaş sınır olarak kabul edilir (50). 25 yaşının üzerinde olan insanlarda BMI değerinin artması ile sağlığı tehdit eden hastalıkların görülme riski de artmaktadır (53). Ülkemizde 1997-1998 yıllarında yapılan geniş kapsamlı TEKHARF (Türk Erişkinlerinde Kalp Sağlığı, Risk Profili ve Kalp Hastalığı) çalışmasında BMI ≥ 30 kg/m² olanların prevalansı erişkin erkeklerde %18.7, erişkin kadınlarda %38.8 idi. Obezite prevalansı, dünyanın bütün bölgelerinde tehlikeli boyutta artmaktadır (42).

American Obesity Association tarafından desteklenen bir çalışmada obezitenin, özellikle genç yaşta kişilerde yaşam süresinde ciddi azalmalara neden olduğu gözlemlenmiştir. BMI de artışla beraber cinsiyet ve yaş faktörleri göz önüne alındığında, obez bireylerin yaşam sürelerinde 13 yıla kadar azalmalar olduğu görülmüştür.

2.3.2. Obezitenin Etyolojisi

Obezite etyolojisini ana başlıklar halinde nöroendokrin sebepler, nutrisyonel dengesizlik, fiziksel inaktivite ve genetik sebepler olarak sayabiliriz (26).

Obezitenin etyolojisi genel olarak Tablo-2'deki gibi özetleyebiliriz (50, 54).

Tablo-2: Obezitenin Etyolojisi

| | |
|----------------------------------------|-------------------------------------------|
| Nöroendokrin obezite: | Nutrisyonel dengesizlik ve obezite |
| Hipotalamik sendrom | Yüksek yağlı, |
| Cushing sendromu | Kafeterya diyetleri |
| Hipotiroidi | |
| Psödohipoparatiroidi | Fiziksel inaktivite: |
| Postoperatif dönem | Yaşlılık |
| Hipogonadizm | İş ile ilgili olan |
| GH eksikliği | |
| İnsulinoma ve hiperinsulinizm | Genetik (Dismorfik) obezite: |
| İatrojenik obezite | X'e bağlı kromozomal |
| İlaçlar (psikotropik, kortikosteroid) | |

Diyet kompozisyonu obezite için bir etyolojik faktördür. Yüksek yağlı besin alanlarda, sukroz ihtiva eden içecekleri kullananlarda ve kafeterya tipi gıda tüketenlerde ihtiyaçtan fazla olarak alınan enerji yağ olarak depo edilmektedir. Özellikle sature (doymuş) yağ tüketimi ile BMI artışı arasında pozitif korelasyon vardır (50). Hipotalamik obezite insanlarda nadir olarak görülmektedir. Hipotalamusun ventromedial alanının travması hiperfajiye ve obeziteye neden olmaktadır. Hipotalamus fonksiyonlarındaki bu değişikliğe hiperinsulineminin de eşlik etmesi bu hastalarda obezite gelişmesine katkıda bulunabilir. İnsanlarda hipotalamik obeziteye genel olarak ventromedial alanın travmalarında, malignitelerinde ve inflamatuvar hastalıklarında rastlanılmaktadır (50).

2.3.3. Obezitenin Patolojisi

Yapılan çalışmalarda gelişmiş toplumlarda kişi başına düşen total kalori tüketiminde 1980 ve 1990 yılları arasında fark olmadığı görülmektedir. Toplum bireylerinde istirahat metabolizma hızında azalmaya yol açacak bir olay olmadığı ya da enerji metabolizmasını etkileyecek genetik mutasyonların söz konusu olmadığı düşünüldüğünde, son otuz yılda obezite sıklığındaki belirgin artışın en uygun açıklaması, günlük enerji tüketiminin azalması olabilir. Bunun nedeni olarak modern yaşam koşullarında günlük yaşamı kolaylaştıran değişikliklerin kişilerin enerji harcamasını giderek azaltması yatmaktadır. İşyerlerinde insan gücüne gereksinimin makineleşme nedeniyle giderek azalması, ev işlerinde yardımcı aletlerin kullanılması ile harcanan enerjinin azalması, evde ve işyerlerinde bilgisayarın kullanımının yaygınlaşması sonucu fizik aktivitenin azalması gibi.

İnsanda enerji metabolizması bilişsel (kognitif), gastrointestinal, endokrin uyarıların ve yağ dokusundan kaynaklanan sinyallerin rol aldığı kompleks bir süreçtir. Enerji tüketimi başlıca aşağıdaki yollarla olmaktadır: bazal metabolizma hızı (tüm enerji tüketiminin %65-75'i), gıdaların termik etkisi ve soğuğa termik cevap için harcanan enerji (tüm enerji tüketiminin %15'i) ve egzersiz ya da fizik aktivite sırasında harcanan enerji. Son bileşen sedanter bireylerde, günlük enerji harcamasının %15'ini oluştururken, aktif bireylerde %30-40'ını oluşturabilir (55,56). Besinlerin enerji tüketimi üzerinde farklı etkileri mevcuttur. Termogenez çalışmaları diyetle ilgili alınan enerjinin yağlarda %7'sinin, karbonhidratlarda %12'sinin ve proteinlerde %22'sinin ısı şeklinde kaybedildiğini göstermektedir. Bu durumda tüketilen besin tipleri de enerji dengesine katkıda bulunmaktadır. Total yağ tüketimindeki artışın, ağırlık ve beden kitle indeksinde artışla ilişkili olduğuna işaret eden epidemiyolojik çalışmalar mevcuttur(57).

İstirahat metabolizma hızı vücut ağırlığı ile arttığı için obez kişilerde termogenez de fazladır. Kilo kaybıyla birlikte termogenezin de azalması, uzun dönemde kilo kaybının sürdürülmesini ya da ulaşılan kilonun korunmasını zorlaştırmaktadır.

2.3.4. Obezitede Diyetel Öneriler

Obezitede tedavi etyopatogeneze göre düzenlenir. Sekonder obezitelere tedavi altında yatan nedenlerin tedavisi ile mümkün iken primer obezitede beslenme ve fizik aktivitesinin düzenlenmesi, davranış modifikasyonu, ilaç ve cerrahi tedavi şeklindedir(40,41,58).

Popüler inanışın aksine obezitenin diyet tedavisindeki amaç, karbonhidrat oranını artırmaktır. Çünkü karbonhidrat içeriği zengin besinlerin özellikle yağ ile karşılaştırıldığında yüksek doyurucu özellikleri vardır, Birçok çalışma yağın yalnızca en yüksek enerji yoğunluklu besin olmayıp zayıf doyurucu özelliklere de sahip olduğunu göstermiştir. Tablo-3’de günlük diyetsel besin alımını düzenleme yetenekleri açısından makro besinlerin özelliklerini özetlemektedir. Diyet tedavisi stratejilerindeki önemli bir konu da günlük enerji alımını azaltırken, yağı %30 veya total enerji alımının altında bir düzeyde kesmektir.

Tablo-3: Besinlerdeki yağ, protein, karbonhidratların özellikleri

| | Yağ | Protein | Karbonhidrat |
|--------------------------------------------------------------------------|------------|----------------|---------------------|
| Aşırı yemeyi sonlandırabilme yeteği | Düşük | Yüksek | Orta |
| Açlığı bastırabilme yeteneği | Düşük | Yüksek | Yüksek |
| Günlük enerji alımına etkisi | Yüksek | Düşük | Düşük |
| Enerji yoğunluğu | Yüksek | Düşük | Düşük |
| Vücutta depolanma kapasitesi | Yüksek | Yok | Düşük |
| Aşırı alımının diğer kompartmanlara aktarılmasını sağlayan metabolik yol | Yok | Var | Var |
| Otoregülasyon, alımda kendi oksidasyonunu stimüle eder. | Zayıf | İyi | İyi |
| Gram başına kalori | 9 | 4 | 4 |

Enerji alımında 500-1000 kcal/günlük bir azaltma 0,45-0,91 kg/haftalık bir kilo kaybının sağlanmasına yardımcı olacaktır. Yağ içeriği modifiye edilmiş besinler total yağ alımını düşürmek için yararlı bir strateji sağlayacaktır fakat kaloriler de azaltılırsa etkili olacaktır. Kan kolesterol düzeyleri yüksek olan hastalarda kolesterol alımı daha da kısıtlanabilir. Hastalar proteini bitki ve yağsız hayvan kaynaklarından almalıdırlar. Bütün lif tiplerinden zengin bir diyet ayrıca düşük kalori ve yağ düzeyleriyle erken doymayı arttırarak kilo tedavisine yardımcı olabilir. Kilo kaybı sırasında vitaminler, mineraller ve eser elementlerin yeterli miktarda idamesine dikkat edilmelidir. Tablo-4’de besinlerin önerilen günlük alımları verilmiştir (58).

Tablo-4: Besinlerin önerilen alımları

| Besin | Önerilen alım |
|----------------------------------------|------------------------------------------------|
| Kalori | Yaklaşık 500-1000kcal/gün daha az |
| Total yağ | %30 veya total kaloriden daha az |
| Doymuş yağ asitleri | Total kalorinin %8-10'u |
| Monoansatüre yağ asitleri | Total kalorinin %15ine kadar |
| Poliansatüre yağ asitleri | Total kalorinin %15'ine kadar |
| Kolesterol | <300mg/gün |
| Protein | Total kalorinin %15i |
| Karbonhidrat | %55 veya total kalorinin çoğunluğu |
| Lif | 20-30 gr/gün |
| Vitaminler,mineraller, eser elementler | Önerilen günlük alıma uygun doğal kaynaklardan |

2.4. Alzheimer Hastalığı (AH)

AH, ileri yaşlarda kognitif bozulma ve hafızanın yitilmesiyle kendini gösteren ilerleyici bir nörodejeneratif hastalıktır (59,60). Hastalarda zamanla şiddetli kognitif ve fiziksel yetersizlik meydana gelmektedir. AH, hafıza ve konsantrasyon kaybı, entellektüel bozulma, bozulmuş dikkat ve dil becerisi, apraksi, konfüzyon, duygu durum değişiklikleri, zaman ve yer dezoryantasyonu ile karakterizedir. Entellektüel fonksiyonlardaki bozulma, Alzheimer hastalarını günlük işlerini yapamaz ve yakın aile bireyleri ile iletişim kuramaz hatta onları tanıyamaz hale getirir. Bu da, Alzheimer hastalarını bütünüyle başkalarına bağımlı kılmaktadır (60).

Yaşlanmaya bağlı hafıza zayıflığı 65 yaş üstü kişilerin % 40'ını etkileyen bir durumdur. AH'lığı semptomları demansın diğer formlarına benzerdir. Yaşlanmayla insidansı artan AH'da beyinde bazı moleküler, biyokimyasal ve hücrel değişiklikler sinaptik disfonksiyon ve nöronal dejenesyona neden olmaktadır. Nöronal kayba ek olarak korteks ve hipokampüste bulunan, AH'lığının spesifik mikroskobik beyin lezyonları olarak bilinen senil plaklar ve nörofibriler yumakların varlığı; selektif nöron kaybı büzülmesi, sinaps kaybı ve amiloid anjiyopati ile karakterize nöropatolojik bulgular da mevcuttur (61,62,63,68).

AH'da beyinde ayrıca neokorteks, hipokampus ve subkortikal bölgelerde sinaps ve nöron kaybı da görülür. ApoE4 allelinin varlığı geç gelişimli AH için en güçlü

genetik risk faktörüdür (64,65). Orta şiddette kognitif bozulmaları olan yaşlı insanların günlük yaşamlarını sürdürebilme yeteneklerinde dramatik bir bozulma olmaz. Bununla beraber bu durum sıklıkla gelecekteki bir nörodejeneratif hastalığın belirtisi olabilir (66). AH'da makroskobik olarak; beyin atrofiye uğrayarak küçülmüş, sulkuslar genişlemiş, giruslar daralmıştır. Doku kaybına bağlı ventriküler genişleme vardır (67).

AH, nöronal hasar, sinaptik bozukluk ve nöron ölümü sırası ile giden ilerleyici beyin disfonksiyonu olan bir durumdur. Genellikle ilk değişiklik; nörofibriler yumak ve liflerdir. Bu değişiklikler; hastalığın nedeni, gelişimi ve progresyonu ile karışık bir şekilde ilişkilidir. Plaklar (amiloid birikim ve/veya nörotik plaklar) hastalığın son evresinde bulunur. İlk nörofibriler yumak ve lifler spesifik kortikal bölgelerde oluşur. Değişiklikler telensefalik korteksin diğer kısımlarına tahmin edilebilir ve gelişigüzel olmayan şekilde dağılır. Lezyonların dağılımındaki sıralı değişikliklerin seyri, yıkım sürecinin yavaş ve kademeli ilerlemesi evrelemenin temelini oluşturur. Hastalığın progresyonunda hiç gerileme olmaz. İlk amiloid birikimleri bazal neokorteksin myelinizasyonu az olan bölgelerinde oluşur. İntranöronal lezyonlar ilk olarak transentorhinal bölgede oluşur ve sıralı olaraktan diğer alanlara yayılır. Nöropatolojik açıdan AH altı evreye ayrılmaktadır. Evre I-II'de nörofibriler değişiklikler amiloid birikim olmadan oluşur. Vakaların bir kısmında erken amiloid birikimi ve/veya intranöronal değişiklikler görülmektedir. Bu lezyonların oluşumu için ileri yaş ön şart değildir. AH yaşla ilişkili ama yaşa bağımlı bir hastalık değildir. Evre III-IV'teki beyin hasarını derecesi sıklıkla ilk klinik semptomların görülmesine yol açar. Tam gelişmiş AH'nı gösteren evre V-VI'nın prevalansı yaşla birlikte artmaktadır (69).

Plaklar etrafındaki enflamasyonun komşu nöronların ölümüne katkıda bulunduğu düşünülmüştür. A β 'dan oluşan plaklar, A β ve onun prekürsör proteinin işlenmesinde bozukluk sonucunda oluşabilir. Genetik yatkınlık ve çevresel faktörlerin kombinasyonu sorumlu olabilir. Yüksek kan basıncı ve artmış kolesterol seviyeleri AH için artmış yatkınlığı olduğundan subklinik iskemi bu çevresel faktörlerden biri olabilir(71).

AH, multinörotransmitter eksiklik hastalığıdır. Serebral korteksteki en tutarlı değişiklik kolinerjik belirteçlerin (kolinasetiltransferaz ve asetilkolinesteraz) kaybıdır.

Ek olarak serotonin, noradrenalin, somatostatin ve kortikotropin salgılatıcı faktör eksiklikleri vardır (68).

1970'lerde AH olan hasta beyinlerinde dikkati arttıran ve öğrenmeye yardım eden önemli bir nörotransmitter, asetilkolinin eksikliği saptanmıştır. Bu buluş kolinerjik hipotezin (AH ile ilişkili kognitif, fonksiyonel ve davranışsal fonksiyon bozukluklarının, kolinerjik sinaps boyunca sinir hücresi impulslarının iletiminde yetersizlik nedeniyle olabileceği hipotezi) gelişimini sağlamıştır. Merkezi kolinerjik iletimde kayıp, AH'nın önemli patolojik ve nörokimyasal özelliği olan bazal ön beyin çekirdeklerinin dejenerasyonu ile indüklenir. AH'da hastalık süresince progresif nikotinik reseptör kaybı da tanımlanmıştır ve bu reseptörlerin hafıza ve öğrenmede rolünün olduğu saptanmıştır (74). Kolinerjik nörotransmisyonu iyileştirmek için ACh sentezini arttırılması, presinaptik ACh salınımını kuvvetlendirilmesi, postsinaptik muskarinik ve nikotinik kolinerjik reseptörlerin uyarılması ve kolinesteraz inhibitörleri ile degradasyonun azaltılması gibi farklı stratejiler denenmiştir (71).

En son olarak, AH'da kognitif düşüşün sinaptik kayıp ile iyi patolojik korelasyonu olduğu gösterilmiştir. Sinaptik disfonksiyon ve yetersizlik, AH'da erken görülmekte ve hastalığın ilerlemesini yavaşlatmada ve kognitif, fonksiyonel yetenekleri korumada koruyucu tedaviler için önemli hedeflerdir. AH'ında beynin çeşitli bölgelerinde sinaps yoğunluğunun azaldığı pekçok çalışmada gösterilmiştir (75). Nerve growth faktör (NGF) ve brain derived nörotrofik faktör (BDNF) gibi nörotrofinlerin nöronlar için gelişimi sürdürmekten çok sinaptik plastisitenin regülasyonunda anahtar rolü olabilir (76). NGF ve BDNF, pre-pro polipeptidler olarak sentezlenip, sekresyondan önce tipik olarak olgun moleküllere parçalanır. NGF hipokampusta, hipokampal nöronların postsinaptik tarafında bulunur ve depolarizasyon ve muhtemelen sinaptik aktivite ile regüle edilir. AH'nda sinaptik plastisitede BDNF veya NGF'nin işlenmesi ya da fonksiyonunda olası bozukluk daha ciddi şekilde araştırılmalıdır (77).

Sinaptik disfonksiyon AH'da erken bir olaydır ve nöronal kayıptan önce olduğu düşünülmektedir. Sinaptik proteinlerin, membran proteinlerinin, veziküllerin fonksiyonunda bozuklukları ve plastisite fonksiyonunda kaybı içeren çeşitli mekanizmalar sinaptik yetmezliğe katkıda bulunabilir (76).

2.4.1. Obezite ve Alzheimer Hastalığı İlişkisi

Obezite, birçok sistemde olduğu gibi sinir sisteminde de çeşitli patolojilere yol açmaktadır; özellikle serebrovasküler patolojiler ve hatta nörodejeneratif bozukluklara neden olabileceği bildirilmektedir. Bunlar arasında, özellikle ileri yaşlardaki bireylerde sıklığı %40'a kadar varabilen ve ilerleyici kognitif bozulmayla karakterize olan AH'nin obeziteyle ilişkili olduğu düşünülmektedir. Yaşlı popülasyonda obezite ve demansın birlikte prevalansı giderek artmaktadır. Yapılan birçok epidemiyolojik çalışmada BMI artmasının demans gelişiminde bir risk faktörü olmasıyla ilgili çelişkili sonuçlar bulunmaktadır (78).

Rachel A. Whitmer ve ark., yaptıkları epidemiyolojik bir araştırmada 1960-1970 yılları arasında ayrıntılı sağlık kontrolü yapılan 40 yaş civarı 10276 kişiyi çalışmaya almışlar. 27 yıl boyunca takip edilen bu çalışmanın sonucunda; orta yaşta obez olanların (BMI>30) %74'ünde, orta yaşta aşırı kilolu olanların (BMI=25.0 ile 29.9 arasında) %35'inde AH geliştiğini bulmuşlardır. Çalışmanın sonucunda obezlerde adipositlerden çeşitli protein, hormon ve inflamatuvar sitokinlerin salınımının AH riskini arttırmada rol alabileceği belirtilmiştir (79).

Obezitede kronik düşük grade'li inflamasyonun olduğu gösterilmiştir. Vücutta beyaz yağ dokusu enerji ve glukoz homeostazı konusunda hayati bir rol oynar (80); biyolojik olarak aktif adipokinleri (leptin, adiponektin, TNF α ve resistin) üretimini sağlamaktadır (81). Obezitede adiponektin hariç diğer hormonların serumda seviyeleri artar (82). Adiponektin insan plazmasında yüksek miktarda bulunur. Bu protein yağ dokusundan yağ asit oksidasyonunu arttırarak ve iskelet kası ve karaciğerde hücre içi trigliseridi azaltarak insülin sensitivitesinin artmasına yol açar (83). İnsülin, hafıza ve diğer beyin fonksiyonlarında önemli rol oynar. İnsülin rezistan sendrom, kronik olarak periferde insülin yükselmesi sonucunda insülin aktivitesinde ve beyin insülin seviyesinde azalma ile karakterizedir. AH'nin etyopatogenezinde insülin de sorumlu tutulmuştur. Yaşlanmada ve obezite hastalığında aşırı insülin salınımı mevcuttur. Ayrıca obezitede insülin rezistansı söz konusudur. Yaşlanma ve obezitede aşırı insülin salınımı eş zamanlı olarak A β amyloid ve inflamatuvar ajanların artmasıyla senkronize olur (84).

Obezlerde beyin fonksiyonlarının bozulma riskinin sağlıklılarından yüzde 35 fazla olduğunu ve bu rahatsızlığa kadınlarda daha sık rastlandığını belirtilmiştir (85). Obez kadınların AH'a yakalanma riski iki kat fazla olduğu tespit edilmiştir. Obezitenin beyin fonksiyonları üzerine olan etkisi henüz tam açıklanamamaktadır (86,87).

İngiltere'de yaklaşık yedi yüz bin demans hastası olduğu, bu sayının önümüzdeki 50 yılda bir buçuk milyona çıkmasının beklendiği belirtilmiştir. Fakat araştırmacılar, obezitenin mevcut düzeyde bir sorun olmayı sürdürmesi halinde bu sayının iki buçuk milyona çıkabileceği bildirmişlerdir.

Yapılan başka bir çalışmada da, 60 yaşında obez olanların, 75 yaşında demans olma ihtimalinin; obez olmayanlara göre iki kat olduğunu tespit etmişlerdir (88).

Obezite sadece erişkinlerde gittikçe sıklığı artan sağlık sorunu değil çocuklarda da ciddi bir problemdir. Gelişmiş toplumlarda çocukluk çağı obezitesi son yirmi yıldır dramatik bir şekilde artmaktadır (89). Giderek artan çocukluk çağı obezitesi de beraberinde kognitif problemleri getirmektedir. Ancak bu kognitif fonksiyon kayıpları tam olarak açıklanıp tanımlanamamıştır. Bir çalışmada obez çocuklarla normal kilolu çocuklara kognitif fonksiyonları ölçmek amacıyla çeşitli nöropsikolojik testler yapılmıştır. Bu yapılan testlerden olan WCST'de (Winconsin kart eşleme testi) hafıza kapasitesinin obez çocuklarda daha az olduğu tespit edilmiştir. Digit span testinde de (sayı menzilli testi) obez çocuklarda performansın daha düşük olduğu saptanmıştır. Sonuçta yapılan kognitif testlerin standartize edilerek yapılması gerektiği ve daha ileri çalışmalar ihtiyaç duyulduğu bildirilmiştir (90).

Finlandiya'da orta yaş grubundan yaklaşık 1400 kişinin katılımıyla yapılan çalışmada, 20 yıl sonra demans ve özellikle AH araştırılmıştır. Çalışmada yaş ve düşük eğitim düzeyi gibi unsurların yanında yüksek tansiyon, kolesterol düzeyinin yükseldiği ve obezitenin de demansla bağlantılı olduğu ortaya koyulmuştur. Yapılan çizelgeyle kişinin demans olma riski hesaplanmıştır. Obeziteyle ilgili risk faktörleri konusunda erkenden önlemler alınmasının veya gerekli ilaç tedavilerine başvurulmasının ilerleyen yıllarda demans riskini azalttığı belirtilmiştir (70).

AH'da özellikle temporal ve parietal loblarda ileri dönemde ise frontal loblarda atrofi ortaya çıkar. Gustafson ve ark., BMI yüksekliği ile serebral atrofi arasında ilişkiyi incelemek için sağlıklı 290 kişiyi çalışmaya almışlar ve 24 yıl boyunca takip etmişler.

Temporal atrofi gelişen kişilerde BMI'nın 1,1-1,5 kg/m² daha fazla olduğunu tespit etmişler (91). Temporal atrofi gelişimini açıklamak için birçok analiz yapılmış ve temporal atrofiye neden olabilecek tek bulgu yüksek BMI olarak gösterilmiştir. Her 1,0 kg/m² BMI artışıyla %13-16 oranında temporal atrofi riski arttığı tespit edilmiştir. Sonuçta yüksek BMI ile AH'lığı ilişkisine dikkat çekmişlerdir (92).

Obezite, kognitif bozukluklardan olan demansın iki major formu olan AH ile vasküler tip demansa da neden olabileceği belirtilmiştir (93). Bazı araştırmacılara göre yaş ile ilişkili hafıza kayıplarında obezitenin major bir risk faktörü olmadığı açıklanmıştır (94).

Farklı çalışmalarda orta yaşlarda BMI'in artmasının AH'lığı için risk faktörü olup olmadığı konusunda çalışmalar yapmışlardır. Whitmer ve ark. kadınlarda BMI yüksekliğinin, AH gelişme riskinin erkeklere göre daha fazla olduğunu, Kivipelto ve ark. ise orta yaş grubunda obezitenin AH için risk faktörü olmadığını bildirmişlerdir. Rosegren ve ark., Kalmijn ve ark., yaptıkları iki ayrı çalışmada ise sadece erkeklerdeki BMI'in yüksekliği ile AH ilişkisi incelenmiş ve obezitenin AH'lığı için bir risk faktörü olduğunu belirtmişlerdir. Bu çalışmalara bakarak obeziteyle AH ilişkisini kesin doğrulamak mümkün gözüküyor. Obezite ve AH'lığı altında yatan mekanizmayı anlamak için uzun dönem iyi organize edilmiş çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır (78).

2.5. Kalori Kısıtlaması

Kalori kısıtlaması, yoğun araştırmalara konu olmuş ve olmaya devam eden bir alandır. Kalori kısıtlaması, esansiyel besin gereksinimi sürdürülürken alınan kalorinin azaltılmasıdır ve ciddi açlıktan farklıdır (93). Bir başka ifadeyle malnütrisyonu ve spesifik besinlerde eksikliğe neden olmadan gıda alımının azaltılmasıdır (94). Karbonhidrat, yağ ve proteinden oluşan total kalorinin %25 ila %60 oranında kısıtlanarak deney hayvanlarında birçok çalışma yapılmıştır (95). İnsanlarda kalori kısıtlamasının etkilerini gösteren uzun süreli kontrollü çalışmalar mevcut olmamakla birlikte deneysel çalışmalarda hayvanlarda birçok faydalı etkileri gösterilmiştir (96).

2.5.1. Metabolik Etkileri

Hayvan deneylerinde enerji defisitinin, hem yağ kitlesinde hem de yağsız vücut kitlesinde belirgin azalmaya neden olduğu bildirilmiştir. Yaşla birlikte kas kitlesi

belirgin olarak azalır, fonksiyon kaybı oluşur ve kütle/vücut ağırlığı oranı azalır (97). Kısa dönemde metabolik hız geçici olarak yavaşlayabilir, uzun dönemde kg başına düşen metabolik hız değişmez (98). Son olarak uzun dönem kalori kısıtlamasında bazı biyokimyasal ve moleküler adaptasyonlar gelişir; vücut ısısı, kalp hızı, kan basıncı, glukoz ve insülin seviyeleri azalır (99). Hormonal, fizyolojik ve biyokimyasal adaptasyonlara sekonder ömrün uzaması ve hastalıkların önlenmesi görülür. İnsülin seviyeleri, tiroid aktivitesi, gonodotropik ve somatotropik akslar yavaşlarken hipotalamus-pituter-adrenal aks yükselir (100).

J.O.Holloszy ve ark. yaptıkları retrospektif çalışmada kalori kısıtlamasının insan vücudundaki fizyolojik değişimlerini ortaya koymuşlardır. Elli yaş ortalamasına sahip erkek ve kadınlarda kalori kısıtlaması sonrası BMI'in, total vücut yağının, torakal yağın, sistolik ve diastolik kan basıncının, total kolesterol (LDL azalmış, HDL artmış), trigliserid, glukoz, insülin, TNF α , CRP, TGF β 1, T3 düzeylerinin azaldığını tespit etmişlerdir (101).

Fontana ve ark., uzun dönem kalori kısıtlamasının aterosklerotik risk faktörlerine etkisini araştırmışlar. On sekiz gönüllü 3-15 yıl optimum besinle 1112-1958 kcal/gün, kontrol grubu ise 1976-3537 kcal/gün almışlar. Kalori kısıtlaması yapılan grupta; glukoz, insülin, kan basıncı, total kolesterol, LDL, trigliserid düşmüştür, HDL yükselmiştir. Sistemik inflamasyon markeri, aterosklerotik risk faktörü olan CRP azalmıştır. Bu verilerle kalori kısıtlamasının ateroskleroz riskini azalttığı öne sürülmüştür (105). PON 1 (paraxonase); HDL, Apolipoprotein A1(Apo A-1) ve ApoJ ile yakından ilişkilidir ve antiaterojenik etkilerinde rol oynar. PON 1 aynı zamanda LDL'nin okside LDL haline dönmesini engeller. Elena ve ark. yaptıkları çalışmada ratlara 14 hafta boyunca %40'luk kalori kısıtlaması yapmışlar; erkek ve dişi ratlarda PON 1 seviyesinin yükseldiğini gözlemlemişlerdir (102).

Bir başka çalışmada da kalori kısıtlamasının insülin sensitivitesinin artmasını, trigliserid, total kolesterol, LDL kolesterol seviyelerinin azalmasını, HDL kolesterolün artmasını sağlayarak serebravasküler hastalıkların insidansını azalttığı bulunmuştur (103). Biosphere 2 adlı deney (Arizona çöllerinde 1.2 hektarlık bir arazi üzerine kurulu balonda, çevresinden soyutlanmış bir ortamda kurulan ekosistem) bu konuya açıklık getirmesi bakımından önem kazanmaktadır. Bu çalışmaya dört erkek, dört kadın

katılmış. 2 yıl boyunca yapılan %30 kalori kısıtlaması sonrası fizyolojik ve biyokimyasal ölçümlerinde katılımcılarda metabolik hız, vücut ısısı, kan basıncı, kan glukozu, insülin ve troid hormonlarında azalma saptanmış. Bu değişiklikler deney hayvanlarında yapılan sonuçlarla benzer bulunmuştur (104).

Kalori kısıtlaması, enerji üretiminde rol oynayan hepatik glikolizdeki anahtar enzimlerin ekspresyonunda azalmaya, glukoneogenezdeki anahtar enzimlerin ekspresyonunda artmaya, kas metabolizmasından sağlanan nitrojende azalmaya yol açmaktadır (105). Kalori kısıtlaması krebs siklusunda: sitrat sentaz, akonitaz, NAD bağımlı izositrat DH'ın aktivitesini azaltır, fumaraz aktivitesini artırır. Sitrati, glutamati, α -ketoglutarati azaltır; malatı artırır, aspartati değiştirmez. Alfa-ketoglutarat/glutamat ve malat/alfa-ketoglutarat oranları artar. Ayrıca glukagon, pirüvat karboksilaz enzim aktivitesi artar. Sonuçta beyin gibi glukozun gerekli olduğu dokulara glukoneogenez yoluyla glukoz sağlar (106).

Kalori kısıtlamasının, organlardaki fonksiyonel hücrelerde proliferasyona yol açtığı bildirilmiştir. Örneğin testiste leyding hücrelerde, pankreasda insülin üreten hücrelerde, hipofizde somatotrop hücrelerde proliferasyonu arttırmaktadır. Ratlarda parsiyel hepatektomi sonrasında kronik orta dereceli bir kalori kısıtlamasının karaciğerde daha hızlı rejenerasyona neden olduğu gösterilmiştir (107).

Günümüzde kalori kısıtlamasının insanlar üzerine etkilerini tanımlayan veriler nadirdir. İnsanlarda kalori kısıtlaması ile ilgili yapılan çalışmalar deney hayvanlarındakine benzer şekilde bulunmuştur. Bütün memeli hayvanlarda kalori kısıtlamasının sağlığa yararları insanlarda da tespit edilmiştir.

2.5.2. Sistemik Hastalıklara Etkisi

Kalori kısıtlamasının birçok deneysel hayvan üzerinde olan çalışmalarda geniş bir hastalık spektrumunu engellediği tespit edilmiştir. Vücuttaki hücreler yaşamı ve fonksiyonlarını devam ettirmek için enerjiye gereksinim duymakla birlikte, uzun süreli aşırı kalori alımı hücre fonksiyonlarını yavaşlatmakta ve kardiyovasküler hastalıklar, Tip 2 diyabet ve kanser gibi hastalıkları ilerletmektedir. Buna göre kalori kısıtlaması ya kalori alımının azaltılması ya da vitamin ve mineral takviyesiyle birlikte uzun aralıklı beslenme şeklinde olursa hastalıklara direnci arttırabilir (108).

Kalori kısıtlamasının hayvan modellerinde sağlık ve uzun yaşam üzerine birçok olumlu etkisinin olduğu bilinmektedir. Kemirgenlerde kilo kaybıyla karsinogenesisin gerilediği gösterilmiştir. Ayrıca toksisiteyi baskıladığı tespit edilmiştir (109). Ann Arbor, kalori kısıtlamasının insanda da benzer etkiler oluşturduğunu, % 33 kalori azaltımı, ateroskleroz, kalp krizi ve kanser riskini düşürdüğünü, DNA hasarını azalttığını, metabolizmayı yavaşlatarak hücre yıpranmasını önlediğini belirtmektedir (110). Ayrıca diyabet, nörodejeneratif ve otoimmün hastalıklara karşı koruyucu etkisinin olduğu düşünülmektedir (111). Birçok yıldır bilinen kalori kısıtlamasının bu faydalı etkilerinin altında yatan mekanizmalar açık değildir. Spesifik organ sistemleri arasında metabolik, nöroendokrin ve apoptotik değişikliklerdeki farklılıklar kalori kısıtlamasının etkilerinin anlaşılmasını kompleks haline getirmektedir.

2.5.3. İmmunolojik Etkileri

Kalori kısıtlaması, immünolojik durumu geciktirerek, TGF'yi azaltarak, genomik stabiliteyi arttırarak yaşlanmayla ilişkili hastalıkların görülme sıklığını azaltır (94). Kalori kısıtlaması yapılan kişilerde CRP ve diğer sitokinlerin düşük bulunması, kronik enflamasyonun sebep olduğu hasarın azaldığını göstermektedir. Ayrıca yaşlanmaya bağlı immünite kaybını azalttığı bildirilmiştir (112, 113, 114).

Kalori kısıtlamasının, karaciğer, genital sistem, immun sistem hücrelerinin büyümelerini stimüle eder. Yapılan deney çalışmalarında ratlarda lenfosit, naturel killer hücrelerinin ve dalaktaki immun stimülasyon ajanların artmasını sağladığı görülmüştür.

2.5.4. Oksidatif Stresle İlişkisi

Kalori kısıtlaması ile oksidatif hasar ve oksidan ajanların üretimi azalır (115). Kabul gören kuramlardan biri hafif kalori kısıtlamasının serbest radikallerin yol açtığı hasarları azalttığı yönündedir. Malnütrisyon olmadan orta derecede kalori kısıtlamanın intrinsik hasar ajanlarını azalttığı (O₂ radikalleri gibi), yaşla artan glial fibriler asidik proteini ve DNA'da oluşan oksidatif hasarı azalttığı tespit edilmiştir (116).

Aerobik organizmalarda oksijen kullanımının doğal sonucu olarak reaktif oksijen metabolitleri (ROM) meydana gelmektedir. Başta mitokondriyal elektron transportu olmak üzere ksenobiyotik metabolizması, fagositik aktivasyon, çeşitli sentez ve degradasyon reaksiyonlarında ROM oluşmakta ve prooksidan/antioksidan dengenin

prooksidanlar lehine kayması sonucunda gelişen oksidatif stres, çeşitli mekanizmalar ile biomoleküllere hasar vermektedir (117). Tüm organizmalarda, normal metabolizma ve çevresel ajanlara maruz kalma sonucunda reaktif oksijen metabolitleri (ROM) oluşur. ROM'un DNA'ya etkisi sonucunda çok çeşitli DNA hasar ürünleri oluşur. Günümüzde 8-hidroksi deoksiguanozin (8OHdG) oksidatif DNA hasarının göstergesi olarak kabul edilmektedir. En fazla oluşan oksidatif DNA lezyonlarından biri olan 8OHdG, DNA replikasyonu esnasında G/C, T/A transversion mutasyonuna neden olur. ROM'un hem başlıca oluşum yerleri hem de hasar yapıcı etkilerinin en önemli hedefleri mitokondrilerdir. Yaşlanma ile biriktiği saptanan oksidatif mitokondrial DNA (mtDNA) lezyonları mitokondriyal fonksiyon bozukluğunun başlıca nedenidir. Özellikle yaşla artan mtDNA delesyonları postmitotik beyin ve iskelet kasında birikime uğramaktadır. Postmitotik dokularda mitokondride ROM oluşum hızının hayvanlarda yaşam süresi ile ters ilişkili olduğu saptanmıştır. Mitokondri disfonksiyonu biyoenerjide azalma, organ disfonksiyonu ve apoptoz ile sonuçlanır. Şiddetli ve kalıcı oksidatif stres varlığında gerçekleşen apoptoz, yaşlanma ile insidansı artan Alzheimer ve Parkinson hastalıklarında artmaktadır. Mitokondrial ROM oluşumunu ve DNA hasarını azaltan kalori kısıtlaması yaşlanma hızını azaltan tek deneysel manipülasyondur (118).

2.5.5. Gen Düzeyinde Etkileri

Richard Weindruch ve ark, ileri derecede açlık oluşturan rejim sonucu genlerdeki değişimi incelemişler. 5 aylık ve 30 aylık farelerin kas hücrelelerindeki 6347 genin faaliyetini ölçmüşler. 30 aylık farelerdeki 58 genin faaliyetinin iki katına çıktığı, 55 gen ise bunun yarısı kadar aktif olduğu görülmüştür. 5 aylık ratlarda, gen faaliyetlerinde yaşlanmayla ortaya çıkan değişikliklerin ertelendiği belirtilmiştir (119). Kalori kısıtlaması ile daha uzun ve daha sağlıklı yaşaması sağlanan hayvanlarda mtDNA'da daha az mutasyon birikimi olduğu saptanmıştır (118).

Leonard Guarente ve ark, SIR2 adı verilen genin bu konuda en önemli rolü üstlendiği üzerine çalışmaktadırlar. Maya hücrelerinin daha uzun yaşamasına neden olan bu gen kalori miktarındaki kısıtlamayla yakından ilgili olduğu üzerinde durulmaktadır. Mantar deneylerinde kalori kısıtlamasının DNA'yı stabil tutan SirT1 deasetilaz salgılatan SirT1 genini aktive ederek yaşam süresini uzattığı gösterilmiştir. Benzer çalışmalar rodentler, balık, örümcek ve diğer hayvanlarda da gösterilmiştir(120).

Kalori kısıtlaması, hücre tamiri, protein sentezi ve glukoz metabolizmasını içeren genlerde değişikliklere yol açar (121). Oksidatif stres ve inflamasyonu içeren genler inhibe edilir. Böylece yaşla oluşan hücre fonksiyonundaki düşüş azaltılabilir (122). Genç ve yaşlı rat beyinlerinde yüzlerce protein kodlayan mRNA düzeyi ölçülmüştür. Kalori kısıtlaması yapılanlarda gen ekspresyonunun yaşlanmaya bağlı değişikliğinin önlenildiği görülmüştür. Oksidatif strese cevap, doğal immünite ve enerji metabolizmasını içeren genlerin ekspresyonu yaşla etkilenir ve kalori kısıtlaması ile önlenir (116).

2.5.6. Yaşlanma ve Kalori kısıtlaması ilişkisi

Kalori kısıtlamasının deney hayvanlarında yaptığı fizyolojik-biyokimyasal değişikliklerin ve yaşamı uzatmadaki etkisinin insanlarda da olabileceği muhtemeldir. Şimdilik insanlarda kalori kısıtlamasının etkilerini tanımlayan veriler oldukça sınırlıdır (124). Kalori kısıtlaması yaşam süresini maksimum uzatan tek deneysel manipülasyondur. Kalori kısıtlamasının yaşamı uzattığı ilk kez 1935 yılında ortaya çıkmıştır. Uzun süreli kalori kısıtlaması, esansiyel besinler yeterli olmak kaydı ile, yaşam süresini uzatır, yaşlanma sürecini yavaşlatır, yaşa bağlı olarak görülme sıklığı artan hastalıkları (kanserler, immün bozukluklar, diyabet, katarakt, hipertansiyon, böbrek yetmezliği) geciktirir (125). Böyle hastalıkların önlenmesi ortalama yaşam süresini uzatmanın yanında ayrıca yaşam kalitesini yükseltmekte ve sağlık harcamalarını azaltmada büyük rol oynamaktadır. Kalori kısıtlamasının hayvanlarda oluşan fizyolojik ve biyolojik etkileri insan yaşamında çok farklı olabilir. Bazı bilim adamları da insanlarda maksimal ömrün, genetik olarak sınırlı olabileceğine inanmaktadırlar (126). Son çalışmalarda kalori kısıtlamasının yaşlanmaya geciktirici etkisini, nörogenesisini stimüle ederek, inflamasyonla ilişkili gen ekspresyonunu ve strese cevabı azaltarak sağladığı belirtilmiştir (127).

Ray Walford ve ark., insan ömrünü uzatmanın en etkili yolunun kalori kısıtlaması olduğunu açıklamışlardır. Michigan, Washington ve Wisconsin üniversitelerinin 5 yıl süren araştırmalarında, insanla benzer fiziksel özellikler gösteren maymunlar incelenmiş. İki ayrı diyet tabii tutulan maymunlardan düşük kaloriyle beslenenlerin, daha sağlıklı kaldıklarını ve daha uzun yaşadıklarını göstermişlerdir(128).

Gifford ve ark., solucan ve kemirgen gibi hayvanların az yedikleri zaman ömürlerinin uzadığını görmüşlerdir. Normal olarak 40 ay yaşayan fareler, normalden yüzde 60 oranında daha az beslenirlerse yaşam süreleri 56 aya çıkabildiğini tespit etmişlerdir (127).

Uzun dönemde insan ömrünü nasıl uzatacağı konusunda yakın sonuçlarını görebilecek bulgu yok; fakat Okinowa popülasyonunda insanlarda uzun dönem kalori kısıtlamanın etkilerini içeren gözlemler tespit edilmiştir. Okinowa popülasyonu mortalite ve morbitide yönünden uzun ömrü olan bir popülasyondur. Okinowa popülasyonunda 60-64 yaş arasındaki insanlarda ölüm oranı USA topluluma göre %50 daha azdır. Kalp hastalığına, kansere ve inmeye bağlı ölüm oranı Japonlara göre %30-40 daha azdır, USA toplumuna göre bu oran daha da düşüktür. Japonlara göre %20,USA'a göre %40 daha düşük kalori içeren besinleri tüketen Okinowa popülasyonunda uzun yaşamın sırrı diyetlerine bağlanmıştır; Diyetleri esas olarak sebze, meyve, soya sosu, tahıl, deniz ürünleri içermektedir (129).

2.5.7. Kalori Kısıtlaması ve Alzheimer hastalığı

DeneySEL kalori kısıtlamasının bilişsel işlevleri doğrudan etkilediği bir çok çalışmayla gösterilmiştir (130). Nancy ve ark., AH'nin progresyon ve gelişme hızını beslenmenin önemli derecede etkilediğini bildirmişlerdir. İnme, DM ve diğer vasküler hastalıklarda olduğu gibi AH'de de aşırı kalori alımının bir risk faktörü oluşturduğunu belirtmişlerdir (130). Bununla birlikte beslenme içeriği de önemlidir. Örneğin meyve ve sebze tüketiminin kognitif ve fiziksel fonksiyonların gelişmesinde önemli olup özellikle C ve E vitaminlerinin antioksidan rolleri dolayısıyla öğrenme ve hafızada rol aldığı belirtilmiştir. Hastalığın hangi aşamasında olursa olsun, canlı kalan nöronların korunması çok önemlidir (131). Kalori kısıtlamasının, APP mutant farelerin beyinlerinde amyloid β peptidlerin birikimini azalttığı belirtilmiştir (132). AH'nin nedeni halen bilinmemekle beraber hücre dejenerasyonunun mekanizmaları arasında inflamasyonun yeri ile ilgili önemli bilgiler vardır. Ayrıca normal yaşlanma sürecinde de kronik bir inflamasyon meydana gelmektedir. İnflamasyonun kognitif fonksiyonlara etkisi bilinmemektedir. Fakat yapılan bazı çalışmalarda lipopolisakkaritlerin indüklemesiyle oluşan akut inflamasyonun genç ratlarda hafızayı zayıflattığı görülmüştür. Bu

inflamasyon ile indüklemiş hafıza bozukluğunun kalori kısıtlaması ile önlenebildiği görülmüştür (133).

Ayrıca kalori kısıtlamasının obez kişilerde proinflamatuvar faktörleri azalttığı, antiinflamatuvar molekülleri arttırdığı saptanmıştır. Obez kişilerde akut faz reaktanı olan amyloid A, matür adipositlerde yüksek bulunmuşken, kalori kısıtlamasından sonra amyloid mRNA'sının azaldığı görülmüştür (134).

Yapılan birçok epidemiyolojik çalışmada da yüksek kaloriyle beslenmenin AH riskini arttırdığı vurgulanmıştır. M.Otsuka ve ark, 27 Alzheimer hastası, 15 vasküler demanslı hasta 49 sağlıklı yaşlı kontrol grubunun diyet alışkanlıklarını karşılaştırmışlardır. Beslenme durumu, yeme alışkanlığı anketiyle semikantitatif olarak değerlendirilmiştir. Diyet alışkanlığı Alzheimer hastalarıyla ve vasküler demanslı hastalarda benzer bulunmuş; kontrol grubuna göre Alzheimer hastalarında %25, vasküler demans hastalarında %35 daha fazla kalori aldıkları tespit edilmiştir. Böylece beslenmenin demans patogeneziinde etkili olan nedenlerden olduğu bildirilmiştir. Daha yüksek kalori ve daha düşük antioksidan alımının AH'de etkili olduğu bildirilmiştir(128).

İyonotropik glutamat reseptörleri olan NMDA reseptörleri, AH araştırmalarında büyük oranda ilgi çekmiş ve ekspresyonlarıyla ilgili pek çok çalışma yapılmıştır. NMDA reseptörlerinin öğrenme ve bellek oluşumuna aracılık ettikleri, ayrıca demans ve AH patogeneziyle ilişkilerinin olduğu belirtilmektedir (135). NMDA reseptörlerinin glutamatla aşırı uyarımı, eksitotoksiste diye adlandırılan ve nöronlarda hasar oluşturarak, nörodejeneratif bozuklukları doğuran bir dizi olayı başlatmaktadır. Ancak AH' da NMDA reseptör uyarısının azaldığı belirtilmektedir tutulmuş beyin bölgelerinde, sıklıkla NMDA reseptör kaybına sebep olmaktadır (136,137). Wang ve ark. AH sebebiyle ölen hastaların ve kontrol grubu bireylerin beyinlerinde, hipokampus, frontal korteksde NMDA reseptör subunit düzeylerini ölçmüşlerdir. Sonuçta AH sebebiyle ölen hastaların hipokampus ve frontal korteksde NR1, NR2A ve NR2B subunit düzeylerinde orta dereceli azalma olduğu bulunmuştur (138).

Bunlara ek olarak NMDA reseptörleri üzerinde sınırlı, non-kompetitif inhibisyon oluşturan memantin AH tedavi seçenekleri arasına girmiştir. Bu veriler NMDA reseptörlerinin AH etyopatogeneziinde rol oynayabileceğini ve ayrıca hastalık

progresyonu sırasında etkilenen beyin bölgelerinde reseptör düzeyi ve aktivitesinin değişebileceğini düşündürmektedir. AH'nın oluşumuyla ilgili etyolojik mekanizmalar açık değildir ve geliştirilen tedaviler hastalığı tam olarak ortadan kaldıramamaktadır.

2.5.8. Kalori Kısıtlamasının Muhtemel Nöroprotektif Etkileri

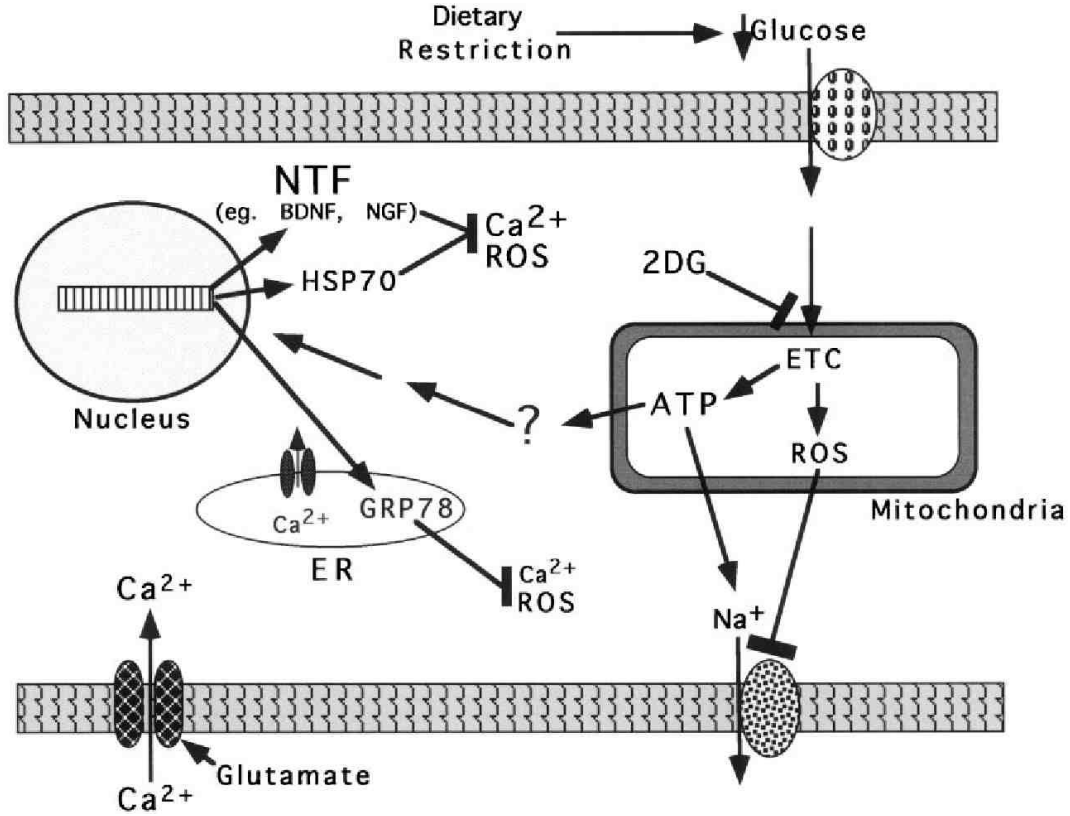
Kalori kısıtlamasının yaşlanmaya olumlu etkilerini gösteren çalışmalar insanlara model oluşturabilecek laboratuvar koşullarında yürütülmüştür. Kalori kısıtlaması, ömür boyu sürmesi yaş-ilişkili dejeneratif sonuçlara karşı koruyucu olması açısından tercih edilen bir metottür. Ratlarda kalori kısıtlamasıyla, mitokondriyal toksinlere (mitopropiyonik A ve malonata) maruz kalmaya bağlı oluşan beyin hasarı azaltılabilmektedir (94).

Kalori kısıtlamasının bu olumlu etkilerinin temelinde oksidatif hasarın azaltılması sinir gelişim faktörlerinin uyarılması ve sinaptik plastisitenin artırılması gibi mekanizmalar öne sürülmüştür. Kalori kısıtlamasının yapılan deney hayvanlarında spontan aktivite ve superior kognitif faaliyetlerinin ad libitum grubuna göre daha fazla olduğu bulunmuştur (139).

Kalori kısıtlaması hayvan modellerinde Alzheimer, Parkinson, Huntington ve inme gibi nörodejeneratif hastalıklarda nöronları koruyabilir. Dahası hücrelerde yeni nöronların üretimini stimüle edebilir (nörogenesis) ve sinaptik platisiteyi artırabilir ki böylece yaşlanmaya karşı beyinde direnç ve yaralanmayı takiben tamir fonksiyonu artar. Kalori kısıtlaması özellikle de aralıklı beslenmek, nöronal plastisiteyi ve oksidatif metabolik ürünlere direnci artırır (140). Bu etkileri BDNF, Hsp gibi proteinleri aracılığıyla yapar. Hsp70 ve nörotropin gibi sitoprotektif proteinlerin sentezini sağlayan gen ekspresyon stimülasyonu ile oksidatif hasarın azaltılması kalori kısıtlamasının nöroprotektif etkilerinden öne sürülen hipotezlerdir (141). Şekil 1'de gösterilmiştir.

Rat hipokampüsünde nörotropinler bol miktarda bulunur ve en fazla olan nörotropin BDNF'dir (142). Nörotropinler nörogenezisi düzenler, hücre yaşamaı artırır. Tirozin kinaz B (TrkB) reseptörü hücre içi sinyalizasyonda önemli rol oynar, nörotropinler tirozin kinaz B reseptörüne bağlı sinaptogenezisin aktivitesini artırır. Aralıklı beslenme uygulanmış rat hipokampüsünde BDNF'nin arttığı gözlenmiştir. Uzun olmayan kalori kısıtlamasında BDNF'de herhangi bir değişiklik görülmemiştir(143).

Bir çalışmada 2 aylık ratlara 6 ay boyunca %40 kalori kısıtlaması yapılmış. Dentat granül hücrelerinde BDNF ve TrkB ekspresyon ve sentezinin artıp artmadığı incelenmiş. BDNF'nin granül hücrelerinde kontrole göre %15 azaldığı tespit edilmiş, ancak BDNF mRNA seviyesinde herhangi bir değişiklik saptanmamıştır (144).



Şekil 1: Yaşlanmayla ilişkili nörodejeneratif hastalıklarda Kalori kısıtlamasının etkileri

Ayrıca kalori kısıtlamasının leptin ve silier nörotrofik faktör gibi bazı hormonlar üzerinde supresif etki yaptığı da bilinmektedir. Alınan kaloringin miktarı ve zamanı nöronal fonksiyonlar ve hastalıklarla yakından ilişkilidir. İleride diyetin sinir sistemine etkisi hücresel mekanizmalarla açığa çıkacak ve nörodejeneratif hastalıklarda önleyici ve tedavi edici yaklaşımları kullanıma girecektir.(122).

Her ne kadar beyin üzerindeki etkileri net değilse de, ılımlı kalori kısıtlamasının bazı kemirgen çalışmalarında hipokampus bağımlı öğrenme ve hafıza faaliyetlerindeki defisitleri engellediği gösterilmiştir (146,147,148,149,150,151,152, 153). Bu göstermektedir ki, kalori kısıtlaması, bilinci geliştiren nörobiyolojik süreci düzenler.

Yaşlanmada görülen kognitif fonksiyonlarda azalmanın beyinde psikolojik, anatomik ve biyokimyasal değişikliklerin rol aldığı bilinmektedir. Kalori kısıtlaması nevre growth factor ve insülin-like growth factor-1 gibi trofik faktörlerin salgılanmasını arttırarak kognitif ve sinirsel değişiklikleri düzenleyebilir (154). Kalori kısıtlamasının metabolik stabiliteyi arttırarak faydalı sonuçlara neden olduğu bildirilmiştir. Yaşla ilişkili kognitif fonksiyon kayıplarında hipokampal fonksiyonlarda önemli rol alan sinapların da kalori kısıtlamasıyla stabilitelerinin arttığı düşünülmektedir (155).

Önceki çalışmalarda yaşla ilgili hipokampal nöronların azalmadığı (152, 153); ancak beyinde sinaptik modifikasyonda değişikliklerin olduğu bildirilmiştir. Sinaplar plastik yapılardır ve beyinde değişkenlik gösterebilirler. Sinaptik plastisite hafıza ve öğrenmede rol oynayan ve kognitif fonksiyonlardaki birçok fenomenle ilişkili olup bilgi deposu görevi görür. Kalori kısıtlamasının nöronları eksitotoksik, oksidatif ve metabolik etkilere karşı koruduğu ve yaşlanmayla ilişkili nörotransmitter sistem ile sinaptik plastisitedeki değişiklikleri düzenlediği gösterilmiştir. LTP sinaptik potansiyalizasyon formudur. 1973’de Bliss ve Lamo tarafından tariflenmiştir (155). Rat hipokampüsünde in vivo LTP sitümülasyonu ile hafıza formasyonu bloke edilir (156). Kalori kısıtlamasının yaşlı ratlarda hipokampal CA1 bölgesinde LTP’yi indüklediği, sinaptik fonksiyonlardaki kaybı azalttığı vurgulanmıştır. Kalori kısıtlaması, sinaptik fonksiyonlardaki stabiliteyi arttırarak beyinde faydalı rol oynar. Hipokampüs’te NMDAR ve AMPAR, ionotropik glutamat reseptörleri eksitator sinaptik transmisyonun başlıca mediatörleridir. NMDAR ler, öğrenme ve hafızanın major bir bileşeni olan LTP’nin major bir formunu yönetirken, AMPAR aktivasyonu, glutamata olan hızlı postsinaptik cevapları oluşturur. NMDA ve AMPA reseptörleri sinaptik plastisitedeki yapısal değişikliklerde (sinaptik formasyon, yeniden yapılanma gibi) rol oynar. Yaşlı ratlarda yapılan çalışmalarda NMDA ve AMPA reseptörlerin fonksiyonel düzenlemeleri hafıza ve spatial öğrenmede rol oynadığı bildirilmiştir (157). Kalori kısıtlamasının yaşlı ratlarda hipokampal LTP defisitlerini azalttığı bunu da NMDA bağımlı transmisyonu arttırarak sağladığı gösterilmiştir. Hayat boyunca uygulanan kalori kısıtlamasının yaşla ilişkili NMDA reseptörlerinden NR1 subünitinin azalmasını engellediği bildirilmiştir(158).

Bunlardan başka kalori kısıtlamasının deney hayvanlarında yaşlanmaya bağlı öğrenme ve bellek kusurlarıyla birlikte motor fonksiyon bozukluklarını da azalttığı

(159) nörodejeneratif hastalık modellerinde davranışsal değişiklikleri düzelttiği de gösterilmiştir (160). Kalori kısıtlaması erişkin dönemden başlayarak birçok hastalığın oluşumunu azaltır (108). Epileptik nöbet direncini artırır, nöronları metabolik ve iskemik hasardan korur (161).

Xianzeng Liu ve ark. çalışmalarında erişkin ratlarda deneysel epilepsi modelinde kalori kısıtlamasının nöbet sıklığını azalttığı ve beyinde nörotoksinlere resistansı arttırdığını saptamışlardır. Henüz gelişme döneminde olan ratlarda deneysel epilepsi modelinde kalori kısıtlamasının nöroprotektif etkisinin olmadığını öne sürmüşlerdir (162).

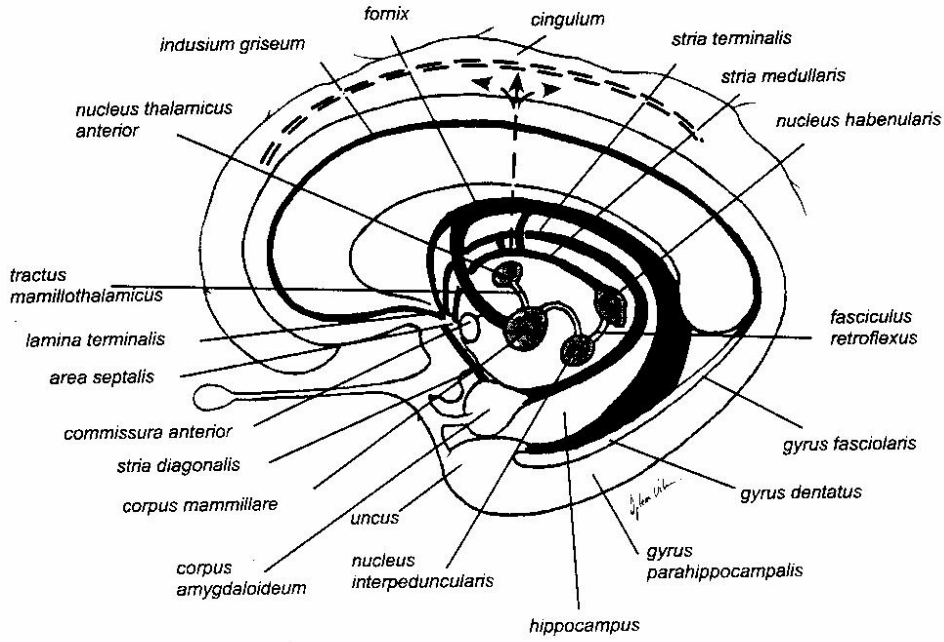
2.5.9. Çocukluk Çağı Etkileri

Genel bir bulgu olarak, prenatal dönemde uygulanan kalori kısıtlaması ve beslenme bozukluğu, sinirsel işlev ve morfolojide istenmeyen bozucu etkilere neden olurken (163, 164, 165) yaşamın ileri dönemlerinde ve yaşlılıkta yapılan kalori kısıtlaması uygulamaları, uygulamanın niteliğine de bağlı olarak genellikle bilişsel işlevi artırıcı ve yaşlanmanın etkilerine karşı sinir sistemini koruyucu bir etki yapmaktadır (166). Prenatal ve erken dönem beslenme bozukluğu üzerine yapılan çalışmalar sonucunda, öğrenme ve hafızanın sinirsel mekanizmalarından önemli bir tanesi olarak kabul edilen uzun dönem sinaptik güçlenmenin (LTP) bozulduğu (163), hipokampus hacminin ve bazı hücre tabakalarındaki hücre sayılarında azalmalar meydana geldiği (164), yine prenatal protein eksikliğine bağlı olarak fascia dentata bölgesinde sinir hücrelerinin sayısında belirgin bir azalma olduğu gösterilmiştir. Özellikle yaşamın erken dönemlerinde uygulanan deneysel kalori kısıtlamasının ortaya çıkardığı bu olumsuz etkiler, tıbbi ve sosyolojik açıdan da önemli sorunların deneysel habercileri olabilirler. Gelişme döneminde yapılan az sayıda çalışmada ise kalori kısıtlamasının süresi ve miktarına bağlı olarak beyin fonksiyonlarının ve buna bağlı olarak öğrenme, bellek depolanması ve psikomotor fonksiyonların etkilenebildiğini gösteren bulgular mevcuttur (164,167,168).

2.6. Hipokampüs

2.6.1. Anatomisi

Hipokampüs, temporal korteksin lateral ventrikülünün alt boynuzunun tabanı boyunca uzanan, kıvrılmış bir gri cevher kabartısıdır. Hipokampusun anatomik şekli şekil 2’de gösterilmiştir. Hipokampüse bu ad, koronal kesitte deniz atına benzediği için verilmiştir (169).



Şekil 2: Limbik sistemi oluşturan yapılar ve aralarındaki bağlantılar

2.6.2. Hipokampüsün Yapısı ve Fonksiyonları

Hipokampüs, limbik sistem içerisinde önemli fonksiyonlarıyla odak noktasını oluşturmaktadır. Hipokampüs ve ona bağlı temporal lop yapıları; serebral korteks, amigdala, hipotalamus, septum, mamiller cisimler gibi temel limbik sistem bölgeleriyle sayısız indirekt bağlantılar gösterir ve "hipokampal formasyon" adını alır.

Beyinde en yüksek glukokortikoid hormon reseptörü bölgesi olması nedeniyle, glukokortikoid hormonun (kortizol) nöroendokrin kontrolünü sağlar. Plazma kortikosteroid düzeyleri üzerine olan etkisini indirekt olarak hipotalamusa negatif geri besleme yapmak suretiyle gösterdiğine inanılmaktadır.

Hipokampüsün değişik alanlarının uyarılması durumunda hiddet, edilgenlik, hiperseksüalite gibi davranış biçimleri görülür (170). Hipokampüs, hipereksitabilite özelliğine sahiptir. Hafif elektriksel uyarılmasında, uyarı bittikten sonra saniyelerce süren bir epileptik nöbet gözlenir. Bu da hipokampüsün normal koşullarda bile uzun süren sinyaller yaydığını gösterir. Hipokampal nöbetler sırasında birey; koku, görme, işitme, dokunma ve diğer halüsinasyonları tanımlar. Birey bilinçlidir ve halüsinasyonların gerçek olmadığını bilir.

Hareket, yürüme ve diğer motor işlerde major rol oynamaktadır. Bu işlevler sırasında hipokampüsteki ritmik yavaş dalga EEG aktivitesi (teta ritmi) değişmektedir.

Öğrenme ve hafıza, limbik sistem de dahil olmak üzere, MSS'nin birçok bölgeleri ile ilgili kompleks fonksiyonlardır. Yeni edinilen bilgilerin depolanmasında hipokampal formasyonun önemli rolü olduğu bilinmektedir. Hipokampüsü etkileyen lezyonu olan hastalarda kısa süreli hafızanın uzun süreli hafızaya dönüştürülemediği gözlemlenmiştir. Lezyonun sol hipokampüste olduğu zamanda daha çok sözel hafıza etkilenirken, sağda olduğu durumlarda görsel hafıza etkilenmektedir. Hipokampüsün iki taraflı ablasyonunda kişi, hergün gördüğü insanların bile yüz ve isimlerini hatırlamayabilir. Ancak hiç ilgisiz, başka bir faaliyet sırasında bir anlık bir hatırlama olabilir (170).

2.6.3. Glutamat Reseptörleri

MSS'inde işlev gören en önemli eksitatör nörotransmitter glutamattır (171). Glutamat reseptörleri memelilerin MSS'deki çoğu uyarıcı sinir iletisini düzenlemektedirler. Glutamat reseptörleri hafıza ve öğrenme fonksiyonlarına katkıda bulunan sinaptik iletide rol alırken, bir yandan da sinir sisteminin gelişimi esnasındaki nöronlar arası bağlantının da oluşturulmasına katkıda bulunmaktadır (172). Kortikospinal motor nöronların spinal motor nöronlara yaptığı sinapslarda major nörotransmitter glutamattır. Normalde üst motor nöron eksitasyonu ile glutamat molekülleri sinaptik aralığa düşmekte ve spinal motor nöronlardaki (postsinaptik) reseptör yerlerine giderek spinal motor nöronları depolarize etmektedirler.

Glutamat reseptör ailesinin aminoasit dizilişi asetilkolin, GABA ve glisin reseptörlerine çok az benzer. Glutamat reseptörleri ayrı bir ailenin üyesidir (173).

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

I-Metabotropik glutamat reseptörleri: İkinci haberciler üzerinden dolaylı olarak iyon kanallarını kontrol eder (173,174,175).

II-İyonotropik glutamat reseptörleri (iGluR): Doğrudan iyon kanallarını kontrol ederler.

Bugüne kadar memeli MSS'inde 16 adet iGluR cDNA'sı ve 8 adet metabotropik glutamat reseptör cDNA'sı tanımlanmıştır. Şimdiye kadar izole edilen 16 adet iGluR cDNA'sının; 4 tanesi Alfa-amino-3-hidroksi-5-metil-4-isoksazol propionat reseptör (AMPA) subuniti (GluR1, GluR2, GluR3, GluR4), 5 tanesi kainat reseptör subuniti (GluR5, GluR6, GluR7, KA1, KA2) ve 7 tanesi NMDA reseptör subunitidir (NR1, NR2A, NR2B, NR2C, NR2D, NR3A, NR3B). Son yıllarda, glutamat reseptör genlerinin ekspresyonunu birçok değişik teknik kullanılarak, glutamat reseptörlerinin tüm fizyolojisi ve patolojisi geniş bir şekilde araştırılmıştır. Birçok olguda iGluR subunitleri değişik laboratuvarlar tarafından ayrı ayrı ve de eş zamanlı olarak klonlandığı için benzer subunitlere her biri farklı isimler vermişlerdir (171).

I- Metabotropik Glutamat Reseptörleri

Metabotropik reseptörler GTP-bağlayıcı proteinlerle (G proteinleri) bağlantılıdır ve intraselüler mesajcıların üretimini kontrol etmektedirler (176) trans-(1S, 3R) -1-amino-1, 3-cyclopentanedicarboxylic asit (ACPD) ile selektif olarak aktive olurlar (173, 174, 175). Glutamat, iyonotropik reseptörler üzerinden eksitasyon yaparken, metabotropik reseptörler üzerinden eksitasyon veya inhibisyon oluşturabilmektir (173, 174, 175).

II- İyonotropik Glutamat Reseptörleri

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

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

2. Kainat tercih eden reseptörler (KAR)

3. N-metil D-aspartat (NMDA) tercih eden reseptörler (173,174,175).

2.6.4. NMDA Reseptörleri

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 hipokampusdeki CA1 bölgesindedir. İyonotropik glutamat reseptörleri sentetik agonistlere göre isimlendirilmişlerdir. NMDA glutamat reseptörleri 2-amino-5-phaphono valerik asit ile selektif olarak bloke olurken, AMPA ve kainat reseptörleri bu ajanla bloke olmazlar. Her iki reseptör de 6-cyano-7-nitroquinoxalin-2,3 dione ile bloke olurlar. Bu nedenlerle AMPAR ve KAR non-NMDA reseptörü olarak da isimlendirilmektedir (177).

NMDAR agonistleri olan glutamat ve aspartat tipik olarak kısa zincirli dikarboksilik aminoasitlerdir ve kuvvetli eksitatör nörotransmitterlerdir. Aspartat da glutamat gibi NMDAR'lerine bağlanır ve aktivite gösterir. Ancak AMPAR'leri ve KAR'lerine bağlandığında oluşturduğu etkiden daha az bir etki gösterir. NMDAR'leri ile AMPAR'leri ve KAR'leri arasında benzerlik azdır. AMPAR'leri ve KAR'lerinin kendi aralarındaki benzerlikleri daha çoktur. Tüm NMDAR alt üniteleri nötral aminoasit içermektedir. Bir tek M2 bölgesinde polar asparajin rezidüsü bulunmaktadır(175,178).

Genelde postsinaptik bölgeler hem AMPAR'ü hem de NMDAR'ü içerirken; bazı bölgelerde sadece NMDAR' leri bulunur. Gelişimin erken evresinde sinapslar sadece NMDA tipi reseptörler içermektedir (179). Non-NMDA iyonotropik reseptörler motor nöronlarda ve beyinde eksitatör postsinaptik potansiyel'in (EPSP) büyük erken komponentini oluşturmaktadır. Yani birçok sinapsta AMPAR' leri eksitatör aşırım sırasında ana başlangıç; şarj edici gibi etki etmektedir. Bu reseptörler göreceli olarak düşük bir katyon iletkenliğine sahiptirler (< 20 pS). Na^+ ve K^+ a geçirgen iken Ca^{+2} a geçirgen değildirler. Bu sırada NMDAR'leri, intrasellüler enzimler ve ikincil

mesajcılarının aktiverilerini modüle edebilen katı bir Ca^{+2} komponenti ile birlikte daha yavaş bir akım sağlamaktadır (175, 178).

EPSP'nin geç komponentini oluşturan NMDA reseptör kanallarının üç özelliği vardır.

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

2- Kanalin açılması bir kofaktör olarak glisin ekstrasellüler olarak bulunmasına bağımlıdır. Kanal sadece glisin varlığında çalışır. Normal koşullarda ekstrasellüler glisin yoğunluğu NMDAR kanalının çalışabileceği miktarlarda bulunmaktadır. Kinürenik asit ve aminoksalinedikarboksilik asit'in her ikisinin çoğu türevleri glisin bölgesinin kompetitif antagonistleridir.

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

Voltaja bağımlılık diğer kanallarda olmayan farklı bir mekanizmadan kaynaklanmaktadır. Diğer kanallarda, membran potansiyelindeki değişiklikler, intrinsek voltaj sensörünün sayesinde kanalda konformasyonel değişikliklere neden olurken NMDA ile aktive olan kanalda ekstrensek bloker olan Mg^{+2} (ekstrasellüler Mg^{+2}) açık olan kanalı kapayan bir tıkaç gibi davranır ve iyon akışına engel olur. İstirahat membran potansiyelinde (-65 mV'da) Mg^{+2} kanala sıkıca bağlanır. Ancak membran depolarize olduğunda (örneğin, non-NMDA reseptörleri glutamat ile aktive olduğunda), Mg^{+2} elektrostatik etkiyle kanaldan uzaklaştırılır ve Na^{+} ile Ca^{+2} un geçişine izin verir. Bu nedenle NMDAR' lerinde en yüksek iyon akımı her iki koşulun da gerçekleşmesiyle ortaya çıkmaktadır. Bu özellikleri nedeniyle NMDAR' ü sinaptik presinaptik aktivite ve postsinaptik depolarizasyonu eş zamanlı olarak saptayan bir araç gibi davranmakta ve postsinaptik hücreye yeterli miktarda ikincil haberci iyon olan Ca^{+2} 'un girişine imkan vermektedir. Bu da sinaptik bağlantının kuvvetindeki plastik değişiklikleri başlatmaktadır (171,178).

Birçok hücrede hem non-NMDAR' ler hem de NMDAR' ler bulunmaktadır. Mg^{+2} , istirahat membran potansiyelinde NMDAR kanalını bloke ettiği için, NMDAR' lerinin EPSP'lerin oluşmasında önemli bir katkısı yoktur. Bu nedenle istirahat durumunda oluşan EPSP'lerde büyük oranlarda non-NMDA reseptörlerinin katkısı

bulunmaktadır. Depolarizasyon arttıkça Mg^{+2} NMDAR kanalından uzaklaşmakta ve NMDAR'ü açılarak bu kanallardan iyon akışı gerçekleşmektedir (173,175).

NMDAR kanalının diğer bir farkı göreceli olarak daha yavaş açılıp yavaş kapanması ve bu özelliği nedeniyle EPSP' lerin geç fazına katkıda bulunmasıdır. EPSP' nin geç fazı, Mg^{+2} un kanalı bloke etmesi nedeniyle, tek bir presinaptik sinyalden sonra zayıf bir yanıt olarak karşımıza çıkmaktadır. Oysa presinaptik nöron ard arda sinyaller gönderirse postsinaptik hücrede EPSP' ler toplanarak 20 mV veya daha fazla bir depolarizasyon oluşturmaktadır. Bu durumda NMDAR'ü büyük ölçüde Ca^{+2} un katkısı ile daha büyük akımlara yol açmaktadır. NMDAR aktivasyonu sonucu, post-sinaptik hücrelerde, Ca^{+2} 'a bağımlı enzimler ve bazı ikincil haberciler devreye girmektedir. Bu biyokimyasal reaksiyonlar, sinapsta bazı uzun vadeli modifikasyonlara katkıda bulunan sinyal yollarını tetiklemektedir. Öğrenme ve bellekte sinapsta gerçekleşen değişikliklerin önemli olduğu düşünülmektedir. NMDAR' lerinin aktivasyonu presinaptik aktiviteye bağılı olduğu için ve uzun süreli sinaptik modifikasyonlar ile ortaya çıktığı için çoğu kez bu duruma aktiviteye-bağımlı sinaptik modifikasyonlar denmektedir (173,175).

Gen teknikleri kullanılarak öğrenme ve hafızada rolü olan NMDAR' üne bağılı sinaptik plastisite keşfedilmiştir. Yapılan bu deneyler CA1 hipokampal NMDAR' ünün hipokampüse bağımlı spatial ve non-spatial hafızaların oluşması için gerekli olduğunu ortaya koymuştur (179). Öğrenmenin değişik formlarının meydana gelmesinde rolü olan hipokampüste sinaptik plastisitenin bir türü olan LTP öğrenme ve hafızanın nöronal mekanizmalarını araştırmak için yaygın olarak kullanılmaktadır (175,177). LTP sinaptik kuvvetteki aktiviteye bağımlı uzamış artış olarak tanımlanabilir (178). Daha önceki çalışmalar hipokampal sinaptik plastisitenin LTP benzeri formlarının spatial öğrenme ve hafıza ile ilişkili olabileceğini göstermiştir (175). Hipokampüsün CA1 bölgesindeki LTP'nin indüksiyonu bir dizi olayı içermektedir. İlk olarak NMDAR kanalının presinaptik glutamat salınımına cevap olarak açılması için postsinaptik membranın yeterince depolarize olması gerekmektedir. Kanalın açılması postsinaptik hücre içi Ca^{+2} konsantrasyonunun önemli derecede yükselmesine olanak vermektedir. Ca^{+2} 'daki bu artış metabotropik glutamat reseptörünün aktivasyonuna bağılı fosfoinozidid düzeylerindeki yükselmeye birlikte proteinkinaz C (PKC) ve CAMKII' nin de dahil olduğu proteinkinazların aktivasyonuna neden olmaktadır. Bu proteinkinazlar daha

sonra sinaptik kuvvette uzun süreli modifikasyonlara yol açacak proteinleri düzenlemektedirler (178).

Homosinaptik LTD ise sinaptik kuvvetin aktiviteye bağımlı uzamış zayıflaması olarak tanımlanır ve bir anlamda LTP'nin fonksiyonel karşıtıdır. CA1 alanındaki LTP gibi LTD'nin indüksiyonu da NMDAR'lerinin aktivasyonuna ihtiyaç duymaktadır (178,179).

Sinaptik aktivitenin regülasyonunda protein fosforilasyonu ve defosforilasyonunun önemli mekanizmalar olduğu düşünülmektedir. NMDAR kanalının subunitleri farklı proteinkinazlar ve protein fosfatazlar tarafından doğrudan fosforile ve defosforile edilmektedir. NR1, NR2A ve NR2B subunitleri hem cAMP bağımlı protein kinaz A (PKA) hem de PKC tarafından farklı bölgelerden fosforile edilebilmektedir. CAMKII, NR2B subunitinin karboksi terminal ucundaki spesifik bir kalıntıyı ve/veya onun NR2A subunitindeki karşılığını fosforile etmektedir. Protein tirozin kinaz da NR2A ve NR2B subunitlerini fosforile etmektedir (180).

2.6.5. NMDA Reseptör Tipleri

NMDAR'lerinin şu ana kadar tanımlanan yedi tane subuniti vardır. Bunlar; NR1, NR2A-B-C-D ve NR3A-B (86,87).

NR1: Glisin bağlayıcı bölgeyi içerir. 938 aminoasitten'ten meydana gelmiştir. 105,5 kDA ağırlığındadır. NR1 reseptör subunit ekspresyonu MSS'de hemen hemen her yerde bulunmaktadır.

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. NR2A mRNA'sı tüm beyinde yaygın olarak bulunur; fakat serebral korteks, hipokampus ve serebellumda daha yoğun olarak bulunmaktadır. NR2B: Tüm embriyonik beyinde eksprese edilir. Ayrıca embriyonik ve neonatal kardiyak miyositlerde eksprese edilir. Postnatal olarak yalnız ön beyinde eksprese edilir. 1482 aminoasitten oluşur ve ağırlığı 165,9 kDA'dır. NR2B'nin ekspresyonu önbeyinde, serebral korteks, hipokampus, septum, kaudat ve putamende seçici olarak yüksek düzeyde bulunmaktadır.

NR2C: Postnatal olarak cerebellumda eksprese edilir. 1239 aminoasitten oluşur ve 135,4 kDA ağırlığındadır. NR2C'nin ekspresyonu ise serebellumda dominant olarak bulunurken, talamusda ve olfaktor bulbusda daha az olarak bulunmaktadır.

NR2D: Diensefalon ve beyinsapında embriyonal ve neonatal olarak eksprese edilir. 1323 aminoasitten oluşur, 142,9 kDA ağırlığındadır. NR2D'nin ekspresyonu orta beyin ve arka beyinde yüksek iken; düşük düzeyleri talamus, olfaktor bulbus ve beyin sapında bulunmaktadır. NR2A ekspresyonunununa tamamlayıcıdır.

NR3: Silik fonksiyon gösterir. NR3A ve NR3B olarak iki tiptir. Ca^{+2} permeabilitesi yavaş ve uzun sürer. NR3A; Serebellum hariç korteks, hipokampus (CA1), orta beyin, arka beyin ve spinal kordda eksprese edilir. Neonatal ekspresyonları çok güçlüdür, sonra azalmaya başlamaktadır (174,175).

2.6.6. NMDA Reseptörünün Yapısı

Şu anda genellikle hem fikir olunan nokta; NMDAR'lerinin NR1 subuniteleri ve beraberinde NR2 subunitelerinin en azından bir tipinden oluşan heteromerik yapılar olduğu şeklindedir. NR1 subunitelerinden gelen domainler glisin bağlanma bölgesini oluşturmaktadır. Membrana doğru dizilmiş her glutamat reseptör subunitesi, farklı yaklaşımların bir bileşkesinden ortaya çıkarılmıştır. Bu çalışmalar kaçınılmaz bir kanıt ortaya koymuştur: NMDAR, AMPAR ve KAR subuniteleri 3 adet membrana uzanan domain içermektedir (M1, M3 ve M4). M2 domaini membrana sitoplazmik kenardan daldırılmış şekilde bir büklüm oluşturmaktadır. Her NMDAR alt ünitesi geniş bir ekstrasellüler N-terminal domaini ve intrasellüler C- terminali sergilemektedir (174,175,178).

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 seçiciliği M2 segmentinin kritik bir alanına (N alanı) dayanmakta, bu alan NR1 ve NR2 alt ünitelerinde bulunan bir asparajin rezidüsü tarafından oluşturulmaktadır. NR2 alt ünitesi, membranın ekstrasellüler yüzünden gelen Mg^{+2} iyonları için temel bağlanma bölgesini içermektedir. Yani Mg^{+2} blokları M2'deki kritik asparajin rezidüleri veya onlara çok yakın olan aminoasit rezidülerinin etkileşimine dayanmaktadır. Bu bağlanma

bölgesi; N bölgesi, yüksek Ca^{+2} geçirgenliği için kritiktir. NR1 rezidüleri kanalın dış vestibülünü oluşturmaktadır. Bu vestibül M3 (C-terminal ucunda) ve M4 (N-terminal ucunda) segmentlerinin M1'den önce gelen parçaları tarafından oluşturulmuştur (173,174,175,178).

2.6.7. Nörolojik Hastalıklar ve Glutamat Reseptör Aktivasyonunda Artış

Bazı koşullar altında glutamat gibi eksitatör 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 birçok nöronu öldürmektedir ve buna glutamat eksitotoksitesi adı verilmektedir. Bir çok hücrede bu tür toksisiteden, NMDA tipi reseptörlerden Ca^{+2} 'un hücre içine girişi sorumlu tutulmaktadır. Yüksek intrasellüler Ca^{+2} , kalsiyuma bağlı proteazları ve fosfolipazları aktive ederek hücreye toksik olan serbest radikallerin oluşmasına yol açmaktadır. İnme sonrası hücre hasarından, status epilepsisinde tekrarlayan episodlarında ortaya çıkan hücre ölümünden, Huntington hastalığı, amiyotrofik lateral skleroz'da (ALS), 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 (173,175,178).

İyonotropik glutamat reseptörlerinin çoğunun aktivasyonu çeşitli nörodejenerasyon mekanizmalarını içine almaktadır. Örneğin nörodejenerasyonu iskemik olay izlemekte ve LTP benzeri fenomenin patolojik aşırılığı bağlanma mekanizmalarına benzeyebilmektedir. Ca^{+2} girişi ve eşlik eden NMDAR ilgisi ile özellikle AMPAR aktivasyonundan nöronal hasar ortaya çıkmaktadır (173,175,178).

Glutamat aracılı nörotoksistide predispoze nöronlarda bozulmuş ATP üretimi metabolik inhibisyona yol açmaktadır. Hasarın şiddetlenmesi ile serbest O_2 radikalleri ortaya çıkmaktadır. Bozulmuş Ca^{+2} homeostazı ile sonuçta enerji metabolizması hasar görmekte ve bazı kronik nörodejeneratif hastalıklar belirginleşebilmektedir (173,175,178).

3. MATERİYAL ve METOD

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

3.1. Materyal

3.1.1. Deney Hayvanları

Bu çalışmada Wistar Albino cinsi toplam 40 adet erkek sıçan kullanıldı. Deneyde kullanılan sıçanlar, özel bir medikal kuruluş tarafından temin edildi. 4-5 aylık sıçanlar normal kilolu kontrol, normal kilolu kalori kısıtlama yapılan grup, obez kontrol, obez kalori kısıtlaması yapılan grup şeklinde 4 gruba ayrıldı. Sıçanlar standart ışık (12 saat gün ışığı / 12 saat karanlık), ısı (25° C) koşullara maruz bırakıldı. Kontrol grupları yeteri kadar (ad libitum) su ve yem (Yem Kurumu Standart Sıçan Yemi) ile beslendiler. Kalori kısıtlaması yapılan gruba yeteri kadar (ad libitum) su verildi ve günlük alması gereken yemin %60 kadarı kısıtlanarak beslendi. Günlük yemleri hergün sabah saat 8'de verildi. Kontrol gruplarına 30,6±1,25 gr, kalori kısıtlaması yapılan gruplara 12,24 ±1,33 gr şeklinde yem verildi.

Sıçanlar normal kontrol grubu (n=10), normal kalori kısıtlaması grubu (n=10), obez kontrol grubu (n=10), obez kalori kısıtlaması grubu (n=10) olmak üzere toplam dört gruba ayrılarak, özel olarak hazırlanmış kafeslerde teker teker tutuldular.

Normal kilolu kontrol gruptan ve obez kalori kısıtlaması grubundan 1'er adet sıçan çeşitli nedenlerle farklı zamanlarda kaybedildi. Çalışmaya geri kalan normal kilolu kontrol grubundan 9, obez kalori kısıtlaması grubundan 9 tane ile devam edildi.

Normal kilolu sıçanların grubu, başlangıç ağırlıkları 250±20 gr olan 4±1 aylık 20 adet sıçandan oluşturuldu. Obez sıçanların, başlangıç ağırlıkları 400±20 gr olan 4±1 aylık 20 adet sıçandan oluşturuldu.

Kontrol grubu yeteri kadar (ad libitum) su ve yem (Yem kurumu standart rat yemi) ile 10 hafta beslendiler. Kalori kısıtlaması yapılan grup kontrol grubunun beslendiğinin %40 kadar yemle beslendiler, su kısıtlaması yapılmadı. Diyet içerikleri tablo-5'de belirtilmiştir. Kontrol ve kalori kısıtlaması yapılan grupta vitamin ve mineral alımları değişmemiştir. Ratların her biri ayrı kafeslere konmuştur. Kalori kısıtlaması

yapılan gruplara yemleri günlük tartılıp her sabah 08.00'da verilmiştir. Ratların kiloları haftalık ölçülmüştür.

Tablo-5: Ratlara verilen yem içeriği

| Diyet İçerik | Kontrol grubuna | Kalori kısıtlaması yapılan gruba |
|----------------------|-----------------|----------------------------------|
| Protein | 23.0 | 30.8 |
| Karbonhidrat | 65.0 | 48.2 |
| Mineral mix | 4.0 | 6.2 |
| Vitamin mix | 2.0 | 3.1 |
| Lif | 1.0 | 1.5 |
| Su(H ₂ O) | 3.0 | 2.5 |
| Kalori(kcal/g diet) | 3.8 | 3.8 |
| % alımlar | %100 | %40 |

Sıçanlar 10 hafta süreyle devam eden kalori kısıtlamasını takiben 10 haftanın sonunda aynı gün içerisinde, i.m. olarak uygulanan % 10'luk ketamin (Alfamin, Alfasan IBV.)-% 2'lik ksilazin (Alfazin, Alfasan IBV.) anestezisi altında dekapite edilerek deney sonlandırıldı.

Sıçanlar dekapite edildikten sonra kan örnekleri ve beyin dokusu alındı. Filtre kağıtları soğuk fosfat tamponuyla ıslatılıp buz paketleri üzerine konarak hipokampüs çıkartma düzeneği oluşturuldu. Dekapitasyondan hemen sonra bu düzenek üzerinde hipokampüsler çıkarılarak önceden hazırlanmış içi 50 mM fosfat tamponu dolu ependorf tüplerine konuldu. Alınan kan örnekleri 4000g'de 4 dakika santrifüj edilerek serumları ependorf tüplerine ayrıldı. Toplanan tüm numuneler (serum, beyin, hipokampüs), analizin yapıldığı tarihe kadar -20 °C'de muhafaza edildi.

3.1.2. 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- pH metre : Hanna Instruments (Portekiz)
- 10- Manyetik karıştırıcı : Nüve (Türkiye)
- 11- Elektroforez cihazı : EC Apparatus Corporation 250-90 (ABD)
- 12- Biyokimya analizörü : Roche/Hitachi Modular P800 (Almanya)
- 13- Kodak Image Station 2000 MM : USA

3.1.3. 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)
- Sekonder antibody-HRP-conjugate, Sigma (Amerika)
- Kemilüminesans working solüsyonu(Almanya)
- Prestained Molecular Weight Marker, Sigma (Amerika)

3.1.4. Kullanılan Çözeltiler

Lipit Peoksidasyonu Tayini İçin Kullanılanlar:

• TCA çözeltisi (% 10): 10 gr TCA tartılıp, bir miktar distile suda eritildi ve son hacim 100 ml'ye tamamlandı.

• TBA çözeltisi (% 0.67): 0.67 gr TBA tartılıp, bir miktar distile suda eritildi ve son hacim 100 ml'ye tamamlandı.

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 ayarlandı. Soğutulup pH'ı tekrar 8.8'e ayarlandı. 200 ml'ye distile suyla tamamlandı.

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 ayarlandı. Soğutulup pH'ı yeniden 6.8'e ayarlandı. 200 ml'ye distile suyla tamamlandı.

Lower jel: (% 7.5'lük)

| | |
|--------------------------------------|---------|
| 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 |

Upper jel: (% 4'lük)

| | |
|--------------------------------------|---------|
| Distile su | 2920 µl |
| Acril : bisacril % 30 T, % 2.6 C | 670 µl |
| 4 × Upper buffer (tris-HCl, pH: 6.8) | 1250 µl |
| % 10 SDS | 50 µl |
| % 10 APS | 200 µl |
| TEMED | 10 µl |

3- Homojenizasyon 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:

| | |
|----------------------------------------|--------|
| Upper buffer (0.5 M Tris-HCl, Ph: 6.8) | 2.0 ml |
| Gliserol | 1.6 ml |
| % 10 SDS | 3.2 ml |
| 2-Merkaptoetanol | 0.8 ml |
| % 0.1(w/v) Brom fenol blue | 0.4 ml |

5- Running buffer: 15 gr Tris, 72 gr Glisin, 5 gr SDS, pH 8.3'e ayarlanıp distile su ile 1 lt'ye tamamlandı. 5 kat sulandırılarak kullanıldı.

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 tamamlandı. 40 ml metanol eklendi.

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 tamamlandı.

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

9- Sekonder antikor: HRP-konjugate 1:5.000 oranında, taze hazırlanmış TTBS ile dilüe edilerek hazırlandı.

3.2. Metod

3.2.1. Hipokampus Örneklerinin Homojenizasyonu

Hipokampusler tartılıp, SDS-PAGE ve Western Blot prosedürü uygulanmak üzere ayrıldı. Aynı gruptaki farklı sıçanlara ait hipokampus örnekleri tartıldıktan sonra kontrol ve kalori kısıtlama grupları 3'erli gruplar halinde birleştirildi ve ardından 1/5 oranında homojenizasyon tamponu ile karıştırılarak homojenize edildi. İlk adımda buz üzerinde teflon-cam homojenizatör ile 18-20 darbede homojenizasyon yapıldı. Homojenize edilen örnekler 10000 g'de +4°C'da soğutmalı santrifüjde 10 dakika süreyle santrifüj edildi. Daha sonra süpernatantlar ayrılarak lowry metoduna göre protein tayini yapılarak SDS-PAGE ve Western Blot, MDA çalışıldı.

3.2.2. SDS-PAGE Yöntemi

Laemmli'nin yöntemi esas alınarak çalışıldı (152). % 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.

3.2.3. 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, Kemilüminesans çalışma solüsyonunda 3 dakika bekletildi. Oluşan bantlar Kodak Image Station 2000 MM, USA cihazı kullanılarak

tarandı. Elde edilen bant yoğunlukları her bir reseptör subüniti için kendi arasında karşılaştırıldı.

3.2.4. Lipit Peroksidasyonunun Tayini

Hipokampüs homojenize edilerek supernatantından MDA çalışıldı. Lipit peroksidasyon ürünlerinden olan MDA, Draper ve Hadley'in çift kaynatmalı tiyobarbitürik asit reaktivitesi metodu kullanarak ölçüldü (151).

Deneyin prensibi: Yağ asidi peroksidasyonunun son ürünü olan MDA, TBA ile reaksiyona girerek, 532 nm'de maksimum absorbanı 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 absorbanları, numune yerine distile su konularak hazırlanan köre karşı okundu.

Sonuçlar, çalışılan standartlara göre curve expert programında grafik oluşturuldu. Standart grafiğinden konsantrasyon saptanarak $\mu\text{mol/gr}$ protein olarak ifade edildi.

3.2.5. İstatistiksel Analiz

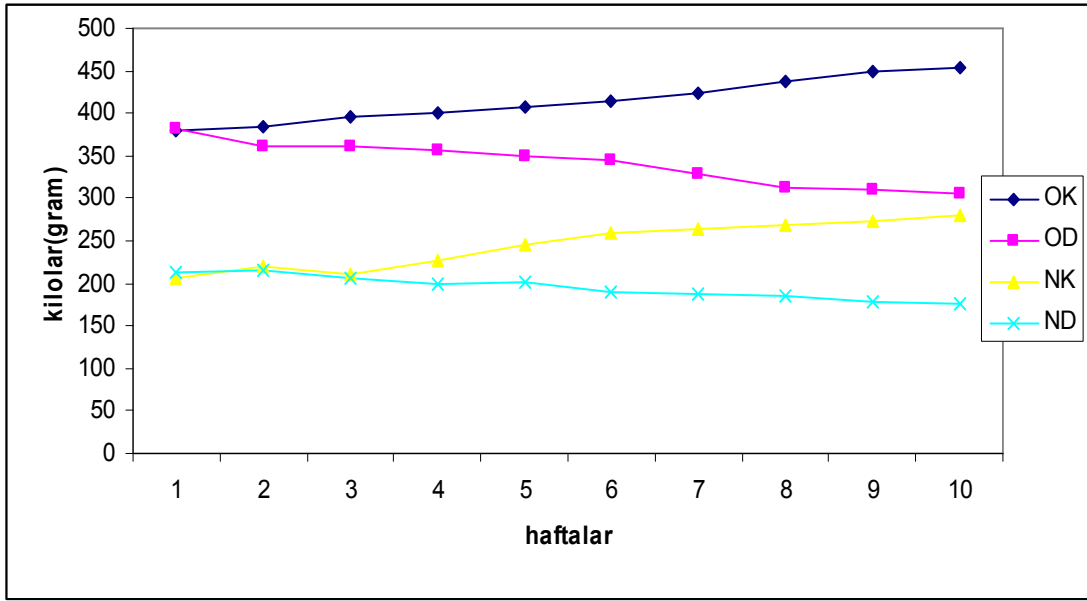
İstatistiksel değerlendirmeler "SPSS 15.0 for Windows" paket programı kullanılarak yapıldı. Genel olarak gruplar arasında anlamlı bir fark olup olmadığı Kruskal-Wallis varyans analiziyle değerlendirildi. Grupların birbiriyle karşılaştırılması için Mann-Whitney U testi kullanıldı. Western Blot sonuçları yüzde ortalama \pm SD olarak verildi. P değerinin 0.05'den küçük olması anlamlı olarak kabul edildi.

4. SONUÇLAR

4.1. Ratlarda Kilo Takibi

10 hafta boyunca sürdürülen deney boyunca ratların kiloları her haftanın ilk günü ölçüldü ve kaydedildi. Tüm grupların başlangıç kiloları ve deney sonu kiloları tablo-8'de gösterilmiştir.

Tablo 8: Ratların haftalık kilo takipleri



10 haftalık kalori kısıtlamasının ardından obez kalori kısıtlaması yapılan ve normal kilolu kalori kısıtlaması yapılan gruplarda ilk kiloları ve son kiloları arasında anlamlı kilo kaybı görüldü. ($p < 0.05$)

Tablo-9: Başlangıç kiloları ve 10 haftalık kalori kısıtlaması sonunda kiloları

| Gruplar | Obez kontrol | Obez kalori kısıtlaması | Normal kilolu kontrol | Normal kilolu kalori kısıtlaması |
|---------------------|--------------|-------------------------|-----------------------|----------------------------------|
| Başlangıç kiloları | 380,9±6,64 | 377,25±8,74 | 208,85±12 | 211,7±18,79 |
| Deney sonu kiloları | 450,1±11,12 | 305±14,69 | 280,42±10,61 | 171±14,86 |

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

NR2A reseptör yoğunlukları değerlendirildiğinde; normal kilolu kontrol, normal kilolu kalori kısıtlaması, obez kontrol, obez kalori kısıtlaması yapılan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar bulundu. ($p < 0.05$). Normal kilolu kontrolle

kıyaslandığında normal kilolu kalori kısıtlaması yapılan grupta istatistiksel olarak anlamlı azalma ($p < 0.05$) bulunmuştur. Obez kontrol grubuna göre obez kalori kısıtlaması yapılan grupta istatistiksel olarak anlamlı artış gözlenmiştir ($p < 0.05$). Obez kontrol grubuyla normal kilolu kontrol grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı artış ($p < 0.05$) gözlenmiştir.

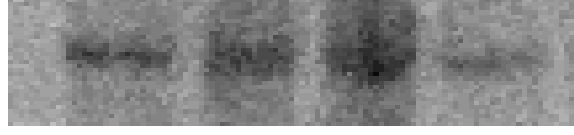
NR2B reseptör yoğunlukları analizinde; normal kilolu kontrolle kıyaslandığında normal kilolu kalori kısıtlaması yapılan grupta istatistiksel olarak anlamlı azalma bulunurken, obez kontrol grubuna göre obez kalori kısıtlaması yapılan grupta istatistiksel olarak anlamlı artış ($p < 0.05$) gözlenmiştir. Hipokampus NR2A ve NR2B reseptör Western blot analiz sonuçlarının düzeylerinin ortalamaları ve standart sapmaları tablo 6 ve şekil 4, şekil 6'de gösterilmektedir.

Tablo 6: Tüm gruplarda NR2A, NR2B reseptörlerinin yüzdelik cinsinden yoğunlukları ortalama ve \pm SD değerleri

| Gruplar | NR2A (optik dansite) | NR2B (optik dansite) |
|--------------------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|
| Normal kilolu kontrol (n=9) | 100 | 100 |
| Normal kilolu kalori kısıtlaması (n=10) | 42,99 \pm 7,57 ^a | 51,80 \pm 7,57 ^a |
| Obez kilolu Kontrol (n=10) | 57,36 \pm 3,57 ^a | 73,06 \pm 6,40 ^a |
| Obez kilolu kalori kısıtlaması (n=9) | 115,85 \pm 15,84 ^b | 98,05 \pm 16,92 ^b |

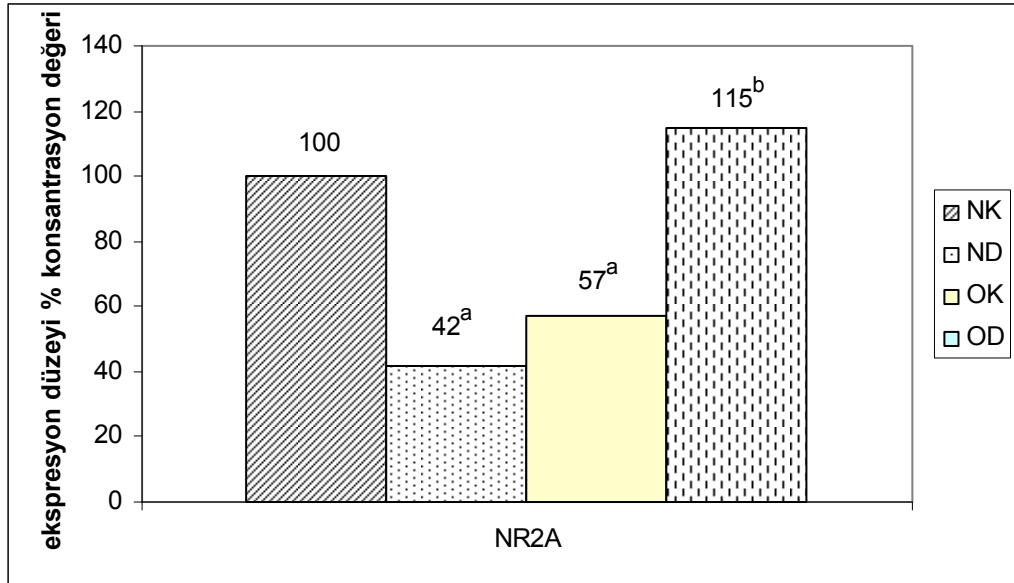
a : Normal kilolu kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı gruplar ($p < 0.05$)

b: Obez kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı gruplar ($p < 0.05$)



OK OD NK ND

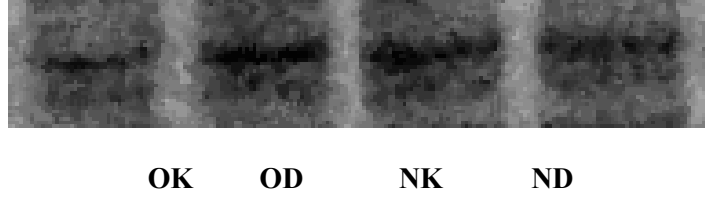
Şekil 3: NR2A'ya ait Western Blot örneği



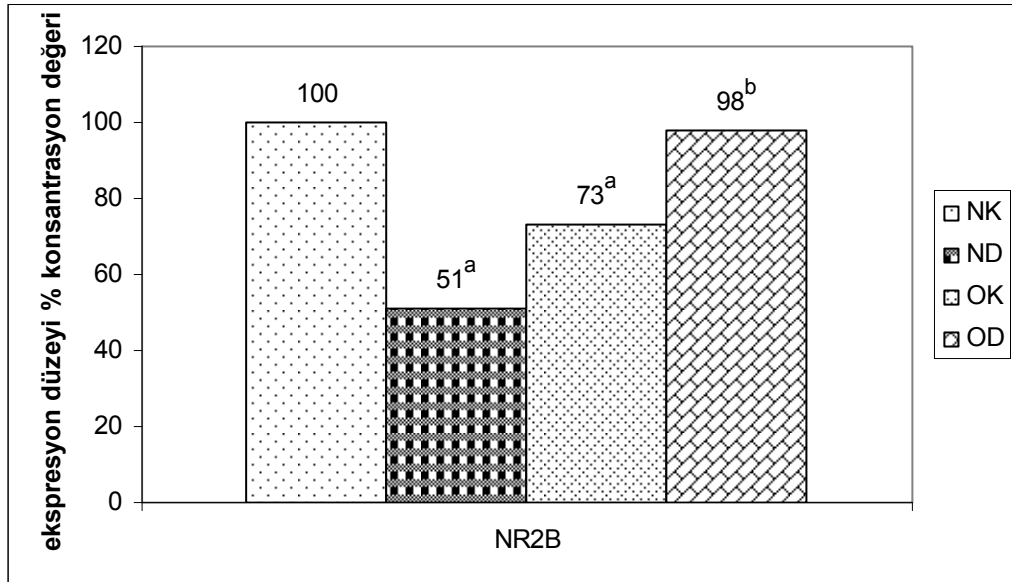
Şekil 4: NR2A'ya ait Western Blot örneği. Sonuçlar normal kilolu kontrol grubu 100 kabul edilip kontrole göre % konsantrasyon değeri olarak verilmiştir.

a : Normal kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı gruplar ($p < 0.05$)

b : Obez kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı gruplar ($p < 0.05$)



Şekil 5: NR2B'ye ait Western Blot örneği



Şekil 6: NR2B'ye ait Western Blot örneği. Sonuçlar normal kilolu kontrol grubu 100 kabul edilerek kontrole göre konsantrasyon değeri olarak verilmiştir.

a : Normal kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı gruplar ($p < 0.05$)

b : Obez kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı gruplar ($p < 0.05$)

4.3. Hipokampus MDA Düzeyleri

Normal kilolu kontrol grubuyla normal kilolu kalori kısıtlaması yapılan grup kıyaslandığında mda düzeylerinde anlamlı bir azalma saptanmıştır ($p<0.05$). Obez kontrol grubuyla obez kalori kısıtlaması yapılan grup kıyaslandığında anlamlı bir azalma saptanmıştır ($p<0.05$). Hipokampus MDA düzeyleri tablo 7’de gösterilmiştir.

Tablo 7: Hipokampusde MDA ($\mu\text{mol/gr prot}$) düzeylerinin ortalamaları ve standart sapmaları:

| GRUPLAR | MDA SONUÇLAR ($\mu\text{mol/gr protein}$) |
|---------------------------------------------------------|------------------------------------------------|
| Normal kilolu kontrol (n=9) | 0,0390 \pm 0.0110 |
| Normal kilolu kalori kısıtlaması yapılan grup (n=10) | 0.0188 \pm 0.0067 ^a |
| Obez kontrol (n=10) | 0,0408 \pm 0,0110 |
| Obez kalori kısıtlaması yapılan grup (n=9) | 0.0231 \pm 0,0079 ^b |

a: Normal kilolu kontrol grubuna göre anlamlı olanlar ($p<0.05$)

b: Obez kontrol grubuna göre anlamlı olanlar ($p<0.05$)

5. TARTIŞMA

Obezite, vücutta aşırı yağ birikmesi olarak tanımlanan bir enerji metabolizması bozukluğudur. Obezite sadece tıbbi bir konu olmayıp dünyada sosyal ve ekonomik boyutlarıyla da düşünülmesi gereken önemli bir sağlık sorunudur. Bugün obeziteyle DM, HT, hiperlipidemi, ateroskleroz, solunum sistemi hastalıkları ve serebrovasküler hastalıklar arasındaki ilişki iyi bilinmektedir (181, 182).

Obezitenin sinir sisteminde nörodejenerasyona yol açtığı ve ileride demans oluşma riskini arttırdığı düşünülmektedir (191). Obezitenin AH ve PH (Parkinson hastalığı) gibi nörodejeneratif hastalıklar için oksidatif hasar ve inflamasyon etyopatogenezinde rol alabileceği üzerine yapılan çalışmalar mevcuttur (184,185,186). Mitokondriyal disfonksiyonun birçok nörodejeneratif hastalıkta mevcut olduğu (187) ve obeziteyle ilişkili stresin oluşumunda mitokondriyal adaptasyonun rol aldığı bilinmektedir (188). Fontana ve ark. obez kişilerin hafif düzeyde kronik inflamatuvar durum içinde olduklarını bildirmişlerdir. Genişleyen yağ hücreleri kan dolaşımına inflamatuvar moleküller salarlar. Kronik enflamasyon kronik doku harabiyetine sebep olmaktadır (125). AH'nin en önemli etyolojik nedenlerinden biri yaşlanmadır. Normal yaşlanma sürecinde hem sistemik olarak hem de santral sinir sisteminde inflamasyonda artma meydana gelmektedir. AH'de inflamatuvar mikrogial ve astroglial aktivasyonun tüm işaretleri, amiloid depositlerin içinde ve dışında, ayrıca nörofibriler yumakların birlikte bulunduğu nöronların aksonları boyunca mevcuttur. Hücre kültürü ve hayvan modellerinde glial hücrelerin inflamatuvar aktivasyonu ile amiloid birikimi arasında iki yönlü bir ilişki olduğu düşünülmüştür (190). AH'de hangi farklı patofizyolojik olayların özgün semptomların gelişmesini sağladığı bilinmemektedir. İnflamatuvar aktivasyon kognitif bozulmanın hızını artırıyor olabilir (190). Son yapılan çalışmalarda fazla kalori alımının AH'ı için bir risk faktörü olduğuna dikkat çekilmiştir. AH'ın amyloid nöropatolojisinde rol alan inflamatuvar olayın kalori kısıtlamasıyla azalabileceği belirtilmektedir. Kalori kısıtlamasının AH'a karşı koruyucu etkisinin Amiloid beta plaklarının oluşumunu azaltarak rol aldığı yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (196). M.C. Romeo ve ark. AH gelişiminde kalori kısıtlamasının faydalı etkileri olup olmadığını araştırmak için AH'lığı modeli oluşturulmuş 3 aylık Tg2576 cinsi ratlara 9 ay %30 kalori kısıtlaması yapmışlar. Korteks ve hipokampal dokuda mikrogial aktivite

ve amyloid plakları incelemişler. Sonuçta kalori kısıtlaması yapılan grupta kontrol grubuyla karşılaştırıldığında senil plakların %75 daha azaldığı belirtilmiştir. Bundan yola çıkarak kalori kısıtlamasının AH'lığı insidansını azaltabileceğini ileri sürmüşlerdir (197). Bizim çalışmamızda AH'li rat modeli kullanmadık; amiloid plak azalması ve artmasını gözlemleyecek bir çalışma yapmadık.

Kalori kısıtlamasının SSS'deki faydalı etkilerini sağlayan mekanizmalarından biri de oksidatif stresi azaltması olarak tespit edilmiştir (235). G. Dubnov ve ark. yaptığı çalışmada 40 gün %60 kalori kısıtlaması uygulamışlar. Deney sonucunda kalori kısıtlamasının birçok dokuda oksidatif stresi azalttığını belirtmişlerdir. Beyinde de ROS üretiminde azalma tespit edilmekle beraber antoksidan sistemde bir artış görülmüştür. Kısa dönem kalori kısıtlamasının beyinde sadece lipit peroksidasyonunu engellemesini sürenin az olmasıyla yorumlamışlardır.

R. Dixit ve ark. yaptıkları çalışmada ratları %50 oranında kalori kısıtlaması yapılan grup, %25 oranında kalori kısıtlaması yapılan grup, obez grup şeklinde 3 gruba ayırmışlar ve 2 yıl boyunca beslemişlerdir. Obez gruptaki ratların vücut yağ oranı %40 daha fazla tespit etmişlerdir. Obez olan ratlarda mortalite oranı diğer gruplara göre %80 daha fazla bulmuşlar. Kalori kısıtlaması obeziteyi ve morbiditeyi azaltmakta ve %60-80 oranında daha yüksek survi sağlamaktadır. Kalori kısıtlaması yapılan grupta antioksidatif kapasitenin (glutatyon seviyeleri ve antioksidatif enzim aktiviteleri) arttığı; lipit peroksidasyonun, protein oksidasyon ürünlerinin azaldığı tespit edilmiş. Kalori kısıtlamasının hipokampüste oksidatif stresi azaltmış olduğu belirtilmiştir (236). Gerçekleştirdiğimiz çalışmada hipokampus dokusunda MDA düzeylerinde gruplar arasında anlamlı fark bulduk. Lipit peroksidasyonunun göstergesi olan MDA düzeylerinin kalori kısıtlaması yapılan normal kilolu ve kalori kısıtlaması yapılan obez grupta kontrol gruplarına göre anlamlı bir azalma saptadık. Kalori kısıtlamasının %60 oranında ve 10 hafta süreyle uygulanması hem obez ratlarda hem de normal kilolu ratlarda hipokampüste oksidan stresi azalttığını göstermektedir. Oksidatif stresin göstergesi olan MDA düzeylerinde obez ve normal kilolu kontrol ratlarda herhangi bir fark olmadığını bulduk.

Obeziteyle AH'nın ilişkisini araştırmak için bir çok çalışma yapılmıştır. Swedish çalışmasında 18 yıllık gözlemlerde yüksek BMI ile AH arasında ilişki

bulunmuştur. Benzer bir prospektif çalışmada 70 yaşındaki kişilerin 30 yıllık izlemlerinde; %7'sinde demans geliştiği, bunların da %74'ünün obez olduğu bulunmuştur. Bu sonuca bakarak obezitenin demans riskini arttırdığı belirtilmiştir (192).

Çalışmaların çoğunda, BMI artışıyla demansın en sık nedeni olan AH riskinin arttığına dair çalışmalarla birlikte, bütün sonuçlar bu görüşü desteklememektedir.

George Razay ve ark. AH'nin hiperinsülinemi, glukoz, BMI ile ilişkisini araştırmak için 58-90 yaşları arasında başka hastalığı olmayan AH'li 24 kadın ve 24 erkeği çalışmaya almışlar. AH'li kadınlarda insülin seviyesi, glukoz düzeyi ve BMI yüksek, AH'li erkeklerde BMI normal, insülin ve glukoz seviyeleri yüksek bulunmuş. Bu çalışmanın sonucunda AH ile hiperinsülinemi ve insülin resistansı arasında ilişki olduğu, ancak Alzheimer hastalarında gözlenen aşırı kilonun hastalığın sebebi olmaktan çok sonucu olabileceğini belirtmişlerdir (193).

Östrojen erişkin beyninde nöroprotektif etkili olduğu ve menopozu takiben östrojen kaybının, kadınlarda kognitif performansı azalttığı ve AH gelişme riskini arttırdığı yönünde çalışmalar mevcuttur. Östrojen, nörotoksik β -amyloide karşı APP metabolizmasını düzenler (194). Obez postmenapozal kadınlarda serum östradiol ve östron düzeyleri yükseldiği tespit edilmiştir. Yapılan bir çalışmada obez postmenapozal kadınların, obez olmayanlara göre kelime hafızası, omnibus testler gibi nörofizyolojik testlerde daha başarılı oldukları görülmüştür. Bu çalışmaya göre obezite ilerleyen yaşla birlikte defisite uğrayan kognitif fonksiyonlar üzerine faydalı etkiler yapabilir (199).

Richard ve ark. beslenme alışkanlığındaki farklılığın kognitif fonksiyonlara etkisini araştırmak için 60 obez ve 60 nonobez kişiyi çalışmaya almışlar. Kilo alım hızıyla obez ve nonobez arasında anlam olmasına rağmen, hafıza ve kognitif fonksiyonlarda anlamlı fark saptamamışlardır (200). Besinsel stimülasyonun kognitif gelişime etkisinin olmadığını tespit etmişler. Yapılan çalışmalarda görülen farklılıklarda BMI ölçümünün yapıldığı yaşın ve demansın klinik gelişimiyle ilişkili faktörlerin etkili olabileceği düşünülebilir.

Obezite, metabolik sendromun komponentlerindedir. Yapılan bir prospektif çalışmada metabolik sendromun demansa yol açtığı, özellikle de vasküler demansla ilişkili olduğu belirtilmiştir. Böylece obezitenin demansın en sık sebebi olan AH'lığın ziyade vasküler demansla ilişkilendiren çalışmalar da mevcuttur (198).

Obezitenin tedavisinde ve ömür boyu beslenme şekli olarak kalori kısıtlaması kullanılmaktadır. Kalori kısıtlaması, esansiyel besin gereksinimi sürdürülürken alınan kalorinin azaltılmasıdır ve ciddi açlıktan farklıdır (93). Bir başka ifadeyle malnütrisyona ve spesifik besinlerde eksikliğe neden olmadan gıda alımının azaltılmasıdır (94). Karbonhidrat, yağ ve proteinden oluşan total kalorinin %25 ila %60 oranında kısıtlanarak deney hayvanlarında birçok çalışma yapılmıştır (95). İnsanlarda kalori kısıtlamasının etkilerini gösteren uzun süreli kontrollü çalışmalar mevcut olmamakla birlikte deneysel çalışmalarda hayvanlarda birçok faydalı etkileri gösterilmiştir.

Mitsuko Okada ve ark. yaptıkları bir çalışmada uzun süreli kalori kısıtlamasının yaşlı hayvanlarda hipokampal DHA(Dokzoheksaenoik asit), AA(araşidonik asit) üzerine etkisine ve yaşla ilgili olan NMDA reseptör bağımlı mekanizmalardaki sapmayı düzeltip düzeltemeyeceğini araştırmışlardır. Yaptıkları deneyde dört ve yirmialtı aylık ratların bir grubuna normal diyet, diğerine ise iki ay süreyle %65' lik kalori kısıtlaması yapmışlardır. İki ay sonunda kalori kısıtlaması yapılan genç ve yaşlı grupta hipokampal lipitlerden AA düzeyinde değişiklik görülmezken, DHA düzeyinde kalori kısıtlaması yapılan yaşlı grupta kalori kısıtlaması yapılmayan yaşlı gruba göre anlamlı artış tespit etmişlerdir. Yaşlanmayla hipokampal DHA seviyesinin azaldığı ancak AA seviyesinin henüz değişip değişmediğinin açık olmadığı bildirilmiştir; kalori kısıtlamasıyla hipokampal DHA seviyelerinin arttığını tespit etmişlerdir. Sonuç olarak yaşla ilgili LTP defisitlerinde kalori kısıtlamasının düzeltici etkisinin membran AA'a bağlı olmadığını, kalori kısıtlamasının NMDA reseptör mekanizmalarının Ca^{+2} homeostazisindeki hasara etkisi olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Ayrıca kalori kısıtlamasının yaşla azalan hipokampal sinaptik iletimin non-NMDA mekanizmayla engellediği düşünülebilir.

Yaptığımız çalışma ile kalori kısıtlamasının kognitif fonksiyonlar üzerine olan etkilerinin, normal kilolu ve obez ratlarda NMDA reseptörleri aracılığıyla oluşup oluşmadığıyla ilgili bir ilişki kurmaya çalıştık.

Andrea ve ark. yaptıkları çalışmada kısa dönem kalori kısıtlamasının hem akut (stroke), hem de kronik (Alzheimer, Parkinson hastalıkları) beyin patolojilerinde olumlu etki sağladıklarını belirtmişlerdir (210). Kalori kısıtlamasının, parkinson oluşturulmuş deneysel rat modelinde dopaminerjik nöronlardaki dejenerasyonu azalttığı tespit edilmiştir. Kainik asit ve malanotin lokal enjeksiyonuyla hipocampal CA3 bölgesinde oluşturulan nöronal ve striatal hasarın 2-3 aylık kalori kısıtlamasıyla azaltıldığı

bildirilmiştir (211). Benzer faydalar orta cerebral arter oklüzyonuyla oluşturulan stroke modelinde de gösterilmiştir (212). Kalori kısıtlamasının, transjenik mutant presenilin-1 fare modelinde eksitotoksik hasarlara karşı hipokampal nöronlarda resistansı arttırdığı görülürken, ALS oluşturulan fare modelinde aynı etki gözlenmemiştir (213).

Yapılan klinik ve deneysel çalışmalar kalori kısıtlamasının epileptik nöbete de karşı nöroprotektif etkileri olabileceğini ortaya koymaktadır. Status epileptikusun kognitif disfonksiyona neden olduğu bilinmektedir. Epilepsi ayrıca, perinatal dönemde de ortaya çıkarak motor, kognitif ve davranışsal fonksiyonlarda ciddi kalıcı bozukluklara sebep olabilmektedir (214). Status epilepticus modeli oluşturulan ratlarda davranışsal sonuçları ve kalori kısıtlamasının muhtemel faydalı etkileri araştırılmıştır; histolojik incelemelerde kalori kısıtlaması uygulanan epilepsili modellen hayvanlarda, hücre kaybının epilepsi modellen kontrol grubuna göre fark olmadığı ancak supragranüler bölgede yeni hücre oluşumunun daha az olduğu gözlenmiştir. Kalori kısıtlamasının muhtemel nöroprotektif özellikleriyle epilepsi nöbetlerinin sayısını azalttığı ve epilepsi başlamasını geciktirdiği bildirilmiştir. Temelde kalori kısıtlamasının potansiyel yararlı etkileri nörodejeneratif hastalıkların bilinen önemi paralelinde bunları engellemedeki rolü ve yapılan nörodejeneratif modellerde tezat bilgilerin olması daha ileri çalışmaları gerektirmektedir (219).

Kalori kısıtlaması ile ilgili çalışmaların çoğu yaşlanmayı geciktirici, ömrü uzatıcı etkileriyle birlikte muhtemel nöroprotektif etkilerinin olduğuna dair bilgiler de içermektedir (201). Yaşlanma ve bazı hastalıklarda oluşan nörodejenerasyonun kalori kısıtlamasıyla azalabileceği öne sürülmüştür (202). Nörodejenerasyonu indükleyici faktörler arasında oksidatif stres, mitokondriyal hasarlanma, inflamasyon ve protein-DNA yapısındaki değişiklikler rol oynamaktadır. Erişkin ratlarda birkaç ay kalori kısıtlaması ardından hipokampus dentat gyrusunda nörogenezisin arttığı, BDNF ekspresyonunun indüklendiği ve hipokampus ile kortekste glikokortikoid reseptör ekspresyonunun azaldığı gözlenmiştir (206,207). Ayrıca kalori kısıtlamasının anti-apoptotik gen ekspresyonunu arttırdığı ispatlanmıştır (208). Kalori kısıtlamasının anti-apoptotik genleri ve strese cevap/inflamasyon genlerinin ekspresyonunu indüklemesinin eksitotoksik etkilere karşı koruyucu rol oynadığını düşündürmektedir. Kalori kısıtlamasının faydalı etkilerine ek olarak diyetel rejim içeriği ve deney hayvanlarının artan fiziksel aktivitesi de rol oynamaktadır. Farklı deneysel hayvan modellerinde kalori

kısıtlamasının farklı nöroprotektif etki göstermeleri birçok spesifik gen defektine bağlı olmaktadır. APP mutant oluşturulmuş β -amyloid birikimi gösterilmiş ve kognitif fonksiyon kaybı gelişmiş transjenik ratlarda kalori kısıtlamasına başlandıktan kısa süre sonra ölümler meydana gelmiş, sebebi olarak da beslenme periyodları arasındaki dönemde oluşan hipoglisemi gösterilmiştir (209).

Yaşa bağlı hafıza zayıflığı, 65 yaş üstü kişilerin %40'ını etkileyen bir durumdur (195). Yaşlanmayla meydana gelen hafıza kayıplarını düzeltme ve önlemek için çeşitli araştırmacılar değişik tedavi seçeneklerine yönelmektedirler. Alzheimer hastalarının beyinlerinde hem nöronal nikotinik ACh reseptörlerinin hem de NMDA reseptörlerinin down regulasyona uğradığı görülmüştür (220). AH'nin nöropatolojisinin ilerlemesi ile birlikte NR1/2B subunitlerinin mRNA ekspresyonunun önemli ölçüde azaldığı fakat NR2A subunit ekspresyonunun değişmediği görülmüştür (221). Alzheimer hastalarında NMDA reseptörlerinin, özellikle de NR1 ve NR2B subunitlerinin azalmasının, hafıza bozukluğuna katkıda bulunduğu düşünülmektedir (220). Wang ve ark. ise AH sebebiyle ölen hastaların ve kontrol grubu bireylerin beyin, hipokampus, frontal kortekslerinde NMDA reseptör subunit düzeylerini saptamışlardır. Sonuçta hipokampus ve frontal korteksde NR1, NR2A ve NR2B subunit düzeylerinde orta dereceli azalma olduğunu bulmuştur. Bunlara ek olarak NMDA reseptörleri üzerinde sınırlı, non-kompetitif inhibisyon oluşturan memantin, AH tedavi seçeneklerinden biri olarak klinik kullanıma girmiştir. Bu veriler NMDA reseptörlerinin AH etyopatogenezinde rol oynayabileceğini ve ayrıca hastalık progresyonu sırasında etkilenen beyin bölgelerinde reseptör düzeyi ve aktivitesinin değişebileceğini düşündürmektedir (222).

Sonntog WE ve ark. da genç ve yaşlı ratlarda kalori kısıtlamasının NR2 reseptörü'nün mRNA ekspresyonu üzerine etkisini araştırmışlar. Artan yaşla korele bir şekilde NR2B'nin protein ekspresyonunun azaldığını tespit etmişlerdir. Hipokampal aktivasyondaki yaşa bağlı değişiklikler ve azalmış hipokampal volüm yaşlı popülasyondaki hafıza zayıflığına neden oluyor olabilir. Kalori kısıtlamasının NMDA reseptörlerinde mRNA düzeyinde azalmayı önleyerek yaşa bağlı hafıza zayıflığının gerilediğini önermişlerdir (234).

Mark Schmidt yaptığı çalışmada, üç ve onsekiz aylık ratlara %40 kalori kısıtlaması uygulamışlardır. Dört aylık takip sonunda kalori kısıtlaması yapılmayan yaşlı grupta öğrenmenin en yavaş olduğu görülmüştür. Kalori kısıtlaması yapılmayan genç grupla kalori kısıtlaması yapılan yaşlı grup arasında fark görülmezken, en erken öğrenme kalori kısıtlaması yapılan genç grupta bulunmuştur. Kalori kısıtlaması yapılmayan genç grupla, kalori kısıtlaması yapılan yaşlı grup arasında fark görülmemesi; gruptaki sayıların az olmasına ve uzun süreli açlığın kalori kısıtlamasından çok malnütrisyona neden olmuş olabileceğine bağlanmıştır (228).

Yaşlı hayvanlarda yapılan standart testlerde, hafıza ve spatial öğrenmede bozuklukların hücrel ve moleküler mekanizmaları henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Fakat bu defisitlerin temelinde özellikle hipokampüste yoğun olarak bulunan NMDAR'nin büyük rol oynadığı düşünülmektedir. NMDAR'ın, öğrenme ve belleğin hücrel substratı varsayılan LTP'nin bazı formlarının indüksiyonunda esas rolü oynadığı düşünülmektedir. Ömür boyu kalori kısıtlamasının yaşlanmanın birçok etkisini azalttığı rapor edilmiştir. Şimdiki çalışmalar kalori kısıtlamasıyla hafıza formasyonu için hücrel blok olarak düşünülen yaşla ilişkili LTP defisitlerini tedavi yönüne yönelenmiştir. Ömür boyu kalori kısıtlamasının LTP'deki defisitleri ortadan kaldırdığı görüşü savunulmaktadır. Buna ek olarak yaşlı ratlarda NMDA subüniti olan NR1 reseptörün yaşlanmaya bağlı azalması kalori kısıtlamasıyla önlenmektedir. Bunun sonucunda öğrenme, bellek ve LTP'deki yaşa bağlı defisitlerin altında yatan mekanizmanın NR1 ve özellikle de NR2B subunitlerindeki azalma olduğu düşünülmüş ve bunun da kalori kısıtlamasıyla engellenebileceği belirtilmektedir. Karen E. Smith ve ark. 22 ile 29 aylık ratlara %40'lık kalori kısıtlaması uygulamışlardır. Yaşlı kalori kısıtlaması uygulanan grup, yaşlı kontrol rat grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak LTP yüksek, 3-6 aylık ratlara göre ise LTP düşük bulunmuştur. LTP'deki bu farklılığın başlangıçta LTP stimülasyonu ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür. Daha sonra NMDA reseptörleri LTP indüksiyonunda rol oynadığından (223) NMDA ile ilgili defisitlerin bunda rol oynayabileceği düşünülmüştür. Yaşlı ratlarda NMDA reseptörü bağlanmasının azaldığı rapor edilmiştir (224), buna tezat olarak NMDA reseptör bağlanmasının arttığına dair çalışmalar da mevcuttur (225).

Lei Shi ve ark. yaptıkları çalışmada genç (on aylık), orta (onsekiz aylık) ve yaşlı (yirmidokuz aylık) ratlarda yapılan %40 oranında ve 4 ay süren kalori

kısıtlamasının NMDA ve AMPA reseptörlerinin subtiplerine bakmışlar. Haftalık kilo takibi yapmışlar ve ortalama olarak kontrol gruplarına göre kalori kısıtlaması yapılan grupta %41 kilo kaybı olduğunu belirtmişlerdir. Western blot analiziyle NMDA ve AMPA subtiplerinin normal beslenen yaşlı grupta, genç ve orta yaşlı gruba göre azaldığı tespit edilmiştir. İlginç olarak kalori kısıtlaması yapılan genç grupta, genç kontrol grubuna göre glutamat reseptör subünitlerin azaldığı görülmüşken, her iki grupta da total sinapsların ve multiple spine bouton (MSB) sinapsların stabil olduğu belirtilmiştir. Kalori kısıtlamasının genç gruptaki bu etkisini genç ratlara 6. aydan itibaren uygulanmaya başlanıldığı için bu sonucun bulunduğu halbuki kalori kısıtlamasının yaşlanmayla azalan NMDA subünitlerinin azalmasını engellediği vurgulanmıştır (227). Bizim çalışmamızda bu çalışmaya benzer sonuçlar elde ettik; 4-5 aylık genç ratlar kullandık ve normal kilolu kalori kısıtlaması yapılan grupta normal kilolu kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde azalma tespit ettik.

K.R.Magnusson farklı yaş gruplarındaki ratlarda kalori kısıtlamasının NMDA reseptör subünitlerindeki etkisini araştırmıştır. Bunun için üç ay, on beş ay ve yirmi altı aylık ratlara 3 ay boyunca %60 kalori kısıtlaması uygulamıştır. Kalori kısıtlaması uygulanan 26 aylık ratlarda, 27 aylık ad libitum grubuna göre NMDA reseptörünün artmış olduğunu tespit etmiştir. Ancak 3 aylık ad libitum grubuyla 26 aylık kalori kısıtlaması yapılan grup karşılaştırıldığında NMDA reseptör konsantrasyonunda azalma olduğunu bulmuştur (227). 27 aylık ad libitum grubuyla 3 aylık ad libitum grubu karşılaştırıldığında, yaşlı rat grubunda NMDA subünitlerinden NR2 subünitinin mRNA ekspresyonunun daha fazla azaldığı tespit etmiştir (228). Bununla birlikte 26 aylık kalori kısıtlaması yapılan ratlarda NR2 subünit mRNA dansitesinin bazı beyin bölgelerinde 26 aylık ad libitum grubuna göre daha yüksek olduğunu ama 3 aylık kalori kısıtlaması yapılan gruba göre daha düşük olduğunu belirlemiştir. Gerçekte kalori kısıtlaması uygulanmış deney hayvanlarında özellikle CA1 ve CA3 bölgelerinde NR2 subünit ekspresyonunun ad libitum grubuna göre daha fazla azaldığı ve bu öneriye göre de kalori kısıtlaması NR2 subünit ekspresyonundaki düzelmeden ziyade NMDA reseptörüne bağlanmanın düzenlenmesiyle ilgili bulunmuştur. Bir gen ekspresyonundaki araştırma göstermiştir ki kalori kısıtlaması öncelikle korteks ve serebellumda, yaşlanmayla ilişkili inflamasyonun ve strese cevabın artmasını engellemektedir. NR2 subünitindeki mRNA ekspresyonundaki azalmanın inflamasyon

ve strese cevapla ilişkili olmadığını vurgulanmıştır (229). NR2 ekspresyonunun hafızanın performansı ile ilgili olduğu ve AH'da NR2 subünit ekspresyonunun azalmasının rol oynadığı belirtilmiştir. Aşırı ekspresyon edilmiş transjenik ratlarda NR2'nin LTP mekanizmasında rol oynadığı ve öğrenmenin gelişmesinde önemli olduğu belirtilmiştir (230). Kalori kısıtlaması yapılan yaşlı ratlarda öğrenmenin yaşlı kontrol grubuna göre düzelmesinde NR2 subünit mRNA'dan ziyade gen ürünlerinin etkili olabileceği gözükmektedir. 15 aylık ratlarda kalori kısıtlamasının NR1 subünit için mRNA ekspresyonunu anlamlı olarak arttırdığını vurgulanmıştır. Yalnız NR1'in 26-27 aylık kalori kısıtlaması uygulanmış ratlarda anlamlı artışı bulunmamıştır. 15 aylık ratlarda NR1 subünitinin up-regülasyonu olduğu bunun yaş arttıkça azaldığı bildirilmiştir. Kalori kısıtlaması etkisini NR1'in protein ekspresyonunu artırarak sağlamaktadır (231). Bu çalışmada kalori kısıtlamasının NMDA reseptör subunitlerinin mRNA ekspresyonunun, NMDA reseptörlerinde glutamatın bağlanmasındaki değişikliklerle ve öğrenme kabiliyetiyle ilişkili olduğu vurgulanmıştır. Kalori kısıtlamasının NMDA reseptörüne glutamatın bağlanmasını az miktarda esirgediği ve NR1 subünitinin mRNA'sını düzenlediği ancak NR2 subünit ekspresyonunu etkilemediği belirtilmiştir. Bizim mevcut yaptığımız çalışmada mRNA düzeylerine bakmadık; dolayısıyla %60 oranında 10 hafta uygulanan kalori kısıtlamasının normal kilolu ve obez ratlarda etkisini araştırmak için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Bizim çalışmamızda normal kilolu kalori kısıtlaması uygulanan ratlarda normal kilolu kontrole göre NMDA reseptör subunitlerinden hem NR2A hem de NR2B'nin düzeylerinde anlamlı seviyede azalma bulunmuştur. ($p < 0,05$). Bu durum kalori kısıtlama oranının fazla oluşu ve sürenin az olmasıyla açıklanabilir. Jase P ve ark. (233) normal kilolu deney hayvanlarında 2-3 ay kalori kısıtlamasının kısa periyod olduğu kalori kısıtlamasının en az 6 ay yapılması gerektiği belirtmişlerdir (234). Obezlerde kalori kısıtlamasının, NMDA reseptör düzeylerine etkisiyle ilgili daha önce yapılmış *in vivo* çalışma bulunmamaktadır. Obez kalori kısıtlaması uygulanan gruplarda NMDA reseptör subunitlerinden hem NR2A hem de NR2B'nin ekspresyon düzeylerinde kontrol grubuna göre artış gözlenmiştir. Bu sonuçlar yukarıda bahsettiğimiz obezitenin AH'lığı riskini arttırdığına dair yapılan çalışmalar ve bunu destekleyici nitelikte kalori kısıtlamasının AH'lığı gelişim riskini azalttığına dair bilgilerle yakınlık göstermektedir. Fizyolojik şartlarda NMDA reseptörlerinin glutamatla belli düzeylerde uyarımı MSS'de

önemli işlevler yürütmektedir. Yapılan deneyler CA1 hipokampal NMDA reseptörlerinin hipokampüse bağımlı spatial ve non-spatial hafızaların oluşması için gerekli olduğunu ortaya koymuştur. Özellikle NMDA NR2B subunitinin fazla ekspresyonunun spatial öğrenme ve hafızayı, NMDAR fonksiyonunu ve LTP'yi arttırdığı görülmüştür (235). Öğrenme ve hafıza işleminin temelinde NMDA reseptörlerinin katıldığı sinaptik aktivite vardır ve AH patolojisinin selektif olarak hedef aldığı nokta da burasıdır.

Sonuç olarak, NMDA reseptörlerinin veya ilişkili yapılarının fonksiyonlarındaki değişimler yeni reseptör yapımının uyarılması ile gözlenen şekilde NR2A ve NR2B subunit ekspresyonlarının artmasına sebep olabilir. Daha önce bahsettiğimiz gibi Alzheimer hastalarında NMDA reseptörlerinin, özellikle de NR1 ve NR2B subunitlerinin azalmasının, hafıza bozukluğuna katkıda bulunduğu ve AH'nın nöropatolojisinin ilerlemesi ile birlikte NR1 ve NR2B subunitlerinin mRNA ekspresyonunun önemli ölçüde azaldığı düşünülmektedir (220, 221). Bu şekilde kalori kısıtlamasının NMDA reseptör subunit düzeylerini artırma etkileri, AH ve diğer nörodejeratif hastalıklarda faydalı etkiler oluşturabilir.

Bu bilgiler ışığında,

Malnütrisyon oluşturmadan kalori kısıtlamasının kognitif fonksiyon üzerine etkilerinin NMDAR'larla ilişkili olabileceğinden yola çıkarak NMDAR subunitlerinden NR2A ve NR2B western blot yöntemi ile incelediğimiz çalışmamızda; Normal kilolu kalori kısıtlaması yapılan ratlarda, normal kilolu kontrolüne göre NMDA subunitlerinin ekspresyonunda anlamlı azalma olduğu saptanmıştır. Normal kilolu ratlarda kalori kısıtlamasının NMDA reseptör subunitlerini azaltmadaki etkisini ratların genç olmasına, sürenin kısa olmasına ve kalori kısıtlamasının yüksek oranda uygulanmış olmasına bağlanabilir. Obez ratlarda kalori kısıtlamasının NR2A ve NR2B subunitlerinin ekspresyonlarında anlamlı artış gerçekleştiği saptanmıştır. Bu sonuçlar, obezlerde kalori kısıtlamasının AH ve diğer nörodejeratif hastalıklardaki faydalarının, NMDA reseptör subunit düzeyleri üzerindeki etkileri yoluyla gerçekleşebileceğini düşündürmektedir.

Ayrıca bizim çalışmamızda da birçok yapılmış epidemiyolojik çalışmaya benzer şekilde obezitenin hafızayı zayıflattığını tespit ettik. Obeziteyle ilgili NMDA

subünitlerini araştıran başka bir çalışmaya rastlamadık. Obezitenin NMDA reseptörleri üzerinden AH'a yatkınlığı arttırılabileceği söylenebilir. NMDA reseptör subünitlerindeki azalmanın AH'ında rol aldığı düşünülürse kalori kısıtlamasının obeziteyi engelleyerek NMDA reseptör subünitlerinde artışa yol açması muhtemel AH'ı insidansını azaltılabileceği varsayılabılır. Bu çalışmada kullandığımız sağlıklı ratlar yerine AH modeli oluşturulan hayvanların kullanılması ve kalori kısıtlamasının daha düşük yüzdelerde ve uygulama süresinin uzatılmasıyla nörodejeneratif hastalıklardaki etkilerinin ve NMDA reseptörleriyle ilişkilerinin açıklanmasına katkı sağlayabilir. Ayrıca normal kilolu ratlardaki NR2A ve NR2B subünitlerin obez ratlara göre yüksek bulunması da obezite ve AH ile ilişkili çalışmalarla benzerlik göstermektedir. Deneysel araştırmamızda lipid peroksidasyon göstergesi olan MDA'nın hipokampüsde kalori kısıtlamasıyla azaldığını saptamamız, oksidatif bir stres olmadığı için NMDA reseptör subünitlerinde artmanın karşımıza çıkmasına neden olmuş olabilir. Çalışmamızda yalnızca NR2A ve NR2B düzeyleri değerlendirildiği için, diğer NMDA reseptör subünitlerindeki değişikliklerin de tespiti ve hipokampüsde NMDAR subünitlerinin mRNA ekspresyonunun tespitinin yapılması kalori kısıtlamasının NMDA reseptörleri üzerine olan etkisinin anlaşılmasına ve çıkan sonuçların yorumlanmasına katkıda bulunacaktır.

ÖZET

Ratlarda Kalori Kısıtlamasının Hipokampal NMDA Reseptörü Subunitlerine Etkisi

Obezite, serebrovasküler patolojiler yanında nörodejeneratif bozukluklara da yol açabilmektedir. Bu bozukluklar arasında özellikle AH'nın obeziteyle ilişkili olduğu düşünülmektedir. Kalori kısıtlamasının nöroprotektif etki gösterdiği ve hafızayı etkilediği bildirilmiştir. İyonotropik glutamat reseptörleri olan NMDA reseptörlerinin öğrenme ve bellek oluşumuna aracılık ettikleri, ayrıca demans ve AH patogeneziyle ilişkilerinin olduğu belirtilmektedir.

Biz çalışmamızda obezitenin NMDA reseptör subünit düzeylerine etkisini, normal kilolu ve obezlerde kalori kısıtlaması uygulamasının, MSS'deki muhtemel nöroprotektif etkilerinin NMDA reseptör subünitleriyle ilişkili olup olmadığını araştırmayı amaçladık. Bunun için 4 aylık erkek ratlar normal kilolu kontrol, normal kilolu kalori kısıtlaması, obez kontrol, obez kalori kısıtlaması şeklinde gruplara ayrıldı. 10 hafta süreyle kontrol grupları ad libitum beslenirken, kalori kısıtlaması yapılan grupta kontrol grubuna göre %60 kalori kısıtlaması yapıldı. Bu sürenin sonunda hayvanlar dekapite edilerek hipokampusleri çıkarıldı ve NR2A ve NR2B subünitleri Western Blot yöntemi ile çalışıldı. Normal kilolu kalori kısıtlaması yapılan grupta normal kilolu kontrol grubuna göre hem NR2A hem de NR2B subünit düzeyleri anlamlı düzeyde azalma tespit edilmiştir. Obez kalori kısıtlaması yapılan grupta hem NR2A hem de NR2B subünit düzeyleri obez kontrole göre anlamlı düzeyde artmış bulundu. Obez kontrol grubunda da normal kilolu kontrol grubuna göre anlamlı azalma olduğu tespit edilmiştir. Kalori kısıtlamasının her iki grupta da hipokampüste MDA düzeylerini azalttığı bulundu.

Sonuç olarak elde ettiğimiz veriler kalori kısıtlamasının AH ve diğer nörodejeneratif hastalıklardaki faydalarının, NMDA reseptör subünit düzeyleri üzerindeki etkileri yoluyla gerçekleşebileceğini düşündürmektedir. Ancak AH modeli oluşturulan hayvanlarla çalışılması ve kalori kısıtlaması uygulama süresinin uzatılması kalori kısıtlamasının nörodejeneratif hastalıklardaki etkilerinin ve NMDA reseptörleriyle ilişkilerinin açıklanmasına daha fazla katkı sağlayabilir.

Anahtar kelimeler: NMDA reseptörleri, obezite, Alzheimer, kalori kısıtlaması

SUMMARY

The Examination Of The Caloric Restriction Application On The Level Of NMDA 2A And 2B Receptors In Hippocampus

Obesity is accompanied by damage to several tissues. Overweight is a risk factor for Alzheimer's disease and other neurodegenerative disorders, whether structural abnormalities associated with excess body fat may also occur in the brain is thought. Although there is evidence supporting a potential neuroprotective role of caloric restriction in the brain. Caloric restriction affects of learning and memory. NMDA receptor subtypes have a role on cognitive functions.

In this study we aimed to investigate the effect of obesity on hippocampal NMDA receptor subunits, and to ascertain whether the potential neuroprotective effects of caloric restriction are associated with NMDA receptors. Four groups were constituted. Obez and non-obez rats were fed a %60 food restriction diet for 10 weeks (caloric restriction group). Hippocampus of the caloric restriction group and of ad libitum controls were then dissected and examined. NR2A and NR2B in hippocampus and MDA were investigated.

Caloric restriction effects decrease in MDA levels show that there has been no lipid peroxidation in hippocampus tissue. In caloric restricted non-obez rats decreased the NR2A and NR2B receptor levels. In caloric restricted obez rats it increased the NR2A and NR2B levels. These increases in receptor levels may be the result of the interaction between caloric restriction benefits.

In our work only NR2A and NR2B levels were evaluated so that determining the changes in other NMDA receptor subtypes levels may help to understand the effects of caloric restriction NMDA receptors and to interpret the results obtained. Further studies with AD animal model and longer treatment regimes would help clarify the effects of caloric restriction on neurodegenerative disorders and their relations to NMDA receptors.

Key Words: NMDA receptor, obesity, Alzheimer's disease, caloric restriction,

KAYNAKLAR

1. Fatma çağlayan, Osman Çağlayan, Engin Günel, Murat Çakmak. The effect of fasting on the oxidant stres, T Klin Tıp Bilimleri 2001,21:374-376.
2. Feeding behaviour: Pharmacological Target Molecules, E.Ü Journal of Health Sciens 13(1) 77-87,2004.
3. Nicola Pannacciulli, Angelo Del Parigi, Kewei Chen, Duc Son N.T Le, Eric M. Reiman and Pietro A. Tataranni, Brain abnormalities in human obesity: A voxel-based morphometric. study 31(2006),1419-1425.
4. Suzanne Craft nsulin resistance syndrome and Alzheimer's disease: Age- and obesity-related effects on memory, amyloid, and inflammation, Neurobiology of Aging 26(2005) 565-569.
5. SK. Sriram, S.A.Benkovic,D. B. Miller and J. P. O'Callghan, Obesity exacerbates chemically induced neurdegeneration. Neuroscience,2002,1335-1346.
6. Salbe AD, Weyer C, Lindsay RS, Ravssin E, tataranni PA. Assesing risk factors for obesity between childhood adiposity, parental obesity, insülin,Leptin. Pediatrics 2002;110.299-306.
7. Unger, R.H., 2003. Minireview: weapons of lean body mass destruction: the role of ectopic lipids in the metabolic syndrome. Endocrinology 144, 5159 – 5165
8. Antipais VJ, Gill TP. Bölüm1. Epidemiyoloji. Per Björtrop.İnternational Textbook of Obesity.1.baskı John Wiley and Sons Ltd.2002.p.1.
9. World Health Organisation. Obesity: Preventing and managing the Global Epidemic. Report of a WHO Consultation on Obesity. Geneva,1997.p.3-5.
10. Topçuoğlu ES, Selekler K. Alzheimer Hastalığı. Geriatri. 1(2):63-67, 1998.
11. Selekler K. Alzheimer Hastalığı: patoloji, klinik, tanı ve ayırıcı tanı. Selekler K. (ed.) Modern Tıp Seminerleri:26 Alzheimer ve Diğer Demanslar. Ankara, Güneş Kitapevi, 2003.
12. Gustafson, D., Rothenberg, E., Blennow, K., Steen, B., Skoog, I., 2003. An 18-year follow-up of overweight and risk of Alzheimer disease. Arch. Intern. Med. 163, 1524 – 1528.
13. Obesity during the mid-adult years is a risk factor for Alzheimer's disease independent of APOE E₄ genotype. Grace J. Petot, Thomas Fritsch, Sara M. Debanne, Fatoumata Traore, Robert P. Frieland. Epidemiology and risk factors of Alzheimer's Disease, Neurobiology of Aging 25 (2004) 159-166.
14. Intemittent fasting and caloric restriction ameliorate age-related behavioral deficits in the triple-transgenic Mouse model of Alzheimer's disease. Veerenda Kumar Madala Halagappa, Zhihong Guo, Michelle Pearson, Yasuji Matsuoka, Roy G. Cutler, Frank M. Laferla and Mark P. Mattson, Neurobiology of Disease 26(2007)212-220.
15. R. Weindruch, R.S. Sohal, Caloric intake and aging, New Engl. J. Med. 337 (1997) 986–994.

16. M.A. Lane, D.K. Ingram, G.S. Roth, Nutritional modulation of aging in nonhuman primates, *J. Nutr. Health Aging* 3 (1999) 69–76.
17. M.A. Lane, A. Black, Y.A. Hand, E.M. Tilmont, D.K. Ingram, G.S. Roth, Caloric restriction in primates, *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 928 (2001) 287–295.
18. C.-K. Lee, R. Weindruch, T.A. Prolla, Gene expression profile of the ageing brain in mice, *Nat. Genet.* 25 (2000) 294–297.
19. H.C. Hendrie, A. Ogunniyi, K.S. Hall, O. Bayewu, F.W. Unverzagt, O. Gureje, S. Gao, R.M. Evans, A.O. Ogunseyinde, A.O. Adeyinka, B. Musick, S.L. Hui, Incidence of dementia and Alzheimer’s disease in 2 communities: Yoruba residing in Ibadan, Nigeria, and African Americans residing in Indianapolis, Indiana, *JAMA* 285 (2001) 739–747.
20. R. Mayeux, R. Costa, K. Bell, C. Merchant, M.X. Tung, D. Jacobs, Reduced risk of Alzheimer’s disease among individuals with low calorie intake, *Neurology* 59 (1999) S296–S297.
21. Cummings JL. Alzheimer’s disease. *N. Engl. J. Med.* 351:56–67, 2004.
22. Narahashi T, Marszalec W. Unique mechanism of action of Alzheimer’s drugs on brain nicotinic acetylcholine receptors and NMDA receptors. *Life Sciences.* 74:281–291, 2003.
23. Candy S, Brickley SG. NMDA receptors. *Encyclopedia of Life Sciences*, 2001.
24. Nutrition: Chemistry and Biology Julian E. Spallholz Englewood Cliffs, NJ: Prentice Hall, 288 pp.
25. Shils ME, Olson JA, Shike M, Ross, A.C. Modern nutrition in health and disease. Baltimor: Williams and Wilkins, 1999.
26. Pamela C. Champe, Richard a. Harvey, Lippincott’s illustrated reviews, 1997.
27. Colleen Smith, PHD, Allan D. Marks, MD, Michael Lieberman, PHD, Marks Temel tıbbi biyokimyası Kilinik yaklaşım.
28. Antipais VJ, Gill TP. Bölüm1. Epidemiyoloji. Per Björtrop. International Textbook of Obesity. 1.baskı John Wiley and Sons Ltd. 2002. p.1.
29. World Health Organisation. Obesity: Preventing and managing the Global Epidemic. Report of a WHO Consultation on Obesity. Geneva, 1997. p.3-5.
30. Despre’s JP. Dyslipidemia and obesity. *Bailliere’s Clin Endocrinol Metab* 1994;8:629-660.
31. Black D, James WPI, Besser GM. Obesity *J R Coll Physicians London.* 1983;17:5-65.
32. Seidell JC, Deurenberg P, Hautuast JGAJ. Obesity and fat distribution in relation to health. Current insights and recommendations. *World Rev Nutr Diet* 1987;50:57-91.
33. Segal KR, Van Loan M, Fitzgerald PI, et al. Lean body mass estimation by electrical impedance analysis. A four site cross validation study. *Am J Clin Nutr* 1988;47:7-14.

34. Garrow JS, Webster J. Qutelet's index (W/H²) as a measure of fatness. *Int J Obes* 1985;9:147-153.
35. Waaler HT. Height, weight and mortality: The Norwegian experience. *Acta Med Scand* 1984;679 (Suppl):1-56.
36. Wilson DJ, Foster DW, Kronenberg MH, Larsen PR. *Williams Textbook of Endocrinology 9th Edition*, WB. Saunders Company, Philadelphia, 1998.
37. Van Itallie TB. Health implications of overweight and obesity in the United States. *Ann Intern Med* 1985;103:983-988.
38. Lenter C. *Geigy Scientific Tables*, volume 3, Ciba-Geigy, 1984, Basle.
39. Mahan LK, Arlin M. *Krause's food, nutrition and diet therapy*, 9th Edition, WB Saunders.
40. WHO. *Obesity: Preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation on obesity*. Geneva, 3-5 June 1997. (Geneva: World Health Organisation, 1998 /98:1. Company, Philadelphia, 1996.
41. Kopelman PG, Dunitz M. *Obezite ve İlişkili Hastalıkların Tedavisi*, 1.Baskı, And yayıncılık, İstanbul, 2003.
42. Björntorp P. *International Textbook of Obesity Türkçe*, 1.Baskı, And yayıncılık, İstanbul, 2002.
43. Van Itallie TB. Prevalence of obesity. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1996;25:887-905.
44. Chagnon YC, Perusse L, Weisnagel SJ, et al. The human obesity gene map. *Obesity Research* 1999;8:89-117.
45. Keys A, Fidanza F, Karhoven MJ, et al. Incidence of relative weight and obesity. *J Chron Dis* 1972;25:329-343.
46. Stewart AL, Brook RH. Effects of being overweight. *Am J Publ Helth* 1983;73:171-178.
47. Whitaker R, Wright J, Pepe M, et al. Predicting adult obesity from childhood and parent obesity. *N Engl J Med* 1997;337:869-873.
48. Rolland-Cachera MF, Dehereger M, Guillaud-Bataille, et al. Tracking the development of adiposity from one month of age to adulthood. *Ann Hum Biol* 1987;14:219-229.
49. Dietz WH. Critical periods in childhood for the development of adiposity. *Am J Clin Nut* 1994;59:955-959.
50. Bray GA. Classification and evaluation of the obesities. *Med Clin North Am* 1989;73:161-184.
51. Wilson DJ, Foster DW, Kronenberg MH, Larsen PR. *Williams Textbook of Endocrinology 9th Edition*, WB. Saunders Company, Philadelphia, 1998.
52. Wright AR, Cameron HM, Lind T. Magnetic resonance imaging pelvimetry: A useful adjunct in the management of the obese patient. *Br J Obstetr Gynaecol* 1992;99:852-853.

53. Sencer E. Beslenme ve Diyet, Güven matbaası, İstanbul,1991:258-287.
54. Wadden AT, Stunkard JA. Obezite Tedavi El Kitabı Türkçesi, 1.Baskı, And yayıncılık, İstanbul, 2003.184.
55. Camfield LA, Smith FJ. The pathogenesis of obesity. *Bailliere's Clin Endocrinol Metab* 1999;13:13-30.
56. Maratos-Flier E, Flier JS. Obesity. In Kahn CR, Weir GC, King GL, Jacopson AM, Moses AC, Smith RJ, eds. *Joslin's Diabetes Mellitus*.14th ed. Boston: Lippicott Williams and Wilkins; 2005.p.533-45.
57. Saris WHM. Sugars, energy metabolism and body weight control. *Am J Clin Nutr*2003;78(suppl):850-7.
58. Jakicic JM, Donnelly JE, Jawad AE, et al. Association between blood lipids and different measures of body fat distributions: Effect of BMI and age. *Int J Obes* 1993;17:131-137.
59. İntermittent fasting and caloric restriction ameliorate age-related behavioral deficits in the triple-transgenic Mouse model of Alzheimer's disease;
60. Romas SN, Tang MX, Berglund L, Mayeux R. APOE genotype, plasma lipids, lipoproteins, and AD in community elderly. *Neurology*. 53:517–21, 1999.
61. Scarpini E, Scheltens P. Treatment of Alzheimer's disease: current status and new perspectives. *The Lancet Neurology*. 2: 539-546, 2003.
62. Topçuoğlu ES, Selekler K. Alzheimer Hastalığı. *Geriatri*. 1(2):63-67, 1998
63. Selekler K. Alzheimer Hastalığı: patoloji, klinik, tanı ve ayırıcı tanı. Selekler K. (ed.) *Modern Tıp Seminerleri:26 Alzheimer ve Diğer Demanslar*. Ankara, Güneş Kitapevi, 2003.
64. Corder EH, Saunders AM, Strittmatter WJ, Schmechel DE, Gaskell PC, Small GW. Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science* 261:921–3, 1993.
65. Strittmatter WJ, Weisgraber KH, Huang DY, Dong LM, Salvesen GS, Pericak-Vance M. Binding of human apolipoprotein E to synthetic amyloid beta peptide: isoform-specific effects and implications for late-onset Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci USA*. 90:8098–102, 1993.
66. Thomas J, Olivia R. Age-related deficits in the retention of memories for cued fear conditioning are reversed by galantamin treatment. *Behavioural Brain Research*. 165: 160-171, 20.
67. 12. Baysal Aİ, Yeşilbudak Z. Alzheimer Hastalığı'nın Klinik Bulguları. *Nöroloji. Türkiye Klinikleri*. 1(1):1-5, 2003.
68. 4.Markesbery WR. Oxidative stres hypothesis in AD. *Free Radic Biol Med*. 23:134-147, 1997.
69. Braak H, Braak E. Diagnostic criteria for neuropathologic assessment of Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*. 18 (Suppl. 4): 85-88, 1997.
70. Hardy J, Selkoe DJ. The amyloid hypothesis of Alzheimer's Disease: progress and problems on the road to therapeutics. *Science* 297. 353-356, 2002.

71. Silvestrelli G, Lanari A, Parnetti L, Tomassoni D, Amenta F. Treatment of Alzheimer's disease: From Pharmacology to a better understanding of disease pathophysiology. *Mechanisms of Aging and Development*. 127(2):148-157, 2006.
72. Selkoe DJ, Schenk D. Alzheimer's Disease: molecular understanding predicts amyloid-based therapeutics. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*. 43: 545-584, 2003.
73. Golde TE, Youkin SG. Presenilins as therapeutic targets for the treatment of Alzheimer's Disease. *Trends Mol. Med*. 6:264-269, 2001.
74. Cai H, Wang Y, McCarthy D, Wen H, Borchelt DR, Price DL, Wong PC. BACE1 is the major beta-secretase for generation of Abeta peptides by neurons. *Nat Neurosci*. 4(3):233-4, 2001.
75. Coleman P, Federoff H, Kurlan R. A focus on the synapse for neuroprotection in Alzheimer disease and other dementias. *Neurology*. 63: 1155-1162, 2004.
76. Castren M, Lampinen KE, Miettinen R, Koponen E, Sipola I, Bakker CE, Oostra BA, Castren E. BDNF regulates the expression of fragile X mental retardation protein mRNA in the hippocampus. *Neurobiol Dis*. 11:221-229, 2002.
77. Emmanuel C, Gorospe, Jatin K. Dave, The risk of dementia with increased body mass index. *Age and Ageing* 2007; 36: 23–29.
78. The epidemiology of adiposity and dementia. Whitmer RA. *Curr Alzheimer Res*. 2007 Apr;4(2):117-22.
79. B.B. Kahn, J.S. Flier, Obesity and insulin resistance, *J. Clin. Invest*. 106 (2000) 473–481.
80. P. Trayhurn, I.S. Wood, Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue, *Br. J. Nutr*. 92 (2004) 347–355.
81. M.W. Rajala, P.E. Scherer, Minireview: the adipocyte—at the crossroads of energy homeostasis, inflammation, and atherosclerosis, *Endocrinology* 144 (2003) 3765–3773.
82. G. Wolf, Adiponectin: a regulator of energy homeostasis, *Nutr. Rev*. 61 (2003) 290–292.
83. Whitmer RA, Gunderson EP, Barrett-Connor E et al. Obesity in middle age and future risk of dementia: a 27 year longitudinal population based study. *BMJ* 2005; 330: 1360.
84. A. S. Buchman, MD, R. S. Wilson, PhD, J. L. Bienias, ScD, R. C. Shah, MD, D. A. Evans, MD and D. A. Bennett, MD, Change in body mass index and risk of incident Alzheimer disease, *Neurology* 2005;65:892-897. *American Academy of Neurology*.
85. Gustafson D, Rothenberg E, Blennow K, Steen B, Skoog I., An 18-year follow-up of overweight and risk of Alzheimer disease. *Arch Intern Med*. 2003 Jul 14;163(13):1524.
86. Gortmaker, S. L., Dietz, W. H., Sobol, A. M., & Wehler, C. A. (1987). Increasing pediatric obesity in the United States. *American Journal of Diseases of Children*, 141(5), 535–540.

87. Rena'ta Cserje'si, De'nes Molna'r, Olivier Luminet, La'szlo'Le'na'rd Is there any relationship between obesity and mental flexibility in children? *Appetite* accepted 3 April 2007.
88. D. Gustafson, PhD, L. Lissner, PhD, C. Bengtsson, MD, PhD, C. Björkelund, MD, PhD and I. Skoog, MD, PhD. A 24-year follow-up of body mass index and cerebral atrophy. *Neurology* 2004;63:1876-1881. American Academy of Neurology.
89. Ward MA, Carlsson CM, Trivedi MA et al. The effect of body mass index on global brain volume in middle-aged adults: a cross sectional study. *BMC Neurol* 2005; 5: 23.
90. Gustafson D, Rothenberg E, Blennow K et al. An 18-year follow-up of overweight and risk of Alzheimer disease. *Arch Intern Med* 2003; 163: 1524 – 28.
91. Elias MF, Elias PK, Sullivan LM et al. Lower cognitive function in the presence of obesity and hypertension: the Framingham heart study. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2003; 27: 260 – 8.
92. Mattson, MP., Duan, W., Wan R., Guo, Z. Prophylactic activation of neuroprotective stress response pathways by dietary and behavioral manipulations. *NeuroRx*. 2004 (1):111-6.
93. Cigdem Akman, Qian Zhao, Xianzeng Liu, and Gregory L. Holmes. Effect of food deprivation during early development on cognition and neurogenesis in the rat. *Epilepsy & Behavior* 5 (2004) 446–454.
94. Weindruch, R., Kenan, K.P., Carney, J.M., Fernandes, G., Feuers, R.J., Floyd, R.A., Halter, J.B., Ramsey, J.J., Richardson, A., Roth, G.S., et al. 2001. Caloric restriction mimetics: Metabolic interventions. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* 56 Spec No 1: 20-33.
95. Fontana, L., M.,McDonald, R.B.,1998.Cold –induced thermoregulation and biological aging. *Physiol. Rev* 78,339-458.
96. Leewenburg. C., Wagner, P., Holloszy,J.O., Sohal, R.S., Heinecke,J.W.,1997. Caloric restriction attenuates dityrosine cross-linking of cardiac and skeletal muscle proteins in aging mice. *Arch. Biochem. Biohys.*346,74-80.
97. Selman, C., Phillips, T., Staib, J.L., Duncan, J.S., Leeuwenburgh, C., Speakman, J.R., 2005. Energy expenditure of calorically restricted rats is higher than predicted from their altered body composition. *Mech. Ageing Dev.* 126, 783–793.
98. Kushiro, T., Kobayashi, F., Osada, H., Tomiyama, H., Satoh, K., Otsuka, Y., Kurumatani, H., Kajiwara, N., 1991. Role of sympathetic activity in blood pressure reduction with low calorie regimen. *Hypertension* 17, 965–968.
99. Chacon, F., Cano, P., Jimenez, V., Cardinali, D.P, Marcos, A., Esquifino, A.I., 2004. 24-hour changes in circulating prolactin, follicle-stimulating hormone, luteinizing hormone, and testosterone in young male rats subjected to calorie restriction. *Chronobiol. Int.* 21, 393–404.
100. Holloszy JO. Mortality rate and longevity of food-restricted exercising male rats: a reevaluation. *J Appl Physiol.* 1997 Feb;82(2):399-403.

101. Effects of CR and gender on rat serum paraxonase 1 activity. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 2006,197-203.
102. K. Karason, J. Wikstrand, L. Sjoström, I. Wendelhag. Weight loss and progression of early atherosclerosis in the carotid artery: a four- year controlled study of obese subjects, *Int J Obes Relat Metab Disord* 9 (1999) 948 –956.
103. Walford RL., Wber L.,Ponov S.,Caloric restriction and aging as viewed from Biosphere 2. *Receptor*.1995 Spring;5(1):29-33.
104. Spindler, S.R., 2001.Caloric restriction enhances the expression of key metabolic enzymes associated with protein renewal during aging. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 928,296-304.
105. Krebs cycle enzymes from livers of old mice are differentially regulated by caloric restriction: Kevork Hagopian. *Physiology&Behavior* 85 (2005) 581-592.
106. Angelo Turturro, PhD, Bruce S. Hass, PhD, and Ronald W. Hart, PhD, National Center for Toxicological Research, FDA, Jefferson, Arkansas, USA. Does Caloric Restriction induce Hormesis? *Epression Hormetic. Genes&Development* 17:313-321.2003.
107. K.J. Bough, R. Valiyil, F.T. Han, D.A. Eagles, Seizure resistance is dependent upon age and calorie restriction in rats fed a ketogenic diet, *Epilepsy Res.* 35 (1999) 21–28.
108. George M. Gray, PhD, Harvard School of Public Health, Boston, Massachusetts, USA Rodent Cancer Bioassays—Is Body-weight D. *Appetite* (2001) 36,147-156.
109. Universty of Michigan Medical Center, Ann Arbor. Use and efficacy of a nutrition protocol for patients with burns in intensive care. *J. Burn. Care Rehabil.* 1991 Jul-Aug;12(4):371-6.
110. Roe, F.J., Lee, P.N., Conybeare, G., Kelly, D., Matter, B., Prentice, D., Tobin, G., 1995. The Biosure Study: influence of composition of diet and food consumption on longevity, degenerative diseases and neoplasia in Wistar rats studied for up to 30 months post weaning. *Food Chem. Toxicol.* 33 (Suppl. 1), 1S–100S.
111. Zhu H., Guo Q., Mattson, MP. Dietary restriction protects hippocampal neurons against the death-promoting action of a presenilin-1 mutation. *Brain Res.* 1999; 842(1):224-9.
112. Forster, MJ., Lal, H. Estimating age-related changes in psychomotor function: influence of practice and of level of caloric intake in different genotypes. *Neurobiol Aging.* 1999; 20(2):167-76.
113. Avraham Y., Bonne, O., Berry, E.M. Behavioral and neurochemical alterations caused by diet restriction--the effect of tyrosine administration in mice. *Brain Res.* 1996; 732(1-2):133-44.
114. Drew, B., Phaneuf, S., Dirks, A., Selman, C, Gredilla, R., Lezza, A., Barja, G., Leeuwenburgh, C, 2003. Effects of aging and caloric restriction on mitochondrial energy production in gastrocnemius muscle and heart. *Am. J. Physiol.: Regul. Integr. Comp. Physiol.* 284, R474-R480B 13,96.

115. Amie J. Dirks, Christian Leeuwenburgh, Caloric restriction in humans: Potential pitfalls and health concerns. *Mechanisms of Ageing and Development* 127 (2006) 1–7.
116. Yang MH, Schaich KM. Factors affecting DNA damage caused by lipid hydroperoxides and aldehydes. *Free Radic Biol Med* 1996; 20: 225-236.
117. Gülden Burçak, Gülnur Andican. Oksidatif DNA Hasarı ve yaşlanma. Oxidative DNA damage and aging. *Cerrahpaşa J Med* 2004; 35: 159-169.
118. Weindruch R. Caloric restriction, gene expression and aging. *Alzheimer Disease Assoc. Disord*, 2003 Apr-Jun; 17 Suppl2:558-9.
119. Weiping Qin, Tianle Yang, Lap Ho||, Zhong Zhao, Jun Wang, Linghong Chen, Wei Zhao, Meenakshisundaram Thiyagarajan, Donal MacGrogan, Joseph T. Rodgers, Pere Puigserver, Junichi Sadoshima, Haiteng Deng, Steven Pedrini, Samuel Gandy, Anthony A. Sauve, and Giulio M. Pasinetti, Neuronal SIRT1 Activation as a Novel Mechanism Underlying the Prevention of Alzheimer Disease Amyloid Neuropathology by Calorie Restriction. *J. Biol. Chem.*, Vol. 281, Issue 31, 21745-21754, August 4, 2006.
120. Lane, M.A., Baer, D.J., Rumpler, W.V., Weindruch, R., Ingram, D.K., Tilmont, E.M., Cutler, R.G., Roth, G.S., 1996. Calorie restriction lowers body temperature in rhesus monkeys, consistent with a postulated anti-aging mechanism in rodents. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 93, 4159–4164.
121. Lee, C.K., Allison, D.B., Brand, J., Weindruch, R., Prolla, T.A., 2002. Transcriptional profiles associated with aging and middle age-onset caloric restriction in mouse hearts. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 99, 14988–14993.
122. M.A. Lane, A. Black, Y.A. Hand, E.M. Tilmont, D.K. Ingram, G.S. Rth, Caloric restriction in primates, *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 928 (2001) 287–295.
123. Magnusson, KR. Influence of dietary restriction on ionotropic glutamate receptors during aging in C57B1 mice. *Mech Ageing Dev.* 1997; 95(3):187-202.
124. Viidik, A., 1999. The biological aging is our inescapable fate but can we modify it? *Z. Gerontol. Geriatr.* 32, 384–389.
125. Fontana, L., Meyer, T.E., Klein, S., Holloszy, J.O., 2004. Long-term caloric restriction is highly effective in reducing the risk for atherosclerosis in humans. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 101, 6659–6663. Goodrick, C.L.
126. Mark A. Lane, Rafael de Cabo, Julie Mattison, R.M. Anson, George S. Roth, Donald K. Ingram. The Roy Walford legacy: diet restriction from molecules to mice to monkeys to man and onto mimetics. *Gerontology* 39 (2004) 897-902.
127. Heilbronn, L.K., Ravussin, E., 2003. Caloric restriction and aging: review of the literature and implications for studies in humans. *Ann. J. Clin. Nutr.* 78, 361-369.
128. Karten, YJ., Olariu, A., Cameron, HA. Stress in early life inhibits neurogenesis in adulthood. *Trends Neurosci.* 2005; 28(4):171.
129. Memory preservation diet (M) 2005 for reducing risk and slowing progression of Alzheimer's disease, Nancy B. Emerson Lambarda, Antonio Martin, Lodislay

- Volicer, Carmen castanada Sceppa, Michaelyn S. Holmes. *Neurology* 2005;67:1204-1210.
130. Jun Wang, Lap Ho Weiping Qin Anne B. Rocher Ilana Seror, Nelson Humala, Kruti Maniar, Georgia Dolios, Rong Wang, atrick R. Hof, and Giulio Maria Pasinetti. Caloric restriction attenuates β -amyloid neuropathology in a mouse model of Alzheimer's disease. *The FASEB Journal express article* 10.1096/fj.04-3182fje. Published online January 13, 2005.
 131. Lichtenthaler, S. F., and Haass, C. (2004) Amyloid at the cutting edge: activation of alpha-secretase prevents amyloidogenesis in an Alzheimer disease mouse model. *J. Clin. Invest.* 113, 1384–1387.
 132. Scarpini E, Scheltens P. Treatment of Alzheimer's disease: current status and new perspectives review. *The lancet neurology.* 2: 539-546, 2003.
 133. Viguerie C. Poitou, R. Canello, V. Stich, K. Clement, D. Langin. Transcriptomics applied to obesity and caloric restriction. *Biochimie* 87(2005) 117-123.
 134. Cummings JL. Alzheimer's disease. *N. Engl. J. Med.* 351:56–67, 2004.
 135. Sze C, Bi H, Kleinschmidt-DeMasters BK, Filley CM, Martin LJ. N-methyl- D-aspartate receptor subunit proteins and their phosphorylation status are altered selectively in Alzheimer's disease. *J Neurol Sci.* 182:151–159, 2001.
 136. Bi H., Sze CI. N-methyl-D-aspartate receptor subunit NR2A and NR2B messenger RNA levels are altered in the hippocampus and entorhinal cortex in Alzheimer's disease. *J Neurol Sci.* 200:11–18, 2002.
 137. Wang Y, TesFaye E, Yasuda R P, Mash D C, Armstrong DM, & Wolfe BB. Effects of post-mortem delay on subunits of ionotropic glutamate receptors in human brain. *Brain Res Mol Brain Res.* 80, 123– 131, 2000.
 138. Bellush, L.L., Wright, A.M., Walker, J.P., Kopchick, J., Colvin, R.A., 1996. Caloric restriction and spatial learning in old mice. *Physiol. Behav.* 60, 541-547.
 139. Mark P. Mattson, Wenzhen Duan and Zhihong Guo, Meal size and frequency affect neuronal plasticity and vulnerability to disease: cellular and molecular mechanisms, *Journal of Neurochemistry*, 2003, 84.417.
 140. W. Duan, J. Lee, Z. Guo, M.P. Mattson, Dietary restriction stimulates BDNF production in the brain and thereby protects neurons against excitotoxic injury, *J. Mol. Neurosci.* 16 (2001) 1–12.
 141. E. Castre'n, H. Thoenen, D. Lindholm, Brain-derived neurotrophic factor messenger RNA is expressed in the septum, hypothalamus and in adrenergic brain stem nuclei of adult rat brain and is increased by osmotic stimulation in the paraventricular nucleus, *Neuroscience* 64 (1995) 71–80.
 142. W. Duan, J. Lee, Z. Guo, M.P. Mattson, Dietary restriction stimulates BDNF production in the brain and thereby protects neurons against excitotoxic injury, *J. Mol. Neurosci.* 16 (2001) 1–12.

143. Effects of food restriction on synthesis and expression of BDNF and tyrosinase in dentate gyrus granule cells of adult rats. Jase P. Andrade, Rui Mesquita, Marco Assunção, Pedro A. Pereira. *Neuroscience letters* 399(2006) 135-140.
144. Idrobo F., Nandy K., Mostofsky, D.I., Blatt, L., Nandy, L., 1987. Dietary restriction: effects on radial maze learning and lipofuscin pigment deposition in the hippocampus and frontal cortex. *Arch. Gerontol. Geriatr.* 6, 355–362.
145. Ingram, D.K., Weindruch, R., Spangler, E.L., Freeman, J.R., Walford, R.L., 1987. Dietary restriction benefits learning and motor performance of aged mice. *J. Gerontol.* 42, 78–81.
146. Markowska, A.L., Savonenko, A., 2002. Retardation of cognitive aging by life-long diet restriction: implications for genetic variance. *Neurobiol. Aging* 23, 75–86.
147. Pitsikas N., Algeri S., 1992. Deterioration of spatial and nonspatial reference and working memory in aged rats: protective effect of life-long calorie restriction. *Neurobiol. Aging* 13, 369–373.
148. Pitsikas N., Carli M., Fidecka S., Algeri S., 1990. Effect of life-long hypocaloric diet on age-related changes in motor and cognitive behavior in a rat population. *Neurobiol. Aging* 11, 417–423.
149. Stewart J., Mitchell J., Kalant N., 1989. The effects of life-long food restriction on spatial memory in young and aged Fischer 344 rats measured in the eight-arm radial and the Morris water mazes. *Neurobiol. Aging* 10, 669–675.
150. Rapp P.R., Gallagher M., 1996. Preserved neuron number in the hippocampus of aged rats with spatial learning deficits. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 93, 9926–9930.
151. Rasmussen, T., Schliemann, T., Sorensen, J.C., Zimmer, J., West, M.J., 1996. Memory impaired aged rats: no loss of principal hippocampal and subicular neurons. *Neurobiol. Aging* 17, 143–147.
152. Sonntag W. E., Bennett S. A., Khan, A.S., Thornton, P. L., Xu, X., Ingram, R.L., Brunso-Bechtold, J.K., 2000. Age and insulin-like growth factor-1 modulate N-methyl-D-aspartate receptor subtype expression in rats. *Brain Res. Bull.* 51, 331-338.
153. Lei Shi, Michelle M. Adams, M. Constance Linville, Isabel G. Newton, M. Elizabeth Forbes, Ashley B. Long, David R. Riddle, Judy . Brunso-Bechtold. Caloric restriction eliminates the aging-related decline in NMDA and AMPA receptor subunits in the rat hippocampus and induces homeostasis. *Experimental Neurology*, 2007.
154. Karen Eckles-Smith, Daniel Clyon, Paula Bickford, Michael D. Browning. Caloric restriction prevents age-related deficits in LTP and in NMDA receptor expression. *Molecular Brain Research* 78 (2000) 154-162.
155. Clayton, D.A., Mesches, M.H., Alvarez, E., Bickford, P.C., Browning, M.D., 2002. A hippocampal NR2B deficit can mimic age-related changes in LTP and spatial learning in the Fischer 344 rat. *J. Neurosci.* 22, 3628-3637.

156. Magnusson, K.R., Nelson, S.e.,Young ,A.B.,2002. Age related changes in the protein expression of subunits of the NMDA receptor.Brain Res. Mol Brain Res,99,40-45.
157. DeJong IC, Van Voorst S, Ehlhardt DA, Blokhuis HJ. Effects of restricted feeding on physiological stress parameters in growing broiler breeders. Bri Poult Sci 2002;43:157–68.
158. Genn RF, Tucci SA, Thomas A, Edwards JE, File SE. Age-associated sex differences in response to food deprivation in two animal tests of anxiety. Neurosci Biobehav Rev 2003;27:155–61.
159. R.M. Anson, Z. Guo, R. de Cabo, T. Iyun, M. Rios, A. Hagepanos, D.K. Ingram, M.A. Lane, M.P. Mattson, Intermittent fasting dissociates beneficial effects of dietary restriction on glucose metabolism and neuronal resistance to injury from calorie intake, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 100 (2003) 6216–6220
160. Effect of food deprvation during early development on cognition and neurogenesis in the rat; Xianzeng Liu, Ciğdem Akman, Qian Zhao and Gregory L. Holmes. Epilepsy&Behavior 5 (2004) 446-454.
161. Lister, JP., Blatt, GJ., DeBassio, WA., Kemper TL, Tonkiss, I, Galler, JR., Rosene, DL. Effect of prenatal protein malnutrition on numbers of neurons in the principal cell layers of the adult rat hippocampal formation. Hippocampus. 2005;15(3):393-403.
162. King, RS., DeBassio, WA., Kemper, TL., Rosene, DL., Tonkiss, I, Galler, JR., Blatt, GJ. Effects of prenatal protein malnutrition and acute postnatal stress on granule cell genesis in the fascia dentata of neonatal and juvenile rats. Brain Res Dev Brain Res. 2004 (1):9-15.
163. Valadares, C.T., Almeida, S.D.S., “Early protein malnutrition changes learning and memory in spaced but not condensed trials in the Morris water-maze”, Nutritional Neuroscience, 2005, 8: 39-47.
164. Bondolfi, L., Ermini, F., Long, J.M., Ingram, D.K., Jucker, M., “Impact of age and caloric restriction on neurogenesis in the dentate gyms of C57BL/6 mice”, Neurobiology of Aging, 2004, 25: 333-340.
165. Final, B., Asian, H., Canan, S., Şahin, B., Kaplan, S. Biyolojik Ortamlardaki Objelerin Sayımı Yapılırken Kullanılan Eski (tarafli) Metotlann Önemli Hata Kaynakları ve Coziim Önerileri. Türk Hekimler Birliğı Vakfı Türkiye Klinikleri Tıp bilimleri Dergisi Özel Sayısı; Stereolojide Temel Kavram ve Yöntemler. Şubat 2002; 22(1-Ek), Sayfa 1-6.
166. Canan, S., Şahin, B., Odacı, E., final, B., Asian, H., Bilgig, S., Kaplan, S. Toplam Hacim, Hacim Yoğunluğu ve Hacim Oranlannin Hesaplanmasında Kullamlan Bir Stereolojik Yöntem: Cavalieri Prensibi. Türk Hekimler Birliğı Vakfı Türkiye Klinikleri Tıp bilimleri Dergisi Özel Sayısı; Stereolojide Temel Kavram ve Yöntemler. Şubat 2002; 22(1-Ek), Sayfa 7-14.
167. Yıldırım M. Tıp Öğrencileri İçin Klinik Nöroanatomi, 4. basımdan çeviri. Nobel Tıp Kitabevleri Ltd Şti, 2000.
168. Dere F. Nöroanatomi ve Fonksiyonel Nöroloji, Okullar Pazarı Kitabevi, 1990.

169. Ozawa S, Haruyuki K. Glutamate receptors in the mammalian central nervous system. *Progress in Neurobiology*. 54: 581-618, 1987.
170. Yıldırım M. Tıp Öğrencileri İçin Klinik Nöroanatomî, 4. basımdan çeviri. Nobel Tıp Kitabevleri Ltd Şti, 2000.
171. Goebel DJ, Poosch MS. NMDA receptor subunit gene expression in the rat brain: a quantitative analysis of endogenous mRNA levels of NR1, NR2A, NR2B, NR2C, NR2D and NR3A. *Molecular Brain Research*. 69:164-170, 1999.
172. Cull-Candy S, Brickley SG. NMDA receptors. *Encyclopedia of Life Sciences*. 2001.
173. Carroll RC, Zukin RS. NMDA-receptor trafficking and targeting: Implications for synaptic transmission and plasticity. *Trends in Neuroscience*. 25:571-577, 2002.
174. Dietschy JM, Turley SD. Control of cholesterol turnover in the mouse. *J Biol Chem*. 277:3801-3804, 2002.
175. Petrie RXA, Reid IC., Stewart CA. The N-methyl-D-aspartate receptor, synaptic plasticity and depressive disorder. *Pharmacology and therapeutics*. 87:11-25, 2000.
176. Wittenberg GM, Tsien JZ. An emerging molecular and cellular framework for memory processing by the hippocampus. *Trends in Neurosciences*. 25:571-77, 2002.
177. Yakamura T, Shimoji K. Subunit and site specific pharmacology of the NMDA receptor channel. *Progress in Neurobiology*. 59:279-298, 1999.
178. Khanduja KL, Sohi KK. Nimesulide inhibits lipopolysaccharide-induced production of superoxide anions and nitric oxide and iNOS expression in alveolar macrophages. *Life Sciences*. 78: 1662-1669, 2006.
179. Kaplan, N.M.,1989 The deadly quartet : Upper-body obesity,glucose intolerance, hypertriglyceridemia and hypertension.*Arch. Intern. Med*.149,1514-1520.
180. Serap Karasaihoğlu. Childhood obesity, *Türkiye Klinikleri J Int Med Sci* 2005,1(37):66-71.
181. Identification, evaluation and epidemiology of obesity, Ertuğrul Taşan.*Türkiye Klinikleri J Int med sci* 2005,1(37):1-4.
182. Dexter, D.T,Carter, C.J., Wells,F.R., Javoy-Agid,F., Agid., Y.,Lees,A., Jenner, P.Marsden, C.D., 1989. Basal lipid peroxidation in substantia nigra is increased in PD:*J.Neurochem*.52,381-389.
183. Sofic,E., Lange, K.W., Jellinger,K.,Riederer, P.,1992.Reduced and oxidized glutathione in the substantia nigra of patients with PD, *Neurosci.Lett*.142,128-130.
184. Beal, M.F., 1995.aging, energy and oxidative stres in neurodegenerative disease.*ann. Neurol*.38,357-366.
185. Mizuno, Y., Ikebe, S., Hattori, N., Kondo, T., Tanaka, M., Ozwa, T., 1993. Mitochondrial energy crisis in Parkinson's disease. *Adv. Neurol*. 60,282-287.

186. Yang, S., Zhu, H., Li, Y., Lin, H., Gabrielson, K., Trush, M.A., Diehl, A.M., 2000. Mitochondrial adaptations to obesity-related oxidant stress. *Arch. Biochem. Biophys.* 378, 259-268.
187. Mesches H, Gemma C. Sulindac improves memory and increases NMDA receptor subunits in aged Fischer 344 rats. *Neurobiology of aging.* 25: 315-324, 2004.
188. Prostaglandins and other lipid mediators in Alzheimer's disease Nicolas G. Bazan, Vittorio colangelo: Prostaglandins and other lipid mediators; 2002:197-210.
189. Rachel A Whitmer, Erica P Gunderson, Elizabeth Barrett-Connor, Charles P Quesenberry Jr, Kristine Yaffe Obesity in middle age and future risk of dementia: a 27 year longitudinal population based study. *Heart Research Centre, Cardiology* 3050.
190. A.S. Buchman, j. A. Schneider, R.S. Wilson, J.L. Bienias and D. A. Bennett. Body mass index in older persons is associated with Alzheimer disease pathology. *Neurology*, December 12,2006;67(11):1949-1954.
191. George Razay and Gordon K. Wilcock. Hyperinsulinaemia and Alzheimer's Disease. *Age Ageing.* 1994 Sep ;23 (5):396-9 7825486 .
192. Greefield JP, Leung LW, Cai D, Kaasi KK, Gross RS, Rodguez-Boulan E, et al. Estrogen lowers Alzheimer beta-amyloid generation by stimulating trans-Golgi network vesicle biogenesis. *J. Biol Chem* 2002;277(14):12128-36.
193. Karen Eckles-Smith, Daniel Clyon, Paula Bickford, Michael D. Browning. Caloric restriction prevents age-related deficits in LTP and in NMDA receptor expression. *Molecular Brain Research* 78 (2000) 154-162.
194. Patel NV, Gordon MN, Connor KE, Good RA, Engelman RW, Mason J, Morgan DG, Morgan TE, Finch CE. Caloric restriction attenuates Abeta-deposition in Alzheimer transgenic models. *Neurobiol Aging.* 2005 Jul;26(7):995-1000. Epub 2004 Nov 25.
195. M.C. Romero, J. Wang, A.B. Rocher, L.Ho, P.R. Hof, G.M. Pasinetti, S. Martin-ragon, J. Benedi, A.M. *J. Biol. Chem.*, 10.1074/jbc.M602909200.
196. S. Kalmijn; D. Foley; L. White; C. M. Burchfiel; J. D. Curb; H. Petrovitch; G. W. Ross; R. J. Havlik; L. J. Launer Metabolic Cardiovascular Syndrome and Risk of Dementia in Japanese-American Elderly Men . *Neurology*, 2005; 62:1556-1560.
197. Bindu n. Patel, Deborah Pang, Yaakov Stern, Wayne Silverman, Jennie K. Kline, Richard Mayeux, Nicole Schupf. Obesity enhance verbal memory in postmenopausal women with Down sendrom. *Neurobiology of aging* 25(2004) 159-166.
198. Cognitive processing differences between obese and nonobese subjects, Richard Mark Conforto and Louis Gershman. *Age and Ageing* 2007;36:23-29.
199. Mattson MP, Duan W, Guo Z. Meal size and frequency affect neuronal glasticity and vulnerability to disease: cellular and molecular mechanisms. *J Neurochem* 2003;84:417-31.

200. T.A. Prolla, M.P. Mattson, Molecular mechanisms of brain aging and neurodegenerative disorders: lessons from dietary restriction, *Trends Neurosci.* 11 (Suppl.) (2001) S21–S31.
201. M.P. Mattson, S.L. Chan, W. Duan, Modification of brain aging and neurodegenerative disorders by genes, diet and behavior, *Physiol. Rev.* 82 (2002) 637–672. [17].
202. A.J. Bruce-Keller, G. Umberger, R. McFall, M.P. Mattson, Food restriction reduces brain damage and improve behavioral outcome following excitotoxic and metabolic insults, *Ann. Neurol.* 45 (1999) 8–15.
203. A. Contestabile, E. Ciani, M. Sparapani, T. Guarnieri, G. Dell’Erba, F. Bologna, C. Cicognani, Activation of the ornithine decarboxylase – polyamine system and induction of c-fos and p53 expression in relation to excitotoxic neuronal apoptosis in normal and microencephalic rats, *Exp. Brain Res.* 120 (1998) 519–526.
204. J. Lee, J.P. Herman, M.P. Mattson, Dietary restriction selectively decreases glucocorticoid receptor expression in the hippocampus and cerebral cortex of rats, *Exp. Neurol.* 166 (2000) 435–441.
205. J. Lee, K.B. Seroogy, M.P. Mattson, Dietary restriction enhances neurotrophin expression and neurogenesis in the hippocampus of adult mice, *J. Neurochem.* 80 (2002) 539–547.
206. R.R. Shelke, C. Leeuwenburgh, Life-long calory restriction (CR) increases expression of apoptosis repressor with a caspase recruitment domain (ARC) in the brain, *FASEB J.* 17 (2003) 494–496.
207. H. Zhu, Q. Guo, M.P. Mattson, Dietary restriction protects hippocam-pal neurons against the death-promoting action of a presenilin-1 mutation, *Brain Res.* 842 (1999) 224–229.
208. W. Duan, M.P. Mattson, Dietary restriction and 2-deoxyglucose administration improve behavioral outcome and reduce degeneration of dopaminergic neurons in models of Parkinson’s disease, *J. Neurosci. Res.* 57 (1999) 195–206.
209. A.J. Bruce-Keller, G. Umberger, R. McFall, M.P. Mattson, Food restriction reduces brain damage and improve behavioral outcome following excitotoxic and metabolic insults, *Ann. Neurol.* 45(1999) 8-15.
210. Z.F. Yu, M.P. Mattson, Dietary restriction and 2-deoxyglucose administration reduce focal ischemic brain damage and improve behavioral outcome: evidence for a preconditioning mechanism, *J. Neurosci. Res.* 57 (1999) 830–839.
211. W.A. Pedersen, M.P. Mattson, No benefit of dietary restriction on disease onset or progression in amyotrophic lateral sclerosis Cu/ Zn-superoxide dismutase mutant mice, *Brain Res.* 883 (1999) 117–120.
212. McCabe Bk, Silveria DC, Cilio MR, et al. Reduced neurogenesis after neonatal seizures. *J. Neurosci* 2001;21:2094-103.
213. Caloric restriction inhibits seizure susceptibility in epileptic EL mice by reducing blood glucose. *Epilepsia* 2001;42:1371–8. [10].

214. Nunes ML, Liptakova S, Veliskova J, Sperber EF, Moshe SL. Malnutrition increases dentate granule cell proliferation in immature rats after status epilepticus. *Epilepsia* 2000;41(Suppl. 6):S48-52.
215. Liu H, Kaur J, Dashtipour K, Kinyamu R, Ribak CE, Friedman LK. Suppression of hippocampal neurogenesis is associated with developmental stage, number of perinatal seizure episodes, and glucocorticosteroid level. *Exp Neurol* 2003;184:196-213.
216. Andrea Contestabile, Eisabetta ciani, Antonio Contestabile. Dietary restriction differentially protects from neuro degeneration in animal models of excitotoxicity. *Brain Research* 1002 (2004) 162-166.
217. Narahashi T, Marszalec W. Unique mechanism of action of Alzheimer's drugs on brain nicotinic acetylcholine receptors and NMDA receptors. *Life Sciences*. 74:281–291, 2003.
218. McGeer PL, Schulzer M. Arthritis and anti-inflammatory agents as possible protective factors for Alzheimer's disease. *Neurology*. 47:425-432, 1996.
219. Wang Y, TesFaye E, Yasuda R P, Mash D C, Armstrong DM, & Wolfe BB. Effects of postmortem delay on subunits of ionotropic glutamate receptors in human brain. *Brain Res Mol Brain Res*. 80, 123– 131, 2000.
220. J.Z. Tsien, P.T. Huerta, S. Tonegawa, The essential role of hippo-campal CA1 NMDA receptor-dependent synaptic plasticity in spatial memory, *Cell* 87 (1996) 1327–1338.
221. W.E. Mu¨ller, S. Stoll, K. Scheuer, A. Meichelbo¨ck, The function of the NMDA-receptor during normal brain aging, *J. Neural Transm.[Suppl]* 44 (1994) 145–158.
222. M. Serra, C.A. Ghiani, M.C. Foddi, C. Motzo, G. Biggio, NMDA receptor function is enhanced in the hippocampus of aged rats, *Neurochem. Res*. 19 (1994) 483–487.
223. C. Cepeda, Z. Li, M.S. Levine, Aging reduces neostriatal responsiveness to *N*-methyl-D-aspartate and dopamine: An in vitro electro-physiological study, *Neuroscience* 73 (1996) 733–750.
224. Lei Shi, Michelle M. Adams, M. Constance Linville, Isabel G. Newton, M. Elizabeth Forbes, Ashley B. Long, David R. Riddle, Judy K. Brunso-Bechtold. Caloric restriction eliminates the aging-related decline in NMDA and AMPA receptor subunits in the rat hippocampus and induces homeostasis. *Experimental Neurology* xx (2007) xxx–xxx.
225. Mark S. Schmidt. The effects of caloric restriction on working memory in aged rats Southeastern Psychological Association, New Orleans, LA March 28,2003.
226. Magnusson KR. Influence of dietary restriction on ionotropic glutamate receptors during aging in C57B1 mice. *Mech Ageing Dev* 1997;95:187-202.
227. Magnusson KR. Declines in mRNA expression of different subunits may account for differential effects of aging on agonist and antagonist binding to the NMDA receptor. *J Neurosci* 2000;20:1666-74.

228. Lee C-K, Weindruch R, Prolla TA. Gene-expression profile of the ageing brain in mice. *Nature Genet* 2000;25:294-7.
229. Tang Y-P, Shimizu E, Dube GR, Rampon C, Kerchner GA, Zhuo M, Liu G, Tsien JZ. Genetic enhancement of learning and memory in mice. *Nature* 1999;401:63–9.
230. Eckles-Smith K, Clayton D, Bickford P, Browning MD. Caloric restriction prevents age-related deficits in LTP and in NMDA receptor expression. *Mol Brain Res* 2000;78:154-62.
231. Sonntag WE, Bennett SA, Khon AS, Thornton PL, XU X, Ingram RL, Brunso-Bechtold JK. Age and insulin-like growth factor-1 modulate N-methyl-D_aspartate receptor subtype expression in rats. *Brain Res Bull* 2000;51:331-8.
232. J. Lee, W. Duan, M.P. Mattson, Evidence that brain-derived neurotrophic factor is required for basal neurogenesis and mediates, in part, the enhancement of neurogenesis by dietary restriction in the hippocampus of adult mice, *J. Neurochem.* 82 (2002) 1367–1375.
233. L. Bondolfi, F. Ermini, J.M. Long, D.K. Ingram, M. Jucker, Impact of age and caloric restriction on neurogenesis in the dentate gyrus of C57BL/6 mice, *Neurobiol. Aging* 25 (2004) 333–340.
234. Yakamura T, Shimoji K. Subunit and site specific pharmacology of the NMDA receptor channel. *Progress in Neurobiology.* 59:279-298, 1999.
235. Xia E, Rao G, Van Remmen H 1994 Activities of antioxidant enzymes in various tissues of male Fischer 344 rats are altered by food restriction. *J Nutr* 125:195-201.
236. The effects of uncontrolled excess caloric intake and moderate to marked caloric restriction(CR) on obesity, spontaneous disease and cancers in sprague dowley(sd) rats. R. Dixit, J. B.Coleman, B. Mattson, G.C. Balam, K.P. Kenan, St. Louis, MO, USA. *Neurology* 2006;67:1208-1214.